

Моделирование распределения кислорода в микрофлюидном реакторе при культивировании стволовых клеток

Анастасия Ю. Рылькова	¹	rylkovanas@mail.ru	 0009-0008-5688-8017
Елена В. Гусева	¹	guseva.e.v@muctr.ru	 0000-0002-6835-4513
Руслан Р. Сафаров	¹	safarov.r.r@muctr.ru	 0000-0002-0342-0049

¹ Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева, Миусская площадь, 9, г. Москва, 125047, Россия

Аннотация. Микрофлюидные технологии, получившие название «lab on a chip», основаны на работе с небольшим количеством потока жидкости, порядков микро- и нанолитра. Это определяет преимущества их применения по сравнению с объёмными устройствами, а именно возможность в разы снизить расходы реагентов, добиться более точных результатов исследования и безопаснее проводить эксперименты. Математическое моделирование, представляющее собой процесс исследования объекта по его модели, которая является неким аналогом и заменяет объект в ходе исследования, позволяет точно описать процесс и подобрать условия его проведения. Вычислительная гидродинамика (CFD) включает в себя численные методы решения систем уравнений с начальными и граничными условиями (или краевых задач), которые описывают гидродинамические и массообменные процессы и которые в силу своей сложности, как правило, не позволяют получить решение аналитически. Возможность использования данных численных методов представлена в коммерческом пакете программ ANSYS Fluent. С помощью данного программного пакета было проведено математическое моделирование двухканального микрофлюидного элемента, который был использован для культивирования мезенхимальных стволовых клеток, поскольку это одна из актуальных задач биотехнологии в настоящее время. В данной работе были изучены процесс транспорта питательного вещества к клеткам через пористую мембрану, а также поведение потоков питательной среды в каналах устройства. Приведено математическое описание транспорта кислорода в виде систем уравнений с начальными и граничными условиями, которые учитывают проницаемость кислорода через мембрану и кинетику его потребления клетками. Также были выведены уравнения, описывающие динамику потока жидкости, движущегося в каналах микрофлюидного устройства и проходящего через мембрану. Приведены результаты 15 вариантов моделирования гидродинамического режима устройства. Разработанная модель позволяет подбирать оптимальный диапазон рабочих параметров для культивирования различных типов клеток.

Ключевые слова: математическое моделирование, ANSYS Fluent, микрофлюидный элемент, культивирование, гидродинамика, мембрана.

Modeling of the oxygen distribution in a microfluidic reactor during stem cell cultivation

Anastasia Yu. Rylkova	¹	rylkovanas@mail.ru	 0009-0008-5688-8017
Elena V. Guseva	¹	guseva.e.v@muctr.ru	 0000-0002-6835-4513
Ruslan R. Safarov	¹	safarov.r.r@muctr.ru	 0000-0002-0342-0049

¹ D. Mendeleev University of Chemical Technology of Russia, Miusskaya Square, 9, Moscow, 125047, Russia

Abstract. Microfluidic technologies, called "lab on a chip", are based on working with a small amount of liquid flow, on the order of micro- and nanoliters. This determines the advantages of their use in comparison with volumetric devices, namely, the ability to significantly reduce the cost of reagents, achieve more accurate research results, and make experiments safer. The mathematical modeling, that is a process of researching an object according to its model which is a kind of analogue and replaces it during the research, allows you to accurately describe the process and select the its conditions. Computational fluid dynamics (CFD) includes the numerical methods for solving systems of equations with initial and boundary conditions (or boundary value problems) that describe hydrodynamic and mass transfer processes and that usually do not allow you to get a solution analytically because of their complexity. The possibility of using these numerical methods is presented in the ANSYS Fluent commercial software package. Using this software package the mathematical modeling of a two-channel microfluidic element was carried out, which was used for the cultivation of mesenchymal stem cells, because it is one of the actual problem of biotechnology now. In this work, the process of transport of nutrient to cells through a porous membrane was studied, as well as the behavior of the flows of the nutrient medium in the channels of the device. A mathematical description of transport of oxygen in the form of systems of equations with initial and boundary conditions that consider the permeability of oxygen with the walls of the channels, the transfer of substance through the membrane and the kinetics of its consumption by cells is given. The equations were also derived that describe the dynamics of the fluid flow moving in the channels of the microfluidic device and passing through the membrane. The results of 15 options for modeling the hydrodynamic regime of the device are presented. The developed model makes it possible to select the optimal range of operating parameters for culturing various types of cells.

Keywords: mathematical modeling, ANSYS Fluent, microfluidic element, cultivation, hydrodynamics, membrane.

Для цитирования

Рылькова А.Ю., Гусева Е.В., Сафаров Р.Р. Моделирование распределения кислорода в микрофлюидном реакторе при культивировании стволовых клеток // Вестник ВГУИТ. 2024. Т. 86. № 1. С. 46–55. doi:10.20914/2310-1202-2024-1-46-55

For citation

Rylkova A.Yu., Guseva E.V., Safarov R.R. Modeling of the oxygen distribution in a microfluidic reactor during stem cell cultivation. *Vestnik VGUIT* [Proceedings of VSUET]. 2024. vol. 86. no. 1. pp. 46–55. (in Russian). doi:10.20914/2310-1202-2024-1-46-55

This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License

Введение

Микрофлюидные технологии, получившие название «lab on a chip», работают с малыми объемами жидкостей порядка микро- и нанолитра. В качестве объекта исследования выступает микрофлюидное устройство, представляющее собой чип, внутри которого расположены каналы микрогазовых размеров.

Данные технологии имеют широкий спектр применения в различных областях науки и промышленности. Они используются в медицинской диагностике [1], фармацевтическом анализе [2], экологическом определении токсичности окружающей среды [3]. Микрофлюидные устройства могут выступать в качестве аналитических устройств [4] и использоваться в синтезе органических и неорганических веществ, которые, к примеру, служат системами доставки лекарственных веществ [5].

Разнообразие применения рассматриваемой технологии обусловлено высокой точностью дозирования потоков в каналы микрофлюидного элемента (чипа) с требуемой скоростью. На данный момент разработана широкая линейка оборудования, в котором можно варьировать скоростью потока от нескольких нанолитров до нескольких литров в минуту [6].

Достоинством работы на флюидном микрореакторе является стабильность условий, что предопределяет высокое качество продукта [7]. Канал чипа представляет собой реактор идеального вытеснения, в котором поток флюида имеет плоский профиль линейных скоростей. В направлении оси потока перемешивание отсутствует, оно есть только в каждом отдельно взятом участке потока. Таким образом, смешивание флюидов происходит через диффузный слой. Такой режим движения потоков позволяет получить полное выравнивание процесса, а именно отсутствие колебаний значений концентрации, температуры, давления и скорости во времени.

В настоящее время в исследованиях, использующих микрофлюидные технологии, встречаются стеклянные, полимерные и металлические чипы [8]. Стекло отлично подходит для проведения различных синтезов. Этот материал является химически стойким, позволяет работать с агрессивными средами и с температурными нагрузками, также главное его преимущество – это возможность многократного использования [9]. В число наиболее часто используемых стекол входит боросиликатное [10], оптическое [11] и кварцевое [12].

Полимерные чипы имеют совершенно другие характеристики. Они не обладают

возможностью в многократном использовании и плохо реагируют на температурные нагрузки [13]. Такие чипы применяются в медицинской диагностике, когда требуется изделие для одноразового использования [14]. Основными материалами полимерных чипов являются полиметилметакрилат [15], циклоолефиновый [16] сополимер, полидиметилсилоксан [17].

Существует ряд научных исследований, где необходимы микрореакторы высокого давления. В таких случаях применяются металлические микрофлюидные чипы, способные выдерживать высокие значения температуры (от -15 до +150 °C) и давления (до 30 бар) [18].

Одной из актуальных областей использования микрофлюидных устройств является процесс культивирования клеток. Это сложный биотехнологический процесс, требующий анализа процессов, происходящих внутри отдельной клетки, изучения механизма потребления субстрата, выделения продуктов метаболизма и поведения клеток в популяции [19]. Кроме того, необходимо решение в конструктивном оформлении оборудования и обеспечение стерильных условий культивирования. Для точного описания процесса и подбора условий его проведения используется математическое моделирование.

На практике бывают ситуации, когда уравнения, описывающие математическую модель, невозможно решить аналитическим способом из-за сложности или объема решаемых уравнений. Для этого может быть применена вычислительная гидродинамика (CFD), которая является одним из разделов механики сплошных сред и имеет расширенный диапазон решаемых задач путем замены уравнений Навье-Стокса дискретными приближениями в точках построенной расчетной сетки [19]. Используя методы конечных разностей или конечных объемов, получают дискретные уравнения, связывающие различные точки сетки вместе. Возможность использования данных методов представлена в коммерческом пакете программ ANSYS Fluent.

Для моделирования объекта методом вычислительной гидродинамики, в первую очередь, необходимо построить геометрическую модель, полностью отражающую геометрические особенности и размеры объекта. Затем строится расчетная сетка, которая распределяется по всей площади и объему объекта. После построения удачно сгенерированной сетки необходимо настроить модель путем выбора методов решения задачи, настройки граничных условий и параметров процесса. И в конце концов происходит решение задачи и анализ полученных результатов [20].

Материалы и методы

В данной работе использовалась модель микрофлюидного устройства для культивирования мезенхимальных стволовых клеток, схема которого представлена на рисунке 1 [21].

Данный микрофлюидный элемент шириной w и длиной L включает в себя два параллельно расположенных канала высотой h_1, h_2 и разделяющую их полупроницаемую мембрану толщиной t и средним диаметром пор $d_{пор}$. В канал I с большей скоростью поступает поток питательной среды, содержащий растворенный кислород. В канал II, на нижней стенке которого находятся клетки в адгезивном состоянии (рисунок 2), поступает поток II с меньшей скоростью без кислорода. Пористая мембрана обеспечивает равномерное распределение кислорода по площади и тем самым его равномерную доставку к клеткам.

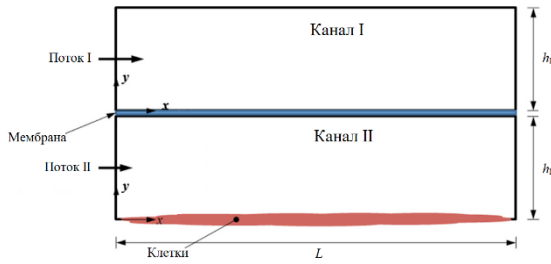


Рисунок 1. Схема микрофлюидного устройства, используемого для культивирования клеток

Figure 1. Scheme of a microfluidic device used for cells cultivation

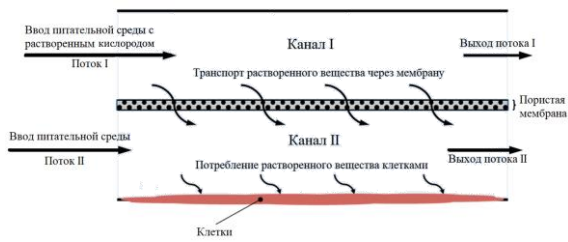


Рисунок 2. Схема движения потоков в микрофлюидном устройстве для культивирования клеток

Figure 2. Scheme of flowrates inside a microfluidic device for cells cultivation

Конструкция данного устройства позволяет обеспечить более высокую растворимость кислорода путем увеличения скорости потока внутри канала I, а затем равномерное распределения потока с кислородом через полупроницаемую мембрану. Создание подобной ситуации в канале II невозможно, поскольку возрастает напряжение сдвига, и при определенной скорости возможен отрыв адгезивных клеток от поверхности и их унос вместе с потоком II.

Уравнения сохранения массы и импульса в векторном виде (1–4) описывают динамику движения потоков в каналах микрофлюидного устройства. Они справедливы для вязкой, несжимаемой жидкости. Вводятся допущения, что плотность и вязкость потока I равны плотности и вязкости потока II, так как кислород оказывает незначительное влияние на физико-химические свойства питательной среды при растворении.

Уравнения сохранения массы в канале I (1) и в канале II (2):

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} + \nabla(\rho \vec{u}_I) = -J; \quad (1)$$

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} + \nabla(\rho \vec{u}_{II}) = J - I. \quad (2)$$

Уравнения сохранения импульса в канале I (3) и в канале II (4):

$$\rho \left(\frac{\partial \vec{u}_I}{\partial t} + \nabla \vec{u}_I \vec{u}_I \right) = -\nabla p + \mu \nabla^2 \vec{u}_I + \rho \vec{g} + \vec{F} \quad (3)$$

$$\rho \left(\frac{\partial \vec{u}_{II}}{\partial t} + \nabla \vec{u}_{II} \vec{u}_{II} \right) = -\nabla p + \mu \nabla^2 \vec{u}_{II} + \rho \vec{g} + \vec{F}, \quad (4)$$

где ∇ – дивергенция; ρ – плотность среды, кг/м³; $\vec{u}_i$ – вектор скорости i -ого потока, м/с; J – поток массы через мембрану, кг/(м²×с); $\nabla \vec{u}_i$ – дивергенция; ∇p – тензор напряжения, Па; μ – динамическая вязкость среды, кг/(м×с); ∇^2 – оператор Лапласа; $\vec{g}$ – ускорение свободного падения, м/с²; $\vec{F}$ – сила трения, кг×м/с²

Поток массы через пористую мембрану равен:

$$J = \frac{\omega A \rho \Delta P}{8 \mu h_m}, \quad (5)$$

где J – поток массы через мембрану, кг/(м²×с); A – площадь поверхности мембраны, м²; ρ – плотность среды, кг/м³; ΔP – перепад давления на мембране, Па; μ – динамическая вязкость среды, кг/(м×с); h_m – толщина мембраны, м.

Процесс транспорта кислорода в микрофлюидном устройстве с мембраной описывается вторым законом Фика. Поток питательной среды поступает в канал ($x = 0$) при определенной концентрации C_0 . Диффузионный поток питательной среды, содержащей растворенный кислород, проходит через мембрану. D_m можно определить как эффективный коэффициент диффузии растворенного кислорода в мембране. Граничные условия в канале I записываются как:

$$\left\{ \begin{array}{l} x=0, y=h_I, t=0: \\ u_I = u_0, C_I = C_0, C_{II} = 0: \\ u_I \frac{\partial C_I}{\partial x} = D_I \frac{\partial^2 C_I}{\partial y^2} = 0, \\ x=0, y=h_M: \\ u_I \frac{\partial C_I}{\partial x} = D_M \frac{\partial^2 (C_{II} - C_I)}{\partial y^2}, \end{array} \right. \quad (6)$$

где u_I, u_{II} – скорость потока I и II в направлении оси x , соответственно, м/с; u_0 – начальная скорость потока, м/с; C_I, C_{II} – концентрация кислорода в канале I и II, соответственно, моль/м³; C_0 – начальная концентрация кислорода, моль/м³; D_I – эффективный коэффициент диффузии для кислорода в питательной среде, м²/с; D_M – эффективный коэффициент диффузии кислорода в мембране, м²/с; h_M – толщина мембраны, м; h_I – высота канала I, м.

На входе в канал II концентрация кислорода принимается, равной нулю. Поток из канала I диффундирует в канал II через мембрану, скорость этого диффузионного потока уравнивается со скоростью потока в канале II. Потребление кислорода клетками можно описать кинетикой Михаэлиса–Ментена, поэтому граничные условия для канала II получаются следующими:

$$\left\{ \begin{array}{l} x=0, y=h_{II}, t=0: \\ u_{II} = 2,5 \times 10^{-4}, C_I = 0, C_{II} = 0: \\ u_{II} \frac{\partial C_{II}}{\partial x} = D_{II} \frac{\partial^2 C_{II}}{\partial y^2} = u_I \frac{\partial C_I}{\partial x} \\ I = V_{\max} \rho_{\text{клеток}} \frac{C_{II}}{K_M + C_{II}}, \end{array} \right. \quad (7)$$

где h_{II} – высота канала II, м; D_{II} – эффективный коэффициент диффузии для кислорода в питательной среде, м²/с; $V_{\max}$ – максимальная скорость потребления кислорода, моль/с; K_M – константа Михаэлиса–Ментена, моль/м³; $\rho_{\text{клеток}}$ – удельная площадь поверхности, занимаемая клетками, клетки/м²; I – поток массы, затрачиваемый на рост клеток, моль/(м²×с).

Была построена двумерная геометрическая модель исследуемого микрофлюидного устройства, имеющая четырехугольную сетку (рисунок 3), состоящую из 69023 узлов и 66000 элементов. Она полностью отражает геометрические параметры реального объекта и разработана при помощи пакета программ ANSYS Fluent.

В таблице 1 приведены основные геометрические параметры микрофлюидного устройства.

Скорость потока в канале II является максимальной допустимой и устанавливается в соответствие предельной величине напряжения сдвига τ , которая зависит от остеогенной дифференцировки стволовых клеток и равна $0,3 \times 10^{-9}$ Па [22].

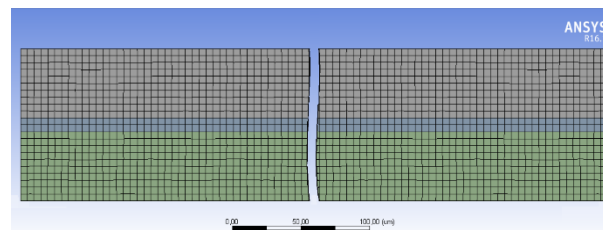


Рисунок 3. Расчетная сетка микрофлюидного устройства с полупроницаемой мембраной

Figure 3. The calculated grid of the microfluidic device with a semipermeable membrane

Таблица 1.

Геометрические параметры микрофлюидного устройства

Table 1.

Geometrical parameters of microfluidic device

Параметр Indicator	Величина Value
Длина устройства, L Device length	1,5 см
Ширина устройства, w Width of the device	200 мкм
Высота I и II каналов, h_I, h_{II} Height of channels I and II	50 мкм
Толщина мембраны, h_M Membrane thickness	10 мкм
Средний диаметр пор мембраны, $d_{\text{пор}}$ Average pore diameter of the membrane	0,8 мкм
Пористость мембраны, ω Membrane porosity	0,158
Коэффициент диффузии кислорода в воде, D Oxygen diffusion coefficient in water	3×10^{-9} м ² /с

При расчете массопереноса кислорода из канала I в канал II необходимо учесть его потребление клетками на нижней стенке канала II в зависимости от плотности посева клеток и соответствующей ей скорости поглощения кислорода, выраженную отношением $V_{\max}/K_M$. В таблице 2 и 3 приведены варианты проведения экспериментальных исследований. Варьируются плотности посева клеток, объемные скорости потоков в каналы и концентрация кислорода на входе в канал I, соответственно.

Таблица 2.

Значения скорости поглощения кислорода клетками в зависимости от плотности посева клеток

Table 2.

Values of oxygen uptake rate by cells depending on the seeding density

Параметр \ Вариант	1	2	3
Плотность посева клеток $\rho_{\text{клеток}}$, клетки/см ²	1×10^3	1×10^5	1×10^6
Скорость поглощения кислорода $V_{\max}/K_M$, см ³ /10 ⁶ клетки×с	5×10^{-5}	1×10^{-4}	2×10^{-4}

Таблица 3.

Варианты исследования роста мезенхимальных стволовых клеток в микрофлюидном устройстве

Table 3.

Variants of studying the growth of mesenchymal stem cells in the microfluidic device

Конфигурация устройства Device configuration	Скорость потока, нл/с Flow rate, nL/s	Концентрация кислорода на входе, ммоль/м ³ Inlet oxygen concentration, mmol/m ³	Вариант Var		
			1	2	3
Один канал One channel	2,5	2,15; 4,30		✓	
	25	2,15		✓	
Два канала Two channels	10	2,15; 4,30	✓	✓	✓
	25		✓	✓	✓
	125		✓	✓	✓

Результаты

1. Микрофлюидный элемент с одним каналом, входная концентрация кислорода 2,15 ммоль/м³. На рисунках 4, 5 приведены результаты расчетов для объемных скоростей потоков на вход 2,5 и 25 нл/с, соответственно.

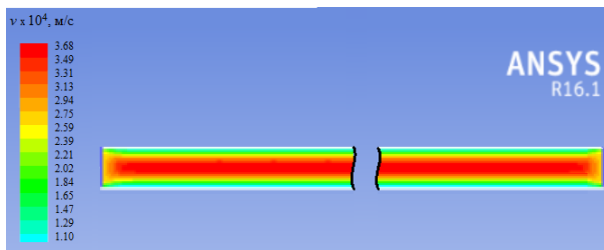


Рисунок 4. Профиль скоростей в канале с объемной скоростью потока питательной среды на входе 2,5 нл/с (конфигурация устройства с одним каналом)

Figure 4. Profile of velocities in the channel with feed flowrate 2.5 nL/s (single channel device configuration)

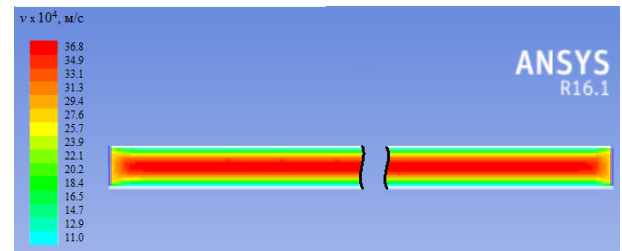


Рисунок 5. Профиль скоростей в канале с объемной скоростью потока питательной среды на входе 25 нл/с (конфигурация устройства с одним каналом)

Figure 5. Profile of velocities in the channel with feed flowrate 25 nL/s (single channel device configuration)

Профили скоростей однородны по всей длине канала, что связано с полностью развитым ламинарным течением внутри него.

На рисунке 6 представлены результаты распределения концентраций кислорода при культивировании клеток в соответствии с вариантом 2. Исходя из данных профилей, можно сделать вывод о том, что при подаче потока питательной среды со скоростью 2,5 нл/с происходит быстрое падение концентрации кислорода в питательной среде и его количества не хватает для роста клеток по всей длине канала. Увеличение скорости потока до 25 нл/с уменьшает это падение, но данная скорость неприемлема, поскольку напряжение сдвига для клеток превышает предельное значение. Клетки могут оторваться от поверхности канала и унести с потоком. Таким образом, одноканальное микрофлюидное устройство, не оснащенное полупроницаемой мембраной, не подходит для данного процесса, и далее будем рассматривать только устройство с двумя каналами.

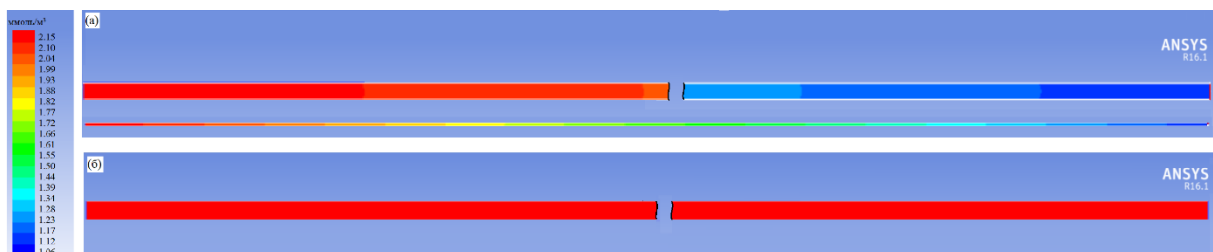


Рисунок 6. Профили распределения концентраций кислорода для варианта 2: (а) – с объемной скоростью потока питательной среды на входе 2,5 нл/с; (б) – с объемной скоростью потока питательной среды на входе 25 нл/с; (конфигурация устройства с одним каналом)

Figure 6. Profiles of oxygen concentration distribution for вариант 2: (a) – with feed flowrate 2.5 nL/s; (b) – with feed flowrate 25 nL/s; (single channel device configuration)

2. Микрофлюидный элемент с двумя каналами, входная концентрация кислорода 2,15 ммоль/м³, объемная скорость потока на входе в канал I – 10 нл/с (рисунки 7, 8, 9). Профиль скоростей показан на рисунке 7.

В каналах присутствует полностью развитый ламинарный поток жидкости, в результате чего наблюдается полное выравнивание скоростей потоков по всей длине микрофлюидного устройства.

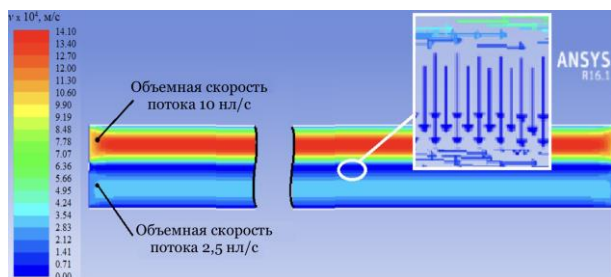


Рисунок 7. Профиль скоростей в каналах с объемной скоростью потока питательной среды на входе в канал I 10 нл/с (конфигурация устройства с двумя каналами и мембраной)

Figure 7. Profile of velocities in the channels with feed flowrate of nutrient medium into the channel I 10 nL/s (device configuration with two channels and a membrane)

3. На рисунке 8 представлен график зависимости концентрации кислорода по длине канала для трех вариантов плотности посева клеток. Для случаев 1 (рисунок 8 красная кривая) и 2 (рисунок 8 зеленая кривая) характерен постоянный линейный профиль распределения с небольшим падением по длине. Максимальное значение концентрации кислорода составило 1,75 ммоль/м³. Из графиков видно, что для первых двух случаев посева клеток кислорода

достаточно. В случае 3 (рисунок 8 синяя кривая) наблюдается сильная нехватка кислорода по всей длине канала.

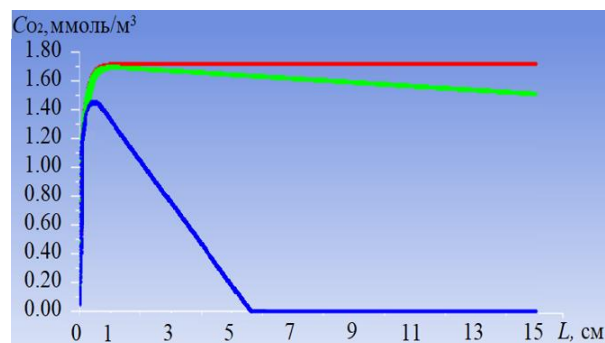


Рисунок 8. График зависимости концентрации кислорода в канале II по длине устройства при объемной скорости потока питательной среды на входе 10 нл/с

Figure 8. Dependence of oxygen concentration plot in channel II along the length of the device at feed flowrate of nutrient medium 10 nL/s

Представленные на рисунке 9 профили распределения концентраций кислорода по длине устройства в канале II для трех различных значений начальной плотности посева клеток подтверждают, что кислорода не хватает для 3-го варианта.

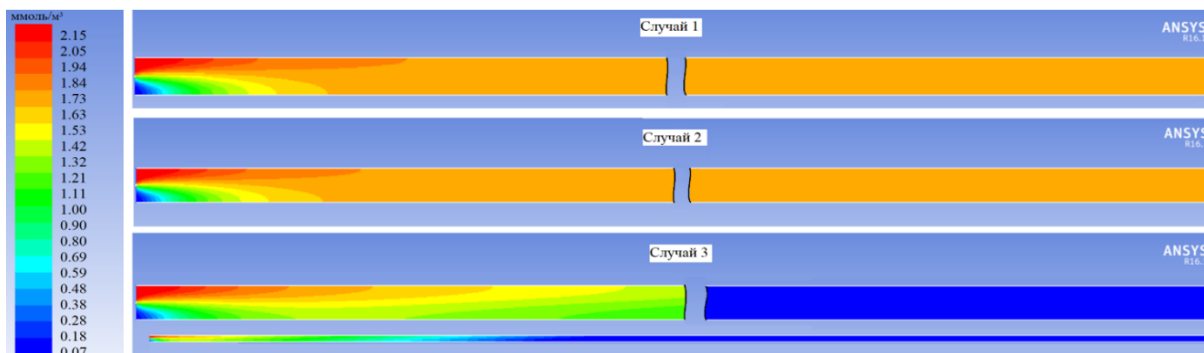


Рисунок 9. Профили распределения концентраций кислорода с объемной скоростью потока питательной среды на входе в канал I 10 нл/с (конфигурация устройства с двумя каналами и мембраной)

Figure 9. Profiles of oxygen concentrations distribution with feed flowrate of nutrient medium into the channel I 10 nL/s (device configuration with two channels and a membrane)

4. Микрофлюидный элемент с двумя каналами, входная концентрация кислорода 2,15 ммоль/м³, объемная скорость потока на входе в канал I – 25 нл/с. Результаты математического моделирования представлены на рисунках 10 – 12. Профиль скоростей показан на рисунке 10, где, как и ранее, присутствует полное выравнивание скоростей по всей длине микрофлюидного устройства.

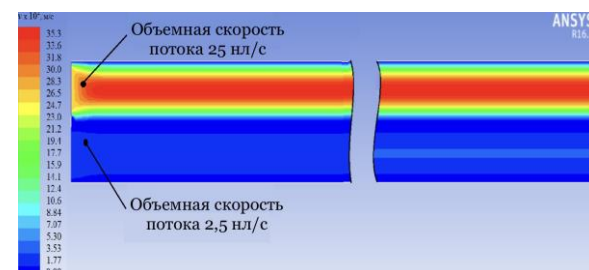


Рисунок 10. Профиль скоростей в каналах с объемной скоростью потока питательной среды на входе в канал I 25 нл/с (конфигурация устройства с двумя каналами и мембраной)

Figure 10. Profile of velocities in the channels with feed flowrate of nutrient medium into the channel I 25 nL/s (device configuration with two channels and a membrane)

На рисунке 11 представлен график зависимости концентрации кислорода в канале II с клетками по длине устройства для всех трех случаев посева. Исходя из графика видно, что для первых двух вариантов (рисунок 11 красная и зеленая кривые) посева клеток концентрации кислорода достаточно, для третьего варианта (рисунок 11 черная кривая) наблюдается ее резкое уменьшение по длине микрофлюидного канала. Поскольку концентрация кислорода не снижается до нулевого уровня, можно говорить о том, что его хватает для жизнедеятельности клеток. Однако, в данном случае не достигается однородности распределения концентрации кислорода по длине микрофлюидного канала.

На рисунке 11 представлено соответствие между расчетными данными (рисунок 11 сплошные кривые) и данными, представленными в статье

(рисунок 11 пунктирные кривые). Относительная ошибка составила 3,3%.

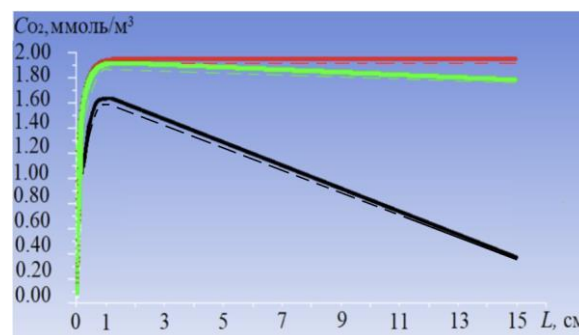


Рисунок 11. График зависимости концентрации кислорода в канале II по длине устройства при объемной скорости потока питательной среды 25 нл/с

Figure 11. Dependence oxygen concentration plot in the channel II along the length of the device at a flow rate of nutrient medium 25 nL/s

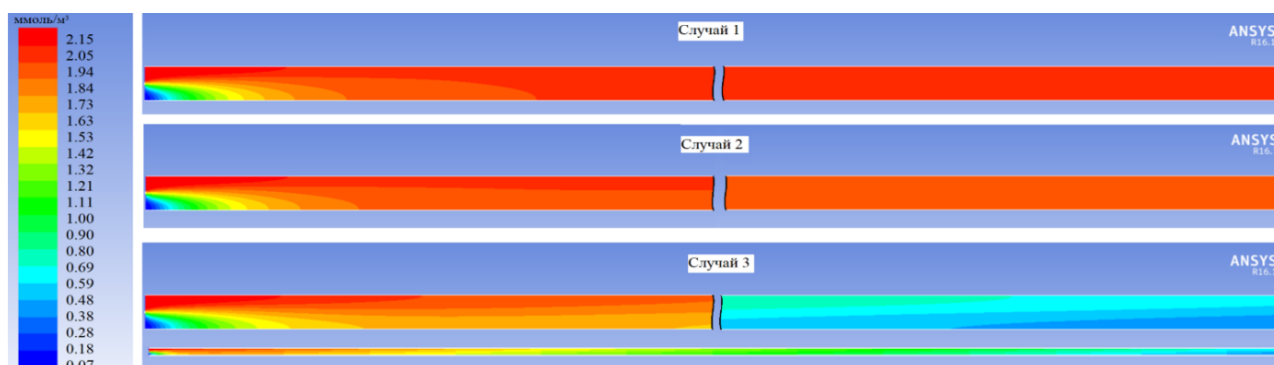


Рисунок 12. Профили распределения концентраций кислорода с объемной скоростью потока питательной среды на входе в канал I 25 нл/с (конфигурация устройства с двумя каналами и мембраной)

Figure 12. Profiles of oxygen concentrations distribution with feed flowrate of nutrient medium into the channel I 25 nL/s (device configuration with two channels and a membrane)

На рисунке 12 представлены профили распределения концентраций кислорода для трех вариантов плотности засева клеток, на основании которых видно распределение концентраций по длине и высоте каналов. Для варианта 1 характерен постоянный линейный профиль распределения, в варианте 2 профиль сохраняется практически постоянным. Содержания кислорода в нижнем канале в первых двух случаях с избытком хватает для роста клеток по всей длине канала. В варианте 3 наблюдается резкое снижение концентрации кислорода по каналу.

Для обеспечения однородности распределения кислорода по длине канала II в микрофлюидном элементе объемная скорость потока в канале I была увеличена в 5 раз и составила 125 нл/с.

5. Микрофлюидный элемент с двумя каналами, входная концентрация кислорода 2,15 ммоль/м³, объемная скорость потока на входе в канал I – 125 нл/с. Профиль скоростей (рисунок 13)

является полностью развитым и ламинарным и равномерно распределен по всей длине устройства.

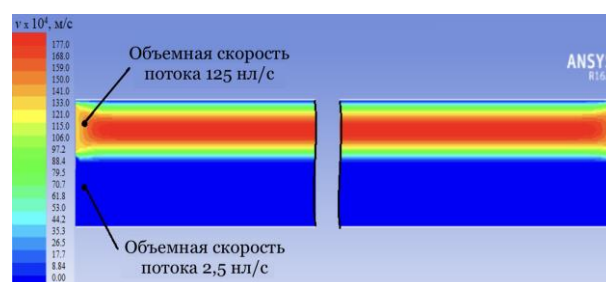


Рисунок 13. Профиль скоростей в каналах с объемной скоростью потока питательной среды на входе в канал I 125 нл/с (конфигурация устройства с двумя каналами и мембраной)

Figure 13. Profile of velocities in the channels with feed flowrate of nutrient medium into the channel I 125 nL/s (device configuration with two channels and a membrane)

На рисунке 14 показан график распределения концентраций кислорода для трех случаев плотности посева клеток. Для вариантов 1 (рисунок 14 красная кривая) и 2 (рисунок 14 зеленая кривая) линейный профиль распределения сохраняется постоянным по всей длине устройства. Увеличение скорости подачи питательной среды в канал I привело к более однородному распределению концентрации кислорода по длине канала для варианта 3 (рисунок 14 синяя кривая), когда наблюдается максимальная плотность засева клеток (рисунок 15). Такое увеличение скорости потока не оказывает влияния на напряжение сдвига, испытываемое клетками, так как канал II с ними защищен от данного потока полупроницаемой мембраной.

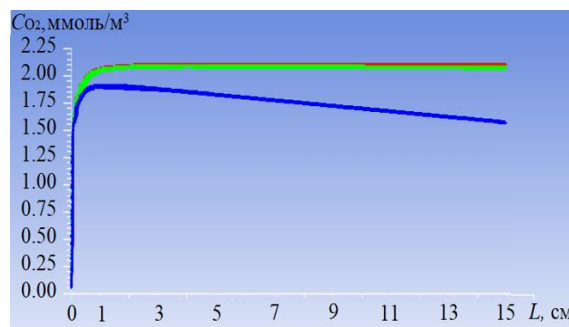


Рисунок 14. График зависимости концентрации кислорода в канале II по длине устройства при объемной скорости потока питательной среды 125 нл/с
Figure 14. Dependence of oxygen concentration plot in the channel II along the length of the device at a flow rate of nutrient medium 125 nL/s

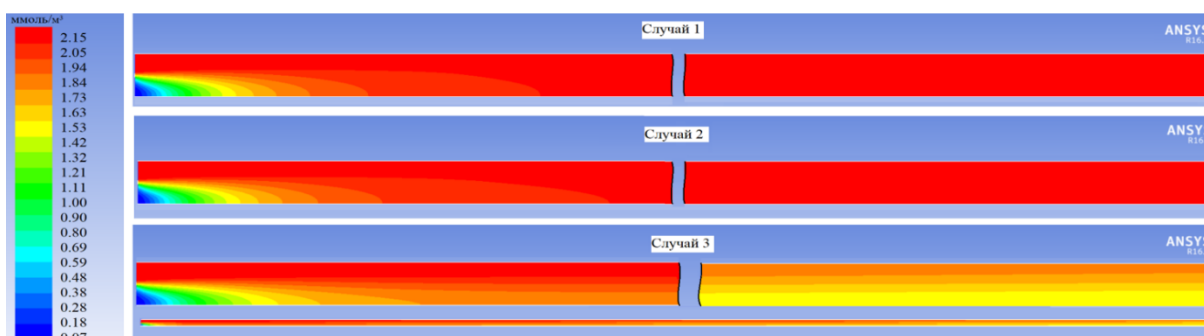


Рисунок 15. Профили распределения концентраций кислорода с объемной скоростью потока питательной среды на входе в канал I 125 нл/с (конфигурация устройства с двумя каналами и мембраной)
Figure 15. Profiles of distribution of oxygen concentrations with feed flowrate of nutrient medium into the channel I 125 nL/s (device configuration with two channels and a membrane)

Таким образом, результаты, представленные на рисунках 4–15, описывают диапазон рабочих параметров, которые позволяют двухканальному микрофлюидному устройству с мембраной обеспечивать равномерный, индивидуально подобранный для различных плотностей засева культивируемых клеток уровень содержания кислорода.

6. Помимо увеличения скорости потока в канале I, для достижения достаточного и более равномерного распределения концентрации кислорода по длине канала II можно увеличить входную концентрацию кислорода в потоке в канал I. Рассмотрим пример расчета микрофлюидного элемента с одним и двумя каналами, входная концентрация кислорода 4,30 ммоль/м³, объемная скорость потока на входе в канал I меняется от 10 до 125 нл/с. Результаты расчета для варианта 2 начального посева клеток приведены на рисунке 16.

Из графика видно, что с увеличением концентрации кислорода в канал I его содержание увеличивается по длине канала. В случае использования двухканального элемента достигается однородное распределение кислорода по длине канала, что способствует равномерному росту клеток в канале II.

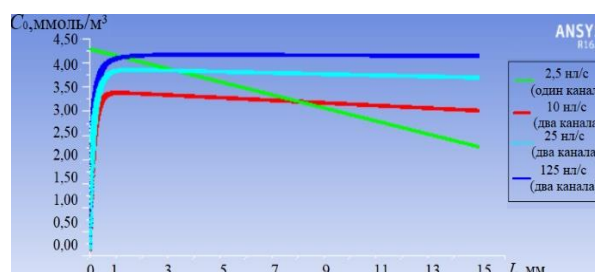


Рисунок 16. График зависимости концентрации кислорода в канале II по длине микрофлюидного устройства для варианта 2 засева клеток при входной концентрации кислорода 4,30 ммоль/м³
Figure 16. Dependence of oxygen concentration plot in the channel II along the length of the device for variant 2 at the input oxygen concentration of 4,30 mmol/m³

Закключение

Таким образом, в ходе данной работы были исследованы процессы, происходящие при культивировании мезенхимальных стволовых клеток в микрофлюидном устройстве, оснащённом полупроницаемой мембраной. Изучен процесс транспорта питательного вещества к клеткам через пористую мембрану и поведение потоков питательной среды в каналах устройства.

Произведено математическое моделирование исследуемого микрофлюидного устройства, модель которого была разработана при помощи пакета программ ANSYS Fluent. Приведены результаты различных вариантов моделирования гидродинамического режима устройства и их

сопоставление с результатами, представленными в статье. Разработанная двумерная модель позволяет подбирать оптимальный диапазон рабочих параметров для культивирования различных типов клеток.

Литература

- 1 Burklund A., Tadimety A., Nie Y., Hao N. et al. Advances in diagnostic microfluidics // *Advances in clinical chemistry*. 2020. V. 95. P. 1–72.
- 2 Cui P., Wang S. Application of microfluidic chip technology in pharmaceutical analysis: A review // *Journal of pharmaceutical analysis*. 2019. V. 9. №. 4. P. 238–247.
- 3 Campana O., Wlodkowic D. The undiscovered country: Ecotoxicology meets microfluidics // *Sensors and Actuators B: Chemical*. 2018. V. 257. P. 692–704.
- 4 Li M.S., Wong H.L., Ip Y.L., Peng Z. et al. Current and Future Perspectives on Microfluidic Tear Analytic Devices // *ACS sensors*. 2022. V. 7. №. 5. P. 1300–1314.
- 5 Liu Y., Yang G., Hui Y., Ranaweera S. et al. Microfluidic nanoparticles for drug delivery // *Small*. 2022. V. 18. №. 36. P. 2106580.
- 6 Pattanayak P. Singh S.K., Gulati M., Vishwas S. et al. Microfluidic chips: recent advances, critical strategies in design, applications and future perspectives // *Microfluidics and nanofluidics*. 2021. V. 25. P. 1–28.
- 7 Narayanamurthy V. Jeroish Z.E., Bhuvaneshwari K.S., Bayat P. et al. Advances in passively driven microfluidics and lab-on-chip devices: A comprehensive literature review and patent analysis // *RSC advances*. 2020. V. 10. №. 20. P. 11652–11680.
- 8 Nielsen J.B., Hanson R.L., Almughamsi H.M., Pang C. et al. Microfluidics: innovations in materials and their fabrication and functionalization // *Analytical chemistry*. 2019. V. 92. №. 1. P. 150–168.
- 9 Tang T., Yuan Y., Yalikun Y., Hosokawa Y. et al. Glass based micro total analysis systems: Materials, fabrication methods, and applications // *Sensors and Actuators B: Chemical*. 2021. V. 339. P. 129859.
- 10 Raj P.M., Barbe L., Andersson M., Moreira M.D.A. et al. Fabrication and characterisation of a silicon-borosilicate glass microfluidic device for synchrotron-based hard X-ray spectroscopy studies // *RSC advances*. 2021. V. 11. №. 47. P. 29859–29869.
- 11 Zhang Z., Pan J., Tang Y., Xu Y. et al. Optical micro/nanofibre embedded soft film enables multifunctional flow sensing in microfluidic chips // *Lab on a Chip*. 2020. V. 20. №. 14. P. 2572–2579.
- 12 Guo M., Lu Y., Gan H. Experimental study on micro-grinding and flow characteristics of quartz glass with micro-channel // *Journal of Physics: Conference Series*. IOP Publishing. 2021. V. 2044. №. 1. P. 012135.
- 13 Scott S.M., Ali Z. Fabrication methods for microfluidic devices: An overview // *Micromachines*. 2021. V. 12. №. 3. P. 319.
- 14 Reyes D.R., van Heeren H., Guha S., Herbertson L. et al. Accelerating innovation and commercialization through standardization of microfluidic-based medical devices // *Lab on a Chip*. 2021. V. 21. №. 1. P. 9–21.
- 15 Ma X., Li R., Jin Z., Fan Y. et al. Injection molding and characterization of PMMA-based microfluidic devices // *Microsystem Technologies*. 2020. V. 26. P. 1317–1324.
- 16 Agha A., Waheed W., Alamoodi N., Mathew B. et al. A review of cyclic olefin copolymer applications in microfluidics and microdevices // *Macromolecular Materials and Engineering*. 2022. V. 307. №. 8. P. 2200053.
- 17 Raj M.K., Chakraborty S. PDMS microfluidics: A mini review // *Journal of Applied Polymer Science*. 2020. V. 137. №. 27. P. 48958.
- 18 Costa Junior J.M., Naveira-Cotta C.P., de Moraes D.B., Inforcatti Neto et al. Innovative metallic microfluidic device for intensified biodiesel production // *Industrial & Engineering Chemistry Research*. 2019. V. 59. №. 1. P. 389–398.
- 19 Кафаров В.В., Винаров А.Ю., Гордеев Л.С. Моделирование биохимических реакторов: монография / М.: Лесная промышленность, 1979. 344 С.
- 20 Bhatti M.M., Marin M., Zeeshan A., Abdelsalam S.I. Recent trends in computational fluid dynamics // *Frontiers in Physics*. 2020. V. 8. P. 593111.
- 21 Einarsrud K.E., Loomba V., Olsen J.E. Applied Computational Fluid Dynamics (CFD) // *Processes*. 2023. V. 11. №. 2. P. 461.
- 22 Inamdar N.K., Griffith L.G., Borenstein J.T. Transport and shear in a microfluidic membrane bilayer device for cell culture // *Biomicrofluidics*. 2011. V. 5. №. 2. P. 022213.
- 23 Wang F., Tarkkonen K., Nieminen Pihala V., Nagano K. et al. Mesenchymal cell derived Juxtacrine Wnt1 signaling regulates osteoblast activity and osteoclast differentiation // *Journal of Bone and Mineral Research*. 2019. V. 34. №. 6. P. 1129–1142.

References

- 1 Burklund A., Tadimety A., Nie Y., Hao N. et al. Advances in diagnostic microfluidics. *Advances in clinical chemistry*. 2020. vol. 95. pp. 1–72.
- 2 Cui P., Wang S. Application of microfluidic chip technology in pharmaceutical analysis: A review. *Journal of pharmaceutical analysis*. 2019. vol. 9. no. 4. pp. 238–247.
- 3 Campana O., Wlodkowic D. The undiscovered country: Ecotoxicology meets microfluidics. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 2018. vol. 257. pp. 692–704.
- 4 Li M.S., Wong H.L., Ip Y.L., Peng Z. et al. Current and Future Perspectives on Microfluidic Tear Analytic Devices. *ACS sensors*. 2022. vol. 7. no. 5. pp. 1300–1314.
- 5 Liu Y., Yang G., Hui Y., Ranaweera S. et al. Microfluidic nanoparticles for drug delivery. *Small*. 2022. vol. 18. no. 36. pp. 2106580.
- 6 Pattanayak P. Singh S.K., Gulati M., Vishwas S. et al. Microfluidic chips: recent advances, critical strategies in design, applications and future perspectives. *Microfluidics and nanofluidics*. 2021. vol. 25. pp. 1–28.

- 7 Narayanamurthy V. Jeroish Z.E., Bhuvaneshwari K.S., Bayat P. et al. Advances in passively driven microfluidics and lab-on-chip devices: A comprehensive literature review and patent analysis. RSC advances. 2020. vol. 10. no. 20. pp. 11652–11680.
- 8 Nielsen J.B., Hanson R.L., Almughamsi H.M., Pang C. et al. Microfluidics: innovations in materials and their fabrication and functionalization. Analytical chemistry. 2019. vol. 92. no. 1. pp. 150–168.
- 9 Tang T., Yuan Y., Yalikul Y., Hosokawa Y. et al. Glass based micro total analysis systems: Materials, fabrication methods, and applications. Sensors and Actuators B: Chemical. 2021. vol. 339. pp. 129859.
- 10 Raj P.M., Barbe L., Andersson M., Moreira M.D.A. et al. Fabrication and characterisation of a silicon-borosilicate glass microfluidic device for synchrotron-based hard X-ray spectroscopy studies. RSC advances. 2021. vol. 11. no. 47. pp. 29859–29869.
- 11 Zhang Z., Pan J., Tang Y., Xu Y. et al. Optical micro/nanofibre embedded soft film enables multifunctional flow sensing in microfluidic chips. Lab on a Chip. 2020. vol. 20. no. 14. pp. 2572–2579.
- 12 Guo M., Lu Y., Gan H. Experimental study on micro-grinding and flow characteristics of quartz glass with micro-channel. Journal of Physics: Conference Series. IOP Publishing. 2021. vol. 2044. no. 1. pp. 012135.
- 13 Scott S.M., Ali Z. Fabrication methods for microfluidic devices: An overview. Micromachines. 2021. vol. 12. no. 3. pp. 319.
- 14 Reyes D.R., van Heeren H., Guha S., Herbertson L. et al. Accelerating innovation and commercialization through standardization of microfluidic-based medical devices. Lab on a Chip. 2021. vol. 21. no. 1. pp. 9–21.
- 15 Ma X., Li R., Jin Z., Fan Y. et al. Injection molding and characterization of PMMA-based microfluidic devices. Microsystem Technologies. 2020. vol. 26. pp. 1317–1324.
- 16 Agha A., Waheed W., Alamoodi N., Mathew B. et al. A review of cyclic olefin copolymer applications in microfluidics and microdevices. Macromolecular Materials and Engineering. 2022. vol. 307. no. 8. pp. 2200053.
- 17 Raj M.K., Chakraborty S. PDMS microfluidics: A mini review. Journal of Applied Polymer Science. 2020. vol. 137. no. 27. pp. 48958.
- 18 Costa Junior J.M., Naveira-Cotta C.P., de Moraes D.B., Inforcatti Neto et al. Innovative metallic microfluidic device for intensified biodiesel production. Industrial & Engineering Chemistry Research. 2019. vol. 59. no. 1. pp. 389–398.
- 19 Kafarov V.V., Vinarov A.Yu., Gordeev L.S. Modeling of biochemical reactors: monograph / M.: Forest Industry, 1979. pp. 344.
- 20 Bhatti M.M., Marin M., Zeeshan A., Abdelsalam S.I. Recent trends in computational fluid dynamics. Frontiers in Physics. 2020. vol. 8. pp. 593111.
- 21 Einarsrud K.E., Loomba V., Olsen J.E. Applied Computational Fluid Dynamics (CFD). Processes. 2023. vol. 11. no. 2. pp. 461.
- 22 Inamdar N.K., Griffith L.G., Borenstein J.T. Transport and shear in a microfluidic membrane bilayer device for cell culture. Biomicrofluidics. 2011. vol. 5. no. 2. pp. 022213.
- 23 Wang F., Tarkkonen K., Nieminen Pihala V., Nagano K. et al. Mesenchymal cell derived Juxtacrine Wnt1 signaling regulates osteoblast activity and osteoclast differentiation. Journal of Bone and Mineral Research. 2019. vol. 34. no. 6. pp. 1129–1142.

Сведения об авторах

Анастасия Ю. Рылькова аспирант, кафедра химического и фармацевтического инжиниринга, Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева, Миусская пл., 9, г. Москва, 125047, Россия, rykovanas@mail.ru

 <https://orcid.org/0009-0008-5688-8017>

Елена В. Гусева к.т.н., доцент, кафедра химического и фармацевтического инжиниринга, Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева, Миусская пл., 9, г. Москва, 125047, Россия, guseva.e.v@muctr.ru

 <https://orcid.org/0000-0002-6835-4513>

Руслан Р. Сафаров к.т.н., директор департамента научно-технической политики, Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева, Миусская пл., 9, г. Москва, 125047, Россия, safarov.r.r@muctr.ru

 <https://orcid.org/0000-0002-0342-0049>

Вклад авторов

Анастасия Ю. Рылькова написала рукопись, выполнила расчеты, корректировала ее до подачи в редакцию и несет ответственность за плагиат

Елена В. Гусева обзор литературных источников по исследуемой проблеме, корректировка расчетов

Руслан Р. Сафаров обзор литературных источников по исследуемой проблеме, консультация в ходе исследования

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Information about authors

Anastasia Yu. Rylkova graduate student, chemical and pharmaceutical engineering department, D. Mendeleev University of Chemical Technology of Russia, Miusskaya sq., 9, Moscow, 125047, Russia, rykovanas@mail.ru

 <https://orcid.org/0009-0008-5688-8017>

Elena V. Guseva Cand. Sci. (Engin.), associate professor, chemical and pharmaceutical engineering department, D. Mendeleev University of Chemical Technology of Russia, Miusskaya sq., 9, Moscow, 125047, Russia, guseva.e.v@muctr.ru

 <https://orcid.org/0000-0002-6835-4513>

Ruslan R. Safarov Cand. Sci. (Engin.), director of science and technical policy, D. Mendeleev University of Chemical Technology of Russia, Miusskaya sq., 9, Moscow, 125047, Russia, safarov.r.r@muctr.ru

 <https://orcid.org/0000-0002-0342-0049>

Contribution

Anastasia Yu. Rylkova wrote the manuscript, performed computation, correct it before filing in editing and is responsible for plagiarism

Elena V. Guseva review of the literature on an investigated problem, correction the computation

Ruslan R. Safarov review of the literature on an investigated problem, consultation during the study

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Поступила 12/01/2024	После редакции 05/02/2024	Принята в печать 22/02/2024
Received 12/01/2024	Accepted in revised 05/02/2024	Accepted 22/02/2024