



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 45471

(13) C2

(51) G 01N33/48, G 01P3/36, G 01N21/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

(54) АНАЛІЗАТОР ЯКОСТІ СПЕРМИ

1

2

(21) 99042283

(22) 22 04 1999

(24) 15 04 2002

(46) 15 04 2002, Бюл. № 4, 2002 р

(72) Мацківський Володимир Іванович, Чернишов Сергій Іванович, Ластовський Вадим Володимирович

(73) АКЦІОНЕРНЕ ТОВАРИСТВО "НАУКОВО-ТЕХНОЛОГІЧНИЙ ІНСТИТУТ ТРАНСКРИПЦІЇ, ТРАНСЛЯЦІЇ І РЕПЛІКАЦІЇ"

(56) SU, 178215 A1, 08 08 1988

GB, 1202612, 19 18 1970

US, 4997272, 05 03 1970

(57) Аналізатор якості сперми із застосуванням лазерно-доплерівської спектроскопії способом оптичного гомодинування розсіяного та опорного лазерних випромінювань з наступним кореляційним аналізом, що включає в себе джерело лазерного випромінювання, схему формування випромінювання, вимірювальну камеру, що виконана з прозорого матеріалу і має термостатичний кожух, з'єднаний з термонагрівачем і каналом вводу зразка сперми, фотоприймач з діафрагмою Обскура, вихід якого з'єднаний зі входом попереднього підсилювача, вихід якого з'єднаний зі входом амплітудно-цифрового перетворювача, вихід якого з'єднано зі входом процесора, що має зв'язок з блоком вводу-виводу, який відрізняється тим, що схема формування випромінювання має діафрагму, що встановлена перед двоплечою призмою для одержання двох лазерних променів, що під заданим кутом перетинаються у центрі вимірювальної камери, канал вводу зразка сперми з'єднаний з дотатором, а процесор виконано з реалізацією алго-

ритма використання автокореляційного аналізу флуктуацій фотоструму змішаних оптичних променів від сперматозоїдів, що рухаються, і опорного лазерного променя таким чином, що вимірювана величина власних енерговитрат на рух сперматозоїдів в середовищі і в реальному масштабі часу обчислюється у вигляді

$$E = B \cdot \left\langle \left(\frac{dl}{dt} \right)^2 \right\rangle_{\Delta t}$$

де

E - власні енерговитрати на переміщення сперматозоїдів у в'язкому середовищі, Дж ,

I - середній струм фотодетектора, що вимірюється в режимі оптичного гомодинування реєстрації розсіяного спермою лазерного променя світла, що усереднений за часом не більш як 10 мс,

Δt - інтервал часу усереднення квадрата похідної середнього фотоструму за термін набору поточної інформації в межах від 30 мс до 10 с,

$\langle \rangle$ - символ усереднення,

$B(\lambda, \beta, \theta, \omega)$ - нормуючий коефіцієнт розмірності, що залежить від довжини хвилі лазерного світла (λ), розмірів сперматозоїдів (β), кута детектування розсіяного ними лазерного променя (θ) і потужності лазерного випромінювання, що опромінює сперматозоїди (ω), що усі визначаються і встановлюються в попередніх дослідках і задаються постійними величинами у вигляді імперативів

Винахід стосується до біології, медицини і сільського господарства, (тваринництва), а саме до пристроїв для вимірювання внутрішніх енерговитрат рухомих мікробіологічних об'єктів на їх рух у в'язкому середовищі і може бути використаний при оцінці якості сперми в практичних задачах контролю стану заморожуваного і деконсервованого генетичного матеріалу, а також скринінгу модифікаторів і криопротекторів біологічних середовищ

Відома лазерно-доплерівська віброметрична система [1], що складається з лазерного джерела світла, блока віброметра, оптичної лави, блока розщеплення лазерного променя світла, приймача світла, аналізатора сигналів і блока виводу інформації. Діапазон вимірювань швидкості руху об'єкту від 10^{-6} м/с до 3 м/с

Недопоміком такої системи є те, що за її допомогою неможливо контролювати число нерухомих

(13) C2

(11) 45471

(19) UA

клітин, а також вимірювати величину внутрішніх енерговитрат на рух клітин в популяції

Відомий аналізатор руху сперматозоїдів [2], в якому світло від джерел опромінювання подають %о вимірювальну камеру, а флуктуації розсіяного світла реєструють за допомогою фотоприймача з наступним аналізом сигналів і обчисленням частоти флуктуацій, по якій судять про рух і якість сперми. Подача світла здійснюється за допомогою волоконної оптики, а вивід розсіяного світла з вимірювальних камер також здійснюється світловодами.

Недоліком цього аналізатора є те, що за допомогою його неможливо здійснити кількісну оцінку параметрів швидкості, рухомості і енерговитрат на рух клітин в популяції.

У Франції розроблена вимірювальна система на лазерно-доплерівському ефекті для аналізу руху клітин сперми [3] (лабораторія гістології і ембріології, Паризький університет), в якій промінь від лазера подають на вимірювальну камеру, розсіяне світло реєструють фотоприймачем, а флуктуації фотоструму аналізуються на спектроаналізаторі, з одержанням інформації про швидкість руху клітин. Оскільки нерухомі клітини не дають доплерівського зсуву частоти, то для їх реєстрації в такій системі застосовано метод примусового заохочування їх до руху, для цього використано засіб обертання вимірювальної камери. При цьому всі клітини суспензії набувають додаткової швидкості, що дорівнює швидкості переміщення камери. В результаті цього в спектрі сигналу з'являється пік, що відповідає швидкості примусового зміщення нерухомих клітин, а показник рухомості обчислюють з відношення площин піків, що відповідають рухомих і нерухомих клітинам. Для контролю за рівнем інтенсивності світлового променя передбачено другий сигнал фотоструму від світла, що проходить.

Недоліком такого пристрою є те, що в ньому використана дуже складна оптична схема, яка чутлива до найменших вібрацій і потребує складної процедури юстировки. Окрім того, при електроаналізі вимагається велика вибірка сигналів, що значно збільшує тривалість проведення дослідів, а це, в свою чергу, збільшує помилку вимірювань при оцінці параметрів руху клітин за рахунок динамічних ефектів суто біологічної природи. В приладі не передбачена можливість одержання величини внутрішніх енерговитрат на рух клітин в популяції в реальному масштабі часу.

Відомий лазерно-доплерівський анемометр [4], в якому використовується така оптика: лазерна головка, оптична лавка, розподільник променя, лінзи, фільтр, фотодетектор. При цьому два промені, один із яких використовується як опорний, спрямовані в місце з об'єктами, що рухаються. Місце перетинання променів формує обсяг зони розсіювання (виміри). Швидкість потоку або часток визначається по розрахунковій формулі. Сигнал від ФЭУ посилюється за допомогою підсилювача і формується у вигляді числового коду й опрацьовується в процесорі доплерівського сигналу, вихід якого сполучений із цифровим вольтметром. Діапазон що вимірюється швидкості потоку 3мм/с - 300мм/с. У якості лазерної головки викорис-

товується гелій-неоновий лазер потужністю 5мВт із когерентною довжиною променя не менше 20см і низьким фактором шуму. Точність виміру 1% повного відхилення використаного діапазону вимірів. Діапазони доплерівської частоти 2,25 15кГц, 8 50кГц, 22,5 150кГц, 8 500кГц, 0,225 1,5мГц, 0,8 5мГц, 2,25 15мГц.

До хиб даного пристрою варто віднести високі вимоги до метрологічних характеристик лазерної головки, зокрема, до когерентності, стабільності, інтенсивності і шумам генерації випромінювання, складність юстировки оптичного тракту, так для гетеродинування сигналу потрібно висока точність і спеціальна стабільність опорного променя лазерного світла.

неможливість одержання інформації про всі параметри руху клітин (швидкості числа клітин, що рухаються, енерговитрат на їх рух), тому що в даному випадку вимірюється тільки середня швидкість руху часток, неможливість виміру мікрооб'єктів, що повільно рухаються.

Відзначаємо, що рухливі рослинні клітини, найпростіші, сперми тварин і людини мають характерні швидкості прямовання в діапазоні 10 - 10³ 10мкм/с. З огляду на вимоги до точності виміру швидкостей і рухливості таких об'єктів, що у біологічних дослідженнях складають порядку ± 1 мкм/с, то очевидно, що використання лазерного анемометра типу 55L у цьому випадку неможливе.

Найбільше близьким до запропонованого аналізатору якості сперми, що заявляється, є пристрій для вимірювання в реальному масштабі параметрів руху рухомих кліток [5], яке містить в собі такі основні вузли і блоки.

Промінь лазерного світла від джерела, як з'єднано з блоком живлення, формується оптичною схемою (діафрагмою і лінзою) і фокусується у центрі вимірювальної камери з суспензією кліток, що досліджуються. Джерело світла, вимірювальна камера і фотоприймач встановлені на оптичній лаві. За джерело світла може бути використано гелій-неоновий або інший лазер, потужність випромінювання якого не повинна викликати зміни стану біологічного об'єкту, що досліджується, за термін виміру. Розсіяне світло і опорний промінь детектуються фотоприймачем якого встановлено під кутом до осі променя лазерного світла. Фотоприймач має джерело живлення, а вихід його з'єднано зі входом попереднього підсилювача, який з'єднано з одним входом корелятора, другий вхід якого з'єднано з таймером. Вихід корелятора з'єднано з мікро-ЕОМ. При цьому керування роботою корелятора здійснюється комп'ютером по спеціальному каналу. Одержані результати виводяться на друк.

Когерентний опорний промінь на лазерній частоті створюється незміщеним світлом біків від передньої стінки вимірювальної камери. Близько формуються рисками, що їх нанесено на передню стінку камери. Режим оптичного гетеродинування реалізований шляхом змішування на фотокатоді фотоприймача розсіяного від об'єкту, що рухається, світла і опорного променя. Це дозволяє отримати кореляційну функцію з аналізу флуктуацій фотоструму числовим методом.

Цифрові дані/ про форму кореляційної функції

надходять в мікро-ЕОМ і обробляються за методом найменших квадратів з одержанням даних про середню швидкість руху клітин в популяції і про відносну кількість рухомих клітин. Обчислення величини питомих енерговитрат популяції на рух клітин здійснюють за формулою

$$E = \nu \cdot \beta \cdot G(0)$$

Вимірювальна камера має термостатичний кожух. При цьому, в кожусі є вікна для введення променя лазерного світла і виводу розсіяного світла і світла від бликів, а також вікно для оптичної пастки. Термостатичний кожух має зв'язок з термостатом.

Штрихи на передній стінці вимірювальної камери наносять у вигляді сітки, а перед фотоприймачем встановлена діафрагма, що представляє собою камеру Обскюра.

Кут установки фотоприймача вибирають у межах від 0 до 45° у залежності від розмірів досліджуваних рухливих клітин.

Конкретна технічна реалізація пристрою

Пристрій лазерно-доплерівський на базі стандартних приладів може бути здійснений в такий спосіб. За джерело монохроматичного когерентного випромінювання узятий гелій-неоновий лазер ЛГН-105 із довжиною хвилі 632,8 нм і потужністю 2,0 мВт. Пучок лазерного світла формується оптичною схемою, що складається з лінз із фокусною відстанню 100 мм і діафрагми з діаметром, $d = 0,5$ мм, що об'єднані в одному корпусі. Діаметр світлового променя, сфокусованого в центрі вимірювальної камери складає біля 120 мкм. Камера являє собою кювету з оптичною довжиною 1 мм і місткістю 0,8 мл. Така конфігурація кювети обрана для можливості роботи з достатньо великими (до 10 млн кл/мл) концентраціями клітин у суспензії при відсутності ефекту перерозсіювання. Малий обсяг камери дозволяє проводити дослідження з мінімальною кількістю клітинної суспензії (200-300 мкл). Кювета зі зразком має термостатичний кожух, що виготовлений з почорненої міді і має вікно для оптичної пастки. Для підтримки заданої температури використаний рідинний ультра-термостат, в якому тепловим носієм є водно-гліцеринова суміш. Останнє обумовлено більшою в порівнянні з дистильованою водою в'язкістю, що дозволяє уникнути вібрації зразка під час проведення виміру. Температуру в кюветній камері можна підтримувати в діапазоні від 0 до 60°C із точністю не нижче $\pm 0,1^\circ\text{C}$.

Розсіяне на клітинах, що рухаються, світло реєструється за допомогою фотоелектронного примножувача ФЭУ-79. Область спектральної чутливості ФЭУ 300-830 нм. Рівномірний дільник напруги і ФЭУ розміщені у світлонепроникному кожусі, за який використана фотометрична насадка до люмінесцентного мікроскопа ФМЭЛ-А зі знятою лінзою, що розсіює. У кожусі є барабан револьверного типу з вмонтованими діафрагмами 0,1, 0,5, 1,5 мм, що служать для побудови зображення на фотокатоді.

Напруга живлення на ФЭУ подається від високовольтного, стабілізованого випрямляча типу ТВ-2. Нестабільність вихідної напруги в діапазоні 50-1500 В не нижче 0,2%. На ФЭУ подається на-

пруга негативної полярності, анод заземлений.

Опорний промінь одержують від відблиску, формованого штрихами на передній стінці камери. Відстань між штрихами не більша діаметра променя світла, що подається на камеру, зокрема дорівнює 200 мкм, при цьому сітку завдають вертикально по осі симетрії камери. Для формування зображення використаний принцип камери Обскюра за допомогою діафрагми. У цьому випадку забезпечується максимальна глибина різкості при мінімальних вимогах до точності постановки оптичної частини спектрометра, положенню кювети зі зразком і катода ФЭУ.

Детекторна частина доплерівського кореляційного спектрометра встановлена на поворотному плечі гоніометра Г-5, а термостатичний кожух з кюветою для зразка - у центрі нерухомого столика гоніометра. На іншому плечі гоніометра зібрана формуюча промінь світла частина і джерело світла. Монтаж здійснений на мікрометричних столиках, що мають горизонтальну і вертикальну ступені свободи. Точність установки кута розсіювання $\pm 0,5^\circ$. Обмеження на світлозахист від зовнішнього засвічування, зовнішніх впливів типу "хитавиця" мінімальні, що забезпечує широке використання даного пристрою в польових умовах.

Електронна частина пристрою

У якості попереднього підсилювача використовується низькочастотний вимірювальний підсилювач У4-28 із смугою пропускання частот від 2 до 100000 Гц. Коефіцієнт підсилення установлюється від 10 до 100 дБ східчасте через 10 дБ. Вхідний опір приладу - 1 мОм, вхідна ємність на частоті 200 кГц не більш 40 пф. Посилений сигнал надходить на вхід 100-канального цифрового корелятора Х6-4, що працює в реальному масштабі часу при термінах затримки від 100 мкс до 1 с, що дозволяє досліджувати кореляційні характеристики сигналів у діапазоні частот 0,5-25000 Гц. З огляду на те, що частотний діапазон доплерівського зсуву на рухливих клітинах достатньо перекриває діапазон одержуваних у досліді частот, дана вимірювальна схема дозволяє в широкому діапазоні вимірювати швидкості від 0 до 500 мкс/с. Час виміру для побудови кореляційної функції вибирається відповідно до умови конкретного експерименту і може змінюватися від 27 до 217 τ , де τ - термін затримки корелятора.

Цифрова інформація про форму кореляційної функції з тактовою частотою 10 кГц подається через порт мікро-ЕОМ, за якої використано "Електроніку МСО401", в оперативну пам'ять. На інформаційному виході корелятора є три види сигналів "строб" початок функції, сигнал типу "меандр", що супроводжує видачу інформації і 8-розрядний цифровий сигнал про значення кореляційної функції в конкретному каналі. Тому для зчитування інформації з корелятора задіяно два вхідних порти. Реально ЕОМ здійснює також і керування роботою корелятора, для чого на роз'єм "дистанційне керування" через вхідний порт подаються сигнали "скидання", "обнуління лічильників" і "пуск", що запускає набір кореляційної функції.

До хиб даного пристрою - прототипа можливо віднести

не достатня компактність і деяка складність

обслуговування вимірювального комплексу утруднює реалізацію переносного, а тим більше портативного, варіантів аналізаторів якості сперми,

для пристрою характерні більш динамічні погрішності виміру внутрішніх енерговитрат сперматозоїдів на їхній рух, що зв'язане з тривалістю проведення аналізів і оцінювання якості сперми (від 4-х до 15 хвилин),

алгоритм обробки сигналів базується на побудові кореляційної функції фотоструму і підгонки експериментальних даних під теоретичну функцію, що притягає за собою відповідну систематичну помилку кінцевого результату зі збільшенням її принаймні в 3-5 разів

У основу винаходу поставлена задача - удосконалити пристрій аналізатор якості сперми, із забезпеченням підвищення точності виміру внутрішніх енерговитрат сперматозоїдів (за рахунок зниження динамічної помилки і скорочення часу виміру при зберіганні статистичної вибірки)

Крім того, розглянутий аналізатор якості сперми можливо реалізувати з використанням як аналогового, так і цифрового принципу обробки електричних сигналів, тобто, для нього характерні простота, технологічність і гнучкість побудови

Алгоритм роботи процесора побудований на простих операторах, що забезпечує можливість створення портативних аналізаторів сперми високими метрологічними характеристиками

Технічний результат, що може бути отриманий при здійсненні винаходу, полягає в тому, що з'являється можливість здійснити експрес-контроль якості сперми шляхом вимірювання внутрішніх енерговитрат сперматозоїдів на їх рух в реальному масштабі часу

Поставлена задача вирішується за рахунок того, що у аналізатори якості сперми з застосуванням лазерне - доплерівської спектроскопії засобом оптичного гетеродинамування розсіяного і опорного лазерного випромінювання, з наступним кореляційним аналізом, що включає в себе джерело лазерного випромінювання, схему формування випромінювання, вимірювальну камеру, що виконується з прозорого матеріалу і що має термостатичний кожух, що з'єднаний з термонагрівачем і каналом вводу зразка сперми, фотоприймач з діафрагмою Обскура, вихід з якого з'єднано зі входом попереднього підсилювача, вихід якого з'єднаний зі входом амплітудно - цифрового перетворювача, вихід якого з'єднано зі входом процесора, що має зв'язок з блоком вводу - виводу, в якому згідно з винаходом, схема формування випромінювання має діафрагму, що встановлена перед двоплечевою призмою для одержання двох лазерних променів, що під заданим кутом перетинаються у центрі вимірювальної камери, канал вводу зразка сперми з'єднаний з дозатором, а процесор виконано з реалізацією алгоритма використання автокореляційного аналізу флуктуацій фотоструму змішаних оптичних сигналів від сперматозоїдів, що рухаються, і опорного лазерного променя елементами, що вимірювана величина власних енерговитрат на рух сперматозоїдів в середовищі і в реальному масштабі часу обчислюється у вигляді

$$E = B \cdot \left\langle \left[\frac{dI}{dt} \right]^2 \right\rangle \Delta t, 2$$

де

E - власні енерговитрати на переміщення сперматозоїдів у в'язкому середовищі, Дж ,

I - середній струм фотодетектора, що вимірюється в режимі оптичного гомодинамування реєстрації розсіяного спермами лазерного променя світла, що усереднений за часом не більш як 10мс ,

Δt - інтервал часу усереднення квадрату похідної середнього фотоструму за термін набору точної інформації в межах від 30мс до 10с ,

$\langle \rangle$ - символ усереднення,

$B(\lambda \beta \theta \varpi)$ - нормуючий коефіцієнт розмірності, що залежить від довжини хвилі лазерного світла (λ), розмірів сперматозоїдів (β), кута детектування розсіяного спермами лазерного світла (θ) і потужності лазерного випромінювання, що опромінює сперматозоїди (ϖ), що усі визначаються і встановлюються в попередніх дослідах і задаються постійними величинами у вигляді імперативів

Те, що в запропонованому винаході використані вищевказані ознаки, дозволяє досягти вирішення поставлених задач - підвищення точності вимірювання внутрішніх енерговитрат сперматозоїдів (за рахунок зниження динамічної помилки і скорочення терміну вимірювання при збереженні статистичної вибірки), тому що аналізатор якості сперми має оригінальну схему побудови оптичної частини пристрою, а процесор реалізований для виконання запропонованого унікального алгоритму обробки сигналу фотоприймача Алгоритм роботи процесора побудований на простих операторах, що забезпечує можливість створення портативних аналізаторів сперми

Крім того, розглянутий аналізатор якості сперми можливо реалізувати з використанням як аналогового, так і цифрового принципу обробки електричних сигналів, тобто, для нього характерні простота, технологічність і гнучкість побудови

З огляду на неочевидність зазначених тверджень розглянемо більш докладно методологічні аспекти й у цьому зв'язку сутність винаходу

Суть запропонованого винаходу і методологічний аспект

Величиною, що безпосередньо вимірюється в кореляційному експерименті є не сам спектр розсіяного досліджуваною системою світла а спектр (або кореляційна функція) флуктуацій фотоструму на виході прибору, що фотореєструє Цей спектр являє собою результат биття гармонік електромагнітних полів один з одним і зосереджений у низькочастотній області, тобто там, де можливо проводити аналіз сучасними радіотехнічними засобами Вже на цьому рівні, як то на рівні класифікації гармонік електромагнітних полів, що реєструються фотодетектором, виникають два варіанти вимірів

а) на фотодетектор потрапляє лише світло, що розсіяне досліджуваною системою У цьому

варіанти реалізується гомогенний метод виміру,

б) разом із розсіяним на фотодетектор потрапляє і частина нерозсіяного (опорного) випромінювання. Цей варіант одержав назву гетеродинування.

На основі аналізу відомих літературних даних можна зробити загальні висновки з цього питання.

1. Ідеальне в теоретичному плані гетеродинування дозволяє за інших рівних умов і однаковому часі аналізу одержати в два рази більшу статистичну точність, ніж ідеальне гомодинування.

2. Математична обробка результатів вимірів при гетеродинуванні простіше, оскільки вона звичайно полягає в розкладанні спектра або кореляційної функції на адитивні внески різноманітного походження. Ця процедура полегшається, якщо вимірюється сама кореляційна функція, а не її квадрат. Те ж можна сказати і для спектрального аналізу, коли вимірюється сам спектр, а не його автозвертка.

3. Технічна реалізація гомодинування істотно простіше, відпадає необхідність ретельної юстировки і віброзахисту оптичної частини установки.

4. У гомогенному режимі легше використовувати техніку рахування фотонів із усіма перевагами, що випливають із цілком цифрової обробки сигналу.

Отже, гетеродинування в два рази точніше, проте гомодинування набагато простіше в експерименті.

Розглянемо програмне забезпечення обробки електричного сигналу фотоприймача в лазерно-доплерівському спектрометрі, відповідно до прототипу [5].

Алгоритм підпрограми "Керування" для одержання інформації про рух клітин по флуктуаціям розсіяного світла представляється в такій послідовності операцій.

Одинична кореляційна функція займає в пам'яті Мікро-ЕОМ 100 байт. Обмін інформацією між корелятором і комп'ютером організований на тактовій частоті 10кГц. Обсяг оперативного пристрою, що запам'ятовує, дозволяє записати 16 Кбайт інформації, що відповідає 160 послідовним вимірам, що може бути перенесена на гнучкі магнітні носії.

Термін побудови одиничної кореляційної функції визначається часом затримки між двома послідовними вибірками і кількістю цих вибірок. При статистиці 2^{13} сигналів і τ , рівнім 100мкс, побудова кореляційної функції розсіяного світла відбувається протягом 0,82с. Вибір величини статистики вибірок, які опрацьовуються, при побудові кореляційної функції визначається характеристиками досліджуваного процесу, при цьому мінімальна кількість вибірок обмежується власними шумами біологічних систем.

Термін між двома послідовними вимірами задається кількістю "порожніх" циклів у програмі "Керування" плюс час, що витрачається на передачу даних по каналах обміну. Шпаруватість сканування може змінюватися в межах від 10мс до часу, що обумовлюється лише параметрами досліджуваного процесу. Слід зазначити, що час обміну хоча й обмежує шпаруватість між вимірами, але не впливає на точність проведеного аналізу. Завдяки за-

стосуванню цифрового корелятора досягається 100% ефективність використання фотоструму під час побудови кореляційної функції.

Після набору масиву кореляційної функції проводять відновлення інформації про параметри руху клітин у популяції.

Для суспензії, що складає з рухливих і нерухомих клітин, кореляційна функція складається з швидке і повільно спадаючої, [8], типовий вид якої, отриманий у наших експериментах, поданий на фіг. 1.

У загальному вигляді кореляційну функцію для такої системи можна уявити як

$$G_1(\tau) = \beta G_{mol}(\tau) + (1 - \beta) G_{im}(\tau), \quad 3$$

де

$G_{mol}(\tau)$ - швидкоспадаюча компонента від рухливих клітин,

β - частина рухливих клітин (активність),

$G_{im}(\tau)$ - спадаюча повільно складова від нерухомих клітин.

У принципі клітини з нульовою швидкістю не дають доплерівського зсуву частоти і не можуть бути детектовані, але в умовах реального експерименту вони завжди підпадають під вплив рухливих сусідів і тому мають деяку швидкість, що і дає внесок у сумарну кореляційну функцію. При термінах затримки 100мкс повільноспадаюча компонента від малорухливих клітин добре описується константою, оскільки чисельні оцінки, приведені у вищевказаній роботі, дають відмінність від константи менше 1%.

Частина, що повільно спадає, має вигляд Лоренцевої кривої, напівширина котрої обернено пропорційна векторові розсіювання і середній швидкості руху клітин.

$$G_{mol}(\tau) = \frac{1}{1 + \left(\frac{g\tau}{v} \right)^2} \quad 4$$

де

g - модуль вектора розсіювання,

v - середня швидкість руху клітин,

τ - експериментальний термін затримки.

Отримані експериментальні результати підходять під теоретичну форму автокореляційної функції розсіяного світла за методом найменших

квадратів шляхом варіювання v і β . У результаті цього відокремлюється інформація про середню швидкість руху клітин і відносної кількості рухливих клітин у сучасному моменті часу. Розмір внутрішніх енерговитрат на рух клітин у популяції обчислюють за формулою

$$E = v \cdot \beta \cdot G(0) \cdot \beta \cdot G(0) \quad 5$$

Таким чином, в розглянутому пристрої - прототипу реалізована автоматизація знімання й опрацювання інформації про швидкість, рухливості й енерговитрати на прямування клітин у популяції з виключенням суб'єктивізму оцінки. Реальний час знімання й опрацювання інформації складається в межах 0,5 - 1 хвилини.

При дослідженні руху сперматозоїдів у зада-

чах оцінки якості сперми важливою характеристикою процесу є показник відносних внутрішніх енерговитрат клітини (а також усієї популяції) на переміщення в в'язкому середовищі. Як було показано нами раніше, цей показник пропорційний квадрату середньої миттєвої швидкості, помноженому на коефіцієнт, що пов'язаний із властивостями середовища і формою клітини. Для одержання значень середньої швидкості руху сперматозоїдів звичайно застосовуються кінематографічний або фотографічний методи, а останнім часом - метод лазерної спектроскопії. Засіб виміру швидкості руху шляхом побудови спектра розсіяного лазерного випромінювання має високу точність і об'єктивність, але достатньо працевитратний у плані опрацювання експериментальної інформації. Проте, як буде показано нижче, існують можливості безпосереднього виділення інформації про внутрішні енерговитрати клітини і популяції в цілому на рух з фотоструму детектора розсіяного лазерного випромінювання, що має доплєрівський зсув по частоті. При цьому відпадає необхідність побудови автокореляційної функції і її подальшого цифрового опрацювання методом підгонки експериментальних даних до теоретичної функції, що істотно впливає на систематичну помилку вимірів.

Запишемо вираз для кореляційної функції фотоструму (кореляційної функції амплітуди розсіяного лазерного світла, що у випадку гетеродинної схеми виміру збігається з кореляційною функцією фотоструму) [6] у вигляді

$$G(\tau) = \int_0^{+\infty} \frac{\sin g v \tau}{g v \tau} p(v) dv, \quad 6$$

де

g - модуль вектору розсіювання
 $g = \frac{4\pi}{\lambda} \cdot \sin \frac{\Theta}{2}$, Θ - кут розсіювання лазерного світла сперматозосперматозоїдами,

λ - довжина хвилі падаючого лазерного випромінювання),

τ - термін затримки при побудові кореляційної функції,

$p(v)$ - розподіл клітин сперматозоїдів по швидкостях їхнього руху. Можна показати, що при $\tau \rightarrow 0$

$$G(\tau) = \int_0^{+\infty} \frac{\sin g v \tau}{g v \tau} p(v) dv = 1 \quad \text{тому що} \quad \frac{\sin g v \tau}{g v \tau} \rightarrow 1$$

при $\tau \rightarrow 0$

Ось чому для визначення квадрата швидкості потрібно взяти другу похідну від $G(\tau)$ за часом у

точці $\tau = 0$. Дійсно, $\frac{\sin x}{x} (x \rightarrow 0) \approx 1 - \frac{x^2}{6}$, тому

$$G''(\tau)_{\tau \rightarrow 0} = -\frac{g^2}{3} \int_0^{+\infty} v^2 p(v) dv = -\frac{g^2}{3} \cdot v, \quad 7$$

тобто, друга похідна кореляційної функції пропорційна квадрату миттєвої швидкості руху сперматозоїдів. Якщо ж використовувати ненормовану кореляційну функцію, що дорівнює [6]

$$G_{\text{ненорм}}(\tau) = G_{\text{норм}}(\tau) \cdot G(0), \quad 8$$

де

$G(0) = \langle I^2 \rangle$ при цьому $\langle I^2 \rangle$ - пропорційно, як показано в наших експериментах, кількості сперматозоїдів або рухливих мікроорганізмів у зоні розсіювання лазерного випромінювання

$$\text{Таким чином, } G''(\tau)_{\tau \rightarrow 0} = -\alpha \cdot E, \quad 9$$

де E - потужність внутрішніх енерговитрат сперматозоїдів, що пропорційна $E \sim v^2 \cdot N$, і відбиває енерговитрати мікроорганізмів на подолання сил в'язкого тертя середовища. Зв'яжемо тепер $G''(\tau)$ із фотострумом детектора розсіяного лазерного випромінювання

$$G(\tau) = \lim_{T \rightarrow \infty} \frac{2}{T} \int_{-T}^{+T} I(t) \cdot I(t+\tau) dt, \quad 10$$

де $I(t)$ - інтенсивність фотоструму. У цьому випадку маємо

$$G''(\tau) = \lim_{T \rightarrow \infty} \frac{2}{T} \int_{-T}^{+T} I(t) \cdot I''(t+\tau) dt, \quad 11$$

Інтегруючи цей вираз вроздріб, одержимо

$$G_{\text{ненорм}}(\tau) = \lim_{T \rightarrow \infty} \frac{2}{T} \int_{-T}^{+T} I(t) \cdot I'(t+\tau) dt - \frac{2}{T} \int_{-T}^{+T} I'(t) \cdot I(t+\tau) dt, \quad 12$$

З огляду на те, що перший доданок тут прямує до нуля, одержуємо вираз

$$G_{\text{ненорм}}(\tau)_{\tau \rightarrow 0} = \frac{2}{T} \int_{-T}^{+T} I'(t) \cdot I'(t+\tau) dt, \quad 13$$

Таким чином, $G_{\text{ненорм}}(\tau)_{\tau \rightarrow 0} = -\langle (I')^2 \rangle$, і, з огляду на формулу (7)

$$\text{маємо } \langle (I')^2 \rangle \sim E, \quad 14$$

Отже, середні значення, що пов'язано з природою реєстрації фотоприймачем лазерного випромінювання, квадрата похідною фотострума детектора розсіяного лазерного випромінювання пропорційно внутрішнім енерговитратам мікроорганізмів, зокрема сперматозоїдів, на прямованні у в'язкому середовищі. Коефіцієнт пропорційності у формулі (14) визначити не важко.

З огляду на, що для кореляційної функції неточечних об'єктів, що рухаються, відомий вираз [7]

$$\langle \tau \rangle = \frac{1}{1 + (2,75 g v \tau \cdot 2\pi)^2}, \quad 15$$

Одержуємо

$$g''(\tau)_{\tau \rightarrow 0} = -2 \cdot (2,75 q \cdot 2\pi)^2 \cdot v^2, \quad 16$$

або

$$g_{\text{ненорм}} = -2 \cdot (2,75 q \cdot 2\pi)^2 \cdot v^2 \cdot N, \quad 17$$

Тому що під енерговитратами ми розуміємо $E = v^2 \cdot N$, тобто

$$\langle (I')^2 \rangle = 2 \cdot (2,75 q \cdot 2\pi)^2 \cdot E, \quad 18$$

Звідси остаточно отримуємо

$$E = \frac{1}{2 \cdot (2.75q \cdot 2\pi)^2} \cdot \left\langle \left(\frac{dl}{dt} \right)^2 \right\rangle \Delta t, 19$$

Вираз енерговитрат у вигляді (19) уже збігається з тим виразом, що досліджувався нами раніше

Практичну реалізацію розглянутого алгоритму виміру енерговитрат на рух мікроорганізмів у в'язкому середовищі з використанням лазерно-доплерівського спектрометра можна здійснити на персональному комп'ютері будь-якого класу. Для цього сигнал фотодетектора розсіяного на мікрооб'єкті, що рухається, лазерного випромінювання через аналогово-цифровий перетворювач із частотою знімання, наприклад 5кГц, заносяться в ОЗУ комп'ютера. Для реалізації описаного вище алгоритму достатньо було б проводити виміри фотоструму з частотою 1кГц, щоб одержати інформацію в дискретному виді. Але завдяки підвищеній частоті вдасться одержати середнє арифметичне високо-частотних шумів фото детектора. Для цього застосовується засіб цифрової фільтрації за методом ковзного середнього, тобто у обчислювальному

алгоритмі використовується сигнал, автоматично усереднений по п'ятих точках. У цьому випадку заключна формула одержання похідною фотоструму має вигляд

$$I' = \frac{\left(\sum_{j=k}^{j=k+5} I_j - \sum_{j=k-6}^{j=k-1} I_j \right)}{5 \cdot 10^{-3}}, 20$$

Таким чином, вимірювальний комплекс (аналізатор якості сперми), з аналізованим алгоритмом опрацювання сигналів детектора фотоприймача методом гетеродинування, має

достатньо високу точність виміру (що природно) параметрів внутрішніх енерговитрат на рух сперматозоїдів,

швидкодю, експлуатаційну гнучкість, простоту технічного виконання (аналоговий або цифровий варіанти),

тому що в оптичній схемі використаний принцип одержання биття електромагнітного випромінювання в оптичному діапазоні, що припускає вимір флуктуації фотоструму, а процесор практично і технічно реалізований винятково простими операторами послідовної дії, як то

Таблиця 1

Структура процесора

№ оператора	Функція оператора	Технічна реалізація
1	Фільтрація сигналу	Широкополосний фільтр
2	Усереднення в мікротерміновому діапазоні	RC - ланцюг
3	Диференціювання середнього сигналу фотоструму	Диференціальний підсилювач
4	Зведення в квадрат	Квадратичний підсилювач
5	Інтегрування за час проведення експерименту	Суматор або ж RC - лагцюг

Приклад реалізації запропонованого винаходу

На фіг. 2 представлена структурна схема аналізатора якості сперми, що вміщує в себе джерело лазерного випромінювання 1, схему формування випромінювання 2, вимірювальну камеру 3, що виконується з прозорого матеріалу і що має термостатичний кожух 4, що з'єднаний з термонагрівачем 5 і каналом вводу 6 зразком сперми. Фотоприймач 7 з діафрагмою Обскура 8, вихід якого з'єднано зі входом попереднього підсилювача 9, вихід якого з'єднаний зі входом амплітудно - цифрового перетворювача 10, вихід якого з'єднано зі входом процесора 11, що має зв'язок з блоком 12 вводу - виводу.

В аналізаторі, який розглядується, згідно з винаходом, схема формування випромінювання 2 має діафрагму 13, що встановлена перед двоплечевою призмою 14 для одержання двох лазерних променів, що під заданим кутом перетинаються у центрі вимірювальної камери 3. Канал вводу 6 примірника сперми з'єднано з дозатором 15, а процесора 11 виконано з реалізацією алгоритма використання автокореляційного аналізу флуктуацій фотоструму змішаних оптичних сигналів від сперматозоїдів, що рухаються, і опорного лазерного променя таким чином, що вимірювана величина власних енерговитрат на рух сперматозоїдів в середовищі і в реальному масштабі часу обчислю-

ється у вигляді

$$E = B \cdot \left\langle \left(\frac{dl}{dt} \right)^2 \right\rangle \Delta t, 21$$

де

E - власні енерговитрати на переміщення сперматозоїдів у в'язкому середовищі, Дж,

\bar{I} - середній струм фотодетектора, що вимірюється в режимі оптичного гомодулювання реєстрації розсіяного сперміями лазерного променя світла, що усереднений за часом не більш як 10мс,

Δt - інтервал часу усереднення квадрату похідної середнього фотоструму за термін набору технічної інформації в межах від 30мс до 10с,

$\langle \rangle$ - символ усереднення,

$B(\lambda, \beta, \theta, \varpi)$ нормуючий коефіцієнт розмірності, що залежить від довжини хвилі лазерного світла (λ), розмірів сперматозоїдів (β), кута детектування розсіяного сперміями лазерного світла (θ) і потужності лазерного випромінювання, що опромінює сперматозоїди (ϖ), що усі визначаються і встановлюються в попередніх дослідках і задають-

ся постійними величинами у вигляді імперативів

З огляду на те, що в розглянутому аналізаторі якості сперми вимірюється (без проміжних вимірів швидкості і рухливості організмів) тільки величина внутрішніх енерговитрат спермів на їхнє рух в в'язкому середовищі, необхідно розглянути експериментальне обґрунтування цієї ознаки

Приклад 1 По обґрунтуванню параметра контролю енергетичної характеристики руху клітин у популяції

Біологічний об'єкт рухливих клітин поміщали у вимірну камеру при заданій температурі $T = 20^\circ\text{C}$, що підтримували на протязі експерименту з точністю $0,1^\circ\text{C}$. Освітлювали лазерним світлом із реєстрацією розсіяного світла і виміром флуктуацій фотоструму, по яким будували кореляційну

функцію. Одержували величину швидкості (\bar{v}) , квадрата швидкості (\bar{v}^2) і енерговитрат на рух

клітин у популяції $(E = \bar{v} \cdot \eta G(0))$. Потім експерименти повторювали, але при температурі $T = 30 \pm 0,1^\circ\text{C}$. По цих результатах обчислювали $A \pm a$, де A - показник, що вимірюється

У таблиці 2 наведені значення для всіх досліджуваних параметрів біологічних об'єктів (сперма биків і людини, клітин водорослей *Pedinomonas*, *Dunaliella Salina* і найпростіших - інфузорій *Tetrahymena pyriformis*)

Таблиця 2

Оцінка величини $K(\Delta T = 10^\circ\text{C}) = \frac{A(30^\circ\text{C})}{A(20^\circ\text{C})}$ для різноманітних параметрів руху клітин

№	Біологічний об'єкт	Параметри руху			Кінетичний показник ферментативних реакцій, ДО
		Швидкість	Рухливість	Енерговитрати	
1	Сперма людини	$1,33 \pm 0,02$	$1,78 \pm 0,11$	$1,93 \pm 0,16$	2,00
2	Сперма биків	$1,38 \pm 0,01$	$1,90 \pm 0,07$	$2,06 \pm 0,09$	(див. Наприклад, [Маршелл, 1981, Хочачка Сомеро, 1977])
3	Водорості <i>Pedinomonas</i> , <i>Dunaliella Salina</i>	$1,36 \pm 0,07$	$1,85 \pm 0,18$	$2,16 \pm 0,11$	(див. наприклад [Гофман, 1971])
		$1,45 \pm 0,10$	$2,09 \pm 0,14$	$2,48 \pm 0,22$	
4	Інфузорії <i>Tetrahymena pyriformis</i>	$1,33 \pm 0,15$	$1,77 \pm 0,22$	$2,65 \pm 0,47$	

Результати, які подані в таблиці 2 дозволяють зробити наступні висновки

З літературних джерел відомо, що при зростанні температури інкубації на 10°C швидкість хімічних реакцій зростає в 2 рази (тут маємо на увазі ферментативні процеси синтезу і гідролізу АТФ), а на долю рухових АТФаз припадає 70 - 85% від спільної АТФазної активності сперматозоїдів. У цьому плані швидкість поступального руху статевих клітин досліджуваних видів явно не відбиває хімічну кінетику енерговитрат, тому що $K(\Delta T = 10^\circ\text{C}) = 1,3 - 1,4$. Крім того, швидкість поступального руху не має розмірності енергії, а тому безпосередньо

дані, тобто (\bar{v}) і $(E = \bar{v} \cdot \eta G(0))$ співставляти не правомірно

От чому нами пропонується використовувати показник внутрішніх енерговитрат у вигляді E , для якого $K(\Delta T = 10^\circ\text{C})$ (у випадку спермів) дорівнює 1,9 - 2,1, що цілком узгоджується з загальними уявами про внутрішні енерговитрати на рух клітин

Деяка розбіжність $K(\Delta T = 10^\circ\text{C})$ для інших біологічних об'єктів, очевидно, пов'язана з резервними механізмами енергообміну в цих клітинах дослі-

джуваних організмів. З цього випливає, що саме показник E пропорційний відносним енерговитратам клітин на рух і відбиває температурну кінетику ферментативних процесів, пов'язаних із циклом синтезу АТФ

Приклад 2 Аналіз приладових і статистичних погрешностей виміру параметрів руху клітин

За біологічний об'єкт дослідження розглянемо клітину спермів бика. Точність визначення доли рухливих клітин можна оцінити, диференціюючи вираз для кореляційної функції $G(\tau)$ по β

$$G(\tau) = \beta \cdot G_{\text{mot}}(\tau) + (1 - \beta) \cdot G_{\text{im}(\beta)}$$

$$dG(\tau) = \frac{dG(\tau)}{d\beta} \cdot d\beta = (G_{\text{mot}}(\tau) - 1) \cdot d\beta$$

Виходячи з того, що точність визначення амплітуди $G(\tau)$ складає 0,01, можна знайти межу можливості розв'язання β при фіксованій швидкості \bar{v} руху клітин. Результати оцінки наведені в таблиці 3

Таблиця 3

Залежність абсолютної погрішності рухливих клітин
від швидкості і частоти вертіння головки спермів

№	Характеристика	Значення				
1	Частота вертіння головки, Гц	10	8	6	4	2
2	Швидкість руху, мкм/с	85	68	51	34	17
3	Абсолютна погрішність виміру долі рухливих клітин	0 010	0 011	0 011	0 013	0 021

Як очевидно з таблиці 3, у достатньо широкому діапазоні зміни середніх швидкостей руху сперматозоїдів абсолютна погрішність виміру β має величину біля 0 01 і лише при малих швидкостях вона незначно збільшується.

Для оцінки погрішності виміру середньої швидкості руху частинок у суспензії, зв'язаної з дискретністю визначення як амплітуди - напівширини кореляційної функції (0 01), так і з тимчасовим квантуванням корелятора (100мкм), виразимо зміну швидкості, що визначається по напівширині кореляційної функції, через зміни значення $\Delta G(\tau)$ і часу затримки $\Delta \tau$. Враховуючи незалежність цих

параметрів одержимо вираз у вигляді

$$\Delta v = \left(\frac{4(\Delta G(\tau))^2}{\beta^2} \cdot v_0 + \frac{\alpha^2}{4} \cdot v^3 \Delta \tau^2 \right)^{1/2}$$

де, $\Delta G(\tau) = 0,01$, $\lambda = 2,75 \cdot 2\pi q = 47,69$, v_0 -

швидкість руху, Δv - змінювання швидкості руху спермів

Підставивши значення конкретних швидкостей і частини рухливих клітин одержимо величини погрішностей визначення E , що виникають через погрішності амплітудно-тимчасового квантування. Результати приведені в таблиці 4.

Таблиця 4

Погрішність визначення швидкості руху спермів

№	Частина рухливих клітин, відн од	Швидкість, мкм/с		
		85	59 5	34
1	0,1	6 4%	7 6%	0 0%
2	0,4	1 9%	8 2%	2 5%
3	0,7	1 4%	1 4%	1 6%

З таблиці 4 очевидно, що в діапазоні, що характерний для досліджуваних швидкостей руху (30 - 80мкм/с), і частиною рухливих клітин (0 3 - 0 7) погрішність визначення середньої швидкості руху спермів не перевищує 3%.

Оцінку приладової погрішності виміру питомих енерговитрат на рух клітин у популяції необхідно робити з урахуванням погрішностей швидкостей (0,03 - 0,05) і рухливостей (0 066) реально, що вимірюються в дослідах. В цьому разі маємо помилку виміру енерговитрат порядку 6 6%.

Окрім приладових помилок у визначенні параметрів руху клітин у популяції існує статистична помилка виміру середньої по ансамблеві величини популяцій. Оскільки розподіл клітин по швидкості руху має відносну напівширину 50%, то можна оцінити і статистичну точність виміру середньої по

ансамблеві швидкості (v). Так, за час виміру (для $\tau = 100$ мкс, $t = 13$ с), при концентрації організмів 1000 клітин/мм³ у зоні розсіювання світла (місткість=9 05*100мм³) заміниться біля 400 клітин, тобто статистична точність виміру середньої швидкості руху складе 50% / 400, тобто - 2 5%, а при концентрації організмів - 10000 клітин/мм³, вона знизиться до величини 0 79%. З цього слідує, що статистична помилка не перевищує в умовах реальних експериментів приладових погрішностей.

Зведеного аналізу приладових і статистичних погрішностей виміру середніх параметрів

руху ансамблю сперматозоїдів слідує, що величина помилки виміру швидкості, як правило не перевищує 3%, частини рухливих клітин - 5%, а енерговитрат - не більш 7%, що у випадку дослідження рухливого біологічного об'єкта, що має власні флуктуації контрольованої характеристики, є дуже задовільним.

Приклад 3 Оцінка впливу різноманітних факторів на результат виміру швидкості, рухливості і внутрішніх енерговитрат.

За зовнішні фактори, що впливають на джерело світла, оптичну схему й електронну частину пристрою, використовували

низькочастотні (1 - 5Гц) вібрації оптичної частини пристрою для визначення вібростійкості, вносили випадкові збурення в інтенсивність лазерного променя,

вимірювання проводили в режимах різноманітної зовнішньої засвітки зі штучним освітленням з частотою 100Гц і природного денного освітлення,

змінювали оптичну довжину кювети, використовували діафрагми з різноманітним діаметром отвору,

досвіди проводили при різноманітному коефіцієнті підсилення у вимірювальному тракті,

змінювали величину вибірки досліджуваних сигналів.

Результати приведені в таблиці 5. За рухливого біологічного об'єкта дослідження використовували культуру мікроводорості *Pedinomonas* на стаціонарній фазі росту, щоб виключити тимчасові

вий фактор біологічного впливу на результати вимірів. Число дослідів в експериментах, що проводили, не менше 5.

Як слідує з результатів, поданих у таблиці 4, зовнішні фактори впливу й умови проведення дослідів вносять незначну помилку в результат виміру параметрів руху клітин (для прототипу зовнішні фактори вносять збурення, визначаючи помилку, що не перевищує помилку в експериментах з біологічними об'єктами, наприклад вимірів енерговитрат - 53,28%, а для запропонованого пристрою цей розмір складає, відповідно, - 9,94%. Це свідчить про не критичність процесу виміру до впливу досліджуваних збурюючих факторів, що дозволяє одержувати високовідтворювані результати в різ-

номантних умовах проведення дослідів

При цьому, необхідно звернути увагу на те, що навіть в умовах значної дії зовнішніх факторів, оцінка енерговитрат по запропонованому варіантові аналізатора якості сперми характеризується високою точністю вимірів

Зокрема, середній показник варіабельності ($\beta = 3,92\%$), що вимірюється, показник енерговитрат стосовно базового варіанта ($\beta = 6,45\%$) (обраного за прототип) зменшується на 39,22%

Таблиця 5

Аналіз характеристик надійності виміру параметрів руху клітин на лазерно-доплерівському спектрометрі

№	Вид фактора впливу на вимірювальну систему	Показники параметрів руху клітин			
		Швидкість, мкм/с	Рухливість, відн од%	Енерговитрати, ум од (прототип пристрою)	Енерговитрати, ум од (запропонований пристрій)
1	2	3	4	5	6
1	Дослід контролю (природне Освітлення, діаметр діафрагми 0,5мм, коефіцієнт підсилення 40дБ Статистика сигналів 2 ¹⁷	46 92 ± 0 51	26 61 ± 1,50	584 52 ± 23 84 $\beta = 4,08\%$	2436,14 ± 79,42 $\beta = 3,26\%$
2	Помешкання цілком затемнене (темний режим виміру)	47 69 ± 0 61	26 02 ± 2 47	588 84 ± 46 96 $\beta = 7,98\%$	2352,05 ± 140,89 $\beta = 5,99\%$
3	Помешкання зі штучним освітленням, частотою модуляції 100Гц	46 67 ± 0 60	21 71 ± 1 03	471 07 ± 18 79 $\beta = 3,93\%$	1894,46 ± 60,43 $\beta = 3,19\%$
4	Низькочастотна вібрація оптичної частини пристрою (1-5 Гц, світлий режим)	43 78 ± 0 85	34 68 ± 2 52	664 71 ± 47 69 $\beta = 7,17\%$	2656,11 ± 121,65 $\beta = 4,58\%$
5	Змінювання діаметра діафрагми і коефіцієнта підвищення (d = 1 5мм, коеф підс = 30дБ, статистика 2 ¹⁷ світлий режим)	52 53 ± 1 45	20 82 ± 1 77	572 94 ± 44 07 $\beta = 7,69\%$	2188,72 ± 90,61 $\beta = 4,14\%$
6	Змінювання статистики вибірки (d=1 5 мм, коеф Підс - 30дБ, статистика 2 ¹⁶ , світлий режим)	53 81 ± 2 72	22 82 ± 2 14	644 47 ± 28 90 $\beta = 4,48\%$	2076,69 ± 70,19 $\beta = 3,38\%$
7	Теж, що і дослід 5, 6, (але при статистиці 2 ¹⁵)	49 13 ± 2 64	21 41 ± 2 71	512 98 ± 63 58 $\beta = 12,39\%$	2248,95 ± 83,66 $\beta = 3,72\%$
8	Змінювання оптичної довжини кювети в межах 20% (світлий режим, параметри як у досліді 1)	48 29 ± 1 20	25 08 ± 1 61	575 11 ± 22 40 $\beta = 3,89\%$	2482,17 ± 77,20 $\beta = 3,11\%$
9	Середні значення вимірів із середньоквадратичною помилкою і варіабельністю, в умовах зовнішніх факторів впливу на вимірюв. систему (за результат Дослідів 1-8)	48,60 ± 1 14	24,90 ± 1 60	576,00 ± 306,92 (±53,28%) $\beta = 6,45\%$	2291,91 ± 228,06 (±9,94%) $\beta = 3,92\%$
10	Варіабельність параметрів виміру, %	2 48	6 42	3 90	

Таким чином, на підставі вищевикладеного можна зробити наступні висновки

Метод лазерно-доплерівської спектроскопії для оцінювання якості рухливих клітин - основний метод, що притягає увагу як вітчизняних, так і за-

рубіжних дослідників. Проте, усі перераховані конструкції аналізаторів якості сперми не придатні для експрес-прогнозування стану клітин через свою складність, трудомісткість, низкою точністю, а головне, відсутності інформації про рівень мета-

болізму, зв'язаного з рухом клітин, їхніх внутрішніх енерговитрат на рух. Неюжі також для цієї мети і розроблені відомі методи оцінки якості сперми по біохімічних, цитологічних або фізіологічних показниках, як правило через свою методичну складність, потреби в дефіцитних реактивах, і особливо через велику тривалість у часі аналізів.

У цьому зв'язку перевагою запропонованого аналізатора для оцінювання якості сперми являється

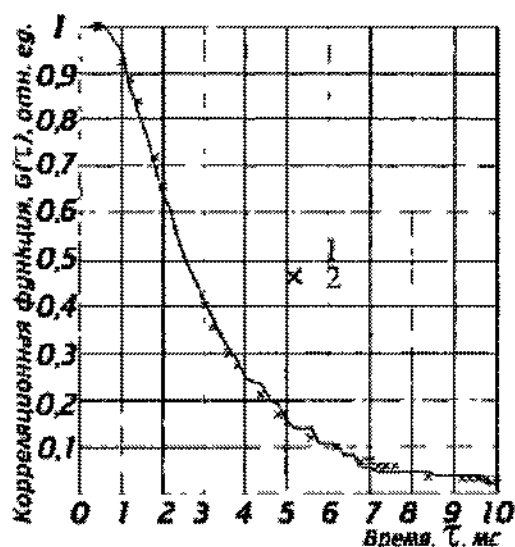
1) компактність, надійність експлуатації і простота обслуговування аналізатора, можливість широкого використання у виробничих умовах, висока точність і об'єктивність виробленої оцінки якості сперми,

2) уперше на розробленому приборі вимірюється показник енерговитрат на рух клітин (як сві-

дчення про рівень їхнього метаболізму), що корелює із спроможності генофонду, що запліднює, без необхідності проведення спеціально організованого автокореляційного аналізу сигналів фотоприймача розсіяного лазерного випромінювання. Дану ознаку визначає унікальність аналізатора в галузі медико-біологічного приладобудування.

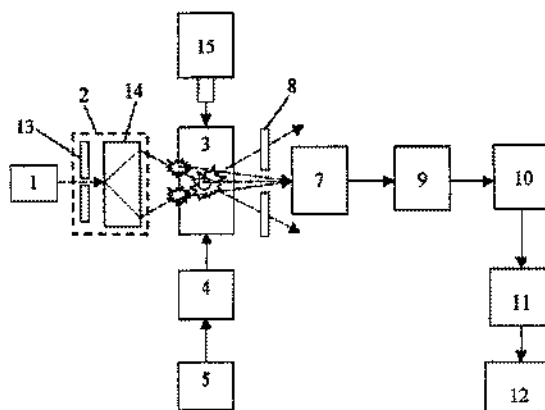
3) здатність аналізатора працювати в реальному масштабі часу дає можливість проведення оперативного контролю результату процесів заморожування або деконсервації статевих клітин,

4) прибор може бути використаний для оцінювання екологічної ситуації водного середовища, скринінга кріомодифікаторів біологічних середовищ, біомоніторингу й в інших задачах біотестування.



Значення функції $G(t)$, що наведено на рисунку, не збігаються з точністю 0.01 з експериментальними значеннями.

Фиг. 1



Фиг. 2

ДП «Український інститут промислової власності» (Укрпатент)

вул. Сим'ї Хохлових, 15, м. Київ, 04119, Україна

(044) 456 – 20 – 90

ТОВ «Міжнародний науковий комітет»

вул. Артема, 77, м. Київ, 04050, Україна

(044) 216 – 32 – 71