

6. Hotra O., Firago V., Kubarko A. Determination of colour-contrast sensitivity of the retina // *Acta Physica Polonica*. – A-2014, vol. 125, № 6. – P. 1367-1370.
7. Fraz M.M., Barman S.A., Remagnino P. An approach to localize the retinal blood vessels using bit planes and centerline detection // *Computer Methods and Programs in Biomedicine*. – 2012, Vol. 108, № 2. – P. 600-616.
8. Hunter A., Lowell J., Steel D. Non-linear filtering for vascular segmentation and detection of venous beading / *Technical Report University of Durham*. – 2003.
9. Duits R., Almsick M. A. The explicit solutions of linear left-invariant second order stochastic evolution equations on the 2D-Euclidean motion group // *Quarterly of Applied Mathematics*. – 2008, Vol. 66. P. 27-67.

УСТАНОВКА ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ АКУСТИЧЕСКОЙ КАВИТАЦИИ В СУСПЕНЗИЯХ КЛЕТОК И ИМИТАТАХ БИОЛОГИЧЕСКИХ СТРУКТУР

А.В. КОТУХОВ, А.М. СКОПЦОВ, В.С. МИНЧУК, Н.В. ДЕЖКУНОВ

*УО Белорусский государственный университет информатики и радиоэлектроники
Петруся Бровки, 6, Минск, 220000, Республика Беларусь*

Аннотация. В работе предлагается усовершенствованная методика исследования кавитации и установка для ее реализации. Приведены результаты испытаний установки, обсуждаются новые результаты, полученные с ее использованием. Установлены закономерности эволюции спектральных характеристик кавитационной области при увеличении интенсивности ультразвука.

Ключевые слова: ультразвук, кавитация, сонодинамическая терапия.

Abstract. The paper proposes an improved methodology for the study of cavitation and installation for its implementation. The results of the installation tests are presented, new results obtained with its use are discussed. The regularities of the evolution of the spectral characteristics of the cavitation region with increasing ultrasound intensity are established

Keywords: ultrasound, cavitation, sonodynamic therapy.

Введение

Кавитация представляет собой явление образования, роста, пульсаций и захлопывания микропузырьков газа под действием переменного давления [1, 2]. Этот эффект играет определяющую роль в ультразвуковой интенсификации физико-химических явлений, используемых в звукохимии [3], и различных технологических процессах.

В последние годы обнаружены новые возможности воздействия ультразвуком в кавитационном режиме на биологические структуры, например: повышение проникающей способности лекарств через мембраны клеток – сонопорация [4], подавление роста опухолевых клеток [5], усиление действия лекарств или выделение лекарств из носителей [6].

Однако закономерности развития кавитационной области изучены недостаточно, а известные в литературе данные во многих случаях противоречивы и характеризуются низкой воспроизводимостью, что сдерживает широкое внедрение передовых ультразвуковых технологий в медицине и технике. В данной работе предлагается методика исследования кавитации, основанная на одновременной регистрации нескольких кавитационных эффектов: звуколюминесценции, кавитационного шума, поглощения ультразвука, нагрева жидкости и спектров кавитационного шума. Разработана установка для реализации данной методики, приводятся результаты испытаний установки.

Установка и методика исследований

Схема установки приведена на рисунке 1. Рабочая емкость представляет собой цилиндр из нержавеющей стали диаметром 100 мм и высотой 160 мм. Через отверстие в дне емкости устанавливается излучатель ультразвуковых колебаний. В данной работе использовались высокочастотный (ВЧ - 720 кГц) фокусирующий излучатель диаметром 40 мм и низкочастотный (НЧ - 34,46 кГц) плоский излучатель диаметром 50 мм. Торец емкости, противоположный излучателю, снабжен конической крышкой с конусом вовнутрь емкости. Поверхность конуса выполнена гофрированной, что обеспечивает при закрытии емкости этой крышкой высокий уровень однородности ультразвукового поля и предотвращает образование стоячих волн. Гидрофон вмонтирован через крышку емкости таким образом, что его приемный пьезокерамический элемент диаметром 2 мм и толщиной 0,25 мм находится за фокальным пятном ВЧ излучателя на расстоянии 25 мм от него. Такая конструкция обеспечивает постоянство уровня жидкости в рабочей емкости и существенно уменьшает площадь поверхности раздела жидкость - газ. Отметим, что в большинстве известных в литературе исследований уровень жидкости не контролировался или контролировался с недостаточной точностью.

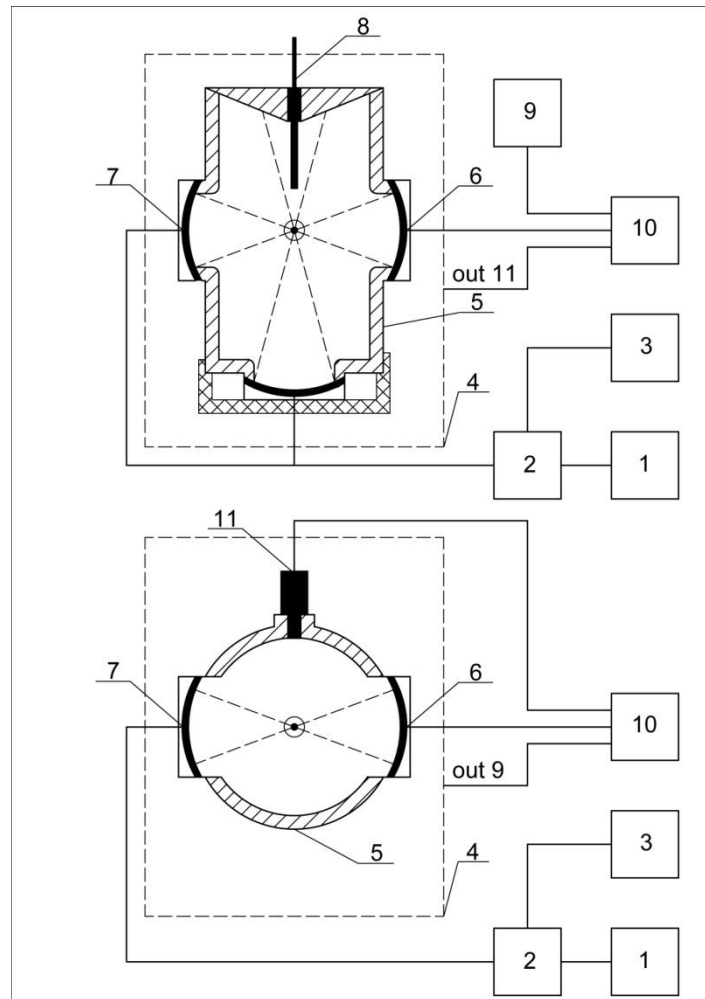


Рисунок 1. Схема экспериментальной установки

1-генератор переменного напряжения частотой f_0 , 2-генератор импульсов, 3-смеситель, 4,6, светонепроницаемый короб, 5-рабочая ёмкость, 6 – приемный пьезоэлемент, 7-излучатель, 8-гидрофон, 9-предусилитель, 10 - запоминающий осциллограф, 11- фотоумножитель

На уровне фокального пятна излучателя в боковой поверхности емкости выполнено три окна. В одном из них установлен фотоумножитель PhillipsXP1110 со световодом диаметром 20 мм, в двух других оппозитно друг другу – фокусирующие высокочастотные (980 кГц) излучатели. Вместо одного из ВЧ излучателей может быть вмонтирован НЧ излучатель и тогда возможно проведение исследований во взаимодействующих ВЧ и НЧ ультразвуковых полях.

Для питания излучателя используется управляемый компьютером генератор УЗГ-08-01 (БГУИР), оснащенный системой автоматического поддержания резонансной частоты (АПЧ).

Методика проведения экспериментов состоит в следующем. Ячейка заполняется рабочей жидкостью и отстаивается в течение двух суток. Затем жидкость дегазируется под действием ультразвука в течение двух часов. Ультразвук при этом включается на 5 минут при напряжении на излучателе 170В ($\approx 10\text{Вт/см}^2$), затем генератор отключается также на 10 минут и так далее. В момент отключения можно наблюдать всплытие больших газовых пузырей диаметром от 0,5 до 2-х миллиметров, образующихся вследствие коалесценции более мелких под действием ультразвука. Как показали эксперименты, предварительная дегазация жидкости существенно повышает воспроизводимость результатов. После дегазации емкость герметично закрывается крышкой конусом вовнутрь.

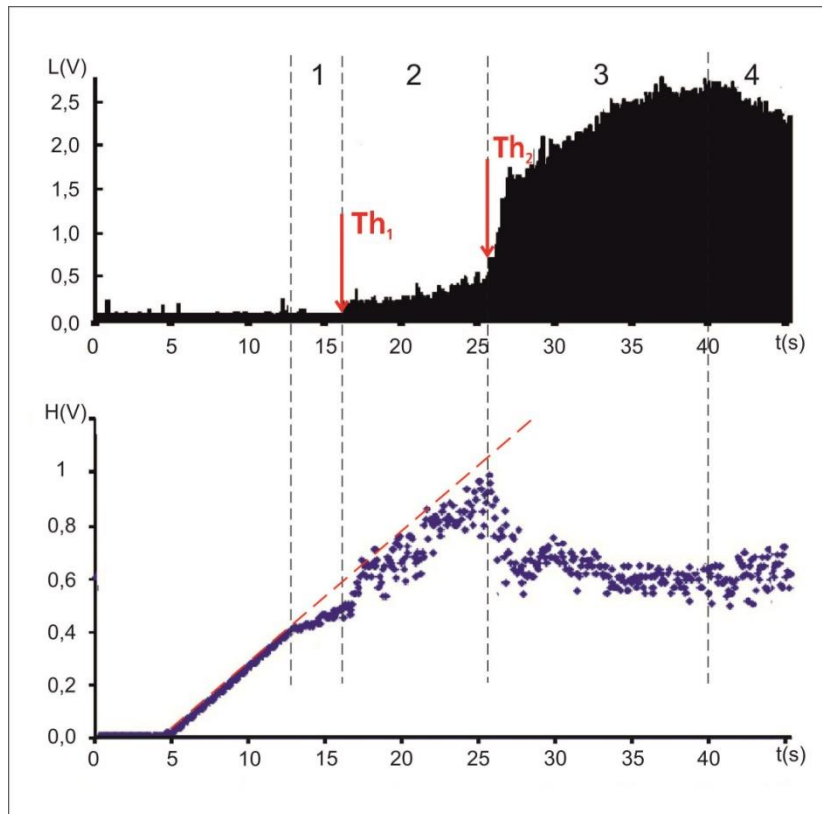


Рисунок 2. Результаты одновременной регистрации выходных сигналов фотоумножителя L и гидрофона H в импульсном фокусированном ультразвуковом поле при плавном увеличении напряжения на излучателе. Период следования импульсов ультразвука $T=100$ мс, длительность импульсов ультразвука $\square = 3$ мс. Вертикальными штриховыми линии отделены различные стадии развития кавитационной области. Скорость роста напряжения на излучателе, задаваемая программно – 7 В/с, температура жидкости – $21 \pm 1,5^\circ\text{C}$

Выходные сигналы фотоумножителя L и гидрофона H (после предварительного усиления) подаются на многоканальный цифровой осциллограф Hewlett Packard 54601A. Для записи спектров акустического сигнала, принимаемого гидрофоном, используется анализатор спектра Hewlett Packard E4411B. В состав установки входит также кавитометр ICA-4D (БГУИР, г. Минск) и блок АЦП (БГУИР, Минск), позволяющий регистрировать и обрабатывать одновременно три параметра, например, напряжение на излучателе, выходной сигнал фотоумножителя и выходной сигнал кавитометра. Потенциально число регистрируемых параметров может быть увеличено до пяти. Для обработки данных разработана программа, которая обеспечивает возможность построения в реальном масштабе времени зависимостей исследуемых параметров от времени и вычисление статистических параметров, как то: максимальное и минимальное значения, среднее значение в ходе одного эксперимента (например, если параметры поля поддерживаются постоянными), среднее по трем измерениям и среднеквадратичное отклонение от среднего.

Ниже приведены результаты испытаний установки, демонстрирующие ее возможности.

Результаты испытаний и их обсуждение

На рисунке 3 приведены результаты одновременной регистрации напряжения на излучателе U, выходного сигнала фотоумножителя L (верхняя зависимость) и выходного сигнала гидрофона H (нижний график) от времени t при плавном увеличении напряжения со скоростью 7 В/с. В докавитационном режиме выходной сигнал гидрофона H увеличивается линейно со временем. Примерно на 13-й секунде после начала эксперимента, отмечено отклонение H от первоначальной прямой в сторону уменьшения наклона зависимости $H(t)$. Сигнал с фотоумножителя регистрируется начиная примерно с 17-й секунды после включения ультразвука. Этот момент отмечен стрелкой Th1- первый порог возникновения звуколюминесценции (ЗЛ). Одновременно с возникновением ЗЛ меняется характер кривой $H(t)$, а именно: появляется значительный разброс сигнала, записываемого осциллографом. При некотором критическом значении напряжения U скорость роста интенсивности ЗЛ увеличивается скачкообразно. Этот момент отмечен стрелкой Th2 - второй по-

рог ЗЛ. Быстрый рост интенсивности ЗЛ сопровождается соответствующим быстрым падением выходного сигнала гидрофона Н.

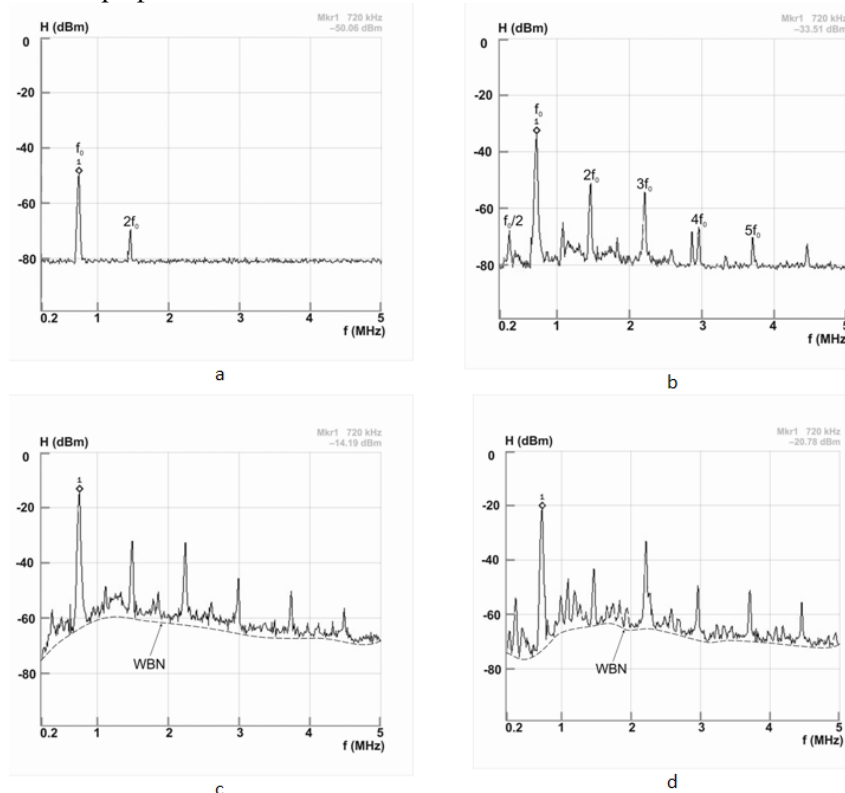


Рисунок 3. Спектры акустического сигнала для различных стадий развития кавитационной области: а - первая, б - вторая, в - третья, д – четвертая стадии развития кавитационной области. Период следования импульсов ультразвука $T=100$ мс, длительность импульсов ультразвука $\tau = 3$ мс. Температура жидкости при регистрации спектров - $21 \pm 2^\circ\text{C}$. Маркером отмечена основная частота - $f_0 = 720$ кГц, штриховой линией показан уровень широкополосного шума – WBN (wide band noise).

Полный акустический сигнал Н является результатом суммирования исходного ультразвукового поля и кавитационного шума. Стабильно пульсирующие полости и коллапсирующие пузырьки снижают акустическую прозрачность кавитационной области.

Захлопывающимися полостями генерируются ударные волны, которые могут быть причиной импульсов повышенной интенсивности – точки выше средней линии $H(t)$. После быстрого роста интенсивность ЗЛ стремится к некоторому предельному значению и затем начинает уменьшаться.

На основании приведенных выше результатов можно выделить 4 стадии развития кавитационной области в поле фокусирующего излучателя: 1 - возникновение пузырьков и их пульсации без генерирования звуколюминесценции; 2 - возникновение свечения и медленный рост интенсивности ЗЛ при слабом увеличении поглощения ультразвука; 3 - быстрый рост интенсивности ЗЛ, сопровождающийся быстрым ростом увеличения поглощения ультразвука в кавитационной области; 4 - состояние насыщения кавитационной области пузырьками. На рисунке 2 эти стадии отделены вертикальными штриховыми линиями.

На рисунке 3 приведены результаты регистрации эволюции спектров кавитационного шума при увеличении интенсивности ультразвука. При интенсивности ультразвука ниже порога кавитации в спектре представлена только основная частота f_0 (рисунок 3а). Первые гармоники $2f_0$, $3f_0$, и $4f_0$ появляются до возникновения ЗЛ (рис. 3б, 3в), т.е. на первой стадии развития кавитационной области. Низкая интенсивность первых гармоник и отсутствие в спектре более высоких гармоник позволяет считать, что объёмная концентрация пузырьков в фокальной области излучателя при этом незначительна и что характер их пульсаций мало отличается от линейных.

Появление в спектре акустического сигнала гармоник $3f_0$, $4f_0$ и более высоких (рис. 3г) связано, по-видимому, с возникновением нелинейно пульсирующих полостей и существенным

увеличением их объемной концентрации. Этот режим соответствует первой стадии развития кавитационной области, когда импульсы ЗЛ еще не регистрируются.

При дальнейшем увеличении Одновременно регистрируются отдельные импульсы звуколюминесценции и появляются первые признаки непрерывной составляющей, частоты $f_0/2$ (субгармоника), а также частоты $nf_0/2$, где $n=2, 3, 4$ и т.д. Одновременно возникает также и звуколюминесценция. Увеличение интенсивности ультразвука приводит к дальнейшему расширению спектра в сторону высокочастотных составляющих возникновению широкополосного шума и повышению интенсивности ЗЛ.

Третья стадия характеризуется быстрым ростом интенсивности высокочастотных гармоник и широкополосной составляющей (рис. 3с). В режиме, соответствующем максимуму интенсивности ЗЛ достигается также и максимальное значение непрерывной составляющей кавитационного шума. Из представленных выше данных следует, что спектральные характеристики кавитационного шума кардинально различаются для каждой из упомянутых выше стадий развития кавитационной области.

Заключение

Предложена усовершенствованная методика исследования кавитации и установка для ее реализации.

Новизна заключается в том, что одновременно регистрируется несколько кавитационных эффектов. Это, в частности, звуколюминесценция, кавитационный шум, поглощение звука в кавитационной области, спектры кавитационного шума. Создана установка для реализации данной методики. Одновременная регистрация нескольких параметров позволяет повысить достоверность выводов о корреляции различных явлений, вызываемых кавитацией, а также существенно расширяет возможности экспериментального исследования динамики генерирования кавитационной области и механизмов генерирования кавитационных эффектов, том числе в суспензиях клеток и биологических структурах.

Приведены результаты испытаний установки, обсуждаются новые результаты, полученные с ее использованием. В частности, выделено четыре стадии развития кавитационной области, различающиеся характером зависимостей регистрировавшихся величин от приложенного к излучателю напряжения. Установлены спектральные признаки кавитационного шума, характерные для каждой из стадий развития кавитационной области. Показано, что характер эволюции активности кавитации во времени при нагреве жидкости различается для различных точек поля: в точках, соответствующих максимуму давления стоячей компоненты волны, активность кавитации уменьшается при нагреве жидкости, а в точках, соответствующих минимальному давлению, активность кавитации вначале растет, достигает максимального значения и затем начинает уменьшаться.

Благодарности

В статье представлены результаты, полученные в ходе выполнения работ по проекту «Разработать и изготовить ультразвуковой кавитационный комплекс (УЗКК)» подпрограммы «Уникальное научное оборудование» государственной научно-технической программы «Эталонные и научные приборы». Авторы выражают благодарность сотрудникам БГУИР В.А. Колтовичу, А.Ф. Грибу и В.А. Гаврилюк за подготовку оборудования для проведения исследований и помощь при проведении измерений.

Список литературы

1. Сиротюк М. Г. Акустическая кавитация. М.: Наука, 2008. 271С.
2. Leighton T.G. Acoustic Bubble.- London.: Pergamon Press, 1995.- 650 P.
3. Маргулис М.А. Основы звукохимии.- М.: Химия, 1986.- 375 С.
4. P. Qin, L. Xu, T. Han, L.F. Du, A.C.H. Yu, Effect of non-acoustic parameters on heterogeneous sonoporation mediated by single-pulse ultrasound and microbubbles, Ultrasonics Sonochemistry, 31 (2016) 107-115.
5. P. D. Costley, C. Mc Ewan, C. Fowley, A.P. McHale, J. Atchison, N. Nomikou, J.F. Callan, Treating cancer with sonodynamic therapy: a review, Int. J. Hyperth. 31 (2) (2015) 107–117.
6. G.M. Hesham, M.M. Ana, A.H. Ghaleb, Review on Triggered Liposomal Drug Delivery with a Focus on Ultrasound, Current Cancer Drug Targets 15 (2015) 282–313.