электронный научно-технический журнал
ИНЖЕНЕРНЫЙ ВЕСТНИК
Издатель ФГБОУ ВПО "МГТУ им. Н.Э. Баумана". Эл No. ФС77-51036. ISSN 2307-0595

Экспериментальное исследование течения жидкости через рабочие ячейки пневмовакуумной установки пробоподготовки

12, декабрь 2014

Пугачук А. С., Губинская Т. А., Чернышев А. В.

УДК: 532.685, 57.088.3

Россия, МГТУ им. Н.Э. Баумана
pugachukalexandr@mail.ru

Введение

На сегодняшний день наиболее распространенным методом проведения молекулярно-биологических исследований является метод полимеразной цепной реакции. Однако для применения этого метода необходимо иметь пробу, предварительно очищенную от загрязнителей и примесей белкового происхождения. Одним из методов проведения предварительной очистки пробы (этапа пробоподготовки) является метод вакуумной сепарации. В данной статье речь идет о применении метода вакуумной сепарации в пневмовакуумной установке для подготовки проб ДНК [1,2].

Актуальность исследования

В настоящее время существует несколько производителей, выпускающих лабораторное оборудование для пробоподготовки, принцип действия которого основан на методе вакуумной сепарации (установки вакуумной сепарации): Applied Biosystems (США), Tecan, Eppendorf, Qiagen (Германия) и др.[3,4,5]. Установки вакуумной сепарации просты в исполнении и имеют высокую производительность (количество подготовленных проб в единицу времени). Они применяются в различных областях деятельности человека: клинической диагностике, генной инженерии, криминалистике, сфере биологической безопасности и др. В качестве выделяемых высокомолекулярных структур могут быть различные соединения: ДНК, РНК, другие целевые белки. Одной из важнейших исследуемых структур является ДНК. Рассматриваемая в данной статье установка вакуумной сепарации предназначена для выделения ДНК. Принцип действия данного типа установок основан на

том, что раствор ДНК (исходный раствор) проходит через рабочие ячейки в блоке вакуумной сепарации и молекулы ДНК осаждаются на пористом теле [2]. Рабочая ячейка представляет собой микропробирку с отверстием в ее нижней части. Внутри ячейки располагается пористое тело. Ячейки объединяются в едином устройстве – планшете сорбции. Планшеты сорбции выполняются преимущественно в 96-луночном и 384-луночном форматах (96 и 384 ячейки соответственно).

Массовому распространению установок вакуумной сепарации в значительной степени препятствуют несколько факторов. Основным из них является отсутствие равномерности прохождения растворов ДНК через рабочие ячейки. В некоторых ячейках застаивается и скапливается часть исходного раствора ДНК, таким образом часть ДНК не попадает в готовую пробу. Каплеобразование в нижней части рабочей ячейки может привести к перекрестной контаминации. Данные факторы негативно сказываются на эффективности пробоподготовки – получении раствора ДНК с наименьшим содержанием примесей инородных белков и минимальными потерями исходного ДНК при условии минимальных затрат времени на процесс подготовки пробы. В целях повышения эффективности подготовки проб с помощью установок вакуумной сепарации проводится исследование основного рабочего процесса, протекающего в ячейках блока вакуумной сепарации. Процесс течения жидкости через пористые тела под действием перепада давления подробно изучен [6,7], однако применительно к установкам вакуумной сепарации имеется сравнительно мало исследований.

Экспериментальное исследование

Целью работы является экспериментальное исследование течения жидкости через рабочие ячейки установки вакуумной сепарации ДНК под действием перепада давления. Результаты исследования будут применены для улучшения качества очистки растворов исследуемых структур.

В ходе работы проведен эксперимент – через рабочие ячейки блока вакуумной сепарации пневмовакуумной установки пробоподготовки под действием перепада давления пропускалась жидкость. В качестве планшета сорбции использовался 96-луночный планшет производства фирмы “Orochem”. В качестве жидкости применялась вода, т.к. гидродинамические свойства раствора ДНК близки к свойствам воды. На рис. 1. представлена схема экспериментальной установки.

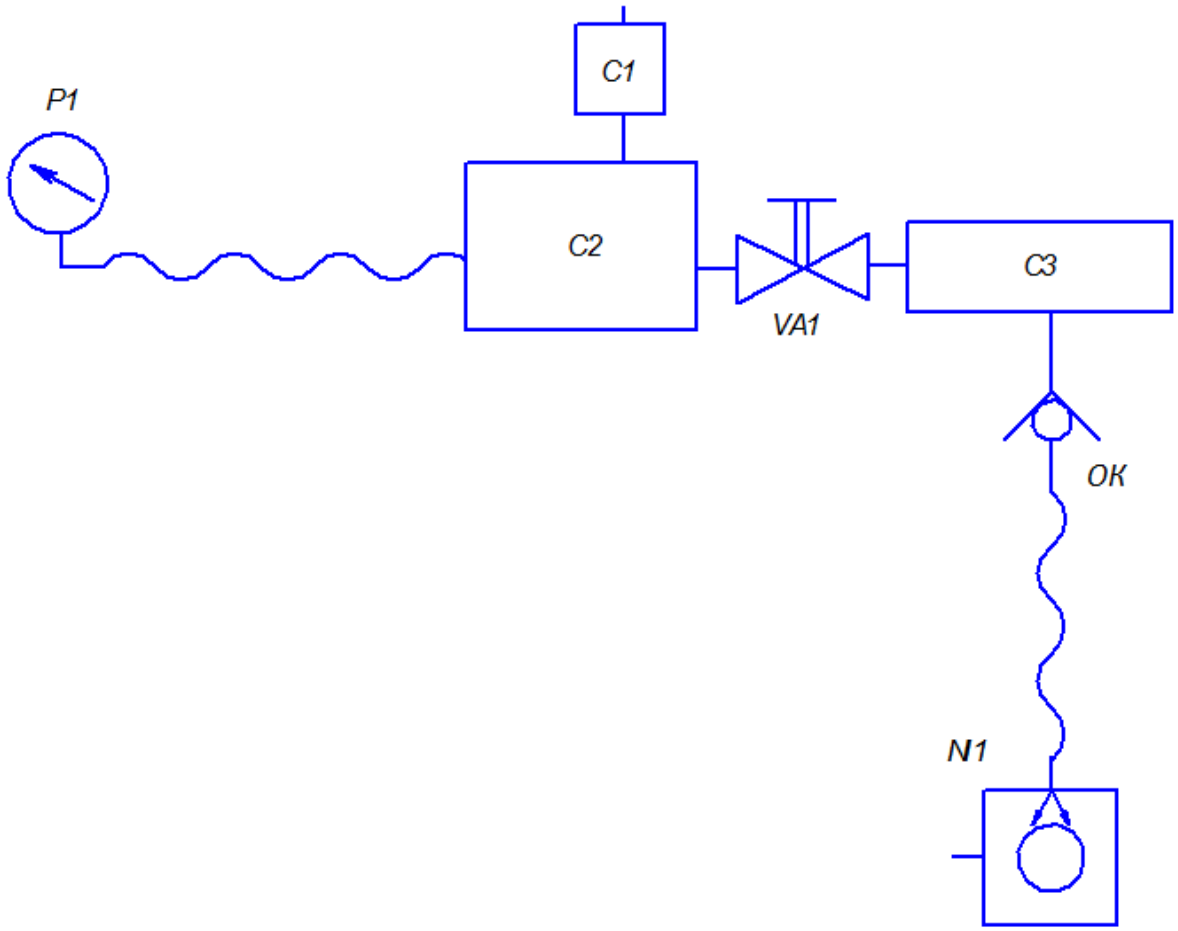

Рис. 1. Вакуумная схема экспериментальной установки:

N1 – мембранный вакуумный насос; ОК – обратный клапан; P1 – электронный вакуумметр; VA1 – вентиль; C1 – устройство для измерения расхода жидкости; C2 – вакуумная камера с рабочим планшетом; C3 – колба-ловушка объемом 0,5 л.

Целью эксперимента является оценка скорости прохождения жидкости через отдельные ячейки и анализ полученных данных. Проведение эксперимента состояло в следующем. Перед началом эксперимента в исследуемые ячейки вводились устройства для измерения расхода, а остальные ячейки герметично закрывались (рис. 2). Устройство для измерения расхода наполнялось жидкостью до 5 мл по шкале измерения. С помощью вакуумного насоса достигались нужные значения давления внутри блока вакуумной сепарации: 550…600 мм рт.ст. (73,3…80 кПа). Жидкость под действием перепада давления проходила через ячейку во внутреннюю полость вакуумной камеры блока сепарации. Проводилось измерение времени прохождения мениска воды вдоль шкалы устройства измерения расхода до отметок 4; 3; 2; 1 и 0 мл соответственно.

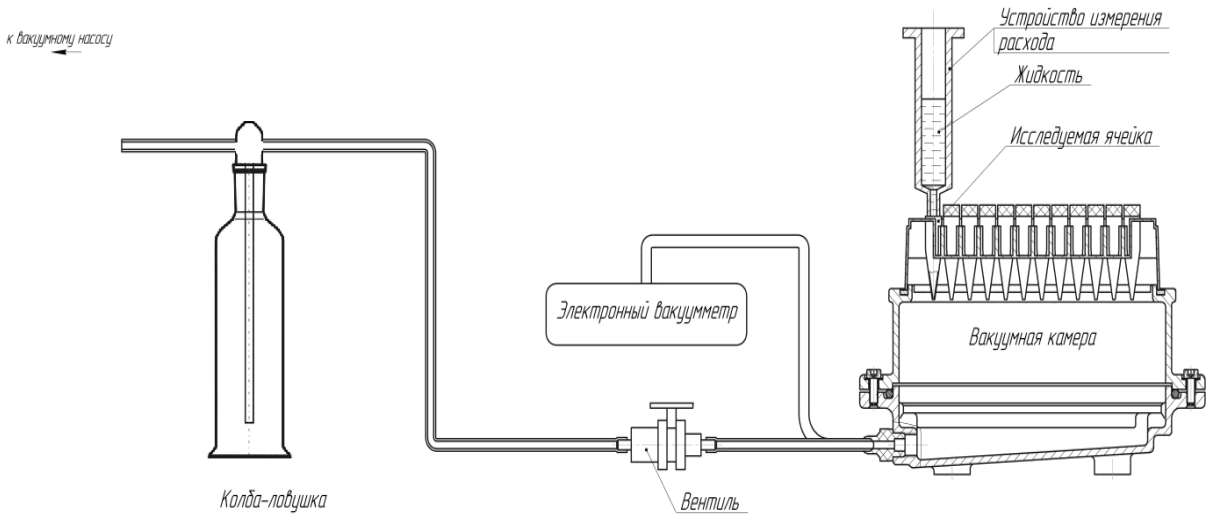

Рис. 2. Схема расположения элементов экспериментальной установки.

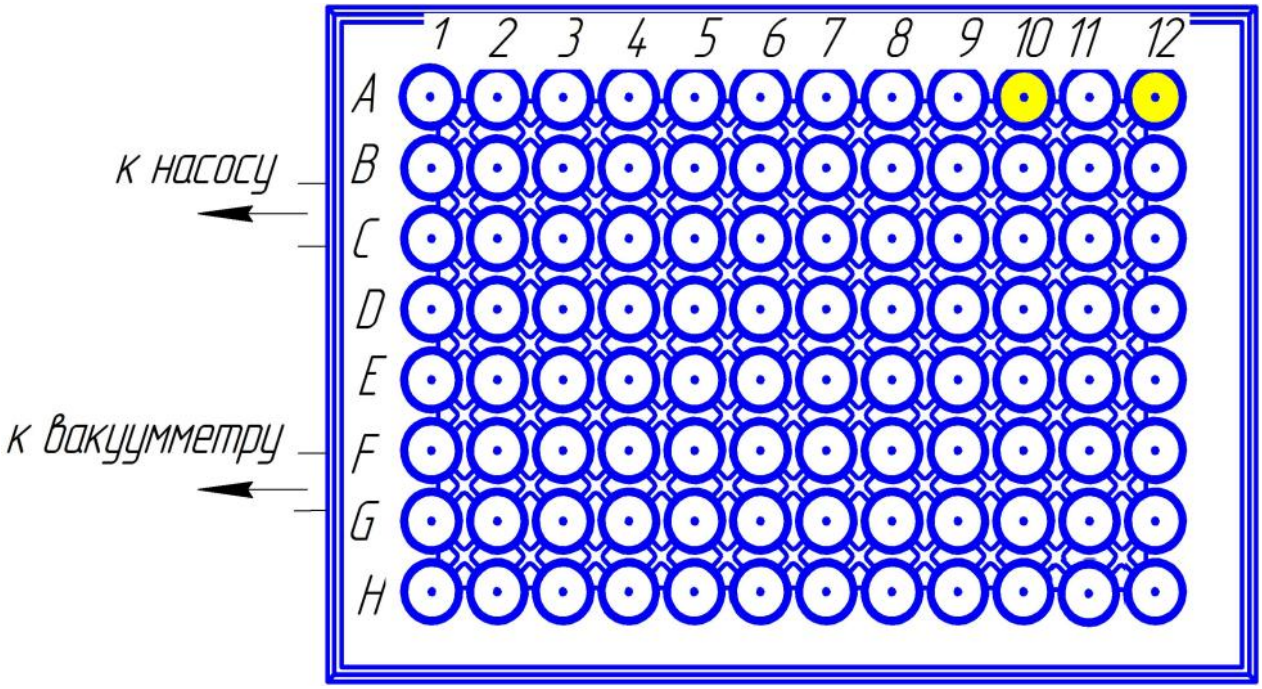

Рис. 3. Схема расположения ячеек на 96-луночном планшете производства фирмы “Orochem”.

В результате эксперимента получены данные времени прохождения некоторых объемов жидкости через ячейки A12, A10 блока вакуумной сепарации (рис. 3). Рассчитаны, соответственно, расходы жидкости через ячейки при определенных значениях давления в блоке сепарации. Экспериментальные данные по ячейке A12 показаны на графике (рис. 4).

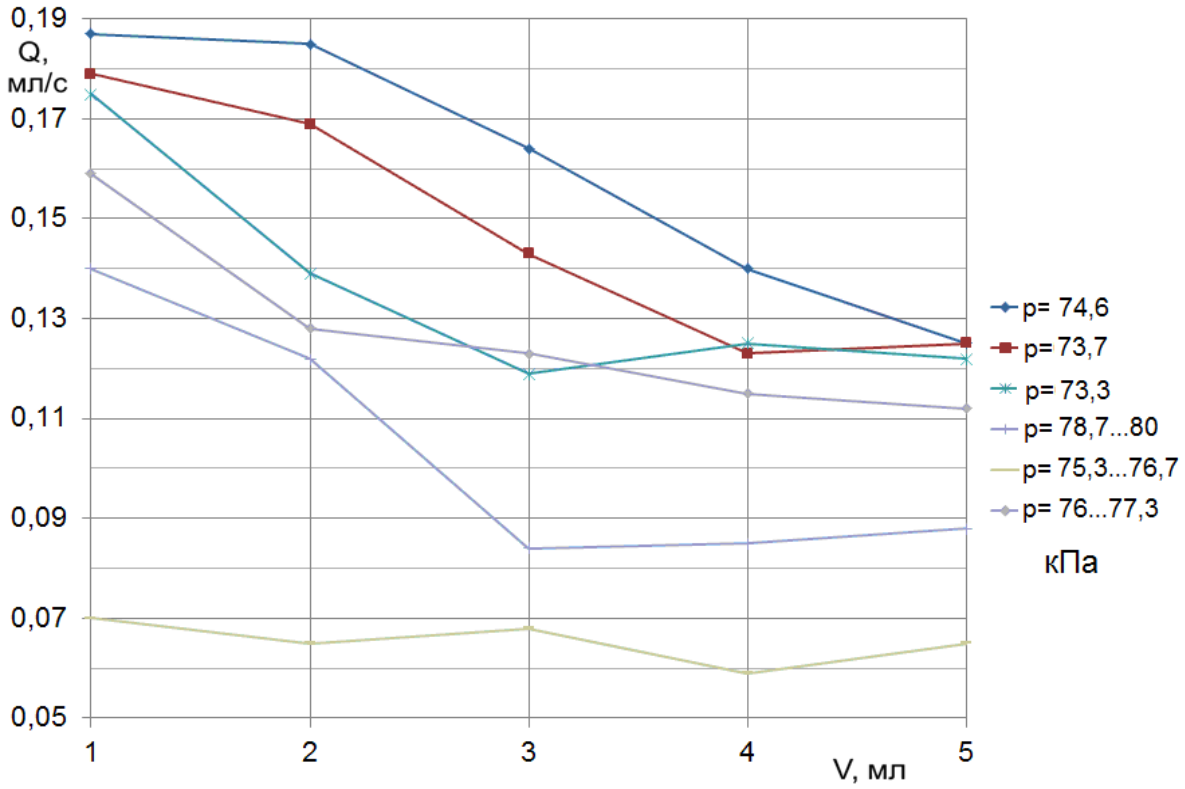

Рис. 4. Зависимость расхода жидкости Q (мл/с) через ячейку А12 от объема жидкости V (мл), прошедшей через ячейку.

Из приведенных данных можно заметить, что течение жидкости происходит неравномерно. Скорость жидкости в начальный момент времени максимальна и уменьшается при снижении уровня жидкости в устройстве измерения расхода. Уменьшение расхода связано с увеличением давления в блоке сепарации в течение опыта, то есть уменьшением перепада давлений на ячейке. Однако при проведении нескольких опытов при одинаковом перепаде давления на ячейке расход жидкости через нее также несколько уменьшается. Данный факт связан с тем, что пористое тело в ячейке загрязняется различными частицами-примесями и сопротивление прохождению жидкости увеличивается. Такой вывод можно сделать при анализе расхода жидкости в опыте с перепадом давления 565…575 мм рт.ст (75,3…76,7 кПа). При значительном перепаде давления в данном опыте наблюдается небольшой расход жидкости, т.е. сопротивление ячейки увеличено каким-либо загрязнением. В случае постоянного поддержания давления в блоке сепарации наблюдается снижение расхода через ячейку. Это может быть связано с уменьшением гидростатического давления жидкости над ячейкой, которое изменяется в диапазоне 0…5 мм рт.ст (0…0,67 кПа). В ходе нескольких опытов в блоке сепарации происходили колебания давлений, чаще всего в конце опыта давление резко возрастало на 10…20 мм рт.ст. (1,33…2,66 кПа), что приводило к уменьшению расхода. Колебания расхода в течение опыта связаны с погрешностью измерения времени, а в конце опыта – со снижением перепада давлений между атмосферой и вакуумной камерой. На результаты эксперимента негативно влияет тот факт, что прокачиваемая жидкость захватывает пузырьки воздуха, которые значительно

легче проходят через пористое тело, следовательно, расход в начале опыта несколько возрастает. В завершающей серии экспериментов наблюдается повышение расхода по сравнению с предыдущими экспериментами. Данный факт связан с тем, что пористый материал постепенно вымывается, загрязнения могут также вымываться. При этом гидравлическое сопротивление ячеек снижается, что способствует повышению расхода жидкости.

Анализ экспериментальных данных позволяет сделать следующие выводы:

1. В течение каждого опыта расход линейно снижается примерно на 30-40%, что связано с увеличением давления в блоке сепарации и снижением гидростатического давления в столбе жидкости внутри устройства измерения расхода.

2. С каждым последующим опытом наблюдалось уменьшение расхода примерно на 10-20%, что объясняется загрязнением ячейки и увеличением сопротивления течению жидкости.

3. Так как в разных ячейках при одинаковом давлении расход жидкости существенно отличался, то можно сделать вывод, что сопротивление прохождению жидкости через различные ячейки различается, что объясняется неравномерным распределением пористого материала.

4. Пористое тело при проведении множества опытов вымывается и гидравлическое сопротивление ячейки снижается, поэтому имеется тенденция повышения расхода через ячейку при долгой работе с одной ячейкой.

В результате научной работы получены экспериментальные рабочие характеристики блока вакуумной сепарации по отдельным ячейкам (А12 и А10). Анализ данных показал, что гидравлическое сопротивление ячеек в течение эксперимента существенно отличается, что связано с особенностями распределения пористого тела и его вымыванием.

Заключение

Анализ экспериментальных данных позволит усовершенствовать методику эксперимента. Полученные характеристики будут использованы при подтверждении адекватности математической модели основного рабочего процесса в блоке вакуумной сепарации: движения двухфазной смеси газа и жидкости через ячейки установки вакуумной сепарации ДНК. Результаты работы также могут быть использованы при создании новых модификаций установок вакуумной сепарации.

Список литературы

1. Пугачук А.С. , Чернышев. А.В. Разработка численной модели процесса вакуумной сепарации растворов ДНК // Вестник МГТУ им. Н.Э. Баумана. Сер. Машиностроение. 2012. СВ № 4. С. 79–92.
2. Пугачук А.С., Кузнецова Ю.С., Чернышев А.В. Разработка пневмовакуумной установки пробоподготовки // Студенческий научный вестник. Сер. “Профессионал”: Сб.

статей Молодежной научно-инженерной выставки «Политехника» – 2011. 21-24 ноября 2011 г. МГТУ им. Н.Э. Баумана, 2011. С. 168–174.
3. Каталог оборудования компании “Неосиб”. Режим доступа: http://neosib.ru/catalogue/biotech/rna-dna-clean (дата обращения: 27.02.2014)
4. Каталог оборудования компании “Tecan”. Режим доступа: http://www.tecan.com/platform/apps/product/index.asp?MenuID=3659&ID=7666&Menu=1&Item=21.2.8.3/. (дата обращения: 25.02.2014)
5. Каталог оборудования компании “Кранекс”. Режим доступа: http://www.kranex.ru/prod/labor/avtomatizatsija_laboratorij/avtomaticheskie_stantsii_epmotion_5075_vac/. (дата обращения: 05.03.2014)
6. Баренблатт Г.И., Ентов В.М., Рыжик В.М. Движение жидкостей и газов в природных пластах. М.: Недра, 1984. 211 с.
7. Коновалов, А.Н. Задачи фильтрации многофазной несжимаемой жидкости. М.: Наука. Сиб. отд-ние, 1988. 166 с.