

В.С. ЛУПИКОВ, д-р техн. наук, проф., зав. каф., НТУ "ХПИ",
Харьков

Н.А. ЛЕЛЮК, ст.-преп., НТУ "ХПИ", Харьков

Е.Г. КОРОЛЬ, ассистент, НТУ "ХПИ", Харьков

В.В. ЛИТВИНЕНКО, ассистент, НТУ "ХПИ", Харьков

И.С. ВАРШАМОВА, м.н.с., НТУ "ХПИ", Харьков

В.Ф. БОЛЮХ, д-р техн. наук, проф., НТУ "ХПИ", Харьков

ОБЗОР МЕТОДОВ СВЕРХБЫСТРОГО ОХЛАЖДЕНИЯ МАЛЫХ ОБЪЕКТОВ

Приведено опис відомих методів та пристроїв, що використовують для надшвидкого охолодження малих об'єктів. Відмічено особливості і недоліки цих методів та пристроїв. Показано можливості чисельного моделювання процесів надшвидкого охолодження малих об'єктів.

Приведено описание известных методов и устройств, используемых для сверхбыстрого охлаждения клеток. Отмечены особенности и недостатки этих методов и устройств. Показаны возможности численного моделирования процессов сверхбыстрого охлаждения клеток биологических объектов.

Введение. В настоящее время при разработке электрических аппаратов требуется обеспечить охлаждение контактов, обмоток и т.д. При этом для интенсификации процесса охлаждения используется вентиляция нагреваемых объектов воздухом, либо применяется водяное охлаждение. Процессы вентиляции и водяного охлаждения достаточно инерционны и применяются исключительно в длительных режимах работы электрического аппарата. Между тем потребность в быстром охлаждении возникает в том же электрическом аппарате в аварийном режиме. Например, при протекании токов короткого замыкания по контактам автоматического выключателя. Хотя процесс протекания тока короткого замыкания является кратковременным, он существенно влияет на выбор конструкции электрического аппарата: масса контактов выбирается с большим запасом для увеличения части тепловой энергии, запасаемой в контактах, и увеличения поверхности для передачи тепла от контактов в окружающее пространство либо к охладителю. Применение быстрого охлаждения контактов в случае возникновения аварийного нагрева могло бы существенно облегчить работу контактов, уменьшить их габариты и повысить надежность авто-

матического выключателя в целом. В этой связи актуальным становится поиск методов и технических решений, которые позволили бы обеспечить быстрое охлаждение контактов при протекании тока короткого замыкания.

Контактные системы, обмотки и другие нагреваемые элементы электрического аппарата занимают небольшой объем по отношению к объему электрического аппарата и в этом смысле они рассматриваются как малые объекты. Поскольку процесс их нагрева в условиях протекания аварийных токов носит импульсный характер, то и процесс их охлаждения необходимо рассматривать и осуществлять как очень кратковременный или сверхбыстрый. В этом случае можно воспользоваться идеями и достижениями в области сверхбыстрого охлаждения малых объектов, применяемых, например, в криобиологии при замораживании клеток, либо в микроэлектронике.

В криобиологии проблема сверхбыстрого замораживания клеток возникла в связи с необходимостью накопления и сохранения генетического материала биологических объектов в условиях наблюдаемого в последние десятилетия всемирного потепления климата, особенно для животных, обитающих за полярным кругом. Достижения в этой области несомненны и они сводятся к тому, что в настоящее время уже есть сложившиеся подходы к криоконсервации клеток и последующему их размораживанию и "оживлению". В настоящее время наметился новый путь решения этой проблемы. Он связан с тем, что отдельные нерешенные задачи криобиологии удастся сформулировать как задачи электромеханики, и привлекать для их решения хорошо отработанные методы математического моделирования и экспериментального исследования. В микроэлектронике используются похожие методы охлаждения.

Цель работы – анализ известных методов и устройств для сверхбыстрого охлаждения малых объектов, применяемых в криобиологии.

Особенности малых объектов криобиологии. Основной объем клеток биологических объектов составляет вода, и процесс охлаждения принято рассматривать как процесс образования льда во внеклеточном растворе и внутри клеток и его воздействия на структуры клетки. При криоконсервации клеток, межклеточные образования льда фатальны для клеток. В литературе рассматриваются три механизма повреждения клеток: механическое повреждение клеточных ультраструктур; прямое внешнее воздействие; повреждения, связанные с объемным расширением клетки [1, 2].

В современной криобиологии рассматриваются два основных

подхода к криоконсервации малых биологических объектов: *медленное охлаждение* и *витрификация*, и последний подход является самым перспективным.

При *медленном охлаждении* температура клеток становится ниже точки их однородного охлаждения. Когда водные растворы замерзают, чистая вода кристаллизуется в виде льда, а оставшийся остаток постепенно увеличивает концентрацию [3]. Если лед формируется в межклеточном растворе, появляется прогрессирующее увеличение его концентрации во внеклеточном пространстве. В результате клетка обезвоживается, и образование внутриклеточного льда не происходит. Однако, существуют определенные недостатки такого подхода: повреждение клетки, как полагают, вызывается воздействием высококонцентрированных внутри- и внеклеточных растворов и/или механическим взаимодействием клеток и льда [1, 4-6]. Другим недостатком этого метода является сложность практической реализации. Медленное замораживание требует, чтобы параметры процесса охлаждения точно контролировались [7, 8].

Витрификация представляет собой процесс отвердевания образца при отсутствии образования как внутри-, так и внеклеточного льда [9, 10]; другими словами образуется аморфное тело, стеклоподобное (от *vitro* – стекло). Это стеклоподобное состояние может быть создано в большинстве жидкостей, если охлаждение происходит достаточно быстро. Для характеристики скорости охлаждения используется показатель охлаждения – изменение температуры за время 1 мин. Витрификация чистой воды требует показателя охлаждения порядка 10^8 °C/мин [11]. Приведенная величина показателя охлаждения является предельной, к которой можно стремиться при разработке методов и устройств витрификации. Добавка криопротекторов (cryoprotectant agents – CPA) существенно уменьшает эти чрезвычайно высокие показатели охлаждения. Среди наиболее часто применяемых криопротекторов – диметил сульфоксид (DMSO), этилен гликоль (EG), и 1,2-пропандиол (PrOH). В общем, для концентраций криопротектора более 60% от веса охлаждаемого образца, однородная кристаллизация не происходит, что позволяет раствору переходить в стеклоподобное состояние при низком показателе охлаждения. К сожалению, такие концентрации являются токсичными для многих типов клеток и тканей, включая яйцеклетки. Как следствие, криопротекторы, необходимые для витрификации, необходимо уменьшить до нетоксичного уровня, а показатель охлаждения должен быть увеличен, чтобы скомпенсировать это уменьшение и обеспечить витрификацию [12]. Теоретически [4] сверх-

высокие показатели охлаждения могут быть получены с помощью систем охлаждения с чрезвычайно высоким коэффициентом теплоотдачи (h) между образцом и хладагентом. По данным [13], величина коэффициента теплоотдачи должна приближаться к $20000 \text{ Вт/м}^2 \text{ К}$. В этом и заключается задача разработки современных методов и устройств сверхбыстрого охлаждения для целей криобиологии.

С точки зрения электромеханики задачи сверхбыстрого охлаждения как малых биологических объектов, так и технических объектов одинаково трудны и актуальны. Основное отличие построения решений этих задач заключается, по сути, в учете специфических особенностей малых биологических объектов, связанных с жесткими ограничениями по применяемым материалам, и в то же время возможности использования упрощенных моделей для учета физических свойств самого объекта.

Методы открыто-кипящего охлаждения. В настоящее время применяются следующие методы криоохлаждения [14-19]:

- метод прямоочных трубок (OPS – open pulled straw);
- метод микрокапель (micro-droplet);
- метод твердоповерхностного охлаждения (cold surface solidification);
- метод медных решеток электронных микроскопов (copper grids);
- метод криопетель (cryo-loop).

В соответствии с первым и вторым методами – *прямоточных трубок OPS и микрокапель* – маленький объем клеточной суспензии (около 1 мкл) непосредственно капает в жидкий азот [20, 21] или помещают в трубочку-соломинку OPS 0,25 мл [22-26], а затем погружают в жидкий азот, чтобы достичь витрификации раствора с относительно высокой концентрацией CPA (4-5 моля), достигая величины показателя охлаждения порядка $2 \cdot 10^4 \text{ К/мин}$ [22]. Главный недостаток этих методов заключается в том, что непосредственное погружение высокотемпературного образца в жидкий азот ведет к сильному испарению на его поверхности и формированию "паровой подушки" (эффект Лейденфроста) как слоя теплоизоляции [21]. В результате этого коэффициент теплоотдачи (h) между поверхностью образца и жидким азотом резко ограничивается (менее $1 \times 10^3 \text{ Вт/м}^2 \cdot \text{К}$) из-за низкой теплопроводности паров "паровой подушки" [27, 28]. Вследствие этого невозможно достичь витрификации для многих типов клеток. Поэтому, применение этих методов ограничено растворами с относительно высокими концентрациями CPA (концентрация CPA по весу более 30%, как отмечено в [13]). Объем образца, используемого в этих мето-

дах, сильно ограничен (примерно 1 мкл) и это еще более усложняет их применение.

При использовании метода *твердоповерхностного охлаждения* [29, 30] металлическая поверхность предварительно охлаждается криогенной жидкостью, и маленькая капелька образца непосредственно направляется на эту поверхность.

В случае метода *медных решеток* [31, 32], объекты (клетки) наносятся на решетку (электронного микроскопа), а затем погружаются в жидкий азот.

Использование *криопетель* для витрификации [33-36] заключается в том, что на тонкие нейлоновые петли наносится тонкая пленка раствора, содержащего клетки. Сразу же петля погружается непосредственно в жидкий азот. Трудность в обращении с образцом в таких контейнерах, риск утраты или загрязнения при непосредственном контакте с жидким азотом, или нежелательным столкновением с твердой поверхностью делают эти подходы трудными для применения в повседневной практике.

Анализ этих методов показывает, что для сверхбыстрого охлаждения малых объектов предпочтительными являются методы, основанные на использовании прямооточных трубок-соломинок OPS, в которых возможно получение больших коэффициентов теплоотдачи за счет варьирования и оптимизации параметров трубок, материалов, охладителей и технологии охлаждения. Кроме того, эти методы достаточно технологичны при реализации, поскольку допускают автоматизацию процесса охлаждения.

Способы увеличения коэффициента теплоотдачи.

В известной литературе обсуждаются различные способы увеличения коэффициента теплоотдачи, основанные на данных численного моделирования. Это связано с тем, что в условиях поиска подходящих решений физическое моделирование обходится очень дорого.

1. Одним из способов получения большого коэффициента теплоотдачи является искусственное создание режима движения жидких пробок и газовых пузырей, ускоряющего процесс теплоотдачи от образца во внешнее пространство. Важно подчеркнуть, что в этом случае процесс охлаждения образца является комплексным, включающим два этапа: передачу тепла от образца к охлаждающему реагенту и дополнительное охлаждение последнего.

В [6] приводятся результаты математического моделирования охлаждающей системы в виде системы сверхтонких трубок-контейнеров (*ultra-thin straw – UTS*), расположенных внутри тепловых трубок с

пульсирующим движением охладителя (oscillating motion heat pipe – ОНР). В этой системе охлаждения используются перепады давления для того, чтобы возбудить пульсирующее движение жидких пробок и газовых пузырей в пространстве между трубками.

Схема анализируемой теоретической модели для процесса охлаждения раствора клеток с криопротектором (cryoprotectant agents – CPA), использующего сверхтонкую трубочку UTS, вставленную внутрь тепловой пульсирующей трубки ОНР, показана на рис. 1. Радиус внутренней трубки r_0 равен 50 мкм.

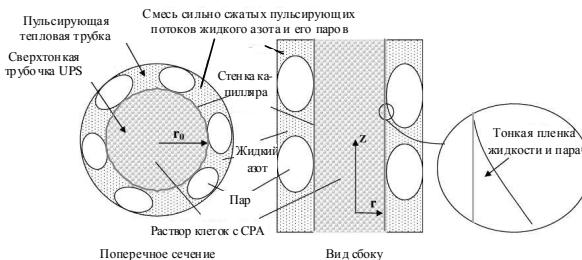


Рис. 1.

При математическом моделировании в [6] рассматривалась осесимметричная задача в координатах r, z (текущие радиальная и осевая координаты трубки). В трубке ОНР под большим давлением возникает пульсация жидкостно-паровой смеси. Тонкопленочное испарение происходит на поверхности трубки UTS. Благодаря этому обеспечивается высокий коэффициент теплопередачи h на уровне $20000 \text{ Вт/м}^2 \text{ К}$. В результате моделирования были рассчитаны переходное распределение температуры, показатель охлаждения и относительная величина объема (x) как отношение количества льда к максимальному объему образовавшихся кристаллов льда в растворе клеток. На основе этих численных значений сделан вывод о том, что с помощью трубок ОНР возможно получение больших значений h (более $10^4 \text{ Вт/м}^2 \text{ К}$). Это позволяет упростить процесс витрификации клеток путем существенного уменьшения объема x а также времени пребывания в опасном температурном диапазоне, на который приходится максимум образования льда. Для сравнения, метод пульсирующих трубок ОНР позволяет снизить оба эти параметра до уровня менее 20 % по сравнению с широко используемыми методами проточных трубок. При использовании метода трубок ОНР показатель охлаждения малого объекта (объемом

около 1 мкл) может быть увеличен до 10^{5-6} К/мин, что как минимум в 10 раз выше, чем для метода трубок OPS.

Следует отметить ограничения теоретического подхода, на основе которого получены эти результаты. Во-первых, используемые уравнения теплообмена справедливы при условии, что коэффициент теплоотдачи h остается постоянным в течение всего процесса охлаждения. Постоянство h может быть технически обеспечено путем управления скоростью потока жидкого азота в трубке ОНР [37-40]. Однако для метода трубок OPS h не может оставаться постоянным из-за изменения интенсивности испарения жидкого азота в течение процесса охлаждения [41].

Важно отметить удачность конструкции устройства для сверхбыстрого охлаждения, использующего трубки ОНР. Как показано на рис. 1, помещение трубки UTS непосредственно в трубку ОНР является эффективным, но сложным для реализации приемом. Альтернативным решением было бы применение техники фотолитографии для совместного получения трубок UTS и ОНР и обеспечения высокой точности их позиционирования.

2. Другой способ, применяемый в настоящее время при сверхбыстром охлаждении малых объектов, основан на изменении свойств криогенной жидкости. В работах [42, 43] исследуются возможности использования двухфазной смеси из жидкого и загустевшего азота (азотной пасты) для того, чтобы уменьшить слой теплоизолирующего пара, который формируется на поверхности объекта комнатной температуры при погружении в жидкий азот.

В работе [44] использована идея уменьшения диаметра и стенки трубки за счет применения кварцевых капилляров – QC (quartz capillaries). Уменьшенный внутренний диаметр этих капилляров, толщина стенок капилляра и высокая теплопроводность кварца – на порядок выше, чем у обычно применяемых поливинилхлоридных (PVC) трубок OPS, сделали в принципе эти трубчатые контейнеры идеальными капиллярами, исключая недостатки вышеназванных методов. Эти геометрические усовершенствования (в 4,44 раза меньше в диаметре и в 7,50 раза тоньше стенка) обеспечивают не только более быструю теплопередачу в трубках QC по сравнению с трубками OPS из поливинилхлорида PVC, но и снижают в 20 раз объем раствора при одинаковой высоте.

Для приготовления двухфазной азотной смеси – азотной пасты – используют вакуумную камеру и насос. Давление технического вакуума в камере составляет 6500 Па. Азот сохраняется при этом давлении в течение 15 мин, а затем удаляется. В результате получается

азотная паста. При этом удастся снизить температуру охлаждающей среды от -196°C для жидкого азота до температуры примерно $(-205 \div -210^{\circ}\text{C})$. Основное преимущество охлаждения с помощью азотной пасты по сравнению с жидким азотом обеспечивается, однако, не разностью температур, а уменьшением испарения при достижении относительно высоких температур. Такое снижение испарения позволяет удерживать образец в непосредственном контакте с криогенной средой и таким образом увеличить показатель охлаждения.

Однако, и этот метод требует достаточно высокой концентрации криопротекторов СРА, что приводит к токсикации клеток.

3. Третий метод основан на использовании криогенных пульсирующих тепловых трубок (СОНП – syrogenic oscillating heat pipe), заполненных жидким азотом. В работе [45] приводятся данные численного моделирования этих трубок. Схема моделируемого устройства приведена на рис. 2.

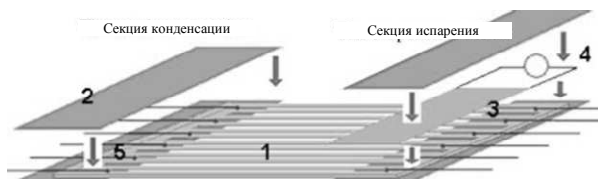


Рис. 2.

На схеме рис. 2 использованы обозначения: 1 – секции медной трубки; 2 – медная пластина; 3 – плоские электрические нагреватели; 4 – вольтметр; 5 – термопары.

Медная трубка (внешний диаметр 2 мм, внутренний диаметр 1 мм) длиной 2 м изогнута в 6 витков (15 см длины для каждого витка) и образовала витки тепловой трубки с открытым концом для заправки жидкостью. Две пары медных пластин закрывают два ее конца, несколько термопар располагаются внутри, плоский электрический нагреватель, управляемый через регулируемый трансформатор, подсоединен к вольтметру и расположен на поверхности испарителя, как показано в рис. 2. Секция испарителя заключена в полиэтиленовую оболочку, чтобы минимизировать потери тепла с его внешней поверхности, в результате чего, как предполагалось, основной тепловой поток от электрического нагревателя полностью поглощался СОНП. Устройство целиком было погружено в емкость с жидким азотом таким образом, что входное отверстие находилось на расстоянии 1–2 см под по-

верхностью жидкого азота. Благодаря снижению температуры СОНР воздух внутри сжимался, что приводило к частичному заполнению СОНР жидким азотом. После окончания процесса заправки входное отверстие запаивалось.

Внутренний диаметр трубки был выбран из условия равновесия процесса образования пузырьков пара и устойчивого существования перегородок [46]

$$D \leq 1,84 \sqrt{\frac{\sigma}{g(\rho_l - \rho_v)}} = 1,9 \text{ мм}, \quad (1)$$

где σ – поверхностное натяжение, ρ_v и ρ_l – плотность пара и жидкости, соответственно, при которых удерживаются пузырьки пара и жидкие перегородки.

В этом случае температура конденсации в трубках СОНР остается примерно равной -196 °С, соответствующей температуре насыщенного жидкого азота при давлении окружающей среды. Температурой испарителя можно управлять с помощью изменения мощности питания электрического нагревателя. Для подбора его характеристики коэффициент теплопередачи вычислялся по формуле:

$$h = \frac{P}{S(T_e - T_c)}, \quad (2)$$

где P – входная мощность; S – площадь области контактирования электрического нагревателя и трубки СОНР; T_e – средняя температура испарителя; T_c – средняя температура конденсатора.

Данные экспериментов показывают, что достигнутый коэффициент теплопередачи СОНР равен 2×10^5 Вт/м²·К, что на два порядка выше, чем у традиционных тепловых трубок.

В рассматриваемом устройстве, после того, как поток жидкого азота от трубок СОНР, с размерами (1×1 мм), которые удовлетворяют требованиям формулы (1), фронт потока автоматически сформирует участок тонкой пленки, контактирующий с насыщенным паром. На рис. 3 показана схема тонкопленочного испарения в трубке СОНР.

Процесс тонкопленочного охлаждения происходит в области I. Области II и III характеризуются малой теплопроводностью жидкого азота.

Продолжительность процесса охлаждения характеризуется временем, за которое фронт тонкой пленки проходит область I и составляет величину порядка 10^{-1} мс.

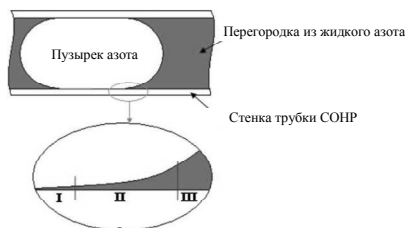


Рис. 3.

Этот интервал времени имеет значение такого же порядка, что и продолжительность времени для процесса охлаждения от 0°C до температуры насыщения жидкого азота с показателем охлаждения порядка 10^{7-8} К/мин, который является средним показателем охлаждения для контрольных точек на силиконовой стенке.

На основе численного моделирования в рассмотренном устройстве, использующем трубки СОНР и методы микротехнологии, показана возможность увеличения коэффициента теплопередачи в процессе охлаждения до величины 10^{6-7} К/мин за счет максимального увеличения отношения площади пузырьков азота к объему азота в области охлаждения. Такое устройство, как полагается, может обеспечить высокоэффективное охлаждение клеток при криоконсервации.

Анализ способов сверхбыстрого охлаждения.

Как показывает анализ трех рассмотренных способов охлаждения, высокие коэффициенты теплопередачи возможно получить при обеспечении тонкопленочного кипения и отвода паров азота. Основные сложности реализации этих способов связаны именно с отводом паров азота. Кроме того, сложной технической задачей является изготовление микрокапилляров, но эта задача в основном решена в последнем способе при использовании методов микротехнологии.

Для сверхбыстрого охлаждения контактов электрического аппарата возможно применение последнего способа. Конкретное конструктивное исполнение, материал и технология изготовления микрокапилляров в этом случае могут быть учтены с учетом этого способа.

Выводы.

1. Рассмотрены три способа сверхбыстрого охлаждения малых объектов, применяемых при криоконсервации клеток в криобиологии.

Как показывают результаты численного моделирования, ожидаемые коэффициенты теплопередачи могут достигать ориентировочно 10^6 К/мин. Такие показатели могут быть достигнуты при использовании жидкого азота в качестве рабочей охлаждающей жидкости. Полученные результаты могут быть использованы при разработке конструкций контактов электрических аппаратов, которые должны выдерживать тепловое действие тока короткого замыкания непродолжительное время.

Список литературы: 1. *Boutron P.* Comparison with the theory of the kinetics and extent of ice crystallization and of the glass-forming tendency in aqueous cryoprotective solutions // *Cryobiology* – 1986. – No. 23. – P. 88-102. 2. *Boutron P., Mehl P.* Theoretical prediction of devitrification tendency: determination of critical warming rate without using finite expansions // *Cryobiology* – 1990. – No. 27. – P. 359–377. 3. *Wolfe J., Bryant G.* Cellular cryobiology: thermodynamic and mechanical effects // *Int. J. Refrig.* – 2001. – No. 24. – P. 438–450. 4. *Toscano W.M., Carvalho E.G., Silveiras O.M., Hug-gins C.E.* The thermodynamics of intracellular nucleation in the freezing of erythrocytes // *Trans. Amer. Soc. Mech. Eng.* – 1975. – No. 97 (3). – P. 326-332. 5. *Uhlmann D.R.* A kinetic treatment of glass formation // *J. Non-crystal Solids*. – 1972. – No. 7. – P. 337-348. 6. *Anjun Jiao, Xu Han, John K. Critser, Hongbin Ma* Numerical investigations of transient heat transfer characteristics and vitrification tendencies in ultra-fast cell cooling processes // *Cryobiology*. – 2006. – No. 52. – P. 386–392. 7. *Trad F.S., Toner M., Biggers J.D.* Effects of cryoprotectants and ice-seeding temperature on intracellular freezing and survival of human oocytes // *Hum. Reprod.* – 1999. – No. 14. – P. 1569-1577. 8. *Fabrizi R., Porcu E., Marsella T., et al.* Technical aspects of oocyte cryopreservation // *Mol. Cell. Endocrinol.* – 2000. – No. 169. – P. 39-42. 9. *Fahy G.M., MacFarlane D.R., Angell C.A., Meryman T.T.* Vitrification as an approach to cryopreservation // *Cryobiology*. – 1984. – No. 21. – P. 407-426. 10. *Fahy G.M.* Prospects of vitrification of the whole organs // *Cryobiology*. – 1981. – No. 21. – P. 617-625. 11. *Johari G.P., Hallbrucker A., Mayer E.* The glass-liquid transition of hyperquenched water // *Nature*. – 1987. – No. 300. – P. 552-553. 12. *Katkov I.I., Isachenko V., Isachenko E., et al.* Low- and high-temperature vitrification as a new approach to biostabilization of reproductive and progenitor cells // *Int. J. Refrig.* – 2006. – No. 29. – P. 346-357. 13. *Ren H.S., Hua T.C., Yu G.X., Chen X.H.* The crystallization kinetics and the critical cooling rate for vitrification of cryoprotective solutions // *Cryogenics*. – 1990. – No. 30. – P. 536–540. 14. *Johari G.P., Hallbrucker A., Mayer E.* The glass-liquid transition of hyperquenched water // *Nature*. – 1987. – No. 300. – P. 552–553. 15. *Booth P.J., Vajta G., Jacobsen P., Greve H., et al.* Full-term development of nuclear transfer calves produced from open-pulled straw (OPS) vitrified cytoplasts: work in progress // *Theriogenology*. – 1999. – No. 51. – P. 999–1006. 16. *Misumi K., Suzuki M., Sato S., Saito N.* Successful production of piglets derived from vitrified morulae and early blastocysts using a micro-droplet method // *Theriogenology*. – 2003. – No. 60. – P. 253–260. 17. *O'Donovan O.N., Bruemmer M.K., et al.* Cryopreservation of

equine embryos by open pulled straw, cryoloop, or conventional slow cooling methods // *Theriogenology*. – 2001. – No. 55. – P. 607–613. **18.** *Piltti F., Lindeberg H., Aalto J., Korhonen H.* Live cubs born after transfer of OPS vitrified-warmed embryos in the farmed European polecat (*Mustela putorius*) // *Theriogenology*. – 2004. – No. 61. – P. 811–820. **19.** *Vajta G., Holm P., Kuwayama M., Booth P.J., Jacobsen H., et al.* Open pulled straw (OPS) vitrification: a new way to reduce cryoinjuries of bovine ova and embryos // *Molecular Reproduction and Development*. – 1998. – No. 51. – P. 53–58. **20.** *Misumi K., Suzuki M., Sato S., Saito N.* Successful production of piglets derived from vitrified morulae and early blastocysts using a microdroplet method // *Theriogenology*. – 2003. – No. 60. – P. 253–260. **21.** *Riha J., Landa V., Kneissl J., Matus J., Jindra J., Kloucek A.* Vitrification of cattle embryos by direct dropping into liquid nitrogen and embryo survival after nonsurgical transfer // *Zivocisna Vyroba*. – 1991. – No. 36. – P. 112–120. **22.** *Rall W.F., Fahy G.M.* Ice-free cryopreservation of mouse embryos at –196 degrees C by vitrification // *Nature*. – 1998. – No. 313. – P. 573–575. **23.** *Oberstein N., O'Donovan M.K., Bruemmer J.E., Seidel G.E. Jr., Carnevale E.M., Squires E.L.* Cryopreservation of equine embryos by open pulled straw, cryoloop, or conventional slow cooling methods // *Theriogenology*. – 2001. – No. 55. – P. 607–613. **24.** *Otoi T., Yamamoto K., Koyama N., Tachikawa S., Suzuki T.* Cryopreservation of mature bovine oocytes by vitrification in straws // *Cryobiology*. – 1998. – No. 37. – P. 77–85. **25.** *Piltti K., Lindeberg H., Aalto J., Korhonen H.* Live cubs born after transfer of OPS vitrified-warmed embryos in the farmed European polecat (*Mustela putorius*) // *Theriogenology*. – 2004. – No. 61. – P. 811–820. **26.** *Vajta G., Holm P., Kuwayama M., Booth P.J., Jacobsen H., Greve T., Callesen H.* Open pulled straw (OPS) vitrification: a new way to reduce cryoinjuries of bovine ova and embryos // *Mol. Reprod. Dev.* – 1998. – No. 51. – P. 53–58. **27.** *Jiao A.J., Han X., Ma H.B., Critser J.K.* Numerical investigations of transient heat transfer characteristics and vitrification tendencies in ultra-fast cell cooling processes // *Cryobiology*. – 2006. – No. 52. – P. 386–392. **28.** *Slack G.A., Glassbrenner C.J.* Thermal conductivity of silicon and germanium from 3 K to the melting point // *Physical Review* – 1964. – No. 134. – P. 1058–1069. **29.** *Begin I., Bhatia B., Baldassarre H., Dimnyes A., Keefer C.L.* Cryopreservation of goat oocytes and in vivo derived 2- to 4-cell embryos using the cryoloop (CLV) and solid-surface vitrification (SSV) methods // *Theriogenology*. – 2003. – No. 59. – P. 1839–1850. **30.** *Dimnyes A., Dai Y., Jiang S., Yang X.* High developmental rates of vitrified bovine oocytes following parthenogenetic activation, in vitro fertilization, and somatic cell nuclear transfer // *Biol. Reprod.* – 2000. – No. 63. – P. 513–518. **31.** *Chen S.U., Lien Y.R., Cheng Y.Y., Chen H.F., Ho H.N., Yang Y.S.* Vitrification of mouse oocytes using closed pulled straws (CPS) achieves a high survival and preserves good patterns of meiotic spindles, compared with conventional straws, open pulled straws (OPS) and grids // *Hum. Reprod.* – 2001. – No. 16. – P. 2350–2356. **32.** *Martino A., Pollard J.W., Leibo S.P.* Effect of chilling bovine oocytes on their developmental competence // *Mol. Reprod.* – 1996. – No. 45. – P. 503–512. **33.** *Begin I., Bhatia B., Baldassarre H., Dimnyes A., Keefer C.L.* Cryopreservation of goat oocytes and in vivo derived 2- to 4-cell embryos using the cryoloop (CLV) and solid-surface vitri-

fication (SSV) methods // *Theriogenology*. – 2003. – No. 59. – P. 1839–1850. **34.** *Kuwayama M., Vajta G., Kato O., Leibo S.P.* Highly efficient vitrification method for cryopreservation of human oocytes // *Reprod. Biomed. Online*. – 2005. – No. 11. – P. 300–308. **35.** *Lane M., Bavister B.D., Lyons E.A., Forest K.T.* Containerless vitrification of mammalian oocytes and embryos // *Nat. Biotechnol.* – 1999. – No. 17. – P. 1234–1236. **36.** *Mukaida T., Nakamura S., Tomiyama T., Wada S., Kasai M., Takahashi K.* Successful birth after transfer of vitrified human blastocysts with us of a cryoloop containerless technique // *Fertil. Steril.* – 2001. – No. 76. – P. 618–620. **37.** *Jiao A.J., Riegler R., Ma H.B., Peterson G.P.* Thin film evaporation effect on heat transport capability in a grooved heat pipe // *J. Microfluidics Nanofluidics*. – 2005. – No. 1 – P. 227–233. **38.** *Kurzweg U.H.* Enhanced heat conduction in fluids subjected to sinusoidal oscillations // *ASME J. Heat Transf.* – 1985. – No. 107. – H. 459–462. **39.** *Ma H.B., Jiao A.J.* Thin film evaporation on heat transport capability in a grooved heat pipe // *Proc. of the Sixth International Symposium on Heat Transfer, Beijing*. – 2004. – P. 340–345. **40.** *Ma H.B., Peterson G.P.* Temperature Variation and Heat Transfer in Triangular Grooves with an Evaporating Film // *J. Thermophys. Heat Tr.* – 1997. – No. 11. – P. 90–97. **41.** *Oberstein N., O'Donovan M.K., Bruemmer J.E., Seidel Jr. G.E., Carnevale E.M., Squires E.L.* Cryopreservation of equine embryos by open pulled straw, cryoloop, or conventional slow cooling methods // – *Theriogenology*. – 2001. – No. 55. – P. 607–613. **42.** *Mazur P., Cole K.W., Schreuders P.D., Mahowald A.P.* Contributions of cooling and warming rate and developmental stage to the survival of *Drosophila* embryos cooled to –205 degrees C // *Cryobiology*. – 1993. – No. 30. – P. 45–73. **43.** *Sjostrand F.S., Elfvin L.G.* The granular structure of mitochondrial membranes and of cytomembranes as demonstrated in frozen-dried tissue. – *J. Ultrastr.* – 1964. – Res. 10. – P. 263–292. **44.** *Ramon Risco, Heidi Elmoazzen, Marshal Doughty, Xiaoming He, Mehmet Toner.* Thermal performance of quartz capillaries for vitrification // *Cryobiology*. – 2007. – No. 55. – P. 222–229. **45.** *Xu Han, Hongbin Ma, Anjun Jiao, John K.* Critser Investigations on the heat transport capability of a cryogenic oscillating heat pipe and its application in achieving ultra-fast cooling rates for cell vitrification cryopreservation // *Cryobiology*. – 2008. – No. 56. – P. 195–203. **46.** *Ma C., Zhang H., Zhuang J.* Investigation on effective thermal conductivity of oscillating heat pipes // *Proceedings of the 13th International Heat Pipe Conference, September 21–25, 2004, Shanghai, China*.

Поступила в редколлегию 24.05.2010