



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 45481

(13) C2

(51) 6 G01N33/48, G01P3/36

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІОПИС  
ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) ЛАЗЕРНО-ДОПЛЕРІВСЬКИЙ ПРИСТРІЙ ДЛЯ ОЦІНКИ ТОКСИЧНОСТІ ТА БІОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ ХІМІЧНИХ РЕЧОВИН

1

2

(21) 99084597

(22) 10 08 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 06 1988

GB, 1202612, 19 08 1970

US, 4997272, 05 03 1991

(57) Лазерно-доплерівський пристрій для оцінки токсичності та біологічної активності хімічних речовин з виконанням методу оптичного гомодинування, що містить джерело лазерного випромінювання і живлення, схему формування лазерного випромінювання, вимірювальну камеру, яка виготовлена з прозорого пластику, що має термостатичний кожух, з'єднаний з термостатом, фотоприймач з діафрагмою Обскура, попередній підсилювач, аналого-цифровий перетворювач, інтерфейс, електронну обчислювальну машину з блоком вводу-виводу, який відрізняється тим, що схема формування лазерного випромінювання складена з двопроменевої призми, яка розщеплює лазерне світло на два промені, і з діафрагми, яка встановлена з боку дна, а фотоприймач - з боку

вільної поверхні вимірювальної камери, при цьому як вимірювальну камеру використовують пластиковий одноразовий планшет для культивування клітин, який з'єднаний з блоком керування положенням вимірювальної камери, яка обладнана дозатором біологічного тест-об'єкта і дозатором рідини, які з'єднані з культиватором біологічного тест-об'єкта і блоком підготовки і розбавлення рідини з хімічними добавками, два промені лазерного випромінювання перетинаються в центрі вимірювальної камери із заданим кутом, а опорний промінь формують від розсіяного світлового відблиску із зовнішнього боку дна вимірювальної камери, окрім того, до блока керування положенням вимірювальної камери приєднаний механізм приводу, а між джерелом лазерного випромінювання і схемою формування лазерного випромінювання встановлена система дзеркал, при цьому схема формування лазерного випромінювання і система дзеркал сполучені з блоком юстирування, інтерфейс виконаний як універсальний з допоміжними та іншими каналами зв'язку для інших вимірювальних систем контролю, електронна обчислювальна машина забезпечена спеціалізованим програмним забезпеченням, блок вводу-виводу обладнаний каналами обміну та зв'язку комплексу із стандартними комп'ютерними мережними системами, а термостат з'єднаний з електронною системою термостабілізації

Винахід відноситься до біології, медицини та екології, зокрема, до медико-біологічного приладобудування, до вимірювальних систем контролю якості води за узагальненими показниками токсичності, що оцінюються методами біотестування, саме до пристроїв для вимірювання внутрішніх енерговитрат рухомих мікробіологічних об'єктів на їх рух у в'язкому середовищі, і може бути використаний в системах біомоніторингу, екоотоксикології і біотестування для оцінки токсичності природних і стічних вод, скринінгу біологічної активності препаратів і хімічних речовин

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

Цей пристрій маємо розглядати як вимірювальну систему біотестування, до складу якої входять біологічний рухливий тест-об'єкт, що розміщується у вимірювальній камері, яка обладнана вторинними датчиками (приймача лазерного світла) реєстрації функціональних показників життєдіяльності - рухливості тест-об'єкта, виходи цих дат-

(13) C2

(11) 45481

(19) UA

чиків з'єднано з підсилювачем і перетворювачем електричних сигналів. Останні, в свою чергу, з'єднано з блоком відображення інформації, яка далі передається користувачу. Функціонально вони сполучені таким чином, щоб забезпечити дослід після дозованого запровадження зразка водного середовища у вимірювальну камеру, до якої подається з культиватора біологічний тест-об'єкт, і де здійснюється інкубація його з водою, що досліджується, певний інтервал часу. Після завершення інкубації роблять послідовний вимір показника руху біологічного тест-об'єкта для оцінки його стану у вимірювальній камері, а потім тим же вимірювачем оцінюється стан біологічного тест-об'єкта в камері контролю. Про ефект токсичності досліджуваного водного середовища судять по зміні величини відношення виміряного показника руху в досліді та контролі. При перевищенні відгуку реакції біологічного тест-об'єкта деякого порогу, що встановлюється в попередніх дослідах, з одержанням калібрувальних графіків відгуку для конкретного біологічного тест-об'єкта досліджуваної хімічної речовини, з'являється можливість зробити оцінку токсичності.

Недоліком такої системи є те, що

за її допомогою неможливо контролювати число нерухомих клітин, а також вимірювати величину внутрішніх енерговитрат на рух клітин в популяції.

неможливо провести оцінку параметричної чутливості біологічного тест-об'єкта в реальному масштабі часу, що знижує відтворюємість одержуваних результатів оцінки його функціонального показника руху,

трудомісткість проведення аналізів і низька точність оцінки токсичності, що пов'язано з необхідністю одержання калібрувальних графіків для конкретних хімічних речовин і стічних вод, що найчастіше мають невизначений склад,

значна динамічна помилка, яка пов'язана з ефектами метаболізму і наявністю добових біоритмів параметрів руху - життєдіяльності біологічних тест-об'єктів.

У цьому зв'язку відомий пристрій - лазерно-доплерівський анемометр [2], в якому використовується така оптика: лазерна головка, оптична лава, 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 (виміру). Швидкість потоку або часток визначається по розрахунковій формулі. Сигнал від ФАП підсилюється 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. За лазерну головку використовується 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.

Цей пристрій також можливо використати для дослідження токсичності та біологічної активності хімічних речовин при біотестуванні, однак треба вказати на таке:

До хиб даного пристрою варто віднести

високі вимоги до метрологічних характеристик лазерної головки, зокрема, до когерентності, стабільності, інтенсивності і шумів генерації випромінювання, складність юстировки оптичного тракту, бо для гетеродинування сигналу потрібна 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, спермі тварин і людини мають характерні швидкості руху в діапазоні 1 - 10мкм/с. З огляду на те, що вимоги до точності виміру швидкостей і рухливості таких об'єктів, що у біологічних дослідженнях складають порядку  $\pm 1$ мкм/с, то очевидно, що використання в задачах, біотестування лазерного анемометра типу 55L у цьому випадку неможливе.

Найбільше близьким до пристрою, що заявляється, є пристрій для вимірювання в реальному масштабі параметрів руху рухомих клітин [3], який містить в собі такі основні вузли і блоки:

Промінь лазерного світла від джерела, який з'єднано з блоком живлення, формується оптичною схемою (діафрагмою і лінзою) і фокусується у центрі вимірювальної камери з суспензією клітин, 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'єкта, 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 білі в від передньої стінки вимірювальної камери. Білі формуються рисками, що їх нанесено на передню стінку камери. Режим оптичного гетеродинування реалізований шляхом змішування на фотокатоді фотоприймача розсіяного світла від об'єкта, що рухається, 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

$$E = \frac{-2}{v} \cdot \beta \cdot G(0)$$

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 Обскура.

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 ультратермостат, 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° С із точністю не нижче  $\pm 0,1$  °С.

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

Напруга живлення на ФЕП подається від високовольтного, стабілізованого випрямляча типу ТВ-2. Нестабільність вихідної напруги в діапазоні 50-1500 В не нижче 0,2%. На ФЕП подається напруга 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 вздовж осі симетрії камери. Для формування зображення використаний принцип камери Обскури 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 ФЕП.

Детекторна частина доплерівського кореляційного спектрометра встановлена на поворотному плечі гоніометра Г-5, а термостатичного кожуха 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  $\pm 0,5$ . Обмеження на світлозахист від зовнішнього засвічування, зовнішніх впливів типу "хитація" 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 100 000 Гц. Коефіцієнт підсилення установлюється від 10 до 100 дБ східчає через 10 дБ. Вхідний опір пристрою - 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 0,5-25 000 Гц. З огляду на те, що частотний діапазон доплерівського зсуву на рухливих клітинах достатньо перекидає діапазон одержуваних у досліді частот, ця вимірювальна схема дозволяє в широкому діапазоні вимірювати швидкості від 0 до 500 мкм/с. Час виміру для побудови кореляційної функції вибирається відповідно до умови конкретного експерименту і може змінюватися від 27 до 217 у, де  $f$  - 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 типи 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 вхідні 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 - прототипу маємо віднести

недостатня компактність і деяка складність обслуговування вимірювального комплексу ускладнює реалізацію переносного, а тим більше порта-

тивного, варіантів пристроїв для оцінки токсичності та біологічної активності хімічних речовин,

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

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

у відомій вимірювальній системі біотестування неможливо організувати синхронний контроль функціонального стану біологічного тест-об'єкта в контролі і у досліді з метою одержання відносного розміру параметру реакції біологічного тест-об'єкта на токсичний вплив

велика тривалість проведення досліджень, тому що при оцінці функціонального стану біологічного тест-об'єкта необхідне використання калібрувальних графіків

існує значна динамічна помилка в оцінці функціонального стану біологічного тест-об'єкта в умовах дії відповідних чинників, тому що не враховується показник параметричної чутливості і ефект, пов'язаний зі схованими і явними біоритмами, що визначають його життєдіяльність у реальному масштабі часу

складність реалізації високоточної вимірювальної системи з результатами, що відтворюються, тому що технічні засоби, що входять до складу відомої вимірювальної лазерно-доплерівської системи біотестування, повинні володіти «жорсткими» метрологічними характеристиками. В основу винаходу поставлена задача удосконалити пристрій

із забезпеченням підвищення точності виміру внутрішніх енерговитрат мікроорганізмів й сперматозоїдів (за рахунок зниження динамічної помилки і скорочення часу виміру при зберіганні статистичної вибірки),

зниження динамічних помилок і підвищення відтворюємості аналізу в короткострокових дослідженнях біотестування з використанням диференціального й алгоритмічного методів підвищення точності вимірів функціонального стану рухливих біологічних тест-об'єктів в реальному масштабі часу без використання калібрувальних графіків

Поставлена задача вирішується за рахунок того, що лазерно-доплерівський пристрій для оцінки токсичності та біологічної активності хімічних речовин з виконанням методу оптичного гомодинування, що містить джерела лазерного випромінювання і живлення, схему формування лазерного випромінювання, вимірювальну камеру, яка виготовлена з прозорого пластику, що також має термостатичний кожух, з'єднаний з термостатом, фотоприймач з діафрагмою Обскура, попередній підсилювач, аналого-цифровий перетворювач, інтерфейс, електронну обчислювальну машину з блоком вводу-виводу

В якому при цьому, відповідно до винаходу, схема формування лазерного випромінювання складається з двопроменевої призми, яка розщеп-

лює лазерне світло на два променя, і діафрагми, які встановлені з боку дна, а фотоприймач - з боку вільної поверхні вимірювальної камери, при цьому за вимірювальну камеру використовується пластинковий одноразовий планшет для культивування клітин, з'єднаний з блоком керування положенням вимірювальної камери, що облаштована дозатором біологічного тест-об'єкту і дозатором рідини, які з'єднані з культиватором біологічного тест-об'єкту і блоком підготовки і розбавлення рідини з хімічними добавками, при чому два промені лазерного випромінювання перетинаються в центрі вимірювальної камери під заданим кутом, а опорний промінь формується від розсіяного світлового відблиску із зовнішнього боку дна вимірювальної камери, окрім того, блок керування положенням вимірювальної камери має механізм приводу, а між джерелом лазерного випромінювання і схемою формування лазерного випромінювання встановлено систему дзеркал, при цьому схему формування лазерного випромінювання і систему дзеркал пов'язано з блоком юстировки, інтерфейс виконано як універсальний з допоміжними та іншими каналами зв'язку для інших вимірювальних систем контролю, а електронна обчислювальна машина має спеціалізоване програмне забезпечення, і блок вводу - виводу має канали обміну та зв'язку комплексу із стандартними комп'ютерними мережами системами, крім того термостат з'єднано з електронною системою термостабілізації

Те, що в запропонованому винаході використані вищевказані ознаки, дозволяє досягти вирішення поставлених задач - підвищення точності вимірювання внутрішніх енерговитрат мікроорганізмів й сперматозоїдів (за рахунок зниження динамічної помилки і скорочення терміну вимірювання при збереженні статистичної вибірки), тому що розглянутий пристрій 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 якості водяного середовища

те, що у вимірювальному комплексі використано диференціальний й алгоритмічний методи підвищення точності вимірів характеристик біологічних тест-об'єктів забезпечує реалізацію експрес-контролю токсичності водяного середовища методами біотестування. Поставлена задача може бути вирішена і технічно реалізована,

крім того, розглянутий лазерно-доплерівський пристрій для оцінки токсичності та біологічної активності хімічних речовин 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 принципову важливість даної ознаки і неочевидність вищевказаного твердження, а також використання алгоритму вимірів характеристик біологічних тест-об'єктів, що забезпечує реалізацію експрес-контролю токсичності водяного середовища методами біотестування, роздивимося більш докладно обґрунтування даної ознаки

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 приладу, що фотореєструє. Цей спектр являє собою результат биття гармонік електромагнітних полів між собою 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 варіанті реалізується гомогенний метод виміру,

б) разом із розсіяним на фотодетектор потрапляє і частина не розсіяного (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 полегшується, якщо вимірюється сама кореляційна функція, а не її квадрат. Те ж можна сказати і для спектрального аналізу, коли вимірюється сам спектр, а не його автозгортка.

3. Технічна реалізація гомодинування істотно простіше, відповідає необхідності ретельної юстировки і віброзахисту оптичної частини установки.

4. У гомогенному режимі легше використовувати техніку рахування фотонів із усіма перевагами, що впливають 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 [3].

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 байтів. 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  $f$ , рівним 100мкс, побудова

кореляційної функції розсіяного світла відбувається протягом 0,82 с. 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 терміну часу, що обумовлюється лише параметрами досліджуваного процесу. Слід зазначити, що термін обміну хоча й обмежує шпаруватість між вимірами, але не впливає на точність проведеного аналізу. Завдяки застосуванню цифрового корелятора досягається 100%-ва ефективність використання фотоструму під час побудови кореляційної функції.

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

Для суспензії, що складає з рухливих і нерухомих клітин, кореляційна функція складається з швидко- і повільно спадаючих, [4], типовий вид якої, отриманий у наших експериментах, поданий на фіг. 1.

У загальному вигляді кореляційну функцію для такої системи можна уявити як

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

де

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

$\beta$  - частина рухливих клітин (активність),

$G_{\text{im}}(\tau)$  - 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, напів-ширина котрої обернено пропорційна векторові розсіювання і середній швидкості руху клітин:

$$G_{\text{mot}}(\tau) = \frac{1}{1 + \left( \frac{q\tau}{v} \right)^2}, \quad 4$$

де

$q$  - модуль вектора розсіювання,

$v$  - середня швидкість руху клітин,

$\tau$  - експериментальний термін затримки.

Отримані експериментальні результати підганяються під теоретичну форму автокореляційної

функції розсіяного світла за методом найменших

квадратів шляхом варіювання  $\bar{v}$  і  $\beta$ . У результаті цього відокремлюється інформація про середню швидкість руху клітин і відносної кількості рухливих клітин у даний момент часу. Розмір внутрішніх енерговитрат на рух клітин у популяції обчислюють за формулою

$$E = \bar{v} \cdot \beta \cdot G(0) \cdot 5$$

Таким чином, в розглянутому пристрої - прототипі реалізована автоматизація знімання й опрацювання інформації про швидкість, рухливості й енерговитратах на рух клітин у популяції з вилученням суб'єктивізму оцінки. Реальний час знімання й опрацювання інформації складається в межах 0,5 - 1 хвилин.

При дослідженні руху мікроорганізмів й сперматозоїдів у задачах біотестування і оцінці токсичності та 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 міководоростей, сперматозоїдів та ін. 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 працезатратний 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 за величиною фотоструму детектора розсіяного лазерного випромінювання, що має доплерівський 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 гетеродинамічної схеми виміру збігається з кореляційною функцією фотоструму) [4] у вигляді

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

де  $q$  - модуль вектора розсіювання  $q = \frac{4\pi}{\lambda} \cdot \sin \frac{\Theta}{2}$ ,  $\Theta$  - кут розсіювання лазерного світла сперматозоїдами,

$\lambda$  - довжина хвилі падаючого лазерного випромінювання,

$\tau$  - термін затримки при побудові кореляційної функції,

$p(v)$  - розподіл клітин сперматозоїдів по швид-

костях їхнього руху.

Можна показати, що при  $\tau \rightarrow 0$

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

$$\frac{\sin qvt}{qv\tau} \rightarrow 1 \quad \text{при } \tau \rightarrow 0$$

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

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

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

тобто, друга похідна кореляційної функції пропорційна квадрату миттєвої швидкості руху сперматозоїдів. Якщо ж використовувати ненормуєму кореляційну функцію, що дорівнює [4]

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

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.

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

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

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) маємо

$$\langle (I')^2 \rangle \sim E, \quad 14$$

Отже, пов'язане з природою реєстрації фотоприймачем лазерного випромінювання середнє значення квадрата похідної фотоструму детекто-

ра розсіяного лазерного випромінювання пропорційне внутрішнім енерговитратам мікроорганізмів, зокрема сперматозоїдів, на рух у в'язкому середовищі. Коефіцієнт пропорційності у формулі (14) визначити не важко.

З огляду на, що для кореляційної функції неточечних об'єктів, що рухаються, маємо відомий вираз [5]

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

Одержуємо

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

або

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

тому що під енерговитратами ми розуміємо

$$E = v^2 \cdot N, \text{ тобто}$$

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

Звідси остаточно отримуємо

$$E = \frac{1}{2 \cdot (2,75q \cdot 2\pi)^2} \cdot \left\langle \left( \frac{dI}{dt} \right)^2 \right\rangle_{\Delta t}, \quad 19$$

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 фотодетектора. 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

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

Таким чином, вимірювальний комплекс (лазерно-доплерівський пристрій для оцінки токсичності та біологічної активності хімічних речовин), з аналізованим алгоритмом опрацювання сигналів детектора фотоприймача методом гетеродинування, має

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

швидкодію, 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 операціями 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 - ланцюг

На фіг. 1 подані порівняння дослідної кореляційної функції (1) розсіяного світла  $G(T)$  і підгінної функції (2) при  $\beta = 0,825$  і  $V = 1629 \text{ мкм/с}$ , на фіг. 2 подана структурна схема лазерно-доплерівського пристрою для оцінки токсичності та біологічної активності хімічних речовин з застосуванням методу оптичного гомодинування, на фіг. 3 наведена функціональна схема електронної системи термо-стабілізації в зоні вимірювання, на фіг. 4 наведена функціональна схема роботи лазерно-доплерівського пристрою для оцінки токсичності та біологічної активності хімічних речовин, на фіг. 5 подана загальна схема технології контролю і оцінки токсичності та біологічної активності хімічних речовин, на фіг. 6 блок-схема алгоритму токсикологічного аналізу методом лазерно-

доплерівської спектроскопії і оцінки токсичності стічних вод і хімічних речовин, що розчинені у воді.

Приклад реалізації запропонованого винаходу.

На фіг. 2 представлена структурна схема лазерно-доплерівського пристрою для оцінки токсичності та біологічної активності хімічних речовин з виконанням методу оптичного гомодинування, що містить джерело лазерного випромінювання 1 і живлення 2, схему формування лазерного випромінювання 3, вимірювальну камеру 4, яка виготовлена з прозорого пластику, що також має термо-статичний кожух 5, з'єднаний з термостатом 6, фотоприймач 7 з діафрагмою Обскур 8, попередній підсилювач 9, аналого-цифровий перетворювач 10, інтерфейс 11, електронну обчислювальну машину 12 з блоком вводу-виводу 13.

В пристрій, який розглядається, згідно з винаходом, схема формування лазерного випромінювання 3 складається з двопробеневої призми 14, яка розщеплює лазерне світло на два променя, і діафрагми 15, які встановлені з боку дна, а фотоприймач 7 - з боку вільної поверхні вимірювальної камери 4. При цьому за вимірювальну камеру 4 використовується пластиковий одноразовий планшет для купитивування клітин, з'єднаний з блоком керування положенням 16 вимірювальної камери 4, що облаштована дозатором біологічного тест-об'єкта 17 і дозатором рідини 18, які з'єднані з культиватором біологічного тест-об'єкта і блоком підготовки і розбавлення рідини з хімічними добавками 20. При чому два промені лазерного випромінювання перетинаються в центрі вимірювальної камери 4 під заданим кутом, а опорний промінь формується від розсіяного світлового відблиску із зовнішнього боку дна вимірювальної камери 4. Окрім того, блок керування положенням 16 вимірювальної камери 4 має механізм приводу 21, а між джерелом лазерного випромінювання 1 і схемою формування лазерного випромінювання 3 встановлено систему дзеркал 22. При цьому схему формування лазерного випромінювання 3 і систему дзеркал 22 пов'язано з блоком юстировки 23.

Інтерфейс 11 виконано як універсальний з допоміжними та іншими каналами зв'язку для інших вимірювальних систем контролю, а електронна обчислювальна машина 12 має спеціалізоване програмне забезпечення 24, та блок вводу - виводу 13 має канали обміну та зв'язку комплексу із стандартними комп'ютерними мережевими системами. Крім того термостат 6 з'єднано з електронною системою термостабілізації 25. Основні технічні характеристики

Живлення вимірюючого комплексу забезпечується від силової електромережі з промисловими характеристиками 220В, 50Гц для дослідно-конструкторського зразка і передбачає можливість автономного живлення (12В) в подальших модифікаціях комплексу, в портативних варіантах.

Мінімальні шумові характеристики лазерного променя і фотопідсилювача, усунуто вібрацію в діапазоні частот 0 - 100кГц.

Автоматична регуляція температури в діапазоні +10 - +50°C і термостатування з точністю  $\pm 1^\circ\text{C}$ .

Швидкість зміни температури вимірювальної камери 1град/сек.

Забезпечено реєстрацію, гомодинування розсіяного лазерного світла потужністю 10 Вт і його флуктуацію не менше 0,3 постійної складової сигналу, в частотному діапазоні 0 - 100кГц під кутом 18° до опорного променя.

Обчислення дискретного аналога автокореляційної функції вхідного сигналу виконується.

В лазерно-доплєрівському пристрої для оцінки токсичності та біологічної активності хімічних речовин з виконанням методу оптичного гомодинування застосовано

джерело лазерного випромінювання 1 - гелій-неоновий (He-Ne), що забезпечує освітлення досліджуваного середовища з біологічним тест-об'єктом монохроматичним, когерентним та стабільним світлом.

Довжина хвилі	632,8нм
Потужність	2 5мВт
Когерентність	20 50см
Товщина пучка променя	1 2мм
Стабільність (вихід на стабільний режим)	1 2%

живлення 2 лазера (наприклад, блок живлення лазера 3 976121), що забезпечує живлення лазера високовольтним струмом. Основні параметри визначаються технічними характеристиками використовуваного лазера і повинні забезпечувати гарантовану стабільність та мінімальні шумові характеристики в діапазоні досліджуємих частот 0 - 100кГц.

схему формування лазерного випромінювання 3, що забезпечує одержання двох променів, що перетинаються в точці простору на відстані 10 - 20см від поверхні оптичного блоку при мінімальному куті розходження пучка променів (не більше як 1°).

Два промені лазерного випромінювання перетинаються в центрі вимірювальної камери 4 із заданим кутом який визначається з урахуванням розмірів рухомих біологічних тест-об'єктів і задається у межах 10 - 22°.

вимірювальну камеру 4, що забезпечує проведення дослідів рухомих мікробіологічних об'єктів засобом лазерного сканування, і виготовлена з прозорого пластику. Оптична довжина камери - 1 - 2мм. При цьому за вимірювальну камеру 4 можливо використовувати пластиковий одноразовий планшет для купитивування клітин. Це дозволяє проводити досліді одночасно в широкому діапазоні концентрацій хімічних речовин в реальному масштабі часу при 5 - 10 повторях досліді.

термостатичний кожух 5, що формує термостатичну зону вимірювання з забезпеченням необхідного температурного режиму для досліджуємої популяції і вільне проходження розсіяного лазерного світла на фотореєструючі пристрої (фотоприймач 7),

термостатом 6, що забезпечує термостатування термостатуючого кожуха 5 в діапазоні температур 15 - 25° C. При цьому термостат повинен мати велику теплоємність, що має забезпечувати високий рівень стабільності температури в умовах короткочасового імпульсного нагріву вимірювальної камери (температурний імпульс 10 - 20°C, частота цих імпульсів - 5 - 10 за хвилину),

фотоприймач 7, що забезпечує реєстрацію, оптичне гомодинування розсіяного лазерного світла на своїй активній площі і перетворення його інтенсивності в електричний струм. Його встановлено з боку вільної поверхні вимірювальної камери 4. В експериментальних, дослідно-конструкторських моделях повинен забезпечувати реєстрацію оптичного сигналу з розрахованою (теоретичною) потужністю 10e-7 - 10e-5Вт і його флуктуацію не менше 0,3 від постійної складової сигналу, в частотному діапазоні 0 - 100кГц. Це може бути зроблено на основі фотодіоду ФД-25к з оптичною фокусуючою системою.

Середня відстань від зони вимірювання	100мм
Діаметр активної поверхні фокусуючої лінзи	2 10мм



Кут розсіювання

14 18°

діафрагма Обскура 8, що забезпечує велику глибину різкості точкового джерела світла від центру вимірювальної камери і зміщених джерел бликів розсіяного світла за мінімальних засвіток бокових стінок камери. Діаметр діафрагми Обскура 0,8 0,3мм,

попередній підсилювач 9, що забезпечує електричне узгодження із фотоприймачем підсилення фотоструму, для подальшої передачі одержаного сигналу на аналого-цифровим перетворювачі 10 модулів обробки сигналів

Основні характеристики попереднього підсилювача 9 визначаються параметрами фотоприймача 7 і входними характеристиками аналого-цифрових перетворювачів 10,

аналого-цифровий перетворювач 10, що забезпечує аналого-цифрове перетворення та різноманітну програмову спектральну обробку сигналів в реальному масштабі часу

Доцільно використовувати спеціалізовані промислові електронні модулі технологічно та функціонально сумісні з програмно-апаратними технологіями фірми National Instruments. Зразком таких модулів є аналого-цифрові системи обробки сигналів L1250, які функціонують на базі RISC-процесорів і дозволяють програмне керувати режимами виміру, збору, спектральної обробки сигналів паралельно по декількам каналам

Основні мінімальні технічні вимоги для спектральної обробки входного сигналу по одному каналу

Номинальний рівень входного сигналу	± 5В
Діапазон робочих частот входного сигналу	0 100 кГц
Номинальна частота дискретизації аналогового сигналу	500мкс
Число розрядів дискретизації	8
Термін обчислюваної автокореляційної функції	8 16 мс
Кількість дискретних каналів автокореляційної функції	10 32

інтерфейс 11, що забезпечує підключення різноманітних джерел сигналів, для одержання допоміжної інформації і включення її в систему збору для подальшої обробки

Його виконано як універсальний пристрій з допоміжними та іншими каналами зв'язку для інших вимірювальних систем контролю і джерел інформації

Використання стандартних модулів для побудови аналого-цифрового перетворювача 10 і обробки сигналів в комплексі, дозволить в перспективі уніфікувати програмне забезпечення для створення інформаційно-аналітичних банків даних на базі систем збору інформації про стан навколишнього середовища,

електронну обчислювальну машину 12, що забезпечує обробку інформації в реальному масштабі часу, керування вимірювальним комплексом, перетворення результатів в вигляді, що необхідний споживачеві, зберігання і формування банку даних. Для цього необхідно використовувати машину IBM PC/AT п'ятого покоління,

блок вводу - виводу 13, що забезпечує введення і виведення цифрової інформації як в одноканальному, так і в багатоканальному режимах в асинхронному або синхронному вводі - виводі інформації,

двопроменеву призму 14, що забезпечує розщеплення лазерного світла на два ідентичних променя зі збереженням монохроматичності і когерентності первинного світла. Призма виконана з кварцового скла з полірованими поверхнями не нижче третього класу,

діафрагму 15, що забезпечує одномодового вузького пучка світла, яка встановлена з боку дна вимірювальної камери 4. Діаметр діафрагми 2 5мм, товщина діафрагми 0,5 1мм, отвір полірований за другим класом, щоб звести до мінімуму ефект розсіювання,

блок керування положенням 16 вимірювальної камери 4, що забезпечує належну просторову орієнтацію вимірювальної камери відносно оптичної Осі лазерного променів. Точність такої координатної орієнтації - 0,1 0,5мм. Тривалість зміни положення за командою не більше 1с. Керування командами здійснюється комп'ютером,

дозатор біологічного тест-об'єкту 17, що забезпечує подачу суспензії біологічного тест-об'єкту в вимірювальну камеру 4 в ретельно завданій кількості. Дозатора використано автоматичного з об'ємом дози 0,01 0,05мл,

дозатор рідини 18, що забезпечує подачу зразка рідини, що досліджується, заданої концентрації до вимірювальної камери 4. Цей дозатор виконаний ідентично попередньому. Тут можливі два варіанти виконання: перший - з використанням одного дозатора, до якого послідовно підключаються ємності з хімічним реагентом від найменших концентрацій до найбільших, (кількість таких ємностей - 12 15), другий варіант - з використанням 12 15 дозаторів, в яких міститься конкретно завдана концентрація. За такі дозатори можуть служити одноразові шприци-дозатори,

культиватор біологічного тест-об'єкта 19, що забезпечує культивування біологічного рухомого тест-об'єкта в стандартизованих лабораторних умовах в кількості, що достатня для провадження токсикологічних досліджень. Ця достатність визначається необхідністю забезпечення безперервної роботи протягом 7 діб. За цей термін в досліді аналізується 12600 проб з біологічним об'єктом (15 проб за годину 5-кратної повторності = 75проб/годину = 1800проб/добу = 12600проб/тиждень),

блок підготовки і розбавлення рідини з хімічними добавками 20, що забезпечує приготування проб завданої концентрації з урахуванням розчинності у воді хімічних речовин,

опорний промінь, що формується від розсіяного світлового відблиску із зовнішнього боку дна вимірювальної камери 4 і забезпечує режим оптичного гомодинування. Ця ознака дозволяє суттєво спростити оптичну схему комплексу, знизити метрологічні вимоги до оптичного тракту і збільшити надійність і достовірність результатів, що одержуються. Інтенсивність опорного променя повинна бути щонайменше в 100 разів більшою за оптичний сигнал (розсіяне лазерне світло) від рухомих

біологічних об'єктів,

механізм приводу 21, що забезпечує орієнтацію вимірювальної камери в кроковому режимі для організації автоматичного вимірювання в кожній комірці в реальному масштабі часу. Тривалість дослідження одного планшета для одержання дозових залежностей за 5-кратної повторності дослідів складає 5-15 хвилин,

система дзеркал 22, що забезпечує прямування лазерного променя на лінзу з поворотом цього променя на 90°, що дозволяє суттєво зменшити габарити пристрою, спростити юстировку,

блок юстировки 23, що забезпечує оптичну юстировку системи для збільшення чутливості і ефективності вимірювального тракту. Цей блок виконано у вигляді двох незалежних предметних столиків з можливістю двохкоординатної орієнтації за допомогою мікрогвинтів ручного регулювання з точністю 1 мкм,

електронна обчислювальна машина 12 має спеціалізоване програмне забезпечення 24 і при цьому для ефективної роботи комплексу було розроблено програмне забезпечення низького рівня, котре підтримує роботу плати АЦП для вводу - виводу аналогових сигналів в багатозадачних оболонках Windows 3.1 та 32-розрядних Windows 32s/95/NT в захищеному режимі, без переходу в реальний режим [6].

Програмне забезпечення 24 складається з бібліотек DLL, віртуального драйвера VXD, драйвера Ldr.sys для підтримки роботи в Windows NT 4.0 та утиліти конфігурування бібліотеки LCDSetup.exe.

LCDS\_AD\_DLL - бібліотека, що реалізує функції Ю для плат L1250 та L300 в середовищі 16 BIT.

LCDS\_32\_DLL - бібліотека, що реалізує функції Ю для плат L1250 та L300 в середовищі 32 BIT.

VLCDSD- драйвер для роботи з DMA та IRQ в WIN95.

LCDS\_32\_PAS - UNIT для роботи в проекті на DELPHI 3.0 з використанням LCDS\_32\_DLL.

Утиліта конфігурування бібліотеки LCDSetup використовується для настройки DLL на потрібний підтип плати (з процесором чи без), для завдання задіяної платою базової адреси та переривання IRQ. Lsetup дозволяє також задіяти режим автоматичної загрузки BIOS для плати з сигнальним процесором. Хоча установку всіх параметрів можливо виконати за допомогою наявних в бібліотеці функцій, більш зручним є їх завдання в Lsetup - в момент запуску програми плата і бібліотека вже будуть коректно настроєні, і оператор може одразу викликати будь-які функції DLL.

Основною частиною пакету є DLL-бібліотека LCDS\_AD\_DLL, вона є бібліотекою функцій, котра може бути використана в більшості існуючих систем програмування в середовищі Windows. Бібліотека містить закінчений набір функцій для роботи з контролером переривань IBM PC і з контролером "Прямого Доступу до Пам'яті" (DMA). Бібліотека містить функції, що дозволяють реалізувати введення-виведення аналогової та цифрової інформації в асинхронному режимі, вводити та виводити аналогову інформацію як у одноканальному, так і в багатоканальному режимах з довільною синхронізацією вводу, вводити і виводити дані в програм-

ному режимі, в режимі генерації переривань і по каналах DMA.

DLL - бібліотека (Dynamic Link Library) є набором функцій, що доступні для будь-якої програми в середовищі Windows. Програма може викликати функцію з DLL, просто вказавши при виклику ім'я DLL та ім'я функції, і її порядковий номер. Причому на етапі трансляції головної програми DLL не бере участі, тобто зв'язування програми DLL відбувається на етапі виконання. Великою перевагою DLL є те, що для них визначено стандартний спосіб передачі параметрів, що не залежний від конкретного транслятора. Функції бібліотеки можуть бути однаково легко використані в програмах на Borland C 3.1, Microsoft Visual C, Borland Delphi, Borland Pascal 7.0 та те, що відповідає необхідності жорсткої орієнтації комплексу на конкретну плату АЦП, а для переходу на іншу - потрібно лише замінити відповідну бібліотеку. Вказане програмне забезпечення було протестовано в складі комплексу. Воно дозволило збільшити число частотних каналів, що реєструються одночасно, з 16 до 255, збільшити потужність комплексу (розраховується 20 кореляційних функцій на хвилину), що дає змогу швидко набирати необхідні статистичні дані, що важливо при практичному біотестуванні.

Блок вводу - виводу 13, що забезпечує комунікацію ЕОМ через канали обміну та зв'язку комплексу із стандартними комп'ютерними мережевими системами,

електронна система термостабілізації 25 забезпечує підтримку стабільної температури в зоні вимірювання, обмін інформацією з ЕОМ.

Електричні параметри визначаються технічними характеристиками нагрівних охолоджуючих елементів термостатичної зони вимірювання.

Точність регулювання температури  $\pm 1^\circ\text{C}$ .

Функціональна схема електронної системи термостабілізації в зоні вимірювання наведена на фіг. 3, де зазначено:

25 - електронна система термостабілізації,

26 - терморезистор на кюветному тримачі,

27 - контролер терморегулювання,

28 - аналого-цифровий перетворювач

K1113PB1,

29 - статичне ОЗУ HM6264P,

30 - шина даних (формувач KP1533АП6),

31 - мікропроцесор KP1816BE1,

32 - формувач адреси,

33 - регістр даних,

34 - цифро-аналоговий перетворювач

K573PF5,

35 - операційний підсилювач K140УД8Б

36 - керований блок живлення,

37 - батарея елементів Пельтьє ТЭБ-6,

38 - інтерфейсний кабель,

39 - комп'ютер IBM PC/AT (електронну обчислювальну машину 12). Даний контролер терморегулювання дозволяє програмне керувати температурою вимірювальної камери в діапазоні  $+10 \dots +5^\circ\text{C}$  і зміною температури в вимірювальній камері зі швидкістю 1 град/с. Таким чином, як керування апаратним комплексом, так і обробка даних може бути здійснена з терміналу керуючого комп'ютеру.

На фіг. 4 наведена функціональна схема ро-

боти лазерно-доплерівського пристрою, для оцінки токсичності та біологічної активності хімічних речовин, де зазначено

- 40 - приготування культивованого тест-об'єкту,
  - 41 - приготування зразка хімічної речовини
  - 42- Титрування, змішування і інкубація,
  - 43 - стадія прийняття рішення,
  - 44 - експертна оцінка і система рішення,
  - 45 - вибір об'єкту з урахуванням нормативної бази,
  - 46 - нормативна база,
  - 47 - тест-об'єкт в умовах стандартизованого досліду (+20° C),
  - 48 - тест-об'єкт в умовах впливу параметричного фактору (+30° C),
  - 49 - джерело дії температурного параметричного фактору,
  - 50 - збирання і накопичення результатів в інформаційному просторі параметричної чутливості біологічного тест-об'єкту,
  - 51 - статистика в реальному масштабі часу,
  - 52 - скид результатів з артіфакторними значеннями,
  - 53 - збирання статистичної інформації в реальному масштабі часу,
  - 54 - оцінка результатів і експертний висновок,
  - 55 - закінчення процедури виміру
- Технологія вимірювального процесу при експрес-аналізі токсичності водяного середовища з використанням запропонованої вимірювальної системи біотестування подана на фіг. 5, де зазначено блок-схему алгоритму процесу контролю токсичності водяного середовища загальною схемою технології контролю і оцінки токсичності та біологічної активності хімічних речовин
- Як бачиться зі приведеної схеми для біотестування в короткострокових дослідів і оцінки токсичності, щоб забезпечити точну оцінку функціональ-

ного стану біологічного тест-об'єкту в умовах дії відповідних факторів, що визначають його життєдіяльність в реальному масштабі часу, без використання побудови калібрувальних графіків, необхідно організувати процедуру 4-х тактового на одному зразку біологічного тест-об'єкту два такти - диференціального виміру плюс два такти диференціального виміру за умови аддитивної добавки (температурний стрибок на 10°С) показника функціонального стану (параметру руху), що вимірюється

На фіг. 6 приведена блок-схема алгоритму токсикологічного аналізу методом лазерно-доплерівської спектроскопії і оцінки токсичності стічних вод і хімічних речовин, що розчинені у воді

#### Приклад 1

По обґрунтуванню параметра контролю енергетичної характеристики руху клітин у популяції

Біологічний об'єкт рухливих клітин поміщали у вимірювальну 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, за якими будували кореляційну функцію. Одержували величину швидкості ( $v$ ), квадрату

швидкості ( $v^{-2}$ ) і енерговитрат на рух клітин у популяції ( $E = v^{-2} \eta G(0)$ ). Потім експерименти повторювали, але при температурі  $T = 30 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ . По цих результатах обчислювали  $A$  та, де  $A$  - показник, що вимірюється

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

Таблиця 2

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

для різноманітних параметрів руху клітин

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

Результати, які подані в таблиці 2 дозволяють зробити наступні висновки

З літературних джерел відомо, що при зростанні температури інкубації на  $10^{\circ}\text{C}$  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 цім 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 безпосередні дані, тобто  $(\bar{v})$  і  $(E = \bar{v} \eta G(0))$  співставляти не правоможно

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 досліджуваних 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 бугая

Точність визначення долі рухливих клітин можна оцінити, диференціюючи вираз для кореляційної функції  $G(\tau)$  по  $\beta$

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

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

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

Таблиця 3

Залежність абсолютної погрешності 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 погрешність 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 погрешність виміру  $\beta$  має величину біля 0 01 і лише при малих швидкостях вона незначно збільшується

Для оцінки погрешності 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 напівширини кореляційної функції, через зміни значення  $\Delta G(\tau)$  і часу затримки  $\Delta \tau$ . Враховуючи незалежність цих параметрів одержимо вираз у вигляді

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

де,  $\Delta G(\tau) = 0,01$ ,  $\lambda = 2,75 \cdot 2\pi\eta = 47,69$ ,  $v_0$  – швидкість руху,  $\Delta v$  – змінювання швидкості руху спермів

Підставивши значення конкретних швидкостей і рухливості клітин одержимо величини погрешностей визначення  $E$ , що виникають через погрешності амплітудно-тимчасового квантування. Результати приведені в таблиці 4

Таблиця 4

Погрешність 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) погрешність визначення середньої швидкості руху спермів не перевищує 3%

Оцінку приладової погрешності виміру питомих енерговитрат на рух клітин у популяції необхідно робити з урахуванням погрешностей швидкостей (0,03 - 0,05) і рухливостей (0 066) реально, що вимірюються в досліді. 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 ансамблевій величини

популяції. Оскільки розподіл клітин по швидкості руху має відносну напівширину 50%, то можна оцінити і статистичну точність виміру середньої по

ансамблевій швидкості  $[\bar{v}]$ . Так, за час виміру (для  $\tau = 100\text{мкс}$ ,  $t = 13 1$  с), при концентрації організмів 1000клітин/мм<sup>3</sup>, зоні розсіювання світла (місткість =  $9 05 \cdot 100\text{мм}^3$ ) заміниться біля 400 клітин, тобто статистична точність виміру середньої швидкості руху складе 50% /400, тобто - 2 5%, а при концентрації організмів - 10000клітин/мм<sup>3</sup>, вона знизиться до величини 0 79%. З цього маємо, що статистична помилка не перевищує в умовах реальних екс-

периментів приладових погрешностей

З приведеного аналізу приладових і статистичних погрешностей виміру середніх параметрів руху ансамблю сперматозоїдів походить, 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 (1-5 Гц) 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 100 Гц і природного денного освітлення, змінювали оптичну довжину кювети,

використовували діафрагми з різноманітним діаметром отвору,

досліди проводили при різноманітному коефіцієнті підсилення у вимірювальному тракті,

змінювали величину вибірки досліджуваних сигналів

Результати приведені в таблиці 5. За рухливо-

го біологічного об'єкта дослідження використовували культуру мікрободорості *Pedinomonas* на стаціонарній фазі росту, щоб виключити тимчасовий фактор біологічного впливу на результати вимірів. Число дослідів в експериментах, що проводили, не менше 5.

Як походить 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 некритичність процесу виміру до

впливу досліджуваних збурюючих факторів, що дозволяє одержувати високонадійні результати в різноманітних 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, ( $\beta$  - варіабельність вимірюємих енерговитрат)

№	Вид фактора впливу на вимірювальну систему	Показники параметрів руху клітин		
		Швидкість, мкм/с	Рухливість, відн од%	Енерговитрати, ум од
1	Дослід контролю (природне освітлення, діаметр діафрагми 0,5 мм, коефіцієнт підсилення 40 дБ, статистика сигналів $2^{17}$ )	46,92 ± 0,51	26,61 ± 1,50	584,52 ± 23,84 $\beta = 4,08\%$
2	Помешкання цілком затемнене (темний режим виміру)	47,69 ± 0,61	26,02 ± 2,47	588,84 ± 46,96 $\beta = 7,98\%$
3	Помешкання зі штучним освітленням, частотою модуляції 100 Гц	46,67 ± 0,60	21,71 ± 1,03	471,07 ± 18,79 $\beta = 3,93\%$
4	Низькочастотна вібрація оптичної частини пристрою (1-5 Гц, світлий режим)	43,78 ± 0,85	34,68 ± 2,52	664,71 ± 47,69 $\beta = 7,17\%$
5	Змінювання діаметра діафрагми і коефіцієнта підсилення ( $d = 1,5$ мм, коеф підс = 30 дБ, статистика $2^{17}$ , світлий режим)	52,53 ± 1,45	20,82 ± 1,77	572,94 ± 44,07 $\beta = 7,69\%$
6	Змінювання статистики вибірки ( $d = 1,5$ мм, коеф підс = 30 дБ, статистика $2^{16}$ , світлий режим)	53,81 ± 2,72	22,82 ± 2,14	644,47 ± 28,90 $\beta = 4,48\%$
7	Теж, що і дослід 5, 6, але при статистиці $2^{15}$ )	49,13 ± 2,64	21,41 ± 2,71	512,98 ± 63,58 $\beta = 12,39\%$
8	Змінювання оптичної довжини кювети в межах 20% (світлий режим, параметри як у досліді 1)	48,29 ± 1,20	25,06 ± 1,61	575,11 ± 22,40 $\beta = 3,89\%$

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%) β = 6,45%
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 зарубіжних дослідників. Проте, усі перераховані конструкції аналізаторів якості сперми не придатні для експрес-прогнозування стану клітин через свою складність, трудомісткість, низьку точність, а головне, відсутність інформації про рівень метаболізму, що зв'язаний з рухом клітин, їхні внутрішні енерговитрати на рух. Непридатні 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.

Використання запропонованого пристрою найбільш ефективно в медико-біологічному приладобудуванні, частково, в технології біохімічного очищення стічних вод, санітарної токсикології й екологічного моніторингу, а також при скринінгу біологічної активності хімічних речовин і препаратів.

Галузі застосування технічних засобів, що розробляються, з унікальними властивостями надійності і експресності контролю параметрів руху біологічних мікрооб'єктів можуть бути найрізноманітнішими, зокрема лазерно-доплерівські прилади будуть використані

В фундаментальних галузях біологічних наук, а саме

- дослідження характеристик руху клітин,
- оцінка впливу зовнішніх факторів на популяції рухомих клітин,
- оцінка чутливості і стійкості популяцій,
- дослідження кінетики реакції клітин на різноманітні дії хімічної, фізичної і біологічної природи,
- дослідження флуктуацій параметрів життєдіяльності біологічних систем,
- дослідження флуктуаційних біфуркаційних перетворень в термодинамічне нерівноважних системах з інтенсивними процесами енерго, масо і інформаційного обміну,
- дослідження біологічних ритмів,
- дослідження колективних форм руху,
- дослідження явища стресу на різних рівнях організації біологічних систем

Застосування в практичних галузях біологічної науки

- біотехнологія (в тому числі марикультури),
- оцінка якості сперми (сільське господарство і медицина),
- оцінка токсичності хімічних речовин (хімічне та ін вироб-ва),

скринінг біологічної активності препаратів в фармакології,

екологічний моніторинг,

оцінка якості води, в тому числі стічної

Запропонований лазерно-доплерівський пристрій для оцінки токсичності та біологічної активності хімічних речовин в порівнянні з існуючими технічними засобами контролю токсичності водного середовища має такі переваги

- компактність, надійність експлуатації і просто-та обслуговування аналізатора, можливість широкого використання у виробничих умовах, висока точність і об'єктивність виробленої оцінки якості водного середовища,

- у перше на розробленому приборі безпосередньо вимірюється показник енерговитрат на рух клітин (як свідчення про рівень їхнього метаболізму), що корелює із спроможністю генофонду, що запліднює, без необхідності проведення спеціально організованого автокореляційного аналізу сигналів фотоприймача розсіяного лазерного випромінювання. Така ознака визначає унікальність аналізатора в галузі медико-біологічного приладобудування,

здатність аналізатора працювати в реальному масштабі часу дає можливість проведення оперативного контролю результату процесів заморожування або деконсервації статевих клітин, технологічного процесу очищення стічних вод, та екологічної ситуації у водному середовищі,

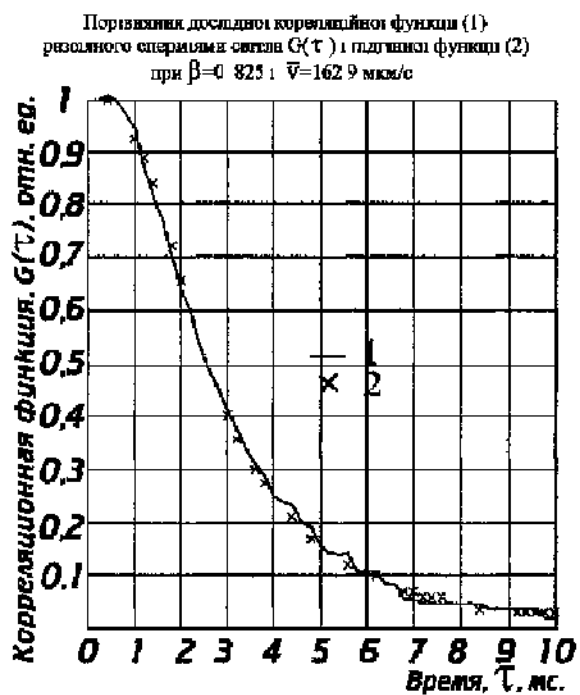
прилад може бути використаний для оцінювання екологічної ситуації водного середовища, скринінга кріомодифікаторів біологічних середовищ, біомоніторингу, проведення токсикологічної інвентаризації основних джерел забруднення басейну Дніпра та ін з метою їх розподілу за рівнем токсичності та небезпеки для водних екосистем і в інших задачах біотестування

Об'єктивність і точність аналізу функціонального стану біологічного тест-об'єкта в задачах біотестування при оцінці токсичності і біологічної активності хімічних речовин, тому що спосіб базується на фундаментальній властивості життєдіяльності біологічних систем - параметричній чутливості

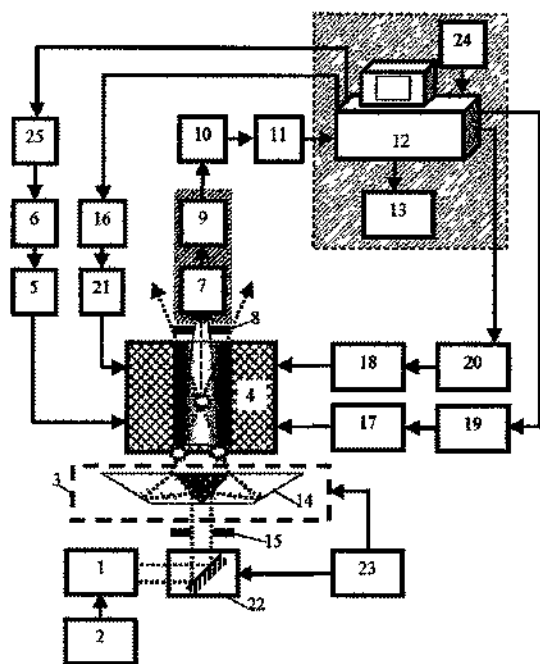
Універсальність структурної блок-схеми

Низькі працевитрати на проведення аналізів при біотестуванні й експрес-контролю токсичності хімічних речовин, що утримуються у водному середовищі за рахунок того, що вимірювальний комплекс практично автоматизований

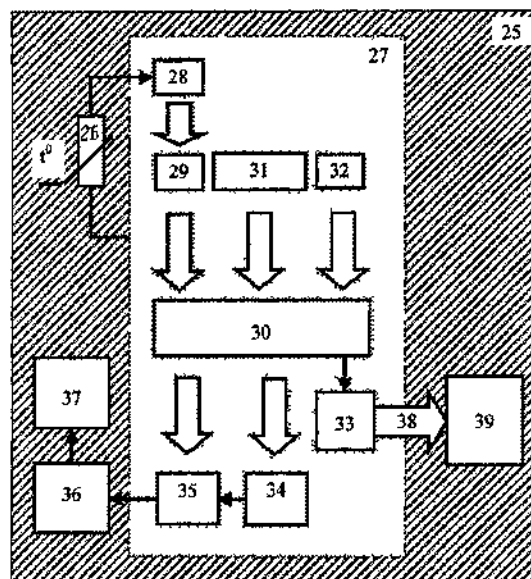
Економічність за рахунок малих витрат біологічного об'єкту і хімічних реагентів (а також енерговитрат)



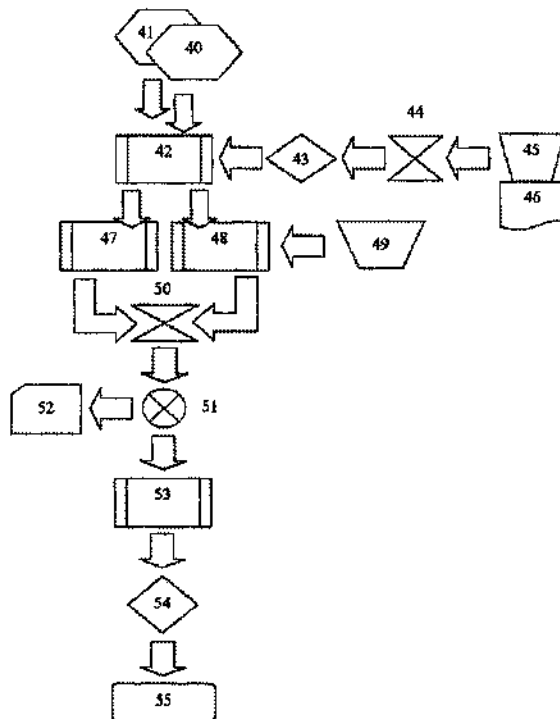
Фиг 1



Фиг 2



Фиг 3



Фиг 4

