

## ИССЛЕДОВАНИЕ РАСХОДНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК ПЛАНШЕТА ОЧИСТКИ УСТАНОВКИ ВАКУУМНОЙ СЕПАРАЦИИ ДНК

А.С. Пугачук

pugachukalexandr@mail.ru

А.Ю. Тен

andreiten94@mail.ru

МГТУ им. Н.Э. Баумана, Москва, Российская Федерация

---

### Аннотация

*Работа посвящена экспериментальному исследованию течения рабочей среды под действием перепада давления в ячейках с сорбентом в установках вакуумной сепарации ДНК. Изучено явление неравномерности течения рабочей среды через ячейки. Получены расходные характеристики для ячеек. Проанализировано изменение расхода рабочей среды в зависимости от объема прошедшей через ячейку жидкости и перепада давления.*

### Ключевые слова

*Пробоподготовка, метод вакуумной сепарации, расход жидкости, ДНК, планшет очистки*

Поступила в редакцию 12.06.2017

© МГТУ им. Н.Э. Баумана, 2017

---

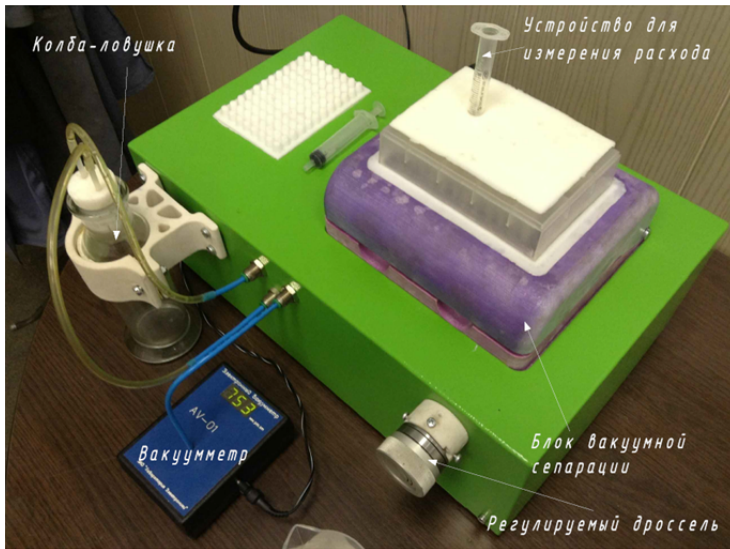
В настоящее время в медицине широко применяют два основных метода биологических исследований. Первый метод — это иммуноферментного анализа, второй — полимеразной цепной реакции [1]. При этом в обоих случаях необходимо предварительно очистить исследуемый раствор с пробой от загрязнений и различных примесей, то есть провести пробоподготовку [2]. Одним из методов проведения предварительной очистки раствора является метод вакуумной сепарации [3].

В мировой практике используют различное лабораторное оборудование для подготовки проб, с помощью которого реализуется пробоподготовка. Установки для проведения пробоподготовки, принцип действия которых основан на методе вакуумной сепарации, производятся в США, Германии и др. Выпускается преимущественно автоматизированное оборудование, способное подготовить большое количество проб за одну процедуру пробоподготовки [4]. В качестве выделяемых высокомолекулярных структур могут выступать ДНК, РНК, различные белковые соединения. Одной из самых важных структур, подвергаемых исследованию, является ДНК.

Существует ряд причин, препятствующих массовому использованию оборудования для пробоподготовки. Главная из них — отсутствие равномерного прохождения растворов ДНК через рабочие ячейки [5]. Неравномерность прохождения жидкости через ячейки при полной автоматизации процесса может привести к тому, что часть исходного раствора останется в одной или нескольких рабочих ячейках, тем самым не позволит провести очистку раствора и получить пробу, удовлетворяющую условиям проведения молекулярно-биологических исследований.

Проблема неравномерности очистки ДНК очень актуальна. Поэтому данная работа посвящена изучению описанной проблемы с помощью проведения экспериментального исследования рабочих процессов, целью которого является исследование расходных характеристик рабочей ячейки установки вакуумной сепарации ДНК при течении рабочей среды под действием перепада давлений.

Для проведения экспериментального исследования рабочих процессов в установках пробоподготовки на кафедре «Вакуумная и компрессорная техника» МГТУ им. Н.Э. Баумана был разработан экспериментальный стенд (рис. 1) [6]. Рассматриваемая установка предназначена для выделения ДНК [3], используя метод вакуумной сепарации. Принцип действия ее основан на том, что исходный раствор, содержащий в себе исследуемые ДНК, проходит через рабочие ячейки в блоке вакуумной сепарации, и молекулы ДНК осаждаются на пористом теле. Рабочая ячейка представляет собой микропробирку с отверстием на дне. Внутри ячейки находится пористое тело. Ячейки располагаются на специальном устройстве (планшете очистки).

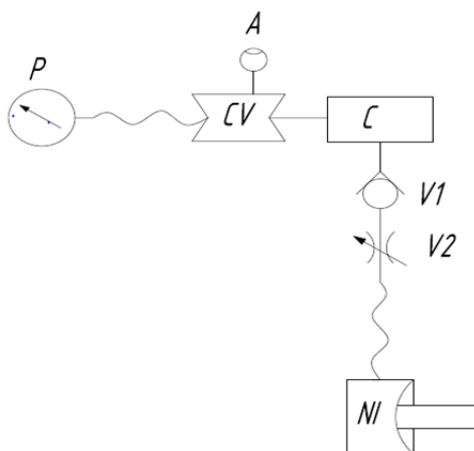


**Рис. 1.** Разработанный экспериментальный стенд (установка)

Суть эксперимента заключалась в том, что через рабочие ячейки планшета очистки пневмовакuumной установки пробоподготовки под действием перепада давления пропускали рабочую среду. В качестве рабочей среды была выбрана вода, поскольку она по своим гидродинамическим свойствам близка к свойствам раствора ДНК. В качестве планшета очистки использовали 96-луночный планшет производства фирмы «Orochem». На рис. 2 представлена схема экспериментальной установки [7, 8].

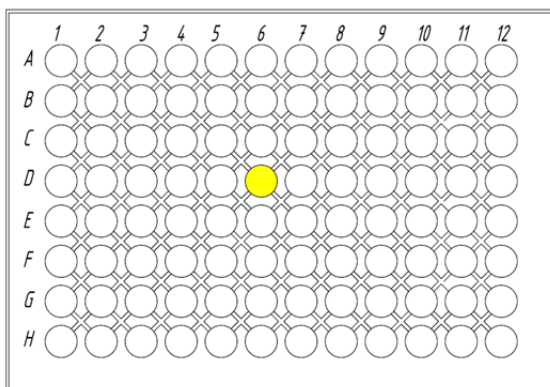
Эксперимент проводился следующим образом. Перед началом работ в исследуемые ячейки вводили устройство для измерения расхода, а остальные ячейки герметично закрывали. Устройство для измерения расхода наполняли

жидкостью до 5 мм по шкале измерения. Давление в вакуумной камере достигало 53,33...66,66 кПа (400...500 мм рт. ст.) при откачке ее мембранным насосом. Жидкость под действием перепада давлений переходила через ячейку во внутреннюю полость вакуумной камеры блока сепарации. Для исследования была выбрана D6 (рис. 3). Проводился ряд замеров времени прохождения мениска жидкости вдоль шкалы устройства измерения расхода, соединенного с исследуемой ячейкой.



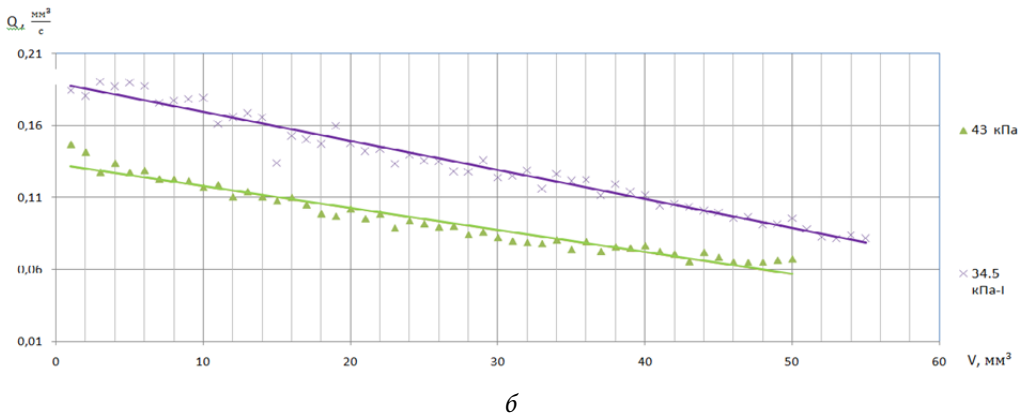
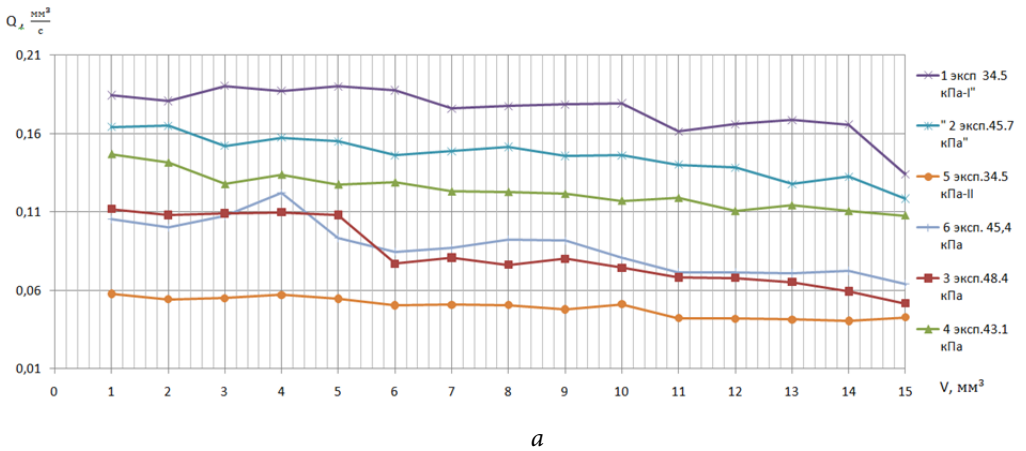
**Рис. 2.** Вакуумная схема экспериментальной установки:

NI — мембранный вакуумный насос; V<sub>1</sub> — обратный клапан; P — электронный вакуумметр; V<sub>2</sub> — дроссель; A — устройство для измерения расхода жидкости; CV — вакуумная камера с рабочим планшетом; C — колба-ловушка объемом 0,5 л



**Рис. 3.** Расположение исследуемой ячейки планшета очистки

В ходе эксперимента получены данные о времени прохождения некоторых объемов жидкости через ячейку D6 блока вакуумной сепарации, вычислены расходы жидкости через ячейки при определенных значениях перепада давления в блоке сепарации. Экспериментальные данные представлены на рис. 4. Графики представляют собой зависимость расхода жидкости от объема жидкости, проходящей через рабочую ячейку.



**Рис. 4.** Зависимость расхода от пройденного через ячейку объема жидкости:

*a* — при прохождении 15 мл жидкости при различных перепадах давления; *б* — при прохождении объемов жидкости более 15 мл

Во время проведения эксперимента расход жидкости постепенно снижался, то есть гидравлическое сопротивление ячейки со временем повышалось. Это может быть вызвано:

- загрязнением различными частицами. Случается, если вода, проходящая через рабочую ячейку планшета очистки, содержит в себе различные частицы и примеси, которые не могут пройти через пористое тело и засоряют его;
- сорбцией рабочей среды. В качестве сорбента ДНК, расположенного в рабочих ячейках, выступал материал на основе силикагеля ( $\text{SiO}_2$ ). Так как он является сильным сорбентом жидкости, то при прохождении воды пористое тело, состоящее из порошка на основе силикагеля, сорбирует ее, тем самым заполняя поры, через которые может проходить жидкость.

Анализ экспериментальных данных позволяет сделать некоторые выводы. Течение рабочей среды через рабочую ячейку сопровождается постепенным снижением расхода. Расход жидкости в начальный момент максимальный и постепенно уменьшается при увеличении количества прошедшей через ячейку

жидкости. Это явление, возможно, связано с тем, что сорбент внутри ячейки загрязняется различными примесями и частицами, и сопротивление прохождению жидкости увеличивается.

При увеличении перепада давлений между атмосферным давлением над ячейкой и давлением в камере, под ячейкой, расход рабочей среды увеличивается. Однако стоит заметить, что в опыте, проведенном в начале эксперимента при перепаде давлений 34,66 кПа (260 мм рт. ст.) расход больше, чем при втором эксперименте, когда перепад давлений составил 45,33 кПа (340 мм рт. ст.). Это также связано с тем, что гидравлическое сопротивление ячейки с увеличением количества прошедшей через нее жидкости возрастает.

Гидравлическое сопротивление ячейки в начале следующего эксперимента ниже, чем в конце предыдущего эксперимента, что подтверждают графики расхода (см. рис. 4).

Во время третьего эксперимента наблюдался более низкий расход по сравнению с четвертым экспериментом, хотя перепад давлений во втором случае меньше. Это связано с тем, что после третьего эксперимента через исследуемую ячейку длительное время проходил воздух, который осушил пористое тело, снизив составляющую гидравлического сопротивления, обусловленную сорбцией жидкости.

Повторный эксперимент с перепадом давления 34,66 кПа (260 мм рт. ст.) показал, что сопротивление пористого тела значительно увеличилось, так как расход при проведении пятого эксперимента существенно меньше, по сравнению с первым. Следовательно, при длительном использовании ячейки (пропускании жидкости через нее) ее сопротивление возрастает, сорбент загрязняется.

Во время первого, третьего и шестого экспериментов наблюдались резкие изменения расхода, также отмечены пузырьки воздуха внутри ячейки. Их попадание в ячейку и стало причиной резких изменений расхода. Данный фактор связан со способом проведения эксперимента и может быть устранен только путем усовершенствования методики эксперимента.

Максимальная погрешность измерения расхода составила 15 %, что может быть связано с колебаниями давлений во время эксперимента в блоке сепарации. Погрешность измерения времени прохождения мениска рабочей среды между делениями устройства измерения расхода также оказывает влияние на общую погрешность эксперимента.

**Заключение.** Экспериментальное исследование рабочих процессов в установке вакуумной сепарации показало, что расход рабочей среды через ячейку планшета очистки под действием постоянного перепада давлений снижается в зависимости от времени или объема прошедшей жидкости. На гидравлическое сопротивление пористого тела в ячейке влияют факторы загрязненности рабочей среды и сорбции жидкости в пористом теле. Принято решение усовершенствовать предложенную методику эксперимента путем использования в последующих экспериментах фильтрованной жидкости. Исследование позволило выявить и другие факторы, влияющие на течение внутри рабочей ячейки план-

шета очистки, например колебания давлений в блоке сепарации, пузырьки воздуха в ячейке. Полученные характеристики расхода использованы при разработке и оценке адекватности математической модели двухфазного течения рабочей среды в установке вакуумной сепарации.

## Литература

- [1] Ребриков Д.В., ред. *ПЦР «в реальном времени»*. Москва, БИНОМ. Лаборатория знаний, 2009. 223 с.
- [2] *Преаналитический этап. Пробоподготовка*. URL: [http://www.medteh.info/\\_fr/1/-All-short.pdf](http://www.medteh.info/_fr/1/-All-short.pdf) (дата обращения 15.04.2017).
- [3] Пугачук А.С., Чернышев А.В. Разработка численной модели процесса вакуумной сепарации растворов ДНК. *Вестник МГТУ им. Н.Э. Баумана. Сер. Машиностроение*, 2012, спец. вып. № 4, с. 79–91.
- [4] Barlow K., Perry K. *Buyers' guide: Automated nucleic acid extraction systems*. Centre for Evidence-based Purchasing, 2009. 60 p.
- [5] Пугачук А.С., Чернышев А.В. Исследование процесса двухфазного течения смеси в установке вакуумной сепарации ДНК. *Инженерный журнал: Наука и инновации*, 2013, № 5. URL: <http://engjournal.ru/catalog/machin/vacuum/757.html>.
- [6] Пугачук А.С., Кузнецова Ю.С., Чернышев А.В. Разработка пневмовакuumной установки пробоподготовки. *Молодежный научно-технический вестник*, 2012, № 5. URL: <http://sntbul.bmstu.ru/doc/486270.html>.
- [7] *ГОСТ 2.797–81. Единая система конструкторской документации. Правила выполнения вакуумных схем*. Москва, Стандартинформ, 2011. 5 с.
- [8] *ГОСТ 2.796–95. Единая система конструкторской документации. Обозначения условные графические в схемах. Элементы вакуумных систем*. Минск, Межгосударственный совет по стандартизации, метрологии и сертификации, 1998. 12 с.

**Пугачук Александр Сергеевич** — канд. техн. наук, доцент кафедры «Вакуумная и компрессорная техника», МГТУ им. Н.Э. Баумана, Москва, Российская Федерация.

**Тен Андрей Юрьевич** — студент кафедры «Вакуумная и компрессорная техника», МГТУ им. Н.Э. Баумана, Москва, Российская Федерация.

**Научный руководитель** — А.В. Чернышев, д-р техн. наук, профессор кафедры «Вакуумная и компрессорная техника», МГТУ им. Н.Э. Баумана, Москва, Российская Федерация.

## INVESTIGATION OF THE CLEANING PLATE FLOW CHARACTERISTICS FOR VACUUM DNA SEPARATION

A.S. Pugachuk

pugachukalexandr@mail.ru

A.Yu. Ten

andreiten94@mail.ru

Bauman Moscow State Technical University, Moscow, Russian Federation

---

### Abstract

*The study experimentally tested the working medium flow under the pressure drop effect in cells with sorbent in vacuum DNA separation devices. We investigated the phenomenon of uneven flow of the working medium through the cells and obtained flow characteristics for the cells. Moreover, we analyzed the change in the working medium flow rate depending on the volume of the liquid passing through the cell and the pressure drop.*

### Keywords

*Sample preparation, vacuum separation method, liquid consumption, DNA, cleaning plate*

© Bauman Moscow State Technical University, 2017

---

### References

- [1] Rebrikov D.V., ed. PTsR «v real'nom vremeni» [PCR “in real time”]. Moscow, BINOM. Laboratoriya znaniy publ., 2009. 223 p.
- [2] Preanaliticheskiy etap. Probopodgotovka [Preanalytical phase. Sample processing]. Available at: [http://www.medteh.info/\\_fr/1/-All-short.pdf](http://www.medteh.info/_fr/1/-All-short.pdf) (accessed 15 April 2017)
- [3] Pugachuk A.S., Chernyshev A.V. Designing of a process numerical model for vacuum separation of DNA solutions. *Vestnik MGTU im. N.E. Baumana. Ser. Mashinostroenie* [Herald of the Bauman Moscow State Technical University. Series Mechanical Engineering], 2012, spec. iss. no. 4, pp. 79–91.
- [4] Barlow K., Perry K. Buyers' guide: Automated nucleic acid extraction systems. Centre for Evidence-based Purchasing, 2009. 60 p.
- [5] Pugachuk A.S., Chernyshev A.V. Research of two-phase mixture flow in unit vacuum separation of DNA. *Inzhenernyy zhurnal: Nauka i innovatsii* [Engineering Journal: Science and Innovation], 2013, no. 5. Available at: <http://engjournal.ru/catalog/machin/vacuum/757.html>.
- [6] Pugachuk A.S., Kuznetsova Yu.S., Chernyshev A.V. Development of pneumatic-and-vacuum sample processing equipment. *Molodezhnyy nauchno-tekhnicheskiy vestnik*, 2012, no. 5. Available at: <http://sntbul.bmstu.ru/doc/486270.html>.
- [7] GOST 2.797–81. Edinaya sistema konstruktorskoy dokumentatsii. Pravila vypolneniya vakuumnykh skhem [State standard 2.797–81. Unified system for design documentation. Rules for presentation of vacuum schemes]. Moscow, Standartinform publ., 2011. 5 p.
- [8] GOST 2.796–95. Edinaya sistema konstruktorskoy dokumentatsii. Oboznacheniya uslovnye graficheskie v skhemakh. Elementy vakuumnykh system [State standard 2.796–95. Unified system for design documentation. Graphic designations in schemes. Element of vacuum systems]. Minsk, Mezhsosudarstvennyy sovet po standartizatsii, metrologii i sertifikatsii publ., 1998. 12 p.

**Pugachuk A.S.** — Cand. Sc. (Eng.), Assoc. Professor Department of Vacuum and Compressor Equipment, Bauman Moscow State Technical University, Moscow, Russian Federation.

**Ten A.Yu.** — student, Department of Vacuum and Compressor Equipment, Bauman Moscow State Technical University, Moscow, Russian Federation.

**Scientific advisor** — A.V. Chernyshev, Dr. Sc. (Eng.), Professor, Department of Vacuum and Compressor Equipment, Bauman Moscow State Technical University, Moscow, Russian Federation.