

А.Н. Ситников, Т.С. Бакиров, В.М. Генералов,
Д.А. Мальченко, О.В. Фефелов

Измерение вязкоупругих характеристик частиц методом диэлектрофореза

НИИ аэробиологии ГНЦ ВБ «Вектор», Кольцово Новосибирской обл.

Поступила в редакцию 17.03.2003 г.

Измерены вязкоупругие характеристики биологических частиц на основе теоретического и экспериментального анализа установившихся деформационных колебаний этих частиц под действием периодического неоднородного переменного электрического поля. Разработаны электромеханическая модель частицы, а также программное обеспечение, позволяющее измерять вязкоупругие характеристики биологических частиц методом диэлектрофореза на основе предложенной электромеханической модели частицы. На примере эритроцитов крови человека с помощью компьютерной обработки видеозаписей движения и колебаний эритроцитов проведено измерение вязкоупругих характеристик биологических частиц, в результате чего получены средние для исследованной популяции эритроцитов значения коэффициентов обобщенной жесткости $c = (3,8 \pm 0,9) \cdot 10^{-5}$ Н/м и обобщенной вязкости $\eta_c = (0,9 \pm 0,2)$ Па · с. Предложенная методика может стать основой для идентификации биологических частиц.

Введение

Известно, что в атмосфере наблюдается скопление аэрозольных частиц биологического происхождения. Анализ биологического компонента атмосферного аэрозоля представляет определенный интерес. Одной из характерных особенностей биологических частиц является их высокая деформируемость по сравнению с частицами неорганической природы, что свидетельствует о существенном различии их вязкоупругих характеристик. Измерение вязкоупругих характеристик частиц представляет интерес для создания приборов, измеряющих концентрацию биологических частиц в атмосфере.

Цель нашей работы заключается в разработке электромеханической модели частицы и измерении на основе этой модели вязкоупругих характеристик частиц на примере эритроцита крови человека.

На частицу, помещенную в неоднородное электрическое поле, действует сила, называемая диэлектрофоретической, которая может быть выражена через индуцированный полем дипольный момент d или через поляризуемость частицы α_c [1]:

$$\mathbf{F} = (\mathbf{d}, \nabla) \cdot \mathbf{E} = \alpha_c \varepsilon_0 (\mathbf{E}, \nabla) \cdot \mathbf{E}, \quad (1)$$

где $\mathbf{E} = \mathbf{E}_0 \sin(\omega t)$ — значение внешнего поля; ε_0 — электрическая постоянная. Сила, действующая на частицу в гармоническом высокочастотном поле, получается в результате усреднения [1] по периоду изменения поля:

$$\langle \mathbf{F} \rangle = \frac{1}{2} \alpha_c \varepsilon_0 (\mathbf{E}_0, \nabla) \cdot \mathbf{E}_0. \quad (2)$$

Следует также заметить, что величина индуцированного дипольного момента, а следовательно, и поляризуемость частицы зависят как от электри-

ческих свойств среды, так и от свойств биологической частицы, а также от частоты переменного электрического поля.

В условиях неоднородного электрического поля, когда клетка движется в жидкости, средняя скорость поступательного движения частицы v_c определяется равенством среднего значения силы $\langle \mathbf{F} \rangle$ и силы трения $\mathbf{F}_{\text{тр}}$, с которой скорость для эллипсоидальной частицы связана формулой [2]:

$$\mathbf{F}_{\text{тр}} = 6\pi\eta_w R v_c, \quad (3)$$

где η_w — динамическая вязкость жидкости; R — эквивалентный радиус частицы для движения в направлении полуоси a :

$$R = \frac{8}{3} \frac{1}{\chi_0 + \gamma_0 a^2}, \quad (4)$$

где

$$\chi_0 = \int_0^\infty \frac{d\lambda}{D}; \quad \gamma_0 = \int_0^\infty \frac{d\lambda}{(a^2 + \lambda) D};$$

$$D = \sqrt{(a^2 + \lambda)(b^2 + \lambda)(c^2 + \lambda)},$$

a, b, c — полуоси эллипсоида.

Электромеханическая модель частицы

Электромеханическая модель биологической частицы, используемая в настоящей работе, приведена на рис. 1. В общем случае проекция биологической частицы в двумерное пространство представляет собой эллипс, при этом соотношение большой и малой полуосей может варьироваться от частицы к частице. Две пружины, расположенные под прямым углом, моделируют упругие элементы скелета частицы и учитывают жесткость мембраны.

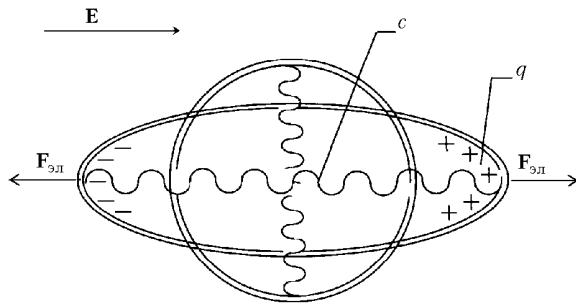


Рис. 1. Электромеханическая модель биологической частицы

Под действием электрического поля за счет перераспределения ионов внутри частицы формируется индуцированный диполь. При напряженности электрического поля $E \sim 10^5$ В/м на поляризованную таким образом частицу действует сила электрического поля $F_{эл}$, которая является причиной ее деформации. В предложенной модели оболочка частицы считается растяжимой и способной передавать напряжение на пружину, перпендикулярную направлению действия силы. А так как объем частицы в процессе колебаний изменяться не успевает, то перпендикулярные полю упругие элементы взаимосвязаны с продольными и можно, таким образом, рассматривать одномерные колебания с некой обобщенной жесткостью, куда входит жесткость как мембраны, так и всех упругих элементов, обусловленных внутренней структурой биологического объекта. Поэтому, говоря о жесткости частицы, будем подразумевать ее *обобщенный* коэффициент жесткости k , с которым частица противодействует возмущающей силе.

Методика и условия эксперимента

В качестве частицы для непосредственного измерения вязкоупругих характеристик и, следовательно, для проверки модели частицы использовались эритроциты крови человека. Измерение вязкоупругих характеристик частицы осуществляли в следующей последовательности. Измерительную ячейку устанавливали на подвижный стол микроскопа и фиксировали на нем. Микроскоп фокусировали на грань электрода в области измерительной камеры [3]. Пипеткой под покровное стекло в измерительную камеру вносилась свежеприготовленная суспензия частиц. После того как суспензия заполняла пространство измерительной камеры и приходила в состояние покоя, в ней создавалось гармоническое электрическое поле средней напряженностью $E = (1,6 \pm 0,1) \cdot 10^5$ В/м и частотой $(1,00 \pm 0,05) \cdot 10^6$ Гц, находящейся в области положительного диэлектрфореза, где эритроциты двигались к электродам. После того как эритроциты попадали в зазор между электродами, включалась модуляция напряжения в виде меандра. В результате взаимодействия с электрическим полем эритроциты деформировались, т.е. вытягивались вдоль силовых линий. Поведение эритроцитов от внесения их под покровное стекло до

оседания на электродах контролировалось и записывалось с помощью комплекса видеоаппаратуры. Полученное видеоизображение подавалось в компьютер для дальнейшей обработки с помощью оригинальной специализированной программы, которая определяет размеры, скорости поступательного движения и амплитуды деформаций отдельных наблюдаемых частиц.

Математическая модель и алгоритм расчета вязкоупругих характеристик частиц

Деформация частиц описывалась следующим дифференциальным уравнением:

$$m \frac{d^2x}{dt^2} + \mu \frac{dx}{dt} + kx = F_{эл} H\left(\frac{T}{2} - t\right), \quad (5)$$

где x — смещение полярной точки частицы; m — эффективная масса, участвующая в колебаниях; μ — обобщенный коэффициент вязкости; k — обобщенный коэффициент жесткости; H — ступенчатая функция Хевисайда. Уравнение (5) может быть написано в следующей развернутой форме:

$$m \frac{d^2x}{dt^2} + 6\pi\eta_c R \frac{dx}{dt} + kx = \frac{\alpha_c \varepsilon_0 E_0^2}{4a} H\left(\frac{T}{2} - t\right), \quad (6)$$

где η_c — обобщенная динамическая вязкость клетки; силу $F_{эл}$ можно записать в виде

$$F_{эл} = \langle qE \rangle, \quad (7)$$

где q — заряд, индуцированный на частице в переменном электрическом поле.

Для нахождения q использовался следующий алгоритм. По установившейся скорости их поступательного движения (сила диэлектрфореза уравновешивается силой сопротивления жидкости) из равенства правых частей уравнений (1) и (3) вычислялись значения поляризуемости α_c для каждого эритроцита. Затем вычислялся заряд

$$q = \frac{d}{2a} = \frac{\alpha_c \varepsilon_0 E}{2a}, \quad (8)$$

где d — дипольный момент частицы, индуцированный в переменном электрическом поле; a — большая полуось эллипсоидальной частицы. Таким образом, для выражения силы после усреднения получаем

$$F_{эл} = \frac{\alpha_c \varepsilon_0 E_0^2}{4a}. \quad (9)$$

Для силы сопротивления, испытываемой частицей, совершающей колебательное движение, применяем выражение, полученное для поступательного движения на основании малости частоты колебаний:

$$\frac{l^2 \omega \rho_w}{\eta_w} \approx 10^{-3} \ll 1 \quad (10)$$

(здесь $l \approx 10^{-5}$ м – характерный размер колеблющейся клетки; $\omega \approx 10$ рад/с – частота колебаний клетки; $\rho_w \approx 10^3$ кг/м³ – плотность жидкости), и малости числа Рейнольдса

$$\text{Re} = \frac{\omega l A \rho_w}{\eta_w} \approx 10^{-3} \ll 1, \quad (11)$$

где $A \approx 10^{-5}$ м – амплитуда колебаний клетки, при которых движение жидкости в каждый данный момент времени можно рассматривать как стационарное [4].

Решение неоднородного дифференциального уравнения (6) известно [5] и при больших вязких силах

$$\frac{6\pi\eta_c R}{2m} \ll \sqrt{\frac{k}{m}} \quad (12)$$

имеет вид

$$x = \frac{F_{\text{эл}}}{k} (1 - e^{-\alpha t}); \quad nT \leq t \leq \left(n + \frac{1}{2}\right)T; \quad (13)$$

$$x = \frac{F_{\text{эл}}}{k} (e^{\alpha T/2} - 1) e^{-\alpha t}; \quad \left(n + \frac{1}{2}\right)T < t \leq (n+1)T,$$

где

$$\alpha = \frac{k}{6\pi\eta_c R}, \quad n = 0, 1, 2, \dots$$

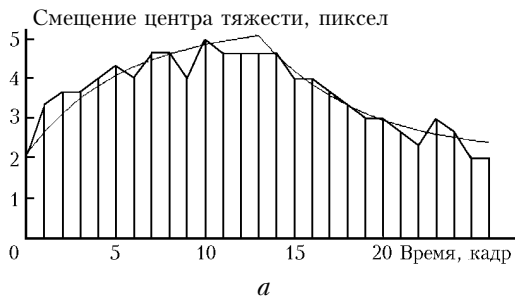


Рис. 2. Пример результата работы программы по аппроксимации экспериментальных данных и вычислению вязкоупругих характеристик: $a - \alpha_c = 7,3 \cdot 10^{-15}$ м³, $F_{\text{эл}} = 10^{-10}$ Н, $c = 3,1 \cdot 10^{-5}$ Н/м, $\eta_c = 6,8 \cdot 10^{-1}$ Па · с; $b - \alpha_c = 9,3 \cdot 10^{-15}$ м³, $F_{\text{эл}} = 1,5 \cdot 10^{-10}$ Н, $c = 4,6 \cdot 10^{-5}$ Н/м, $\eta_c = 1,3$ Па · с

Все эритроциты распознавались с помощью программы, определялись их размеры и коэффициенты поляризуемости. Затем создавался массив данных из амплитуд колебаний частиц в каждый момент времени. Полученный массив экспериментальных данных численно методом наименьших квадратов аппроксимировали теоретическими кривыми $x(t)$ (тонкая гладкая сплошная линия на рис. 2). Результатом аппроксимации являются параметры α и P , где $P = F_{\text{эл}}/c$. Зная эти параметры и силу электрического поля $F_{\text{эл}}$, с которой растягивается частица, можно рассчитать обобщенные коэффициенты вязкости и жесткости частицы.

Результаты исследований

Наблюдения за деформационными колебаниями эритроцитов показали, что в их популяции есть как хорошо деформируемые, так и слабо поддающиеся деформации частицы. Значения вязкоупругих характеристик, рассчитанные для исследованной популяции, приведены в таблице.

Результаты расчета вязкоупругих характеристик

№ эритроцита	$\alpha_c \cdot 10^{-15}$ м ³	$c \cdot 10^{-5}$ Н/м	η_c , Па · с
1	4,2	2	0,7
2	7,3	3,1	0,7
3	3,5	2,7	0,5
4	6,8	7,5	1,6
5	9,3	4,6	1,3
6	5,5	3,2	0,2
7	4,6	3,5	0,7
8	4,9	6,2	1,2
9	8,7	2,3	0,7
10	3,5	3,8	0,9
11	7,3	2,8	1,1
12	5,8	1,7	0,9
13	2,9	5,6	1,5
14	2,4	3,4	1,2
15	6,3	4,1	0,5
<i>Среднее значение</i>			
	5,5	3,8	0,9
<i>Стандартная ошибка</i>			
	1,2	0,9	0,2

Для каждого эритроцита проводилось три измерения (аппроксимация экспериментальных данных осуществлялась по трем периодам установившихся колебаний, в каждом периоде содержится 26 точек), так как после этого величина стандартной ошибки становилась сравнимой с величиной ошибки измерительных приборов и дальнейшее увеличение количества измерений не имело смысла. Таким образом, погрешность проведенных измерений определяется приборными погрешностями.

Анализ и обсуждение полученных результатов

Наблюдения за характером поведения эритроцитов в неоднородном переменном электрическом

поле, а также анализ полученных результатов показали, что в импульсном неоднородном электрическом поле эритроциты деформируются, причем степень деформации зависит от их индивидуальных вязкоупругих свойств. Следует отметить, что несомненным плюсом измерений вязкоупругих характеристик методом диэлектрофореза является сохранение жизнеспособности биологических частиц.

Полученное данным методом среднее значение обобщенного коэффициента жесткости в пределах погрешностей согласуется со значениями, приведенными для жесткости мембраны эритроцитов [6] ($\sim 10^{-6}$ Н/м). Измерение же величины коэффициента обобщенной вязкости эритроцитов в доступной нам литературе не встречалось.

Данная методика может быть основой для идентификации жизнеспособных частиц. Следует отметить, что при разрушении мембраны поляризация частицы уменьшается [7, 8]. Величина индуцированного дипольного момента в такой ситуации также резко уменьшится, что явится причиной слабого взаимодействия ее с неоднородным переменным электрическим полем. Частицы с разрушенной стенкой не притягиваются к электроду и не деформируются.

Описанная методика может стать основой для изучения взаимодействия того или иного вируса с биологической частицей, так как, проникая в частицу, вирус также нарушает целостность ее мембраны, что, надо полагать, вызовет резкое уменьшение амплитуды колебаний.

Данная методика может также быть основой разработки клинко-диагностических экспресс-методик идентификации диабета, холестириноза и других заболеваний, так как позволяет в течение 2–3 мин провести измерения средних коэффициентов жесткости и вязкости для исследуемой популяции эритроцитов.

Измерение вязкоупругих характеристик частиц может применяться и для идентификации биологических частиц, находящихся в атмосфере, с помощью высокочастотных электрических полей.

Известно, что напряженность электрических полей в атмосфере может меняться от 300 до 10^6 В/м в зависимости от погодных условий, вызывая таким образом изменение формы частиц жидкости. Известно также, что светорассеяние на частицах в дисперсных средах непосредственным образом связано с формой рассеивающих объектов. Соответственно, изменение их формы может значительно изменять оптические характеристики среды.

A.N. Sitnikov, T.S. Bakirov, V.M. Generalov, D.A. Malchenko, O.V. Fefelov. Measurement of viscoelastic characteristics of particles by the dielectrophoresis method.

Viscoelastic characteristics of biological particles have been measured based on theoretical and experimental analysis of established deformation oscillations of these particles under the effect of the inhomogeneous alternating electromagnetic field. An electromechanical model of a particle has been developed along with software for measurement of viscoelastic characteristics of biological particles by the dielectrophoresis method based on the proposed electromechanical model. In measurements of viscoelastic characteristics, human erythrocytes were used. Measurements involving computer processing of video images of erythrocyte motion and oscillations yielded the generalized stiffness coefficient for the studied population of erythrocytes $c = (3.8 \pm 0.9) \cdot 10^{-5}$ Н/м and the generalized viscosity coefficient $\eta_c = (0.9 \pm 0.2)$ Па·с. The proposed technique can form the basis for identification of biological particles.

Заключение

Проведена работа по измерению вязкоупругих характеристик биологических частиц на основе теоретического и экспериментального анализа установившихся деформационных колебаний этих частиц под действием периодического неоднородного переменного электрического поля.

В результате:

– предложена электромеханическая модель частицы;

– разработано программное обеспечение, позволяющее измерять вязкоупругие характеристики биологических частиц методом диэлектрофореза;

– проведено измерение вязкоупругих характеристик биологических частиц на примере эритроцитов крови человека с помощью обработки видеоизображений движения и колебаний частицы;

– получено среднее для исследованной популяции эритроцитов значение величины коэффициента обобщенной жесткости, согласующееся с величинами, полученными другими авторами на основе иных методик;

– получено среднее для исследованной популяции эритроцитов значение величины коэффициента обобщенной вязкости.

Работа проведена при поддержке гранта МНТЦ # 1802.

1. Пастушенко В.Ф., Кузьмин П.И., Чизмаджев Ю.А. Диэлектрофорез и электровращение клеток: Единая теория для сферически симметричных клеток с произвольной структурой мембраны // Биологические мембраны. 1988. Т. 5. № 1. С. 65–78.
2. Ламб Г. Гидродинамика. М.; Л.: ГИТТЛ, 1947. 928 с.
3. Фефелов О.В., Бакиров Т.С., Генералов В.М., Сафатов А.С. Двухчастотный метод измерения коэффициента поляризуемости клеток // Оптика атмосф. и океана. 2002. Т. 15. № 5–6. С. 537–540.
4. Ландау Л.Д., Лифшиц Е.М. Теоретическая физика. Т. 6: Гидродинамика. М.: Наука, 1986. 736 с.
5. Пановко Я.Г. Введение в теорию механических колебаний. М.: Наука, 1991. 256 с.
6. Ивэнс И., Скейлак Р. Механика и термодинамика биологических мембран. М.: Мир, 1983. 304 с.
7. Бакиров Т.С., Чепурнов А.А., Тюнников Г.И., Генералов В.М. Исследование изменений электрических характеристик эритроцитов гуся при адсорбции вируса краснухи // Биотехнология. 1997. № 4. С. 47–54.
8. Генералов В.М., Бакиров Т.С., Дурыманов А.Г. и др. Исследование вирус-клеточного взаимодействия методом диэлектрофореза // Докл. РАН. 2002. Т. 383. № 2. С. 256–259.