

Л.Ф. ДОБРО, Н.М. БОГАТОВ

БИОФИЗИКА

ЛАБОРАТОРНЫЙ ПРАКТИКУМ

Часть 1



Краснодар 2009

Министерство образования и науки
Российской Федерации
КУБАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

Л. Ф. ДОБРО, Н. М. БОГАТОВ

БИОФИЗИКА

Лабораторный практикум
Часть 1

Краснодар 2009

УДК 577 (075.8)
ББК 28.071 .Я 73
Д 56

Рецензенты:

Кандидат биологических наук, профессор *Г.А. Плутахин*
Кандидат технических наук, доцент *Ю.Б. Захаров*

Добро Л. Ф., Богатов Н. М.

Д56 Биофизика: лабораторный практикум / Л. Ф. Добро,
Н. М. Богатов. Краснодар: Кубан. гос. ун-т, 2009. 98 с.

Дается описание 8 лабораторных работ по курсу «Биофизика». Приведены теоретические сведения, методические указания по выполнению работ, контрольные вопросы и список рекомендуемой литературы.

Адресуется студентам физико-технического факультета.

УДК 577 (075.8)
ББК 28.071 .Я 73

©Кубанский государственный
университет, 2009

©Добро Л. Ф., Богатов Н. М.,
2009

Предисловие

Лабораторный практикум по курсу «Биофизика» органически связан со многими областями современного естествознания и служит научной основой решения многих прикладных технических задач.

Формирование навыков выполнения физического эксперимента - необходимый элемент физико-технического образования. Анализ экспериментальных данных позволяет убедиться в соответствии выводов теории результатам опытов.

В ходе исследования устанавливаются количественные зависимости между различными явлениями, которые определяются в результате измерений. Вследствие различных причин никакое измерение не может быть выполнено абсолютно точно, поэтому следует не только определять саму величину, но и оценивать погрешность измерений.

Описания лабораторных работ настоящего практикума построены по общей схеме и включают необходимые сведения о цели работы, используемом оборудовании, порядке выполнения и форме представления результатов измерений. При подготовке к лабораторным работам необходимо также пользоваться конспектами лекций, учебной и специальной литературой. Так, прямые ответы на некоторые контрольные вопросы по теме изучаемых физических явлений не содержатся в тексте работ.

После выполнения лабораторной работы студент обязан представить *на следующем лабораторном занятии* оформленный отчет и сдать работу. При сдаче лабораторной работы необходимо владеть теоретическим материалом, знать ответы на контрольные вопросы, уметь комментировать полученные результаты и погрешности измерений, быть готовым продемонстрировать на лабораторной установке любые этапы эксперимента. Требования по оформлению работ в целом стандартны. Все экспериментальные результаты, должны сопровождаться оценкой погрешности измерений независимо от того, есть ли об этом специальные указания в работе или нет.

Лабораторная работа 1

ОПРЕДЕЛЕНИЕ РАЗМЕРОВ ЭРИТРОЦИТОВ С ПОМОЩЬЮ He-Ne ЛАЗЕРА

Приборы и принадлежности: источник излучения He-Ne лазер, матовый экран, дифракционная решетка, линейка, мазок крови.

Цель работы: изучить принцип работы лазера и его свойства. Рассчитать длину волны гелий-неонового лазера, с помощью явления дифракции света на дифракционной решетке. Определить размеры эритроцита в мазке крови при помощи явления дифракции.

Краткая теория

Устройство гелий-неонового лазера

Лазером называется устройство, генерирующее когерентные электромагнитные волны за счет вынужденного испускания света активной средой, находящейся в резонаторе.

Принципиальная схема лазера (рис. 1.1): активный элемент, помещенный между двумя взаимно параллельными зеркалами, и система накачки. Зеркала образуют так называемый оптический резонатор; одно из зеркал делают слегка прозрачным, сквозь это зеркало из резонатора выходит лазерный луч. Чтобы началась генерация лазерного излучения, необходимо «накачать» активный элемент энергией от некоторого источника (его называют устройством накачки).

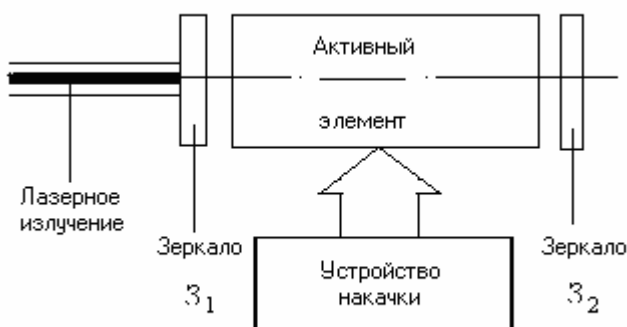


Рис. 1.1. Схема работы лазера

В гелий-неоновом лазере активным элементом служит смесь гелия и неона, заключенная в стеклянной трубке под низким давлением (рис.1.2). Энергия накачки подаётся от двух электродов с напряжением около 1000В. Резонатор такого лазера обычно состоит из двух зеркал - полностью непрозрачного с одной стороны трубки и второго, пропускающего через себя около 1% падающего излучения на выходной стороне устройства.

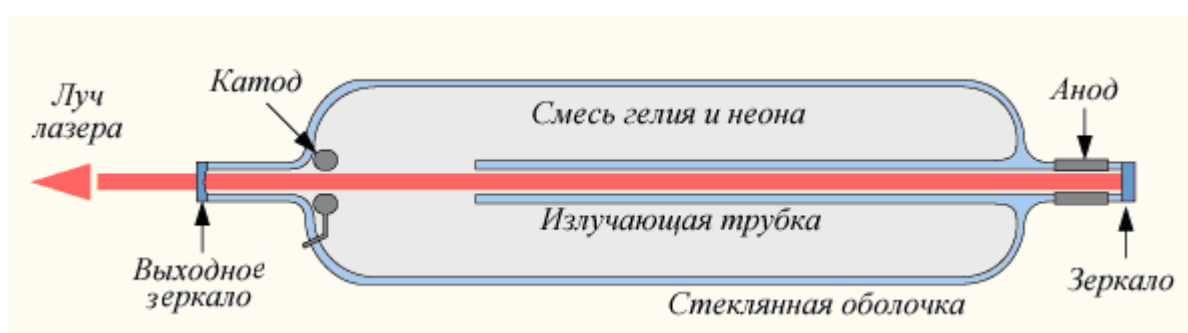


Рис. 1.2. Схема гелий-неонового лазера

Устройство накачки вводит энергию в активный элемент (А) (рис. 1.3) - этот путь показан стрелками, например, с помощью газового разряда или импульса света.

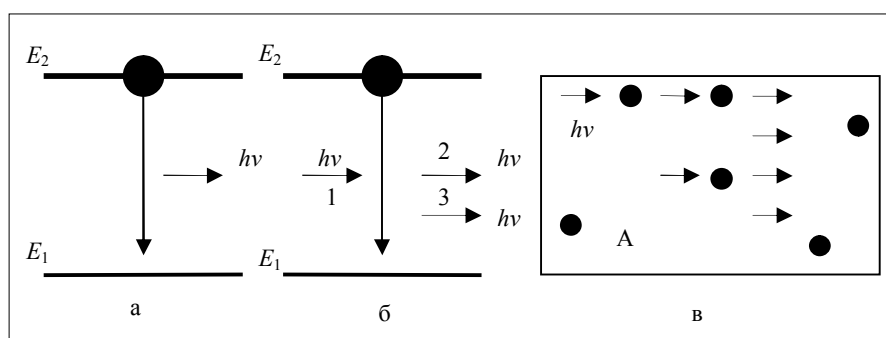


Рис. 1.3. Схема спонтанного (самопроизвольного) (а) и вынужденного (индуцированного) излучения (б) в двухуровневой системе: E_2 - энергия верхнего уровня, E_1 - нижнего, соотношение $h\nu = E_2 - E_1$ выполняется для всех квантов, изображенных на рисунке: а -

спонтанное излучение кванта атомом, находящимся на верхнем энергетическом уровне (местонахождение электрона показано кружком); б - индуцированное излучение фотоном (1), действующим на возбужденный атом; 2 - тот же фотон после взаимодействия с атомом; 3 - фотон, излученный при электронном переходе; в - формирование «лавины» фотонов в активном элементе А в результате индуцированного излучения возбужденными атомами

Колебательной системой являются электронные переходы между энергетическими уровнями атомов, ионов, молекул или полупроводников, из которых состоит активный элемент. Зеркала осуществляют положительную обратную связь.

Для получения излучения активного элемента необходимо перевести некоторое число атомов в возбужденное состояние. Для этой цели можно использовать газовый разряд. Полученное при разряде излучение будет монохроматическим. Однако при этом каждый атом излучает независимо, отдельные акты излучения происходят несогласованно (рис. 1.3а). В результате электромагнитные поля, излучаемые различными точками этого источника, некогерентны, т. е. имеют разные фазы, а излучение от этого источника распространяется во все стороны, как от обычной лампочки накаливания. Таким образом, существование только двух элементов из трех (рис. 1.3а) - источника энергии и колебательной системы - не позволяет получить когерентное излучение.

Для того чтобы получить такое излучение, должен быть задействован регулятор и обратная связь между атомами: излучение одного из них должно влиять на излучение других. При использовании явления индуцированного излучения это стало возможным. Вероятность перехода с верхнего энергетического уровня E_2 на нижний E_1 возрастает, если на атом действует электромагнитное излучение, частота которого равна частоте, которая излучается при спонтанном переходе с верхнего уровня на нижний. Схематически это показано на рис. 1.3б. Если на атом до перехода действует фотон 1, то вследствие электронного перехода появляется новый фотон 3, при этом фотон 1 не изменился (его обозначим фотон 2). Особенность

возникающего индуцированного излучения состоит в том, что фотон 3 имеет ту же частоту, направление поляризации и фазу, что и фотон 1, вызвавший индуцированное излучение. Если в активном элементе А находится много возбужденных атомов, то проход одного фотона способен, в принципе, вызвать «лаvinу» фотонов вследствие индуцированного излучения (рис. 1.3в): при каждом взаимодействии фотона с возбужденным атомом вместо одного фотона возникает два одинаковых фотона.

Для увеличения вероятности излучения фотоны должны многократно проходить через активную среду. Для этого используют два зеркала Z_1 и Z_2 (рис. 1.1). Гелий-неоновый лазер испускает красный свет с длиной волны 632,8 нм. На рис. 1.4 приведена упрощенная схема возбужденных уровней энергии гелия и неона. Атомы гелия служат для преобразования энергии источника энергии в возбуждение атомов. Возбужденные атомы гелия находятся в метастабильном долгоживущем состоянии и при столкновениях передают энергию возбуждения атомам неона (горизонтальная волнистая стрелка). Переход, показанный наклонной прямой стрелкой, с верхнего возбужденного уровня атома неона на промежуточный и дает квант лазерного излучения с длиной волны 632,8 нм. Это излучение является индуцированным, его интенсивность определяют кванты этого излучения, существующие в лазере. Зеркала способствуют тому, что излучение за счет многократного прохода через активную среду осуществляет сильную положительную обратную связь, вызывая появление новых квантов излучения. Последующий переход атома неона в основное состояние (наклонная волнистая стрелка) не дает лазерного излучения.

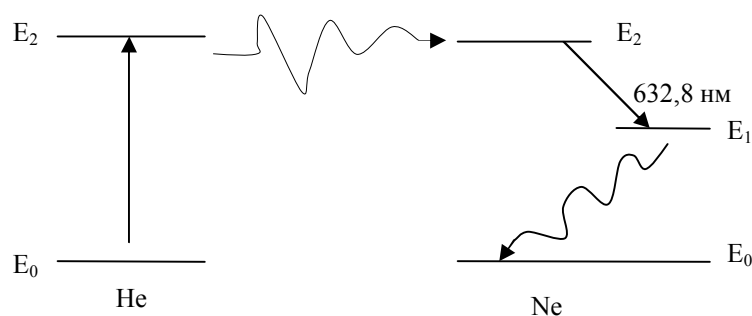


Рис. 1.4. He-Ne лазер, упрощенная схема возбужденных уровней энергии гелия и неона: прямая стрелка вверх - возбуждение гелия газовым разрядом, горизонтальная волнистая стрелка - безизлучательная передача энергии возбуждения от гелия к неону, наклонная стрелка - излучение атомами неона с длиной волны 632,8 нм, волнистая стрелка вниз - дальнейшая релаксация энергии с возбужденного уровня

Поскольку лазерное излучение обладает высокой когерентностью и монохроматичностью, можно считать, что лазер является источником плоской электромагнитной волны. С его помощью можно легко наблюдать явления, обусловленные волновой природой света, в частности, дифракцию. Дифракцией называют огибание волнами препятствий. Для ее наблюдения используется следующая схема (рис. 1.5а). Луч лазера освещает исследуемый объект (дифракционную решетку, мазок крови и т.п.). Дифракционную картину, состоящую из линейки ярких пятен, наблюдают на экране, расположенном перпендикулярно лазерному лучу на расстоянии L от объекта.

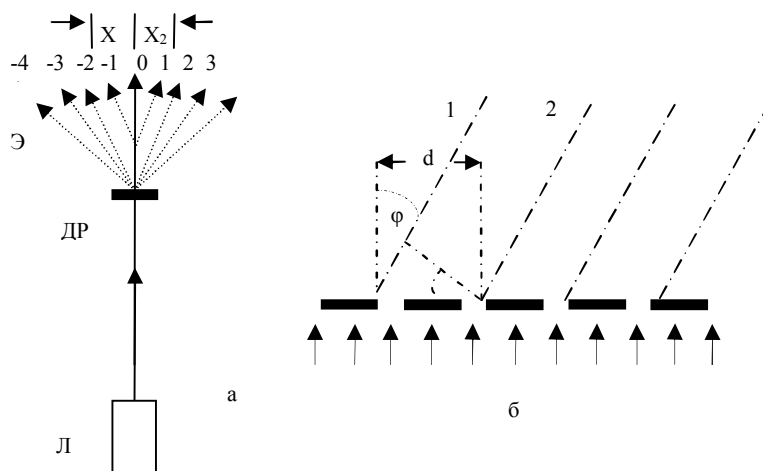


Рис. 1.5. Дифракция света

Схема наблюдений (а): Л - лазер; ДР - дифракционная решетка; Э - экран, стрелки показывают направления распространения дифрагированных лучей; x_1 , x_2 - расстояния от нулевого дифракционного максимума до максимумов 2-го и -2-го порядков соответственно; схема формирования дифракционной картины с помощью дифракционной решетки (б): черное - непрозрачные участки; белое - прозрачные; d - период решетки

Дифракционная решетка представляет собой совокупность одинаковых параллельных непрозрачных полосок (штрихов), разделенных прозрачными полосками. Эта структура повторяется с периодом d - постоянной решетки (это малая величина порядка размеров клеток). При освещении решетки соседние прозрачные полоски становятся вторичными источниками света. Часть света просто проходит сквозь решетку по пути распространения лазерного луча и образует на экране яркий дифракционный максимум нулевого порядка. Излучение, испускаемое полосками почти по всем остальным направлениям, имеет разные сдвиги фазы и, суммируясь на экране, взаимно погашается, давая нуль. Однако по некоторым избранным направлениям излучение, испускаемое соседними полосками, имеет сдвиг фазы кратный 2π , т. е. равный целому числу волн.

Такое излучение складывается на экране, давая яркие пятна, а зависимость интенсивности от расстояния от центра пучка имеет резкие максимумы (рис. 1.6а).

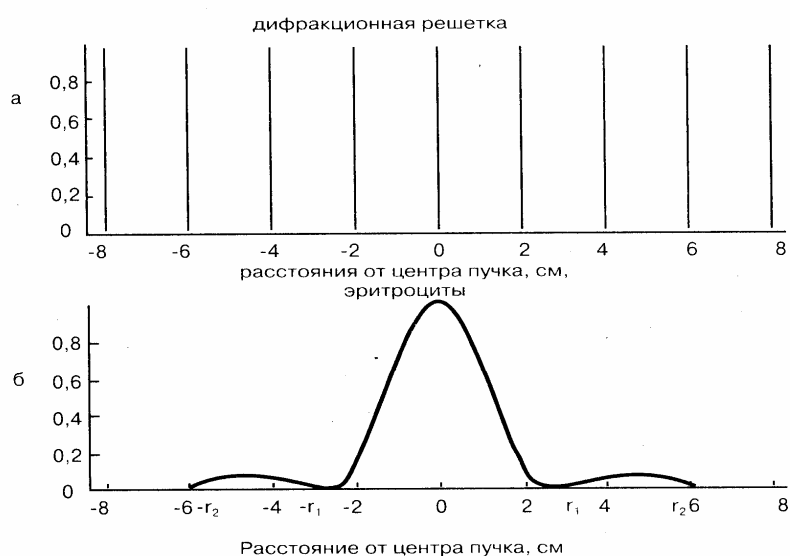


Рис. 1.6. Интенсивность дифракционной картины, создаваемой дифракционной решеткой (а) и мазком эритроцитов (б). Обе картины наблюдаются на экране, расположенном на расстоянии 30 см от решетки

Вывод основного уравнения дифракции очевиден из рис. 1.5. Разность хода лучей 1 и 2, $d \sin \varphi$ должна равняться целому числу длин волн $m\lambda$, где $m=0; \pm 1; \pm 2$ и т.д. - порядок дифракции, а именно: $d \sin \varphi = m\lambda$. Так как угол φ мал, то вместо этого уравнения можно записать:

$$dx_m / l = m \lambda , \quad (1.1)$$

где x_m - расстояние от центрального, нулевого максимума до максимума m -го порядка.

Если на пути световой волны от источника S вместо экрана с отверстием расположен круглый непрозрачный диск диаметра D , то для точки наблюдения на экране P , в зависимости от расстояния L , оказываются открытыми полуволновые зоны, начиная с некоторого m и до бесконечности. Легко показать, что такая постановка задачи приводит к парадоксальному выводу: независимо от значений D , L в центре тени диска должен наблюдаться максимум интенсивности (рис. 1.7).

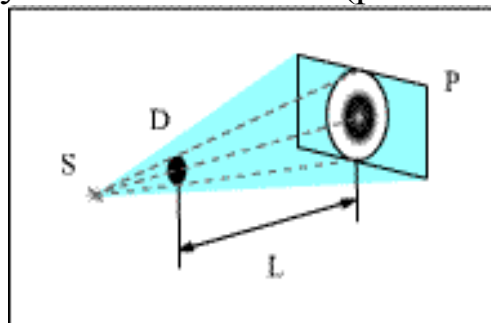


Рис. 1.7. Изображение в центре тени диска максимума интенсивности

Действительно, суммарная амплитуда всех зон, начиная с некоторого номера m , должна начинаться в точке на спирали, соответствующей числу m , и оканчиваться в центре векторной диаграммы. Если вектор Ah определяет суммарную амплитуду, даваемую некоторым отверстием, то вектор Ad есть суммарная амплитуда волны, дифрагированной на диске того же диаметра. Сумма векторных амплитуд Ah и Ad во всех случаях отверстия и диска одного диаметра всегда равна амплитуде Ap волны, распространяющейся в отсутствие препятствия (принцип Бабинне для дифракции на дополнительных экранах) (рис. 1.8).

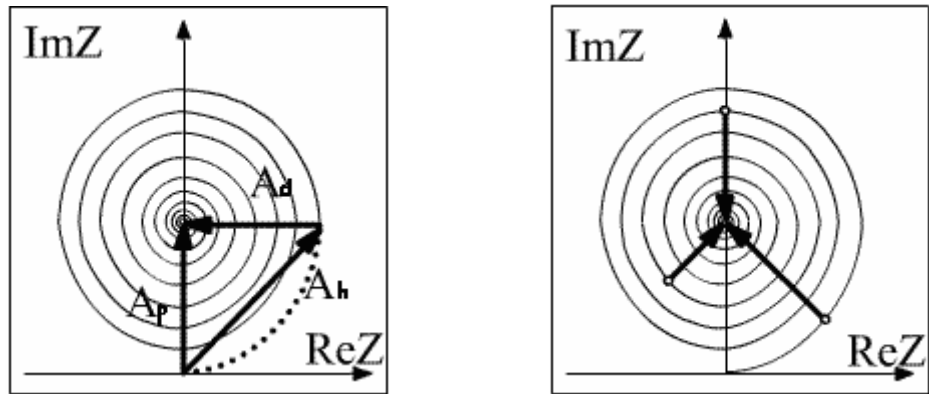


Рис 1.8. Принцип Бабинне для дифракции на дополнительных экранах

Тогда, независимо от числа перекрываемых диском полуволновых зон, векторная амплитуда в осевой точке оказывается конечной, монотонно возрастающая по мере уменьшения диаметра диска. Это значит, что в центре его геометрической тени обязательно должен наблюдаться максимум интенсивности: ведь волны от краев идеально круглого диска в его центре всегда сфазированы.



Рис. 1.9. Наличие пятна Пуассона в центре тени диска произвольного диаметра при условии достаточной когерентности освещающей волны

Впервые на это обстоятельство обратил внимание академик Пуассон в 1818 г. Через некоторое время эксперименты Араго подтвердили наличие пятна Пуассона в центре тени диска произвольного диаметра при условии достаточной когерентности освещающей волны.

На приведенных фотографиях показаны реальные дифракционные распределения интенсивности световой волны за непрозрачными дисками различных диаметров. Отчетливо

видно центральное пятно, интенсивность которого возрастает при уменьшении диаметра диска (рис. 1.9).

Дифракция на эритроцитах в мазке крови

В состав крови входят: плазма и форменные элементы (эритроциты, лейкоциты, тромбоциты). Кровь на 46% состоит из форменных элементов. Эритроциты составляют 93% от них.

Эритроциты, красные кровяные тельца крови человека (рис.1.10). В организме эритроциты переносят кислород от легких к тканям и двуокись углерода от тканей к легким; кроме того, регулируют кислотно-щелочное равновесие среды, абсорбируют из плазмы крови аминокислоты, липиды и переносят их к тканям. Зрелые эритроциты млекопитающих и человека лишены ядра.

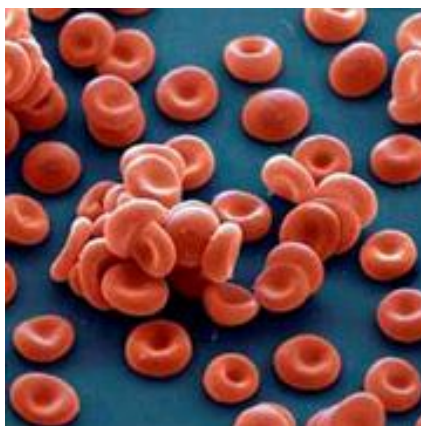


Рис. 1.10. Эритроциты

Характерным свойством эритроцитов является тенденция к образованию агрегатов. Условия образования агрегатов различны в крупных и мелких сосудах. Это связано в первую очередь с соотношением размеров сосуда, агрегата и эритроцита.

Здесь возможны варианты:

а) агрегаты эритроцитов («монетные столбики») в крупных сосудах;

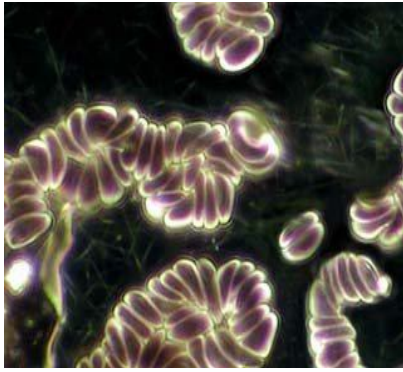


Рис. 1.11 Агрегаты эритроцитов

б) отдельные эритроциты в мелких артериях, артериолах;



Рис. 1.12. Отдельные эритроциты

в) деформация эритроцита в капилляре.

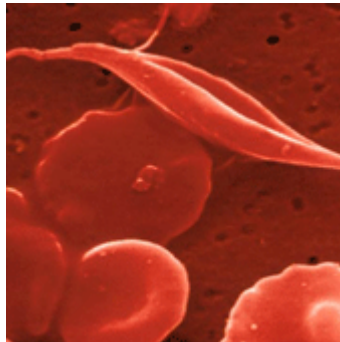


Рис. 1.13. Деформированные эритроциты

Нормальный эритроцит по своей форме похож на двояковогнутую линзу со средней толщиной около 2 мкм и диаметром около 8,5 мкм. В мазке крови на стекле он лежит, как плоский диск. Внутри эритроцит содержит белок гемоглобин, который сильно поглощает свет. Поэтому как оптический объект одиночный эритроцит в первом приближении представляет собой непрозрачный диск, размеры которого сопоставимы с длиной волны.



Рис. 1.14. Дифракционная картина эритроцитов

Соответствующая дифракционная картина имеет вид чередующихся светлых и темных концентрических колец с ярким пятном - нулевым максимумом в центре (рис. 1.14). Если число

эритроцитов на мазке велико, и они расположены случайным образом друг относительно друга, то картина не изменяется.

Экспериментально точнее измерять не радиусы ярких колец, а радиусы r_1 , r_2 тёмных колец. Как показывают результаты точного решения, соответствующие им углы дифракции определяются формулами:

$$\sin \varphi_1 = 1,22 \lambda / D; \sin \varphi_2 = 2,23 \lambda / D \quad (1.2)$$

для соответственно 1-го и 2-го минимумов, где D - диаметр эритроцитов. Синус соответствующего угла дифракции вычисляется по формуле

$$\sin \varphi_m = r / \sqrt{r_m^2 + L^2},$$

где L - расстояние от образца до экрана.

Порядок выполнения работы

1. Включите He-Ne лазер в сеть переменного тока.
2. Установите дифракционную решетку на оптической скамье перпендикулярно лазерному лучу. На расстоянии L от решетки расположите экран. Измерьте это расстояние точно.
3. Зарисуйте наблюдаемую дифракционную картину.
4. Измерьте расстояния x_m от нулевого максимума до максимумов m -го и $-m$ -го порядков по три раза для каждого максимума. Найдите средние расстояния $\overline{x_m}$ и $\overline{x_{-m}}$, а также среднее расстояние $x_m = (\overline{x_m} + \overline{x_{-m}}) / 2$ до максимумов $\pm m$ порядков. С помощью формулы (1.1), приняв $d = 0,01$ мм, найдите длину волны λ лазерного излучения для всех рассчитанных значений X_m . Результаты измерений и вычислений запишите в таблицу.

Порядок максимумов, m	Расстояние до максимумов, среднее расстояние			$\sin \varphi_m$	Длина волны λ , нм
	x_{-m} ср, мм	x_m ср, мм	x_m , мм		
1					
2					
3					

Определение размера эритроцита

Установите на штативе вместо дифракционной решетки стекло с мазком крови. Перемещая образец в плоскости, перпендикулярной лазерному лучу, найдите место на краю мазка, для которого получается наиболее четкая дифракционная картина из светлых и темных колец - чередующихся максимумов и минимумов различных порядков.

Измерьте радиусы середин темных колец. Расчет размера эритроцита производится по формулам (1.2). Использовать длину волны лазерного излучения, полученную в задании 1.

Если виден максимум только первого порядка, то надо трижды определить радиус кольца в разных направлениях и рассчитать три значения диаметра эритроцита.

$$D_i = \frac{1,22 \lambda}{\sin \varphi_1} = \frac{1,22 \lambda \sqrt{r_i^2 + L^2}}{r_i},$$

где $L=1,2,3$.

Оценка погрешности при определении размеров эритроцитов.

Среднее значение диаметра подсчитывается по формуле

$$\overline{D} = \frac{\sum D_i}{n}.$$

Среднеквадратическая ошибка данного измерения

$$S_{\overline{D}} = \sqrt{\frac{\sum (D_i - \overline{D})^2}{n(n-1)}}.$$

Доверительный интервал среднего арифметического измеряемой величины рассчитывается по формуле

$$\Delta \overline{D} = t_{n,p} S_{\overline{D}},$$

где $t_{n,p}=4,3$ - коэффициент Стьюдента для $n=3$ и доверительной вероятности $p=0,95$.

Окончательный результат записывается в виде:

$$D = \overline{D} \pm \Delta \overline{D}.$$

Относительная погрешность:

$$\varepsilon = \frac{\Delta D}{D} 100 \ %.$$

Контрольные вопросы и задания

1. Объясните принцип работы лазера.
2. Перечислите и объясните основные характеристики лазерного излучения.
3. Дайте определение дифракции света.
4. Объясните процесс дифракции на эритроцитах в мазке крови.
5. Чем обусловлены различия дифракционной картины, создаваемой при дифракции лазерного излучения на дифракционной решетке, и дифракции на эритроцитах?

Лабораторная работа 2

ФИЗИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ РЕФРАКТОМЕТРИИ И ЭНДОСКОПИИ

Приборы и принадлежности: рефрактометр Аббе (РПЛ-2), набор исследуемых сахарных растворов различной концентрации, раствор хлористого натрия NaCl, световодный жгут с линзой, модельный эндоскоп.

Цель задания: изучить физические законы отражения и преломления света на границе раздела двух сред. Приобрести начальные навыки работы с рефрактометром: измерить показатель преломления и концентрацию раствора. Ознакомиться с модельным эндоскопом.

Краткая теория

Показатель преломления - важная оптическая характеристика прозрачных сред. Она определяет функционирование хрусталика глаза. Метод измерения показателя преломления - рефрактометрия применяется в лабораторной практике для определения концентрации вещества в растворе, установления его подлинности и чистоты. Приборы, использующие особенности распространения света в оптических волокнах с особым распределением показателя преломления, - эндоскопы - используются для обследования полостных органов тела человека.

Устройство рефрактометра Аббе основано на использовании явления полного внутреннего отражения.

Пусть луч света падает на границу раздела двух сред со стороны оптически более плотной среды n_2 (рис. 2.1). Для углов падения r , меньших некоторого r' (луч 1), часть светового потока, преломляясь, проникает в менее плотную среду n_1 (луч 1''), а часть отражается от границы раздела (луч 1'). При углах падения $r' \leq r'' \leq 90^\circ$ преломления света не происходит и наступает полное внутреннее отражение (луч 2'). Предельный угол полного внутреннего отражения r' соответствует углу преломления $r''=90^\circ$ и, следовательно,

$$\sin r' = n_1/n_2, \quad (2.1)$$

где r' - угол полного внутреннего отражения; n_1 - показатель преломления оптически менее плотной среды; n_2 - показатель преломления оптически более плотной среды.

Зная показатель преломления одной из сред и определяя на опыте предельный угол, можно вычислить показатель преломления второй среды.

Физический смысл показателя преломления n - отношение скорости света в вакууме c к скорости света v в данной среде:

$$n = c/v \quad (2.2)$$

где n - показатель преломления; v - скорость света в данной среде.

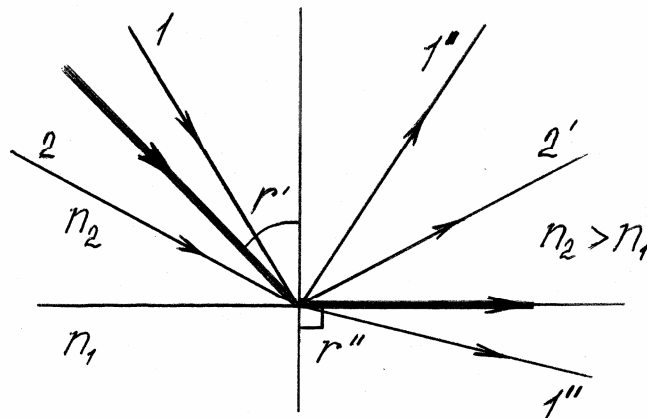


Рис. 2.1. Полное внутреннее отражение при переходе луча из более плотной в менее плотную оптическую среду; $n_2 > n_1$ (n_1 - оптически менее плотная среда; n_2 - оптически более плотная среда; r' - угол полного внутреннего отражения; r'' - угол преломления)

При измерениях показателя преломления с помощью рефрактометра Аббе можно пользоваться как методом полного внутреннего отражения, так и методом скользящего луча. Оптическая схема рефрактометра показана на рис. 2.2.

Основная его часть содержит две стеклянные прямоугольные призмы P_1 и P_2 , изготовленные из стекла с большим показателем преломления. В разрезе призмы имеют вид прямоугольных треугольников, обращенных друг к другу гипотенузами; зазор

между призмами имеет ширину около 0,1 мм и служит для помещения исследуемой жидкости.

При освещении призм P_1 и P_2 белым светом граница раздела будет размыта и окрашена в различные цвета. Чтобы получить резкое изображение, перед объективом L_2 зрительной трубы помещают две призмы прямого зрения Π_1 и Π_2 (призмы Амичи). Каждая призма состоит из трех склеенных призм с различными показателями преломления и различной дисперсией (например, крайние призмы изготовлены из кронгласа, а средняя - из флингласа). Призмы рассчитаны так, чтобы монохроматический луч с длиной волны 5893 \AA не испытывал отклонения. Такое устройство называется компенсатором. L_1 - окуляр с отсчётной шкалой, расположенной в фокальной плоскости объектива L_2 .

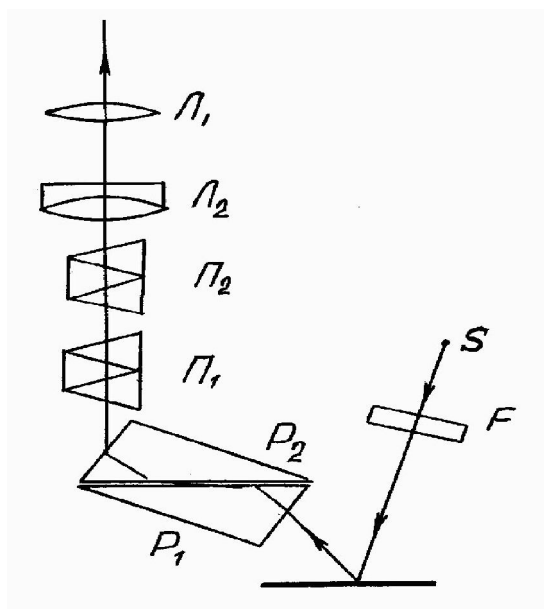


Рис. 2.2. Оптическая схема рефрактометра Аббе (L_1 - окуляр с отсчётной шкалой; L_2 - объектив; P_1, P_2 - призмы; Π_1, Π_2 - призмы Амичи)

Ход лучей при работе по методу скользящего луча изображен на рис. 2.3. Свет проникает в призму P_1 через грань EF и попадает в жидкость через матовую грань ED . Свет, рассеянный матовой поверхностью, проходит слой жидкости и под всевозможными углами ($0 < i_1 < 90^\circ$) падает на сторону AC призмы P_2 . Скользящему лучу в жидкости ($i_1 = 90^\circ$) соответствует

предельный угол преломления r_1 . Преломленные лучи с углами больше r_1 не возникают. В связи с этим угол i_2 выхода лучей из грани AB может изменяться лишь в интервале от некоторого значения i_2 до 90° .

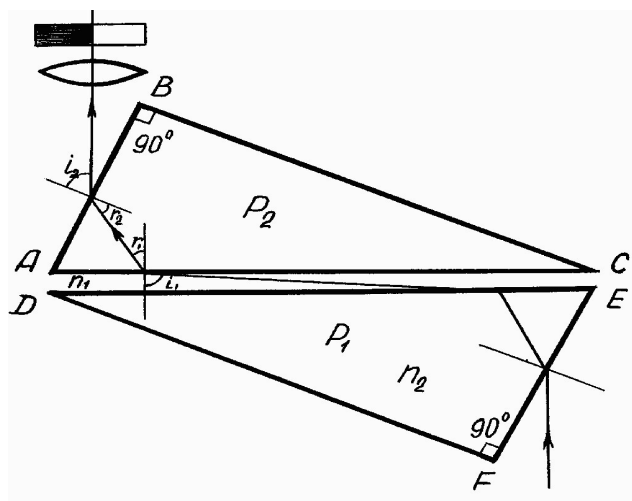


Рис. 2.3. Ход луча в призмах при использовании метода скользящего луча (P_1, P_2 - призмы)

Если свет, выходящий из грани AB , пропустить через собирающую линзу L_1 , то в её фокальной плоскости наблюдается резкая граница светлого и темного полей. Граница рассматривается с помощью линзы L_2 . Линзы L_1 и L_2 образуют зрительную трубу, установленную на бесконечность. В их общей фокальной плоскости расположен крест, образованный тонкими нитями. Положение границы в фокальной плоскости линз зависит от величины показателя преломления жидкости n . Вращая трубу относительно призм, можно совместить границу раздела света и тени с центром креста. В этом случае измерение показателя преломления сводится к измерению угла i_2 , образованного нормалью к грани AB и оптической осью зрительной трубы.

При измерении показателя преломления жидкости методом полного внутреннего отражения призму P_2 освещают со стороны грани BC (рис. 2.4) через специальное отверстие в кожухе прибора.

Грань BC делается матовой. Свет в этом случае падает на границу раздела AC под всевозможными углами. При $r_1 > r'_1$ наступает полное внутреннее отражение, при $r_1 < r'_1$ свет отражается лишь частично. В поле зрения трубы наблюдается при этом резкая граница света и полутени.

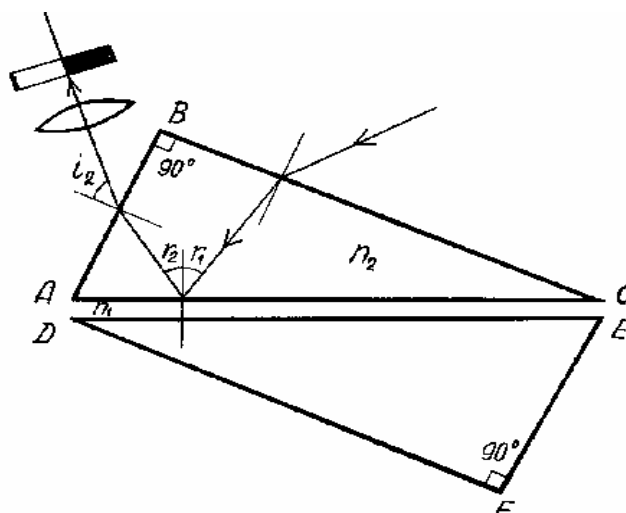


Рис. 2.4. Ход лучей при использовании метода полного внутреннего отражения

Так как условия, определяющие величину предельного угла в методе скользящего луча и в методе полного внутреннего отражения, совпадают, положение линии раздела в обоих случаях тоже оказывается одинаковым.

Устройство и назначение эндоскопа. Применение эндоскопа

Эндоскопия (греч. endo - внутри + skopeo - рассматривать, исследовать) - метод визуального исследования полых органов и полостей организма с помощью оптических приборов (эндоскопов), снабженных осветительным устройством. Современные медицинские эндоскопы - сложные оптико-механические приборы. Они снабжены системами передачи света и изображения; комплектуются инструментами для проведения биопсии, извлечения инородных тел, электрокоагуляции, введения лекарственных веществ и других манипуляций; с помощью дополнительных приспособлений обеспечивают

получение объективной документации (фотографирование, киносъемка, видеозапись).

Характеристика эндоскопа

Эндоскоп состоит из трёх основных систем: передачи изображения, передачи света и механической. Система передачи изображения транслирует изображения объекта к глазу наблюдателя. Она состоит из объектива, передающего изображение объекта на входной торец волоконного жгута, состоящего из регулярно уложенных волокон, передающих изображение объекта с входного торца жгута на выходной торец, а также окуляра, через который наблюдатель рассматривает под увеличением изображение объекта на выходном торце волоконно-оптического жгута. Система передачи света транслирует свет по всей длине эндоскопа от источника света (осветителя) к наблюдаемому объекту. Она выполнена в виде неразъемного светового жгута (световода), в котором происходит распространение лучей света. С помощью разъема шланг эндоскопа подсоединяется к разъему осветителя.

Распространение света в световоде

Световод (волновод) - оптический элемент, предназначенный для пространственного ограничения светового излучения, распространяющегося в заданном направлении. Форма поперечного сечения световода может быть прямоугольной, квадратной, круглой, эллиптической и т. п. Наибольшее распространение получили световоды с круглым и эллиптическим сечениями. Световоды, представляющие собой тонкие стеклянные или кварцевые нити, часто называют оптическими волокнами.



Рис. 2.5. Поперечное сечение волновода

По волокну могут распространяться меридиональные лучи (лучи, пересекающие ось волокна) и косые лучи (не пересекающие ось). Полное рассмотрение теории распространения света в волноводах достаточно сложно и трудоемко.

Согласно закону преломления света на границе раздела двух диэлектрических прозрачных сред (рис. 2.1) можно определить

$$n_{oc} \sin \theta_o = n_c \sin \theta_c , \quad (2.1)$$

где n_{oc} - показатель преломления среды, контактирующей с входным торцом световода; n_c - показатель преломления сердцевины световода.

Распространение излучения в световоде основано на явлении полного внутреннего отражения (ПВО) на границе сердцевины и оболочки (рис. 2.6).

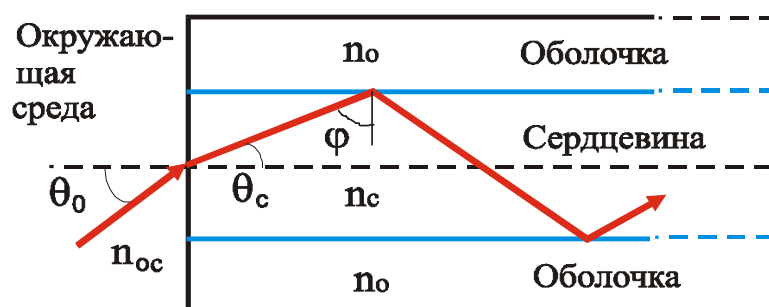


Рис. 2.6. Схема распространения лучей света в световоде

ПВО осуществляется, если свет отражается от оптически менее плотной среды ($n_c > n_o$) и если угол падения на границе раздела превышает критическое значение

$$\varphi > \varphi_{кр} = \arcsin \frac{n_o}{n_c} .$$

При полном отражении интенсивность отраженного луча равна интенсивности падающего.

Описание и устройство эндоскопа

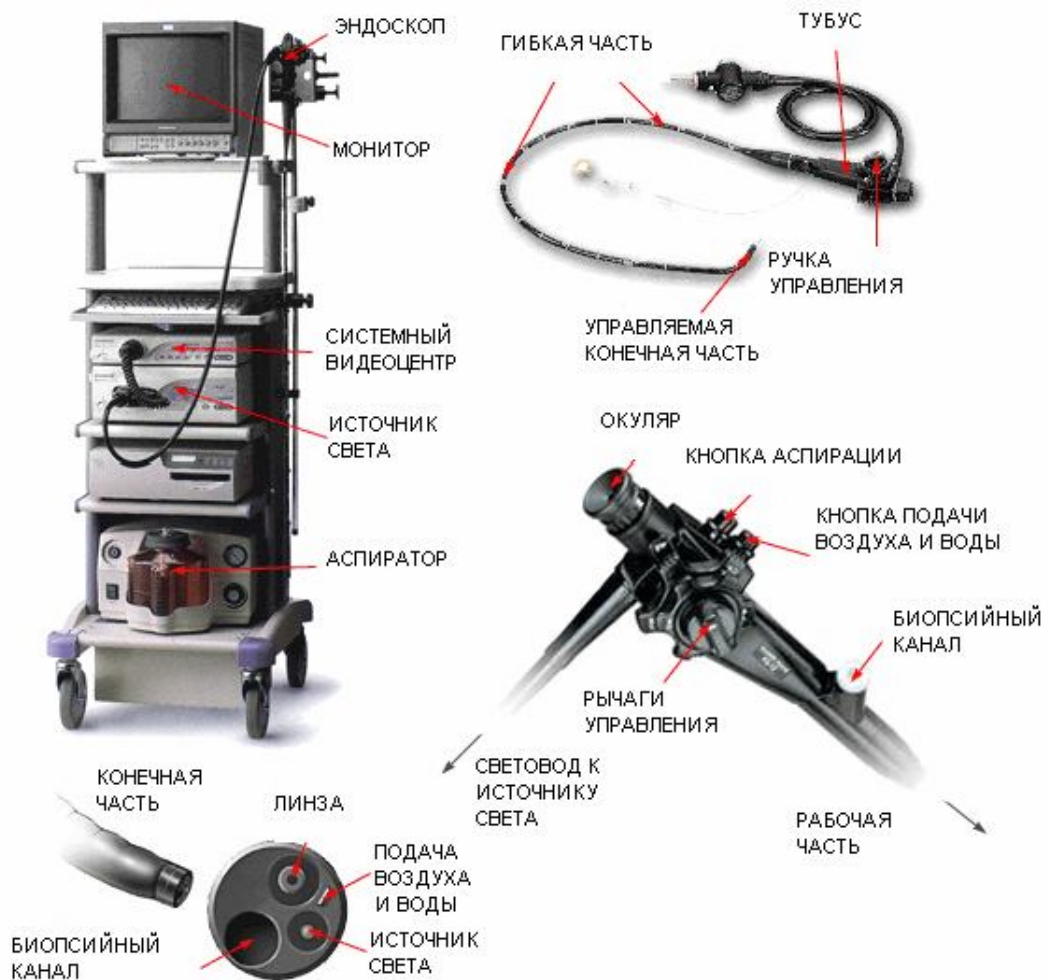


Рис. 2.7. Эндоскоп (колоноскоп)

Рабочая часть эндоскопа - гибкая, герметичная, бензо-маслостойкая, защитная рубашка из гипоаллергенного материала. Включает в себя гибкую часть и управляемую конечную часть (дистальный конец).

Управляемая часть рабочей части может быть повернута (загнута) рычагом управления корпуса. Управляемая часть заканчивается оптической головкой прямого наблюдения.

Рычаг управления, расположенный на корпусе эндоскопа, предназначен для перемещения (загиба) управляемой части с головкой. С этой целью рычаг управления плавно перемещают в направлении продольной геометрической оси корпуса.

Окуляр предназначен для формирования изображения осматриваемого объекта.

Световод к источнику света состоит из кабеля и штекера.

Биопсийный канал предназначен для доступа инструментами врача (скоб, скальпель, пинцет и др.) к исследуемой области.

Выполнение работы

Работа с рефрактометром

Задание 1. Работа с рефрактометром Аббе (РПЛ-2).

Установить рефрактометр так, чтобы свет от окна (неяркий) освещал верхнее окно прибора, через это отверстие свет попадает на осветительную призму. Открыть верхнюю часть рефрактометра и на гладкую поверхность нижней призмы при помощи пипетки поместить несколько капель исследуемой жидкости. Закрывать прибор. Если в поле зрения окуляра нечетко видны деления, осторожно поворачивая окуляр, установить четкую видимость шкалы по своему глазу. Если граница светотени имеет радужную окраску, то, вращая рукоятку компенсатора, добиться исчезновения радужной окраски.

Задание 2

2.1 Определение неизвестной концентрации раствора сахара по трем известным концентрациям c_1 , c_2 , c_3 .

Для дистиллированной воды и трех растворов сахара с известными концентрациями провести по три измерения показателя преломления n' , n'' , n''' . Для этого три раза с помощью рукоятки отсчетного устройства сместите маркер и снова установите его на границу «свет - тень». Измерения проводите сначала для меньших, а затем для больших концентраций.

Результаты запишите в таблицу.

Вещество	Концентрация c , г/л	Показатель преломления			
		n'	n''	n'''	n
Вода	0				
Сахар	C_1				
	C_2				
	C_3				
	C_x				
Сахароза	$c_{сах}$				

Рассчитайте средние значения показателя преломления n для каждой жидкости.

Постройте градуировочную прямую: зависимость n от концентрации c .

Измерьте показатель преломления n_x раствора с неизвестной концентрацией c_x . Используя градуировочную прямую, найдите по измеренному значению n_x концентрацию c_x и занесите ее в таблицу.

2.2. Определение неизвестной концентрации раствора хлористого натрия NaCl по трем известным концентрациям c_1, c_2, c_3 .

Для дистиллированной воды и трех растворов соли с известными концентрациями провести по три измерения показателя преломления n', n'', n''' . Для этого три раза с помощью рукоятки отсчетного устройства сместите маркер и снова установите его на границу «свет - тень». Измерения проводите сначала для меньших, а затем для больших концентраций. Результаты запишите в таблицу.

Вещество	Концентрация c , г/л	Показатель преломления			
		n'	n''	n'''	n
Вода	0				
NaCl	C_1				
	C_2				
	C_3				
	C_x				

Рассчитайте средние значения показателя преломления n для каждой жидкости.

Постройте градуировочную прямую: зависимость n от концентрации c .

Измерьте показатель преломления n_x раствора с неизвестной концентрацией c_x . Используя градуировочную прямую, найдите по измеренному значению n_x концентрацию c_x , занесите в таблицу.

Задание 3. Измерение отличий показателя преломления для веществ разного химического состава.

Измерьте показатель преломления $n_{\text{сах}}$ раствора сахарозы заданной концентрации. Вычислите разницу Δn показателей преломления растворов сахарозы $n_{\text{сах}}$ и хлористого натрия той же концентрации n_{NaCl} : $\Delta n = n_{\text{сах}} - n_{\text{NaCl}}$.

Работа с эндоскопом

Задание 4. Изучение устройства эндоскопа.

Осмотрите данный Вам эндоскоп. Убедитесь в наличии всех частей. Оцените длину и диаметр рабочей части. Какова толщина биопсийного канала?

Задание 5. Изучение работы управляемой части эндоскопа.

За что отвечает каждая ручка управления на тубусе? Каков максимальный угол изгиба управляемой части?

Задание 6. Изучение работы световодного жгута.

Поднесите жгут к освещенной поверхности. Убедитесь, что изображение возникает, когда расстояние от линзы до поверхности составляет несколько сантиметров. Каким образом можно осветить внутреннюю поверхность полого органа при эндоскопическом исследовании?

Задание 7. Решите задачи.

Задача 1. Показатель преломления стекла 1,7, а воды 1,333. Какова величина предельного угла преломления при прохождении света из воды в стекло? Существует ли в этом случае угол полного внутреннего отражения?

Задача 2. Определите изменение величины предельного угла преломления при прохождении света из жидкости в стекло при увеличении показателя преломления этой жидкости. При каком

максимальном значении коэффициента преломления жидкости существует предельный угол преломления?

Контрольные вопросы и задания

1. Объясните физический смысл показателя преломления.
2. Полное внутреннее отражение и скользкий луч.
3. Каково строение рефрактометра Аббе? Какова роль призм Амичи?
4. На каком физическом явлении основан принцип работы эндоскопа?
5. Объясните конструкцию эндоскопа. Укажите его характеристики.

Лабораторная работа 3

ОЦЕНКА НЕИЗВЕСТНЫХ ПАРАМЕТРОВ НОРМАЛЬНОГО РАСПРЕДЕЛЕНИЯ

Цель работы: изучить понятия «генеральная совокупность» и «выборка». Научиться вычислять выборочную среднюю, исправленную выборочную дисперсию, исправленное среднее квадратическое отклонение. Научиться вычислять доверительный интервал для математического ожидания, соответствующий заданной доверительной вероятности.

Краткая теория

Когда мы распространяем представления о конечной группе лиц на другие группы или на всю совокупность, мы пользуемся информацией о выборке. Когда врач хочет получить представление о составе и состоянии крови пациента, он проводит анализ небольшой выборки крови. Любое значение искомого параметра, вычисленное на основе ограниченного числа опытов, всегда будет содержать элемент случайности. Работники здравоохранения постоянно имеют дело с информацией, базирующейся на ограниченных выборках.

Поэтому они должны хорошо представлять себе границы надежности анализа информации на основе выборочных данных.

В биологической и медицинской статистике часто приходится исследовать распределение того или иного признака для весьма большой совокупности индивидуумов, образующих статистический коллектив (таким признаком может быть, например, содержание белка в зерне пшеницы, вес новорожденного ребенка, период колебаний маятника и т.д.). Данный признак является случайной величиной, значение которой от индивидуума к индивидууму меняется. Однако для того, чтобы составить представление о распределении этой случайной величины или о ее важнейших характеристиках, нет необходимости обследовать каждый объект данной обширной (генеральной) совокупности, а можно обследовать некоторую выборку достаточно большого объема для выявления существенных черт изучаемого распределения.

Статистическая совокупность представляет собой множество объектов, однородных относительно признака, характеризующего эти объекты.

Генеральной совокупностью называется совокупность, состоящая из всех объектов, которые могут быть к ней отнесены. Теоретически это бесконечно большая или приближающаяся к бесконечности совокупность. Число объектов генеральной совокупности называют ее объемом и обозначают N .

Выборочной совокупностью или выборкой называется множество объектов, случайно отобранных из генеральной совокупности. Число объектов выборки называют ее объемом и обозначают n .

Для того чтобы свойства выборки достаточно хорошо отражали свойства генеральной совокупности, выборка должна быть осуществлена случайно, т. е. все объекты должны иметь одинаковую вероятность попасть в выборку. Поскольку на практике приходится иметь дело с ограниченным количеством экспериментальных данных, то результаты наблюдений и их обработки содержат больший или меньший элемент случайности.

Характеристики статистического распределения выборки применяются для оценки неизвестных параметров

теоретического распределения вероятностей. Различают точечные оценки случайной величины (одним числом) и интервальные (оценивание параметра совокупности в виде интервала).

Введем некоторые понятия.

Генеральная средняя X_r - среднее арифметическое значение признака X_1, X_2, \dots, X_n генеральной совокупности, т.е.

$$\overline{X}_r = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N X_i.$$

Генеральная средняя равна математическому ожиданию случайной величины:

$$\overline{X}_r = \mu$$

Выборочная средняя X_B - среднее арифметическое значение признака выборочной совокупности X_1, X_2, \dots, X_n

$$\overline{X}_B = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n X_i.$$

Генеральная дисперсия:

$$D(X) = \sigma^2 = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (X_i - \mu)^2.$$

Выборочная дисперсия:

$$\sigma_B^2 = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (X_i - \overline{X}_B)^2.$$

Точечные оценки. За оценку значения μ измеряемой величины принимается выборочная средняя:

$$\mu \approx \overline{X}_B = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n X_i.$$

За оценку дисперсии D принимается значение исправленной выборочной дисперсии S^2 :

$$D \approx S^2 = \frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (X_i - \overline{X}_B)^2 = \frac{n}{n-1} \sigma_B^2.$$

Интервальная оценка математического ожидания (доверительный интервал для математического ожидания случайной величины, распределенной по нормальному закону, при неизвестном сигма).

Пусть случайная величина A имеет нормальное распределение, причем неизвестны μ и σ .

В ряде задач требуется не только найти для параметра μ подходящее численное значение, но и оценить его точность. Требуется знать, к каким ошибкам может привести замена параметра μ его точечной оценкой X_B и с какой степенью уверенности можно ожидать, что эти ошибки не выйдут за известные пределы? Такого рода задачи особенно актуальны при малом числе наблюдений, когда точечная оценка в значительной мере случайна и приближенная замена может привести к серьезным ошибкам.

Чтобы дать представление о точности и надежности, в математической статистике пользуются так называемыми доверительным интервалом и доверительной вероятностью.

Разные выборки дадут разные оценки. Пусть для параметра μ получена из некоторого опыта точечная оценка X_B . При этом, заменяя μ на X_B , мы совершаем некоторую ошибку.

В теории математической статистики показывается, что с заданной вероятностью α неизвестное значение параметра μ попадает в определенный интервал (рис. 3.1):

или
$$\left(\bar{X}_B - \Delta X, \bar{X}_B + \Delta X \right)$$

$$\bar{X}_B - \Delta X < \mu < \bar{X}_B + \Delta X.$$

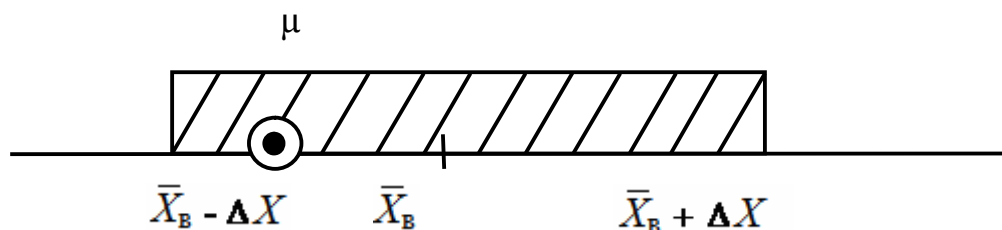


Рис. 3.1. Доверительный интервал

Вероятность α принято называть доверительной вероятностью. С такой вероятностью мы «доверяем» результату. Величина α выбирается самим исследователем самостоятельно, например, $\alpha=0,95;0,98$.

С заданной вероятностью α доверительный интервал накрывает точку μ .

Величина ΔX - полуширина доверительного интервала. Точки $X_B + \Delta X$ и $X_B - \Delta X$ - доверительные границы.

Величины X_B и ΔX вычисляются на основе экспериментальных данных.

Допустим, что случайная величина A подчиняется нормальному закону распределения. В эксперименте получены ее значения:

$$X_1, X_2, \dots, X_n.$$

Если объем выборки невелик ($n < 30$), то полуширина доверительного интервала в этом случае вычисляется по формуле

$$\Delta X = t_{\alpha, n} \frac{S}{\sqrt{n}},$$

где $t_{\alpha, n}$ - коэффициент Стьюдента, значение которого зависит от доверительной вероятности α и от объема выборки n .

Тогда доверительный интервал для μ :

$$\left(\bar{X}_B - t_{\alpha, n} \frac{S}{\sqrt{n}}; \bar{X}_B + t_{\alpha, n} \frac{S}{\sqrt{n}} \right).$$

Таким образом, математическое ожидание μ находится в доверительном интервале:

$$\bar{X}_B - t_{\alpha, n} \frac{S}{\sqrt{n}} < \mu < \bar{X}_B + t_{\alpha, n} \frac{S}{\sqrt{n}}.$$

С заданной доверительной вероятностью α .

Чем выше мы задаем вероятность α , тем шире становится доверительный интервал. И наоборот, чем меньше α , тем уже интервал. При увеличении объема выборки ширина интервала уменьшается.

Пример расчета ΔX . При измерении некоторой величины получены следующие значения: $X_1=3,1; X_2=3,3; X_3=3,2$. С доверительной вероятностью $\alpha=0,95$ оценить истинное значение измеряемой величины.

Решение. Вычисляем среднее выборочное значение:

$$\bar{X}_B = \frac{3,1+3,3+3,2}{3} = 3,2.$$

Вычисляем исправленную дисперсию

$$S^2 = \frac{(3,2 - 3,1)^2 + (3,2 - 3,3)^2 + (3,2 - 3,2)^2}{3 - 1} = 0,01.$$

Вычисляем полуширину доверительного интервала.

$$t_{0,95;3} \approx 4,3 \rightarrow \Delta X \approx 0,25 \approx 0,3.$$

Следовательно:

$$3,2 - 0,3 < \bar{X}_r < 3,2 + 0,3.$$

Ответ. С доверительной вероятностью $\alpha=0,95$ генеральное среднее измеряемой величины находится в доверительном интервале (2,9; 3,5).

Выполнение работы

Задание 1. При измерении периода колебания математического маятника получены следующие значения:

3,1; 2,7; 2,9; 2,8; 3,0; 2,8; 3,0 с.

Оцените доверительный интервал для математического ожидания периода колебаний. Попадает ли в этот интервал теоретическое значение периода? Длина маятника 0,882 м.

Задание 2. При измерении гемоглобина в крови у двух женщин получены следующие данные:

1-й пациент

Содержание гемоглобина в крови, г/л	X_1	X_2	X_3	X_4	X_5	X_6	X_7	X_8
	127	125	128	123	125	124	129	128

2-й пациент

Содержание гемоглобина в крови, г/л	X_1	X_2	X_3	X_4	X_5	X_6	X_7	X_8
	87	86	92	84	88	90	87	87

Оцените доверительный интервал для математического ожидания концентрации гемоглобина в крови для данных пациентов. Сравните с нормой:

$$C_{\text{норма}} = 130 \pm 10 \text{ (г/л)}.$$

Задание 3. Проанализируйте изменение полуширины доверительного интервала в зависимости от задаваемой доверительной вероятности (при фиксированном объеме выборки).

Данные измерения концентрации соли в растворе:

с, г/л 10,1; 10,1; 10,3; 10; 10,2; 10,4; 10,1.

Найдите для различных α значения ΔX и занесите в таблицу.

α	0,6	0,8	0,9	0,95	0,99
$t_{\alpha,n}$					
ΔX					

Представьте результаты графически (в виде рисунка).

Задание 4. Проанализируйте изменение полуширины доверительного интервала в зависимости от объема выборки (при фиксированной доверительной вероятности $\alpha=0,95$).

Значения случайной величины приведены в таблице:

x_i	100,102,101	99,103	99,101	104,102
n	3	5	7	9
ΔX				
$x_{B\text{ ср}}$				

Результат представьте графически.

Приложение. Значение коэффициента Стьюдента $t_{\alpha,n}$ при различных значениях α и n :

$n \backslash \alpha$	0,6	0,8	0,9	0,95	0,99
2	1,38	3,08	6,31	12,71	63,66
3	1,06	1,89	2,92	4,30	9,93
4	0,98	1,64	2,35	3,18	5,84
5	0,94	1,53	2,13	2,78	4,60
6	0,92	1,48	2,02	2,57	4,03
7	0,91	1,44	1,94	2,45	3,71
8	0,90	1,42	1,90	2,37	3,50
9	0,89	1,40	1,86	2,31	3,36

Контрольные вопросы и задания

1. Что такое выборка? Какие виды вы знаете и каково их практическое применение?
2. Объясните понятие генеральной и выборочной совокупности.
3. Что такое интервальная оценка математического ожидания?
4. С помощью чего можно дать представление о точности и надежности в математической статистике? Какие значения может принимать доверительная вероятность?
5. Какова зависимость доверительной вероятности и доверительного интервала?

Лабораторная работа 4

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГИСТОГРАММ В ЗАДАЧАХ МЕДИЦИНСКОЙ СТАТИСТИКИ

Цель работы: ознакомиться с нормальным законом распределения случайных величин (законом Гаусса). Научиться строить график кривых распределения по нормальному закону для различных параметров. Научиться проводить статистическую обработку результатов измерений, строить гистограммы и на базе этих данных обосновывать выводы о результатах проведенных экспериментов.

Краткая теория

Целью любого эксперимента (медицинского, биологического или физического) является получение надежных выводов об измеряемых величинах или каких-либо функциях от них. Эта цель еще не достигается с окончанием измерений. Результаты измерений необходимо подвергнуть тщательному анализу и провести необходимую математическую обработку. Только после этого возможно сформулировать выводы относительно величин,

представляющих интерес. Метод гистограмм широко используется в практике медицинских исследований.

При измерении какой-либо величины несколько раз экспериментатор получает ряд значений, которые, как правило, оказываются различными. Этому есть много причин, например, отклонения от начальных условий эксперимента, которые могут быть малы, и не поддаваться контролю. Или, например, в клинике врач измеряет один и тот же физиологический показатель пациента несколько раз (температуру, артериальное давление, количество сокращений сердца в минуту и т. д.) и, естественно, получает разные значения этого показателя. В этом случае о результатах эксперимента говорят как о случайных величинах.

Случайная величина - это одно из важнейших основных понятий теории вероятностей. Рассмотрим несколько примеров. Число космических частиц, попадающих на определенный участок земной поверхности в единицу времени подвергается значительным колебаниям в зависимости от многих случайных обстоятельств.

Скорость молекул газа не остается неизменной, а меняется в зависимости от столкновений с другими молекулами. Этих столкновений очень много даже в течение короткого промежутка времени. Зная скорость молекулы в данный момент, нельзя с полной определенностью указать ее значение, например, через 0,001 с. Изменение скорости молекулы носит случайный характер.

Случайной величиной является и количество эритроцитов в мазке крови в поле зрения микроскопа.

Со случайными величинами приходится иметь дело в самых разнообразных областях науки и техники. Поэтому важна задача создания и изучения метода исследования случайных величин.

Случайная величина может быть дискретной, т.е. принимать счетное множество значений, которые можно пронумеровать (например, число клеток в поле зрения микроскопа, число пациентов в отделении, количество показателей состояния больного и т.д.), или непрерывной, которая может принимать все значения из некоторого интервала (бесчисленное множество

возможных значений, сплошь заполняющих некоторый промежуток). Непрерывными величинами являются, например, длительность интервалов между зубцами в ЭКГ, значение артериального давления, размер диаметра зрачка и др. Полученное отдельное значение результата измерения какого-либо из указанных параметров A обозначим x . Например, A - температура, x - значение температуры: $x=36,9^{\circ}\text{C}$.

Функция плотности распределения вероятностей

Пусть A - некоторая непрерывная случайная величина, например, вес новорожденного, x - значение случайной величины. Со значением x случайной величины связана функция $f(x)$ - функция плотности распределения вероятностей (ПРВ), такая, что произведение $f(x)dx$ пропорционально вероятности события, состоящего в том, что значение x величины A заключено в интервале $[x, x+dx]$.

Функция ПРВ имеет очень важное значение. Происхождение каждого эмпирического распределения (т.е. вид функции $f(x)$) обусловлено совокупностью определенных причин. Совокупность причин, приводящих к тому или иному виду $f(x)$, может быть в каждом случае иной. Задача состоит в том, чтобы представить себе, за счет каких причин могло получиться найденное распределение, т.е. построить подходящую математическую или физическую модель явления. Таким образом, установление вида функции $f(x)$ имеет большое значение для получения информации об изучаемом процессе.

Нормальный закон распределения (закон Гаусса)

Значительное число случайных явлений, встречающихся в природе, может быть описано с помощью нормального закона распределения (закона Гаусса).

Закон Гаусса:

$$f(x) = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{(x-\mu)^2}{2\sigma^2}},$$

где x - любое значение изучаемой величины; μ - математическое ожидание; σ - среднеквадратичное отклонение.)

График функции $f(x)$ нормально распределенной случайной величины представляет собой колоколообразную кривую (рис. 4.1, 4.2), симметричную относительно оси, проходящей через точку $x = \mu$ параллельно ординате. Максимальное значение кривая достигает в точке $x = \mu$.

Функция имеет точки перегиба при $x = \mu \pm \sigma$, ось абсцисс служит для нее асимптотой при $x \rightarrow \pm\infty$.

Если изменить значение μ , а σ оставить постоянной, то кривая будет перемещаться вдоль оси OX , сохраняя свою форму (рис. 4.1).

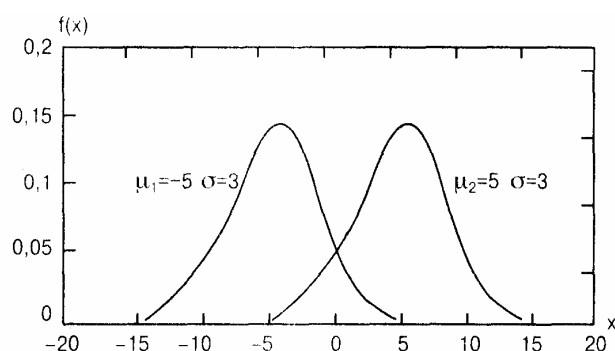


Рис. 4.1. Закон Гаусса (различные математические ожидания)

Если изменить σ - среднеквадратичное отклонение, а μ оставить неизменной, то изменяется форма кривой (рис. 4.2). Параметр σ характеризует не положение, а форму кривой распределения. Это есть характеристика рассеивания. При увеличении σ максимальная ордината уменьшается. Так как площадь под кривой распределения всегда должна оставаться равной единице, то при увеличении σ кривая становится более плоской (пологой). Наоборот, при уменьшении σ кривая распределения вытягивается вверх.

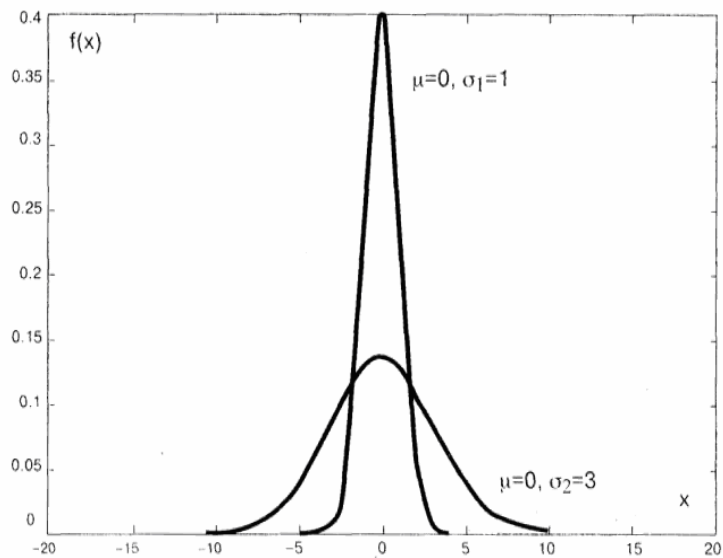


Рис. 4.2. Закон Гаусса (различные дисперсии)

Вероятность попадания случайной величины A в интервал значений x , заключенный между числами x_1 и x_2 , определяется формулой.

$$P(x_1 < x < x_2) = \int_{x_2}^{x_1} f(x) dx,$$

т. е. это площадь криволинейной трапеции, ограниченной сверху функцией $f(x)$, снизу - осью x , слева и справа - ординатами, проходящими через точки x_1 и x_2 . Раздвинем границы отрезка $[x_1, x_2]: x_1 \rightarrow -\infty, x_2 \rightarrow +\infty$, тогда

$$P(-\infty < x < +\infty) = \int_{-\infty}^{+\infty} f(x) dx,$$

т. е. площадь под всей кривой $f(x)$ должна оставаться постоянной и равной 1.

Правило трех сигм

Расчетами показано, что вероятность попадания нормально распределенной случайной величины в интервал значений (рис. 4.3):

$$1. P(\mu - \sigma < x < \mu + \sigma) \approx 68.26\%.$$

2. $P(\mu - 2\sigma < x < \mu + 2\sigma) \approx 95.44\%$.
3. $P(\mu - 3\sigma < x < \mu + 3\sigma) \approx 99.72\%$.
- 4.

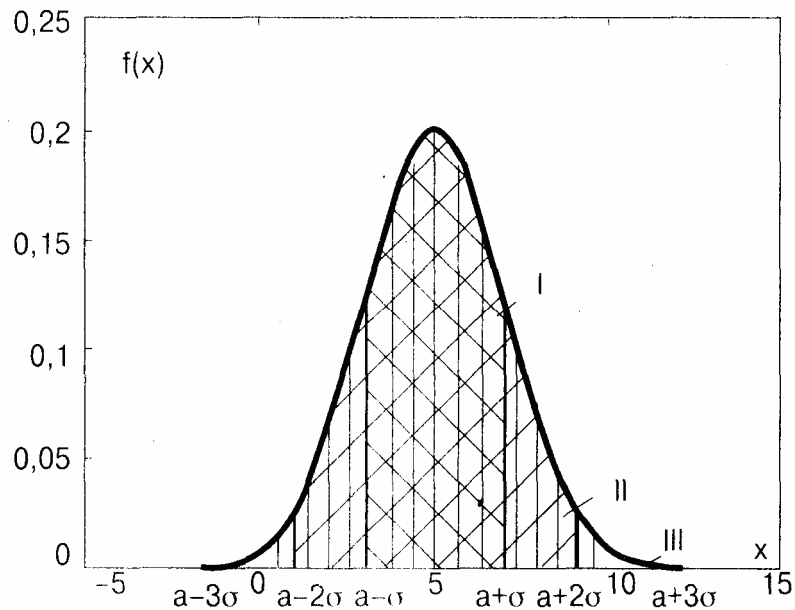


Рис. 4.3. Закон Гаусса ($\mu=5$, $\sigma=2$)

Таким образом, вероятность того, что отклонение значений нормально распределенной случайной величины превысит 3σ , чрезвычайно мала, а именно $0,0028$. Такое событие можно считать практически невозможным. Поэтому границы $\mu+3\sigma$ и $\mu-3\sigma$ принимаются за границы практически возможных значений нормально распределенной случайной величины. Это позволяет, зная среднеквадратичное отклонение и математическое ожидание случайной величины, ориентировочно указать интервал ее практически возможных значений. Такой способ оценки диапазона возможных значений случайной величины известен в математической статистике под названием «правило трех сигм».

Пример. На рис. 4.4 приведены графики нормального закона распределения температуры тела человека в норме и при патологии (например, при заболевании гриппом). Изменяются оба параметра σ и μ .

Графическое изображение статистического распределения. Гистограмма

Для оценки вида функции распределения вероятностей по экспериментальным данным часто используют графический метод, связанный с построением гистограммы. Он состоит в следующем. Пусть проведено n измерений непрерывной случайной величины A . Обозначим минимальное значение случайной величины x_{\min} , максимальное x_{\max} .

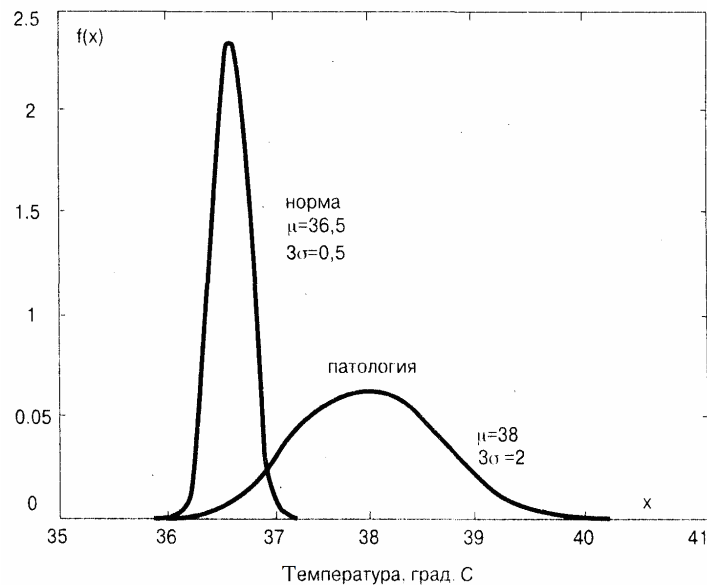


Рис. 4.4. Закон Гаусса (изменения μ , σ)

Разобьем интервал, содержащий полученные значения величины A , на k интервалов одинаковой ширины Δx .

Подсчитаем количество значений случайной величины (частоту), попавших в каждый интервал Δx_i ($i = 1, 2, \dots, k$). Получим частоты m_i ($i = 1, 2, \dots, k$), каждую частоту поделим на ширину интервала Δx .

Величина $\frac{m_i}{\Delta x}$ называется плотностью частоты. Затем на каждом интервале Δx_i следует построить прямоугольник с

основанием Δx_i и высотой $\frac{m_i}{\Delta x}$ (или высотой $\frac{\pi}{\Delta x}$ плотностью относительной частоты $P_j = \frac{m_i}{n}$).

Полученную ступенчатую фигуру, состоящую из прямоугольников, называют гистограммой (от греческих слов *histos* - столб и *gramma* - запись).

Задача. В 20 экспериментах непрерывная случайная величина A принимает значения: 21, 11, 17, 23, 28, 14, 19, 22, 24, 33, 16, 21, 18, 29, 23, 22, 31, 24, 27, 26. Построить гистограмму частот и гистограмму относительных частот.

Решение. Находим среди данных минимальное и максимальное значения случайной величины: $x_{\min}=11$, $x_{\max}=33$. Самым простым было бы разделить разность $x_{\max} - x_{\min}$ на равное число частей. Но часто эта разность не делится нацело на требуемое число частей. В таком случае весь интервал несколько расширяется как в сторону меньших, так и в сторону больших значений. В рассматриваемой задаче удобно выбрать $\Delta x = 5$. Тогда логично рассмотреть интервал (10, 35). Получаем, что в первый интервал (10-15) попадают всего два значения переменной x , равные 11, 14, т.е. частота $m_1 = 2$. Во второй интервал (15-20) попадают значения переменной x , равные 17, 19, 16, 18, из чего следует $m_2=4$. Продолжая аналогичные рассуждения, составим таблицу, содержащую последовательность интервалов и соответствующих им частот - статистический интервальный ряд распределения:

x	10-15	15-20	20-25	25-30	30-35
m	2	4	8	4	2

В общем виде статистический интервальный ряд распределения имеет вид таблицы:

Интервалы значений x	(x_0, x_1)	(x_1, x_2)	...	(x_{k-1}, x_k)
Частоты m	m_1	m_2	...	m_k

Зная частоты и величину Δx , найдем плотности частот $\frac{m_i}{\Delta x}$ и плотности относительных частот $\frac{\pi}{\Delta x}$. Например, для 1-го интервала плотность частоты $\frac{m_i}{\Delta x} = \frac{2}{5} = 0,4$, плотность относительной частоты $\frac{\pi}{\Delta x} = \frac{2}{20 \cdot 5} = 0,02$.

Данные обработки результатов представлены в таблице:

x	10-15	15-20	20-25	25-30	30-35
$\frac{m_i}{\Delta x}$	0,4	0,8	1,6	0,8	0,4
$\frac{\pi}{\Delta x}$	0,02	0,04	0,08	0,04	0,02

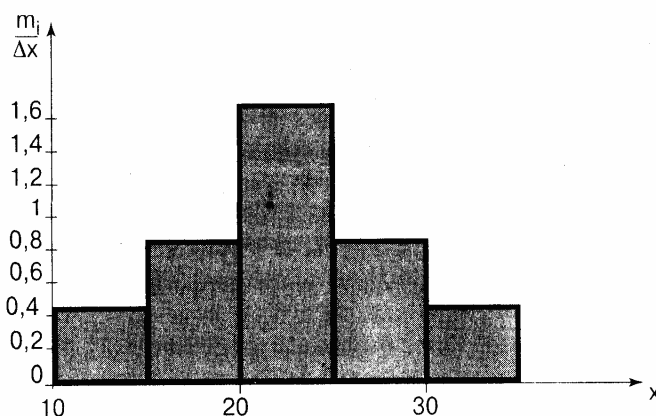


Рис. 4.5 Гистограмма плотности частот

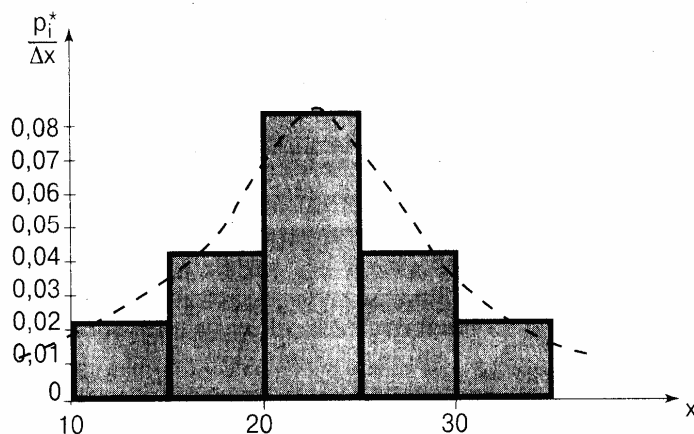


Рис. 4.6 Гистограмма плотности относительных частот

Замечание. Гистограммы на рис. 4.5 и рис. 4.6 имеют один и тот же вид, что и следовало ожидать, исходя из метода обработки экспериментальных данных. Поэтому с точки зрения вида гистограммы не имеет значения, представлять ли данные в виде гистограммы плотности частот или гистограммы плотности относительных частот. Однако для установления вида функции плотности распределения вероятностей (ПРВ) необходимо пользоваться гистограммой плотности относительных частот. Это можно пояснить, рассматривая предельный случай, когда объем совокупности очень большой, а интервал разбиения Δx - мал. Ступенчатая линия гистограммы станет мало отличаться от плавной кривой, которая и будет являться функцией $y = f(x)$, указывающей величину ординаты y , соответствующей заданной абсциссе x . Приблизительно предполагаемый вид функции ПРВ показан на рис 4.6 пунктирной линией. Кроме того, представление экспериментальных данных именно в виде гистограммы плотности относительных частот необходимо, если ставится задача, например, о сравнении вида распределений двух или нескольких совокупностей. В этом случае бывает полезным совмещение различных гистограмм, а это возможно только при рассмотрении плотности относительных частот, что позволяет исключить зависимость от объема выборки и ширины интервала Δx . Так, в клинической практике часто приходится сравнивать разные группы пациентов, например: здоровые и больные и т.п.,

причем количество пациентов в сравниваемых группах, как правило, не одинаково (48 здоровых и 21 больной). В этом случае для сравнения можно пользоваться только гистограммой плотности относительных частот.

При построении гистограммы весьма важно правильно выбрать ширину интервала Δx . Если число интервалов k будет мало (ширина интервала Δx велика), следует ожидать, что частично информация о случайной величине может быть потеряна. Но если k будет слишком велико (Δx мало), обработка результатов измерений будет излишне трудоемкой и не даст при этом существенного объема информации. Практика показывает, что рационален выбор числа интервалов k в зависимости от объема выборки с помощью таблицы:

Объем выборки (n)	25-40	40-60	60-100	100-200	200
Число интервалов (k)	5-6	6-8	7-10	8-12	10-15

Для более наглядного сравнения нескольких гистограмм (например, при сравнении физиологических данных в норме и при патологии) их необходимо строить одну под другой в одном масштабе как по горизонтальной, так и по вертикальной оси.

На рис. 4.7 представлены для сравнения гистограммы, построенные на основании измеренных значений артериального давления у женщин в норме и с диагнозом «гипертоническая болезнь». Видно, что смещается значение μ , в то время как σ почти не изменяется.

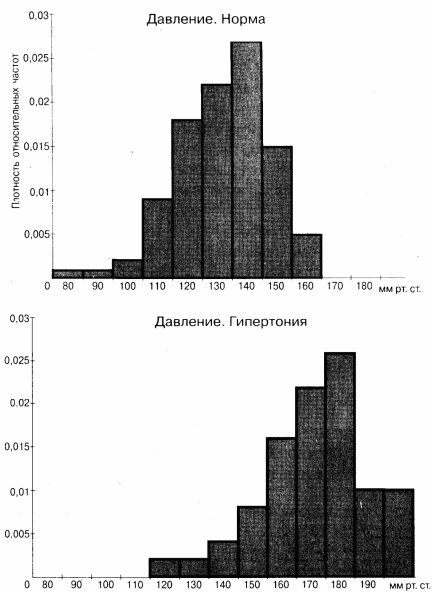


Рис. 4.7. Изменение параметров гистограммы (давление крови)

На рис. 4.8 представлены гистограммы, полученные на основе измерения длительности 100 интервалов RR электрокардиограммы у здорового человека и у больного с диагнозом «мерцательная аритмия». Видно, что μ почти не изменяется, в то время как при аритмии существенно возрастает σ .

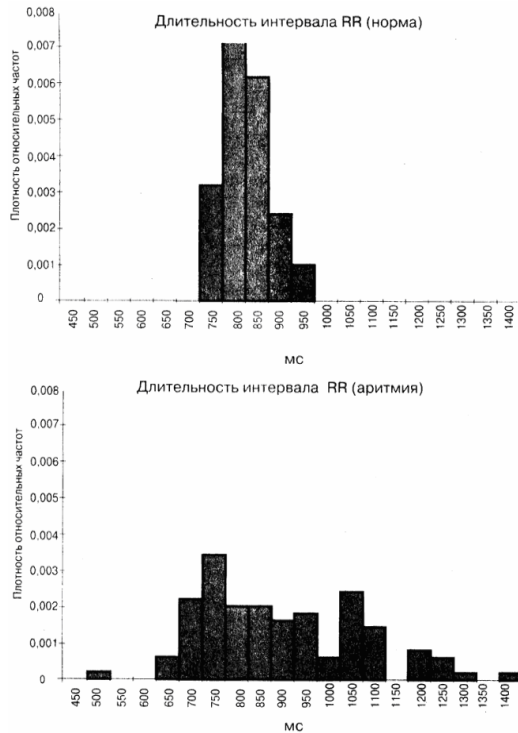


Рис. 4.8. Изменение параметров гистограммы
(ЭКГ - диагностика)

Выравнивание (сглаживание) статистических рядов

При обработке статистического материала часто приходится решать вопрос о том, как подобрать для данного статистического ряда теоретическую кривую распределения, выражающую лишь существенные черты статистического материала, но не случайности, связанные с недостаточным объемом экспериментальных данных. Такая задача называется задачей выравнивания (сглаживания) статистических рядов. Задача сглаживания заключается в том, чтобы подобрать теоретическую плавную кривую распределения, с той или иной точки зрения наилучшим образом описывающую данное статистическое распределение.

Допустим, что величина A подчиняется нормальному закону. Тогда задача сглаживания переходит в задачу о рациональном выборе параметров μ и σ в законе Гаусса. Из теории известно, что прежде всего необходимо вычислить среднее выборочное значение ($x_{вср}$), определяемое для непрерывной случайной величины по формуле:

$$\bar{x}_B = \frac{m_1 x_1^* + m_2 x_2^* + \dots + m_k x_k^*}{m_1 + m_2 + \dots + m_k} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^k m_i x_i^*, \quad (4.1)$$

где m_1, m_2, \dots, m_k - частоты в соответствующих интервалах; $x_1^*, x_2^*, \dots, x_k^*$ - середины интервалов, которые вычисляются по формулам:

$$x_1^* = \frac{x_0 + x_1}{2}, x_2^* = \frac{x_1 + x_2}{2}, \dots, x_k^* = \frac{x_{k-1} + x_k}{2}.$$

Термин «выборочное» означает, что среднее значение вычисляется по данной группе (например, по группе больных, включающей 22 пациента), называемой выборкой.

Кроме среднего выборочного значения случайную величину характеризуют параметром, показывающим, насколько широко разбросаны отдельные значения случайной величины относительно среднего значения, так называемым выборочным средним квадратическим отклонением σ_B .

$$\begin{aligned} \sigma_B &= \sqrt{\frac{m_1(x_1^* - \bar{x}_B)^2 + m_2(x_2^* - \bar{x}_B)^2 + \dots + m_k(x_k^* - \bar{x}_B)^2}{m_1 + m_2 + \dots + m_k}} = \\ &= \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^k m_i(x_i^* - \bar{x}_B)^2}{n}}. \end{aligned} \quad (4.2)$$

Поясним сказанное примером.

Пользуясь данными таблицы на с. 44, вычислить $x_{B \text{ ср}}$ и σ_B .

Вычислим середины интервалов:

$$X_1 = \frac{10 + 15}{2} = 12,5; \dots; X_5 = \frac{30 + 35}{2} = 32,5$$

Подставляя найденные значения и соответствующие частоты в формулы (4.1), (4.2), получаем:

$$\bar{x}_B = \frac{2 \cdot 12,5 + 4 \cdot 17,5 + 8 \cdot 22,5 + 4 \cdot 27,5 + 2 \cdot 32,5}{2 + 4 + 8 + 4 + 2} = 22,5;$$

$$\sigma_B = \sqrt{\frac{2(125-225)^2 + 4(175-225)^2 + 8(225-225)^2 + 4(275-225)^2 + 2(325-225)^2}{20}} \approx$$

$\approx 5,5$.

Напишем выражение нормального закона в этом случае:

$$f(x) = \frac{1}{5,5\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{(x-22,5)^2}{2 \cdot 5,5^2}}$$

Построим на одном графике и гистограмму, и выравнивающую её кривую (рис. 4.6).

Выполнение работы

Все задания выполняются на ПК с помощью стандартных пакетов программ, например, Statgraph, Excel и др.

Задание 1. Проведите анализ кривых распределения случайной величины по нормальному закону.

Для этого:

- 1) запишите закон Гаусса для заданных параметров μ и σ ;
- 2) постройте графики (выберите масштаб, отложите по осям величины и единицы их измерения); сделайте вывод о влиянии μ и σ на положение и форму кривой распределения;
- 3) вычислите интервал 3σ , куда попадают практически все случайные величины. Покажите его на графике.

Варианты изменения μ и σ представлены в таблицах:

а)

μ	25	25	25
σ	2	5	10

б)

μ	25	25	25
σ	2	5	10

в)

Категория	μ , г/л	σ , г/л
Женщины	141	6,6
Мужчины	155	6,7

В таблице в указано содержание гемоглобина в крови.

Задание 2. Постройте и проанализируйте гистограммы плотности относительных частот. Проведите их выравнивание, считая закон распределения нормальным.

Варианты данных измерения длительности интервалов RR

Напомним, что ЭКГ представляет зависимость мгновенных значений разности потенциалов между определенными точками на теле человека (проекции интегрального электрического вектора сердца - ИЭВС) на одно из отведений от времени (рис. 4.9). На рис. 4.9 отмечена длительность интервала RR.

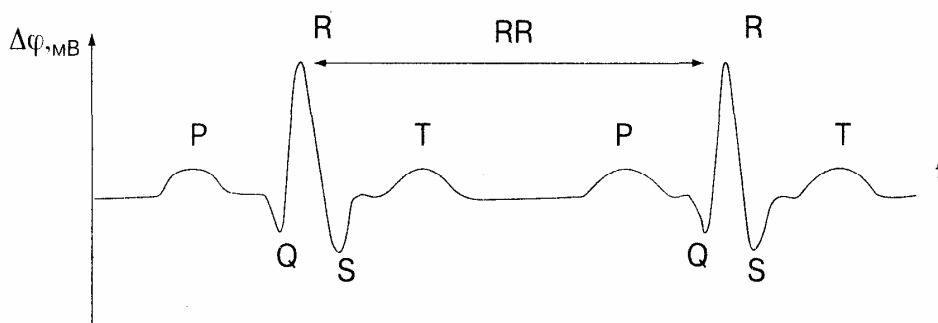


Рис. 4.9. Вид ЭКГ

1) Норма

Измерения длительности 100 интервалов RR (в мс) по ЭКГ здорового человека приведены ниже (RR, мс):

787	801	869	923	872	764	822
943	868	918	881	771	827	907
843	826	826	763	775	873	883
887	896	802	816	925	854	857
764	802	839	822	831	762	755
841	836	799	824	799	773	757
743	819	788	792	752	732	769
864	777	816	734	757	850	805
798	755	807	741	764	799	775
743	780	799	823	757	815	748
778	790	734	788	832	801	728
706	718	744	827	730	753	775
845	791	755	828	773	793	821
730	740	749	808	829	894	824
773	746					

2) Мерцательная аритмия

Измерения длительности 100 интервалов RR (в мс) по ЭКГ больной с диагнозом «мерцательная аритмия» приведены ниже (RR, мс):

864	737	844	761	945	776	412
1013	1012	846	750	934	813	719
735	1077	837	886	710	1054	997
678	897	849	718	789	643	1036
954	699	949	707	685	719	691
813	1268	978	852	700	819	676
1012	766	794	770	708	1012	1321
846	972	832	994	790	619	1149
1123	1011	1023	664	743	896	1047
764	971	882	742	933	794	1019
1188	691	651	1045	1031	690	749
1064	755	1005	833	887	675	743
1193	979	807	710	1012	748	1254
1000	712	630	1189	710	746	694
1173	932					

Мерцательная аритмия возникает обычно в результате мерцания предсердий (мерцания желудочков несовместимы с жизнью, и требуются срочные реанимационные меры, включая дефибрилляцию), при котором общая систола предсердий заменена беспорядочным возбуждением и сокращением отдельных групп мышечных волокон. При мерцании предсердий желудочковые сокращения аритмичны. Часть сердечных сокращений при слабом наполнении желудочков неэффективна, т.е. сопровождается малым сердечным выбросом и отсутствием пульсовой волны. В результате этого число сердечных сокращений будет больше, чем число пульсовых волн (дефицит пульса). Отрицательное воздействие на кровообращение при мерцательной аритмии обусловлено выпадением сокращений предсердий, что уменьшает наполнение желудочков, а также нарушением желудочкового ритма.

3) Синусовая тахикардия

Измерения длительности 100 интервалов RR (в мс) по ЭКГ больной с диагнозом «синусовая тахикардия» (больная на первые сутки после нейрохирургического вмешательства) приведены ниже (RR, мс):

500	495	497	499	499	499	500
497	496	492	495	496	492	497
499	497	491	497	490	487	489
494	496	499	491	497	488	493
492	493	483	498	488	488	497
499	495	484	483	481	489	481
481	495	489	497	486	489	488
492	497	490	492	498	491	499
498	499	494	499	496	496	497
499	492	498	490	491	491	493
494	487	491	489	499	499	499
491	490	499	497	496	493	494
497	499	494	495	487	489	488
489	485	483	486	482	480	499
484	484					

Синусовая тахикардия в условиях патологии встречается при интоксикациях, шоке, неврастении и т.д. Синусовая тахикардия сопровождается увеличением числа сокращений сердца от 90 и более в минуту.

4) Желудочковая экстрасистолия

Измерение длительности 100 интервалов RR в мс по ЭКГ больной с диагнозом «желудочковая экстрасистолия» (больная на шестые сутки после нейрохирургического вмешательства) приведены ниже (RR, мс):

720	723	722	44	1000	749	739
726	728	449	1039	754	712	729
743	420	1094	797	742	1096	776
420	1095	760	796	719	776	744
736	733	794	775	748	719	728
735	737	744	791	739	773	793
738	728	720	466	1069	716	720
703	696	673	670	634	619	696
702	702	737	709	749	797	720
719	724	721	767	416	1028	787
715	728	794	1417	739	743	728

720	724	714	719	741	722	773
744	423	1019	749	724	743	736
738	727	794	760	700	777	745
760	764					

Экстрасистолия характеризуется преждевременным возбуждением и сокращением сердца в результате появления дополнительного очага повышенной возбудимости в сердечной мышце. После такого преждевременного сокращения очередной импульс, возникающий в синусовом узле, не реализуется, и поэтому следует более длинная пауза, которую больные нередко ощущают как «замирания», перебои в работе сердца. Экстрасистолы могут возникать при всех органических заболеваниях сердца, прежде всего при ишемической болезни, пороках и т.д., но могут наблюдаться и без органической патологии, прежде всего при неврастении.

Вычислите среднее выборочное значение $x_{в\ ср}$ и выборочное среднеквадратичное отклонение $\sigma_{в}$. Проведите сглаживание гистограмм с помощью функций нормального распределения. Для сравнения данных некоторых сердечных аритмий с данными в норме заполните таблицу.

Вид сердечной аритмии	Минимальное значение X_{\min}	Величина интервала Δx	Среднее значение $X_{в\ ср}$	Среднее квадратическое отклонение $\sigma_{в}$	Частота ритма сердца $N=1/X_{в\ ср}$	Закон Гаусса для конкретных параметров
Норма						
Мерцательная аритмия						
Синусовая тахикардия						
Желудочковая экстрасистолия						

Варианты данных измерения артериального давления

1) Норма

Данные о систолическом давлении крови x (мм рт.ст.) у 100 практически здоровых женщин в возрасте 60-69 лет приведены ниже. Постройте гистограмму плотности относительных частот. Вычислить $x_{B\text{ ср}}$, σ_B .

x (мм рт.ст.)	123	111	113	116	110	127	140	151	102			
122	95	101	113	137	119	128	120	129	73	144	123	151
159	111	125	117	110	126	95	134	96	122	123	140	133
115	106	137	128	117	110	136	127	143	113	101	81	121
150	102	132	131	160	134	123	149	144	113	128	111	142
150	112	154	136	113	127	123	142	146	115	143	79	122
127	116	140	128	151	101	152	130	141	153	95	126	144
96	149	145	111	122	124	135	120	142	151	100		

Указание. Для выполнения задания рекомендуется принять $x_0=70$, $x_k=160$, число интервалов $k=9$.

2) Гипертоническая болезнь

Значения артериального давления крови x (мм рт.ст.) у 50 женщин в возрасте 60-69 лет с диагнозом «гипертоническая болезнь» составляют:

156	193	171	177	161	192	146	169	119
187	137	165	162	151	126	1557	144	196
192	165	158	172	162	194	161	171	193
119	187	148	169	171	126	173	157	172
119	186	159	175	165	172	166	149	180
192	176	178	166					

Используя ПК, получите гистограмму плотности относительных частот и рассчитайте $x_{B\text{ ср}}$, σ_B .

Указание. Рекомендуется выбрать $x_{\min} = 110$, $x_{\max}=200$, $n=7$. Гистограмму задания 2 следует построить под гистограммой задания 1, используя числовую ось с тем же началом и масштабной единицей, что и в задании 1.

Сравните результаты, полученные в задании 2 с результатами задания 1. Обсудите с преподавателем, вывод запишите в протокол отчета.

Контрольные вопросы и задания

1. Почему выводы и полученные данные в ходе эксперимента не являются надёжными? Зачем производить математическую обработку результатов?

2. Что такое случайная величина? Приведите примеры случайных величин.

3. Что такое функция плотности распределения вероятностей?

4. Сформулируйте закон Гаусса.

5. Какие существуют способы оценки диапазона возможных значений случайной величины?

Лабораторная работа 5

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДЫ НАИМЕНЬШИХ КВАДРАТОВ И ЭЛЕМЕНТОВ КОРРЕЛЯЦИОННОГО АНАЛИЗА ПРИ ОБРАБОТКЕ МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКОЙ ИНФОРМАЦИИ

Цель работы: изучить метод наименьших квадратов для случая линейной зависимости между изучаемыми величинами. Научиться определять наличие и тесноту линейной корреляции двух исследуемых величин; находить уравнение регрессии и предсказывать по нему значение зависимой величины.

Краткая теория

Метод наименьших квадратов

Метод наименьших квадратов используется для расчета параметров функции заданного вида, наилучшим образом отражающей экспериментально наблюдаемую зависимость между двумя величинами.

Корреляционный анализ позволяет изучить связи между многими признаками организма - морфологическими, физиологическими, а также между различными биологическими процессами.

Пусть производятся опыты, цель которых - исследование зависимости некоторой величины y от величины x , например, зависимости температуры электролита от времени воздействия на него поля аппарата УВЧ. Исследуемые величины связаны определенной функциональной зависимостью $y = f(x)$, содержащей в общем случае некоторое количество постоянных (параметров) a, b, c, \dots

Пусть в результате измерений величин x и y получены результаты, представленные в таблице:

X	X_1	X_2	X_3	X_n
Y	Y_1	Y_2	Y_3	Y_n

где n - общее количество экспериментально зарегистрированных пар значений изучаемых величин.

Если полученные данные изобразить в виде точек на графике с координатами x , y , то через совокупность этих точек можно провести сглаживающую (аппроксимирующую линию) вида $y = f(a, b, c, \dots)$ (см. рис. 5.1).

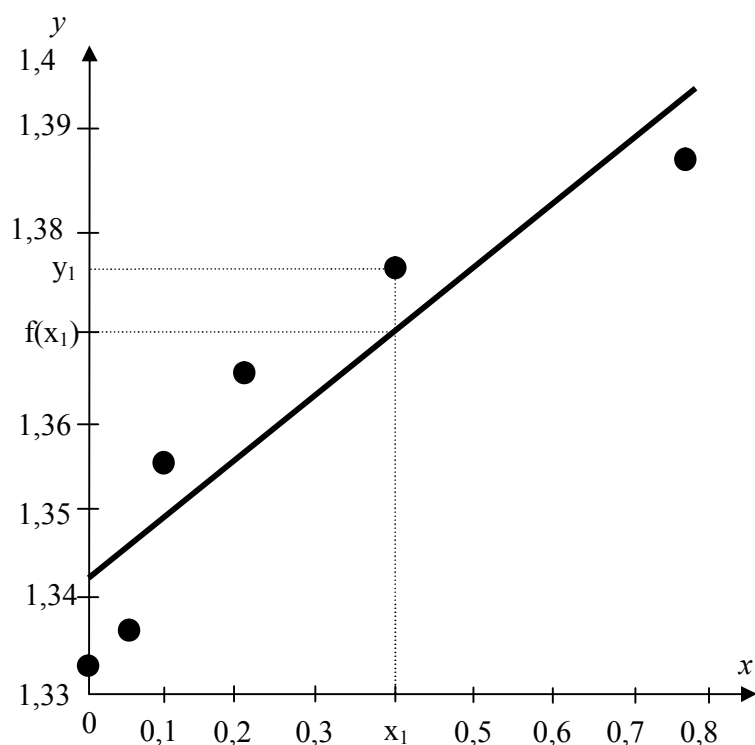


Рис. 5.1. Экспериментальные данные и сглаживающая прямая

Как видно из рис. 5.1, большинство точек обычно не лежат на сглаживающей линии, а имеют некоторый разброс относительно ее. Это объясняется тем, что каждое из измерений величин x и y получено с некоторой погрешностью, а в случае изучения биологических характеристик имеются еще вариации, связанные с индивидуальными особенностями организмов.

Метод наименьших квадратов позволяет найти параметры сглаживающей линии $y = f(a, b, c, \dots)$, являющейся графиком искомой зависимости, так, чтобы ординаты найденной линии минимально отличались от соответствующих экспериментальных значений. Полученное таким образом уравнение сглаживающей линии будет наилучшим приближением к экспериментальным данным.

В соответствии с методом наименьших квадратов сумма квадратов отклонений ординат экспериментальных точек от соответствующих (имеющих те же абсциссы) ординат точек сглаживающей кривой должна быть минимальной.

$$U(a, b, c, \dots) = \sum_{i=1}^n [y_i - f(x_i, a, b, c, \dots)]^2. \quad (5.1)$$

В соответствии с правилами исследования функции нескольких переменных для существования минимума функции $U(a, b, c, \dots)$ должны выполняться следующие условия для частных производных этой функции первого и второго порядка:

$$\begin{aligned} \frac{\partial U}{\partial a} = 0; \quad \frac{\partial U}{\partial b} = 0; \quad \frac{\partial U}{\partial c} = 0; \quad \dots \\ \frac{\partial^2 U}{\partial a^2} > 0; \quad \frac{\partial^2 U}{\partial b^2} > 0; \quad \frac{\partial^2 U}{\partial c^2} > 0; \quad \dots \end{aligned} \quad (5.2)$$

Используя эти условия, можно получить необходимое количество алгебраических уравнений для нахождения искомых параметров a, b, c, \dots

В качестве примера рассмотрим простейший случай, когда сглаживающая функция линейна, т.е. имеет вид $y = ax + b$.

Сглаживающая функция имеет такой вид, если из теории известно, что изучаемые величины находятся между собой в линейной зависимости.

Наоборот, к предположению о линейной зависимости между величинами (если из теории это не известно) можно прийти, если расположение экспериментальных точек на графике позволяет думать, что сглаживающая линия является прямой.

Подставляя эту функцию в уравнение (5.1), получим

$$U(a, b) = \sum_{i=1}^n [y_i - (ax_i + b)]^2. \quad (5.3)$$

Найдем частные производные этой функции и используем условия (5.2):

$$\begin{aligned} \frac{\partial U}{\partial a} = 2 \sum_{i=1}^n [y_i - (ax_i + b)](-x_i) = 0; \\ \frac{\partial U}{\partial b} = 2 \sum_{i=1}^n [y_i - (ax_i + b)](-1) = 0; \end{aligned} \quad (5.4)$$

$$\begin{aligned}\frac{\partial^2 U}{\partial a^2} &= 2 \sum_{i=1}^n x_i^2 > 0; \\ \frac{\partial^2 U}{\partial b^2} &= 2 \sum_{i=1}^n 1 = 2n > 0.\end{aligned}\tag{5.5}$$

Поскольку система неравенств (5.5) удовлетворяется при любых параметрах a и b , то, решив систему уравнений (5.4), получим

$$\begin{aligned}a &= \frac{n \sum_{i=1}^n x_i y_i - \sum_{i=1}^n x_i \sum_{i=1}^n y_i}{n \sum_{i=1}^n x_i^2 - \left(\sum_{i=1}^n x_i \right)^2}; \\ b &= \frac{\sum_{i=1}^n x_i^2 \sum_{i=1}^n y_i - \sum_{i=1}^n x_i \sum_{i=1}^n x_i y_i}{n \sum_{i=1}^n x_i^2 - \left(\sum_{i=1}^n x_i \right)^2}.\end{aligned}\tag{5.6}$$

Пример. При измерении сопротивления медного стержня в процессе нагревания получены следующие данные:

Температура, °С	Сопротивление, Ом
19,1	76,3
29	77,8
30,1	79,75
36	80,8
40	82,35
45,1	83,9
50	85,1

Методом наименьших квадратов найдем параметры линейной аппроксимирующей функции $R = at + b$ (R - сопротивление, t - температура стержня). Вводя последовательно пары чисел в компьютер, получаем график сглаживающей прямой (см. рис. 5.2), а также параметры этой прямой $a = 0,2986$ и $b = 70,224$.

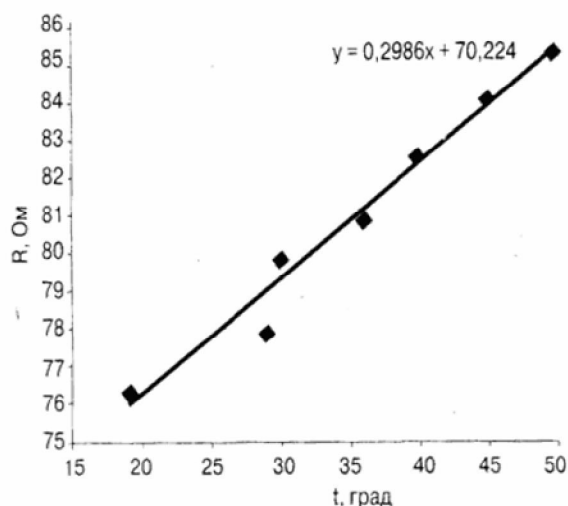


Рис. 5.2. Зависимость сопротивления медного стержня от температуры

Линейная корреляция

Многие из явлений, представляющих интерес для медицинской науки, находятся во взаимной связи между собой. Так как учесть все факторы, оказывающие влияние на изучаемое явление, практически невозможно, то принимают во внимание только важнейшие из них, оказывающие наибольшее влияние или представляющие наибольший интерес. В таких случаях говорят о корреляционной связи между исследуемыми величинами.

Зависимость величины y от величины x называется корреляционной, если при изменении величины x меняется математическое ожидание (среднее значение) величины y .

Прежде всего, при изучении корреляционной зависимости важно определить, насколько она приближается к функциональной, если только она вообще существует.

Напомним, что две величины связаны функциональной зависимостью, если каждому допустимому значению одной из них соответствует одно вполне определенное значение другой величины. Некоторые предварительные весьма приближенные суждения о характере связи между двумя величинами x и y можно сделать по расположению точек корреляционного поля (см. рис. 5.3). Вытянутый характер кривой, охватывающей точки корреляционного поля, и угол с осями графика, близкий к 45° , указывают на наличие корреляционной связи.

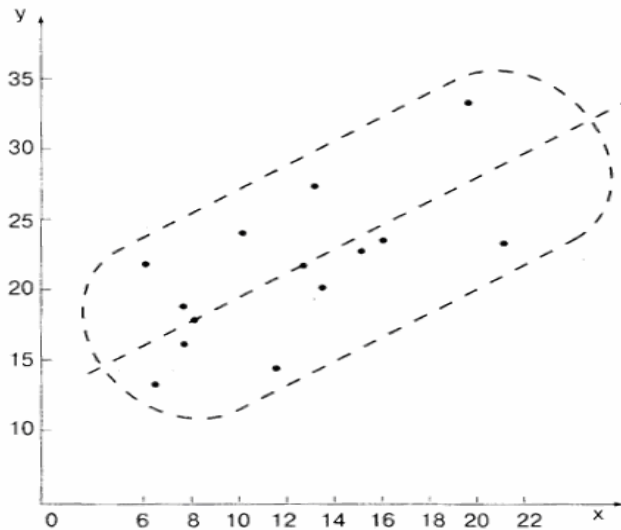


Рис. 5.3. - Корреляционное поле

Если при построении графика окажется, что длинная ось эллипса параллельна одной из осей координат или скопление точек образует круг, то можно предположить, что между исследуемыми величинами связь отсутствует. По направлению линейная связь может быть прямой (положительной), когда с увеличением значений одной величины увеличиваются в среднем значения другой, и обратной (отрицательной).

Для оценки тесноты связи вводят так называемый генеральный коэффициент линейной корреляции:

$$r^{\Gamma} = \frac{M[(X - M(X))(Y - M(Y))]}{\sigma_x^{\Gamma} \cdot \sigma_y^{\Gamma}}, \quad (5.7)$$

где x , y - исследуемые величины; M - символ математического ожидания соответствующей величины; σ_x^{Γ} , σ_y^{Γ} - среднеквадратичные отклонения величин x и y соответственно:

$$\sigma_x^{\Gamma} = \sqrt{M[(X - M(X))^2]},$$

$$\sigma_y^{\Gamma} = \sqrt{M[(Y - M(Y))^2]}.$$

На практике, имея данные не о всех значениях изучаемых величин, а только те, что получены в эксперименте, вычисляют выборочный линейный коэффициент корреляции, приближенно равный генеральному. Его выражение нетрудно получить из (5.7), понимая под математическим ожиданием среднее арифметическое значение соответствующей величины:

$$r = \frac{\overline{xy} - \bar{x}\bar{y}}{\sigma_x \sigma_y}, \quad (5.8)$$

где x, y, xy (с чертой) - значения соответствующих величин, σ_x, σ_y - выборочные среднеквадратические отклонения x и y соответственно:

$$\sigma_x = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n}}$$

$$\sigma_y = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2}{n}}$$

где \sum - символ суммирования по всем измерениям; n - количество измеренных пар значений (x, y) .

Последние легко привести к более удобному виду:

$$\sigma_x = \sqrt{x^2 - (\bar{x})^2}; \sigma_y = \sqrt{y^2 - (\bar{y})^2} \quad (5.9)$$

Величина коэффициента корреляции колеблется от 0 до ± 1 . При $r = 0$ связь отсутствует, при $r = \pm 1$ связь полная. В последнем несложно убедиться, подставив в формулу (5.8) общий вид линейной функции $y = ax + b$ и преобразовав ее (Проверьте!). Знак коэффициента корреляции показывает направление связи, а абсолютная величина - тесноту связи.

Чем ближе к прямой группируются точки, тем больше абсолютное значение r (см. рис. 5.4).

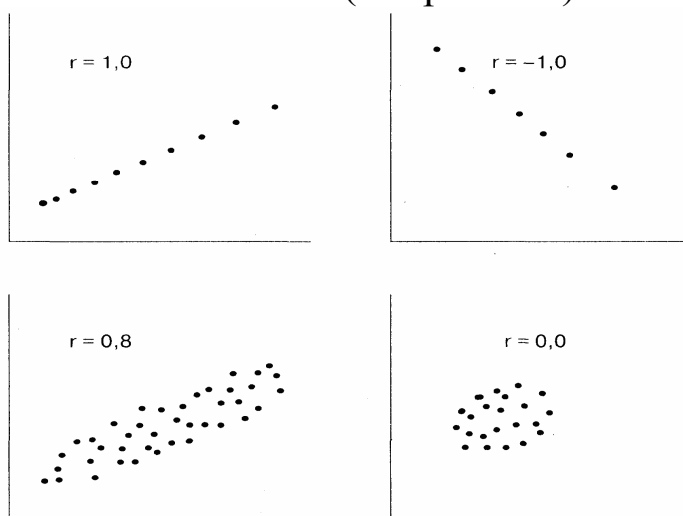


Рис. 5.4. Примеры зависимостей и соответствующие им значения r

Принята следующая градация оценки тесноты линейной корреляционной связи по значению коэффициента корреляции:

Теснота связи	Величина коэффициента корреляции при наличии	
	прямой связи (+)	обратной связи (-)
Связь отсутствует	0	0
слабая	от 0 до +0,3	от 0 до -0,3
умеренная	от +0,3 до +0,7	от -0,3 до -0,7
сильная	от +0,7 до +1,0	от -0,7 до -1,0
Связь полная (функциональная)	+ 1,0	-1,0

Коэффициент регрессии ρ_{yx} и параметр уравнения прямой b находятся методом наименьших квадратов. Коэффициент регрессии показывает, насколько изменяется в среднем величина y при некотором изменении величины x :

$$(y - \bar{y}) = \rho_{yx} (x - \bar{x}). \quad (5.10)$$

Между коэффициентом регрессии и коэффициентом корреляции существует тесная связь:

$$\rho_{yx} = r \frac{\sigma_y}{\sigma_x}. \quad (5.11)$$

Зная уравнение регрессии, можно предсказать значение величины y при любом значении x .

Пример. В эксперименте на 13 кошках получены следующие данные об интрасклеральном (x) и внутриглазном давлении (y):

X	19,8	7,8	12,7	13,4	10,3	13,7	16,2	15,4	21,5	8,1	11,7	7,6	6,1
Y	32,5	16,1	21,3	26,8	23,4	19,7	22,9	22,2	22,6	17,6	14,3	18,6	21,4

Необходимо:

а) установить, имеется ли корреляционная связь между этими величинами и какова ее теснота;

б) составить уравнение регрессии и найти ожидаемое значение y для $x = 18$.

Решение. Построим график, отложив вдоль оси абсцисс уровень интрасклерального давления (x), а вдоль оси ординат - уровень внутриглазного давления (y). Тогда каждой паре

значений x и y будет соответствовать определенная точка (рис. 5.1). По характеру расположения точек можно предположить существование линейной корреляционной зависимости.

Для оценки тесноты связи вычислим коэффициент линейной корреляции r по формуле (5.8) с учетом (5.9):

$$\bar{x} = \frac{1}{13}(19,8 + 7,8 + \dots + 6,1) = 12,64;$$

$$\bar{y} = \frac{1}{13}(32,5 + 16,1 + \dots + 21,4) = 21,49;$$

$$\bar{x}^2 = \frac{1}{13}((19,8)^2 + (7,8)^2 + \dots + (6,1)^2) = 180,5;$$

$$\bar{y}^2 = \frac{1}{13}((32,5)^2 + (16,1)^2 + \dots + (21,4)^2) = 482,2;$$

$$\overline{yx} = \frac{1}{13}(19,8 \cdot 32,5 + 7,8 \cdot 16,1 + \dots + 6,1 \cdot 21,4) = 283,9;$$

$$\sigma_x = \sqrt{180,5 - (12,64)^2} = 4,55;$$

$$\sigma_y = \sqrt{482,2 - (21,49)^2} = 4,51;$$

$$r = \frac{283,9 - 12,64 \cdot 21,49}{4,55 \cdot 4,51} = 0,593.$$

Пользуясь таблицей градации оценки тесноты связи, делаем вывод: связь y с x положительная, умеренная. По формуле (5.11) находим коэффициент регрессии:

$$\rho_{yx} = 0,598 \frac{4,51}{4,55} = 0,593.$$

Далее, подставляя его в формулу (10) и выражая y , запишем уравнение регрессии в виде:

$$y = 0,593x + 14.$$

Наконец, вычисляем ожидаемое значение y при $x = 18$:

$$y(18) = 0,593 \cdot 18 + 14 = 24,7.$$

Выполнение работы

С помощью компьютера выполните следующие задания:

Задание 1. Методом наименьших квадратов найдите параметры линейной аппроксимирующей функции и постройте ее график.

Задание 2. Определите наличие и тесноту линейной корреляционной связи, найдите уравнение линейной регрессии.

Варианты экспериментальных данных

Вариант 1. У 10 человек были исследованы проницаемость сосудов сетчатки (x) и ее электрическая активность (y):

x	19,5	15,0	13,5	23,3	6,3	2,5	13,0	1,8	6,5	1,8
y	0,0	38,5	59,0	97,4	119,2	129,5	198,7	248,7	318,0	438,5

Вариант 2. У взрослых мужчин были измерены рост (x) и вес (w):

x (см)	165	176	175	168	167	172	175	180
w (кг)	56	75	70	61	62	63	72	80

Вариант 3. Получены данные о наибольшей массе растворимого азотнокислого натрия (m) от температуры раствора (t):

t (C°)	0	4,0	10,0	15,0	21,0	29,0	36,0
m (г)	66,7	71,0	76,3	80,6	85,7	92,9	99,4

Вариант 4. При измерении активности (A) у препарата с помощью газоразрядного счетчика через равные промежутки времени (t) были получены данные:

t (мин)	0	2	4	6	8	10	12	14	16	18
A , с ⁻¹	12	23	17	36	9	19	25	7	16	26

Вариант 5. При изучении зависимости показателя преломления (n) раствора от концентрации в нем соли (C) получены следующие результаты:

C (г/см ³)	0,000	0,025	0,050	0,10	0,20	0,4	0,8
n	1,333	1,338	1,340	1,350	1,362	1,377	1,389

Контрольные вопросы и задания

1. Какой метод нужно применить для расчета параметров функции заданного вида? Объясните принцип метода наименьших квадратов.

2. Что такое линейная корреляция и корреляционные связи?

3. Как можно судить о корреляционной связи по коэффициенту корреляции?

4. Что такое коэффициент регрессии?

5. Какова связь коэффициента регрессии и коэффициента корреляции?

Лабораторная работа 6

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ ВЕЩЕСТВ В РАСТВОРЕ С ПОМОЩЬЮ ФОТОЭЛЕКТРОКОЛОРИМЕТРА

Приборы и принадлежности:

фотоэлектроколориметр, исследуемое вещество.

Цель работы: изучить законы поглощения света как теоретическую основу спектрофотометрии. Понимать принципы применения фотоколориметрии в биологии, медицине и фармации. Выработать умение измерять концентрации веществ с помощью фотоэлектроколориметра.

Краткая теория

Свойство атомов и молекул поглощать свет определенных длин волн, характерных для данного вещества, широко используется в медицине и фармации для качественных и количественных исследований. Измерение спектров поглощения позволяет судить о концентрации различных химических веществ. Для измерения концентрации веществ по спектрам поглощения их растворов используют прибор фотоэлектроколориметр.

Спектры поглощения веществ определяются разностью энергий между энергетическими уровнями молекул, составляющими вещество, а также вероятностями перехода между ними. Разность энергий определяет длину волны, на которой происходит поглощение света, вероятность перехода - коэффициент поглощения вещества. Для веществ в растворе характерны широкие полосы поглощения, обусловленные электронными, колебательными и вращательными уровнями.

При прохождении через вещество свет поглощается. Рассмотрим слой толщины l , в котором в концентрации c находится вещество, поглощающее свет. В этом случае, согласно закону Бугера-Ламберта-Бера, интенсивность I света, прошедшего через

слой, и интенсивность I_0 света, падающего на него, связаны соотношением:

$$I = I_0 e^{-kcl}, \quad (6.1)$$

- где $e \sim 2,72$ - основание натуральных логарифмов, k - коэффициент пропорциональности, характерный для данного вещества и для данной длины волны. Для практических приложений закон (6.1) записывается в виде

$$I = I_0 10^{-\varepsilon_\lambda cl}, \quad (6.2)$$

- где величина cl - молярный коэффициент поглощения на длине волны l . Показатель степени в формуле (2), взятый с обратным знаком, называют оптической плотностью:

$$D = \varepsilon_\lambda cl. \quad (6.3)$$

Как видно из формул (6.1) и (6.2), измерив отношение интенсивностей падающего и прошедшего света и зная величину cl , можно определить концентрацию с вещества.

На практике измеряют две физические величины: оптическую плотность D и коэффициент пропускания t . Коэффициент пропускания t - это отношение интенсивности света, прошедшего через образец, к интенсивности падающего света:

$$t = \frac{I}{I_0}. \quad (6.4)$$

Значения t могут меняться от 0 (весь свет поглощается) до 1 (весь свет проходит), обычно их выражают в процентах.

Как видно из формулы (2), оптическая плотность D - это десятичный логарифм отношения падающего и прошедшего света. Она связана с коэффициентом пропускания:

$$D = \lg\left(\frac{I_0}{I}\right) = \lg\left(\frac{1}{t}\right). \quad (6.5)$$

Как видно из формулы (6.5), когда коэффициент пропускания x падает от 100% до 0%, оптическая плотность D соответственно растет от 0 до ∞ . Используются следующие единицы измерений: t и D - безразмерные величины; концентрация поглощающего вещества $[c] = \text{моль/л}$; $[l] = \text{см}$; $[cl] = \text{л/моль} \cdot \text{см}$.

Спектром поглощения называют зависимость молярного коэффициента поглощения cl от длины волны l . Спектры по-

глощения можно измерять различными приборами. В видимом диапазоне (380-760 нм) спектр поглощения определяет цвет вещества, поэтому прибор для измерения спектров называется колориметром (от лат. *color* - цвет). Современные колориметры позволяют производить измерения в более широком спектральном диапазоне от ультрафиолета до ближнего инфракрасного (315-980 нм).

Примеры применения фотоэлектроколориметра в биологии, медицине и фармации

1. Измерение концентрации окрашенных веществ (например, некоторых витаминов и лекарств) в растворе.
2. Определение рН среды по цвету добавленных в раствор рН-индикаторов.
3. Определение активности ферментов по интенсивности окрашивания раствора после добавления соответствующих химических реагентов, дающих окрашенные реакции с продуктами ферментативной реакции (например, оценка активности АТФ по скорости образования неорганического фосфата).
4. Оценка скорости роста микроорганизмов по увеличению оптической плотности культуральной жидкости вследствие рассеяния света на микроорганизмах.

Принципиальная оптическая схема фотоэлектроколориметра

Термин «фотоэлектроколориметр» означает, что это прибор для измерения цвета (колориметр), в котором оптическое излучение (фото) преобразуется в электрический сигнал (электро). Фотоэлектроколориметр состоит из следующих основных блоков (рис. 6.1): источника света (И), светофильтров (СФ), двух кювет: К1 - кюветы сравнения, заполненной растворителем, и К2 - кюветы для исследуемого раствора, полупрозрачного зеркала (З), расщепляющего прошедший пучок света на два фотоэлемента (Ф1) и (Ф2).

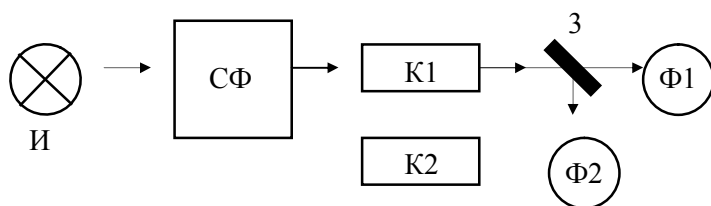


Рис. 6.1. Принципиальная оптическая схема фотоэлектроколориметра

Источник света создает излучение в широком диапазоне длин волн, светофильтр выделяет из него нужный участок спектра. Этот свет далее проходит либо через кювету (К2), в которую помещают исследуемый раствор, либо через кювету сравнения (К1), в которой находится растворитель. Пучок света, прошедший через кювету, расщепляется полупрозрачным зеркалом на два пучка, интенсивности которых регистрируются фотоприемниками Ф1 и Ф2. Два фотоприемника используются для измерений в разных участках спектра.

Оптическая схема фотоэлектроколориметра типа КФК-2МП, используемого в работе, естественно, существенно сложнее. Кроме того, в этом приборе применяется микропроцессорная система для получения и обработки данных. Фотоэлектроколориметр (рис. 6.2) конструктивно состоит из колориметрического блока (1) и вычислительного блока (2), в котором размещена микропроцессорная система (МПС).

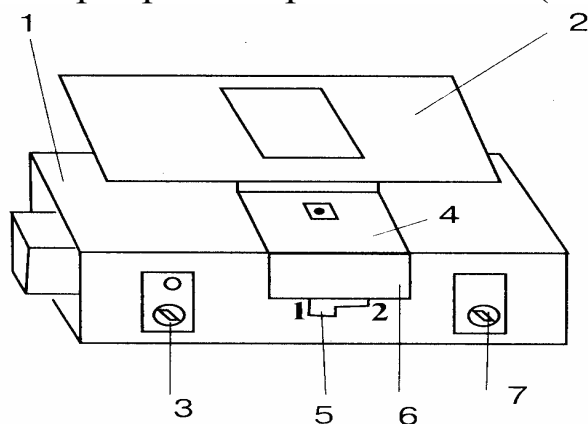


Рис. 6.2. Блок-схема колориметра КФК-2МП

В колориметрическом блоке (1) размещен источник света и 11 стеклянных светофильтров, вмонтированных в диск. Нужный светофильтр вводится в световой пучок поворотом диска (ручка (3)). Рабочее положение каждого светофильтра фиксируется. Длина волны, которую пропускает данный фильтр,

отсчитывается на ручке (3) против белой риски, нанесенной на корпус прибора.

В кюветном отделении (4) в кюветодержателе, устанавливаемом на подвижный столик, располагают кюветы. Кюветодержатель устанавливают так, чтобы две маленькие пружины находились со стороны источника света. Ввод в световой пучок той или иной кюветы осуществляют перемещением ручки (5) влево или вправо до упора (положение «1» или «2»). В положении «1» в световой пучок вводится кювета с растворителем, в положении «2» - с исследуемым раствором. Кюветное отделение закрывается крышкой (6).

При открытой крышке специальная шторка перекрывает световой пучок, чтобы не засвечивать фотоприемники. Дело в том, что фотоприемники даже в отсутствии освещения дают на выходе «темновой» сигнал, свойства которого меняются после изменения освещенности и искажают результаты измерений. Поэтому при открытом кюветном отделении световой пучок перекрывают, а после закрытия крышки необходимо подождать некоторое время, прежде чем производить измерения.

Переключение фотоприемников для регистрации в фиолетовой или красной областях спектра осуществляют с помощью ручки (7).

В вычислительный блок 2 (рис. 6.2) входит микропроцессорная система (МПС).

На передней панели МПС расположены клавиатура, цифровое табло и два сигнальных светодиода. Клавиатура состоит из 24 клавиш. Клавиша «пуск» предназначена для запуска микропроцессорной системы. Клавиши «Ъ» и «с» предназначены для вызова на цифровое табло из памяти МПС значений соответствующих коэффициентов для их контроля или ввода новых значений. Клавиша «сбр» (сброс) предназначена для стирания значения вызванного коэффициента (в случае необходимости задания нового значения).

Клавиши «О», «1-9», «←» «,» предназначены для набора на цифровом табло МПС нового значения коэффициента «Ъ» или «с».

Клавиша «УТВ» (утверждение) предназначена для записи в память МПС нового значения коэффициента, набранного на цифровом табло.

Клавиши «К(1)», «т(2)», «D(5)», «С(4)» предназначены для выполнения калибровки прибора, т.е. установки 100%-го пропускания, измерений коэффициента пропускания, оптической плотности исследуемого вещества, концентрации вещества в растворе.

Клавишей «А(3)» производится измерение активности. Клавиша «Ц/Р» предназначена для перевода МПС в один из двух режимов выполнения измерений: режим одиночных (разовых «Р») измерений или режим циклических (Ц) измерений. В режиме одиночных измерений измерения выполняются один раз при нажатии соответствующей клавиши, в режиме циклических измерений первое измерение производится при нажатии соответствующей клавиши, затем они повторяются циклически с периодом 5 с до тех пор, пока МПС не будет переведена в режим выполнения одиночных измерений. Перевод МПС из режима циклических измерений в режим одиночных измерений и обратно происходит при нажатии клавиши «Ц/Р». Сигнальный светодиод «Ц» и сигнальный светодиод «Р» служат для указания режима измерения. В режиме одиночных измерений горит светодиод «Р», в циклическом - горит светодиод «Ц».

Цифровое табло состоит из 6 индикаторов. Первый индикатор служит для отображения одного из символов «1», «2», «3», «4», «5», «0», появляющегося при нажатии одной из клавиш «К (1)», «т(2)», «А (3)», «С (4)», «D (5)» соответственно и при проверочном измерении «нулевого отсчета» «Ш (0)», т.е. темного отсчета при перекрытом световом потоке. Индикаторы 2–6 служат для вывода результатов измерений и значений параметров «с» и «Ь».

Принцип действия колориметра основан на поочередном измерении светового потока F_0 , прошедшего через растворитель, по отношению к которому производится измерение и потока F , прошедшего через исследуемую среду.

Световые потоки F_0 , F фотоприемниками преобразуются в электрические сигналы U_0 и U , которые обрабатываются мик-

роЭВМ колориметра. Результаты представляются на цифровом табло в виде коэффициента пропускания, оптической плотности, концентрации, активности.

С помощью микроЭВМ рассчитывается коэффициент пропускания исследуемого раствора по формуле

$$t = \left(\frac{U - U_T}{U_0 - U_T} \right), \quad (6.6)$$

где U_T - величина темного сигнала при перекрытом световом потоке.

Оптическая плотность исследуемого раствора рассчитывается по формуле

$$D = \lg\left(\frac{1}{t}\right) = -\lg\left(\frac{U - U_T}{U_0 - U_T}\right). \quad (6.7)$$

Измерение концентрации исследуемого раствора на колориметре возможно при соблюдении основного закона светопоглощения, закона Бугера-Ламберта-Бера, т.е. при линейной зависимости оптической плотности D_j исследуемого раствора от концентрации c_j .

Концентрация исследуемого раствора рассчитывается ЭВМ по формулам

$$D_j = c + bc_j, \quad (6.8)$$

$$c_j = \frac{D_j - c}{b}, \quad (6.9)$$

где c , b - коэффициенты, определяемые исследователем по градуировочной характеристике.

Выполнение работы

Внимание! 1. Микропроцессорная система (МПС), как и любая ЭВМ, работает строго по программе. При выполнении команд описания типа «открыть крышку» или «закрыть крышку» срабатывают специальные микропереключатели, которые включают нужные разделы программы, поэтому обращайтесь внимание на точное выполнение подобных команд.

2. Микропроцессорная система (МПС) представляет собой универсальное устройство, с этим связано использование двой-

ных обозначений для каждого параметра: буквенного и цифрового.

Задание 1. Проведите метрологическую проверку колориметра.

1. Подсоедините колориметр к сети 220 В, 50/60 Гц, откройте крышку кюветного отделения и включите тумблер «сеть», при этом должна загореться сигнальная лампа.

Нажмите клавишу «пуск» - на цифровом табло появится мигающая запятая и включится индикатор «Р».

Если запятая не появилась - повторно нажмите «пуск».

Выдержите колориметр во включенном состоянии в течение 5 мин. при открытой крышке кюветного отделения.

В процессе прогрева прибора измерьте диапазон длин волн, видимых глазом человека. Вращая рукоятку выбора светофильтра, установите светофильтр 340 нм. Поместите в кюветное отделение около выхода светового пучка после светофильтра лист белой бумаги.

Переключая рукоятку выбора светофильтра в сторону увеличения длин волн, зафиксируйте момент, когда появится цветное пятно на бумаге, запишите соответствующее значение длины волны. Затем увеличивайте далее длину волны, отмечая длины волн, соответствующие голубому, зеленому, оранжевому и красному излучению. При дальнейшем вращении зафиксируйте момент, когда изображение пятна пропадет - это граница инфракрасного излучения. Составьте таблицу длин волн, соответствующих границам восприятия глаза человека, а также указанным выше цветам.

2. Крышку кюветного отделения закройте и откройте. По истечении 5 с нажмите клавишу «Ш (0)». На цифровом табло справа от мигающей запятой высветится значение нулевого отсчета n_0 , а слева - символ «0». Значение n_0 должно быть не менее 0,001 и не более 1,000.

3. В режиме одиночных измерений - горящий индикатор «Р» - произведите измерение коэффициентов пропускания контрольных светофильтров.

Для этого ручкой 3 установите светофильтр 540 нм; ручкой 6 установите соответствующий фотоприемник «315-540». Закройте

крышку кюветного отделения. Подождите 1 мин. для выдерживания фотоприемника в освещенном состоянии (время выдерживания удлиняют до 5 мин. после длительного, более 5 мин., нахождения колориметра при открытой крышке кюветного отделения). Нажмите клавишу «К(1)». На цифровом табло слева от мигающей запятой загорается символ «1». Установите контрольный светофильтр «К-1» во входное окно кюветного отделения. Закройте крышку. Через 1 мин. нажмите клавишу «х(2)». На цифровом табло слева от мигающей запятой появится символ «2», справа - отсчет коэффициента пропускания. Запишите данные в таблицу и сравните с паспортными данными:

Контрольный светофильтр	Коэффициент пропускания t , %			
	Паспорт	Опыт 1	Опыт 2	Опыт 3
К-1	15 ± 3			
К-2	80 ± 3			

4. Повторите согласно п.3 процесс измерения коэффициента пропускания светофильтра К-1 еще 2 раза. Результаты запишите в таблицу.

5. Произведите согласно п.3 трехкратное измерение коэффициента пропускания контрольного светофильтра К-2. Результаты запишите в таблицу.

Совпадение опытных и паспортных данных свидетельствует о соответствии фотоколориметра техническим требованиям.

Задание 2. В режиме одиночных измерений - горящий индикатор «Р» - произведите определение длины волны максимума поглощения исследуемого вещества.

Для этого:

1) заполните первую кювету растворителем (до метки), вторую кювету (до метки) раствором с известной наименьшей концентрацией, откройте крышку кюветного отделения, поместите кюветы в кюветодержатель: растворитель в дальнее от оператора гнездо держателя (положение 1), раствор - в ближнее (положение 2). Держатель с кюветами установите в кюветное отделение на

столик так, чтобы две маленькие пружины находились с передней стороны кюветодержателя.

Внимание. Кюветы следует удерживать руками за верхние (выше метки) нерабочие поверхности. Кюветы следует заполнять жидкостью до метки. Рабочие поверхности кювет перед каждым опытом следует тщательно протирать сухой чистой тканью или тканью, смоченной спирто-эфирной смесью.

После смены светофильтра, после длительного (более 5 мин.) состояния колориметра с открытой крышкой кюветного отделения (при этом шторка перекрывает световой поток от источника к фотоприемнику) следует перед измерением выдержать фотоприемник 5 мин. в освещенном состоянии, т. е. при закрытой крышке.

Ручкой 3 установите светофильтр 315 нм. Ручкой 7 установите соответствующий фотоприемник «315-540».

2. Крышку кюветного отделения закройте и откройте. По истечении 5 с нажатием клавиши «Ш (0)» произведите проверку «нулевого отсчета».

3. Ручку 5 переведите в положение «1». Закройте крышку кюветного отделения. Через 1 мин. нажмите клавишу «К (1)». На цифровом табло слева от мигающей запятой загорится символ «1».

Ручку 5 переведите в положение «2». Нажмите клавишу «D (5)». На цифровом табло слева от мигающей запятой появится символ «5», справа отсчет оптической плотности. Последовательно устанавливая ручкой 3 светофильтры 340 нм, 400 нм, 440 нм, 490 нм, 540 нм и т. д., аналогично проведите измерение оптической плотности. Результаты запишите в таблицу:

Светофильтр, λ , нм	315	340	400	440	490	540	590	670	750
D, отн. ед									

Внимание. Перед каждым видом измерений (коэффициент пропускания, оптическая плотность, концентрация, активность) и при переключении фотоприемников следует провести проверку «нулевого отсчета» и при необходимости его регулировку.

Ручкой 3 установите светофильтр 590 нм. Ручкой 7 установите соответствующий фотоприемник «590-980». Проведите измерение оптической плотности аналогично для светофильтров 670 нм, 750 нм. Результаты запишите в указанную таблицу. Определите длину волны, соответствующую максимуму поглощения $I_{\max \text{ погл.}}$

Задание 3. В режиме одиночных измерений - горящий индикатор «Р» - произведите определение концентрации вещества в растворе по градуировочному графику.

1. При открытой крышке кюветного отделения заполните первую кювету растворителем (до метки), вторую кювету (до метки) раствором с известной наименьшей концентрацией. Поместите кюветы в кюветодержатель: растворитель в дальнее от оператора гнездо держателя (положение «1»), раствор в ближнее (положение «2»). Держатель с кюветами установите в кюветное отделение на столик так, чтобы две маленькие пружины находились с передней стороны кюветодержателя.

Ручкой 3 установите светофильтр, соответствующий длине волны максимума поглощения.

Ручкой 7 установите соответствующий фотоприемник.

2. Крышку кюветного отделения закройте и откройте. По истечении 5 с нажатием клавиши «III (0)» произведите проверку «нулевого отсчета».

3. Ручку 5 переведите в положение «1». Закройте крышку кюветного отделения. Через 1 мин. нажмите клавишу «К (1)». На цифровом табло слева загорится символ «1».

Ручку 5 переведите в положение «2». Нажмите клавишу «D (5)». На цифровом табло слева от мигающей запятой появится символ «5», справа - отсчет оптической плотности. Результаты запишите в таблицу:

с, %			
D, отн. ед			

Аналогично проведите измерения оптических плотностей всех растворов известной концентрации. Результаты запишите в таблицу.

По значениям оптической плотности для раствора известных концентраций постройте градуировочный график (рис. 6.3). По градуировочному графику определите коэффициенты c и b .

$c = D_0$ - значение оптической плотности при $c = 0$, т. е. при пересечении градуировочного графика с осью оптической плотности D :

$$b = \operatorname{tg} \alpha = \frac{D_i - c}{c_i} .$$

где α - угол между градуировочной прямой и осью концентраций c_i ; $(C_i; D_i)$ - координаты какой-либо точки графика. $D b c_i$

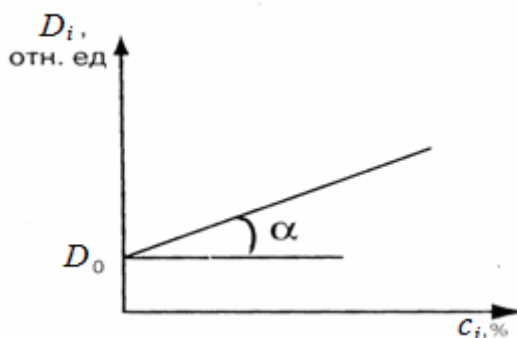


Рис. 6.3. Градуировочный график

Введите в память вычислительного блока коэффициенты c и b . Для этого нажмите клавиши «с» («b»), «сбр» - на цифровом табло слева от мигающей запятой высветится символ «с» («b»), наберите с помощью клавиатуры значение коэффициента c (b). На цифровом табло справа от мигающей запятой высветится набранное значение коэффициента. Затем нажмите клавишу «УТВ» - информация на цифровом табло исчезнет.

4. Установите в ближнее гнездо кюветного отделения кювету с исследуемым раствором. Ручку 5 переведите в положение «1». Закройте крышку, нажмите клавишу «К (1)». Ручку 5 переведите в положение «2». Нажмите клавишу «С (4)». На цифровом табло слева от мигающей запятой появится символ «4». Справа - значение концентрации c_x исследуемого раствора.

Запишите результат в тетрадь: $c_x = \dots$

5. Абсолютная погрешность Δc_x рассчитывается по градуировочному графику, исходя из линейной зависимости D_i и c_i .

По оси ординат отложите отрезок AD, равный единице последнего значащего порядка D^\wedge . Перпендикулярами к оси ординат перенесите отрезок на градуировочную прямую, а с нее перпендикулярами к оси абсцисс на ось абсцисс. Выделенный отрезок и определяет величину Δc_x . Для удобства перенесений, с учетом линейной связи D_i и c_i , можно увеличить величину откладываемого по оси ординат отрезка AD в десять раз, тогда для определения абсолютной погрешности Δc_x , величину полученного отрезка на оси абсцисс следует уменьшить в десять раз. Окончательно представьте результат в виде

$$c_x \pm \Delta c_x = \dots$$

Задание 4. Решите задачи.

Задача 1. Коэффициенты пропускания для трех различных растворов составляют 10%, 1% и 0,1%. Определите оптические плотности этих растворов.

Задача 2. Коэффициенты пропускания для трех различных растворов одного вещества составляют 10%, 1% и 0,1%. Как соотносятся концентрации окрашенного вещества в этих растворах?

Задача 3. Коэффициенты пропускания для двух растворов составляют 10 и 5%. Определите соотношение концентраций красителей в этих растворах, если длина второй кюветы вдвое больше, чем первой.

Контрольные вопросы и задания

1. Дайте определение спектра поглощения вещества.
2. Как связаны интенсивность света, прошедшего через слой вещества, и интенсивность света, падающего на этот слой?
3. На каком физическом явлении основан принцип работы фотоэлектроколориметра?
4. Объясните принципиальную оптическую схему фотоэлектроколориметра. Почему используется два фотоприемника?

5. В каких областях применяется фотоэлектроколориметр? Приведите практические примеры.

Лабораторная работа 7

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПОЛЯРИМЕТРИИ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ КОНЦЕНТРАЦИИ ОПТИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

Приборы и принадлежности: Поляриметр СМ-3, кювета с желатином, глюкоза и сахароза.

Цель работы: изучить явления поляризации света и оптической активности. Изучить устройство поляриметра и научиться работать с ним. Приобрести начальные умения в определении концентрации оптически активных веществ с помощью поляриметра.

Краткая теория

Оптической активностью называется вращение плоскости поляризации света при прохождении через оптически активные вещества. К таковым относятся углеводы, аминокислоты, белки, антибиотики и многие лекарственные вещества. Метод исследования вещества, основанный на использовании явления вращения плоскости поляризации света, называется поляриметрией. Поляриметрия широко применяется в медицине, биофизике и фармации для определения концентрации оптически активных веществ в растворе, для определения чистоты лекарственных препаратов, изучения превращений биополимеров.

Свет представляет собой электромагнитную волну. Она распространяется вдоль вектора скорости распространения волны c ,

абсолютная величина которого равна скорости света в данной среде. Электромагнитная волна характеризуется напряженностями слагающих ее электрического поля (\vec{E}) и магнитного поля (\vec{H}). В плоской волне все три вектора взаимно перпендикулярны (рис. 7.1). Поскольку вектора \vec{E} и \vec{H} перпендикулярны направлению распространения, электромагнитные волны (и соответственно свет) являются поперечными.

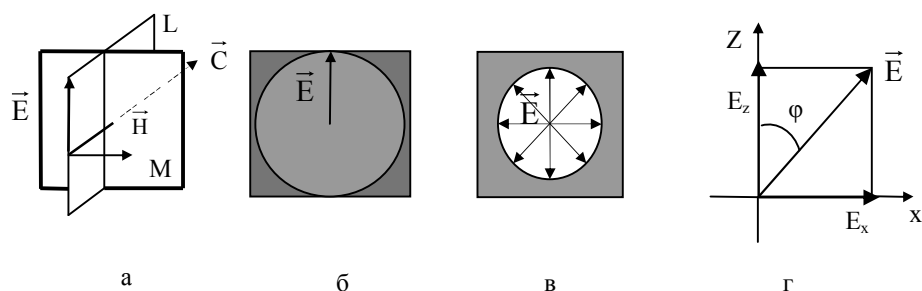


Рис. 7.1. Взаимная ориентация векторов \vec{c} , \vec{E} и \vec{H} в плоской волне: L – плоскость поляризации (а); проекция вектора напряженности электрического поля \vec{E} на плоскость M, перпендикулярную L, для плоскополяризованного света (б); то же для естественного света (в); проекция вектора напряженности электрического поля E на оси x и z - E_x и E_z (г)

Плоскость L, проходящую через вектор напряженности электрического поля E и вектор скорости распространения волны c , называют плоскостью поляризации. Волна, у которой вектор напряженности электрического поля E лежит в одной плоскости (плоскости поляризации), называют плоскополяризованной (рис. 7.1). Ряд веществ обладает разными оптическими свойствами для разных поляризаций, например, свет с одной поляризацией проходит почти полностью, а с прочими - сильно поглощается. Такими свойствами обладает так называемая поляроидная пленка.

Если через такую пленку (назовем ее анализатор) рассматривать естественный свет, который излучает Солнце или ряд других источников света, то при любом повороте такой пленки в плоскости, перпендикулярной лучу, интенсивность проходящего

света не изменяется. Если же на пути этого луча предварительно поставить еще одну такую пленку (ее называют поляризатор) и повторить эксперимент, то окажется, что дважды за период вращения анализатора измеряемая интенсивность I света меняется от нуля до максимального значения I_0 и подчиняется закону Малюса:

$$I = I_0 \cos^2 \varphi, \quad (7.1)$$

где φ - угол вращения, отсчитываемый от положения с максимальной интенсивностью света (рис. 7.1). Таким образом, поляризатор - это устройство, которое из естественного света делает поляризованный.

Плоскость, в которой у поляризованного света лежит вектор напряженности электрического поля E , называется главной. В качестве поляризатора, кроме поляроидной пленки, можно использовать специальные оптические устройства (призму Николя и др.).

Механизм действия поляризатора состоит в следующем. Реальные электромагнитные волны есть сумма волн, излученных отдельными атомами. В естественном свете, который излучает Солнце и ряд других источников в данном направлении, если смотреть навстречу лучу, то у каждой волны вектор напряженности электрического поля E лежит в своей плоскости (рис. 7.1в). Пусть поляризатор пропускает только свет, у которого плоскость поляризации совпадает с осью z . Тогда вектор E с амплитудой E_0 можно представить как сумму двух векторов - его проекций на ось x - E_x и на ось z - $E_z = E_0 \cos \varphi$. Из них сквозь поляризатор пройдет только вторая. Поскольку интенсивность I пропорциональна квадрату напряженности поля, возведя E_z в квадрат, получим закон Малюса.

Вращением плоскости поляризации называется поворот этой плоскости при прохождении через вещество. Вещества, способные вращать плоскость поляризации, называются оптически активными. К ним относятся органические асимметричные молекулы, лишенные зеркальной симметрии. Угол вращения a зависит от длины волны, природы вещества, его концентрации c в растворе, толщины слоя раствора:

$$\alpha = \frac{[\alpha_0]_D CL}{100}, \quad (7.2)$$

где $[\alpha_0]_D CL$ - удельное вращение. В этой формуле концентрация C измеряется в единицах г/100 мл раствора; толщина слоя L - в дм. Соответственно величина $[\alpha_0]_D CL$ имеет размерность: град/((г/100 мл р-ра) · дм). Нижний индекс D в ее обозначении указывает, что эта величина измерена на длине волны 589 нм, соответствующей оранжевому излучению D-линии натрия. Указание на длину волны связано с тем, что величина удельного вращения на длине волны $L : [\alpha_0]L \sim \frac{1}{L^2}$.

Используя формулу (7.2), можно определить концентрацию C :

$$C = \frac{100\alpha}{[\alpha_0]_D L}. \quad (7.3)$$

Одни вещества вращают плоскость поляризации по часовой стрелке, если смотреть навстречу лучу, выходящему из раствора, их называют правовращающими, другие - против часовой стрелки, их называют левовращающими. Соответственно значения $[\alpha_0]_D$ могут быть обоих знаков.

Направление	Вещество	Удельное вращение $[\alpha_0]_D$
Правовращающее	d-глюкоза	52,5
	Сахароза	66,5
Левовращающее	d-фруктоза	-92,2

Применение поляриметрии в медицинских и биофизических исследованиях:

- измерение концентрации сахаров в растворах;
- измерение степени спиральности белков;
- исследование переходов спираль-клубок в биополимерах;
- контроль денатурации и ренатурации биополимеров под влиянием температуры и различных химических веществ.

Схема поляриметра, основные части, их назначение
Поляриметр круговой СМ-3 предназначен для измерения угла

вращения плоскости поляризации оптически активными прозрачными растворами (рис. 7.2).

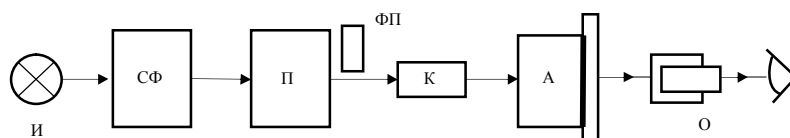


Рис. 7.2. Оптическая схема поляризатора; И – источник света; СФ – светофильтр; П – поляризатор; ФП – фазовая пластинка; К – кювета с исследуемым веществом; А – анализатор с отчетным устройством; О – окуляр

Половина пучка поляризованного света перекрывается фазовой пластинкой (ФП). Последняя нужна, чтобы обеспечить полутеневой отсчет, который существенно повышает точность измерений (рис. 7.3).

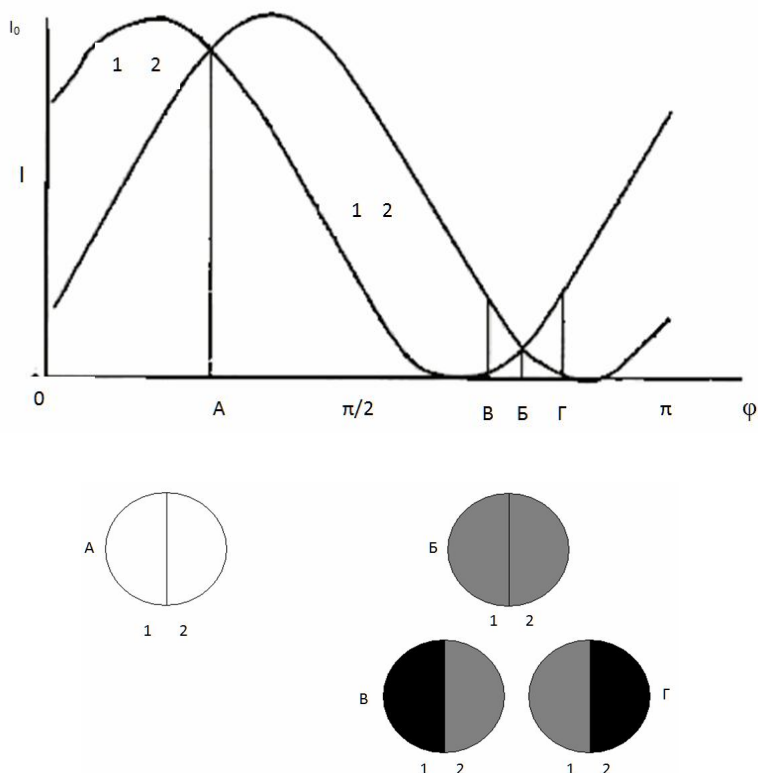


Рис. 7.3. Принцип полутеневого отсчета: кривые – зависимости интенсивности света, прошедшего через поляризатор (кривая 1) и поляризатор + фазовая пластинка (кривая 2) при изменении угла поворота анализатора φ от 0 до π . В кружках – изображения яркости полей зрения

при разных углах поворота анализатора: $A - \varphi = \varphi_A$ – неправильная настройка на максимальную яркость; B и Γ – расстройки: $\varphi_B < \varphi_B$ – угол вращения меньше угла с минимальной яркостью φ_B ; $\varphi_\Gamma > \varphi_B$ – угол вращения больше угла с минимальной яркостью φ_B . Белый цвет – большая яркость, черный – малая

Принцип полутеневого отсчета используется в связи с тем, что глаз человека с очень большой точностью сравнивает яркости двух соседних полей зрения и с гораздо меньшей точностью позволяет оценить абсолютную яркость одного поля зрения. Представим себе, что нужно найти угол, при котором поляризатор и анализатор скрещены, т.е. анализатор повернут относительно анализатора на 90° . При изменении угла поворота анализатора φ от 0 до π соответствии с законом Малюса (7.1) интенсивность прошедшего света меняется по закону: $I = I_0 \cos^2 \varphi$ (кривая 1). Следовательно, надо искать на этой кривой минимум, в районе которого интенсивность меняется очень слабо даже при большом изменении угла.

Пропустим половину пучка света кроме поляризатора еще через фазовую пластинку, тогда интенсивность будет изменяться по такому же закону, но со сдвигом фазы (кривая 2). Сведем яркости обоих полей зрения вместе так, как это сделано в поляриметре, т.е. в виде двух половин одного круга. При вращении анализатора на угол φ от 0 до k яркости полукругов совпадают два раза: когда угол поворота анализатора $\varphi = \varphi_A$ и яркости максимальны и при $\varphi = \varphi_B$ - когда они минимальны. Для правильной настройки используют второй случай с минимальными значениями яркости. Видно, что если угол вращения меньше угла с правильной настройкой $\varphi_B < \varphi_B$, или, наоборот, больше ($\varphi_\Gamma > \varphi_B$), яркости соседних полей резко меняются в противоположном направлении. Это облегчает правильную настройку - поиск угла вращения φ_B .

Выполнение работы

Задание 1. Ознакомление с работой поляриметра СМ-3. Конструкция поляриметра схематично представлена на рис. 7.4.

В корпусе прибора (1) расположены источник света, светофильтр, поляризатор, фазовая пластинка. К нему крепится

кюветное отделение (2) с поворачивающейся крышкой (3), через окуляр (4) наблюдается изображение полутеневого отсчета (рис. 7.3). Ручкой 5 поворачивают анализатор. Через линзы отсчетного устройства (6) рассматриваются шкалы (7) отсчетного устройства.

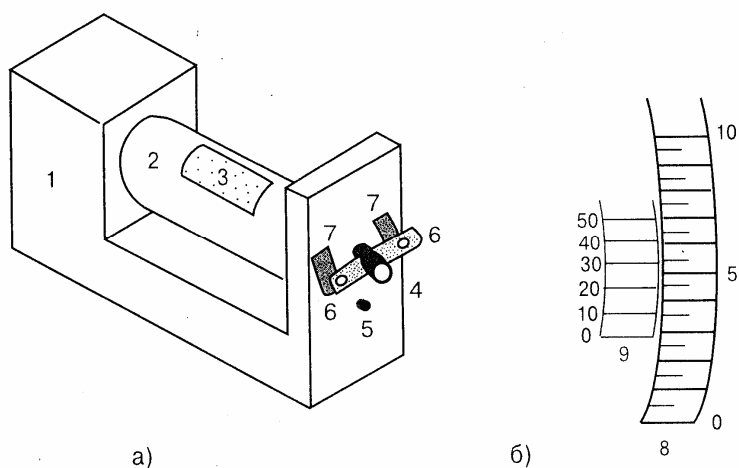


Рис. 7.4. (а) - оптическая схема поляриметра СМ-3а:
 1 – корпус; 2 – кюветное отделение; 3 – крышка кюветного отделения; 4 – окуляр; 5 – вращающаяся рукоятка анализатора; 6 – линзы отсчетного устройства; 7 – шкалы отсчетного устройства; схема нониуса (б): 8 – лимб; 9 – шкала нониуса

Две шкалы отсчетного устройства используются для облегчения измерений растворов лево - и правовращающих веществ. Для правовращающих веществ (веществ с положительным удельным вращением $[\alpha_0]_D$) используется левая шкала, при этом углы вращения составляют $0-35^\circ$. Для левовращающих веществ (веществ с отрицательным удельным вращением $[\alpha_0]_D$) также используется левая шкала, при этом углы вращения составляют $360-325^\circ$ - величина угла вращения равна отсчету по левой шкале минус 360° . В отсчетном устройстве используется нониус.

Нониус - это устройство, состоящее из двух расположенных рядом шкал и служащее для повышения точности отсчета. На рис. 7.4 показана схема отсчета по правой шкале - для левой отсчет производится аналогично. Первой шкалой является круговой лимб (8) (на рисунке показана его часть), второй шкалой - шкала нониуса (9).

Отсчет показания анализатора производится следующим образом. Сначала находят число минимального количества градусов (с точностью до $0,5^\circ$), на которое указывает нуль нониуса - на рис. 7.4 это $2,5^\circ$. Затем к этому значению прибавляют десятые и сотые доли градуса, соответствующие тому штриху нониуса, который точнее всего совпадает с каким-либо штрихом лимба (вся шкала нониуса составляет $0,50^\circ$). Например, на рис. 4б таким делением на шкале нониуса является 20, т.е. $0,20^\circ$. Таким образом, на рисунке положение анализатора характеризуется углом $\varphi = 2,5^\circ + 0,20^\circ$.

Порядок работы на приборе

1. Включите поляриметр в сеть. Выключателем «сеть», расположенным на задней стенке прибора, включите прибор. Через 5 мин. прибор готов к работе.

2. Вращением втулки на окуляре (4) установите окуляр так, чтобы видеть резкое изображение линии раздела правой и левой части поля сравнения.

3. Вращением рукоятки (5) добейтесь одинаковой яркости обоих полей зрения при наименьшей их освещенности.

4. Запишите соответствующий отсчет вращения φ_0 без образца в таблицу. Поверните немного анализатор и повторите измерения по п.3. Всего сделайте три измерения: φ_{01} , φ_{02} , φ_{03} и найдите среднее значение угла вращения без образца $\varphi_{0\text{ ср}}$.

5. Откройте крышку (3) кюветного отделения (2) и поместите в него кювету с раствором фруктозы.

6. Проведите действия по п. 2-4 и по результатам трех измерений угла вращения φ_1 , φ_2 , φ_3 найдите среднее значение этой величины $\varphi_{\text{ср}}$, а также угол вращения плоскости поляризации раствором глюкозы $\alpha = \varphi_{\text{ср}} - \varphi_0$. Данные занесите в таблицу.

Вещество	Начальная установка угла φ_0 , град	Угол вращения с образцом f , град	Угол вращения плоскости поляризации e_x , град	Концентрация c , г/100 мл раствора
Сахароза	$\varphi_{\text{ср}}$	$\varphi_{\text{ср}}$		
Глюкоза	$\varphi_{0 \text{ ср}}$	$\varphi_{\text{ср}}$		

Задание 2. Определение концентрации оптически активных веществ в растворе.

1. По описанной выше методике измерьте углы вращения плоскости поляризации для глюкозы и сахарозы и занесите их в таблицу.

2. Зная удельные вращения вещества, определите концентрации исследованных растворов глюкозы и сахарозы.

3. Рассчитайте относительную погрешность измерения концентрации

$$\frac{\Delta C}{C} = \frac{\Delta \alpha}{\alpha} + \frac{\Delta L}{L},$$

где ΔC , $\Delta \alpha$, $\Delta L = 0,01$ дм - абсолютные ошибки измерений концентрации c , угла вращения плоскости поляризации и длины кюветы соответственно. Абсолютная погрешность для угла $\Delta \alpha$ находится по формуле

$$\Delta \alpha = t_{p,n} \sqrt{-\frac{1}{3} \left(-\frac{1}{2} \sum \left((\varphi_0 - \bar{\varphi}_0)^2 + (\varphi_i - \bar{\varphi})^2 \right) \right)}, \quad (7.4)$$

где $t_{p,n}$ - коэффициент Стьюдента. Для числа измерений каждой из величин $n = 3$ и доверительной вероятности $p = 0,95$ величина $t_{p,n} = 4,3$.

Задание 3. Наблюдение конформационных переходов α -спираль - статистический клубок.

Для определения конформационного состояния белка используется величина удельного вращения на одной длине волны.

Нативная структура белка соответствует α -спирали. При температуре 35-40° С происходит разрыв внутримолекулярных

водородных связей и α -спиральная конформация разрушается. Тогда макромолекулу можно представить как статистический клубок. В конформации клубка макромолекулы белков и полипептидов не обладают пространственно упорядоченной вторичной структурой.

Способность вращать плоскость поляризации плоскополяризованного света свойственна асимметрическим молекулам; наиболее общий тип асимметрии - асимметрия, создаваемая атомами углерода с четырьмя различными заместителями. Спиральные формы создают дополнительную асимметрию молекул. Каждый тип пространственной упаковки молекул белков обладает определенной способностью вращать плоскость поляризации плоскополяризованного света. В связи с этим измерение вращательной способности стало широко распространенным методом, применяющимся для исследования конформации белков, а также других биополимеров.

Удельное оптическое вращение белков в видимой и УФ областях спектра при температуре перехода α -спираль-статистический клубок обычно уменьшается по абсолютной величине, оставаясь по знаку отрицательным.

В данной работе для наблюдения конформационных температурных переходов желатина используется измерение удельного вращения желатина в растворе при длине волны 589 нм. Желатин обладает способностью к ренатурации, при снижении температуры ниже 30°C происходит частичное восстановление спиральной конформации молекул. Степень спирализации увеличивается с уменьшением температуры раствора до $8-10^\circ\text{C}$. При достижении 8°C желатин практически полностью восстанавливает α -спиральную конформацию.

Кювету с желатином, выдержанным в течение 2 ч при $+6-8^\circ\text{C}$, поместите в поляриметр. Запишите отсчет по основной шкале и нониусу в таблицу:

Операция	Отсчет по основной шкале и нониусу
Начальная установка анализатора (без трубки с раствором)	1. 2. 3. Среднее $\bar{\varphi}_0 =$
Установка анализатора при помещении в поляриметр трубки с раствором желатина при температуре около 6°C $\varphi_1 = \varphi_1 - \varphi_0$	1. 1. 2. 2. 3. 3. Среднее $\bar{\varphi}_1 =$ Среднее $\bar{\varphi}_3 =$
Установка анализатора при помещении в поляриметр трубки с раствором желатина при температуре около 6°C $\varphi_2 = \varphi_2 - \varphi_0$	1. 2. 3. Среднее $\bar{\varphi}_2 =$

Далее поместите кювету с исследуемым раствором в термостат с температурой $+45^\circ \text{C}$. После 20 мин. нагревания кювету снова поместите в поляриметр и снимите отсчет по прибору. Результаты занесите в таблицу.

По полученным углам поворота рассчитайте удельное вращение раствора желатина при температурах около 6°C и 40°C , если $C = 1 \text{ г/100 мл р-ра}$, $L = 2 \text{ дм}$ и сделайте вывод о наличии в интервале $6\text{--}45^\circ \text{C}$ конформационного превращения желатина.

Снова поместите кювету с желатином в холодильник. Через 20 мин. определите значение $\varphi_3 \text{ ср}$, по которому рассчитайте угол вращения раствора желатина φ_3 , как указано выше. Сделайте вывод о процессе ренатурации, происходящем в растворе желатина.

Задание 4. Решите задачи.

Задача 1. Рассчитайте концентрацию глюкозы в растворе, если при длине кюветы 20 см угол вращения плоскости поляризации составляет $5,28$ град (воспользуйтесь таблицей).

Задача 2. 100 мл раствора содержат 5 г глюкозы и 6 г сахарозы. Каков угол вращения плоскости поляризации в кювете длиной 10 см?

Задача 3. 200 мл раствора содержат 10 г глюкозы и 10 г фруктозы. Каков угол вращения плоскости поляризации в кювете длиной 20 см?

Контрольные вопросы и задания

1. Что такое оптическая активность?
2. Объясните понятие поляриметрии.
3. Сформулируйте закон Малюса.
4. Какие существуют способы получения плоскополяризованного света?
5. Как применяется поляриметрия в медицинских и биофизических исследованиях?

Лабораторная работа 8

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ФУРЬЕ-АНАЛИЗА В ЗАДАЧАХ МЕДИЦИНСКОЙ И БИОЛОГИЧЕСКОЙ ФИЗИКИ

Цель работы: усвоить теорему Фурье как теоретическую основу спектрального анализа, познакомиться со спектральным представлением различных физических процессов.

1. Уяснить различие двух важнейших типов спектров - линейчатого и сплошного (непрерывного).
2. Научиться проводить спектральное разложение простейших сигналов.

Краткая теория

Теорема Фурье

Приведем формулировку, математическую запись и графическую иллюстрацию теоремы Фурье.

Любой периодический процесс можно представить в виде суммы гармонических колебаний, частоты которых кратны частоте сложного периодического процесса (сложного колебания).

В тех случаях, когда изучаемый процесс представляется нечетной функцией, сложенной с некоторой постоянной составляющей, аналитически теорема может быть записана в следующем виде:

$$x(t) = A_0 + A_1 \sin(\omega_1 t + \varphi_{01}) + A_2 \sin(\omega_2 t + \varphi_{02}) + \dots$$

Частота ω_1 находится по формуле $\omega_1 = (2\pi / T)$, где T - период сложного колебания $x(t)$; коэффициенты A_0, A_1, A_2, \dots зависят от конкретного вида функции $x(t)$ и вычисляются по специальным формулам. (Каждой функции соответствует собственный набор коэффициентов A_0, A_1, A_2, \dots .)

На рис. 8.1 приведены графики временной зависимости для некоторого сложного колебания (например, зависимости координаты от времени $x(t)$) и его спектра (рис. 8.2) - специального представления процесса, выражающего в общем случае зависимость амплитуд различных гармонических составляющих (гармоник) этого процесса от их частот ($A_1; A_2 \dots$ - амплитуды гармоник; $\omega_1; \omega_2 \dots$ - частоты гармоник).

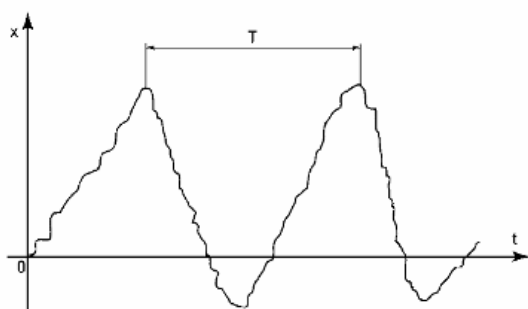


Рис. 8.1. Сложное колебание

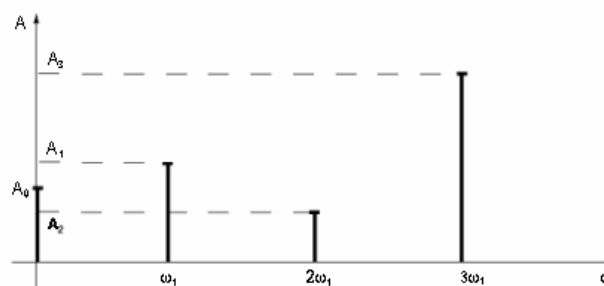


Рис. 8.2. Спектр сложного колебания

Спектр гармонического колебания

Изобразим спектр и временную зависимость (зависимость координаты от времени) для гармонического колебания:

$x(t) = A \sin \omega t$, а также различные их изменения при изменении частоты, амплитуды и начальной фазы (рис. 8.3-8.6).

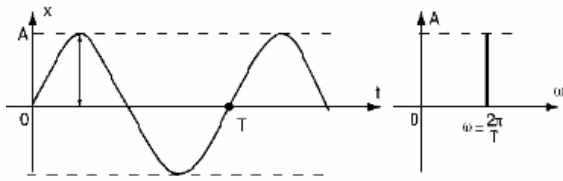


Рис. 8.3. Зависимость координаты от времени и спектр гармонического колебания

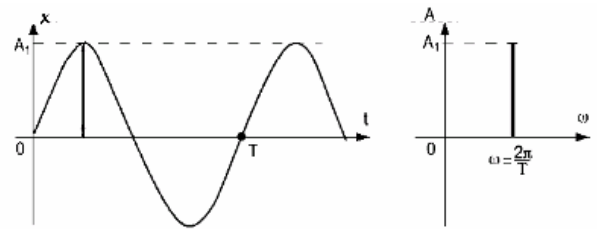


Рис. 8.4. Зависимость координаты от времени и спектр гармонического колебания при увеличении амплитуды, $A_1 > A$ (частота неизменна)

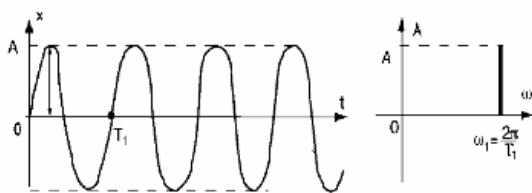


Рис. 8.5. Зависимость координаты от времени и спектр гармонического колебания при увеличении частоты (амплитуда неизменна)

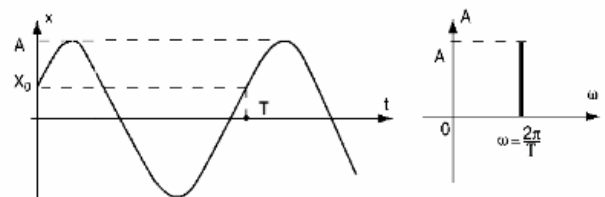


Рис. 8.6. Зависимость координаты от времени и спектр гармонического колебания при изменении начальной фазы на $\pi/6$ (амплитуда и частота неизменны)

Спектры сложных колебаний

1) Пусть имеются два колебания: $x_1 = 4 \cos((\pi/8)t)$, $x_2 = 2 \cos((\pi/4)t)$ (рис. 8.7).

Произведем их графическое сложение и изобразим спектр полученного сложного колебания (рис. 8.8).

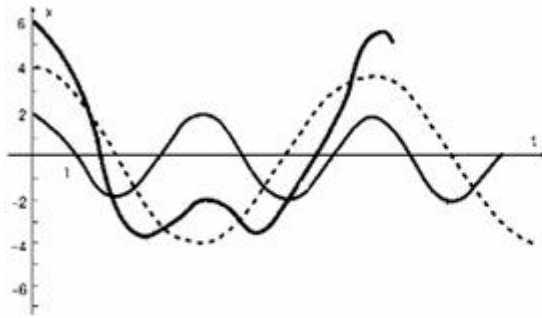


Рис. 8.7. Сложение двух гармонических колебаний (схематичное представление) при увеличении частоты

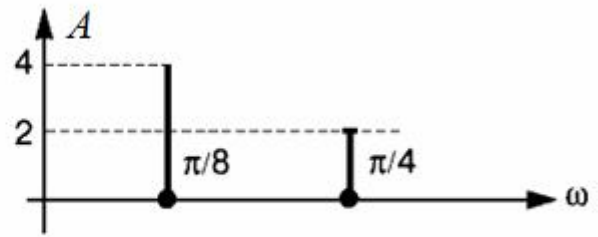


Рис. 8.8. Зависимость координаты от времени и спектр гармонического колебания при изменении начальной частоты

2) Пусть имеется сложное колебание (рис. 8.9). Необходимо представить его спектр (рис. 8.10).

3)

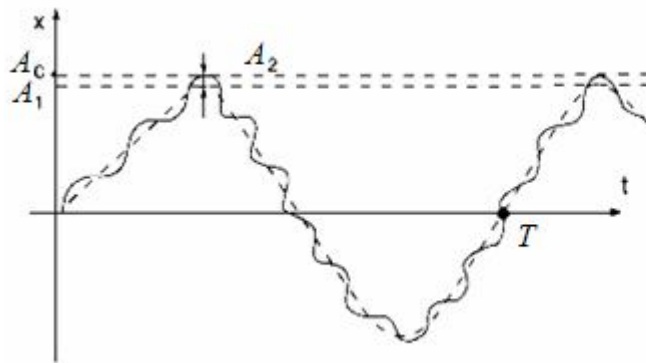


Рис. 8.9. Сложное колебание

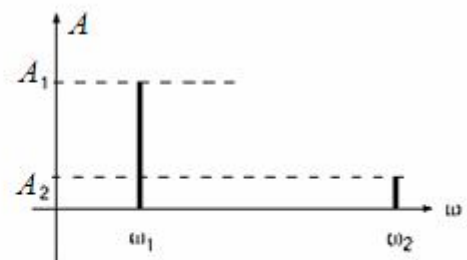


Рис. 8.10. Спектр сложного колебания

Сплошные спектры неперидических процессов

При изображении сплошных спектров неперидических процессов (рис. 8.11, 8.12) используется спектральная плотность потока излучения (мощности) или спектральная плотность интенсивности.

Зная зависимость спектральной характеристики от частоты или длины волны, можно найти соответствующие интегральные характеристики - энергетическую светимость (интенсивность) и поток, соответствующие некоторому конечному или бесконечному интервалу длин волн. В таблице приведены примеры:

Тип излучения	Спектральная характеристика	Интегральная характеристика
Равновесное тепловое излучение	$r_{\lambda,T}$ - спектральная плотность энергетической светимости, $[Вт/м^3]$ $r_{\lambda,T} = dR/d\lambda$, где R - энергия, испускаемая телом с единицы площади поверхности за единицу времени во всем спектральном интервале	Энергетическая светимость $R_T = \int_0^{\infty} r_{\lambda,T} * d\lambda = \sigma T^4 [Вт/м^2]$. Графически выражается площадью под кривой (рис. 8.11)
Тормозное рентгеновское излучение	Спектральная плотность потока рентгеновского излучения $\phi_{\lambda} = d\Phi/d\lambda [Вт/м]$	Поток рентгеновского излучения $\Phi = \int_{\lambda_{min}}^{\lambda_{max}} \phi_{\lambda} * d\lambda, [Вт]$. Графически выражается площадью под кривой $\phi_{\lambda}(\lambda)$ (рис. 8.12)

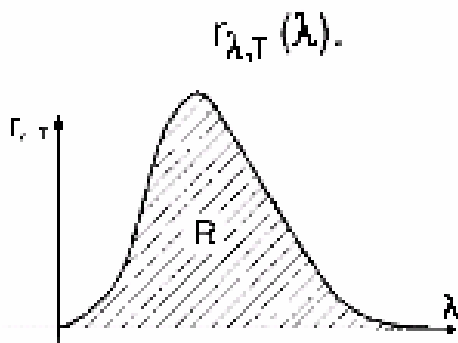


Рис.8.11. Спектральная плотность энергетической светимости и энергетическая светимость

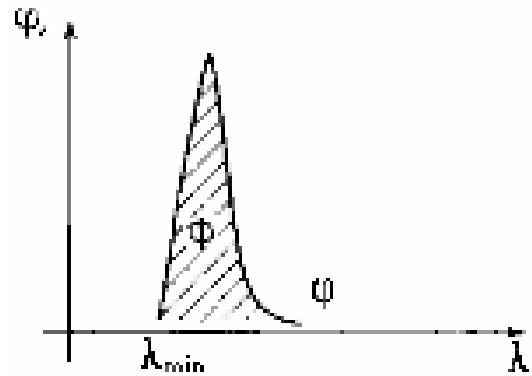


Рис. 8.12. Спектральная плотность потока и поток тормозного рентгеновского излучения

Выполнение работы

Задание 1. Сложение гармонических колебаний (MathCAD):

а) пронаблюдайте графическое сложение двух гармонических колебаний разных частот и амплитуд. Зарисуйте в тетради графики, представляющие зависимость координаты колеблющегося тела от времени в обоих случаях, а также график, на котором представлена зависимость $x_1(t)$ для суммарного колебания. Зарисуйте также спектр суммарного колебания;

б) пронаблюдайте процесс сложения трех различных гармонических колебаний. Зарисуйте в тетради временную зависимость $x_2(t)$ и спектр полученного в результате сложного колебания.

Задание 2. Сложение произвольных гармонических колебаний (MathCAD).

Введите с клавиатуры значения амплитуд и частот трех гармонических колебаний (они должны находиться в тех интервалах, которые указаны на экране, но так, чтобы частоты всех трех колебаний различались), пронаблюдайте их временные и спектральные зависимости.

Пронаблюдайте сложение двух колебаний, а затем трех. После получения последней временной зависимости нарисуйте самостоятельно в тетради спектр полученного сигнала. Проверьте правильность Вашего ответа.

Задание 3. Спектральное разложение прямоугольного импульса (MathCAD):

а) пронаблюдайте временную зависимость $x_1(t)$ Для первой гармоники; Определите, чему равна ее частота;

б) какую частоту должна иметь вторая гармоника? Постройте временную зависимость $x_2(t)$;

в) после получения последней гармоники пронаблюдайте решение компьютером задачи последовательного сложения временных зависимостей, соответствующих каждой из гармоник Фурье - разложения исследуемого сигнала. Введите значение N , равное числу колебаний. Обратите внимание на то, что чем больше число складываемых гармоник (N), графический результат все точнее приближается по форме к прямоугольному импульсу;

г) зарисуйте в тетрадь временную зависимость и спектр прямоугольного импульса.

Задание 4. Спектральное разложение треугольного импульса (MathCAD);

а) пронаблюдайте временную зависимость $x_1(t)$ для первой гармоники. Определите, чему равна ее частота;

б) какую частоту должна иметь вторая гармоника? Постройте временную зависимость $x_2(t)$;

в) после получения последней гармоники пронаблюдайте решение компьютером задачи последовательного сложения временных зависимостей, соответствующих каждой из гармоник Фурье - разложения исследуемого сигнала. Введите значение N , равное числу колебаний. Обратите внимание на то, что чем больше число складываемых гармоник (N), графический результат все точнее приближается по форме к треугольному импульсу;

г) зарисуйте в тетрадь временную зависимость и спектр треугольного импульса.

Задание 5. Спектральное разложение пилообразного импульса (MathCAD):

а) пронаблюдайте временную зависимость $x_1(t)$ для первой гармоники. Определите, чему равна ее частота;

б) какую частоту должна иметь вторая гармоника? Постройте временную зависимость $x_2(t)$;

в) после получения последней гармоники пронаблюдайте решение компьютером задачи последовательного сложения временных зависимостей, соответствующих каждой из гармоник Фурье - разложения исследуемого сигнала. Введите значение N , равное числу колебаний. Обратите внимание на то, что чем больше число складываемых гармоник (N), графический результат все точнее приближается по форме к пилообразному импульсу;

г) зарисуйте в тетрадь временную зависимость и спектр пилообразного импульса.

Задание 6. Зарисуйте в тетрадь в одних и тех же осях спектры трех вышеразобранных сигналов:

- прямоугольного импульсного сигнала;
- треугольного импульсного сигнала;
- пилообразного импульсного сигнала.

В чем сходство и различие спектров этих сигналов?

Задание 7. Спектральное разложение гармонического сигнала с медленно меняющейся частотой (MathCAD).

Введите с клавиатуры значения амплитуды A_0 и частоты ω_0 для закона изменения частоты (они должны находиться в тех интервалах, которые указаны на экране), пронаблюдайте временную зависимость и спектр сигнала с медленно меняющейся частотой.

Как из приведенного уравнения зависимости $\omega(t)$ найти нижнюю и верхнюю границы спектра - максимальную и минимальную частоты, которым соответствует отличная от нуля спектральная плотность интенсивности (амплитуды)?

Задание 8. Спектр сигнала ЭКГ.

Пронаблюдайте и зарисуйте в тетрадь временную зависимость и спектр сигнала ЭКГ. К какому типу спектра относится приведенный на экране спектр ЭКГ?

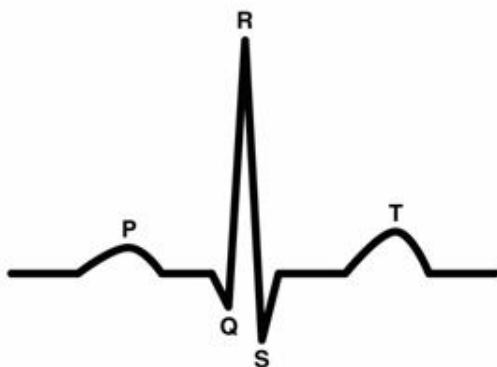


Рис. 8.13. Временная зависимость ЭКГ

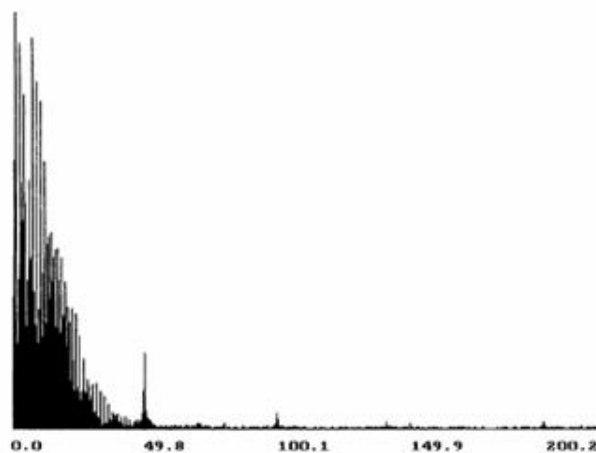


Рис. 8.14. Спектр ЭКГ

Задание 9. Применение спектрального разложения в физике:

а) пронаблюдайте и схематично зарисуйте в тетрадь спектры гласного и согласного звуков. Определите, в чем их основное различие;

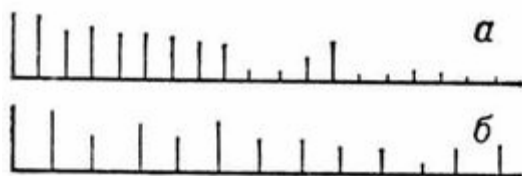


Рис.8.15. Спектры гласного и согласного звуков

б) пронаблюдайте и схематично зарисуйте в тетрадь спектр лазерного излучения и спектр излучения Солнца, спектры тормозного и характеристического рентгеновского излучения. В чем их основное отличие?

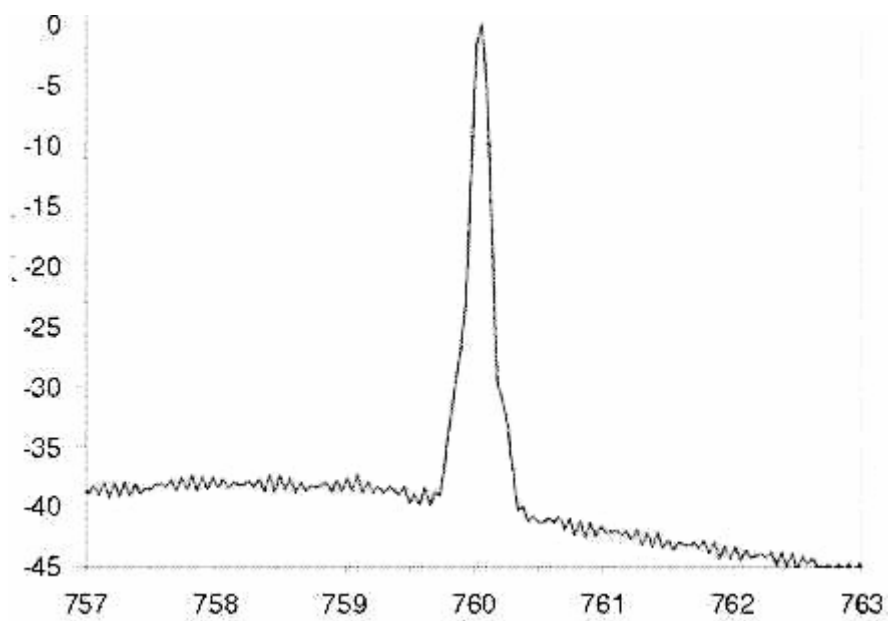


Рис. 8.16. Спектр лазерного излучения

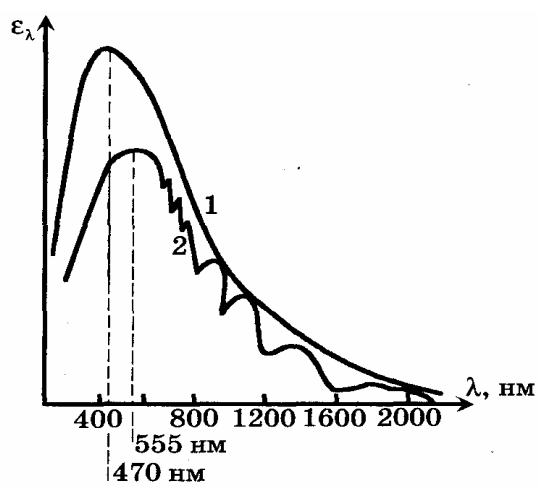


Рис. 8.17. Спектр излучения Солнца

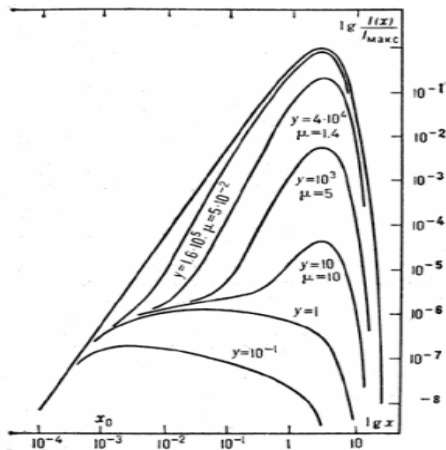


Рис. 8.18. Спектр тормозного рентгеновского излучения

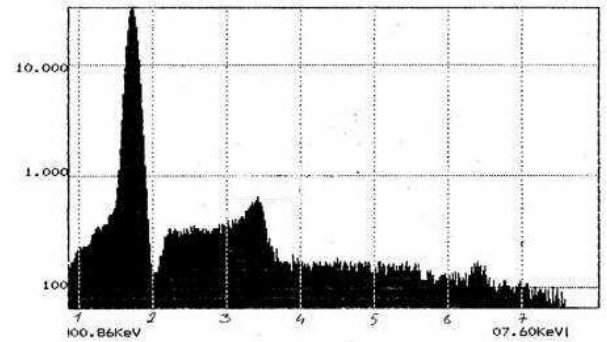


Рис. 8.19. Спектр характеристического рентгеновского излучения

Контрольные вопросы и задания

1. Сформулируйте теорему Фурье.
2. Нарисуйте и объясните временную зависимость и спектр для гармонического колебания. Что произойдет при:
 - а) уменьшении амплитуды в 2 раза;
 - б) увеличении частоты в 2 раза;
 - в) одновременном изменении частоты и амплитуды.
3. Нарисуйте и объясните временную зависимость и спектр для сложного колебания, состоящего из двух (трех) гармонических колебаний.
4. Что используется для построения спектров неперiodических процессов? Ответ поясните.
5. Приведите примеры спектрального разложения.

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Биофизика: учебник для студентов вузов / В.Ф. Антонов [и др.]. М., 2006.

2. Практикум по биофизике: учеб. пособие для студентов / В.Ф. Антонов [и др.]. М., 2001.

3. Биофизика / В.В. Ревин, Г.В. Максимов, О.Р. Кольс, Саранск, 2002.

4. Волновые процессы / И.Е. Иродов. М., 2002.

5. Курс общей физики: в 5 кн. / И.В. Савельев. М., 2002. Кн. 4.

6. Курс общей физики: в 5 кн. / И.В. Савельев. М., 2002. Кн. 5.

7. Общий курс физики: в 4 т. / Д.В. Сивухин. М., 1985. Т. 4.

8. Медицинская и биологическая физика / А.Н. Ремизов. 2-е изд. М., 2007.

9. Лабораторный практикум по оптике / Кубанский государственный университет, 2004. Ч. 1.

10. Биофизика для инженеров: в 2 т. / Е.В. Бигдай, С.П. Вихров, Н.В. Гривенная [и др.]. М., 2008. Т. 1.

11. Биофизика для инженеров: в 2 т. / Е.В. Бигдай, С.П. Вихров, Н.В. Гривенная [и др.]. М., 2008. Т. 2.

Учебное издание

ДОБРО Людмила Федоровна
БОГАТОВ Николай Маркович

БИОФИЗИКА
Лабораторный практикум
Часть 1

Подписано в печать 23.06.09. Формат 60 x 84 1/16.
Печать цифровая. Уч.-изд.л. 5,81. Тираж 100 экз. Заказ №.

Кубанский государственный университет.
350040 г. Краснодар, ул. Ставропольская, 149.
Издательско-полиграфический центр КубГУ.
350040 г. Краснодар, ул. Ставропольская, 149.