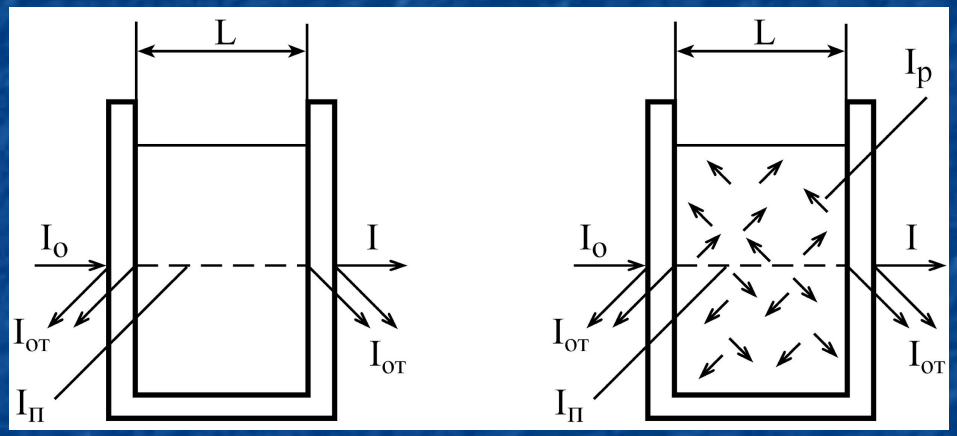
Диапазоны оптической области электромагнитных излучений

1. Крайний УФ диапазон	1–10 нм
2. Дальнее УФ излучение	10– 200 нм
3. Ближнее УФ излучение	200– 400 нм
4. Видимый свет	400–780 нм
5. Ближний ИК диапазон	780–2,5*103 нм
6. Среднее ИК излучение	2,5–50 мкм
7. Дальнее ИК излучение	50–1000 мкм

Классификация оптических методов исследования

- *Классификация по спектральным характеристикам оптического излучения*:
- а) Фотометрические
- б) Спектрофотометрические
- 2. *Классификация по виду взаимодействия вещества с излучением*:
- а) Абсорбционная фотометрия
- б) Нефелометрия
- в) Турбидиметрия
- г) Рефлектометрия
- д) Эмиссионная фотометрия
- е) Люминисцентная фотометрия
- 3. *Классификация методов по объектам исследования*:
- а) Методы исследования биопробы и жидкости (аналитические)
- б) Методы, предназначенные для исследования организма.

Явления, возникающие при прохождении света через объекты



прозрачный раствор

дисперсная среда

I0 – интенсивность падающего светового потока;

Iот – интенсивность светового потока, отраженной от стенки кюветы;

Iп – интенсивность светового потока, поглощенной окрашенным раствором;

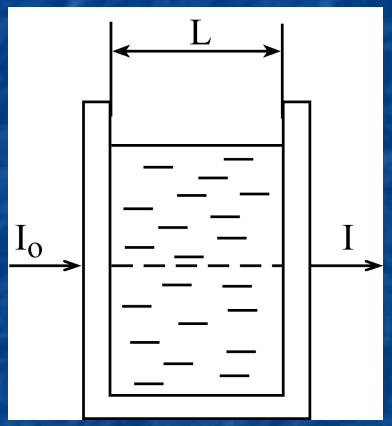
Iр – интенсивность светового потока, рассеянного дисперсной средой;

I – интенсивность светового потока, прошедшего через слой исследуемого вещества.

I0 =Iот + Iп + I – для раствора,

I0 =Iот + Iп + Iр + I – для дисперсной среды

Прохождение светового потока через кювету с раствором



$T = I / I_0$ – коэффициент пропускания

$D = \lg(1/T) = \lg(I_o/I)$ – оптическая плотность

$D_\lambda = a_\lambda CL$, или

$\lg(I_0/I) = \varepsilon_\lambda L$, или

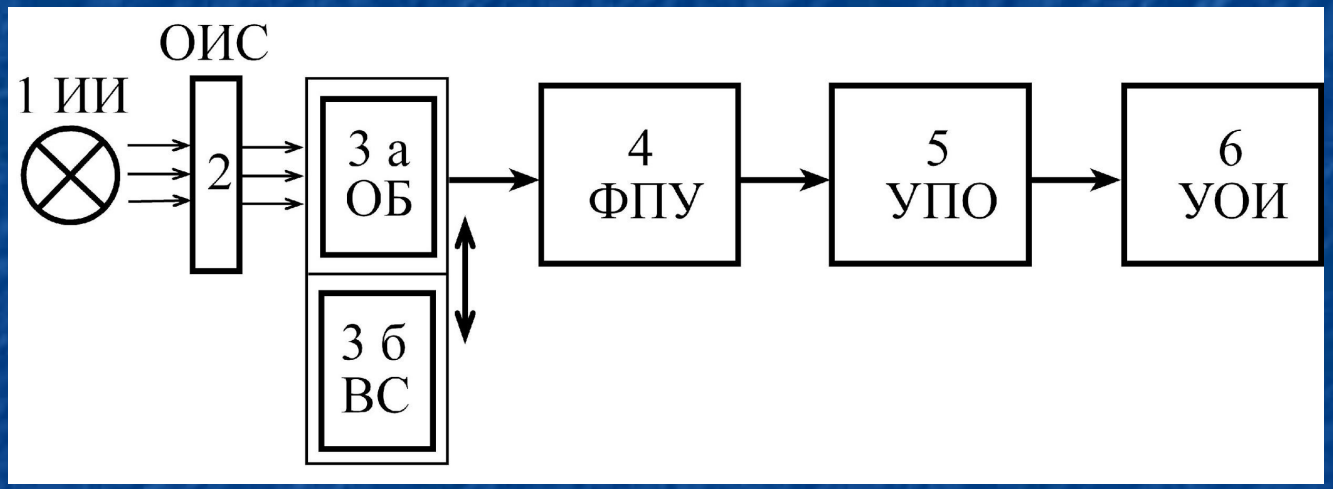
$I = I_0 \exp(-\varepsilon_\lambda L)$.

– закон Бугера – Ламберта – Бера

$$\lg(I_0/I) = \sum_{i=1}^{n} \lg(I_0/I_i) = \sum_{i=1}^{n} D_{\lambda i}$$

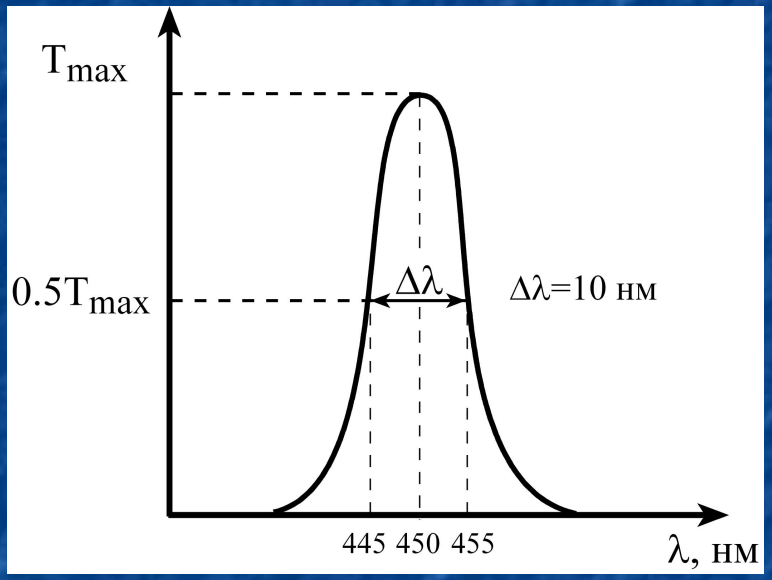
– Нахождение оптической плотности р-ра для нескольких веществ

Схема одноканального абсорбционного фотоколориметра



1 – источник излучения 2 – оптическая избирательная система, 3а – исследуемое вещество, 3б – вещество сравнения, 4 – фотоприемное устройство, 5 – устройство преобразования информации, 6 – устройство регистрации и отображения информации.

Определение ширины полосы пропускания фильтра



Структура двулучевого одноволнового фотометра

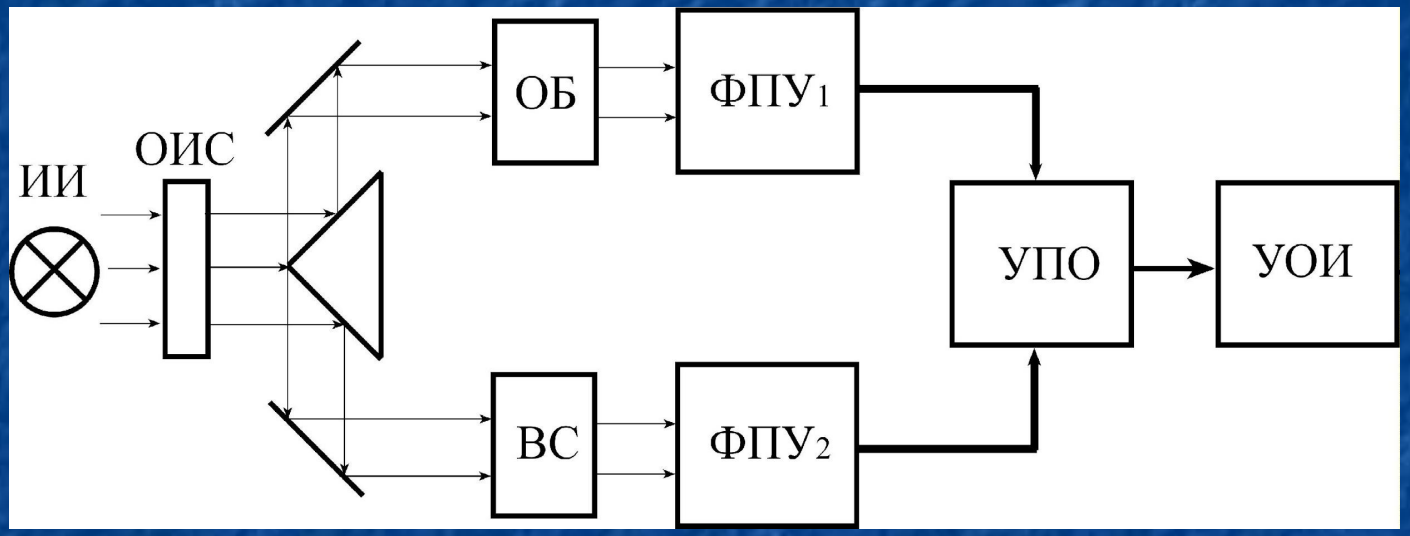
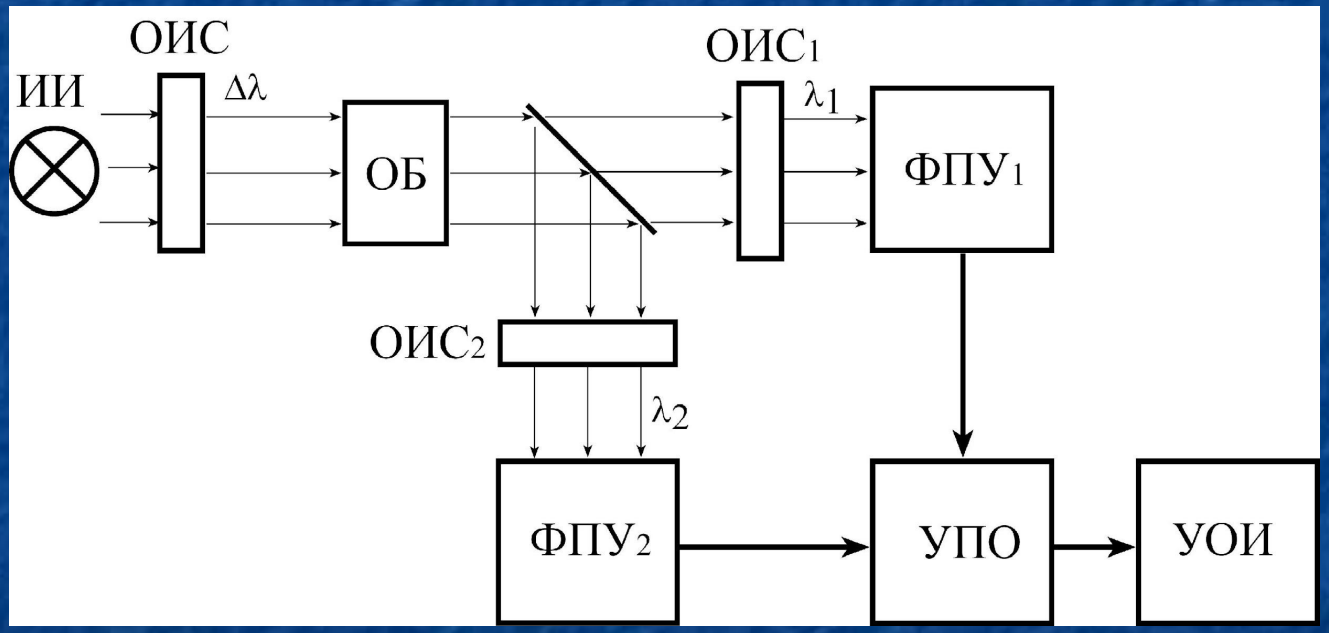
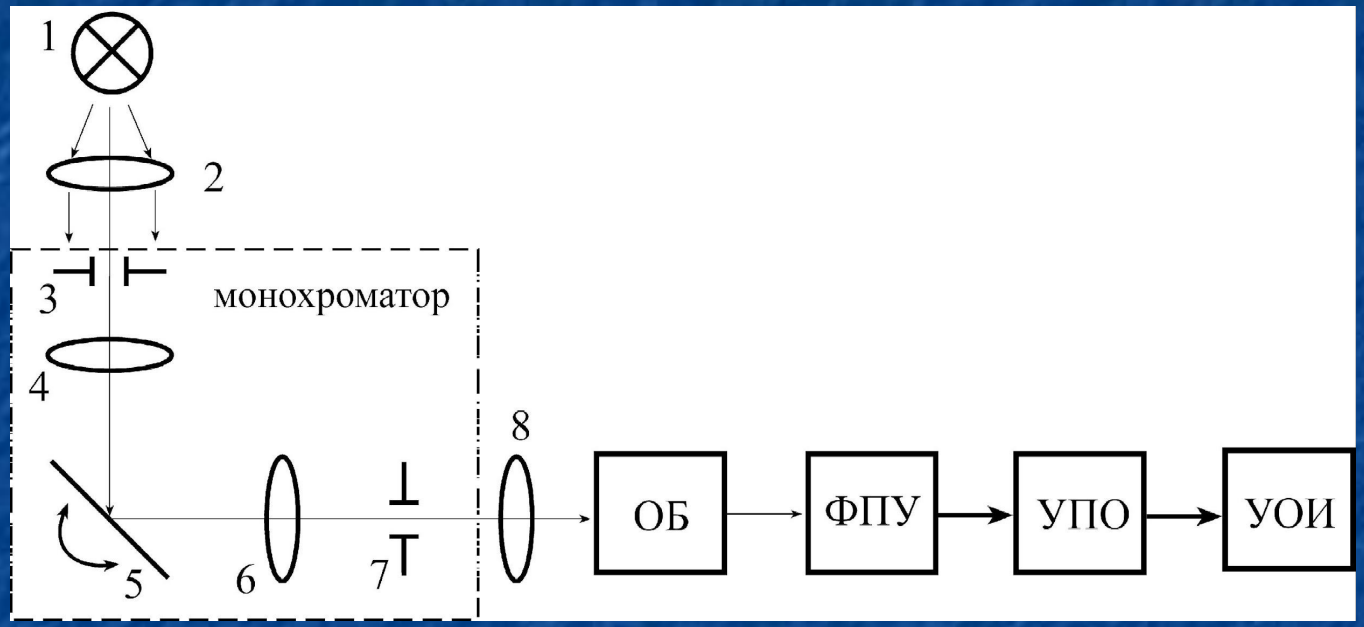


Схема двухволнового одноканального фотометра



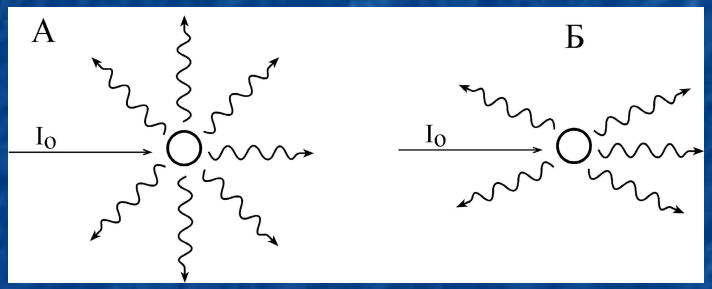
Обобщенная структурная схема одноканального спектрофотометра

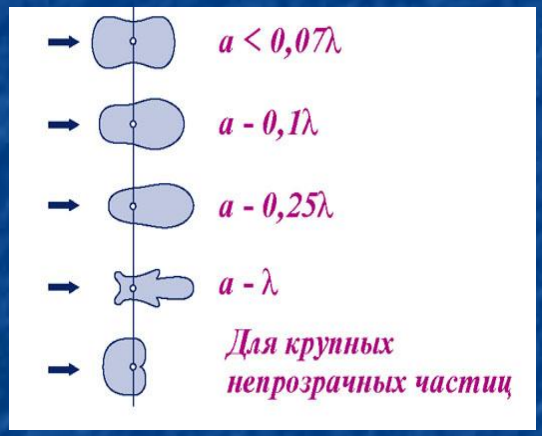


1 – источник световой энергии, 2 – оптическая система, направляющая поток энергии на входную щель; 3 – входная щель; 4 – оптическая система, формирующая параллельный поток световой энергии; 5 – диспергирующий элемент (призма или дифракционная решетка); 6 – оптическая система, направляющая поток энергии на выходную щель; 7 – выходная щель; 8 – оптическая система, формирующая поток энергии, проходящий через кювету.

Рассеяние света при различных соотношениях размера частиц а и длины волны электромагнитного излучения λ

Рэлеевское рассеяние Рассеяние Ми

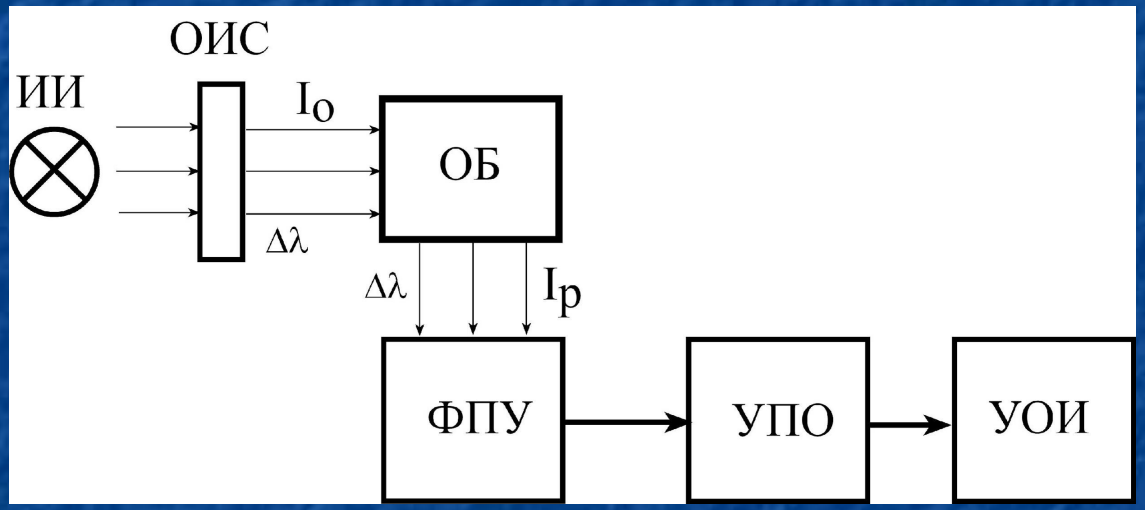




Индикатрисы рассеяния света для частиц разных размеров

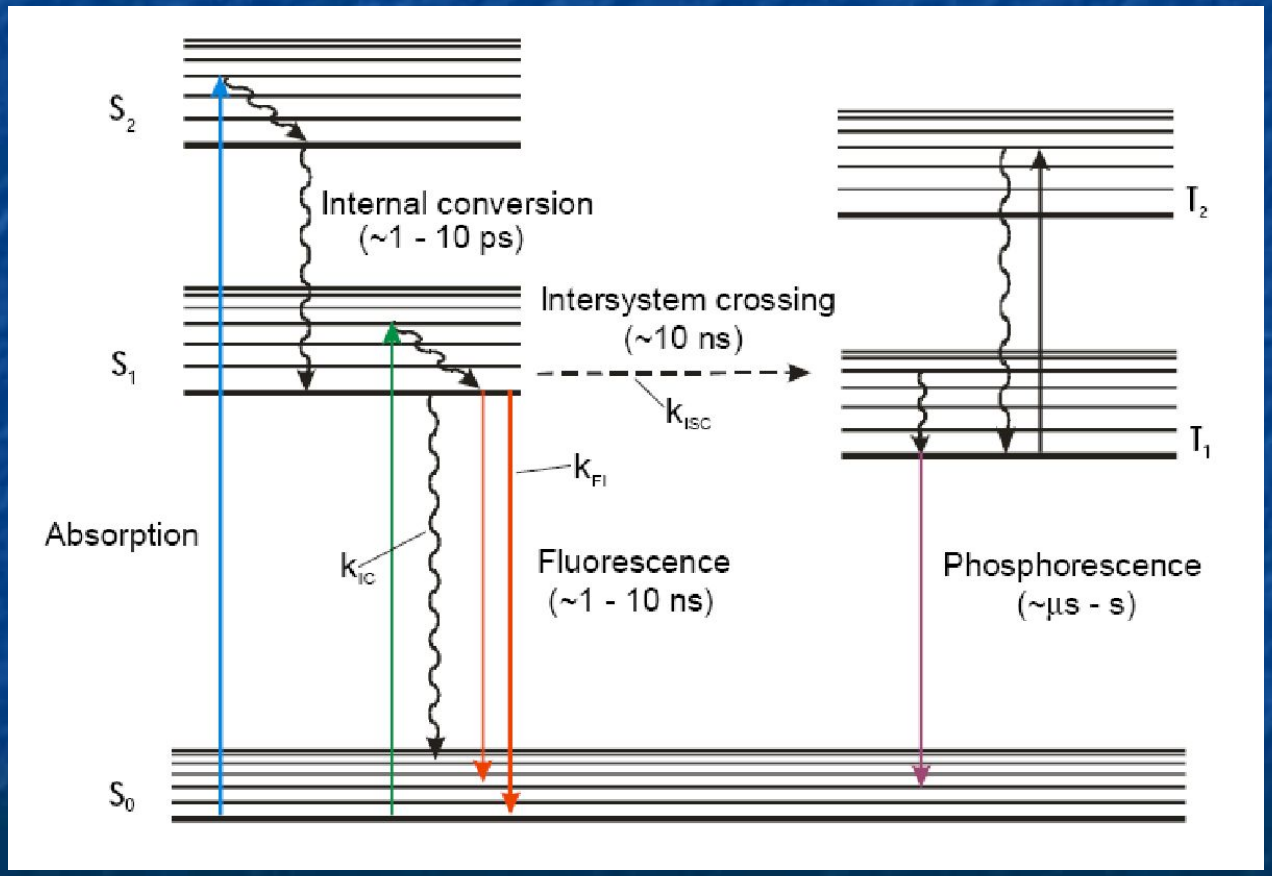
a<0.12 λ a=2 λ

Схема нефелометра

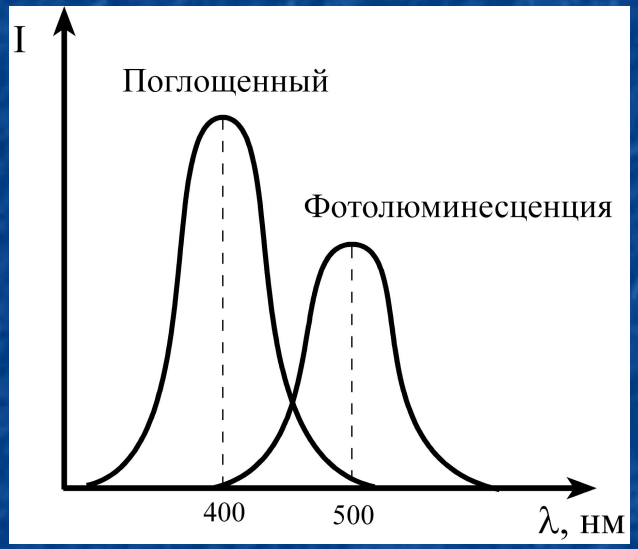


Io – падающий световой поток;
Ip – световой поток рассеянный средой

Схема энергетических переходов в молекуле при возникновении люминесценции



Явление люминесценции – основные закономерности



Спектры поглощенного излучения и возбужденного свечения (з-н Стокса)

Определение концентрации вещества по люминесценции

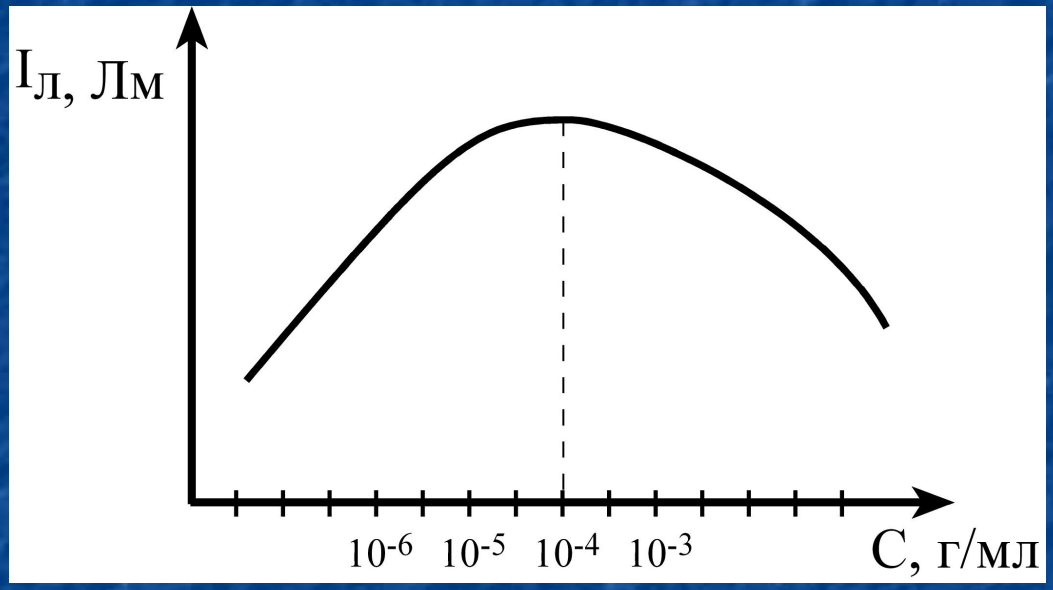
$E = m\lambda\, Cl,$

$C = E/m\lambda l$

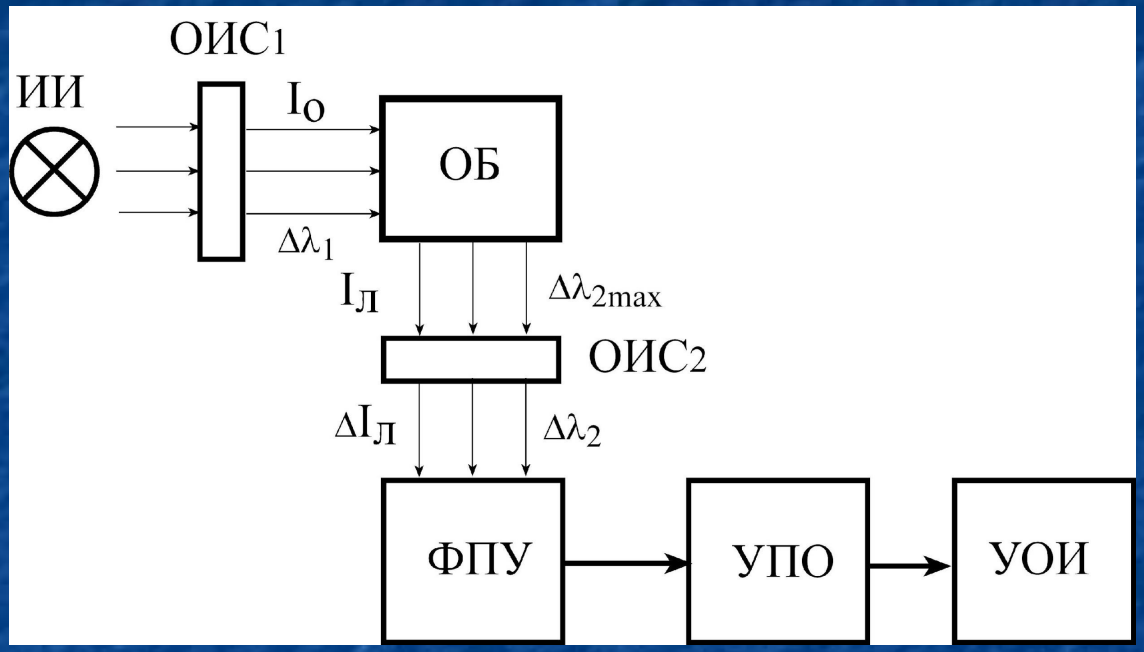
Определение энергетического выхода люминесценции

$$\frac{I_л}{I_п} = E = \left(\frac{I_л}{I_0}\right)\left(1-\tau_л\right)$$

Зависимость интенсивности флуоресценции от концентрации флюоресцирующего вещества

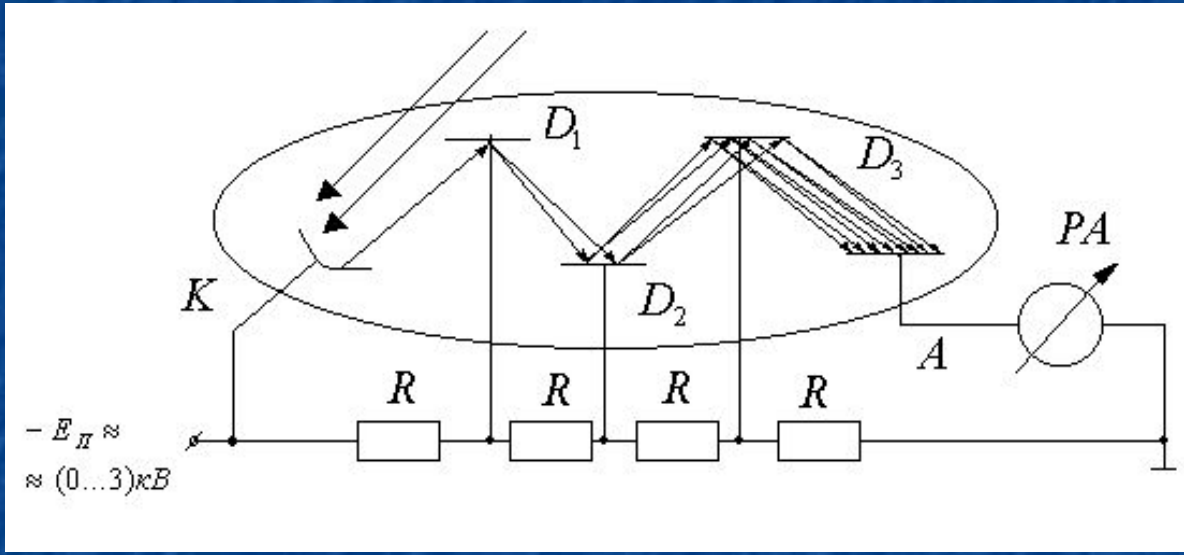


Структура флуориметра



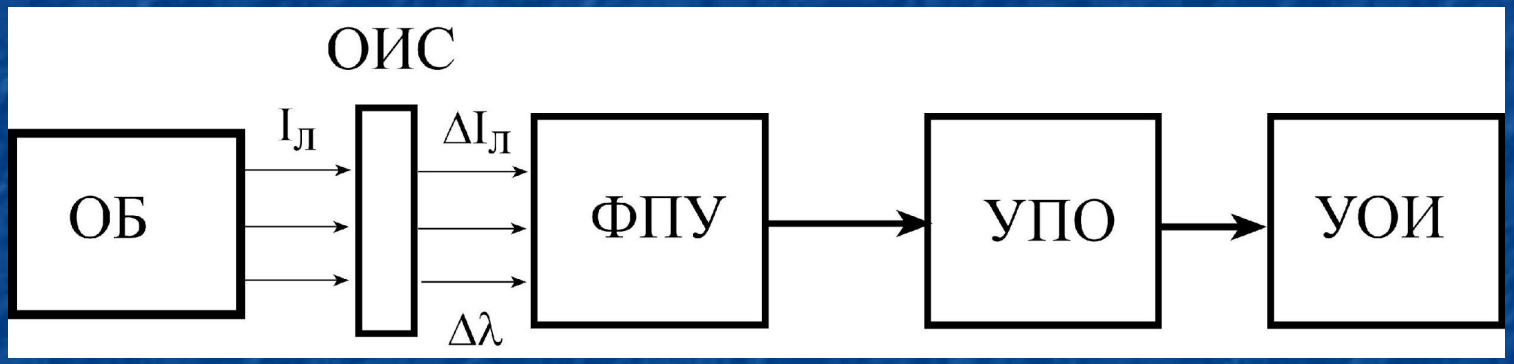
ОИС1 – полосовой фильтр, пропускающий световой поток для возбуждения в полосе длин волн Δλ□; ОИС1 – полосовой фильтр, пропускающий излученный световой поток в полосе длин волн Δλ2; Io – падающий поток световой (возбуждающий) в полосе длин волн Δλ□ для исследуемого раствора; Iл –, излученный световой поток с максимумом излучения λ2; ΔIи – световой поток в полосе длин волн Δλ2

Схема подключения фотоэлектронного умножителя



К – фотокатод, D1…D3 – диноды, PA – микроамперметр, A – анод, R – делитель напряжения

Схема хемилюминометра



ОИС – полосовой фильтр, пропускающий излученный световой поток в полосе длин волн Δλ; Iл – световой поток, излучаемый исследуемой средой; ΔIл – световой поток в полосе длин волн Δλ.

Поляриметрия

Определение концентрации оптически активного вещества

$$C = \frac{\alpha}{[\alpha]_D^{20} \cdot l}$$

$$[\alpha]_0^{20}$$

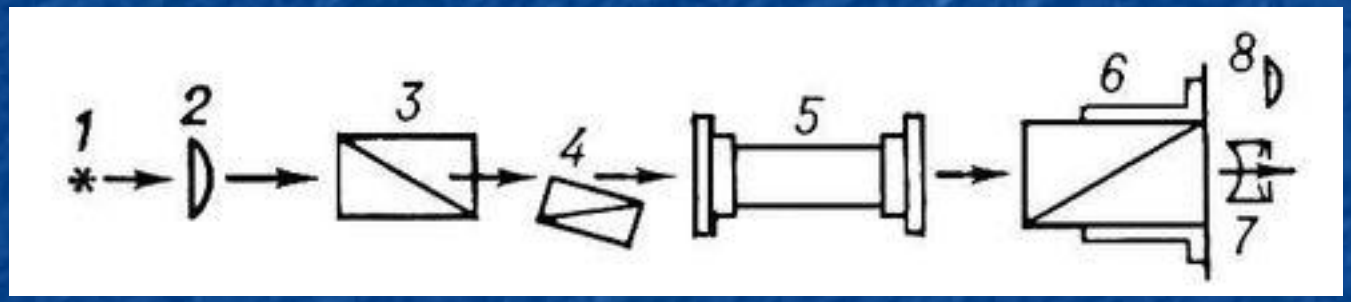
C– концентрации оптически активного вещества (г/см^3)
l – длины (дм) кюветы

– удельное вращение – угол вращения при концентрации вещества 1 г/мл, длине трубки 10 см, температуре 20^0 С и желтом свете (D линия Na) – λ=589,3 нм.
α – экспериментально измеренный угол вращения

Примеры оптических характеристик некоторых веществ

Раствор	$[\alpha]_0^{20} \frac{град \cdot см^3}{дм \cdot г}$	Направление вращения плоскости поляризации
Тростниковый сахар	+66,44	Правое
Виноградный сахар	+52,5	Правое
Фруктовый сахар	-91,9	Левое

Схема полутеневого поляриметра



1 – источник света; 2 – конденсор; 3–4 – полутеневой поляризатор; 5 – трубка с измеряемым оптически-активным веществом; 6 – анализатор с отсчётным устройством; 7 – зрительная труба; 8 – окуляр отсчётного устройства (например, микроскопа-микрометра).

Фотооксигемометрия

Определение сатурации крови кислородом

$$SpO_2 = \frac{[HbO_2]}{[HbR]+[HbO_2]} * 100\%$$

или

$$SpO_2 = 1 - \frac{[HbR]}{[HbR]-[HbO_2]}$$

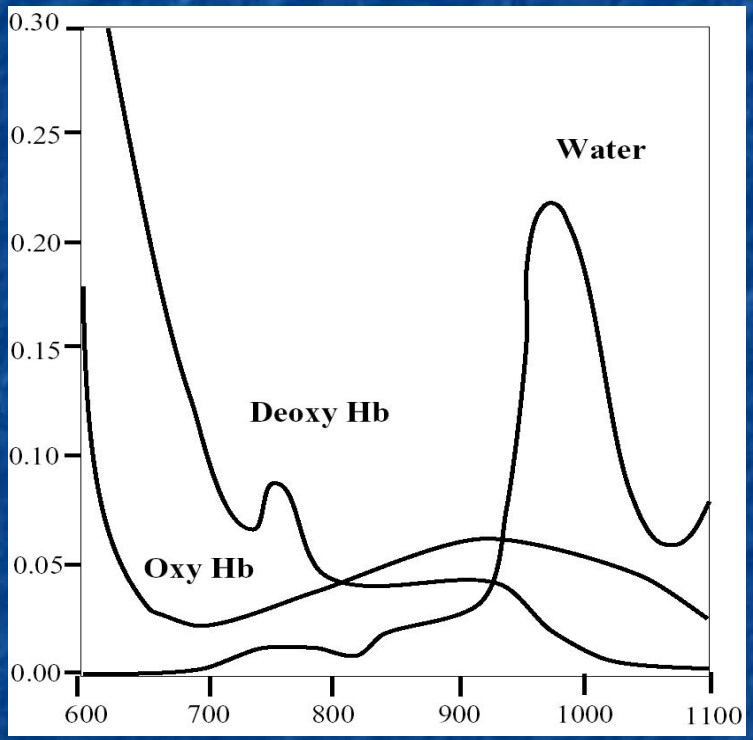
Практическое определение *SpO*2 при фотооксигемометрии

$$SpO_2 = A - B \cdot \frac{D(660нм)}{D(810нм)}$$

D(660), D(810) – величины оптической плотности крови измеренная с использованием света с λ 660 и 810 нм

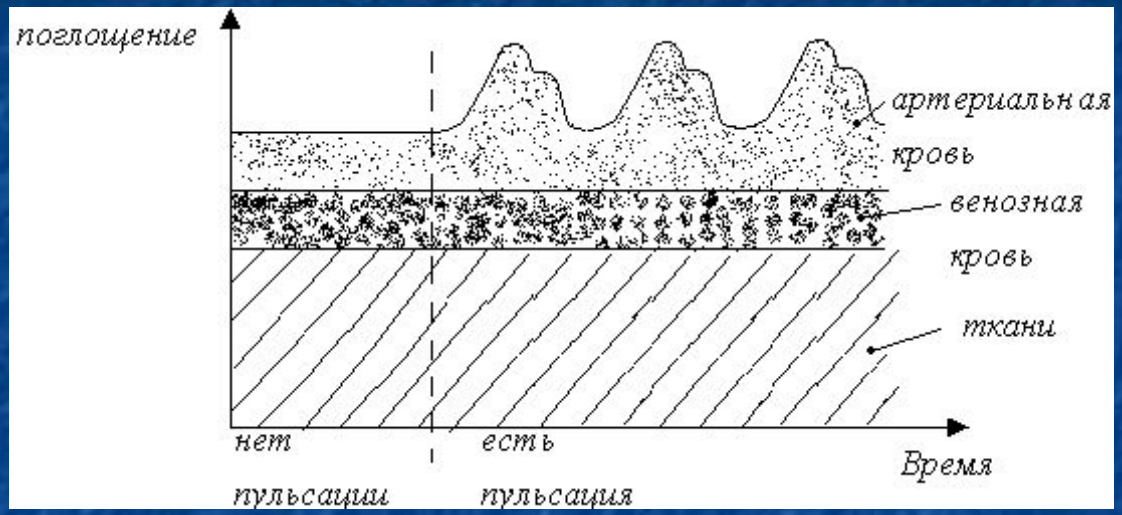
A и **B** опытные константы.

Спектры поглощения различных форм гемоглобина:



Oxy Hb оксигемоглобин
Deoxy Hb – восстановленного гемоглобин

Пульсоксигемометрия



Изменение величины поглощения при пропускании света через биоткань с кровеносными сосудами.

Показатель оксигенации крови

$$R = \left(\frac{A\approx}{A=}\right)^{КР} \Bigg/ \left(\frac{A\approx}{A=}\right)^{ИК}$$

A≈ и A= – пульсовые и постоянные составляющие поглощения по красному и инфракрасному каналу

Структурная схема пульсоксиметра