

超声空化的研究方法及进展

莫润阳[†] 林书玉 王成会

(陕西师范大学物理学与信息技术学院应用声学所 西安 710068)

摘要 综述了超声空化研究的各种方法及研究进展,总结了空化研究中存在的问题,简要介绍了超声空化在基因导入方面应用的新进展。

关键词 声空化, 声化学, 超声空化场测量, 声孔效应

Methods of study on sound cavitation

MO Run-Yang LIN Shu-Yu WANG Cheng-Hui

(Applied acoustic institute, shaanxi normal university, xi'an, 710062)

Abstract A brief review is given of acoustic cavitation, including research methods and recent progress. The paper presents novel application of cavitation in gene transfer.

Key words Acoustic cavitation, Sonochemical, Ultrasonic intensity measurement, Sonoporation

1 引言

声空化(sound cavitation)是声与液体媒质相互作用而产生的一种非线性效应。声空化是指液体中的微小泡核在声波作用下被激活,表现为泡核的振荡、生长、收缩乃至崩溃等一系列动力学过程。声空化是一个极其复杂的物理现象,它是许多功率超声应用技术的一个十分重要的基础研究课题。声空化的研究包括基础研究和应用研究,有关空化的基础研究包括空化机理、空蚀、空泡流理论、空化效应和非定常空化等课题。应用研究主要在水力机械、高速涵洞、水翼、舵、水中兵器、水力钻孔和工业清洗作业中等。

自20世纪60年代至今,许多声学家和流

体力学家建立了多种数学模型,研究了多种方法去描述这一过程。近一个世纪以来,人们对它的研究兴趣与热情经久不衰。本文主要进行空化现象研究方法的综合与分析,主要包括空化效应的研究、空化声场参数的测量方法研究、空化动力学模型及空化机理、空化应用研究等方面研究方法综述和目前进展情况分析。

水槽内超声波达到一定功率时,原来存在于液体中的微气泡(空化核)将在声场的作用下振动,这些溶在水中的空气随机地形成许多大小不等的小气泡,当声压达到一定值时,一部分气泡在负压期迅速长大,在正压期又突然闭合,这就是所谓“超声空化”现象。

随着换能器输出声强(W/cm^2)的增加,液体中将逐渐产生出气泡,从宏观上看这些气

2008-03-28 收稿; 2008-06-05 定稿

作者简介:莫润阳(1968-),女,讲师,博士,主要研究方向:超声工程及超声无损检测。

林书玉(1963-),男,教授,博士,博士生导师。

王成会(1974-),女,博士在读。

[†]通讯作者:莫润阳, E-mail: mmrriyycn@snnu.edu.cn

泡在液体中上下振荡,其振幅与超声频率有关。当采用频率较低的超声时,其振幅较大,反之则小。一个定量的结论是:气泡在液体中的振幅与声源频率呈反比关系,这是从宏观上观察到气泡在液体中的振荡情况,如果放大一下气泡的尺寸,观察其自身体积的变化,则会看到气泡的体积会在液体中随着声场相位的改变发生剧烈的变化。在声场的压缩相位(负相位)内,由于气泡的半径瞬间内急剧减小,则气泡内的气体被压缩产生热量。由于此过程只发生在几个纳秒到几微秒之间,所以气泡内的热量来不及消散就将气泡内的气体加热至高达近万度的高温,并使周围的介质热解离产生相应的化学、光学效应。

声与液体媒质相互作用产生很多效应,将空化现象的诸多伴随效应归纳为四种物理效应:(1)机械效应(声冲流,冲击波,微射流);(2)热效应(局部高温高压,整体升温);(3)光效应(声致发光);(4)活化效应(水溶液中产生羟基自由基)。4种效应并非彼此孤立,例如热效应对光效应有作用,机械效应和光效应对活化效应的作用应更大。另外,其生物效应、电效应的研究也发展很快。

声空化现象本身包括核化、空化引发、空化泡动力行为及空化效应等一系列复杂的瞬变过程。目前对声空化的直接检测还是相当困难的,人们通常都是通过检测空化的各种效应(包括生物的、物理的及化学的)来实现对空化的研究,即通过研究空化引发的各种效应来研究空化过程。本文在综述空化现象各种研究方法的基础上,总结问题,推测解决的新途径。

2 影象法研究-空泡外形观察与测量

2.1 高速摄影

通常是先利用高速摄影机摄影,然后由

有经验的实验人员对胶片进行人工判读与处理。通过摄影法成像直接观察空化泡的运动、成长以至溃灭过程的监控来研究空化效应。早在上世纪60年代,国内学者就用高速照相机和米氏散射方法测量了气泡的形态变化^[1]。李彬^[2]用帧率可达1 000 000帧/秒,时间分辨率最小可达10 ns的超高速显微成像装置来对超声场中微泡动力学行为进行了观测。

利用影象法时,成像光源可以是自然光,也可借用增强的声致化学发光和以此为光源的影像法,可以自接观看和记录到声化学反应时超声空化场的整体分布情况。

2.2 声致发光成像法

声致发光现象是研究气泡状态很重要的窗口。这是由于气泡微小,泡内的温度和压强无法直接测量,声致发光现象于是就成为显示气泡内部状态的重要窗口,几年来对声致发光特征的实测和理论分析成为研究声空化的重点。

当声波强度较强时,除了线性效应之外,还有非线性效应出现。早在上世纪二三十年代,就已发现高强声波在液体中产生空泡(因液体耐压而不耐拉),在空泡内产生高温高压,因而导致发光等特殊现象,亦称“声致发光”^[3]。目前国际上普遍认为声致发光起源于气泡内的高温导致了气体电离化,并由此产生韧致辐射^[7]。

通过直接用肉眼观察或照相底板感光的方法可以了解空化场的分布情况。

迄今所实现的声致发光全都是一种极弱的光发射,利用化学冷光剂鲁米诺碱性溶液可以增强声致发光效应,使声致发光成像成为可能。也可用光电倍增管接受的方法来测量空化场的声致发光强度。E.N. Harvey首先看到了化学冷光剂鲁米诺碱性溶液在超声作用下有较明显的化学发光效应,李化茂^[4]也曾利用普通相机和胶卷拍摄到列玻璃管内鲁米

诺-碳酸钠溶液的声致发光的光像,并获得它的增强光谱,它的发射波长主要落在可见光的 400nm~700nm 之间,且呈浅蓝色,利用彩色胶卷便可感光成像。此方法既可直接用肉眼观看到超声空化场的整体分布又可照相记录下来。

丁春峰等^[5]利用声致发光成像技术动态测量液体中超声场的分布,拍摄记录了水下大功率超声换能器的近区辐射状况,但这种方法所获得数据离散度较大。由于溶液空化过程中的温升,雾化以及鲁米诺的耗损等原因,会使这种光源不稳定,曝光时间过长,所以很难从这种累计感光所成的像上做精细的分析。袁绪龙等^[6]通过水洞模型超空化实验的探索与实践,研究了空泡外形记录、测量、分析的全过程,提出了空泡形态的数字化测量、处理方法,同时根据理论研究的需要,采用椭圆拟合法进行了空泡长度和最大直径的识别,研制了空泡图像的测量和分析处理系统,实现了空泡图像测量和处理的自动化、数字化与标准化,同时也提高了空泡图像测量的精度与可信度。

小结:影像方法使超声空化过程可视化,随着摄影速度和图象测量精度的提高。空化泡运动过程、空化场的整体分布可清晰地得以观察,为更好地探寻空化机制、控制空化过程提供参考。

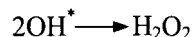
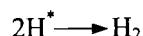
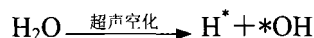
3 化学计量方法

基于声化学效应,直接显示或以最终化学产物生成率或降解率等化学反应产额为依据,间接研究反映空化场特征。主要有碘释放、电子自旋共振即 ESR 技术、TA 荧光法及电化学方法。所谓声化学,是指利用超声来加速化学反应,提高化学产率的一门新兴的交叉学科。声化学反应是通过声空化过程

进行的。声空化把声场能量集中起来,然后伴随空化泡崩溃而在极小空间内将其释放出来,使之在正常温度与压力的液体环境中产生异乎寻常的高温(高于 5000K)和高压(高于 $5 \times 10^7 \text{Pa}$)^[8],形成所谓“热点”,可以广泛开辟化学反应通道,骤增化学反应速度。

3.1 声化学效应

空化效应在液体中产生局部高温的一个直接结果是在液体中引起化学变化。由于高温分解液-气界面的介质为自由基,当空化效应消失时,自由基复合,这样便在液体媒质中引发一系列的化学反应,如果水中不饱和和溶解气体为 Ar,则:



水被分解产生出 H_2 和 H_2O_2 两种新物质。这样,通过空化效应作为中介,就使得声和物质产生了相互作用——在液态媒质中产生新的化学物质。这一现象早在上世纪 20 年代就被美国普林斯顿大学的化学家理查德发现,并将其命名为声化学效应(Sonochemical effect)。但由于大功率换能器的技术原因,直到上世纪 80 年代初声化学才开始崛起,并得到迅速发展,由此产生出声与物质相互作用的一门新兴交叉学科。

3.2 检测声空化致化学反应产额的方法

对于声化学而言,人们关心的是声空化致化学反应产额。声空化致化学产额通常采用碘释放法、荧光光谱法及电化学方法等进行检测^[9]。

3.2.1 碘释放法

含有一定溶解空气的碘化钾溶液经超声辐照后,碘离子会形成分子析出,若在溶液中加入少量淀粉,则碘遇到淀粉呈蓝色,再采用硫代硫酸钠溶液滴定,当滴定完成时,溶液恢复为无色,这样由硫代硫酸钠的消耗

量即可确定碘分子的释放量。大多数声化学研究都使用频率为 20~50kHz 的低频超声, 南京大学陈兆华等^[10]用碘释放法研究了超声的声化学产额随声强和辐照时间的变化, 得到声化学产额随声强呈非线性, 随辐照时间近似呈线性的变化规律。

3.2.2 用荧光光谱技术检测·OH---TA 荧光法

超声空化作用能使水分子裂解成 H 自由基和 OH 自由基。若采用对苯二甲酸 (TA) 溶液, 它能与 OH 结合生成羟基对苯二甲酸 (HTA), HTA 具有较强的荧光性, 故可据此通过荧光光谱分析方法来检测空化产生自由基的相对产量。

王双维等^[11]借助荧光光谱分析法, 使用 815kHz 超声波对小尺度混响场中声化学产额进行了研究。研究发现混响场中的声化学效应有两个特点: 一是声空化的阈值声强下降到约 $0.3\text{W}/\text{cm}^2$ (行波场为 $0.7\text{W}/\text{cm}^2$); 二是声强大于阈值时, 声化学产额随声强而增加, 随后 (声强约为 $1.69\sim 2.13\text{W}/\text{cm}^2$) 出现陡然上升的拐点 (行波场则趋向饱和)。理论分析表明, 阈值下降是由于混响场的声能密度增大, 声化学产额随声强变化的拐点则来自于声波辐射压力对液体表面的干扰。

3.2.3 用电化学方法检测声空化

氮气与氧气在通常情况下是不发生化学反应的, 但声空化却可使溶于水中的氮与氧发生反应而形成 NO, 进而又被氧化生成 NO_2 , NO_2 与水发生反应生成等摩尔的硝酸和亚硝酸, 从而使水的导电性发生变化, 具体表现为水的电导率增加。测出电导率的变化, 就可以间接地推知空化效应的产量^[12]。

小结: 利用声空化产生的化学效应间接了解空化场特性是目前广泛采用的方法。关于声化学的研究, 目前研究比较活跃的领域是声化学反应器及如何加速化学反应, 提高声化学产额。南京大学从实验与理论上均证明要

获得高的声化学产率, 声化学反应应在混响场中进行, 多频照射, 辐照时间控制、最优辐照频率、功率等都会影响产率。

4 超声空化场力学特性测量方法研究

4.1 基本理论

在平面波情况下, 声强与声压之间存在确定关系。若已知声媒质的特性阻抗 (ρ 、 c), 利用已知灵敏度 M 的声压水听器测量声压 p , 根据下式即可算出声强 I , 即 $I = \frac{U^2}{M^2 \rho c}$,

其中 U 为水听器的开路输出电压。为了测定声功率 W_a , 应对通过声能的面积 S 上的声强取积分: $W_a = \int_S I ds$, 这个表达式只在平面波条件下 (即测点离开声源足够远) 才成立。在复杂声场, 例如驻波场、有空化产生的声场, 瞬时声强由瞬时声压和瞬时质点振速确定, 而平均声强则由下式计算: $I = \frac{1}{T} \int_0^T p v dt$, 其

中 v 是在测点处的质点振速法向分量。利用测点处的声压值和振速矢量可以计算出该点声能流的大小及方向。

4.2 空化声场特性参数及基本测试方法

在超声技术领域, 声强或声功率的测量, 由于理论研究和应用上的需要, 一直是人们十分关注的课题。例如在超声处理工艺中, 往往需要测量声场中声强大小及其空间分布。尤其是在空化场中研究声强与换能器工作状态的关系以及超声波对被处理物体作用的机理等具有重要的理论和实际价值。

空化声场, 其声学物理量一般为时间和空间的函数, 高强超声场测量的复杂性在于空化以及一系列的物理效应。定量测量低频高强声场比较困难。前人对声场的测量方法也进行过总结, 能够用于测量大功率低频声场的方法粗略地分为两大类: 一是直接测量

声场物理量的方法, 这些物理量包括声压、声强等; 二是通过观察空化的效果间接测量低频高强超声场。直接测量方法有水听器法、热敏探头法、光纤探测法等。间接测量法有薄膜腐蚀法、染色法、谱分析法(频谱和功率谱分析法、声发射谱法)等。对声场这些参数的测量, 主要是基于其力学效应^[13]。

4.2.1 直接测量法

可测得声功率、声强、质点振速等声场参数。

(1) 辐射力法

高声强的一切应用都来自辐射压力, 非线性系数测量、超声功率测量都是直接利用辐射压力。声辐射计是液体中超声场功率测量的一种基本方法, 重点测量平面波的声功率。

(2) 水听器法

水听器利用压电效应将压力信号转化为电信号, 主要有压力水听器、矢量水听器(亦称振速水听器或声压梯度水听器); 光纤水听器(利用光信号与声压间的关系测声场强度)。

矢量水听器与声压水听器组合使用, 即可获得声能流密度(声强)等更为丰富的声场信息。

(3) 根据声功率大小来测定声场强度

从声功率的角度出发通过探头输出信号与声功率的关系, 从声能量角度来评价超声场的强度。用瓦特计法测定清洗液中得到的声功率, 同时用一个探头从清洗液中提取信号, 通过测量清洗液中的声功率与探头输出信号电压间的关系, 用数字形式来显示超声场强度^[14]。

(4) 热敏探头法

置于声场中的吸热材料(如蓖麻油、硅橡胶、聚乙烯等)的初始温升率与所受辐射声强有紧密的联系。在吸热材料中植入热电偶或热敏元件, 测出初始温升或平衡温度与介质温度之差, 再通过它们与声强之间的关

系就可计算出声场强度^[15]。

4.2.2 间接测量法

(1) 染色法

是一种测量低频高强声场的声强及其分布的方法。将纸板放入染料浓度一定的水溶液中, 在声场作用下, 染料将优先附着在声能较强处, 经过声场短时间辐射后, 在纸板上就可以得到代表声场空间分布和声强大小的染料图案。

(2) 薄膜腐蚀法

取表面平整光滑, 厚度几十微米的铝箔固定在一框架上, 其面积大小根据测量要求而定。将铝箔水平浸入装有水的超声清洗槽中并固定在某一深度, 开机一定时间后取出, 可以看到在铝箔上被腐蚀出许多小孔。用麻点计数及光学显微镜、双筒扫描电镜对表面损坏进行分析、观察, 这个方法能直观、定性地观察空化的强弱和水平方向的分布。若要观察槽中液体深度方向空化分布, 铝箔应垂直插入槽中; 要比较不同功率时某个方向的空化强度时, 应尽量保持测试条件相同, 如水深、水质、温度等。从其结果可知空化场的力学特征, 结合流体力学、材料科学及物理化学等多方面知识, 可进一步探索空蚀机理。

小结: 目前空化声场测量的难点问题在于其复杂性, 高强超声场测量的复杂性在于空化以及一系列的物理效应。

5 空化泡动力学研究的理论模型

5.1 早期模型-Rayleigh 方程

以球形溃灭假设为基础, 气泡视为绝热体系的理论模型。

虽然空化效应早在 19 世纪 70 年代就被发现了, 但由于过程的复杂性, 直到 20 世纪初英国力学家 Rayleigh 首次建立了空化效应

的动力学模型—Rayleigh 方程。由于气泡被压缩坍塌过程极短,故近似将气泡视为绝热体系。于是,空化泡的动力学过程就简化为绝热压缩过程。

Rayleigh (1917) 建立的不可压缩流中理想球形气泡的运动方程式为: $R\ddot{R} + \frac{3}{2}\dot{R}^2 = \frac{P_R - P_0}{\rho_0}$ 。利用 Rayleigh 方程进行空泡溃灭的

研究,在气泡的半径较大时,得到的结果具有一定的准确性,当空泡溃灭至很小的半径时,由于没有考虑空泡的含气量、表面张力、粘滞性、可压缩性等因素的影响,导致很多不合理的结果。

Rayleigh 方程只是描述在声场的膨胀相位内形成的空化泡压缩坍塌过程的简单模型。它不能描述空化泡的半径和声源频率的关系,不能描述空化泡在声场的膨胀相位内的形成过程,也难以描述空化泡坍塌后在液体中形成的局部高温点—“热点”(hot-spot)的温度。

Plesset、Cole、Noltingk and Neppiras、Gilmore 等对 Rayleigh 理想气泡的运动方程从不同角度进行了修正,得到了考虑不同因素的气泡运动方程^[16]。

5.2 Minneart 方程

1931 年,Minneart 建立了在溶液中固有的气泡可发生空化效应的半径和声源频率的关系即 Minneart 方程。该方程首次将声源的频率,液体的表面张力,液体的静压,空化泡的初始半径这些基本量联系在一起,为以后空化效应动力学理论的发展提供了可能。

5.3 Noltingk-Napprias 方程

由于空化气泡的溃陷时间极短,可看作绝热过程,因而空化气泡溃陷时产生高温、高压。关于空化效应温度的计算有多个理论,其中普遍被大家所接受的是 Noltingk-N

apprais “热点理论”。

上世纪 40 年代末, Noltingk-Napprias 经过一系列理想化假设:(1)液体不可压缩(2)蒸汽压力可以不计(3)气泡中的空气不便(4)气泡半径比波长小得多,在这些假设之下,可得到 Noltingk-Napprias 方程,并用于空泡溃灭的热力学过程理论分析。建立了目前被广泛认证的“热点”理论的确立。

根据 Noltingk-Napprais 方程,可以得到计算空化坍塌结束时气泡内温度 T_r 的计算公式: $T_r = T_0 \left(\frac{R_0}{R} \right)^{3(\gamma-1)}$ 其中, T_0 是液体的温度,

R_0 是空化泡的初始半径, R 是空化终止时的半径, γ 是空化泡内气体的比热容(C_p/C_v)。由于经过理想化的假设,利用此公式计算得到的“热点”温度达到 10000 K。

热点温度比较完善的一个修正公式是 Young 在 1976 年提出的。考虑到不同气体的热扩散系数不同, Young 通过一些必要的假设建立了一个物理意义明晰,但形式极其复杂的公式,描述空化终止时热点的温度。

气泡内气体温度早期研究结论最高可达 10^8K ^[17];随着近年来研究的深入,对泡内温度峰值的估计在逐渐降低,低的不足万度,高的在几万甚至几十万度量级,国内应崇福等在 2002 年左右的估计是这个温度在万度的量级^[8]。

近年来的研究同时也表明,“热点”理论并不是一个完善的理论。对于高声压,高频声场下的空化效应该理论能给予正确的描述,但对于下述的情况则难以适用。如在低声压,低频声场中和空化泡坍塌不足的情况下的空化效应^[19]。

5.4 RPNNP 方程及修正的 RPNNP 方程

Plesset 曾对流体力学空化气泡的运动过程进行研究,先后获得了改进的 Rayleigh 方程(RP 方程)和 RPNNP 方程。

考虑到液体的粘度、表面张力和溶剂的蒸气压对气泡壁运动的影响, 修正 RPNP 方程, 对气泡进行质量衡算、动量衡算并且联列求解, 许文林^[18]等建立了更为接近真实情况的超声作用于均相液体时的空化泡运动的动力学模型, 并采用 MATIAB 这一近年来比较流行的计算工具对建立的模型方程进行求解。

5.5 Margulis 的空泡放电理论

Margulis 认为^[20]: 在声场中, 破裂的小空泡从变形的大气泡分离时形成了一段暂时的细致连接, 在紧靠这一细颈处, 出现了双电荷层。在大小二气泡分离的瞬间由于液流束 $V(x)$ 每秒转移的电流记为 ie , 细颈层面上积蓄的电荷 Q 的传导电流记为 ic , 则由 ic 和 ie 造成的差异使得大小气泡分离的瞬间空泡细颈上可产生积蓄电荷。根据该模型经计算, 对于蒸馏水而言两个空化泡细颈上的积蓄 $Q \sim 8 \times 10^{-12} C$ 。这样, 小气泡内电场的强度经计算约为 $10^6 V \cdot m^{-1}$ 。而干燥空气的击穿电场为 $E_{cr} = 3 \times 10^6 V \cdot m^{-1}$ 。所以, 小空泡内电场 E_n 足以引起内部放电效应, 引起声空化效应的伴随现象, 如声致发光, 声化学反应等。如果证实泡内确实存在强电场, 将大大增强声空化的潜力。

5.6 空蚀动力的计算模型

空蚀是由空化引起的, 这一点是大家公认的。但空化泡膨胀或溃灭时和界面的相互作用如何计算, 如何测量一直都没有很好的方法解决。尤其在当界面为不同情况时: 刚性界面、弹性界面, 柔性界面。目前, 在单泡、刚性界面研究方面有了计算的简单模型。**小结:** 随着计算工具、测量技术的进步, 人们对超声作用下液体中空化泡的运动开展了大量的基础研究, 建立不同的模型, 对影响空化泡运动状态以及空化泡内温度、压力、传递特性等因素进行模拟求解, 从理论上获

得了一些非常重要的结论。但是由于空化泡运动过程的复杂性和实验条件的限制, 人们对它的认识仍不完善, 或者是建立的模型过于简化; 或者是模型方程简化后进行模拟求解, 其模拟结果与实际过程偏差较大, 难以反映过程的真实情况。从目前的研究现状看, 空化效应的完整理论还远远没有建立。用巨型计算机模拟该过程是一个很有前途的研究方向。

6 空化产生机理研究

6.1 空化核的产生-气核假说

空化核的存在是液体空化的内因, 压力场的作用是液体空化的外因, 二者同为近 10 多年来空化研究领域中最活跃的两个方面。由于液流系统中的局部低压 (低于相应温度下该液体的饱和蒸气压) 使液体蒸发而引起的微气泡 (或称气核) 爆发性生长现象。通常见到的液体都不是纯液体, 里面含有许多微粒杂质。这种微气泡的半径一般在 $20 \mu m$ 以下, 叫做气核或空化核。

严格说来, 当流速不变而压强降低 (或压强不变流速增加) 时, 流场内极小区域内偶然初次出现微小空穴的临界状态称为空化初生。判断空化初生的方法主要有以下几种:

(1) 目测法: 用肉眼观察流场内部是否有空穴发生。(2) 噪声法: 探测流场内空泡初生时发出的超声波来判断空化初生。(3) 光学法: 根据光电池接收到的通过流场的光量的减弱来判断空化初生。(4) γ 射线法: 利用水与空泡对 γ 射线的吸收能力来测量空化初生。(5) 全息摄影法: 利用激光对水中空泡形象进行摄影来分析空化初生。(6) 纹影法: 利用水加温后, 水与空泡在光源照射下不同的纹影来判断空化初生。

在水中气体和气泡保持稳定需要特殊的

条件。如果气泡太大会由于浮力作用而浮上水面,气泡太小又会由于表面张力的升高而使气体完全溶解,蒸汽完全凝结为水。因此,未溶解的气体或未凝结的蒸汽在液体中稳定地出现,需要有一定的“寄生基质”,对此 F. E. Fox 和 K. F. Herzfeld 认为微小核子不会溶解,是因为气泡被有机薄膜所包围。但关于这一假设的实验论证尚少。另一个日前较为满意地为人们接受的假设即哈维提出的稳定的气泡核子机理假说。哈维认为未溶解的气核可存在于憎水性的固体缝隙中,因为在这样的情况下,表面张力将起着减小而不是增加压力的作用,因而气体并不是被强迫溶解,而仍可能保持气相。哈维肯定微小气核有被永久困在裂隙里的可能性。

当前,液体空化机理的各种假设都存在一定缺陷。

6.2 从空泡溃灭来研究空化机理

通常认为,空化核在液体的低压区内生长,当核半径大于临界半径时,因失稳而发生空化。在正压区内空泡迅速溃灭,产生高速射流。由于射流的不断冲击而使固壁面发生空蚀,同时辐射出强烈的空化噪声。因此可以通过测量空化噪声来检测空化的发展程度,进而研究空化机理。在此方面,所有研究也不外乎理论研究、实验研究和数值分析三种方式。

直观显示空泡溃灭过程手段从上世纪 60 年代开始的电解泡、火花泡到上世纪 70 年代的激光泡,使空泡溃灭实验得到大的发展。利用激光泡可对空泡溃灭的细节及空化噪声进行精确测量,可得到空泡溃灭的射流速度。空泡溃灭经典实验是 Vogel — Lauterborn 实验。

6.2.1 空化噪声与空泡溃灭

(1) 单泡空化噪声谱

目前主要研究结论:空化噪声的高频部分,目前公认是有空化流动中的单空泡溃灭

产生的^[21]。对由单个空泡溃灭而辐射的声压,有不少数学模型可进行模拟。如:单指数模型,双指数模型,多次脉冲序列。

(2) 双空泡溃灭及噪声建模

Fujikawa^[21] 和梁柱^[22]等分别研究了不可压缩流体中两个空泡的溃灭运动规律,蒲中奇^[23]等研究了双空泡的溃灭过程,是在 lighthill 方程的基础上提出了流体中空泡辐射噪声的理论模型,并计算分析了空泡间的相互作用对空泡溃灭的影响及空泡溃灭时空化噪声的声压规律。

(3) 空化群噪声谱

把空化当做一个随机过程来处理并用统计方法推导其频谱特性的途径得到的结果依赖于空泡群的统计特性如空泡尺寸一的空间分布、溃灭时间的分布。这些分布函数非常难以得到。所以这方面的进展很小。

6.2.2 两相流方程

西方学者利用 Bisheuvel & Wijngaarden 推导的两相流方程研究了空泡群的溃灭及发声情形^[24]。其主要结论:(1)空泡群的发声频谱有空泡群的气体总含量决定。(2)发声效率由空泡群众气泡的振幅决定(3)空泡群的发声主频比单泡的小得多。

6.2.3 空泡溃灭的 Bjerkness 效应

在流体中脉动物体之间的相互作用力的现象称 Bjerkness 效应,这种作用力称 Bjerkness 力。在空泡溃灭阶段,辐射出的声压可达数十甚至数百个大气压力,从而对附近的空泡产生很大 Bjerkness 力,近而影响周围空泡的运动。

小结:空化噪声与空泡溃灭之间存在着密切关系。对空化噪声的理论分析目前均以球形溃灭假设为基础,对偏离球形不大的空泡,国内外学者做过很多研究,如 Smereka^[25]研究了空化云的非线性行为, Preston^[26]用数值方法研究了空泡运动的不稳定效应, Ceccio^[27]

研究了游移型空泡的生长和溃灭情况并测量了空化噪声, Colonius 利用 Lagrange 有限体积法研究了空化噪声。

对偏离球形很大的气泡,目前在理论上还没有很好的方法。对单空泡空化噪声,一般仅考虑它的体积脉动辐射的噪声。利用单气泡溃灭的速度表达式,可以得到空泡溃灭的发声情况。一个实际的空化区域总是含有大量的随机产生和溃灭的空化气泡,因此研究群泡的辐射噪声更有意义。这方面,有两种方法:一种是把空化当做随机过程来处理并用统计方法推倒其频谱特性;另一种是利用两相流方程研究空泡群的溃灭及发声情形。

关于空化噪声目前还有另类说法:劳特伯的实验证实,空化噪声不是气泡爆裂噪声而是“规律性”的混沌噪声,所以空化噪声也称为声湍流或声混沌^[28]。

7 空化应用研究的一个新领域——基因导入与基因治疗

这里不谈常见的诸如超声清洗、污水降解等应用,而重点介绍声孔效应(sonoporation)在基因转染与治疗中的应用及应用研究的前景。

7.1 声孔效应

在超声作用下,细胞膜可对大分子暂时开放,而后再封闭起来,在细胞暂时开放时,细胞外的大分子即可进入细胞,被细胞捕获,此现象称为声孔效应。导致声孔效应的可能原因是声空化:微气泡在声波作用下表现出“震荡”或“内爆”活性,伴随发生的微束、休克波和射流等会使其周围组织细胞壁和质膜被击穿,产生可逆或非可逆的小孔。

Greenleaf指出:声孔效应可能在基因疗法中成为基因注入的技术基础。

7.2 声穿孔法基因导入方法介绍

基因治疗被认为是许多疾病的希望。无

论是体内还是体外基因治疗,目的基因的转导和表达是治疗能否成功的关键。目前,转基因方法有近 10 种,可大致分为 3 类:一是生物方法,如农杆菌 Ti 或 Ri 质粒载体法、病毒载体法;二是化学方法如磷酸钙沉淀吸收法、多聚物介导法、脂质体载体法;三是物理方法如显微注射法、基因枪喷射法、微光束法、粒子轰击法(基因枪)、电穿孔法等。基因传递系统是基因药物的重要组成部分,也是目前基因治疗的瓶颈。病毒载体尽管效率高,但是病毒载体的安全性问题限制了它的应用。非病毒载体具有安全、易于制备等优点,将来人们更乐于选择非病毒载体。如利用高分子载体介导基因传递。但这些方法有其内在的局限性,如效率低、复杂、费用高。就病毒载体而言,虽有较高的转染率,但有引起免疫紊乱、细胞毒性和基因变异的可能。三种导入方法比较见图 1^[29]。

超声法能较好地克服转基因过程中所遇到的诸多困难而逐渐被接受。声穿孔法应用于基因转移首先报道于上世纪 90 年代中期。图 2 是 HL-60 细胞经超声扫描电镜显示的效果。

在 MC540 超声场辐照(A-D),未处理完整无缺的细胞(E),超声辐照(F)图片来自文献^[30]。高效超声基因导入方法的大体步骤为:(1)受体材料的制备;外源质粒 DNA 的制取。(2)配适宜的缓冲液(3)将外源质粒 DNA、预处理过的受体材料分别加入缓冲液中并迅速混匀(4)将超声探头置于缓冲液中,开启超声波调控各项参数(5)转导材料的培养并检查转染率。

7.3 声穿孔法基因导入的应用及目前主要研究方向

超声导入是通过声波影响细胞膜通透性而实现。一般来说,超声可提高细胞膜通透性,因而通过控制超声辐照而控制膜通透性受影响的程度,可使大片段基因转入受体细胞。故

可利用超声将目的基因片段导入受体细胞。Wyber 报告 $2.0\text{W}/\text{cm}^2$ 、 20kHz 超声辐照 30 秒使质粒进入酵母为对照的 20 倍^[31], Tata 以前列腺癌细胞为受体细胞, 发现激素敏感细胞 LnCap 和不敏感细胞 PC-3 对超声基因转染和

基因表达的反应性不同^[32], LnCap 细胞, 转化率可达 65%, 表达率也可达 20~30%, 并发现不同的猝发频率(tone-burst)时转化率不同, 频率低时高, 而连续波和高频率则未见转染, 并发现高转染率并不一定不意味着高表达率。

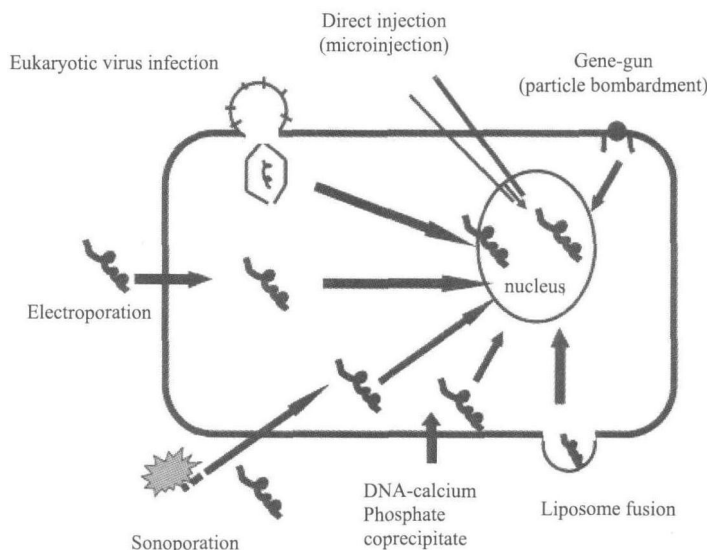


图 1 基因导入的物理方法比较

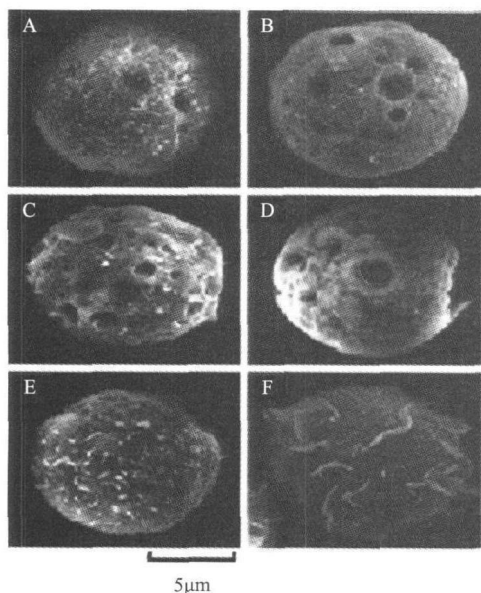


图 2 超声声孔效应的电镜显示

超声转染主要是通过空化作用损伤细胞膜而实现, 因而有学者采用人工空化 (artificial cavitation) 的方法以增强转染效率。常用的是在受辐照溶液加入声学造影剂 Albunex。Bao 的 CHO 转化实验和 Greenleaf 的软骨细胞转染实验均反映了此种现象^[33-34], 在 CHO 细胞转染实验中, 基因表达产物量可达 $0.33\text{ng}/10^6$ 细胞, 而无 Albunex 时最高仅 $3.1 \times 10^{-5}\text{ng}/10^6$ 细胞; 软骨细胞的转染率也达 43%。这进一步证实空化在超声转化中重要作用的同时, 也提供一种提高转染率的方法。

超声也可用于增强基因表达。Unger 报告超声对转染的 HeLa、NIH/3T3、C137I 细胞中的基因表达的影响^[35], 发现低强度超声可以增强转化基因的表达。有学者采用聚焦超

声升温, 提高了 HSP mRNA 在受辐照区的水平^[36], 这提示如以温度敏感的启动子作目的基因的启动子, 利用聚焦超声的热效应可控制该基因的表达, 合理的温度控制可调节基因表达的量 and 持续时间, 而随超声仪器的改进, 精确地调控温度不为难事。

1980 年 Zimmerman 等证明了 60MPa~100MPa 的高压足以击破人体细胞的细胞膜。利用共焦点显微镜和荧光光谱法, 研究人员对这个转染过程进行了可视化的实时追踪——包括将基因传递到细胞内、细胞核对基因的摄入以及基因的表达。当荧光蛋白在细胞中被表达时, 研究人员就能够知道转染已经发生了^[37]。

用超声进行基因转染和表达中, 也存在很多问题: 如连续波和非连续波的转染效率在不同报告中差异甚大, 造成这些差异的原因除目的基因和受体细胞外, 超声系统及辐照条件也是重要影响因素。由于声强表示方法和辐照剂量计量方法的多样性, 以及辐照过程中采用的透声介质、溶液组成、有无增强空化的因素存在等, 给结果比较带来困惑。Bao 报告辐照过程中试管是否旋转导致转染结果差异颇大, 他认为这是因为旋转有利于产生空化^[38]。Liu^[39]提出以声压估计超声空化, 以评价细胞膜通透性受影响的程度; Tata^[40]也提出如何衡量净受辐照能量, 这在选择辐照条件时可供参考。控制超声致细胞损伤和致细胞死亡之间的平衡, 既能使细胞膜的通透性增加以利于基因导入, 又不致因超声辐照而使细胞发生不可逆的损伤, 是保证理想转化率和表达率的前提。

超声转导的有效性和其非生物性, 使其应用于体内基因转导安全性高, 且能转化悬浮细胞和非指数生长期细胞。可考虑应用于基于造血干细胞转染的基因治疗中。

小结: 超声越来越多地应用于医学和生物学

的实践中, 分子生物学已经渗入到生命科学的各领域, 超声与分子生物学的结合日趋明显, 包括超声在分子生物学研究和实践中的应用和超声生物学效应及其应用中的分子生物学。近年, 各国学者在这方面进行了一些研究, 研究主要在下面几个方面:

(1) 声孔效应中气泡动力学研究。

(2) 不同细胞声孔效应的条件及不同功能团(如基因, 药物, 异物等)传导的最佳参数。

(3) 超声转基因机制的研究。

8 结论

超声空化过程伴随着多种物化效应, 研究的角度、方法很多。但无论是对空化效应的研究还是对空化场、空化泡的测控都很困难, 只能间接进行。就目前研究状况来说, 应用研究热火朝天, 超前于机理研究。但欲使超声在应用过程中得以精确控制, 仍依赖于对空化场测量技术和空化机理研究的发展。

参 考 文 献

- [1] 汪承灏, 张德俊. 单一空泡的电磁辐射和光辐射. 声学学报, 1964, 1(2): 59-67.
- [2] 李彬, 万明习. 基于超高速摄影显微成像和超声散射的纳米包膜造影微泡包膜厚度估计. 生物物理学报, 21(1): 71-78.
- [3] 钱梦骅, 彭若龙. 单泡声致发光现象——气泡的稳定性. 声学技术, 2003, 22(2): 130-135.
- [4] 李化茂, 冯若. 鲁米诺增强声致发光应用研究的进展与问题. 应用声学, 1998, 17(3): 37-39.
- [5] 丁春峰, 邢达. 利用声致发光成像技术的液体中超声场动态分布的实时测量方法. 声学学报, 2004, 29(5): 425-428.
- [6] 袁绪龙, 张宇文, 刘乐华. 空泡外形测量与分析方法研究. 实验力学, 2006, 21(2): 215-220.
- [7] Hilgenfeldt S., Grossmann S., Lohse D. Sonoluminescence light emission. Phys. Fluids, 1999, 11(6): 1318-1330.
- [8] 应崇福, 安宇. 声空化气泡内部的高温和高压分布. 中国科学(A 辑), 2002, 32(4): 305-314.

- [9] 冯若. 声化学基础研究中的声学问题. 理学进展, 1996, 16(3): 402-412.
- [10] 陈兆华, 朱昌平, 赵逸云, 等. 用碘释法研究低频超声的声化学产额. 声学技术, 1997, 16(4): 193-197.
- [11] 王双维, 莫喜平, 冯若, 等. 混响场中的声化学效应研究. 声学学报, 18(2): 122-128.
- [12] 莫喜平, 冯若, 周辉, 等. 超声空化的电化学检测及混响场空化效应的研究. 化学物理学报, 1994, 7(3): 287-290.
- [13] 梁召峰, 周光平, 林书玉. 大功率低频超声场测量研究进展. 声学技术, 2004, 23(1): 61-65.
- [14] 周光平, 梁召峰, 张亦慧, 等. 基于声功率的液体中大功率超声场的评价方法. 声学技术, 2005, 24(2): 110-113.
- [15] Romdhane M, Gourdon C, Casamatta G. Development of a thermoelectric sensor for ultrasonic intensity measurement. Ultrasonics, 1995, 33(2): 193-196.
- [16] 戚定满, 鲁传敬, 何友声, 等. 空泡溃灭及空化噪声研究综述. 上海力学, 1999, 20(1): 1-9.
- [17] Wu C. C., Roberts P. H.. Shock-wave propagation in a sonoluminescing gas bubble. Phys. Rev. Lett., 1993, 70(22): 3424-3427.
- [18] 许文林, 何玉芳, 王雅琼. 超声空化气泡运动方程的求解及过程模拟. 扬州大学学报, 2005, 8(1): 55-60.
- [19] 刘岩, 蔡伟民. 超声空化效应和声化学研究进展. 大自然探索, 1994, 13(1): 81-87.
- [20] 戚定满, 鲁传敬, 何友盛. 空化噪声谱特性研究. 振动与冲击, 1999, 18(3): 32-36.
- [21] Fujikawa S, Takahira H. A theoretical study on the interaction between two spherical bubbles and radiated pressure waves in liquid. Acustica, 1986, 61: 188-199.
- [22] 梁柱, 程良骏. 球泡在固液两相中的溃灭研究. 四川联合大学学报(工程科学版), 1997, 1(2): 69-73.
- [23] 蒲中奇, 张伟, 施克仁, 等. 双空泡溃灭及空化噪声的建模. 清华大学学报(自然科学版), 2005, 45(11): 1450-1453.
- [24] Biesheuvel A., Van Wingaarden L. Two-phase flow equation for a dilute dispersion of cavitation noise. J. Fluid Mech., 1984, 148: 304-318.
- [25] Smereka P., Banerjee S.. The dynamics of periodically driven bubble clouds physics of fluids. Journal of Fluid Mechanics, 1988, 31(12): 3519-3531.
- [26] Preston A.T., Colonius T., Brennen C.E.. A numerical investigation of unsteady bubbly cavitating nozzle flows. Physics of Fluids, 2002, 14(1): 300-311.
- [27] Ceccio S. L., Brennen C. E.. Observations of the dynamics and acoustic of traveling bubble cavitation. Journal of Fluid Mechanics, 1991, 233: 633-660.
- [28] 马大猷著. 现代声学理论基础. 北京: 科学出版社. 2004年3月第1版, 348-349.
- [29] Y. Lin, H. Yang, A. Sakanishi. Ultrasound: Mechanical gene transfer into plant cells by sonoporation. Biotechnology Advances, 2006, 24: 1-16.
- [30] Sophie Mehier-Humbert, Richard H. Guy. physical methods for gene transfer: improving the kinetic of gene delivery into cells. Advanced Drug Delivery Reviews. 2005, 57: 733-753.
- [31] Wyber J.A., Andrews J.D., Emanude A.. The use of sonication for the efficient delivery of plasmid DNA into cells. Pharm. Res., 1997, 14: 750-756.
- [32] Tata D.B., Dunn F., Tindall D.J.. Selective clinical ultrasound signals mediate differential gene transfection and expression in two human prostate cancer cell line: LnCap and PC-3. Biochem Biophys Commun, 1997, 234: 54-67.
- [33] Bao S., Thrall B.D., Miller D.L.. Transfection of a reporter plasmid into cultured cells by sonoporation in vitro. Ultrasound Med. Biol., 1997, 23: 953-959.
- [34] Greenleaf W. J., Bolander M. E., Sarkar G., et al. Artificial cavitation nuclei significantly enhance acoustically induced cell transfection. Ultrasound Med. Biol., 1998, 24: 587-595.
- [35] Unger E. C., McCreery T. P., Sweitzer R.H.. Ultrasound enhance gene expression of liposomal transfection. Invest Radiol, 1997, 32: 723-727.
- [36] Madio D. P., Van Geldren P., Deaspres D., et al. On the feasibility of MRI-guided focused ultrasound for local induction of gene expression. J. Magn. Reson. Imaging, 1998, 8: 101-104.
- [37] Miller M.W., Miller D.L., Brayman A.A. A review of in vitro bioeffects of inertial ultrasonic cavitation from a mechanistic perspective. Ultrasound Med. Biol., 1996, 22: 1131-1154.
- [38] Bao S., Trall B.D., Miller D.L. et al. Transfection of a reporter plasmid into cultured cells by sonoporation in vitro. Ultrasonic Med. Biol., 1997(23): 953-959.
- [39] Liu J., Lewis T.N., Prausnitz M.R.. Non-invasive assessment and control of ultrasound mediated membrane permeabilization. Pharm. Res, 1998, 15: 918-924.
- [40] 王炜, 严兰凤, 卞正中, 等. 超声基因药物传递新方法的研究与评估. 中国生物医学工程学报, 2006, 25(2): 186-191.