

生物膜材料张力形变干涉相移法的分析

米红林, 瞿志豪

(上海应用技术学院机械与自动化工程学院, 上海 200235)

[摘要] 细胞培养基底膜(硅胶膜)在应变量为 1%、10%、20%、25% 伸张状态下,应用相移影栅云纹法,分别得到了 4 种伸张状态下硅胶膜上的全场位移分布,并进行了培养膜三维形貌重建.结果表明相移影栅云纹法适用于大变形的培养膜的形变测量,经过图像处理能够实现物体形貌的自动化和数字化测量要求.为进一步的硅胶膜全场应变测试提供数据支持.

[关键词] 影栅云纹法, 硅胶膜, 相移法

[中图分类号] O 348.12 TH 744.1 [文献标识码] A [文章编号] 1001-4616(2009)03-0042-05

Stretching Deformation Analysis of Biology Membrane Material by Interferometry Phase-shift Method

Mi Honglin, Qu Zhaohao

(School of Mechanical and Automation Engineering, Shanghai Institute of Technology, Shanghai 200235, China)

Abstract In order to determine out-plane displacements and three-dimensional profiles of culture membrane subjected to 1%, 10%, 20% and 25% strains, the shadow-moiré method with phase-shift is applied in this experiment and interferometry patterns having contained the whole fields out-plane displacement information of culture membrane are obtained successfully. Then, using four phase maps, three-dimensional profile of culture membrane due to stretch can be reconstructed. The results indicate that shadow-moiré method with phase-shift is adapt to measure large deformation of membrane material. Strains of the whole fields for culture membrane can be determined according to the data collecting from this experiment and it will be studied in the following research work.

Key words shadow moiré method, silastic membrane, phase-shift

细胞力学是现代生物力学发展的前沿领域,其研究的基础和关键是细胞的加载技术.人体细胞的大小在十几到几十个微米之间,细胞膜的厚度仅有几个纳米到几十个纳米,常规的宏观力学加载方法和实验技术无法直接使用.因此,体外分离细胞和建立合适的加载培养模型是细胞力学面临的首要问题.经过多年改进和发展,已研制出多种体外培养细胞的加力装置.大致可分为离心力加载、流体加载、单细胞加载、压力传导加载和基底形变加载装置.

其中基底形变加载以弹性膜作为基底材料,通过机械接触引起弹性底面的形变,使附着于该底面的细胞受到牵张力,并可附加一些调节加力周期的凸轮装置.这种加载装置方式较为合适,不限制实验周期,是目前一种较为理想的实验装置^[1].本文将球冠加载于弹性培养膜上,在弹性培养膜伸张应变分别为 1%、10%、20%、25% 4 种状态下,利用相移影栅云纹法分别得到了 4 种状态下全场的位移场,为观察培养膜细胞的实际拉伸状态提供了依据,并为培养膜进一步的应变测量提供数据.

1 影栅云纹法实验原理

利用栅线和栅线本身的投影相重叠所得到的云纹条纹,称之为影像云纹.从栅线的方向看去,可以看

收稿日期: 2008-09-16

基金项目: 上海市教育委员会一般项目(0602028)资助项目.

通讯联系人: 米红林, 副教授, 博士, 研究方向: 实验固体力学及图像信息处理. E-mail: mihonglin@sit.edu.cn

到被测物体的三维形貌等高线. 这是典型的光学无损检测方法, 可广泛应用于制造业、医学、电子等行业. 其原理如下:

在曲面物体表面前方放置一块参考栅, 利用点光源发出的光照射这块栅板, 产生的平行相间的栅线投影到被测物体表面上, 形成变形栅. 从 CCD 中实时观察曲面, 这个变形栅与被测物体表面前方的参考栅相互干涉, 形成云纹条纹. 该条纹反映的是曲面上各点离开参考栅的相对距离, 所有离开栅线距离相等的点落在同一级条纹上, 形成等高线. 图 1 所示光场的离面位移计算公式为^[24]

$$W = \frac{Nwp}{\tan \theta} \tag{1}$$

(1) 式中 θ 是照射角, p 是参考栅的栅线距, N_w 为影栅云纹条纹级数, 代表了曲面与基准栅板平面的垂直距离 W (如图 1 所示) 的等高线, 连续相邻 2 条条纹的高度差相同, 即

$$W = W_{N+1} - W_N = W_N - W_{N-1} = \frac{N_N p}{\tan \theta} - \frac{N_{N-1} p}{\tan \theta} = \frac{p}{\tan \theta} \tag{2}$$

因此, 影栅云纹法测量精度与栅距 p 和照射角 θ 相关, 由 (2) 式可见减小 p 或增大 θ 都可以提高测量的灵敏度. 本实验中 2 条条纹间的高度差为 W 为 0.75mm.

从式 (1) 可见, 由于只能对条纹的整数级进行判别, 故该技术只能对整数级条纹进行计算, 即 $n = 0, 1, 2, \dots$, 而对于非整数级条纹的值只能通过插值的方式得到, 这样必然带来精度上的误差. 所以, 引入相移技术来解决这个难题. 相移就是在一定的时间序列上采集位相有规律变换的几幅图像, 进行相位计算, 并最终得到位移值的方法. 通常采用四步相移法, 而四步相移又可以分成等四步相移算法 (相位的变化量可以是任意相等的常数) 和定四步相移算法 (相位的变化量可以是 $\pi/2$). 本实验采用的均为等四步相移算法, 只要相移变化量相等即可, 这给实验带来了方便.

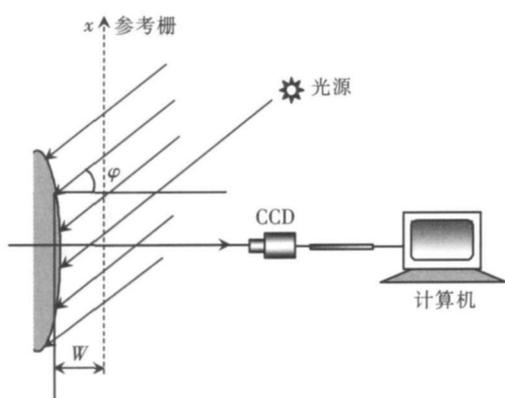
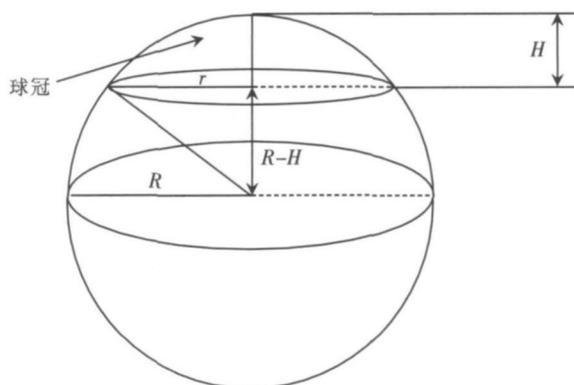


图 1 影像云纹法原理图

Fig.1 Schematic diagram of shadow moiré



R 、球半径, r 、球冠底面半径, H 、球冠高度

图 2 球冠示意图

Fig.2 Spherical coronal sketch

2 理论计算

加载采用圆形基底形变法, 该方法是将球冠形顶板顶压弹性底细胞培养皿, 使培养皿弹性硅橡胶膜发生拉伸变形, 从而使附着生长于弹性硅橡胶膜上的细胞受到机械拉伸应变作用, 实现对细胞加载机械应变. 通过改变球冠形顶板的凸度即可对细胞加载不同大小的机械拉伸应变, 图 2 为球冠示意图. 弹性硅橡胶膜上细胞所受拉伸应变大小及相应的球冠形顶板的尺寸可由下面式 (3) 给出^[5,6]:

$$\epsilon = \frac{\text{球冠表面积} - \text{球冠底面积}}{\text{球冠底面积}} = \frac{(2RH - r^2)}{r^2} = \frac{(2RH - r^2)}{r^2} \tag{3}$$

式中: ϵ 为拉伸应变, R 为球半径, H 为球冠高度, r 为球冠底面半径. 由图 2 所示有

$$R^2 = r^2 + (R - H)^2, \text{ 即 } 2RH - r^2 = H^2 \tag{4}$$

将式 (4) 代入式 (3) 可得:

$$\epsilon = \frac{H^2}{r^2} \tag{5}$$

根据弹性底培养皿底面尺寸 (半径为 30 mm), 取球冠底面半径 r 值为 28 mm, 根据 (5) 式, 取不同的球冠高度 H 值即可得到不同的应变大小. 又根据式 (4) 即可得球半径 R 值.

根据上述原理, 计算得出了一系列球冠形顶板的尺寸, 可对细胞加载 1% ~ 25% 的拉伸应变. 图 3 是按表 1 尺寸加工的加载球冠.

表 1 球冠形顶板尺寸列表

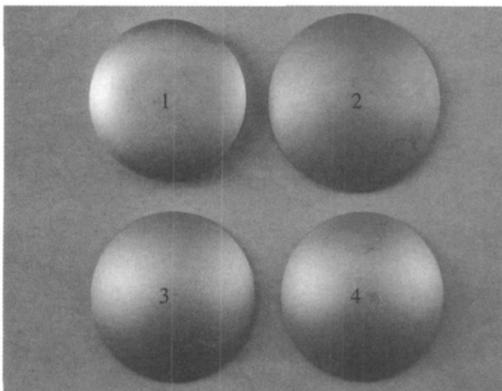
Table 1 Dimensions of spherical coronas used for bading

应变	球冠底半径 /mm	球半径 /mm	球冠高度 /mm
1%	28 00	141 40	2 80
10%	28 00	48 70	8 85
20%	28 00	37 57	12 52
25%	28 00	35 00	14 00

3 实验

3.1 实验描述

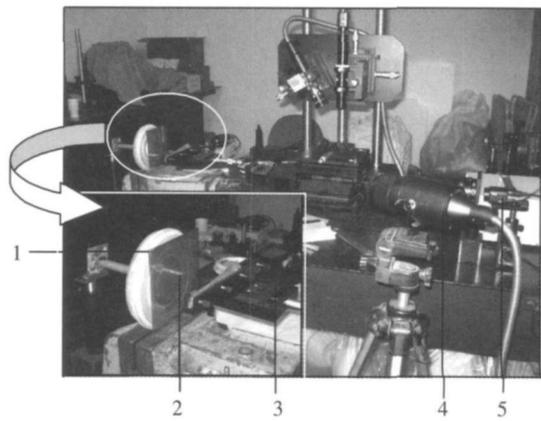
采用图 1 测试系统进行实验, 弹性硅橡胶膜 (采用美国道康宁公司医用硅橡胶 Q7-4750 模压成圆形薄膜, 直径为 100 mm, 厚度为 150~160 μ m, 弹性模量 $E = 2.14 \text{ MPa}$, 泊松比 $\nu = 0.48$) 由上压圈和下压圈夹持, 旋紧锁紧螺圈使聚四氟乙烯预紧压圈将弹性硅橡胶膜绷紧, 防止弹性硅橡胶膜在细胞培养基重力作用下下沉, 这样就做成一个弹性底细胞培养皿, 然后将弹性底细胞培养皿牢固夹在台钳上, 保证加载时不产生刚性位移. 为了保证球冠加载中心与弹性底培养皿的中心一致, 利用激光校准使加载头的中心与弹性底培养皿的中心一致, 有利于对弹性培养膜加载时产生均匀形变, 图 4 为实验现场图.



1、1%应变球冠, 2、10%应变球冠, 3、20%应变球冠, 4、25%应变球冠

图 3 实验用加载球冠

Fig.3 Spherical coronas used for loading



1、被测培养膜, 2、栅板, 3、相移平动机构, 4、点光源, 5、CCD

图 4 实验现场图

Fig.4 Experiment on spot

3.2 实验结果及讨论

检测弹性培养膜在 1%、10%、20%、25% 拉伸作用下, 弹性培养膜上表面位移的大小和分布情况, 得到其上沿弹性培养膜半径方向位移.

图 5 是利用图 1 原理在弹性培养膜产生 1% 拉伸应变下, 获得的四步相移云纹图, 该四幅图是通过平移相移机构每次步进 0.1 mm 得到的有规律的等高线图. 通过图像处理根据定四步相移算法进行位相计算 (如图 6(a) 所示) 及位相的解包裹, 将被 2 π 包裹的位相条纹解包裹展开成连续的位相 (如图 6(b) 所示). 最后根据相位与位移关系, 将相位转换成位移, 可计算出每条等高线的值 (10^{-3} mm) 以及三维形貌, 如图 7(a) 为等值线, 如图 7(b) 三维相貌. 同理, 图 8(a) (b) (c) 分别为弹性培养膜在 10%、20%、25% 拉伸作用下的三维形貌. 沿图 5 (此图是产生 1% 应变时的云纹图) 所示的水平对称轴作计算截面线, 命名为 αx 轴, 测定它上面离面位移的条纹级数 N_w , 代入 (1) 中, 这样可以计算出各点的离面位移 W 值. 按照此方法对产生 10%、20%、25% 应变的培养膜云纹图进行同样的测定, 据此做出细胞弹性培养膜沿水平对称轴 αx 上的 W 分布曲线, 如图 9 所示.

由 W 分布曲线得到产生 1% 应变时的离面高度为 2.28 mm, 此时已知球冠高为 2.80 mm; 产生 10% 应变时的离面高度为 8.32 mm, 此时已知球冠高为 8.85 mm; 产生 20% 应变时的离面高度为 12.12 mm, 此时已知球冠高为 12.52 mm; 产生 25% 应变时的离面高度为 13.52 mm, 此时已知球冠高为 14.00 mm. 所测离面高度与已知的加载球冠高度相对误差为 3.5%. 由图 9 可见, W 分布规律合理.

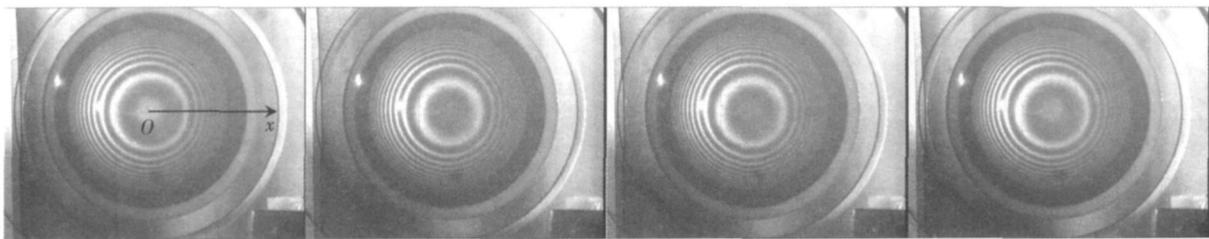


图 5 等高线四步相移图
Fig.5 Four-step phase shift patterns

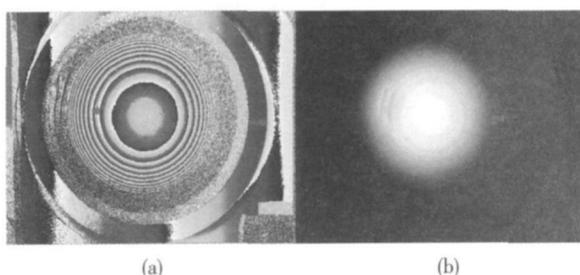


图 6 等高线位相图及相位解包裹图
Fig.6 Phase map and unwrapping map

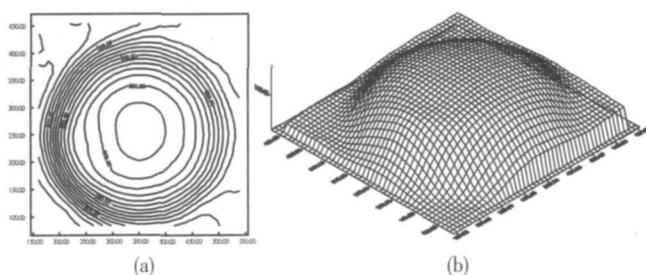


图 7 等高线平面及立体轮廓图(1%应变)
Fig.7 Plane and three-dimensional maps(1%strain)

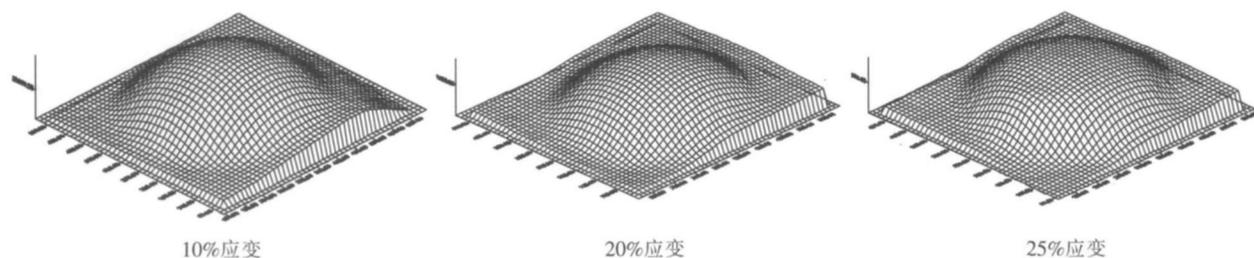


图 8 立体轮廓图
Fig.8 Three-dimensional profile maps

3.3 实验结果误差及分析

实验中的误差来源主要有: 影栅云纹光场的布置; 实验中球冠顶压弹性膜后产生回弹引起的刚性位移以及球冠顶部与弹性膜中心对中程度等. 其中影栅云纹光场布置对保证和提高精度至关重要, 因为仪器的光场布置是决定仪器精确程度前提的自然属性, 一旦光场确定, 仪器的精度就基本确定了. 本实验中, 光场采用了平行照射 - 平行观察的光场. 一般情况下, 当照射角 θ 与观察角 α 为常数且不等于 0 时, 离面位移为 $W = NP / (\tan \theta + \tan \alpha)$, 当 $\theta = \alpha = 0$ 时 (本文 $\theta = 15^\circ$, $\alpha = 0^\circ$) 有 $W = NP / \tan \theta$, 这时用相对误差项表示的 W 与 N 的关系式为^[7]

$$W = \frac{NP}{\tan \theta} (1 - \epsilon) \quad (6)$$

其相对误差为 ϵ 为精确解. 所以本文的灵敏度, 即等于光场中各级 N 的间距为 0.75 mm, 而且是 W 的等值线. 同时, RG (参考栅板) 平行移动时 (本文用平行相移机构进行), 各级 N 的移动量相等, 这也是应用相移法重建三维形貌时获得精确的相移值的理论依据. 从以上分析可以看出, 文中所采用的光路为最佳光路, 但实际上很难保证入射光与采集的 CCD 摄像机镜头绝对水平, 加之不同径高的球冠顶压后会有微小的回弹产生的刚性位移以及顶压对中问题 (文中通过激光进行了对中), 使结果产生一定误差. 4 种不同径高的球冠测得的相对误差见表 2 从表 2 可以看出, 除了 1% 应变球冠产生的误差大了一些外, 其余 3 种加

载头顶压时产生的相对误差在 6% 以内, 估计误差范围在 $4.2 \pm 1.7\%$ 之间. 这样的测量误差实际应用中是能够接受的.

表 2 实验结果相对误差

Table 2 Relative errors of experimental results

应变	已知球冠高 /mm	实测高 /mm	相对误差 /%
1%	2.80	2.28	18.6
10%	8.85	8.32	5.9
20%	12.52	12.12	3.2
25%	14.00	13.52	3.4

4 结论

本文应用 4 种不同高度的球冠对细胞培养膜进行了加载, 应用相移影栅云纹法对加载后的培养膜进行了测定, 得到了其三维形貌数值. 该方法具有实时显示、直观、操作简便等优点. 测量精度和灵敏度可以通过调换不同密度(节距)的光栅来控制.

鉴于目前应变、应力的测量都是由物体变形间接得到的, 所以, 通过本文的位移梯度, 为进一步的应变分析提供了先前数据, 所以本研究的下一步将通过位移等值线(该等值线代表离面位移)求应变, 进而求应力分布. 尽管应用有限元法可以求出培养膜应力分布^[8], 但是, 这些结果只是理想状态下的数值解, 实际培养膜在加力的过程中, 随着应变值的逐渐增大, 培养膜的材料常数弹性模量 E 与泊松比 ν 都是在不断变化的, 这一点有限元法难以仿真, 所以, 用实验做出培养膜的实际应力状态, 对了解机械加载或气动加载作用下, 细胞实际受力状态更为重要, 也是从事生物力学及实验物理科学研究工作者一直在寻找和关注的问题之一.

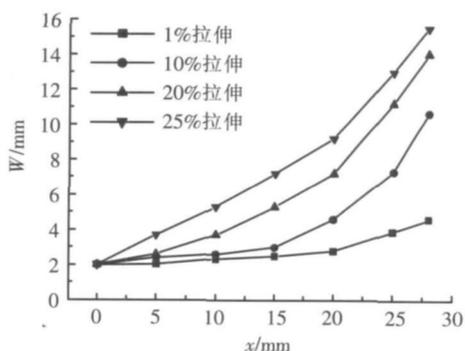


图 9 培养膜沿 ox 轴离面位移 W 的分布曲线
Fig.9 W curves of culture membrane along ox axis

致谢: 感谢上海交通大学附属第九人民医院胥春博士提供的生物材料; 感谢上海第七一一研究所陆鹏博士在技术上的支持.

[参考文献]

[1] 白灵, 樊瑜波, 张明, 等. 离体培养细胞的力学实验方法 [J]. 生物医学工程学杂志, 2002, 19(2): 324-328
 [2] 陆鹏. 应用自动相移影像云纹法测量物体的三维形貌 [J]. 柴油机, 2007, 29(2): 51-53
 [3] 云大真, 云海. 影栅云纹法中的离面位移与斜率耦合条纹的光学分析 [J]. 光学技术, 2005, 31(2): 299-301.
 [4] 杨福俊, 云大真, 于万明. 投影栅相位法三维形貌自动检测应用中的问题 [J]. 光电子激光, 2000, 11(5): 525-528
 [5] Hasegawa S, Sato S, Saito S, et al. Mechanical stretching increase the number of cultured bone cells synthesizing DNA and alters their pattern of protein synthesis [J]. Calcif Tissue Int 1985, 37(4): 431-436
 [6] Saito M, Saito S, Ngan PW, et al. Interleukin-1 beta and prostaglandin E are involved in the response of periodontal cells to mechanical stress in vivo and in vitro [J]. Am J Orthod Dentofac Orthop, 1991, 99(2): 226-240
 [7] 云海, 云大真. 形貌影栅云纹法中各光场设置比较及其误差分析 [J]. 大连理工大学学报, 2005, 45(6): 782-784
 [8] 仲维广, 胥春, 米红林, 等. 细胞应变装置中硅橡胶膜的应力分析 [J]. 医用生物力学, 2007, 22(2): 121-126

[责任编辑: 顾晓天]