

# 用于动物细胞和组织培养的新型 LED 生物光源系列\*

刘江<sup>1,2</sup> 刘承宜<sup>2,3\*\*</sup> 杨友源<sup>3</sup> 范广涵<sup>1</sup>

(华南师范大学, 1 MOCVD 研究所, 2 激光运动医学实验室, 广州 510631)

(3 香港教育学院科学系, 香港)

**摘要** 采用透镜组扩大光束、透镜阵列聚焦和点阵光曲面聚集光能三种光路设计, 通过选择各光源中的四个工作参数调节光源输出的辐射照度, 本文研制出可用于动物细胞和组织培养使用的、不同强度的三种新型 LED 生物光源, 并使用统计分析软件 SPSS 拟合得出它们的辐射照度经验计算公式。

**关键词** 发光二极管; 辐射照度; 动物细胞及组织培养; 线性回归

**中图分类号** R318.51, TN383

**文献标识码** A

## 0 引言

动物细胞或组织与单色光的作用是非共振作用<sup>[1-4]</sup>, 因此光生物调节作用不是严格依赖于波长<sup>[5]</sup>. 研究表明<sup>[5,6]</sup>, 普通单色光与激光的光生物调节作用没有显著性差异. 发光二极管(LED)所发出的光正好是满足这种要求的单色光. 实际上, LED 已经广泛用于生物医学的研究<sup>[7]</sup>. 研究进一步发现, 不同的动物细胞<sup>[6]</sup>或组织<sup>[8]</sup>的光生物调节作用的剂量依赖关系是不同的. 目前 LED 与激光相比最大的劣势就是其强度可调性. 本文通过设计出高、中、低三种光强的 LED 光源克服 LED 的这个缺陷.

## 1 系统设计

### 1.1 三种强度 LED 光源的光路设计

对生物培养光源的一个重要要求是使被照射样品面上各处接受的光辐射能均等, 当辐射照度为一常数时, 便可通过调节照射时间准确控制样品接受的照射剂量. 因此, 本光源系统的输出光都尽可能是平行光, 这在本系统中主要是通过以下方法实现的, 对于低强度 LED 光源, 是采用透镜组扩束降低 LED 输出光的辐射照度, 其光路图如图 1 所示; 对于中等强度 LED 光源, 是通过透镜阵列聚焦提高 LED 输出光的辐射照度, 其光路图如图 2 所示; 对于高强度 LED 光源, 是首先将安装在曲面点阵上的 LED

光汇聚在曲面的曲率中心, 然后经一菲涅耳透镜把光线平行照射出去, 既提高了 LED 输出光的辐射照度, 又使输出光改变了方向, 其光路图如图 3 所示.

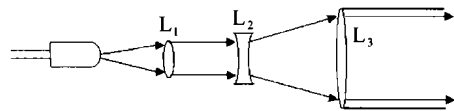


图 1 低强度 LED 光源光路图

Fig. 1 The scheme of optical system in low intensity LED sources

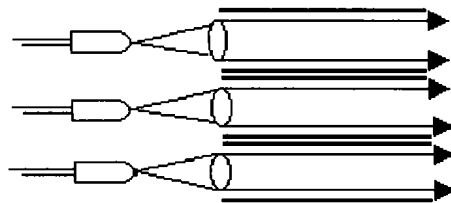


图 2 中等强度 LED 光源光路图

Fig. 2 The scheme of optical system in moderate intensity LED sources

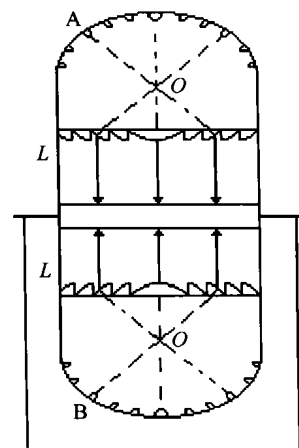


图 3 高强度 LED 光源光路及结构剖视图

Fig. 3 The illustration of optical and structural system in high intensity LED sources

因为对于透镜来说, LED 从严格意义讲不是点光源, 发的光也有一定的谱宽, 但本文从实际应用出发, 采用合理近似, 将 LED 看成是类点光源, 在光度导轨上通过 LED 对不同曲率的透镜在光屏上所成的最小像的像距, 利用高斯公式反求得选定的 LED

\* 国家科技部 2000 年重点攻关计划(00-068)、国家自然科学基金(60178003 和 6027812)、广东省自然科学基金团队项目(2003061)和重点项目(20011480)、激光技术国家实验室开放基金以及广东省“千百十工程”优秀人才培养基金(Q02087)和香港求是基金(Croucher Foundation)资助项目

\*\* 通信联系人 Tel: 020-85210933

Email: liutcy@scnu.edu.cn

收稿日期: 2003-01-08

对图 2 中阵列透镜和图 1 中透镜  $L_1$  的经验焦距,而透镜  $L_2$  与  $L_3$  则采用已知焦距的二个透镜组合而成,所不同的只是它们的焦距之比  $f_3/f_2$  不同,从而导致输出光的强度不同.

图 3 中由 A 和 B 二个球冠内的若干个 LED 发出的光线在曲率中心  $O$  和  $O'$  点汇聚后,经一菲涅耳透镜把光线从上下二面平行照射到生物样品上去,增强了光源的辐射照度和光能分布的均匀性,中部的长方形装置内用来放置细胞培养孔板或玻璃培养器,上下玻璃套管的长度  $L$  都相同,以保证生物样品上下二面接受到的辐射剂量相同.

## 1.2 简要结构

以上三种光源中的透镜均是选自广州光学仪器厂的产品,图 1 中  $L_1$  经验焦距为 75 mm,图 2 中阵列透镜的经验焦距为 37 mm,这二种光源可通过调整透镜  $L_3$  和阵列透镜的直径,分别照射口径不同的细胞培养板,使用时,将 LED 与上述对应的透镜结合后,再用外侧包紧光亮锡箔的玻璃筒与之固定,做成光源筒后,插入细胞培养装置内照射,其简要结构如图 4 所示.

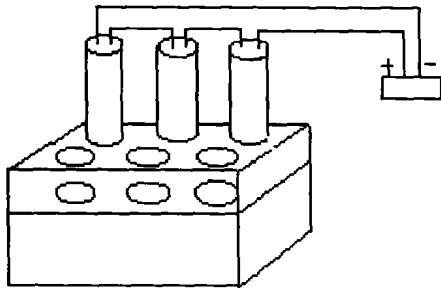


图 4 中、低强度 LED 生物光源结构简图

Fig. 4 The structure of moderate or low intensity LED sources

图 3 中的 A、B 二球冠的曲率半径都为 150 mm,用来照射口径较大的玻璃培养器,这种光源可根据照射面积的不同,采用不同大小的球冠安装不同数量的 LED. 这三种光源都可以根据需要,选择不同波长和管芯光强的 LED,还可使用多管芯双色或多色 LED,以满足不同的生物光照需要. 本文采用的是发散角为  $30^\circ$ , 波长 640 nm, 波宽约 17 nm 的红光 LED.

## 1.3 电源配置

以上系列光源可根据所需的 LED 数目和实验目的,选择干电池和直流电源二种,选用干电池做电源时,可将该光源连同电源一起放入细胞培养箱进行实验. 在电路设计上采用串联与并联组合,以稳压驱动,恒电流供电,配合补偿电阻,使每串 LED 光强相等. 在供电方式上,除了使用连续供电外,还可采用间隙供电,如用 12 V 稳压电源供电,然后通过一个无稳态多谐振荡器,其振动频率在 1 ~ 10 Hz 范

围,使 LED 光源按选定时间间隔闪烁.

## 2 系统光学测量

### 2.1 辐射照度的强度测量

首先用 PHILIPS 公司的 PLM100 光荧光面扫描仪准确校正已选定 LED 的波长  $\lambda$  (nm),根据波长数值,再用日本 ADVANTEST CORPORATION 的辐射照度功率计 TQ8200SERIES OPTICAL SENSORC (connected with power meter) 直接测定光源在该波长范围输出的辐射照度  $E$  ( $W/m^2$ ),另外 LED 的法向光强  $I_{(cd)}$  则是用浙江大学光电系的 GCD-99 LED 测试仪精确测定.

### 2.2 辐射照度的分布测量

生物光源中一个重要的要求是照射面内辐射照度的分布要均匀,测量的方法是用一带狭缝的遮光板,狭缝宽度为 2 mm,长度足够合适,在距光源照射的适当距离处,对照射面从 X 和 Y 二垂直方向进行逐行扫描,每次测量宽度为 2 mm,用以上辐射照度功率计读出辐射照度值  $E_{(x)}$  和  $E_{(y)}$  后,再进行分析比较.

## 3 测量和回归分析结果

### 3.1 辐射照度的强度

对低强度 LED 光源,要测出在不同的光筒长度  $L_{(m)}$ 、LED 工作电流  $I_{(A)}$ 、LED 管芯光强  $I_{(cd)}$  和透镜  $L_3$  与  $L_2$  焦距之比  $f_3/f_2$  时,该光源的辐射照度  $E_1$  ( $W/m^2$ );对中等强度 LED 光源,要测出在不同的光筒长度  $L_{(m)}$ 、LED 工作电流  $I_{(A)}$ 、LED 管芯光强  $I_{(cd)}$  和透镜半径  $R_{(m)}$  时,该光源的辐射照度  $E_2$  ( $W/m^2$ );对高强度 LED 光源,要测出在不同的光筒长度  $L_{(m)}$ 、LED 工作电流  $I_{(A)}$ 、LED 管芯光强  $I_{(cd)}$  和球冠内 LED 数目  $N$  时,该光源的辐射照度  $E_3$  ( $W/m^2$ ). 在以上精确测量的基础上,得到各相应条件下三种生物光源的辐射照度,建立数据文库如表 1 所示.

对表 1 中数据,先用 SPSS 做出低强度光源中  $E_1$  ( $W/m^2$ ) 与  $L_{(m)}$ 、 $I_{(cd)}$ 、 $I_{(A)}$  和  $f_3/f_2$  的散点图;中等强度光源中  $E_2$  ( $W/m^2$ ) 与  $L_{(m)}$ 、 $I_{(cd)}$ 、 $I_{(A)}$  和  $R_{(m)}$  的散点图;高强度光源中  $E_3$  ( $W/m^2$ ) 与  $L_{(m)}$ 、 $I_{(cd)}$ 、 $I_{(A)}$  和  $N$  的散点图. 根据散点图形选用相应的函数进行拟合,对于以上非线性关系的,要经一定的函数变换后转化为线性关系,再用 SPSS 进行四元线性回归,最后得出这三种光源的辐射照度的经验公式,其结果如下:

低强度 LED 光源中,辐射照度  $E_1$  ( $W/m^2$ ) 与  $L_{(m)}$  的倒数、 $I_{(A)}$  和  $I_{(cd)}$  均为线性增加,但会随焦距

表 1 三种强度 LED 生物光源的辐射照度与其它因素的关系

变量	$E_3$	$E_2$	$E_1$	$\sqrt{N}$	$L_{(m)}^{-1}$	$R_{(m)}^{-1}$	$\frac{1}{\ln(f_3/f_2)}$	$I_{(A)}^2 \cdot 10^{-4}$	$I_{(cd)}^{1/2}$	$I_{(cd)}$
1	17.6263	0.3579	0.0021	1.41	5.00	19.05	0.42	1.00	1.00	1.00
2	22.6307	0.8344	0.0782	2.00	5.26	20.00	0.43	1.56	1.11	1.25
3	27.5718	1.3963	0.1569	2.44	5.55	21.05	0.44	2.25	1.22	1.50
4	32.4944	1.9727	0.2296	2.82	5.88	22.22	0.45	3.06	1.32	1.75
5	37.4236	2.4987	0.3033	3.16	6.25	23.53	0.46	4.00	1.41	2.00
6	42.3830	3.0612	0.3842	3.46	6.66	25.00	0.48	5.06	1.50	2.25
7	47.1914	3.6459	0.4591	3.74	7.14	26.67	0.49	6.25	1.58	2.50
8	52.0645	4.1542	0.5325	4.00	7.69	28.57	0.51	7.56	1.65	2.75
9	56.9242	4.7280	0.6103	4.24	8.33	30.77	0.53	9.00	1.73	3.00
10	61.7640	5.3016	0.6784	4.47	9.09	33.33	0.55	10.56	1.80	3.25
11	66.7399	5.8165	0.7626	4.69	10.00	36.36	0.58	12.25	1.87	3.50
12	71.6364	6.8548	0.8396	4.89	11.11	40.00	0.62	14.06	1.93	3.75
13	64.4441	7.3789	0.9165	5.09	12.50	44.44	0.66	16.00	2.00	4.00
14	81.3704	7.9874	0.9960	5.29	14.28	50.00	0.71	18.06	2.06	4.25
15	86.2988	8.5979	1.0747	5.47	16.66	57.14	0.80	20.25	2.12	4.50
16	91.1247	9.0917	1.1495	5.65	20.00	66.67	0.90	22.56	2.17	4.75
17	96.0427	9.6957	1.2349	5.83	25.00	80.00	1.08	25.00	2.23	5.00
18	100.852	10.205	1.3082	6.00	33.33	100.0	1.44	27.56	2.29	5.25
19	105.749	10.823	1.3859	6.16	50.00	133.3	2.43	30.25	2.34	5.50
20	110.526	11.228	1.4645	6.32	100.00	200.0		33.06	2.39	5.75

$f_3/f_2$  比值的增大呈幂函数衰减, 线性回归所得经验公式为

$$E_{(W/m^2)} = -0.290 + 0.296 \times I_{(cd)} + \frac{0.001333}{L_{(m)}} - \frac{0.0254}{\ln(f_3/f_2)} + 13.590 \times I_{(A)}^2 \quad (1)$$

中等强度 LED 光源中, 辐射照度  $E_2$  ( $W/m^2$ ) 与  $L_{(m)}$  的倒数、 $I_{(A)}$  和  $I_{(cd)}$  均为线性增加, 但会随透镜直径  $2R_{(m)}$  的增大呈幂函数衰减, 线性回归所得经验公式为

$$E_{(W/m^2)} = -1.2520 + 1.7140 \times I_{(cd)} + \frac{0.0221}{L_{(m)}} - \frac{0.0212}{R_{(m)}} + 1298.8230 \times I_{(A)}^2 \quad (2)$$

高强度 LED 光源中, 辐射照度  $E_3$  ( $W/m^2$ ) 与  $I_{(A)}$ 、 $I_{(cd)}$  和  $N$  均为线性增加, 但与  $L_{(m)}$  的倒数是对数关系, 会随  $L_{(m)}$  倒数的增大而趋于常数, 线性回归所得经验公式为

$$E_{(W/m^2)} = -47.809 + 76.623 \times \sqrt{I_{(cd)}} - \frac{0.013}{L_{(m)}} - 8.360 \times \sqrt{N} + 8575.843 \times I_{(A)}^2 \quad (3)$$

在以上所得三个经验公式的线性显著性检验中,  $P$  值都小于  $\alpha(0.05)$ ; 方差分析中  $F$  值都大于  $F_{0.05}$ ; 说明在这三种光源中分别选择的工作参数, 它们均与辐射照度  $E$  ( $W/m^2$ ) 线性相关, 在各自光源的辐射照度设计范围内, 这些经验公式合理可信<sup>[9]</sup>.

### 3.2 辐射照度的分布

使用上述 2 mm 宽的狭缝遮光板, 在适当距离

处, 分别对低强度 LED 光源中直径为 40 mm 的照射圆面积、中等强度 LED 光源中直径为 60 mm 的照射圆面积、高强度 LED 光源中直径为 80 mm 的照射圆面积, 用以上辐射照度功率计在二垂直方向进行逐行扫描测试后, 再对所得的 40、60 和 80 个辐射照度值  $E_{(x)}$  和  $E_{(y)}$  值进行评估分析. 首先可根据这些数值用 SPSS 做作出它们分布的直方图, 即在各组的组间距内出现的组数, 发现其曲线轮廓是以  $E$  ( $W/m^2$ ) 的平均数为中心的均匀分布曲线, 再用 SPSS 中的 Kolmogorov-Smirnov 方法对  $E_{(x)}$  和  $E_{(y)}$  分别进行均匀分布检验, 其检验结果见表 2.

表 2 三种光源辐射照度的均匀分布检验

$E(W/m^2)$	$N$	Mean	SD.	Minimum	Maximum	$P(2-tailed)$
$E_1(x)$	20	0.7093	1.7076E-02	0.6824	0.7363	0.992
$E_1(y)$	20	0.7097	1.7876E-02	0.6840	0.7381	0.977
$E_2(x)$	30	6.3723	2.1433E-02	6.3387	6.4078	0.979
$E_2(y)$	30	6.3731	2.2421E-02	6.3344	6.4085	0.974
$E_3(x)$	40	71.5358	2.0812E-02	71.5001	71.5773	0.899
$E_3(y)$	40	71.5354	2.2091E-02	71.5018	71.5729	0.897

从表 2 可知, 三种光源的辐射照度在上述照射面积内的标准偏差都小于 2.5%, 双侧检验中均匀分布出现的概率  $P$  都达到或接近 0.9, 说明此系列光源的辐射照度  $E$  ( $W/m^2$ ) 都呈较好的均匀分布<sup>[10]</sup>, 可以满足生命科学研究中对各种强度的均匀辐射光源的要求.

## 4 讨论

本文设计了三种 LED 生物光源, 可通过 LED

光源输出光辐射照度的调节,满足动物细胞或组织培养对不同强度单色光的需要.介绍了这一系列生物光源的设计并推导出它们的辐射照度经验计算模型,从而使这种廉价、方便、可靠的新型光生物实验技术进一步标准化、系列化和实用化,为将这种新的实验技术应用于生物细胞学和其它方面的研究提供了一定的理论依据.

最近,我们成功地将本文设计的红光LED系统用于研究光对淀粉样蛋白 $A\beta_{25-35}$ 诱导的PC12凋亡的调节作用,发现中等强度的LED红光适合抑制 $A\beta_{25-35}$ 诱导的PC12凋亡,相应的功率为 $0.5 \sim 10W/m^2$ ,剂量为 $10^3 \sim 10^4 J/m^2$ ,研究结果另文发表<sup>[11]</sup>.

#### 参考文献

- 1 角建瓴,刘承宜,段锐.非视觉细胞光信号转导及其应用.广州医药,2003,34(1):1~3  
Jiao J L, Liu C Y, Duan R. *Guangzhou Medicine*, 2003, 34(1): 1~3
- 2 刘承宜,刘颂豪.低强度激光的生物光子学研究.中国激光医学杂志,1997,6(3):125~131  
Liu C Y and Liu S H. *China Laser Medicine Journal*, 1997, 6(3): 125~131
- 3 Liu C Y, Zhao Y P. Information biology on low intensity laser. *SPIE*, 1999, 3863: 444~451
- 4 Liu C Y, Duan R, Yin P J, et al. Membrane mechanism of low intensity laser Biostimulation on a cell. *SPIE*, 2000, 4224: 186~192
- 5 Karu T. The Science of Low-Power Laser Therapy. Amsterdam: Gordon and Breach Science Publishers, 1998
- 6 Karu T. Photochemical effects upon the cornea, skin and other tissues (photobiology of low-power laser effects). *Health Physics*, 1989, 56(5): 691~704
- 7 刘江,角建瓴,刘承宜. LED在生物医学方面的应用和前景.激光杂志,2002, 23(6): 1~4  
Liu J, Jiao J L, Liu C Y. *Laser Journal*, 2002, 23(6): 1~4
- 8 Tunér J, Hode L. Low Level Laser Therapy. Graengesberg: Prima Books in Sweden AB, 1999
- 9 何晓群,刘文卿.应用回归分析.北京:中国人民大学出版社,2001. 56~121  
He X Q, Liu W Q. The Applications of Regression Analysis. Beijing: Renming University of China Press, 2001. 56~121
- 10 斯皮格尔(美)M R, 斯里尼瓦桑(美)R A. 概率与统计.北京:科学出版社,2002. 74~179  
Spiegel M R, Schiller J, Srinivasan R A. Outline of Theory and Problems of Probability and Statistics. Second Edition. Beijing: Science Publishing House, 2002. 74~179
- 11 Duan R, Zhu L, Liu C Y, et al. Light emitting diode irradiation protect against the amyloid beta 25-35 induced apoptosis of PC12 cell in vitro. *Lasers Surg. Med.*, 2003, 33(3): 199~203

## The Novel Light Emitting Diode (LED) Sources System for Animal Cell or Tissue Culture

Liu Jiang<sup>1,2</sup>, Liu Chengyi<sup>2,3</sup>, Yeung Youyuen<sup>3</sup>, Fan Guanghan<sup>1</sup>

1 MOCVD Institute, 2 Laboratory of Laser Sports Medicine, South China Normal University, Guangzhou, 510631

3 Department of Science, Hong Kong Institute of Education, HK

Received date: 2003-01-08

**Abstract** The three schemes of optical system have been designed by a set of lens to expand the beam of light, an array of lens to focus the rays of light or an array of lens being set in the curved surface to gather the energy of light. The radiance of the three light sources can easily be adjusted to suitable intensity by selecting four parameters in the system respectively. Three new light emitting diode (LED) instruments with different intensity for animal cell or tissue culture are developed and three experiential formulae for calculating radiance have been obtained by SPSS in this paper.

**Keywords** Light emitting diode; Radiance; Animal cell or tissue culture; Linear regression



**Liu Jiang** was born in 1965, received the Physical Chemistry Master degree from South China Normal University in 1996. He had worked in Fujian Normal University from 1996 to 2001. Now he is studying for Optics Doctor degree in South China Normal University Information and Photoelectron Science and Technology College. His research is mainly focused on low intensity laser and LED applications research in biology and biomedicine.