

超声造影剂微气泡的包膜黏弹特性的定量表征研究

郭各朴 张春兵 屠娟 章东

Quantitative characterization of viscoelasticity of microbubbles in ultrasound contrast agent

Guo Ge-Pu Zhang Chun-Bing Tu Juan Zhang Dong

引用信息 Citation: *Acta Physica Sinica*, 64, 114301 (2015) DOI: 10.7498/aps.64.114301

在线阅读 View online: <http://dx.doi.org/10.7498/aps.64.114301>

当期内容 View table of contents: <http://wulixb.iphy.ac.cn/CN/Y2015/V64/I11>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

超声增强藻酸钙凝胶支架材料孔隙率的研究

Ultrasonic enhancement of the porosity of alginate scaffold

物理学报.2015, 64(2): 024301 <http://dx.doi.org/10.7498/aps.64.024301>

基于迟滞应力应变关系的非线性声学检测理论与方法研究

Theory and method for nonlinear acoustics detection based on hysteretic stress-strain relation

物理学报.2014, 63(19): 194302 <http://dx.doi.org/10.7498/aps.63.194302>

弹性管中泡群内气泡的非线性声响应

Nonlinear acoustical response of multibubbles in elastic tube

物理学报.2014, 63(13): 134301 <http://dx.doi.org/10.7498/aps.63.134301>

球形集声器在生物组织中形成的组织损伤

Tissue lesion induced by a spherical cavity transducer

物理学报.2014, 63(4): 044301 <http://dx.doi.org/10.7498/aps.63.044301>

含气泡液体中的非线性声传播

Propagation of nonlinear waves in the bubbly liquids

物理学报.2014, 63(3): 034301 <http://dx.doi.org/10.7498/aps.63.034301>

超声造影剂微气泡的包膜黏弹特性的定量表征研究*

郭各朴¹⁾ 张春兵²⁾ 屠娟¹⁾ 章东^{1)†}

1) (南京大学声学研究所, 近代声学教育部重点实验室, 南京 210093)

2) (南京中医药大学附属江苏省中医院, 南京 210056)

(2014年9月7日收到; 2014年11月23日收到修改稿)

包膜黏弹特性显著影响微气泡超声造影剂的诊断及治疗应用效果. 本文结合原子力显微镜技术及声衰减特性测量提出了一种对微气泡造影剂包膜黏弹特性定量表征的新方法. 首先采用原子力显微镜技术进行机械特性分析得到包膜微气泡的有效硬度及体弹性模量; 然后测量声衰减特性, 基于微气泡动力学理论, 计算包膜微气泡的体黏度系数. 为验证方法的有效性, 实验制备了直径为1—5 μm 的白蛋白包膜微气泡造影剂, 原子力显微镜测量的有效硬度和体弹性模量分别为 $0.149 \pm 0.012 \text{ N/m}$ 和 $8.31 \pm 0.667 \text{ MPa}$, 并与粒径无关. 声衰减特性测量和动力学理论拟合的包膜微气泡的体黏度系数为 $0.374 \pm 0.003 \text{ Pa}\cdot\text{s}$. 该方法可推广至其他种类包膜微气泡的黏弹特性表征, 对超声造影剂的制备及其诊断和治疗应用有积极意义.

关键词: 超声造影剂微气泡, 原子力显微镜, 黏弹特性, 声衰减特性

PACS: 43.25.+y, 43.80.+p

DOI: 10.7498/aps.64.114301

1 引言

超声造影剂为含有包膜微气泡(直径为1—10 μm)的液体, 内充空气或者溶解度比空气低的气体; 包膜材料主要有白蛋白类、非离子表面活性剂类、脂类、聚合物类^[1]. 随着超声造影剂制备技术的不断进展, 超声造影剂在超声诊断和治疗领域的作用越来越重要, 其应用包括: 超声造影成像^[2]、超声分子成像^[3]、超声溶栓^[4]、基因转染与药物输送^[5,6]和高强度聚焦超声(HIFU)^[7,8]等. 在上述应用中, 微气泡包膜黏弹特性对超声造影剂的性能具有重要的影响, 例如, 动力学行为^[9,10]、声学吸收特性及其空化阈值^[11,12]等. 为了更好地促进超声造影剂在超声诊断和治疗领域中的应用, 微气泡包膜的黏弹特性的定量表征非常重要.

微气泡黏弹特性的评估方法主要有: 背向散射

和衰减检测^[13]、高速光学成像^[14]、光散射^[15]和原子力显微镜^[16]. 背向散射和衰减检测方法可以精确测量微气泡散射的时域和频域特性; 高速光学成像可以直接观察微气泡的振动; 光散射技术可以分析单个微气泡在多脉冲作用下的实时数据, 然而这些方法评估微气泡的黏弹特性时都依赖于微气泡动力学模型(如Marmottant^[17]及Doinikov^[18,19]等). 由于在动力学模型拟合中弹性系数和黏性系数均为不确定因素, 拟合得到的包膜参数准确性较差. 为提高动力学模型拟合结果的准确性, 有必要先采用其他的实验方法测出弹性或黏性中某个参数. 原子力显微镜采用纳米级高分辨率显微技术直接测量聚电解质微胶囊以及其他软颗粒的机械特性^[20]; Sboros等采用原子力显微镜分析了聚合物类包膜的微气泡的力学特性, 并估算弹性模量^[21].

本研究提出了一种对微气泡包膜的黏弹特性进行逐次单参数定量表征的新方法. 首先采用原

* 国家重点基础研究发展计划(批准号: 2011CB707900)、国家自然科学基金(批准号: 81127901, 81227004, 81171659, 11374155, 11174141, 11104140, 11161120324)和国家高技术研究发展计划计划(批准号: 2012AA022702)资助的课题.

† 通信作者. E-mail: dzhang@nju.edu.cn

子力显微镜测量包膜微气泡的力学特性, 根据微气泡包膜的力学特性曲线计算微气泡的弹性模量. 其次, 结合微气泡的声衰减特性测量, 根据动力学模型拟合出包膜的有效黏性系数. 常用的超声造影剂微气泡的包膜材料大多为脂膜 (如 SonoVue, Definity 等) 及白蛋白膜 (Optison 等). 尽管当前脂膜微气泡应用较多, 但白蛋白微泡在国内外科研究和临床工作中仍然得到广泛应用. 且由于白蛋白包膜微泡的制备更为简单, 为验证本论文提出的方法的有效性, 我们首先通过实验制备了一种白蛋白膜造影剂微气泡, 对其黏弹特性进行了实验测量, 并讨论了黏弹特性与粒径的关系, 为进一步将此方法推广到脂类包膜乃至纳米新材料包膜的造影剂微泡的应用研究中奠定有益的基础.

2 材料和方法

2.1 白蛋白微气泡造影剂的制备与尺寸分布测量

牛血清白蛋白微气泡造影剂采用声振方式制备 [22]. 分别配置 60%(g/ml) 的蔗糖溶液 (分析纯, 西安化学试剂厂) 和 10%(g/ml) 的牛血清白蛋白溶液 (国药集团化学试剂有限公司), 将蔗糖溶液与牛血清白蛋白溶液按体积比 1:1 混合, 置于充满全氟丙烷的压力釜中, 使其达到气体饱和. 将超声粉碎仪 (VCX 750, Sonics & Materials INC., Newtown, CT, USA) 的超声探头与混合溶液的液面贴合, 在 300 W 下声处理 2 min (超声频率为 20 kHz, 脉冲占空比为 5:5). 在超声作用的同时, 采用微量注射泵 (Legato 270, KD Scientific Inc. Holliston, MA, USA) 以 7.5 ml/min 的速度进行充气, 充气时间为充 5 s 停 5 s. 制备出的牛血清白蛋白微气泡密闭保存, 以备测定.

微气泡制备完成静置 2 h 后, 取其中分界面处微气泡试样稀释 500 倍, 采用激光粒度仪 (AccuSize 780 SIS, PSS. NICOMP, USA) 测量微气泡的浓度和粒度分布. 测量中, 对该微气泡样品进行 5 次测量, 取其平均值.

2.2 原子力显微镜测量白蛋白微气泡造影剂的包膜弹性

采用原子力显微镜的 MultiMode 8 系统 (Bruker Corporation, Billerica, MA, USA) 在轻敲模式下测量白蛋白微气泡造影剂的力学特性, 扫描

速度为 0.5 Hz. 将微气泡试样稀释 100 倍滴在聚赖氨酸包被的云母片上, 静置 30 min, 使微气泡吸附在云母片底部. 通过原子力显微镜内嵌的倒置显微镜, 调整探针与微气泡的相对位置, 测量微气泡的大小. 为测量微气泡造影剂的力学曲线, 先对所使用的无针尖探针 (MLCT-O10, Bruker Corporation, Billerica, MA, USA) 进行校正, 实验中使用探针的有效弹性系数 k_c 和偏转灵敏度分别为 0.0228 N/m 和 58.91 nm/V.

微气泡的有效硬度 (k_m) 可以通过施加作用力 F 时, 微气泡被压缩过程中引起的原子力显微镜悬臂的偏转距离 (s) 来测量, $s = d - F/k_c$, 其中 d 是微气泡压缩和探针形变共同作用引起的原子力显微镜悬臂的偏转距离; F/k_c 是施加相同作用力 F 时, 探针直接作用在云母片上引起的原子力显微镜悬臂的偏转距离 (即由探针形变引起的原子力显微镜悬臂的偏转距离). 因此, $F-d$ 曲线就可以转换为 $F-s$ 曲线, 根据 $k_m = F/s$ 即可计算出微气泡的有效硬度.

微气泡的有效硬度及体弹性模量可以通过如下公式计算 [23]:

$$k_m = \frac{E\varepsilon}{1-\nu}, \quad (1)$$

$$K_p = \frac{k_m(1-\nu)}{3(1-2\nu)\varepsilon}, \quad (2)$$

其中 E 是杨氏模量, ν 是泊松比, ε 是包膜微气泡的包膜厚度, K_p 是微气泡的体弹性模量.

采用原子力显微镜在接触模式下对微泡包膜扫描成像测量微气泡包膜厚度 ε , 其中探针共振频率为 70 kHz, 弹性系数为 0.4 N/m, 扫描频率为 0.5 Hz. 然后利用 NanoScope 分析软件 (Bruker Co., Billerica, MA, USA) 对微气泡包膜的高度扫描图像进行分析, 从而得到包膜的厚度.

2.3 结合声衰减测量计算微气泡的包膜黏度

进一步测量微气泡的声衰减特性, 采用 Hoff 的微气泡动力学模型 [11], 结合原子力显微镜测量出的体弹性模量, 从而计算微气泡造影剂的黏性系数.

包膜微气泡在超声作用下的动力学方程为 [11]

$$\rho_L R \ddot{R} + \frac{3}{2} \rho_L \dot{R}^2 = P_0 \left(\frac{R_0}{R} \right)^{3\kappa} - 4\eta_L \frac{\dot{R}}{R} - 3\mu_p \frac{R_0^3 \dot{R}}{R^3 R}$$

$$-3(K_p - \kappa P_0) \frac{R_0^3}{R^3} \left(1 - \frac{R_0}{R}\right) - P_0 - P_a(t), \quad (3)$$

其中 R_0 是微气泡初始半径, ρ_L 是流体的密度, κ 是气体多方指数, η_L 是流体的剪切黏度, μ_P 是微气泡的体黏度, P_0 是环境压强, $P_a(t)$ 是激励声压. 单个微气泡的散射截面为

$$\sigma_e = 4\pi R_0^2 \frac{c\delta}{\omega_0 R_0} \frac{\Omega^2}{\{[1 - \Omega^2]^2 + \Omega^2 \delta^2\}}, \quad (4)$$

其中, c 是液体中的声速, $\Omega = \omega/\omega_0$, ω 是激励角频率, ω_0 是线性谐振角频率; 衰减系数为

$$\delta = \delta_L + \delta_S + \delta_R = \frac{4\eta_L}{\rho\omega_0 R_0^2} + \frac{3\mu_P}{\rho\omega_0 R_0^3} + \frac{\omega^2 R_0}{\omega_0 c},$$

δ_L 是液体黏性相关的衰减, δ_S 是包膜黏性相关的衰减, δ_R 是微泡声辐射衰减. 当微气泡溶液浓度较低时, 微气泡间的相互作用可以忽略, 则单位距离的声衰减可表示为

$$\alpha(\omega) = 10 \log_{10}(e) \int_{a_{\min}}^{a_{\max}} \sigma_e(a; \omega) n(a) da. \quad (5)$$

其中 a 是积分变量, $n(a)da$ 为单位体积内微气泡数, a_{\min} 和 a_{\max} 分别为微气泡的最小半径和最大半径. 然后计算某频率范围内实验声衰减和理论声衰减的方差:

$$E(\sigma_i, \kappa_s) = \sum_i [\alpha_{\text{cal}}(\omega_i) - \alpha_{\text{exp}}(\omega_i)]^2. \quad (6)$$

当方差最小时, 即得到微气泡的有效体黏度 μ_P .

图 1 为微气泡的声衰减特性测量系统框图. 实验中使用两只宽带平面换能器 (V325-SU, 中心频率 2.25 MHz, -6 dB 带宽为 1.05—3.55 MHz, Panametrics, Waltham, MA; V326-SU, 中心频率 5.0 MHz, -6 dB 带宽为 2.75—7.1 MHz, Panametrics, Waltham, MA) 以获得 1.05—7.1 MHz 的测量范围, 在两只换能器的交叉频段取两组测量值的平均值^[11]. 超声波脉冲发射/接收器 (5900PR, Panametrics, Waltham, MA) 发射窄脉冲 (脉冲能量为 1 μ J, 脉冲重复频率为 200 Hz, 电压增益为 26 dB) 以驱动换能器, 并接收由反射板反射的信号. 在此条件下, 经校准超声驱动声压小于 50 kPa, 可确保微泡最小振幅线性振动. 反射信号由数字示波器 (54830B, Agilent, Santa Clara, CA) 后处理, 信号采样率为 200 MHz, 采样点为 2000 点, 平均 64 次. 脉冲发射接收器和示波器由计算机通过 GPIB (National Instruments, Austin, TX) 连接, 由 LabView (National Instruments, Austin, TX) 软件控

制. 测试的微气泡样品浓度约为 5×10^5 个/ml, 将微气泡溶液注射到自制的由聚乙烯膜包裹的立方体模具中 (3 cm \times 3 cm \times 3 cm), 换能器距样品盒前膜的距离为 8 cm.

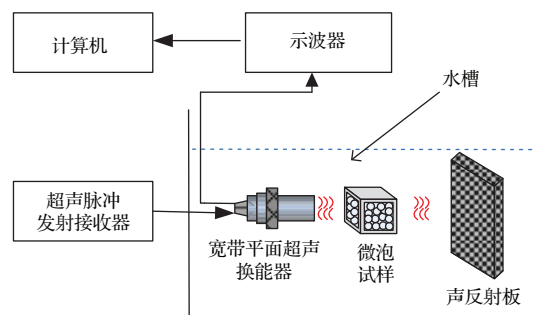


图 1 微气泡的声衰减测量系统框图

Fig. 1. Schematic diagram of acoustic attenuation measurement system for microbubbles.

3 结果与讨论

3.1 白蛋白微气泡粒度分布与浓度

微气泡造影剂的粒度分布是影响其声衰减特性和诊断/治疗效果的关键因素之一. 实验中制备的白蛋白微气泡的粒度分布测量结果如图 2 所示, 图中实心点为测量数据, 实线为高斯拟合曲线. 由图 2 可知, 微气泡的中心直径为 2.56 μ m, 其中 99.9% 的微气泡直径均在 1.47 μ m 与 4.7 μ m 之间. 超声造影剂微气泡的直径要求低于 8 μ m, 可以通过肺循环到达目标组织和器官, 增强待查组织的回声信号. 另外包裹高密度惰性气体的超声造影剂微气泡, 当直径在 2—5 μ m 时, 稳定性及振动特性较好. 因此制备的白蛋白微气泡造影剂其粒度分布符合超声造影要求. 该微气泡造影剂的浓度约为 $(1-2) \times 10^8$ /ml.

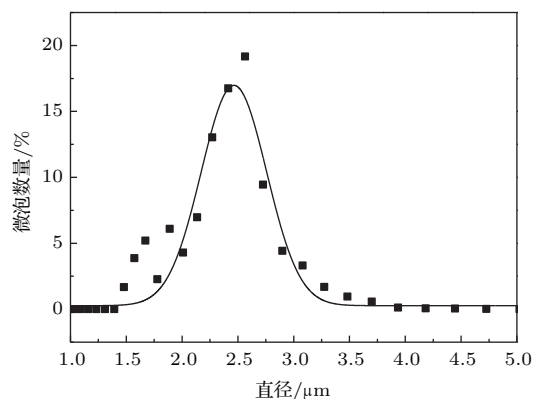


图 2 白蛋白微气泡的粒度分布图

Fig. 2. Microbubble size distribution of albumin microbubbles.

3.2 白蛋白微气泡造影剂力学特性测量与弹性模量评估

在本文的工作中, 我们利用AFM技术对包膜的弹性系数进行直接测量. 图3为直径为2.237 μm 的微气泡造影剂的典型 F - s 曲线. 由图可知, 在探针接触到微气泡造影剂后, 随着探针对微气泡的压缩, AFM悬臂开始出现偏转, 其 F - s 曲线呈现线性变化趋势, 该线性变化斜率即为微气泡造影剂的有效硬度. 直径为2.237 μm 的微气泡的有效硬度为0.15623 N/m. 图4为微气泡的有效硬度和体弹性模量与微气泡直径的关系图, 其中方形实心点表示不同大小微气泡的有效硬度测量值, 空心圆点表示不同大小微气泡的体弹性模量值. 由图可以看出, 微气泡的有效硬度和体弹性模量随微气泡半径的变化无明显变化, 微气泡的弹性特征与微气泡的大小无关, 而是取决于微气泡包膜材料的物理特性. 不同大小微气泡的有效硬度约为 0.149 ± 0.012 N/m. 原子力显微镜测量得到的微气泡包膜厚度为 17.8 ± 0.8 nm, 在泊松比 $\nu = 0.4$ 时, 体弹性模量约为 8.31 ± 0.667 MPa.

在过去的工作中, 研究者们从理论及实验两方面研究了包膜微气泡的弹性特性. Gorce等为研究脂膜微气泡 SonoVue 的弹性特性 [24], 定义了两种模型, 即CT模型(等厚度模型, 弹性不随半径变化)和CR模型(等比例模型, 弹性系数与半径相关). 他们根据回声强度的实验研究指出等厚度CT模型更适合描述 SonoVue 微气泡, 即其弹性特性不随半径变化. Chen等采用原子力显微镜测量了脂膜微气泡的弹性, 指出脂质膜的弹性系数依赖于粒径, 随着粒径增大按指数规律减小 [25]. Doinikov等基于零厚度包膜气泡模型 (zero-thickness encapsulation model) 研究了脂类包膜的造影剂微泡的包膜黏弹特性, 结果表明白蛋白包膜的造影剂气泡的黏弹系数随着气泡粒径的增加而增加 [26]. 但 Doinikov 等也同时指出这种弹性随粒径的变化可能与微泡动力学模型中含有多个未知参数带来的不确定性相关 [26]. 可见, 基于多参数动力学模型拟合实验数据推测造影剂微泡包膜特性的方法, 不同形式动力学模型的选用将对结果造成较大的不确定性. 本文的研究结果指出白蛋白微泡的弹性系数与粒径无关, 该结果与 Gorce 等基于CT等厚度模型研究脂类包膜微泡得到的结论相符合, 但与 Chen 等测量得到的脂膜的弹性特性与粒径相关的结论相悖 [25]. 但由于白蛋白和脂类包膜的材料

种类不同, 在将来的工作中, 我们采用本文提出的AFM与气泡动力学分析结合的方法脂膜微气泡进行测量, 并与前人的工作进行进一步的对比验证.

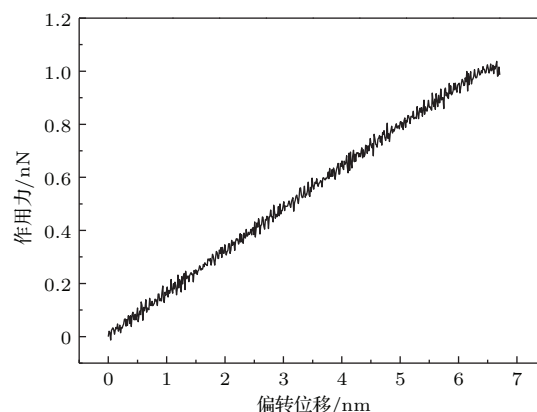


图3 直径为2.237 μm 的微气泡的力学特性曲线
Fig. 3. The typical f - d curve of microbubble with 2.237 μm .

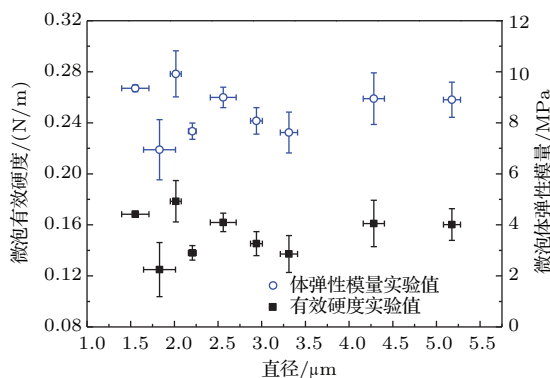


图4 微气泡有效硬度和体弹性模量与微气泡直径的关系
Fig. 4. The relationship of effective stiffness and bulk modulus to microbubble diameter.

3.3 白蛋白微气泡造影剂声衰减特性测量及其动力学仿真

为进一步表征微气泡的有效黏度, 本文进一步测量了微气泡的声衰减. 图5为白蛋白微气泡造影剂的声衰减谱, 其中方形离散点代表微气泡造影剂的超声衰减测量值, 微气泡造影剂的共振频率约为3.93 MHz. 基于3.2节测量得到的有效硬度及其推算出来的体弹性模量 K_P , 通过调整体黏度系数 μ_P 计算得到 σ_e , 根据(5)和(6)式计算出其理论衰减及其与实验衰减的方差, 当方差最小时, 得到微气泡的体黏度系数 $\mu_P = 0.374 \pm 0.003$ Pa·s. 图5中连续实线为利用有效黏弹特性拟合的微气泡造影剂的声衰减谱, 理论拟合的声衰减谱的共振频率与实验结果相符合.

在以往的声衰减特性和动力学仿真相结合估算包膜黏弹性的方法中, 均是同时调整弹性模量 K_P 和体黏度系数 μ_P 来获取最小方差, 最终确定 K_P , μ_P . 但由于 K_P 和 μ_P 是相互影响的, 因此这种方法存在很大的不确定性. 本文采用原子力显微镜技术测量微气泡的弹性特征, 将多参数拟合估算方式转换为一种单参数计算方式, 提高了微气泡黏弹性估算的准确性, 为微气泡造影剂在临床诊断和治疗过程中提供更准确的理论根据.

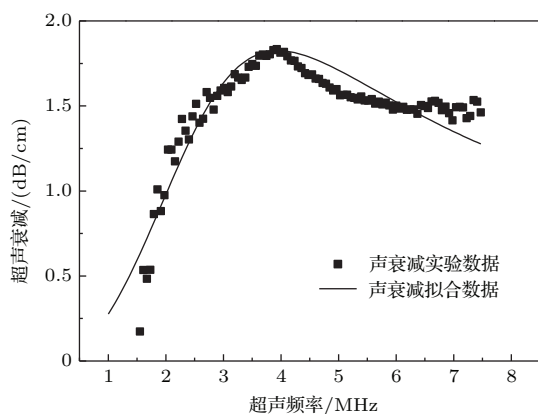


图5 白蛋白微气泡造影剂的声衰减谱及其理论拟合衰减谱

Fig. 5. The measured and best-fitted acoustic attenuation spectra of the albumin microbubble contrast agents.

4 结 论

本研究采用原子力显微镜和声衰减测量技术定量表征微气泡的包膜黏弹特性. 利用声振方法制备了白蛋白包膜造影剂微气泡, 采用原子力显微镜技术测量了机械特性, 从而得到微气泡的弹性模量. 结果还表明微气泡造影剂的机械特性与微气泡初始半径无关, 取决于微气泡包膜本身的物理特性; 进一步通过声衰减测量, 结合微气泡动力学模型计算得到微气泡的黏性特征. 本文提出的包膜黏弹特性表征方法中, 利用原子力显微镜技术得到弹性参数, 将动力学模型中多参数评估转换为更精确的单参数评估方法. 利用本文提出的方法, 可以根据临床超声诊断和治疗的要求, 优化微气泡造影剂的制备. 在今后研究中, 需对脂膜微气泡的黏弹特性开展测量研究, 以进一步验证该方法的可行性; 并且在 AFM 技术进一步拓展后考虑进一步研究超声作用前后的微气泡的弹性系数变化及其对黏性系数拟合结果的影响.

参考文献

- [1] Zhang X J, Cheng Y Q, Li L J, Wang X R 2005 *Chin. J. Med. Imaging Technol.* **21** 819
- [2] Stride E P, Coussios C C 2010 *Proc. Inst. Mech. Eng. H* **224** 171
- [3] Ferrara K W, Borden M A, Zhang H 2009 *Acc. Chem. Res.* **42** 881
- [4] Kennedy J E 2005 *Nature Rev. Cancer* **5** 321
- [5] Ferrara K, Pollard R, Borden M 2007 *Annu. Rev. Biomed Eng.* **9** 415
- [6] Zhang C B, Liu Z, Guo X S, Zhang D 2011 *Chin. Phys. B* **20** 024301
- [7] Kennedy J E 2005 *Nature Rev. Cancer* **5** 321
- [8] Lu M Z, Wan M X, Shi Y, Song Y C 2002 *Acta Phys. Sin.* **51** 928 (in Chinese) [陆明珠, 万明习, 施雨, 宋延淳 2002 物理学报 **51** 928]
- [9] Liang J F, Chen W Z, Shao W H, Zhou C, Du L F, Jin L F 2013 *Acta Phys. Sin.* **62** 084708 (in Chinese) [梁金福, 陈伟中, 邵纬航, 周超, 杜联芳, 金利芳 2013 物理学报 **62** 084708]
- [10] Chen Q, Zou X Y, Cheng J C 2006 *Acta Phys. Sin.* **55** 6476 (in Chinese) [陈谦, 邹欣晔, 程建春 2006 物理学报 **55** 6476]
- [11] Hoff L, Sontum P C, Hovem J M 2000 *J. Acoust. Soc. Am.* **107** 2272
- [12] Fouan D, Achaoui Y, Mensah S 2014 *Appl. Phys. Lett.* **104** 114102
- [13] Sboros V, Moran C M, Pye S D, McDicken W N 2003 *Ultrasound Med. Biol.* **29** 687
- [14] Chomas J E, Dayton P A, May D, Allen J, Klibanov A, Ferrara K 2000 *Appl. Phys. Lett.* **77** 1056
- [15] Tu J, Guan J F, Qiu Y Y, Matula T J 2009 *J. Acoust. Soc. Am.* **126** 2954
- [16] Sboros V, Glynos E, Pye S D, Moran C M, Butler M, Ross J A, McDicken V, Koutsos V 2007 *Ultrasonics* **46** 349
- [17] Marmottant P, van der Meer S, Emmer M, Versluis M, de Jong N, Hilgenfeldt S, Lohse D 2005 *J. Acoust. Soc. Am.* **118** 3499
- [18] Doinikov A A, Haac J F, Dayton P A 2009 *Ultrasonics* **49** 269
- [19] Doinikov A A, Bouakaz A 2011 *Ultrason. Ferro. Freq. Control* **58** 981
- [20] Liu K K 2006 *J. Phys. D: Appl. Phys.* **39** R189
- [21] Glynos, E, Koutsos, V, McDicken W N, Moran C M, Pye S D, Ross J A, Sboros V 2009 *Langmuir* **25** 7514
- [22] Porter T R, Xie F, Kricsfeld A, Kilzer K 1995 *J. Am. Col. Cardio.* **26** 33
- [23] de Jong N, Hoff L, Skotland T, Bom N 1992 *Ultrasonics* **30** 95
- [24] Gorce J M, Schneider M 2000 *Invest Radiol* **35** 661
- [25] Chen C C, Wu S Y, Finan J D, Morrison B, Konofagon E E 2013 *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control* **60** 524
- [26] Doinilov A A, Haac J F, Dayton P A 2009 *Ultrasonics* **49** 269

Quantitative characterization of viscoelasticity of microbubbles in ultrasound contrast agent*

Guo Ge-Pu¹⁾ Zhang Chun-Bing²⁾ Tu Juan¹⁾ Zhang Dong^{1)†}

1) (*Key Laboratory of Modern Acoustics (Nanjing University), Ministry of Education, Institute of Acoustics, Nanjing 210093, China*)

2) (*The Traditional Chinese Medicine Hospital of Jiangsu Province, Nanjing 210056, China*)

(Received 7 September 2014; revised manuscript received 23 November 2014)

Abstract

Ultrasound contrast agent (UCA) microbubbles have been commonly used in clinic to enhance the acoustic backscattering signals in ultrasound imaging diagnosis. With increasing demand for the continuous improvement of imaging resolution and sensitivity, new type UCAs (e.g., targeted microbubbles and multifunctional microbubbles) have attracted growing interest in both medical and scientific communities. Many efforts have been made to modify microbubble shell properties, which can strongly affect microbubble dynamic behaviors, so as to enable to create some new functionalities of UCAs. However, accurate characterization of the shell mechanical properties of UCAs has been recognized to be rather challenging. In previous work, microbubble's mechanical properties are normally estimated by fitting measured dynamic response signals with coated-microbubble models. Inevitable uncertainty will be introduced in fitting results because there are more than one unknown shell parameters are adopted in these dynamic models. In the present paper, a comprehensive approach is developed to quantitatively characterize the visco-elasticity of the encapsulated microbubbles. By combining the techniques of atomic force microscopy (AFM), single particle optical sensing (SPOS), acoustic attenuation measurement, and the coated-bubble dynamics simulation, the size distribution, shell thickness, shell elasticity and viscosity of UCA microbubbles are determined one by one in sequence. To examine the validity of this approach, a kind of albumin-shelled microbubbles with diameters ranging from 1 to 5 μm are fabricated in our lab. Based on AFM technology, the microbubble effective shell stiffness and bulk elasticity modulus are measured to be 0.149 ± 0.012 N/m and 8.31 ± 0.667 MPa, respectively. It is noteworthy that the shell elastic property is shown to be independent of the initial size of microbubbles. Furthermore, the size distribution and acoustic attenuation measurements are also performed of these bubbles. Then, combined with microbubble dynamic model simulations, the UCA shell viscosity is calculated to be 0.374 ± 0.003 Pa·s. Compared with previous estimation method, the current technology can be used as an effective tool to assess UCA shell visco-elasticity with improved accuracy and certainty. It is also shown that the feasibility to optimize the design and fabrication of UCAs can satisfy different requirements in ultrasound diagnostic and therapeutic applications.

Keywords: ultrasound contrast agent microbubbles, atomic force microscope, viscoelasticity, acoustic attenuation

PACS: 43.25.+y, 43.80.+p

DOI: [10.7498/aps.64.114301](https://doi.org/10.7498/aps.64.114301)

* Projects supported by the National Basic Research Program of China (Grant No. 2011CB707900), the National Natural Science Foundation of China (Grant Nos. 81127901, 81227004, 81171659, 11374155, 11174141, 11104140, 11161120324), and the National High-Tech Research and Development Program (Grant No. 2012AA022702).

† Corresponding author. E-mail: dzhang@nju.edu.cn