



Universitatea
Transilvania
din Braşov

ŞCOALA DOCTORALĂ INTERDISCIPLINARĂ

Facultatea de Construcţii

Ing. Ştefan-Ioan CÂMPEAN

STUDIUL FENOMENULUI DE NUCLEAŢIE ÎN REGIM IZOCOR

THE STUDY OF THE NUCLEATION PHENOMENON IN THE ISOCHORIC ENVIRONMENT

REZUMAT / ABSTRACT

Conducător ştiinţific,

Prof. habil. dr. ing. Gabriel NĂSTASE

Braşov, 2024



Cuprins

LISTĂ NOTAȚII	3
DICȚIONAR	3
1. CAPITOLUL 1: Introducere	4
2. CAPITOLUL 2: Procese termodinamice	5
3. CAPITOLUL 3: Mediul izocor și multiplele forme de gheață.....	7
4. CAPITOLUL 4: Nucleația apei în regim izocor.....	10
5. CAPITOLUL 5: Stadiul actual al cercetărilor	10
6. CAPITOLUL 6: Perspectiva matematică-fizică a fenomenului de nucleație în mediul izocor... 12	
6.1 Noțiuni de bază, caracterizarea sistemului	12
7. CAPITOLUL 7: Modelarea comportamentului termo-mecanic a dispozitivului de vizualizare izocoric prin intermediul unui software de simulare pe calculator.....	15
7.1 Rezultatele simulării	15
7.2 Simularea curgerii fluidului.....	18
7.3 Rezultatele simulării	18
8. CAPITOLUL 8: Dispozitive, Echipamente, Metodologie și Materialele Cercetării.....	19
8.1 Micro reactor izocoric de mare presiune	19
8.2 Traductor de presiune digital,	20
8.3 Termocuple.....	21
8.4 Echipamentele de răcire.....	22
8.5 Microscop digital,	24
8.6 Dispozitivul de vizualizare.	24
9. CAPITOLUL 9: Rezultatele studiilor experimentale.....	27
9.1 Studiu comparativ între două tehnici de stabilizare a stării de suprarăcire a apei	27
9.1.1 Introducere	27
9.1.2 Protocol experimental	27
9.1.3 Rezultate.....	29
9.2 Studiul comportamentului de înghețare izocoră a unei substanțe pe bază de apă utilizată în domeniul medical, în special pentru conservarea organelor (Custodiol).....	30
9.2.1 Introducere.....	30
9.2.2 Protocol experimental.....	30
9.2.3 Rezultate și discuții partea 1 – corelare temperaturi-presiune.....	31
9.2.4 Rezultate și discuții partea 2 – temperatura de nucleație eterogenă	33



9.3	Studiul vizual al fenomenului de nucleație în regim izocor	36
9.3.1	Introducere.....	36
9.3.2	Protocol de experiment	36
9.3.3	Rezultate, urmărirea dinamicii nucleului de gheață, într-un volum finit și constant (izocor), înghețul:	37
9.3.4	Rezultate, urmărirea dinamicii nucleului de gheață într-un volum finit și constant (izocor) topirea:.....	39
9.3.5	Rezultate. Urmărirea dinamicii nucleului de gheață într-un volum finit și constant (izocor), înghețul prelungit după declanșarea nucleației:	42
9.3.6	Rezultate. Urmărirea dinamicii nucleului de gheață într-un volum finit și constant (izocor), concluzii	42
10.	CAPITOLUL 10: Discuții finale și concluzii	43
11.	CAPITOLUL 11: Contribuții proprii, direcții viitoare în cercetare și limitele acesteia	45
12.	LISTA FIGURILOR ȘI A TABELELOR	48
13.	REFERINȚE	51

LISTĂ NOTAȚII

TERMEN	DENUMIRE	UNITATE DE MĂSURĂ
P	Presiune	[Pa]
V	Volum	[m ³]
W	Lucrul mecanic	[J]
T	Temperatura	[K], [°C]
T	Timp	[h]
m	Masa	[kg]
Z	Calitatea	[-]
ν_0	Volumul specific	[m ³ /kg]
α	Coeficient de dilatare termica	[-]
β	Coeficient de compresibilitate	[-]
A,B,C, Γ	Funcții de temperatură și presiune	[-]
ϕ_1	Relația de energie liberă	[-]

DICȚIONAR

TERMEN	EXPLICAȚIE
Nucleație	Momentul de trecere din faza lichidă în faza solidă prin schimbarea stării de agregare a unui lichid
Izocor	Proces sau transformare în sisteme fizice ce au loc la volum constant
Izobar	Proces sau transformare în sisteme fizice ce au loc la presiune constantă

Subrăcire	Starea unei substanțe, aflate în condiții fizice care în mod normal ar schimba starea de agregare a acesteia, însă fără să determine această schimbare
Suprarăcire	Starea unei substanțe, aflate în condiții fizice care în mod normal ar schimba starea de agregare a acesteia, însă fără să determine această schimbare
Nucleație izocoră	Tranziția de fază a unei substanțe într-un mediu cu volum constant.
Crioconservare	Conservare prin frig/îngheț
Reactor izocor	Recipient rezistent la presiuni mari, stabil, nedeformabil, cu volum bine definit în care se pot pune substanțe ce vor fi supuse unor schimbări de temperatură
Prag de temperatură de referință	Punct de control de nivel de temperatură
Proces termodinamic	Trecerea unui sistem aflat într-o stare de echilibru într-o altă stare de echilibru
Echilibru termodinamic	Fază statornică, echilibrată a unui sistem termodinamic
Discretizare	A defini un număr de componente finit care aproximează un întreg
Supercoold	Suprarăcire
Subcooled	Subrăcire
Nucleation sites	Declanșatori ai nucleației

1. CAPITOLUL 1: Introducere

Oamenii au fost interesați de fenomenul de răcire încă din vremuri străvechi. Evidențe despre preocupările pentru utilizarea răcirii sunt disponibile din secolul al XI-lea î.H., când chinezii adunau zăpadă și gheață pe care o depozitau în hrube și pivnițe și o utilizau apoi pe perioada caldă pentru a răci băuturi, alimente sau chiar spațiile în care își desfășurau activitatea [1].

Preocupări similare au mai fost descoperite și în Egipt, India (ca. 2000 î.H) sau în perioada existenței Imperiului Roman [1]. Această tendință a continuat în istoria recentă și îl putem aminti pe președintele Statelor Unite ale Americii, Thomas Jefferson care a preluat modelul de depozit de gheață din călătoriile sale în Europa și a construit un depozit de gheață în Monticello la începutul anilor 1800, pe care îl alimenta cu gheață din râurile sau lacurile din apropiere pe timpul iernii, ca apoi să folosească gheața pentru sezonul cald [2].

Ulterior în Mississippi, Dr. John Gorrie a inventat prima mașină de fabricat gheață în 1845, însă abia în 6 Mai 1851 Dr. Gorrie a primit patentul pentru invenția sa [3]. Pe măsură ce se apropia sfârșitul secolului, păstrarea alimentelor și băuturilor reci a devenit o necesitate în industrie.

Dispozitivul lui Gorrie avea capacitatea de a îngheța un volum de apă echivalent cu o cărămidă în aproximativ 2 ore [4] Figura 1.

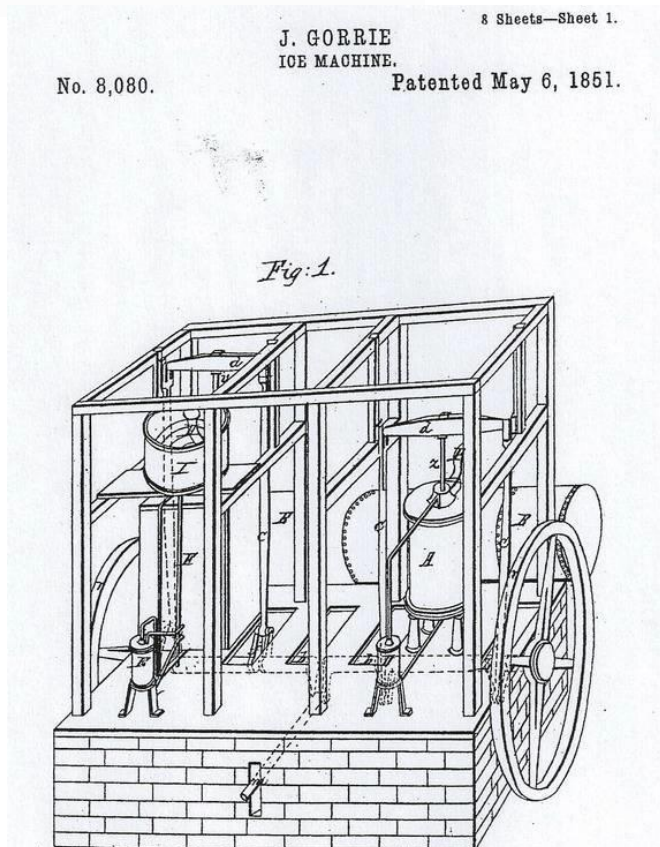


Figura 1 - Maşina de gheaţă patentată de dr. John Gorrie 1851[3]

2. CAPITOLUL 2: Procese termodinamice

Termotehnica se regăseşte la intersecţia dintre ingineria mecanică şi cea chimică [5]. Termodinamica este o ramură a fizicii care se ocupă cu studiul microscopic al fenomenelor, în care are loc un transfer de energie sub formă de căldură, lucru mecanic, indiferent de natura lor. Numele acestuia este derivat din limba greacă [6].

Felul în care se comportă apa atunci când este răcită: până la temperatura de 4°C similar cu alte elemente, se contractă şi densitatea acesteia creşte la nivelul maxim. Odată cu scăderea temperaturii sub limita de 4°C , apa începe să se dilate şi implicit densitatea acesteia să scadă. Imediat sub pragul de 0°C , în condiţii naturale de presiune atmosferică constantă şi apa începe să îşi schimbe starea de agregare, apare fenomenul de nucleaţie, în regim izobar, iar apa trece din starea lichidă în starea solidă (gheaţă). Densitatea continuă să scadă, acesta fiind şi motivul pentru care gheaţa se ridică la suprafaţa apei şi pluteşte. Mai departe reprezentarea grafică a procesului izobar din mediul natural, în Figura 2.

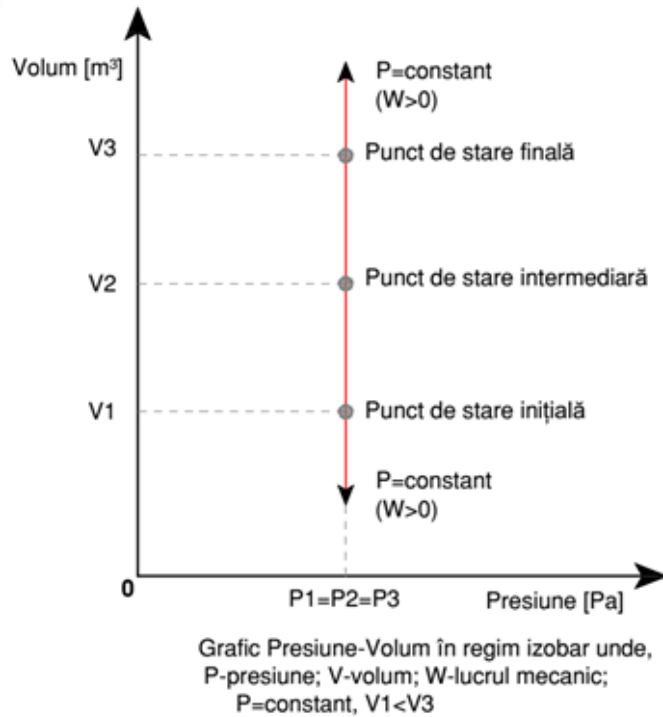


Figura 2 – Diagrama presiune-volum în regim izobar

Comportamentul unui lichid normal ca funcție de temperatură și volum poate fi reprezentat printr-o curbă liniară Figura 3A. Se poate observa că dilatarea ia proporții rapid la temperaturi foarte ridicate.

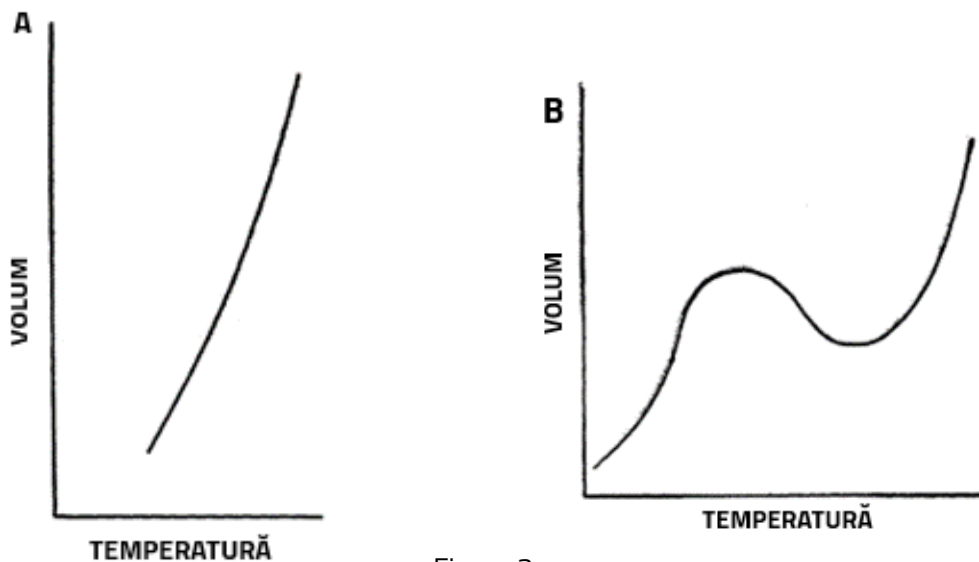


Figura 3

Fig. 3A Relația între volum și temperatură pentru un lichid normal [7]

Fig. 3B Relația ipotetică între volum și temperatură pentru apa lichidă, dacă ar fi răcită la nesfârșit, fără apariția nucleului de gheață [7]

Aceste considerente ne determină să studiem curba pentru apă de forma celei prezentate în Figura 3B. Important este de menţionat faptul că printr-o creştere a presiunii s-ar modifica forma curbei din Figura 3B într-un model liniar asemănător cu Figura 3A [7].

Studiile şi experimentele au demonstrat faptul că apa se poate afla în stare de agregare lichidă, la presiune normală chiar şi la temperaturi mult mai scăzute. Acest fenomen este de fapt starea metastabilă a unei substanţe care, cu toate că este răcită sub pragul de temperatură la care ar fi trebuit să treacă în următoarea stare de agregare, îşi păstrează starea de agregare iniţială.

Acest proces de subrăcire extremă necesită ca apa să fie în forma ei pură, fără existenţa altor micro particule care pot juca rolul de declanşatori ai nucleaţiei (definiţia specifică din lb. engleză: "*nucleation sites*"), obţinută prin tehnica de osmoză inversă sau demineralizare chimică [8].

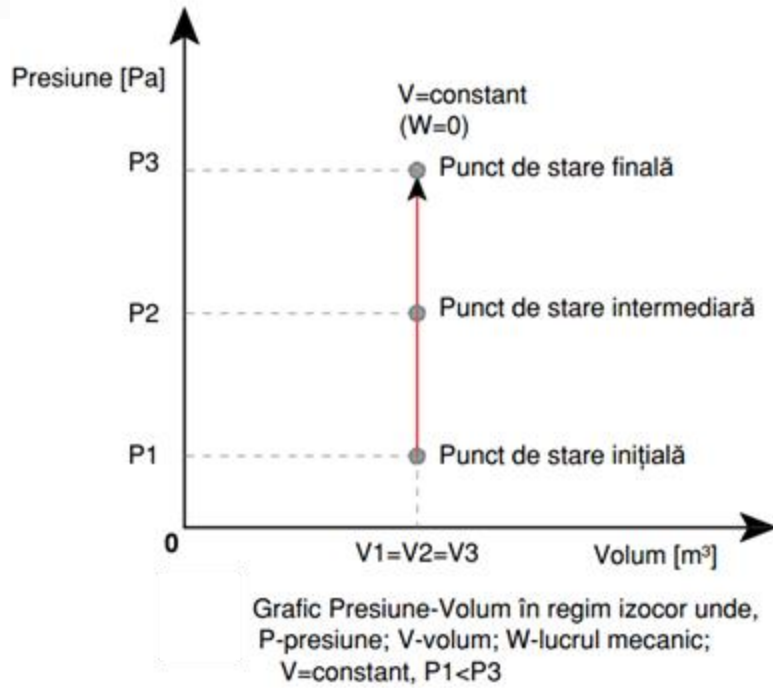
În urma măsurătorilor, apa suprarăcită a fost identificată la temperatura de aproximativ - 41 °C. Aceasta a fost definită ca *temperatura de nucleaţie omogenă* – fiind cea mai scăzută temperatură la care rata de cristalizare a gheţii poate fi evaluată pe măsură ce apa îngheaţă.

3. CAPITOLUL 3: Mediul izocor şi multiplele forme de gheaţă

Apa în forma ei solidă, denumită gheaţă se regăseşte în mod natural în mediul înconjurător pe Pământ în forma unor cristale hexagonale, denumită gheaţă I_h . În cazuri foarte rare, s-a descoperit şi tipul de gheaţă I_c al cărui formă a cristalului este cubică iar temperatura la care se formează este cuprinsă între -143 °C şi - 53 °C. Putând să existe până la - 33 °C după care se transformă în gheaţă I_h [9]. Acestea sunt singurele forme de gheaţă ce se găsesc pe planeta noastră în mod natural.

Până în acest moment s-au descoperit până la douăzeci de tipuri de gheaţă. În afară de gheaţa comună amintită mai sus, restul au fost create în condiţii de laborator ca rezultatul unor temperaturi şi presiuni extreme ce sunt caracteristice unui mediu izocor [10].

Cum ar fi ca mediul în care se desfăşoară procesul termodinamic să fie modificat prin restricţionarea variabilităţii volumului? Practic avem un recipient ermetic, căruia îi aplicăm modificări de temperatură. Prin încălzirea sau răcirea elementului din interiorul recipientului, vom obţine variaţia temperaturii, însă schimbările fizice din interior vor fi limitate la volumul nedeformabil al recipientului. Obţinem un sistem termodinamic în care temperatura variază, presiunea variază şi volumul rămâne constant, iar lucrul mecanic din interiorul recipientului tinde spre 0. Astfel putem descrie regimul termodinamic izocor. Mai departe se poate observa grafic într-o diagramă acest concept, Figura 4 :



Odată cu descoperirea principiilor termodinamicii, a fost posibil studiul acestor tehnici de variație a temperaturii în regim izocor. Astfel a fost descoperit efectului presiunilor hidrostatice mari, urmând să fie descoperită diagrama de fază a apei, ce a fost publicată în 1912 de către Percy Williams Bridgman. Împreună cu această diagramă s-a publicat în premieră și unul dintre punctele triple ale apei, care se atinge la temperatura de $-21,985\text{ }^{\circ}\text{C}$ și o presiune de 209,9 MPa, când gheața tip I_h (tipul comun, cel mai răspândit în natură, format din cristale hexagonale), tip III (cristale de formă tetragonală) și lichid coexistă aflându-se în stare de echilibru termodinamic [7].

În *Figura 5* se pot vedea cum P.W.Bridgman prezintă existența apei într-o fază lichidă și în cinci tipuri de gheață (gheață I, II, III, IV, V). Tipurile de gheață sunt diferențiate între ele de condițiile sub care se formează acestea (variații de temperatură și presiune foarte diferite) [7].

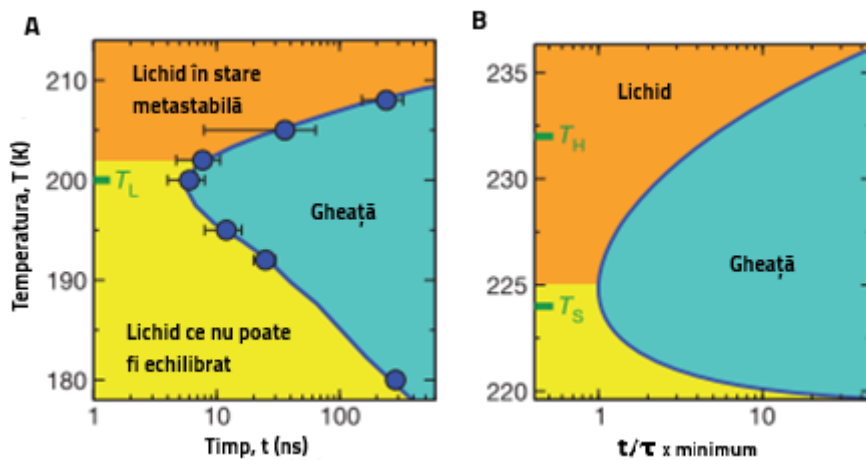


Figura 4 – Diagrama presiune - volum în regim izocor:

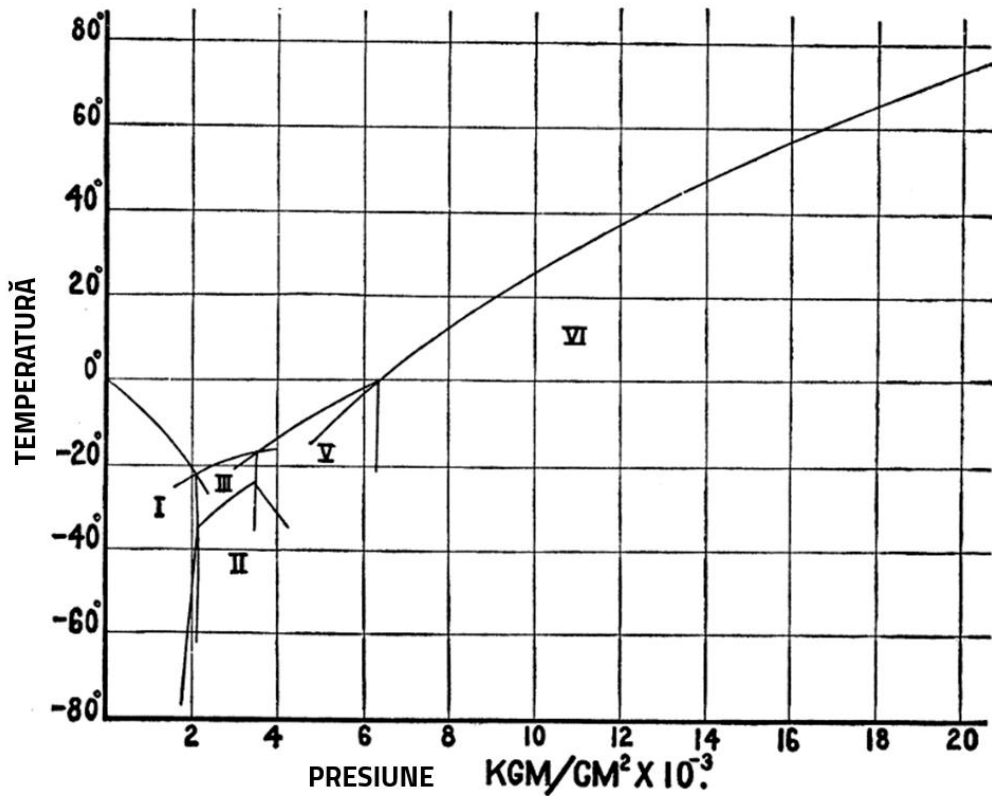


Figura 5 - Reprezentarea curbelor de echilibru între gheață I, II, III, IV, V și lichid [7]

Într-un sistem izocor, al cărui volum rămâne constant, gheața nu se poate extinde liber. Astfel, pe măsură ce se formează, în sistem se dezvoltă o presiune hidrostatică (*Figura 6*). Se observă că exista un sistem presurizat în două faze, cu o porțiune lichidă neînghețată și o porțiune solidă înghețată coexistând la o temperatură sub punctul de îngheț atmosferic al apei. În practică, condițiile termodinamice izocorice pot fi realizate în orice recipient rigid care poate rezista la presiuni mari [11].

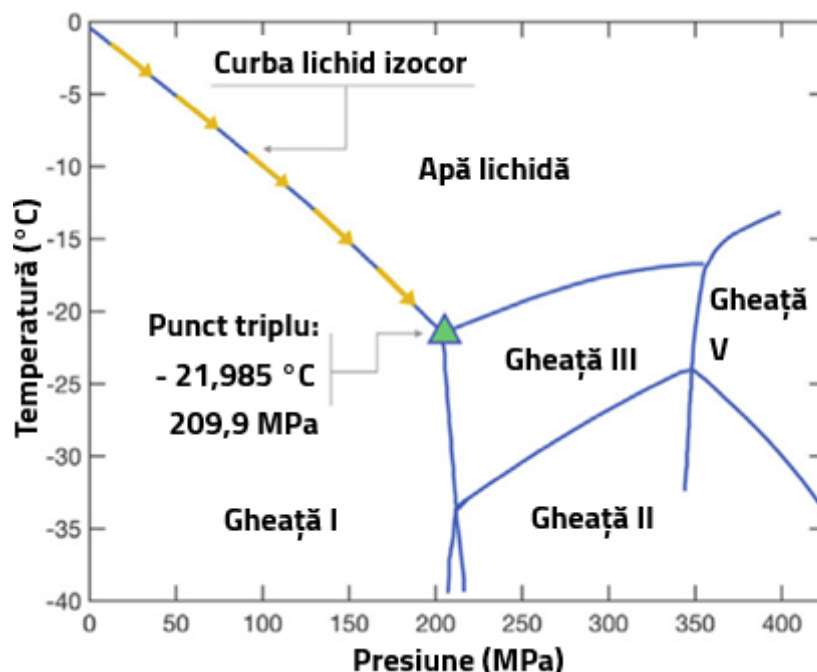


Figura 6 - Diagrama de fază a apei pure. Curba dintre apa lichidă, gheață I și gheață III marchează presiunea de echilibru pe care o experimentează un sistem izocor la o anumită temperatură sub 0°C dar mai mare decât cea de punct triplu (-21,985°C) [12]

4. CAPITOLUL 4: Nucleația apei în regim izocor

Starea metastabilă de subrăcire a apei, este o zonă termodinamică critică, instabilă, ce poate fi dezechilibrată foarte ușor prin perturbații exterioare. Atunci când o perturbare în sistem se dovedește suficient de mare schimbarea de fază a trecut de punctul din care nu se mai poate întoarce [12]. Perturbările amintite, declanșează în fapt cavitația care este răspunzătoare în cea mai mare măsură pentru nucleația gheții, conform cu cercetărilor din ultimul secol [13][14]. Chiar dacă fenomenul cavitației este asociat în principal cu ultrasunetele, acesta poate să fie declanșat și din cauza altor unde de șoc și de suprafețe vibrante, precum instabilitatea Faraday.

În primul rând absența aerului din sistem restricționează cavitația care se poate crea în aerul dizolvat în apă, și în al doilea rând formarea unei bule de aer de densitate scăzută într-un volum restrâns de apă va crea o presiune pozitivă datorită principiului lui Le Chatelier, crescând bariera sa energetică de formare [12].

Deoarece densitatea gheții de tip I_h este mai mică decât densitatea apei, formarea unui nucleu de gheață într-un mediu izocor (volum constant restricționat) va determina o creștere a presiunii. Energia necesară pentru a depăși o astfel de creștere a presiunii face ca nucleația omogenă a gheții să fie termodinamic improbabilă într-un sistem izocor la temperaturi mai mari de -109 °C [15].

5. CAPITOLUL 5: Stadiul actual al cercetărilor

Gheața poate nuclea din lichidul suprarăcit în două moduri: omogen, atunci când este suficient de răcit pentru a conduce o formare spontană a nucleului de gheață (temperatura aproximativă - 40°C) [16] sau eterogen, atunci când intervine o perturbare a unor agenți străini (o particulă străină, o suprafață [17], bule de aer etc.) care reduc bariera cinetică de formare a nucleului de gheață și produc nucleația chiar și la temperaturi mai mari de - 40°C. De regulă în sistemele izocore, formarea nucleului de gheață este eterogen și apare la început pe pereții recipientului.

Aceste particularități au motivat crearea unui dispozitiv care să poată detecta starea de echilibru metastabil în antiteză cu nucleația unui sistem izocoric, cu volum mai mare de 1mL. Acesta a fost denumit (INDe – *isochoric nucleation detector* - detector al nucleației în izocor), și utilizează proprietățile termodinamice unice ale apei ce se află la răcire izocoră în recipiente de volum constant pentru a detecta cu o latență scăzută, nucleația [18] Figura 7

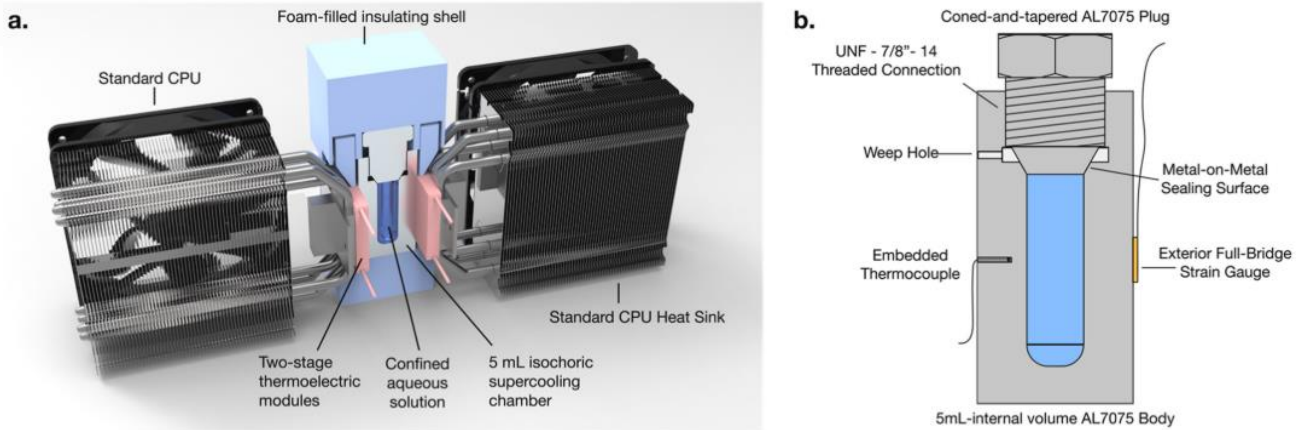


Figura 7 - Dispozitivul de detectare a nucleației în regim izocor (INDe). [25]

Presiunea mare din interior produce o rapidă și ușoară deformare plastică a recipientului (de dimensiuni neglijabile) ceea ce este detectat imediat de senzorul de tensiune. S-a văzut comparând valorile că cele două semnale sunt aproape identice, cu un timp de răspuns de sub o secundă, validându-se astfel acest o nouă cale de a detecta apariția nucleației din interior [18].

Într-unul dintre cele mai recente studii și-a făcut apariția un microscop conceput pentru a putea fi utilizat la studii vizuale în cadrul experimentelor în izocor. Denumirea lui este: ISCM (*isochoric, supercooling cryomicroscope* – criomicroscop izocoric cu suprarăcire). Practic un microscop convențional a fost atașat unui recipient izocor dotat cu elemente transparente prin care se poate vizualiza interiorul camerei izocorice. Piesa este răcită cu un agent frigorific (apă cu etilen glicol în proporție de 50% fiecare) ce este introdus prin circuitul interior al dispozitivului și parametrii controlați cu ajutorul unui echipament de răcire. Temperatura minimă limită de funcționare fiind de -22°C , Figura 8 [19].

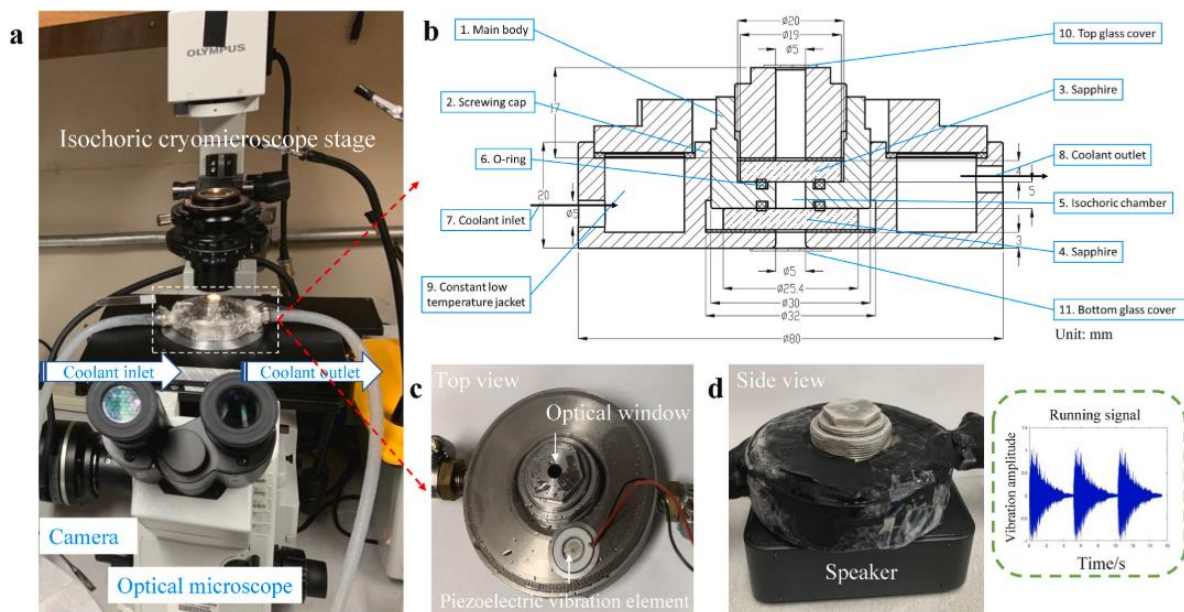


Figura 8 - Criomicroscop izocoric cu suprarăcire (ISCM). a – Configurația sistemului ISCM, b – secțiunea prin corpul ISCM, c – vedere de sus a dispozitivului, împreună cu un element vibrant piezoelectric, d – vedere laterala a ISCM așezat pe un difuzor cu rol perturbator, favorabil nucleației.

Temperatura la care au fost efectuate experimentele a fost de -5°C iar starea de suprarăcire era confirmată pentru ambele medii. În toate cazurile pentru mediul izocor, starea metastabilă de suprarăcire a fost menținută indiferent de natura perturbațiilor pe când în mediul izobar acestea au condus la nucleație, Figura 9 [19].

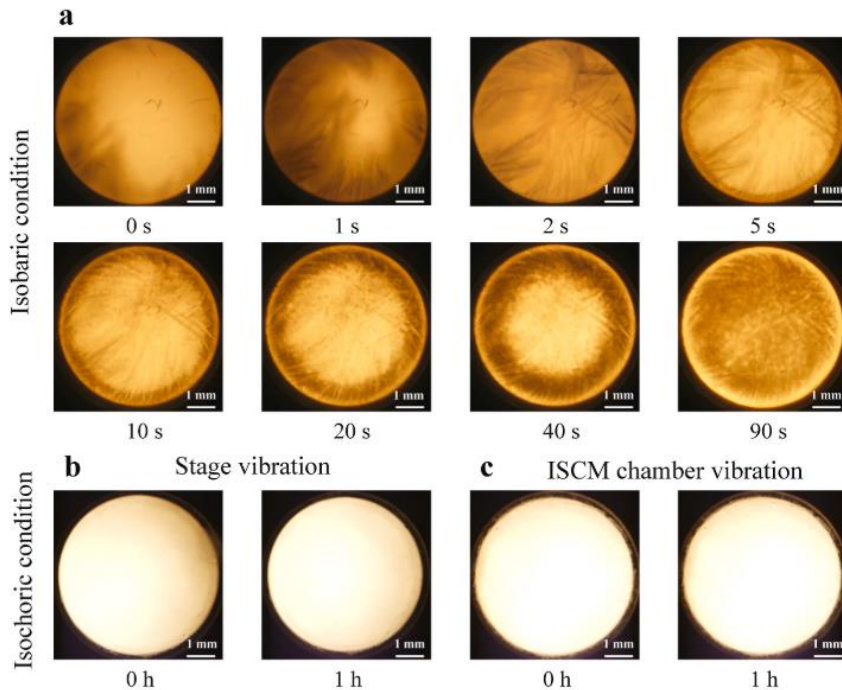


Figura 9 - Imaginile studiului comparativ dintre stabilitatea apei deionizate suprarăcite în mediul izobar și în mediul izocor preluate cu ISCM. a – Procesul de formare și creștere a gheții în mediul izobar într-un interval de 0-90 secunde. b, c – Absența cristalelor de gheață pentru condiții izocore și perturbare mecanică [19].

6. CAPITOLUL 6: Perspectiva matematică-fizică a fenomenului de nucleație în mediul izocor

6.1 Noțiuni de bază, caracterizarea sistemului

Prin analiza termodinamică au fost descrise niște modele matematice care caracterizează procesul de îngheț al apei și al soluțiilor apoase într-un mediu cu volum constant. Procesul de răcire la volum constant este caracterizat printr-o serie de proprietăți: [20]

- procesul se desfășoară într-un sistem termodinamic în două faze unde lichidul coexistă cu gheața
- într-un sistem în două faze temperatura și presiunea sunt interdependente și se influențează reciproc
- calitatea sistemului se definește ca fiind procentul relativ dintre apă și gheață între care se împarte volumul izocor
- atât temperatura sau presiunea și calitatea sistemului pot specifica complet procesul de îngheț într-un sistem izocor

Temperatura la care are loc schimbarea de fază într-un sistem termodinamic simplu care are la bază o substanță pură, aflându-se într-un câmp gravitațional, este o funcție unică de presiune. Pentru a fi mai practic și mai facil, curba de regresie care definește legătura dintre temperatură și



presiune a fost definită la schimbarea de fază din lichid în intersecția cu gheață tip I_h și gheață tip III. Ecuația care definește această curbă este:

Ecuație 1 - presiunea în funcție de temperatură la schimbarea de fază

$$P = -0,1461 \cdot T^2 - 12,58 \cdot T + 0,1013 \quad (1)$$

Unde:

P - presiunea în [MPa];

T - temperatura în [°C];

Pentru ca un sistem izocor să poată fi exemplificat în termeni fizică matematică, procentul masic al apei raportat la masa totală a amestecului de apă și gheață, pentru un anumit punct de temperatură și presiune, va defini calitatea sistemului. Termenul este notat cu litera Z.

Ecuație 2 - Calitatea Z a sistemului

$$Z = \frac{\mathcal{V}_0 - \mathcal{V}_1}{\mathcal{V}_2 - \mathcal{V}_1} \quad (2)$$

Unde:

\mathcal{V}_0 – volumul specific la condițiile inițiale [m³/kg]

\mathcal{V}_1 – volumul specific al gheții [m³/kg]

\mathcal{V}_2 – volumul specific al apei [m³/kg]

Volumele specifice pentru gheață și apă în funcție de temperatură și presiune vor fi date în următorul set de ecuații ce au fost definite în lucrarea: "Freezing processes in high-pressure domains," *International Journal of Refrigeration*, vol. 20, no. 5, pp. 301–307, 1997, doi: 10.1016/S0140-7007(97)00027-3 a lui P. D. Sanz, L. Otero, C. De Elvira, and J. A. Carrasco [21]

Pentru gheață:

Ecuație 3 - Volumul specific în cazul gheții ca funcție de temperatură - presiune [21]

$$\mathcal{V}_1 = \mathcal{V}_{10} \exp \left[- \int_{P_0}^P \beta_{T_1}(P', T) dP' + \int_{T_0}^T \alpha_{T_1}(P_0, T') dT' \right] \quad (3)$$

Unde:

α - coeficient de dilatare termică

β – coeficient de compresibilitate

0 – indicele reprezintă starea și proprietățile apei la temperatura de îngheț pentru apă la presiunea atmosferică (1 Atm sau 101325 Pa)

$$\alpha_{T_1}(P_0, T') = A_1 + A_2 T' + A_3 T'^2 + A_4 T'^3 \quad (4)$$



$$\beta_{T_1}(P', T) = \frac{\beta_{T_1}^0}{1 + m_1 \beta_{T_1}^0 P}; \beta_{T_1}^0 = \frac{\beta_1}{1 - \beta_2 T} \quad (5)$$

Unde:

$$A_1 = 1,5756 \cdot 10^{-4}$$

$$A_2 = 5,556 \cdot 10^{-7}$$

$$A_3 = 2,655 \cdot 10^{-8}$$

$$A_4 = 7,11 \cdot 10^{-10}$$

$$\beta_1 = 1,827 \cdot 10^{-5}$$

$$\beta_2 = 1,418 \cdot 10^{-3}$$

$$m_1 = 5$$

P - presiunea în [bar];

T - temperatura în [°C];

Pentru apă:

Ecuatie 4 - Volumul specific în cazul apei ca funcție de temperatură – presiune [21]

$$v_2 = v_{10} \exp \left[- \int_{P_0}^P \beta_{T_2}(P', T) dP' + \int_{T_{k_0}}^{T_k} \alpha_{T_2}(P_0, T') dT' \right] \quad (6)$$

Unde:

$$\beta_{T_2}(P, T) = \left(\sum_{i=0}^4 b_i P^i \right) \cdot 10^{-4} \quad (7)$$

$$\alpha_{T_2} = \left(A + \frac{B}{C + \Gamma} \right) \cdot 10^{-4} \quad (8)$$

Iar A, B, C, Γ sunt funcții de temperatură și presiune exprimate după cum urmează:

$$A = a_1 + a_2 T_k + a_3 T_k^2 \quad (9)$$

$$B = a_4 + a_5 T_k + a_6 T_k^2 + a_7 T_k \Gamma + a_8 \Gamma \quad (10)$$

$$C = a_8 + a_9 T_k + a_{10} T_k^2 + a_{11} T_k^3 \quad (11)$$

$$\Gamma = P + a_{13} P^2 + a_{14} P^3 \quad (12)$$

Coefficienții utilizați în expresiile funcțiilor de temperatură și presiune sunt:

$$a_1 = 4,7856 \cdot 10^1$$

$$a_2 = - 8,12847 \cdot 10^{-2}$$

$$a_3 = 8,49849 \cdot 10^{-5}$$



$$a_4 = 5,56047 \cdot 10^5$$

$$a_5 = -3,76355 \cdot 10^3$$

$$a_6 = 5,56395$$

$$a_7 = 5,59682 \cdot 10^{-3}$$

$$a_8 = -2,76522 \cdot 10^1$$

$$a_9 = -4,28067 \cdot 10^3$$

$$a_{10} = -3,39150 \cdot 10^1$$

$$a_{11} = 3,65873 \cdot 10^{-1}$$

$$a_{12} = -5,89617 \cdot 10^{-4}$$

$$a_{13} = 3,28892 \cdot 10^{-4}$$

$$a_{14} = 2,65933 \cdot 10^{-8}$$

$$b_0 = 4,41753 \cdot 10^{-1}$$

$$b_1 = -1,09205 \cdot 10^{-4}$$

$$b_2 = 1,99785 \cdot 10^{-8}$$

$$b_3 = -2,08128 \cdot 10^{-12}$$

$$b_4 = 8,86050 \cdot 10^{-17}$$

Unde :

P - presiunea în [bar];

T - temperatura în [K];

Valoarea specifică a volumului de apă poate fi calculată numeric utilizând constantele de mai sus. Constantele pentru apă au fost preluate din: *L. Ter Minassian, P. Pruzan, and A. Soulard, "Thermodynamic properties of water under pressure up to 5 kbar and between 28 and 120 °C. Estimations in the supercooled region down to -40 °C," J Chem Phys, vol. 75, no. 6, pp. 3064–3072, 1981, doi: 10.1063/1.442402 [22].*

7. CAPITOLUL 7: Modelarea comportamentului termo-mecanic a dispozitivului de vizualizare izocoric prin intermediul unui software de simulare pe calculator

Prin intermediul acestor simulări, am putut identifica potențiale probleme și optimiza în etapele de proiectare și dezvoltare, reducând costurile și timpul necesar pentru testele fizice.

7.1 Rezultatele simulării

Valorile de referință în ceea ce privește limitele de rezistență la tracțiune a materialelor care compun dispozitivul de vizualizare pentru aliajul de aluminiu 7075-T6 sunt de 560 MPa [23] și sticla safir

care ajunge la un maxim de 400 MPa la temperatura de 298 K sau un minim de 275 MPa în jurul temperaturii de 770 K [24].

Tensiunea Von Mises [N/m^2] este simulată grafic în COMSOL și se observă că valoarea maximă ajunge la $2.18 \times 10^8 \text{ N/m}^2$ adică 218 MPa pentru presiunea internă de 1200 bar, care este corespunzătoare temperaturilor limită la care a fost supus dispozitivului. Cel mai sensibilă este sticla de vizualizare din safir Al_2O_3 de 400 MPa și apoi a aliajul de aluminiu 7075-T6 de 560MPa. Ambele materiale se încadrează fără probleme la aceste valori. Am efectuat și o simulare pentru presiunea de funcționare de 2100 bar, care s-ar putea înregistra la o temperatură a punctului triplu al apei la $-21,985^\circ\text{C}$. În acest caz valorile se apropie de valorile maxime ale safirului, ajungând la 391 MPa pe suprafața lentilei safir. Practic rezistența este confirmată până la atingerea punctului triplu al apei. După cum se poate vedea și în Figura 10 și Figura 11 cea mai mare presiune se concentrează spre lentile, care sunt și cele mai vulnerabile. Putem considera că testul de rezistență a fost trecut cu succes.

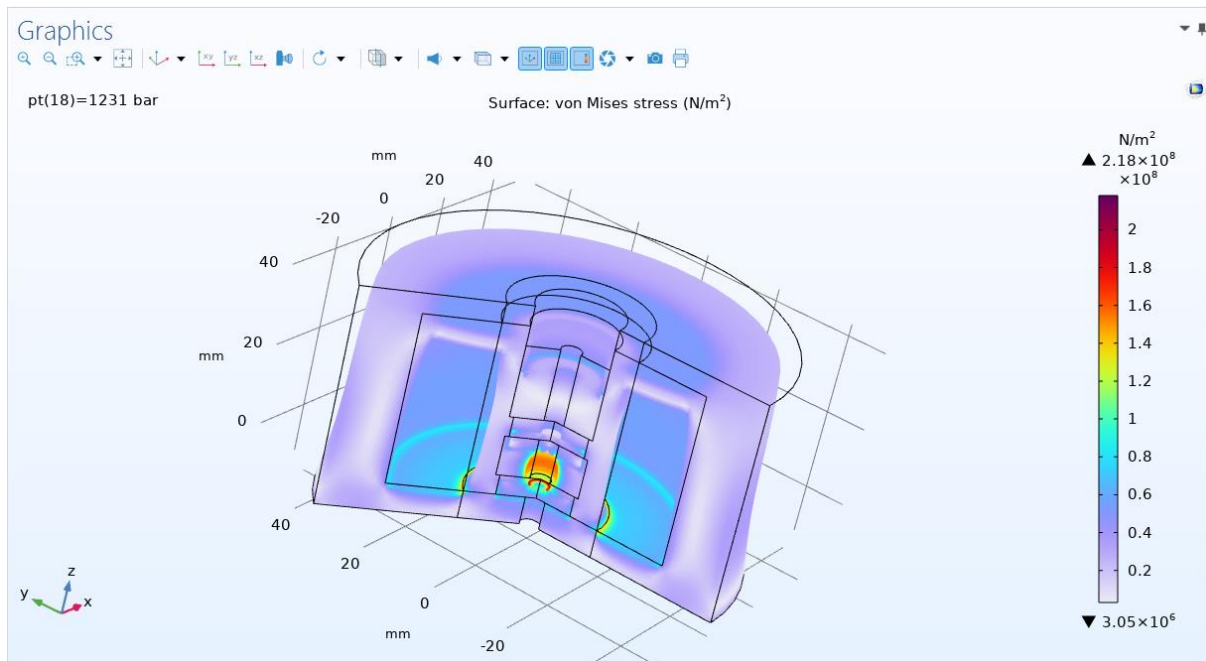


Figura 10 - Prezentarea tensiunii Von Misses N/m^2 pentru o presiune de 1231 bar sau 123.1 MPa, vedere de ansamblu.

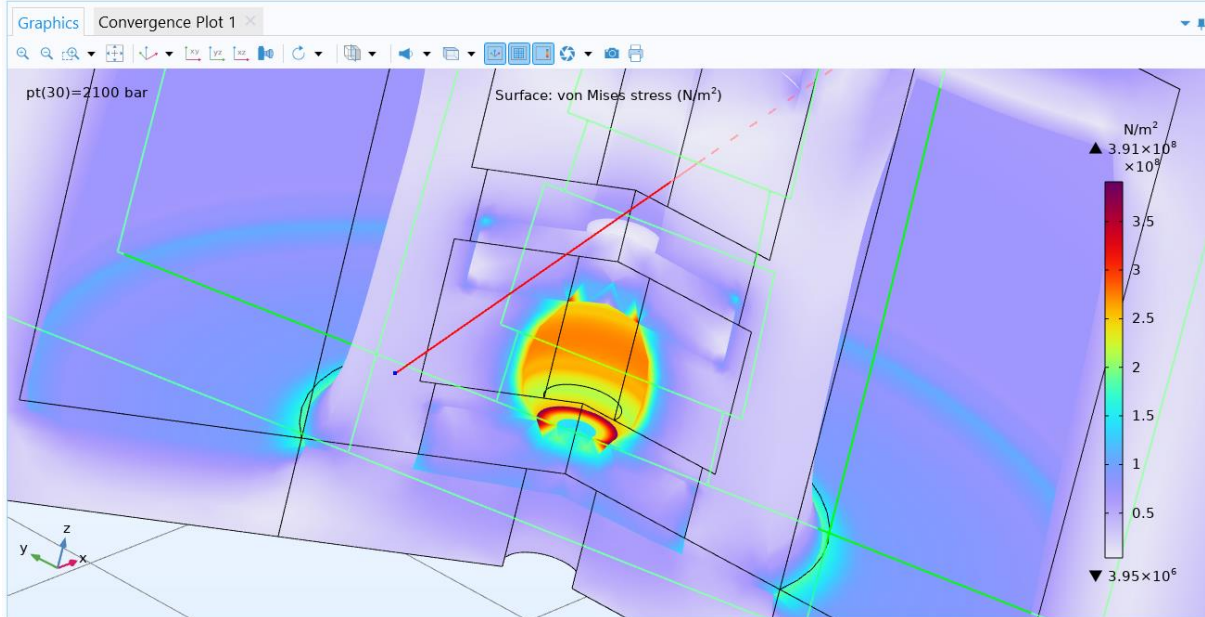


Figura 11 - Prezentarea tensiunii Von Misses N/m^2 pentru o presiune de 2100 bar sau 210MPa, vedere apropiată.

Modelul studiat a fost supus unei presiuni interne care este corespunzătoare temperaturii de aproape $-22^{\circ}C$. Astfel am creat un model de simulare pentru temperatura de echilibru, iar în figura următoare se poate vizualiza o simulare a izotermelor de contur, Figura 12.

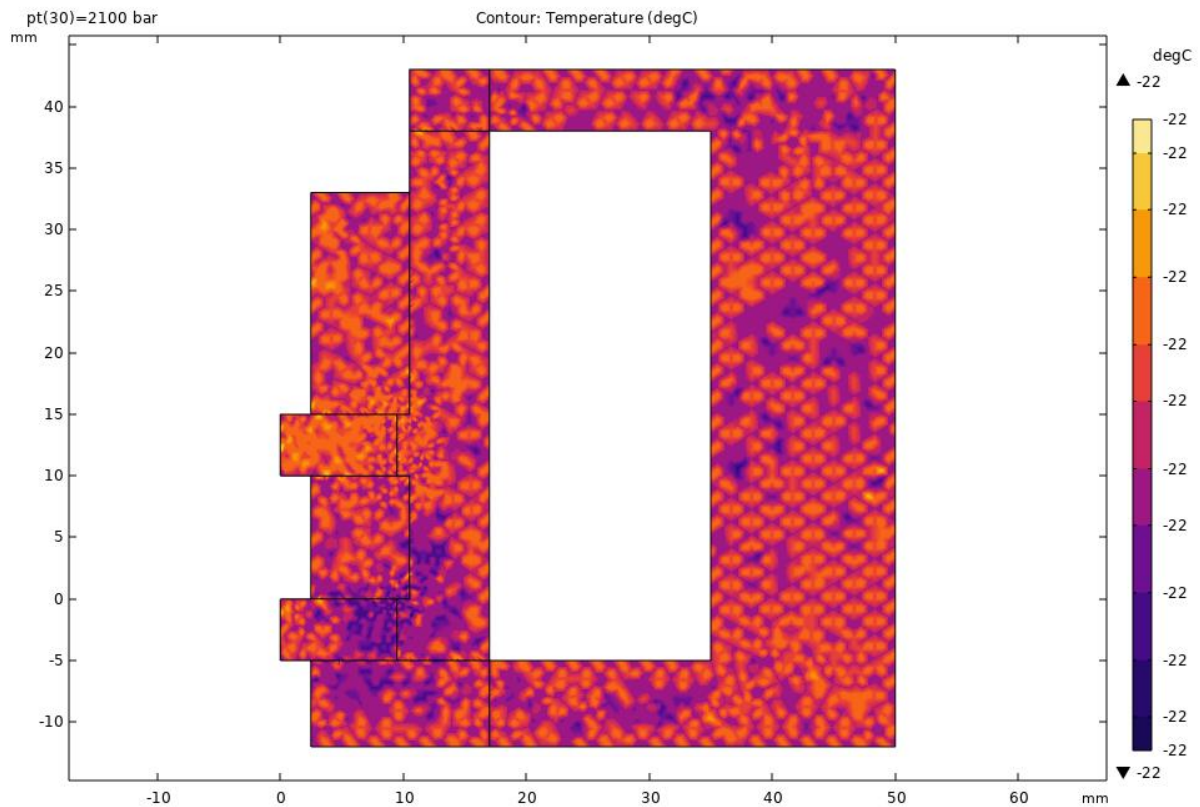


Figura 12 - Prezentarea izotermelor pe dispozitivul de vizualizare la $-22^{\circ}C$ și 2100 bar

Conform datelor obținute prin simulările în modulele de rezistență și transfer termic putem trage concluzia că proiectul dispozitivului poate să treacă la următorul stadiu, respectiv punerea lui în opera și crearea unui prototip pentru testare. Acum că parametrii anterior amintiți au fost testați în simularea computerizată, resursele pentru realizarea fizică a dispozitivului vor fi utilizate la un randament mult mai bun.

7.2 Simularea curgerii fluidului

Dispozitivul de vizualizare izocoric este răcit prin intermediul unui fluid de răcire (amestec de apă distilată și glicol 50%) care circulă prin mantaua de răcire ce înconjoară camera izocoră.

7.3 Rezultatele simulării

Modul în care variază presiunea este reprezentat în continuare. Observăm cum presiunea este concentrată pe peretele lateral al camerei izocorice în dreptul racordului de intrare, după care sunt create zone de presiune mai mică aproape de cămașa exterioară, mărindu-se din nou către zona de ieșire spre racordul de retur, și scăzând considerabil în racordul de retur.

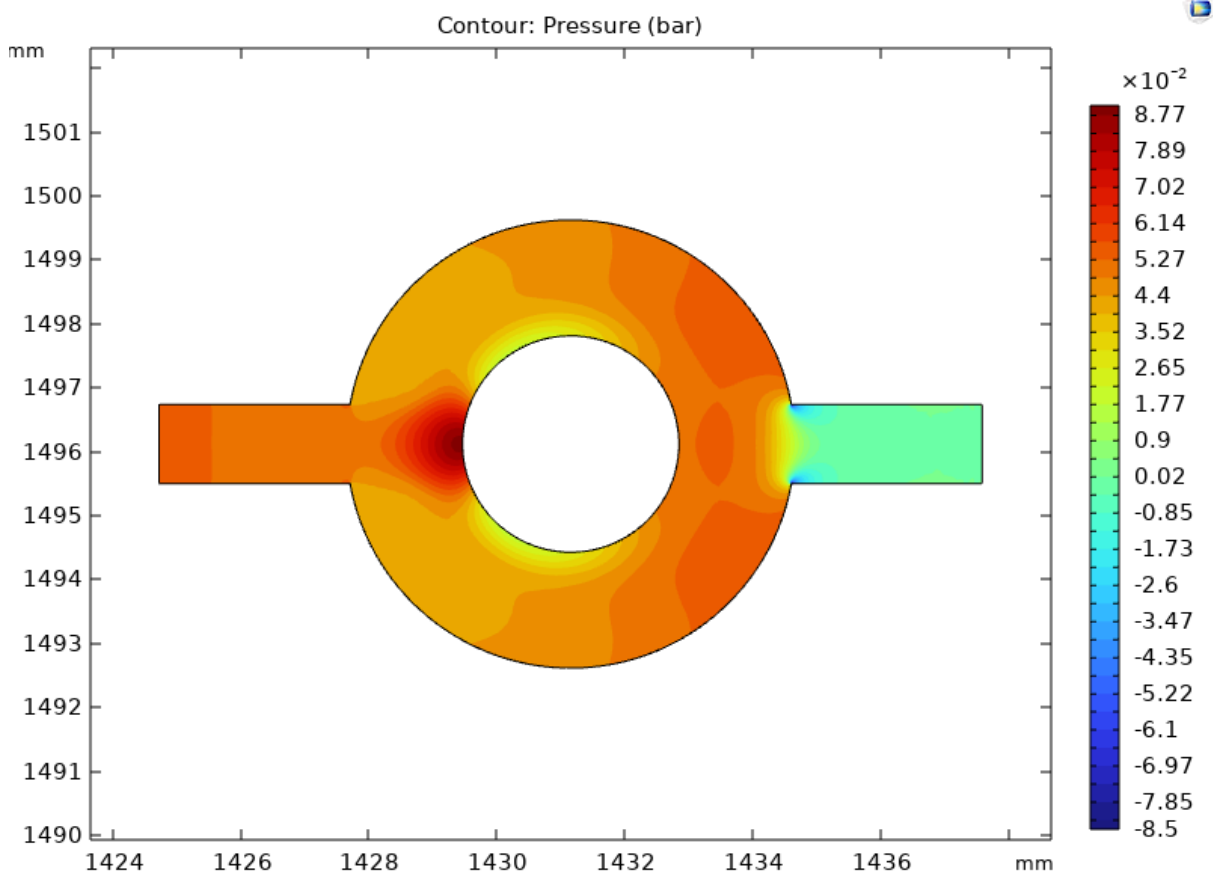


Figura 13 - Distribuția presiunilor fluidului de răcire (agent termic) în interiorul dispozitivului de vizualizare

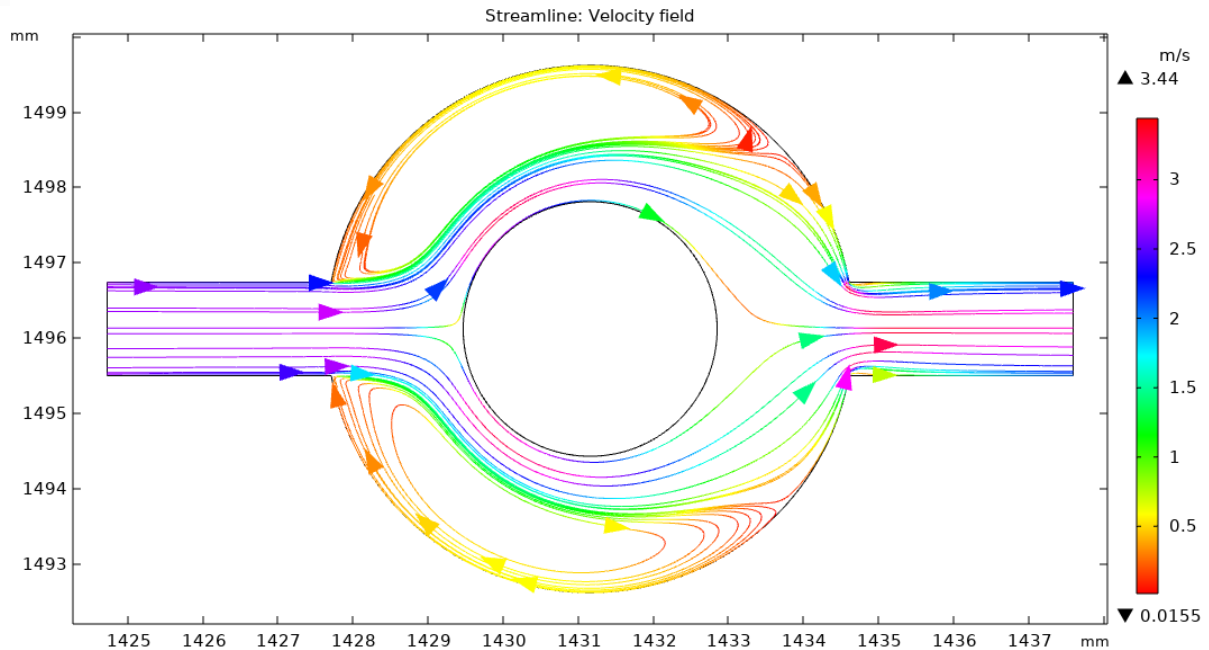


Figura 14 -Vitezele de curgere și mișcarea agentului termic în interiorul dispozitivului de vizualizare.

Curgea în interiorul mantalei de răcire a camerei izocore este una turbulentă, iar reprezentarea ei grafică a fost generată de COMSOL în Figura 14. Se poate observa cum miezul creează un efect de rotire a lichidului de răcire creând de o parte și de alta două zone în care viteza scade până aproape de 0 având un efect de stagnare în zonele exterioare ale mantalei de răcire. Viteza rămâne în intervalul de 1.5-2 m/s în jurul camerei izocore ceea ce va furniza agent de răcire într-un flux continuu în vederea controlării temperaturii interne.

8. CAPITOLUL 8: Dispozitive, Echipamente, Metodologie și Materialele Cercetării

Studiile au fost efectuate utilizând următoarele dispozitive și echipamente:

8.1 Micro reactor izocoric de mare presiune tip MS-1 produs în SUA de către cei de la HIP (High Pressure Equipment Company). Materialul standard de construcție este oțel inoxidabil de tip 316. Funcționarea la temperaturi de până la 425°C este posibilă prin construcția etanșării conice metal-metal. Presiunea maximă este la 410 MPa (construcție HF4). Mai departe în Figura 15 este prezentat modelul grafic al reactorului.

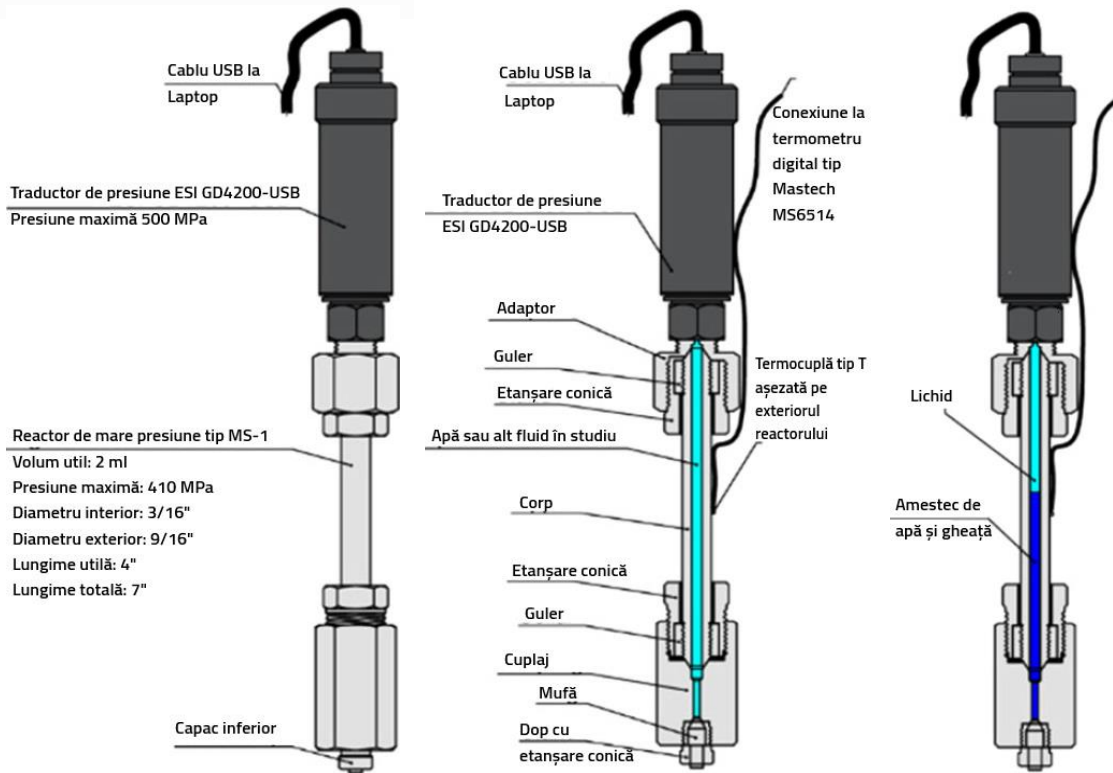


Figura 15 - Reactor de mare presiune tip MS-1 $V_{util} = 2$ ml, vedere din faţă, secţiune înainte de îngheţ şi secţiune la temperatură sub 0°C

8.2 Traductor de presiune digital, model GD4200-USB manufacturat în Marea Britanie de compania ESI Technology Ltd. Precizie excelentă de măsurare permite utilizatorului să măsoare orice presiune pe care aplicaţia o necesită, de la vid şi până la 5.000 bar. Temperatura de funcţionare se încadrează în intervalul de -50°C la $+125^{\circ}\text{C}$ pentru mediul măsurat, pentru o temperatură ambiantă cuprinsă între -20°C la $+85^{\circ}\text{C}$. În Figura 16 se poate vedea imaginea traductorului şi a cablului USB care îl însoţeşte.

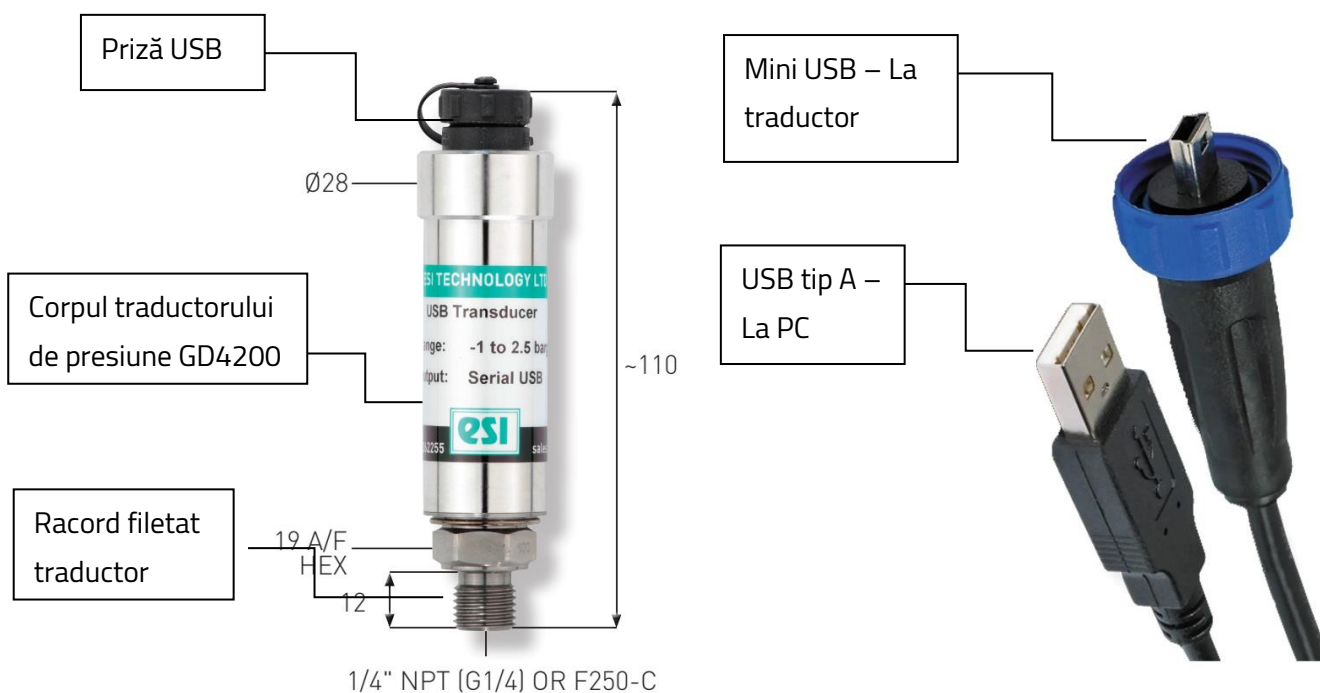


Figura 16 - Traductor de presiune ESI GD4200-USB și cablul USB tip A + mini USB și cuplajul filetat cu protecție la umezeală și apă .

8.3 Termocuple, temperatura este măsurată cu ajutorul a una sau două *termocuple tip T* (specifice pentru măsurători de acuratețe mare în domeniul frigorific și criogenic). Repetabilitatea este excelentă în intervalul -200°C până la 200°C ($\pm 0,1^{\circ}\text{C}$). Un exemplu se poate vizualiza în Figura 17. Termocuplele vor fi conectate la un termometru digital *Mastech MS6514* (produs de Digital Inc, China) care se conectează mai departe la PC (laptop) pentru afișarea și înregistrarea în timp real a temperaturilor, Figura 18.



Figura 17 - Termocupla tip T pentru criogenie, complet echipată cu mufă



Termocuple conectate la termometru digital Mastech MS6514

Termometru digital cu interfață de conectare la PC prin cablu mini USB și USB tip A

8.4 Echipamentele de răcire Temperaturile și protocoalele de experiment se vor obține și controla cu trei tipuri de echipamente: *o baie de răcire cu compresie mecanică ce vehiculează un agent termic lichid, format dintr-un amestec de apă și glicol, concentrație 50%, un congelator industrial convențional ce utilizează o instalație de răcire cu compresie mecanică și un congelator criogenic cu înghețare profundă pentru temperaturi foarte scăzute, ce utilizează azot lichid ca mijloc de răcire.*

O baie de răcire Lauda model RE 1225 S, fabricată în Germania de către LAUDA DR. R. WOBSEY GMBH & CO. KG. În Figura 19 am pregătit o figură reprezentativă.

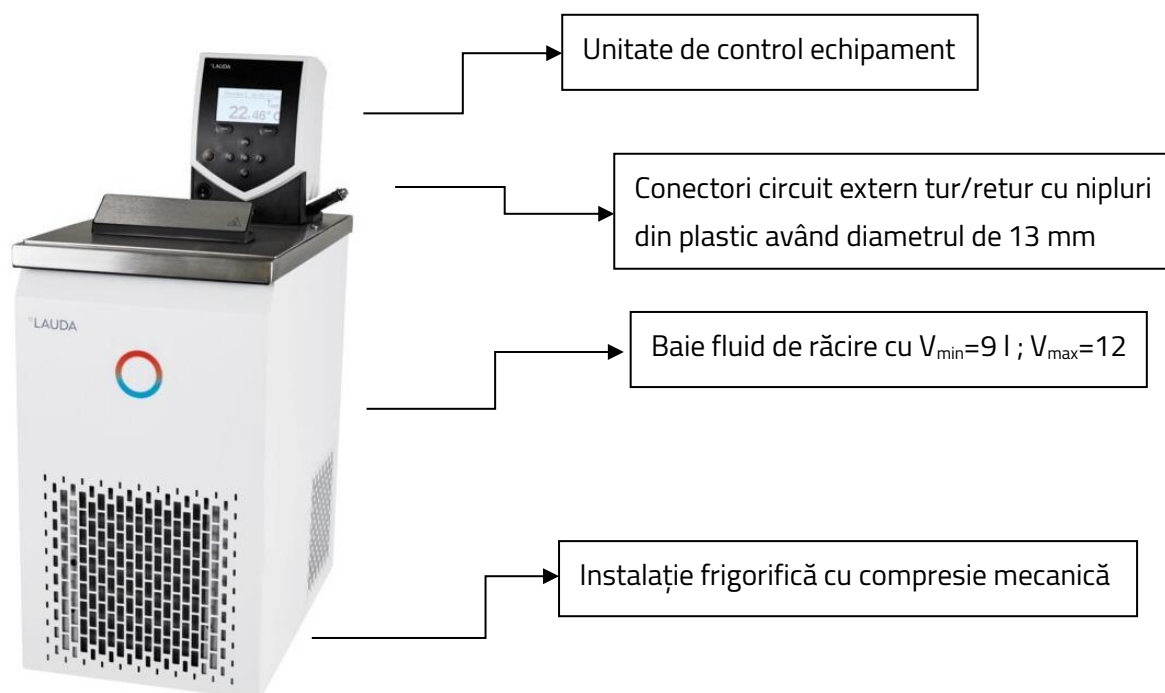


Figura 19 - Unitatea de control și răcire Lauda 1225 S

Al doilea echipament de răcire ce a fost utilizat în experimente este un congelator industrial de la Vestfrost modelul VT407. Congelatorul cu temperatură joasă VT creează posibilitatea de a menține temperaturi între -40°C și -60°C fiind deservită de o instalație frigorifică cu compresie mecanică foarte economică (7,077 kWh pe zi).



Figura 20- Congelatorul industrial Vestfrost V407

Un congelator criogenic utilizat în laboratoare, cu performanțe bine definite și temperaturi cuprinse în intervalul de 40°C și -180°C . Pentru funcționarea la temperaturi de frig profund răcitorul este alimentat cu azot lichid dintr-un rezervor extern cu o presiune maximă de utilizare de 15 MPa. Figura 21.



Figura 21 - Congelator criogenic tip
Planner Kryo 360 3.3 MRV

8.5 Microscop digital, pentru studiile vizuale a fost necesar un *microscop digital* performant cu rezoluție mare și cu distanță focală de cel puțin 50mm, Figura 22.



Figura 22 - Microscop digital Easyover

8.6 Dispozitivul de vizualizare.

Trebuie luată în considerare o presiune uriașă la care elementele transparente trebuie să reziste, respectiv 100 MPa la temperatura de -10°C sau în jur de 200 MPa la temperatura de -20°C . Scopul principal fiind studiul vizual în interiorul reactorului izocoric înainte dar mai ales după ce nucleația se declanșează, m-am orientat către materiale compatibile care combinate să poată folosi acestui obiectiv. După analiza mai multor materiale, am ajuns la concluzia că cel mai potrivit ar fi un aliaj de dur aluminiu cod 7075-T6 folosit în industria aeronautică, fiind recunoscut pentru duritate, greutate redusă și conductivitate termică ridicată.

Definite aceste aspecte au urmat apoi mai multe iterații de proiectare, care în final au dus la varianta finală a modelului. Diferențele și îmbunătățirile semnificative care m-au ajutat în atingerea scopului au fost: alegerea unui material cu coeficient de conductivitate termică mai mare de 3.5 ori decât safirul, ansamblu complet. Fiecare piesă componentă am ales-o cu grijă, fiind atent la producător și furnizor pentru a mă asigura că vor putea îndeplini în totalitate cerințele de performanță necesare proiectului. Așadar blocul de aluminiu 7075-T6 a fost achiziționat de la *SC MRG STAINLESS GROUP SRL*, sticla safir sintetic a fost executată pe comandă după dimensiuni exacte și cu precizie la *Precision Sapphire Technologies, Ltd* Lituania, inele o-ring de la *Hidraulica Braşov-Săcele*, iar

cuplajele și șuruburile de la magazine locale specializate. Rezultatul obținut a fost pe măsura așteptărilor. În Figura 23 este prezentat proiectul cu componentele dispozitivului.

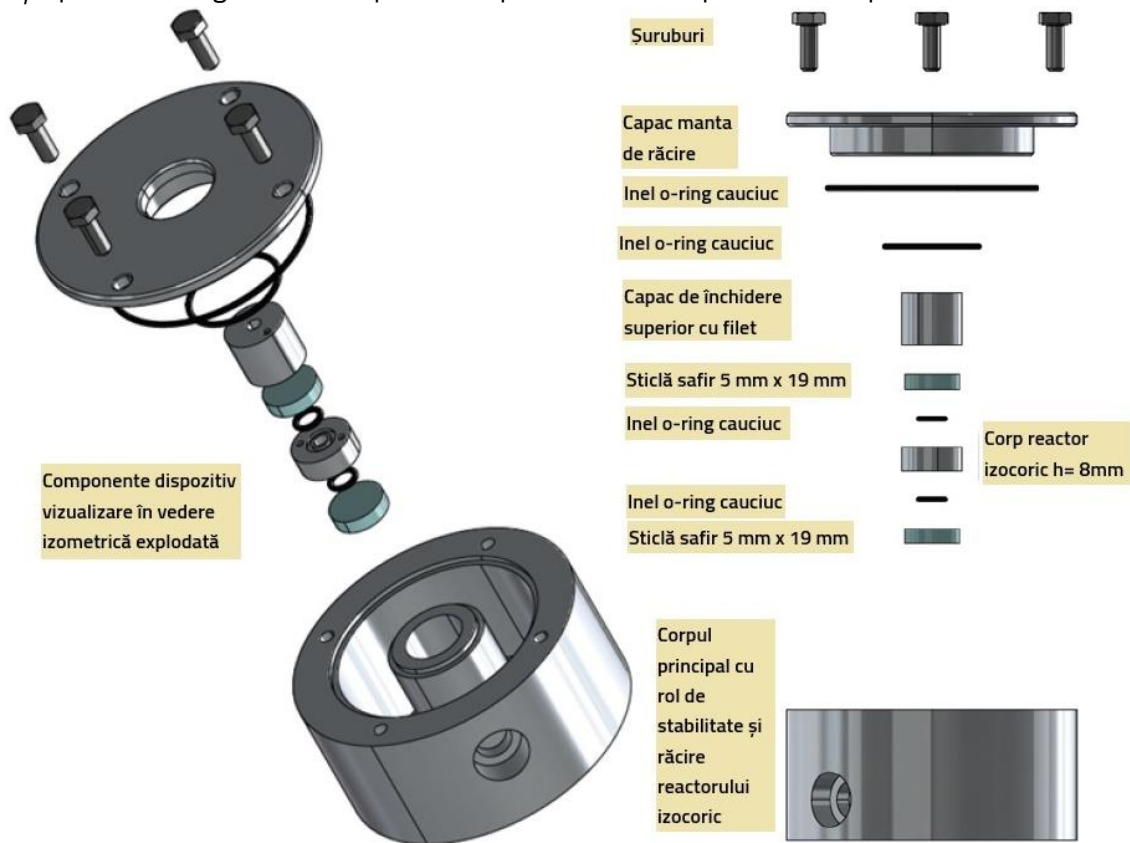


Figura 23 - Dispozitiv de vizualizare izocorică, randare vedere cu componente explodate

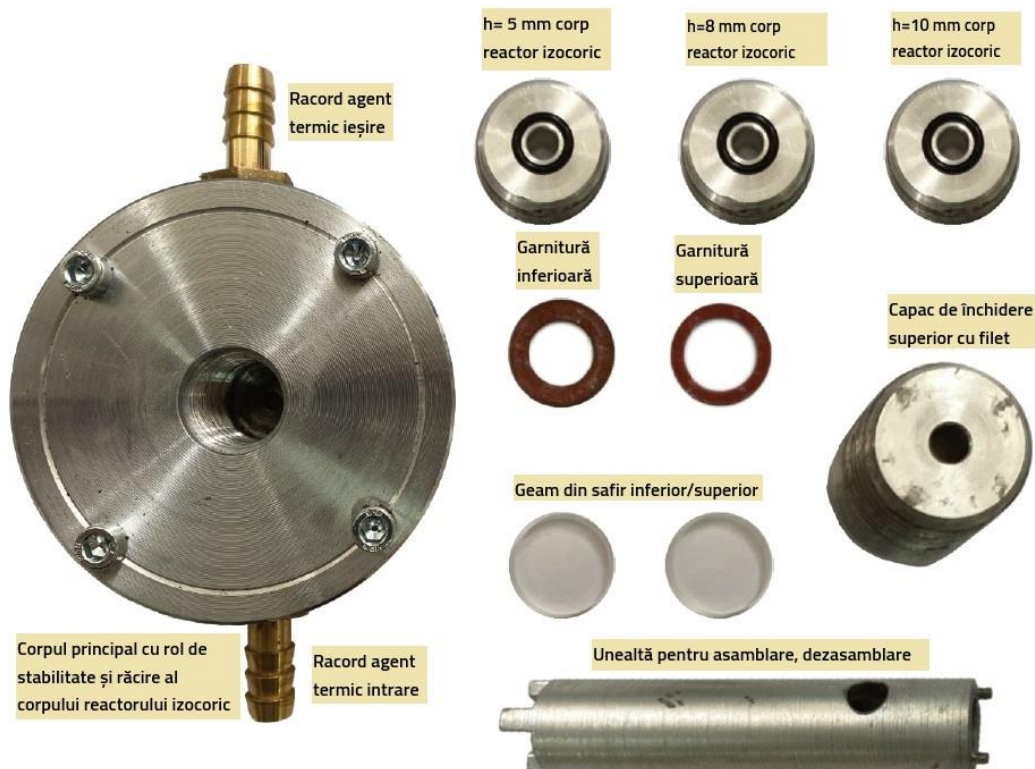


Figura 24 - Dispozitiv izocoric de vizualizare – modelul real, cu componente sale funcționale demontate

Pentru claritate și o mai bună înțelegere a ansamblului, avem în continuare câteva randări cu secțiuni în Figura 25 și Figura 26 unde se observă felul în care componentele arată atunci când sunt îmbinate. Camera izocorică este practic închisă ermetic cu două capace transparente din sticlă safir. Pentru etanșarea acestora au fost utilizate inele o-ring rezistente la temperaturi de până la -25°C , dar înlocuite la fiecare experiment, pentru siguranță, deoarece presiunea la care sunt expuse le distruge.

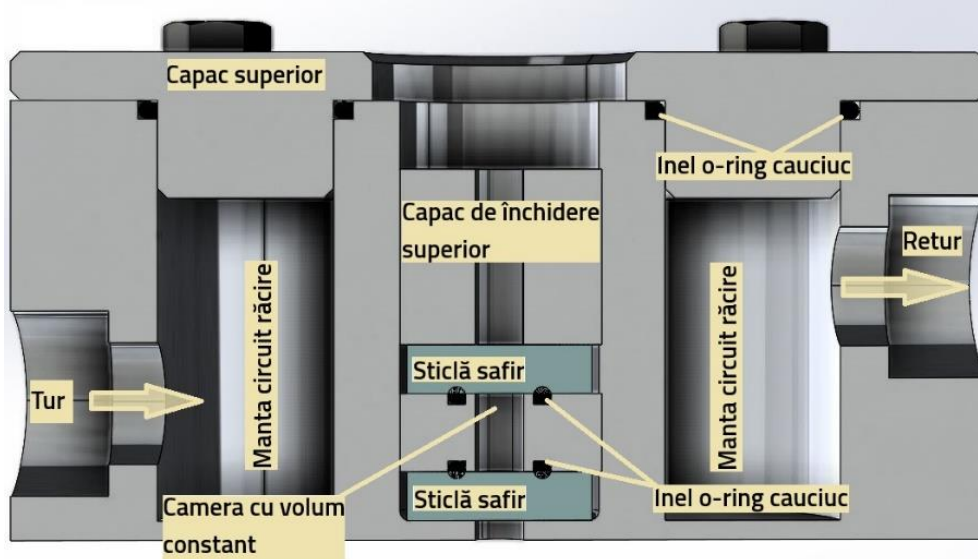


Figura 25 - Secțiune dispozitiv izocoric de vizualizare

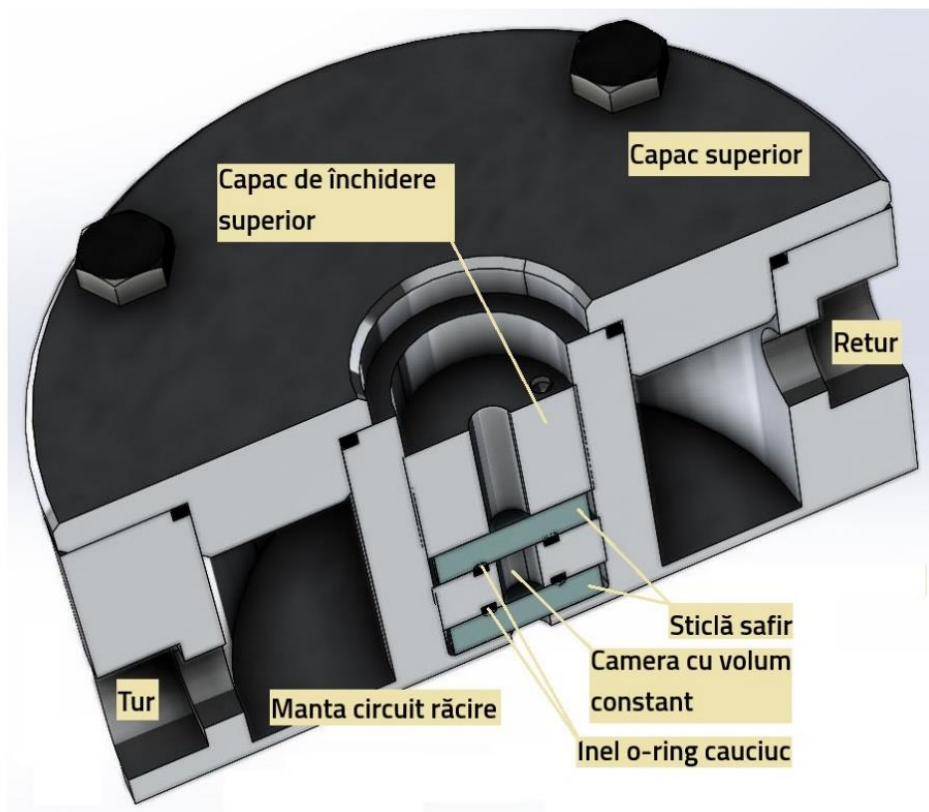


Figura 26 - Secțiune izometrică dispozitiv izocoric de vizualizare

9. CAPITOLUL 9: Rezultatele studiilor experimentale

9.1 Studiu comparativ între două tehnici de stabilizare a stării de suprarăcire a apei

9.1.1 Introducere

Voi prezenta în acest subcapitol un studiu experimental privind cinetica nucleării gheții comparând două tehnici de prezentare a stării de suprarăcire: prima, cea izobară, separând mediile cu un strat de ulei și a doua, suprarăcirea într-un mediu izocor. O serie de experimente în care am menținut o rată constantă de răcire, compară temperaturile aparente de nucleație a apei pure suprarăcite utilizând cele două tehnici, cu suprarăcirea izobară convențional, demonstrând că ambele metode îmbunătățesc semnificativ stabilitatea stării de suprarăcire a sistemului în comparație cu suprarăcirea în contact cu aerul atmosferic. În timp ce temperaturile medii de nucleație ale celor două metode sunt comparabile statistic, suprarăcirea izocorică afișează aproximativ jumătate din variabilitatea suprarăcirii izobare sigilate cu ulei, ceea ce poate avea implicații importante asupra proiectării protocoalelor de bioconservare bazate pe suprarăcire în care stabilitatea și reproductibilitatea sunt esențiale. Studiul practic aduce în prim plan o evaluare a temperaturii efective de nucleație a gheții, pentru apa pură, în condiții: izobare dar având o separare de contact cu aerul atmosferic prin aplicarea unei pelicule de ulei, izocore și convenționale în contact direct cu aer liber. Rata de răcire s-a menținut constantă pe parcursul experimentelor și s-a considerat variabilitatea temperaturii de nucleație a gheții ca măsură a stabilității relative între tehnicile comparate. Am utilizat reactoarele izocorice tip MS-1 și traductoarele de presiune digitale, concepute special pentru aceste aplicații.

9.1.2 Protocol experimental

Cele trei condiții termodinamice examinate au fost aplicate astfel:

- 1) pentru condiții izocorice, reactorul a fost umplut cu apă distilată și etanșată complet, cu grijă pentru a evita introducerea de bule de aer în vrac (care pot deteriora condițiile izocorice datorită compresibilității lor ridicate);
- 2) pentru condiții izobare de etanșare cu ulei, o cameră identică a fost umplută cu apă distilată, dar în locul traductorului de presiune, am acoperit apa cu un strat înalt de aproximativ 2 mm de ulei parțial sintetic, menținând astfel o presiune atmosferică, constantă, dar eliminând interfața aer-apă;
- 3) pentru condiții izobarice convenționale în aerul atmosferic, am umplut a treia cameră identică, lăsând suprafața lichidă cea mai de sus, neetanșată și expusă mediului ambiant.

Figura 27 E și D, arată parcursuri tipice de temperatură și presiune observate în experimente, cu săgețile care marchează debutul precis al fazei de nucleație. Pentru coerență, după verificarea suprapunerii în timp dintre debutul nucleației, bazat pe fluctuația bruscă de temperatură dar și pe efectul brusc al presiunii, am folosit doar datele de temperatură de la termocuplurile montate pe

suprafeţele exterioare pe cele trei camere, pentru compararea şi analiza ulterioară prin intermediul unui singur numitor comun: temperatura. Figura 27 E.

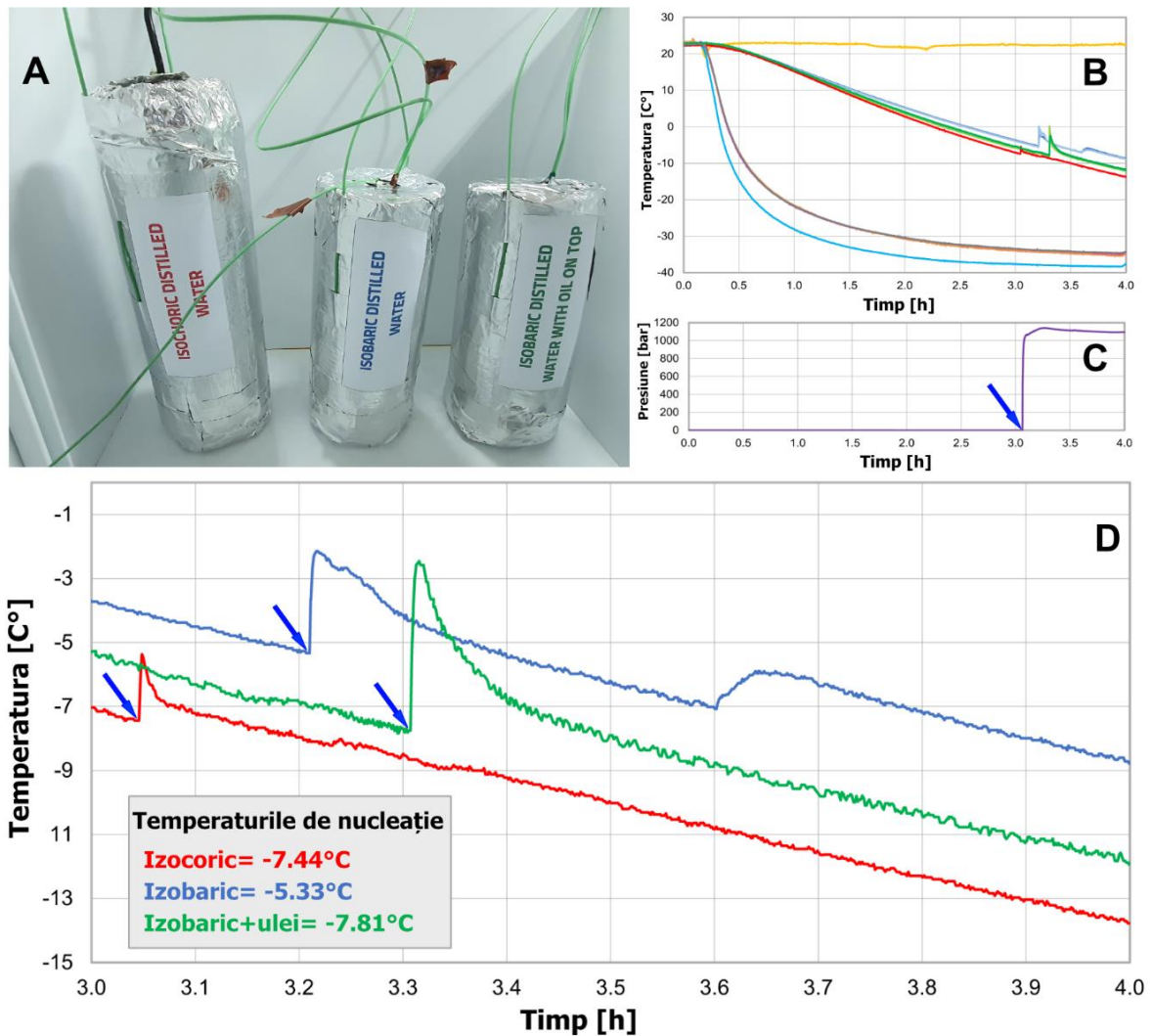


Figura 27 - A. Cele 3 reactoare în interiorul congelatorului; B. Grafic tipic pentru toate temperaturile înregistrate; C. Graficul presiunilor, cu săgeata care indică nucleaţia; D. Graficul temperaturilor înregistrate pe suprafaţa exterioară a reactoarelor.

9.1.3 Rezultate

Rezultatele prezentate în Figura 27 prezintă temperatura de nucleație măsurată în fiecare dintre cele trei sisteme în 12 experimente. Analiza statistică a acestor date pentru a compara efectele condițiilor termodinamice asupra temperaturii de nucleare a fost realizată prin ANOVA, unidirecțional, cu metoda lui Bonferroni utilizată pentru testul de comparații multiple, iar diagramele cu casete sunt prezentate Figura 28. Analiza statistică demonstrează că atât suprarăcirea izobară, cât și cea izocorică sigilată cu ulei suprimă probabilitatea nucleării cinetice a gheții în comparație cu suprarăcirea izobară convențională în aer liber ($p < 10^{-5}$ pentru fiecare) și că aceste două tehnici oferă o îmbunătățire statistic similară pentru stabilitatea fazei de subrăcire (de ex., suprimarea temperaturii de nucleație observată) ($p = 0,67$). Este important, totuși, că există diferențe notabile în consecvența cu care aceste tehnici produc o stabilizare pentru faza de subrăcire, așa cum este demonstrat de dinamica datelor. În timp ce mediile aritmetice ale temperaturilor de nucleație produse de suprarăcirea izobară sigilată cu ulei și izocoră sunt echivalente statistic, abaterea standard a acestor temperaturi de nucleație este aproape de două ori mai mare în condiții izobare de etanșare cu ulei (abatere standard = 1,66 °C) decât în condiții izocorice (abatere standard = 0,90 °C), indicând o stabilitate mai mare a suprarăcirii cinetice în condiții izocorice, decât în condiții izobare de etanșare cu ulei.

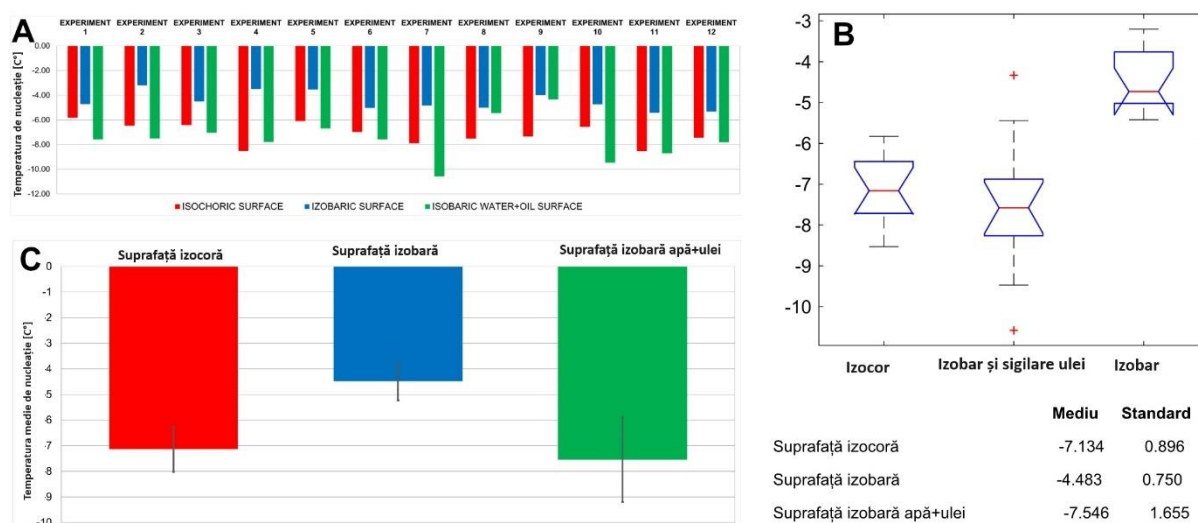


Figura 28 – A. Temperatura de nucleație măsurată în 12 repetări pentru fiecare dintre cele trei sisteme; B. Diagramele pentru starea de suprarăcire izocoră, izobară sigilată cu ulei și izobară convențională în contact cu aerul atmosferic; C. Diagramele pentru temperaturile medii de nucleație în cele trei sisteme

Aceste rezultate confirmă, într-un context dinamic, constatările anterioare ale suprarăcirii izocorice în stare de echilibru și ale studiilor de etanșare cu ulei izobar [12], [25]. Așa cum sa constatat în ambele studii anterioare, ambele tehnici îmbunătățesc stabilitatea la suprarăcire în raport cu suprarăcirea convențională; cu toate acestea, în concordanță cu constatările anterioare conform cărora condițiile izocorice oferă o stabilitate superioară în fața diferitelor perturbații mecanice,

datele noastre de aici demonstrează că acestea conferă, de asemenea, un grad superior de stabilitate împotriva nucleării cinetice în timpul procesului de răcire, oferind un comportament mai previzibil și o certitudine mai mare a evitării nucleației la temperaturi mai mici de suprarăcire.

În concluzie, observăm că acest studiu reprezintă o completare în înțelegerea proprietăților legate de stabilitatea relativă a stării de suprarăcirea apei și factorii declanșatori de nucleație, utilizând metoda izocorică sau izobar sigilat cu ulei. Studiile viitoare ar trebui să examineze temperaturile și variabilitățile efective de nucleație în sistemele cu volum din ce în ce mai mare dar și timpii de inducție ai nucleației la starea de echilibru ca funcție de temperatură, pentru a completa imaginea de ansamblu și a clarifica limitele practice ale stabilității lichidelor suprarăcite în raport cu nucleația.

9.2 Studiul comportamentului de înghețare izocoră a unei substanțe pe bază de apă utilizată în domeniul medical, în special pentru conservarea organelor (Custodiol)

9.2.1 Introducere

Printre cele mai de interes aplicații care au la bază noțiunile investigate în această lucrare, sunt conservarea materiei biologice într-un mediu controlat cu volum constant (izocor) la temperaturi negative, ajungând în starea metastabilă de subrăcire. O substanță de crioconservare notorie este Custodiol ce este indicată pentru perfuzia și spălarea organelor: rinichi, ficat, pancreas și a inimii donatorului. Până în acest moment, date reprezentative și relevante de tipul temperatură-presiune cu privire la un protocol de crioconservare sub 0 ° C pentru Custodiol nu există. În procedurile experimentale, am utilizat un reactor izocor, complet echipat pentru a măsura simultan atât temperatura, cât și presiunea în interiorul camerei de volum constant.

9.2.2 Protocol experimental

Pentru primul tip de proceduri am urmat programul următor: temperatura băii de răcire a fost setată inițial la 0 °C. Pragurile de temperatură studiate pornesc de la valoarea de 0 °C și scad în trepte de 5 °C până la valoarea de -25 °C. Adică vom avea pragurile de -5 °C, -10 °C, -15 °C, -20 °C și -25 °C. Timpul scurs pentru ca sistemul să atingă fiecare prag de temperatură a fost între 20 și 90 de minute, cel mai lung parcurs fiind de la -20 °C până la -25 °C. Perioada alocată pentru menținerea echilibrului termic la fiecare prag de temperatură de referință a fost de 15 minute cu excepția punctului final de la -25 °C unde menținerea a fost de 50 minute. După introducerea microreactorului în baia de răcire, a urmat o echilibrare termodinamică la 0 °C timp de 15 minute iar apoi a pornit programul de modificare a temperaturii conform procedurii descrise mai sus, până când s-a atins valoarea de -25 °C. După 50 minute de echilibru la ultimul punct de temperatură de referință, am parcurs procesul de topire în aceleași praguri de temperatură pe care le-am avut la faza de îngheț. Am ajuns astfel înapoi la 0 °C menținând fiecare punct de temperatură la echilibru termodinamic pentru un timp de 15 minute. De menționat este faptul că pe zona de topire (încălzire), pragurile de temperatură sunt atinse mai rapid, timpul mediu fiind de aproximativ 5

minute pentru fiecare prag, la care se adaugă cele 15 minute de plafonare la echilibru termodinamic al punctului setat. Astfel se va observa grafic, liniaritatea din procesul de încălzire, în antiteză cu variabilitatea din procesul de răcire. O reprezentare a protocolului de temperaturi este prezentată în Figura 29. Cu albastru este temperatura setată în programul controlerului băii de răcire, iar cu portocaliu este temperatura efectivă în baia de răcire. Observăm că acestea se suprapun ceea ce înseamnă un control foarte precis al temperaturilor. Răcirea se întinde pe parcursul a peste 3 ore și 30 minute pe când topirea are loc în mai puțin de 1 oră și 30 minute.

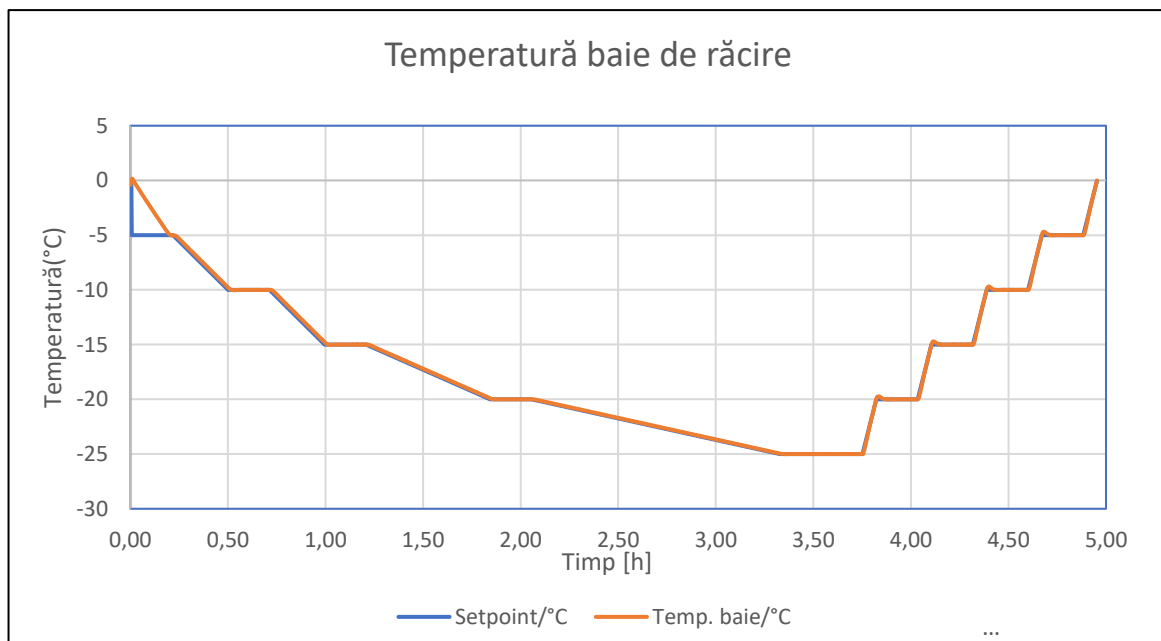


Figura 29 - Graficul de temperaturi al băii de răcire pe faza de răcire de la 0°C la -25°C și pe faza de încălzire de la -25°C înapoi la 0°C ca funcție de timp.

Pentru al doilea set de proceduri s-a utilizat congelatorul criogenic care utilizează ca agent de răcire azot lichid. Temperatura de nucleație din camera izocoră a fost determinată prin corelarea temperaturii măsurate pe suprafața exterioară a camerei cu presiunea detectată de traductorul de presiune atașat.

9.2.3 Rezultate și discuții partea 1 – corelare temperaturi-presiune

Fiecare sesiune de experiment dintre cele 8 pe care le-am considerat, s-a desfășurat pe o durată de 6 ore, în care parametrii de temperatură și presiune au fost monitorizați și înregistrați în permanență prin intermediul echipamentelor descrise anterior. Fiecare sesiune de experimente, a avut rezultate diferite în ceea ce privește zona de temperatură-presiune în care crioprezervantul Custodiol se afla în stare de subrăcire și temperatura punctuală în care se producea nucleația. Presiunea din camera izocoră a avut un comportament hidrostatic, iar orice modificări ale presiunii s-au propagat cu viteza sunetului. Aceste schimbări de presiune au fost legate direct de înghețarea apei în interiorul camerei izocorice dar și induse de același fenomen. Având în vedere

interdependența presiunii și a temperaturii într-un sistem izocor, monitorizarea schimbărilor de presiune a servit ca un indicator eficient al stării termodinamice din interior. Mai exact, atunci când senzorul de presiune a încetat să detecteze orice fluctuații ulterioare de presiune, aceasta a însemnat atingerea echilibrului termodinamic în cadrul sistemului. De obicei, timpul necesar pentru ca sistemul să atingă această stare de echilibru termodinamic se încadrează în intervalul 15-60 min. În continuare sunt prezentate datele culese prin aceste proceduri și aranjate într-o serie de figuri de tipul profil termodinamic, ce înglobează datele obținute a 2 sesiuni experimentale din cele 8 realizate. Acestea afișează presiunea în funcție de timp. Temperatura a fost schimbată treptat, iar valorile constante ale temperaturii utilizate în acest set de experimente sunt enumerate pe liniile orizontale din figuri.

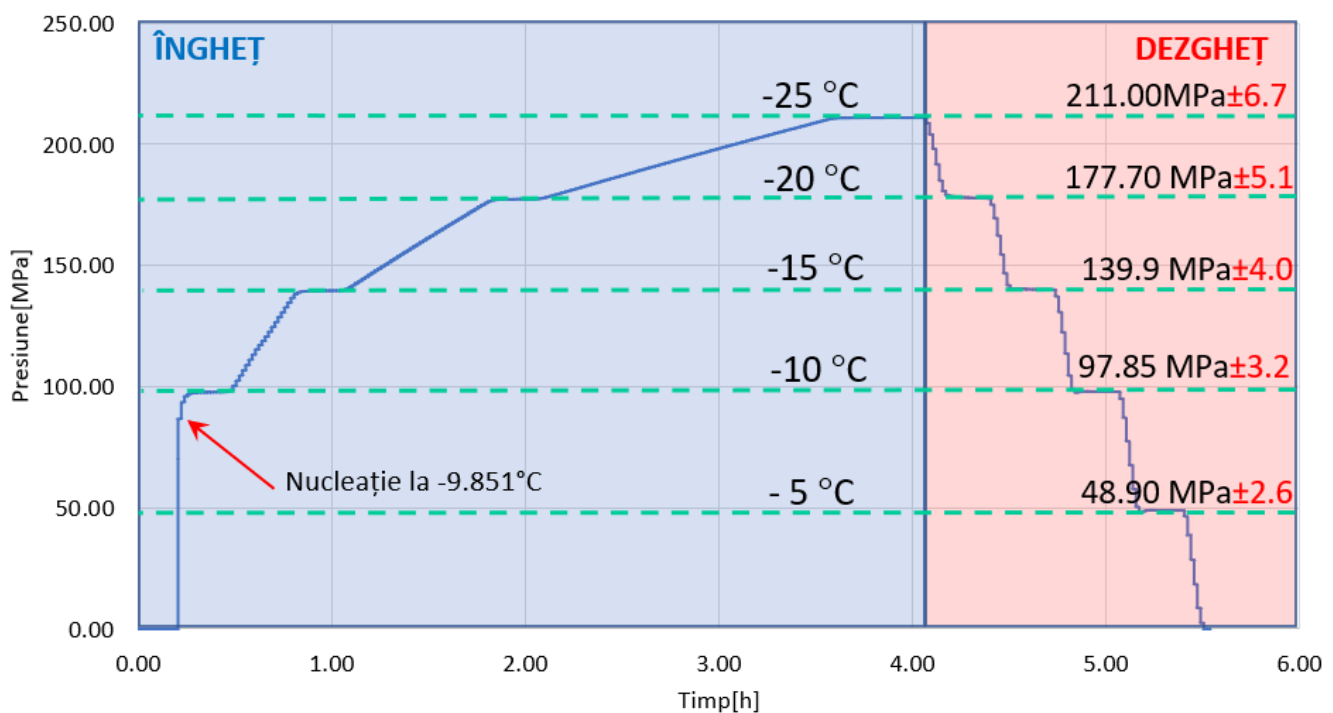


Figura 30 - Profil termodinamic (temperatură-presiune), în condiții de volum constant (izocor) pentru Custodiol cu temperatura de nucleație la pragul de -9.851°C (Experiment 4)

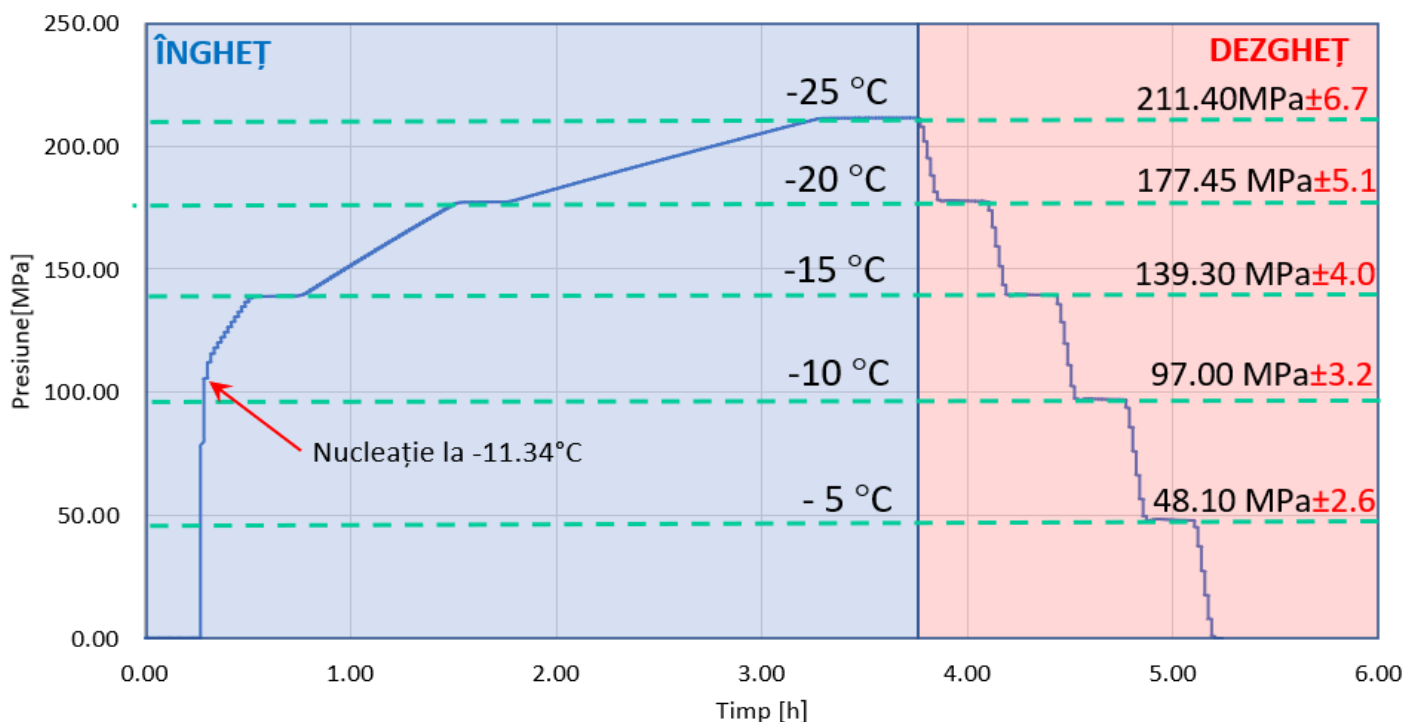


Figura 31 - Profil termodinamic (temperatură-presiune), în condiții de volum constant (izocor) pentru Custodiol cu temperatura de nucleație la pragul de -11.734°C (Experiment 5)

Urmărind datele prezentate grafic și tabelar, acestea pot fi interpretate în multiple feluri. Relevant este că avem suprarăcire izocoră în fiecare set de experimente. O altă observație interesantă este că aceleași valori ale presiunii au fost obținute la temperaturile constante specificate atât în timpul răcirii, cât și în timpul încălzirii la acele temperaturi de referință și nu a existat niciun histerezis. Pentru temperatura de -5°C în timpul înghețului în toate experimentele nu există date. Acest lucru se datorează faptului că sistemul suprarăcit și înghețarea prin nucleație aleatorie a avut loc întotdeauna numai la o temperatură mai mică de -5°C .

9.2.4 Rezultate și discuții partea 2 – temperatura de nucleație eterogenă

Configurația experimentală a fost realizată pentru a atinge direct și apoi a se stabili la temperatura de -20°C prin intermediul congelatorului criogenic, pornind de la temperatura camerei. Atingerea cu succes a echilibrului termodinamic este vizibil în mod clar în graficul din Figura 32. Intervalul de timp a fost cu aproximație între minutul 82 și 135. Temperatura care definește acest grafic corespunde cu temperatura din camera congelatorului criogenic, aceasta fiind măsurată prin intermediul unei termocuple fixate pe exteriorul reactorului izocoric. Această temperatură nu este aceeași cu cea a lichidului din interiorul reactorului izocoric. Tot în același grafic din Figura 32 se prezintă atât temperaturile cât și presiunile măsurate în timpul răcirii. Momentul în care presiunea începe să crească indică debutul nucleației gheții. Considerăm temperatura de nucleație izocorică eterogenă ca fiind temperatura înregistrată chiar în acest moment.

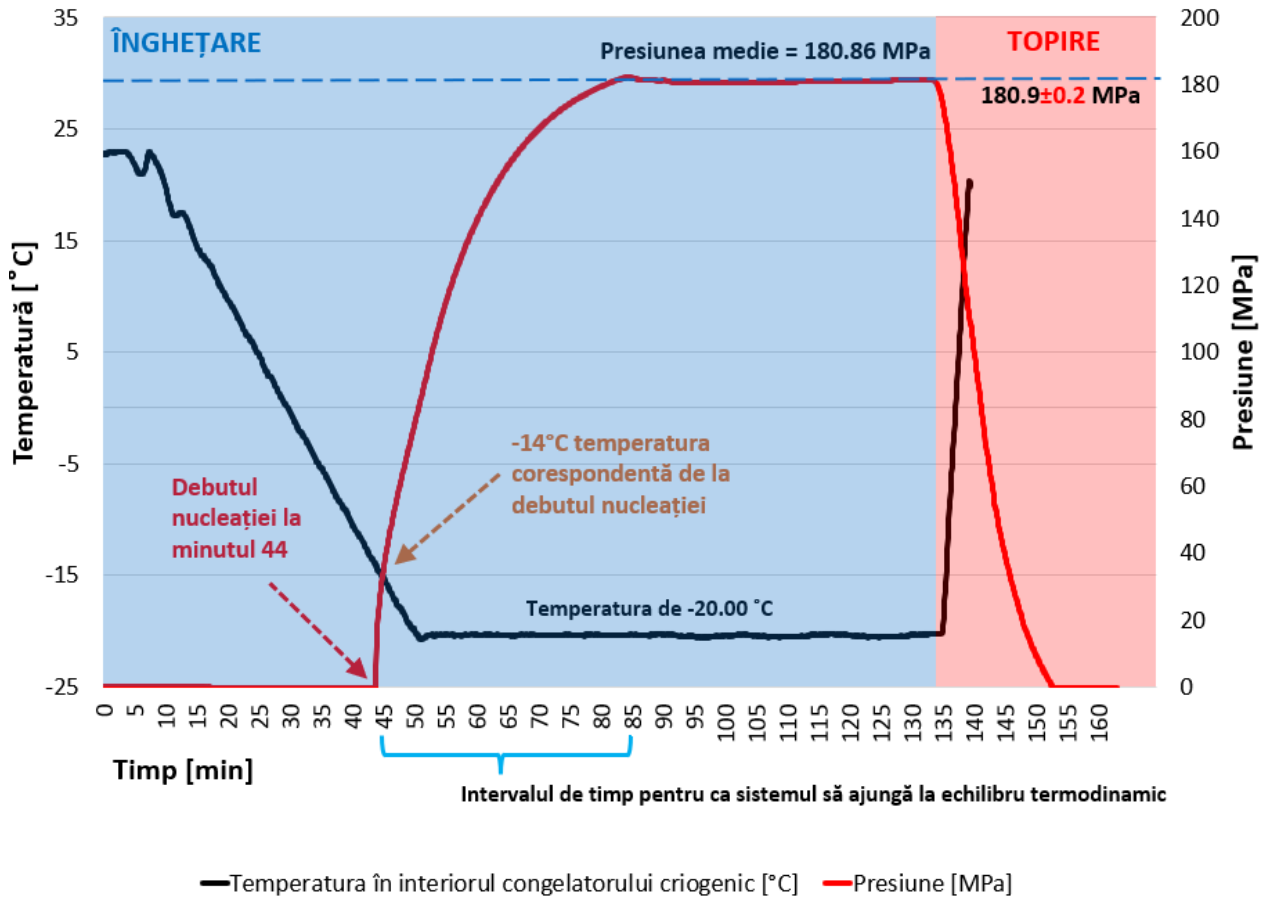


Figura 32 - Valorile temperaturilor și a presiunilor în timpul răcirii pentru identificarea temperaturii de nucleație

Camerele izocore au fost echipate cu termocuple pe suprafața exterioară în aceeași locație pentru fiecare. Debutul nucleației este marcat de recălescența (o creștere bruscă a temperaturii) care însoțește cristalizarea în lichidele suprarăcite, ce a fost monitorizată prin intermediul acestor termocuple pentru toate reactoarele,

Figura 33. În plus pentru că în cazul camerei izocorice înghețul este parțial, doar o parte din conținutul interior se transformă în gheață, provocând o recălescență mult mai puțin semnificativă, detectarea nucleației este stabilită prin urmărirea presiunilor care experimentează o creștere bruscă.

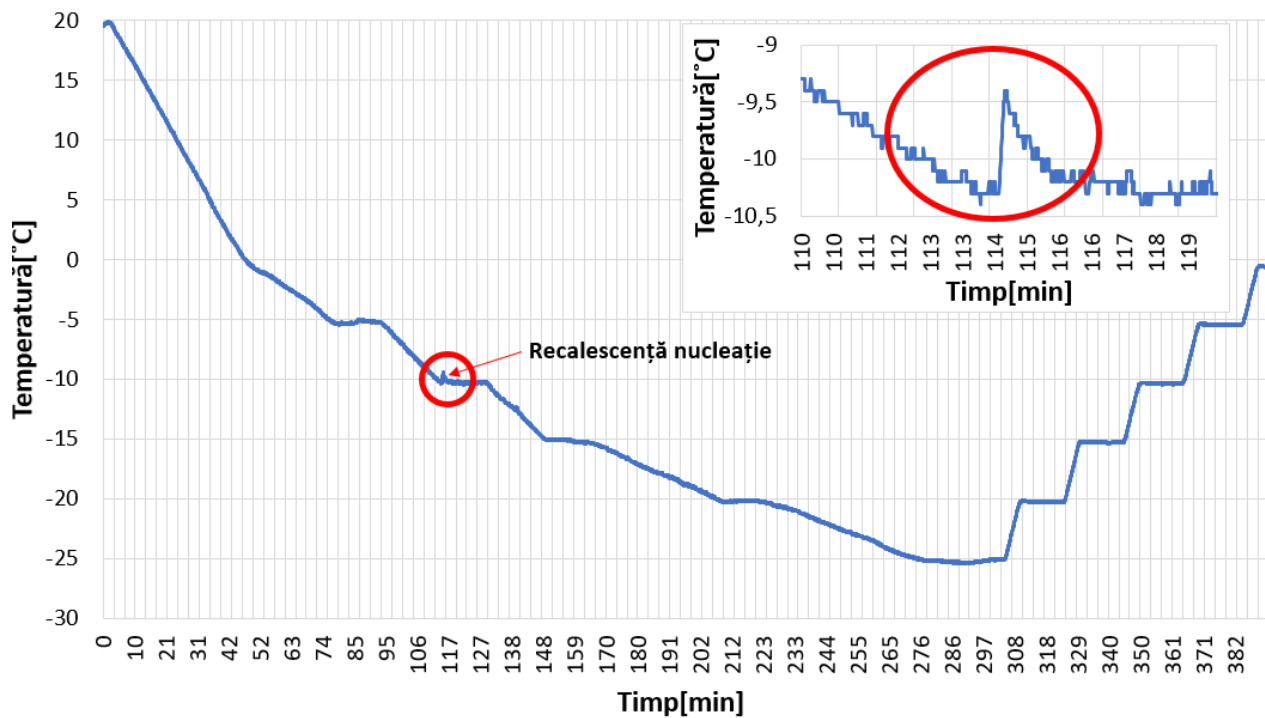


Figura 33 – Temperatura de la suprafața reactoarelor izocorice pentru identificarea temperaturii de nucleație în experimentele cu apă distilată.

Analiza statistică a datelor pentru comparația temperaturii de nucleație eterogenă pentru Custodiol și apă distilată, a fost realizată prin metoda ANOVA, într-un singur sens, utilizând testul Tukey's pentru comparații multiple. Am generat astfel o diagrama tip box ce poate fi vizualizat în Figura 34. Analiza statistică demonstrează că temperatura de nucleație pentru Custodiol și apa distilată, în mediul izocor sunt aproape la fel.

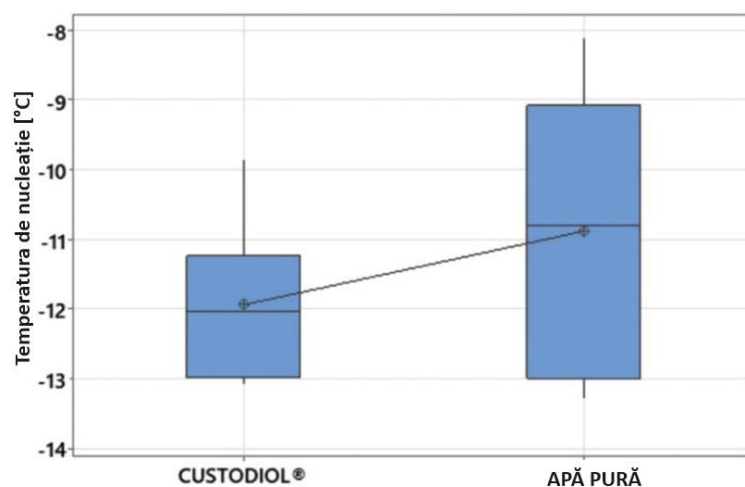


Figura 34 - Diagramele tip box pentru temperatura de nucleație a soluției Custodiol versus temperatura de nucleație a apei pure în condiții izocorice.

Scopul principal al acestui studiu a fost de a corela presiunea și temperatura pentru o soluție comercială utilizată în domeniul medical pentru conservarea organelor.

9.3 Studiul vizual al fenomenului de nucleație în regim izocor

9.3.1 Introducere

Odată ce toate testele de parametrizare au fost încheiate, am început o serie de experimente de probă, unde scopul principal a fost observarea obiectivă a funcționării sistemului, colectarea primelor imagini, reglarea focalizării și optimizarea microscopului digital. Diametrul transparent efectiv prin care se preiau cadrele are 5 mm. Procesul de testare, pregătire și parametrizare a sistemului nu a fost unul simplu, dar a pregătit terenul pentru ca experimentele propriu-zise să le pot desfășura în cele mai optime condiții.

9.3.2 Protocol de experiment

- 1) Amplasarea sticlei inferioare de safir în poziția ei.
- 2) Reactorul de volum constant (izocor) este înfiletat pe canalul intern al corpului fiind etanșată prin intermediul inelului o-ring care presează lentila inferioară.
- 3) După ce operațiunea de umplere a fost realizată corect și cu atenție, așezăm cu grijă geamul de safir superior, care se va etanșa tot prin intermediul inelului o-ring.
- 4) Întregul ansamblu este rigidizat și închis ermetic fiind pregătit pentru răcire.
- 5) Ecranele de protecție la condens din plastic acrilic sunt poziționate corespunzător și fixate cu bandă adezivă. Pentru a evita condensul, în spațiul dintre acestea și safir a fost introdus aer uscat din spray.

Temperatura reactorului izocor este controlată printr-un flux continuu de agent termic prin mantaua de răcire. Pentru precizie, temperaturile de intrare și de ieșire ale lichidului de răcire sunt permanent măsurate și înregistrate cu ajutorul celor două termocuple de tip T.

Experimentele au fost efectuate între două praguri de temperaturi: începând de la 5 °C și coborând până la un minim de – 13 °C. Am definit și 3 temperaturi de referință pentru care am stabilit să se mențină echilibrul termodinamic: – 6 °C, – 9 °C și – 13 °C. Viteza de răcire înregistrată a fost în medie 18 °C/h. Știm din studiile anterioare că apa în spații izocore îngheață în mod aleatoriu în intervalul de temperatură de la – 7 °C la – 10 °C [26], [27]. Acest fapt a fost demonstrat și vizual în experimente. Odată ce are loc nucleația, vom menține din nou un prag de temperatura de echilibru la valoarea de –9°C pentru vizualizarea stării de echilibru. Continuă apoi răcirea până la punctul de referință final. La câteva minute după atingerea echilibrului termodinamic, se setează o

temperatură pozitivă, + 5 °C, pentru a vizualiza faza de topire. Topirea este de obicei vizibilă după ce termocuplele sesizează temperatura de + 2 °C a agentului termic.

9.3.3 Rezultate, urmărirea dinamicii nucleului de gheață, într-un volum finit și constant (izocor), înghețul:

La momentul zero al fiecărui experiment am avut în prim plan imaginea apei lichide, fără bule de aer, observând practic un mediu omogen, clar și transparent. În jurul temperaturii de – 8,4 °C, sistemul experimentează un debut brusc, rapid și foarte brutal al nucleației omogene din starea de agregare lichidă înspre faza de agregare solidă. Primele cinci secunde după nucleație sunt prezentate în Figura 35 și sunt marcate de schimbări foarte de rapide. Camera microscopului are capacitatea de a înregistra până la 30 cadre pe secundă. Este important de remarcat că instanța $T_{imp}=0$ s se referă la momentul T_0' chiar înainte de nucleație și nu la momentul T_0 când a început experimentul. Geometria radială a pereților reactorului este replicată de cristalele de gheață, după cum se poate observa în imagini. Gheața are o morfologie dendritică și se observă că primele 5 secunde de la debutul nucleației se aseamănă cu cele dintr-un mediu izobaric [27]. Pereții reactorului s-au comportat precum am prezis, practic au fost declanșatori ai nucleației. Acest fapt se poate observa din cadrul de 0,05 secunde ce prezintă în partea stângă niște formațiuni fine de cristale de gheață ca urmare a declanșării nucleației.

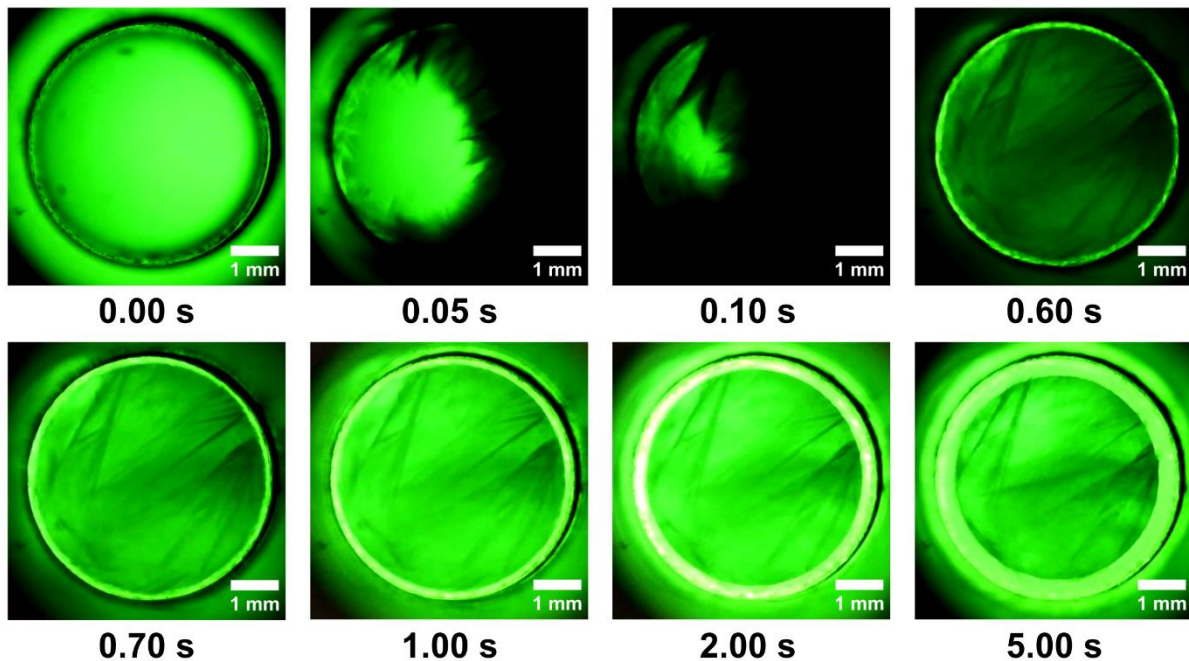


Figura 35 - Primele 5 secunde de la debutul nucleației în izocor. Notă* - petele negre statice din prima imagine stânga sunt anomalii de pe placa lentilei microscopului [29].

Deja după 5 secunde se observă tendința de concentrare din exterior către interior a unui nucleu de lichid. Formațiunile de gheață de tip Ih se extind într-un ritm semnificativ mai lent după primele zece secunde de la nucleație. Această încetinire a fost cauzată de o creștere a presiunii interne care

se apropie de 90 MPa. La rândul lui, recipientul al cărui volum intern rămâne constant, va aplica o presiune egală și opusă amestecului de apă și gheață. Ne referim acum la această presurizare a sistemului ca fiind „penalizarea creșterii izocorice”, care reprezintă costul energetic suportat de faza solidă pentru a crește într-un sistem de volum absolut și specific limitat [28]. În Figura 36, se pot observa aceste fenomene. După primele 10 secunde de la debut, dinamica încetinește semnificativ prin creșterea presiunii interne, procesul de cristalizare total fiind restricționat.

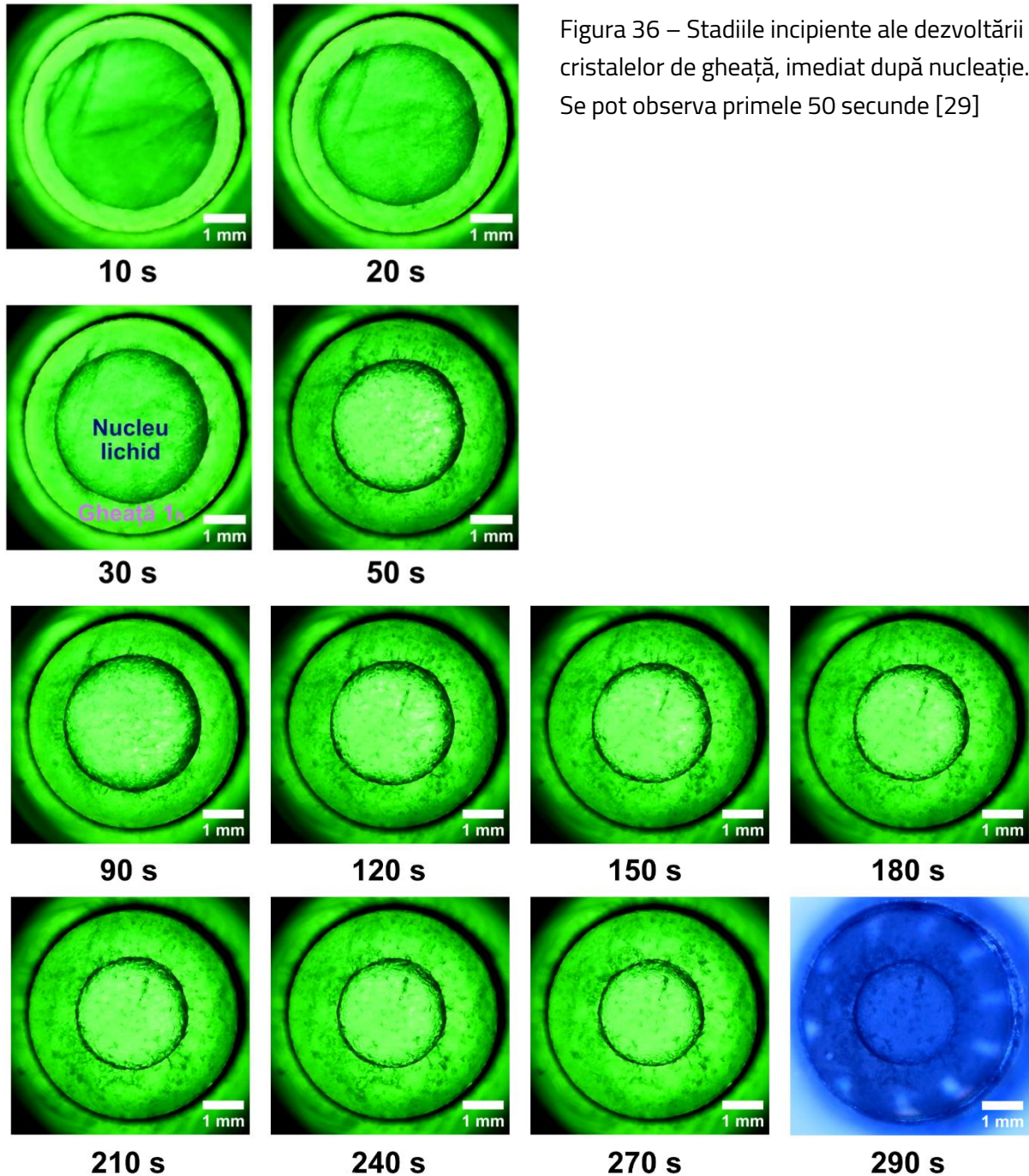


Figura 37 - Aproape 5 minute după nucleație. Ultima poză este surprinsă cu lumina superioară, tenta albastră deoarece nu au fost prezente filtre de culoare. Punctele albe sunt reflexiile LED-urilor care luminează. [29]

9.3.4 Rezultate, urmărirea dinamicii nucleului de gheață într-un volum finit și constant (izocor) topirea:

După ce starea de echilibru a fost confirmată la $-9\text{ }^{\circ}\text{C}$, am încheiat procesul de răcire. Temperatura a fost setată la $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatura pozitivă, cu o viteză medie de încălzire de $60\text{ }^{\circ}\text{C/h}$. Primele indicii de topire sunt observate pe exteriorul stratului de gheață (marginile de culoare închisă din Figura 38).

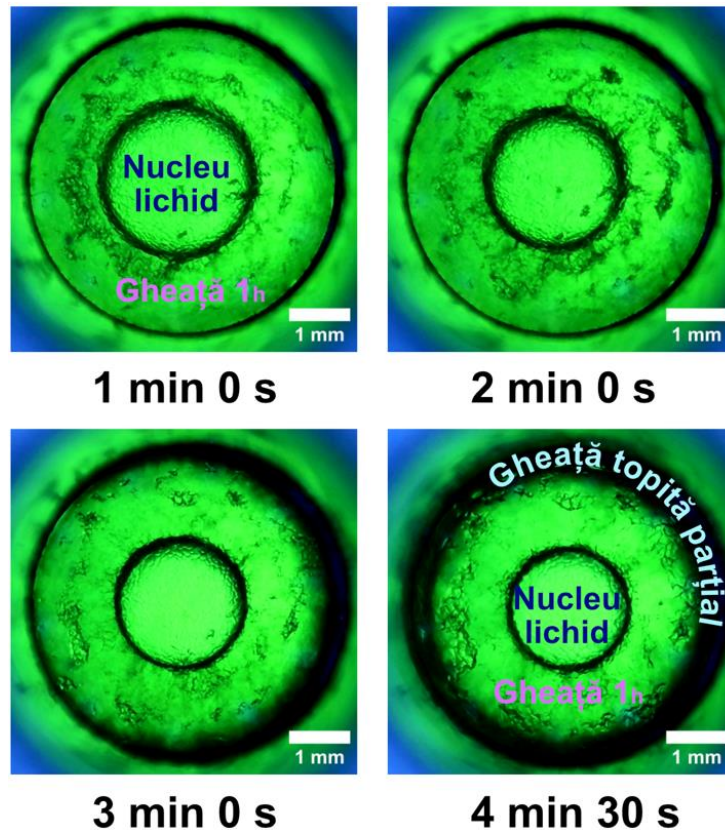


Figura 38 - Primele 4 minute și jumătate după începutul fazei de topire [29].

Se observă cum peretele cald al reactorului topește rapid gheața, iar forma lichidă a apei începe să crească semnificativ în detrimentul stratului de gheață tot mai subțire. În Figura 39, sunt prezentate 8 capturi de imagine cu un pas egal de 15 secunde, unde se vizualizează decongelarea care devine tot mai accelerată. Gheața acum plutește în lichidul care o înconjoară. În ultimul cadru din Figura 39 se vede cum gheața efectiv dispare atunci când intra în contact direct cu peretele cald al reactorului.

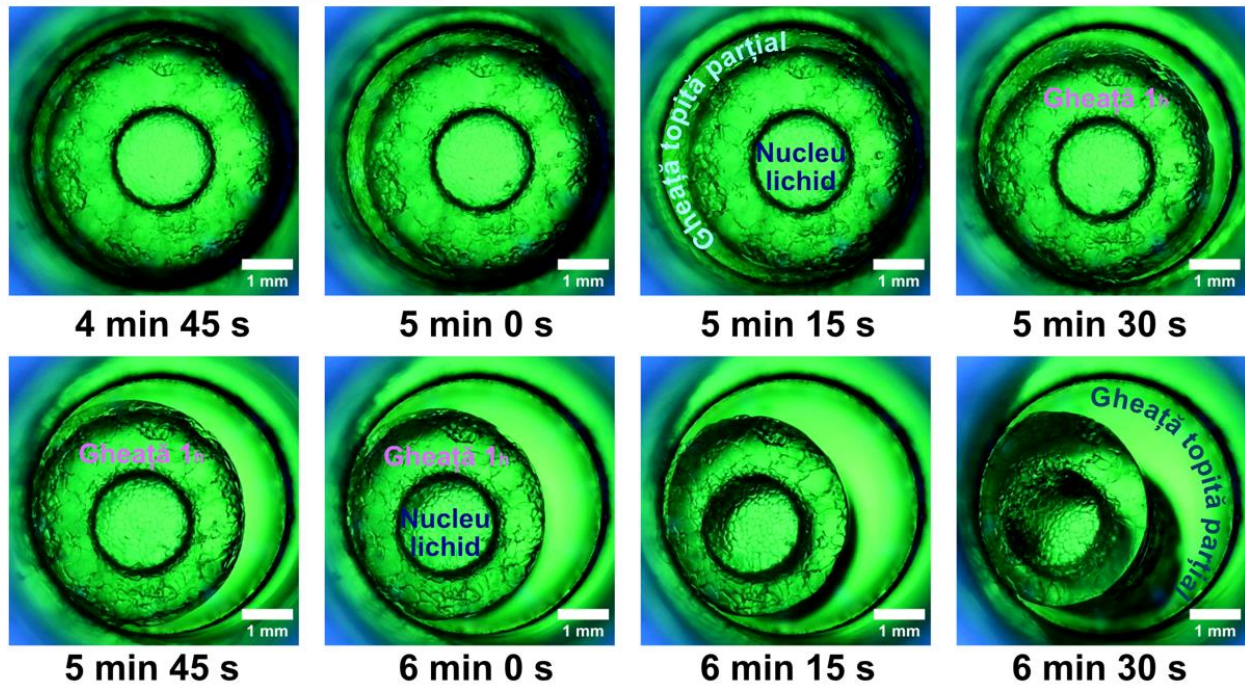
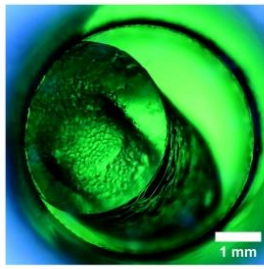
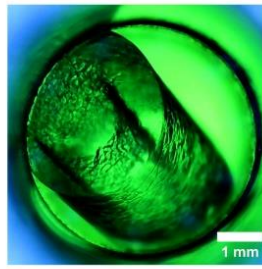


Figura 39 - Proces de decongelare în curs. Timpul este cuantificat din momentul în care a început procesul de topire. Pas de 15 secunde între cadre [29].

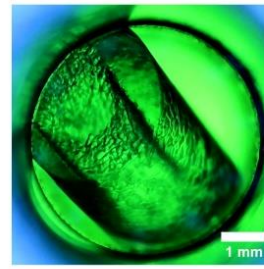
Faza de dezghețare continuă accelerat motiv pentru care în Figura 40 am exemplificat o serie de imagini surprinse cu un pas de 10 secunde. Observăm cum un orificiu a rămas bine definit în centrul cilindrii de gheață. Acest fapt se datorează nucleului de fluid, capturat la interior, de gheața care s-a format de jur împrejur. Gheața dispăre complet la 10 minute și 23 de secunde după începerea stadiului de încălzire. Sistemul ajunge în aceeași stare vizuală precum a fost la începutul experimentului, înainte de îngheț. Imaginea este curată, transparentă, fără bule de aer. Ce denotă faptul că etanșeitatea a fost corectă, deci se poate afirma succesul unui ciclu complet de experiment, îngheț și apoi dezgheț, într-un sistem izocor.



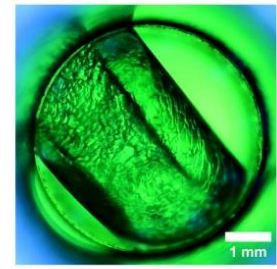
6 min 40 s



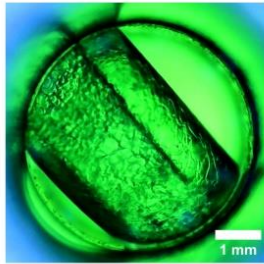
6 min 50 s



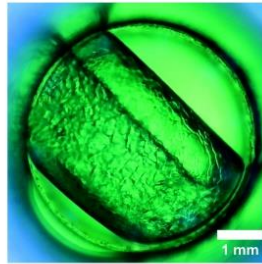
7 min 0 s



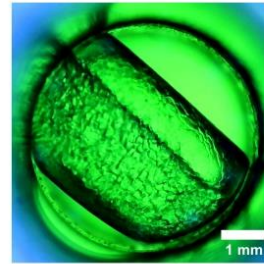
7 min 10 s



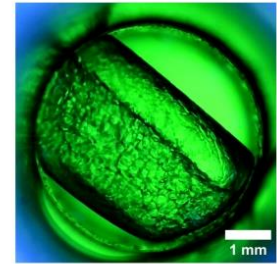
7 min 20 s



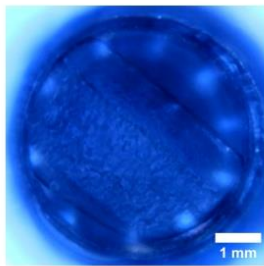
7 min 30 s



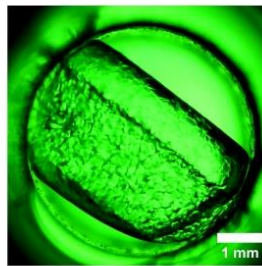
7 min 40 s



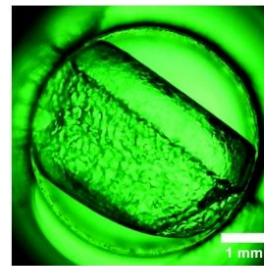
7 min 50 s



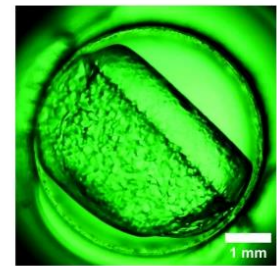
8 min 0 s



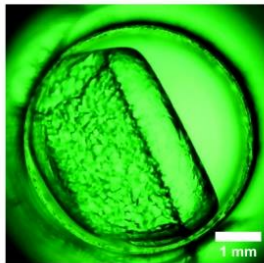
8 min 10 s



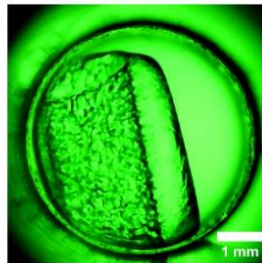
8 min 20 s



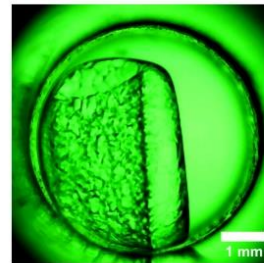
8 min 30 s



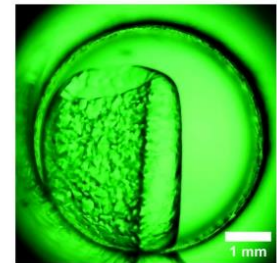
8 min 40 s



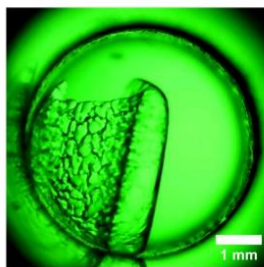
8 min 50 s



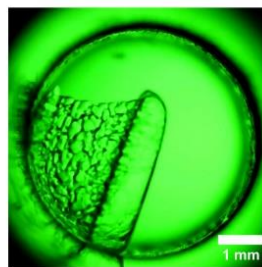
9 min 0 s



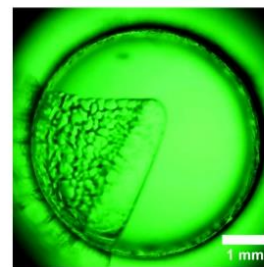
9 min 10 s



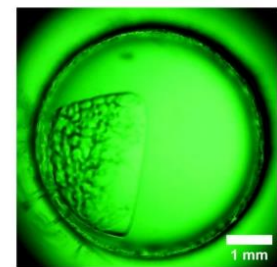
9 min 20 s



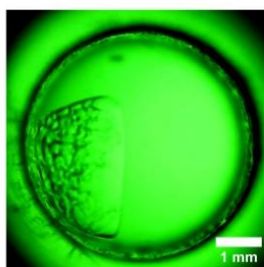
9 min 30 s



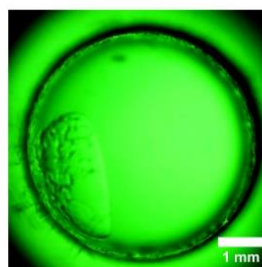
9 min 40 s



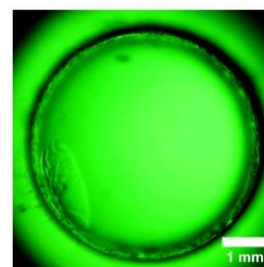
9 min 43 s



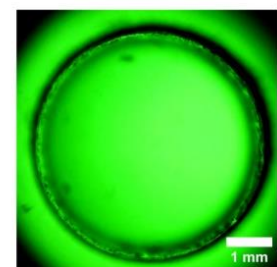
9 min 53 s



10 min 03 s



10 min 13 s



10 min 23 s

Figura 40 - Procesul de decongelare în etapa finală. Întregul amestec lichid-gheață din reactor este readus la starea inițială. Pas de 10 secunde primele 19 cadre, pas de 3 secunde pentru imaginea cu numărul 20, după care pas tot de 10 secunde până la final [29]

9.3.5 Rezultate. Urmărirea dinamicii nucleului de gheață într-un volum finit și constant (izocor), înghețul prelungit după declanșarea nucleației:

Mai departe voi prezenta un caz în care baia de răcire a continuat să pompeze agent termic la o temperatură setată de -13°C , fenomenul de înghețare poate fi vizualizat în Figura 41. Formarea unui miez lichid care rezistă fazei de îngheț este și aici bine identificat. Gheața crește în volum pe măsură ce temperatura scade. Diametrul miezului lichid scade și capătă o formă neuniformă cu proeminențe în zona de gheață. După 19 minute și 20 de secunde de la nucleație, sistemul este echilibrat termodinamic la temperatura de $-11,7^{\circ}\text{C}$, după cum este confirmat de egalizarea temperaturii de intrare și de ieșire a fluidului de răcire.

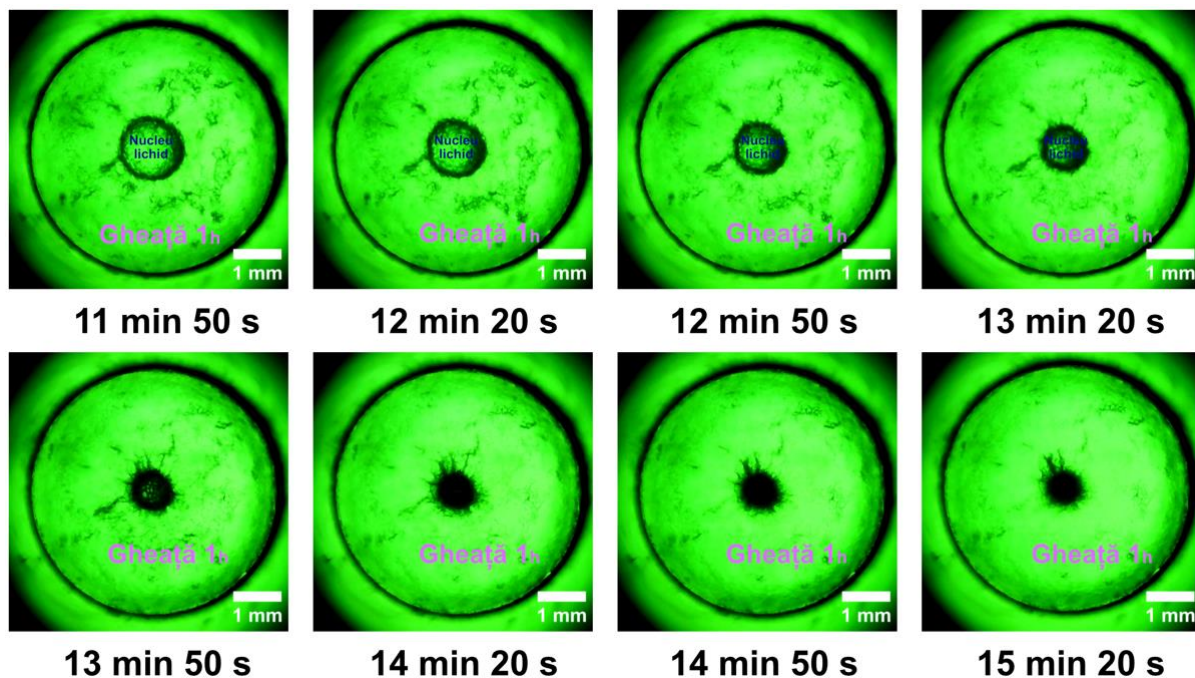


Figura 41 - Fenomenul de nucleație și cristalizare a gheții până la atingerea temperaturii de echilibru termodinamic măsurată la $-11,7^{\circ}\text{C}$ (-13°C temperatură efectiv cerută pe baia de răcire) [29]

9.3.6 Rezultate. Urmărirea dinamicii nucleului de gheață într-un volum finit și constant (izocor), concluzii

În ceea ce privește locația, gheața își are originea la pereții reactorului, care servesc drept loc de pornire de nucleație. Presiunea internă a sistemului crește pe măsură ce gheața se răspândește, micșorând viteza de propagare și cantitatea apei transformată în gheață. Ca rezultat, un miez lichid este concentrat la interior și gheața încetează să se mai formeze. Aceste detalii sunt esențiale,

deoarece oferă indicații clare despre locul în care materialul biologic ar trebui să fie depozitat în siguranță pentru crioconservare, astfel încât cristalele de gheață să nu dăuneze țesutului.

Topirea, fenomenul opus, a fost la fel de fascinant și unic. Acesta a fost vizualizat imediat după faza de agregare, Figura 37. La început, dinamica este relativ lentă din cauza inerției termice. Topirea ne oferă niște imagini spectaculoase cu lichid pe marginile reactorului, apoi gheață, după care iar lichid în interiorul cilindrului de gheață. Pe măsură ce agentul termic curge prin mantaua reactorului, gheața care se topește din interiorul reactorului începe să se rotească și să plutească în acea direcție, producând imagini din mai multe unghiuri, Figura 40. Apa devine în cele din urmă la fel de limpede ca la începutul experimentului, fără nicio dovadă a existenței cristalului de gheață. Deoarece un întreg ciclu de îngheț-dezghet a fost efectuat în interiorul reactorului izocor, experimentul este considerat ca fiind finalizat cu succes.

10. CAPITOLUL 10: Discuții finale și concluzii

Apa joacă un rol esențial în procesele de nucleație, atât în contextul biotehnologiei și bioingineriei, cât și în fenomenele atmosferice. În biotehnologie, apa este un solvent universal care facilitează dizolvarea și transportul substanțelor necesare pentru cristalizarea proteinelor și formarea de biomateriale. În bioinginerie, apa este crucială pentru menținerea mediilor umede necesare pentru creșterea și dezvoltarea țesuturilor cultivate în laborator.

În fenomenele atmosferice, apa este fundamentală pentru formarea norilor și a precipitațiilor. Nucleația picăturilor de apă și a cristalelor de gheață este un proces esențial în ciclul hidrologic, influențând modelele meteorologice și climatice. Capacitatea apei de a forma legături de hidrogen contribuie la structura și stabilitatea picăturilor și cristalelor, având un impact direct asupra formării și dinamicii norilor.

Cercetarea asupra nucleației în regim izocor oferă perspective valoroase pentru controlul și manipularea tranzițiilor de fază în sisteme complexe. Pentru viitor, se recomandă extinderea studiilor pentru a include efectele impurităților și ale câmpurilor externe asupra nucleației. Studiile viitoare ar trebui să se concentreze și pe dezvoltarea de modele predictive mai precise și pe tehnici experimentale care să permită observarea nucleației în timp real, la scară nanometrică.

Studierea și înțelegerea comportamentului apei sau a altor substanțe apoase la volum restricționat constant poate să ofere răspunsurile esențiale pentru dezvoltarea unor noi tehnologii de conservare a materiei organice. Până în acest moment studiile au demonstrat eficiența conservării unor legume și fructe [30] [31] [32] [33] [34][35] [36] [37], microorganisme uni sau multi celulare [38] [39] [40], țesuturi animale sau umane [41] [42] [43] [44] [45] [46], utilizând răcirea și înghețul izocor. Pentru ca astfel de aplicații să fie posibile, a fost necesară practicarea mai înainte a studiilor care să dezvăluie informații cruciale și relevante în descrierea proceselor termodinamice care stau la baza protocoalelor de conservare.

Studiul comparativ realizat între metodele de sporire a stării metastabile de suprarăcire a apei a dezvăluit faptul că utilizând doar recipiente de volum finit și constant a fost depășită bariera temperaturii de nucleației peste valorile care ar fi fost obținute prin adăugarea unor substanțe de crioconservare.

Am adus în discuție vorba despre aplicabilitatea în domeniul medical iar acesta a fost motivația de a alege o substanță frecvent utilizată în medicina de transplant, pentru care nu există date termodinamice în contextul nucleației izocore. Am identificat date relevante care vor putea ajuta la alcătuirea unor protocoale de crioconservare izocorică în viitorul apropiat. Există o serie principală de crioconservanți care sunt utilizați frecvent pentru care s-au generat date termodinamice și teste comparative pentru caracterizare în lucrări anterioare: [47][48].

Mijloacele prin care studiul fenomenului de nucleație izocoră a fost realizat până de curând au fost mărimile fizice precum presiune și temperatură prin care s-au pus bazele de cunoștințe ce au direcționat studiile și au diversificat ariile de interes. Până acum nu a existat un reactor izocor cu pereți transparenți care să deschidă orizontul într-o direcție vizuală de studiu. Lucrarea de față întreprinde o examinare experimentală a nucleației apei, utilizând un cilindru izocor special proiectat, cu secțiuni superioare și inferioare transparente. Utilizarea unui cilindru izocor în acest context facilitează un mediu controlat și restrâns pentru investigație, cu transparența vasului permițând observarea vizuală directă a fenomenelor de nucleație pe toată durata experimentului. Studiul a relevat o prevalență perceptibilă a zonelor de nucleație distribuite eterogen în volumul de apă limitat. Aceste zone s-au manifestat ca regiuni localizate în care a fost inițializată tranziția de la faza lichidă la faza solidă. Prin utilizarea tehnicilor avansate de imagistică microscopică, cercetarea a identificat și caracterizat cu succes distribuția spațială a acestor zone de nucleație. Se observă că inițierea procesului de nucleație are originea în apropierea peretelui interior al cilindrului izocor de aluminiu, urmând un model anticipat în care evenimentele de nucleație progresează radial către axa centrală a spațiului restrâns. Acest rezultat se aliniază cu așteptările teoretice, justificând influența limitelor containerului asupra inițierii locului de nucleație și expansiunii radiale ulterioare. Dinamica de nucleație observată se conformează principiilor stabilite care guvernează tranzițiile de fază în medii restrânse, evidențiind natura dependentă spațial a fenomenului de nucleație în contextul experimental actual. Dinamica de creștere a structurilor cristaline a fost examinată sistematic, punând în lumină evoluția temporală a evenimentelor de nucleație. În mod intrigant, studiul a identificat caracteristici distincte vizual, cum ar fi formarea structurilor dendritice complicate, eterogenitățile spațiale în nucleație și interacțiunile dinamice între evenimentele de nucleație învecinate. Aceste caracteristici vizuale unice nu numai că îmbogățesc înțelegerea noastră calitativă a nucleației, dar oferă și o bază pentru analize cantitative ulterioare, contribuind la perfecționarea modelelor teoretice în domeniu.

Evoluția temporală a nucleației apei în limitele cilindrului izocor constituie un punct focal al acestei cercetări experimentale și constă în trei faze distincte: faza inițială, creșterea timpurie, agregarea a

doua iar maturarea și echilibrarea, ultima fază. Începutul evoluției temporale este marcat de inițierea evenimentelor de nucleație în apropierea suprafeței interioare a cilindrului izocor. Analiza din această fază dezvăluie informații despre rolul zonelor de nucleare eterogene și distribuția lor spațială de-a lungul peretelui reactorului.

Implicațiile practice ale constatărilor studiului oferă perspective asupra controlului sau manipulării proceselor de nucleație pentru aplicații specifice (conservarea materiei biologice) sau industriei (industria alimentară). Direcțiile viitoare pentru cercetări bazate pe lacunele sau întrebările fără răspuns identificate în studiul nostru vizual ar putea include explorarea diferitelor condiții experimentale, încorporarea de variabile suplimentare sau rafinarea tehnicilor de vizualizare.

Controlul precis al condițiilor experimentale: dimensiunile reduse ale reactoarelor permit un control mai strict și mai precis al parametrilor experimentali, cum ar fi temperatura, presiunea și natura substanțelor studiate.

Necesitatea creșterii volumului reactoarelor. Pe măsură ce cercetările avansează și cunoștințele acumulate necesită validare la scară mai mare, devine necesară creșterea volumului reactoarelor izocorice. Motivele principale pentru această scalare includ: relevanță practică și industrială, aplicarea practică a rezultatelor cercetărilor necesită testarea la scară largă.

Putem concluziona că, deși reactoarele izocorice de dimensiuni reduse sunt ideale pentru cercetările incipiente datorită controlului precis, economiei de resurse și siguranței sporite, creșterea volumului acestor recipiente este esențială pentru validarea și aplicarea practică a rezultatelor obținute. Scalarea permite abordarea unor probleme complexe, relevanța practică a cercetărilor și extinderea proceselor la nivel industrial.

11. CAPITOLUL 11: Contribuții proprii, direcții viitoare în cercetare și limitele acesteia

Metodologia de cercetare științifică a fost de tip experimental, având la bază multiple repetări din care s-au înregistrat datele experimentale, ce ulterior au fost procesate, analizate, puse în context și ulterior au stat la baza elaborării unor articole științifice publicate în reviste de interes internațional.

Rezultatele obținute le voi înșirui în continuare într-o ordine aleatorie:

- Am început prin documentarea profundă a temei din domeniul selectat, parcurgerea unui număr mare de lucrări accesând bibliografia și selectând materialele relevante și reprezentative de la care am pornit, având ca rezultat elaborarea stadiului actual al cercetărilor, capitol de bază din această lucrare.
- Implicarea participativă în cadrul unui proiect de cercetare câștigat în cadrul unei competiții de proiecte (PNCDI III), denumit : " Studiul profilelor termodinamice în regim izocoric pentru cele mai importante substanțe crioprotectante", cod proiect: PN-III-P4-ID-PCE-2020-1706 asociat cu contractul nr. PCE2302021. Prin rolul de asistent cercetare pe care l-am

obținut în urma concursului la care am aplicat, din cadrul acestui proiect am avut oportunitatea de a participa la studiile experimentale ce urmăresc nucleația în mediul izocor, în cadrul unei echipe organizate, ce s-a finalizat cu publicarea unor articole despre conservarea la temperaturi negative a unor fructe de mici dimensiuni (struguri) și despre echilibrul lichid-solid al crioprezervantului Custodiol în condiții termodinamice izocore la temperaturi negative. Menționez că un al treilea articol despre conservarea zmeurei în izocor este depus în recenzare la un jurnal de specialitate.

- Modelul matematic prezentat în capitolul desemnat, are la bază o înșiruire de principii fundamentale ce sunt selectate din literatura de specialitate și descriu la nivel fundamental procesele termodinamice dintr-un sistem izocor.
- Conceptualizarea unui model de simulare a fenomenelor din interiorul unui reactor de volum constant, utilizând un software specializat pentru aplicații în domeniul fizicii și al ingineriei, ce a fost finalizat cu o lucrare publicată în IOP Conference Series: Materials Science and Engineering, ISSN-1757-899X.
- Conceptul și punerea în opera a unui dispozitiv mecanic complet nou, pentru studii vizuale în mediul izocor, cu posibilitatea de control al parametrilor termodinamici, un element original, care a stat la baza mai multor studii din această lucrare. Astfel a fost creat și un nou stand experimental în laboratorul de instalații frigorifice din Departamentul de instalații al Facultății de Construcții din cadrul Universității Transilvania Braşov. Acest dispozitiv va putea fi utilizat atât la continuarea studiilor din domeniu cât și în scop didactic de către studenți.
- Generarea de noutăți, date și concepte despre fenomenul de nucleație al apei sau a altor substanțe apoase în izocor au fost produse prin studiile experimentale cu efectuarea măsurărilor parametrilor de temperatură și presiune, sau utilizând microscopul pentru studiul vizual al fenomenului, înregistrând capturi de imagine din interiorul unui reactor cu volum constant. Diseminarea rezultatelor a fost realizată apoi prin publicarea a trei lucrări în jurnale cu evaluare din partea specialiștilor în domeniu (peer-review): două în AIP Advances, ISSN 2158-3226 și una în Nature Scientific Reports ISSN 2045-2322.
- Obținerea de multiple imagini din interiorul unui reactor izocoric care să ne permită evaluarea din punct de vedere spațial, sau dinamica efectivă pe parcursul unui experiment de îngheț și dezgheț al apei în izocor. Aceste noutăți relevante pot răspunde la întrebări precum: care este zona înghețată și care este zona care rămâne lichidă după nucleație? Sau care poate fi poziția ideală într-un reactor izocoric pentru a așeza material biologic în vederea conservării acestuia în condiții de maximă siguranță? Sau cum putem să utilizăm declanșatori ai nucleației în vederea propagării cristalelor de gheață în jurul acestora iar lista poate să continue.
- Implicarea activă la studii experimentale: de la procedurile efective, utilizarea echipamentelor, parametrizarea și controlul lor, până la culegerea datelor, interpretarea lor,

redactarea articolelor cât și recenziile acestora. Activitatea a fost realizată împreună cu echipa de cercetare din cadrul laboratorului de instalații frigorifice, cu scopul de a dezvolta tehnica de răcire la volum constant, având ca rezultat publicarea unor articole în jurnale precum: Heliyon ISSN 2405-8440, Biochemical and biophysical research communications ISSN 0006-291X, Cryobiology ISSN-0011-2240, Bioengineering ISSN 2306-5354.

- Am fost implicat într-un număr de 8 articolele publicate până în acest moment, iar datele de indentificare și link-urile se regăsesc în lista următoare:

- 1 Câmpean, Ș.I., Beșchea, G.A., Tăbăcaru, M.B. et al. Revealing isochoric water nucleation: a visual study. *Sci Rep* 14, 10086 (2024).
<https://doi.org/10.1038/s41598-024-61053-y>
- 2 Ștefan I. Câmpean et al., "Liquid–solid equilibria and supercooling of Custodiol® in isochoric thermodynamic systems at subfreezing temperatures," *Physics of Fluids*, vol. 35, no. 10, Oct. 2023, <https://doi.org/10.1063/5.0169216>
- 3 G. Năstase et al., "Isochoric Supercooling Organ Preservation System," *Bioengineering*, vol. 10, no. 8, Aug. 2023,
<https://doi.org/10.3390/bioengineering10080934>
- 4 Ștefan I. Câmpean et al., "Preservation of black grapes by isochoric freezing," *Heliyon*, vol. 9, no. 7, p. e17740, Jul. 2023,
<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e17740>.
- 5 G. A. Beșchea et al., "Temperature–pressure correlations of cryoprotective additives for the design of constant volume cryopreservation protocols," *Cryobiology*, no. July, 2022, <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2022.08.001>.
- 6 Beschea GA , Campean SI , Tabacaru MB , Vutoiu BG , Serban A , Nastase G . A state of the art review of isochoric cryopreservation and cryoprotectants. *Cryo Letters*. 2022 Jul-Aug;43(4):189-199. PMID: 36626122.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36626122/>
- 7 G.-A. Beșchea, Ștefan-I. Câmpean, M.-B. Tăbăcaru, A. Șerban, B. Rubinsky, and G. Năstase, "Glucose and glycerol temperature–pressure correlations for the design of cryopreservation protocols in an isochoric system at subfreezing temperature," *Biochem Biophys Res Commun*, vol. 559, pp. 42–47, 2021, doi:
<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2021.04.084>.
- 8 G A Beșchea¹, Ș I Câmpean¹, L M Scutaru², L Costiuc² and A Șerban³, „Freezing water simulations in isochoric systems – preliminary analysis”
<https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1757-899X/1138/1/012003>
- 9 S. I. Câmpean, G. A. Beschea, A. Serban, M. J. Powell-Palm, B. Rubinsky, and G. Năstase, "Analysis of the relative supercooling enhancement of two emerging supercooling techniques," *AIP Adv*, vol. 11, no. 5, May 2021,
<https://doi.org/10.1063/5.0051662>.

Ca propunere pe mai departe în ceea ce priveşte direcţia de studiu după experienţa acumulată în urma elaborării acestei documentări consider relevante următoarele aspecte:

- Conducerea unui experiment de vizualizare la microscop a fenomenului de nucleaţie şi cristalizare izocoră până la punctul triplu al apei, utilizând acelaşi dispozitiv creat special pentru vizualizare şi apoi fenomenul invers de topire lentă după atingerea echilibrului termodinamic
- Urmărirea unei părţi de material biologic aşezat în camera izocoră şi vizualizarea acestuia pe parcursul îngheţului izocor.
- Utilizarea unei substanţe pe post de declanşator de nucleaţie pentru studiul vizual al comportamentului şi dinamicii într-un astfel de context
- Utilizarea unor amestecuri de substanţe crioprezervante în loc de apă şi studierea vizuală la microscop a comportamentului acestora parcurgând acelaşi protocol experimental utilizat la studiul profilelor termodinamice
- Utilizarea şi compararea celor 3 volume variabile ale incintei izocore şi compararea dinamicii cristalelor de gheaţă în funcţie de volumul intern şi de forma camerei izocore.

În încheiere, putem spune că studiile experimentale prezentate în această lucrare au generat informaţii relevante despre fenomenul de nucleaţie în izocor cu privire la comportamentul de nucleaţie aleatorie, demonstrarea stabilităţii stării metastabile de suprarăcire a apei prin intermediul tehnicii de restricţionare a volumului în comparaţie cu o altă tehnică care a separat interfaţa aer - apă prin intermediul unei pelicule de ulei sintetic, care a avut o performanţă bună, comparabilă cu izocorul, în ceea ce priveşte scăderea punctului temperaturii de nucleaţie sau primele imagini din interiorul unui reactor izocor, materiale foto şi video cu declanşarea nucleaţiei, formarea cristalelor de gheaţă şi apoi fenomenul invers de topire şi dinamica conţinutului îngheţat din interior. Şi ultimul dar nu cel din urmă studiul care a generat date termodinamice despre Custodiol, o substanţă crioprotectante utilizată în medicina de transplant, în condiţii izocorice, obţinerea de date precum: temperatura de nucleaţie sau comportamentul în stare metastabilă de subrăcire.

Aceste noutăţi sunt unice şi foarte valoroase pentru explorarea viitoare a domeniului. Utilizând atât conceputul dispozitivului de vizualizare cât şi informaţii cu privire la dinamica nucleaţiei s-au mai adăugat piese în acest mare ansamblu de proprietăţi privind aprofundarea acestei teme.

12. LISTA FIGURILOR ŞI A TABELELOR

Figura 1 - Maşina de gheaţă patentată de dr. John Gorrie 1851[3]	5
Figura 2 – Diagrama presiune-volum în regim izobar	6
Figura 3 - Diagrama Temperatura-Presiune apa	6
Figura 4 – Diagrama presiune - volum în regim izocor:.....	8

Figura 5 - Reprezentarea curbelor de echilibru între gheață I, II, III, IV, V și lichid [7]	9
Figura 6 - Diagrama de fază a apei pure. Curba dintre apa lichidă, gheață I și gheață III marchează presiunea de echilibru pe care o experimentează un sistem izocor la o anumită temperatură sub 0°C dar mai mare decât cea de punct triplu (-21,985°C) [12]	10
Figura 7 - Dispozitivul de detectare a nucleației în regim izocor (INDe). [25]	11
Figura 8 - Criomicroscop izocoric cu suprarăcire (ISCM). a – Configurația sistemului ISCM, b – secțiunea prin corpul ISCM, c – vedere de sus a dispozitivului, împreună cu un element vibrant piezoelectric, d – vedere laterală a ISCM așezat pe un difuzor cu rol perturbator, favorabil nucleației.	11
Figura 9 - Imaginile studiului comparativ dintre stabilitatea apei deionizate suprarăcite în mediul izobar și în mediul izocor preluate cu ISCM. a – Procesul de formare și creștere a gheții în mediul izobar într-un interval de 0-90 secunde. b, c – Absența cristalelor de gheață pentru condiții izocore și perturbare mecanică [19].	12
Figura 10 - Prezentarea tensiunii Von Miseses N/m ² pentru o presiune de 1231 bar sau 123.1 MPa, vedere de ansamblu.	16
Figura 11 - Prezentarea tensiunii Von Miseses N/m ² pentru o presiune de 2100 bar sau 210MPa, vedere apropiată.	17
Figura 12 - Prezentarea izotermelor pe dispozitivul de vizualizare la -22°C și 2100 bar	17
Figura 13 - Distribuția presiunilor fluidului de răcire (agent termic) în interiorul dispozitivului de vizualizare	18
Figura 14 - Vitezele de curgere și mișcarea agentului termic în interiorul dispozitivului de vizualizare.	19
Figura 15 - Reactor de mare presiune tip MS-1 V _{util} = 2 ml, vedere din față, secțiune înainte de îngheț și secțiune la temperatură sub 0°C	20
Figura 16 - Traductor de presiune ESI GD4200-USB și cablul USB tip A + mini USB și cuplajul filetat cu protecție la umezeală și apă	21
Figura 17 - Termocupla tip T pentru criogenie, complet echipată cu mufă	21
Figura 18 - Termometru digital Mastech MS6514	21
Figura 19 - Unitatea de control și răcire Lauda 1225 S	22
Figura 20- Congelatorul industrial Vestfrost V407	23
Figura 21 - Congelator criogenic tip Planner Kryo 360 3.3 MRV	23
Figura 22 - Microscop digital Easyover	24
Figura 23 - Dispozitiv de vizualizare izocorică, randare vedere cu componente explodate	25
Figura 24 - Dispozitiv izocoric de vizualizare – modelul real, cu componente sale funcționale demontate	25
Figura 25 - Secțiune dispozitiv izocoric de vizualizare	26
Figura 26 - Secțiune izometrică dispozitiv izocoric de vizualizare	26

Figura 27 - A. Cele 3 reactoare în interiorul congelatorului; B. Grafic tipic pentru toate temperaturile înregistrate; C. Graficul presiunilor, cu săgeata care indică nucleația; D. Graficul temperaturilor înregistrate pe suprafața exterioară a reactoarelor.....	28
Figura 28 – A. Temperatura de nucleație măsurată în 12 repetări pentru fiecare dintre cele trei sisteme; B. Diagramele pentru starea de suprarăcire izocoră, izobară sigilată cu ulei și izobară convențională în contact cu aerul atmosferic; C. Diagramele pentru temperaturile medii de nucleație în cele trei sisteme.....	29
Figura 29 - Graficul de temperaturi al băii de răcire pe faza de răcire de la 0°C la -25°C și pe faza de încălzire de la -25°C înapoi la 0°C ca funcție de timp.....	31
Figura 30 - Profil termodinamic (temperatură-presiune), în condiții de volum constant (izocor) pentru Custodiol cu temperatura de nucleație la pragul de -9.851°C (Experiment 4).....	32
Figura 31 - Profil termodinamic (temperatură-presiune), în condiții de volum constant (izocor) pentru Custodiol cu temperatura de nucleație la pragul de - 11.734°C (Experiment 5).....	33
Figura 32 - Valorile temperaturilor și a presiunilor în timpul răcirii pentru identificarea temperaturii de nucleație	34
Figura 33 – Temperatura de la suprafața reactoarelor izocorice pentru identificarea temperaturii de nucleație în experimentele cu apă distilată.	35
Figura 34 - Diagramele tip box pentru temperatura de nucleație a soluției Custodiol versus temperatura de nucleație a apei pure în condiții izocorice.....	35
Figura 35 - Primele 5 secunde de la debutul nucleației în izocor. Notă* - petele negre statice din prima imagine stânga sunt anomalii de pe placa lentilei microscopului [29].....	37
Figura 36 – Stadiile incipiente ale dezvoltării cristalelor de gheață, imediat după nucleație. Se pot observa primele 50 secunde [29]	38
Figura 37 - Aproape 5 minute după nucleație. Ultima poză este surprinsă cu lumina superioară, tenta albastră deoarece nu au fost prezente filtre de culoare. Punctele albe sunt reflexiile LED-urilor care luminează. [29]	38
Figura 38 - Primele 4 minute și jumătate după începutul fazei de topire [29].....	39
Figura 39 - Proces de decongelare în curs. Timpul este cuantificat din momentul în care a început procesul de topire. Pas de 15 secunde între cadre [29].	40
Figura 40 - Procesul de decongelare în etapa finală. Întregul amestec lichid-gheață din reactor este readus la starea inițială. Pas de 10 secunde primele 19 cadre , pas de 3 secunde pentru imaginea cu numărul 20, după care pas tot de 10 secunde până la final [29].....	42
Figura 41 - Fenomenul de nucleație și cristalizare a gheții până la atingerea temperaturii de echilibru termodinamic măsurată la - 11,7°C (- 13°C temperatură efectiv cerută pe baia de răcire) [29]	42



13. REFERINŢE

- [1] "F. Chiriac, Instalații frigorifice, Bucuresti: Editura didactică și pedagogică, 1981".
- [2] E. A. Gillispie, "An Examination of an Ice House at Old Town Plantation," 2012.
- [3] by Brian Roberts and C. Heritage Group, "JOHN GORRIE and his ICE MACHINE."
- [4] J. Gladstone, "John Gorrie, The Visionary," *ASHRAE J*, vol. 40, no. 12, pp. 29–35, 1998.
- [5] Remus Răduleț și colab., *Lexiconul Tehnic Român, București: Editura Tehnică 1957-1966*.
- [6] Șerban Țițeica, *Termodinamica, Editura Academiei Republicii Socialiste România, București, . 1982*.
- [7] A. Academy and A. Academy, "Water , in the Liquid and Five Solid Forms , under Pressure Author (s): P . W . Bridgman Source : Proceedings of the American Academy of Arts and Sciences , Vol . 47 , No . 13 (Jan ., Published by : American Academy of Arts & Sciences Stable URL : http," vol. 47, no. 13, pp. 441–558, 2017.
- [8] E. B. Moore and V. Molinero, "Structural transformation in supercooled water controls the crystallization rate of ice," *Nature*, vol. 479, no. 7374, pp. 506–508, 2011, doi: 10.1038/nature10586.
- [9] B. J. Murray and A. K. Bertram, "Formation and stability of cubic ice in water droplets," *Physical Chemistry Chemical Physics*, vol. 8, no. 1, pp. 186–192, 2006, doi: 10.1039/b513480c.
- [10] T. M. Gasser, A. V. Thoeny, A. D. Fortes, and T. Loerting, "Structural characterization of ice XIX as the second polymorph related to ice VI," *Nat Commun*, vol. 12, no. 1, 2021, doi: 10.1038/s41467-021-21161-z.
- [11] M. J. Powell-Palm and B. Rubinsky, "A shift from the isobaric to the isochoric thermodynamic state can reduce energy consumption and augment temperature stability in frozen food storage," *J Food Eng*, vol. 251, no. August 2018, pp. 1–10, 2019, doi: 10.1016/j.jfoodeng.2019.02.001.
- [12] M. J. Powell-Palm, A. Koh-Bell, and B. Rubinsky, "Isochoric conditions enhance stability of metastable supercooled water," *Appl Phys Lett*, vol. 116, no. 12, Mar. 2020, doi: 10.1063/1.5145334.
- [13] J. H. Topps and R. C. Elliott, "© 1965 Nature Publishing Group," *Nature Publishing Group*, vol. 205, no. 5007, pp. 498–499, 1965.

- [14] R. Chow, R. Blindt, R. Chivers, and M. Povey, "A study on the primary and secondary nucleation of ice by power ultrasound," *Ultrasonics*, vol. 43, no. 4, pp. 227–230, 2005, doi: 10.1016/j.ultras.2004.06.006.
- [15] S. A. Szobota and B. Rubinsky, "Analysis of isochoric subcooling," *Cryobiology*, vol. 53, no. 1, pp. 139–142, Aug. 2006, doi: 10.1016/j.cryobiol.2006.04.001.
- [16] L. Hawkes, "Super-cooled water [2]," *Nature*, vol. 124, no. 3119, pp. 225–226, 1929, doi: 10.1038/124225b0.
- [17] B. J. Murray, D. O'sullivan, J. D. Atkinson, and M. E. Webb, "Ice nucleation by particles immersed in supercooled cloud droplets," *Chem Soc Rev*, vol. 41, no. 19, pp. 6519–6554, 2012, doi: 10.1039/c2cs35200a.
- [18] A. N. Consiglio, D. Lilley, R. Prasher, B. Rubinsky, and M. J. Powell-Palm, "Methods to stabilize aqueous supercooling identified by use of an isochoric nucleation detection (INDe) device," *Cryobiology*, no. March, 2022, doi: 10.1016/j.cryobiol.2022.03.003.
- [19] Y. Zhao, L. Lou, C. Lyu, M. J. Powell-Palm, and B. Rubinsky, "Isochoric supercooling cryomicroscopy," *Cryobiology*, 2022, doi: 10.1016/j.cryobiol.2022.02.002.
- [20] B. Rubinsky, P. A. Perez, and M. E. Carlson, "The thermodynamic principles of isochoric cryopreservation," *Cryobiology*, vol. 50, no. 2, pp. 121–138, 2005, doi: 10.1016/j.cryobiol.2004.12.002.
- [21] P. D. Sanz, L. Otero, C. De Elvira, and J. A. Carrasco, "Freezing processes in high-pressure domains," *International Journal of Refrigeration*, vol. 20, no. 5, pp. 301–307, 1997, doi: 10.1016/S0140-7007(97)00027-3.
- [22] L. Ter Minassian, P. Pruzan, and A. Soulard, "Thermodynamic properties of water under pressure up to 5 kbar and between 28 and 120 °C. Estimations in the supercooled region down to -40 °C," *J Chem Phys*, vol. 75, no. 6, pp. 3064–3072, 1981, doi: 10.1063/1.442402.
- [23] "Proprietăților materialelor - aliaj aluminiu," <https://www.makeitfrom.com/material-properties/7075-T6-Aluminum>.
- [24] Ltd. Precision Sapphire Technologies, "Proprietăți materiale - safir."
- [25] H. Huang, M. L. Yarmush, and O. B. Usta, "Long-term deep-supercooling of large-volume water and red cell suspensions via surface sealing with immiscible liquids," *Nat Commun*, vol. 9, no. 1, p. 3201, Aug. 2018, doi: 10.1038/s41467-018-05636-0.



- [26] S. I. Câmpean, G. A. Beschea, A. Serban, M. J. Powell-Palm, B. Rubinsky, and G. Năstase, "Analysis of the relative supercooling enhancement of two emerging supercooling techniques," *AIP Adv*, vol. 11, no. 5, May 2021, doi: 10.1063/5.0051662.
- [27] Y. Zhao, L. Lou, C. Lyu, M. J. Powell-Palm, and B. Rubinsky, "Isochoric supercooling cryomicroscopy," *Cryobiology*, 2022, doi: 10.1016/j.cryobiol.2022.02.002.
- [28] M. J. Powell-Palm, B. Rubinsky, and W. Sun, "Freezing water at constant volume and under confinement," *Commun Phys*, vol. 3, no. 1, 2020, doi: 10.1038/s42005-020-0303-9.
- [29] Ştefan I. Câmpean, G. A. Beşchea, M. B. Tăbăcaru, and G. Năstase, "Revealing isochoric water nucleation: a visual study," *Sci Rep*, vol. 14, no. 1, pp. 1–12, 2024, doi: 10.1038/s41598-024-61053-y.
- [30] C. Bilbao-Sainz *et al.*, "Preservation of spinach by isochoric (constant volume) freezing," *Int J Food Sci Technol*, vol. 55, no. 5, pp. 2141–2151, 2020, doi: 10.1111/ijfs.14463.
- [31] B. R. Chenang Lyu, Gabriel Nastase, Gideon Ukpai, Alexandru Serban, "A comparison of freezing-damage during isochoric and isobaric freezing of the potato," *PeerJ*, 2017, doi: 10.7717/peerj.3322.
- [32] R. Dhanya, A. Panoth, and N. Venkatachalapathy, "A comprehensive review on isochoric freezing: a recent technology for preservation of food and non-food items," *Sustainable Food Technology*, vol. 2, no. 1, pp. 9–18, 2023, doi: 10.1039/d3fb00146f.
- [33] C. Bilbao-Sainz *et al.*, "Preservation of grape tomato by isochoric freezing," *Food Research International*, vol. 143, no. February, p. 110228, 2021, doi: 10.1016/j.foodres.2021.110228.
- [34] Y. You, T. Kang, and S. Jun, "Control of Ice Nucleation for Subzero Food Preservation," *Food Engineering Reviews*, vol. 13, no. 1. Springer, pp. 15–35, Mar. 01, 2021. doi: 10.1007/s12393-020-09211-6.
- [35] T. G. Rinwi, J. Ma, and D.-W. Sun, "Effects of isochoric freezing on myofibrillar protein conformational structures of chicken breasts," *LWT*, vol. 181, p. 114768, May 2023, doi: 10.1016/j.lwt.2023.114768.
- [36] Ştefan I. Câmpean *et al.*, "Preservation of black grapes by isochoric freezing," *Heliyon*, vol. 9, no. 7, p. e17740, Jul. 2023, doi: 10.1016/j.heliyon.2023.e17740.
- [37] C. Bilbao-Sainz *et al.*, "Preservation of sweet cherry by isochoric (constant volume) freezing," *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, vol. 52, pp. 108–115, Mar. 2019, doi: 10.1016/j.ifset.2018.10.016.
- [38] D. F. Bridges *et al.*, "Viability of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella Typhimurium* after isochoric freezing," *J Food Saf*, vol. 40, no. 5, pp. 1–8, 2020, doi: 10.1111/jfs.12840.



- [39] M. J. Powell-Palm, J. Preciado, C. Lyu, and B. Rubinsky, "Escherichia coli viability in an isochoric system at subfreezing temperatures," *Cryobiology*, vol. 85, pp. 17–24, Dec. 2018, doi: 10.1016/j.cryobiol.2018.10.262.
- [40] H. Mikus, A. Miller, G. Nastase, A. Serban, M. Shapira, and B. Rubinsky, "The nematode *Caenorhabditis elegans* survives subfreezing temperatures in an isochoric system," *Biochem Biophys Res Commun*, vol. 477, no. 3, pp. 401–405, 2016, doi: 10.1016/j.bbrc.2016.06.089.
- [41] G. Năstase, C. Lyu, G. Ukpai, A. Şerban, and B. Rubinsky, "Isochoric and isobaric freezing of fish muscle," *Biochem Biophys Res Commun*, vol. 485, no. 2, pp. 279–283, Apr. 2017, doi: 10.1016/j.bbrc.2017.02.091.
- [42] C. Bilbao-Sainz *et al.*, "Preservation of Tilapia (*Oreochromis aureus*) Fillet by Isochoric (Constant Volume) Freezing," *Journal of Aquatic Food Product Technology*, vol. 29, no. 7, pp. 1–12, 2020, doi: 10.1080/10498850.2020.1785602.
- [43] M. Powell-Palm, J. V. Charwat, B. Charrez, B. Siemons, E. K. Healy, and B. Rubinsky, "Isochoric supercooled preservation and revival of human cardiac microtissues," *Commun Biol*, vol. 4, p. 1118(2021), 2021.
- [44] L. Wan *et al.*, "Preservation of rat hearts in subfreezing temperature isochoric conditions to – 8 °C and 78 MPa," *Biochem Biophys Res Commun*, vol. 496, no. 3, pp. 852–857, Feb. 2018, doi: 10.1016/j.bbrc.2018.01.140.
- [45] G. Năstase *et al.*, "Isochoric Supercooling Organ Preservation System," *Bioengineering*, vol. 10, no. 8, Aug. 2023, doi: 10.3390/bioengineering10080934.
- [46] M. J. Powell-Palm *et al.*, "Cryopreservation and revival of Hawaiian stony corals using isochoric vitrification," *Nat Commun*, vol. 14, no. 1, p. 4859, Aug. 2023, doi: 10.1038/s41467-023-40500-w.
- [47] G. A. Beşchea *et al.*, "Temperature–pressure correlations of cryoprotective additives for the design of constant volume cryopreservation protocols," *Cryobiology*, no. July, 2022, doi: 10.1016/j.cryobiol.2022.08.001.
- [48] G.-A. Beşchea, Ştefan-I. Câmpean, M.-B. Tăbăcaru, A. Şerban, B. Rubinsky, and G. Năstase, "Glucose and glycerol temperature–pressure correlations for the design of cryopreservation protocols in an isochoric system at subfreezing temperature," *Biochem Biophys Res Commun*, vol. 559, pp. 42–47, 2021, doi: <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2021.04.084>.