

KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS
ELEKTROS IR ELEKTRONIKOS FAKULTETAS

Raimondas Dubosas

MIKROBURBULŲ TĖKMĖJE CHARAKTERIZAVIMAS
ULTRAGARSO SPEKTRINE ANALIZE

Baigiamasis magistro projektas

Vadovas

Dr. Rytis Jurkonis

KAUNAS, 2016

KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS

ELEKTROS IR ELEKTRONIKOS FAKULTETAS

ELEKTRONIKOS INŽINERIJOS KATEDRA

**MIKROBURBULŲ TĖKMĖJE CHARAKTERIZAVIMAS
ULTRAGARSO SPEKTRINE ANALIZE**

Baigiamasis magistro projektas

Biomedicininė inžinerija (kodas 621H16001)

Vadovas

Dr. Rytis Jurkonis

Recenzentas

Dr. Irmantas Kupčiūnas

Projektą atliko

Raimondas Dubosas

KAUNAS, 2016



KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS

Elektros ir elektronikos fakultetas

(Fakultetas)

Raimondas Dubosas

(Studento vardas, pavardė)

Biomedicininė inžinerija (621H16001)

(Studijų programos pavadinimas, kodas)

Baigiamojo projekto „Mikroburbulų tėkmėje charakterizavimas ultragarso spektrine analize“

AKADEMINIO SAŽININGUMO DEKLARACIJA

20 16 m. birželio 3 d.
_____ Kaunas _____

Patvirtinu, kad mano, **Raimondo Duboso**, baigiamasis projektas tema „Mikroburbulų tėkmėje charakterizavimas ultragarso spektrine analize“ yra parašytas visiškai savarankiškai, o visi pateikti duomenys ar tyrimų rezultatai yra teisingi ir gauti sąžiningai. Šiame darbe nei viena dalis nėra plagijuota nuo jokių spausdintinių ar internetinių šaltinių, visos kitų šaltinių tiesioginės ir netiesioginės citatos nurodytos literatūros nuorodose. Įstatymų nenumatytų piniginių sumų už šį darbą niekam nesu mokėjęs.

Aš suprantu, kad išaiškėjus nesąžiningumo faktui, man bus taikomos nuobaudos, remiantis Kauno technologijos universitete galiojančia tvarka.

(vardą ir pavardę įrašyti ranka)

(parašas)

Dubosas, R. Mikroburbulų tėkmėje charakterizavimas ultragarso spektrine analize. Biomedicininės inžinerijos *magistro* baigiamasis projektas / vadovas dr. Rytis Jurkonis; Kauno technologijos universitetas, elektros ir elektronikos fakultetas, elektronikos inžinerijos katedra.

Kaunas, 2016. 53 psl.

SANTRAUKA

Mikroburbulai – tai burbulai, kurių dydis yra nuo 1 μm iki 1 mm. Jie yra užpildyti dujomis, kur dujas nuo išorinės aplinkos skiria išorinis apvalkalas, kuris dažniausiai būna sudarytas iš lipidų ar baltymų.

Šiuo metu mikroburbulai plačiausiai naudojami medicinoje, ultragarsinių tyrimų metu, kai mikroburbulai yra kontrastinė medžiaga. Tačiau mikroburbulai turi didelį potencialą dar ir dėl to, kad jie gali būti panaudoti vaistų transportavimui ir jų paskleidimui pasirinktose paciento kūno vietose, kas pavyzdžiui leistų efektyviau naudoti vaistus, padidintų gydymo efektyvumą. Mikroburbulų savybių žinojimas, gebėjimas juos charakterizuoti, priklausomai nuo poreikio, leisti arba su jais kovoti, arba plėsti jų panaudojimo galimybes.

Yra žinoma, kad be akustinio charakterizavimo yra sėkmingai panaudotos optinės charakterizavimo technikos: tėkmės citometrija paremtas charakterizavimas ir optinis mikroburbulų formos įvertinimas. Taip pat išbandytas impedansų pokyčiu paremtas charakterizavimas. Visi ankščiau atlikti tyrimai pasižymi, kad tiriami mikroburbulai buvo arba atskirti ir charakterizuojami po vieną, arba didelėse, stacionarioje būsenoje esančiose mikroburbulų populiacijose.

Darbo tikslas – ultragarso spektrinės analizės pagalba atlikti įvairių dydžių, oru užpildytų burbulų charakterizavimą.

Užsibrėžtam tikslui pasiekti buvo išsikelti ir įvykdyti šie darbo uždaviniai:

1. Išnagrinėti ir aptarti esami charakterizavimo metodai, kurie parodė, kad ultragarsinė spektrinė analizė leidžia atlikti mikroburbulų charakterizavimą optiškai neskaidrioje terpėje ir, kad šiuo metu nėra žinoma tyrimų, kurie atliktų ultragarsine spektrine analize paremtą mikroburbulų charakterizavimą tėkmėje.

2. Sukonstruota eksperimentinė sistema ir atlikti eksperimentai, kai buvo keičiama tyrimams naudojamų burbulų dydis bei tėkmė, kurioje burbulai teka.

3. Buvo parinkti parametrai, kurie padeda atlikti įvairių dydžių oru užpildytų burbulų charakterizavimą. Vertinant mikroburbulų dydį buvo pastebėta, kad burbulai pasižymi didesniu spektro pločiu -3 dB lygyje. Nustatyta, kad burbulų spektrai yra tolydesni, o mikroburbulų spektrai pasižymi išreikštais pikais ties fiksuotais dažniais. Skirtingą tėkmę, kai joje juda tokio paties dydžio dalelės, geriausiai charakterizuoja spektro plotis. Lėtesne tėkme judančios dalelės pasižymi didesniu

spektro pločiu. Vertinant aukščiau paminėtas spektrinių parametrų priklausomybes, papildomai buvo pasitelktas energetinis parametras - vidutinė signalo energija. Mikroburbulai pasižymėjo didesne vidutine energija nei burbulai.

Raktiniai žodžiai: Mikroburbulai; Ultragarsas; Spektras; Kavitacija; Tėkmė

Dubosas, R. Ultrasound Spectral Characterization of Microbubbles in Flow. Final project of biomedical engineering *master degree* / supervisor dr. Rytis Jurkonis; Kaunas University of Technology, Faculty of Electrical and Electronics Engineering, department of electronics.

Kaunas, 2016. 53 p.

SUMMARY

Microbubbles are bubbles, where diameter varies from 1 μm to 1 mm. Microbubbles are filled by gas and coated with lipid or proteins shell.

This moment microbubbles are widely being used in medicine as ultrasound contrast agents. Furthermore microbubbles have big potential to be used as transport for drug delivery to specified places in the patients. Microbubble properties awareness, ability to characterize it, depending on situation, would allow to fight with them or expand their potential.

It is known that without acoustic microbubble characterization there is more characterization techniques, such as optical, where it is based on flow cytometry or visual microbubble shape and size characterization. Also Coulter counter technology is widely used for this purpose.

The purpose of this work - with the help of ultrasound spectral analysis, characterise different sizes air filled microbubbles.

To achieve this goal the following tasks were moved out and fulfilled:

1. The analysis of existing characterization methods showed that ultrasound spectral analysis enables microbubbles characterization of medium which is not optically transparent, and that there is currently no known studies that have carried out an ultrasonic spectral analysis based on the characterization of the microbubbles in flow. In all earlier studies microbubbles were examined one by one, or in large, stationary state located microbubble populations.

2. An experimental system was constructed and experiments were carried out, when changing the flow and bubbles size.

3. The parameter where selected, which helped to make different sizes of air-filled bubbles characterization. Assessing the size of microbubbles it was observed that the bubbles have a higher spectral width in -3 dB level. It was found that bubbles spectra are continuous revenue streams, and microbubbles spectra are expressed as peaks with fixed frequencies. The best way to characterize a different flow is to use the spectrum width parameter. Slower flow of the particles have a higher spectrum width. In assessing the above-mentioned spectral parameters dependencies an energy parameter called average signal power was used. Microbubbles characterized by a higher average energy than bubbles.

Keywords: Microbubbles; Ultrasound; Spectrum; Cavitation; Flow

TURINYS

ĮVADAS.....	9
1. MIKROBURBULŲ CHARAKTERIZAVIMO METODŲ APŽVALGA.....	10
1.1. Optinės charakterizavimo technikos.....	10
1.1.1. Optinis mikroburbulų formos pokyčių įvertinimas.....	10
1.1.2. Tėkmės citometrija paremtas charakterizavimas.....	13
1.2. Impedanso pokyčiu pagrįstas mikroburbulų charakterizavimas.....	16
1.3. Akustinis mikroburbulų charakterizavimas.....	18
1.4. Apžvelgtų metodų apibendrinimas.....	21
2. DALELIŲ TERPĖJE SU TĖKME EKSPERIMENTINIS TYRIMAS.....	22
2.1. Naudojama įranga ir medžiagos.....	22
2.2. Ultragarsinių duomenų analizės algoritmas.....	26
2.2.1. Pradinio signalo apdorojimas.....	28
2.2.2. Energetiniai parametrai mikroburbulų charakterizavimui.....	31
2.2.3. Spektriniai parametrai mikroburbulų charakterizavimui.....	33
2.3. Ultragarsinių duomenų analizės rezultatai.....	34
2.3.1. Nespektrinis mikroburbulų detektavimas tėkmėje.....	34
2.3.2. Atraminio atspindėtuvo spektro vertinimas.....	36
2.3.3. Vizualinis burbulų spektrinių ir energetinių savybių įvertinimas.....	38
2.3.4. Nuo skirtingų dalelių atspindėto spektro įvertinimas.....	42
2.3.5. Tėkmės įtakos mikroburbulams charakterizavimas.....	46
2.3.6. Rezultatų aptarimas.....	48
3. DISKUSIJA IR IŠVADOS.....	50
3.1. Išvados.....	50
3.2. Galimos tolimesnių tyrimų kryptys.....	50
LITERATŪROS SĄRAŠAS.....	52

SANTRUMPŲ IR ŽENKLŲ AIŠKINIMO ŽODYNAS

IPD	Impulsų pasikartojimo dažnis
UG	Ultragarsas
BET	Burbulų elgesio testavimas
ŠD	Šviesos detektorius
PSFG	Pasirenkamo signalo formos generatorius

IVADAS

Darbo aktualumas

Mikroburbulai – tai burbulai, kurių dydis yra nuo 1 μm iki 1 mm. Jie yra užpildyti dujomis, kur dujas nuo išorinės aplinkos skiria išorinis apvalkalas, kuris dažniausiai būna sudarytas iš lipidų ar baltymų [1].

Šiuo metu medicinoje mikroburbulai naudojami kaip kontrastinė medžiaga atliekant ultragarsinius tyrimus [2]. Kadangi jie užpildyti dujomis, nuo jų gerai atsispindi ultragarso bangos. Tiriamajam mikroburbulai suleidžiami į kraujotakos sistemą, kur jie pasiskirsto po visą kūną. Paveikus dominančią vietą ultragarso bangomis galima išgauti daugiau informacijos teikiančius vaizdus.

Tačiau mikroburbulai didelį potencialą, susijusį su naudojimu medicinoje, turi ne tik dėl to, kad gali būti naudojami kaip kontrastinė medžiaga, bet ir dėl to, kad jie gali būti pritaikyti vaistų transportavimui ir jų paskleidimui pasirinktose paciento kūno vietose, kas pavyzdžiui leistų efektyviau naudoti vaistus, padidintų gydymo efektyvumą [3].

Taip pat su mikroburbulais yra susiduriama ir kitose gyvenimiškose srityse. Pavyzdžiui dušo galvutėse, paprastą vandens tėkmę prisotinus mikroburbulais galima laimėti keliais aspektais: sumažinti vandens sąnaudas ir pagerinti maudymosi bei nešvarumų šalinimo kokybę. Vis dėlto mikroburbulai gali būti ir nepageidaujamas produktas, viena iš sričių – puslaidininkių gamyba [4]. Fotolitografijos procesu metu į sistemą įsimaišęs burbulas gali sukelti daug didesnę žalą nei įsimaišiusi įprasta dalelė, taip sukurdamas defektą gaminyje, kurio negalima pašalinti.

Mikroburbulai gali būti įvairių dydžių, užpildyti skirtingomis dujomis, ar sudaryti iš skirtingų medžiagų išorinio apvalkalo. Jų savybių žinojimas, gebėjimas juos charakterizuoti, priklausomai nuo poreikio, leistų arba su jais kovoti, arba plėsti jų panaudojimo galimybes.

Darbo tikslas ir uždaviniai

Darbo tikslas – ultragarso spektrinės analizės pagalba atlikti įvairių dydžių, oru užpildytų burbulų charakterizavimą.

Darbo uždaviniai:

1. Išnagrinėti jau esamus mikroburbulų charakterizavimo metodus.
2. Pasiruošti eksperimentinę sistemą.
3. Atlikti eksperimentus keičiant tyrimams naudojamų burbulų dydį bei tėkmę, kuria burbulai teka.
4. Parinkti parametrus, kurie padėtų atlikti įvairių dydžių, oru užpildytų burbulų charakterizavimą.
5. Aptarti gautus rezultatus ir pateikti galimas tolimesnių tyrimų kryptis.

1. MIKROBURBULŲ CHARAKTERIZAVIMO METODŲ APŽVALGA

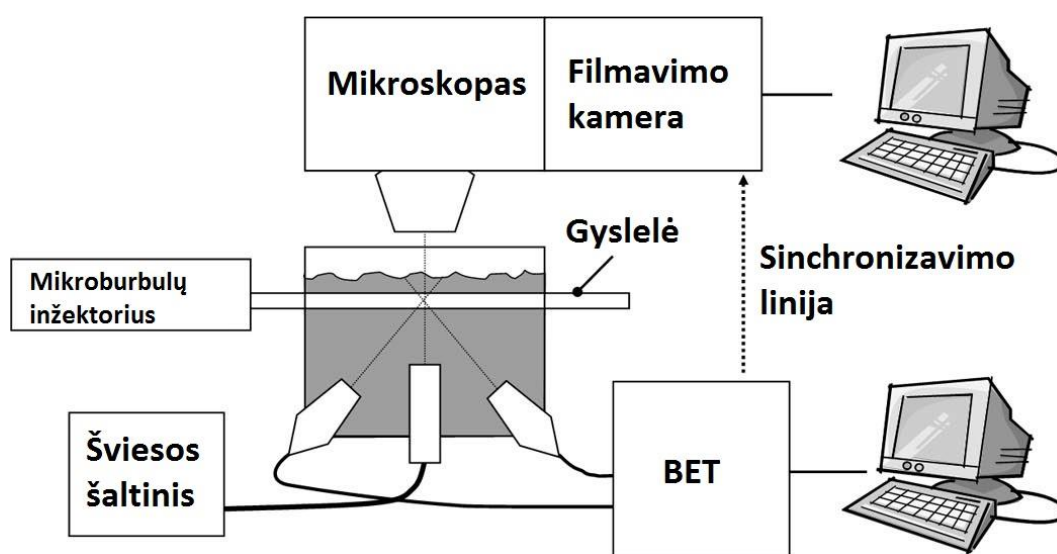
Iki šiol buvo atlikta nemažai įvairių tyrimų, susijusių su mikroburbulų charakterizavimu. Kiekvienas iš jų skiriasi naudojama įranga ar terpe, kurioje atliekami tyrimai. Bandoma atrasti naujus, mikroburbulus padedančius charakterizuoti parametrus ir jų priklausomybes. Taip pat vieni renkasi jau pramoniniu būdu paruoštus, žinomų dydžių mikroburbulus, o kiti, siekdami sutaupyti ar pasiekti tam tikrų papildomų rezultatų renkasi savarankišką mikroburbulų gaminimąsi ten, kur atliekami tyrimai. Visi šie metodai toliau bus apžvelgti tolimesniuose skyriuose.

1.1. Optinės charakterizavimo technikos

1.1.1. Optinis mikroburbulų formos pokyčių įvertinimas

Optinė mikroburbulų charakterizavimo technika remiasi greito filmavimo kameromis, kurios per vieną sekundę leidžia surinkti didelį kadrų skaičių. Šių kadrų analizė, priklausomai nuo situacijos gali padėti charakterizuoti vieno ar daugybės burbulų formų pokyčius. Taip pat ji gali būti panaudota dalelių skaičiavimui.

Optinio charakterizavimo pavyzdžiu gali būti [5] straipsnio autorių atliktas tyrimas. Šio tyrimo metu iškart buvo apjungti du metodai, optinis ir akustinis, kur akustinis metodas detaliau bus aptartas tolimesniame skyriuje. Eksperimentų metu naudotos įrangos schema pateikiama žemiau esančiame 1.1.1.1 pav..

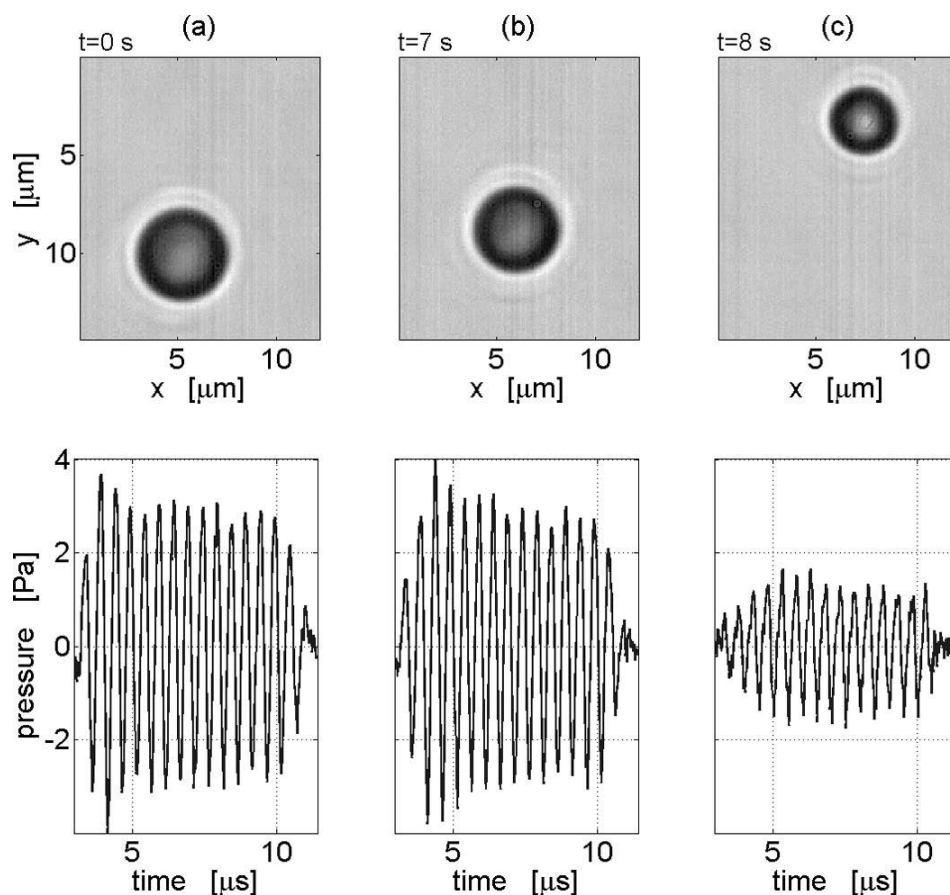


1.1.1.1 pav. Eksperimentinės sistemos schema [5]

Remiantis aukščiau pateikta eksperimentinės sistemos schema 1.1.1.1 pav., tyrimų metu buvo naudota du ultragarsiniai keitikliai prijungti prie burbulų elgesio testavimo (BET) sistemos, kuri per USB 2.0 sąsają buvo prijungta prie kompiuterio. BET sistema yra specialiai šiam tyrimui pritaikyta sistema, kuri buvo sukurta mikroelektronikos sistemų projektavimo laboratorijoje (Florencijos universitetas, Florencija, Italija). Plokštė turi du programuojamus išėjimo kanalus ir du žemo triukšmo lygį užtikrinančius įėjimo kanalus. Ultragarso (UG) bangų siuntimui buvo panaudotas vieno elemento keitiklis „PA076“ su fokuso gyliu, lygiu 1 coliui, o bangų priėmimui pasitelktas keitiklis „C381-SU“ su tokiu pačiu 1 colio fokuso gyliu. Abu keitikliai buvo nukreipti 100° kampu tarp jų į tą patį dominantį tašką (angl. *region of interest (ROI)*). Taškas į kurį jie nukreipti buvo beveik optiškai ir akustiškai skaidri, 160 μm diametro, kapiliarinė gyslelė. Ši gyslelė buvo panardinta į vandenį, o joje patalpinti tyrimams naudojami mikroburbulai. Ši aukščiau aprašyta eksperimentinės sistemos dalis sudarė akustinę dalį.

Toliau remiantis tuo pačiu 1.1.1.1 pav. optinę sistemos dalį sudarė šviesos šaltinis, kuris iš apačios apšvietė tą pačią dominančią vietą. Virš gyslelės buvo pritvirtintas ir į vandenį panardinamas 40 kartų lęšis (angl. *objective*) „LUMPLFL 40x/W N.A. 0.8, Olympus“, kurio židinio plokštuma nukreipta į dominančią vietą. Lęšis buvo pritvirtintas prie mikroskopo „Olympus BX-FM, 2x/4x MA“. Per šį mikroskopą filmavimo kamera filmavo daleles, patekusias į dominančią vietą 250 kadrų per sekundę greičiu, gauti vaizdai saugojami 4 GB talpos atmintyje. Pasiiekta rezoliucija siekė 13,4 pikselis/μm.

Svarbu paminėti, kad akustinė sistema buvo sinchronizuota su optine sistema. UG keitiklis siuntė impulsų sekas, kur impulsų pasikartojimo dažnis (IPD) (angl. *pulse repetition frequency (PRF)*) buvo 250 Hz. Keitiklio dažnis buvo keičiamas nuo 2 iki 4 MHz su žingsniu, lygiu 0,5 MHz. Aktyvi signalo dalis impulso metu truko 15 keitiklio periodų, kur slėgis būdavo 49 arba 62 kPa. BET sistema priėmimo keitiklio įtampos pokyčius iškart konvertavo į slėgio parametą ties keitiklio paviršiumi. Eksperimentų metu buvo naudojami „Definity“ mikroburbulai su fosfolipidų išoriniu sluoksniu, kurių diametras, remiantis gaminio aprašymu varijavo nuo 1,1 iki 3,3 μm. Viso užfiksuota apie 50 pavienių mikroburbulų, kurie toliau buvo charakterizuojami.



1.1.1.2 pav. Optinės sistemos pagalba užfiksuoti pavieniai mikroburbulai viršuje su tais pačiais laiko momentais akustinės sistemos užregistruotais echo signalais nuo mikroburbulų apačioje [5]

Veikiant pavienius mikroburbulus 49 kPa slėgiu, surinkti akustinės ir optinės sistemos rezultatai pateikiami 1.1.1.2 pav.. Paveikslo viršuje pateikiama optinės sistemos pagalba užfiksuoti pavieniai mikroburbulai, o apačioje – tais pačiais laiko momentais, kai buvo užfiksuotos mikroburbulų nuotraukos akustinės sistemos priimti echo signalai nuo mikroburbulų. Eksperimentų pradžioje, 1.1.1.2 pav. a) ($t=0$ s), burbulų spindulys, kuris matomas paveikslo viršuje, buvo apie $2,4 \mu\text{m}$. Ties šiuo laiko momentu paveikslo apačioje matome, kad priimtas signalas po dviejų išsiųstų UG impulsų yra pastovios amplitudės. Po 7 sekundžių ($t=7$ s) veikimo ultragarsu (1.1.1.2 pav. b)) matome, kad burbulas buvo sumažėjęs (angl. *defliated*) apie $0,2 \mu\text{m}$, t.y. jo diametras nuo $\sim 2,4$ sumažėjo iki $\sim 2,2 \mu\text{m}$. Paveikslo apačioje echo signale matome, kad bėgant laikui mažėja signalo gaubtinės vertė lyginant su laiko momentu $t=0$ s. 1.1.1.2. pav c) dalyje viršuje matome sumažėjusį mikroburbulą iki $\sim 1,8 \mu\text{m}$, kai jis UG impulsais buvo veikiamas 8 sekundes ($t=8$ s). Taip pat galime pastebėti, kad burbulas dėl veikimo UG bangomis šiek tiek pasislinko. Paveikslo apačioje lyginant a) ir b) dalis su c) matome akivaizdų skirtumą – burbulo skersmeniui sumažėjus apie $0,6 \mu\text{m}$ nuo pradinės būsenos, akustinės sistemos užregistruoto slėgio vertė sumažėjo apie 2 Pa.

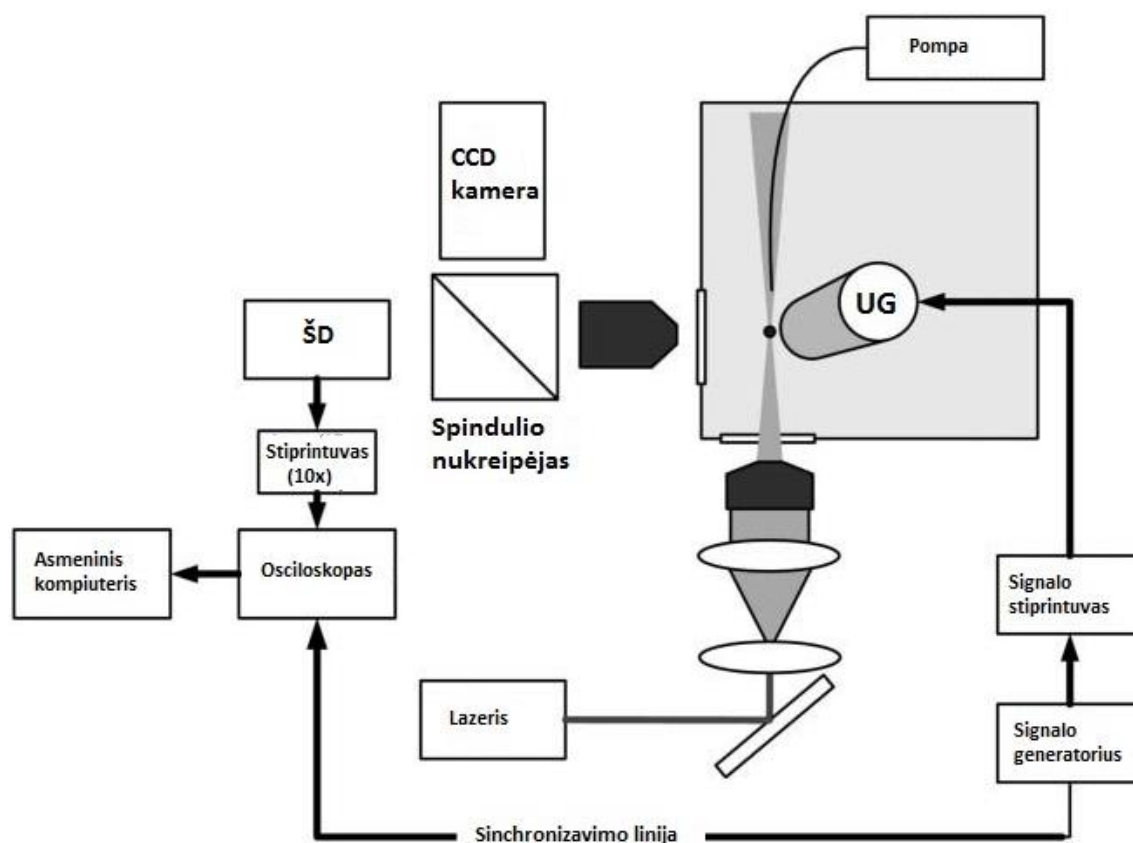
Toliau šiame darbe buvo tiriamos tokių parametų kaip mikroburbulų diametro ir normalizuoto sklaidos skerspjūvio (angl. *normalized scattering cross section*), absoliučios fazės priklausomybės.

Teigiama optinio charakterizavimo savybė yra ta, kad ji leidžia vizualiai įvertinti, kaip keičiasi mikroburbulų formos veikiant juos įvairiais išoriniais poveikiais. Siekiant atlikti mikroburbulų charakterizavimą nerekomenduojama naudoti tik šį metodą, tačiau apjungus kelias technologijas ši technologija suteikia naudingos papildomos informacijos. Didžiausi šios technologijos minusai yra tokie, kad ji tinkama tik pavienių mikroburbulų charakterizavimui, o terpė, kurioje jie patalpinti turi būti optiškai skaidri ir apšviesta.

1.1.2. Tėkmės citometrija parentas charakterizavimas

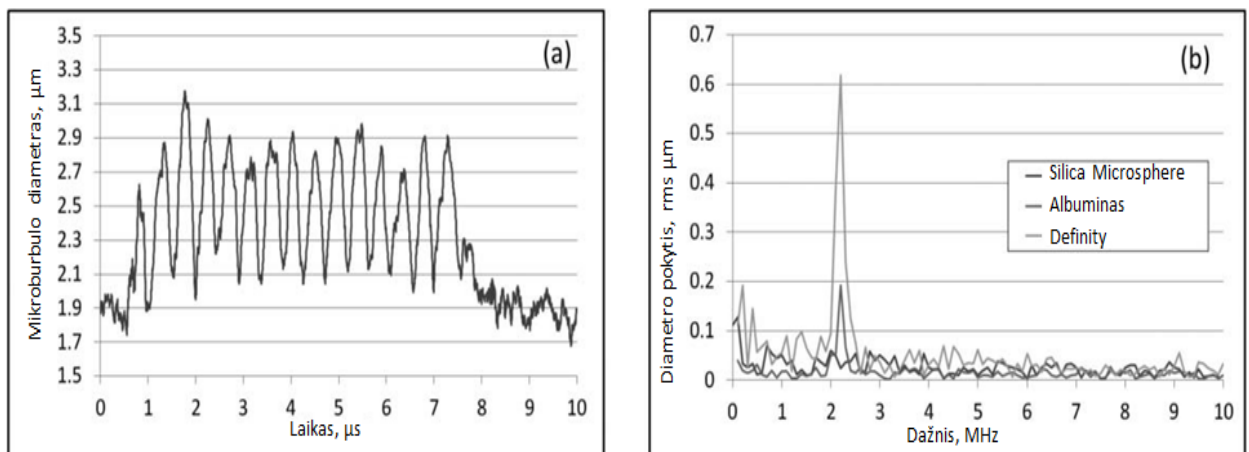
Tėkmės citometrija (angl. *flow cytometry*), tai technologija padedanti charakterizuoti įvairias daleles. Ji paremta šviesos išsklaidymu (angl. *light scattering*), kai tėkme judančios dalelės patenka į sufokusuotą šviesos (lazerio) spindulį ir jį išsklaido. Kitoje šviesos spindulio šaltinio pusėje yra sumontuotas detektorius, kurio pagalba užregistruoti signalai dalelėms kertant šviesos spindulį padeda jas skaičiuoti ar charakterizuoti. Yra atlikta nemažai šiuo principu grįstų tyrimų, vienas iš jų bus aptartas žemiau.

Vienas iš metodų, kuris pagrįstas šviesos išsklaidymo metodu yra pateikiamas šiame straipsnyje [6]. Darbo autoriai susikonstravo sistemą, kuri leidžia atskirti ir detektuoti mikroburbulus po vieną lazerio pagalba. Eksperimentinės sistemos schema pateikiama 2.1.1.1 pav..



1.1.2.1 pav. Eksperimentinės sistemos schema [6]

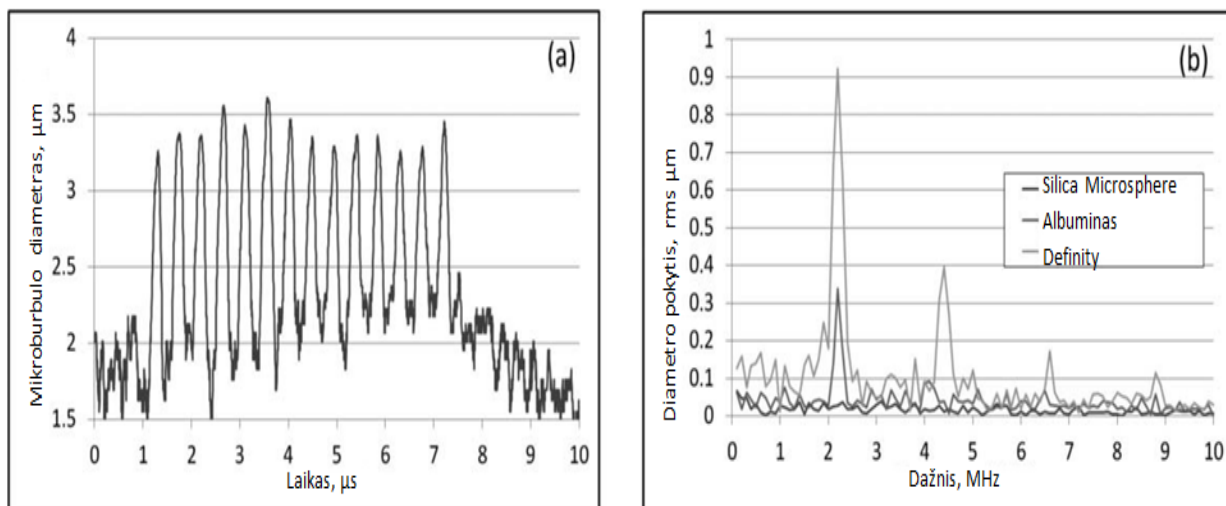
Aukščiau pateiktame 2.1.1.1 pav. pateikiama šviesos išsklaidymo metodu pagrįsta eksperimentinės sistemos schema. Tyrimams buvo naudojama 2 litrų talpos juoda talpa, su įmontuotais dviejais optiškai skaidriais langais šviesos išspinduliavimui ir priėmimui. Šviesos šaltinis buvo 532 nm nuolatinės bangos lazeris „Verdi A5“, kurio spindulys buvo sufokusuotas per 20 kartų fokusuojantį lešį, kurio pagalba lazerio fokuso centre buvo pasiektas didesnis nei $5 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ galios tankis. Ultragarso bangoms siųsti panaudotas 2,25 MHz fokusuotas vieno elemento „Panametrics V306“ ultragarsinis keitiklis. UG keitiklio fokuso centras buvo nukreiptas į tą pačią vietą, kur nukreiptas lazerio fokuso centras. UG bangos buvo siunčiamos impulsais, kur IPD buvo lygus 1 Hz, o aktyvi impulsų dalis truko penkiolika 2,25 MHz keitiklio ciklų ($\sim 6,67 \mu\text{s}$). Šis 2,25 MHz dažnis buvo pasirinktas todėl, kad jis yra tyrimams naudojamų mikroburbulų rezonansinis dažnis. Mikroburbulų išsklaidyta šviesa buvo surinkinėjama „R6095“ šviesos detektoriaus (ŠD) pagalba, kurio išėjimo signalas „M7279“ stiprintuvo pagalba buvo stiprinamas 10 kartų. Sustiprintas signalas buvo stebimas „TDS2020“ osciloskopo pagalba, kuris buvo valdomas per „Labview“ programinę įrangą. Mikroburbulai po vieną į dominančią vietą buvo tiekiami per kapiliarinę gyslelę. Kad į dominančią vietą patenka tik vienas burbulas užtikrino krūvių aptinkanti kamera (angl. *charge coupled device camera*, (*CCD camera*)). Burbuliukus per kapiliarinį vamzdelį pompavo „PHD 300“ švirkštinė pompa.



1.1.2.2 pav. a) „Definity“ mikroburbulo diametro pokyčiai bėgant laikui, kai jis veikiamas 100 kPa slėgiu ir b) „Silica Microsphere“, Albumino ir „Definity“ mikroburbulų diametrų pokyčiai dažnių srityje veikiant 100 kPa slėgiu [6]

Eksperimentų metu buvo naudoti trijų rūšių mikroburbulai, pramonių būdu pagaminti „Silica Microsphere“ ir „Definity“ mikroburbulai. Vietoje buvo gaminami mikroburbulai su albumino apvalkalu. Didžiausiu standumu pasižymėjo „Silica Microsphere“, kadangi šiose dalelėse nebuvo jokių dujų. Gauti rezultatai eksperimentų rezultatai pateikti 1.1.2.2 pav., kai mikroburbulai buvo veikiami 100 kPa slėgiu. a) dalyje pateikta „Definity“ mikroburbulo diametro pokyčiai bėgant laikui, kai jis veikiamas 100 kPa slėgiu. Kaip matyti 15 ciklų trunkantis, 100 kPa slėgio poveikis nesukėlė burbuliuko kavitacijos ar ryškaus dujų netekimo, t.y. mikroburbulo diametras tais pačiais fazės

momentais buvo panašus. 1.1.2.2 pav. b) dalyje pateikta mikroburbulų diametrų pokyčiai dažnių srityje, kai tiriami buvo „Silica Microsphere“, „Definity“ ir „Definity“ mikroburbulai. Didžiausias diametro pokytis buvo pasiektas „Definity“ mikroburbulo atveju, ties $\sim 2,25$ MHz dažniu. Toliau mažesni diametro pokyčiai matomi albumino mikroburbulo atveju. Analizuojant „Silica Microsphere“ daleles galime matyti, kad diametro pokyčių 100 kPa slėgis nesukėlė. Tai galima sieti su tuo, kad dėl jų standumo jas deformuoti yra sunkiausia.



1.1.2.3 pav. a) „Definity“ mikroburbulo diametro pokyčiai bėgant laikui, kai jis veikiamas 200 kPa slėgiu ir b) „Silica Microsphere“, Albumino ir „Definity“ mikroburbulų diametrų pokyčiai dažnių srityje veikiant 200 kPa slėgiu [6]

Toliau darbo autoriai analizavo, kas vyksta su įvairių rūšių mikroburbulais didinant slėgį. Gauti rezultatai mikroburbulus veikiant 200 kPa slėgiu pateikiami 1.1.2.3 pav.. a) dalyje matome, padidėjusius „Definity“ mikroburbulo diametro pokyčius lyginant su 1.1.2.2 pav. a) dalimi. Tai rodo, kad mikroburbulą veikiantis išorinis poveikis sustriprėjo, jį privertė labiau deformuotis. 1.1.2.3 pav. b) dalyje matome padidėjusius diametro pokyčius ties $\sim 2,25$ MHz tiek „Definity“ tiek albumino mikroburbulų atveju lyginant su 1.1.2.2 pav. b) dalimi. Kaip ir buvo galima tikėtis, „Silica Microsphere“ dalelės 200 kPa slėgis nepaveikė. Lyginant gautus rezultatus, kai buvo veikiamas 100 kPa ir 200 kPa slėgiu, galime pastebėti, kad 200 kPa atveju dažnių srityje išryškėja kartotiniai dažniai, kurie didėjant dažniui sukelia mažėjančius mikroburbulų diametrų pokyčius.

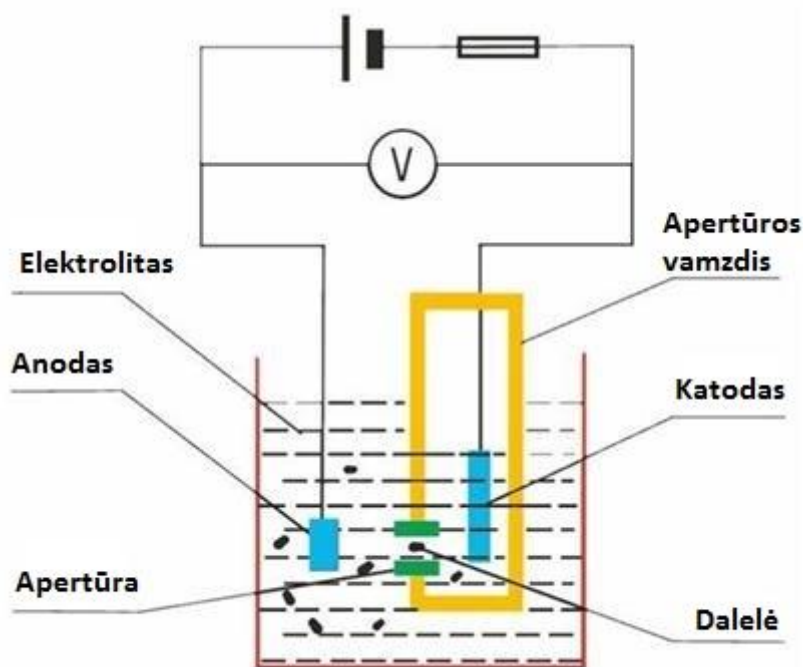
Toliau darbo autoriai atlikus papildomus eksperimentus su padidintais slėgiais, kurie buvo lygūs 700 kPa ir 1,3 MPa. Buvo nustatyta, kad veikiant aukštais slėgiais, nors mikroburbulų kavitacija neįvyksta, vis dėl to jie praranda dalį dujų. Tai rodo mažėjantis mikroburbulo atsakas bėgant laikui, t.y. mikroburbulai darosi standesni.

Apibendrinant galima teigti, kad citometrija grįstas metodas suteikia puikią galimybę pamatyti skirtumus tarp skirtingų rūšių pavienių mikroburbulų juos veikiant skirtingais išoriniais poveikiais.

Taip pat šį metodą galima pritaikyti ir didelės, tos pačios rūšies, tačiau skirtingų dydžių mikroburbulų populiacijos charakterizavimui [7]. Vis dėlto šios technologijos neigiama savybė yra ta, kad aplinka kurioje yra mikroburbulai turi būti optiškai skaidri.

1.2. Impedanso pokyčiu pagrįstas mikroburbulų charakterizavimas

Impedanso pokyčio registravimu grįsti įrenginiai dar kitaip vadinami Kolterio skaičiuotuvais (angl. *Coulter counter*). Šis metodas pagrįstas tuo, kad pro du elektrodus pratekanti dalelė turi kitokią laidumą nei ją nešantis skystis. Šis skirtingas laidumas dalelei keliaujant per elektrodus, kuriais teka pastovi elektros srovė, sukelia impedanso pokyčius, kurie matomi kaip amplitudės išaugimas.

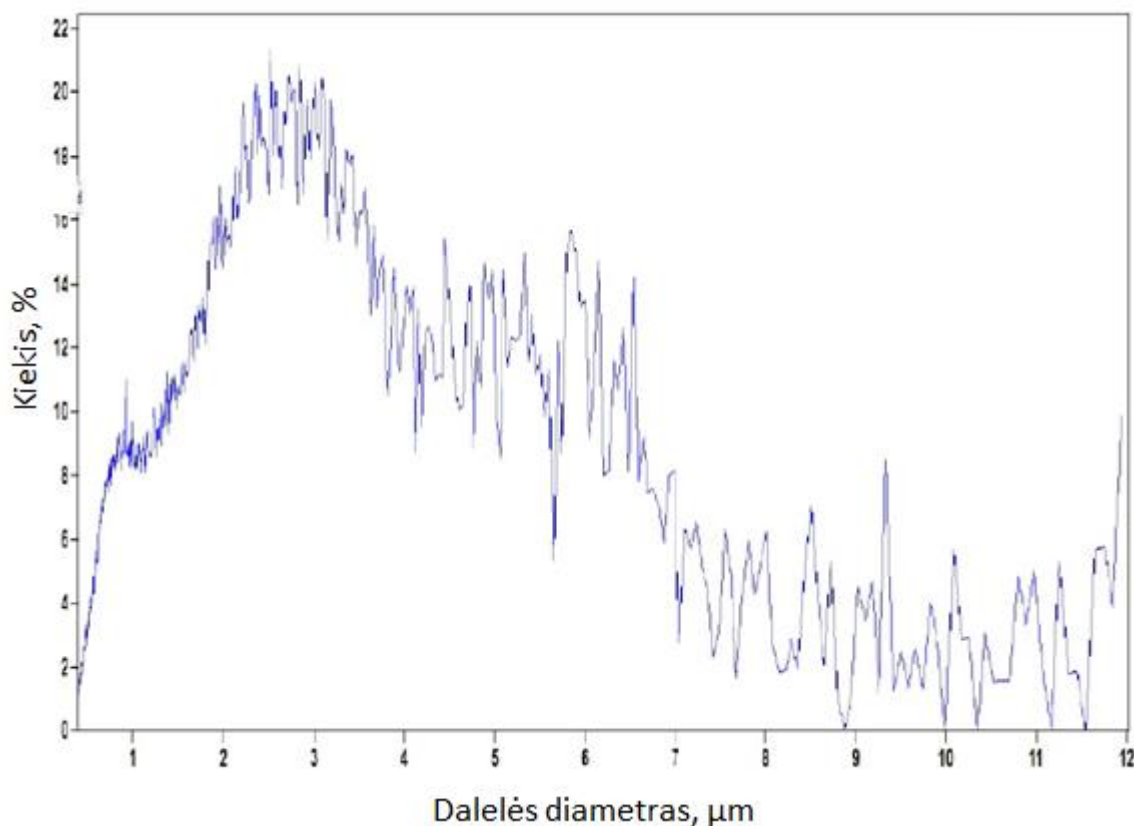


1.2.1 pav. Kolterio skaitiklio struktūra [8]

Kolterio skaitiklio struktūra pateikiama aukščiau 1.2.1 pav.. Keitiklis sudarytas iš maitinimo šaltinio, kuris užtikrina, kad elektrodais tekės pastovaus dydžio srovė. Prie šaltinio prijungti du elektrodai, kur anodas tiesiog panardintas į talpoje esantį elektrolitą, o katodas yra įmontuotas apertūros vamzdelio viduje. Dalelės į apertūros vamzdį per apertūrą įtraukiamos pavyzdžiui vakuomo pagalba. Dalelei kertant elektrodus voltmetras rodo įtampos padidėjimą, kur įtampos vertė priklauso nuo dalelės elektrinių savybių.

Šie skaičiuotuvai labai paplitę medicinoje dėl to, kad atliekant pavyzdžiui kraujo tyrimus leidžia identifikuoti ir suskaičiuoti skirtingų dalelių skaičių, nes skirtingos rūšies kraujo dalelės pasižymi

skirtingu elektriniu laidumu. Tačiau yra atlikta ne vienas bandymas paremtas šia technologija siekiant charakterizuoti mikroburbulus. Štai pavyzdžiui [9] tyrimo metu, impedanso pokyčiu grįsta sistema buvo panaudota tos pačios rūšies mikroburbulų diametrai nustatyti.



1.2.2 pav. „Artenga“ mikroburbulų diametro pasiskirstymas tiriamame tūryje, kai charakterizavimui panaudotas Kolterio skaičiuotuvus [9]

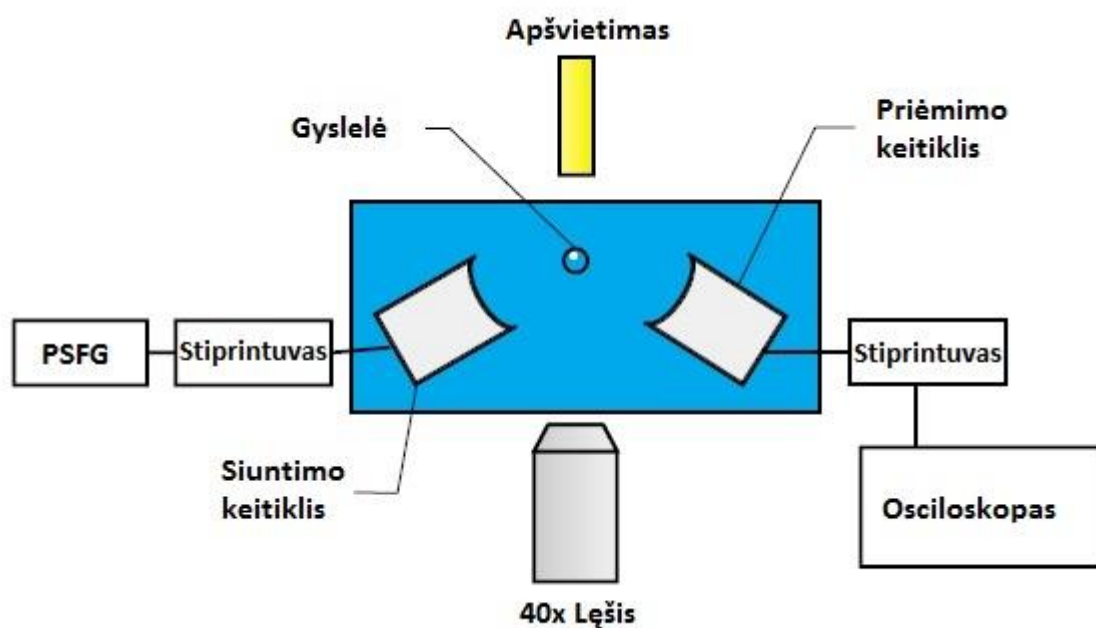
Aukščiau pateiktame 1.2.1 pav. matome Kolterio skaitiklio pagalba gautus rezultatus, kurie parodo „Artega“ mikroburbulų diametro pasiskirtymą tiriamame tūryje. Iš paveikslo matyti, kad vidutinis mikroburbulų diametras svyruoja nuo 2 iki 4 μm.

Taigi impedansu pokyčiu pagrįstas charakterizavimas suteikia galimybę skaičiuoti vienodų ar skirtingų dalelių skaičių bei nustatyti jų diametrą. Šio metodo neigiama savybė yra ta, kad esant didelei skirtingų dydžių mikroburbulų koncentracijai jis nebus tikslus, kadangi geriausia, kad mikroburbulai pro elektrodus prakeliautų po vieną, o ne keli vienu metu. Taip pat didėjant mikroburbulų skaičiui, t.y. elektrolito, kuriame plaukioja mikroburbulai tūriui, skaičiavimo laikas taip pat ilgėja.

1.3. Akustinis mikroburbulų charakterizavimas

Galiausiai bus aptartas šiam darbui svarbiausias akustinis mikroburbulų charakterizavimo metodas. Metodas pagrįstas UG bangomis. Medicinoje tai nėra naujiena, pavyzdžiui ultragarso pagalba gaunami žmonių vidaus organų vaizdai, o papildomas mikroburbulų kaip kontrastinės medžiagos panaudojimas šios technologijos galimybes praplečia dar labiau.

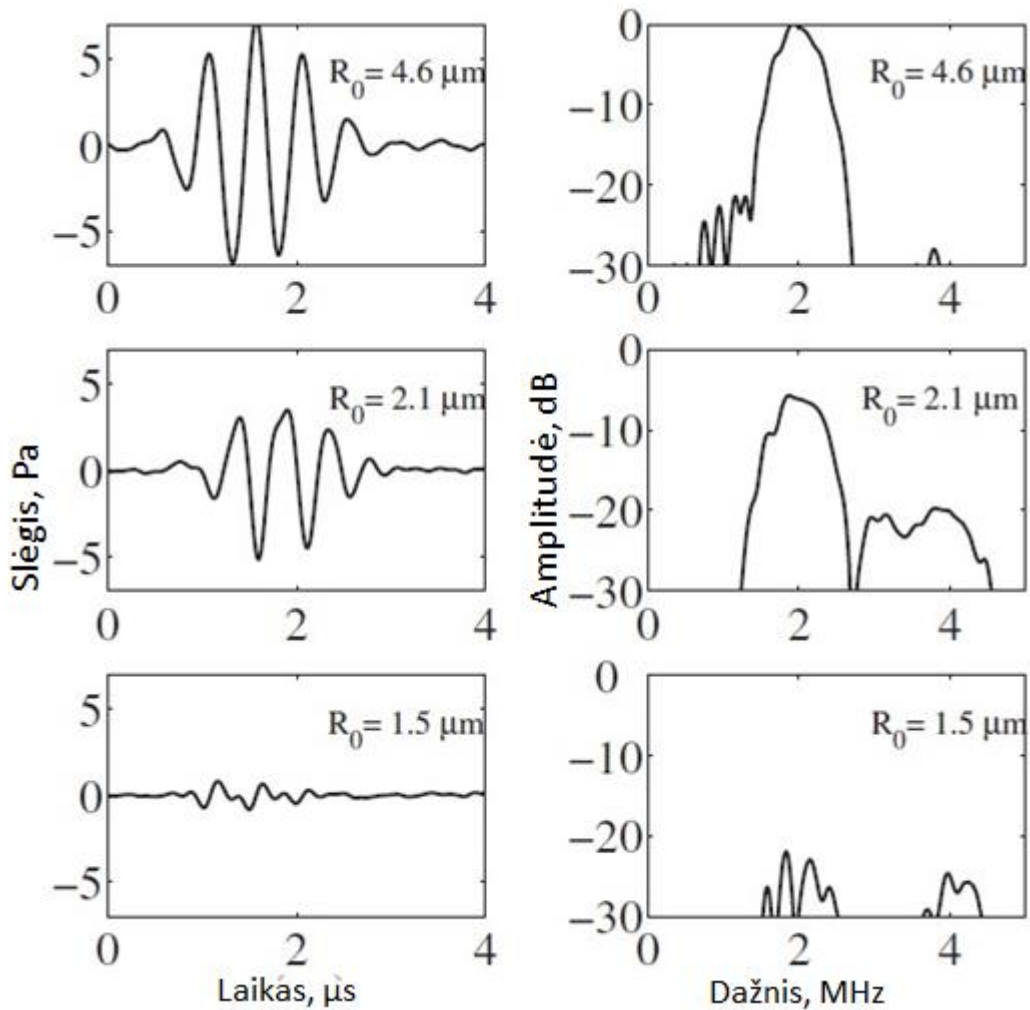
Akustinį kontrastinių mikroburbulų charakterizavimą atliko [10] straipsnio autoriai. Tyrimų metu naudotos eksperimentinės sistemos schema pateikiama 1.3.1 pav..



1.3.1 pav. Kontrastinių mikroburbulų akustinio charakterizavimo metu naudotos eksperimentinės sistemos schema [10]

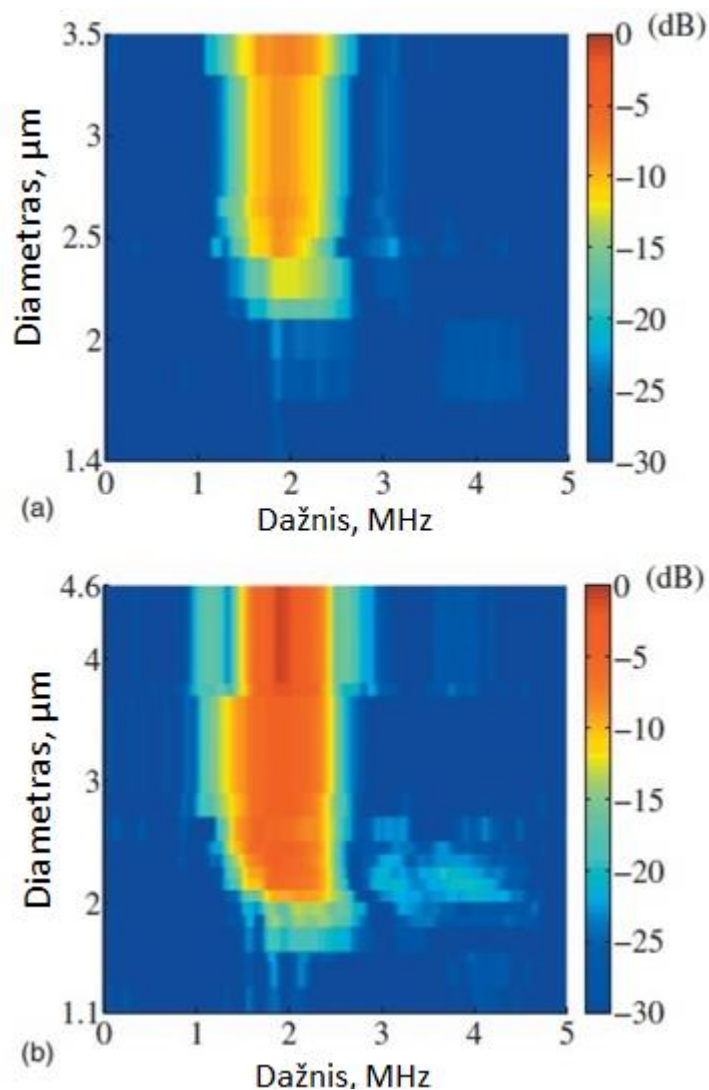
Eksperimentinės sistemos schema pateikiama 1.3.1 pav.. UG bangų siuntimui ir priėmimui buvo panaudoti du, 1 colio diametro UG keitikliai. UG bangas siuntė „Panametrics V304“ keitiklis, kurio centrinis dažnis buvo lygus 2,25 MHz, o bangų priėmimui naudotas „M3, W1001, Vermon SA“ keitiklis su 3 MHz pralaidos juosta -6 dB lygyje. Keitikliai buvo nukreipti į bendrą fokuso centrą 100° tarp jų kampu. Fokuso centre buvo patalpintas 200 μm diametro kapiliarinis vamzdelis, į kurį keitikliai buvo nukreipti 50° kampu. Siuntimo keitikliui signalą generavo pasirenkamos signalo formos generatorius (PSFG) (angl. *arbitrary waveform generator*), kurio išėjimo signalas buvo papildomai stiprintuvo stiprinamas. Siuntimo keitikliui buvo siunčiami 2 MHz, 5 ciklus trunkantys impulsai. Priėmimo keitiklio priimti echo signalai buvo sustiprinti stiprintuvo kur toliau buvo stebimi „DL 1740“ osciloskopo pagalba. Kad į gyslelę patektų tik vienas mikroburbulas buvo užtikrinama „IX50

Olympus“ mikroskopo pagalba, kuris buvo prijungtas prie 40 kartų fokusuojančio lęšio. Taip pat mikroskopas buvo naudotas mikroburbulų diametrai nustatyti.



1.3.2 pav. Trijų skirtingų diametrų mikroburbulų echo signalai laiko ir dažnių srityse juos paveikus 100 kPa slėgiu. [10]

Aukščiau pateiktame 1.3.2 pav. matome pateiktus trijų skirtingų dyžių mikroburbulų echo signalus laiko ir dažnių srityse, kai diametrai R_0 buvo lygūs 1,5; 2,1 ir 4,6 μm . Pavekslo kairėje pateikiami signalai laiko srityje, o dešinėje – dažnių srityje. Mažiausio mikroburbulo atveju ($R_0=1,5 \mu\text{m}$) matome, kad dažnių srityje jo amplitudė yra apie 25 dB žemesnė nei lyginant su $R_0=4,6 \mu\text{m}$ diametro burbulu. Autorių teigimu taip yra todėl, kad naudotas keitiklio dažnis yra per didelis lyginant su tokio dydžio mikroburbulo rezonansiniu dažniu. Keitiklio dažnis buvo lygus mikroburbulo rezonansiniam dažniui, kai jo diametras yra lygus 2,1 μm . Tai rodo dažnių srityje matoma aukštos amplitudės antroji harmonika.



1.3.3 pav. Echo signalo amplitudės pokyčiai dažnių srityje esant skirtingiems mikroburbulų diametrams veikiant tiriamus mikroburbulus fiksuotu 2 MHz dažniu, kai slėgis lygus 60 kPa a) ir 100 kPa b) [10]

Toliau buvo atliktas tyrimas, kaip keičiasi echo signalo amplitudė dažnių srityje, kai skirtingų diametrų burbulai yra veikiami fiksuotu 2 MHz dažniu, tačiau skirtingais, 60 kPa (1.3.3 pav. a)) ir 100 kPa (1.3.3 pav. b)) slėgiais. 1.3.3 pav. pateikti rezultatai rodo, kad a) atveju didėjant mikroburbulų diametru maždaug nuo 2 μm amplitudės vertė staigiai ima augti, o užimamos dažnių juostos plotis po truputį didėja. Silpną antrą harmonką galima pastebėti tik tada, kai mikroburbulų diametras yra apie 1,8 μm. Padidinus slėgį iki 100 kPa (1.3.3 pav. b)) matomas panašus mikroburbulų elgesys, amplitudės vertė staigiai ima augti nuo 2 μm diametro. Esant šiam diametru taip pat išryškėja antroji harmonika.

Gauti rezultatai patvirtina, kad dažnių srityje matomas mikroburbulų echo signalas plačiame jų diametro diapazone, o ne tik ties tuo diametru, kuris atitinka to diametro mikroburbulų rezonansinį ir keitiklio dažnius. Kai šie dažniai sutampa, tada dažninėje srityje matoma antroji harmonika ties tuo diametru. Tai patvirtina su labai panašia eksperimentne sistema dirbusių kitų autorių darbas [11].

Nagrinėtas [10] darbas parodė pavienių mikroburbulų charakterizavimo galimybes pasitelkiant UG bangas. Priimti echo signalai buvo pateikti laiko ir dažnių srityse, buvo paaiškinta kaip skiriasi gaunami rezultatai, kai skiriasi siunčiamų UG bangų slėgis ar keitiklio dažnis nuo savojo mikroburbulų rezonansinio dažnio. Vis dėl to autoriai atskleidė ne visas šio metodo galimybes, nebuvo įvertintos spektrogramos, ką pavyzdžiui atliko [9] darbo autorius.

1.4. Apžvelgtų metodų apibendrinimas

Trumpai panagrinėjus skirtingas mikroburbulų charakterizavimo technologijas galima teigti, kad nėra vienos technologijos, kuri galėtų suteikti daug informacijos apie tiriamus mikroburbulus. Dažniausiai visų tyrimu metu nebuvo remiamasi tik viena technologija, siekiant kuo patikimesnių tyrimų rezultatų buvo bandoma apjungti bent kelias iš jų.

Optinis mikroburbulų formos įvertinimas leidžia įvertinti mikroburbulų dydį ir jų formos pokyčius kai jie yra veikiami išorinio poveikio. Vis dėlto toks charakterizavimas reikalauja daug kompiuterinės įrangos resursų ir tinka tik pavienių mikroburbulų charakterizavimui. Su šia problema nesusiduriama taikant tėkmės citometrijos technologiją. Ji leidžia charakterizuoti dideles mikroburbulų populiacijas, kuriose gali būti skirtingos rūšies ar dydžio mikroburbulai. Bendra šias technologijas vienijanti problema yra ta, kad terpės, kuriose yra mikroburbulai turi būti optiškai skaidrios.

Impedanso pokyčiu grįstas metodas plačiai nėra taikomas. Dažniausiai jo pagalba atliekami mikroburbulų dydžio tūryje pasiskirstymo tyrimai. Šios technologijos neigiama savybė ta, kad didėjant tiriamų dalelių skaičiui ji reikalauja vis daugiau laiko, ji nėra tinkama didelės mikroburbulų koncentracijos tūryje tyrimams.

Akustiniu charakterizavimo metodu paremti tyrimai leido stebėti mikroburbulų echo signalus, kurie buvo pateikiami laiko ir dažnių srityse. Tiriant šiuo metodu terpė neprivalo būti optiškai skaidri, mikroburbulų koncentracija gali būti didelė. Bendras akustinius tyrimus vienijantis bruožas yra tas, kad tyrimų metu mikroburbulai buvo stacionarioje būsenoje. T.y. nebuvo bandoma charakterizuoti mikroburbulų, kai jie juda kartu su juos nešančiu tirpalu.

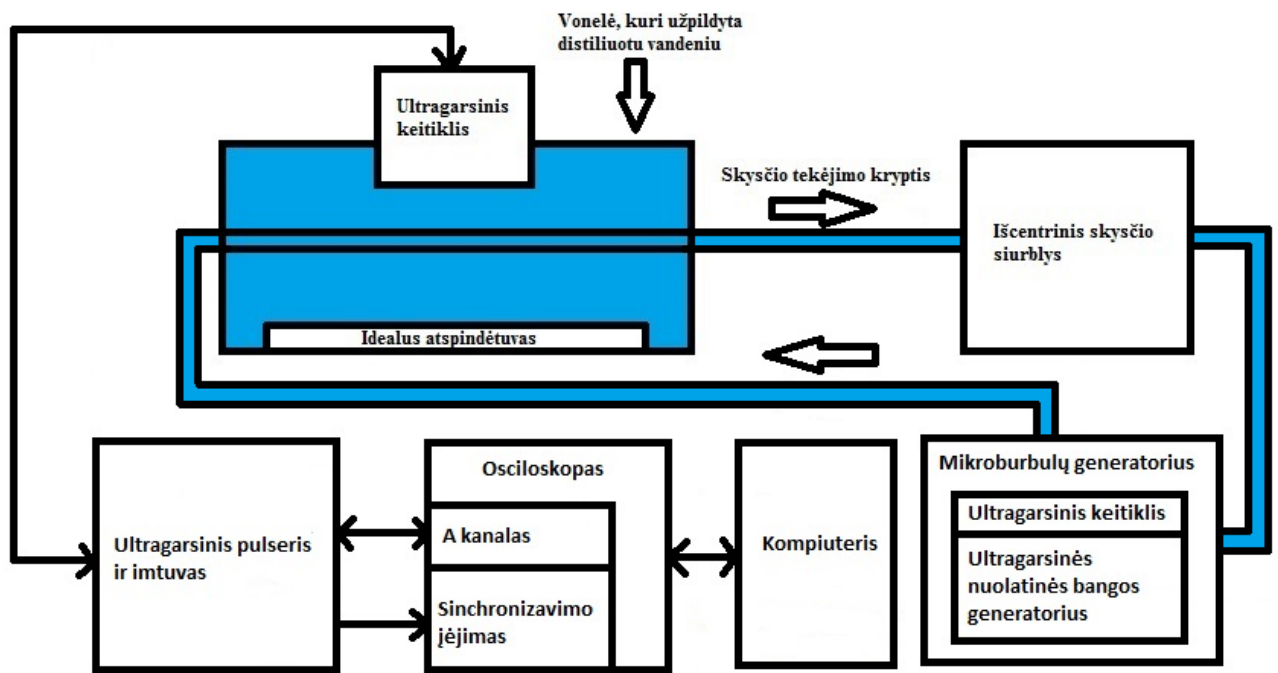
Mąstant apie ateities biotechnologijas, pritaikant mikroburbulų kavitaciją, kai dirbama tėkmėje, perspektyvus būtų akustinis mikroburbulų charakterizavimas tėkmėje. Dėl ultragarsinio principo pritaikymo ta tėkmė gali būtų neskaidri (pvz. kraujas). Mikroburbulų gamyba iš principo gali būti įgyvendinta laboratorijos sąlygomis, išvengiant didelių išlaidų komerciniams mikroburbulams įsigyti. Laboratorijoje veikiantis ultragarsinis principas leistų detektuoti ir charakterizuoti sintezuojamus mikroburbulus. Sintezavimą būtų galima optimizuoti pagal charakteringų parametrų poreikį. Pavyzdžiui laboratorijos sąlygomis inicijuoti vaistų pernašos eksperimentus in-vitro, in-vitro krešulio suardymo eksperimentus.

2. DALELIŲ TERPĖJE SU TĖKME EKSPERIMENTINIS TYRIMAS

2.1. Naudojama įranga ir medžiagos

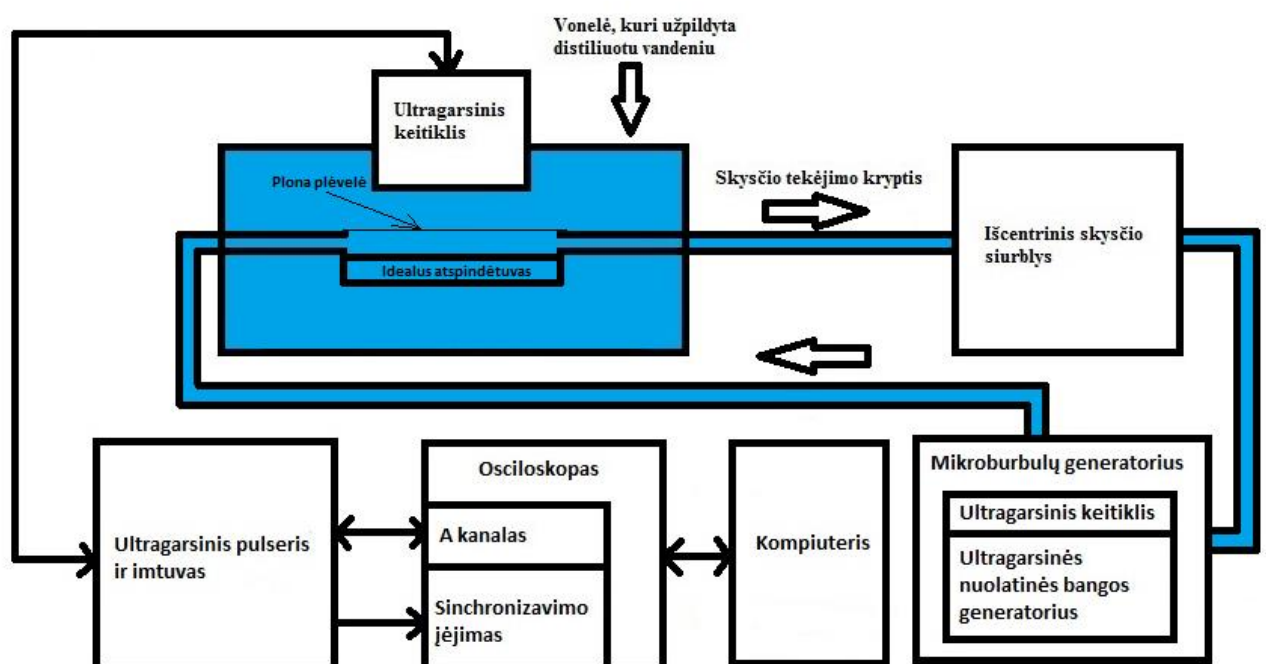
Eksperimentinę sistemą sudarė „Gamp 50130“ išcentrinis siurblys, kuris atliko dvi funkcijas: užtikrino reikiamą tėkmę ir tam tikrais atvejais buvo burbulų generatorius. Mikroburbulų tyrimų metu panaudotas ultragarsinis mikroburbulų generatorius. Ultragarso bangų siuntimui ir priėmimui buvo panaudotas „Karl Deutsch, STS 6 PB 4-20 P 30“ ultragarsinis keitiklis. Ultragarso bangas generavo impulsinis generatorius „UT340 UTEX“. Osciloskopo „PicoScope 5243B“ pagalba stebimi signalai buvo išsaugomi kompiuterio atmintyje. Išsaugoti signalai toliau buvo apdorojami Matlab (The MathWorks, Inc., Natikas, Masačusetsas, JAV) programinės įrangos pagalba.

Žemiau pateiktame 2.1.1 pav. yra pavaizduota eksperimentų metu naudotos įrangos sujungimo struktūrinė schema. Įrangą sudarė vonelė, kuri buvo užpildyta distiliuotu vandeniu. Vonelės dugne buvo padėtas idealus atspindėtuvas, o virš jo pritvirtintas ultragarsinis keitiklis („STS 6 PB 4-20 P 30. Part. No. 103.6189 Ser. No. 91139. 2008.12.18. KARL DEUTSCH Prof- und Messgeratebau GmbH Co. KG. Vupertalis, Vokietija“, pralaidos juosta -6 dB lygyje 3-17 MHz), kur atstumas tarp atspindėtuvo ir keitiklio buvo pasirinktas atitinkamai pagal keitiklio spinduliavimo židinio atstumą (atstumas lygus 3 cm). Keitiklis buvo nukreiptas taip, kad ultragarso bangos sklįstų statmenai į atspindėtuvą. Tarp keitiklio ir atspindėtuvo buvo įterpta skaidri guminė žarnelė, per kurią buvo pumpuojamas įvairiomis dalelėmis prisotintas skystis. Skystis buvo pumpuojamas „Gamp 50130“ išcentrinio siurblio pagalba. Siunčiamų ir priimamų signalų stebėjimui buvo panaudotas osciloskopas „PicoScope 5243B“. Osciloskopo pagalba stebimi signalai buvo išsaugomi kompiuterio atmintyje. Ultragarso bangas generavo impulsinis generatorius „UT340 UTEX“. Impulsiniame generatoriuje žemų dažnių filtras slopino dažnius esančius virš 20 MHz, o aukštų dažnių filtras slopino dažnius esančius žemiau negu 1 MHz (pralaidos juosta nuo 1 iki 20 MHz). Pasirinkta įtampa buvo lygi 100 V, o stiprinimas siekė 55 dB. Kuomet eksperimentų metu buvo naudojami mikroburbulai, tuo atveju būdavo įjungiamas mikroburbulų generatorius, kur burbulai buvo generuojami pasitelkiant papildomą ultragarsinį keitiklį ir nuolatinės ultragarsinės bangos generatorių.



2.1.1 pav. Eksperimentų metu naudotos įrangos sujungimo struktūrinė schema

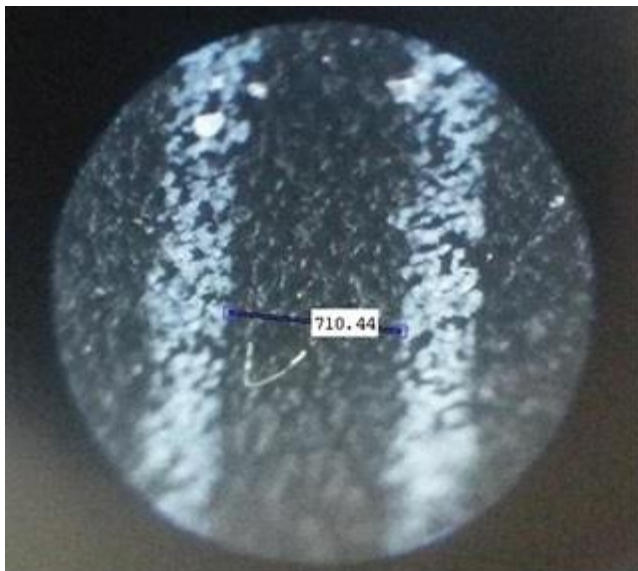
Eksperimentų metu impulsinis generatorius siuntė 100 V impulsinius signalus, kur impulsų pasikartojimo dažnis (angl. PRF – Pulse Repetition Frequency), kai naudojama žarnelė buvo 13 kHz. Vieno signalo periodo metu, aktyvi signalo dalis truko 5 μ s (impulso trukmė \sim 76,9 μ s). Kompiuterio atmintyje išsaugomi signalai buvo 1 sekundės trukmės.



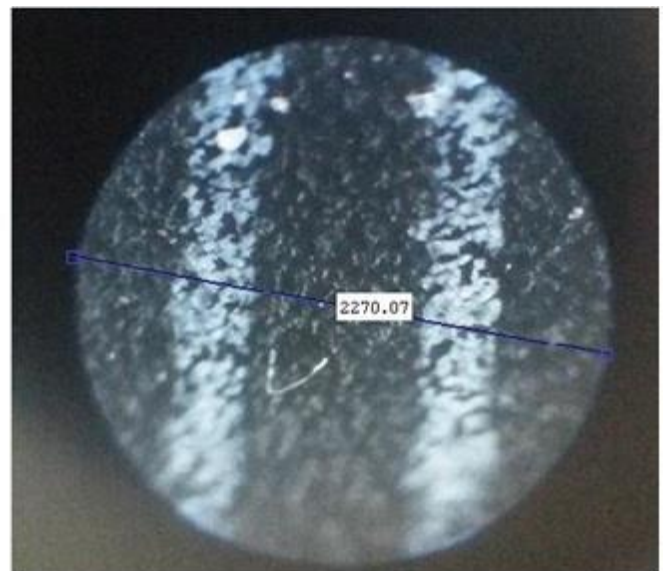
2.1.2 pav. Patobulinta, eksperimentų metu naudotos įrangos sujungimo struktūrinė schema

Atlikus pirmuosius eksperimentus buvo nuspręsta esamą įrangą patobulinti. 2.1.2 pav. pateikta patobulinta naudojamos įrangos sujungimo struktūrinė schema. Pakeitimai buvo susiję su žarnele. Vietoj jos buvo patalpinta kiuvetė, kurioje iškirsti du langai. Prie lango apačioje buvo pritvirtintas idealus atspindėtuvas, o lange esančiame aukščiau buvo pritvirtinta plona (15-30 μm storio) plėvelė. Plona plėvelė užtikrino, kad ultragarso bangos bus mažiau atspindimos ir turės mažesnę įtaką tolimesniam bangų sklidimui. Idealiu atspindėtuvu buvo panaudota organinio stiklo plokštelė, kurios storis buvo 9 mm. Ultragarso bangų atsispindėjimą nuo ribos vanduo – organinis stiklas laikome idealiu, nes šių medžiagų akustiniai impedansai skiriasi beveik du kartus (atitinkamai 1,8 ir 3,1 kg/s m^2). Esant 9 mm plokštelės storiui išvengiama aido impulsų atspindėtų nuo plokštelės sienelių persidengimo laike (arba interferencijos), nes šie impulsai stebimi nutolę vienas nuo kito. Todėl impulsą nuo ribos vanduo – organinis stiklas laikome atraminiu, o jo spektrą – atraminiu spektru. Patobulinus įrangą, šiuo atveju keitiklio spinduliavimo židinyje buvo nukreiptas taip, kad jis būtų kiuvetės viduryje. Taip pat visa sistema buvo sutvirtinta, kad eksperimentų metu nebūtų judėjimo tarp kiuvetės ir keitiklio, kadangi prieš tai dėl lankščios žarnelės to realizuoti nepavyko. Šiuo atveju pasikeitė impulsų pasikartojimo dažnis, jis buvo lygus 8 kHz, impulso trukmė lygi 125 μs , o diskretizavimo periodas - 2 ns. Kompiuterio atmintyje išsaugomi signalai buvo 100 ms trukmės.

Ekspertimentų metu buvo tiriami burbulai ir mikroburbulai. Mikroburbulais vadinamos dalelės, kurių diametras nuo 1 μm iki 1 mm, todėl yra svarbu nustatyti, kokio dydžio mikroburbulus generavo mikroburbulų generatorius. Tam išsiaiškinti buvo pasitelktas „D11 Biolam“ (LOMO, Saint-Petersburg, Rusija) mikroskopas su x10 okuliaru ir x40 objektyvu bei fotoaparatas, esantis „Samsung Galaxy S5“ išmaniajame telefone. Nuotraukų dydis jų darymu metu buvo 5312x2988 (16:9) 16 MP.



a)

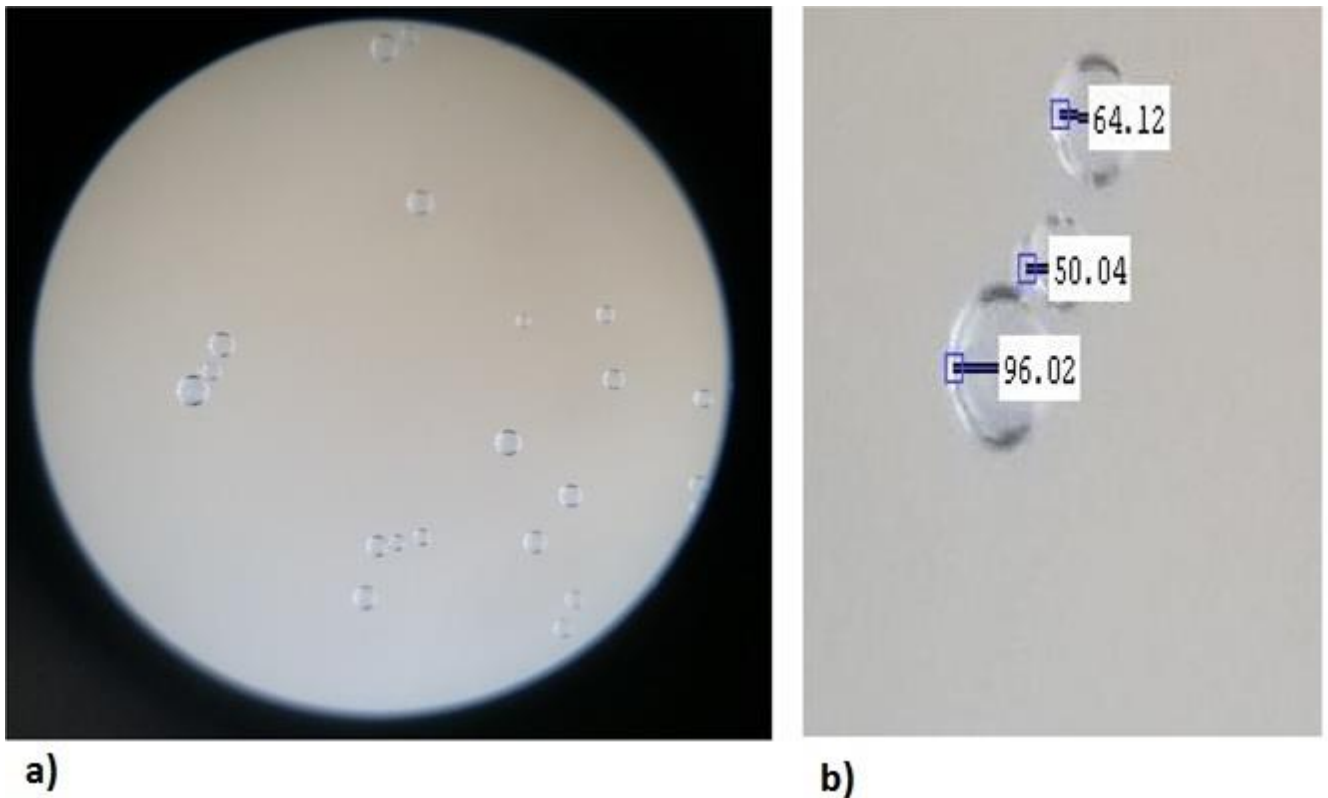


b)

2.1.3 pav. Nufotografuoti per mikroskopą matomi vaizdai: a) liniuotė su išmatuotuotu pikselių skaičiumi tarp 1 mm, b) liniuotė su išmatuotu pikselių skaičiumi per visą matomą mikroskopo langą

Aukščiau pateiktame 2.1.3 pav. matome nufotografuotus vaizdus, kurie matomi per mikroskopą. Kadangi galimybės mikroskopą ir fotoapratą sutvirtinti taip, kad jie nejudėtų nebuvo, todėl 2.1.3 pav. pagalba bus rastas matomo per mikroskopą lauko plotis, kuris yra pastovus ir nekinta. Po mikroskopu buvo padėta liniuotė, o matomas vaizdas per mikroskopą buvo nufotografuotas. Toliau ši nuotrauka buvo apdorota „Matlab“ programinės įrangos pagalba pasitelkus *imtool()* funkciją. Pirmiausia buvo išmatuota kiek pikselių atitinka 1 mm (2.1.3 pav. a)) ir kiek pikselių atitinka visą matomą mikroskopo lauko plotį (2.1.3 pav. b)). Atlikus skaičiavimus nustatyta, kad matomo lauko plotis lygus ~3,1972 mm. Šis skaičius bus atraminis atliekant mikroburbulų dydžių įvertinimą.

Po mikroskopu patalpinus kiuvetę, kuria tekėjo mikroburbulai ir sufokusavus mikroskopą ties viršutine sienele buvo nufotografuota keletas nuotraukų. Nuotraukos buvo nufotografuotos, kai tėkmė buvo sustabdyta, o tirpale esantys mikroburbulai nusėdo ant viršutinės kiuvetės sienelės.



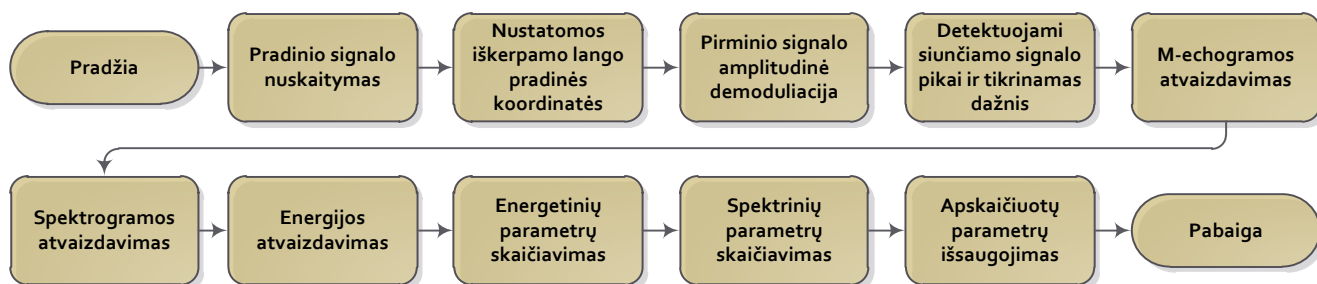
2.1.4 pav. Nufotografuotas per mikroskopą matomas vaizdas: a) kai ant kiuvetės sienelės nusėdę mikroburbulai, b) trys išskirti mikroburbulai iš a) paveikslo, kurių diametras skaičiuojamas pikseliais

Remiantis 2.1.4 pav. a) pateikta nuotrauka buvo nustatytas vyraujantis mikroburbulų diametras. Pirmiausia žinant atraminį matomo lauko plotį milimetrais buvo rastas naujosios nuotraukos matomo lauko plotis pikseliais, kas padėjo nustatyti, kiek naujoje nuotraukoje 1 pikselis atitinka milimetrų. Žinant pikselio vertę milimetrais buvo išmauti visų matomų mikroburbulų diametrai pikseliais (pavyzdys 2.1.4 pav. b)). Gautos vertės pikseliais buvo konvertuotos į μm .

Išmatavus 19 skirtingų mikroburbulų diametrus nustatyta, kad mažiausias mikroburbulas, kurio diametras lygus $\sim 55 \mu\text{m}$, didžiausias siekė $\sim 140 \mu\text{m}$, o mikroburbulų diametro vidurkis buvo apie $83 \mu\text{m}$.

2.2. Ultragarinių duomenų analizės algoritmas

Surinkti ir kompiuterio atmintyje išsaugoti signalai toliau buvo apdorojami „Matlab“ programinės įrangos pagalba remiantis 2.2.1 pav. pateiktu algoritmu.



2.2.1 pav. Algoritmas, kuriuo remiantis buvo atliekamas dalelių charakterizavimas

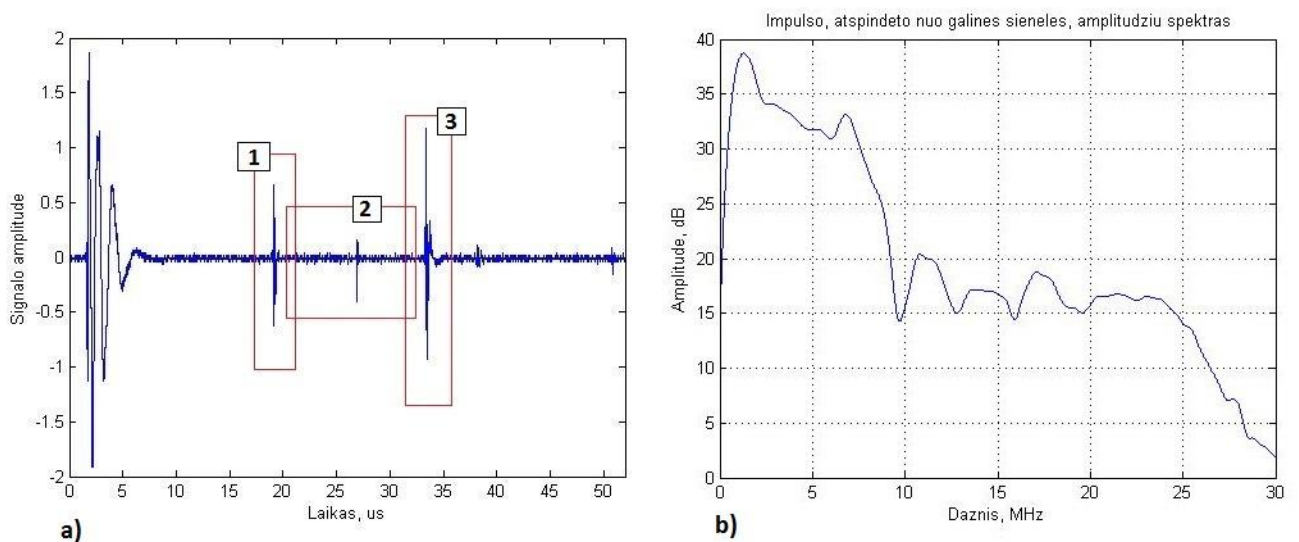
Kadangi tyrimų metu buvo tiriami ne tik mikroburbulai, bet ir burbulai, todėl bendru atveju toliau bus sakoma, kad charakterizuojami ne mikroburbulai, o dalelės. Remiantis 2.2.1 pav. pateiktu algoritmu, pirmiausia buvo atliekamas pirminio signalo nuskaitymas. Žinant dominančią vietą, nustatomos koordinatės, kurių pagalba selektuojama pasirinkta dalelė. Langas, kuriuo selektuojamos dalelės visais atvejais yra fiksuoto dydžio. Toliau yra atliekama pirminio signalo demoduliacija *butter()* ir *filtfilt()* funkcijų pagalba. Amplitudė demoduliuotas signalas turi išsiskiriančius aukštos amplitudės pikus ties siunčiamo signalo vieta. Šie pikai užsidavus tam tikrą ribą yra detektuojami, suskaičiuojamas jų skaičius. Žinant jų skaičių randamas dažnis, kuris turi sutikti su IPD dažniu. Jei šie dažniai nesutampa – pradinis signalas apdorotas netinkamai.

Selektavus dominančią sritį ir sėkmingai apdorojus pradinį signalą toliau yra pateikiamas selektuotos srities M-echogramos vaizdas, atvaizduojama spektrograma ir energijos kreivė. Remiantis šiais duomenimis iš energijos kreivės randama maksimali ir visos kreivės vidutinė energijos, o iš spektrinių duomenų randama dažnis, ties kuriuo signalo amplitudė yra didžiausia, čia rasta amplitudės vertė taip pat išsaugoma. Remiantis rasta maksimalia amplitudė – 3 dB lygyje randamas užimamos dažnių juostos plotis, bei juostos pradžia ir pabaiga. Taip pat išsaugomi papildomai parametrai, tokie kaip kokia tēkme tekėjo dalelės ir kokiam gylyje jos buvo detektuotos. Visi šie selektuotą dalelę charakterizuojantys duomenys yra išsaugomi į „MS Excel“ failą.

2.2.1. Pradinio signalo apdorojimas

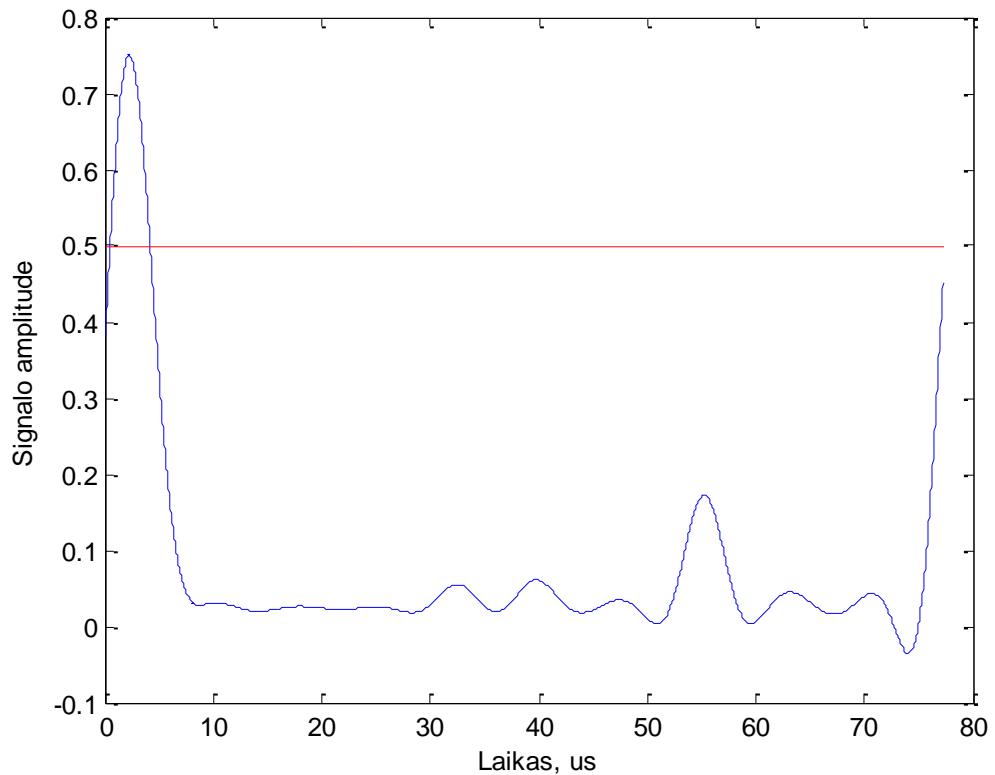
Surinkti signalai yra konvertuojami „PicoScope 5243B“ programinės įrangos pagalba į .mat failus, kurie toliau apdorojami „Matlab“ programinės įrangos pagalba. Kadangi vienos sekundės (ar 100 ms) trukmės įrašai sudaryti iš daug atskaitų, apdorojant pilnos trukmės įrašą skaičiavimai atliekami labai ilgą laiko tarpą, todėl siekiant paspartinti darbą pirmiausia iš šių įrašų selektuojamos dominančios laiko atkarpos.

2.2.1.1 pav. a) pateikiama išsiųsto ir priimto signalo pavyzdys. Pirmosios 5 μs – tai išsiunčiama ultragarso banga, o likusi signalo dalis – tai dalis, kurioje matosi priimamas atsispindėjęs signalas. Mus dominanti atkarpa yra maždaug tarp 19 ir 33 μs (paveiksle selektuota 2 langu). Šiais laiko momentais banga sklinda žarnelės vidumi. 2.2.1.1 pav b) pateiktas 2.2.1.1 pav. a) 3 langu selektuotos galinės sienelės amplitudžių spektras. Šis spektras parodo, kokių spektru tiriama terpė yra zonuojama. Remiantis pateiktu spektru, didžiausia amplitudė yra ties $\sim 1,17$ MHz, o dažnių juosta -20 dB lygyje yra nuo 0,1 MHz iki 9,2 MHz.



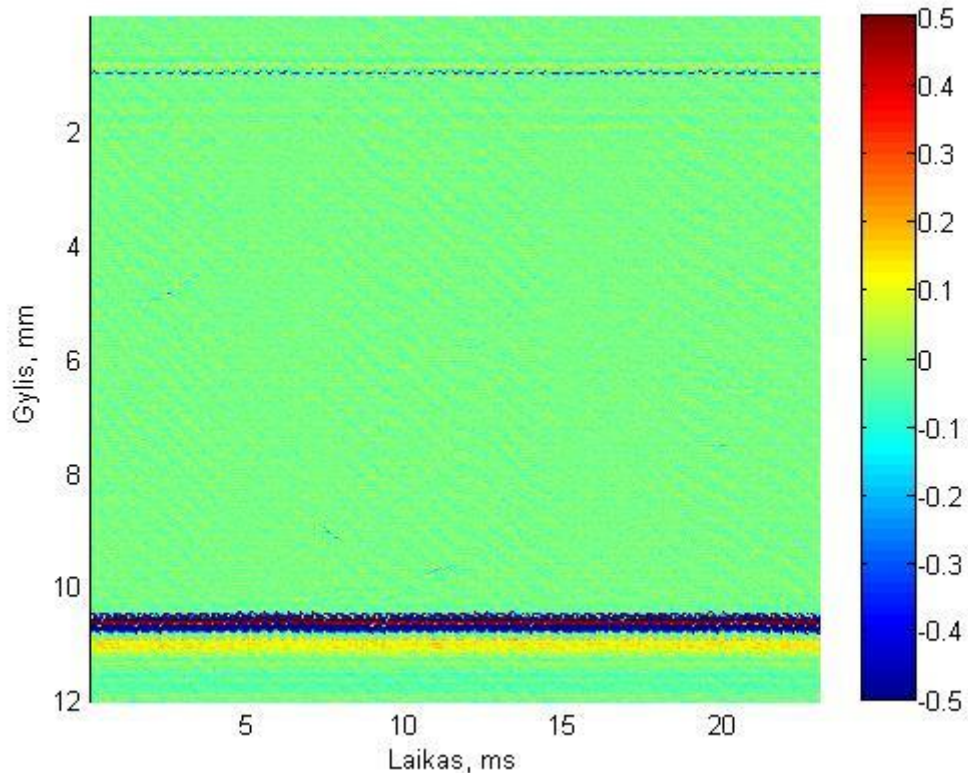
2.2.1.1 pav. a) vienas išsiųsto ir priimto signalo periodas: 1 — langu selektuotas priekinės sienelės impulsas; 2 – langu selektuota aidų signalo seka iš terpės; 3 – langu selektuotas galinės sienelės impulsas; b) impulso, atspindėto nuo galinės sienelės (idealaus atspindėtuvo), amplitudžių spektras

Siekiant įsitikinti, jog eksperimentų duomenys išsaugoti ir nuskaityti teisingai, pirmiausia atliekamas dažnio tikrinimas. Jo tikrinimui pasitelkiamas Butervorto žemų dažnių filtras, kurio pagalba signalas yra demoduliuojamas amplitude („Matlab“ funkcijos *butter()* ir *filtfilt()*). Amplitude demoduliuoto signalo pavyzdys pateikiamas 2.2.1.2 pav. Užsidavus pasirinktą ribą, kuri mūsų atveju yra lygi 0,5, yra detektuojami jos kirtimai, kurie įvyksta kiekvieno siunčiamo impulso vietoje. Žinome, kad vienos sekundės įrašą sudaro 13 tūkstančių (IPD lygus 13 kHz), 5 μs trukmės žadinimo impulsų, todėl tikrinant dažnį vienos sekundės įrašuose, 13 tūkstančių impulsų ir turėtų būti detektuoti.



2.2.1.2 pav. Vienas išsiųsto ir priimto signalo periodas atvaizduotas „Matlab“ pagalba po apdorojimo Butervorto žemų dažnių filtru. Raudona horizontali linija – pasirinkta slenksčio vertė

Toliau yra formuojamas M-echogramos vaizdas *surf()* funkcijos pagalba. Jo pavyzdys pateikiamas 2.2.1.3 pav. Pateiktame pavyzdyje iš visą gylį atvaizduojančios M-echogramos yra selektuojama tik mus dominanti vieta, žarnelės vidus ir jos sienelės. Abscisių ašyje pateikiamas laikas, o ordinačių – skenavimo gylis, čia spalvinė koduotė atitinka signalo amplitudę. Ties ~ 1 mm matome pirmąją viršutinę žarnelės sienelę (žarnelė pritvirtinta horizontaliai, o į ją statmenai iš viršaus yra nukreiptas ultragarso keitiklis). Ties ~11 mm yra matoma galinė žarnelės sienelė. Gylis nuo 1 mm iki 11 yra mus dominanti vieta – žarnelės vidus ir jos sienelės.



2.2.1.3 pav. Suformuotos M-echogramos vaizdo pavyzdys

Siekiant įrodyti, kad remiantis 2.2.1.1 pav. pateiktu signalu pagal išaugančias amplitudes buvo tinkamai nustatytos vietos, kur yra žarnelės sienelės ir jos vidus, bus atlikti papildomi preliminarūs skaičiavimai. Programinės įrangos „PicoScope 6 Automotive“ pagalba išmatuojamas apytikslis laiko tarpas, per kurį ultragarso banga sklido skysčiu esančiu žarnelės viduje, gautas rezultatas pateikiamas 2.2.1.4 pav.. Banga žarnelės viduje sklido $\sim 13,26 \mu\text{s}$.

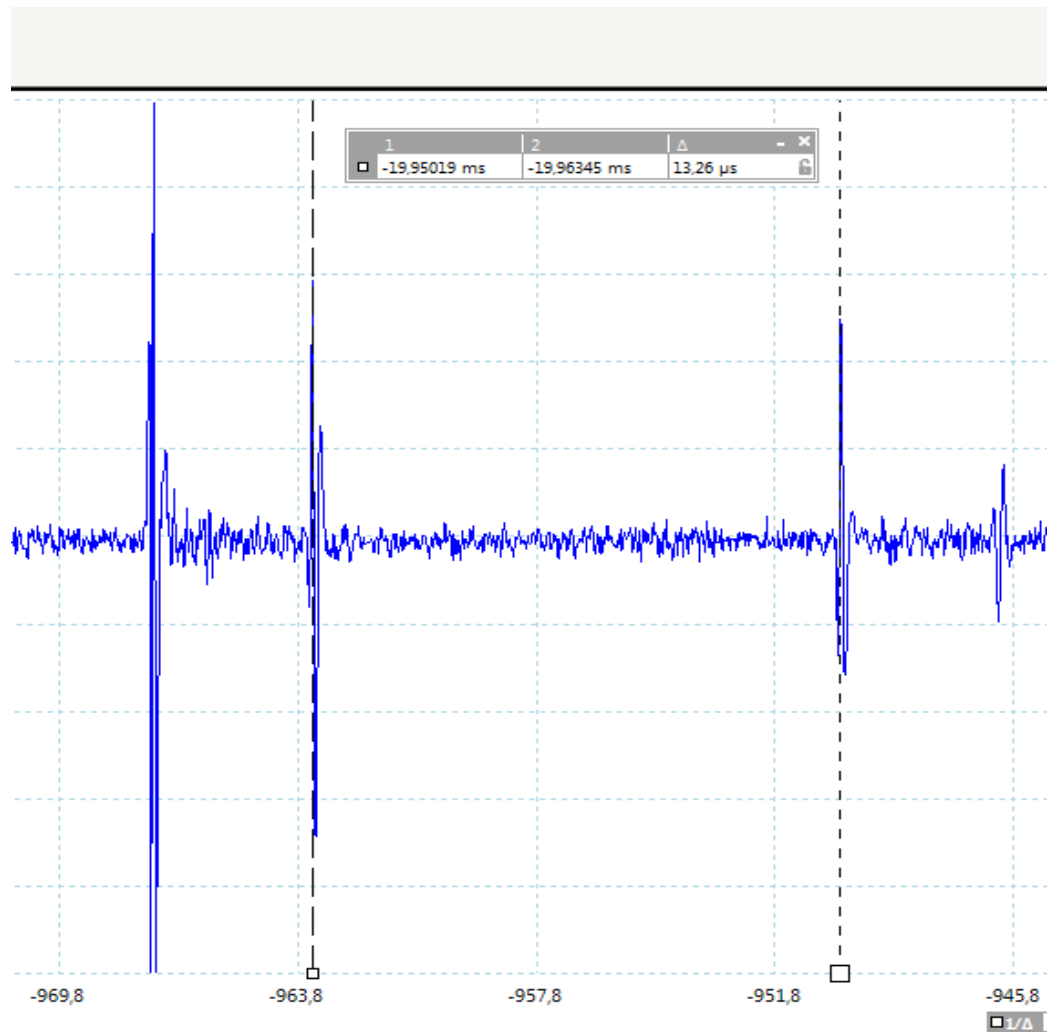
$$v = \frac{s}{t}; \quad (1)$$

Remiantis aukščiau pateikta greičio formule (1), surasime atstumą, kuris atitinka žarnelės storį. Formulėje v – greitis, kuris mūsų atveju atitinka ultragarso bangų sklidimo greitį vandenyje ir kuris lygus 1480 m/s; s – kelias, kurį sklis ultragarso banga žarnelės viduje; t – laikas per kurį ultragarso banga sklis žarnelės vidumi. Žemiau pateikiama mūsų atvejį atitinkanti pertvarkyta formulė:

$$s = \frac{v \cdot t}{2}; \quad (2)$$

Pertvarkytoje antrojoje formulėje mūsų nežinomas yra kelias s . Vardiklyje daliname iš dviejų todėl, kad ultragarso banga nukeliauja dvigubą atstumą, atsispindi nuo sienelės ir grįžta atgal į keitiklį. Įstačius mūsų žinomas vertes gauname, kad žarnelės storis s yra lygus $\sim 9,8$ mm. Tyrimų metu į žarnelę buvo įstatyta perdaryta kiuvetė, kurios vidiniai matmenys yra 10x10 mm. Kiuvetėje buvo iškirstas specialus langelis, kuris tyrimų metu buvo uždengtas plona plėvele, taip siekiant sumažinti žarnelės sienelių storio įtaką tyrimams. Taigi remiantis apytiksliu skaičiavimu mes galime patvirtinti,

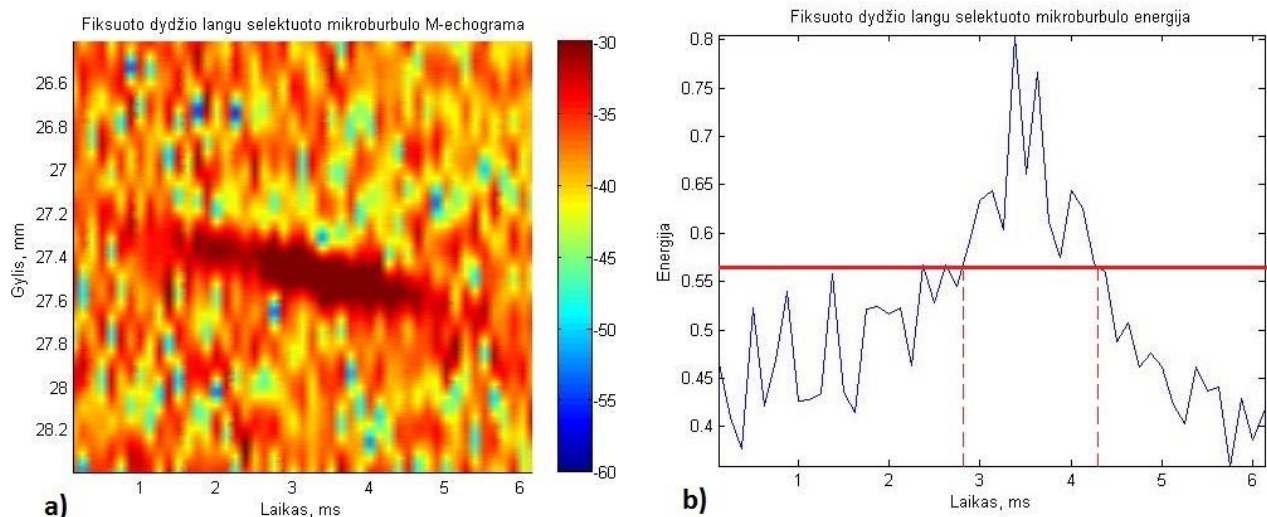
kad remiantis 2.2.1.1 pav. pateiktu signalu, pagal išaugančias amplitudes atspindžiai nuo atitinkamų vietų buvo nustatyti teisingai.



2.2.1.4 pav. „PicoScope 6 Automotive“ programinės įrangos pagalba matuojamas laikas, per kurį ultragarsas sklido kiuvetės vidumi

2.2.2. Energetiniai parametrai mikroburbulų charakterizavimui

Atlikus pirminį signalo apdorojimą toliau seka daleles charakterizuojančių parametru skaičiavimas. Pirmiausia buvo atliekami energetinių parametru skaičiavimai.



2.2.2.1 pav. Fiksuoto dydžio langu selektuoto mikroburbulo M-echograma a) ir to paties burbulo energijos pokytis laiko srityje b), kur raudona horizontali linija žymi -0,3 karto nuo maksimalios signalo amplitudės

Iš M-echogramos fiksuoto dydžio langu selektavus dominančią dalelę (2.2.2.1 pav. a)) toliau buvo atliekamas energijos skaičiavimas. Energija buvo apskaičiuojama remiantis (3) išraiška.

$$E(n) = \sum_{m=1}^k (x(m))^2 \quad (3)$$

Aukščiau pateiktos (3) išraiškos pagalba buvo apskaičiuojama selektuoto burbulo energija. Čia remiantis 2.2.2.1 pav. a) pateikta M echograma n atitiko laiko ašį, o m – gylį. Paprastai tariant signalo energija buvo randama kaip signalo dedamųjų kvadratų suma. Gauta energija E skirtingais laiko momentais n buvo pateikta 2.2.2.1 pav. b).

Toliau seka energijos parametrų skaičiavimas, tačiau prieš tai bus aptartas tyrimų metu iškilęs klausimas, kuris įtakojo tiek energetinių, tiek spektrinių parametrų skaičiavimo metodiką.

Fiksuoto dydžiu langu selektavus mikroburbulą M-echogramoje (2.2.2.1 pav. a)) ir radus jo energijos pokyčius bėgant laikui (2.2.2.1 pav. b)), kilo klausimas, kokio pločio turi būti analizuojamas regionas, kuriuo remiantis skaičiuojami energetiniai ir spektriniai parametrai? Galimi variantai:

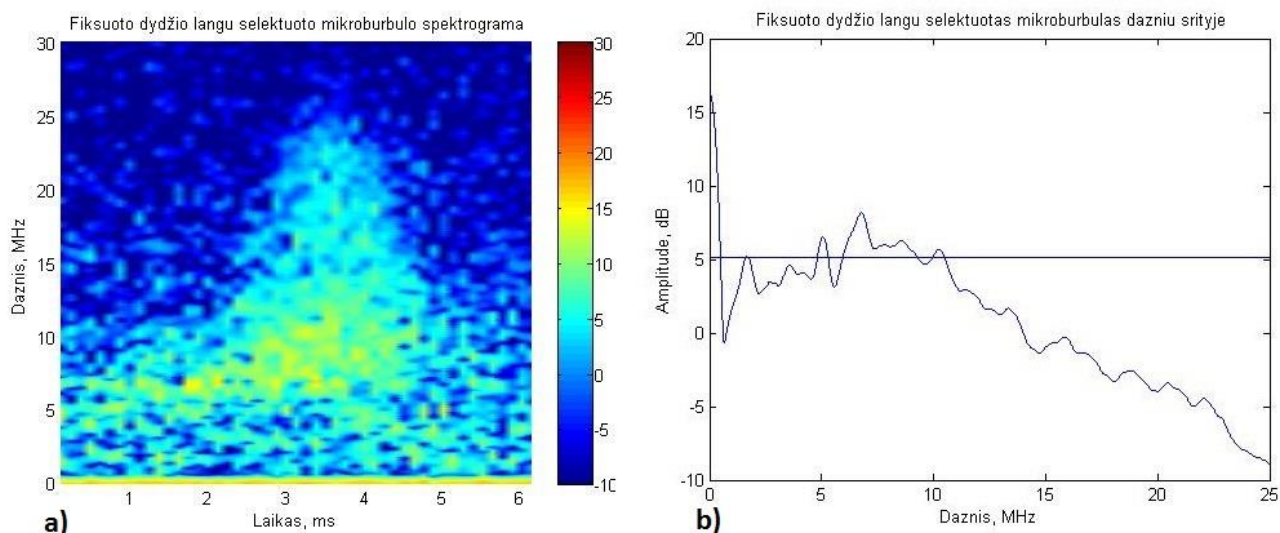
- Visus parametrus skaičiuoti kai analizuojamo regiono plotis yra visas selektavimui naudojamo lango plotis (~6 ms);
- Visus parametrus skaičiuoti kai analizuojamo regiono plotis yra -0,3 karto nuo maksimalios signalo energijos, čia 2.2.2.1 pav. b) -0,3 karto riba lygi ~0,56 energijos vertės, tad analizuojamo regiono plotis šiuo atveju ~1,2 ms.

Siekiant išsiaiškinti kuris variantas suteiks daugiau naudos atliekant dalelių charakterizavimą buvo nuspręsta visus parametrų skaičiavimus atlikti abiejais atvejais. Energetinių parametrų

skaičiavimo atveju buvo randama maksimali ir vidutinė signalo energijos esant skirtingam analizuojamo regiono pločiui.

2.2.3. Spektriniai parametrai mikroburbulų charakterizavimui

Apskaičiavus signalo energetinius parametrus laikinėje srityje toliau skaičiavimai tęsiami dažnių srityje.



2.2.3.1 pav. Fiksuoto dydžio langu selektuoto mikroburbulo spektrograma a) ir to paties burbulo aido impulso spektras b), kur horizontali linija žymi -3 dB lygį nuo maksimalios amplitudės

Furjė transformacijos bei *surf()* funkcijos pagalba gaunama 2.2.3.1 pav. a) pateikiama spektrograma. 2.2.3.1 pav. b) pateikiamas signalas dažnių srityje. Signalas dažnių srityje gaunamas vidurkinant visą analizuojamą regioną (gaunamas atstojamasis suvidurkintas spektras). Remiantis 2.2.3.1 pav. toliau randami visi spektriniai parametrai, kai analizuojamo regiono plotis vienu atveju yra lygus selektavimo lango dydžiui bei kitu atveju, kai yra lygus juostos pločiui -0,3 karto nuo maksimalios signalo energijos vertės.

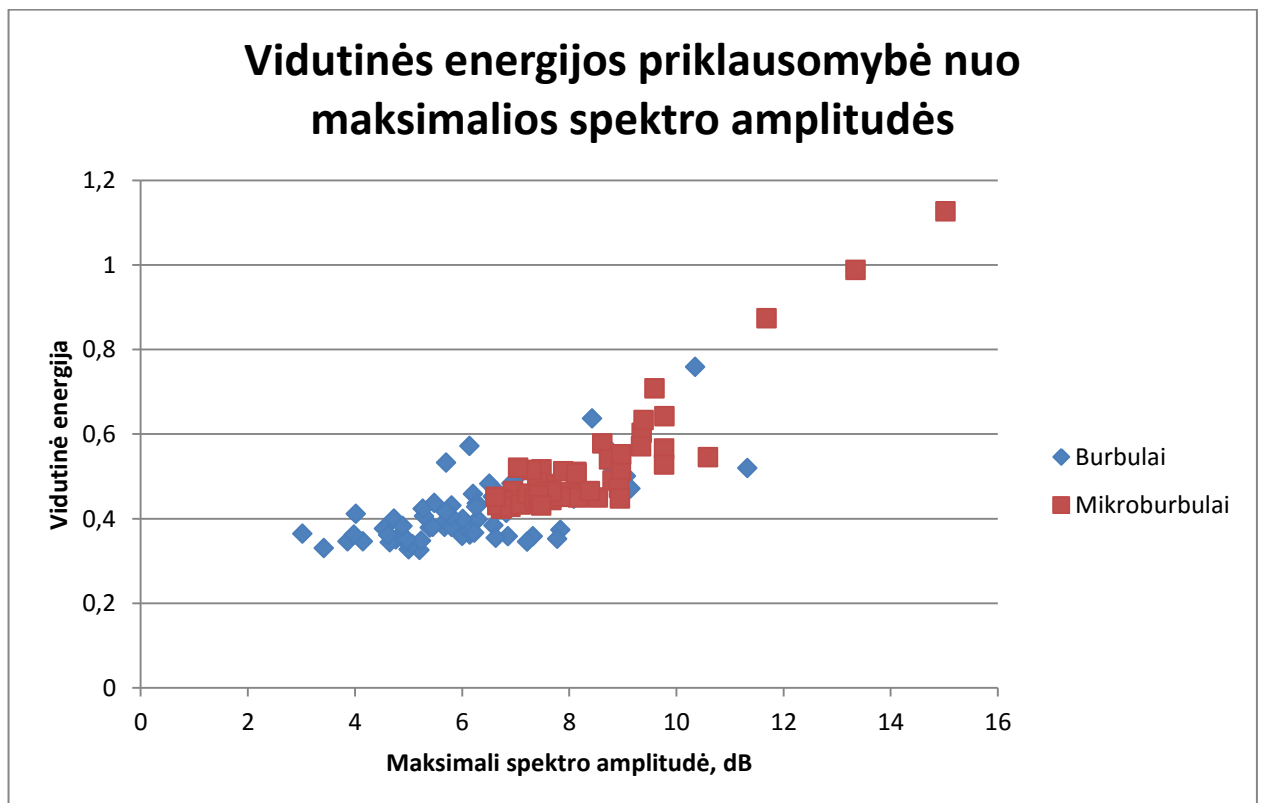
Pirmiausia dažnių srityje (2.2.3.1 Pav. a)) randama maksimali signalo amplitudė (pikas iki 0,6 MHz yra ignoruojamas). Ją radus ir užfiksavus jos vertę randamas ir užfiksuojamas ties ta verte esantis dažnis. Žinant maksimalią signalo amplitudę, -3 dB lygyje randama ir užfiksuojama užimamos dažnių juostos plotis, jos pradžia ir pabaiga. Šie surinkti duomenys toliau bus panaudoti dalelių charakterizavimui.

2.3. Ultragarsinių duomenų analizės rezultatai

Kaip jau buvo aprašyta ankščiau, visi parametrai buvo apskaičiuoti dviem skirtingais atvejais, kai skyrėsi analizuojamo regiono plotis. Teigiamų rezultatų nepavyko gauti, kurie padėtų charakterizuoti daleles, kai analizuojamo regiono plotis buvo lygus juostos pločiui -0,3 karto nuo maksimalios signalo energijos, todėl gauti duomenys remiantis šiuo metodu šiame darbe nebus pateikti. Toliau šiame darbe pateikti duomenys bus gauti, kai analizuojamo regiono plotis bus lygus selektavimui naudojamam lango pločiui.

2.3.1. Nespektrinis mikroburbulų detektavimas tėkmėje

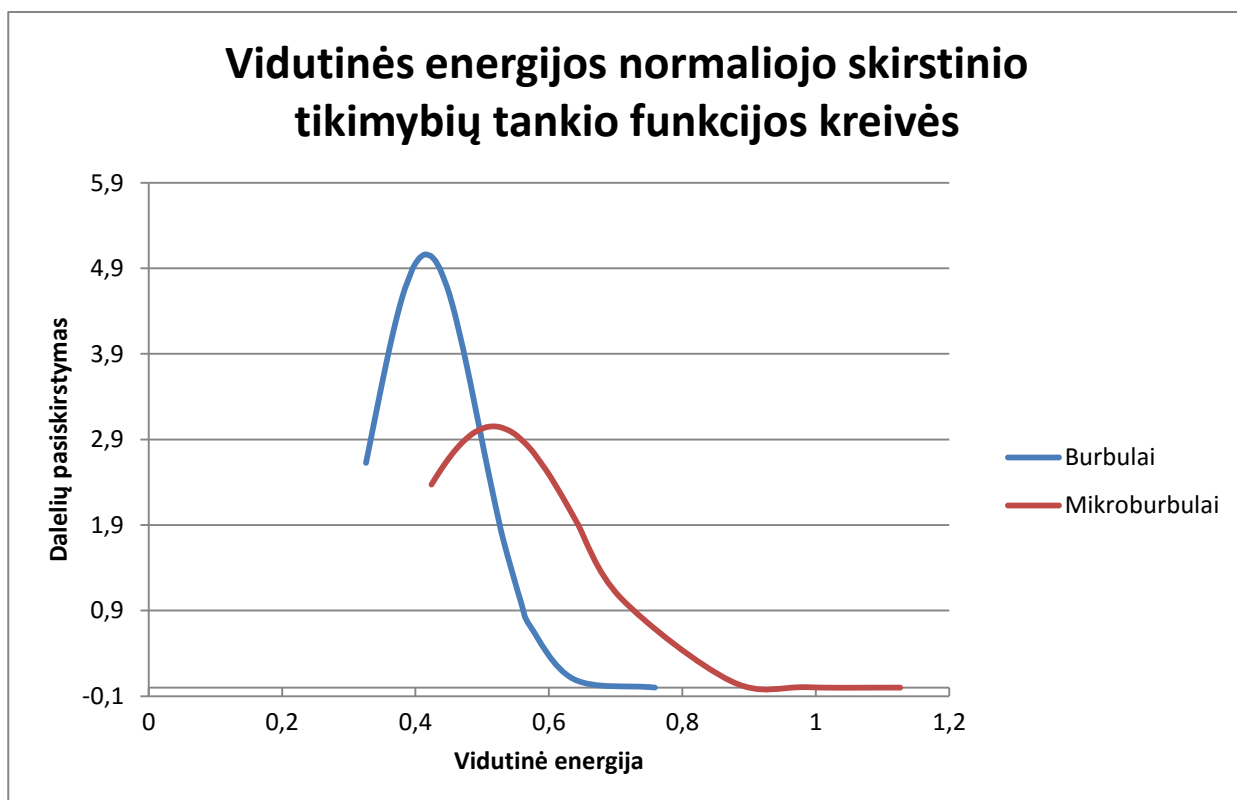
Atlikus dalelių išskarpymą iš M-echogramos vaizdų, bei apskaičiavus kiekvienos atskiros dalelės energetinius ir spektrinius parametrus, buvo tiriamos įvairių parametrų priklausomybės. Vidutinės energijos priklausomybėje nuo maksimalios spektro amplitudės, kuri pateikiama 2.3.1.1 pav. pavyko pastebėti, kad tarp skirtingų dydžių dalelių vidutinė jų energija skirtinga.



2.3.1.1 pav. Vidutinės energijos priklausomybė nuo maksimalios spektro amplitudės, kai tėkmė yra pastovi ir lygi 2,61 l/min, o tarpusavyje yra lyginami burbulai ir mikroburbulai

Aukščiau pateiktame 2.3.1.1 pav. tarpusavyje lyginamos skirtingų dydžių, tačiau tokiu pačiu, 2,61 l/min, tėkmė judančios dalelės. Mėlyna spalva pažymėti burbulai pasižymi vidutine energija, kuri vizualiai vertinant paveikslą retai viršija 0,43 vidutinės energijos ribą. Ruda spalva pažymėti mikroburbulai pasižymi vidutine energija, kuri yra dažniausiai didesnė nei 0,43 riba.

Siekiant įvertinti ties kuriomis vidutinės energijos vertėmis turime didžiausias atskirų dalelių koncentracijas pasitelkiamas normalusis (Gauso) skirstinys. Žemiau esančiame 2.3.1.2 pav. pateikiama vidutinės energijos normaliojo skirstinio tikimybių tankio funkcijos kreivės.



2.3.1.2 pav. Vidutinės energijos normaliojo skirstinio tikimybių tankio funkcijų kreivės, kai tėkmė yra pastovi ir lygi 2,61 l/min, o tarpusavyje yra lyginami burbulai ir mikroburbulai

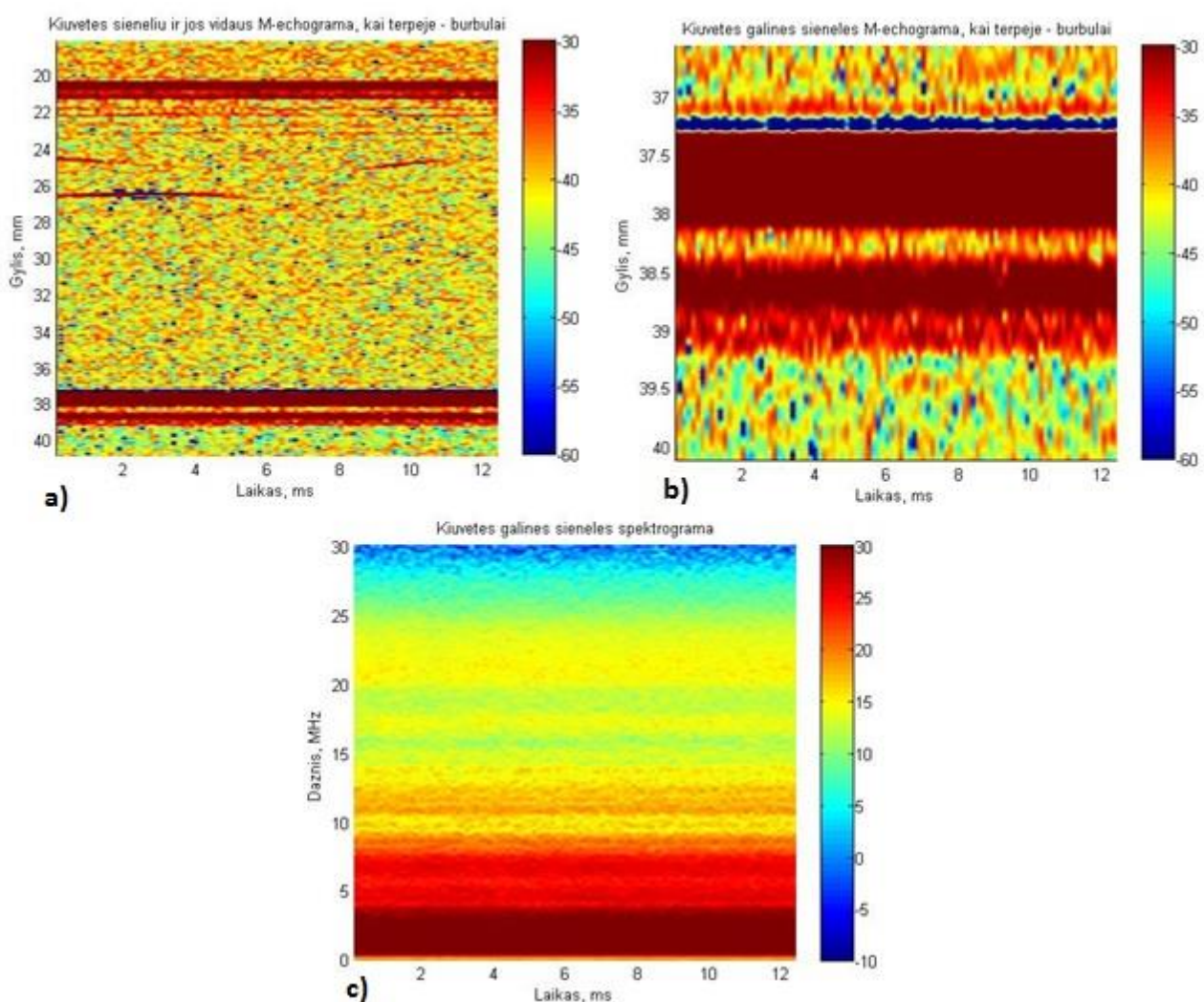
Iš aukščiau pateikto 2.3.1.2 pav. matyti, kad burbulų ir mikroburbulų didžiausios koncentracijos pasiekiamos ties skirtingomis vidutinės energijos vertėmis. Didžiausia koncentracija pasiekama burbulų atveju, čia jie susikoncentravę ties 0,4 verte. Mikroburbulų atveju didžiausia dalelių koncentracija su vidutinės energijos verte lygia $\sim 0,5$. Nors abi kreivės tarpusavyje persidengia, kas idealiu atveju nėra gerai, visgi reiktų nepamiršti, kad burbulų atveju burbulus generavo išcentrinis siurblys, o tai reiškia, kad jis galėjo sugeneruoti ir mikroburbulų ir burbulų.

Nors labai akivaizdaus skirstumo tarp skirtingų dalelių lyginant jų vidutinę energiją nematome, visgi šis daug ilgai trunkančių skaičiavimų nereikalaujantis vidutinės energijos skaičiavimo metodas, gali padėti preliminariai nustatyti, kokio dydžio dalelės teka kiuvetėje, pagal užsiduotą tam tikrą

energijos lygį. Jeigu vidutinė energija yra žemesnė už užsiduotą lygį, šiuo atveju tai gali būti 0,43, tuomet daleles galima priskirti burbulams, jei lygis yra viršijamas, daleles galima priskirti mikroburbulams.

2.3.2. Atraminio atspindėtuvo spektro vertinimas

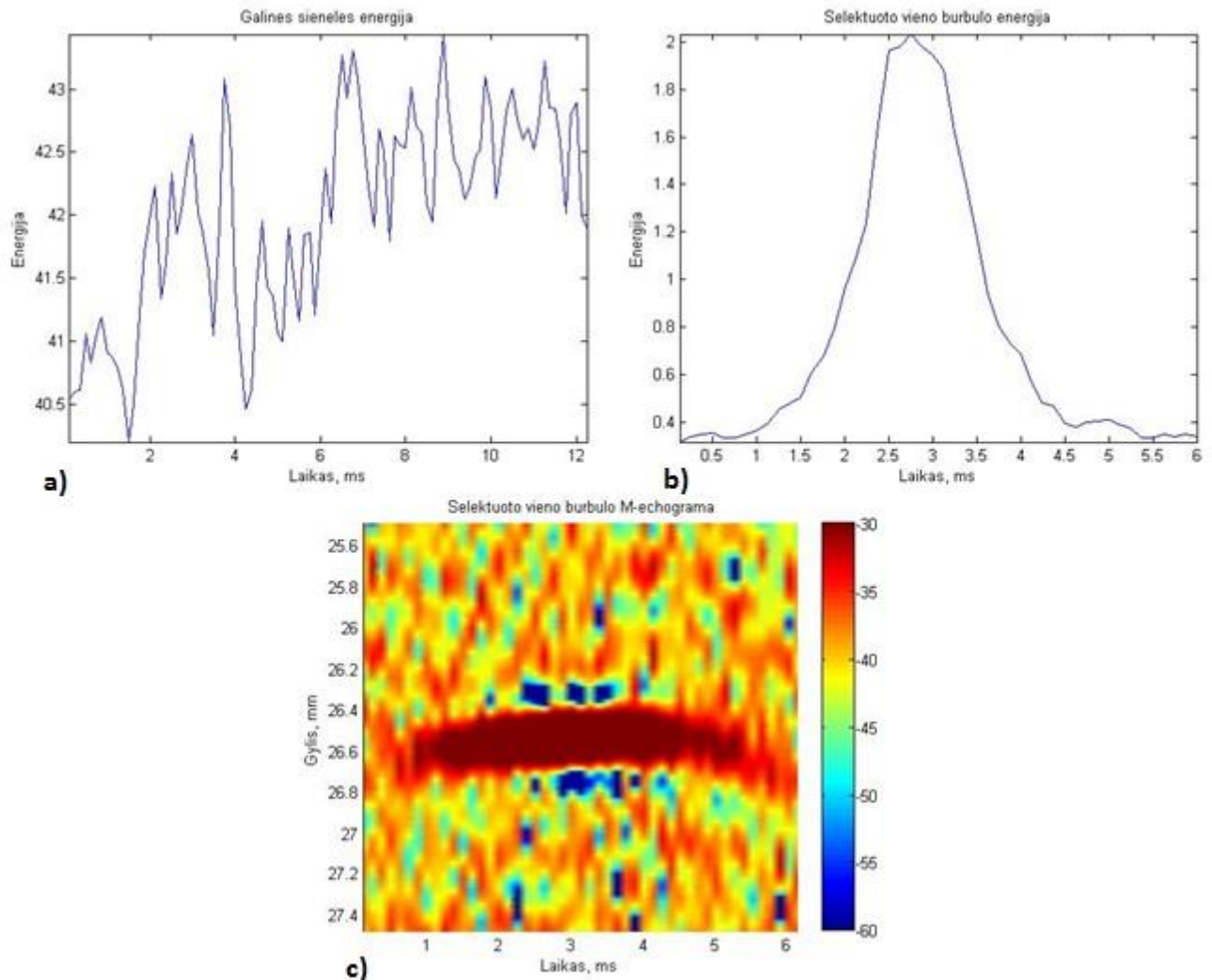
Remiantis ankščiau atliktais tyrimais [12] ir [13], kiuvetės viduje stebėti vykstančius pokyčius yra geriausia stebint atraminio atspindėtuvo spektrą. Šiuo atveju atraminis atspindėtuvas yra galinė kiuvetės sienelė.



2.3.2.1 pav. Kiuvetės sienelių ir kiuvetės vidaus M-echogramos vaizdas a). Kiuvetės galinės sienelės M-echogramos vaizdas b). Aido impulso nuo galinės sienelės spektrograma c)

Aukščiau pateiktuose 2.3.2.1 pav. a) ir b) matyti apie 12 ms trukmės M-echogramos vaizdai, kai kiuvete teka burbulai 2,61 l/min tėkme. 2.3.2.1 pav. a) matome bendrą kiuvetės vidaus ir kiuvetės sienelių M-echogramos vaizdą, o 2.3.2.1 pav. b) kiuvetės galinės sienelės M-echogramos vaizdas.

2.3.2.1 pav. c) pateikiama aido impulso nuo galinės sienelės spektrograma. Kaip matyti iš spektrogramos, nėra jokių vizualinių pokyčių dažnių ašyje bėgant laikui, nors burbulai kiuvetėje buvo fiksuojami maždaug šiuose laiko intervaluose 0-6 ms bei 8,5-10,5 ms. Paaškinimas, kodėl nematomi jokie spektriniai pokyčiai ties galine sienele yra pateikiamas 2.3.2.2 pav..



2.3.2.2 pav. Galinės sienelės energijos pokyčiai kintant laikui a). Selektuoto vieno burbulo energijos pokyčiai kintant laikui b). Selektuoto burbulo M-echograma c)

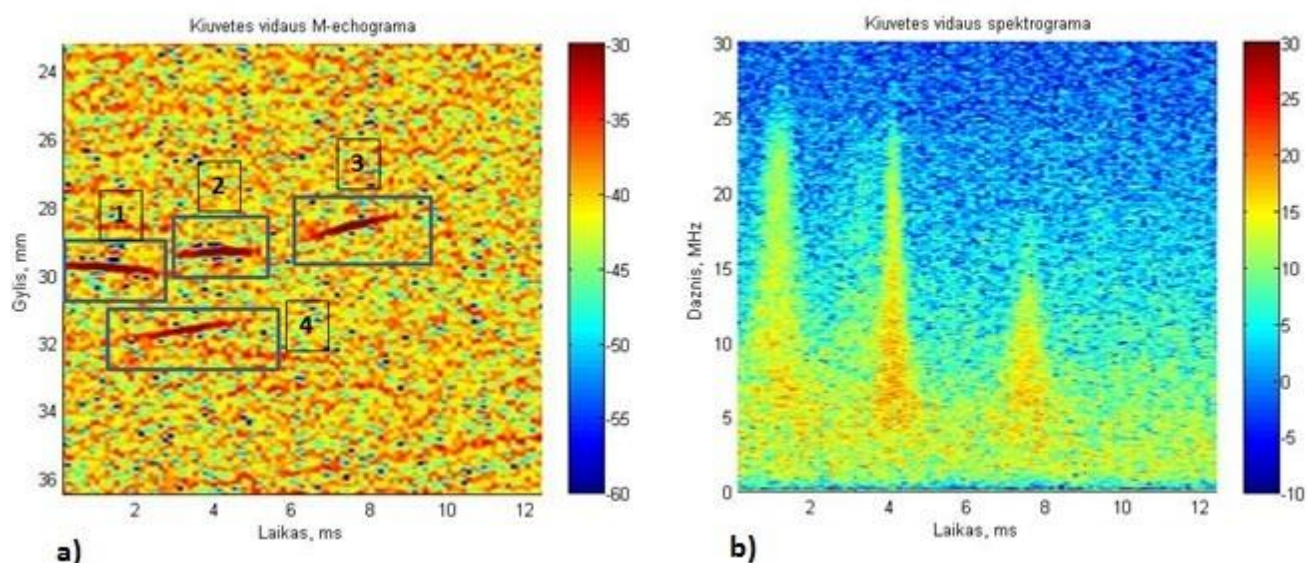
Remiantis 2.3.2.2 pav. galima rasti paaškinimą, kodėl galinės sienelės spektrogramose nematomi jokie pokyčiai. 2.3.2.2 a) pateikiama 12 ms intervale visos galinės sienelės energijos pokyčiai. 2.3.2.2 c) 6 ms trukmės M-echograma, kurioje matomas selektuotas vienas pasirinktas mikroburbulas (jis yra iš 2.3.2.1 pav. a) matomos M-echogramos, iš jos selektuotas burbulas, kuris buvo matomas nuo 0 iki 6 ms). 2.3.2.2 b) matomi šio selektuoto burbulo energijos pokyčiai. Lyginant tarpusavyje galinės sienelės ir selektuoto burbulo energijų pokyčius galima pastebėti, kad skiriasi jų maksimalios energijos vertės. Galinės sienelės atveju maksimali energijos vertė viršija 43, o selektuoto

burbulo atveju energijos vertė lygi 2. Lyginant šias vertes tarpusavyje jos skiriasi ~20 kartų, o tai ir yra paaiškinimas, kodėl nematomi jokie spektriniai pokyčiai analizuojant galinės sienelės spektrą.

Apibendrinant galima teigti, kad pavienių dalelių atspindima energija atgal į keitiklį mūsų eksperimentų metu yra per maža, kad ji būtų pastebima analizuojant galinės sienelės spektrinę sudėtį.

2.3.3. Vizualinis burbulų spektrinių ir energetinių savybių įvertinimas

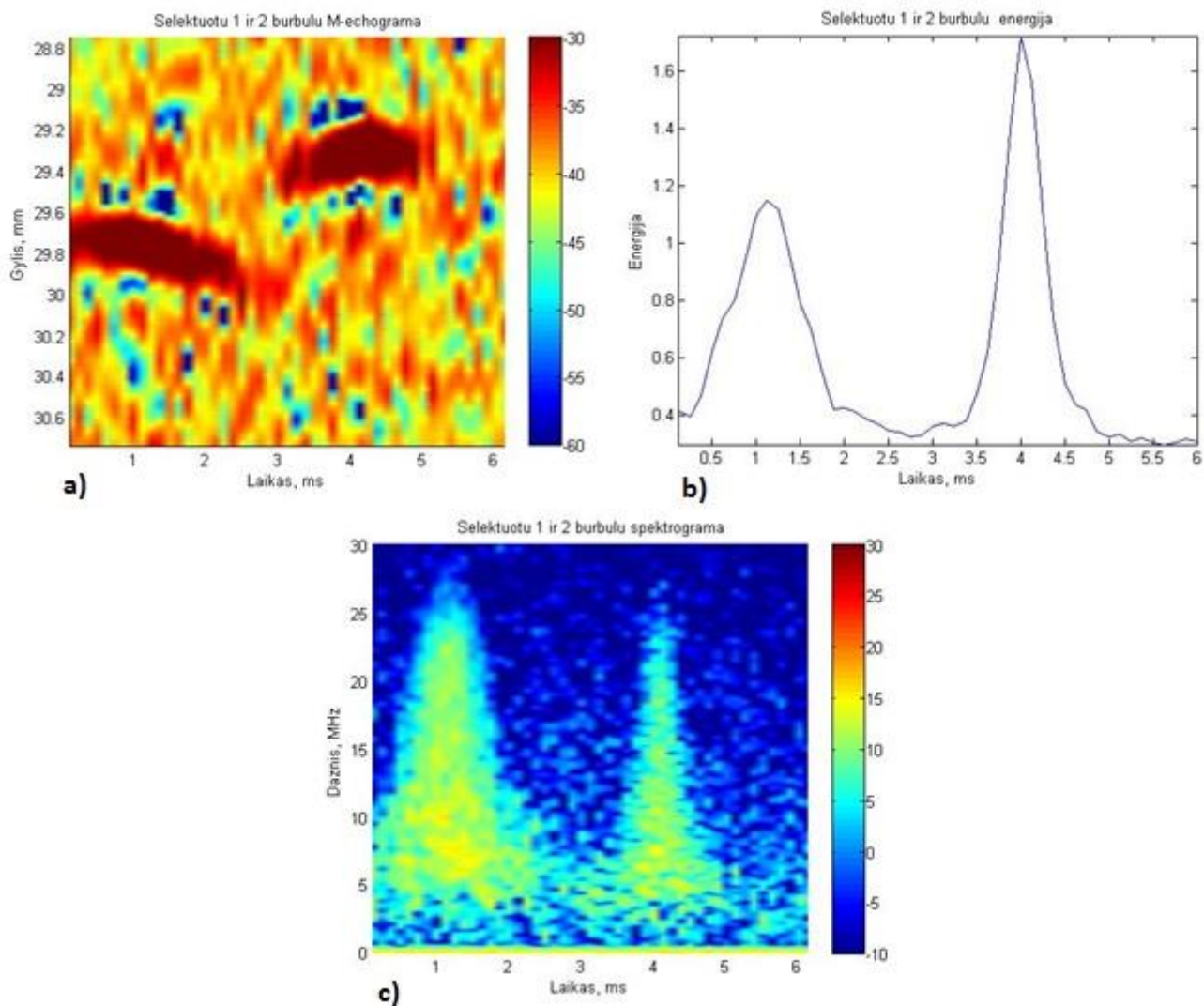
Prieš atliekant mikroburbulų charakterizavimą apskaičiuotais parametrais, pirmiausia yra atliekamas vizualinis burbulų energetinių ir spektrinių savybių įvertinimas.



2.3.3.1 pav. Kiuvetės vidaus M-echogramos vaizdas su pažymėtais 4 skirtingais burbulais a). Gauta kiuvetės vidaus spektrograma b)

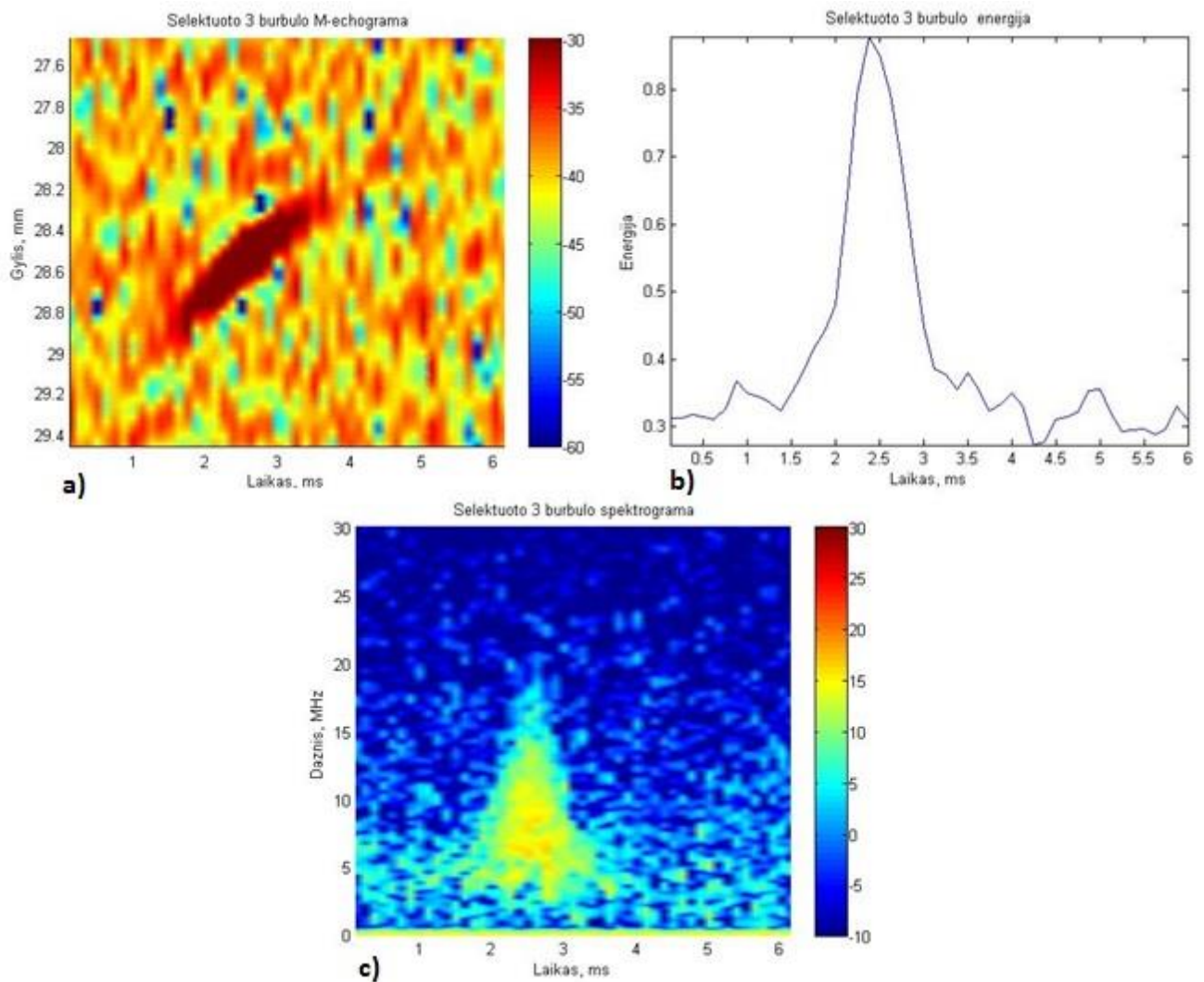
Aukščiau pateiktame 2.3.3.1 pav. a) pateikta 12 ms trukmės, kiuvetės vidaus M-echograma, kurioje detektuoti ir numeriais sužymėti 4 skirtingi burbulai. 2.3.3.1 pav. b) pateikta kiuvetės vidaus spektrograma. Spektrogramoje galima pastebėti tris aiškius amplitudžių pokyčius ties aukštesniais dažniais, kurie remiantis laikų momentais atitinka 1, 2 ir 3 detektuotus burbulus M-echogramoje. Numeriu 4 pažymėto burbulio spektrogramoje išskirti vizualiai negalime.

Toliau šie numeriais sužymėti burbulai yra selektuojami vienodo dydžio langais iš pagrindinės M-echogramos. Gauti rezultatai pateikiami paveiksluose žemiau.



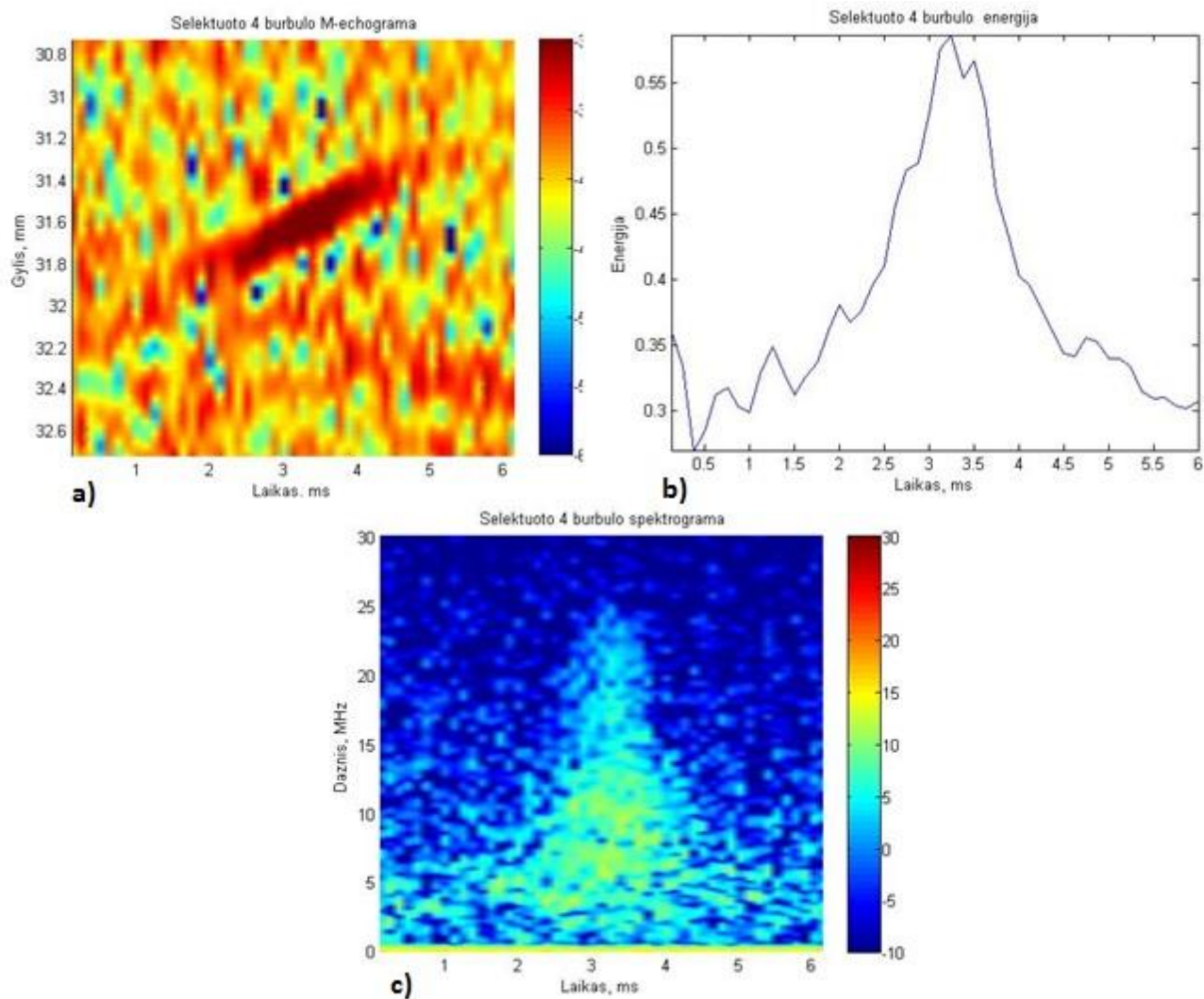
2.3.3.2 pav. M-echogramos vaizdas, kai selektuoti 1 ir 2 burbulai a). Apskaičiuota jų energija b). Gauta spektrograma c)

Pasirinkus fiksuotą lango dydį burbulų selektavimui nepavyko burbulų selektuoti taip, bubulai pasiskirstytų po vieną burbulą į vieną langą. Aukščiau pateiktame 2.3.3.2 pav. a) matome selektuotus 1 ir 2 burbulus. Analizuojant M-echogramą abiejų burbulų ryškumas ir užimamas plotas atrodo panašūs, tačiau pažvelgus į gautą energiją 2.3.3.2 pav. b), matyti, kad maksimalios energijos skirtumas tarp burbulų siekia apie 0,5. Spektrogramoje taip pat matome skirtumus tarp burbulų. Mažesnės maksimalios energijos ir ilgesnį laiko tarpą pasirodęs burbulas pasižymi šiek tiek platesne dažnių juosta. Maksimalios abiejų burbulų amplitudės spektrogramoje (2.3.3.2 pav. c)) vizualiai atrodo panašios vertės.



2.3.3.3 pav. M-echogramos vaizdas, kai selektuotas 3 burbulas a). Apskaičiuota jo energija b). Gauta spektrograma c)

Tarpusavyje lygindami 2.3.3.2 pav. a) ir 2.3.3.3 pav. a), kur pastarajame selektuotas vienas, 3 numeriu, pažymėtas burbulas, galime pastebėti, kad dažnių pokyčius trečiam burbului matome tik iki 20 Mhz (2.3.3.3 pav. c)), kai 1 ir 2 burbulams siekė iki 25 MHz (2.3.3.2 pav. c)) . Galime pastebėti, kad trečio burbulo energija yra mažiausia (2.3.3.3 pav. b)), tačiau jo pasirodymas truko panašų laiko momentą kaip ir antrojo burbulo, jų maksimalios energijos skiriasi apie du kartus.



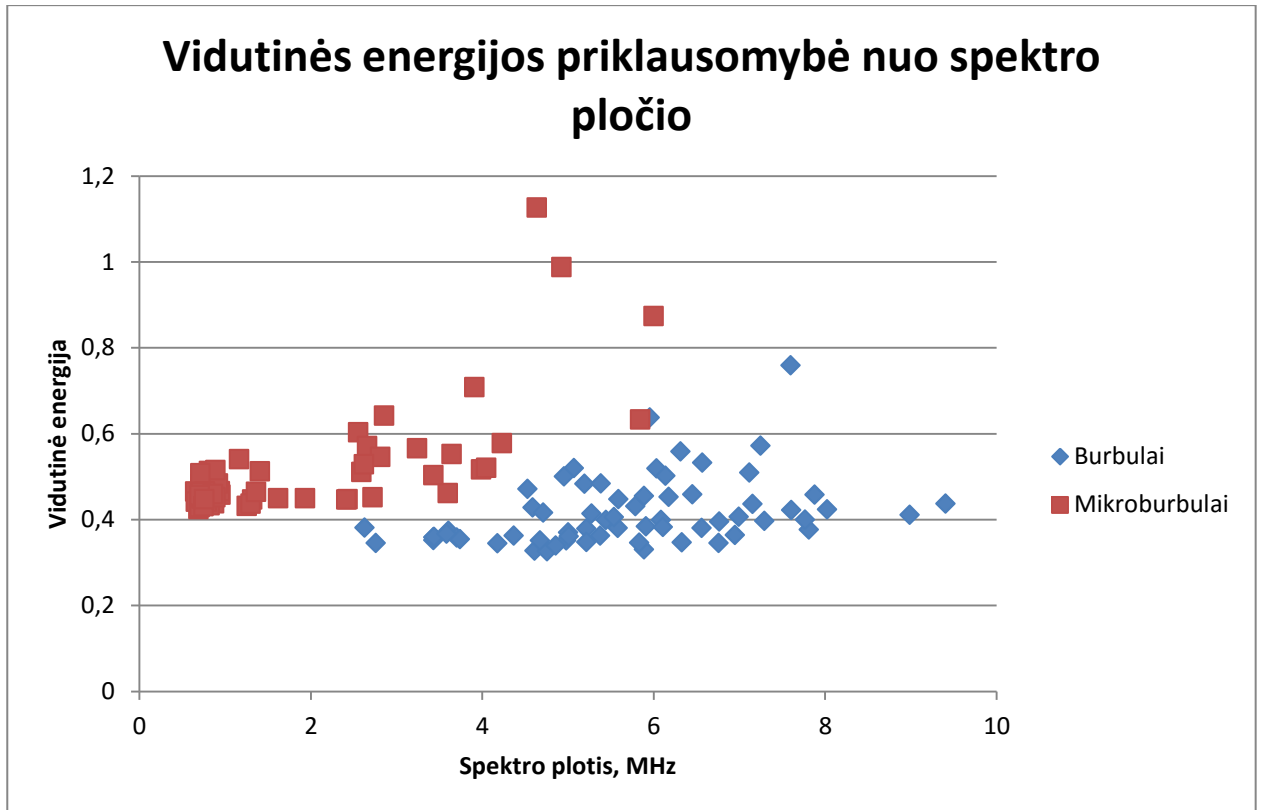
2.3.3.4 pav. M-echogramos vaizdas, kai selektuotas 4 burbulas a). Apskaičiuota jo energija b). Gauta spektrograma c)

Galiausiai 2.3.3.4 pav. a) pateikiamas 4 burbulas, kurio bendroje burbulų spektrogramoje 2.3.3.1 pav. c) išskirti negalėjome. Šis burbulas skiriasi dar ir tuo, kad yra dalinai uždengtas 1 ir 2 burbulų. 2.3.3.4 pav. b) matome, kad burbulo energija yra mažiausia iš visų keturių, tačiau spektriniai pokyčiai stebimi iki pat 25 MHz (2.3.3.4 pav. c)). Analizuojant amplitudės spektrogramoje, 4 burbulo amplitudės yra pačios silpniausios, jos buvo užgožiamos bendro kiuvetės vidaus spektrogramos fonu, todėl bendroje spektrogramoje 2.3.3.1 pav. c) 4 burbulo vizualiai išskirti ir nebuvo galima.

Apibendrinant galima teigti, jog nepavyko vizualiai užfiksuoti jokio energetinio ar spektrinio parametro, kuris padėtų charakterizuoti daleles.

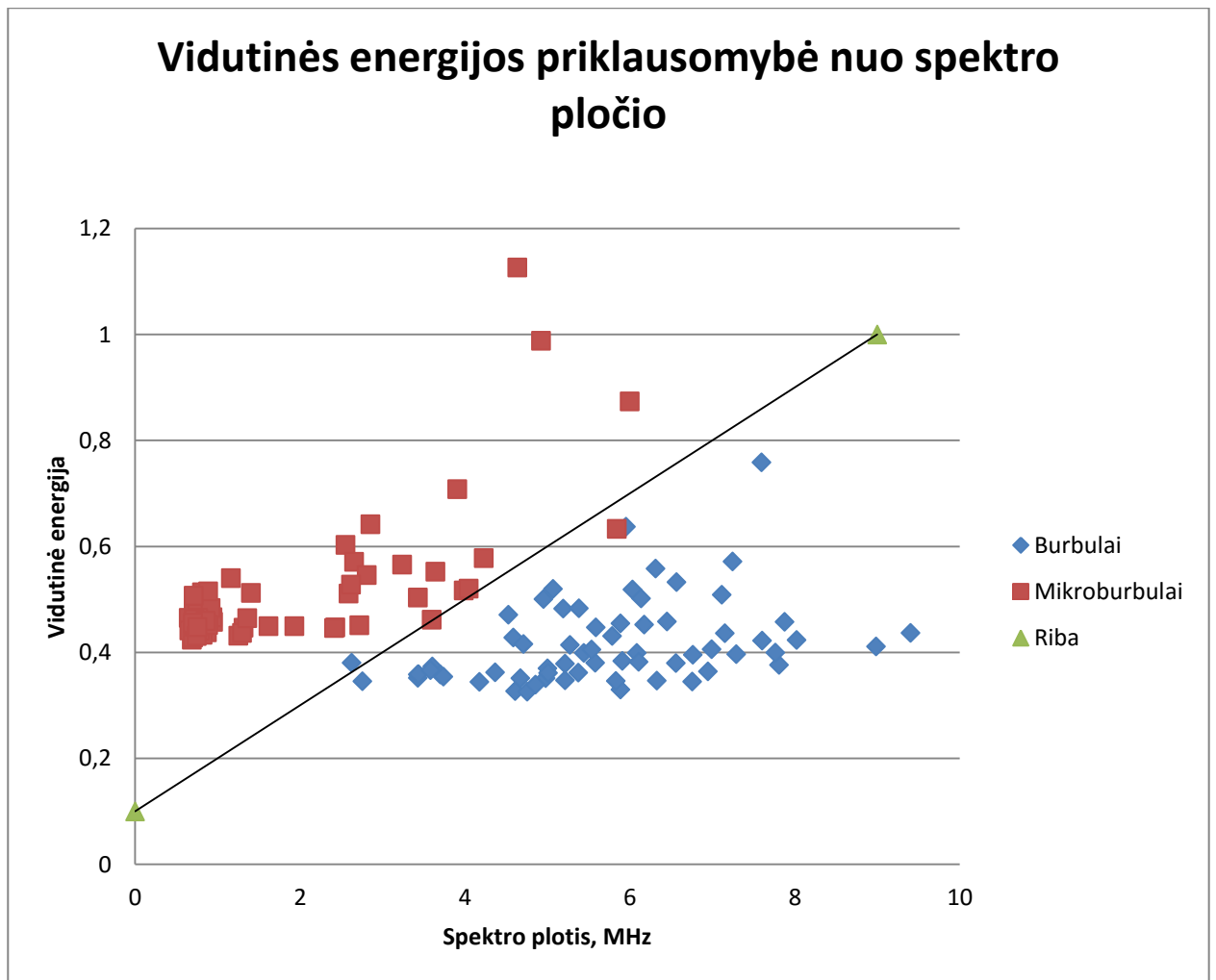
2.3.4. Nuo skirtingų dalelių atspindėto spektro įvertinimas

Ekspperimentų metu skirtingos dalelės yra burbulai ir mikroburbulai, jie skiriasi savo dydžiu. Gauti rezultatai vertinant spektrinius parametrus, kai tėkmė kiuvetėje buvo pastovi ir lygi 2,61 l/min, pateikiami paveiksluose žemiau.



2.3.4.1 pav. Vidutinės energijos priklausomybė nuo spektro pločio, kai tėkmė yra pastovi ir lygi 2,61 l/min, o tarpusavyje yra lyginami burbulai ir mikroburbulai

Aukščiau pateiktame 2.3.4.1 pav. matome vidutinės energijos priklausomybę nuo spektro pločio, kai tiriami burbulai ir mikroburbulai 2,61 l/min tėkmėje. Kaip matyti, burbulų atveju jų spektro plotis yra daug platesnis nei mikroburbulų atveju. Šiek tiek patobulinus 2.3.4.1 pav. gaunamas rezultatas pateikiamas žemiau esančiame 2.3.4.2 pav.



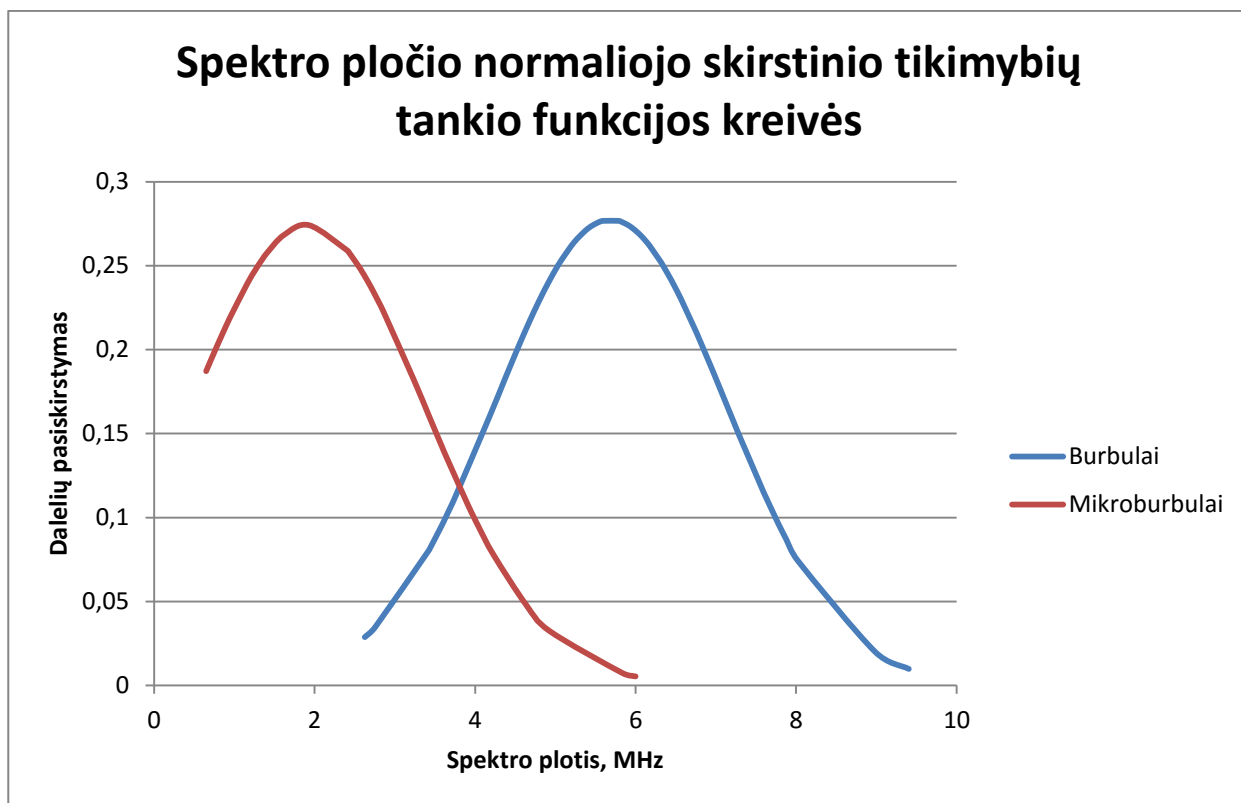
2.3.4.2 pav. Vidutinės energijos priklausomybė nuo spektro pločio, kai tėkmė yra pastovi ir lygi 2,61 l/min, o tarpusavyje yra lyginami burbulai ir mikroburbulai

Prie 2.3.4.1 pav. pridėjus ribą, kuri matoma 2.3.4.2 pav., galime nesunkiai atskirti burbulus nuo mikroburbulų. Čia riba yra vidutinė energijos vertė, kurios kirtimas daleles leistų priskirti mikroburbulams. Problema tik ta, kad ši ribos vertė nėra pastovi kintant spektro pločiui, todėl atitinkamai pagal spektro plotį ją reikia koreguoti, tačiau tai nėra sudėtinga, nes ją galima aprašyti tiesine lygtimi. Šiuo atveju tiesinė lygtis atrodytų štai taip:

$$y = 0,1 \cdot x + 0,1; \quad (4)$$

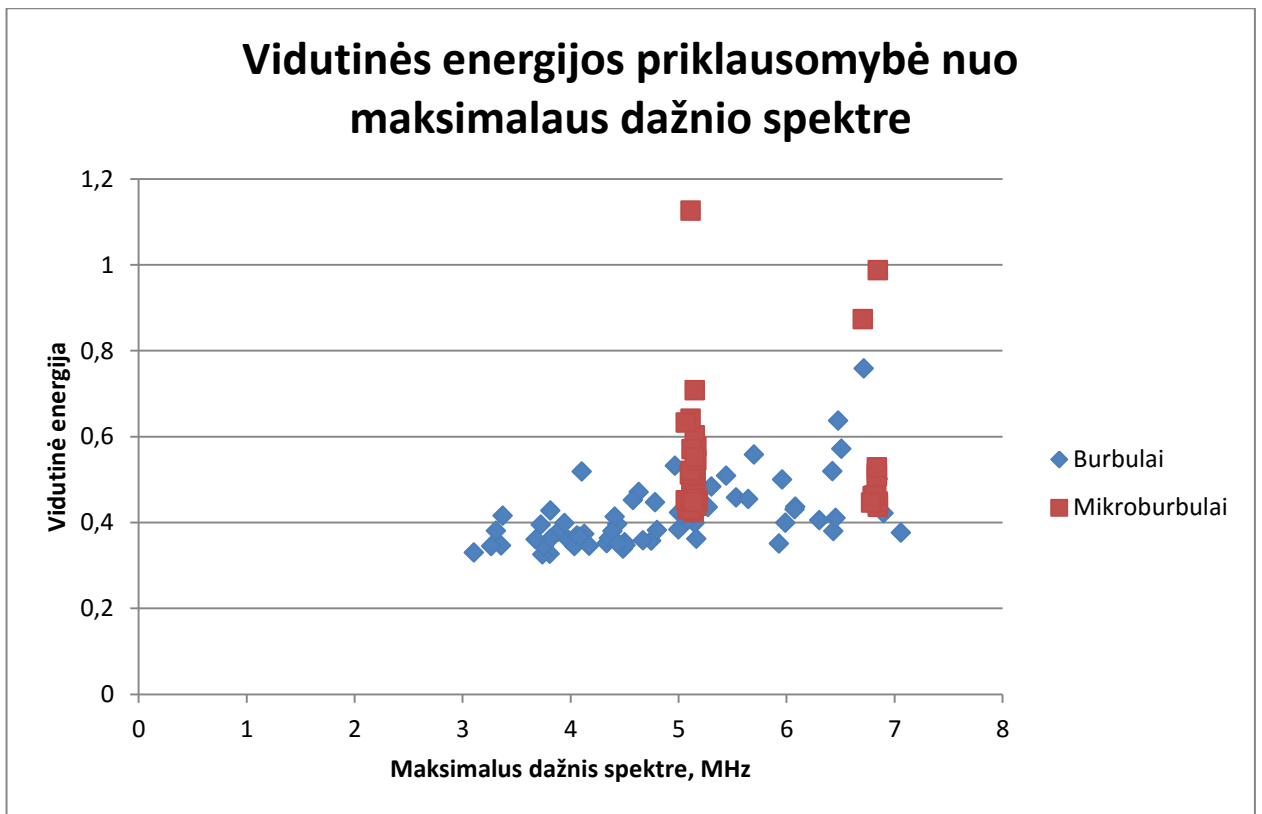
Aukščiau pateiktoje (4) formoje x – atitiks mūsų spektro pločio reikšmę, o y – vidutinės energijos reikšmę. Taigi žinodami dalelės spektro plotį remiantis (4) formule tam spektro pločiui galime apskaičiuoti ribą, o tada gautą ribą lyginame su apskaičiuota dalelės vidutinės energijos verte. Jei vidutinė dalelės energija viršija užsiduotą ribą – ji priskiriama mikroburbulams, jei yra žemiau apskaičiuotos ribos vertės – ji priskiriama burbulams.

Toliau skirtingų dalelių spektro plotis analizuojamos normaliojo skirstinio pagalba. Gauti rezultatai pateikiami 2.3.4.3 pav..



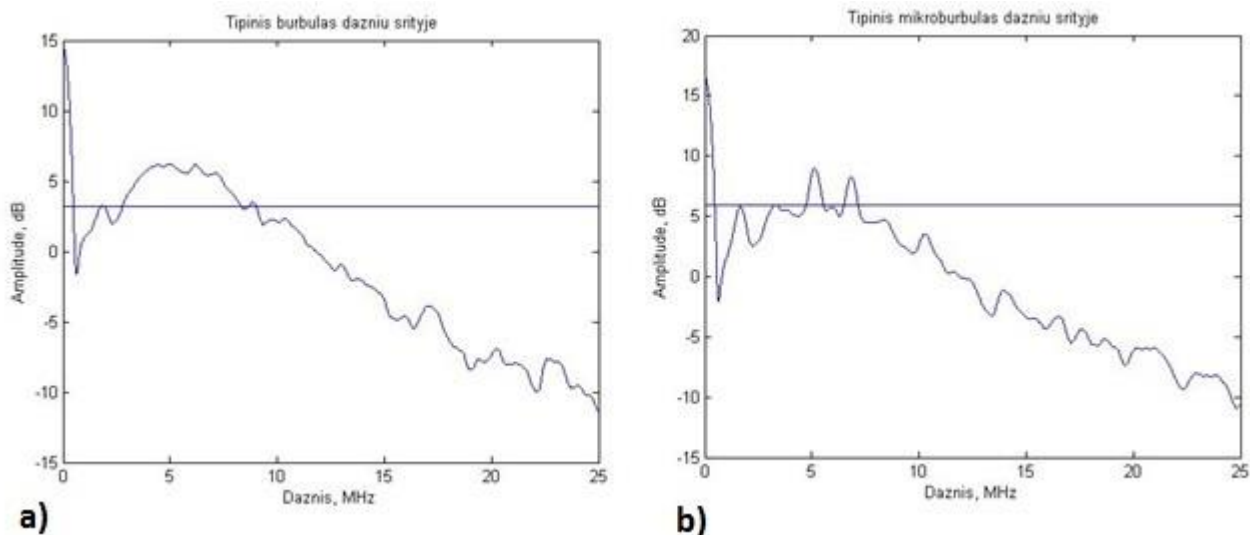
2.3.4.3 pav. Spektro pločio normaliojo skirstinio tikimybių tankio funkcijų kreivės, kai tėkmė yra pastovi ir lygi 2,61 l/min, o tarpusavyje yra lyginami burbulai ir mikroburbulai

Kaip matyti 2.3.4.3 pav., tiek burbulų ir mikroburbulų atveju aukščiausios tikimybių vertės yra panašios, tačiau pasiskirstę ties skirtingais spektro pločiais. Burbulų spektro plotis kinta didesniame diapazone, apytiksliai nuo 2,6 iki 9,4 MHz (skirtumas 6,8 MHz), o mikroburbulų apytiksliai nuo 0,6 iki 6 MHz (skirtumas 5,4 MHz). Nors maksimumai yra gan tolokai vienas nuo kito, vis dėlto kreivės persidengia, todėl charakterizuoti tik pagal dalelių spektro plotį negalime.



2.3.4.4 pav. Vidutinės energijos priklausomybė nuo maksimalaus dažnio spektre, kai tėkmė yra pastovi ir lygi 2,61 l/min, o tarpusavyje yra lyginami burbulai ir mikroburbulai

Toliau yra nagrinėjama kokie dažniai yra labiausiai stiprinami skirtingų dalelių atveju. Gauti rezultatai pateikiami 2.3.4.4 pav.. Paveiksle matyti, kad burbulų atveju labiausiai stiprinamas dažnis varijuoja plačiose ribose, apytiksliai nuo 3 iki 7 MHz. Įdomūs rezultatai gauti, kai buvo tiriami mikroburbulai, čia stiprinamas dažnis varijuoja ne plačiose ribose, o yra fiksuotas dviejuose vietose, ties ~5,1 ir 6,8 MHz. Toliau žemiau esančiame 2.3.4.5 pav. pateikiami pavyzdžiai, kurie parodo, kaip atrodo tipinis burbulas ir mikroburbulas dažnių srityje.



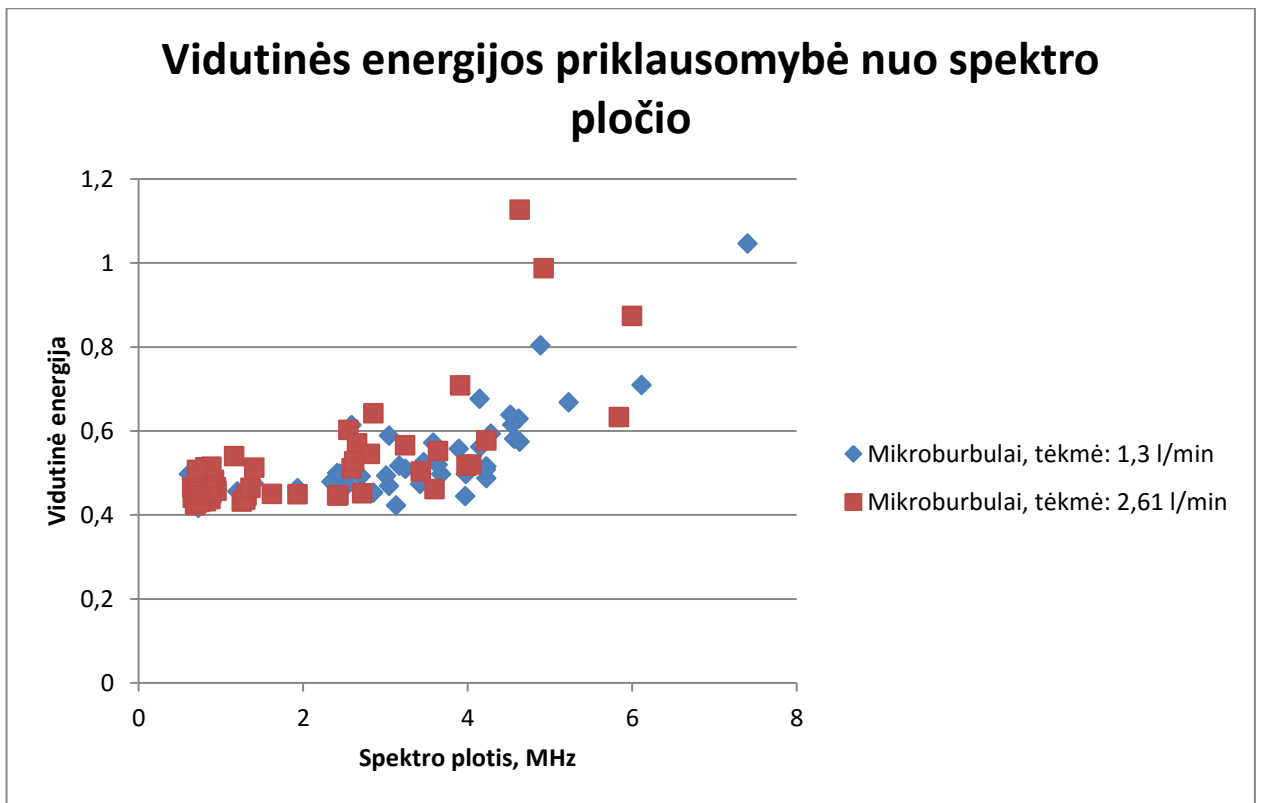
2.3.4.5 pav. Tipinio burbulo a) ir mikroburbulo b) spektrai

Aukščiau pateikto 2.3.4.5 pav. a) matome tipinį burbulą dažnių srityje. Horizontali linija žymi ribą, kuri rodo -3dB lygį nuo maksimalios amplitudės spektre (pikas trunkantis nuo 0 iki ~0,6 MHz ignoruojamas). 2.3.4.5 pav. b) atvaizduotas tipinis mikroburbulas dažnių srityje. Lyginant abu paveikslus tarpusavyje galime pastebėti, kad burbulo atveju spektro juostos plotis – 3 dB lygyje yra labai platus lyginant su mikroburbulo atveju. Mikroburbulo atveju matome, kad juostos plotis yra siauras, taip pat matome du pikus, ties ~5,1 ir 6,8 MHz. Tai tie patys dažniai, kuriuos matome 2.3.4.4 pav. mikroburbulų atveju. Kartais labiau yra stiprinama arba 5,1, arba 6,8 MHz dažniai, todėl ir turime tokį išsibarstymą apie šiuos dažnius.

Galima teigti, kad mikroburbulų analizė spektrinėje srityje davė teigiamų rezultatų. Vertinant maksimalų dažnį spektre matome, kad mikroburbulai pasižymi dviem fiksuotais dažniais (2.3.4.4 pav.). Vertinant dažnių juostos plotį vienareikšmiškai dalelių suskirstyti negalime, tačiau į pagalbą pasitelkus energetinį parametą – vidutinę signalo energiją, dalelių charakterizavimą galima atlikti gana tiksliai, pasitelkus, tolygiai, pagal spetro pločio reikšmę kintančią vidutinės energijos ribą (2.3.4.2 pav.).

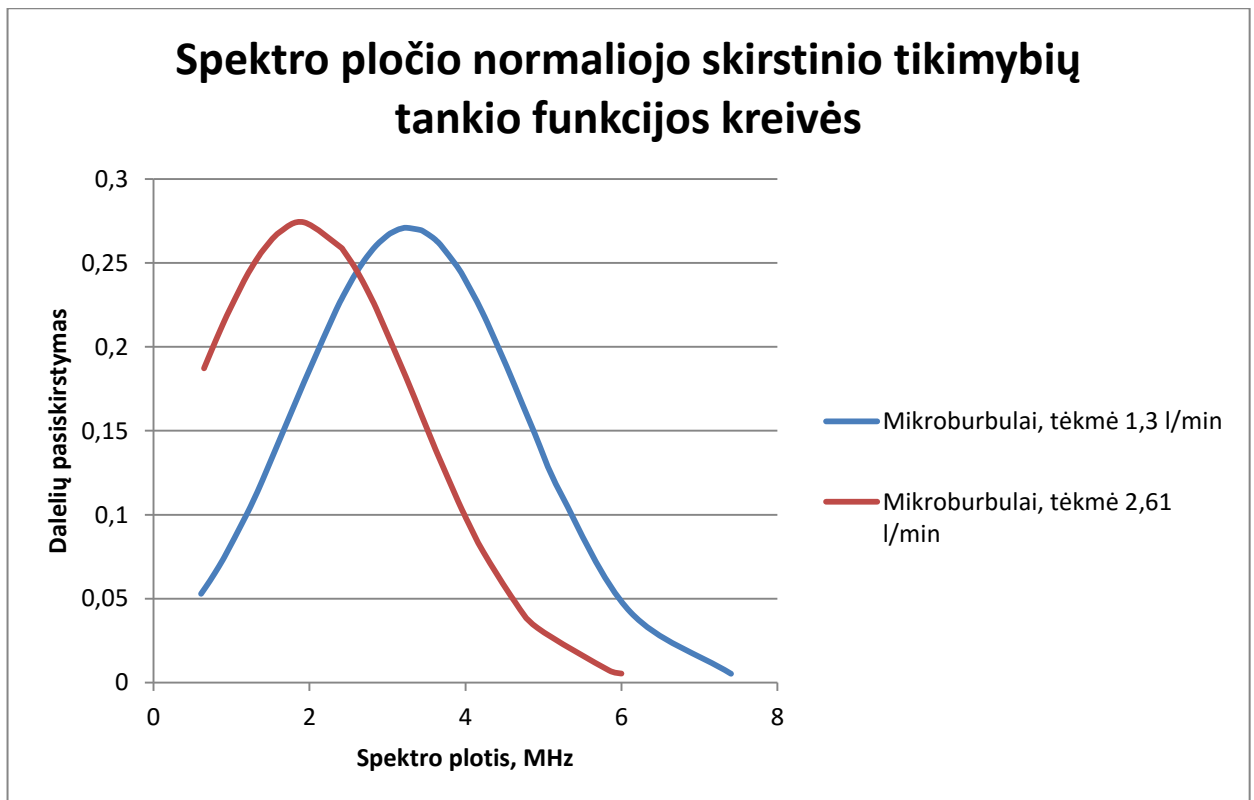
2.3.5. Tėkmės įtakos mikroburbulams charakterizavimas

Įvertinus spektrinius skirtumus tam skirtingų dalelių toje pačioje tėkmėje, toliau nagrinėjama, kokie spektriniai pokyčiai būtų, jei dalelės tos pačios, o keistųsi tik tėkmė. Gauti rezultatai pateikti 2.3.5.1 pav..



2.3.5.1 pav. Vidutinės energijos priklausomybė nuo spektro pločio, kai tiriama mikroburbulai skirtingose tėkmėse

Aukščiau pateiktame 2.3.5.1 pav. matome vidutinės energijos priklausomybę nuo spektro pločio. Šiuo atveju dalelės buvo tos pačios, mikroburbulai, tačiau skyrėsi tėkmės greitis. Vizualiai vertinant paveikslą matome, kad esant skirtingoms tėkmėms mikroburbulų vidutinė energija kinta panašiam diapazone, tačiau išsibarstymas spektro pločio ašyje nėra panašus.



2.3.5.2 pav. Spekro pločio normaliojo skirstinio tikimybių tankio funkcijų kreivės, kai tiriama mikroburbulai skirtingose tėkmėse

Spekro pločio normaliojo skirstinio tikimybių tankio funkcijos kreivės, pateiktos 2.3.5.2 pav. leidžia pažvelgti kaip keičiasi spekro plotis, kai keičiasi tėkmė. Esant 2,61 l/min tėkmei didžiausia tikimybė, kad spekro plotis bus ~3,1 MHz, o esant 1,3 l/min tėkmei didžiausia tikimybė, kad mikroburbulų spekro plotis bus 1,9 MHz. Nors esant skirtingiems atvejams spekro plotis skiriasi, vis dėl to šios kreivės dideliu plotu viena kitą perdengia, todėl skirtingos tėkmės remiantis tik spekro pločiu charakterizuoti negalima.

2.3.6. Rezultatų aptarimas

- Šiuo metu yra paskelbti keletas skirtingų autorių darbų, kuriuose mikroburbulai charakterizuojami pagal atraminio impulso (nuo galinės sienelės) spekro pokyčius. Gauti eksperimentų rezultatai parodė, kad toks priėjimas yra netinkamas, kai terpėje mikroburbulų koncentracija yra maža. Norint charakterizuoti mikroburbulus, kai jų terpėje yra nedaug, reikia vertinti pačių mikroburbulų atspindėtus impulsus.
- Eksperimentiniai ultragarsiniai duomenys buvo surinkti iš terpės, kurioje dalelės atsirado dviem skirtingais būdais: 1) Burbulai atsiradę dėl centrifuginio siurblio. 2) Mikroburbulai

sugeneruoti ultragarsiniame mikroburbulų generatoriuje. Burbulų spektrai tolydesni, o mikroburbulų spektrai turi išreikštus pikus ties fiksuotais dažniais.

- Apskaičiavus energetinius ir spektrinius dalelę charakterizuojančius parametrus pastebėta, kad geriausiai skirtingų dydžių daleles judančias tokia pačia tėkme charakterizuoja vidutinės energijos (energetinis parametras) ir spektro pločio (spektrinis parametras), priklausomybės.
- Geriausiai skirtingą tėkmę apibūdino spektro plotis. Lėtesne tėkme judantys mikroburbulai pasižymi didesniu spektro pločiu.

3. DISKUSIJA IR IŠVADOS

3.1. Išvados

Charakterizavimo metodų apžvalga parodė, kad priešingai nei kiti aptarti metodai, akustinio metodo realizavimas yra įmanomas net tada, kai terpė nėra pilnai optiškai skaidri. Taip pat anksčiau atlikti tyrimai pasižymi, kad tiriami mikroburbulai buvo arba atskirti ir charakterizuojami po vieną, arba didelėse (šimtas tūkstančių ir daugiau dalelių esančių 1 cm^3), stacionarioje būsenoje esančiose mikroburbulų populiacijose. Kol kas nėra žinoma tyrimų, kurie atliktų ultragarsine spektrine analize paremtą mikroburbulų charakterizavimą tėkmėje.

Buvo išsiaiškinta, kad ankstesnių darbų autorių taikytas mikroburbulų stebėjimo metodas, vertinant aido impulsų nuo idealaus atspindėtuvo (mūsų atveju nuo galinės sienelės) spektrinius pokyčius yra netinkamas. Taip yra todėl, kad pavienių mikroburbulų atveju (eksperimentų metu mikroburbulų koncentracija siekė tik kelias dešimtis dalelių 1 cm^3), jų atspindima ir išsklaidoma energijos dalis yra per maža, kad sukeltų spektrinius pokyčius aido impulse nuo idealaus atspindėtuvo. Dėl šios priežasties toliau buvo vertinami pačių mikroburbulų aido impulso spektriniai skirtumai.

Atliktas tyrimas parodė, kad skirtingų dydžių dalelių spektrinės savybės tėkmėje yra skirtingos. Burbulų spektrai yra tolydesni, o mikroburbulų spektrai pasižymi išreikštais pikais ties fiksuotais dažniais. Siekiant atlikti pastovia tėkme judančių, tačiau skirtingų dydžių dalelių charakterizavimą geriausia yra remtis ne tik spektriniais, bet ir energetiniais parametrais. Puikus to pavyzdys – vidutinės energijos priklausomybė nuo spektro pločio. Pastebėta, kad kintant spektro pločiui skirtingų dydžių dalelės pasižymi tam dydžiui būdinga energija, todėl pasinaudojus tiesine lygtimi aprašoma riba galima su maža paklaida atlikti jų dydžio charakterizavimą.

Vertinant skirtingas tėkmes tarp mikroburbulų didžiausias skirtumas yra pastebimas vertinant spektro plotį. Lėtesne tėkme judantys mikroburbulai pasižymi didesniu spektro pločiu.

3.2. Galimos tolimesnių tyrimų kryptys

- Tęsiant tuos pačius tyrimus galima atlikti eksperimentus, kai tyrimams naudojami mikroburbulai turi išorinį lipidų ar baltymų apvalkalą, o jų diametrai – iš anksto žinomi.
- Mikroburbulų tėkmėje charakterizavimas registruojant akustinį (kavitacinį) triukšmą.
- Tęsiant tuos pačius tyrimus tobulinti eksperimentinę sistemą, kai kampas tarp keitiklio ir kiuvetės turi būti reguliuojamas, papildomai echo signalams registruoti gali būti

primontuotas antras keitiklis. Keitiklio dažnis turi būti keičiamas, kad jį būtų galima nustatyti dažniui, artimam mikroburbulų rezonansiniui dažniui. Taip pat turi būti sudaryta galimybė keisti siunčiamų bangų slėgį.

LITERATŪROS SARAŠAS

1. Sirsi, S.; Borden, M.. Microbubble compositions, properties and biomedical applications. *Bubble Science, Engineering & Technology*. 2009, vol 1, issue 1-2, p. 3-17.
2. Bloomley, M. J K; Cooke, J. C; Unger, E. C; Monaghan, M. J; Cosgrove, D. O. Microbubble contrast agents: a new era in ultrasound. *BMJ clinical research*. 19 May 2001, vol 322, p. 1222 - 1225.
3. Bouakaz, A.; Escoffre, J. M.. Targeted drug delivery with ultrasound and microbubbles: Mechanisms, applications and progress to clinics [interaktyvus]. *IEEE Life Sciences Newsletter*. August 2013 [žiūrėta 2016 m. gegužės 15 d.]. Prieiga per internetą: <http://lifesciences.ieee.org/publications/newsletter/august-2013/392-targeted-drug-delivery-with-ultrasound-and-microbubbles-mechanisms-applications-and-progress-to-clinics>
4. Wu, A.; Chow, W.. Rapid elimination of microbubbles for photochemical filter startup [interaktyvus]. *Solid State Technology*. January 2009. [žiūrėta 2016 m. kovo 19 d.]. Prieiga per internetą: <http://electroiq.com/blog/2009/01/rapid-elimination-of-microbubbles-for-photochemical-filter-startup/>
5. Guidi, F.; Vos, H. J; Mori, R.; De Jong, N.. Microbubble characterization through acoustically induced deflation. *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control*. January 2010, vol 57, No. 1, p. 193-202.
6. Hsu, M. J; Eghtedari, M.; Goodwin, A. P; Hall, D. J; Mattrey, R. F; Esener, S. C. Characterization of individual ultrasound microbubble dynamics with a light-scattering system. *Journal of biomedical optics*. June 2011, vol 16(6), 067002, p. 1-4.
7. Brandner, P. A.; Wright, G.; Pearce, B.; Goldsworthu, L.; Walker, G. J.. An experimental investigation of microbubble generation in a confined turbulent jet. *17th Australasian Fluid Mechanics Conference*. 5-9 December 2010, vol 1.
8. Coulter counter & Coulter principle [interaktyvus]. *South Australian Medical Heritage Society Inc.* [žiūrėta 2016 m. gegužės 16 d.]. Prieiga per internetą: http://samhs.org.au/Virtual%20Museum/Medicine/Lab_and_other_tests_except_xray/Coulter-counter/Coulter-counter.htm
9. Subedi, L.. Acoustic characteristics of microbubbles : Effect of acoustic pressure and pulse duration Master of Science[interaktyvus]. 2006, [žiūrėta 2016 m. gegužės 16 d.]. Prieiga per internetą: http://digital.library.ryerson.ca/islandora/object/RULA:2478/datastream/OBJ/download/Acoustic_Characteristics_Of_Microbubbles_Effect_Of_Acoustic_Pressure_And_Pulse_Duration.pdf

10. Sijl, J.; Gaud, E.; Frinking, P. J. A.; Arditi, M.; de Jong, N.; Lohse, D.. Acoustic characterization of single ultrasound contrast agent microbubbles. *The Journal of the Acoustical Society of America*. December 2008, vol 124, No. 6, p. 4091- 4097.
11. Casey, J.; Sennoga, C.; Mulvana, H.; Hajnal, J. V; Tang, M. X.; Eckersley, R. J. Single Bubble Acoustic Characterization and Stability Measurement of Adherent Microbubbles. *Ultrasound in Medicine and Biology*. 2013, vol 39, No. 5, p. 903-914.
12. Jurkonis, R.; Lamanuskas, N.; Šatkauskas, S.. Acoustic Estimation of Resonance Frequency and Sonodestruction of SonoVue Microbubbles. *Archives of Acoustics*. 2015, vol 40, No. 3, p. 293-300.
13. Sun, C.; Sboros, V.; Butler, M. B.; Moran, C.. InVitro Acoustic Characterization of Three Phospholipid Ultrasound Contrast Agents from 12 to 43 MHz. *Ultrasound in Medicine and Biology*. 2014, vol 40, No.3, p. 541-550.