

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ УКРАЇНИ
«КИЇВСЬКИЙ ПОЛІТЕХНІЧНИЙ ІНСТИТУТ ІМ. ІГОРЯ СІКОРСЬКОГО»
КАФЕДРА БІОМЕДИЧНОЇ ІНЖЕНЕРІЇ

Богомолів М.Ф., Шликов В.В.

ЛАБОРАТОРНА АНАЛІТИЧНА ТЕХНІКА

Конспект лекцій до вивчення кредитного модуля дисципліни «Методи та засоби діагностики-1. Лабораторна аналітична техніка» для студентів спеціальності 163 «Біомедична інженерія» та 152 «Метрологія та інформаційно-вимірвальна техніка»

*Рекомендовано Методичною радою КПІ ім. Ігоря Сікорського
як навчальний посібник для здобувачів ступеня бакалавра
за освітньою програмою «Медична інженерія»
спеціальності 163 «Біомедична інженерія»*

*Ухвалено на засіданні
кафедри біомедичної інженерії ФБМІ
(протокол № 4 від «18» листопада 2020 р.)*

Київ
«КПІ ім. Ігоря Сікорського»
2020

Рецензент *Худецький І.Ю.*, д.м.н., проф., завідувач кафедри біобезпеки і здоров'я людини КПІ ім. Ігоря Сікорського,
Маринський Г.С., д.т.н., с.н.с., завідувач відділу зварювання та споріднених технологій в медицині та екології №017 Інституту електрозварювання ім.Є.О.Патона

Відповідальний редактор *Зубчук В.І.*, к.т.н., доц., доцент кафедри біомедичної інженерії КПІ ім. Ігоря Сікорського

Гриф надано Методичною радою КПІ ім. Ігоря Сікорського (протокол № 14 від 14.12.2020 р.) за поданням Вченої ради факультету біомедичної інженерії (протокол № 7 від 30.11.2020 р.)

Електронне мережне навчальне видання

Богомолов Микола Федорович, канд. техн. наук, доц.,
Шликов Владислав Валентинович, д-р техн. наук, доц.

ЛАБОРАТОРНА АНАЛІТИЧНА ТЕХНІКА

Конспект лекцій до вивчення кредитного модуля дисципліни «Методи та засоби діагностики-1. Лабораторна аналітична техніка» для студентів спеціальності 163 «Біомедична інженерія» та 152 «Метрологія та інформаційно-вимірювальна техніка»

Лабораторна аналітична техніка: Конспект лекцій з дисципліни для студентів спеціальності 163 «Біомедична інженерія» та 152 «Метрологія та інформаційно-вимірювальна техніка» [Електронний ресурс]: навч. посіб. для студ. спеціальності 163 «Біомедична інженерія» та 152 «Метрологія та інформаційно-вимірювальна техніка» / М.Ф. Богомолов, В.В. Шликов; КПІ ім. Ігоря Сікорського. – Електронні текстові дані (1 файл: 1,2 Мбайт). – Київ : КПІ ім. Ігоря Сікорського, 2020. – 69 с.

Анотація: Розглянуто теоретичні основи, принципи функціонування та основні оптичні та принципові схеми основних сучасних методів, які застосовуються у лабораторній діагностиці, та принципів роботи лабораторної аналітичної техніки, що дозволить працювати майбутньому з лабораторно-дослідницькою мікропроцесорною апаратурою, виконувати її ремонт та обслуговування, проводити дослідження біооб'єктів, які використовуються в біомедичній інженерії, за допомогою новітніх лазерних оптоелектронних методів. Практична частина кредитного модулю спрямована на науково-аналітичний огляд, проектування, конструювання, дослідження, випробування, експлуатацію і технічну експертизу високоточних аналітичних методів дослідження патологічних змін в серцево-судинній і імунній системах, що є надзвичайно актуальним питанням сучасної епідеміологічної галузі медицини.

© М.Ф. Богомолов, В.В. Шликов, 2020

ЗМІСТ

1. Особливості оптичних методів біомедичних досліджень	4
1.1. Основні принципові переваги лазерної лабораторної діагностики	4
1.2. Класифікація оптичних методів і засобів контролю біооб'єктів	6
1.3. Види взаємодії лазерного випромінювання з біооб'єктами	9
1.4. Лазерні лабораторні методи діагностики	9
2. Основні типи і характеристики оптичних джерел випромінювання, які використовуються в ЛАТ	11
2.1. Особливості і переваги оптичного діапазону електромагнітних хвиль	11
2.2. Принципові переваги оптичного діапазону	12
3. Класифікація оптичних джерел для медичних пристроїв (лазерів). Їх характеристики і методи вимірювання	14
3.1. Класифікація всіх видів лазерів	14
3.2. Основні характеристики лазерних джерел випромінювання. Методи їх вимірювання	17
3.3. Основні типи лазерних резонаторів. Добротність резонатора	29
4. Типи і основні характеристики волоконних світловодів	32
4.1. Закони розповсюдження оптичного випромінювання у волоконно-оптичних трактах	32
4.2. Основні типи і особливості конструкцій волоконних світловодів	35
4.3. Основні характеристики волоконних світловодів. Схеми вимірювання	41
5. Оптичні лабораторні вимірювальні прилади	49
5.1. Метод оптичної спектрофотометрії	50
5.2. Рефрактометричні аналізатори	51
5.3. Інтерферометричні аналізатори	52
5.4. Абсорбційні оптичні методи	53
5.5. Нефелометричні аналізатори	58
5.6. Проточні аналізатори мікрочастинок	62
5.7. Особливості багатопараметричної цитометрії	64
5.8. Поляриметричні аналізатори	65
5.9. Турбідиметрія	66
6. Література	668

1. Особливості оптичних методів біомедичних досліджень

1.1. Основні принципові переваги лазерної лабораторної діагностики Основні методи лазерної діагностики можна поділити:

I. **Макродіагностика** – використовують пружне або квазіпружне розсіювання світла, дифракційні та інтерференційні явища, голографія (рівень клітин та окремих органів від 2 до 200 мкм)

II. **Мікродіагностика** – основа якої є методи лазерної спектроскопії (спектроскопія комбінаційного розсіювання, абсорбційна і колориметрична спектроскопія, лазерний флуоресцентний аналіз, лазерна мас-спектроскопія – рівень дослідження атомів і молекул).

Основні принципові переваги лазерних методів біомедичних досліджень:

1. Висока точність вимірювань (потенційна точність лазерних методів вимірювання швидкості досягає 0,2%). Крім того, лазерні методи дозволяють вимірювати широкий спектр біооб'єктів – від 1мкм/с (швидкість окремих клітин, наприклад сперматозоїдів), до 1м/с (швидкість крові у аорті). Лазерні методи вимірюють (перетворюють) сигнал у частотну форму, а вимірювання частоти є абсолютним методом точносних вимірювань. Для реальних значень вимірювання швидкості крові точність методів 2-3%.

2. Незалежність (індиферентність) оптичного сигналу від електромагнітних завад.

3. Висока завадостійкість при передаванні біоінформації волоконно-оптичними світловодами.

4. Потенційна можливість багатоканального вимірювання одночасно в різних точках простору. Це досягається ефективним формуванням (розчепленням) лазерного променя на велику кількість сенсорних зон. Наприклад, для цього використовують дифракційні ґратки (Рис. 1):

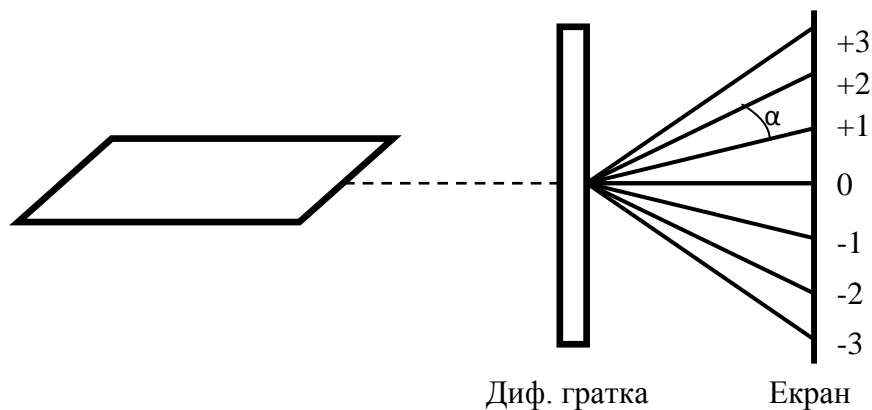


Рис. 1. Приклад використання дифракційної ґратки

$$d \sin \alpha = \pm n \lambda, \quad (1)$$

де $\lambda = 0.6328$ мкм – довжина хвилі ($He - Ne$) лазера (довжина хвилі червоного світла випромінювання), n – порядок лазерної дифракції, d – крок дифракційної ґратки, α – кут між нульовим n -им порядком.

5. Висока швидкість передавання біоінформації на велику відстань, що має дуже велике значення для телемедицини і операційних робіт.

6. Безконтактний неруйнівний дистанційний метод вимірювань – дозволяє не змінювати закон розповсюдження руху крові, не деформуються форменні елементи крові і, головне, вимірює швидкості у важко доступних місцях (герметичних, наприклад око).

7. Розміри «лазерного зонду» може бути до 1 мкм^3 . Лазерний промінь як когерентний сигнал можна сфокусувати у пляму з розмірами:

$$d_{min} = \frac{\lambda}{2NA}, \quad (2)$$

де NA – числова апертура об'єктива, d_{min} – розмір плями. Ці розміри сумірні з довжиною хвилі (для CD 0,9-1 мкм). Для некогерентних (звичайних джерел випромінювання) ця пляма сумірна з розмірами зони випромінювання (нитка розжарювання для ліхтарика, розміри робочого кристалу для світлодіода або дуга для прожекторів, тощо).

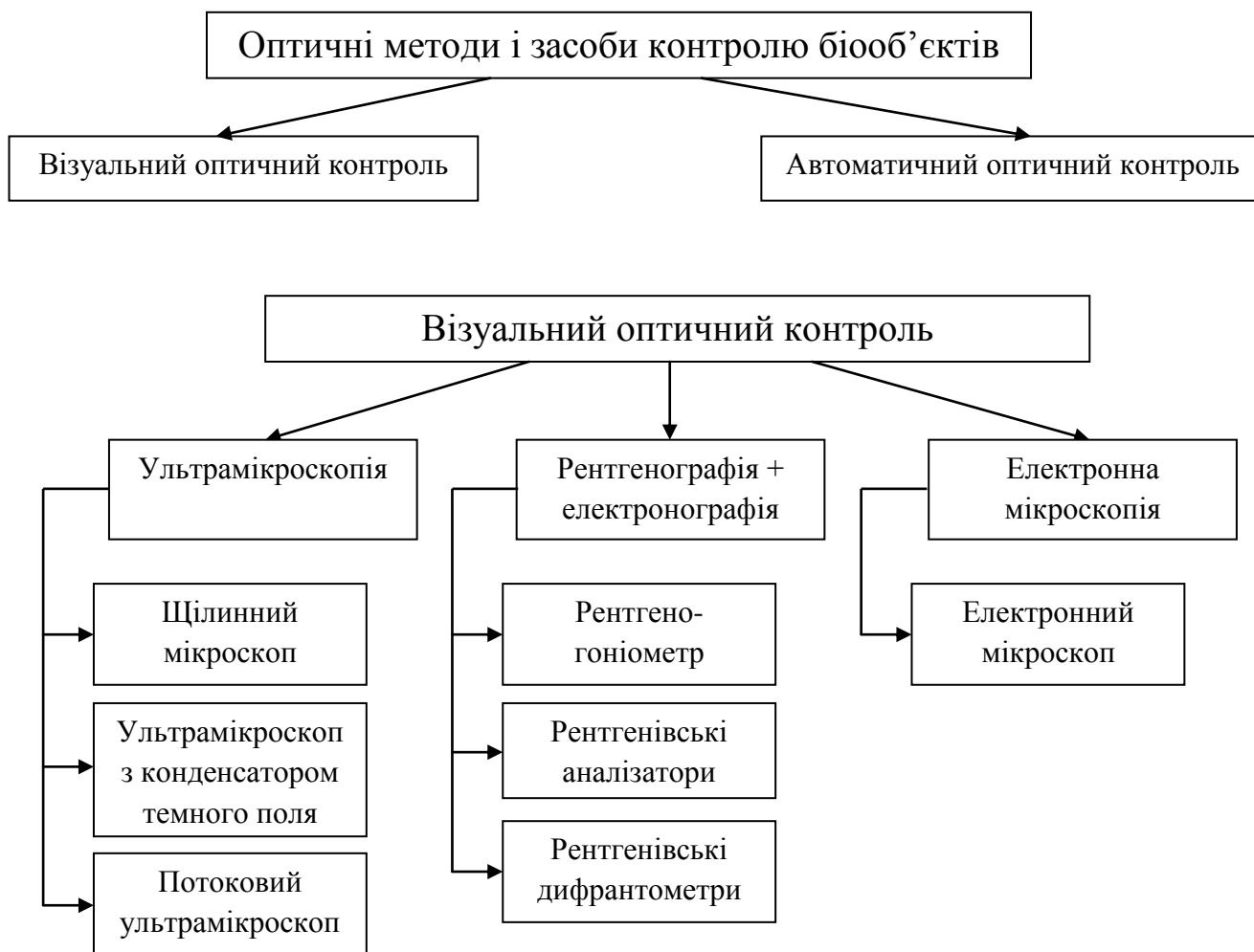
8. Висока просторова роздільна здатність завдяки малим розмірам «лазерного зонду».

9. Можливість лазерної діагностики окремих атомів, молекул на біооб'єктах без попередньої підготовки (діагностика локалізації онкоклітин в організмі для подальшого їх руйнування іншим лазерним променем).

Недоліки таких методів:

1. Висока вартість лазерного обладнання – прийнятна ціна більш-менш нормального лазера починається з 1000\$.
2. Важко або неможливо діагностувати зміни біологічних структур кісткової тканини та деяких внутрішніх органів (наприклад, печінка).
3. Обов'язково необхідна участь висококваліфікованого персоналу.
4. Вплив зовнішніх фізичних факторів на точність роботи системи (наприклад, удари, вібрації, температурне навантаження, тощо).

1.2. Класифікація оптичних методів і засобів контролю біооб'єктів





* граничний кут відбиття – це кут як правило при розповсюдженні оптичного випромінювання з оптичного середовища більш оптично щільного у середовище з меншим показником заломлення. При переході з одного середовища в інше з n_2 в n_1 змінюється кут розповсюдження відносно горизонтальної осі, який змінюється наскільки n_2 більше, ніж n_1 (n_1 – повітря ($n_1 = 1$, n_2 – вода ($n_2 \cong 1,33$)).

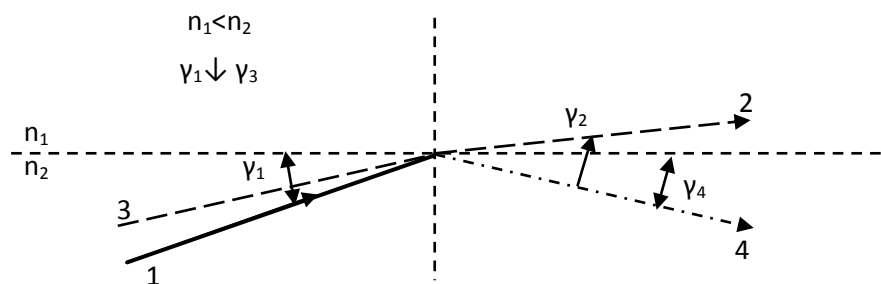
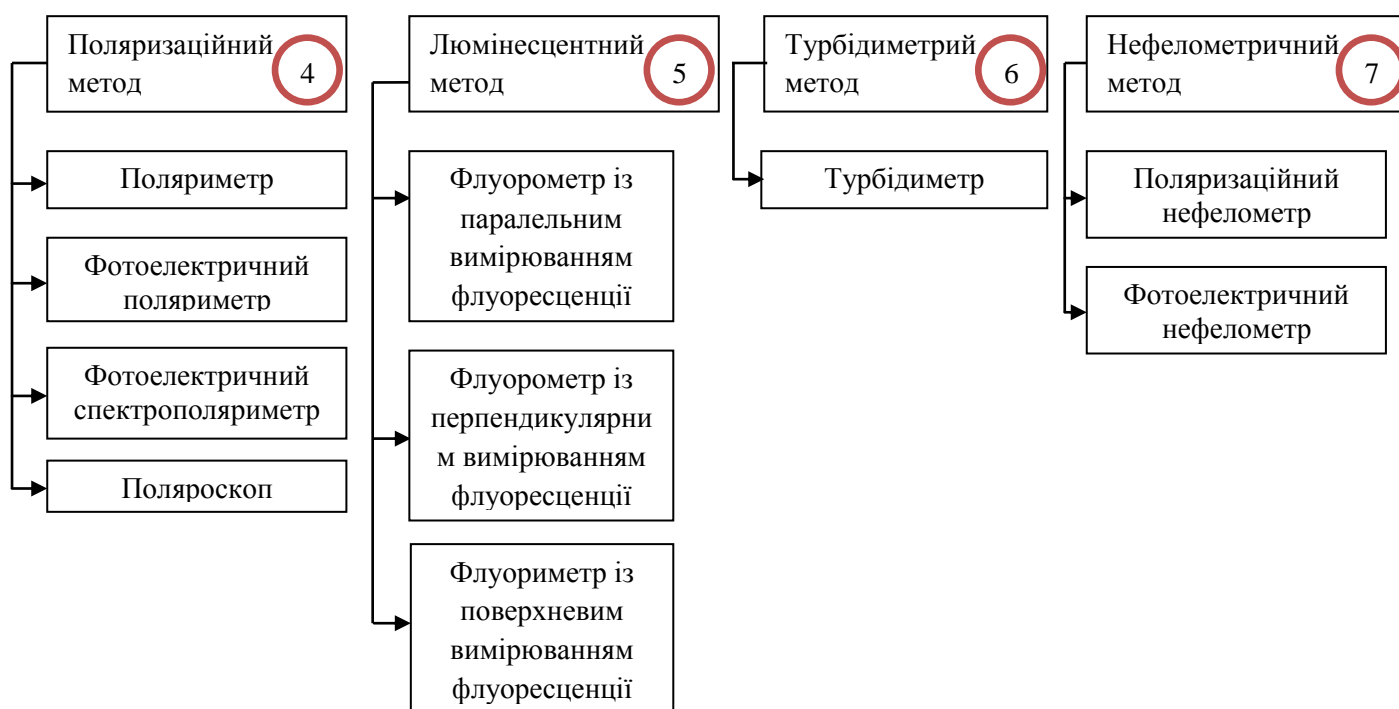
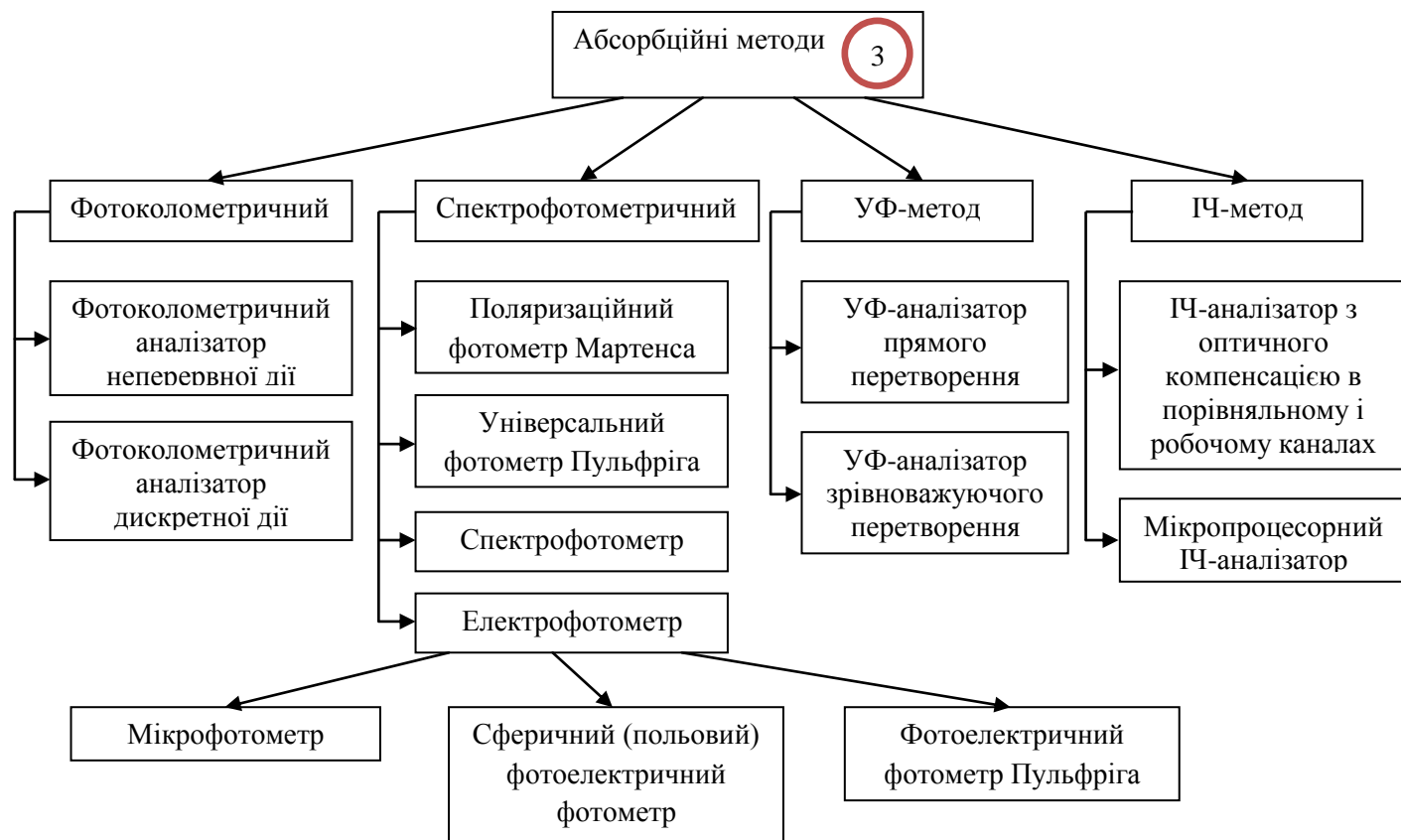


Рис.2. Відбивання світла

При зменшенні кута γ_1 до кута γ_3 промінь 4 не виходить за поверхню $n_1 n_2$, розповсюджується вздовж поверхні або відбивається під кутом γ_4 . Цей кут γ_3 називається критичний кут або кут повного оптичного відбиття від поверхні $n_1 n_2$ і дорівнює $\gamma_3 = \frac{1}{\cos n_2}$. На такому принципі працюють всі оптичні канали для

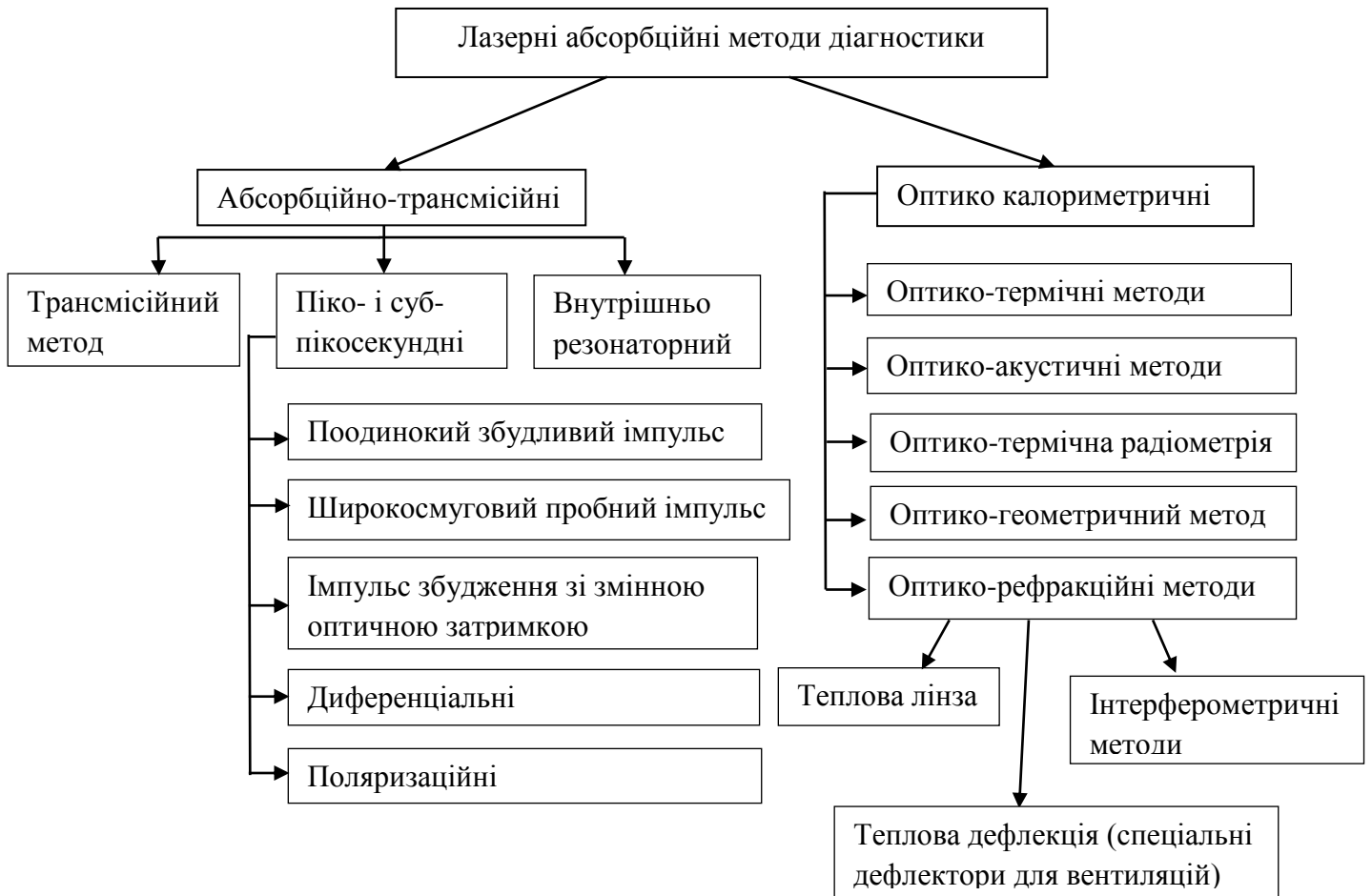
передавання зображення (ендоскопи, колоноскопи, бронхоскопи, передача зображення при малоінвазивних операціях). При повному оптичному відбитті світла існують умови розповсюдження без перешкод на великі відстані (1000 км) оптичної і біотехнічної інформації – сигнал ЕКГ.



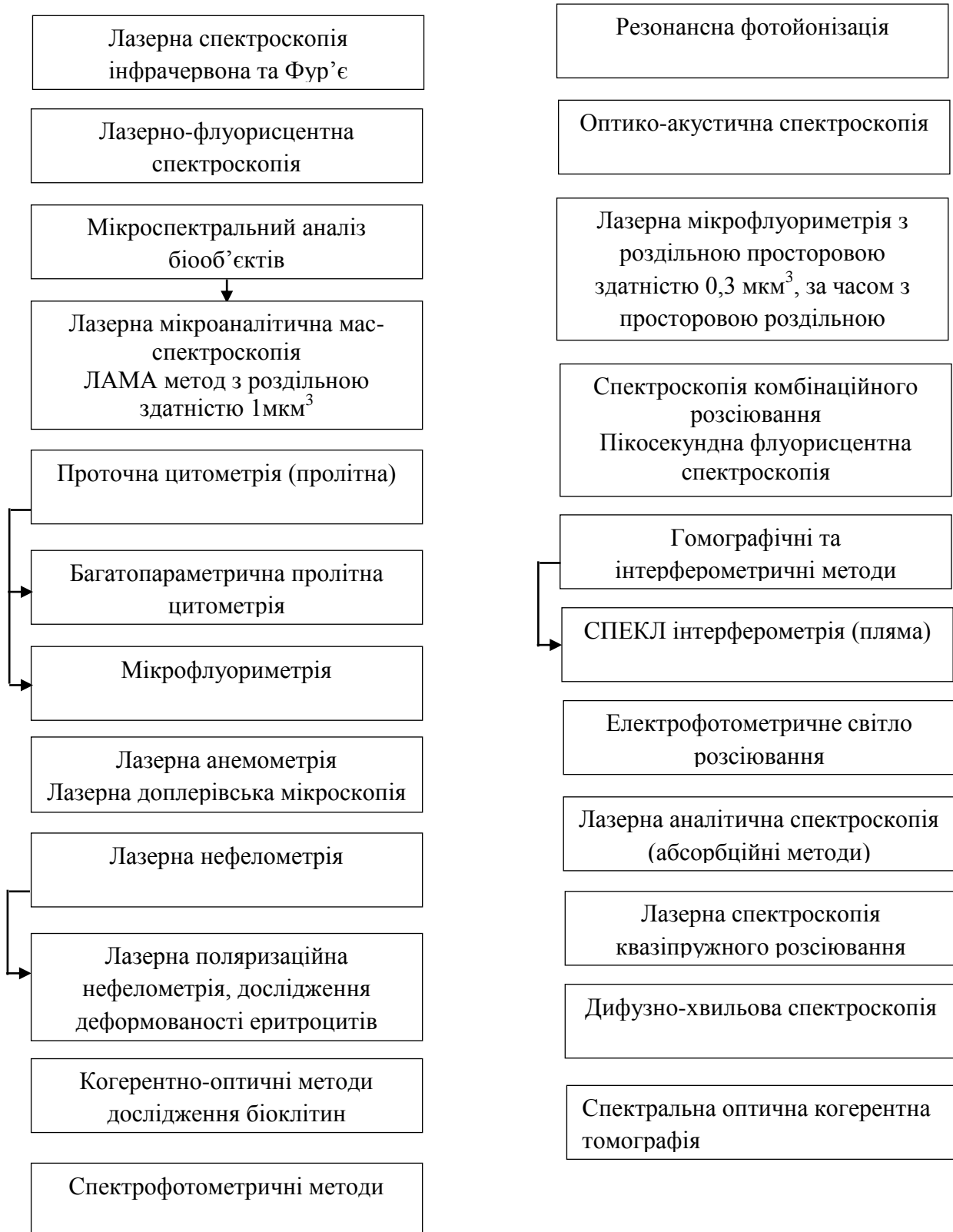
1.3. Види взаємодії лазерного випромінювання з біоб'єктами



1.4. Лазерні лабораторні методи діагностики



Лазерні методи діагностики



2. Основні типи і характеристики оптичних джерел випромінювання, які використовуються в ЛАТ

2.1. Особливості і переваги оптичного діапазону електромагнітних хвиль.

Оптичний діапазон електромагнітних хвиль є безпервною частиною всієї шкали електромагнітних хвиль:

I. **Радіодіапазон** (довгі, середні, короткі хвилі, УКХ діапазон, ДМХ діапазон (від 10 тис. м (супердовгі) – 1 м (дециметрові хвилі))

II. **НВЧ – діапазон** (міліметрові та сантиметрові хвилі)

III. **Оптичний діапазон** (субміліметрові хвилі, ІЧ, видимі та УФ)

Особливістю є дуже висока частота випромінювання $10^{15} \dots 10^{16}$ Гц, що відповідає дуже малим довжинам хвилі ($\lambda \sim 1$ мкм). Для оптичного діапазону важливим є видимий спектр для ока: 0,34 ... 0,76 мкм. Але наше око в діапазоні 0,555 мкм – зелений колір, бачить найкраще (Рис. 3).

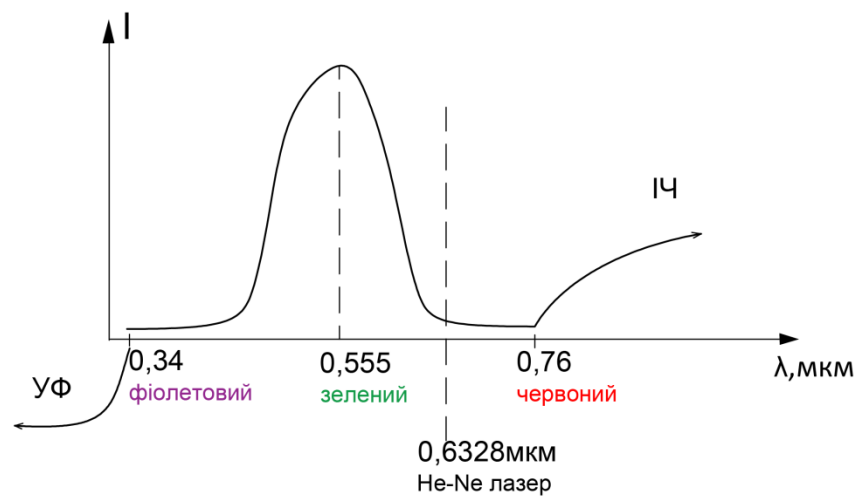


Рис. 3. Крива чутливості ока

IV. **Рентгенівський діапазон** ($\lambda = 10^{-10}$ м).

V. **Гама-діапазон** ($\lambda < 10^{-10}$ м).

Основними генераторами випромінювання в цих діапазонах є:

1. **MASER** – підсилення мікрохвильових (НВЧ) хвиль за допомогою вимушеного випромінювання.

2. **LASER** – основне джерело оптичного випромінювання є лазери, що скорочено позначають процес підсилення світла за допомогою стимуляції електромагнітного випромінювання.
3. **RASER** – рентгенівське випромінювання.
4. **GASER** – гама-випромінювання.

Для медичних застосувань (діагностика (терапія)) використовують, як правило, лазери будь-якого діапазону (від УФ до ІЧ).

Зі зростанням робочої частоти суттєво збільшується енергія кванта (фотона), тому джерела випромінювання RASER і GASER використовуються у військових приладах. Для медичних застосувань використовують як правило лазери від УФ до ІЧ різної потужності.

$$E = h\nu, \quad (3)$$

де E – енергія кванта, h – стала Планка, ν – оптична частота.

Для всіх розрахунків електромагнітних хвиль використовують класичні рівняння Максвелла для електромагнітних хвиль.

2.2. Принципові переваги оптичного діапазону

1. Потенційна можливість передавання великих обсягів інформації (телемедицина).

Великі обсяги інформації в сучасних системах телекомунікації залежать від швидкості передавання сигналів, від інформаційної ємності каналу зв'язку. В сучасних системах телекомунікації при передаванні будь-якої інформації відбувається модуляція несучої частоти (амплітудна (АМ), частотна (ЧМ), імпульсна (ІМ)) корисним сигналом, і смуга частот промодульованої несучої частоти визначає швидкість і смугу частот передавальних сигналів. Для передачі одного телефонного сигналу необхідна смуга частот $\Delta f_{\text{тлф}} = 3,5$ кГц, для передавання одного телевізійного сигналу необхідна смуга частот $\Delta f_{\text{ТВ}} = 8$ МГц. В оптичному діапазоні при підвищення несучої частоти на 5-6 порядків суттєво збільшується інформаційна ємність каналу зв'язку: тому в оптичному діапазоні потенційно можна передавати 10 мільярдів каналів телефонії і 10 мільйонів

телевізійних каналів. Тому оптичний діапазон перспективний для задач телемедицини – дистанційні роботизовані операції, передавання КТ і МРТ зображень.

2. Енергетичний виграш (використовуються для лазерної терапії і хірургії).

Пов'язаний з тим, що суттєво зменшується співвідношення довжини хвилі до розмірів антени, що дозволяє отримати більш гостру діаграму спрямованості і більшу концентрацію енергії в просторі.

Коефіцієнт підсилення будь-якої антени дорівнює:

$$G = 4\pi \frac{S_{\text{еф}}}{\lambda^2}, \quad (4)$$

де $S_{\text{еф}} = k_0 \frac{\pi d^2}{4}$ - ефективна площа використання антени, що випромінює, d – діаметр антени, k_0 – коефіцієнт ефективності використання антени, λ – довжина хвилі.

Мінімальний розмір плями до якої можна сфокусувати лазерне випромінювання визначається

$$d_{\text{min}} = \frac{\lambda}{2NA}, \quad (5)$$

де NA – числова апертура фокусуєчого об'єктиву, d_{min} – розмір плями.

Для CD – систем мінімальний розмір плями 1 мкм!

3. Підвищення просторової роздільної здатності вимірювальних пристроїв – можливість дослідження біооб'єктів з мінімальним просторовим розміром 1 мкм³. У тому числі і медичних (вимірювачі швидкості, розмірів біочастинок і клітин, локалізація новоутворювань в окремих органах людини).

Ця перевага обумовлена можливістю сфокусувати лазерне випромінювання у малих просторових об'ємах за дуже короткий час (сотні долей пікосекунд), а розміри простору – нм.

Таким чином відбувається концентрація енергії лазерного випромінювання, яка достатня для проведення (керування) штучним термоядерним синтезом. Для

медичної діагностики є дуже інформативний і надійний метод за допомогою дослідження плазми, яка формується при опромінюванні шкіри людини.

Оптичні імпульси можуть бути сформовані малої тривалості, з малими просторовими розмірами, і це використовується для вимірювачів швидкості з високою роздільною здатністю – лазерні локатори, лазерні далекоміри, тощо.

4. Суттєве підвищення ефективності і швидкодії комп'ютерів – проектування принципово нових квантових процесорів і комп'ютерів.

Використання оптичного діапазону дозволяє підвищити ефективність і швидкодію комп'ютерів:

- 1) При збільшенні робочої частоти в оптичному режимі на 5 порядків.
- 2) Заміна у комп'ютерах міжблочних зв'язків на волоконно-оптичні кабелі.
- 3) Розробка принципово нових логічних елементів, які працюють в оптичному діапазоні (оптичні процесори), які використовують оптичну паралельну обробку інформації за допомогою двомірного перетворення Фур'є. В перспективі це проектування і, головне, серійне виробництво квантових комп'ютерів.

3. Класифікація оптичних джерел для медичних пристроїв (лазерів). Їх характеристики і методи вимірювання

3.1. Класифікація всіх видів лазерів

Для нормальної роботи будь-якого лазера необхідно виконання трьох головних умов:

1. Наявність активної речовини (робоче середовище).
2. Джерело накачування (живлення).
3. Наявність позитивного зворотного зв'язку (ПЗЗ) – резонатора.

Тільки при одночасному виконанні всіх цих умов відбувається генерація лазерного випромінювання.

Якщо всі чинники є в наявності, то випромінювання може не з'явитись:

- 1) змінилися оптико-фізичні характеристики активної речовини (деградація напівпровідникових лазерів, зміни газової суміші у газових лазерах тощо);

- 2) джерело живлення видає напругу, але недостатню для нормальної роботи – для «підпалювання» лазера потрібна напруга 12 кВ, а робоча 7-8 кВ;
- 3) змінились оптичні характеристики (коефіцієнт відбиття) у резонаторах – механічне пошкодження відбивного шару.

При роботі з газовими медичними лазерами бажано перед роботою за 30-40 хв. перемкнути блок живлення на спеціальний режим (гетер), який дозволяє скорегувати оптичні характеристики газової суміші.



Рис.4. Схема для нормальної роботи лазера

I. Класифікація за режимом роботи лазера

1. Генератори безперервної дії (безперервного випромінювання) це:
 - одномодові лазери (мода – це тип коливань у радіо- і оптичному діапазоні);
 - багатомодові лазери;
 - одночастотні.
2. Імпульсні генератори (режим вільної генерації, режим модуляції добротності резонатора, моноімпульсний режим роботи).

II. Класифікація за типом активної речовини

1. **Твердотільні лазери** (на склі SiO_2 , кварці, рубінові лазери Al_2O_3 , неодимовий лазер Nd^{+3} , YAG алюмо-ітрієвий гранат (АІГ)).

Всі твердотільні лазери мають одну довжину хвилі 1,06 мкм (ГЧ), потужність від 1 до 100 кВт. Використовують для лазерної технології (різка металів), для медицини (лазерні скальпелі) і косметології, стоматології (хірургічні операції).

2. Газові лазери.

- атомарні (He-Ne, довжина хвилі 0,6328 мкм, потужність 1-100 мВт);

- **молекулярні** (CO_2 , довжина хвилі 10,6 мкм, потужність 20 Вт-500 кВт).

Випромінювання око не бачить, тому при роботі небезпечні для очей. Використовують для медицини як лазерні скальпелі (онкологія, гінекологія), для бородавок. Як правило потребують великого водного охолодження.

- **іонні лазери** (на іонах аргона Ar^{+3} , довжина хвилі 0,44-0,55 мкм (синьо-зелена частина спектру), потужність 7-20 Вт).

Використовується в медицині для хірургічних маніпуляцій в офтальмології (зварювання сітківки). Як правило вимагають охолодження водою.

- **лазери на парах металів** (He-Cd, довжина хвилі 0,33 мкм (фіолетова частина спектру), потужність до 100 мВт).

Використовуються в лазерній онкології.

- **хімічні газові лазери** використовують газову суміш (HF, довжина хвилі 2,6 – 3,6 мкм (червона частина спектру), потужність безперервної до 4-5 кВт).

Можуть працювати в автономному режимі на супутниках.

3. **Рідинні лазери на барвниках** (Родамін 6G – $\text{C}_6\text{H}_{27}\text{N}_2\text{O}_3\text{Cl}$).

Перекривають діапазон 0,34 – 11,75 мкм за допомогою зміни кювети з барвником, потужність до 1 Вт.

4. **Лазери напівпровідникові.**

- інжекційні: потужність 1 мВт – 100 Вт
- гетероструктурні із розподіленим зворотнім зв'язком: довжина хвилі 0,83 – 1,05 мкм (ближній ІЧ) використовується у системі зв'язку; 0,69 мкм (CD); 0,44 мкм (Blue-ray).

При зменшенні довжини хвилі роздільна здатність збільшується, але суттєво знижується термін дії лазера. Використовуються для лазерної терапії і вимірювальних систем.

III. Класифікація за частотним діапазоном випромінювання

Перекривають повний ультрафіолетовий, видимий, повний інфрачервоний.

IV. Класифікація за накачкою (метод накачування) активної речовини

1. Газорозрядний метод накачування.
2. Накачування за рахунок хімічної реакції (для автономних лазерів).
3. Накачування за допомогою оптичного (лазерного) випромінювання – для всіх твердотільних лазерів.

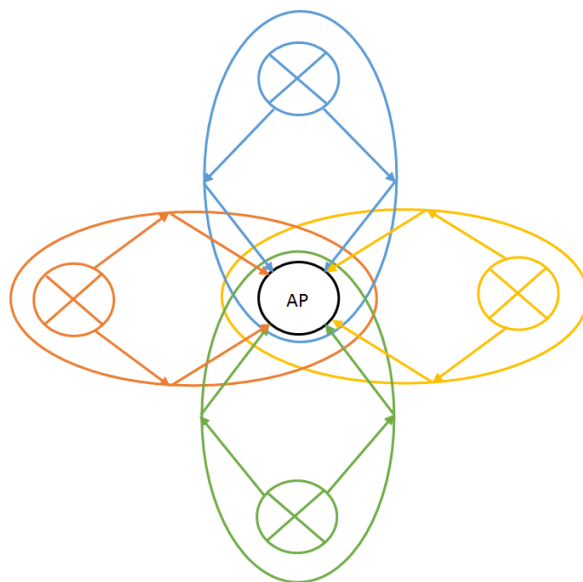


Рис.5. Накачка твердотільних лазерів.

4. Накачування за допомогою електронів.
5. Накачування рентгенівськими променями.
6. Накачування плазменним розрядом.
7. Накачування за допомогою ядерної реакції.

3.2. Основні характеристики лазерних джерел випромінювання. Методи їх вимірювання

Основні характеристики, які описуються в паспорті лазера:

1. Монохроматичність.
2. Ступінь когерентності (просторова, часова).
3. Направленість або розбіжність випромінювання.
4. Модовий склад випромінювання. Просторова структура.
5. Ступінь поляризації.
6. Робочий діапазон довжини хвиль.

7. Потужність випромінювання (для безперервного режиму, енергія імпульсу).
8. Режим роботи (імпульсний, безперервний).
9. Стабільність частоти випромінювання, що генерується.
10. Можливість модуляції несучої частоти, діапазон частот модуляції.
11. Стабільність потужності лазерного випромінювання за часом і у просторі (ступінь коливання діаграми спрямованості).
12. ККД.
13. Довговічність, тривалість експлуатації.
14. Вплив зовнішніх факторів (ударо-віброміцність, вологостійкість).
15. Вартість.
16. Масогабаритні характеристики.
17. Наявність водяного охолодження.
18. Кількість підключень (вмикань/вимикань) до мережі 220 В (дуже важливий для медицини!!)

1. Монохроматичність

Звичайні джерела оптичного випромінювання мають дуже широкий спектральний діапазон (лампи розжарювання, світлодіоди). На відміну від цих джерел випромінювання генерація лазерного випромінювання відбувається, в основному, на одній довжині хвилі (на одній частоті). Ця довжина хвилі, її спектральна ширина визначаються оптичними характеристиками активної речовини, відстанню між її енергетичними рівнями, і головне характеристиками (добротністю) резонатора лазера.

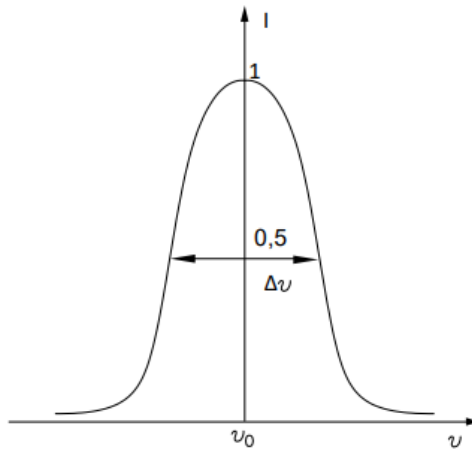


Рис.6.

$$\Delta\nu = \frac{A_{mn}}{2\pi} = \frac{1}{2\pi\tau_{ж}}, \quad (6)$$

де A_{mn} - квантова вірогідність переходу частинок з рівня n на рівень m , $\tau_{ж}$ - час життя частинок на енергетичному рівні.

Таким чином монохроматичність лазерного випромінювання характеризується шириною лазерного випромінювання або інтервалом частот для якого інтенсивність випромінювання зменшується в 2 рази. Ширина спектральної лінії визначається вірогідністю переходів енергетичних частинок з верхніх рівнів на нижні, а також часом життя активних частинок на енергетичному рівні.

Для лазерів на твердому тілі $\Delta\nu = 10^{10}$ Гц. Чим більший час частинка знаходиться на енергетичному рівні, тим менше спектральна лінія випромінювання. Кожен тип лазера має свою індивідуальну робочу частоту або довжину хвилі (див. попередні лазери). Це дуже важливо для лабораторних або метрологічних вимірювань, наприклад деформування еритроцитів в крові.

Для різної активної речовини існують фактори, які впливають на монохроматичність:

- 1) для газових лазерів відбувається взаємодія атомів, іонів, молекул між собою. Їх не пружне зіткнення між собою і з стінками робочого капіляру, що розширює $\Delta\nu$ для газу;
- 2) для твердотільних лазерів лінія випромінювання розширюється внаслідок дії зовнішнього магнітного поля (ефект Зеємена);

3) для твердого тіла розширення відбувається внаслідок впливу зовнішнього електричного поля (ефект Штарка).

2. Часова просторова когерентність. Схеми вимірювання

Електричні поля (випромінювання) звичайних джерел (нитки розжарювання, світлодіоди) не є когерентними, а когерентність випромінювання (електромагнітної хвилі) визначається зв'язком параметрів електромагнітної хвилі у просторі і за часом:

- часова когерентність випромінювання характеризує зв'язок параметрів електромагнітної хвилі в одній і тій же точці простору за різні проміжки часу;
- просторова когерентність характеризує зв'язок параметрів електромагнітної хвилі в один і той же момент часу в різних точках простору.

Ідеальне когерентне коливання (монохроматичне) у будь-якій точці простору має сталу амплітуду і лінійну зміну фази коливань за часом. Щоб випромінювання було когерентне і достатньо монохроматичне не повинно бути різкої (раптової) зміни фази коливань при випромінюванні:

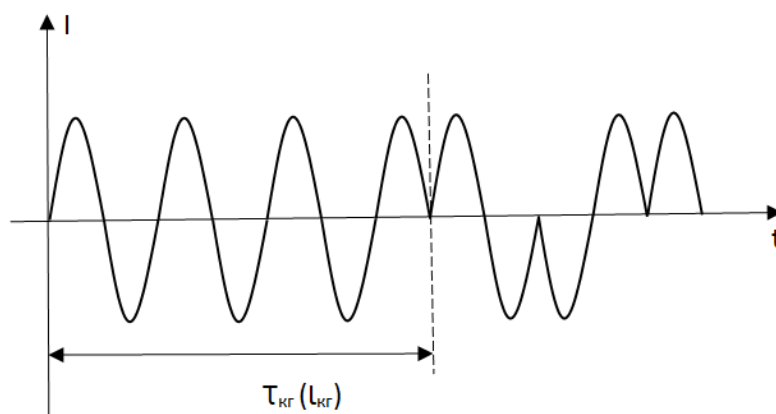


Рис.7.

Кількість періодів без різкої (раптової) зміни фази:

$$l_{кГ} = c * \tau_{кГ}, \quad (7)$$

де c – швидкість світла.

Оптична схема вимірювання часової когерентності лазерного випромінювання

Випромінювання лазера 1 на напівпрозорому дзеркалі 2 поділяється на 2 променя (пучки) рівної інтенсивності (I і II). Випромінювання I після напівпрозорого дзеркала 2 направляється на напівпрозорому дзеркалі 4, а потім на екран 6. Промінь II після напівпрозорого дзеркала 2 направляється на глухе дзеркало (призму) 3 і 5, після яких напівпрозорим дзеркалом 4 також направляється на екран 6. На екрані 6 формується інтерференційна картина 7 у вигляді світлих і темних еквідистантних (рівної ширини) кілець, які по чергу формуються в просторі.

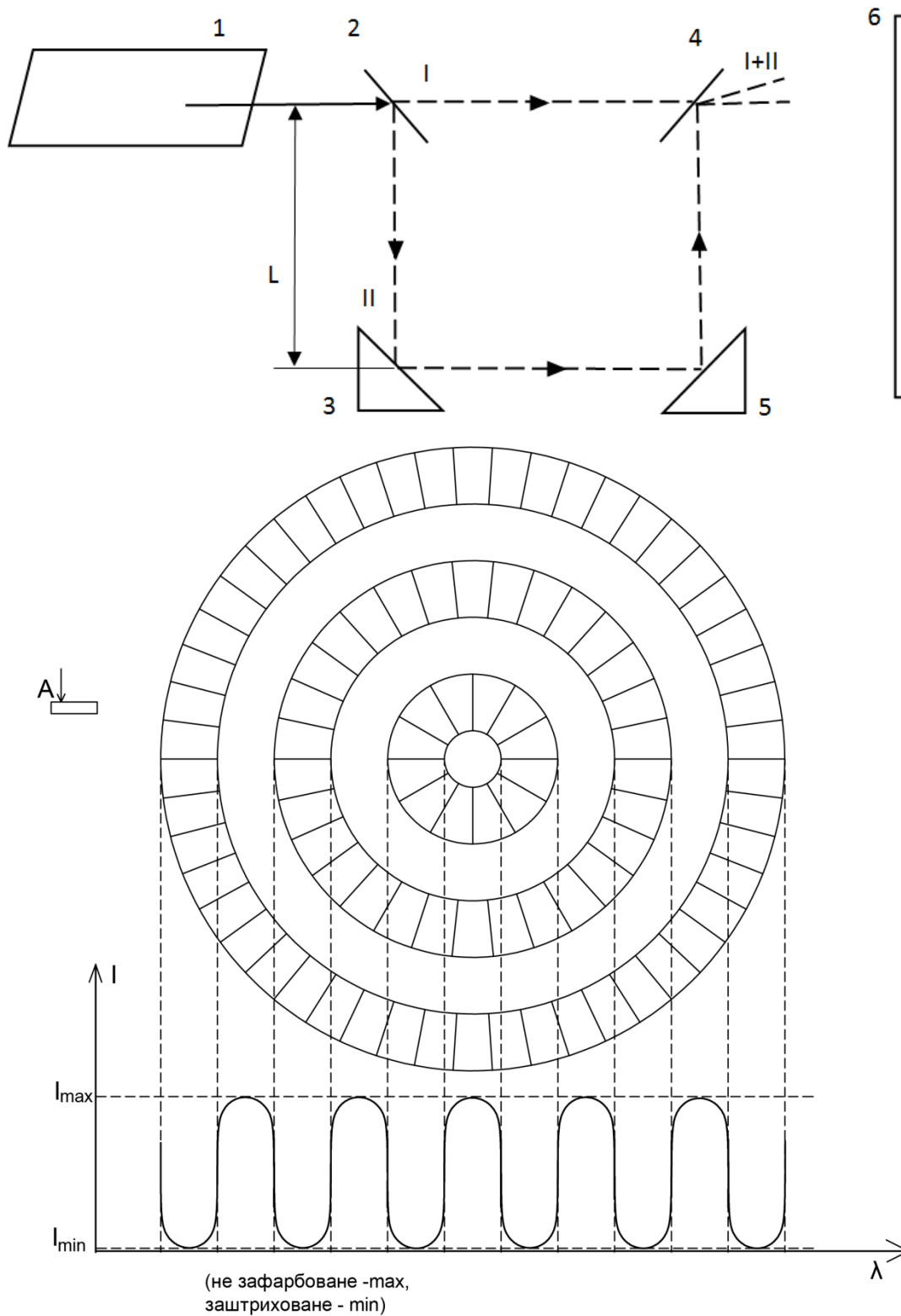


Рис.8. Схема вимірювання часової когерентності лазерного випромінювання

Інтенсивність світлого кільця I_{max} , темного I_{min} . Таким чином контраст інтерференційної картини визначається $K_{max} = \frac{I_{max} - I_{min}}{I_{max} + I_{min}}$.

При збільшенні відстані між дзеркалами 2 і 3 контраст інтерференційної картини зменшується і при відстані L він зникає (становиться меншим $0,1=10\%$). Таким чином для даної схеми довжина когерентності $l_{\text{кг}} = 2L = c\tau_{\text{кг}} = \frac{c}{\Delta\nu}$.

Висновок: чим більша (краща) монохроматичність оптичного випромінювання (вужча ширина спектральної лінії), тим більша довжина когерентності або час когерентності.

Це дуже важливо для інтерферометричних методів біофізичних досліджень, а також при проектуванні лазерних (волоконно-оптичних) давачів різних фізичних процесів): промінь I використовується як опорний (еталонний), а промінь II – сигнальний (інформативний) і він проходить через чутливу систему вимірювального пристрою. Наприклад, дзеркала 3 і 5 розташовується на тілі людини; на поверхні, яка деформується; на поверхні, на яку діють сили прискорення; тощо.

Під дією різних факторів відбуваються дуже чутливі зміни розташування інтерференційної картини, які фіксуються за допомогою точкового фотоприймача або фотоприймача з діафрагмою через чутливу поверхню якого відбувається зсув розподілу I_{max} і I_{min} .

Оптична схема вимірювання просторової когерентності лазерного випромінювання

Випромінювання точкового джерела 1 має фазовий фронт 2 (сферичний), який розповсюджується у просторі і досягає екрану 4. Екран 4 має два точкових отвори 3 (діаметр $d_1=d_2$). Згідно з принципом Гюгенса ці два отвори 3 є джерелами вторинного випромінювання з фазовим фронтом 5, який повністю оптично узгоджений (напрямок розповсюдження, фаза, тощо) з оптичними характеристиками первинного фазового фронту 2.

Випромінювання з фазовими фронтами 5 направляються на екран 6, розташований на відстані D . Ці два променя під кутом 2φ взаємодіють один з одним і на екрані 6 формується інтерференційна картина 7 у вигляді лінійних

світлих і темних смуг, що межуються один з одним. Крок перемещування (ширина інтерференційної смуги) Δx визначається за формулою $\Delta x = \frac{\lambda}{2\sin\varphi}$.

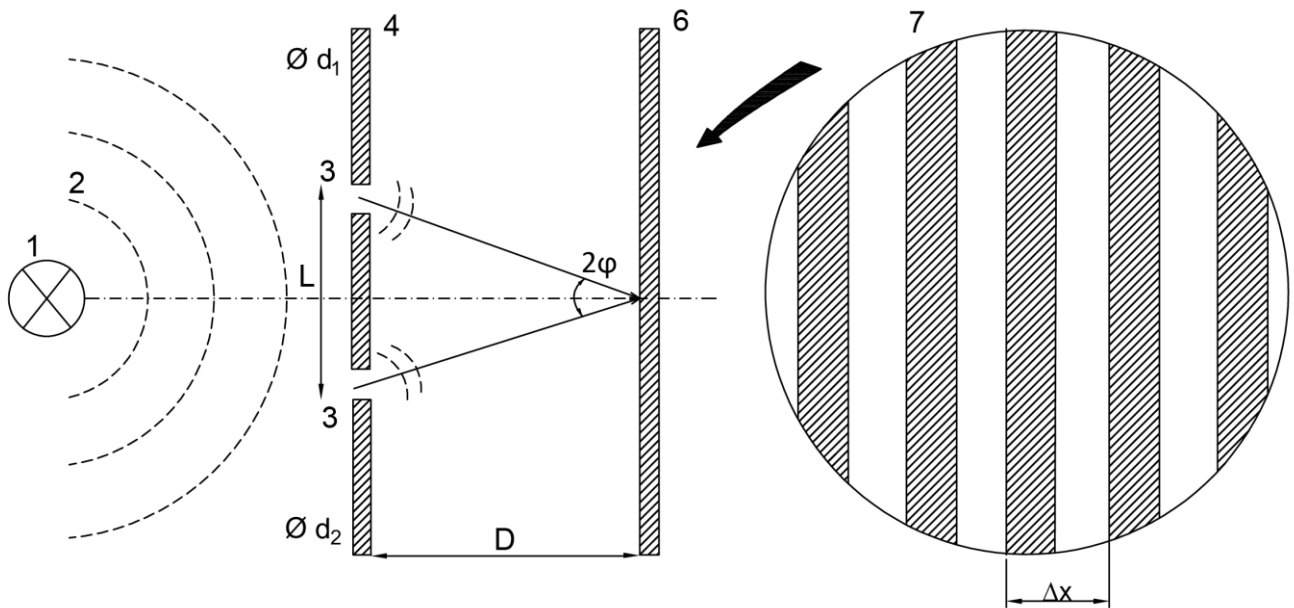


Рис.9. Схема вимірювання просторової когерентності лазерного випромінювання

Контраст інтерференційної картини визначається аналогічно минулій схемі. При збільшенні відстані між отворами 3 контраст K інтерференційної картини зменшується і на відстані L зникає ($K < 0,1$). $l_{\text{кг}} = L$ Для некогерентних джерел випромінювання відбувається додавання інтенсивності без взаємодії між собою.

3. Розбіжність лазерного випромінювання

Випромінювання некогерентних джерел випромінювання має широкую діаграму направленості випромінювання у просторі, у широкому тілесному просторовому куті. Всі лазерні джерела випромінювання принципово мають дуже велику направленість або розбіжність випромінювання, яка формується за допомогою оптичного резонатора. Це дозволяє передавати енергію на велику відстань у малих просторових об'ємах.

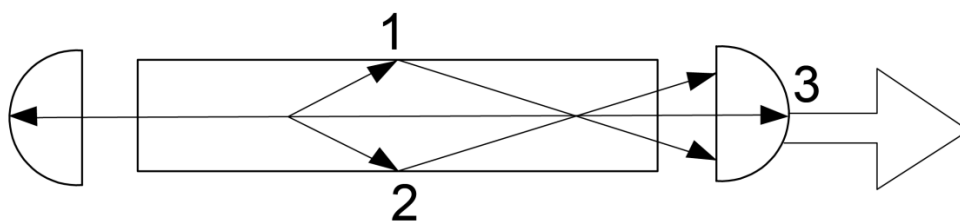


Рис.10.

Ця розбіжність визначається добротністю або якістю резонатора Р. Розбіжність лазерного випромінювання обмежується:

1. Дифракційними спотвореннями при відбитті від дзеркал: $\theta = k \lambda / d$,

де k – коефіцієнт пропорційності, для однорідного пучка 1,22, λ – довжина хвилі, d – діаметр пучка на виході лазера.

2. Розбіжність залежить від довжини резонатора: $\theta = \sqrt{\lambda / L_p}$, де L_p –

довжина резонатора.

3. Розбіжність залежить від потужності лазера: чим більше потужність, тим розбіжність більше. Для основних лазерів розбіжність He-Ne = 0,3...1 мрад, Ar = 0,5...1 мрад, CO₂ = 7...10 мрад, твердотільні = 10...15 мрад, напівпровідникові = 20...30°.

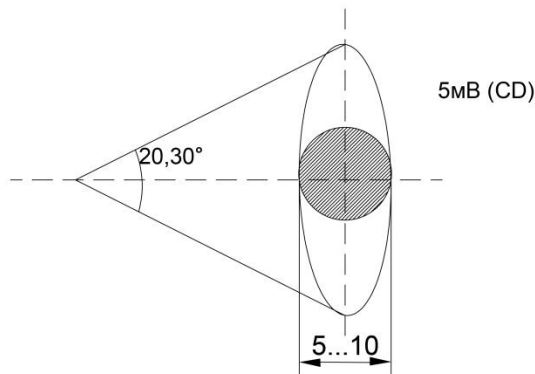


Рис.11.

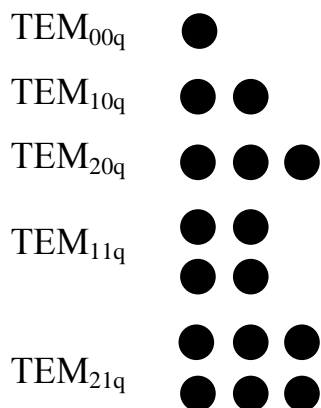
Для медичної техніки при опромінюванні крові чи шкіри «погану» розбіжність лазерного випромінювання можна компенсувати за допомогою додаткових оптичних елементів фокусування (узгодження), але при точних лабораторних вимірюваннях, а також при узгодженні лазерних джерел випромінювання з волоконно-оптичними трактами необхідно враховувати високу розбіжність напівпровідникових лазерів.

4. Просторово часові характеристики лазерного випромінювання

1) Модовий склад лазерного випромінювання

Залежно від типу резонатора (його добротності) а також якості його налаштування (юстування) існує різний розподіл лазерного випромінювання у просторі. Цей розподіл називається модовий склад лазерного випромінювання. Мода – це є один з типів коливань випромінювання.

Основною модою для лазерного випромінювання є мода TEM_{xyq} , де x і y – індекси поперечних мод, а q – індекс повздовжніх (продольних) мод. Таким чином індекси x і y показують кількість варіацій, зміни інтенсивності лазерного випромінювання на осі x і осі y . В паспорті на лазерне випромінювання позначена і повинна випромінюватись мода TEM_{00q} .



Бажано працювати на основній моді або на модах низьких порядків. На основній моді розподіл інтенсивності випромінювання за радіусом має вигляд Гаусового закону.

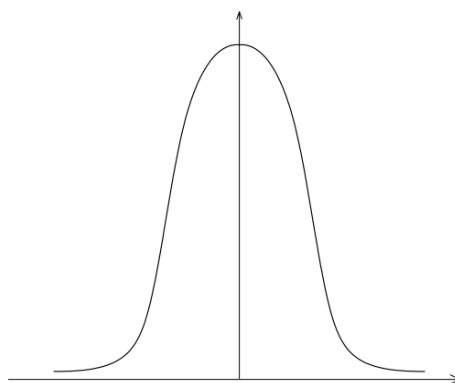


Рис.12. Розподіл за Гаусовим законом

Чим менше діаметр лазерного випромінювання тим ефективніше його можна сфокусувати у різні оптичні елементи (волоконний світловід). Для медичних застосувань (внутрішньовенне опромінювання крові, поверхневе

опромінювання шкіри, тощо) не завжди потрібно переходити на основну моду, а необхідно враховувати сумарну (повну) дозу опромінювання пацієнта за методиками (протоколами) лікування. Для твердотільних лазерів такий розподіл пов'язаний з дефектами активної речовини (твердотільного стрижня).

2) Часова структура випромінювання

Для лазерів, що працюють у безперервному режимі можлива варіація або зміна потужності випромінювання до 10 – 100 %. Під впливом температурних градієнтів, вібраційних навантажень змінюються конструктивні параметри резонатора, що приводить до зміни вихідної потужності випромінювання. Тому перед проведенням медичних процедур бажано зробити моніторинг зміни потужності лазерного випромінювання за 8 годин роботи і налаштувати резонатор таким чином, щоб за весь період робочого часу потужність не змінювалась більше ніж на 10%.

Деякі потужні лазери мають автоматичну систему регулювання потужності (САРП), яка відслідковує зміни вихідного випромінювання. Така система використовується в CD і DVD програвачах. Але для лабораторних і практичних медичних застосувань цю систему не вмикати, тому що автоматика може суттєво погіршити якість юстування і повністю заблокувати вихідну потужність. Тому корегування вихідної потужності бажано проводити в ручному режимі (бажано оператором).

Для імпульсних лазерів, як правило це твердотільні лазери, існують режими імпульсної роботи:

1. Режим модуляції добротності лазера
2. Режим вільної генерації
3. Режим синхронізації мод випромінювання

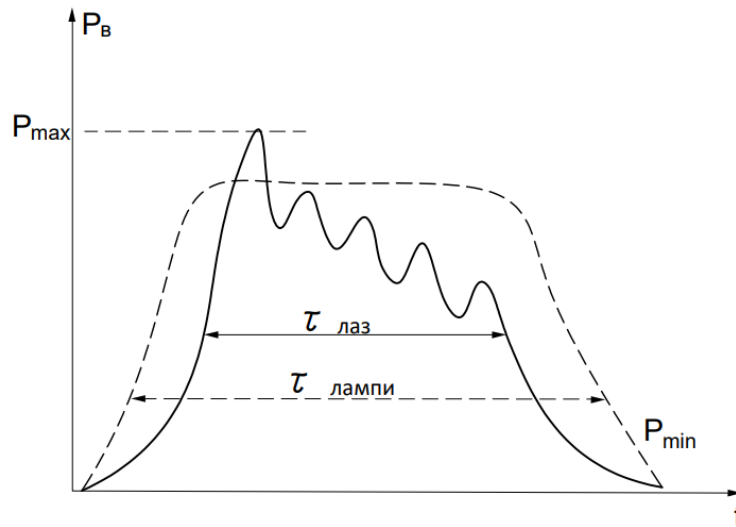
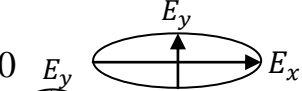



Рис.13.

Сучасні імпульсні лазери випромінюють імпульси тривалістю соті долі пікосекунд потужністю в імпульсі до 100 ГВт.

5. Поляризація лазерного випромінювання

Ця характеристика обумовлена детермінованим законом зміни \vec{E} за часом і у просторі:

- 1) Лінійний закон (лінійна поляризація) ↑
- 2) Еліптична поляризація $\vec{E}_x \neq \vec{E}_y$ 1:500 
- 3) Кругова поляризація $\vec{E}_x = \vec{E}_y$ 1:1 

В природі поляризаційне світло формується від дзеркальних поверхонь, наприклад води чи вологого покриття.

При конструюванні лазерів і необхідності отримання поляризаційного випромінювання з неполяризованого використовують додаткові оптичні елементи – поляризатори. В конструкції лазерів використовуються вікна Брюстера, які розташовуються під кутом Брюстера до осі робочого капіляру з метою формування поляризаційного випромінювання. Конструктивно це плоскі пластини у формі кола, які розташовуються на виході капіляру з газовою сумішшю:

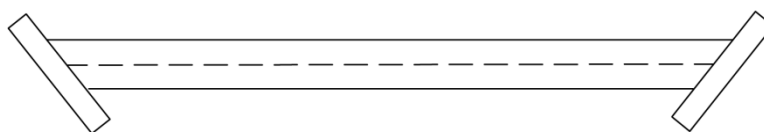


Рис.14. З кутом Брюстера

$$\operatorname{tg} \theta = n, \quad (8)$$

де n – показник заломлення активної речовини (газової суміші).

Для $\text{He} - \text{Ne}$ лазеру: $n = 1$, тому $\theta = \operatorname{arctg} n = \operatorname{arctg} 1 = 45^\circ$

3.3. Основні типи лазерних резонаторів. Добротність резонатора

Залежно від конструкції лазерів використовують основні типи резонаторів:

1. **Резонатор з плоскими дзеркалами** (інтерферометр або резонатор Фабрі-П'єро).

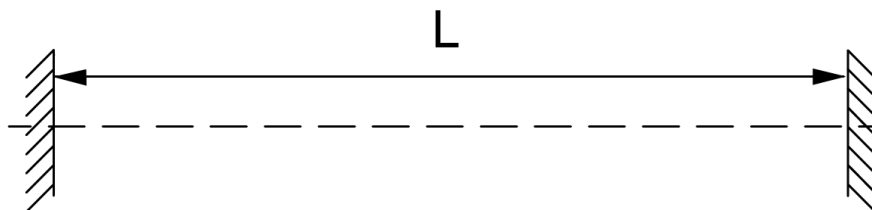


Рис.15. Резонатор з плоскими дзеркалами

2. **Конфокальний резонатор** (сферичні дзеркала). Радіус 1-10 м

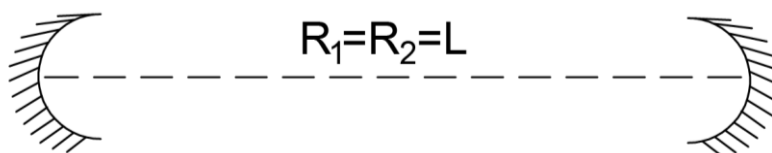


Рис.16. Конфокальний резонатор

3. **Напівконцентричний резонатор** (одне дзеркало має радіус, а одне – плоске)

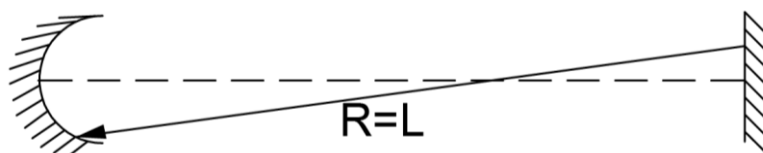


Рис.17. Напівконцентричний резонатор

4. Кільцеві резонатори

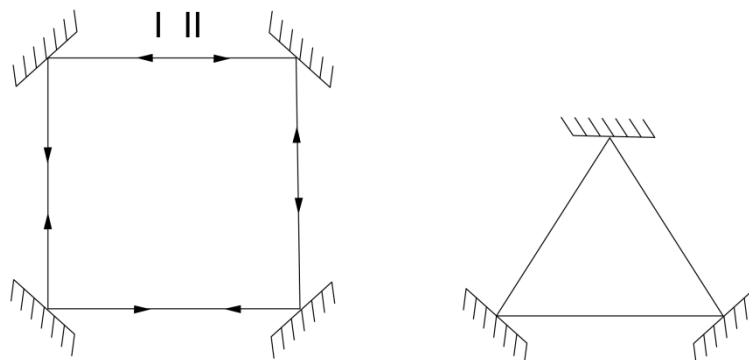


Рис.18. Кільцеві резонатори

Використовуються для гіроскопів, які відслідковують коливання об'єктів (наприклад ракет, літаків, телефонів). Сучасні крилаті ракети мають волоконно-оптичні гіроскопи, акселерометри і бортовий комп'ютер, що дозволяє направити ракету в будь-яку точку простору.

У резонаторі з плоскими дзеркалами відбувається суперпозиція хвиль, які відбиваються від дзеркал у прямому і зворотному напрямках, формується стояча хвиля, яка є сталою за часом при умові співпадіння відстані між дзеркалами і цілого числа напівхвиль:

$$L = \frac{m\lambda}{2n}, \quad (9)$$

де L – відстань між дзеркалами, m – ціле число, яке відповідає частоті виникнення коливань і, головне, обумовлює всі можливі моди випромінювання, n – показник заломлення активної речовини між дзеркалами, λ – довжина хвилі у вакуумі, $\frac{\lambda}{n}$ – довжина хвилі в активному середовищі.

Різниця між окремими модами обернено пропорційна m : $\frac{\Delta\lambda}{\lambda} = \frac{1}{m}$. Ця різниця дуже мала, тому одночасно генерується багато мод або коливань. Основне завдання резонатора полягає в селекції небажаних або паразитних хвиль.

Для напівпровідникових лазерів в наслідок «поганого» неякісного резонатора одночасно генерується багато коливань:

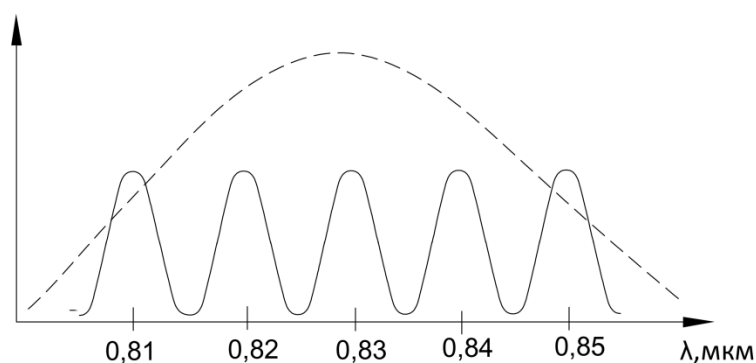


Рис. 19.

Добротність резонатора визначається:

- 1) **втратами на відбиття від дзеркал** – ці втрати залежать від поглинання енергії у шарі дзеркала, що відбиває світло;

2) **дифракційними втратами** – визначаються кінцевими розмірами дзеркал резонатора.

Добротність резонатора визначається:

$$Q = \frac{2\pi n}{\lambda} \frac{L}{(1-r + \frac{L\lambda}{2nd^2})}, \quad (10)$$

де d – діаметр дзеркала, r – коефіцієнт відбиття від дзеркала.

Крім того добротність визначається ступенем паралельності дзеркал:

$$Q = \frac{2\pi n}{\lambda} \sqrt{\frac{2Ld}{\beta}}, \quad (11)$$

де β – кут непаралельності дзеркал (1-3 кутові секунди).

Добротність резонатора визначається його розмірами. Чим більше відстань між дзеркалами, тим більше добротність лазера. Але подальше зростання добротності буде обмежуватись дифракційними втратами на відбитті від дзеркал. А для твердотільних лазерів будуть додаткові втрати у активному середовищі.

Конструктивно дзеркала для лазера можна виготовляти:

1. З срібним покриттям $r = 99,9$.
2. Діелектричні покриття або прошарки (число шарів до 25) використовують $\lambda/4$ прошарків фторидну магнію або сульфід цинку, які напилюють на скляну або кварцову основу діаметром від 10 до 30 мм товщиною 7-10 мм. $r = 99,99999$. Ці дзеркала розміщують у спеціальних механічних пристроях, які забезпечують паралельність дзеркал 1-2 кутові секунди.

Одним з варіантів використання дзеркал для CO_2 лазерів (10,6 мкм) можна використовувати металеві дзеркала (наприклад з алюмінію), які попередньо відшліфовані.

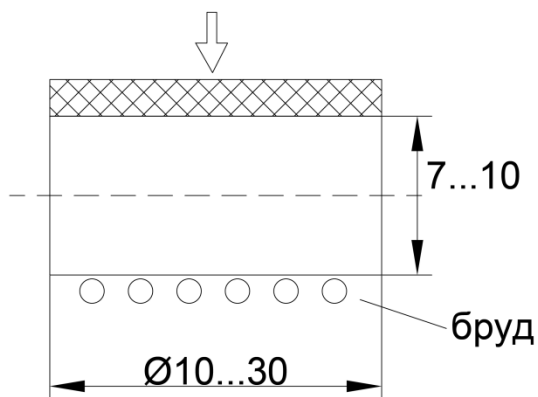


Рис.20.

При забрудненні дзеркал лазеру (медичного пристрою) НЕ можна використовувати будь-які розчини навіть для неробочої поверхні. Тому дзеркала можна чистити сухим чистим повітрям або білячою щіточкою.

Оптичні джерела випромінювання є базовою основною конструктивною одиницею оптичних біомедичних лабораторних пристроїв.

4. Типи і основні характеристики волоконних світловодів

4.1. Закони розповсюдження оптичного випромінювання у волоконно-оптичних трактах

Для медичних оптичних приладів використовують два типи волоконно-оптичних трактів:

1. **Оптичні світловоди для передавання зображень** на невелику відстань довжиною 1-2 м (ендоскопи, колоноскопи, бронхоскопи) і довжиною 50-70 см для хірургічного лапероскопічного обладнання (передавання інформації про стан внутрішніх органів під час операції. Мають гексагональну структуру (гексагональну матрицю), яка сформована з окремих кварцових або скляних оптичних стрижнів щільно запакованих між собою і відшліфованих (заполірованих) на виході.

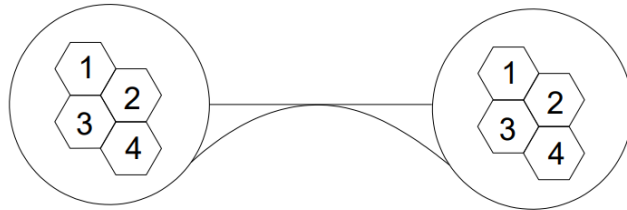


Рис.21.

Діаметр стрижня приблизно 100 мкм. При передаванні зображення можна трансформувати (фокони, фокліни), збільшувати, зменшувати, міняти кругову форму на квадратну і навпаки.

Крім того в медичному приладобудуванні використовують **волоконні світловоди (ВС)** за допомогою яких відбувається передача інформації на велику відстань (наприклад для телемедицини). Вони використовуються також як чутливі елементи медичних вимірювальних пристроїв (давачів).

При конструюванні і виробництві ВС використовують оптичні закони:

1. Закон заломлення світла або закон Снеліуса на поверхні двох середовищ з коефіцієнтами заломлення n_1 і n_2 . При чому $n_2 > n_1$.

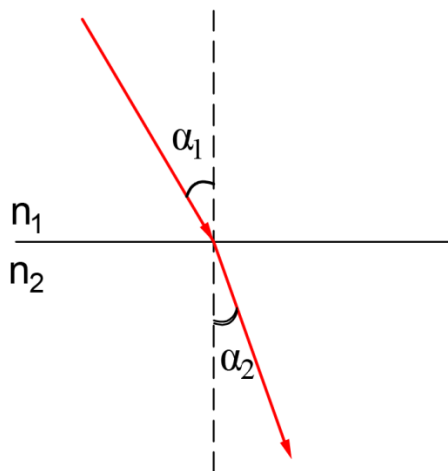


Рис.22. Закон заломлення світла

$$\frac{\sin\alpha_1}{\sin\alpha_2} = \frac{n_2}{n_1} \quad (12)$$

2. Закон повного внутрішнього відбиття. При чому $n_2 > n_1$

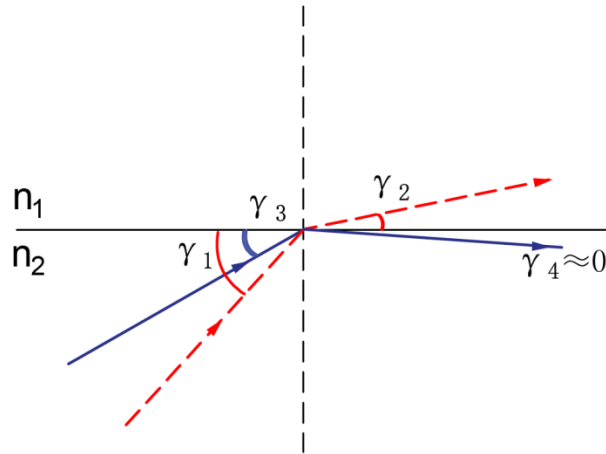


Рис.23. Закон повного внутрішнього відбиття

$$\cos \gamma_3 = \frac{1}{n_2} \quad (13)$$

Таким чином кут γ_3 називається кутом повного внутрішнього відбиття. Для цього кута падіння випромінювання не виходить у середовище n_1 , розповсюджується вздовж поверхні $n_1 n_2$ або відбивається у поверхню n_2 .

Для передавання зображення оптичної інформації використовують однорідний скляний або кварцовий стрижень. Для оптичних світловодів його (їх) розміщують у металевому захисному чохлі.

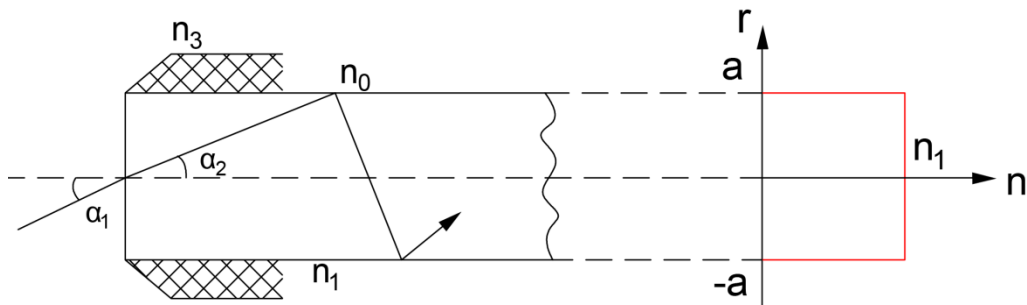


Рис.24.

$$\cos \alpha_2 = \frac{1}{n_1} \quad (14)$$

При узгодженні оптичного випромінювання з поверхнею оптичного стрижня всі промені під кутами більшими α_1 не розповсюджуються у стрижні, а загасають на вході. Але при зовнішніх факторах забруднення на поверхні $n_0 n_1$ (волога, бруд, тощо) будуть змінюватись умови відбиття випромінювання, спотворюється інформація або загасає. Альтернативою є додаткове покриття стрижня додатковою оболонкою показних якої $n_3 \leq n_1$, тому що світло

відповідно з оптичним законом завжди розповсюджується у більш щільному оптичному середовищі.

n_1 – осердя світловода, n_3 - оболонка. Залежно від типу оболонки розрізняють:

1. К/К – осердя і оболонка з кварца ;
2. К/П – осердя – кварц, оболонка – полімер;
3. П/П – осердя і оболонка з полімеру.

Для медичних приладів (якщо тракти мають невелику довжину) можна використовувати більш товсті полімерні світловоди з великим загасанням (мають найменшу вартість).

4.2. Основні типи і особливості конструкцій волоконних світловодів

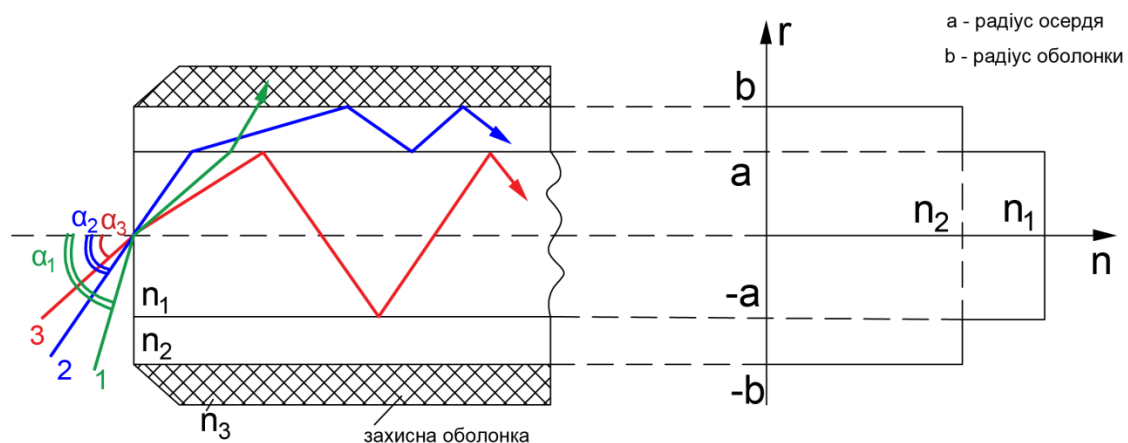


Рис.25.

Згідно з законами заломлення і відбиття світло завжди розповсюджується у більш оптично щільному середовищі, тому $n_1 \geq n_2$. Залежно від умов збудження (кутів) в волоконних світловодах (ВС) існують такі моди (типи коливань):

1. **Просторові моди або моди оболонки n_3** (захисної). Вони збуджуються під великими кутами α_1 і не розповсюджуються в ВС.
2. **Моди оболонки** (з показником заломлення n_2). Вони збуджуються під меншими кутами α_2 , мають повне відбиття від поверхні $n_1 n_2$ і розповсюджуються на велику відстань по оболонці n_2 . Ці моди шкідливі, можуть виходити в захисну оболонку n_3 і втрачати енергію, а також

спотворювати корисну інформацію, яка передається осердям n_1 . Для медичних застосувань (опромінювання шкіри, видалення татуювань і волосся, опромінювання крові) ці моди можна залишити, а скоригувати тільки інтегровану сумарну лікувальну дозу. Якщо необхідно передати медичну інформацію на велику відстань (телемедицина) ці моди необхідно видаляти з ВС.

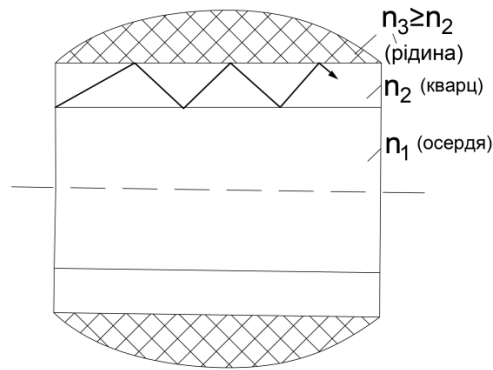


Рис.26.

Для виводу паразитних мод оболонки використовують спеціальні фільтри мод або скремблери: спочатку відбувається детермінована деформація ВС, а потім на «оголену» кварцову оболонку у спеціальній кюветі (ванночці) наносять імерсійну рідину (кедрова олія або гліцерин) з показником заломлення $n_3 \geq n_2$.

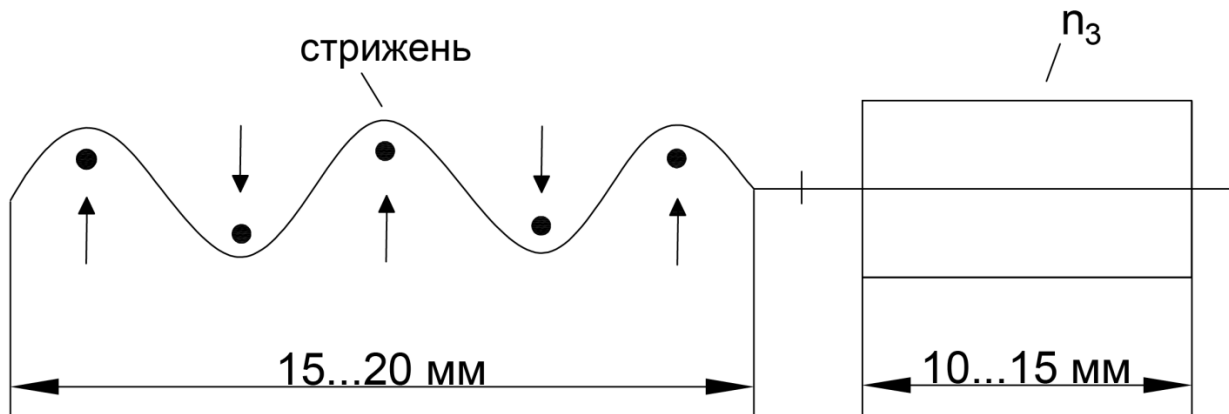


Рис.27.

3. **Моди осердя**, які збуджуються під кутами α_3 , що відповідає закону повного внутрішнього відбиття на поверхні $n_1 n_2$. Ці моди (α_3) є корисними, переносять необхідну інформацію на дуже велику відстань (1000 км) і вони частково загасають в оболонці n_2 . Максимальний кут,

під яким випромінювання розповсюджується в осерді називається апертурний кут, а його синус – числовою апертурою.

$$NA = \sqrt{n_1^2 - n_2^2} = n_1 \sin \theta_{max}, \quad (15)$$

де $\Delta = \frac{n_1^2 - n_2^2}{2n_1^2}$ – відносна оптична різниця між показниками заломлення осердя і оболонки.

Таким чином числова апертура характеризує максимальний кут під яким оптичне випромінювання збуджується в осерді ВС і розповсюджується на велику відстань.

Основні типи волоконних світловодів:

1. Багатомодовий, двошаровий, ступінчатий світловід (див. малюнок).

Основні параметри:

- 1) $2a = 50 \dots 60$ мкм (для зв'язку стандарт) діаметр осердя. Для медицини 260 мкм;
- 2) $2b = 110 \dots 120$ мкм (для зв'язку стандарт) діаметр оболонки. Для медицини 1000...1100 мкм;
- 3) $NA = 0,2 \dots 0,3$ мкм (для зв'язку стандарт). Для медицини 0,4...0,5 мкм;
- 4) $\Delta = 1 \dots 3\%$;
- 5) кількість мод, що розповсюджуються, десятки тисяч.

2. Одномодовий, ступінчатий світловід.

Основні параметри:

- 1) $2a = 5 \dots 7$ мкм;
- 2) $2b = 110 \dots 120$ мкм;
- 3) $NA =$ суттєво менше 0,11 ... 0,15 мкм;
- 4) $\Delta = 0,1 \dots 0,3\%$;
- 5) зовнішня оболонка поліамідна, діаметр приблизно 1 мм. Кількість мод що розповсюджується 1 або 2.

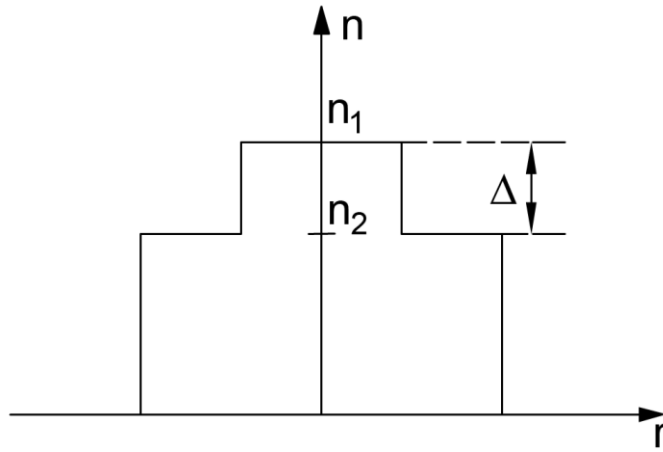


Рис.28. Одномодовий, ступінчатий світловід

3. Градієнтний світловід

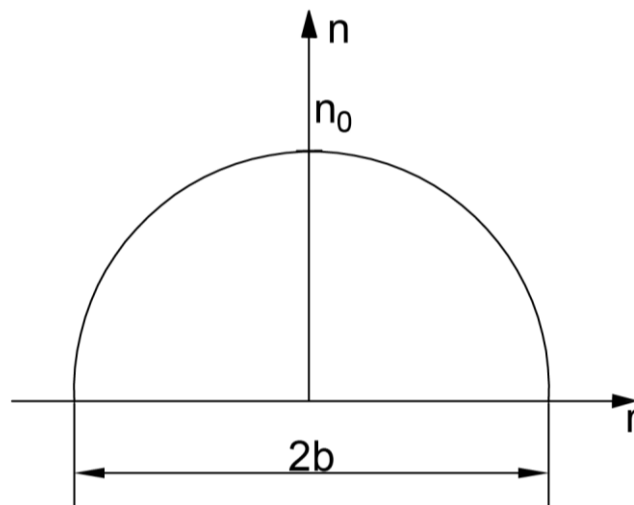
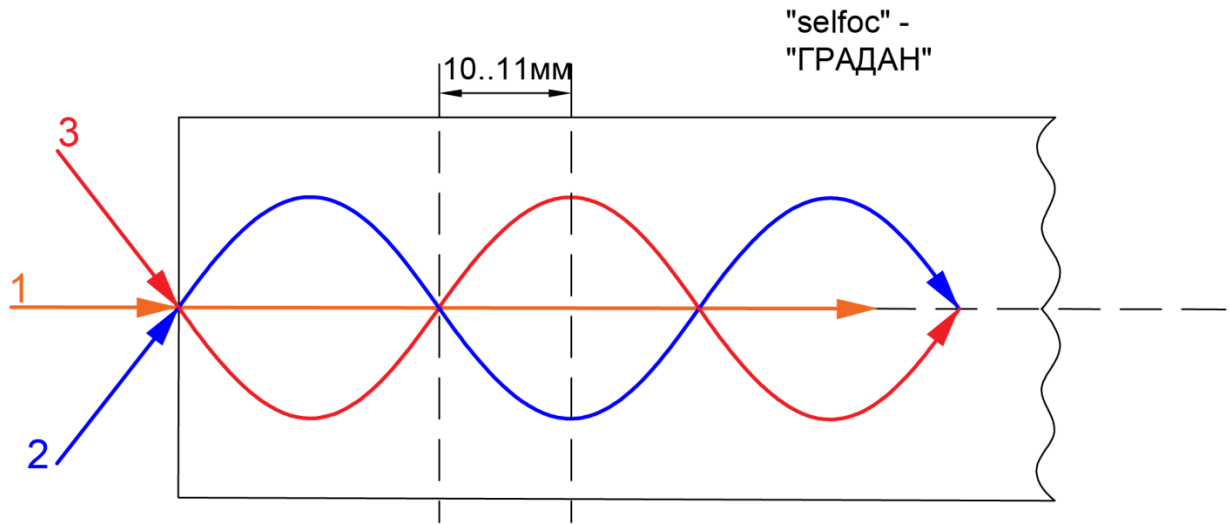


Рис.29. Градієнтний світловід

Показник заломлення змінюється за законом:

$$n(r) = n_0 - kr^2, \quad (16)$$

де n_0 – максимальний по центру, $k = const$ – коефіцієнт пропорційності, r – радіус.



Волоконна лінза (градієнтна), яка фокусує оптичне випромінювання, з зовнішнім діаметром 1мм і довжиною 10...11мм

Рис.30. «ГРАДАН»

4. Багатошаровий, багатомодовий світловід

Осердя і оболонка мають декілька шарів для кращого фокусування випромінювання в осерді.

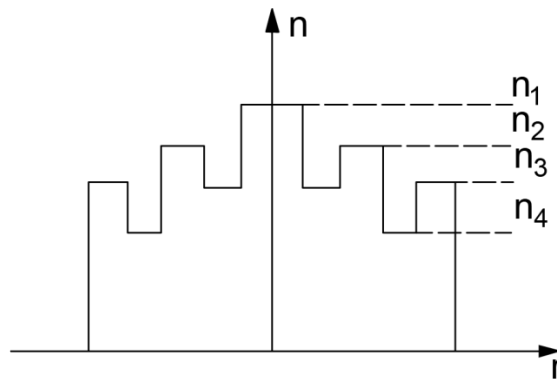


Рис.31. Багатошаровий, багатомодовий світловід

5. Градієнтний типу -M

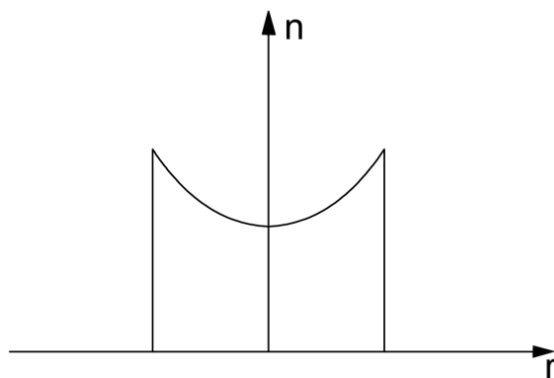


Рис.32. Градієнтний типу M

6. Спеціальні одномодові світловоди

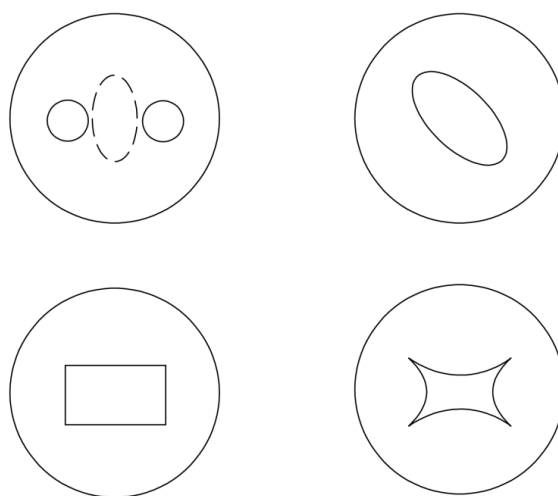


Рис.33. Спеціальні одномодові світловоди

За допомогою подвійного світлозаломлення змінюються геометричні розміри параметри осердя – використовуються для збереження і передачі поляризації випромінювання на відстань 5-7 метрів! Це спеціальні світловоди, які використовуються в медичних вимірювальних пристроях (давачах).

7. Одномодовий світловід з двома осердями.

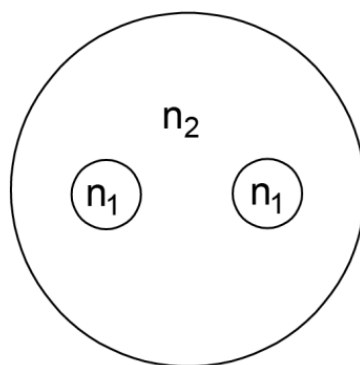


Рис.34. Одномодовий світловід з двома осердями

Використовується для мініатюрних інтерферометрів, розгалужувачів в медичних вимірювальних пристроях.

4.3. Основні характеристики волоконних світловодів. Схеми вимірювання

1. Вимірювання числової апертури

Числова апертура характеризує максимальний кут під яким випромінювання вводиться або виводиться з ВС.

Оптична схема для вимірювання числової апертури

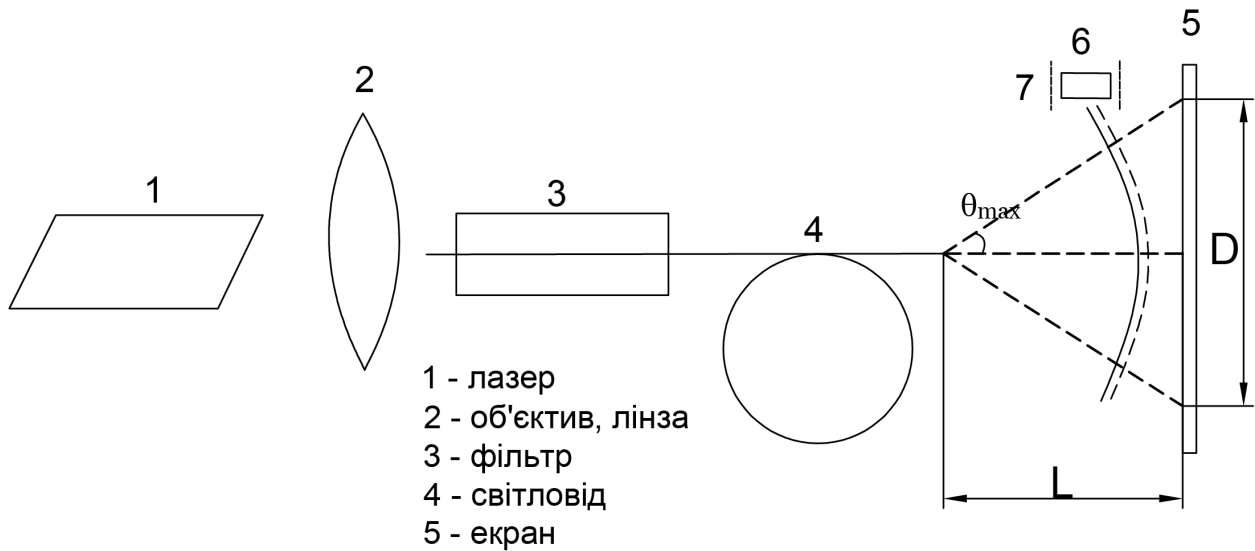


Рис.35.

$$\theta_{max} = \arctg \frac{D}{2L} \quad (17)$$

$$NA = \sin \theta_{max} = \sin \arctg \frac{D}{2L} \quad (18)$$

Крім того, числову апертуру можна виміряти за допомогою точкового фотоприймача або фотоприймача 6 з точковою діафрагмою 7, який сканує розподіл лазерного випромінювання на виході ВС.

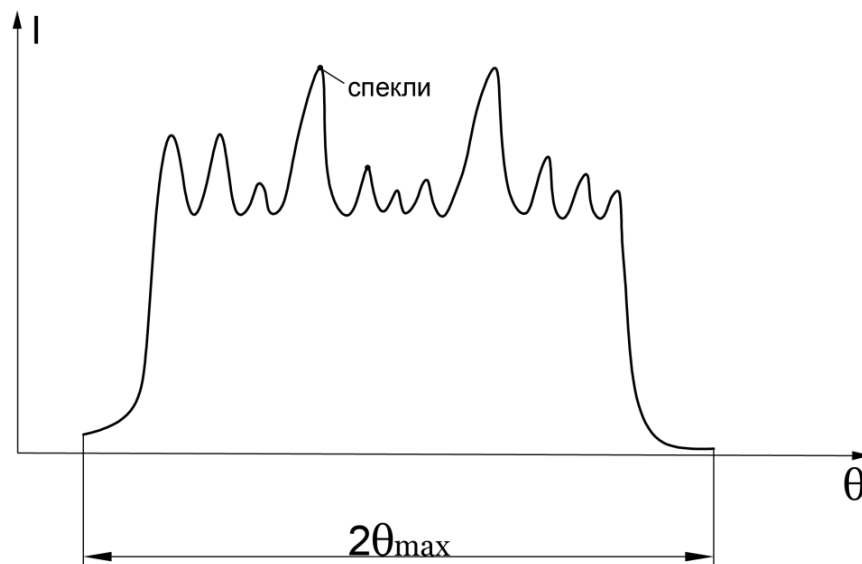


Рис.36.

Спекл – структура лазерного випромінювання надзвичайно чутлива до фізичного впливу на ВС, тому така особливість використовується для медичних інтерферометричних давачів.

2. Дисперсія волоконних світловодів

Ця характеристика пов'язана з спотвореннями (затримка переднього і заднього фронтів), оптичних імпульсів, які розповсюджуються на велику відстань волоконно-оптичними трактами, що найбільш суттєво важливим є при передаванні медичної інформації у цифровому вигляді.

Форма імпульсу спотворюється в наслідок того, що моди різних порядків приходять з входу на вихід за різний проміжок часу і при формуванні вихідного імпульсу виникають спотворення форми, яку необхідно відтворювати за допомогою ретранслятора.

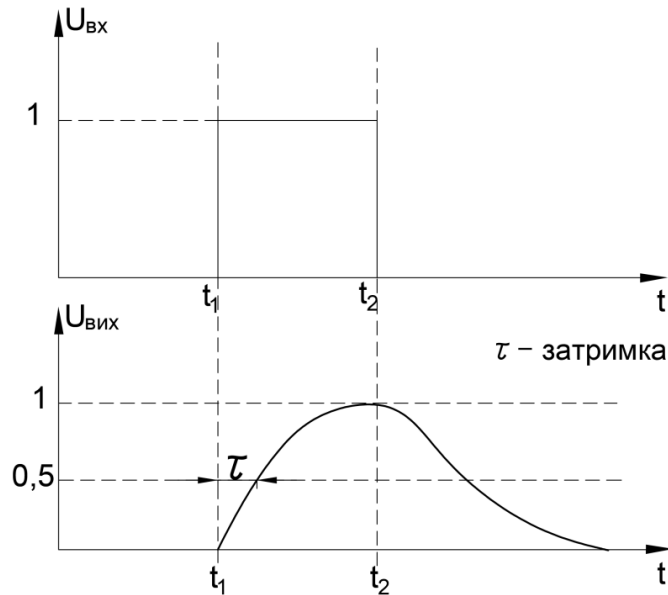


Рис.37.

Існують 3 види дисперсій:

1. **Модова дисперсія** – різниця групового часу розповсюдження мод осердь різних порядків.

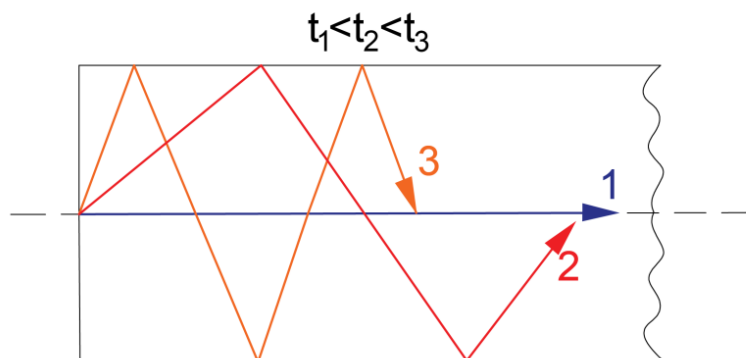


Рис.38.

Цю дисперсію можна зменшити:

- 1) Використовувати одномодові світловоди
- 2) Використовувати градієнтні світловоди
2. **Волноводна дисперсія** – залежність групової швидкості хвиль даного типу від частоти оптичного випромінювання.
3. **Матеріальна дисперсія** – залежність показника заломлення осердя світловода від частоти оптичного випромінювання.

Для багатомодових світловодів сумарна дисперсія дорівнює 20...50 нс/км.

Для градієнтних 3...5 нс/км. Для одномодових 0,1...0,2 нс/км.

Таким чином ця характеристика обмежує смугу частот корисного сигналу який передається волоконно-оптичним трактом:

Багатомодовий $\Delta f_{max} = 10 \dots 12$ МГц

Градiєнтний $\Delta f_{max} = 100 \dots 800$ МГц

Одномодовий $\Delta f_{max} = 100 \dots 500$ ГГц

Схема вимірювання дисперсії

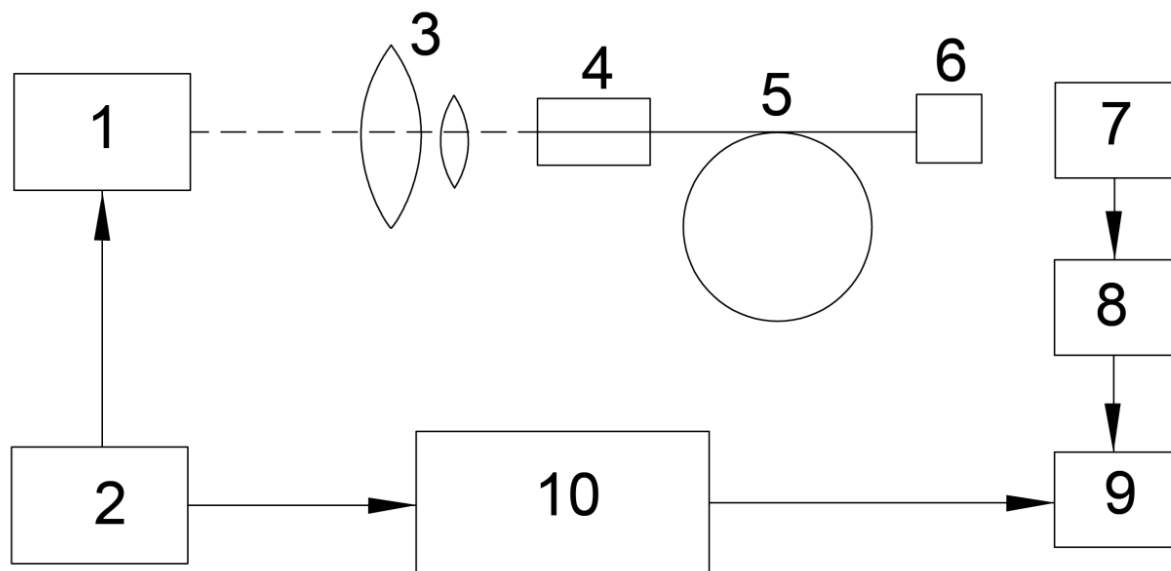


Рис.39. Схема вимірювання дисперсії

Випромінювання напівпровідникового імпульсного інжекційного лазера 1 модулюється електричними імпульсами з електричного модулятора 2 і формуються оптичні імпульси тривалістю 1...2 нс, які через фокусувальний об'єктив 3 направляються в світловід 5 з фільтром мод оболонки 4 на вході (для всіх вимірювальних оптичних схем – давачів завжди необхідно використовувати фільтр мод на вході світловодів). Вимірювальний світловід 5 має довжину десятки кілометрів на виході якого розташований узгоджувальний пристрій 6 з імерсійною рідиною перед фотоприймачем 7 (лавинний фотодіод смуга робочих частот якого 3-5 ГГц). Після фотодіоду 7 використовується широкопasmовий підсилювач 8 з смугою до 8 ГГц вихід якого підключений до стробоскопічного двопроменевого осцилографа 9 (типу С1-70) з смугою робочих частот до 10 ГГц. На другий вхід осцилографа 9 направляється вихідний сигнал з електричного генератора 2 через лінію затримки 10, яка компенсує затримку сигналу при проходженні через оптичний тракт 5, фотоприймач 7 і підсилювач 8 (лінія

затримки 10 конструктивно уявляє собою відрізок коаксіального кабелю). Таким чином на екрані осцилографа 9 можна порівняти вхідний і вихідний імпульс і на рівні 0,5 виміряти затримку сигналу або дисперсію, а за сумарною затримкою оптичного сигналу можна виміряти довжину оптичного світловоду 5. Якщо апаратуру з виходу світловоду перемістити на вхід оптичної схеми, то можна отримати рефлектометр OTDR, на виході якого можна спостерігати таку картину:

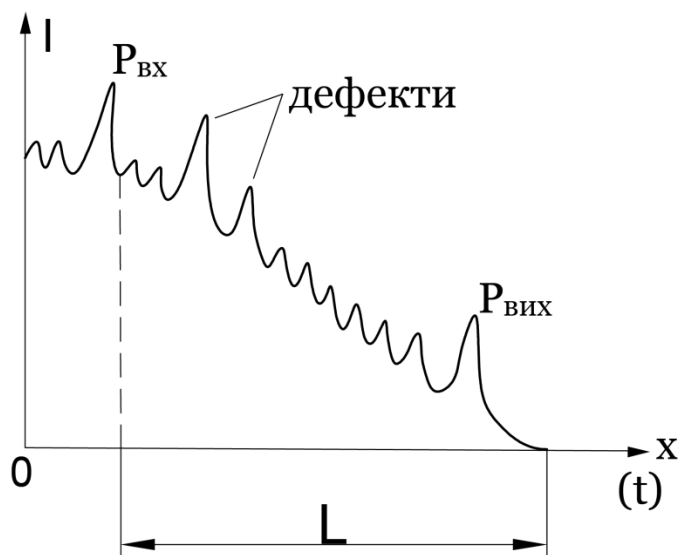


Рис.40.

За допомогою рефлектометра можна визначити:

1. Загасання волоконного світловоду
2. Довжина тракту
3. Дефекти (можна визначити на відстані 10-12 см)
4. Показник заломлення рідини

3. Загасання волоконних світловодів

Загасання волоконних світловодів залежить від двох чинників:

1. Втрати на поглинання

Сучасні світловоди (кварц, скло) мають малі втрати на поглинання у зоні прозорості скла (4-5 мкм), після цих частот скло буде не прозоре (10 мкм). Втрати різко підвищуються в наслідок коливань матриці скла.

Після 5 мкм скло не прозоре!

Поглинання оптичного випромінювання у склі відбувається на іонах металів (залізо, мідь, нікель, хром, ванадій) в діапазоні хвиль 0,3-1 мкм.

Другий механізм поглинання – наявність гідроксильної групи OH^- від якої позбутися неможливо, яка присутня при виробництві світловодів. Вона дає основний резонанс 2,7 мкм і гармоніки 1,38 мкм, 0,98 мкм, 0,72 мкм.

2. Втрати на розсіювання

Існують декілька механізмів розсіювання оптичного випромінювання.

Перший механізм – Релеєвський. Релеєвське розсіювання інтенсивність якого пропорційна 4 ступені частоти випромінювання або обернено пропорційна 4 ступеню довжини хвилі. $I_R \sim C_R f^4 \sim \frac{C_R}{\lambda^4}$. Це відбувається при $d \ll \lambda$. Це розсіювання не можна компенсувати у будь-якому середовищі, бо завжди будуть частинки або зони з оптичною нерівномірністю.

При $d \gg \lambda$ відбувається розсіювання Мі. $\frac{I_1}{I_2} = 40 \dots 50$

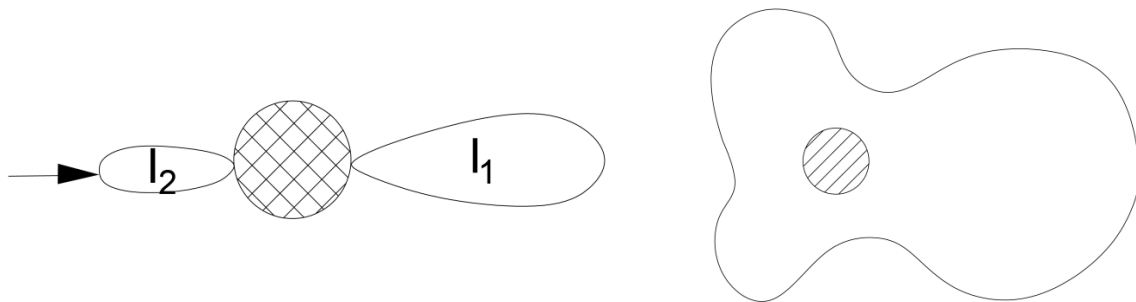


Рис.41.

Завжди при використанні вимірювальних пристроїв бажано працювати на прямому розсіюванні від об'єкта, бо розсіювання назад є суттєво меншим. Якщо працюємо на зворотному розсіюванні, то:

- 1) працювати на більш потужному лазері;
- 2) зробити більш чутливий фотоприймач (підсилювач).

Таким чином загальні втрати для ВС (сумарна характеристика втрат) має вигляд рис.41.

Загасання багатомодових світловодів 8-10 дБ/км, для одномодових 0,05-0,1 дБ/км.

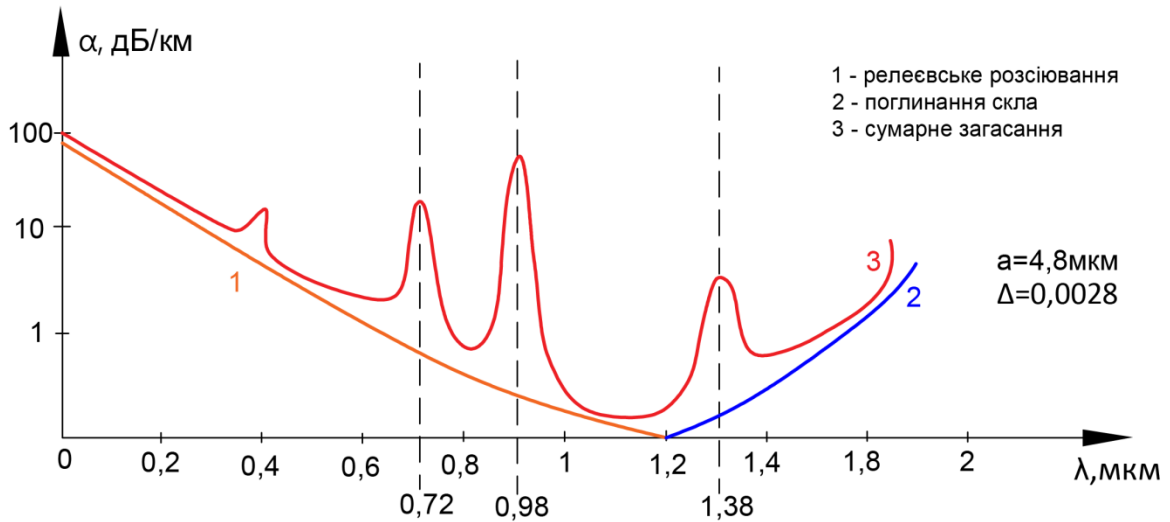


Рис.42.

Методи вимірювання втрат волоконних світловодів

Існують такі методи вимірювання загасання:

1. Оптичний тестер на дві хвилі (0,85 і 1,05 мкм)
2. Відривний
3. Безвідривний (безруйнівний)

Оптична схема для вимірювання загасання волоконних світловодів

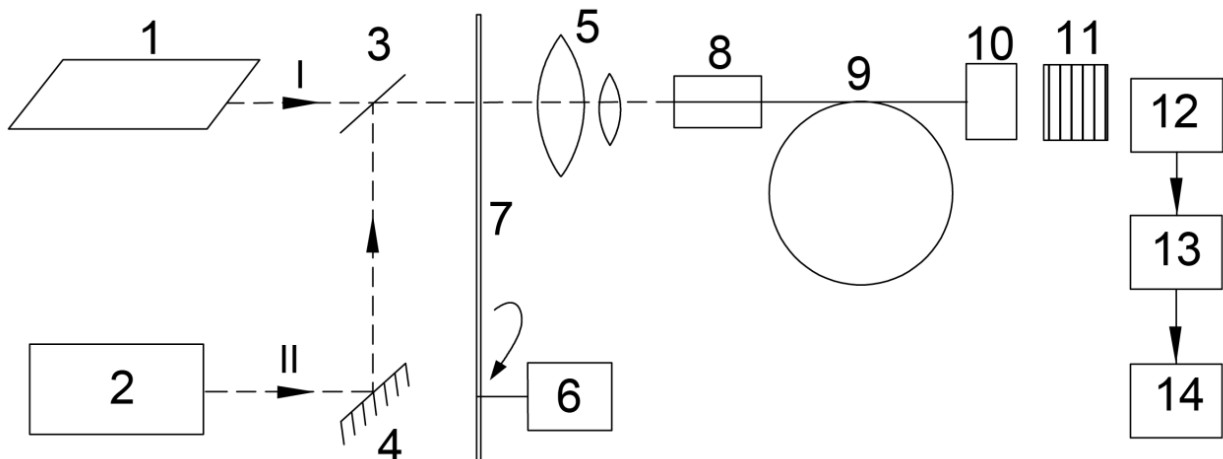


Рис.43. Оптична схема для вимірювання загасання волоконних світловодів

Випромінювання лазера 1 направляється на напівпрозоре дзеркало 3 (лазер He-Ne або напівпровідниковий – на одну довжину хвилі). На дзеркало 3 також може поступати оптичний сигнал з монохроматора 2 (монохроматор – оптичний прилад, який може змінювати довжину хвилі оптичного випромінювання від УФ

до ІЧ). Оптичне випромінювання через модулятор 6 направляється на оптичну систему 5. Модулятор 6 – електродвигун на осі (валу) якого розташовується металевий диск 7 з прозорими секторами і цей диск обертається з регульованою частотою.

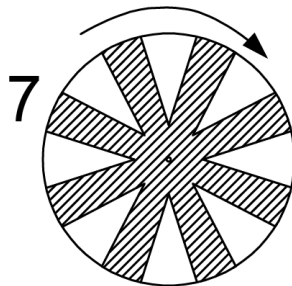


Рис.44. Металевий диск 7 з прозорими секторами

Відбувається механічна модуляція лазерного випромінювання на частоту $f=1\dots 5\text{кГц}$ – безперервне лазерне світло перетворюється в імпульсну послідовність оптичного сигналу. Таким чином досягається підвищення рівня сигнал-шум у схемі за рахунок компенсації дрейфів струмів фотоприймача і оптичного випромінювання лазера. Будь-які оптичні вимірювання (лазерні) необхідно проводити з модуляцією оптичного лазерного променя. Оптична система 5 направляє випромінювання в вимірювальний світловід 9 на вході якого розташований фільтр мод оболонки 8. На виході з світловоду 9 встановлюється узгоджувальний пристрій 10 з імерсійною рідиною щоб зменшити втрати на узгодження з фотоприймальною апаратурою. Для підвищення точності вимірювань використовуються калібрований аттенюатор 11, який має набір каліброваних нейтральних оптичних фільтрів – він вносить детерміноване визначене додаткове загасання в оптичний сигнал. Таким чином відбувається стає значення струму на фотоприймачі 12 при різних методах вимірювання (фотоприймач 12 – фотодіод чи фотоелектронний підсилювач). Вихідний сигнал направляється на фільтр з підсилювачем 13, який налаштований на частоту модулятора і всі шуми не підсилюються. З підсилювача 13 сигнал направляється на апаратуру обробки і реєстрації, яка фіксує вихідну потужність після волоконного світловоду. Таким чином загасання волоконного світловоду буде визначатись:

$$\mathcal{L}_{\text{дБ}} = 10 \lg \frac{P_{\text{вих}}}{P_{\text{вх}}} \quad (19)$$

Для вимірювання $P_{\text{вх}}$ необхідно:

а) **за допомогою відривного або руйнівного методу** відрізати частину світловоду на відстані 1 м, не змінюючи умови узгодження з світловодом 9.

Переваги: висока точність вимірювання.

Недоліки: руйнування частини світловоду.

б) **при неруйнівному методі** світловід 9 виймається з схеми замість нього розміщують відрізок такого ж світловоду довжиною 1 м (еталон) і також вимірюють потужність на його виході.

Переваги: неушкоджуваність світловоду.

Недоліки: зменшується точність вимірювання завдяки порушенню умов узгодження з оптичною системою 5. Для підвищення точності необхідно проводити вимірювання 7-8 разів і робити статистичну обробку.

4. Поляризаційні характеристики волоконних світловодів

1. **Всі** світловоди руйнують або спотворюють поляризацію лазерного випромінювання
2. Існують тільки **спеціальні одномодові світловоди** зі збереженням поляризації
3. Довжина волоконних світловодів 5-7 м

5. Оптичні лабораторні вимірювальні прилади

Оптичні методи і засоби контролю біооб'єктів поділяються на 2 великі групи:

1. **Візуальний оптичний контроль** за допомогою різних методів оптичної мікроскопії (див. лекції Вовянюк)
2. **Автоматичний оптичний контроль** (див. класифікацію на початку лекцій). Автоматичний оптичний контроль біооб'єктів передбачає

застосування методів аналізу, які застосовані на безпосередньому вимірюванні оптичних параметрів крові, що аналізується:

- 1) на вимірюванні показників заломлення (рефрактометричний і інтерферометричний методи);
- 2) поглинання (абсорбційно-оптичний метод);
- 3) оптичної активності (поляризаційний і люмінісцентний метод);
- 4) розсіяння (нефелометричний турбідиметричний метод);

5.1. Метод оптичної спектрофотометрії

Один з поширених типів оптичного методу дослідження біооб'єктів є метод оптичної спектрофотометрії.

Оптична схема, принцип роботи спектрофотометра

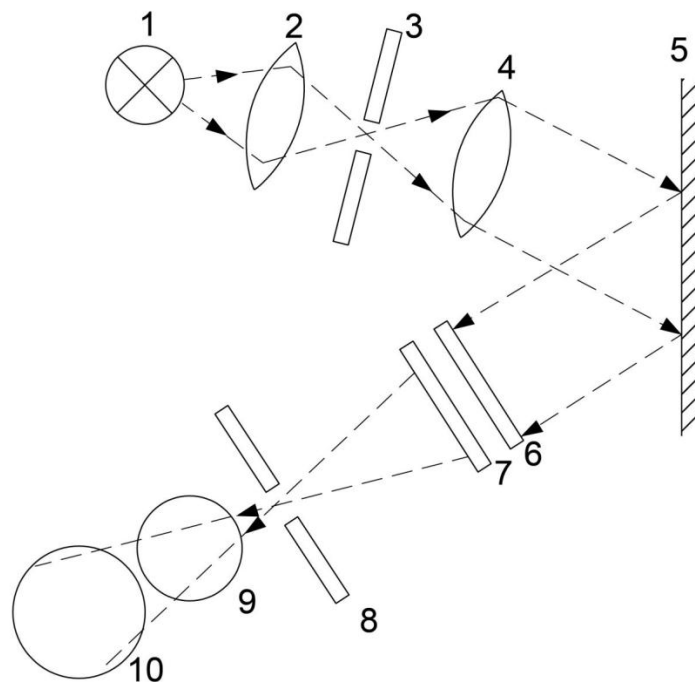


Рис.45. Оптична схема спектрофотометра

Випромінювання джерела 1 (вольфрамова лампа, інтенсивність випромінювання якої змінюється від довжини хвилі) розповсюджується через лінзу або об'єктив 2 на вхідну щілину 3, а потім на дифракційну ґратку 5, яка може змінювати спектр випромінювання лампи 1 в діапазоні 380-780 нм. Регулятор інтенсивності світла 6 і оптичний фільтр 7 розташовуються перед вихідною щілиною 8. Потім світло направляється на біологічну пробу 9 і

фотоприймач 10. Оптична частика від вхідної щілини 3 до вихідної 8 називається монохроматором. Дифракційна ґратка виділяє окремі спектральні складові інтенсивності яких вимірюється фотоприймачем 10. Цей прилад використовується для вимірювання концентрації речовини в рідині (вимірювання вмісту холестерину для сировотки крові, сечової кислоти). При вимірюванні параметрів крові попереднє використовують центрифугу – відділяють плазму від формених елементів крові. Якщо досліджувана речовина прозора (без кольору), то додають спеціальні барвники-реагенти і концентрація речовини в розчині визначається за умовами максимального поглинання світла різної довжини хвилі. Концентрація визначається за законом Бера на визначеній довжині хвилі:

$$I_s = I_0 \exp(-\alpha c x), \quad (20)$$

де I_0 – інтенсивність падаючого світла, α – коефіцієнт поглинання (константа для речовини і лямбда), c – концентрація розчину моль/л, x – довжина шляху світла у речовині у см.

Якщо використовують ультрафіолетовий чи інфрачервоний аналіз, то змінюють джерело світла, використовуються інші джерела. Наприклад для ультрафіолетової спектроскопії використовують флюорометр (визначає концентрацію ліків а також продуктів метаболізму).

5.2. Рефрактометричні аналізатори

Принцип роботи аналізаторів базується на залежності показника заломлення n світлового потоку з бінарною сумішшю і ця залежність визначається співвідношенням компонентів в цій суміші. Найбільш поширені це автоматичні рефрактометри в яких використовується метод кінцевої різницевої призми. Ці рефрактометри вимірюють відхилення світлового пучка на виході кюветного перетворювача з одночасним вимірюванням концентрації розчинів.

Схема автоматичного рефрактометра з кюветою диференціального типу

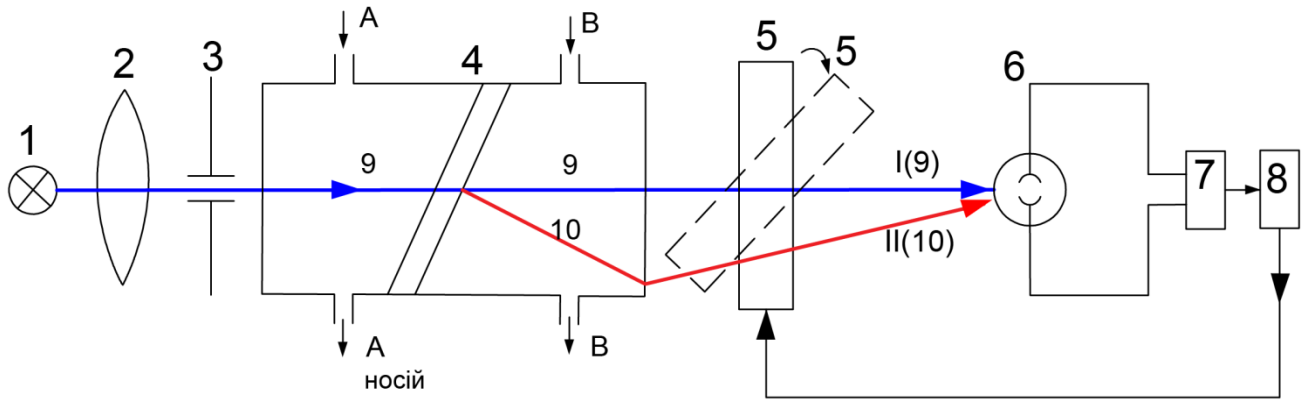


Рис.46. Схема автоматичного рефрактометра з кюветою диференціального типу

Випромінювання від джерела 1 проходить через конденсорну лінзу 2, діафрагму 3 і подається на вимірювальну кювету 4. Якщо концентрації А (речовина-носії) і Б (аналізована речовина) співпадають, то промінь 9 проходить через кювету 4 без відхилення і рівномірно освітлює фотоприймач 6. При зміні концентрації розчину Б промінь 9 відхиляється (становиться 10) в ту чи іншу сторону залежно від зміни концентрації і інтенсивність світла на фотоприймачі 6 або освітленість фотоприймача ослаблюється. На виході фотоприймача 6 електричний сигнал направляється на вимірювальну систему 7, яка визначає похибку або зміну напруги і реверсивний двигун 8 обертає жорстко зв'язану індикаторну стрілку та компенсаційну пластину 5. Вона обертається до тих пір, поки освітлення фотоприймача не вирівнюється.

5.3. Інтерферометричні аналізатори

Принцип роботи аналізаторів базується на використанні інтерферометричних методів при вимірюванні показника заломлення аналізованої речовини (рис. 47).

Оптична схема інтерферометричного аналізатора

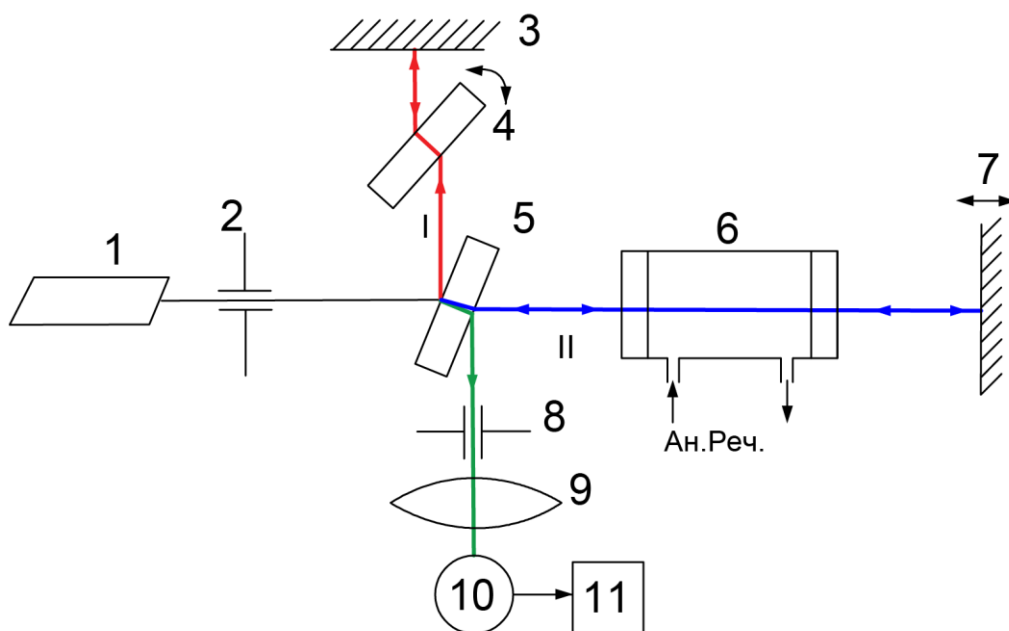


Рис.47. Схема інтерферометричного аналізатора

Випромінювання джерела 1 після діафрагми 2 (вхідна щілина) направляється на напівпрозоре дзеркало 5 (напівпосріблена скляна пластина) і поділяється на два когерентних променя I і II. I спрямовується до нерухомого дзеркала 3, II на рухоме дзеркало 7 (промінь II проходить крізь кювету 6 з аналізованою речовиною). Ці промені відбиваються від дзеркал 3 і 7, за допомогою пластини 5 знову поєднуються між собою і через вихідну щілину (діафрагму 8), приймальний об'єктив 9 направляються на фотоприймач 10. На фотоприймачі формується інтерференційна картина (смуги). Зміщення смуг пропорційне концентрації аналізованої речовини. Для компенсації променя, відбитого від нерухомого дзеркала 3 встановлена компенсуюча пластина 4. Її зміна положення забезпечує однакову різницю променя I і II, що забезпечує стабільність інтерференційної картини на фотоприймачі 10, після якого встановлюється апаратура обробки і реєстрації 11.

5.4. Абсорбційні оптичні методи

Ці методи засновані на властивостях розчинів, які відрізняються за складом та різним поглинанням (абсорбуванням) випромінювання оптичного діапазону.

Залежно від довжини хвилі електромагнітного випромінювання що поглинається ці аналізатори поділяються на:

1. Ультрафіолетовий

2. Видимі

3. Інфрачервоні

Для побудови цих аналізаторів використовуються різноманітні вимірювальні схеми в залежності від вимірювальних аналітичних задач і вимог щодо метрологічних характеристик.

1. Аналізатори видимого діапазону

Принцип дії цих аналізаторів базується на поглинанні випромінювання у видимій частині електромагнітного спектру. Джерела випромінювання – лампи розжарювання, приймачі – фоторезистори або фотодіоди, речовина яка аналізується у рідкому стані прозора для видимого світла. Вона розпорошується і створюються частинки аерозолі. Випромінювання проходить через аерозоль і змінюється за рахунок поглинання. Ця зміна випромінювання реєструється фотоприймачем, який і вимірює цей інформативний параметр. Деякі речовини при контакті з хімічними реагентами забарвлюються або забарвлюють хімічні реагенти. Інтенсивність забарвлення вимірюються за допомогою колориметричних аналізаторів безперервної або дискретної дії. Таким чином вимірюють або визначають концентрації аналізованої речовини. Колориметри є селективними за допомогою спеціального реагенту.

Оптична схема фотокolorиметричного аналізатора (двопроменевого) неперервної дії

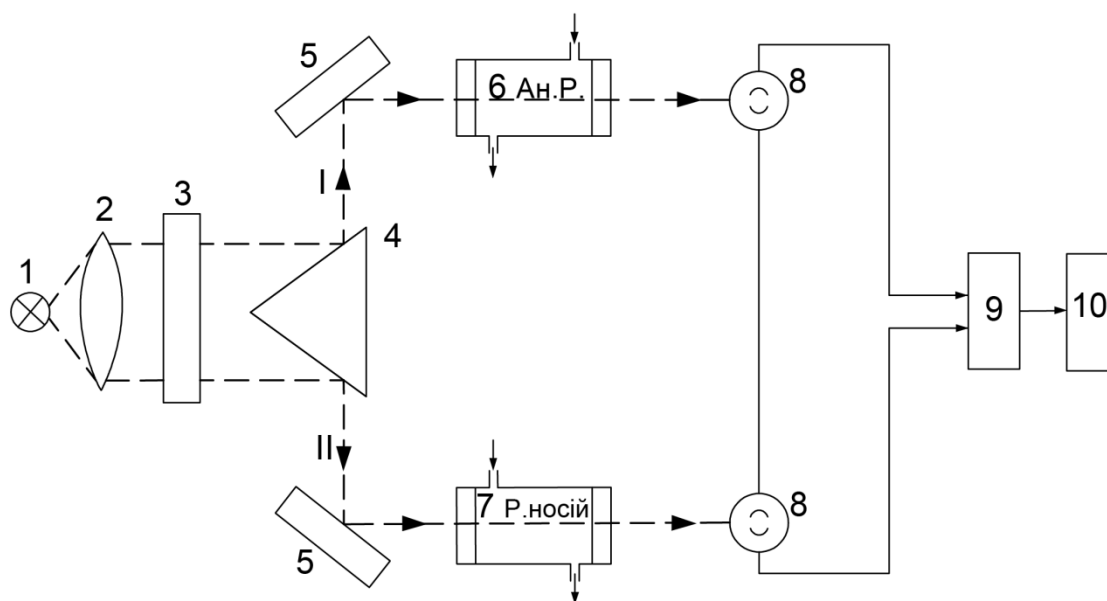


Рис.48. Схема фотокolorиметричного аналізатора неперервної дії

Випромінювання джерела 1 після конденсора 2 (об'єktiv) направляєтьс на світлофільтр 3, після якого призмою 4 поділяється на два пучки рівної інтенсивності I і II. Дзеркало 5 промінь I направляєтьс у вимірювальну кювету 6 з аналізованою речовиною, а промінь II направляєтьс у порівняльну кювету 7 з зразковим розчином відомої концентрації. Фотоприймач 8 на виході кювет 6 і 7 підключається на вхід вимірювальної системи по зустрічній схемі, різниця сигналів фотоприймачів 8 підсилюється і відправляється на вторинний прилад 10, якій від градуйований в одиницях вимірювальної концентрації.

2. Ультрафіолетові аналізатори

Принцип дії заснований на поглинанні ультрафіолетового випромінюванні аналізуючою речовиною. Реалізуютьс за одно- і двопроменевими схемами методами прямого і зрівноважуючого перетворень. Особливістю ультрафіолетових аналізаторів є необхідність використання в їх оптичних схемах елементів які виготовлюється з оптичного кварцу. Джерела випромінювання – ртутні, ртутно-кадмієві, водневі та ртутні газорозрядні лампи, фотоприймачі – фотоелементи, фоторезистори та фотоелектронні помножувачі, які чутливі до ультрафіолетового випромінювання. $\lambda_p = 0,256$ мкм.

Оптическая схема УФ анализатора

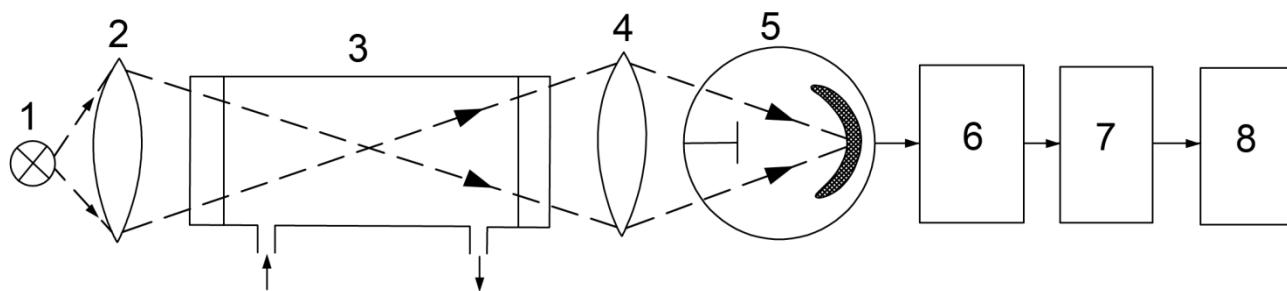


Рис.49. Оптическая схема УФ анализатора

Воднева лампа 1, 2 і 4 лінзи об'єктиви, 3 проточна кювета з речовиною, 5 фотоелектронний приймач, 6 використовується фільтр перед підсилювачем 7, 8 апаратура обробки і реєстрації (у будь-яких вимірювальних схемах бажано завжди використовувати попередню фільтрації перед підсилюванням інформаційного сигналу). Ультрафіолетові аналізатори для вимірювання складу дисперсійних середовищ мають обмежене використання, оскільки більшість речовин не чутливі до ультрафіолетового випромінювання або спектри випромінювання настільки сильно перекриваються що не забезпечується селективне випромінювання тих чи інших компонентів.

3. Інфрачервоні аналізатори

Принцип дії базується на поглинанні інфрачервоного випромінювання і залежить від структури, типу і енергії хімічних зв'язків. Використовуються для автоматичного контролю багатоконпонентних дисперсних систем. Для вимірювання концентрації інфрачервоним методом як правило використовується діапазон 0,92...2,85 мкм. Вони розроблені на основі традиційних одно- і двоканальних одно- і двопробених оптико електронних вимірювальних схем.

Оптична схема ІЧ-аналізатора з оптичною компенсацією у порівняльному і робочому каналах

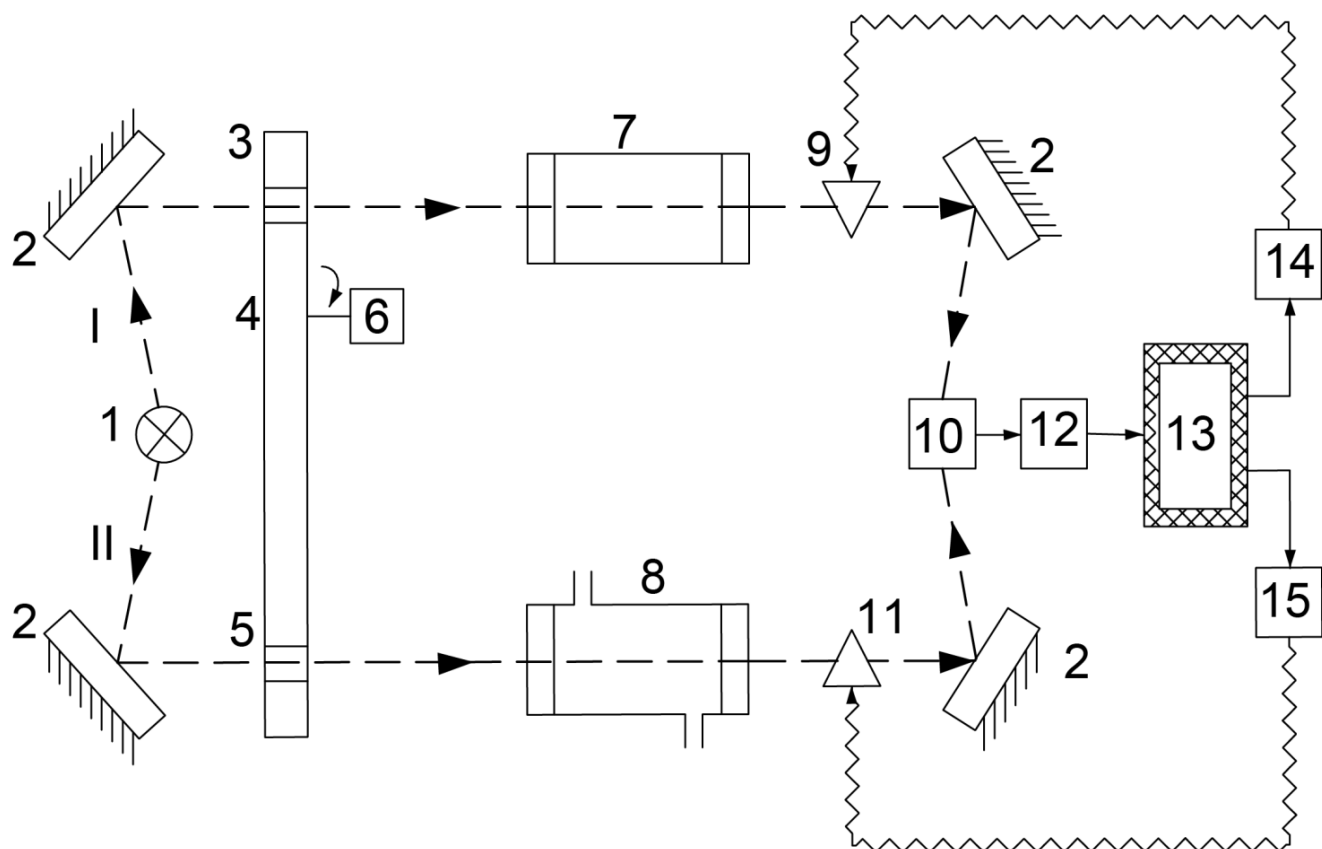


Рис.50. Оптична схема ІЧ аналізатор з оптичною компенсацією у порівняльному і робочому каналах

Промені I, II від ІЧ джерела 1 по каналах 3,5 поступово поступають на порівняльну кювету 7 і робочу 8, відбиваються від дзеркал 2 і направляються на фотоприймач 10. Ці сигнали промодульовані оптикатором 4 (модулятором), які обертаються за допомогою двигуна 6. Після фотоприймача 10 сигнали підсилюються підсилювачем 12 і направляються на розподільчий пристрій 13, який поділяє сигнал на перший, що направляється на нуль-орган 14 (механічний керований пристрій), який змінює положення оптичного клину 9. Другий сигнал направляється на нуль-орган 15, який зрівноважує оптичну систему за допомогою оптичного клину 11 (цей оптичний клин механічно пов'язаний зі стрілкою шкали приладу).

5.5. Нефелометричні аналізатори

Нефелометричні аналізатори засновані на явищі розсіювання світла, аналізуючим середовищем а також на дослідження кутових і поляризаційних характеристик пружного розсіювання оптичного випромінювання. Дослідження кутової залежності інтенсивності розсіяного оптичного випромінювання і є нефелометрія. Вимірюється також відбитий середовищем світловий потік.

Особливості лазерної нефелометрії

Визначається розповсюдження і розсіювання випромінювання у газоподібних, рідких та твердих біоб'єктах. Методи пружного розсіювання використовуються для дослідження бактерій, формених елементів крові, тканин ока тощо. Ці біоб'єкти мають різні форми (сфери, циліндри, диски, еліпсоїди) і різні розміри (від 0,1 до 100 мкм). Для видимого діапазону використовують такі значення для показника заломлення середовища: $n = (m + i\kappa)$ - комплексне значення показника заломлення, де $m = 1,02 \dots 1,2$, $\kappa = 10^{-5} \dots 10^{-2}$.

За допомогою теорії Мі визначається форма мікроструктури, полідисперсність, спектральна залежність біочастинок. Залежність інтенсивності від кута має вигляд :

$$I(\theta) = I_0 \frac{a^2}{2\rho^2 R} (i_1 + i_2) \quad (21)$$

де $I(\theta)$ – інтенсивність від кута розсіювання; I_0 – інтенсивність світла, що падає на біоб'єкт; $\rho = \frac{2\pi a}{\lambda}$, де a – радіус частинки; i_1, i_2 – коефіцієнти Мі (мають функції Бесселя та поліноми Лежандра).

Для «м'яких» частинок ($m \approx 1, \rho \ll 1$) використовується наближення Релея-Ганса. Для частинок $\rho > 500$ використовуються формули геометричної оптики.

У проміжних випадках використовують наближення Хюлста.

Таким чином при розсіюванні біоб'єктами змінюється індекатриса (її просторовий розподіл) і ця інтенсивність вимірюється за допомогою нефелометрів, а також ектацитометрів (прилади для вимірювання деформованості еритроцитів). Для різних частинок використовують такі методи:

- 1) якщо частинка 0,02-0,2 мкм, використовують метод асиметрії індикатриси;

- 2) якщо частинка 0,1-10 мкм – метод повної індикатриси;
- 3) якщо частинка 1-300 мкм – метод реєстрації розсіювання світла при малих кутах.

Лазерна поляризаційна нефелометрія

При розсіювання світла біочастинками змінюється: коефіцієнт поглинання α , переріз розсіювання σ , індикатриса розсіювання $I(\theta)$, поляризація лазерного випромінювання.

Для аналізу змін поляризації використовують матрицю розсіяного світла (МРС) – матриця Мюллера – має 16 елементів, кожний з яких є функція довжини хвилі розмірів, форми та складу частинок. За допомогою поляризаційних елементів при повному аналізі використовують поляризаційні елементи – поляризатори, фазові пластинки компенсатори тощо.

Оптична схема поляризаційного нефелометра

Головний принцип дії – це модуляція світлового пучка обертанням поляризаційних елементів навколо вісі променя, а потім розрахунок ПЕОМ МРС і така схема дозволяє вимірювати всі 16 елементів матриці розсіювання.

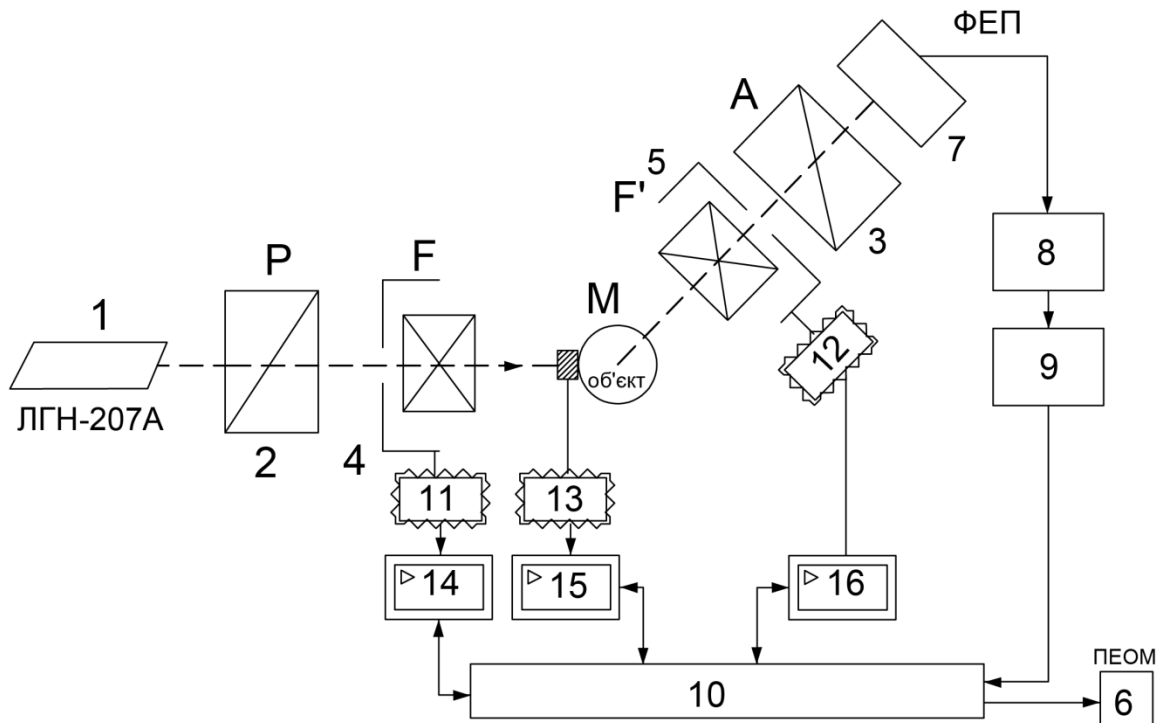


Рис.51. Оптична схема поляризаційного нефелометра: 1 – He-Ne лазер ($\lambda=0,6328$) ЛГН-207А; 2(P) – поляризатор; 3(A) – аналізатор; 4,5 (F,F') – поляризаційні компенсатори; М – об'єкт дослідження; 7 – фотоелектронний приймач (ФЭУ-79)

Поляризатор 2 – нерухомий, аналізатор 3 – нерухомий, 4,5 – поляризаційні фазові пластинки, вони обертаються змінюючи поляризацію. А і Р орієнтовані паралельно один одному, їх площини пропускання перпендикулярні площині розсіювання. Швидкі вісі (фазових пластинок) F,F' складають з площиною розсіювання кути φ і φ' , а додаткові різниці фаз, які вносяться цими пластинами називають δ і δ' .

Лазерне випромінювання на вході оптичної системи можна характеризувати вектором параметрів Стокса: $S_0 (I_0, Q_0, U_0, V_0)$ на вході вектор параметрів Стокса, $S (I, Q, U, V)$ на виході вектор параметрів Стокса. $\bar{S} = \bar{A} \times \bar{F}' \times \bar{M} \times \bar{F} \times \bar{P} \times \bar{S}_0$ – матриці Мюллера.

Швидкості обертання пластинок 4 та 5 між собою як 1:5, або $\varphi'=5 \varphi$, що однозначно визначають одночасно всі 16 елементів матриці Мюллера.

За допомогою перемноження цих матриці Мюллера визначаються коефіцієнти матриці Фур'є і таким чином параметри біооб'єкта і поляризаційних пристроїв. Така оптична система дозволяє вимірювати кути повороту одну кутову хвилину, фотоприймач 7 (ФЭУ-79) працює у режимі методу підрахунків фотонів. 8 – це амплітудний дескримінатор (пороговий пристрій з підсилювачем, який відсікає шумові імпульси і стандартизує сигнальні імпульси). Цей сигнал після 8 має сталу амплітуду, а частота імпульсів пропорційна інтенсивності розсіяного світла, вона реєструється за допомогою частотомеру 9. Пристрій спрягання 10 забезпечує паралельну (нормальну) роботу всіх елементів схеми. Мікро ПЕОМ 6 фіксує імпульси крокових двигунів 11, 12, 13 (керуються підсилювачем потужності 14, 15,16) фіксує ПЕОМ кути повороту пластинок 4,5 і інтенсивність фотоприймача 7 і проводиться Фур'є аналіз, і підраховується поляризаційні характеристики поляризаційного випромінювання. За допомогою таких нефелометрів досліджуються характеристики формених елементів крові:

1) нормальні еритроцити у плазмі крові, мають форму подвійно ввігнутого диску діаметром 7,1-9,2 мкм, товщина у центрі 0,9-1,2 мкм, з краю 1,7-2,4 мкм. Дійсна частина показника заломлення відносно плазми має значення $m=1,041-$

1,067 для довжини хвилі $\lambda=600$ нм. Уявна частина $\epsilon=10^{-2}\dots 10^{-5}$ в діапазоні $\lambda=350\dots 1000$ нм;

2) лейкоцити мають форму сфери діаметром 8-22 мкм;

3) тромбоцити мають форму тонких дисків $d=2\dots 4$ мкм.

Оптична схема нефелометричного аналізатору побудованого за методом зрівноваженого перетворення

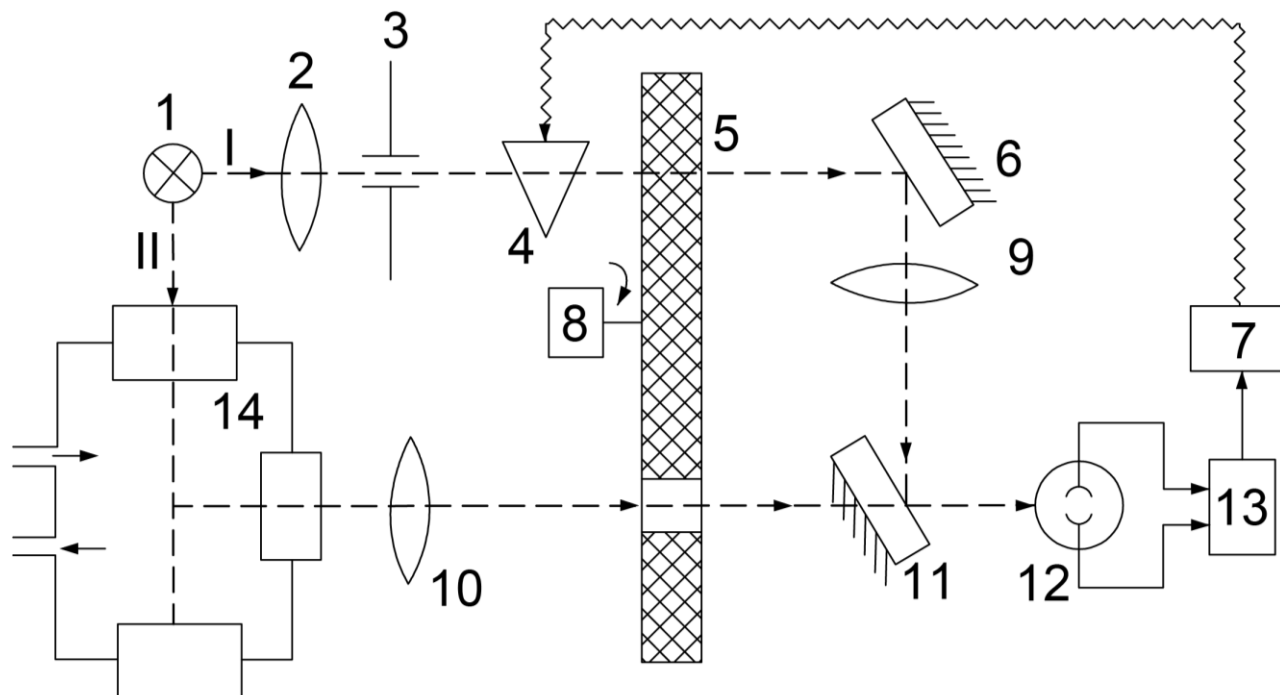


Рис.52. Оптична схема нефелометричного аналізатору побудованого за методом зрівноваженого перетворення

Випромінювання від джерела 1 поділяється на два промені I та II (I опорний або незмінний промінь, II інформативний сигнал, що розсіюється аналізованою речовиною у кюветі 14), це розсіюване випромінювання приймаємо приймальним об'єктивом 10 через напівпрозоре дзеркало 11 і направляємо на фотоприймач 12. Другий оптичний сигнал через об'єктив 2, діафрагму 3, оптичний клин 4, напівпрозорі дзеркала 6,11, об'єктивом 9 також направляється на фотоприймач 12. Ці оптичні сигнали I та II по чергово перекриваються оптиктором 5, який обертається зі сталою швидкістю двигуном 8. Ці світлові потоки порівнюються між собою і у випадку їх відмінності підсилювач 13 виробляє сигнал керування двигуном 7, який змінює положення оптичного клину 4 одночасно змінюючи

положення стрілки вторинного приладу до тих пір поки не вирівняються світлові потоки на фотоприймачі 12.

До недоліків такої системи відносять:

- 1) застосування тільки до монодисперсних систем;
- 2) при дослідженні концентрованих розчинів можуть з'являтися помилки внаслідок вторинного розсіювання;
- 3) при роботі з дуже розбавленими системами необхідно ретельно видалити домішки і врахувати розсіювання на флуктуаціях густини.

5.6. Проточні аналізатори мікрочастинок

АМПЛ-1 – аналізатор мікрочастинок проточний лазерний

Для дослідження біооб'єктів необхідно знати у першу чергу такі параметри біологічних розчинів:

- 1) концентрація (формених елементів крові, біочастинок)
- 2) склад і розміри частинок для сечі, крові, сім'яної рідини і осада сечі

Основні вимоги до біомедичного аналізатора мікрочастинок такі: малий об'єм проби, високі концентрації і полі дисперсність розмірів біочастинок.

Такі вимоги реалізовані наприклад в АМПЛ-1.

Оптична схема аналізатора АМПЛ-1

Цей прилад реалізує метод визначення розмірів мікрочастинок за інтенсивністю малопучкового світлорозсіювання ($\theta = 0$). Вимірює концентрацію біочастинок у суспензіях, будує і аналізує гістограми розподілу мікрочастинок за розмірами.

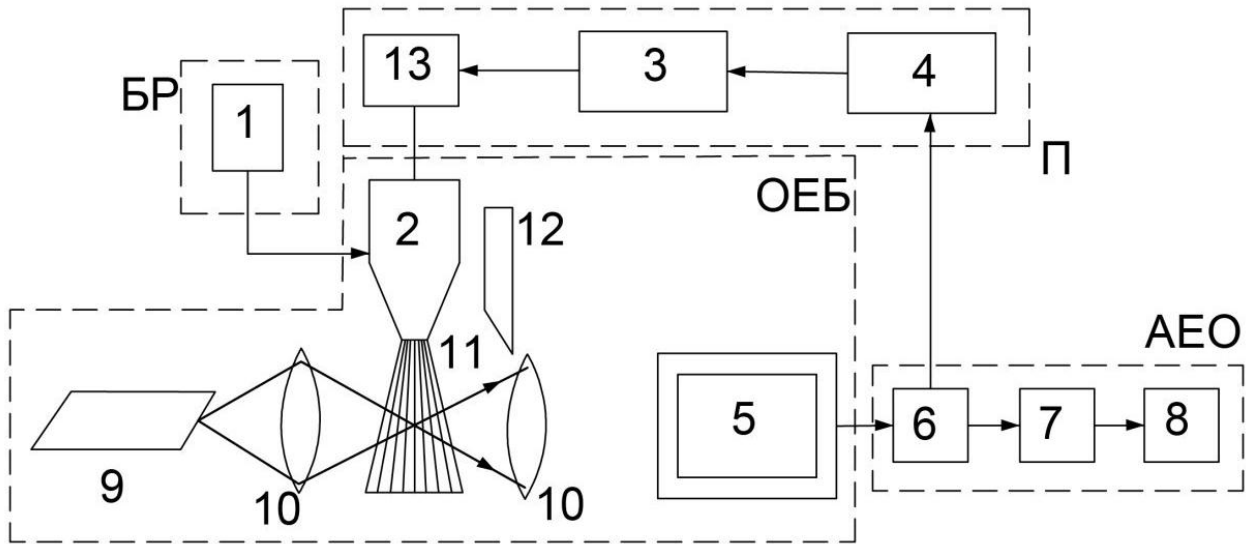


Рис.53. Оптична схема аналізатора АМПЛ-1

1 – буферна речовина

П – проба, яку необхідно дослідити

АЕО – апаратура електронної обробки

13 – шприц, який виприскує пробу

2 – проточна кювета з плоскими вікнами

9 – He-Ne лазер

11 – вимірювальний об'єм, приблизний діаметр 100 мкм

ОЕБ – оптико-електронний блок

Через вимірювальний об'єм 11 пролітають мікрочастинки і генерують імпульси мікророзсіювання. Пряме не розсіяне лазерне випромінювання подавляється або перекривається фільтром-ножем 12 (точкова діафрагма), щоб прямий лазерний промінь не потрапив на фотоприймач 5, 6 – підсилювач і фільтр фото сигналів, поєднаний з блоком керування. Його вихід керує двигуном 3 за допомогою керуючої електронної системи 4 і цей двигун діє на шприц (дозатор) 13. Об'єм проби, яка аналізується, $20-500 \text{ мм}^3$, при витратах буферної рідини $1 \text{ см}^3/\text{с}$. Кювета з плоскими вікнами 2 дозволяє зменшити паразитну, шкідливу рефракцію від скла. Діаметр частинок, що вимірюються $0.5-100 \text{ мкм}$. За допомогою багатоканального аналізатора амплітуди імпульсів 7, а також ПО з пристроєм обробки і реєстрації інформації 8 досягається швидкість підрахунків 10 сек. Похибка вимірювання полістирольного латексу (діаметр 4.1 мкм) 7-10%.

Недоліки схеми:

- 1) Залежність результату вимірювання від показника заломлення біооб'єктів (особливо коли радіус сумірний з λ).
- 2) Необхідна попередня калібровка приладу.

5.7. Особливості багатопараметричної цитометрії

За допомогою цитометрії і мікрофлорометрії одночасно вимірюють декілька сигналів від окремої біоклітини:

1. Інтенсивність розсіювання «вперед» і під кутом 90°
2. Повна інтенсивність ортогонального розсіювання
3. Деполяризована компонента струму розсіювання перпендикулярно I_{\perp}
4. Інтенсивність розсіювання в кутах $1 - 2.6^\circ$, $3 - 11^\circ$
5. Інтенсивність бокового розсіювання на двох довжинах хвилі.

Такі параметри дозволяють диференціювати форменні елементи крові за їх морфологією – еозинофільні гранулоцити можна відділити від нейтрофільних гранулоцитів.

Флуорометричні аналізатори

Базуються на властивостях речовини (біоречовини) випромінювати світло під дією променевої енергії. Залежно від оптичної густини біоречовини використовуються такі схеми збудження і вимірювання флуоресценції:

1. У повздовжньому світловому потоці
2. З перпендикулярним напрямком вимірювання інтенсивності випромінювання флуоресценції
3. Поверхневе випромінювання флуоресценції

Оптична схема флуорометра з перпендикулярним вимірюванням випромінювання

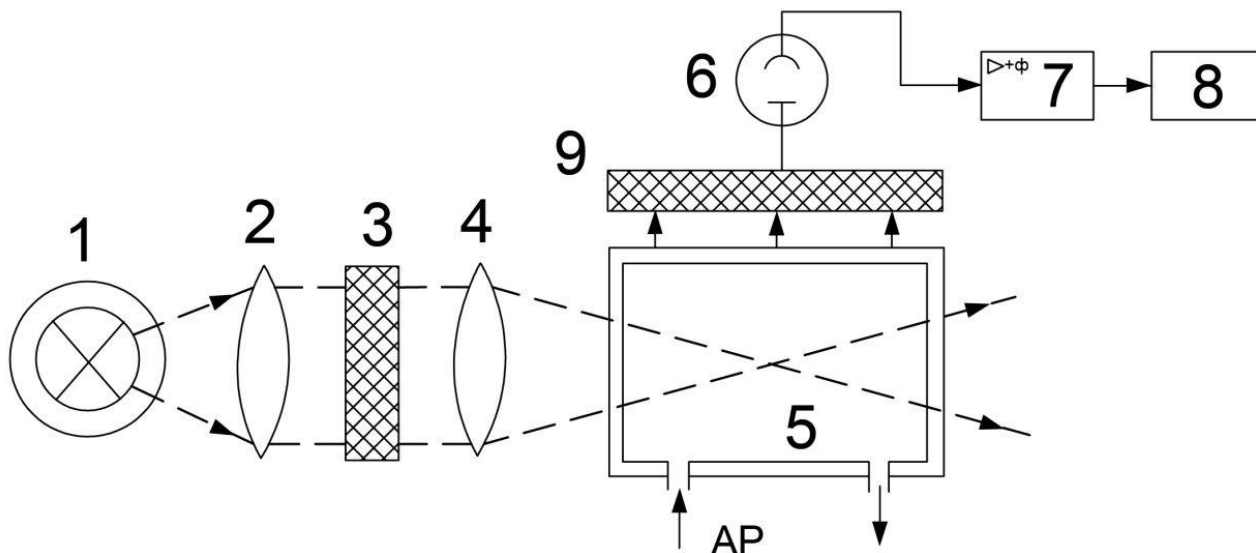


Рис.54. Оптична схема флуорометра з перпендикулярний вимірюванням випромінювання

5 – проточна оптична камера

3, 9 – оптичні фільтри (фільтр 3 виділяє довжину хвилі, на якій спостерігається збудження молекул аналізованих компонентів; фільтр 9 налаштований на довжину хвилі, яку випромінюють збуджені молекули)

1 – джерело випромінювання УФ

Лінзи 2, 4 фокусують випромінювання. При проходженні аналізованої речовини через проточну камеру 5 відбувається збудження молекул речовини під дією УФ випромінювання і цей оптичний сигнал сприймається фотоприймачем 6 і після підсилювача з фільтром 7 сигнал направляєтся на апаратуру обробки і реєстрації 8.

5.8. Поляриметричні аналізатори

Принцип дії поляриметричних аналізаторів заснований на взаємодії поляризованого електромагнітного випромінювання (лазеру) з оптичними активними речовинами. При цій взаємодії відбувається ефект обертання площини поляризації електромагнітного випромінювання. Вимірювання кута обертання площини поляризації електромагнітного випромінювання здійснюється компенсаційними методами.

Оптична поляриметричного аналізатора біомікрочастинок

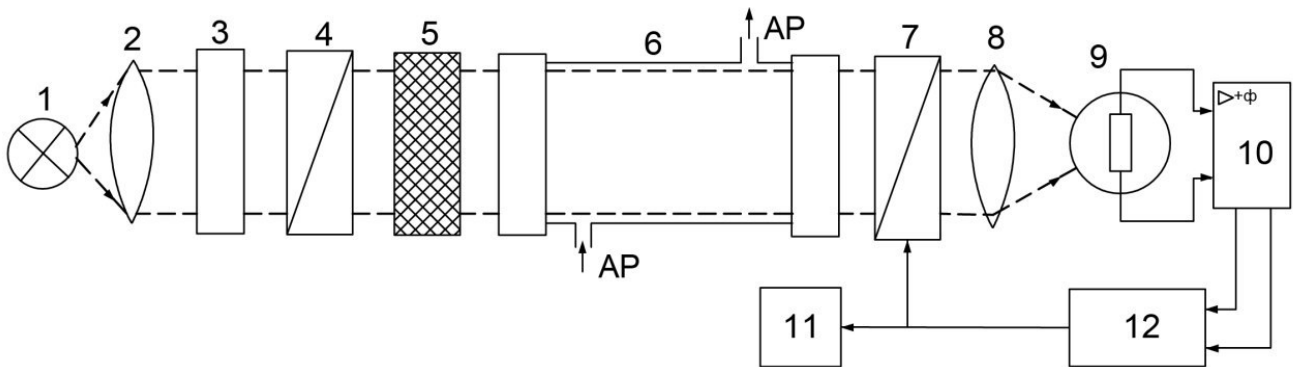


Рис.55. Оптична поляриметричного аналізатора біомікрочастинок

Електромагнітне випромінювання від джерела 1 після лінзи 2 направляєється на інтерференційний фільтр 3 (як дзеркало резонатора лазера), а потім направляєється на поляризатор 4. Модулятор 5 забезпечує однакове відхилення з деякою частотою f азимуту поляризації від середнього положення. Поляризоване світло проходить через проточну камеру 6, надходить на аналізатор 7 (він встановлений під кутом 90° до азимуту поляризації). В результаті поляризоване світло фокусується лінзою 8, направляєється на фотоприймач (фоторезистор) 9 і перетворюється в електричний сигнал. Він підсилюється і фільтрується 10 і сигнал розузгодження надходить на електромеханічний перетворювач 12 пов'язаний з аналізатором 7. Залежно від фази розузгодження він обертає аналізатор 7 навколо оптичної осі до тих пір, поки на фотоприймач 9 не надійде випромінювання з подвоєною частотою f . Реєструючи кут повороту аналізатора 7 за допомогою відлікового пристрою 11 оцінюють концентрацію аналізованої речовини.

Такий метод використовується також у волоконно оптичних давачах вимірювання сили струму, магнітного поля за допомогою вимірювання обертання площини поляризації лазерного випромінювання.

5.9. Турбідиметрія

Ці методи основані на контролі інтенсивності світла, яке пройшло мутну систему. Важливим є також метод спектра мутності, за яким знаходять залежність мутності від довжини хвилі і ця залежність на основі теорії Мі за допомогою таблиць допомагає розрахувати розмір розсіючих біочастинок монодисперсної

системи, а для полідисперсної системи середній розмір частинок і їх концентрацію. Поширеними є також різні варіанти осаджувального (при додаванні осаджувача) та температурного (при зміні температури)

Оптична схема турбідиметричного аналізатора для вимірювання мутності рідини або задимленості газових потоків

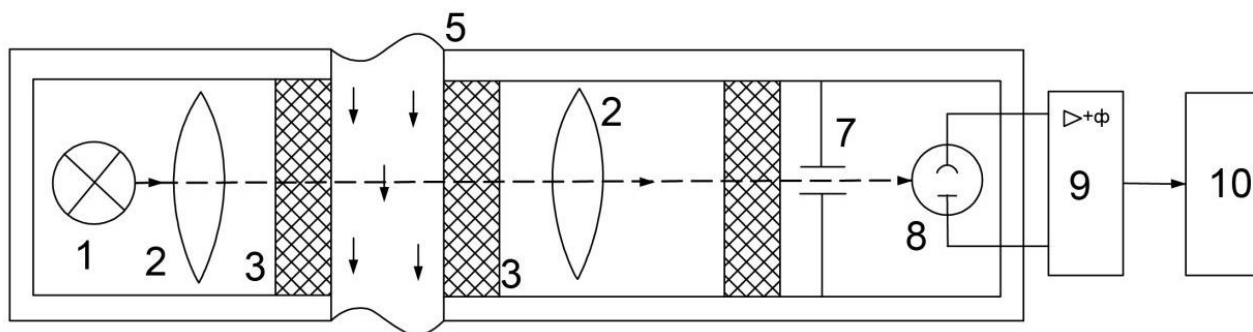


Рис.56. Оптична схема турбідиметричного аналізатора для вимірювання мутності рідини або задимленості газових потоків

- 1 – джерело випромінювання
- 2 – лінзи
- 3 – оптичний узгоджувач
- 4 – корпус оптичної системи
- 5 – аналізована речовина
- 6 – світлофільтр
- 7 – діафрагма
- 8 – фотоприймач
- 9 – підсилювач і фільтр
- 10 – апаратура обробки і реєстрації

Всі розглянуті оптичні аналізатори мають **невеликі певні обмеження при дослідженні дисперсних оптичних середовищ:**

1. Неможливість урахування ефекту багаторазового розсіювання
2. Необхідність багатократного розведення проби перед вимірюванням
3. Складність і тривалість процесу пробопідготовки, що може приводити незворотних змін (перетворення проби)
4. Тривалість і складність контрольно-вимірювального процесу

5. Для проби береться невелика кількість дисперсного матеріалу, але це не завжди співпадає з динамічними змінами біодисперсного середовища

6. Література

1. Introduction to biomedical engineering /[editors] John D. Enderle, Susan M. Blanchard, Joseph D. Bronzino. – Academic press, 2000. – 1062 p.
2. Medical Devices and Human Engineering [The Biomedical Engineering Handbook. Fourth Edition] /[editors] Joseph D. Bronzino, Donald R. Peterson. – CRC press, 2015. – 858 p.
3. Медицинские приборы. Разработка и применение / Джон Г. Вебстер, Джон В. Кларк мл., Майкл Р. Ньюман, Валтер Х. Олсон и др. – М.: Медицинская книга, 2004. – 720 с.
4. Лазеры в клинической медицине. Ред. С.Д. Плетнев. 2 изд., перераб. и доп. М.: Медицина, 1996. – 432 с.
5. Метрологія медичної та біологічної апаратури: Навч. посібник/ Яненко О.П., Житомир: ЖІТІ, 1998. –158с.
6. Системи відображення в медицині: Навч. посібник / В.Г. Абакумов, О.І. Рибін та інш. - К.: ВЕК+, 1999. –317с.
7. Проценко Г. И. Основы обеспечения качества клинических лабораторных исследований (Учебное пособие). – Харьков, 2009. – 119 с.
8. Ахутин В.М. Биотехнические системы: теория и проектирование. - Л.,1981. –220 с.
9. Кац А.М. Руководство по приборам и оборудованию для медико-биологических исследований.- Л.: «Медицина», 1976. – 256 с.
10. Справочник по лазерной технике. М.: Энергоатомиздат, 1991. – 544 с.
11. Практикум по физико-химическим методам в биологии. Практическое пособие. М.; Издательство МГУ, 1981. – 240 с.
12. Практикум по физико-химическим методам анализа. Под. ред. О.М.Петрухина. М.: Химия, 1987. –248 с.

13. Биопфизика полей и излучение и биоинформатика. ЧІ, ІІ. Физико-биологические основы информационных процессов в живом вещества/ Е.И. Нефедоров, А.А. Протопопов, А.А. Хадпрцев. Под ред. А.А. Яшина. Тула: ТулГУ, 1998. – 333с.

14. Збірник – Нормативні, директивні, правові документи – клінічна лабораторна діагностика. У 2х частинах. – Київ: МВЦ – Медінформ, 2003.