

**О высоких скоростях замораживания и охлаждения
биологических объектов в цилиндрических контейнерах
при их погружении в жидкий азот**

В.И. БАБЕНКО¹, В.И. ГРИШЕНКО², А.В. ДУНАЕВСКАЯ²

¹Физико-технический институт низких температур им. Б.И. Веркина НАН Украины, г. Харьков

²Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

**About High Rates of Biological Objects' Freezing and Cooling
in Cylindrical Containers When Immersing Them Into Liquid Nitrogen**

V.I. BABENKO¹, V.I. GRISCHENKO², A.V. DUNAYEVSKAYA²

¹*B.I. Verkin Physical and Technical Institute for Low Temperatures
of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov*

²*Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy
of Sciences of the Ukraine, Kharkov*

Экспериментально и теоретически исследовалась теплопередача в многокомпонентных криозащитных средах при высоких скоростях охлаждения в цилиндрических контейнерах. В качестве модели среды использован 1 М раствор глицерина на фосфатном буфере.

Ключевые слова: высокие скорости замораживания, цилиндрический контейнер, криозащитная среда, раствор глицерина на фосфатном буфере.

Експериментально і теоретично досліджувалась теплопередача в багатокомпонентних криозахисних середовищах при високих швидкостях охолодження в циліндричних контейнерах. Як модель середовища використано 1 М розчин гліцерину на фосфатному буфері.

Ключові слова: високі швидкості заморожування, циліндричний контейнер, криозахисне середовище, розчин гліцерину на фосфатному буфері.

The heat transfer in multicomponent cryoprotective media under high cooling rates in cylindrical containers was experimentally and theoretically studied. As the medium model 1M phosphate buffer glycerol solution was used.

Key-words: high rates of freezing, cylindrical container, cryoprotective medium, phosphate buffer glycerol solution.

Наряду с нашедшим широкое применение криоконсервированием биологических объектов с программным замораживанием при низких скоростях охлаждения, в ряде случаев используется высокоскоростное охлаждение их прямым погружением в жидкий азот либо в другие хладоносители. Криоконсервирование с высокими скоростями охлаждения позволяет получить высокую сохранность некоторых видов клеток, занимает меньше времени и при этом не требуется использовать дорогостоящие замораживатели. В работах [1, 3] было исследовано влияние высоких скоростей охлаждения на выживаемость спермиев после отогрева. Замораживание проводили прямым погружением контейнеров с образцами в жидкий азот. Криозащитная среда представляла собой сложную многокомпонентную систему, содержащую глицерин, глюкозу, цитрат натрия, желток и воду. При изучении процессов теплообмена в этих средах поставлен специальный эксперимент [2], в котором моделью для крио-

Along with a widely applied cryopreservation of biological objects with a programmable freezing under low cooling rates there is sometimes used their high-rate cooling by a direct immersion into liquid nitrogen or into other coolants. Cryopreservation with high cooling rates enables obtaining a high preservation rate for certain cell types, takes less time and does not require the usage of expensive freezers. In the papers [1, 3] there was studied the effect of high cooling rates on spermatozoa survival after thawing. Freezing was performed using a direct immersion of containers with samples into liquid nitrogen. Cryoprotective medium represents a complicated polycomponent system, containing glycerol, glucose, sodium nitrate, yolk and water. When studying the heat exchange processes in these media there was performed a special experiment [2] where ethyl alcohol was taken as the model. Thermophysical calculation and the analysis of heat exchange in the liquid nitrogen-container-alcohol system were carried-out. There was obtained a good coincidence of experimental and calculation data on

Адрес для корреспонденции: Дунаевская А.В., Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, ул. Переяславская, 23, г. Харьков, Украина 61015; тел.:+38 (057) 373-31-19, факс: +38 (057) 373-30-84, e-mail: cryo@online.kharkov.ua

Address for correspondence: Dunayevskaya A.V., Institute for Problems of Cryobiology&Cryomedicine of the Natl. Acad. Sci. of Ukraine, 23, Pereyaslavskaya str.,Kharkov, Ukraine 61015; tel.:+380 57 373 3119, fax: +380 57 772 0084, e-mail: cryo@online.kharkov.ua

защитных сред взят этиловый спирт. Проведен теплофизический расчет и дан анализ теплообмена в системе жидкий азот-контейнер-спирт. Получено хорошее совпадение экспериментальных и расчетных данных о скоростях охлаждения спирта, что в частности, подтверждает корректность выбора исходной математической модели при описании теплообмена в системе азот-контейнер-спирт [2]. В этой модели пренебрегалось конвективным теплообменом, влиянием торцов контейнера и нестационарностью теплообмена на границе контейнера с азотом.

Продолжая исследования теплопередачи в криозащитных средах [2], в данной работе мы рассматриваем в качестве модели криозащитной среды 1 М раствор глицерина на фосфатном буфере. В экспериментах в процессе замораживания и охлаждения этой среды измерялась ее температура. В расчетах получены зависимости локальных скоростей охлаждения в различных точках среды и средних скоростей охлаждения среды от времени, температуры, а также описана динамика смещения переднего фронта замораживания среды и вычислено время замораживания основной ее массы.

Материалы и методы

Методика проведения экспериментов была та же, что и в [2]. Использовали один из 3-х контейнеров [1, 3] – катетер, представляющий собой полый толстостенный цилиндр с внешним радиусом $r_c=0,25$ см и внутренним $r_m=0,56$ и длиной 7,26 см. Контейнер изготовлен из полиэтилена высокого давления низкой плотности. Контейнер, заполненный средой при комнатной температуре $T_0=290$ К, погружали в сосуд с жидким азотом, сохраняя его горизонтальное положение. Температуру среды T_t в окрестности оси симметрии контейнера измеряли медь-константановой термопарой с рабочим спаем диаметром 0,03 см.

В расчетах для описания теплопередачи в системе азот-контейнер-среда принимаем ту же математическую модель, что и в [2]. Наличие фазового перехода (жидкость-твердое тело) в рассматриваемой модели среды учитываем методом энтальпии [4]. За исходное берем следующее нестационарное уравнение теплопроводности в цилиндрических координатах:

$$c^* \frac{\partial T}{\partial \tau} = \frac{1}{r} \frac{\partial}{\partial r} \left(r \lambda \frac{\partial T}{\partial r} \right) \quad \tau > 0; 0 < r < r_c \quad (1)$$

при начальном условии

$$T(r,0)=T_0 \quad (2)$$

cooling rates for alcohol, that, in particular, confirmed the selection correctness of the initial mathematical model when describing the heat exchange in nitrogen-container-alcohol system [2]. In this model we neglected a convective heat exchange, effect of container end faces and heat exchange nonstationarity on the boundary of container with nitrogen.

When being in progress with investigations of heat transfer in cryoprotective media [2] in this work we consider 1 M phosphate buffer glycerol solution as the model of cryoprotective medium. In the experiments during this medium freezing and cooling we measured its temperature. Dependencies of local cooling rates in different points of medium and average cooling rates of medium on temperature time were obtained in calculations, as well as the dynamics of anterior front shift of medium freezing was described with calculating the time of freezing for its principal mass.

Materials and methods

The methods for experiment performance were the same as in the paper [2]. We used one of three containers [1, 3], that was a catheter, representing a hollow thick-walled cylinder with an external radius $r_c=0.25$ cm and internal one of $r_m=0.56$ and 7.26 cm length. Container was manufactured from high-pressure polyethylene. The medium-filled container at room temperature $T_0=290$ K was immersed into a vessel with liquid nitrogen with keeping its horizontal position. Medium temperature T_t near the symmetry axis of container was measured with a copper-constantan thermocouple with a hot junction of 0.3 cm diameter.

The same mathematical model as in the paper [2] was assumed in calculations for heat transfer description in nitrogen-container-medium system. The presence of phase transfer (liquid-solid body) in the considered model of medium was registered using the enthalpy method [4]. The following non-stationary equation for heat conduction in cylindrical coordinates was taken as the initial one:

$$c^* \frac{\partial T}{\partial \tau} = \frac{1}{r} \frac{\partial}{\partial r} \left(r \lambda \frac{\partial T}{\partial r} \right) \quad \tau > 0; 0 < r < r_c \quad (1)$$

at an initial condition

$$T(r,0)=T_0 \quad (2)$$

and at the boundary conditions

$$\frac{\partial T(0, \tau)}{\partial r} = 0; T(0, \tau) < \infty; \quad (3)$$

$$T(r_c, \tau) = T_N; \quad (4)$$

и при краевых условиях

$$\frac{\partial T(0, \tau)}{\partial T} = 0; \quad T(0, \tau) < \infty; \quad (3)$$

$$T(r_c, \tau) = T_N; \quad (4)$$

условная удельная теплоемкость

$$c^* = \rho c_p + \frac{\partial(\rho L)}{\partial T}; \quad (5)$$

где $T(r, \tau)$ – температура; τ – время; r – радиальное расстояние до оси симметрии контейнера; $r \leq r_m$ – объем, занимаемый средой; $r_m \leq r \leq r_c$ – стенка цилиндрического контейнера, который в расчете считается бесконечно длинным; $\rho(T)$ – плотность; $c_p(T)$ – удельная теплоемкость; $\lambda(T)$ – коэффициент теплопроводности; T_N – температура жидкого азота.

Как и в работе [10], для удельной скрытой теплоты плавления $L(T)$ рассматриваемой модели среды принимаем следующее выражение, предложенное в [8] для бинарной системы вода – хлорид натрия:

$$L = L_0 \left(1 - \frac{0,530}{273,15 - T} \right) \quad (6)$$

с полной величиной удельной скрытой теплоты плавления $L_0 = 150$ Дж/кг 1 М раствора глицерина на фосфатном буфере [10]. Согласно [2] фазовый переход (т.е. замораживание) при охлаждении рассматриваемой модели среды начинается с температуры $T = T_{ph} = 272,62$ К, когда $L = 0$. Назовем ее температурой фазового перехода (замораживания), а поверхность $r = r_{ph}$, в точках которой температура среды опустилась до $T = T_{ph}$ – поверхностью раздела фаз (или передним фронтом замораживания). В области $r < r_{ph}$ среда остается еще в жидкой фазе с температурой $T > T_{ph}$, в то время как в любом единичном объеме в окрестности точек области $r > r_{ph}$ температура среды $T < T_{ph}$, поэтому согласно (6) часть единичного объема среды, равная L/L_0 , находится уже в твердой фазе, а остальная его часть остается жидкой.

Отметим, что удельная скрытая теплота плавления L в общем случае зависит от температуры среды и скорости ее охлаждения. Однако, как показано в [10], зависимость L от скорости охлаждения оказывает незначительное влияние на изменение во времени температуры среды. Поэтому в данной работе мы пренебрегаем влиянием скорости охлаждения среды на ее удельную скрытую теплоту плавления (6).

when the relative heat capacity equals

$$c^* = \rho c_p + \frac{\partial(\rho L)}{\partial T}; \quad (5)$$

where $T(r, \tau)$ is temperature; τ – time; r – radial distance to the container's symmetry axis; $r \leq r_m$ – volume, taken by medium; $r_m \leq r \leq r_c$ – a wall of cylindrical container, which considered as an infinitely long in calculation; $p(T)$ – density; $c_p(T)$ – specific heat capacity; $\rho(T)$ – heat conduction coefficient; T_N – liquid nitrogen temperature.

As in the paper [10], for specific latent melting heat $L(T)$ of the considered model of medium we accept the following expression, proposed in the paper [8] for water-sodium chloride binary system:

$$L = L_0 \left(1 - \frac{0.530}{273.15 - T} \right) \quad (6)$$

with a complete value of specific latent melting heat $L_0 = 150$ J/kg of 1M phosphate buffer glycerol solution [10]. According to the [2] a phase transfer (i.e. freezing) at cooling of the considered model of medium starts from the temperature $T = T_{ph} = 272.62$ K, when $L = 0$. Let's define it as the temperature of phase transfer (freezing) and the surface $r = r_{ph}$, in which points the medium temperature decreased down to $T = T_{ph}$ will be the phase boundary (or front edge of freezing). In the range $r < r_{ph}$ the medium is still in a liquid phase with $T > T_{ph}$ temperature, whereas in any single volume near points of $r > r_{ph}$ area the medium temperature is $T < T_{ph}$, therefore according to the (6) a part of the medium single volume, equal to L/L_0 is even in a solid phase but its rest is liquid.

Of note is that a specific latent melting heat L in general case depends on the medium temperature and its cooling rate. However, as it is shown in the paper [10] the dependency L on cooling rate causes a slight effect on a change in time of medium temperature. Therefore in this work we neglect the effect of cooling rate of medium on its specific latent melting heat (6).

Thermophysical characteristics of nitrogen-container-medium system are shown in the Table. For the medium and container they were taken from the papers [10] and [5-7], correspondingly. The Table data for container were approximated by polynomials.

The equation for heat conduction (1) was quasi-linear with ruptured coefficients with breaks on the phase boundary $r = r_{ph}$ and on an internal surface of container $r = r_m$.

Boundary problem (1)–(4) was solved using the finite-difference method by a proper implicit scheme, a non-linear differential boundary problem, to which the boundary problem is reduced and the iterative method for its solving are described in the paper [2].

Теплофизические характеристики системы азот-контейнер-среда приведены в таблице. Для среды они заимствованы из [10], а для контейнера – из [5-7]. Табличные данные для контейнера аппроксимировали многочленами.

Уравнение теплопроводности (1) – квазилинейное с разрывными коэффициентами с разрывами на поверхности раздела фаз $r=r_{ph}$ и на внутренней поверхности контейнера $r=r_m$.

Краевая задача (1)-(4) решалась конечно-разностным методом по чисто неявной схеме, нелинейная разностная краевая задача, к которой сводится краевая задача, и итерационный метод ее решения описаны в [2]. Отметим, что на каждом шаге итерации положение поверхности раздела фаз $r=r_{ph}$ определяем по полю температур $T(r, \tau)$, вычисленному на предыдущем шаге по времени. По координате r была принята кусочно-равномерная сетка с шагом, равным 0,02 и 0,002 r_c . Шаг временной сетки равнялся 0,02 и 0,01 с. На каждом шаге итерации линеаризованная разностная краевая задача решалась методом прогонки. Результаты расчета приведены на рис. 1-6.

Рис. 1 иллюстрирует изменение во времени температуры в системе азот-контейнер-среда: на стенках контейнера, в среде вдоль оси симметрии контейнера и на границе центральной части объема среды, внутри которой (согласно расчетам работы [2]) средние скорости охлаждения изменяются незначительно. В какой мере это явление имеет место и в рассматриваемом случае представление можно получить также при анализе кривых рис. 2 и 5, на которых показано соответственно распределение температуры и локальных скоростей охлаждения в радиальном направлении в системе контейнер-среда при различных значениях времени τ .

Результаты и обсуждение

Проведенные нами расчеты показали, что при погружении в жидкий азот контейнера со средой происходит охлаждение среды, а начиная с 0,92-й секунды – ее замораживание в пристенном слое среды ($r=r_m$), где температура среды снижается к этому моменту до температуры фазового перехода (замораживания) $T=T_{ph}$. Далее поверхность раздела фаз $r=r_{ph}$ (т.е. поверхность, на которой температура среды снизилась до температуры фазового перехода $T=T_{ph}$) смещается к оси симметрии контейнера, достигая ее при 8,92 с (рис. 4). Кривая зависимости $r_{ph}(\tau)$ сходна с соответствующими кривыми, полученными в [10] при анализе задач криохирургии.

Процесс замораживания основной части каждого элементарного объема среды (т.е. замораживания 95% его массы при снижении температуры от $-0,53$ до $-10,6^\circ\text{C}$) происходит в течение 0,83 с у

Теплофизические характеристики материалов, используемых в модели системы азот-контейнер-среда
Thermophysical characteristics of materials used in the model of nitrogen-container-medium system

Система System	Наименование величин и единицы их измерения Values and units of measurement	Численные значения величин Numerical values
Система System	T_0, K	190
Жидкий азот Liquid Nitrogen	T_N, K	77,2
Раствор 1 М глицерина на фосфатном буфере PBS with 1 M glycerol	$L_0, \text{Дж/г}$ J/g	150
Среда Medium	T_{ph}, K	272,62
Жидкая среда Liquid medium	$\rho, \text{г/см}^3$ g/cm^3	0,999
	$c_p, \text{Дж/г}\cdot\text{K}$ $\text{J/g}\cdot\text{K}$	4,2
	$\lambda, \text{Вт/см}\cdot\text{K}$ $\text{W/cm}\cdot\text{K}$	0,00552
Замороженная среда Frozen medium	$\rho, \text{г/см}^3$ g/cm^3	0,921
	$c_p, \text{Дж/г}\cdot\text{K}$ $\text{J/g}\cdot\text{K}$	0,138 + 0,00716T
	$\lambda, \text{Вт/см}\cdot\text{K}$ $\text{W/cm}\cdot\text{K}$	$0,0224 + 5,975 \cdot 10^{-5} (273 - T)^{1,156}$
Контейнер Container	$\rho, \text{г/см}^3$ g/cm^3	$0,932[1 - \alpha \cdot 10^{-4}(T - 273)]$
	$c_p, \text{Дж/г}\cdot\text{K}$ $\text{J/g}\cdot\text{K}$	$1,771[1 + (T - 273)^2]$
	$\lambda, \text{Вт/см}\cdot\text{K}$ $\text{W/cm}\cdot\text{K}$	$0,00324[1 + (T - 273)^2]$

Примечания: $c_1=7,0677 \cdot 10^{-3}$; $c_2=4,4580 \cdot 10^{-5}$; $c_3=1,8357 \cdot 10^{-7}$; $c_4=2,438 \cdot 10^{-10}$; $\alpha=5,1$ ($T \geq 273$); $\lambda_1=-1,9813 \cdot 10^{-3}$; $\lambda_2=3,401 \cdot 10^{-6}$; $\lambda_3=1,3043 \cdot 10^{-7}$; $\lambda_4=2,560 \cdot 10^{-10}$; $\alpha=4,7$ ($T < 273$).

Notes: $c_1=7,0677 \cdot 10^{-3}$; $c_2=4,4580 \cdot 10^{-5}$; $c_3=1,8357 \cdot 10^{-7}$; $c_4=2,438 \cdot 10^{-10}$; $\alpha=5,1$ ($T \geq 273$); $\lambda_1=-1,9813 \cdot 10^{-3}$; $\lambda_2=3,401 \cdot 10^{-6}$; $\lambda_3=1,3043 \cdot 10^{-7}$; $\lambda_4=2,560 \cdot 10^{-10}$; $\alpha=4,7$ ($T < 273$).

It should be noted that to the each iteration step the position of phase boundary $r=r_{ph}$ is determined by the temperature field $T(r, \tau)$, calculated at a previous step by the time. According to co-ordinate r there was accepted a sectionally uniform mesh with the step, equal to 0.02 and 0.002 r_c . The step of time mesh was equal to 0.02 and 0.01 sec. At each iteration step a linearised differential boundary problem was solved using the double-sweep method. The calculation results are presented in the Fig. 1, b.

The Fig. 1 demonstrates the temperature change in nitrogen-container-medium system in time: on container walls in the medium along the container's symmetry axis and at the boundary of central part of medium volume, inside of which (according to calculations of

пристенной области и 0,33 с – в центральной части контейнера. Итак, процесс замораживания среды распространяется по ее объему в течение ~ 8 с, а замораживание основной массы каждого элементарного объема среды происходит со средней скоростью 730-1830 град/мин, причем скорость замораживания тем выше, чем ближе к оси симметрии контейнера расположен рассматриваемый элементарный объем среды.

После завершения процесса замораживания основной массы среды средняя скорость ее охлаждения резко возрастает в центральной части контейнера, достигая 3600 град/мин на 9-10-й секунде, и начиная с 10-й секунды, охлаждение всех элементарных объемов среды идет почти синхронно со средней скоростью ~2200 град/мин, которая с ~13-й секунды начинает монотонно убывать. Таким образом, до начала процесса замораживания локальная скорость охлаждения среды тем выше, чем ближе к внутренней поверхности контейнера расположен рассматриваемый элементарный объем среды. Это явление мы наблюдали в большом диапазоне температур при охлаждении спирта [2], что имеет место и в гипотетической модели среды, определяемой формулой (6) и таблицей, в которой изменено лишь значение температуры фазового перехода T_{ph} с 272,62 К на 100 К (полученные нами результаты вычислений приведены на рис. 6). С началом процесса замораживания происходит

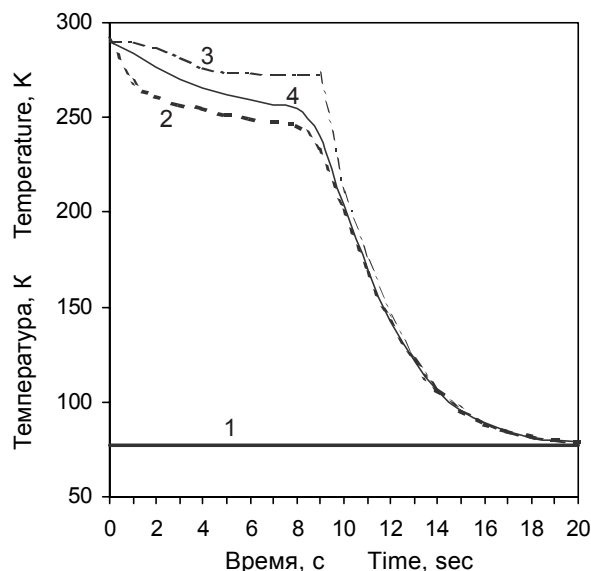


Рис. 1. Изменение во времени температуры системы азот-контейнер-среда: 1 – температура на внешней поверхности контейнера; 2 – на внутренней поверхности; 3 – в окрестности оси симметрии контейнера; 4 – на границе центральной части объема среды ($r \leq 0,44r_c$).

Fig. 1. Temperature change in time of in nitrogen-container-medium system: 1 – temperature on external surface of container; 2 – temperature on internal surface; 3 – temperature near symmetry axis of container; 4 – temperature on boundary of central part of medium volume ($r \leq 0,44r_c$).

the paper [2]) the average cooling rates change insignificantly. In which extent this phenomenon occurs even in the considered case we can judge when analysing the Fig. 2 and 5 curves as well, where there is shown the distribution of temperature and local cooling rates, respectively, in a radial direction in contained-medium system under different values of time τ .

Results and discussion

The performed calculations demonstrated that when immersing container with medium into liquid nitrogen the medium cooling occurred and starting from 0.92 sec there was its freezing in a wall layer of medium ($r=r_m$), where the medium temperature reduced to that moment down to the phase transfer temperature (freezing) $T=T_{ph}$. Then the phase boundary $r=r_{ph}$ (i.e. the surface where the medium temperature decreased down to the phase transfer temperature $T=T_{ph}$) is shifted to the container's symmetry axis by reaching it at 8.92 sec. Dependency curve $r_{ph}(\tau)$ is similar to the corresponding curves, obtained in the paper [10] when analysing the cryosurgery problems.

Freezing process of the main part of each elementary volume of medium (i.e. freezing of 95% of its mass under temperature decrease from -0.53 down to -10.6°C) occurs within 0.83 sec in a wall area and for 0.33 sec in a central part of container. Thus, the process of medium freezing spreads on its volume within ~8 sec and the freezing of a principal

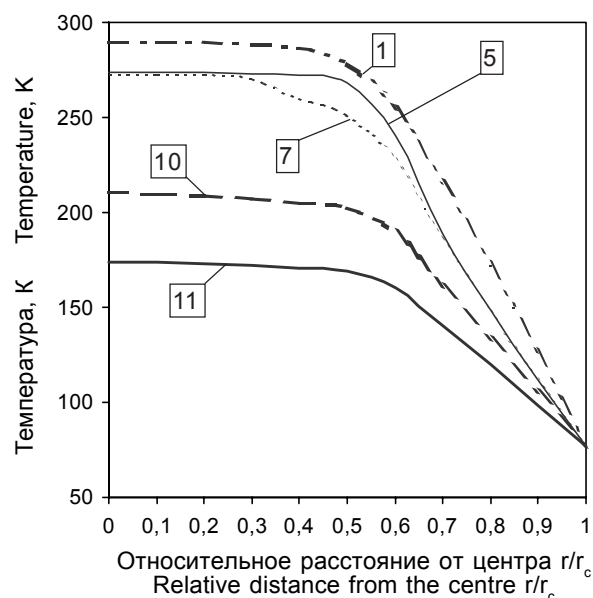


Рис. 2. Изменение температуры в радиальном направлении в системе контейнер-среда при $\tau = 1, 5, 7, 10$ и 11 с (указано на рисунке в прямоугольниках).

Fig. 2. Temperature change in a radial direction in container-medium system at $\tau = 1, 5, 7, 10$ and 11 sec (shown on plot in squares).

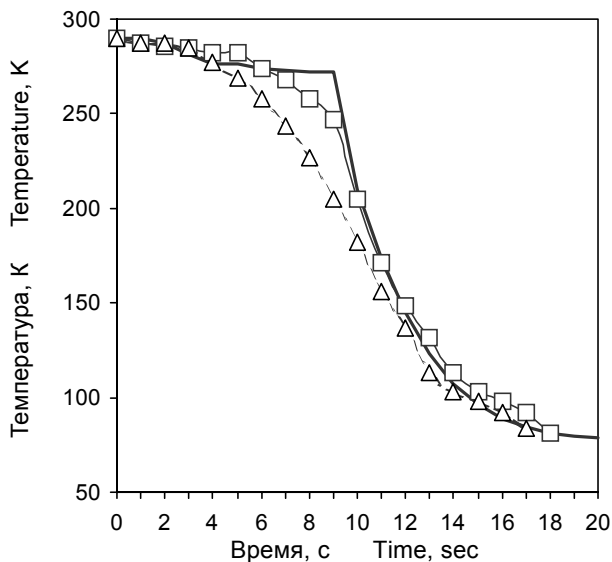


Рис. 3. Изменение во времени температуры, средней по части объема среды ($r \leq 0,12 r_c$) в окрестности оси симметрии контейнера: — – расчетная температура, средняя по части объема среды ($r \leq 0,12 r_c$), в которой находился спай термопары; \square – температура T_i (раствор 1М глицерина на фосфатном буфере), измеренная термопарой; \triangle – температура криозащитной среды [1, 3], содержащей воду, глицерин, глюкозу, цитрат натрия, яичный желток, измеренная термопарой.

Fig. 3. Change in time of temperature, being average by a part of medium volume ($r \leq 0.12 r_c$) near container's symmetry axis: — – specified temperature, average by a part of medium volume ($r \leq 0.12 r_c$), where thermocouple junction was placed; \square – temperature T_i (1 M phosphate buffer glycerol solution), measured with a thermocouple; \triangle – temperature of cryoprotective medium, containing water, glycerol, glucose, sodium citrate and egg yolk [1, 3], measured with a thermocouple.

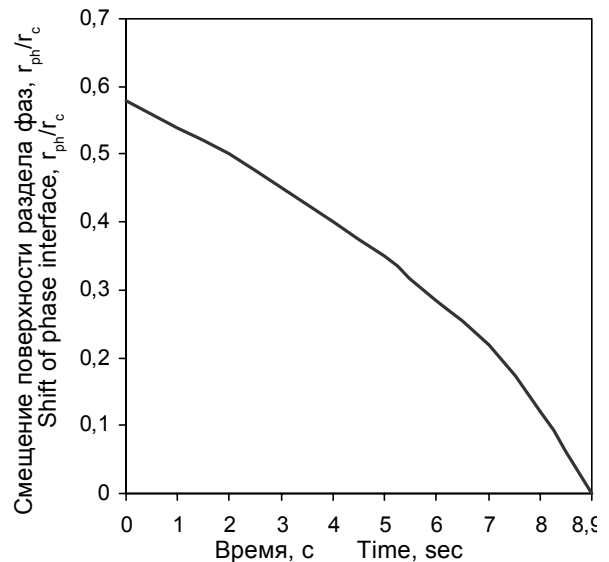


Рис. 4. Смещение поверхности раздела (фаз) $r=r_{ph}$ при $T=T_{ph}$.

Fig. 4. Shift of interface (of phases) $r=r_{ph}$ at $T=T_{ph}$.

mass of each elementary medium volume occurs with an average rate of 730-1830 grad/min, at that the freezing rate the higher is, the closer the considered elementary medium volume to symmetry axis is.

After completing the freezing for the principal mass of medium an average rate of its cooling is sharply increased in a central part of container by reaching 3600 grad/min to the 9-10 sec and starting from 10 sec the cooling of all elementary medium volumes proceeds almost synchronously with an average rate ~ 2200 grad/min, which starts monotonely decrease from ~ 13 sec. Thus, prior to freezing begins, a local cooling rate of medium is the higher the closer to internal container surface is the considered elementary volume of medium. We observed this phenomenon in a wide temperature range under alcohol cooling [2], that occurs in hypothetical model of the medium, determined by the formula (6) and Table, where only the value of phase transfer temperature T_{ph} changed from 272.62 K to 100 K (the results of calculations we obtained were presented in the Fig. 6). With beginning of freezing process the release of latent melting heat occurs and as a result the distribution of medium cooling rates on its volume changes. In such a case the presence of a break on time-temperature curves in the points, close to container's symmetry axis is typical. The same situation occurs during freezing with slow cooling rates. To compare the Fig. 7 shows the taken from the paper [9] results of a change in medium temperature with time when cooling the container's external surface with a comparatively slow rate (20 grad/min). It should be noted as well, that in contrast to the medium freezing with high cooling rates, after completing the process of medium freezing using slow cooling rates no approach of temperature-time

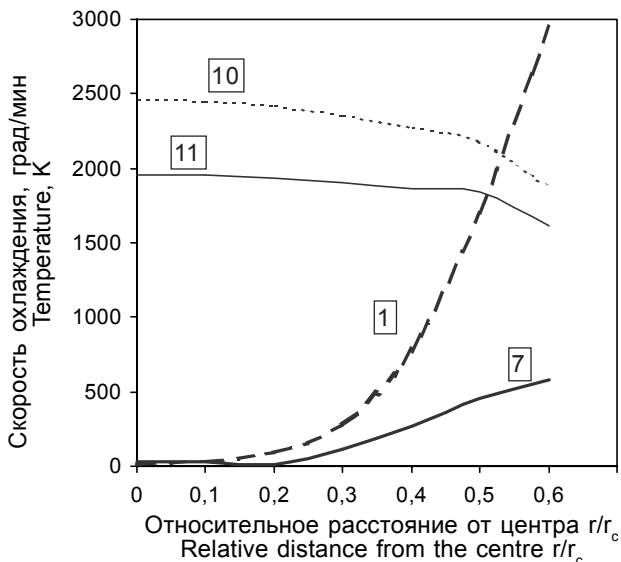


Рис. 5. Изменение локальных скоростей охлаждения среды в радиальном направлении при $\tau=1,7,10,11$ с (указано на рисунке в прямоугольниках).

Fig. 5. Change in local cooling rates of medium in a radial direction at $\tau=1, 7, 10$ and 11 sec (shown on plot in squares).

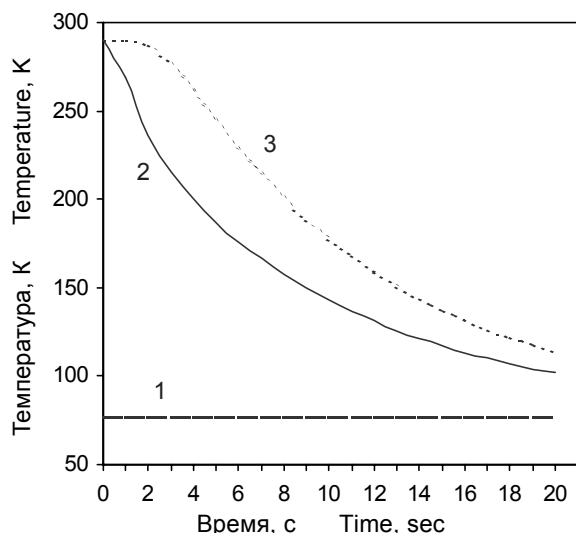


Рис. 6. Расчетные зависимости температура-время для гипотетической среды с $T_{ph}=100$: 1 – температура на внешней поверхности контейнера; 2 – на внутренней поверхности; 3 – в окрестности оси симметрии контейнера.

Fig. 6. Calculated temperature-time dependencies for hypothetical medium with $T_{ph}=100$: 1 – temperature on external surface of container; 2 – temperature on internal surface of container; 3 – temperature near symmetry axis of container.

выделение скрытой теплоты плавления и, как следствие, распределение скоростей охлаждения среды по ее объему изменяется. Характерным при этом является наличие излома на кривых температура-время в точках, близких к оси симметрии контейнера. Такая же ситуация имеет место и при замораживании с малыми скоростями охлаждения. Для сравнения на рис. 7 приведены заимствованные из [9] результаты изменения температуры среды со временем при охлаждении внешней поверхности контейнера со сравнительно малой скоростью (20 град/мин). Заметим также, что в отличие от замораживания среды с высокими скоростями охлаждения при малых скоростях охлаждения после завершения процесса замораживания среды не наблюдается сближение кривых зависимости температура-время, построенных для различных точек объема среды (см. поведение кривых на рис. 1 и 7).

На рис. 3 дается сравнение расчетной температуры, средней по части объема среды $r \leq 0,12 r_c$, где находился в экспериментах рабочий спай термопары, с температурой среды, измеренной в эксперименте термопарой в окрестности оси симметрии контейнера. Оказалось, что расчетные и экспериментальные результаты достаточно близки всюду, кроме некоторой окрестности точки изгиба на расчетной кривой 1. На рис. 3 также приведены экспериментальные результаты, полученные нами в этом исследовании при

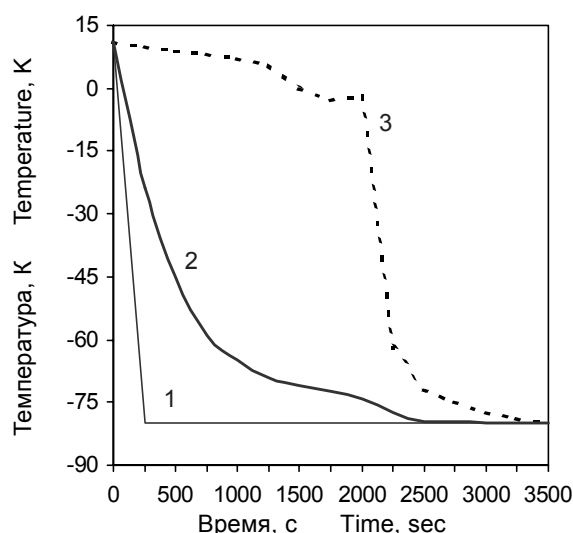


Рис. 7. Расчетные зависимости температура-время, полученные в [8] при малых скоростях охлаждения (20 град/мин): 1 – температура на внешней поверхности контейнера; 2 – на внутренней поверхности; 3 – в окрестности оси симметрии контейнера.

Fig. 7. Computational temperature-time dependencies, obtained in [8] at low cooling rates (20 grad/min): 1 – temperature on external surface of container; 2 – temperature on internal surface of container; 3 – temperature near symmetry axis of container.

dependency curves, built for different points of medium volume is observed (see the curve behaviour in the Fig. 1 and 7).

The Fig. 3 shows the comparison of specified temperature, being average by a part of medium volume $r \leq 0,12 r_c$, where the hot junction of thermocouple was placed in the experiment, with medium temperature, measured in the experiment with thermocouple near the container's symmetry axis. It occurred to be that the specified and experimental results were well close everywhere, except certain neighbourhood of bend point on specified curve 1. The Fig. 3 demonstrates the experimental results, obtained by us when freezing one of cryoprotective media, used in the papers [1, 3]. When comparing the curve 3 with a specified curve 1 of Fig. 3 we conclude, that the considered binary model of medium repeats satisfactorily a qualitative picture of temperature change with time in polycomponent cryoprotective medium in a central part of container.

Conclusions

Thus, the used model (see (6) and Table) of binary medium (1M phosphate buffer glycerol solution) describes quite well the change with time of medium temperature in a central part of container during its immersion into liquid nitrogen. This model can be used when qualitatively analysing a change with time in the temperature of complicated polycomponent cryoprotective medium under high rates of its cooling.

замораживании одной из криозащитных сред, которые были использованы в работах [1, 3]. Сравнивая кривую 3 с расчетной кривой 1 рис. 3, заключаем, что рассматриваемая здесь бинарная модель среды удовлетворительно воспроизводит качественную картину изменения со временем температуры в многокомпонентной криозащитной среде в центральной части контейнера.

Выводы

Таким образом, используемая модель (см. (6) и таблицу) бинарной среды (1 М раствор глицерина на фосфатном буфере) достаточно хорошо описывает изменение со временем температуры среды в центральной части контейнера при его погружении в жидкий азот. Эту же модель можно использовать при качественном анализе изменения со временем температуры сложной многокомпонентной криозащитной среды при высоких скоростях ее охлаждения.

Литература

1. Грищенко В.И., Дунаевская А.В., Калугин Ю.В. Влияние быстрых и сверхбыстрых скоростей замораживания на сохранность спермиев человека // Пробл. криобиологии.– 2000.– №2.– С. 52-57.
2. Грищенко В.И., Дунаевская А.В., Бабенко В.И. К определению скорости охлаждения биологических объектов в цилиндрических контейнерах // Пробл. криобиологии.– 2002.– №1.– С. 7-13.
3. Дунаевская А.В., Крамар М.И. Изменение состояния нуклеарного хроматина спермиев человека в процессе криоконсервации // Медицина сегодня и завтра.– 2000.– №3.– С. 13-15.
4. Самарский А.А., Моисеенко Б.Д. Экономная схема сквозного счета для многомерной задачи Стефана // Журн. вычисл. мат. и мат. физики.– 1965.– Т. 5, №5.– С. 816-827.
5. Сочава И.В., Трапездникова О.Н. Теплоемкость цепных структур при низких температурах // ДАН СССР.– 1957.– Т. 113, №14.– С. 784-786.
6. Справочник по физической химии полимеров. Т. 2. – Киев: Наук. думка, 1984.– 330 с.
7. Шифрина В.С., Самосатский Н.Н. Полиэтилен. – М.: Химия, 1961.– 320 с.
8. Hayes L.J., Diller K.R., Chang H.J. A robust numerical method for latent heat release during phase change // ASME-HTD.– 1986.– Vol. 62.– P. 63-69.
9. Hayes L.J., Diller K.R., Chang H.J. and Lee H.S. Prediction of local cooling rates and cell survival during the freezing of a cylindrical specimen // Cryobiology.– 1988.– Vol. 25.– P. 67-82.
10. Smith D.J., Devireddy R.V., Bishof J.C. Prediction of thermal history and interface propagation during freezing in biological systems – latent heat and temperature-dependent property effects // Proceedings of the 5th ASME/JSME Joint Thermal Engineering Conference.– San Diego, California: AJTE 99, 1999.– P. 6520.

Поступила 28.09.2004

References

1. Grischenko V.I., Dunayevskaya A.V., Kalugin Yu.V. Action of rapid and suprarapid rates of freezing on survival of human spermatozoa // Problems of Cryobiology.– 2000.– N2.– P. 52-57.
2. Grischenko V.I., Dunayevskaya A.V., Babenko V.I. To the determination of cooling rate of biological objects in cylindrical containers // Problems of Cryobiology.– 2002.– N1.– P. 7-13.
3. Dunayevskaya A.V., Kramar M.I. Change in the state of nuclear chromatin of human spermatozoa during cryopreservation // Meditsina segodnya i zavtra.– 2000.– N3.– P. 13-15.
4. Samarsky A.A., Moiseyenko B.D. Economical scheme of through calculation for Stephen's problem // Zhurnal vychislitel'noj matematiki i matematicheskoy fiziki.– 1965.– Vol. 5, N5.– P. 816-827.
5. Sochava I.V., Trapezdnikova O.N. Heat capacity of chain structures under low temperatures // Doklady Akademii Nauk SSSR.– 1957.– Vol. 113, N14.– P. 784-786.
6. Reference book on physical chemistry of polymers. Vol. 2.– Kiev: Naukova dumka, 1984.– 330 p.
7. Shifrina V.S., Samosatsky N.N. Polyethylene.– Moscow: Khimiya, 1961.– 320p.
8. Hayes L.J., Diller K.R., Chang H.J. A robust numerical method for latent heat release during phase change // ASME-HTD.– 1986.– Vol. 62.– P. 63-69.
9. Hayes L.J., Diller K.R., Chang H.J. and Lee H.S. Prediction of local cooling rates and cell survival during the freezing of a cylindrical specimen // Cryobiology.– 1988.– Vol. 25.– P. 67-82.
10. Smith D.J., Devireddy R.V., Bishof J.C. Prediction of thermal history and interface propagation during freezing in biological systems – latent heat and temperature-dependent property effects // Proceedings of the 5th ASME/JSME Joint Thermal Engineering Conference.– San Diego, California: AJTE 99, 1999.– P. 6520.

Accepted in 28.09.2004.