

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

УДК 621.57+ 536.24+ 615.478.5

© А. В. Чернышев, Д. А. Бакай, В. Е. Курочкин,
В. Н. Соколов, Е. Ю. Скоблилов

МОДЕЛИРОВАНИЕ ТЕПЛОВОГО СОСТОЯНИЯ МИКРОПРОБИРОК С ОБРАЗЦАМИ В ХОДЕ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ

Статья посвящена расчету теплового поля микропробирки с исследуемым образцом в твердотельном амплификаторе ДНК в процессе проведения полимеразной цепной реакции. Рассмотрены условия парообразования и конденсации паров исследуемых образцов. Составлена математическая модель процесса и приведены результаты расчетов.

ВВЕДЕНИЕ

В большинстве известных программируемых термостатирующих устройств (амплификаторов ДНК), широко использующихся сегодня для анализа фрагментов ДНК методом полимеразной цепной реакции (ПЦР), управление процессом поддержания заданного температурного протокола осуществляется по температуре теплового блока, в котором размещены микропробирки или планшеты с исследуемыми образцами, содержащими биологический материал. В действительности для проведения процесса ПЦР необходимо обеспечить циклическое изменение температуры по заданному протоколу непосредственно исследуемых образцов. При этом в большинстве случаев не допускается отклонение температуры образца от заданной более чем на 0.1–0.3 °С. Возможность применения носителей (микропробирок) различных производителей, хоть и незначительно, но отличающихся по геометрическому профилю, заполнение их переменными объемами исследуемых образцов и невозможность обеспечения однородности условий установки микропробирок в ячейки теплового блока не позволяют рассматривать систему: амплификатор—носитель—исследуемый образец как единую и замкнутую. Для объективной оценки результатов амплификации ДНК необходимо иметь достаточно достоверное представление о процессах, протекающих в самом исследуемом образце. В данной статье речь идет о тепловых процессах. Предметом исследования является тепловое состояние исследуемого образца и процесс его испарения и конденсации на боковых стенках микропробирки. Последнее очень важно, поскольку в процессе реализации циклически повторяющегося температурного протокола практически все микроколичество исследуемого образца может испариться из объема и конденсироваться на боковых стенках микропробирки. Для

предотвращения данного явления используется масляный затвор. Известен способ ухода от этой, тяжелой и рутинной процедуры, заключающейся в нанесении масляной пленки на поверхность каждого образца, — это применение теплового затвора. Тепловой затвор особенно эффективен в амплификаторах ДНК с детекцией процесса ПЦР в реальном времени. Однако применение теплового затвора приносит ощутимые результаты только при сбалансированном нагреве тепловой крышки в процессе реализации температурного протокола в пластине-держателе теплового блока.

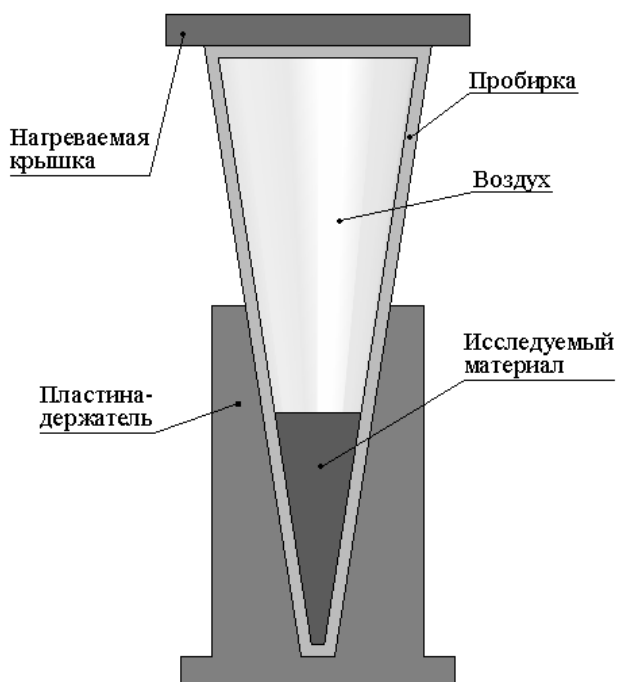
ОПИСАНИЕ ПРОЦЕССОВ

Для того чтобы провести расчет теплового состояния исследуемого образца, необходимо описать процессы, в нем происходящие. Для этого составим расчетную схему, представленную на рис. 1.

Как видно из рисунка, уровень исследуемого материала не доходит до верхней грани пластины-держателя. Между верхней поверхностью образца и крышкой микропробирки воздух. Кроме того, часть пробирки, выступающая над верхней поверхностью пластины-держателя, находится в воздушной камере. Верхняя часть пробирки поджата крышкой, нагреваемой до температуры 104–109 °С. Итак, рассмотрим процессы, происходящие в микропробирке с исследуемым образцом при нагреве и охлаждении согласно температурному протоколу процесса ПЦР.

1. Денатурация исходной двухцепочечной ДНК

Первая часть цикла температурного протокола процесса ПЦР — денатурация исходной двухцепочечной ДНК, при которой происходит разрушение двойной спирали и разведение цепей, — нагрев до температуры 94–95 °С. Данная часть цикла состоит из процесса нагрева и термостабилизации.



Нагрев до 94–95 °С

За счет высокой теплопроводности материала пластины-держателя в первую очередь нагревается та часть микропробирки, которая находится в непосредственном контакте с пластиной-держателем. Это приводит к интенсификации процесса испарения образца. В результате увеличивается концентрация паров исследуемого образца в замкнутой воздушной полости пробирки. Процесс концентрации паров будет продолжаться до тех пор, пока не установится динамическое равновесие между процессом испарения и конденсации. При этом пар станет насыщенным. Если динамическое равновесие не будет достигнуто, то пар будет ненасыщенный.

Термостабилизация при 94–95 °С

Вторая часть цикла — термостабилизация биоматериала при 94–95 °С. Если пар после нагрева остался ненасыщенным, то при термостабилизации происходит его насыщение и устанавливается динамическое равновесие. В результате температура насыщенного пара также является температурой точки росы. При любом, даже незначительном уменьшении температуры самой пробирки будет наблюдаться процесс конденсации и выпадение росы на самых охлажденных поверхностях. Очевидно, что такими поверхностями могут быть крышка пробирки и часть боковой стенки микропробирки, выступающей над пластиной-держателем.

телем. Причем в силу теплопроводности материала пробирки, процесс выпадения росы на боковую поверхность пробирки начнется немного выше верхней грани пластины-держателя.

2. Связывание праймеров с комплементарными участками ДНК

Вторая часть температурного протокола обеспечивает связывание праймеров с комплементарными участками ДНК при температуре, определяемой длиной и структурой праймеров (50–65 °С), и достройку праймеров — удлинение двухцепочечной части гибрида матрицы и праймера.

Охлаждение до температуры 50–65 °С

На данном этапе температурного протокола обеспечивается охлаждение до температуры 50–65 °С. При охлаждении температура пара становится ниже точки росы и наблюдается выпадение конденсата. Нужно отметить, что происходит капельная конденсация, т. к. стенки пробирки не смачиваются конденсатом. Конденсация будет проходить до тех пор, пока снова не установится динамическое равновесие между конденсацией и испарением. При этом из пара биоматериала выпадет вся влага, которую не может удержать воздух в состоянии насыщения. Очевидно, что вследствие высокой теплопроводности пластины-держателя быстрее всего произойдет выпадение конденсата на боковой поверхности пробирки, которая находится в непосредственном контакте с пластиной-держателем. Затем — на крышке и боковой поверхности пробирки, находящейся выше верхней грани пластины-держателя.

Термостабилизация при температуре 50–65 °С

Происходят процессы, аналогичные тем, которые протекают на предыдущем этапе, только значительно более длительные по времени поддержания температуры 50–65 °С.

3. Полное достраивание праймеров на матрице

Третья часть температурного протокола обеспечивает полное достраивание праймеров на матрице с образованием двухцепочечной копии участка исходной ДНК, ограниченной местами посадки праймеров, и протекает при температуре 70–75 °С.

Процесс нагрева и термостабилизация при 70–75 °С

Эти этапы температурного протокола с точки зрения тепловых процессов аналогичны этапам

нагрева и термостабилизации при 94–95 °С. Затем процесс циклически повторяется.

Итак, рассмотрены все стадии цикла температурного протокола ПЦР. Для проведения численного эксперимента необходимо составить математическую модель процессов, проходящих в пробирке и исследуемом образце.

МАТЕМАТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ

Введем некоторые допущения математической модели.

1. Рассматриваемая система "исследуемый образец—воздух в пробирке" — однофазная среда; поэтому будем рассматривать процесс распространения тепла в жидкости не конвекцией, а теплопроводностью.

2. Все рассматриваемые материалы однородны по составу и изотропны по теплофизическим свойствам.

3. Контакты между отдельными элементами устройства принимаем идеальными.

4. Теплоемкости c , плотности ρ и коэффициенты теплопроводности λ в твердых телах и жидкостях постоянны и не зависят от температуры.

5. Так как реально исследуемый образец представляет собой 0.1–1.0 % водный раствор белка-фермента, ДНК и неорганических солей, то при расчете заменяем его водой.

Процесс переноса тепла в твердом теле описывает уравнение теплопроводности. Запишем его в дифференциальной форме:

$$\rho c \frac{\partial T}{\partial t} = \lambda \operatorname{div}(\operatorname{grad} T). \quad (1)$$

Необходимо отметить, что та часть пробирки, которая располагается выше пластины-держателя, находится в воздушной камере, которая изолирована от внешней среды и не допускает теплообмена. Тепловой затвор в данной модели представлен как некая часть верхней области воздушной камеры, которая соприкасается с крышкой пробирки и нагрета до постоянной температуры 104–108 °С.

Для расчета процесса конвективного теплообмена в воздухе запишем систему дифференциальных уравнений.

Уравнения движения воздуха

$$\begin{aligned} \frac{d\rho u_x}{dt} &= -\frac{\partial p}{\partial x} + \frac{1}{3}\mu \frac{\partial}{\partial x} \operatorname{div} u + \mu \operatorname{div}(\operatorname{grad} u_x), \\ \frac{d\rho u_y}{dt} &= -\frac{\partial p}{\partial y} + \frac{1}{3}\mu \frac{\partial}{\partial y} \operatorname{div} u + \mu \operatorname{div}(\operatorname{grad} u_y), \\ \frac{d\rho u_z}{dt} &= \rho F_z - \frac{\partial p}{\partial z} + \frac{1}{3}\mu \frac{\partial}{\partial z} \operatorname{div} u + \mu \operatorname{div}(\operatorname{grad} u_z). \end{aligned} \quad (2)$$

Уравнение сохранения энергии

$$c_p \frac{\partial \rho T}{\partial t} + \operatorname{div}(\rho c_p u T - \lambda \operatorname{grad} T) = 0. \quad (3)$$

Уравнение сохранения массы (уравнение неразрывности)

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} + \operatorname{div} \rho u = 0. \quad (4)$$

Начальные условия

Все материалы в начальный момент времени имеют одинаковую температуру

$$T_0^i = T_0. \quad (5)$$

Граничные условия

Воздушная камера. Воздушная камера теплоизолирована, т. е. температуры всех ее боковых поверхностей являются граничными условиями III рода с нулевым тепловым потоком:

$$q_{AV}^S = \alpha(T_S - T_{AV}^S) = 0. \quad (6)$$

Сверху камера ограничена тепловым затвором, имеющим постоянную температуру, т. е. это — граничное условие I рода:

$$T_{AV}^U = T_K = \text{const}; \quad (7)$$

снизу — элементом пластины-держателя, т. е. граничное условие IV рода:

$$T_{AV}^D = T_P^U; \quad (8)$$

$$\lambda_{AV} \frac{\partial T_{AV}^D}{\partial n} = \lambda_P \frac{\partial T_P^U}{\partial n}. \quad (9)$$

Микропробирка. Все поверхности, кроме внешней поверхности крышки, — граничные условия IV рода:

$$T_{PROB}^S = T_i, \quad (10)$$

$$\lambda_{PROB} \frac{\partial T_{PROB}^S}{\partial n} = \lambda_{AV} \frac{\partial T_i}{\partial n}. \quad (11)$$

Сверху — контакт с тепловым затвором с постоянной температурой, т. е. граничные условия I рода:

$$T_{PROB}^U = T_K = \text{const}. \quad (12)$$

Исследуемый образец — жидкость. Все поверхности — граничные условия IV рода:

$$T_{BF}^S = T_i. \quad (13)$$

Воздух в микропробирке. Все поверхности — граничные условия IV рода:

$$T_{AIR}^S = T_i, \quad (15)$$

$$\lambda_{AIR} \frac{\partial T_{AIR}^S}{\partial n} = \lambda_i \frac{\partial T_i}{\partial n}. \quad (16)$$

Математическая модель, состоящая из уравнений (1–16), описывает процессы распространения тепла в микропробирке и исследуемом образце.

РЕШЕНИЕ

Решение задачи теплопроводности в системе такой сложной геометрии возможно только численными методами. Воспользуемся методом контрольного объема в конечно-разностной постановке. Для этого составим дискретный аналог уравнения теплопроводности.

Для корректной дискретизации системы дифференциальных уравнений (1–16) введем необходимые допущения:

- узел, вокруг которого формируется контрольный объем, располагается в его центре так, что грань контрольного объема делит расстояние между соседними узлами в одном направлении пополам;
- границы раздела материалов и элементов конструкции совпадают с гранями соответствующих прилегающих контрольных объемов;
- значение зависимой переменной в узле превагирует в окружающем его контрольном объеме;
- значение теплофизических характеристик потоков зависимых переменных через грани контрольного объема могут быть представлены через значения этих величин в центрах соответствующих граней.

Будем использовать следующие обозначения.

Нижние индексы:

— строчные буквы, например r , — грани контрольных объемов;

— прописные буквы, например R , — узлы контрольных объемов.

Верхние индексы обозначают временной шаг, а * — предыдущее значение параметра на прошедшем временном шаге.

Проинтегрируем уравнение теплопроводности по времени и по элементарному объему и используем конечно-разностную схему:

$$\int_t^{t+\Delta t} \int_V c \rho \frac{\partial T}{\partial t} dV dt = \int_t^{t+\Delta t} \int_V \operatorname{div}(\lambda \operatorname{grad} T) dV dt.$$

Проведя математические преобразования и используя допущение о том, что теплоемкость и плотность материала не являются функцией температуры, получим дискретный аналог для трехмерной области, который используем для рас-

чета процесса теплопроводности в пластине-держателе, пробирке и биологической жидкости:

$$a_C T_C = a_R T_R + a_L T_L + a_T T_T + a_D T_D + a_F T_F + a_B T_B + C,$$

где:

$$a_R = \lambda_R \frac{\Delta y \Delta z}{\delta x_R} \Delta t \rightarrow a_L = \lambda_L \frac{\Delta y \Delta z}{\delta x_L} \Delta t,$$

$$a_T = \lambda_T \frac{\Delta x \Delta z}{\delta y_T} \Delta t \rightarrow a_D = \lambda_D \frac{\Delta x \Delta z}{\delta y_D} \Delta t,$$

$$a_F = \lambda_F \frac{\Delta x \Delta y}{\delta z_F} \Delta t \rightarrow a_B = \lambda_B \frac{\Delta x \Delta y}{\delta z_B} \Delta t,$$

$$a_C = a_R + a_L + a_T + a_D + a_F + a_B + a_C^* \Delta z,$$

$$a_C^* = c \rho \Delta x \Delta y \Delta z \rightarrow C = a_C^* T_C^*.$$

Для дискретизации системы дифференциальных уравнений, описывающих конвективный теплообмен в воздушной камере и воздухе в пробирке, примем: воздух сжимаем. Получаем смешанные производные второго порядка в правой части уравнения. Для дискретизации таких слагаемых воспользуемся полученной в [1] с помощью разложения в ряд Тейлора формулой:

$$\frac{\partial^2 f}{\partial x \partial y} = \frac{f_{i+1;j+1} - f_{i+1;j-1} - f_{i-1;j+1} + f_{i-1;j-1}}{4 \Delta x \Delta y}.$$

Для избежания некорректного представления поля давления (возникновение "шахматного" поля давления [4]) представим интеграл от градиента давления в следующем виде:

$$\int_t^{t+\Delta t} \int_V \frac{\partial p}{\partial x} dV dt = \left\langle \frac{\partial p}{\partial x} \right\rangle \Delta x \Delta y \Delta z \Delta t,$$

где $\left\langle \frac{\partial p}{\partial x} \right\rangle$ — средневзвешенная по контрольному объему составляющая градиента давления по оси x и

$$\left\langle \frac{\partial p}{\partial x} \right\rangle = \frac{\frac{\partial p}{\partial x} \Big|_{LC} \Delta V_{L+} + \frac{\partial p}{\partial x} \Big|_{RC} \Delta V_{R-}}{\Delta V},$$

где ΔV_{L+} , ΔV_{R-} , ΔV — объемы, соответствующие отрезкам δx_{L+} , δx_{R-} , δx .

После проведения необходимых выкладок получим дискретный аналог уравнения движения:

$$a_{Cx} u_{Cx} = a_{Rx} u_{Rx} + a_{Lx} u_{Lx} + C_x - \left\langle \frac{\partial p}{\partial x} \right\rangle \Delta V \Delta t,$$

где:

$$a_{Cx} = \rho_C \Delta x \Delta y \Delta z + \frac{1}{2} (\rho_R u_{Rx} - \rho_L u_{Lx}) \Delta y \Delta z \Delta t +$$

$$+ 2\mu \Delta t \left(\frac{\Delta y \Delta z}{\Delta x} + \frac{\Delta x \Delta z}{\Delta y} + \frac{\Delta x \Delta y}{\Delta z} \right) + \frac{2\mu}{3} \frac{\Delta y \Delta z \Delta t}{\Delta x},$$

$$a_{Rx} = a_{Lx} = \frac{4\mu}{3} \frac{\Delta y \Delta z \Delta t}{\Delta x},$$

$$C_x = \rho_C^* u_{Cx}^* \Delta x \Delta y \Delta z + \frac{1}{2} u_{Cy} (\rho_T u_{Tx} - \rho_D u_{Dx}) \Delta x \Delta z \Delta t +$$

$$+ \frac{1}{2} u_{Cz} (\rho_F u_{Fx} - \rho_B u_{Bx}) \Delta x \Delta y \Delta t + \mu \Delta x \Delta t \times$$

$$\times \left[\frac{\Delta z}{\Delta y} (u_{Tx} + u_{Dx}) + \frac{\Delta y}{\Delta z} (u_{Fx} + u_{Bx}) \right] + \frac{\mu \Delta t}{12 \Delta x} \times$$

$$\times \left(\frac{u_{TRx} - u_{DRx} - u_{TLx} + u_{DLx}}{\Delta y} \Delta z + \right.$$

$$\left. + \frac{u_{FRx} - u_{FLx} - u_{BRx} + u_{BLx}}{\Delta z} \Delta y \right).$$

Аналогично запишутся дискретные аналоги по остальным координатным осям:

$$a_{Cy} u_{Cy} = a_{Ty} u_{Ty} + a_{Dy} u_{Dy} + C_y - \left\langle \frac{\partial p}{\partial y} \right\rangle \Delta V \Delta t,$$

$$a_{Cz} u_{Cz} = a_{Fz} u_{Fz} + a_{Bz} u_{Bz} + C_z - \left\langle \frac{\partial p}{\partial z} \right\rangle \Delta V \Delta t.$$

При составлении дискретного аналога уравнения неразрывности запишем его относительно плотности. Дискретный аналог будет иметь вид:

$$a_C \rho_C = a_R \rho_R + a_L \rho_L + a_T \rho_T +$$

$$+ a_D \rho_D + a_F \rho_F + a_B \rho_B + C,$$

где:

$$a_C = \Delta x \Delta y \Delta z \Delta t \quad a_R = -\frac{1}{2} u_{Rx} \Delta y \Delta z \Delta t,$$

$$a_L = \frac{1}{2} u_{Lx} \Delta y \Delta z \Delta t \quad a_T = -\frac{1}{2} u_{Ty} \Delta x \Delta z \Delta t,$$

$$a_D = \frac{1}{2} u_{Dy} \Delta x \Delta z \Delta t \quad a_F = -\frac{1}{2} u_{Fz} \Delta x \Delta y \Delta t,$$

$$a_B = \frac{1}{2} u_{Bz} \Delta x \Delta y \Delta t \quad C = \rho_C^* \Delta x \Delta y \Delta z \Delta t.$$

Дискретизация уравнения энергии приведет к следующему дискретному аналогу:

$$a_C T_C = a_L T_L + a_T T_T + a_D T_D + a_F T_F + a_B T_B + C,$$

где:

$$a_L = \left(\frac{\lambda}{\Delta x} + \frac{1}{2} c_p \rho_C u_{Lx} \right) \Delta y \Delta z \Delta t,$$

$$a_R = \left(\frac{\lambda}{\Delta x} - \frac{1}{2} c_p \rho_C u_{Rx} \right) \Delta y \Delta z \Delta t,$$

$$a_T = \left(\frac{\lambda}{\Delta y} - \frac{1}{2} c_p \rho_C u_{Ty} \right) \Delta x \Delta z \Delta t,$$

$$a_D = \left(\frac{\lambda}{\Delta y} + \frac{1}{2} c_p \rho_C u_{Dy} \right) \Delta x \Delta z \Delta t,$$

$$a_F = \left(\frac{\lambda}{\Delta z} - \frac{1}{2} c_p \rho_C u_{Fz} \right) \Delta x \Delta y \Delta t,$$

$$a_B = \left(\frac{\lambda}{\Delta z} + \frac{1}{2} c_p \rho_C u_{Bz} \right) \Delta x \Delta y \Delta t,$$

$$a_C = 2 \frac{\lambda}{\Delta x} \Delta y \Delta z \Delta t + 2 \frac{\lambda}{\Delta y} \Delta x \Delta z \Delta t + 2 \frac{\lambda}{\Delta z} \Delta x \Delta y \Delta t +$$

$$+ c_p \rho \Delta x \Delta y \Delta z,$$

$$C = c_p \rho_C^* T_C^* \Delta x \Delta y \Delta z.$$

Для того чтобы замкнуть полученную систему линейных алгебраических уравнений, составим дискретный аналог уравнения состояния, сделав зависимой переменной давление

$$p_C = \frac{\rho_C}{\mu} R T_C.$$

Процедура расчета. Для расчета воспользуемся модифицированным алгоритмом для расчета полей скорости и давления [2] SIMPLE (Semi-Implicit Method for Pressure-Linked Equations) и модифицируем его для полученных расчетных зависимостей. Последовательность действий:

1. Вводятся предполагаемые поля скорости, давления и температуры, исходя из начальных условий.
2. Решаются уравнения движения и находятся новые поля скоростей.
3. Решается уравнение неразрывности и находится новое поле плотности.
4. Решается уравнение энергии и находится новое поле температуры.
5. Решается уравнение состояния и находятся новые значения поля давления.
6. Если сходимость не достигнута, возврат к пункту 2.
7. Переход на новый временной слой и повторение процедуры с пункта 2.

РАСЧЕТ ПРОЦЕССА ИСПАРЕНИЯ И КОНДЕНСАЦИИ

Для определения возникновения условий обра-

зования в пробирке насыщенного пара проведен аналитический расчет процессов испарения и конденсации исследуемого образца при термоциклировании.

Приятые (дополнительные к сформулированным в разделе "Математическая модель") допущения:

- форма пробирки — усеченный конус;
- тепловые контакты между отдельными элементами конструкции идеальны;
- исследуемый образец — вода;
- пробирка герметично закрыта, что исключает массообмен с окружающей средой.

Исходные данные для расчета

Объем пробирки, м ³	5·10 ⁻⁷
Объем жидкости, м ³	8·10 ⁻⁸
Объем воздуха, м ³	4.2·10 ⁻⁷
Начальная температура, К	293
Относительная влажность воздуха, %	55
Начальное давление воздуха, Па	101325
Удельная теплота парообразования λ воды при 365 К, кДж/кг	2272
Удельная теплота парообразования λ воды при 325 К, кДж/кг	2377
Удельная теплота парообразования λ воды при 347 К, кДж/кг	2323
Удельная теплоемкость c воды, Дж/(г·К)	4.2

При нагреве пробирки интенсифицируется процесс испарения. Необходимо рассчитать, какое количество влаги нужно испарить, чтобы насытить водяной пар, находящийся в пробирке. Используя данные из таблицы значений абсолютной влажности насыщенного водяного пара при различных температурах [3] и проведя несложные вычисления, определяем, что для образования насыщенного водяного пара в микропробирке необходимо испарить $1.845249 \cdot 10^{-4}$ грамма воды. Это составляет около 0.2 % от первоначального объема воды, поэтому считаем, что испарение этого количества воды не приведет к существенному увеличению объема воздуха и уменьшения объема воды.

Определим количество тепла, которое необходимо подвести к воде, чтобы испарить такое количество влаги. Так как в процессе нагрева не происходит термодетформации микропробирки и ее объем не меняется, то считаем, что работа не совершается. Следовательно, подведенное тепло расходуется только на изменение внутренней энергии воды и не зависит от способа перехода из начального состояния в конечное.

Так как известно, что

$$\Delta U_1 = cM\Delta T,$$

то при нагреве жидкости от 293 К до 365 К увеличение внутренней энергии составит:

$$\Delta U_1 = 24.367 \text{ Дж.}$$

Изменение внутренней энергии при превращении ее в пар определяется из первого уравнения термодинамики:

$$\Delta U_2 = \lambda m + A,$$

где: $A = p(V_K - V_0)$ — работа против сил давления воздуха; $V_K = \frac{mRT}{\mu p}$ — конечный объем насыщенного пара; V_0 — начальный объем испаряемой воды; p — давление насыщенного пара; μ — молярная масса.

Следовательно, $\Delta U_2 = 0.4369 \text{ Дж}$, и для того, чтобы в пробирке образовался насыщенный пар, необходимо подвести к жидкости 24.8039 Дж.

Такое количество теплоты подводится к микропробирке еще в процессе нагрева в первой части цикла (нагрев до 94–95 °С). Образуется насыщенный пар, который при понижении температуры стенки микропробирки конденсируется на нее.

Рассмотрим процесс конденсации, происходящий в пробирке при охлаждении ее с 365 К до 325 К. Определяем максимальное количество воды, которое может содержать насыщенный пар при конечной температуре. При температуре 325 К один м³ насыщенного пара может содержать 90.82 грамма воды. В пересчете на объем воздуха в пробирке это $3.814 \cdot 10^{-5}$ грамма. Следовательно, всего конденсируется $1.50381 \cdot 10^{-4}$ грамма воды. Необходимо заметить, что конденсация будет проходить на поверхности, имеющие более низкую температуру, чем насыщенный пар, в том числе и на само зеркало исследуемого образца в пробирке. При конденсации водяного пара выделяется тепло, затраченное на испарение воды, входящего в него. Теплота парообразования равна теплоте конденсации при данных условиях

$$Q = \lambda m.$$

Для испарения $1.50381 \cdot 10^{-4}$ грамма воды требуется 0.3575 Дж. Это же количество теплоты будет выделено при конденсации такого объема воды при температуре 325 К. Выделяемое в процессе конденсации тепло передается стенкам пробирки, что несущественно влияет на результаты теплового расчета.

При нагреве пробирки в ней возникает насыщенный пар, который конденсируется при малейшем охлаждении на стенках пробирки. Таким образом, происходит циркуляция паров исследуемого образца в процессе термоциклирования: при нагреве вода испаряется, образуя насыщенный пар,

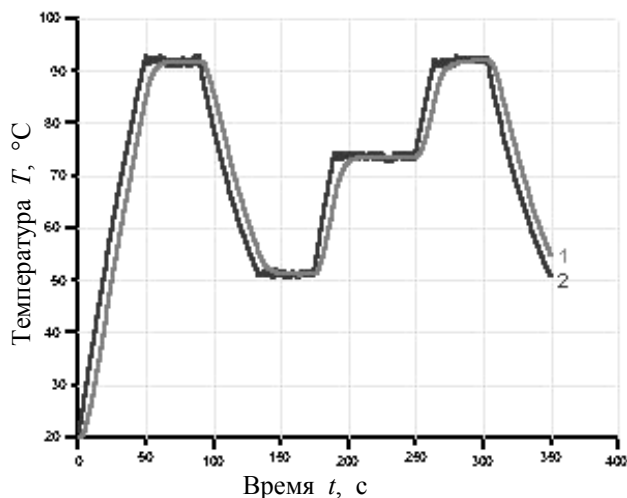


Рис. 2. График изменения температур исследуемого образца в пробирке и пластины-держателя

а при охлаждении конденсируется на стенках пробирки.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Для исследования теплового состояния исследуемого материала, находящегося в пробирке, был проведен ряд численных расчетов.

Исследованы тепловые состояния пробирки при ее циклировании, согласно температурному протоколу ПЦР. На рис. 2 показан график изменения температуры в исследуемом образце в пробирке и изменение температуры пластины-держателя в области соприкосновения с пробиркой. Кривая 1 — изменение температуры исследуемого образца, кривая 2 — изменение температуры пластины-держателя в области соприкосновения с пробиркой. Видно, что существует некий сдвиг по времени между процессами. Это обусловлено передачей тепла через материал самой пробирки. Фактор существования временного сдвига необходимо учитывать при конструировании прецизионных устройств.

Кроме этого, были проведены исследования, показывающие влияние движения воздуха, образованного в результате недостаточной герметизации воздушной камеры над пластиной-держателем. Скорость потока воздуха при расчете принималась равной 0.001 м/с. В качестве сопоставления результатов численных расчетов и результатов экспериментов представлено наглядное сравнение фотографии и графической интерпретации расчета (рис. 3).

Численный расчет проводился для пробирки, находящейся в начале режима охлаждения, для то-

го чтобы показать возникновение не только конденсата в области соприкосновения пробирки и пластины-держателя, но и в той части пробирки, на которую воздействует движение воздуха в воздушной камере. Для соответствия приведена фотография пробирки в начале процесса охлаждения.

На рис. 4 показано тепловое состояние биоматериала в режимах нагрева (рис. 4, б) и охлаждения (рис. 4, а).

Проведены эксперименты, в которых замерялась температура жидкости внутри пробирки. Для сопоставления результатов эксперимента и расчета в пробирке была вода. На рис. 5 показаны графики изменения температуры во времени воды в пробирке в эксперименте (график 1) и при численном моделировании (график 2). Видно, что графики практически совпадают.

Таким образом, результаты натурного и численного экспериментов как в виде качественного сравнения (фотография и расчетное изображение), так и в виде количественного сравнения (графики изменения температуры в исследуемом образце) говорят о правильности выбранного численного метода и адекватности математической модели процессам, происходящим в пробирке.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Составлена математическая модель, описывающая процессы, происходящие в пробирке с исследуемым образцом при проведении ПЦР.

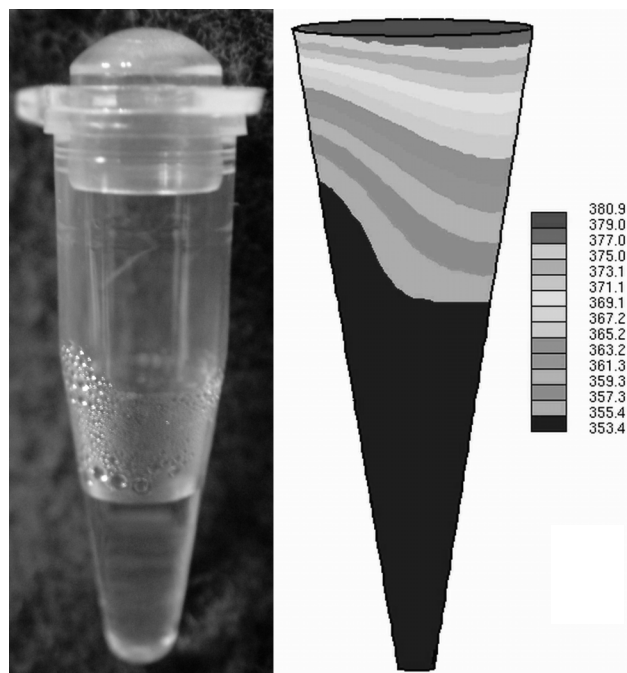


Рис. 3. Сравнение результатов эксперимента и численного расчета

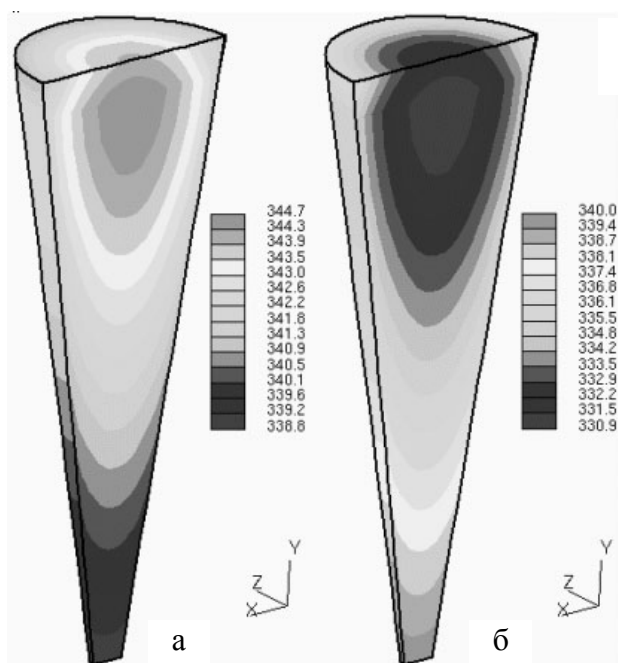


Рис. 4. Тепловое состояние биоматериала в режимах охлаждения (а) и нагрева (б)

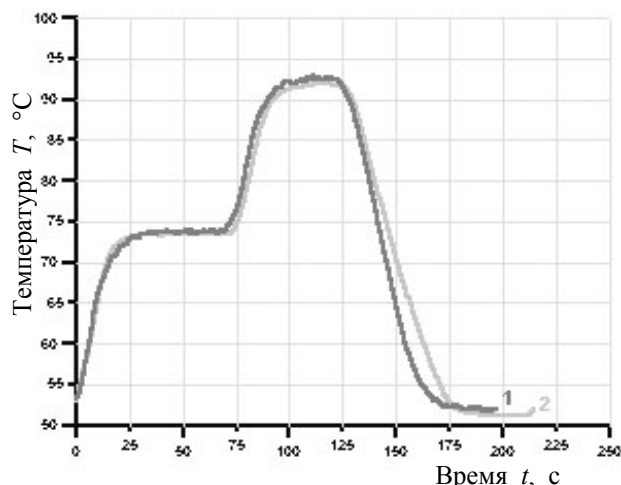


Рис. 5. Графики изменения температуры исследуемого образца в эксперименте (1) и расчете (2)

Рассмотрены и рассчитаны процессы конденсации и испарения исследуемого образца. Приведены сравнения результатов численного решения и эксперимента. Проведенное сравнение результатов эксперимента и численного расчета показывает, что полученную математическую модель можно использовать для исследования тепловых процес-

сов, проходящих в замкнутых полостях, содержащих микрообъемы жидкости и газа, при аналогичных граничных условиях. Кроме того, возможно проведение дальнейших исследований, позволяющих подобрать тепловые параметры прибора и теплофизические свойства используемых материалов, чтобы избежать появления конденсата.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Роуч П. Вычислительная гидродинамика. М.: Мир, 1980. 612 с.
2. Патанкар С. Численные методы решения задач теплообмена и динамики жидкости. Перевод с англ. М.: Энергоатомиздат, 1984. 152 с.
3. Александров А.А., Григорьев Б.А. Таблицы теплофизических свойств воды и водяного пара. М.: Изд-во МЭИ, 1999. 168 с.
4. Кюрджиев Ю.В. Моделирование рабочих процессов, разработка и модернизация пневматических систем и агрегатов с учетом образования конденсата рабочего тела. Дисс. ... канд. техн. наук. М.: МГТУ им. Н.Э. Баумана, 2004. 163 с.
5. Беляев Н.М., Рядно А.А. Методы нестационарной теплопроводности. М.: Высш. школа, 1978. 328 с.
6. Чернышев А.В., Белова О.В. Метод решения сопряженной задачи конвективного теплообмена на примере термостатирующего устройства // Вестник МГТУ. Сер. Машиностроение. 1998. № 4. С. 77–87.
7. Чернышев А.В., Друца В.Л. Проблемы создания оборудования для медицинской ПЦР-диагностики // Биомедицинские технологии и радиоэлектроника. 2004. № 12.
8. Чернышев А.В., Бакай Д.А. К вопросу исследования однородности теплового поля пластины-держателя твердотельного амплификатора ДНК // Научное приборостроение. 2004. Т. 14, № 4. С. 10–19.

Московский государственный технический университет им. Н.Э. Баумана (Чернышев А.В., Бакай Д.А.)

Институт аналитического приборостроения РАН, Санкт-Петербург (Курочкин В.Е.)

ОАО "Научные приборы", Санкт-Петербург (Соколов В.Н.)

Институт криминалистики, Москва (Скоблев Е.Ю.)

Материал поступил в редакцию 18.07.2005.

THERMAL STATE MODELING FOR THE MICROVIALS WITH SAMPLES DURING THE POLYMERASE CHAIN REACTION

**A. V. Chernyshev, D. A. Bakai, V. E. Kurochkin¹,
V. N. Sokolov², E. Yu. Skoblilov³**

N.E. Bauman Moscow State Technical University

¹*Institute for Analytical Instrumentation RAS, Saint-Petersburg*

²*Nauchnye Pribory Open Joint-Stock Company, Saint-Petersburg*

³*Institute of Criminalistics, Moscow*

The paper is devoted to the calculation of the thermal field of a microvial with the tested sample in a solid-state DNA amplificator during the polymerase chain reaction. The conditions for vaporization and vapor condensation of the samples are considered. The mathematical model of the process and calculation results are presented.