

ОПТИКО-ФИЗИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИЗМЕРЕНИЙ

УДК 53.084

МЕТОД ИЗМЕРЕНИЯ УПРУГИХ СВОЙСТВ ТОНКИХ БИОРЕЛЕВАНТНЫХ ПЛЁНОК

© В. А. Зыкова¹, Н. В. Суровцев¹, Е. А. Добрынина^{1,2},
С. В. Адищев¹, А. В. Лактионова^{1,2}

¹Институт автоматизации и электрометрии СО РАН,
630090, г. Новосибирск, просп. Академика Коптюга, 1

²Новосибирский государственный университет,
630090, г. Новосибирск, ул. Пирогова, 2
E-mail: leradangy@gmail.com

Предложен новый метод исследования упругих свойств биорелевантных плёнок, основанный на изучении деформации объекта под действием стального шара, применяемого в качестве интендора, который помещён в магнитное поле. Варьирование расстояния между магнитом и стальным шаром позволяет изменять величину прилагаемого усилия в широком диапазоне, что открывает большой потенциал предложенного метода для исследования обширного класса биологически значимых объектов. Возможности этого метода продемонстрированы на примере определения модуля Юнга гидрогелевых плёнок различной жёсткости, изготовленных на основе желатина.

Ключевые слова: тонкие биорелевантные плёнки, желатин, гидрогель, модуль Юнга, магнитное поле.

DOI: 10.15372/AUT20220201

Введение. Тонкие биорелевантные плёнки с характерными толщинами от сотен микрон до нескольких миллиметров в настоящее время применяются в разнообразных биологических и медицинских приложениях. Наиболее яркими примерами могут служить ксеногенные ткани (в частности, перикард и яремная вена), используемые в кардиохирургии в качестве биоимплантов, а также плёнки на основе гидрогелей, часто применяемые в тканевой инженерии. При работе с биорелевантными плёнками существует необходимость измерения их упругих свойств с целью характеристики упругих модулей материала (модуля Юнга, изгибного модуля и др). В случае ксеногенных тканей для характеристики модуля Юнга применяются механические тесты [1, 2], состоящие в одноосном растяжении ткани под действием приложенной силы. Одним из ключевых недостатков указанного метода является его разрушающее воздействие на объект в ходе измерения.

При работе с гидрогелевыми плёнками наиболее часто применяется атомно-силовая микроскопия (АСМ) [3–6], в основе которой лежит исследование профиля плёнки с использованием сканируемого зондового микроскопа высокого разрешения. Указанная методика позволяет проводить измерения с высокой точностью, однако требует идеально ровной обратной поверхности плёнки и является весьма дорогостоящей. Также среди недостатков АСМ-микроскопии следует отметить сложности при работе во влажной среде, что является крайне важным условием при исследовании биорелевантных объектов. Другим методом измерения упругого модуля тонких плёнок, описанным в работах [7–9], является анализ прогиба плёнки под тяжестью шарика известной массы, выполняющего роль интендора. Этот метод является крайне привлекательным в задачах исследования механических

свойств биорелевантных объектов, поскольку даёт возможность исследовать двусонные осесимметричные деформации плёнок как на воздухе, так и в условиях влажной среды при погружении конструкции в раствор. Более того, исследование временной кинетики смещений при неизменной силе воздействия, а также после снятия нагрузки позволяет изучать релаксацию плёнки под приложенным механическим воздействием.

Недостатком методики прогиба плёнки под весом шарика является отсутствие возможности регулирования величины механического усилия. Так, для получения нескольких точек на кривой зависимости смещения от приложенной силы необходимо менять массу используемого шарика при сохранении его размеров. Изучение такой зависимости даёт возможность более точно определить величину упругого модуля, необходимо для анализа нелинейностей в упругом отклике, а также перспективно для выделения различных вкладов в отклик. Кроме того, ограничение усилия только весом интандора заметно сужает диапазон материалов, подходящих для исследования упругих свойств этим методом. Поскольку биорелевантные плёнки могут характеризоваться заметно отличающимися упругими характеристиками, применение обсуждаемого метода становится затруднительным для широкого класса составов.

Цель данной работы — развитие метода измерения упругих свойств плёнок на основе анализа прогиба под тяжестью шарика. Предлагается увеличение прикладываемого усилия за счёт использования магнитного поля и интандора из магнитного материала. Магнитное поле может создаваться соленоидом, но, по нашему мнению, наиболее простая реализация осуществляется с применением постоянного магнита. В работе продемонстрированы реализация этой идеи с использованием стального шарика и постоянного магнита, изменение расстояния между которыми даёт возможность варьировать величину приложенной силы. Такое решение позволяет проводить измерения упругих модулей в широком диапазоне значений, существенно расширяя возможности метода для широкого класса биорелевантных материалов.

Метод. Подготовка образцов. Тонкие гидрогелевые плёнки были приготовлены из 20 %-ного водного раствора желатина. Для изготовления раствора пищевой желатин смешивался с дистиллированной водой и выдерживался на водяной бане при 50 °С в течение 20 мин. Далее необходимое количество желатина разливалось между двумя слоями парафильма с фиксированным зазором 450 мкм между ними. Выдерживание полученной плёнки в комнатных условиях в течение 2 ч приводило к полному желированию материала, после чего парафильм удалялся без деформации плёнки, а сама плёнка переносилась на жёсткую пластиковую подложку с круглым отверстием. Латеральный размер свободно закреплённого участка плёнки, используемого в исследовании, определялся диаметром отверстия ($D = 25$ мм). Толщина плёнки измерялась путём фокусировки лазерного излучения на верхний и нижний края с применением микроскопа и юстировочного столика и сразу после приготовления образца составляла $h = 450$ мкм.

Калибровка силы магнита. Для калибровки силы, оказываемой магнитом на шарик, в зависимости от расстояния между магнитом и стальным шариком была изготовлена рычажная конструкция. Рычаг был выполнен на основе деревянной рейки, зафиксированной на вертикальной стойке. С одной стороны рейки был закреплён стальной шар диаметром 4,75 мм. После уравнивания собственного веса шара над ним был установлен упор, препятствующий вращению рычага после увеличения груза на обратной стороне. Далее на свободную сторону рейки помещался груз известной массы, уравнивание которого осуществлялось магнитом, расположенным под шариком. Положение магнита фиксировалось фотокамерой, после чего расстояние между магнитом и шариком определялось из анализа снимка. В результате проведённой калибровки была построена калибровочная зависимость между расстоянием от магнита до шара и величиной силы, которая далее использовалась при оценке упругого модуля.

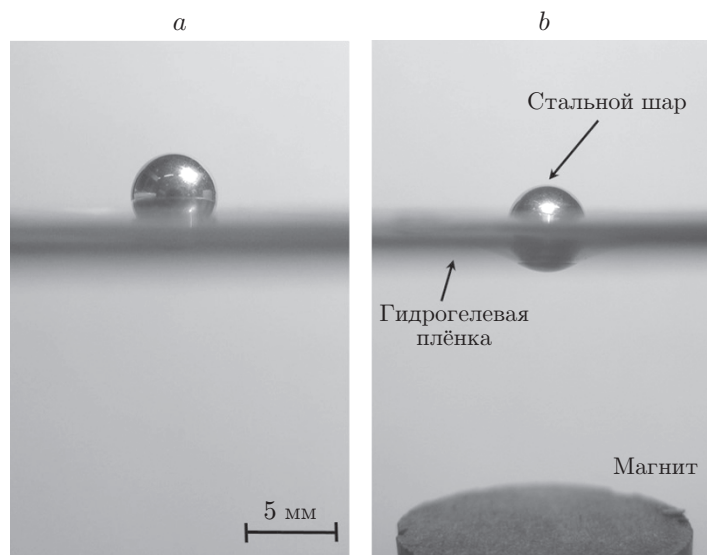


Рис. 1. Снимки прогиба плёнки под воздействием стального шара: *a* — при отсутствии магнита, *b* — в поле магнита

Определение прогиба плёнки. Пластина с нанесённой на неё гидрогелевой плёнкой была закреплена горизонтально так, чтобы отверстие в ней располагалось над магнитом. Стальной шар диаметром $d = 4,75$ мм, используемый в качестве сферического интандора, помещался в центр плёнки. Для регистрации величины прогиба плёнки под действием приложенной силы использовалась фотокамера. Величина прогиба определялась по смещению шара относительно недеформированного положения из анализа полученного изображения.

После того как измерение величины прогиба при отсутствии магнитного поля было проведено, под стальным шаром установили магнит. При приближении магнита к шару, осуществляемом с применением вертикальной микроподвижки, наблюдалось заметное увеличение прогиба плёнки.

На рис. 1 приведены фотографии плёнки, деформированной под действием интандора. Контроль расстояния между магнитом и шаром, определяющий силу воздействия на плёнку, осуществлялся из анализа фотографии с дополнительным контролем по шкале микроподвижки.

Для изучения различных диапазонов величин упругого модуля проведены измерения прогибов для плёнок различной степени гидратации — чем меньше содержание воды в гидрогеле, тем выше значение упругого модуля, характеризующего объект. Дегидратация плёнки происходила естественным путём при комнатных условиях. При этом частичное высыхание сопровождалось не только изменением упругих характеристик плёнки, но и изменением её толщины. Подсушенная в течение 2 ч плёнка была охарактеризована с применением микроскопа, и её толщина после дегидратации составила 168 мкм. Таким образом, в результате проведённого эксперимента получены зависимости значения прогиба от величины приложенной силы для двух плёнок, заметно различающихся в терминах упругих свойств.

Обсуждение. На рис. 2 символами обозначены экспериментально полученные зависимости между величиной центрального прогиба и приложенной силой. Величина силы определялась по расстоянию между магнитом и интандором с использованием калибровочной зависимости. Как видно из рис. 2, применение магнитного поля даёт возможность без повреждения плёнки увеличить величину нагрузки в 25 раз в случае полностью гидратированной плёнки (треугольники) и в 60 раз в частично дегидратированном образце

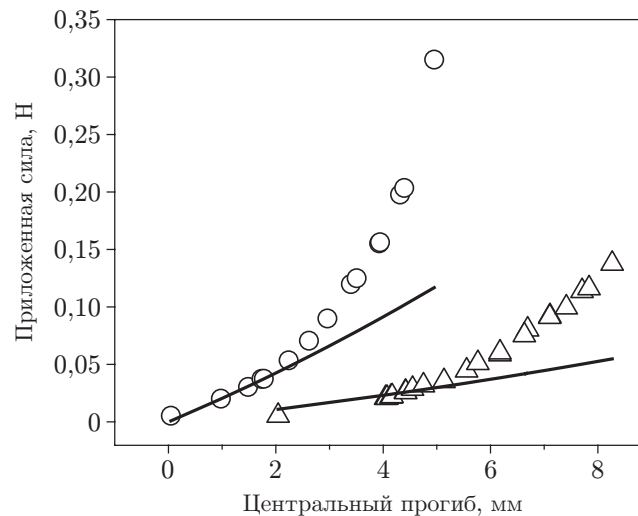


Рис. 2. Зависимости между величиной центрального прогиба и приложенной силой: треугольники — полностью гидратированная плёнка, кружки — частично подсушенная. Линиями показаны подгонки экспериментальных данных, предсказанные на основании системы уравнений (1)

(кружки). Таким образом, применение магнитного поля существенно расширяет возможности методики прогиба плёнки, позволяя определять значения прогиба в широком диапазоне приложенных сил.

При изучении деформации свободно закреплённой круглой мембраны диаметром D и толщиной h под действием сферического интандора диаметра d может быть использована нелинейная модель, предложенная в [10]. В рамках модели поверхность мембраны разделяется на два участка: область, внутри которой происходит контакт между мембраной и интандором, и часть вне этой области. Деформация мембраны под действием приложенной силы включает в себя изгибный член, доминирующий при небольших прогибах, и растягивающий член, характеризующий модуль Юнга, который вносит основной вклад при больших смещениях. Согласно [11, 12] при величинах центрального прогиба δ , удовлетворяющих условию $\delta/h > 10$, возможно пренебречь изгибным модулем при описании деформации мембраны. В этом случае для определения величины модуля Юнга мембраны может быть использована система уравнений [13]

$$Y = \frac{12F}{Ehd}, \quad X = \frac{2\delta}{d}. \quad (1)$$

Для соотношения между диаметрами мембраны и шара $D/d = 5$ безразмерные параметры X и Y связаны выражением $Y = 0,78X + 0,075X^2$ ($0 \leq X \leq 1,7$). В нашем случае отношение $D/d = 5,26$, что позволило также использовать выражения для определения модуля Юнга из экспериментальных данных прогиба, приведённые в [13].

Толщины плёнок в приведённом исследовании составляли 450 и 168 мкм для полностью гидратированной и подсушенной плёнок соответственно. Таким образом, в обоих случаях практически весь диапазон представленных на рис. 2 значений прогиба удовлетворяет условию $\delta/h > 10$. Экспериментальные данные описаны выражениями (1), связывающими значение приложенной силы F и величину центрального прогиба δ . В ходе подгонки экспериментальных данных при малых значениях прогибов плёнки теоретической кривой была определена величина модуля Юнга E , которая составила 0,085 и 0,9 МПа для гидратированной и подсушенной плёнок соответственно. Из рис. 2 видно, что эта модель

работает не на всём интервале прогибов. При больших значениях деформаций плёнки величина упругого модуля увеличивается. Подобное нелинейное поведение наблюдалось для модуля Юнга ксеногенных тканей методом растяжения [1, 2]. Увеличение приложенной силы за счёт применения магнитного поля позволило в данной работе получить подобные результаты и в методе прогиба плёнки. Полученные оценки для модуля Юнга по порядку величины не противоречат имеющимся данным для ксеногенных тканей [1, 2] и биорелевантных материалов [14].

Поскольку предложенная в работе система даёт возможность измерять достаточно малые деформации, описанная методика имеет потенциал в изучении изгибных модулей плёнок, информацию о которых затруднительно получить с использованием стандартных техник. Для этого необходимо анализировать диапазон смещений $\delta/h < 10$, внутри которого изгибная деформация преобладает над растяжением плёнки. В ряде случаев в этих целях нужно «уменьшить» вес интендора, что достигается помещением магнита над шариком. Дополнительным преимуществом метода является возможность исследовать релаксационную динамику (деформация под постоянной нагрузкой) и определять необратимые деформации после снятия нагрузки, что может быть важным в ряде задач.

Заключение. В данной работе предложена новая методика измерения модуля Юнга тонких биорелевантных плёнок, основанная на изучении деформации объекта под действием стального интендора, помещённого в магнитное поле. Предложенная конструкция является доступной, легко реализуемой и не требующей высоких затрат на проведение эксперимента. Высокие возможности метода позволяют с хорошей точностью определять модуль Юнга в широком диапазоне доступных значений, информация о котором важна во многих физических, биологических и медицинских приложениях. Потенциал применения предложенного метода для определения изгибного модуля, а также для исследования свойств мембраны после снятия нагрузки делает его перспективным во многих областях науки и техники.

Финансирование. Исследование выполнено за счёт гранта Российского научного фонда № 21-74-00122, <https://rscf.ru/project/21-74-00122/>.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Zhuravleva I. Yu., Karpova E. V., Oparina L. et al. Cross-linking method using pentaepoxide for improving bovine and porcine bioprosthetic pericardia: A multiparametric assessment study // Mater. Sci. & Eng. C. 2021. **118**. P. 111473.
2. Zhuravleva I. Y., Karpova E. V., Dokuchaeva A. A. et al. Bovine jugular vein conduit: What affects its elastomechanical properties and thermostability? // Journ. Biomed. Mater. Res. 2022. Pt A. **110**, N 2. P. 394–408.
3. Wiedemair J., Serpe M. J., Kim J. et al. In-situ AFM studies of the phase-transition behavior of single thermoresponsive hydrogel particles // Langmuir. 2007. **23**, N 1. P. 130–137.
4. Suriano R., Credi C., Levi M. et al. AFM nanoscale indentation in air of polymeric and hybrid materials with highly different stiffness // Appl. Surface Sci. 2014. **311**. P. 558–566.
5. Dolmat M., Kozlovskaya V., Cropek D. et al. Free-standing thin hydrogels: Effects of composition and pH-dependent hydration on mechanical properties // ACS Appl. Polymer Mater. 2021. **3**, N 8. P. 3960–3971.
6. Salerno M., Dante S., Patra N. et al. AFM measurement of the stiffness of layers of agarose gel patterned with polylysine // Microscopy Res. and Technique. 2010. **73**, N 10. P. 982–990.
7. Ahearne M., Yang Y., Liu K. K. Mechanical characterisation of hydrogels for tissue engineering applications // Topics in Tissue Eng. 2008. **4**, N 12. P. 1–16.

8. **Ahearne M., Yang Y., El Haj A. J. et al.** Characterizing the viscoelastic properties of thin hydrogel-based constructs for tissue engineering applications // Journ. Royal Soc. Interface. 2005. **2**, N 5. P. 455–463.
9. **Kaklamani G., Cheneler D., Grover L. M. et al.** Mechanical properties of alginate hydrogels manufactured using external gelation // Journ. Mech. Behavior of Biomed. Mater. 2014. **36**. P. 135–142.
10. **Yang W. H., Hsu K. H.** Indentation of a circular membrane // Journ. Appl. Mech. 1971. **38**. P. 227–230.
11. **Taber L. A.** Large deflection of a fluid-filled spherical shell under a point load // Journ. Appl. Mech. ASME. 1982. **49**. P. 121–128.
12. **Wan K. T.** Fracture mechanics of a shaft-loaded blister test-transition from a bending plate to a stretching membrane // The Journ. Adhesion. 1999. **70**, N 3/4. P. 209–219.
13. **Liu K. K., Ju B. F.** A novel technique for mechanical characterization of thin elastomeric membrane // Journ. Phys. D: Appl. Phys. 2001. **34**, N 15. P. L91.
14. **Wu P.-J., Kabakova I. V., Ruberti J. W. et al.** Water content, not stiffness, dominates Brillouin spectroscopy measurements in hydrated materials // Nat. Meth. 2018. **15**. P. 561.

Поступила в редакцию 09.03.2022

После доработки 16.03.2022

Принята к публикации 23.03.2022
