

МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ АКУСТИЧЕСКОГО ПОЛЯ ДЛЯ ВОЗДЕЙСТВИЯ НА РЕПРОДУКТИВНЫЕ КЛЕТКИ РЫБ В КРИОЗАЩИТНОМ РАСТВОРЕ ПРИ ЭКВИЛИБРАЦИИ

© 2022 г. Е.Н. Пономарева*, **, #, А.Н. Соловьев*, ***, А.А. Матросов*, В.А. Чебаненко**,
Д.А. Нижник*, А.А. Егорова*, ***, А.А. Красильникова*, **

*Донской государственной технической университет, пл. Гагарина, 1, Ростов-на-Дону, 344010, Россия

#E-mail: kafavb@mail.ru

**Южный научный центр РАН, просп. Чехова, 41, Ростов-на-Дону, 344006, Россия

***Южный федеральный университет, ул. Мильчакова, 8а, Ростов-на-Дону, 344090, Россия

Поступила в редакцию 30.11.2021 г.

После доработки 21.04.2022 г.

Принята к публикации 26.05.2022 г.

Работа посвящена математическому моделированию акустических полей при применении пьезоактуаторов в технологии низкотемпературного консервирования репродуктивных клеток осетровых рыб с интеллектуальным управлением процесса замораживания. Предложено воздействовать акустическим полем на репродуктивные клетки рыб на этапе эквilibрации после помещения их в криозащитную среду. Построена математическая модель пьезоактуатора, создающего акустическое поле, и с помощью конечно-элементного анализа выполнены численные эксперименты. В результате определены частоты резонанса и антирезонанса, коэффициент электромеханической связи, проанализированы распределения скоростей в объеме, занимаемом суспензией, найдены оптимальные характеристики пьезоактуатора, создающего акустическое поле.

Ключевые слова: пьезоактуатор, акустическое поле, криопротектор, эквilibрация, сперма рыб, метод конечных элементов.

DOI: 10.31857/S000630292204007X, EDN: ITDBRY

В настоящее время по данным Организации Объединенных Наций одним из глобальных вызовов человечеству является нехватка продовольствия [1, 2]. Около 30% населения Земли (более 2.3 миллиарда человек) лишены доступа к достаточному питанию, из них 0.8 миллиарда голодают [3]. Вкладом в эту борьбу является интенсивное развитие аквакультуры, в том числе разработка новых технологий низкотемпературного консервирования репродуктивных клеток рыб и их внедрение в процессы искусственного воспроизводства рыбы с целью повышения продуктивности рыбоводческих хозяйств. Другой важной задачей современности является сохранение генетического разнообразия ценных видов рыб. Для решения этой задачи необходимо создавать криобанки, способные обеспечить сохранность криоконсервированных образцов половых клеток без потери их продуктивных качеств в течение нескольких десятилетий.

Основная проблема криоконсервации заключается в необходимости предохранения клеток от

повреждения при их замораживании. Для этого используют криопротекторы, призванные защитить клетку в процессе охлаждения и формирования кристаллов льда. Чтобы криопротектор быстрее проникал внутрь клетки, на этапе эквilibрации желательно увеличить проницаемость клеточных мембран. Такого эффекта можно достичь воздействием на клетку акустического поля определенной мощности и частоты [4]. Так, выживаемость сперматозоидов осетровых рыб после применения акустического воздействия в процессе эквilibрации увеличивается на 20% по сравнению со спермой, замороженной по традиционной методике [5]. Сперма такого качества в дальнейшем может быть использована для длительного хранения и последующего искусственного осеменения икры осетровых рыб.

Обзор мировой литературы, посвященной проблемам криоконсервации спермы, показал, что основными темами исследований являются разработка протоколов консервации, составов криопротекторов, коэффициентов разбавления, времени эквilibрации и др.

При этом в основном рассматриваются конкретные породы рыб или морских животных. Так

Сокращения: КЭМС – коэффициент электромеханической связи, АЧХ – амплитудно-частотная характеристика.

в работе [6] рассматривается текущее положение и будущие перспективы стандартизации применения криоконсервации спермы устриц. В работе [7] исследуются вопросы воздействия криопротекторов при криоконсервации на сперму каменной камбалы *Kareius bicoloratus*, в том числе рассматривается влияние коэффициента разбавления, времени эквипирации и др.

В работе [8] описаны положительные результаты экспериментов по витрификации сперматозоидов двух видов рыб: пресноводного евразийского окуня *Perca fluviatilis* и морского европейского угря *Anguilla anguilla*. Приводится разработка протоколов витрификации, обсуждаются температурный режим, состав витрифицирующих растворов, коэффициенты разбавления и смежные вопросы. В работе [9] представлена разработка методов криоконсервации спермы у пехерей *Odontesthes bonariensis*. Обсуждаются вопросы состава и концентрации криозащитных сред. Впервые продемонстрирована возможность криоконсервации спермы пехерей с использованием простых протоколов.

В работе [10] описывается разработка открытого аппаратного 3D-печатного конвейерного устройства для непрерывной криоконсервации нестандартных образцов. В статье [11] описываются изменения параметров спермы самок рыбок мандаринок с измененным полом *Siniperca chuatsi* в процессе криоконсервации. Работа [12] посвящена обзору состояния криоконсервации аквариумных рыб. Проведено сравнение предложенных протоколов криоконсервации спермы аквариумных рыб. Подчеркивается важность искусственного оплодотворения для оценки жизнеспособности размороженной спермы.

Целью исследования [13] стала оценка различных протоколов криоконсервации спермы хиростомы *Chirostoma estor*. Сделан вывод о том, что при криозаморозке данного объекта могут использоваться коммерческие разбавители спермы МПП™ и Androstar Plus™ совместно с метилгликолем. В исследовании [14] авторы представили протокол криоконсервации спермы *Oryzias* в соломинках объемом 0.25 мл.

В работе [15] рассматривается использование для криоконсервации спермы карпа (*Cyprinus carpio*) разбавителя, содержащего 10% соевого лецитина и лишённого животных белков. Показано, что такой разбавитель обладает защитными свойствами, близкими по уровню к свойствам разбавителя на основе яичного желтка. Работы [16, 17] посвящены совершенствованию протокола криоконсервации спермы осетровых рыб, в том числе белуги (*Huso huso*), внесённой в Красную книгу.

Суммируя вышеописанные работы, можно сделать вывод, что клетки чаще всего заморажи-

вают с применением программируемых криозамораживателей до температуры жидкого азота (-196°C) с применением солевых разбавителей; в качестве криопротекторов чаще всего используют метанол и диметилсульфоксид.

Одним из перспективных направлений криобиологических исследований является использование в технологии низкотемпературного консервирования репродуктивных клеток новых физических методов, математического и компьютерного моделирования, что обеспечивает комплексный междисциплинарный подход к решению проблемы увеличения эффективности консервации. Следует подчеркнуть, что работы, посвященные воздействию полей различной физической природы на сперму осетровых рыб в процессе эквипирации [4, 5], в частности акустических полей, практически отсутствуют.

Применение нового методологического подхода к методам длительного сохранения при низких температурах репродуктивного материала гидробионтов с применением акусто-механического воздействия, открывает большие возможности для создания новых эффективных биотехнологий.

Нами впервые предложено применение в технологии криоконсервации репродуктивных клеток рыб акусто-механического воздействия на замораживаемый материал, что, как мы предполагаем, позволит увеличить сохранность клеток во время двойного температурного шока. Основанием для применения акустических актуаторов в процессах криоконсервации клеток являются данные об увеличении проницаемости биологических мембран при воздействии ультразвука на клетки в суспензиях и биологические ткани [18, 19]. Применение ультразвука в криобиологии и криоконсервации подробно рассмотрено в работе [20]. В химиотерапии и биотехнологии используется эффект увеличения пассивной проницаемости мембран клеток в фазе разрежения под действием ультразвука [21].

Целью настоящей работы стало построение математической и компьютерной модели и лабораторной установки процесса акустического воздействия на смесь криозащитного раствора и спермы рыб, установления адекватности модели и проведения модельного эксперимента с фиксацией акустических полей в жидкости (в качестве жидкости в модельном эксперименте была выбрана вода, т.к. использование половых клеток связано с сезонными процессами), а также выбор оптимальных параметров конструкции, в смысле преобразования электрической энергии в механическую в окрестности первой изгибной моды плоского дна емкости, представляющей собой полупассивный биморф. Предполагается, что оптимальные амплитуда и частота воздействия мо-

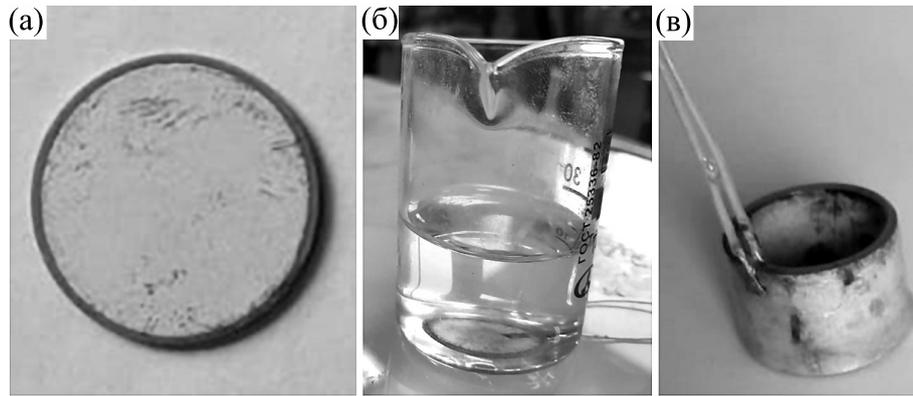


Рис. 1. Пьезоэлемент (а), собранная конструкция (б) и сенсор (в).

гут быть определены построением математической модели процесса.

МЕТОДЫ

В работе выполнена целая серия численных экспериментов. При проведении расчетов использованы следующие материальные константы материалов: стакан – стекло (модуль Юнга 70 ГПа, коэффициент Пуассона 0.33, плотность 2700 кг/м³); пьезоэлемент – пьезокерамика PZT-4 (плотность 7500 кг/м³, $c_{11}^E = 139$ ГПа, $c_{12}^E = 77,8$ ГПа, $c_{13}^E = 77,4$ ГПа, $c_{33}^E = 115$ ГПа, $c_{44}^E = 25,6$ ГПа, $e_{31} = -5,2$ Кл/м², $e_{33} = 15,1$ Кл/м², $e_{15} = 12,7$ Кл/м², $\epsilon_{11}/\epsilon_0 = 730$, $\epsilon_{33}/\epsilon_0 = 635$, $\epsilon_0 = 8,85 \cdot 10^{-12}$ Ф/м) [22–24].

Акустической средой является криозащитный раствор, имеющий достаточно сложный состав. В него, исходя из расчета на 1 литр, входят следующие вещества [16, 17]: NaCl – 6.5 г/л; KCl – 0.25 г/л; CaCl₂ – 0.25 г/л; NaHCO₃ – 2 г/л; HCl в количестве, чтобы показатель кислотности (водородный показатель) pH равнялся 8.0; сахароза – 1,7 г; маннит – 1 г; яичный желток – 10%; диметилсульфоксид – 10%.

Для проверки предложенной модели, был проведен модельный натурный эксперимент, в котором возбуждение колебаний осуществляли пьезоэлементом с радиусом 0.01 м (рис. 1а), сосуд с приклеенным пьезоэлементом показан на рис. 1б. Для регистрации акустических волн в жидкости, в качестве которой в модельном эксперименте была выбрана вода, использовали пьезокерамический сенсор, представляющий собой полый цилиндр с радиальной поляризацией и электродированными цилиндрическими поверхностями (рис. 1в). Для изоляции сенсора от воды он был покрыт слоем эпоксидной смолы. Этот сенсор служил только для цели регистрации аку-

стических полей внутри стакана, в будущих экспериментах с раствором криоагента и половыми клетками его использование не предполагается в силу вышеописанных соображений стерильности.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Пьезоактуаторы – это специальные сверхпрецизионные короткоходные линейные электроприводы. Они преобразуют электрическую энергию в небольшое, но крайне точно контролируемое линейное перемещение с высоким развиваемым усилием. В основе принципа их действия лежит обратный пьезоэлектрический эффект, то есть механическая деформация кристалла (пьезокерамики) при воздействии на него электрического поля. При этом осуществляется возвратно-поступательное движение или другие его виды. Поскольку пьезокерамика является довольно хрупким материалом, плохо выдерживающим высокие нагрузки растяжения и сдвига, пьезоактуаторы изготавливают в корпусе для защиты от воздействия внешних сил, а также проникновения влаги и инородных частиц.

Математическая модель воздействия на репродуктивные клетки рыб при криоконсервации акустического поля, генерируемого пьезоактуатором, строится в рамках механики сплошной среды. Для этого используются уравнения механики деформируемого твердого тела (в частности, линейной теории упругости и электроупругости) и уравнения движения жидких и газообразных сред (в акустическом приближении) [25, 26]. Такая модель представляет собой начально-краевую задачу и в общем случае ее решение может быть построено только численно с использованием соответствующих программных комплексов конечно-элементного анализа.

Выпишем уравнения движения для упругой среды (в рамках линейной теории упругости), определяющие соотношения (закон Гука) и соот-

ношения Коши (для малых деформаций) соответственно [27]:

$$\begin{aligned} \nabla \cdot \underline{\underline{\sigma}} + \underline{\underline{F}} &= \rho \underline{\underline{\dot{u}}}, \\ \underline{\underline{\sigma}} &= \underline{\underline{c}} \odot \underline{\underline{\varepsilon}}, \\ \underline{\underline{\varepsilon}} &= \frac{1}{2}(\nabla \underline{\underline{u}} + (\nabla \underline{\underline{u}})^T), \end{aligned} \quad (1)$$

где $\underline{\underline{\sigma}}$ – тензор напряжений; $\underline{\underline{\varepsilon}}$ – тензор деформаций; $\underline{\underline{u}}$ – вектор перемещений; $\underline{\underline{F}}$ – вектор плотности объемных сил; $\underline{\underline{c}}$ – тензор (четвертого ранга) упругих модулей; ∇ – набла-оператор; \odot – операция полного скалярного умножения; верхним индексом «T» обозначена операция транспонирования.

Для пьезоэлектрической среды к уравнениям движения и соотношениям Коши в рамках линейной теории электроупругости добавляются уравнения электростатики и определяющие соотношения (уравнения состояния для предварительно поляризованной среды с независимыми переменными – компонентами тензора деформацией и компонентами вектора напряженности электрического поля) соответственно [28]:

$$\begin{aligned} \nabla \cdot \underline{\underline{\sigma}} + \underline{\underline{F}} &= \rho \underline{\underline{\dot{u}}}, \\ \nabla \cdot \underline{\underline{D}} &= 0, \\ \underline{\underline{\sigma}} &= \underline{\underline{c}} \odot \underline{\underline{\varepsilon}} - \underline{\underline{e}}^T \cdot \underline{\underline{E}}, \\ \underline{\underline{D}} &= \underline{\underline{e}} \odot \underline{\underline{\varepsilon}} + \underline{\underline{\varepsilon}}^S \cdot \underline{\underline{E}}, \\ \underline{\underline{\varepsilon}} &= \frac{1}{2}(\nabla \underline{\underline{u}} + \nabla \underline{\underline{u}}^T), \\ \underline{\underline{E}} &= -\nabla \varphi, \end{aligned} \quad (2)$$

где $\underline{\underline{D}}$ – вектор электрической индукции, $\underline{\underline{E}}$ – вектор напряженности электрического поля, φ – электрический потенциал, $\underline{\underline{e}}$ – тензор (третьего ранга) пьезомодулей, $\underline{\underline{\varepsilon}}^S$ – тензор (второго ранга) диэлектрических проницаемостей, измеренных при постоянной (нулевой) деформации.

Для акустической среды уравнения движения, уравнение неразрывности, определяющие соотношения и условие потенциальности поля скоростей соответственно [29]:

$$\begin{aligned} \nabla \cdot \underline{\underline{\sigma}} &= \rho \underline{\underline{\dot{v}}}, \\ \nabla \cdot \underline{\underline{v}} + \frac{1}{\rho c^2} \dot{p} &= 0, \\ \underline{\underline{\sigma}} &= -\rho \underline{\underline{E}} + b \nabla \underline{\underline{v}}, \\ \underline{\underline{v}} &= \nabla \psi, \end{aligned} \quad (3)$$

где ρ – плотность акустической среды, c – скорость звука в акустической среде, p – звуковое

давление, $\underline{\underline{v}}$ – вектор скорости, b – диссипативный коэффициент акустической среды, ψ – потенциал скоростей, $\underline{\underline{E}}$ – единичный тензор.

Для корректной постановки задачи к системам уравнений (1)–(3) необходимо добавить граничные и начальные условия.

При определении механических граничных условий граница тела представляется в виде объединения непересекающихся областей $S = S_u \cup S_\sigma \cup S_{u\sigma}$, на которых задаются следующие условия ($\underline{\underline{n}}$ – единичный вектор внешней нормали к поверхности):

– условие задания перемещений на границе тела:

$$\underline{\underline{u}}|_{S_u} = \underline{\underline{u}}^0 \quad (4)$$

и, в случае условия закрепления границы тела:

$$\underline{\underline{u}}|_{S_u} = 0;$$

– условие приложения внешней нагрузки интенсивности $\underline{\underline{p}}^0$ к границе тела:

$$\underline{\underline{t}} = \underline{\underline{\sigma}} \cdot \underline{\underline{n}}|_{S_\sigma} = \underline{\underline{p}}^0 \quad (5)$$

– условие гладкого контакта рассматриваемого тела с абсолютно твердым телом – равенство нулю нормальных перемещений и касательных напряжений:

$$\begin{aligned} u_n &= \underline{\underline{u}} \cdot \underline{\underline{n}}|_{S_{u\sigma}} = 0, \\ \sigma_\tau &= \underline{\underline{\sigma}} \cdot \underline{\underline{n}} \cdot \underline{\underline{\tau}}|_{S_{u\sigma}} = 0. \end{aligned} \quad (6)$$

Последнее условие ставится также на оси симметрии при решении осесимметричной задачи.

Электрические краевые условия задаются на совокупности областей $S = \bigcup_{m=1}^M S_{E_m} \cup S_D$, на которых задаются следующие условия:

– условие на металлизированных поверхностях (электродах), когда задается известный электрический потенциал:

$$\varphi|_{S_{E_m}} = \varphi_m^0 = const; \quad (7)$$

– условие на неэлектропроводящих участках границы:

$$D_n|_{S_D} = \underline{\underline{D}} \cdot \underline{\underline{n}}|_{S_D} = 0. \quad (8)$$

(последнее условие также ставится на оси симметрии при решении осесимметричной задачи);

– условие для определения неизвестного электрического потенциала, которое формулируется дополнительно к условию (7) на электроде, включенному в электрическую цепь:

$$\int_{E_m} \dot{D}_n dS = I_m. \quad (9)$$

В частности, если электрод свободен, то заряд или ток в электрической цепи равны нулю ($I_m = 0$).

Для формулировки граничных условий для акустической среды предположим, что акустическая среда заполняет объем Ω_w с границей $S_w = \partial\Omega_w$. Разобьем S_w на четыре части: $S_w = S_{wf} \cup S_{wc} \cup S_{wi} \cup S_{ws}$. Будем считать, что граничная поверхность S_{wf} свободна, S_{wc} – жесткая стенка, S_{wi} – участок с заданным импедансным условием, а S_{ws} – часть границы, контактирующей с деформируемым твердым телом (упругим или пьезоэлектрическим). В этом случае соответственно имеем следующие граничные условия:

$$\begin{aligned} \underline{v} &= 0, \quad \mathbf{x} \in S_{wc}, \\ n_{wk}\sigma_{wkm} &= 0, \quad \mathbf{x} \in S_{wf}, \\ n_{wk}\sigma_{wkm} &= -Zv_m, \quad \mathbf{x} \in S_{wi}, \\ n_{wk}\sigma_{wkm} &= n_{wk}\sigma_{skm}, \quad \underline{v} = \underline{\dot{u}}, \quad \mathbf{x} \in S_{ws}, \end{aligned}$$

где n_{wk} – компоненты вектора внешней по отношению к объему Ω_w единичной нормали к S_w ; Z – импеданс границы S_{wi} ; σ_{skm} – компоненты тензора напряжений $\underline{\sigma}$ деформируемого тела.

Рассмотрим задачу определения оптимальных эффективных характеристик пьезоактуатора при его акустическом воздействии на репродуктивные клетки рыб на этапе эквilibрации.

Пьезоактуатор [30, 31] представляет собой круглую пластину диаметром 0.02 м. Пластина приклеена с внешней стороны по центру ко дну стандартного стеклянного лабораторного низкого градуированного стакана В-1-50ХС. Стакан имеет следующие размеры: объем 50 мл, диаметр 38 ± 1.0 мм, высота 70 ± 2 мм (ГОСТ 25336-82) [32, 33].

Суспензия спермы и криозащитной среды заполняет стакан примерно на одну треть его высоты и имеет температуру около 4°C. Эксперимент проводится при комнатной температуре.

Рабочим элементом пьезоактуатора является пьезоэлемент из пьезокерамики PZT-4 толщиной 0.003 м, предварительно поляризованной по толщине. Лицевые поверхности пьезоактуатора электродированы способом вжигания серебра и к ним подведены электрические провода. Толщиной нанесенных электродов пренебрегаем ввиду их малости. Внешняя поверхность электродов покрыта эпоксидной смолой толщиной 0.001 м, выполняющей роль защитного слоя.

По электрическим проводам на электроды подается переменная разность потенциалов по гармоническому закону с амплитудой V_0 .

Дно стакана и пьезоэлемент образуют полупассивный биморф, поэтому приложении переменной разности потенциалов на электроды пьезоэлемента приводит к поперечным колебаниям дна емкости. Это вызывает установившиеся коле-

бания пьезоактуатора и соответственно стакана. Создаваемое акустическое поле в суспензии в свою очередь приводит к акустическому воздействию на репродуктивные клетки рыб. При этом рабочей частотой является первая частота изгибных колебаний дна емкости.

Задача решается в осесимметричной постановке.

Для решения сформулированной задачи акустоэластостатики (1)–(3) с граничными условиями (4)–(6) будем использовать метод конечных элементов в классической формулировке Лагранжа.

В работе был использован программный комплекс свободного программного обеспечения (free software) конечно-элементного анализа ACELAN [34, 35].

В связи с необходимостью моделировать связанные механические и электрические поля были использованы треугольные квадратичные конечные элементы. На рис. 2 представлены половина осевого сечения стакана с суспензией и пьезоэлементом и фрагмент сгенерированной конечно-элементной сетки, которая состоит из 2269 элементов, содержащих 1259 узлов. При проведении численных экспериментов конечно-элементную сетку сгущали до тех пор, пока результаты расчетов становились независимы от ее формы. Это позволило рассчитывать поле смещений и собственные резонансные частоты с точностью до четвертого знака.

Репродуктивные клетки соединяются с криозащитной средой. Размеры этих клеток достаточно малы по сравнению с длиной акустических волн. Поэтому полученная смесь криопротектора с репродуктивными клетками представляется однородной суспензией. Определение акустических параметров этой суспензии (плотности ρ , скорости звука c , диссипативного коэффициента b) является дальнейшей самостоятельной экспериментальной задачей. В силу этого далее в работе в рамках поставленной задачи об определении оптимальных эффективных характеристик пьезоактуатора суспензия моделируется в первом приближении водой (плотность 1000 кг/м³, скорость звука 1500 м/с).

Первым шагом численного анализа является исследование эффективности возбуждения колебаний в зависимости от радиуса пьезоэлемента. Для этого для различных значений радиусов пьезоэлемента R проведен модальный анализ конструкции без суспензии. При этом найдены численные значения собственных частот резонанса f_r и антирезонанса f_a . Кроме того, вычислена величина коэффициента электромеханической связи (КЭМС), определенного через частоты резонанса

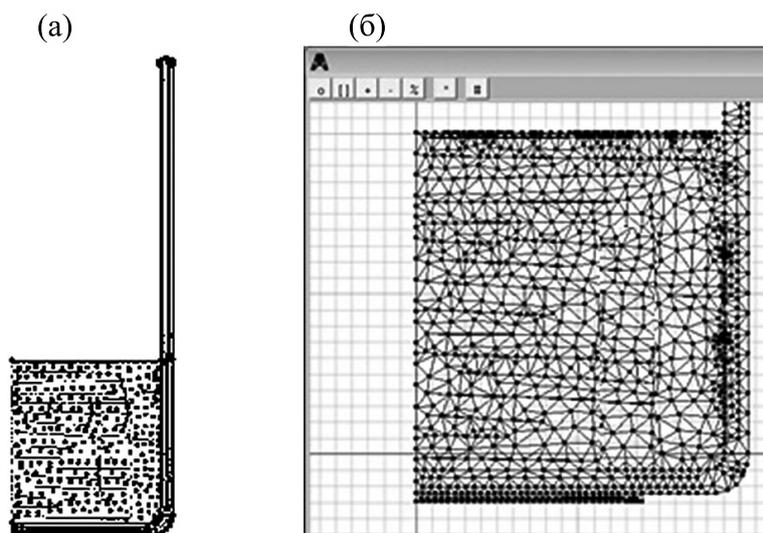


Рис. 2. Конечно-элементная сетка: (а) – половина осевого сечения стакана с суспензией и пьезоэлементом; (б) – фрагмент конечно-элементной сетки.

и антирезонанса [36, 37]:

$$k_{33}^2 = \frac{f_a^2 - f_r^2}{f_a^2}.$$

Зависимость частот резонанса и антирезонанса, а также КЭМС от радиуса пьезоэлемента представлена в табл. 1.

Зависимость собственных частот резонанса, антирезонанса от радиуса пьезоэлемента и КЭМС представлены также графически на рис. 3а и 3б соответственно.

Анализ результатов, представленных в табл. 1 и на рис. 3, показывает, что существует радиус пьезоэлемента $R = 0.014$ м, при котором КЭМС принимает максимальное значение на первой изгибной моде. Таким образом, использование данного размера пьезоэлемента позволит наиболее

эффективно возбуждать акустические волны в суспензии.

Дальнейшее решение неоднородной задачи о возбуждении акустических волн в суспензии с помощью приложения гармонической разности потенциалов к электродам пьезоэлемента проведено именно для этого размера.

На рис. 4 представлены первая форма колебания (первая изгибная мода дна сосуда) и распределение смещений. Из этих рисунков следует, что на этой частоте интенсивно колеблется дно сосуда. В то же время цилиндрическая стенка сосуда находится в относительном покое.

При наличии жидкости (высота 0.021 м), которая моделирует раствор криоконсерванта и биологического материала (суспензии) и учета модельной диссипации по Релею собственная резо-

Таблица 1. Зависимость частот резонанса и антирезонанса, а также величины коэффициента электромеханической связи от радиуса пьезоэлемента

Радиус пьезоэлемента (м)	Частота резонанса (кГц)	Частота антирезонанса (кГц)	КЭМС
0.006	8.402	8.504	0.154
0.008	8.405	8.597	0.211
0.010	8.463	8.757	0.257
0.012	8.523	8.901	0.288
0.013	8.549	8.951	0.296
0.014	8.576	8.985	0.298
0.015	8.588	8.985	0.294
0.016	8.614	8.981	0.283
0.018	8.757	9.025	0.242

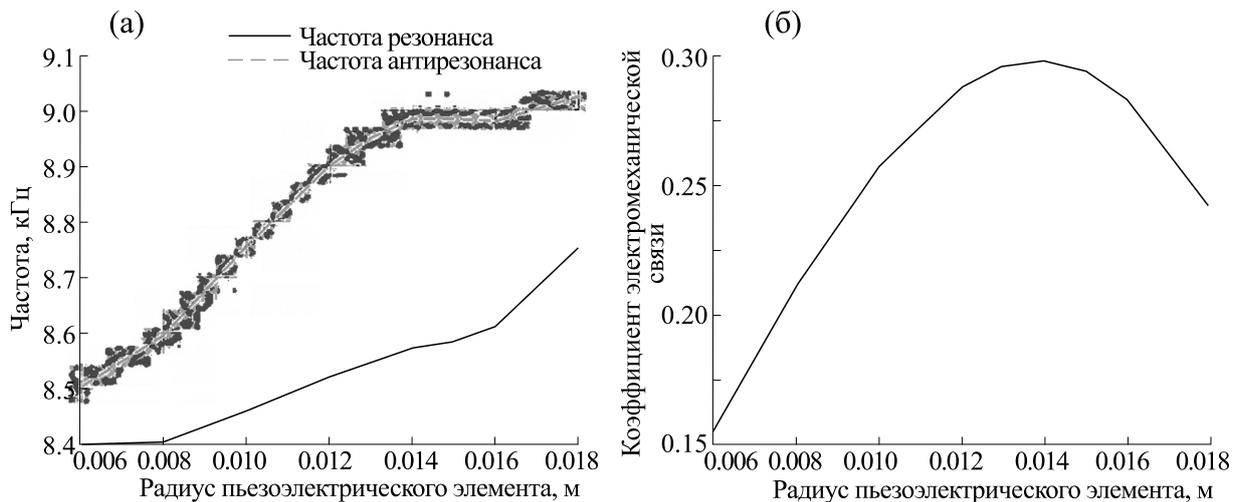


Рис. 3. Зависимости частот резонанса и антирезонанса (а) и коэффициента электромеханической связи (б) от радиуса пьезоэлемента.

нансная частота уменьшается и равна 6.075 КГц. Очевидно, что эта величина существенно зависит от объема жидкости. Так, на рис. 5 представлена амплитудно-частотная характеристика (АЧХ) осевого смещения центральной внутренней точки, расположенной на дне сосуда, в окрестности резонансной частоты первой изгибной моды.

На рис. 6 и 7 представлены соответственно АЧХ действительной и мнимой частей потенциала скоростей в той же точке, расположенной на

дне сосуда, в окрестности резонансной частоты первой изгибной моды.

На рис. 8 представлены распределения с изолиниями действительной и мнимой частей потенциала скоростей соответственно в области жидкости вблизи резонансной частоты первой изгибной моды.

На рис. 9 представлены соответственно распределение осевой и радиальной составляющей скорости вблизи резонансной частоты первой изгибной моды.

Наличие на последнем рисунке областей разной интенсивности свидетельствует о наличии положительной и отрицательной составляющей вертикальной и горизонтальной скорости. Это явление должно вызвать перемешивание суспензии внутри объема стакана.

На рис. 10а представлен сосуд с жидкостью и сенсором внутри, а на рис. 10б — осциллограммы электрического напряжения на актуаторе и на сенсоре. Таким образом, акустическое поле возбуждается в объеме жидкости, о чем свидетельствует принятый сигнал на сенсоре.

Частота резонанса первой изгибной моды, рассчитанная на основе описанной выше конечно-элементной модели, составила 5.755 кГц. В эксперименте резонанс наблюдался на частоте 5.960 кГц, разница с теоретической частотой составила 3.4%. Следовательно, построенная теоретическая модель является адекватной и может быть использована при оценке акустического воздействия на биологический материал в растворе криоконсерванта.

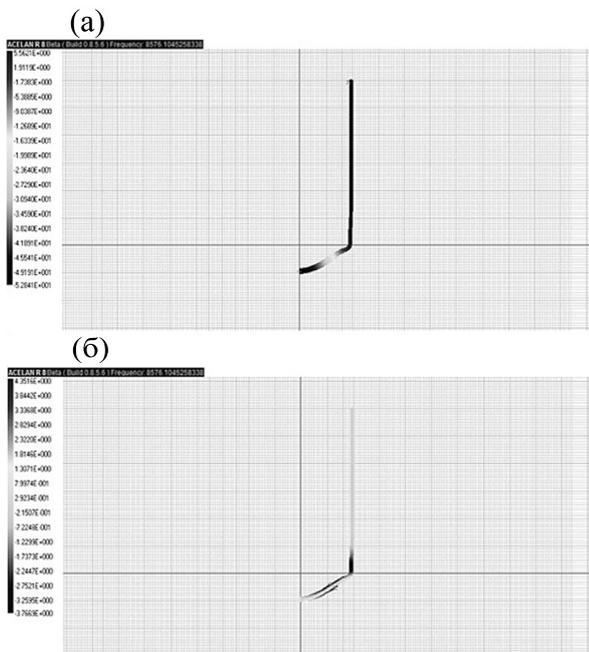


Рис. 4. Распределение смещений на первой моде: (а) — осевое смещение, (б) — радиальное смещение.

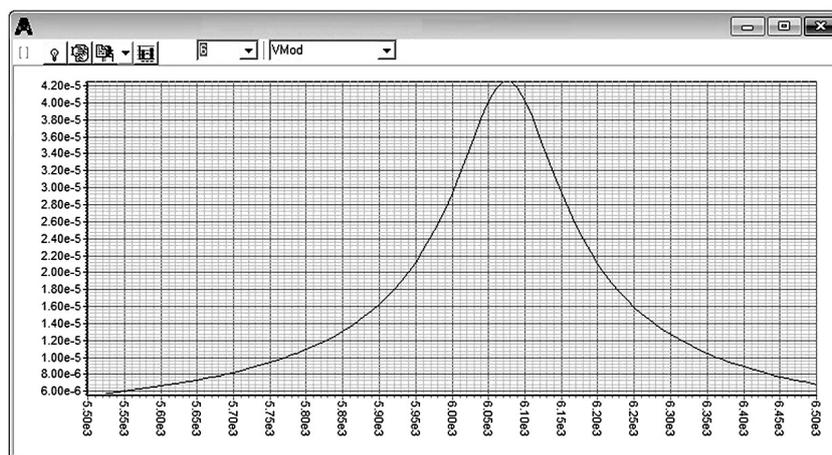


Рис. 5. АЧХ осевого смещения центральной внутренней точки.

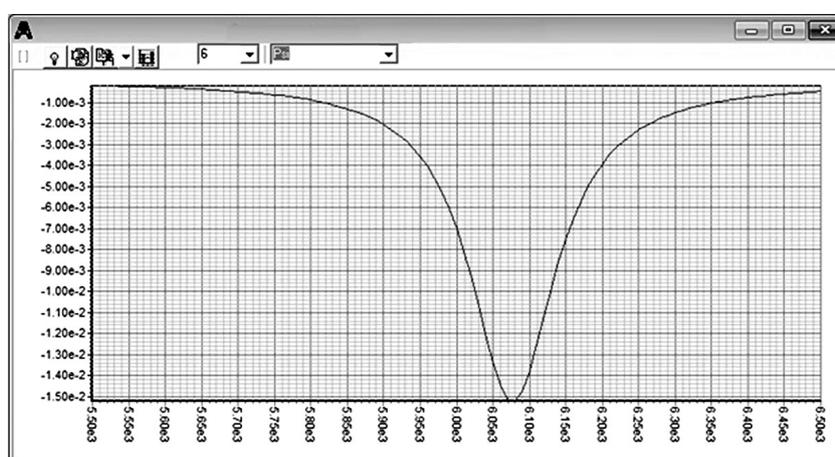


Рис. 6. АЧХ действительной части потенциала скоростей центральной внутренней точки.

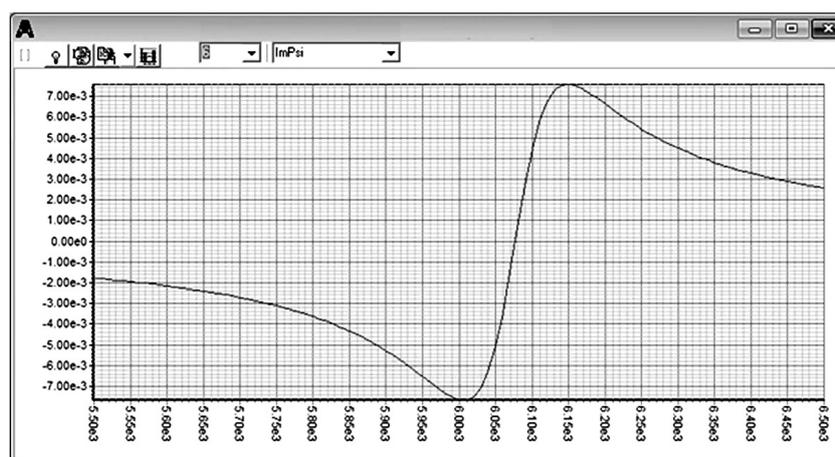


Рис. 7. АЧХ мнимой части потенциала скоростей центральной внутренней точки.

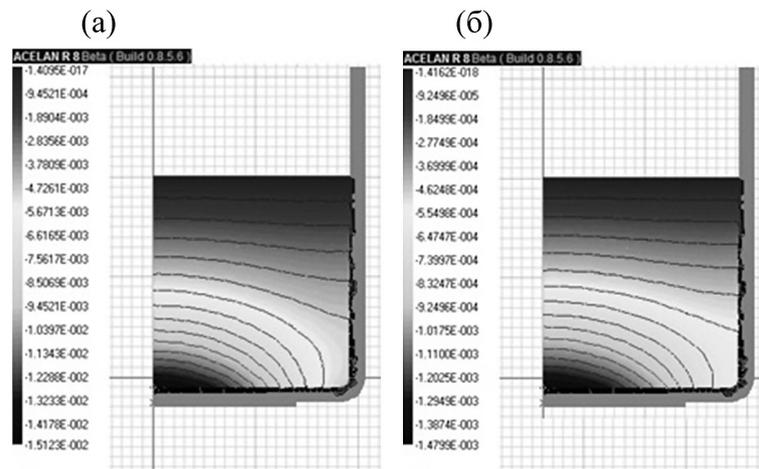


Рис. 8. Распределение потенциала скоростей в жидкости: (а) — действительная часть; (б) — мнимая часть.

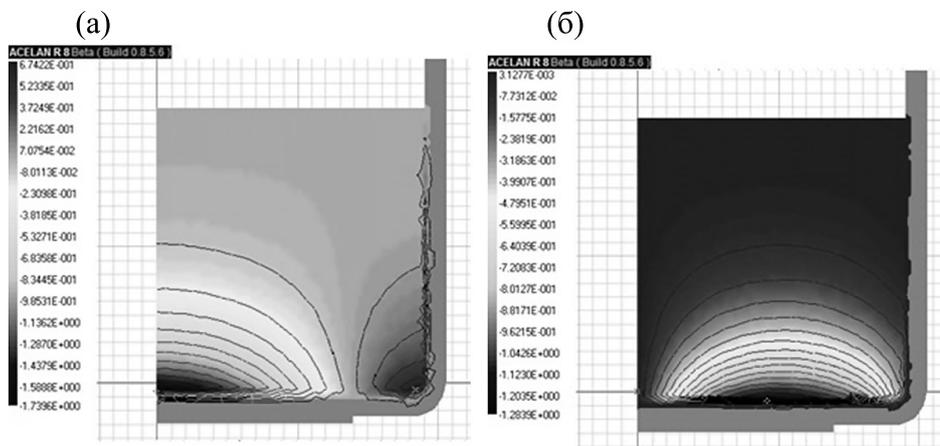


Рис. 9. Распределение скорости вблизи резонансной частоты первой изгибной моды: (а) — осевая составляющая; (б) — радиальная составляющая.

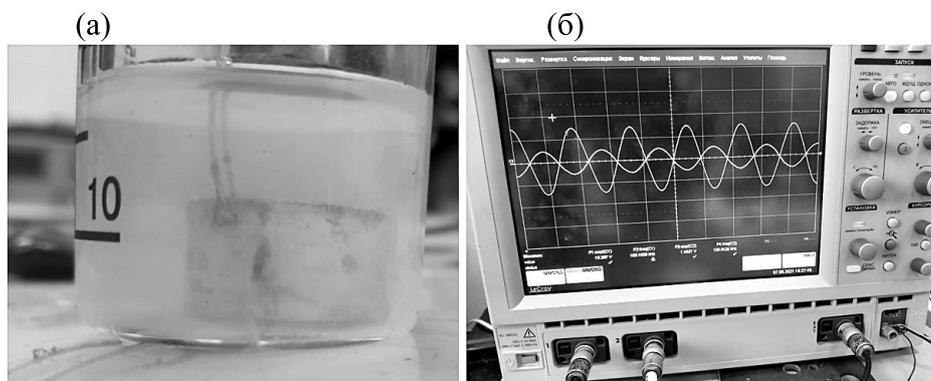


Рис. 10. Сенсор в жидкости (а), осциллограмма электрических потенциалов (б).

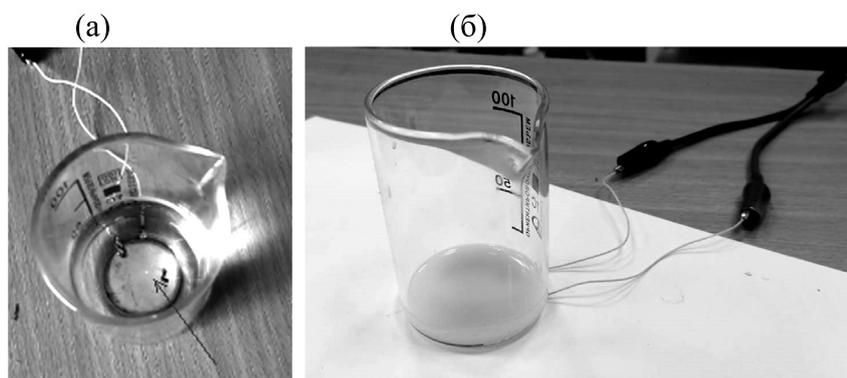


Рис. 11. Конструкция с пьезоэлементом. Стрелка указывает на светлый кружок – пузырек кавитации (а), криоагент с половыми клетками в лабораторном стакане с пьезоэлементом (б).

Следует отметить, что при увеличении напряжения на пьезоэлементе на резонансной частоте 5.8 кГц, в центре жидкости наблюдался пузырек кавитации (рис. 11а), влияние которого на процесс эквilibрации является предметом отдельного исследования. В эксперименте с раствором криосреды с половыми клетками (рис. 11б), жидкость занимает весьма незначительный объем стакана, поэтому процессы ее перемешивания по глубине не важны.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В работе выполнено математическое и экспериментальное моделирование применения пьезоактуаторов в акустическом воздействии на криозащитную среду с репродуктивными клетками рыб, которая моделируется акустической средой, на этапе эквilibрации. Построена математическая модель пьезоактуатора, создающего акустическое поле в рамках краевой задачи для составного упругого, электроупругого и акустического тела. Эта задача решается методом конечных элементов. В численных экспериментах на основе определенных частот резонанса и антирезонанса найдены оптимальные геометрические параметры пьезоактуатора, проанализировано распределение скоростей в акустической среде.

Проведен натурный эксперимент, в котором пьезоэлектрический сенсор регистрировал акустическое поле в жидкости, возбуждаемое пьезоактуатором. Этот эксперимент показал адекватность построенной теоретической модели и численных расчетов, разница в определении резонансной частоты составила 3.4%.

Анализ численных результатов, представленных на рис. 4–9, показывает, что в объеме жидкости эффективно возбуждается акустическое поле на первой изгибной моде. Однако это поле не является однородным, о чем свидетельствует распределение скоростей внутри жидкости. Поэтому

в процессе акустического воздействия имеет смысл использовать перемешивание раствора. В то же время наличие участков с интенсивной положительной и отрицательной составляющей вертикальной скорости, возможно, автоматически приведет к процессу перемешивания.

Таким образом, в технологии низкотемпературного консервирования репродуктивных клеток рыб на этапе эквilibрации представляется целесообразным использование пьезоактуаторов на первой изгибной моде.

В дальнейшем в отдельном исследовании планируется экспериментально исследовать особенности проникновения элементов криоагента через клеточную мембрану.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена с использованием Биоресурсной коллекции редких и исчезающих видов рыб ЮНЦ РАН № 73602.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, грант № 21-16-00118.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей или животных в качестве объектов исследований.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. <https://www.un.org/sustainabledevelopment/hunger/>
2. <https://www.wfp.org/>
3. *Global Report on Food Crises* (Food Security Information Network, WFP, 2021). <https://docs.wfp.org/api/documents/WFP-0000127343/download/>
4. Е. Н. Пономарёва, М. М. Богатырёва и А. М. Тихомиров, Докл. РАН, **431** (2), 264 (2010).
5. Е. Н. Пономарёва, А. М. Тихомиров, М. М. Богатырёва и др., Патент 2009115035/12 (2009).
6. M. Mahbul Hassan, J. G. Qin, and X. Li, *Aquaculture*, **438**, 24 (2015).
7. Y. Ho Leea, J. Yeol Parka, I. Young Leeb, et al., *Aquaculture*, **531**, 735969 (2021).
8. E. Kása, G. Bernáth, T. Kollár, et al., *Gen. Comp. Endocrinol.*, **245**, 102 (2017).
9. G. Lichtenstein, M. Elisio, and L. A. Miranda, *Aquaculture*, **306**, 357 (2010).
10. Y. Liu, M. Eskridge, A. Guitreau, et al., *Aquacult. Engineer.*, **95**, 102202 (2021).
11. Sh. Liu, G. Wang, Z. Chen, et al., *Theriogenology*, **133**, 22 (2019).
12. H. Yang and T. R. Tiersch, *Comp. Biochem. Physiol., Part C*, **149**, 224 (2009).
13. N. C. Motta, G. J. Machado, I. S. Ferreira, et al., *Cryobiology*, **103**, 81 (2021).
14. H. Yang, M. Norris, R. Winn, and T. R. Tiersch, *Cryobiology* **61** (2), 211 (2010).
15. C. Yildiz, Y. Bozkurt, and I. Yavas, *Cryobiology*, **67** (1), 91 (2013).
16. V. P. Osipova, M. N. Kolyada, N. T. Berberova, et al., *Cryobiology* **69** (3), 467 (2014).
17. М. М. Богатырёва, *Оптимизация методов криоконсервации спермы для сохранения генофонда осетровых рыб* (Астрахань, 2010).
18. A. R. Williams, *Ultrasound: biological effects and potential hazards* (Acad. Press, 1983).
19. *Применение ультразвука в медицине. Физические основы*, Под ред. К. Хилла (Мир, М., 1989).
20. В. Б. Акопян и Ю. А. Ершов, *Основы взаимодействия ультразвука с биологическими объектами* (МГТУ им. Н.Э. Баумана, М., 2005).
21. А. И. Журавлев, *Биофизическая и радиационная экология* («Белые альвы», М., 2012).
22. T. Ogawa, *Piezoelectric Materials* (Springer, 2016).
23. <https://www.americanpiezo.com/>
24. *Handbook of Advanced Dielectric, Piezoelectric and Ferroelectric Materials*, Ed. by Z.-G. Ye (Woodhead Publ., 2008).
25. T. M. Atanackovic and A. Guran, *Theory of Elasticity for Scientists and Engineers* (Birkhäuser, Basel, 2000).
26. R. B. Hetnarski and J. Ignaczak, *The Mathematical Theory of Elasticity* (CRC Press, 2013).
27. A. I. Lurie. *Theory of Elasticity (Foundations of Engineering Mechanics)* (Springer, 2005).
28. J. Yang, *An Introduction to the Theory of Piezoelectricity* (Springer, 2018).
29. R. N. Miles, *Physical Approach to Engineering Acoustics* (Springer Int. Publ., 2020).
30. S. N. Shevtsov, A. N. Soloviev, I. A. Parinov, et al., *Piezoelectric Actuators and Generators for Energy Harvesting* (Springer, 2018).
31. S.-B. Choi and Y.-M. Han, *Piezoelectric Actuators: Control Applications of Smart Materials* (CRC Press, 2010).
32. <https://www.chemical.ru/>
33. <https://minimed.ru/>
34. A. Belokon, V. Eremeyev, A. Nasedkin, et al., *J. Appl. Math. Mechanics*, **64** (3), 367 (2000).
35. A. Belokon, A. Nasedkin, and A. Solovyev, *J. Appl. Math. Mechanics*, **66** (3), 481 (2002).
36. D. J Griffiths, *Introduction to Electrodynamics* (Pearson/Addison-Wesley, 1999).
37. K. Ch. Kao, *Dielectric Phenomena in Solids* (Acad. Press, 2004).

Mathematical Simulation of Acoustic Effect on Cryoprotector with Fish Sperm at Equilibration

E.N. Ponomareva* **, A.N. Soloviev* *, A.A. Matrosov*, V.A. Chebanenko **, D.A. Nizhnik*, A.A. Egorova* ***, and A.A. Krasilnikova* ****

*Don State Technical University, pl. Gagarina 1, Rostov-na-Donu, 344010 Russia

**Southern Scientific Center, Russian Academy of Sciences, prosp. Chekhova, 41, Rostov-na-Donu, 344006 Russia

***Southern Federal University, ul. Milchakova 8a, Rostov-na-Donu, 344090 Russia

The work is devoted to mathematical modeling of application of piezoactuators in technology of low-temperature preservation of reproductive cells of sturgeon fish with intelligent control of freezing process. Precisely, after placing fish reproductive cells in the cryoprotective medium at the equilibration stage, they are exposed to an acoustic field. The work builds a mathematical model of a piezoactuator that creates an acoustic field. Numerical experiments were performed using finite element analysis. As a result, resonance and antiresonance frequencies, electromechanical coupling coefficient were determined, velocity distributions in the volume occupied by the suspension were analyzed, optimal characteristics of the piezoactuator creating the acoustic field were found. A full-scale experiment was also conducted.

Keywords: piezoactuator, acoustic impact, cryoprotector, balancing, fish sperm, finite element method