

文章编号:1004-7220(2017)03-0280-04

# 一种适用于研究切应力对蓝藻细胞活性影响的实验装置

任 强, 蒋文涛, 黄学进, 陈 宇

(四川大学 建筑与环境学院, 成都 610065)

**摘要:** **目的** 设计一种用于进行切应力对蓝藻细胞活性影响的相关实验研究装置。**方法** 针对现有流体切应力实验装置容积小、切应力不稳定、难以进行定量分析和持续性差等缺陷进行设计优化,成功设计出1个有效容积400~700 mL、误差小于13.8%、能产生定量均匀切应力场且可进行至少96 h跟踪观测的切应力发生装置。**结果** 通过对铜绿微囊藻的实验研究,证实所设计装置产生的切应力可对铜绿微囊藻细胞的活性产生显著的影响。**结论** 设计的实验装置是进行流体切应力对蓝藻细胞活性影响相关研究的有效仪器。

**关键词:** 蓝藻; 细胞活性; 切应力; 实验装置

中图分类号: R 318.01 文献标志码: A

DOI: 10.16156/j.1004-7220.2017.03.012

## An experimental device for studying the effects of shear stress on cell activity of blue-green algae

REN Qiang, JIANG Wen-tao, HUANG Xue-jing, CHEN Yu (*College of Architecture & Environment, Sichuan University, Chengdu 610065, China*)

**Abstract:** **Objective** To design a device for studying the effects of shear stress on the activity of blue-green algae. **Methods** The device was optimized in terms of the weakness of current shear stress devices, such as small volume, unstability, inability for quantitative analysis and short working period. The effective volume of the new device was 400-700 mL, and the error was less than 13.8%. Moreover, this device could produce a quantitative and uniform shear stress field and be continued to follow observation for more than 96 hours. **Results** By experiment on growth of microcystis aeruginosa, the device was proved to generate shear stress that could significantly affect the activity of microcystis aeruginosa cells. **Conclusions** This experimental device is an effective equipment for investigating the effects of shear stress on the activity of blue-green algae.

**Key words:** Blue-green algae; Cell activity; Shear stress; Experimental equipment

蓝藻又称蓝细菌,是一大类能够进行光合自养的原核微生物<sup>[1]</sup>,其富含天然色素、胞外多糖等物质,具有很高的利用价值<sup>[2]</sup>。例如:螺旋藻富含营养物质,具有极高的医用价值<sup>[3-4]</sup>;固氮藻可改善土壤质量<sup>[5]</sup>;蓝藻通过厌氧发酵产生生物质能源<sup>[6]</sup>。然而,蓝藻的次生代谢物微囊藻毒素<sup>[7]</sup>具有强烈毒

性,可导致肝损伤、肠出血和肺水肿等病理病变<sup>[8]</sup>,饮水中的微囊藻毒素还与人群的原发性肝癌和大肠癌有关<sup>[9]</sup>。如何消除和避免水华爆发所引起的水质和食品安全问题以及如何合理利用和开发蓝藻的医用价值,已成为全球性问题。

无论是利用还是消除蓝藻,了解其生物活性是

首先需要关注的问题。已有研究认为,藻类生长及种群演替除光照、温度、营养盐和环境等因素外,也受到力学因素(静水压强和切应力)的影响<sup>[10]</sup>。但研究发现,蓝藻在 0.4 MPa 静水压强(相当于水下 40 m 处压强)作用下开始破坏,而蓝藻的最大分布深度为水下 5 m<sup>[11]</sup>;同时,流体切应力会对内皮祖细胞、血管内皮细胞、骨细胞产生形态学或者生理学上的影响<sup>[12-13]</sup>。由此可以推测,切应力是影响藻类生长的主要因素。研究也发现,可能存在临界流速,使铜绿微囊藻实现最大比增长率和最大藻数量,同时藻类的集群速率也与流体切应力有关<sup>[14]</sup>,说明针对性地研究切应力对蓝藻的作用十分必要。

但要进行流体切应力对蓝藻细胞活性影响的实验研究,则需要一个容积较大、测量精度较高、可产生定量均匀的切应力场、同时还可进行长期跟踪观测的流体切应力实验装置。而目前现有的可产生流体切应力的仪器主要有流变仪(椎板、平板、毛细管流变仪等)、流动槽-流速仪装置、简易旋转桶等。其中,流变仪主要应用于测定聚合物熔体、聚合物溶液、悬浮液、乳液和食品等流变性质<sup>[15]</sup>,可提供恒定的切应力且精确度高,但通常该装置的容积不超过 10 mL,不适用于生物悬浮液等需要较大容积的流体研究;流动槽制作简便,通常用于水体宏观流动现象等研究,但槽中流体流动不均匀、调速缓慢且不准确,难以进行定量的切应力分析<sup>[16]</sup>;简易旋转桶属于旋转式动态水力模拟装置,造价低且占地小,由底座带动圆桶旋转,试验用水也随桶进行旋转运动,平均流速由桶的直径和转速决定,但其同样因为流场不均匀无法进行恒定的切应力分析<sup>[17]</sup>。

由此可见,现有装置或仪器无法满足流体切应力相关研究的需求。为此,本文针对现有装置的缺点研制出一款容积大、可产生定量均匀切应力场、测量精度较高、能进行长期跟踪观测的切应力发生装置,用以进行流体切应力的相关实验研究。

## 1 装置结构

为产生稳定的切应力且拥有足够大的容积(400~700 mL),采用两个可相对运动的同轴圆桶作为切应力发生系统。如图 1 所示,旋转桶 A 底部中心与旋转轴 C 固定,旋转轴 C 穿过固定桶 B 底部中心的圆孔通过联轴器 D 与立式减速电机连接,固

定桶 B 与旋转轴 C 之间使用 TC 型密封圈实现旋转密封。使用变频器 G 控制电动机转速实现旋转桶 A 转速可变(0~250 r/min);霍尔计数器 H 用于校准电动机转速。整个装置使用钢架支撑,其中 A、B 同心(A 内 B 外),A、B 之间有 5 mm 的间隙(实验仓)用于容纳细胞悬浮液;A、C、D、E 同心旋转。

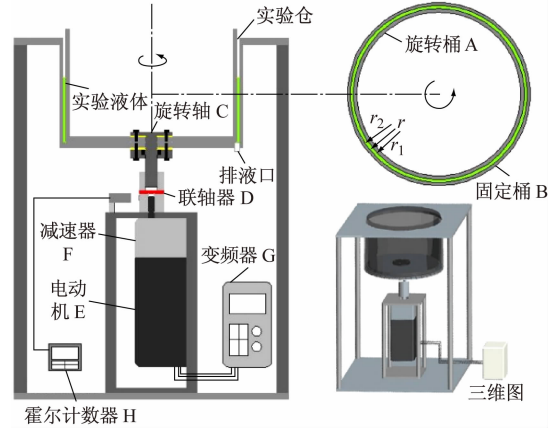


图 1 切应力发生装置剖面图和三维图

Fig. 1 Section view of the shear stress device and its 3D model

## 2 剪切力发生原理

本装置外筒保持静止,内桶以 0~250 r/min 速度匀速旋转,由此可形成稳定的 Couette 流。两桶间的切应力可表示为<sup>[18]</sup>:

$$\tau = \mu\omega[r_1^2(r_2^2 + r^2)]/[r^2(r_2^2 - r_1^2)] \quad (1)$$

式中: $\tau$  为切应力; $\mu$  为流体黏度; $\omega$  为角速度; $r_1$ 、 $r_2$  分别为实验仓内、外半径, $r$  则为实验仓内某质点距旋转轴的距离( $r_1 \leq r \leq r_2$ )。

本装置中, $r_1 = 140$  mm, $r_2 = 145$  mm,实验仓宽度  $x = 5$  mm,径宽比  $= 2r_1 : x = 28 : 1$ 。取 20 °C 时水的黏度  $\mu = 1.005$  mPa·s 进行计算,得到不同转速下流体切应力随实验仓半径的变化情况(见图 2)。

由图 2 和式(1)均可看出,在实验仓部分,即  $r = 140 \sim 145$  mm,切应力呈线性变化。尽管从理论上分析切应力应随实验舱半径的增大而减小,但这一变化极其缓慢(见图 2)。当转速  $N = 250$  r/min 时,切应力仅减小了 3.5%。为简便,以  $r = 142.5$  mm 处(即内外桶间距的中心处)的切应力表示某一转速下整个实验仓内的切应力。两桶间的切应力为:

$$\tau = 2.93\mu N \quad (2)$$

式中: $\mu$  为流体黏度; $N$  为转速。

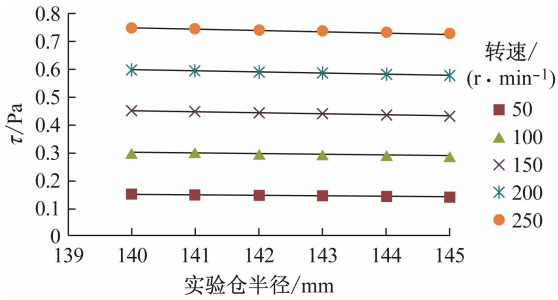


图2 流体切应力随实验仓半径的变化曲线

Fig. 2 Variation of fluid shear stress with radius of experiment cabin

### 3 同心率

实验装置的精度是十分重要的一项指标,本装置的结构误差主要体现为两同轴圆桶的同心率(即旋转桶的偏心率)。由测量结果可知,偏心率随着转速加快而增大,最大偏心率为11.6%(见图3)。计算可得切应力误差不大于13.8%。

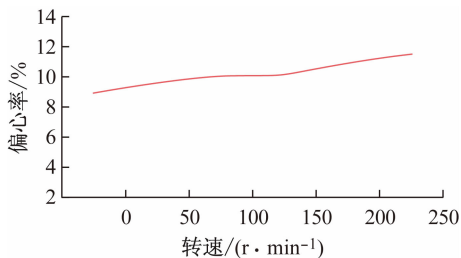


图3 旋转桶偏心率

Fig. 3 Eccentricity ratio of the rotating cylinder

### 4 装置试验及结果

为验证本装置是否能持续提供稳定有效的切应力,以铜绿微囊藻作为实验藻种进行切应力对藻细

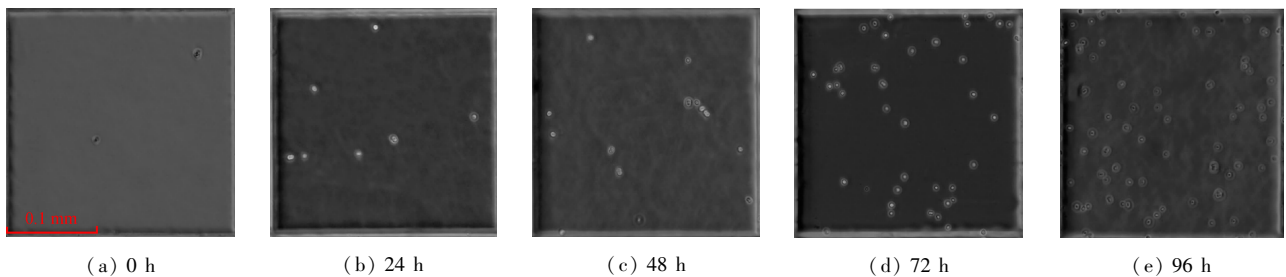
图5 实验组单位体积( $6.25 \times 10^{-3} \text{ mm}^3$ )内藻细胞的生长过程

Fig. 5 Cells growth in unit volume in the experimental group (a) 0 h, (b) 24 h, (c) 48 h, (d) 72 h, (e) 96 h

胞生长影响的跟踪观测实验。

#### 4.1 实验条件和方法

取铜绿微囊藻最适宜光照强度3 500 lx,温度30 ℃(采用恒温光照培养箱),设置转速100 r/min;增设静置对照组。视野内铜绿微囊藻初始数目为( $3.3 \pm 0.8$ ),实验周期为96 h,每24 h取样,在显微镜下观察视野内细胞数目的变化情况。同时,采用显微镜计数法测定藻密度,每个样品计3次,每次计64个计数框,通过

$$N = n/v \quad (3)$$

计算藻密度。式中: $N$ 为藻密度; $V$ 为计数框体积; $n$ 为单个计数框中藻细胞的平均个数。

#### 4.2 实验结果及分析

取30 ℃时水的黏度 $\mu = 800.7 \mu\text{Pa} \cdot \text{s}$ ,藻细胞所受剪切力为230 mPa。实验结果如图4所示。

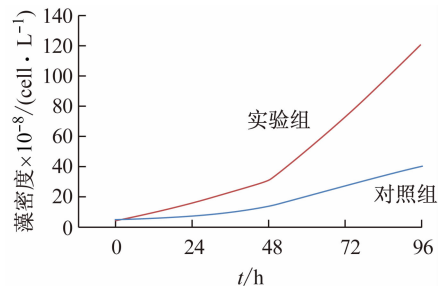


图4 藻密度随时间的变化曲线

Fig. 4 Variation of cell density with time

在切应力的作用下,藻细胞的数量迅速增加,明显多于对照组,且增殖速率有增加的趋势,视野内藻细胞数目在96 h内增长到( $75.5 \pm 2.8$ )个,增加了21.9倍;而对照组生长缓慢,在96 h内仅仅增长到( $25.5 \pm 1.3$ )个,增加了6.7倍(见图5)。

实验结果表明,本装置所产生的切应力对铜绿微囊藻细胞的生长可产生显著的影响。

## 5 结论

蓝藻既具有极高的药用价值也有极强的毒性,了解其生物活性特征对消除或利用蓝藻具有重要作用。相关研究发现,切应力对于蓝藻的生长有显著影响。但目前可用于研究切应力对细胞作用的实验装置存在容积小、切应力不稳定、持续性差等缺陷。本文以 Couette 流为基本设计原理,结合旋转圆筒的无限延展性,研制了一种可容纳 400 ~ 700 mL 蓝藻细胞悬浮液进行 0 ~ 250 r/min 的匀速旋转、产生定量均匀切应力场(切应力)、误差小于 13.8%、可观测时间长(本文最大时常为 96 h)的实验装置,用以进行流体切应力对蓝藻细胞致死能力的相关实验研究。

本装置也存在一些不足,例如:电动机转速的进一步提高将导致装置框架的抖动,无法获得定量的切应力,限制了装置所能提供的切应力大小。但可通过改善材料性能和改进实验仓的加工方式,增加框架稳定性从而减小误差。另外,还需提高加工精度减小偏心率,使产生的切应力更加精确。

综上所述,本装置是一款容积大、可产生定量均匀切应力场、能进行长期跟踪观测的装置,解决了现有流体切应力实验装置容积小、切应力不稳定、难以进行定量的切应力分析、持续性差等缺陷。此外,本装置还可应用于水体其他浮游生物或人体内微生物等受切应力影响的相关研究。

## 参考文献:

[1] WHITTON BA, POTTS M. The ecology of cyanobacteria: Their diversity in time and space [M]//Ecology of cyanobacteria their diversity in time & space. Germany: Springer, 2000: 704.

[2] PEREIRA S, ZILLE A, MICHELETTI E, *et al.* Complexity of cyanobacterial exopolysaccharides: Composition, structures, inducing factors and putative genes involved in their biosynthesis and assembly [J]. *FEMS Microbiol Rev*, 2009, 33(5): 917-941.

[3] ERIKSEN NT. Production of phycocyanin: A pigment with applications in biology, biotechnology, foods and medicine [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2008, 80(1): 1-14.

[4] 吴文龙, 杨志娟. 螺旋藻保健食品的功能因子与研究开发进展[J]. *食品研究与开发*, 2006, 27(2): 129-131.

[5] 叶琳琳, 张民, 孔繁翔, 等. 水生生态系统蓝藻固氮作用研

究进展与展望[J]. *湖泊科学*, 2014, 26(1): 9-18.

[6] 胡碧洋, 赵蕾, 周文静, 等. 我国水华蓝藻资源化研究现状、问题与对策[J]. *水生态学杂志*, 2012, 33(3): 138-143.

[7] DELGADO LF, CHARLES P, GLUCINA K, *et al.* The removal of endocrine disrupting compounds, pharmaceutically activated compounds and cyanobacterial toxins during drinking water preparation using activated carbon: A review [J]. *Sci Total Environ*, 2012, 436(7): 509-525.

[8] LI T, HUANG P, LIANG J, *et al.* Microcystin-LR (MCLR) induces a compensation of PP2A activity mediated by  $\alpha$ 4 protein in HEK293 cells [J]. *Int J Biol Sci*, 2011, 7(6): 740-752.

[9] ZHANG XX, FU Z, ZHANG Z, *et al.* Microcystin-LR promotes melanoma cell invasion and enhances matrix metalloproteinase-2/-9 expression mediated by NF- $\kappa$ B activation [J]. *Environ Sci Technol*, 2012, 46(20): 11319-11326.

[10] DEVERCELLI M. Phytoplankton of the middle paranariver during an anomalous hydrological period: A morphological and functional approach [J]. *Hydrobiologia*, 2006, 563(1): 465-478.

[11] HAMADA T, YAMADA Y, ENDO S, *et al.* Research on inactivation of blue-greenalgae using water hammer pressure [M]//Advances in water resources and hydraulic engineering. Berlin: Springer Berlin Heidelberg, 2009: 417-422.

[12] 成敏, 尹青令, 崔晓栋, 等. 流体剪切应力对晚期内皮祖细胞生物学功能的影响[J]. *医用生物力学*, 2014, 29(1): 60-65.

[13] CHENG M, YIN QL, CUI XD, *et al.* Effects of shear stress on late endothelial progenitor cell functions [J]. *J Med Biomech*, 2014, 29(1): 60-65.

[14] 张峰, 陈瀚. 激光虹膜切开术对角膜内皮细胞所受切应力影响的数值研究[J]. *医用生物力学*, 2016, 31(1): 33-39.

[15] ZHANG F, CHEN H. Numerical investigation of laser iridotomy influence on shear stress exerted on corneal endothelial cells [J]. *J Med Biomech*, 2016, 31(1): 33-39.

[16] ALAN DS, MCINTIRE CD. Effects of current velocity and light energy on the structure of periphyton assemblage in laboratory streams [J]. *J Phycol*, 1986, 22(3): 352-361.

[17] HICKS CR, CARLSON BE, MALLICK PK. Rheological study of automotive adhesives: Influence of storage time, temperature and shear rate on viscosity at dispensing [J]. *Int J Adhes Adhes*, 2015, 63: 108-116.

[18] 李飞鹏, 高雅, 张海平, 等. 流速对浮游藻类生长和种群变化影响的模拟试验[J]. *湖泊科学*, 2015, 27(1): 44-49.

[19] 王建慧. 流速对藻类生长影响试验及应用研究[D]. 北京: 清华大学硕士学位论文, 2012.

[20] MITSUHASHI S, FUJIMOTO M, MURAMATSU H, *et al.* Effect of simple shear flow on photosynthesis rate and morphology of micro algae [J]. *Acta Astronaut*, 1994, 33(1): 179-187.

文章编号:1004-7220(2017)03-0284-04

# 拇指腕掌关节韧带的解剖力学分析及临床意义

李建峰<sup>1</sup>, 肖焕波<sup>2</sup>, 李海雷<sup>1</sup>, 刘井达<sup>1</sup>, 赵亮<sup>1</sup>, 李大村<sup>1</sup>

(1. 北京市顺义区医院 上肢外科, 北京 101300; 2. 首都医科大学 燕京医学院, 卫生统计学教研室, 北京 101300)

**摘要:** **目的** 研究拇指腕掌关节背桡韧带及前斜韧带的解剖学及生物力学特点, 测量其弹性模量及延伸率, 为伤病时韧带修复提供参考。 **方法** 解剖成人男性尸体 40 例新鲜手标本, 制做成大多角骨-韧带-第 1 掌骨标本, 20 例保留背桡韧带, 20 例保留前斜韧带, 在生物力学机上测试, 测量和计算背桡韧带及前斜韧带的长、宽、厚、最大载荷、弹性模量、延伸率。 **结果** 背桡韧带、前斜韧带的最大载荷分别为  $(213.5 \pm 72.4)$ 、 $(168.7 \pm 35.2)$  N, 弹性模量分别为  $(17.2 \pm 6.7)$ 、 $(9.3 \pm 2.5)$  MPa, 延伸率分别为  $(116.2 \pm 21.3)\%$ 、 $(92.7 \pm 22.4)\%$ 。背桡韧带的最大载荷、弹性模量及延伸率均大于前斜韧带。 **结论** 拇指腕掌关节囊内韧带中, 背桡韧带刚度较大, 韧性较强, 对维持关节稳定性起重要作用。前斜韧带刚度较小, 韧性较差, 韧带退变时容易损伤。拇指腕掌关节炎应该首选重建前斜韧带, 且应选用弹性模量及延伸率接近背桡韧带的材料为佳。

**关键词:** 拇指; 腕掌关节; 韧带; 解剖; 生物力学

中图分类号: R 318.01 文献标志码: A

DOI: 10.16156/j.1004-7220.2017.03.013

## Analysis on anatomy and biomechanics of ligaments in carpometacarpal joints of the thumb and its clinical significance

LI Jian-feng<sup>1</sup>, XIAO Huan-bo<sup>2</sup>, LI Hai-lei<sup>1</sup>, LIU Jing-da<sup>1</sup>, ZHAO Liang<sup>1</sup>, LI Da-cun<sup>1</sup>

(1. Department of Upper Extremity Surgery, Beijing Shunyi District Hospital, Beijing 101300, China;

2. Department of Health Statistics, Yanjing Medical School, Capital Medical University, Beijing 101300, China)

**Abstract: Objective** To study the anatomic and biomechanical characteristics of the dorsal radial ligament and anterior oblique ligament in carpometacarpal (CPC) joints of the thumb, so as to provide references for ligament repair. **Methods** Forty fresh hand specimens of adult male cadavers were dissected to make specimen of trapezium bone-ligament-the first metacarpal bone, of which 20 cases retained the dorsal radial ligament and 20 cases retained the anterior oblique ligament, respectively. The ligaments were tested on biomechanical testing machine, and their length, width, thickness, the maximum load, elastic modulus and elongation rate were measured and calculated. **Results** For the dorsal radial ligament and anterior oblique ligament, their maximum load was  $(213.5 \pm 72.4)$  and  $(168.7 \pm 35.2)$  N, their elastic modulus was  $(17.2 \pm 6.7)$  and  $(9.3 \pm 2.5)$  MPa, their elongation rate was  $(116.2 \pm 21.3)\%$  and  $(92.7 \pm 22.4)\%$ , respectively. The maximum load, elastic modulus and elongation of the dorsal radial ligament were larger than those of the anterior oblique ligament. **Conclusions** For the capsular ligament in CPC joints of the thumb, the dorsal radial ligament has a higher stiffness and stronger toughness, which plays an important role in maintaining stability of the joint. The anterior oblique ligament is easy to be damaged due to its smaller stiffness and poor toughness. The anterior oblique ligament is suggested to be reconstructed firstly to treat arthritis of CMC joints, and materials whose elastic modulus and elongation rate are similar with the dorsal radial ligament should be selected.

**Key words:** Thumb; Carpometacarpal (CMC) joint; Ligament; Anatomy; Biomechanics

收稿日期:2016-06-01; 修回日期:2016-07-18

基金项目:北京市科委 2015 年首都临床特色应用研究 (Z151100004015053)。

通信作者:李建峰,副主任医师, E-mail:lj1975@163.com。