

Streszczenie pracy doktorskiej

mgr inż. Przemysław Smakulskiego

pt. Wykorzystanie kriogenicznej metody rozpylania cząstek stałych do długoterminowego przechowywania materiału biologicznego

Promotor: dr hab. inż. Sławomir Pietrowicz, prof. PWr

Długoterminowe przechowywanie materiału biologicznego wiąże się z wieloma możliwymi uszkodzeniami mechanicznymi i termicznymi powstającymi podczas procesu schładzania. Najbardziej niebezpieczne z perspektywy długoletniej konserwacji są uszkodzenia mechaniczne powstałe w wyniku zewnątrz- oraz wewnątrzkomórkowej propagacji lodu. W badaniach nad skutecznością przechowywania komórek oraz tkanek coraz większą uwagę poświęca się rozwojowi nowych technik chłodniczych, minimalizujących szkody powstałe w wyniku nadmiernego tworzenia się lodu.

Jedną z zaproponowanych metod jest wykorzystanie rozpylacza cząstek stałych azotu do ultraszybkiego schładzania materiału biologicznego wraz z powstaniem lodu (metoda „slow freezing”) lub bez powstawania kryształków lodu (zeszklenie roztworu wodnego metodą „vitrification”). Rozpylacz stałych cząsteczek azotu, w odróżnieniu od tradycyjnych sposobów bazujących na bezpośrednim zanurzeniu próbki z materiałem biologicznym do ciekłego azotu, omija problem związany z krzywą wrzenia w zakresie temperatur najbardziej newralgicznych dla komórek. Przez to możliwe jest uzyskanie wyższych współczynników wymiany ciepła, co bezpośrednio wpływa na jakość zamrażania.

Niniejsza praca obejmuje badanie możliwości wykorzystania rozpylacza cząstek stałych azotu do zamrażania w celu długoterminowego przechowywania materiału biologicznego.

W celu ustalenia możliwości zamrażania metodą „slow freezing” jak i „vitrification” wykonano serię testów w laboratorium Multiphase Flow Energy Laboratory przy Institute of Fluid Science Tohoku University (Japonia). Testy pozwoliły na wyznaczenie krzywych temperaturowych od czasu oraz porównanie otrzymanych wartości gęstości strumienia ciepła do krzywej wrzenia dla ciekłego azotu. Uzyskane wyniki pokazały ok. trzykrotnie wyższe gęstości strumienia ciepła w stosunku do gęstości strumienia ciepła uzyskanej na drodze wrzenia błonowego dla ciekłego azotu.

W metodzie tzw. wolnego zamrażania (z ang. slow freezing) dużą rolę odgrywa dyfuzja masy soli w roztworze soli fizjologicznej, której koncentracja zmienia się wraz z propagacją frontu zamrażania. Stężenie soli narasta w kierunku zgodnym do kierunku propagacji lodu, powodując różnicę w stężeniach soli wewnątrz- oraz zewnątrzkomórkowej przestrzeni. Dzięki tej różnicy potencjałów chemicznych, woda znajdująca się w komórce wydostaje się poprzez półprzepuszczalną membranę komórki, która w krótkim odstępie czasu jest nieprzepuszczalna dla soli. Dzięki tej właściwości, możliwe jest uzyskanie stanu równowagi, w którym wewnątrzkomórkowa przestrzeń pozostaje niezamrożona w temperaturach kriogenicznych i możliwe jest jej długoterminowe przechowywanie.

Mając na uwadze rozmiary pojedynczych komórek biologicznych rzędu 10^{-5} m oraz trudności detekcji zmiany koncentracji stężenia soli w roztworze, zdecydowano się na matematyczne zamodelowanie procesu zamrażania pojedynczej komórki. Model matematyczny obejmuje propagację lodu wraz z transportem masy roztworu wodnego soli, oraz ruchem membrany komórki biologicznej. Model został zbudowany z wykorzystaniem bibliotek OpenFOAM z implementacją metody Phase Field w celu detekcji granicy faz. Na potrzeby walidacji modelu numerycznego została przeprowadzona seria pomiarów makroskopowych badająca dynamikę propagacji frontu zamrażania z wykorzystaniem w/w rozpylacza. Dodatkowo, w modelu numerycznym uwzględniono wpływ przechłodzenia oraz fluktuacji termicznych na formowanie się anizotropowych struktur podczas zamrażania lodu.