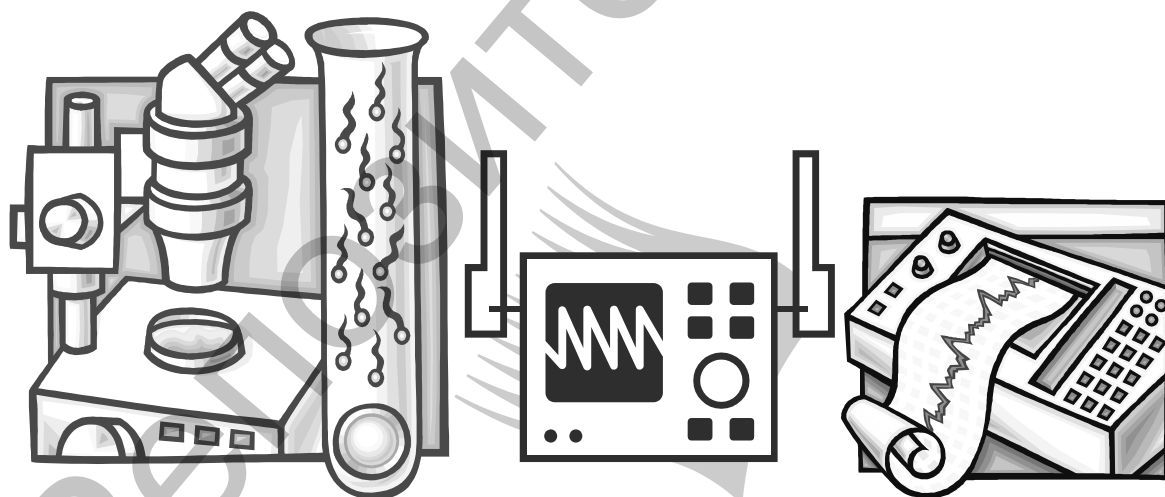


БИОФИЗИКА



БИОФИЗИКА

Практикум

УДК 577(075)
ББК 28.071я73
Б 63

Составитель: кандидат биологических наук, доцент кафедры анатомии, физиологии и валеологии человека УО «ВГУ им. П.М. Машерова» **М.В. Шилина**

Рецензент: доктор медицинских наук, профессор кафедры анатомии, физиологии и валеологии человека УО «ВГУ им. П.М. Машерова» **Ж.С. Осипович**

Практикум состоит из двух частей. Первая содержит задачи по биологической и медицинской физике, которые помогут лучше усвоить теоретический материал, а вторая – лабораторные работы, позволяющие применить биофизические методы исследований на практике. Пособие предназначено для студентов биологического и медицинского профиля.

УДК 577(075)
ББК 28.071я73

© УО «ВГУ им. П.М. Машерова», 2003

1. МЕХАНИЧЕСКИЕ КОЛЕБАНИЯ. ЗВУК

Интенсивность волны (плотность потока энергии):

$$I = \omega_p v,$$

где ω_p – объемная плотность энергии колебательного движения, v – скорость волны.

Объемная плотность энергии упругой волны, распространяющейся в веществе,

$$\omega_p = 0,5 \rho A^2 \omega_0^2,$$

где ρ – плотность вещества.

Частота колебаний, воспринимаемая наблюдателем (эффект Доплера):

$$\nu' = \nu (\nu \pm v_n) / (\nu \pm v_u),$$

где v_n и v_u – скорости наблюдателя и источника упругой волны относительно среды, ν – скорость распространения волны в этой среде, ν – частота испускаемых колебаний. Верхние знаки соответствуют встречному движению наблюдателя и источника, нижние – движению в противоположные стороны.

Доплеровский сдвиг частоты:

$$\nu_0 = 2v_0 \nu / v;$$

где v_0 – скорость движущегося тела, v – скорость волны (ультразвука). Формула получена в предположении $v \gg v_0$.

Связь интенсивности звука и звукового давления для плоской волны:

$$I = p^2 / \rho v,$$

где ρ – плотность среды, в которой распространяется звук, v – его скорость.

Бел (Б) – единица логарифмической относительной величины (логарифма отношения двух одноименных физических величин):

$$L_B = \lg \frac{I}{I_0}, \quad I = 10^{L_B} I_0,$$

где L_B – выраженный в белах уровень интенсивности звука I относительно I_0 принятого за начальный уровень шкалы, или в децибелах (дБ):

$$\lg \frac{I}{I_0} = 2 \lg \frac{p}{p_0}.$$

Шкала громкости (E) и уровень интенсивности звука (L) совпадают на частоте 1 кГц:

$$E_{\phi} = L_{\text{дБ}} = 10 \lg \frac{I}{I_0}.$$

Коэффициент проникновения звука β при переходе из одной среды в другую:

$$\beta = 4 \frac{v_1 \rho_1 / v_2 \rho_2}{(v_1 \rho_1 / v_2 \rho_2 + 1)^2},$$

где v_1 и v_2 – скорости звука в соответствующих средах, ρ_1 и ρ_2 – величины плотностей сред, $v_1\rho_1$ и $v_2\rho_2$ – волновое сопротивление сред.

Коэффициент отражения звука r при переходе из одной среды в другую:

$$r = [(v_1\rho_1 - v_2\rho_2) / (v_1\rho_1 + v_2\rho_2)]^2.$$

1. Известно, что человеческое ухо воспринимает упругие волны в интервале частот от $\nu_1 = 20$ Гц до $\nu_2 = 20$ кГц. Каким длинам волн соответствует этот интервал в воздухе? В воде? Скорости звука в воздухе и воде равны соответственно $v_1 = 340$ м/с и $v_2 = 1400$ м/с.

2. Изучение движения барабанной перепонки показало, что скорость колебания ее участков оказывается величиной одного порядка со скоростью смещения молекул воздуха при распространении плоской волны. Исходя из этого, вычислите приблизительно амплитуду колебания участков барабанной перепонки для двух случаев: а) порог слышимости; б) порог болевого ощущения. Частота $\nu = 1$ кГц.

3. Определите среднюю силу, действующую на барабанную перепонку человека (площадь $S = 66$ мм²) для двух случаев: а) порог слышимости; б) порог болевого ощущения. Частота $\nu = 1$ кГц.

4. Две машины движутся навстречу друг другу со скоростями $v_1 = 20$ м/с и $v_2 = 10$ м/с. Первая машина дает сигнал с частотой $\nu = 800$ Гц. Какой частоты сигнал услышит водитель второй машины: а) до встречи машин; б) после встречи машин?

5. Одинаковой ли высоты будет звук в случаях: а) источник звука движется навстречу неподвижному наблюдателю со скоростью $v_1 = 40$ м/с; б) наблюдатель движется навстречу неподвижному источнику с той же скоростью? Частота источника звука $\nu = 600$ Гц.

6. На сколько увеличилась громкость звука, если интенсивность звука увеличилась от порога слышимости в 1000 раз. Задачу решите для звука частотой: а) 100 Гц; б) 1 кГц. Для решения воспользоваться кривыми равной громкости.

7. Два звука одинаковой частоты $\nu = 1$ кГц отличаются по громкости на $\Delta E = 20$ фон. Во сколько раз отличаются их интенсивности?

8. Два звука одинаковой частоты отличаются по интенсивности на $\Delta L = 30$ дБ. Найдите отношение амплитуд звукового давления.

9. По условиям некоторого производства определен допустимый предел уровня шума $E = 70$ фон. Определите максимально допустимую интенсивность звука. Условно считать, что шум соответствует звуку частотой $\nu = 1$ кГц.

10. Разрыв барабанной перепонки наступает при уровне интенсивности звука $L_0 = 150$ дБ. Определите интенсивность, амплитудное значение звукового давления и амплитуду смещения частиц в волне для звука частотой $\nu = 1$ кГц, при которых может наступить разрыв барабанной перепонки.

11. Нормальный разговор человека оценивается уровнем громкости звука $E_1 = 50$ фон (для частоты $\nu = 1$ кГц). Определите уровень громкости звука, соответствующего трем одновременно говорящим людям.

12. Шуму на оживленной улице соответствует уровень громкости звука $E_1 = 70$ фон, крику $E_2 = 80$ фон. Какой будет уровень громкости звука, полученного в результате сложения крика и шума улицы? Считать частоту равной $\nu = 1$ кГц.

13. Уровень громкости звука частотой $\nu = 5000$ Гц равен $E = 50$ фон. Найдите интенсивность этого звука.

14. Уровни интенсивности звуков с частотами $\nu_1 = 100$ Гц и $\nu_2 = 3000$ Гц равны $L = 50$ дБ. Определите уровни громкости этих звуков.

15. Звук частотой $\nu = 200$ Гц проходит некоторое расстояние в поглощающей среде. Интенсивность звука при этом уменьшается с $I_1 = 10^{-4}$ Вт/м² до $I_2 = 10^{-8}$ Вт/м². На сколько при этом уменьшится уровень громкости?

16. Доплеровский сдвиг частоты при отражении механической волны от движущихся эритроцитов равен 50 Гц, частота генератора равна 100 кГц. Определите скорость движения крови в кровеносном сосуде.

17. Источник ультразвука создает в воздухе волну длиной 4,4 мкм. Как изменится длина волны при переходе ультразвука в воду, если принять скорость распространения ультразвука в воде равной 1500 м/с, а в воздухе 330 м/с?

18. Сравните длины волн в воздухе для ультразвука частотой 1 МГц и звука частотой 1 кГц. Чем определяется нижняя граница длин волн ультразвука в среде?

19. Найдите коэффициент отражения ультразвуковой волны от поверхности раздела мягкая ткань-воздух. Учтите, что волновое сопротивление мягких тканей в 3000 раз больше, чем воздуха.

20. Определите плотность мышечной ткани, если ее волновое сопротивление равно $1,6 \cdot 10^6$ кг/(м² · с), а скорость распространения ультразвука в ткани составляет 1500 м/с.

21. Разность фаз звуковых волн с частотой 1 кГц, приходящих от одного источника к разным ушам, равна 0,2 рад. Определите разность хода волн, приходящих в правое и левое ухо человека.

22. Найдите интенсивность ультразвуковой волны в мышце на расстоянии 4 см, если глубина половинного поглощения равна 2 см, интенсивность волны на поверхности воздух-кожа равна $1,5$ Вт/м², а в ткань проходит лишь 75% энергии волны.

23. Уровень интенсивности сердечных тонов, воспринимаемых с помощью стетоскопа, равен 10 дБ. Чему равна интенсивность тонов сердца?

24. Человек с нормальным слухом способен ощущать различие в громкости звуков в 1 фон. Во сколько раз изменяется при этом интенсивность звука частотой 1 кГц?

25. Известно, что кошки воспринимают звуки, создающие давление, сравнимое с давлением броуновского движения молекул воздуха при комнатной температуре (10^{-6} Па). Какому уровню интенсивности соответствуют эти звуки? Сравните их с порогом слышимости для человека с нормальным слухом.

26. Громкость звука частотой 1 кГц уменьшилась на 30 фон при прохождении через тонкую фанерную перегородку. Какой стала интенсивность звука, если до прохождения перегородки она составляла 10^{-8} Вт/м²?

27. Как изменяется скорость движения эритроцитов в кровеносном русле у пациентов со сфероцитозом, если доплеровский сдвиг частоты в 1,3 раза меньше по сравнению с нормой?

28. Усредненный коэффициент затухания тела взрослого человека равен 0,3. Частота собственных колебаний тела в положении лежа составляет 3,5 Гц, а в положении стоя – около 8 Гц. Во сколько раз изменится резонансная частота тела человека в разных положениях при воздействии инфразвука?

29. Плотность здоровой мышечной ткани составляет 1060 кг/м³. Ее волновое сопротивление равно $1,63 \cdot 10^6$ кг/(м² · с). При исследовании ультразвуком отраженный сигнал был принят через $2 \cdot 10^{-5}$ с после излучения. На какой глубине в мышечной ткани была обнаружена неоднородность?

2. ТЕЧЕНИЕ ЖИДКОСТИ. БИОРЕОЛОГИЯ

Уравнение Бернулли для точек идеальной жидкости, принадлежащих одной линии тока,

$$P_{ст} + \frac{\rho v^2}{2} + \rho gh = const,$$

где $P_{ст}$ – статическое, $\frac{\rho v^2}{2}$ – динамическое и ρgh – гидростатическое давление, ρ – плотность жидкости, v – ее скорость, h – высота соответствующей точки жидкости относительно некоторого уровня (например, уровня Земли).

Сила внутреннего трения, действующая между слоями жидкости площадью S (уравнение Ньютона),

$$F_{тр} = \eta \frac{dv}{dx} S,$$

η – вязкость, $\frac{dv}{dx}$ – градиент скорости.

Объем жидкости, переносимый за 1 с через сечение цилиндрической трубы радиуса R (формула Пуазейля):

$$Q = \frac{\pi R^4}{8\eta} \frac{p_1 - p_2}{l},$$

через переменное сечение

$$Q = \frac{\pi R^4 dp}{8\eta dl},$$

где l – длина участка трубы, на концах которого поддерживается разность давлений ($P_1 - P_2$).

Гидравлическое сопротивление:

$$X = \frac{8\eta l}{\pi R^4}.$$

Сила внутреннего трения, действующая на движущееся в жидкости сферическое тело (шарик) радиуса r (закон Стокса):

$$F_{тр} = 6\pi r v \eta,$$

где v – скорость шарика.

Скорость равномерного падения шарика в вязкой жидкости:

$$v = \frac{2(\rho - \rho_{ж})r^2 g}{9\eta},$$

где ρ и $\rho_{ж}$ – плотности материала, из которого сделан шарик, и жидкости соответственно.

Число Рейнольдса для трубы диаметра D :

$$Re = \frac{\rho_{ж} V D}{\eta} = \frac{V D}{\nu},$$

где V – скорость жидкости, $\nu = \eta / \rho_{ж}$ – кинематическая вязкость. Для гладких цилиндрических труб критическое число Рейнольдса приблизительно равно 2300.

Дополнительное давление под сферической поверхностью жидкости:

$$\Delta p = \frac{2\sigma}{r},$$

где σ – поверхностное натяжение жидкости, r – радиус сферической поверхности.

Высота поднятия (опускания) жидкости в капилляре:

$$h = \frac{2\sigma \cos \theta}{R \rho_{ж} g},$$

где θ – краевой угол, R – радиус капилляра, $\rho_{ж}$ – плотность жидкости.

Закон Гука:

$$\sigma = \varepsilon E,$$

где σ – механическое напряжение, ε – относительная деформация, E – модуль упругости (модуль Юнга).

Для вязкого элемента

$$\varepsilon \eta = \sigma t,$$

где η – вязкость, t – время действия деформирующей силы.

При параллельном соединении упругого и вязкого элементов (модель Кельвина–Фойгта)

$$\varepsilon = \frac{\sigma}{E} (1 - e^{-Et/\eta})$$

Механическое напряжение стенки кровеносного сосуда:

$$\sigma = pr/h,$$

где r – радиус просвета сосуда, h – толщина стенки сосуда.

Скорость распространения пульсовой волны в крупных сосудах:

$$V = \sqrt{\frac{Eh}{2\rho r}},$$

где ρ – плотность крови.

Связь объемной Q и линейной $V_{кр}$ скоростей кровотока в сосудах:

$$Q = V_{кр} S,$$

где S – площадь просвета сосуда.

Работа, которая совершается левым желудочком сердца при каждом сокращении,

$$A = V_0(p + \rho v^2/2),$$

где p – среднее давление, под которым кровь выбрасывается в аорту; ρ – плотность крови; V_0 – ударный объем; v – скорость движения крови.

30. Скорость течения воды в некотором сечении горизонтальной трубы $v = 5$ см/с. Найдите скорость течения в той части трубы, которая имеет: а) вдвое меньший диаметр; б) вдвое меньшую площадь поперечного сечения.

31. Наблюдая под микроскопом движение эритроцитов в капилляре, можно измерить скорость течения крови ($v_{кр} = 0,5$ мм/с). Средняя скорость тока крови в аорте составляет $v_a = 40$ см/с. На основании этих данных определите, во сколько раз сумма поперечных сечений всех функционирующих капилляров больше сечения аорты.

32. Скорость течения воды во всех сечениях наклонной трубы одинакова. Найдите разность давлений Δp в двух точках, высоты которых над уровнем Земли различаются на $\Delta h = 0,5$ м. Чему равно Δp , если система: а) находится в состоянии невесомости; б) испытывает трехкратные перегрузки?

33. В широкой части горизонтальной трубы вода течет со скоростью $v = 50$ см/с. Определите скорость течения воды в узкой части трубы, если разность давлений в широкой и узкой ее частях $\Delta p = 1,33$ кПа.

34. Скорость течения воды в некотором сечении горизонтальной трубы равна 5 см/с. Найдите скорость течения в той части трубы, которая имеет вдвое меньший диаметр.

35. Определите работу, совершаемую сердцем при сокращении левого желудочка, если в аорту со скоростью 0,5 м/с выбрасывается 60 мл крови против давления 13 кПа.

36. Найдите кинетическую энергию объема крови, протекающего за одну минуту со скоростью 0,4 м/с через артерию диаметром 3 мм.

37. Во сколько раз меняется модуль упругости стенки аорты при атеросклерозе, если известно, что скорость пульсовой волны возросла в три раза?

38. Найдите мощность, развиваемую сердцем человека при сокращении длительностью 0,3 с. Ударный объем крови равен 60 мл, скорость крови в аорте 0,5 м/с. Среднее давление, при котором кровь выбрасывается в аорту левым желудочком, равно 13,3 кПа. Учтите, что работа правого желудочка составляет 20% работы левого.

39. Во сколько раз меняется скорость оседания эритроцитов у людей, больных сфероцитозом, по сравнению с нормой, если средний радиус эритроцита при этом заболевании возрастает в 1,5 раза?

40. Определите относительное удлинение скелетной мышцы, моделируемой телом Кельвина-Фойгта, за 3 мин, если модуль упругости мышцы 1,2 МПа, площадь поперечного сечения $0,8 \cdot 10^{-6} \text{ м}^2$, а нагрузка на мышцу 6,3 Н. Вязкость вещества мышцы принять равной 1,25 г/(см · с).

41. Определите эффективный модуль упругости портняжной мышцы лягушки, если при возрастании приложенного к мышце напряжения от 10 кПа до 40 кПа длина ее увеличивалась от 0,032 м до 0,034 м.

42. Рассчитайте относительное удлинение скелетной мышцы, предполагая, что ее механические свойства можно описать моделью чисто вязкостного элемента. Условия взять из задачи 40.

43. Как изменится модуль упругости бедренной кости человека, если при напряжении 5 Па относительная деформация составляет 0,025, а при увеличении напряжения до 11 Па она стала равной 0,055?

44. Определите давление в стенке капилляра диаметром 20 мкм, если толщина стенки сосуда 2 мкм, а тангенциальное напряжение в стенке $8 \cdot 10^{-5} \text{ Па}$.

45. Каково гидравлическое сопротивление кровеносного сосуда длиной 0,12 м и радиусом 0,1 мм?

46. Чему равен эффективный модуль упругости стенки грудной аорты, если отношение радиуса просвета сосуда к толщине его стенки равно 5? Известно, что при изменении давления внутри аорты от 13,3 до 16 кПа площадь поперечного сечения сосуда увеличивается с 6,16 до 6,2 см².

47. Скорость пульсовой волны в артериях составляет 8 м/с. Чему равен модуль упругости этих сосудов, если известно, что отношение радиуса просвета к толщине стенки сосуда равно 6, а плотность крови равна 1,15 г/см³?

48. Найдите объемную скорость кровотока в аорте, если радиус просвета аорты равен 1,75 см, а линейная скорость крови в ней составляет 0,5 м/с.

49. На сколько процентов изменится частота ультразвука при отражении его от движущихся эритроцитов в артерии? Среднюю скорость движения эритроцитов принять равной 40 см/с.

50. Определите предел прочности кости диаметром 30 мм и толщиной 3 мм, если для ее разрушения требуется сила 400 кН.

51. Ежедневно с потребляемой пищей работник физического труда получает около 17 МДж. В течение дня он выполняет работу 10 МДж. Какая доля получаемой с пищей энергии превращается в полезную работу?

52. По некоторым оценкам пловец на дистанции затрачивает 240 кДж энергии за минуту. При этом только четверть этой энергии идет на механическую работу его рук и ног. Чему равна средняя сила, препятствующая перемещению пловца, если за одну минуту он проплывает 100 м?

53. Сколько полезной работы может быть получено при сжигании 1 моль глюкозы, если предположить, что тело человека работает как тепловая машина? ($\eta = 30\%$)

54. Диета человека массой 70 кг содержит 400 г белка (20,1 МДж/кг), 22 г жиров (39,8 МДж/кг) и 80 г углеводов (16,7 МДж/кг). Каждый день он поднимается на высоту 3 км и совершает перед этим работу, включая работу метаболизма, в четыре раза превышающую механическую работу поднятия своего тела на высоту 3 км. Чему равно изменение внутренней энергии при таком ежедневном процессе?

55. Определите температуру мышцы, предполагая, что она работает как тепловая машина с $\eta = 30\%$ при температуре 25 °С.

3. ФИЗИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ В БИОЛОГИЧЕСКИХ МЕМБРАНАХ

Уравнение Фика:

$$J = -D \frac{dC}{dx},$$

где J – плотность потока диффундирующего вещества, D – коэффициент диффузии, $\frac{dC}{dx}$ – производная от концентрации диффундирующего вещества по направлению x (проекция градиента концентраций на направление x).

Уравнение Теорелла:

$$J = -CU \frac{d\mu}{dx}.$$

Здесь μ – электрохимический потенциал;

$$U = \frac{D}{RI}.$$

I – подвижность, где R – молярная газовая постоянная.

Средняя величина смещения молекулы вещества в растворе:

$$\tilde{x} = 2Dt,$$

где D – коэффициент диффузии, t – время.

Характерное время установления равновесной концентрации:

$$t_{0,5} = 0,693 \frac{V}{pS}.$$

V – объем клетки; S – площадь поверхности клеточной мембраны;

$$P = \frac{D}{l} K$$

где P – коэффициент проницаемости мембраны для данного вещества, l – толщина мембраны, K – коэффициент распределения вещества.

Формула Нернста:

$$\Delta\phi = \frac{RT}{ZF} \ln \frac{C_0}{C_i}.$$

Здесь $\Delta\phi$ – равновесный мембранный потенциал, C_0 и C_i – концентрации данного иона снаружи и внутри клетки, F – постоянная Фарадея, Z – валентность иона.

Уравнение Гольдмана-Ходжкина-Катца

$$\phi_m = \frac{RT}{F} \ln \frac{P_K [K^+]_0 + P_{Na} [Na^+]_0 + P_{Cl} [Cl^-]_i}{P_K [K^+]_i + P_{Na} [Na^+]_i + P_{Cl} [Cl^-]_0},$$

где ϕ_m – мембранный потенциал, P_K , P_{Na} , P_{Cl} – проницаемости мембраны для соответствующих ионов, $[K^+]_0$, $[Na^+]_0$, $[Cl^-]_0$ – концентрации ионов снаружи клетки, $[K^+]_i$, $[Na^+]_i$, $[Cl^-]_i$ – концентрации этих же ионов внутри нее.

Потенциал поля заряда q в электролите:

$$\phi = \frac{q}{r} e^{-r/\delta},$$

где r – расстояние, δ – дебаевский радиус экранирования.

$$\delta = \sqrt{\frac{RT\epsilon}{F^2 \sum_i Z_i^2 c_i}},$$

где Z_i – валентность иона, c_i – концентрация соответствующего иона, ϵ – диэлектрическая проницаемость растворителя.

56. Найдите среднюю величину смещения молекулы формамида в воде и в растворе сахарозы за 1 мин, если коэффициенты диффузии этого вещества в воде и в сахарозе равны соответственно $1,6 \cdot 10^{-5}$ и $0,3 \cdot 10^{-5} \text{ см}^2 \cdot \text{с}^{-1}$.

57. Чему равна плотность потока формамида через плазматическую мембрану *Chara ceratophylla* толщиной 8 нм, если коэффициент диффузии его составляет $1,4 \cdot 10^{-8} \text{ см}^2 \cdot \text{с}^{-1}$, концентрация формамида в начальный момент времени снаружи была равна $2 \cdot 10^{-4} \text{ М}$, а внутри в десять раз меньше?

58. Бислойная липидная мембрана (БЛМ) толщиной 10 нм разделяет камеру на две части. Плотность потока метиленового синего через БЛМ постоянна и равна $3 \cdot 10^{-4} \text{ М} \cdot \text{см/с}$, причем концентрация его с одной стороны этой мембраны равна 10^{-2} М , а с другой $2 \cdot 10^{-3} \text{ М}$. Чему равен коэффициент диффузии этого вещества через БЛМ?

59. Определите коэффициент диффузии в воде эритрола, если среднее смещение его молекулы составляет 40 мкм.

60. Найдите коэффициент проницаемости плазматической мембраны *Mycoplasma* для формамида, если при разнице концентраций этого вещества внутри и снаружи мембраны, равной $0,5 \cdot 10^{-4}$ М, плотность потока его через мембрану равна $8 \cdot 10^{-4}$ М • см/с.

61. Между внутренней частью клетки и наружным раствором существует разность потенциалов (мембранный потенциал покоя) порядка $U = 80$ мВ. Полагая, что электрическое поле внутри мембраны однородно, и считая толщину мембраны $l = 8$ нм, найдите напряженность этого поля.

62. Для изучения структуры и функции биологических мембран используют модели – искусственные фосфолипидные мембраны, состоящие из бимолекулярного слоя фосфолипидов. Толщина искусственной мембраны достигает около $l = 6$ нм. Найдите емкость 1 см^2 такой мембраны, считая ее относительную диэлектрическую проницаемость $\epsilon_r = 3$. Сравните полученную емкость с аналогичной характеристикой конденсатора, расстояние между пластинами которого $l = 1$ мм.

63. Потенциал покоя нервного волокна кальмара равен -60 мВ, а потенциал действия +35 мВ. Вследствие чего происходит такое изменение мембранного потенциала?

64. Какое из нижеприведенных соединений имеет наименьшую проницаемость через липидный бислой и почему: толуол, этанол, ионы калия, кальция? Приведите необходимые уравнения.

65. Определите равновесный мембранный потенциал митохондрий, если при 37 °С внутри митохондрий $pH = 9$, а в окружающей среде 7.

66. Определите равновесный мембранный потенциал на мембране при отношении концентраций натрия снаружи и внутри клетки: а) 1:1; б) 10:1; в) 100:1.

67. Как изменится основное электродиффузионное уравнение при отсутствии внешнего электрического поля?

68. Вязкость липидного бислоя в 100 раз больше, чем вязкость воды. Толщина примембранных слоев воды приблизительно в 100 раз больше толщины липидного бислоя. Коэффициент распределения кислорода в системе липид-вода близок к 1. Что является основным барьером для молекулярного кислорода при его диффузии через мембрану: липидный бислой или примембранный слой? Приведите необходимые уравнения.

69. Определите равновесный мембранный потенциал, создаваемый на бислойной липидной мембране ионами калия при температуре 20°С, если концентрация калия с одной стороны мембраны равна 10^{-3} М, а с другой – 10^{-5} М.

70. Каков электрический заряд мембраны, если ее емкость $1 \text{ мкФ} \cdot \text{см}^{-1}$, а равновесный мембранный потенциал такой же, как в задаче 69?

71. Рассчитайте потенциал покоя гигантского аксона кальмара, если известно, что концентрация ионов натрия снаружи равна 440 мМ, а внутри его 49 мМ (температура равна 20°C).

72. Потенциал покоя нерва конечности краба равен 89 мВ. Чему равна концентрация ионов калия внутри нерва, если снаружи она составляет 12 мМ? Принять температуру равной 20°C.

73. Определите время, в течение которого устанавливается равновесная концентрация эритрола в клетке, если объем клетки 70 мкм³, коэффициент проницаемости 13 мкм/с, а площадь поверхности мембраны клетки 43 мкм².

74. В клетках фагоцитов равновесная концентрация вещества устанавливается за 0,2 с. Чему равен коэффициент проницаемости этого вещества через мембрану фагоцитов, если считать клетку телом сферической формы диаметром 8 мкм?

75. Электрическое напряжение на мембране равно $U = 60$ мВ, толщина мембраны $l = 10$ нм. Найдите напряженность электрического поля в мембране (E) и сравните ее с напряженностью электрического поля плоского конденсатора (E_K) с напряжением $U_K = 220$ В. Расстояние между пластинами $l_K = 0,1$ мм.

76. Согласно представлениям Эйнтховена, сердце подобно электрическому диполю. Электрический момент сердца-диполя периодически изменяется как по модулю, так и по направлению. Биопотенциалы (электрокардиограммы) регистрируются между вершинами условно равностороннего треугольника, который образуется двумя руками и одной ногой. Какой вид имели бы электрокардиограммы, снятые в трех возможных отведениях, если бы электрический момент сердца равномерно вращался во фронтальной плоскости? Укажите общие формулы и постройте три «электрокардиограммы», откладывая по оси абсцисс время, а по оси ординат – разность биопотенциалов.

77. На пластины плоского конденсатора, расстояние между которыми $l = 3$ см, подано напряжение $U = 1$ кВ. Пространство между пластинами заполнено кровью. Найдите поверхностную плотность связанных зарядов и поляризованность.

78. Одна часть плоского конденсатора заполнена водой, другая – глицерином. Во сколько раз поверхностная плотность связанных зарядов одного диэлектрика больше, чем другого?

79. Вычислите электроемкость тела человека, считая ее равной емкости электропроводящего шара того же объема. Среднюю плотность тела принять равной $\rho = 1$ г/см³; масса человека $m = 60$ кг.

80. Плоский конденсатор, расстояние между пластинами которого $l = 0,5$ см, заряжен до разности потенциалов $U = 700$ В. Диэлектрик – кровь. Определите объемную плотность энергии поля конденсатора.

81. Конденсатор емкостью $C_1 = 2$ мкФ заряжен до разности потенциалов $U = 100$ В. После отключения от источника ЭДС конденсатор был подключен к другому незаряженному конденсатору емкостью $C_2 = 5$ мкФ. На сколько изменилась энергия системы двух конденсаторов?

82. Расстояние между пластинами плоского воздушного конденсатора площадью $S = 50$ см² изменяется от $l_1 = 3$ см до $l_2 = 10$ см. Конденсатор был заряжен до напряжения $U = 200$ В и отключен от источника тока. Найдите изменение энергии поля конденсатора. Чему равна работа по раздвижению пластин конденсатора?

83. Используя данные задачи 82 и считая конденсатор подключенным к источнику тока, найдите изменение энергии конденсатора, источника тока и работу по раздвижению пластин конденсатора.

84. Через плоское сечение проводника проходят электроны со скоростью $v = 1,5$ см/с. Концентрация электронов равна $n = 10^{19}$ см⁻³. Найдите плотность тока. Определите силу тока, создаваемого этими зарядами, если сечение проводника $S = 0,3$ мм².

85. Найдите плотность тока в электролите, если концентрация ионов в нем $n = 10^5$ см⁻³, их подвижности $b_+ = 4,5 \cdot 10^{-4}$ см²/(В · с), $b_- = 6,5 \cdot 10^{-4}$ см²/(В · с) и напряженность электрического поля $E = 10$ В/см. Считая плотность тока всюду одинаковой, найдите силу тока, если площадь каждого электрода $S = 1$ дм². Принять заряд иона равным заряду электрона.

86. Между двумя электродами, к которым приложено постоянное напряжение $U = 36$ В, находится живая ткань. Условно можно считать, что ткань состоит из двух слоев сухой кожи и мышц с кровеносными сосудами. Толщина каждого слоя кожи $l_1 = 0,3$ мм, толщина внутренней ткани $l_2 = 9,4$ мм. Найдите плотность тока и падение напряжения в коже и в мышечной (сосудистой) ткани, рассматривая их как проводники. Как изменится потенциал в направлении, перпендикулярном этим слоям?

87. При сухой коже сопротивление между ладонями рук может достигать значения $R_1 = 10^5$ Ом, а при влажных ладонях это сопротивление существенно меньше ($R_2 = 1000$ Ом). Оцените ток, который пройдет через тело человека при контакте с электросетью напряжением $U = 220$ В. Сравните этот ток со значением порогов ощутимого и неотпускающего токов, если частота тока равна $\nu = 50$ Гц.

4. ПОЛЯРИЗАЦИЯ СВЕТА

Интенсивность света, вышедшего из анализатора (закон Малюса),

$$I = I_0 \cos^2 \varphi,$$

где I_0 – интенсивность плоскополяризованного света, подающего на анализатор; φ – угол между плоскостью поляризации поляризованного света и главной плоскостью анализатора.

Закон Брюстера

$$\operatorname{tg} i_B = n,$$

где n – относительный показатель преломления двух сред; i_B – угол полной поляризации.

Угол поворота плоскости поляризации:

В оптически активном веществе

$$\alpha = \alpha_0 l;$$

в растворе

$$\alpha = [\alpha_0] c l;$$

где α_0 – постоянная вращения (вращательная способность), $[\alpha_0]$ – удельное вращение, c – концентрация раствора оптически активного вещества, l – толщина слоя оптически активного вещества или раствора.

88. Определите удельное вращение раствора сахара, концентрация которого $c = 0,33 \text{ г/см}^3$, если при прохождении монохроматического света через трубку с раствором угол поворота плоскости поляризации $\alpha = 22^\circ$. Длина трубки $l = 10 \text{ см}$.

89. Определите угол поворота плоскости поляризации светового луча для мочи больного диабетом при концентрации сахара $c = 0,05 \text{ г/см}^3$. Длина трубки $l = 20 \text{ см}$, удельное вращение сахара для используемого света $[\alpha_0] = 6,67 \text{ град} \cdot \text{см}^2/\text{г}$.

90. Раствор сахара, налитый в трубку длиной $l = 20 \text{ см}$ и помещенный между поляризатором и анализатором, поворачивает плоскость поляризации света ($\lambda = 0,5 \text{ мкм}$) на $\alpha = 30^\circ$. Найдите (в граммах на кубический сантиметр) концентрацию сахара в растворе, если удельное вращение сахара для этой длины волны $[\alpha_0] = 6,67 \text{ град} \cdot \text{см}^2/\text{г}$.

91. При прохождении света через слой 10%-ного раствора сахара толщиной $l_1 = 10 \text{ см}$ плоскость поляризации света повернулась на угол $\alpha_1 = 16^\circ 30'$. В другом растворе сахара, взятом в слое толщиной $l_2 = 25 \text{ см}$, плоскость поляризации повернулась на угол $\alpha_2 = 33^\circ$. Найдите концентрацию второго раствора.

92. Между скрещенными поляризатором и анализатором находится стеклянная трубка длиной $l = 30 \text{ см}$, заполненная раствором сахара. При каких концентрациях раствора сахара можно наблюдать максимальное просветление поля зрения анализатора? Удельное вращение раствора сахара для используемого света $[\alpha_0] = 6,82 \text{ град} \cdot \text{см}^2/\text{г}$, а максимальная концентрация сахара $c = 2 \text{ г/см}^3$.

5. ТЕПЛОВОЕ ИЗЛУЧЕНИЕ ТЕЛ. ФОТОНЫ

Спектральная плотность энергетической светимости:

$$r_{e\lambda} = \frac{dR_{e\lambda}}{d\lambda} \quad \text{или} \quad r_{e\nu} = \frac{dR_{e\nu}}{d\nu},$$

где $dR_{e\lambda}$ (или $dR_{e\nu}$) – энергетическая светимость, соответствующая небольшому интервалу длин волн $d\lambda$ (или соответствующему интервалу частот $d\nu$).

Энергетическая светимость тела:

$$R_e = \int_0^{\infty} r_{e\lambda} d\lambda \quad \text{или} \quad R_e = \int_0^{\infty} r_{e\nu} d\nu.$$

Коэффициент поглощения:

$$\alpha = \frac{\Phi_{\text{погл}}}{\Phi_{\text{пад}}},$$

где $\Phi_{\text{погл}}$ – поток излучения, поглощенного данным телом; $\Phi_{\text{пад}}$ – поток излучения, падающего на тело. Тело, для которого $\alpha = 1$, называют *черным*. Тело, для которого $\alpha < 1$ и не зависит от λ , называют *серым*.

Закон Кирхгофа:

$$\left(\frac{r_{\lambda}}{\alpha_{\lambda}} \right)_1 = \left(\frac{r_{\lambda}}{\alpha_{\lambda}} \right)_2 = \dots = \epsilon_{\lambda},$$

где индексы 1, 2 и т. д. означают различные тела, ϵ_{λ} – спектральная плотность энергетической светимости черного тела.

Формула Планка:

$$\epsilon_{\lambda} = \frac{2\pi hc^2}{\lambda^5} \frac{1}{e^{hc/(kT\lambda)} - 1}, \quad \text{или} \quad \epsilon_{\nu} = \frac{2\pi h \nu^3}{c^2} \frac{1}{e^{h\nu/(kT)} - 1},$$

где h – постоянная Планка.

Закон Стефана-Больцмана:

$$R_e = \sigma T^4,$$

где R_e – энергетическая светимость черного тела, T – термодинамическая температура этого тела, σ – постоянная Стефана-Больцмана.

Закон Вина:

$$\lambda_{\text{max}} = \frac{b}{T},$$

где λ_{max} – длина волны, соответствующая максимуму спектральной плотности энергетической светимости черного (серого) тела; b – постоянная Вина.

Энергия, масса и импульс фотона:

$$\epsilon = h\nu = \frac{hc}{\lambda};$$

$$m = \frac{h\nu}{c^2} = \frac{h}{\lambda c};$$

$$p = \frac{h\nu}{c} = \frac{h}{\lambda}.$$

Уравнение Эйнштейна для фотоэффекта:

$$h\nu = A + \frac{m\nu^2}{2},$$

где $h\nu$ – энергия фотона; $\frac{m\nu^2}{2}$ – максимальная кинетическая энергия электрона, вылетевшего из металла; A – работа выхода электрона из металла.

93. Спектральная плотность энергетической светимости черного тела в некотором интервале длин волн $\varepsilon_\lambda = 3 \cdot 10^4$ Вт/(м² • нм). Определите соответствующую спектральную плотность энергетической светимости серого тела, имеющего ту же температуру и коэффициент поглощения $\alpha = 0,8$.

94. При какой температуре энергетическая светимость черного тела равна $R_e = 500$ Вт/м²?

95. При какой температуре энергетическая светимость серого тела равна $R_e = 500$ Вт/м²? Коэффициент поглощения $\alpha = 0,5$.

96. Определите энергию, излучаемую через смотровое окошко печи в течение $t = 1$ мин. Температура печи $T = 1500$ К, площадь смотрового окошка $S = 10$ см². Считать, что печь излучает как черное тело.

97. Найдите температуру печи, если известно, что из отверстия в ней площадью $S = 6$ см² излучается 7 кал в 1 с. Считать излучение близким к излучению черного тела.

98. Поверхность черного тела нагрета до температуры $T = 1000$ К. Во сколько раз изменится мощность излучения этого тела, если половину поверхности нагреть, а другую половину охладить на $\Delta T = 100$ К?

99. Определите энергетическую светимость тела человека при температуре $t = 36$ °С, принимая его за серое тело с коэффициентом поглощения $\alpha = 0,9$.

100. Как объяснить, что железо при температуре 800 °С светится, а кварц при той же температуре не светится?

101. Имеются две полости с малыми отверстиями одинакового диаметра $D = 1$ см и абсолютно отражающими наружными поверхностями. Отверстия расположены друг против друга, расстояние между ними $l = 10$ см. В одной полости поддерживается температура $T = 1700$ К. Вычислите установившуюся температуру в другой полости.

102. Считая Солнце черным телом, температура поверхности которого $T = 5800$ К, найдите солнечную постоянную. Радиус Солнца $r = 6,95 \cdot 10^8$ м, расстояние от Земли до Солнца $l = 1,5 \cdot 10^{11}$ м.

103. Используя данные задачи 102, найдите энергию и массу, ежедневно теряемые Солнцем при излучении.

104. Вычислите энергию, теряемую человеком каждую секунду при теплообмене лучеиспусканием (и поглощением) с окружающей средой. Рассмотрите два случая: а) раздетый человек; б) человек, одетый в костюм из шерстяной ткани. Принять коэффициент поглощения кожи человека $\alpha_1 = 0,9$, шерстяной ткани $\alpha_2 = 0,76$; температуры поверхности кожи $t_1 = 30^\circ \text{C}$, поверхности ткани $t_2 = 20^\circ \text{C}$ и окружающего воздуха $t_3 = 18^\circ \text{C}$. Площадь поверхности, через которую осуществляется теплообмен лучистой энергией с окружающей средой, считать равной $S = 1,2 \text{ м}^2$.

105. Температура черного тела $T = 1000 \text{ К}$. На сколько процентов изменится его энергетическая светимость при повышении температуры на $\Delta T = 1 \text{ К}$?

106. В медицине для диагностики ряда заболеваний получил распространение метод, называемый *термографией*. Он основан на регистрации различия теплового излучения здоровых и больных органов, обусловленного небольшим отличием их температур. Вычислите, во сколько раз отличаются термодинамические температуры и энергетические светимости участков поверхности тела человека, имеющих температуры $30,5^\circ$ и $30,0^\circ \text{C}$ соответственно.

6. ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ СВЕТА С ВЕЩЕСТВОМ

Интенсивность света, вышедшего из слоя вещества толщиной l после поглощения (закон Бугера),

$$I_l = I_0 e^{-k'l},$$

где I_0 – интенсивность света, вошедшего в поглощающее вещество; k' – натуральный показатель поглощения.

Закон Бугера, выраженный через показательную функцию с основанием 10,

$$I_l = I_0 \cdot 10^{-kl},$$

где $k \approx 0,43 k'$ – показатель поглощения.

Закон Бугера-Ламберта-Бера:

$$I_l = I_0 e^{\chi'cl}, \quad \text{или} \quad I_l = I_0 \cdot 10^{\chi'cl},$$

где χ' – натуральный молярный показатель поглощения, χ – молярный показатель поглощения, C – молярная концентрация, $C = \frac{n}{N_A}$, n – концентрация молекул, поглощающих кванты света, N_A – число Авогадро.

$$\chi' = \sigma N_A,$$

коэффициент пропускания τ равен отношению интенсивностей света, прошедшего сквозь данное тело (или раствор) и упавшего на это тело,

$$\tau = \frac{I_l}{I_0}.$$

Оптическая плотность раствора:

$$D = \lg\left(\frac{1}{\tau}\right) = \lg\left(\frac{I_0}{I_l}\right) = \chi_1 Cl.$$

Закон ослабления интенсивности света вследствие рассеяния (совместного действия поглощения и рассеяния):

$$I_l = I_0 \cdot 10^{-\mu l}, \quad I_l = I_0 \cdot 10^{-\mu l},$$

где $\mu = k + m$ – показатель ослабления.

Квантовый выход люминесценции ϕ – это отношение количества испущенных квантов люминесценции N_1 к количеству поглощенных квантов N_2 :

$$\phi = N_1/N_2,$$

квантовый выход в спектрофотометрах:

$$\phi = \frac{I_l}{I_0 - I},$$

где I_l – регистрируемая фотоэлементом интенсивность люминесценции; $(I_0 - I) = I_{\text{погл}}$ – регистрируемая поглощенная интенсивность света, вызывающего люминесценцию для слабых растворов с оптической плотностью D порядка 0,1.

Интенсивность люминесценции:

$$I_l = 2,3\phi I_0 D.$$

107. Пучок монохроматического света проходит через стеклянную пластинку толщиной $l = 1$ см. Определите монохроматический натуральный показатель поглощения и монохроматический показатель поглощения стекла, если при этом поглощается 0,1 падающего света. Какой толщины должна быть стеклянная пластинка, чтобы поглотилась половина падающего света?

108. При прохождении света с длиной волны λ_1 через слой вещества его интенсивность уменьшается вследствие поглощения в четыре раза. Интенсивность света с длиной волны λ_2 по той же причине ослабляется в три раза. Найдите толщину слоя вещества и показатель поглощения для света с длиной волны λ_2 , если для света с длиной волны λ_1 он равен $K_1 = 0,02 \text{ см}^{-1}$.

109. Через пластинку из прозрачного вещества толщиной $l = 4,2$ см проходит половина падающего на нее светового потока. Определите натуральный показатель поглощения данного вещества. Рассеянием света в пластинке пренебречь; считать, что 10% падающей энергии отражается на поверхности пластинки.

110. В 4-процентном растворе вещества в прозрачном растворителе интенсивность света на глубине $l_1 = 20$ мм ослабляется в два раза. Во сколько раз ослабляется интенсивность света на глубине $l_2 = 30$ мм в 8%-ом растворе того же вещества?

111. Какова концентрация раствора, если одинаковая освещенность фотометрических полей была получена при толщине $l_1 = 8$ мм у эталонного 3%-го раствора и $l_2 = 24$ мм – у исследуемого раствора?

112. Коэффициент пропускания раствора $\tau = 0,3$. Чему равна его оптическая плотность?

113. Оптическая плотность раствора $D = 0,08$. Найдите его коэффициент пропускания.

114. При прохождении света через слой раствора поглощается $1/3$ первоначальной световой энергии. Определите коэффициент пропускания и оптическую плотность раствора.

115. При прохождении монохроматического света через слой вещества толщиной $l = 15$ см его интенсивность убывает в четыре раза. Определите показатель рассеяния, если показатель поглощения $k = 0,025 \text{ см}^{-1}$.

116. Вычислите толщину слоя половинного ослабления параллельного пучка γ -излучения для воды, если натуральный показатель ослабления $\mu' = 0,053 \text{ см}^{-1}$.

117. Интенсивность света, прошедшего через раствор некоторого вещества, уменьшилась в 10 раз. Молярный показатель поглощения на данной длине волны равен $2300 \text{ л}/(\text{моль} \cdot \text{см})$, длина кюветы с раствором равна 1 см. Найдите молярную концентрацию растворенного вещества.

118. Чему равен молярный показатель поглощения некоторого вещества, если при прохождении света через раствор с концентрацией $0,05 \text{ моль/л}$ интенсивность света уменьшилась в 25 раз? Длина кюветы $0,5 \text{ см}$.

119. Определите квантовый выход люминесценции вещества, если его оптическая плотность равна $0,05$, а интенсивность люминесценции в 15 раз меньше интенсивности возбуждающего света.

120. Пересчитайте следующие оптические плотности растворов в проценты пропускания: а) 0; б) 2; в) ∞ .

121. Почему форма спектра фотолюминесценции не зависит от длины волны возбуждающего света?

122. При регистрации фосфоресценции некоторого вещества было обнаружено, что интенсивность люминесценции уменьшается в 30 раз за 2 мин. Чему равно время жизни возбужденного состояния молекул этого вещества?

123. Чем объясняется различие времен флуоресценции и фосфоресценции?

124. Как изменится квантовый выход люминесценции вещества, если при той же интенсивности люминесценции интенсивность поглощенного света увеличивается на 30% ?

125. Лазерное излучение используют в различных областях медицины. Сравните энергию квантов лазерного излучения со следующими длинами волн: а) офтальмология («приваривание» сетчатки), $\lambda = 0,514$ мкм; б) терапия, $\lambda = 0,63$ мкм.

126. Частотный диапазон лазерного излучения, используемого в медицине, лежит в пределах от 30 000 ГГц до 1 500 000 ГГц. Найдите соответствующие границы диапазона длин волн.

7. РЕНТГЕНОВСКОЕ ИЗЛУЧЕНИЕ

Граница спектра тормозного рентгеновского излучения:

$$\lambda_{\min} = 1,23/U,$$

где U – напряжение в рентгеновской трубке, кВ; $\lambda_{\min}$, нм.

Поток рентгеновского излучения:

$$\Phi = kIU^2Z,$$

где I и U – сила тока и напряжение в рентгеновской трубке, Z – порядковый номер элемента вещества анода, $k = 10^{-9} \text{ В}^{-1}$.

Массовый коэффициент ослабления рентгеновского излучения:

$$\mu_m = k\lambda^3 Z^3,$$

где k – коэффициент пропорциональности, λ – длина волны, Z – порядковый номер элемента вещества-поглотителя.

Линейный коэффициент ослабления рентгеновского излучения:

$$\mu = \mu_m \rho,$$

где ρ – плотность вещества.

127. На какую величину сместится спектр тормозного рентгеновского излучения при увеличении напряжения от 80 до 120 кВ?

128. Электроны в луче телевизионной трубки тормозятся веществом экрана. Напряжение, подаваемое на трубку, равно 20 кВ. Чему равна граничная длина волны $\lambda_{\min}$ спектра рентгеновского излучения, возникающего при торможении электронов?

129. Как влияет на спектр тормозного рентгеновского излучения увеличение напряжения на трубке? Почему?

130. Во сколько раз уменьшится поток рентгеновского излучения, если вольфрамовый антикатод заменить молибденовым, а напряжение и ток накала в трубке оставить неизменными?

131. Тело поглотило фотоны рентгеновского излучения с энергией 100 эВ, что значительно превышает энергию ионизации атомов данного вещества. Считая основным эффектом взаимодействия рентгеновского из-

лучения с веществом некогерентное рассеяние, найдите длину волны вторичного рентгеновского излучения, если вторичные электроны движутся со скоростью $3,7 \cdot 10^6$ м/с.

132. Напряжение на рентгеновской трубке равно 250 кВ. Найдите энергию квантов, соответствующих граничной длине волны спектра тормозного рентгеновского излучения.

133. Найдите поток рентгеновского излучения при $U = 10$ кВ, $I = 1$ мА. Анод изготовлен из вольфрама. Скольким фотонам в секунду соответствует этот поток, если допустить, что излучается электромагнитная волна, длина которой равна $3/2$ от длины волны, соответствующей границе спектра тормозного рентгеновского излучения?

134. Считая, что поглощение рентгеновского излучения не зависит от того, в каком соединении атом представлен в веществе, определите, во сколько раз массовый коэффициент ослабления кости $\text{Ca}(\text{PO}_4)_2$ больше массового коэффициента ослабления воды?

135. Для рентгенодиагностики мягких тканей применяют контрастные вещества. Например, желудок и кишечник заполняют кашеобразной массой сульфата бария BaSO_4 . Сравните массовые коэффициенты ослабления сульфата бария и мягких тканей (воды).

8. ЯДРО. РАДИОАКТИВНОСТЬ

Энергия связи ядра:

$$\Delta E_{\text{св}} = 931,5[Zm_{\text{H}} + (A - Z)m_{\text{n}} - m_{\text{a}}],$$

где, m_{H} , m_{n} , m_{a} – массы соответственно изотопа водорода H , нейтрона и атома, а. е. м.; Z – число протонов в ядре (порядковый номер элемента), A – число нуклонов в ядре (массовое число); $\Delta E_{\text{св}}$ выражается в мегаэлектрон-вольтах.

Основной закон радиоактивного распада:

$$N = N_0 e^{-\lambda t},$$

где N_0 – начальное число радиоактивных ядер, N – их число к моменту времени t .

$$\lambda = \frac{\ln 2}{T_{1/2}},$$

λ – постоянная распада, $T_{1/2}$ – период полураспада.

Изменение активности препарата со временем:

$$A = \lambda N_0 e^{-\lambda t}.$$

136. Найдите энергию связи ядра урана ${}_{92}^{238}\text{U}$ и энергию связи, приходящуюся на один нуклон.

137. Найдите энергию связи ядер изотопа водорода, дейтерия и трития. Чему равна энергия связи, приходящаяся на один нуклон?

138. Запишите реакции образования радиоактивного азота $^{13}_7\text{N}$ из устойчивого изотопа бора $^{10}_5\text{B}$ при искусственной β -радиоактивности.

Каким превращениям будет подвергаться $^{13}_7\text{N}$?

139. Вычислите число ядер $^{130}_{53}\text{I}$, распавшихся в течение первых суток, если первоначальное число ядер $N_0=10^{22}$.

140. Каким образом искусственная β -радиоактивность приводит к образованию $^{30}_{14}\text{Si}$ из алюминия $^{27}_{13}\text{Al}$?

141. Как получить из ртути золото?

142. Во сколько раз уменьшится количество ядер радиоактивного цезия за 10 лет?

143. В ампуле находится радиоактивный йод $^{131}_{53}\text{I}$ активностью 100 мкКи. Чему будет равна активность препарата через сутки?

144. Какое количество кобальта $^{60}_{27}\text{Co}$ надо взять, чтобы получить источник излучения с той же активностью, которой обладает 5 г иода $^{131}_{53}\text{I}$?

145. В источнике минеральной воды активность радона составляет 1000 Бк на 1 л. Какое количество атомов радона попадает в организм пациента, выпившего стакан минеральной воды объемом 0,2 л?

146. Для исследования щитовидной железы больному ввели 20 мл 10%-ного раствора глюкозы с радиоактивным иодом. Удельная активность иода в момент введения составляла 0,08 мкКи/мл. Найдите массу иода в растворе. Учтите, что каждая молекула глюкозы связывает один иод.

147. Для торможения нейтронов используют вещества, содержащие элементы с малым атомным весом (парафин, вода). В чем причина этого?

148. Через какой промежуток времени после радиоактивного заражения местности стронцием можно будет использовать земли для возделывания на них различных культур, если расчеты показывают, что количество радиоактивного препарата должно уменьшиться в 100 раз?

149. Во сколько раз уменьшится количество ядер радиоактивного цезия за 10 лет?

150. В 1 мл морской воды содержится 10^{-15} г радона $^{226}_{88}\text{Rn}$. Какое количество воды имеет активность, равную 10 мКи?

ЛАБОРАТОРНЫЙ ПРАКТИКУМ

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 1

Исследование проницаемости модельных мембран.

Изучение осмоса в живых растительных клетках.

Определение среднего осмотического давления клеточного сока в препарате растительных клеток методом начинающегося плазмолиза

Материалы и оборудование: Эпидермис (кожица лука), микроскоп, 2 предметных и 2 покровных стекла, скальпель и пинцет, дистиллированная вода, 1 М раствор сахарозы, 2 пипетки с грушей, фильтровальная бумага.

Оторвите полоску эпидермиса с нижней поверхности одной из мясистых чешуй луковицы. Быстро перенесите оторванную полоску эпидермиса на предметное стекло и капните на него 2-3 капли дистиллированной воды. Накройте покровным стеклом и посмотрите, как выглядят клетки под микроскопом. Зарисуйте несколько клеток. Отделите другую полоску эпидермиса и повторите всю процедуру, взяв вместо воды 1 М раствор сахарозы. Понаблюдайте за полоской в течение 15 мин при большом увеличении и зарисуйте изменения, которые вы заметите в одной или нескольких типичных клетках. Можно посмотреть, не пойдет ли процесс обратно. Для этого под покровное стекло капают дистиллированную воду и отмывают препарат от раствора сахарозы.

Материалы и оборудование: Эпидермис (кожица лука), 6 чашек Петри, 6 пробирок, штатив для пробирок, восковый карандаш, 2 градуированные пипетки на 10 и 25 мл, 2 стакана на 100 мл, кисточка, дистиллированная вода, 1 М раствор сахарозы, пинцет пипетки, предметные и покровные стекла, микроскоп, миллиметровка, скальпель.

1. Подпишите 6 чашек Петри и шесть пробирок для следующих растворов сахарозы: 0,3; 0,35; 0,4; 0,45; 0,5 и 0,6 М.

2. Возьмите градуированную пипетку на 10 или 25 мл, стакан с дистиллированной водой и стакан с 1 М раствором сахарозы и приготовьте в пробирках по 20 мл раствора различной концентрации. Объемы, которые нужно взять указаны в таблице 1.

3. Хорошо помешайте каждый раствор путем встряхивания. Вылейте полученные растворы в чашки Петри.

4. Оторвите одну из мясистых частей луковицы. Пока внутренний эпидермис находится на месте, возьмите скальпель и вырежьте в нем 6 квадратиков размером 5 на 5 мм. Пинцетом отделите квадратики и сразу же положите их по одному в каждую чашечку Петри. Осторожно покачай-

те чашечки, чтобы ткань была полностью погружена и хорошо промылась раствором сахарозы. Оставьте чашечки на 20 мин.

5. С помощью кисти выньте ткань из 0,6 М раствора и перенесите ее на предметное стекло в раствор сахарозы той же концентрации. Накройте предметным стеклом и рассмотрите под микроскопом.

6. При малом увеличении выберите подходящую зону клеток. Затем используйте объектив для среднего или большого увеличения и посмотрите в выбранную зону, передвигая стекло. Запишите, в каком состоянии (плазмолизированном или нет) находятся 100 просмотренных клеток. Клетку считают плазмолизированной, если протопласт в ней хотя бы чуть-чуть отошел от клеточной стенки.

7. Повторить всю процедуру с другими квадратами ткани в соответствующих растворах

8. Подсчитайте процент плазмолизированных клеток в каждом растворе. Постройте график, отложив по вертикальной оси процент плазмолизированных клеток, а по горизонтальной – молярность раствора сахарозы.

9. По графику определите молярность раствора сахарозы, при котором плазмолизуется 50% клеток.

10. Постройте график зависимости осмотического давления (по вертикальной оси) от молярности раствора сахарозы (по горизонтальной оси) по данным, приведенным в таблице 2.

11. Из полученного графика, определите осмотическое давление того раствора, который вызывает 50%-ный плазмолиз. Эта величина будет соответствовать усредненному осмотическому давлению клеточного сока.

Таблица 1

Приготовление разбавленных растворов сахарозы

Концентрация раствора, М	Объем дистиллированной воды, мл	Объем 1 М раствора сахарозы, мл
0,30	14	6
0,35	13	7
0,40	12	8
0,45	11	9
0,50	10	10
0,60	8	12

Таблица 2

Осмотическое давление растворов сахарозы при 20°C

Концентрация раствора сахарозы, М	Осмотическое давление, кПа	Осмотическое давление, атм
0,05	130	1,3
0,10	260	2,6
0,15	410	4,0
0,20	540	5,3
0,25	680	6,7
0,30	820	8,1
0,35	970	9,6
0,40	1120	11,1
0,45	1280	12,6
0,50	1450	14,3
0,55	1620	16,0
0,60	1800	17,8
0,65	1980	19,5
0,70	2180	21,5
0,75	2370	23,3
0,80	2580	25,5
0,85	2790	27,5
0,90	3010	29,7
0,95	3250	32,1
1,00	3510	34,6
1,50	6670	65,8
2,00	11810	116,6

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 2**Спектрофотометр и его использование
в медико-биологических исследованиях**

Свойство атомов и молекул поглощать свет с определенной длиной волны, характерной для данного вещества, широко используется в медицине и фармации для качественных и количественных исследований. Измерение спектров поглощения позволяет судить о химическом составе вещества и его состоянии в биологических структурах. Для регистрации спектров поглощения используются приборы – спектрофотометры.

Цель работы:

1. Изучить законы поглощения света как теоретическую основу спектрофотометрии.

2. Понять принципы применения спектрофотометрии в биологии, медицине и фармации.

3. Выработать умение проводить качественный и количественный анализ физиологически активных веществ методом абсорбционной спектрофотометрии.

Подготовка к работе

Изучить следующие вопросы:

1. Спектры поглощения белков и нуклеиновых кислот, характерные длины волн.

2. Закон Бугера-Ламберта-Бера и физический смысл всех входящих в него величин.

3. Коэффициент пропускания вещества, оптическая плотность образца. Связь между этими величинами. Размерности величин, входящих в формулы для коэффициента пропускания и оптической плотности.

4. Принципиальная схема спектрофотометра, назначение отдельных блоков.

5. Оптическая схема спектрофотометра, ход лучей в нем, способ изменения длины волны, место расположения исследуемого образца.

6. Примеры применения абсорбционной спектрофотометрии в медицине и фармации.

Теоретические сведения

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

При прохождении через вещество свет поглощается. Рассмотрим слой толщины l , в котором в концентрации C находится вещество, поглощающее свет. В этом случае, согласно закону Бугера-Ламберта-Бера, интенсивность I света, прошедшего через слой, и интенсивность I_0 света, падающего на него, связаны соотношением:

$$I = I_0 e^{-kd}, \quad (1)$$

где $e = 2,72$ – основание натуральных логарифмов, k – коэффициент пропорциональности, характерный для данного вещества и для данной длины волны. Для практических приложений закон (1) записывается в виде:

$$I = I_0 10^{-\varepsilon_{\lambda} cl}, \quad (2)$$

где величина ε_{λ} – молярный коэффициент поглощения на длине волны λ . Показатель степени в формуле (2), взятый с обратным знаком, называют **оптической плотностью**:

$$D = \varepsilon_{\lambda} cl. \quad (3)$$

Как видно из формул (1) и (2), измерив отношение интенсивностей падающего и прошедшего света и зная величину ε_λ можно определить концентрацию c вещества. Метод изучения веществ по их способности поглощать свет называется *абсорбционной спектрофотометрией*.

На практике измеряют две физические величины: коэффициент пропускания τ или оптическую плотность D . Коэффициент пропускания τ – это отношение интенсивностей прошедшего и падающего света:

$$\tau = \frac{I}{I_0}. \quad (4)$$

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

Оптическую плотность D можно определить из формулы (2) и выразить через коэффициент пропускания:

$$D = \lg(I_0/I) = \lg(1/\tau) \quad (5)$$

Как видно из формулы (5), когда коэффициент пропускания τ падает от 100% до 0% , оптическая плотность D соответственно растет от 0 до ∞ . Используются следующие единицы измерений: τ и D – безразмерные величины; концентрация поглощающего вещества $[c]$ = моль/л; $[l]$ = см; $[\varepsilon_\lambda]$ =л/моль • см.

Спектр поглощения – это зависимость молярного коэффициента поглощения ε_λ от длины волны λ . Прибор для измерения спектров называется спектрофотометром. Молекулярные группы, поглощающие свет, называют **хромофорами**.

Стандартный диапазон измерений в абсорбционной спектрофотометрии – 180-1100 нм. Он включает в себя три области спектра: ближнюю ультрафиолетовую область (УФ) -180-380 нм; видимую (ВИД) – 380-760 нм и ближнюю инфракрасную (ИК) - 760-1100 нм.

Нуклеиновые кислоты поглощают только в УФ области (180-220 и 240-280 нм). Их хромофорами являются, в основном, пуриновые и пиримидиновые основания.

Белки имеют три типа хромофорных групп: собственно пептидные группы, боковые группы аминокислотных остатков и простетические группы. Первые две поглощают в УФ области и не поглощают в видимой области. Пептидные группы -CO-NH- поглощают в районе 190 нм. Боковые группы трех ароматических кислот – триптофана, тирозина и фенилаланина – также поглощают на этих длинах волн, причем значительно сильнее, чем пептидные группы. Кроме того, они имеют полосу поглощения в диапазоне 260-280 нм.

Простетические группы (гем в гемоглобине и др. хромофоры) поглощают в УФ и в видимой области. Именно они придают белку цвет (например, красный цвет гемоглобину). Спектр поглощения гемоглобина (рис. 1) имеет характерные максимумы в видимой области (~400 нм и 525-580 нм), а также в ближней ИК-области (900 нм). Спектры поглощения ге-

моглобина, связавшего кислород (оксигемоглобин) – сплошная линия – и свободного гемоглобина (деоксигемоглобин) – пунктирная линия – отличаются. Поэтому с помощью спектров поглощения можно измерить содержание кислорода в крови человека.

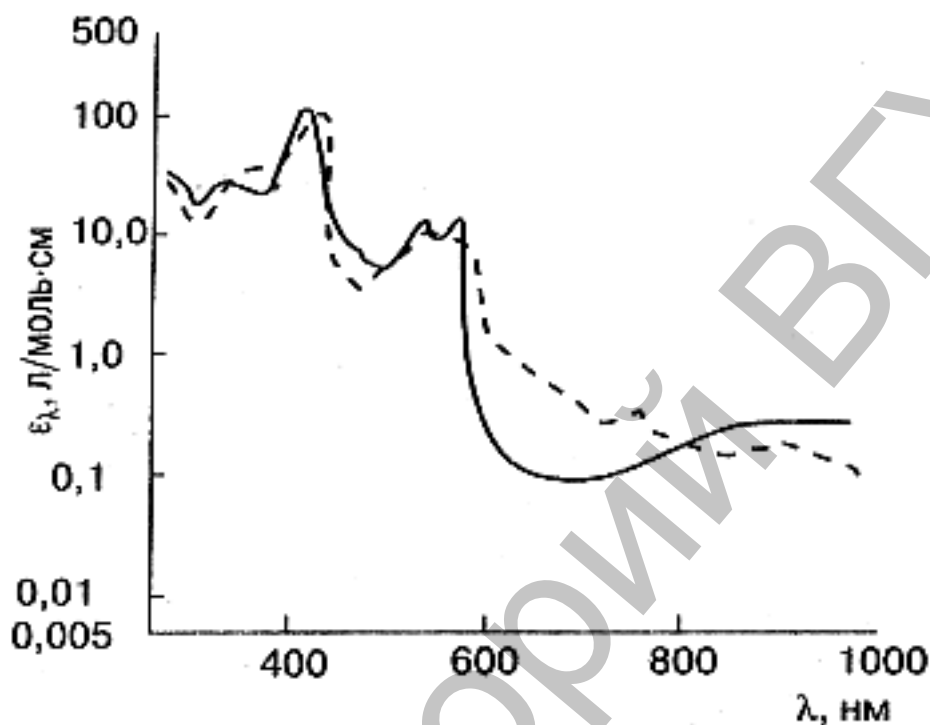


Рис. 1. Спектры поглощения гемоглобина, связавшего кислород, (оксигемоглобин) – сплошная линия – и свободного гемоглобина (деоксигемоглобин) – пунктирная линия

Примеры использования спектрофотометрии в биологии, медицине и фармации.

1. Измерение концентрации белков и нуклеиновых кислот.
2. Оценка кровоснабжения тканей на основе измерений степени оксигенации гемоглобина.
3. Измерение pH среды с помощью красителей, изменяющих спектр поглощения с изменением pH.
4. Определение концентрации различных лекарственных средств, имеющих характерные спектры поглощения (рутин, берберин).
5. Отслеживание динамики размножения микроорганизмов по изменению оптической плотности среды, в которой они находятся.

Принципиальная схема спектрофотометра Спектрофотометр состоит из следующих основных блоков (рис. 2): источника света (И), монохроматора (М), измерительной кюветы (К1) и кюветы сравнения (К2), фотоприемника (Ф) и регистратора (индикатора) (Р).

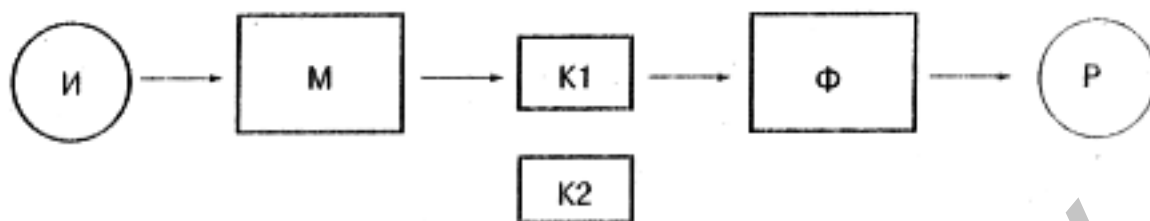


Рис. 2. Принципиальная схема спектрофотометра

Источник (И) испускает свет, монохроматор (М) выделяет из него нужный участок спектра. Этот свет далее проходит либо через измерительную кювету (К1), в которую помещают исследуемый раствор, либо через кювету сравнения (К2), заполненную растворителем (в этом случае кювету К2 помещают вместо кюветы К1). Свет, прошедший через кювету, регистрируют фотоприемником (Ф), и его интенсивность либо записывают каким-либо регистратором, либо отображают на индикаторе. В качестве индикатора можно использовать стрелочный прибор. Две кюветы используют для того, чтобы исключить паразитные эффекты, связанные с поглощением света в растворителе и его отражениями от стенок кюветы.

Оптическая схема спектрофотометра типа СФ-26, используемого в работе, естественно, существенно сложнее (рис. 3). Для того, чтобы проводить измерения как в видимой части спектра, так и в ультрафиолетовой, в приборе установлено два источника света (1 и 1'). Выбор нужного источника производится поворотным зеркалом (2). Пучок света от источника поворачивается плоским зеркалом (3) и через линзу (4) освещает входную щель монохроматора (5). С помощью специальной ручки можно менять ее ширину и тем самым регулировать интенсивность светового потока подаваемого на монохроматор, а затем на кювету. Далее излучение отражается от сферического зеркала (6) с фокусным расстоянием 500 мм и падает под углом на поверхность поворотной кварцевой призмы (7), у которой одна грань сделана зеркальной. Поскольку у кварца коэффициент преломления зависит от длин волн, на границе воздух-кварц пучок белого света разлагается в спектр. Свет с разными длинами волн распространяется под разными углами к поверхности кварца (на рисунке для двух разных длин волн показаны сплошной и пунктирной линиями направления распространения лучей). Отразившись от зеркальной грани призмы, лучи повторно проходят через границу раздела кварц-воздух, в результате чего различия в углах увеличиваются. Затем эти пучки света с разной длиной волны повторно отражаются от сферического зеркала (6) и попадают на выходную щель (8). Через нее из монохроматора может выйти монохроматическое излучение только с одной длиной волны – той самой, для которой угол выхода из призмы обеспечивает попадание в эту щель. Чтобы изменить длину волны на выходе монохроматора, призму надо повернуть на соответствующий угол.

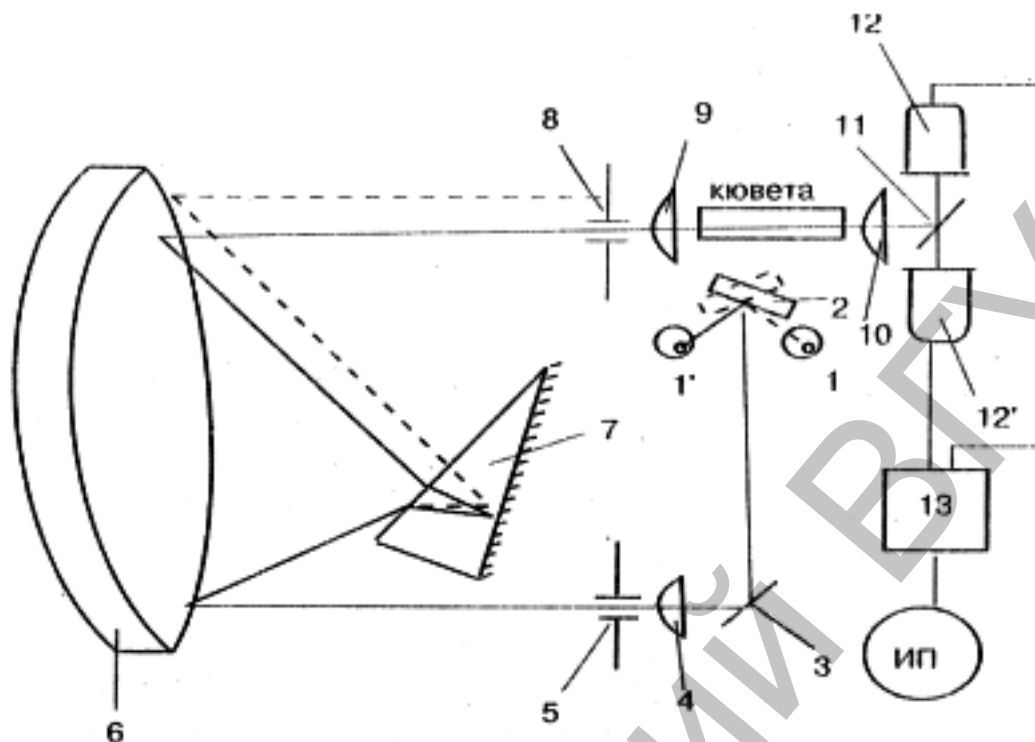


Рис. 3. Оптическая схема спектрофотометра

После выхода из монохроматора излучение последовательно проходит через линзу 9, кювету, линзу 10 и, отразившись от поворотного зеркала 11, попадает на один из двух фотоэлементов (12 и 12'). Фотоэлемент (12), обозначенный на приборе буквой «Ф», рассчитан на работу в ультрафиолетовой и видимой областях спектра (186–650 нм), а фотоэлемент (12'), обозначенный буквой «К», в красной и инфракрасной (600–1100 нм).

Электрический сигнал с выходов фотоэлементов через специальную электронную схему (13) подается на измерительный прибор ИП.

Конструктивно спектрофотометр СФ-26 включает следующие блоки (рис. 4):

- 1) монохроматор (МХ) с указателем длин волн (УДВ) и измерительным прибором (ИП);
- 2) осветитель (Осв) с источником излучения;
- 3) кюветное отделение (К);
- 4) камеру с фотоэлементами (ФЭ) и электронной схемой;
- 14 – тумблер «сеть» и сигнальная лампа включения сети;
- 15 – «Н» – сигнальная лампа включения лампы накаливания, для области 350-1100 нм;

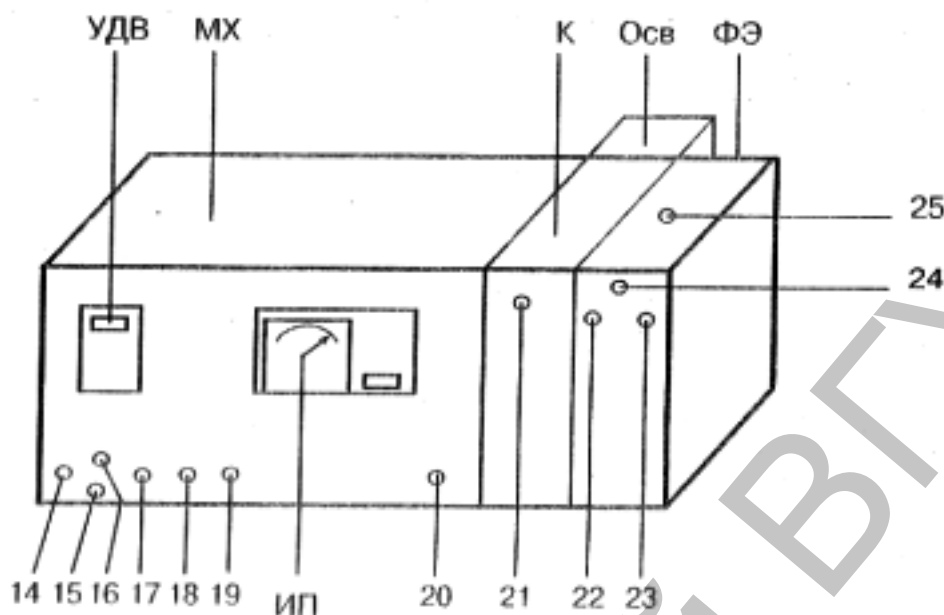


Рис. 4. Конструкция спектрофотометра

- 16 – «Д» – сигнальная лампа включения дейтериевой лампы, для области до 350 нм;
- 17 – рукоятка установки длин волн (вращения призмы);
- 18 – переключатель «компенсация»;
- 19 – переключатель «отсчет»;
- 20 – рукоятка раскрытия щели от 0,01 до 2 мм;
- 21 – рукоятка перемещения каретки с образцами;
- 22 – рукоятка шторки, перекрывающей фотоэлементы;
- 23 – рукоятка «нуль» установки нулевого значения на ИП при закрытой шторке ФЭ;
- 24 – переключатель «чувствительность»;
- 25 – переключатель фотоэлементов «Ф» (186-650 нм) и «К» (600-1100 нм).

Выполнение работы

Задание 1. Ознакомиться с порядком включения прибора, границами видимого спектра, соответствием цвета и длины волны.

Подключить прибор к сети 220 В.

Рукоятку переключения источников света, находящуюся на задней стенке осветительного блока, перевести в крайнее правое положение «Н», соответствующее лампе накаливания.

Перевести рукоятку 22 шторки фотоэлементов в положение «закр.».

Включить тумблер 14 «сеть», после чего загорится сигнальная лампа «сеть» и сигнальная лампа 15 «Н». Дать прибору прогреться 10 мин.

В процессе прогрева прибора измерить диапазон длин волн, видимых глазом человека, по излучению, выходящему из монохроматора в кюветное отделение.

Внимание:

Перед открыванием крышки кюветного отделения убедиться в том, что рукоятка 22 шторки, перекрывающей фотоэлементы, находится в положении «закрыто».

Открыть кюветное отделение и поместить в него около выхода светового пучка из монохроматора лист белой бумаги. Открыть максимально щель (рукоятка 20). Вращая рукоятку поворота призмы (17) в сторону увеличения длин волн, установить на указателе длин волн значение 350 нм.

Поворачивая медленно рукоятку 17 в сторону увеличения длин волн, зафиксировать момент, когда появится фиолетовое пятно на бумаге, записать соответствующее значение длины волны с указателя длин волн. Затем увеличивая далее длину волны, отметить длины волн, соответствующие голубому, зеленому, оранжевому и красному излучению. При дальнейшем вращении зафиксировать момент, когда изображение пятна пропадет – это граница инфракрасного диапазона. Составить таблицу длин волн, соответствующих границам восприятия глаза человека, а также указанным выше цветам.

Задание 2. Провести метрологическую поверку спектрофотометра, используя стандартные светофильтры.

Из комплекта спектрофотометра СФ-26 укрепить в держателе светофильтры КУ-1, НС8-1 и НС8-4 и поместить их на каретку в кюветное отделение.

Фильтр КУ-1 пропускает излучение от ультрафиолетового до инфракрасного. Фильтры из стекла НС8 пропускают излучение от видимого до инфракрасного, однако толщина фильтра НС8-1 составляет 1 мм, а фильтра НС8-4 – 4 мм, поэтому последний пропускает меньше.

Установить переключатель источников света в положение «Н», переключатель 25 фотоэлементов в положение «К», шторку 22 фотоэлементов в положение «закр». Включить тумблер 14 «сеть».

Рукояткой 17 установить длину волны 600 нм. В соответствии с конструкцией прибора требуемое значение длины волны устанавливается при вращении рукоятки 17 в сторону увеличения длин волн. Если требуемое значение длин волн пройдено, то необходимо вернуться на несколько делений назад и снова подвести указатель к требуемому делению со стороны меньших длин волн.

Переключатель 18 «компенсация» поставить в положение «О», переключатель 19 «отсчет» в положение «xl», переключатель 24 «чувствительность» в положение «1».

Рукояткой 23 «нуль» установить значение «0»% на ИП.

Внимание! Рукоятка 23 «нуль» – потенциометр с двойной регулировкой (грубой и тонкой), им следует пользоваться с осторожностью, не

прилагая усилий. Рукояткой перемещения каретки 21 в световой поток ввести свободное от светофильтра окно держателя, служащее контролем.

Открыть шторку 22.

Меняя ширину щели рукояткой 20, установить стрелку измерительного прибора на значение «100%».

Внимание: отсчет по измерительному прибору следует проводить при визуальном слиянии стрелки прибора и ее зеркального отражения.

Если световой поток недостаточен для установления 100%-го пропускания, то закрыть шторку 22, переключатель «чувствительность» 24 перевести в положение «2», снова установить нулевое значение на шкале ИП рукояткой 23 «нуль», открыть шторку 22. Меняя ширину щели рукояткой 20, установить стрелку ИП на значение 100%. Процесс повышения чувствительности следует продолжать, переводя рукоятку 24 последовательно в положения «3», «4», с одновременной регулировкой нуля вплоть до установления 100% пропускания.

Перемещая каретку с фильтрами рукояткой 21 и фиксируя ее последовательно в положениях 2,3,4, ввести в световой поток последовательно светофильтры КУ-1, НС8-1 и НС8-4. Для каждого светофильтра три раза измерить значения коэффициента пропускания и занести в таблицу:

Светофильтр		Коэффициент пропускания, %	
		$\lambda = 600$ нм	$\lambda = 640$ нм
КУ-1	Эталон	93,7	94,3
	Измерения		
НС8-1	Эталон	46,4	46,5
	Измерения		
НС8-4	Эталон	7,6	7,9
	Измерения		

Закрыть шторку 22.

Повторить измерения на длине волны 640 нм.

Сравнить полученные значения τ с эталонными и оценить точностные характеристики спектрофотометра.

Задание 3. Измерить спектр поглощения красителя эозина в видимой части спектра и ароматической аминокислоты в ультрафиолетовой области.

По описанной выше методике измерить спектр поглощения эозина в видимой части спектра (450-650 нм) с шагом 20 нм. Результаты занести в таблицу:

Номер измерения	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
λ , нм											
τ , %											
D, отн. ед.											

Построить в тетради спектр поглощения эозина в координатах: оптическая плотность D (отн. ед.) – длина волны (нм).

По описанной выше методике измерить спектр поглощения ароматической аминокислоты в ультрафиолетовой области спектра (240-310 нм) с шагом 10 нм. Для этого установить переключатель источников света в положение «Д», переключатель 25 фотоэлементов в положение «Ф». Результаты занести в таблицу:

Номер измерения	1	2	3	4	5	6	7	8
λ , нм								
τ , %								
D , отн. ед.								

Построить в тетради спектр поглощения ароматической кислоты в координатах: оптическая плотность D (отн. ед.) λ – длина волны (нм).

Провести анализ исследованного вещества, то есть определить исследованную ароматическую аминокислоту (качественный анализ) и ее концентрацию (количественный анализ), используя спектральные свойства ароматических кислот:

Аминокислоты	Молярный коэффициент поглощения ϵ_{λ} , л/моль · см	λ максимума, нм
Фенилапанин	180	257
Тирозин	1380	275
Триптофан	5600	279,5

При определении молярной концентрации c вещества по формуле (3), используя измеренную величину оптической плотности D , учесть, что толщина 1 см.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 3

Определение концентрации веществ в растворе с помощью фотоэлектроколориметра

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

Цель работы:

1. Изучить законы поглощения света как теоретическую основу спектрофотометрии.

2. Понимать принципы применения фотоколориметрии в биологии, медицине и фармации.

3. Выработать умение измерять концентрации веществ с помощью фотоэлектроколориметра.

Подготовка к работе

Изучить следующие вопросы:

1. Спектр поглощения вещества.

2. Вывод закона Бугера. Закон Бугера-Ламберта-Бера. Физический смысл всех входящих в него величин.

3. Коэффициент пропускания вещества, оптическая плотность образца. Связь между этими величинами. Размерности величин, входящих в формулы для коэффициента пропускания и оптической плотности.

4. Принципиальная схема фотоэлектроколориметра, назначение отдельных блоков.

5. Оптическая схема фотоэлектроколориметра, ход лучей в нем, способ изменения длины волны, место расположения исследуемого образца.

6. Примеры применения абсорбционной фотоэлектроколориметрии в медицине и фармации.

7. Ход работы и способ обработки результатов.

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

При прохождении через вещество свет поглощается. Рассмотрим слой толщины l , в котором в концентрации c находится вещество, поглощающее свет. В этом случае, согласно закону Бугера-Ламберта-Бера, интенсивность I света, прошедшего через слой, и интенсивность I_0 света, падающего на него, связаны соотношением:

$$I = I_0 e^{-kcl}, \quad (1)$$

где $e \approx 2,72$ – основание натуральных логарифмов, k – коэффициент пропорциональности, характерный для данного вещества и для данной длины волны. Для практических приложений закон (1) записывается в виде:

$$I = I_0 10^{-\varepsilon cl}, \quad (2)$$

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

$$D = \varepsilon_\lambda cl. \quad (3)$$

Как видно из формул (1) и (2), измерив отношение интенсивностей падающего и прошедшего света и зная величину ε_λ можно определить концентрацию c вещества.

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

$$\tau = I / I_0. \quad (4)$$

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

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

$$D = \lg(I_0/I) = \lg(1/\tau). \quad (5)$$

Как видно из формулы (5), когда коэффициент пропускания τ падает от 100% до 0%, оптическая плотность D соответственно растет от 0 до ∞ . Используются следующие единицы измерений τ и D – безразмерные величины; концентрация поглощающего вещества $[c]$ = моль/л; $[l]$ = см; $[\varepsilon_\lambda]$ = л/моль • см.

Спектром поглощения называют зависимость молярного коэффициента поглощения ε_λ от длины волны λ . Спектры поглощения можно измерять различными приборами. В видимом диапазоне (380-760 нм) спектр поглощения определяет цвет вещества, поэтому прибор для измерения спектров называется колориметром (от латинского *color* – цвет). Современные колориметры позволяют производить измерения в более широком спектральном диапазоне от ультрафиолета до ближнего инфракрасного (315-980 нм).

Примеры применения фотоэлектроколориметра в биологии, медицине и фармации:

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

Принципиальная оптическая схема фотоэлектроколориметра.

Термин «фотоэлектроколориметр» означает, что это прибор для измерения цвета («колориметр»), в котором оптическое излучение («фото») преобразуется в электрический сигнал («электро»). Фотоэлектроколориметр состоит из следующих основных блоков (рис. 1): источника света (И),

светофильтров (СФ), двух кювет – К1 – кюветы сравнения, заполненной растворителем, и К2 – кюветы для исследуемого раствора, полупрозрачного зеркала (3), расщепляющего прошедший пучок света на два фотоэлемента (Ф1) и (Ф2).

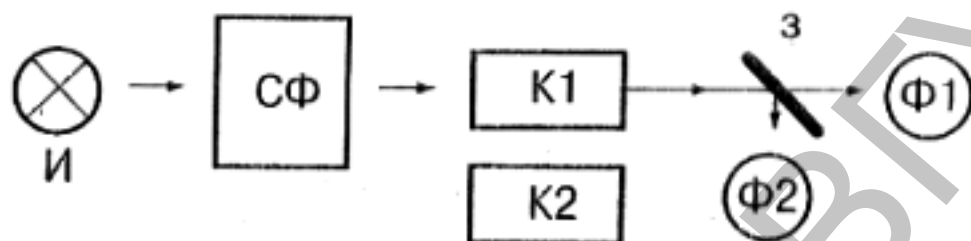


Рис. 1. Принципиальная оптическая схема фотоэлектроколориметра

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

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

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

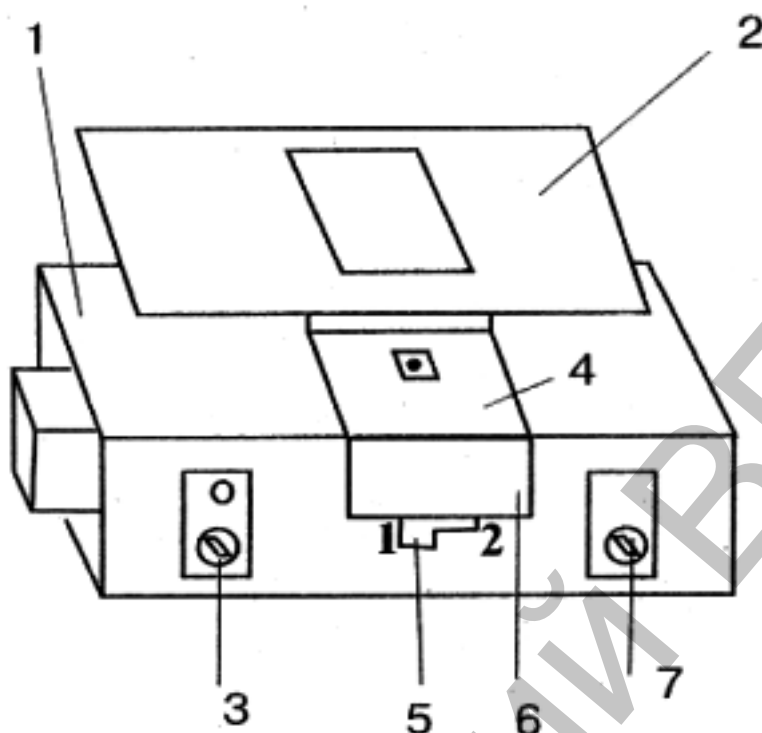


Рис. 2. Блок-схема колориметра КФК-2МП

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

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

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

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

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

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

Клавиши «K(1)», «τ(2)», «D(5)», «C(4)» предназначены для выполнения калибровки прибора, то есть установки 100%-го пропускания, измерений коэффициента пропускания, оптической плотности исследуемого вещества, концентрации вещества в растворе.

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

Световые потоки F_0 , F фотоприемниками преобразуются в электрические сигналы U_0 и U , которые обрабатываются микроЭВМ колориметра. Результаты представляются на цифровом табло в виде коэффициента пропускания, оптической плотности, концентрации, активности.

С помощью микроЭВМ рассчитывается коэффициент пропускания исследуемого раствора по формуле:

$$\tau = \frac{(U - U_T)}{U_0 - U_T},$$

где U_T – величина темнового сигнала при перекрытом световом потоке.

Оптическая плотность исследуемого раствора рассчитывается по формуле:

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

Измерение концентрации исследуемого раствора на колориметре возможно при соблюдении основного закона светопоглощения, закона Бугера-Ламберта-Бера, то есть при линейной зависимости оптической плотности D_i исследуемого раствора от концентрации c_i .

Концентрация исследуемого раствора рассчитывается по формулам:

$$D_i = c + bc_i,$$

где c , b – коэффициенты, определяемые по градуировочной характеристике.

Выполнение работы

Внимание: 1. Микропроцессорная система (МПС), как и любая ЭВМ, работает строго по программе. При выполнении команд описания типа «открыть крышку» или «закрыть крышку» срабатывают специальные микропереключатели, которые включают нужные разделы программы, поэтому обращайте внимание на точное выполнение подобных команд. Микропроцессорная система (МПС) представляет собой универсальное устройство, с этим связано использование двойных обозначений для каждого параметра: буквенного и цифрового.

Задание 1. Провести метрологическую проверку колориметра.

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

Нажать клавишу «пуск» – на цифровом табло появляется мигающая запятая и горит индикатор «Р».

Если запятая не появилась – повторно нажать клавишу «пуск».

Выдержать колориметр во включенном состоянии в течение 5 минут при открытой крышке кюветного отделения.

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

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

2. Крышку кюветного отделения закрыть и открыть. По истечении 5 с нажать клавишу «Ш (0)». На цифровом табло справа от мигающей запятой высвечивается значение нулевого отсчета n_0 , а слева – символ «О». Значение n_0 должно быть не менее 0,001 и не более 1,000.

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

Для этого ручкой 3 установить светофильтр 540 нм; ручкой 6 установить соответствующий фотоприемник «315-540». Закрыть крышку кюветного отделения. Выждать 1 минуту для выдерживания фотоприемника в освещенном состоянии (время выдерживания удлиняют до 5 минут после длительного, более 5 минут, нахождения колориметра при открытой крышке кюветного отделения). Нажать клавишу «К(1)». На цифровом табло слева от мигающей запятой загорается символ «1». Установить контрольный светофильтр К-1 во входное окно кюветного отделения. Закрыть крышку. Выждать 1 минуту. Нажать клавишу «τ(2)». На цифровом табло слева от мигающей запятой появится символ «2», справа – отсчет коэффициента пропускания. Записать данные в таблицу и сравнить с паспортными данными.

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

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

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

Задание 2. В режиме одиночных измерений (горящий индикатор «Р») произвести определение длины волны максимума поглощения исследуемого вещества.

Для этого:

1. Заполнить первую кювету растворителем (до метки), вторую кювету (до метки) раствором с известной наименьшей концентрацией, открыть крышку кюветного отделения, поместить кюветы в кюветодержатель: растворитель в дальнее от оператора гнездо держателя (положение 1), раствор – в ближнее (положение 2). Держатель с кюветами устанавливают в кюветное отделение на столик так, чтобы две маленькие пружины находились с передней стороны кюветодержателя.

Внимание:

а) Кюветы следует удерживать руками только за верхние, выше метки, нерабочие поверхности.

Кюветы следует заполнять жидкостью до метки.

Рабочие поверхности кювет перед каждым опытом следует тщательно протирать сухой чистой тканью, или тканью, смоченной спирто-эфирной смесью.

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

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

2. Крышку кюветного отделения закрыть и открыть. По истечении 5 с нажатием клавиши «Ш (0)» произвести проверку «нулевого отсчета».

3. Ручку 5 перевести в положение «1». Закрыть крышку кюветного отделения. Выждать 1 минуту, нажав клавишу «К (1)». На цифровом табло слева от мигающей запятой загорается символ «1».

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

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

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

Ручкой 3 установить светофильтр 590 нм. Ручкой 7 установить соответствующий фотоприемник «590-980». Провести измерение оптической плотности, далее аналогично для светофильтров 670 нм, 750 нм. Результаты

записать в вышеуказанную таблицу. Определить длину волны, соответствующую максимуму поглощения

$$\lambda_{\text{max погл.}} =$$

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

Для этого:

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

Ручкой 3 установить светофильтр, соответствующий длине волны максимума поглощения.

Ручкой 7 установить соответствующий фотоприемник.

2. Крышку кюветного отделения закрыть и открыть. По истечении 5 с нажатием клавиши «Ш (0)» произвести проверку «нулевого отсчета».

3. Ручку 5 перевести в положение «1». Заккрыть крышку кюветного отделения. Выждать 1 минуту, нажав клавишу «К (1)». На цифровом табло слева от мигающей запятой загорается символ «1».

Ручку 5 перевести в положение «2». Нажать клавишу «D (5)». На цифровом табло слева от мигающей запятой появится символ «5», справа – отсчет оптической плотности. Результаты записать в таблицу:

с, %			
D, отн. ед.			

Аналогично провести измерения оптических плотностей всех растворов известной концентрации. Результаты записать в таблицу.

По значениям оптической плотности для раствора известных концентраций построить градуировочный график (рис. 3).

По градуировочному графику определить коэффициенты «с» и «b». $c = D_0$ значение оптической плотности при $c = 0$, то есть при пересечении градуировочного графика с осью оптической плотности D:

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

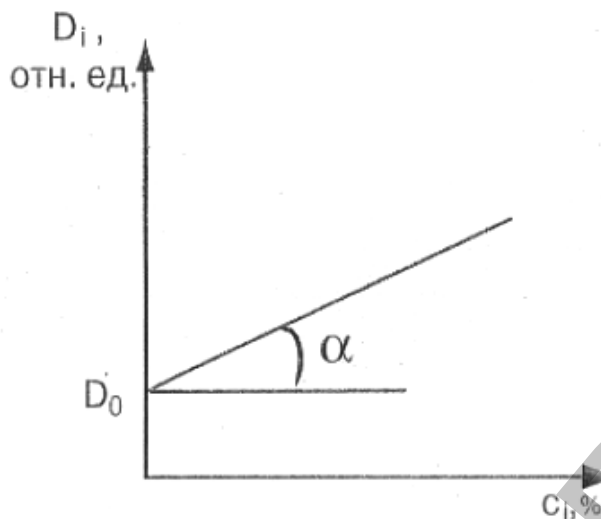


Рис. 3. Градуировочный график

Где α – угол между градуировочной прямой и осью концентраций c_i , (c_i ; D_i) – координаты какой-либо точки градуировочного графика.

Ввести в память вычислительного блока коэффициенты «с» и «b». Для этого нажать клавиши «с» («b»), «сбр» – на цифровом табло слева от мигающей запятой высвечивается символ «с» («b»), набрать с помощью клавиатуры значение коэффициента «с» («b»). На цифровом табло справа от мигающей запятой высвечивается набранное значение коэффициента. Затем нажать клавишу УТВ – информация на цифровом табло исчезает.

4. Установить в ближнее гнездо кюветного отделения кювету с исследуемым раствором. Ручку 5 перевести в положение «1». Заккрыть крышку, нажать клавишу «К (1)». Ручку 5 перевести в положение «2». Нажать клавишу «С (4)». На цифровом табло слева от мигающей запятой появляется символ «4». Справа – значение концентрации c_x исследуемого раствора.

Записать результат в тетрадь:

$$C_x = \dots$$

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

По оси ординат откладывают отрезок ΔD , равный единице последнего значащего порядка D_i . Перпендикулярами к оси ординат переносят отрезок на градуировочную прямую, а с нее перпендикулярами к оси абсцисс на ось абсцисс. Выделенный отрезок и определяет величину Δc_x . Для удобства перенесений, учитывая линейную связь D_i и c_i можно увеличить величину откладываемого по оси ординат отрезка ΔD в десять раз, тогда для определения абсолютной погрешности Δc_x , величину полученного отрезка на оси абсцисс следует уменьшить в десять раз. Окончательно представить результат в виде:

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

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 4
Использование поляриметрии
для определения концентрации оптически активных веществ

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

Цель работы:

1. Изучить явления поляризации света и оптической активности.
2. Изучить устройство поляриметра и научиться работать с ним.
3. Приобрести начальные умения в определении концентрации оптически активных веществ с помощью поляриметра.

Подготовка к работе

Изучить следующие вопросы:

1. Свет как электромагнитная волна. Вектора скорости распространения волны c , напряженности электрического поля E , напряженности магнитного поля H . Их взаимная ориентация в плоской волне.
2. Свет естественный и поляризованный.
3. Получение поляризованного света (поляроидная пленка).
4. Вращение плоскости поляризации асимметричными молекулами. Оптически активные вещества. Право- и левовращающие вещества.
5. Закон Малюса. Его физический смысл.
6. Формула для угла поворота плоскости поляризации оптически активным веществом. Физический смысл всех величин и единицы измерения.
7. Схема поляриметра, основные части, их назначение.
8. Применение поляриметрии в биологии, фармации и медицине.

Теоретические сведения

Свет представляет собой электромагнитную волну. Она распространяется вдоль вектора скорости распространения волны c , абсолютная величина которого равна скорости света в данной среде. Электромагнитная волна характеризуется напряженностями слагающих ее электрического поля (E) и магнитного поля (H). В плоской волне все три вектора взаимно перпендикулярны (рис. 1). Поскольку вектора E и H перпендикулярны направлению распространения, электромагнитные волны (и соответственно, свет) являются поперечными.

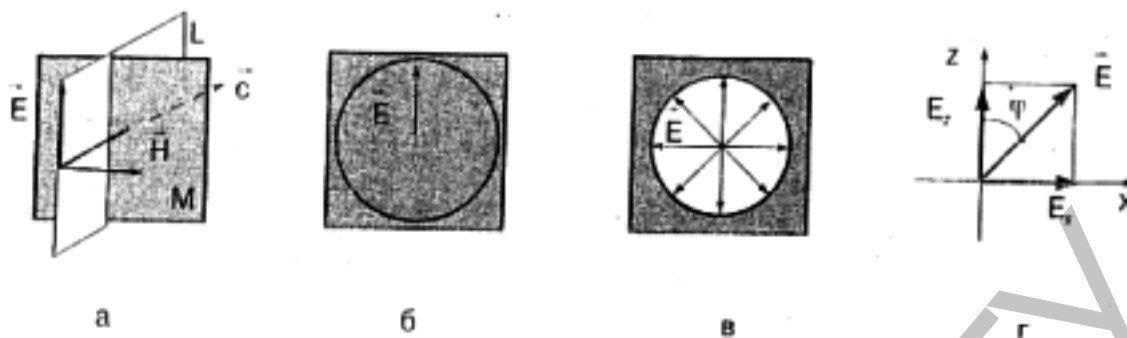


Рис. 1. Взаимная ориентация векторов s , E и H в плоской волне:
 L – плоскость поляризации (а). Проекция вектора напряженности электрического поля E на плоскость M , перпендикулярную L , для плоскополяризованного света (б).
 То же для естественного света (в). Проекция вектора напряженности электрического поля E на оси x и z : E_x и E_z (г)

Плоскость L , проходящую через вектор напряженности электрического поля E и вектор скорости распространения волны s , называют плоскостью поляризации. Волна, у которой вектор напряженности электрического поля E лежит в одной плоскости (плоскости поляризации), называют плоскополяризованной (рис. 1). Ряд веществ обладает разными оптическими свойствами для разных поляризаций, так например, свет с одной поляризацией проходит почти полностью, а с прочими – сильно поглощается. Такими свойствами обладает так называемая поляроидная пленка.

Если через такую пленку (назовем ее «анализатор») рассматривать естественный свет, который излучает Солнце или ряд других источников света, то при любом повороте такой пленки в плоскости, перпендикулярной лучу, интенсивность проходящего света не изменяется. Если же на пути этого луча предварительно поставить еще одну такую пленку (ее называют «поляризатор») и повторить эксперимент, то окажется, что дважды за период вращения анализатора измеряемая интенсивность I света меняется от нуля до максимального значения I_0 и подчиняется закону Малюса:

$$I = I_0 \cos^2 \varphi,$$

где φ – угол вращения, отсчитываемый от положения с максимальной интенсивностью света. Таким образом, поляризатор – это устройство, которое из естественного света делает поляризованный.

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

Механизм действия поляризатора состоит в следующем. Реальные электромагнитные волны есть сумма волн, излученных отдельными атомами. В естественном свете, который излучает Солнце и ряд других источников в данном направлении, если смотреть навстречу лучу, то у каж-

дой волны вектор напряженности электрического поля E лежит в своей плоскости. Пусть поляризатор пропускает только свет, у которого плоскость поляризации совпадает с осью z . Тогда вектор E с амплитудой E_0 можно представить как сумму двух векторов – его проекций на ось x – E_x и на ось z – $E_z = E_0 \cos \varphi$. Из них сквозь поляризатор пройдет только вторая. Поскольку интенсивность I пропорциональна квадрату напряженности поля, возведя E_z в квадрат, получим закон Малюса.

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

$$\alpha = [\alpha_0]_D c l / 100,$$

где $[\alpha_0]_D$ – удельное вращение. В этой формуле концентрация c измеряется в единицах г/100 мл раствора; толщина слоя l – в дм. Соответственно, величина $[\alpha_0]_D$ имеет размерность: град/((г/100 мл р-ра) • дм). Нижний индекс D в ее обозначении указывает, что эта величина измерена на длине волны 589 нм, соответствующей оранжевому излучению D-линии натрия. Указание на длину волны связано с тем, что величина удельного вращения на длине волны λ , $[\alpha_0]_D \sim 1/\lambda^2$. Используя формулу (2), можно определить концентрацию c :

$$c = 100\alpha / [\alpha_0]_D l.$$

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

Вещества		Удельное вращение $[\alpha_0]_D, \frac{\text{град}}{(\text{г}/100\text{мл})\text{дм}}$
Правовращающие	d- глюкоза	52,5
	Сахароза	66,5
Левовращающие	d- фруктоза	-92,2

Применение поляриметрии в медицинских и биофизических исследованиях:

1. Измерение концентрации сахаров в растворах.
2. Измерение степени спиральности белков.
3. Исследование переходов спираль-клубок в биополимерах.
4. Контроль денатурации и ренатурации биополимеров под влиянием температуры и различных химических веществ.

Выполнение работы

Задание 1. Ознакомление с работой поляриметра СМ-3. Конструкция поляриметра схематично представлена на рис. 2.

В корпусе прибора (1) расположены источник света, светофильтр, поляризатор, фазовая пластинка. К нему крепится кюветное отделение (2) с поворачивающейся крышкой (3), через окуляр (4) наблюдается изображение полутеневого отсчета (рис. 3). Ручкой 5 поворачивают анализатор. Через линзы отсчетного устройства (6) рассматриваются шкалы (7) отсчетного устройства.

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

Нониус – это устройство, состоящее из двух расположенных рядом шкал и служащее для повышения точности отсчета. На рис. 2б показана схема отсчета по правой шкале – для левой отсчет производится аналогично. Первой шкалой является круговой лимб (8) (на рисунке показана его часть), второй шкалой является шкала нониуса (9). Отсчет показания анализатора производится следующим образом. Сначала находят число минимального количества градусов (с точностью до $0,5^\circ$), на которое указывает нуль нониуса – на рис. 2б – это $2,5^\circ$. Затем к этому значению прибавляют десятые и сотые доли градуса, соответствующие тому штриху нониуса, который точнее всего совпадает с каким-либо штрихом лимба, (вся шкала нониуса составляет $0,50^\circ$). Например, на рис. 2б таким делением на шкале нониуса является 20, то есть $0,20^\circ$. Таким образом, на рисунке положение анализатора характеризуется углом $\varphi = 2,5^\circ + 0,20^\circ$.

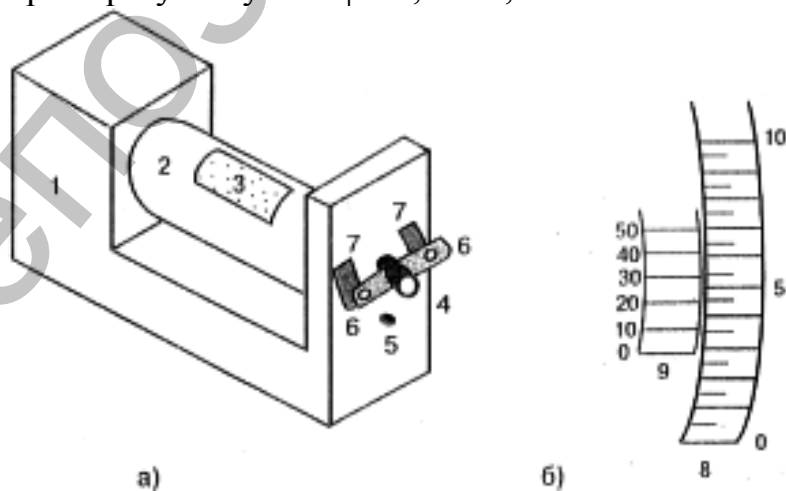


Рис. 2. Оптическая схема поляриметра СМ-3:

- а: 1 – корпус, 2 – кюветное отделение, 3 – крышка кюветного отделения, 4 – окуляр, 5 – вращающаяся рукоятка анализатора, 6 – линзы отсчетного устройства, 7 – шкалы отсчетного устройства; б – схема нониуса: 8 – лимб, 9 – шкала нониуса

Порядок работы на приборе:

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

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

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

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

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

6. Прделайте действия, записанные в пунктах 2-4, и по результатам трех измерений угла вращения φ_1 , φ_2 , φ_3 найдите среднее значение этой величины « φ », а также угол вращения плоскости поляризации раствором глюкозы $\alpha = \varphi - \varphi_0$. Данные занесите в таблицу.

Задание 2. Определение концентрации оптически активных веществ в растворе.

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

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

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

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

Нативная структура белка соответствует α -спирали. При температуре 35-40 °С происходит разрыв внутримолекулярных водородных связей и α -спиральная конформация разрушается. Тогда макромолекулу можно представить как статистический клубок. В конформации клубка макромолекулы белков и полипептидов не обладают пространственно упорядоченной вторичной структурой.

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

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

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

Кювету с желатином, выдержанным в течение 2-х часов при +6 - 8°C, поместите в поляриметр. Запишите отсчет по основной шкале и нониусу в таблицу:

	Отсчеты по основной шкале и нониусу
Начальная установка анализатора (без трубки с раствором)	1. 2. 3. Среднее $\varphi_0 =$
Установка анализатора при помещении в поляриметр трубки с раствором желатина при температуре около 6 °C $\varphi_1 = \varphi_1 - \varphi_0$	1. 2. 3. Среднее $\varphi_3 =$
Установка анализатора при помещении в поляриметр трубки с раствором желатина при температуре около 40° C $\varphi_2 = \varphi_2 - \varphi_0$	1. 2. 3. Среднее $\varphi_2 =$

Далее поместите кювету с исследуемым раствором в термостат с температурой +45 °C. После 20 минут нагревания кювету снова поместите в поляриметр и снимите отсчет по прибору. Результаты занесите в таблицу.

По полученным углам поворота рассчитайте удельное вращение раствора желатина при температурах около 6 °C и 40 °C, если $c = 1$ г/ 100 мл р-ра, $l = 2$ дм и сделайте вывод о наличии в интервале (6-45)°C конформационного превращения желатина.

Снова поместите кювету с желатином в холодильник. После 20-минутного охлаждения определите значение φ_3 , по которому рассчитайте угол вращения раствора желатина φ_3 , как указано выше. Сделайте вывод о процессе ренатурации, происходящем в растворе желатина.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 5

Лазер, его применение для оценки размеров эритроцитов

Лазером (или оптическим квантовым генератором) называется устройство, генерирующее когерентные электромагнитные волны за счет вынужденного испускания света активной средой, находящейся в резонаторе. Лазеры нашли применение в медицине, физиологии, биофизике. Их использование требует от врача понимания принципов работы лазера и знания основных свойств лазерного излучения.

В этой работе изучается принцип работы лазера, применение лазерного излучения для изучения явления дифракции света, использование лазерного излучения для оценки размеров клеток.

Цель работы:

1. Изучить принцип работы лазера и свойства лазерного излучения.
2. Понять сущность явления дифракции света и картину дифракции света на дифракционной решетке и клетках крови.
3. Определить размер эритроцита, используя явление дифракции лазерного излучения.

Подготовка к работе

Изучить следующие вопросы:

1. Схема лазера.
2. Индуцированное излучение.
3. Принцип работы лазера.
4. Основные характеристики лазерного излучения: длина волны, монохроматичность, зависимость интенсивности излучения от времени, когерентность, спектральная плотность излучения, расходимость излучения.
5. Явление дифракции света.
6. Ход лучей в дифракционной решетке и вывод формулы дифракционной решетки.
7. Дифракция света на круглом диске и на хаотически расположенных круглых отверстиях.
8. Применение лазерного излучения в медицине.

Лазер, как всякий генератор, состоит из трех элементов (рис. 1а): источника энергии (И), регулятора (Р), колебательной системы (КС), причем два последних соединены обратной связью (ОС). Источник энергии поставит ее в виде, удобном для переработки ее в лазерное излучение. В качестве колебательного устройства служат электронные переходы между энергетическими уровнями активной среды. Регулятором является система возбуждения энергетических уровней. Положительная обратная связь обеспечивает подкачку энергии в колебательную систему в нужной фазе колебаний.

Конструктивно схема лазера представлена на рис. 1б. Он включает в себя активную среду (А), два параллельных зеркала – «глухое» Z_1 с высоким коэффициентом отражения (около 100%) и полупрозрачное зеркало Z_2 ,

через которое излучение (показано символом $h\nu$) выходит из лазера наружу. Между схемами а и б имеется следующее соответствие. Источник И вводит энергию в активную среду (А) – этот путь показан стрелками – например, с помощью газового разряда или импульса света. Колебательной системой являются электронные переходы между энергетическими уровнями атомов, ионов, молекул или полупроводников, из которых состоит активная среда. Зеркала осуществляют обратную связь.

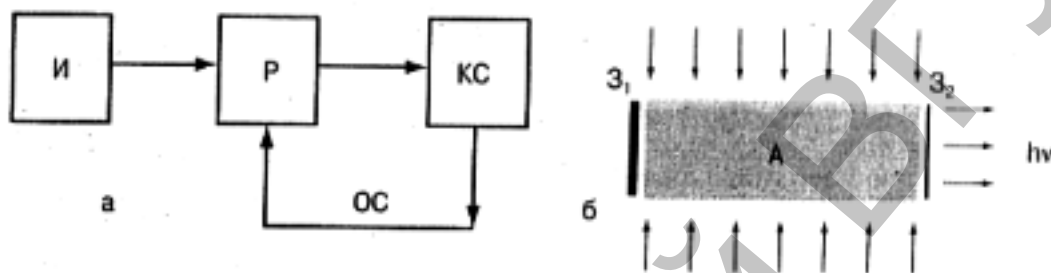


Рис. 1. Блок-схема лазера как автоколебательной системы (а) и его схематическое изображения (б):

а: И – источник энергии, Р – регулятор, КС – колебательная система, ОС – обратная связь;

б: Z_1 – «глухое зеркало», Z_2 – полупрозрачное зеркало, А – активная среда.

Точки – условные изображения атомов. Стрелки, направленные снаружи в активную среду, показывают пути ввода энергии от источника, $h\nu$ – условное изображение выходящего из лазера генерируемого излучения

Особенность лазера, как колебательной системы, заключается в том, что в отличие от простейших колебательных систем, например, часов с маятником, атомы, ионы и молекулы излучают электромагнитные волны в соответствии с законами квантовой механики. Если электрон в атоме может находиться на двух энергетических уровнях: нижнем с энергией E_1 и верхнем с энергией E_2 (рис. 2), то в соответствии с постулатами Бора квант света с энергией $h\nu$ излучается только при переходе электрона из возбужденного состояния (с верхнего уровня) в основное (на нижний уровень), и величина $h\nu = E_2 - E_1$. Поэтому излучение будет монохроматическим. Чем большее число квантов излучается в единицу времени, тем выше интенсивность излучения.

Чтобы заставить активную среду излучать, надо каким-то образом перевести возможно большее число атомов в возбужденное состояние. Для этой цели можно использовать газовый разряд, как это делается в газоразрядных трубках, используемых для рекламы. Полученное при разряде излучение будет монохроматическим. Однако, при этом каждый атом излучает независимо, отдельные акты излучения происходят несогласованно (рис. 2а). В результате электромагнитные поля, излучаемые различными точками этого источника, некогерентны, то есть имеют разные фазы, а излучение от этого источника распространяется во все стороны, как от обычной лампочки накаливания. Таким образом, существование только двух

элементов из трех (рис. 1а) – источника энергии и колебательной системы – не позволяет получить когерентное излучение.

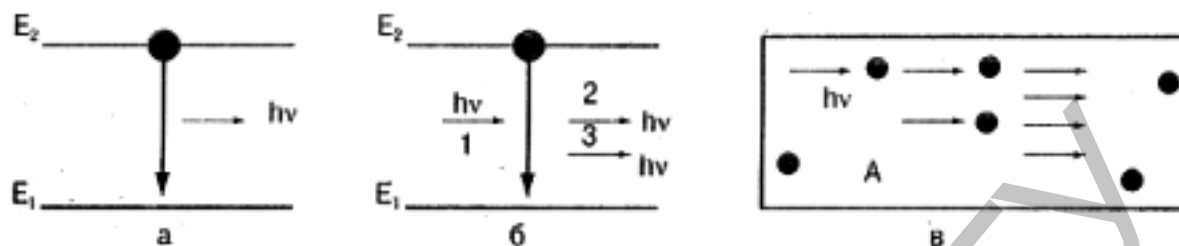


Рис. 2. Схемы спонтанного (самопроизвольного) (а) и вынужденного (индуцированного) излучения (б) в двухуровневой системе:

E_2 – энергия верхнего уровня, E_1 – нижнего. Соотношение $h\nu = E_2 - E_1$ выполняется для всех квантов, изображенных на рис.: а – спонтанное излучение кванта атомом, находящимся на верхнем энергетическом уровне (местонахождение электрона показано кружком); б – индуцированное излучение фотоном (1), действующим на возбужденный атом; 2 – тот же фотон после взаимодействия с атомом; 3 – фотон, излученный при электронном переходе; в – формирование «лавины» фотонов в активной среде А в результате индуцированного излучения возбужденными атомами (кружки)

Для того, чтобы получить такое излучение, должен быть задействован регулятор и обратная связь между атомами: излучение одного из них должно влиять на излучение других. Это оказалось возможным при использовании явления индуцированного излучения. Оно состоит в том, что вероятность перехода с верхнего энергетического уровня E_2 на нижний E_1 возрастает, если на атом действует электромагнитное излучение, частота которого равна частоте, которая излучается при спонтанном переходе с верхнего уровня на нижний. Схематически это показано на рис. 2б. Если на атом до перехода действует фотон 1, то вследствие электронного перехода появляется новый фотон 3, при этом фотон 1 не изменился (его обозначим фотон 2). Особенность возникающего индуцированного излучения состоит в том, что свойства излученного фотона 3 тождественны свойствам фотона 1, вызвавшего индуцированное излучение, то есть он имеет ту же частоту, направление поляризации и фазу. Если в активной среде А находится много возбужденных атомов, то проход одного фотона способен, в принципе, вызвать «лаvinу» фотонов вследствие индуцированного излучения (рис. 2в): при каждом взаимодействии фотона с возбужденным атомом вместо одного фотона возникает два одинаковых фотона. Таким образом, возникает когерентное излучение.

На самом деле каждый фотон не сильно увеличивает вероятность излучения. Ее можно увеличить, если не давать фотонам уходить в окружающую среду, а заставить их многократно проходить через активную среду. Для этого используют два зеркала Z_1 и Z_2 (рис. 1б). Излученные фотоны отражаются от них и повторно воздействуют на возбужденные атомы. Таким образом, зеркала осуществляют положительную обратную связь: излучение одного атома увеличивает вероятность излучения других.

Если не использовать специальную конструкцию лазера, количество атомов в возбужденном состоянии будет ничтожно. Рассмотрим два энергетических уровня с разностью энергий $E_2 - E_1$. Тогда в условиях теплового равновесия согласно закону Больцмана отношение населенностей – количества атомов N_2 , находящихся на верхнем уровне, к таковому N_1 на нижнем уровне – относится как $N_2/N_1 = e^{-(E_2-E_1)/kT}$, где k – постоянная Больцмана, $T \approx 300$ К абсолютная температура. Если взять разность энергий, соответствующую излучению гелий-неонового лазера (длина волны $\lambda = 632,8$ нм), то при комнатной температуре величина $(E_2 - E_1) / kT = hc / \lambda kT \approx 76$. Соответственно отношение населенностей – это ничтожная величина порядка 10^{-33} , то есть $N_2 \ll N_1$ (рис. 3а).

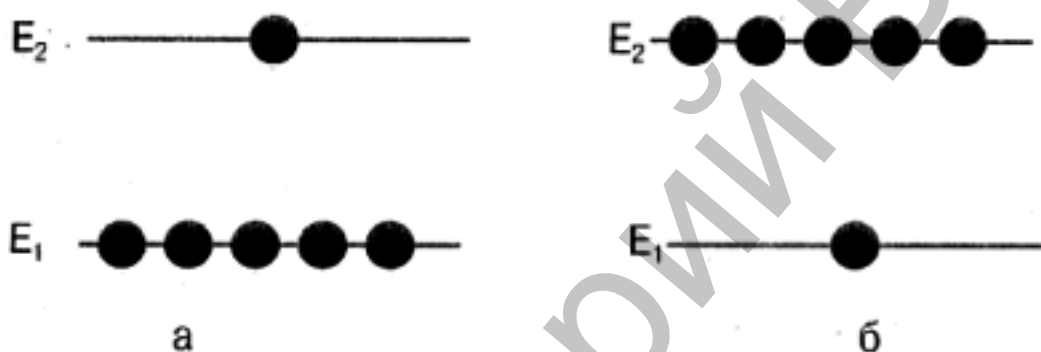


Рис. 3. Нормальная (а) и инверсная (б) заселенность двух энергетических уровней с энергией E_2 и энергией E_1 :

- а – На нижнем уровне атомов больше, чем на верхнем, $N_2 \ll N_1$;
- б – На верхнем уровне атомов больше, чем на нижнем, $N_2 > N_1$

Как следует из квантовой теории, вероятность кванта индуцировать излучение с верхнего уровня, или поглотиться на нижнем уровне, переводя атом в возбужденное состояние, одинаковы. Поэтому для работы лазера нужно резко увеличить концентрацию возбужденных атомов вещества. Это достигается выбором такой активной среды, чтобы в ней можно было создать инверсную населенность.

Инверсной населенностью называется состояние активной среды, при котором в возбужденном состоянии находится больше атомов, чем в основном $N_2 > N_1$ (рис. 3б). Чтобы его достичь, используют метастабильные состояния атомов. Метастабильными состояниями называют уровни энергии, в которых атом может находиться в течение длительного по атомным масштабам промежутка времени. Существование долгоживущих состояний находит свое объяснение в квантовой теории. Обычно время жизни возбужденного состояния составляет $10^{-9} - 10^{-8}$ с, а в метастабильном – оно увеличивается до 10^{-3} с. Из-за большого времени жизни метастабильных состояний удается накопить в возбужденном состоянии много атомов.

Основная часть работы проводится с помощью гелий-неонового лазера или с помощью полупроводникового лазера.

Гелий-неоновый лазер испускает красный свет с длиной волны 632,8 нм и устроен в соответствии с рис 1б. Активную среду образует смесь атомов гелия и неона, помещенная в газоразрядную трубку. Источником энергии служит газовый разряд. На рис. 4 приведена упрощенная схема возбужденных уровней энергии гелия и неона. Атомы гелия служат для преобразования энергии источника энергии в возбуждение атомов – переход с основного уровня на возбужденный показан прямой стрелкой. Возбужденные атомы гелия находятся в метастабильном долгоживущем состоянии и при столкновениях передают энергию возбуждения атомам неона (волнистая стрелка). Переход, показанный наклонной прямой стрелкой, с верхнего возбужденного уровня атома неона на промежуточный и дает квант лазерного излучения с длиной волны 632 нм. Это излучение является индуцированным, его интенсивность определяют кванты этого излучения, существующие в лазере. Зеркала способствуют тому, что излучение за счет многократного прохода через активную среду осуществляет сильную положительную обратную связь, вызывая появление новых квантов излучения. Последующий переход атома неона в основное состояние (наклонная волнистая стрелка) не дает лазерного излучения.

Полупроводниковый лазер также испускает красный свет с длиной волны близкой к той, которую дает гелий-неоновый лазер. Уровни энергии, между которыми происходит переход, являются уровнями энергии кристалла. Энергию в лазер подкачивают, пропуская через границу двух полупроводников сильный электрический ток. Зеркала можно и не использовать, т.к. излучение сильно отражается от граней кристалла. Эти лазеры отличаются высокой компактностью – размер кристалла порядка 1 мм – и высоким коэффициентом полезного действия (до 70%; для сравнения: у прочих лазеров КПД составляет единицы и доли процента).

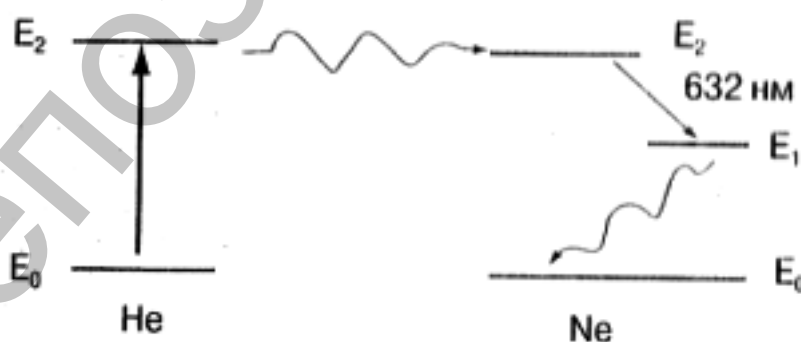


Рис. 4. Гелий-неоновый лазер.

Упрощенная схема возбужденных уровней энергии гелия и неона. Прямая стрелка вверх – возбуждение гелия газовым разрядом, горизонтальная волнистая стрелка – безизлучательная передача энергии возбуждения от гелия к неону, наклонная прямая стрелка – излучение атомами неона с длиной волны 632,8 нм, волнистая стрелка вниз – дальнейшая релаксация энергии с возбужденного уровня

Основные характеристики лазерного излучения. Длина волны зависит от состава активной среды и может находиться в пределах от ультрафиолетового излучения (220 нм) до инфракрасного (10 мкм). *Монохроматичностью* излучения называют его характеристику, показывающую в какой степени излучение представляет собой излучение одной определенной и строго постоянной частоты. Ее мерой является отношение $\Delta\lambda/\lambda$ ширины диапазона излученных волн $\Delta\lambda$ к среднему значению λ . Для лазеров монохроматичность излучения высока, и эта величина составляет около 10^{-5} . Для сравнения у черного тела – немонохроматического источника, испускающего волны самой разной длины, соответствующая величина порядка 1.

В зависимости от интенсивности излучения и его зависимости от времени лазеры делятся на *непрерывные* и *импульсные*. У первых в активную среду энергия подается непрерывно, и мощность лазерного излучения постоянна во времени. Таков, например, гелий-неоновый лазер. У импульсных лазеров энергию подают короткими порциями, например, освещают лампой-вспышкой в течение 1 мс. В ответ они выдают короткие импульсы излучения длительностью от десятков микросекунд (10^{-6} с) до нескольких наносекунд (10^{-9} с). В таблице приведены параметры трех лазеров, излучающих красный свет:

Тип лазера	Активная среда	Длина волны, нм	Длительность импульсов, τ	Частота повторения, Гц	Мощность, Р, Вт	Энергия импульса, W, Дж
Непрерывный	He-Ne	632,8			$(1-50)10^{-3}$	
Импульсный	Рубин	694	1 мс	$10^{-3}-1$	10^5-10^6	10^2-10^3
Импульсный	Рубин	694	20 с	1	10^6-10^9	0,02-20
* – режим получения коротких импульсов. В современных биофизических исследованиях используются еще более короткие импульсы: от пикосекунд (10^{-12} с) до фемтосекунд (10^{-15} с)						

Мощность Р непрерывных лазеров невелика – несколько мВт. У импульсных лазеров мощность излучения в импульсе $P = W/\tau$ намного порядков выше за счет того, что вся энергия W излучается за короткое время τ . Средняя же мощность лазерного излучения за все время действия лазера сравнительно мала, например, в режиме получения коротких импульсов при частоте повторения 1 Гц и энергии одного импульса 0,02–20 Дж она не превосходит мощности очень слабой электрической лампочки (25 Вт).

Когерентностью называют согласованное во времени и в пространстве протекание нескольких колебательных или волновых процессов. Лазерное излучение обладает высокой когерентностью за счет явления вынужденного излучения. Излучение, создаваемое отдельными точками активной среды, имеет сдвиги фазы, соответствующие распространению одной плоской электромагнитной волны, так что из лазера выходит электро-

магнитная волна с постоянной фазой и амплитудой. Для сравнения рассмотрим свет, излучаемый газоразрядной трубкой лазера, когда зеркала убраны и нет лазерной генерации. В этом случае каждый атом излучает независимо, фазы излучения разных атомов распределены хаотично. При сложении таких колебаний амплитуда суммарной световой волны не остается постоянной во времени, а хаотически меняется от нуля до некоторого значения.

Спектральной плотностью излучения называют отношение мощности P излучения к ширине диапазона излученных волн $\Delta\lambda$. Поскольку у лазерного излучения величина $\Delta\lambda$ чрезвычайно мала, спектральная плотность лазерного излучения очень велика. Для сравнения, если в качестве источника использовать нагретое черное тело, мощность излучения которого пропорциональна его площади, то для достижения таких же параметров излучения, как у лазера, пришлось бы брать тело очень больших размеров.

Расходимость излучения – это параметр, показывающий в каком телесном угле распространяется излучение данного источника. От лампы накаливания, например, излучение распространяется во все стороны (в телесном угле 4π ; радиан). Лазерное излучение распространяется в пределах узкого конуса – расходимость лазерного излучения в 1000-10000 раз меньше. Лазерное излучение применяется в хирургии для бескровного разреза сильно кровоточащих тканей (печень, легкие). Излучение подводится через световод. Разрез производится за счет испарения тканей в зоне нагрева; за счет тепловой денатурации («сваривания») тканей, из которых состоят стенки кровеносных капилляров, они закупориваются, и предотвращается кровотечение.

В офтальмологии лазерное излучение используется для приваривания отслоившейся сетчатки. При глаукоме – повышении давления внутриглазной жидкости – с помощью лазера пробивают отверстия диаметром 50-100 мкм для ее оттока. В терапии используют наружное или внутреннее облучение больного органа низкоинтенсивным лазерным излучением (лазерная физио- и рефлексотерапия).

Поскольку лазерное излучение обладает высокой когерентностью и монохроматичностью, можно считать, что лазер является источником плоской электромагнитной волны. С его помощью можно легко наблюдать явления, обусловленные волновой природой света, в частности, дифракцию. Дифракцией называют огибание волнами препятствий. Для ее наблюдения используется следующая схема (рис. 5а). Луч лазера освещает исследуемый объект (дифракционную решетку, мазок крови и т.п.). Дифракционную картину, состоящую из линейки ярких пятен, наблюдают на экране, расположенном перпендикулярно лазерному лучу на расстоянии l от объекта.

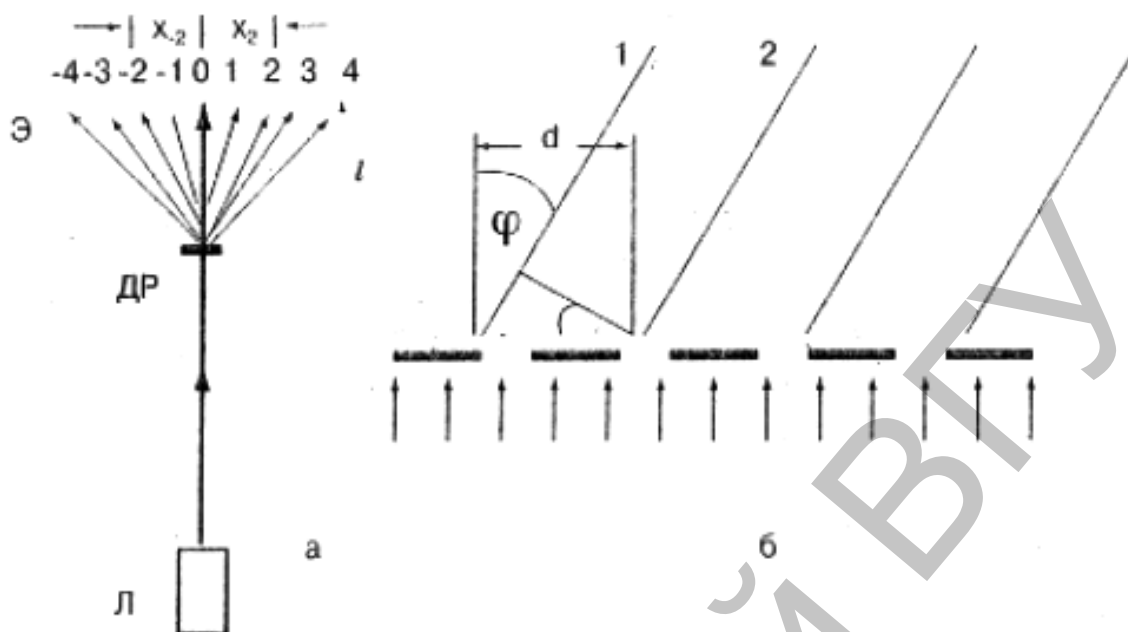


Рис. 5. Дифракция света:

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

Дифракционная решетка представляет собой совокупность одинаковых параллельных непрозрачных полосок (штрихов), разделенных прозрачными полосками. Эта структура повторяется с периодом d – постоянной решетки (это малая величина порядка размеров клеток). При освещении решетки соседние прозрачные полоски становятся вторичными источниками света. Часть света просто проходит сквозь решетку по пути распространения лазерного луча и образует на экране яркий дифракционный максимум нулевого порядка (цифра 0 у экрана – рис. 5а). Излучение, испускаемое полосками почти по всем остальным направлениям, имеет разные сдвиги фазы и суммируясь на экране, взаимно погашается, давая нуль. Однако, по некоторым избранным направлениям, излучение, испускаемое соседними полосками, имеет сдвиг фазы кратный 2π , то есть равный целому числу волн. Такое излучение складывается на экране, давая яркие пятна, а зависимость интенсивности от расстояния от центра пучка имеет резкие максимумы (рис. 6а).

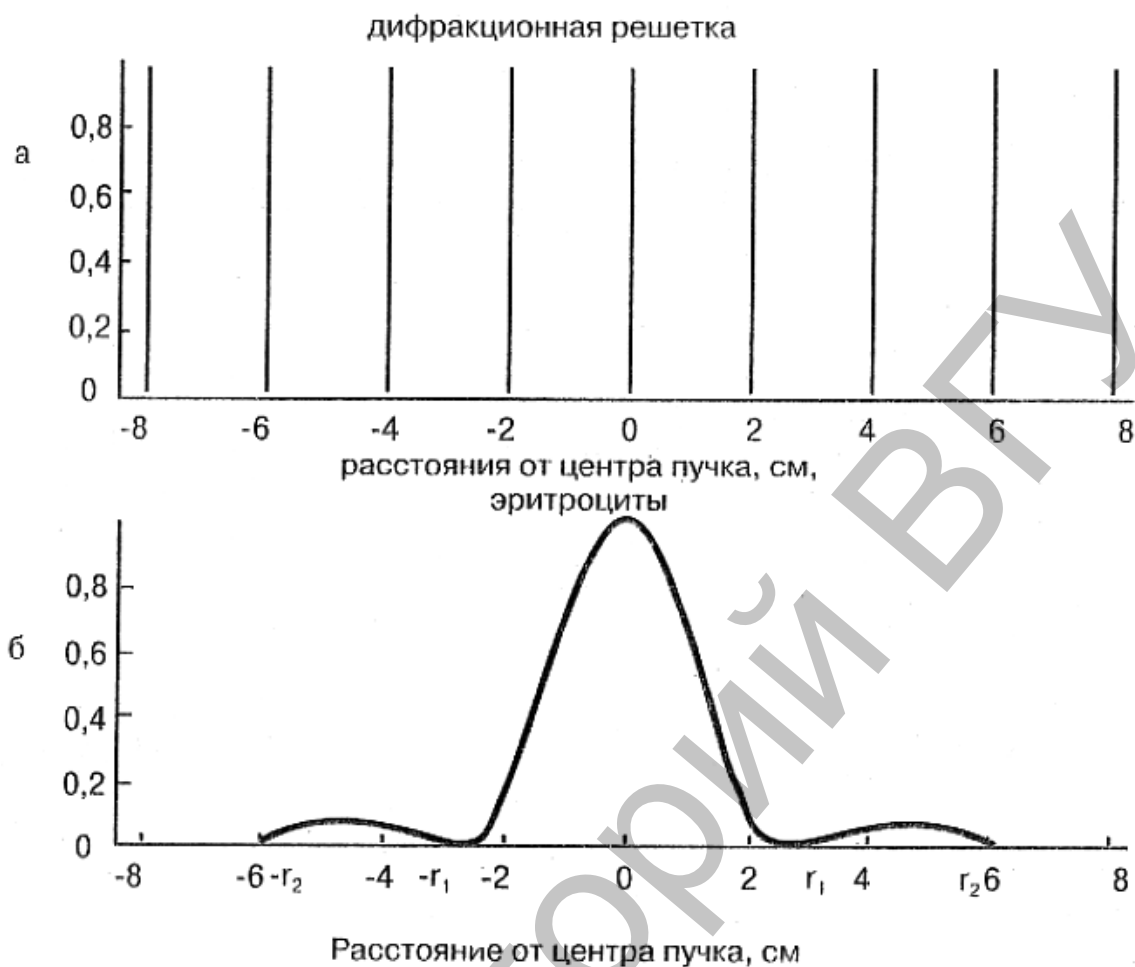


Рис. 6. Интенсивность дифракционной картины, создаваемой дифракционной решеткой (а) и мазком эритроцитов (б): а – дифракция от решетки, штрихи которой ориентированы вертикально; б – дифракция от мазка эритроцитов. Обе картины наблюдаются на экране, расположенном на расстоянии 30 см от решетки

Вывод основного уравнения дифракции очевиден из рис. 5б. Разность хода лучей 1 и 2, $d \sin \varphi$, должна равняться целому числу длин волн $m\lambda$, где $m=0; \pm 1; \pm 2$ и т.д. – порядок дифракции, а именно: $d \sin \varphi = m\lambda$. Т.к. угол φ мал, то вместо этого уравнения можно записать:

$$dx_m/l = m\lambda$$

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

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

фракционная картина имеет вид чередующихся светлых и темных концентрических колец с ярким пятном – нулевым максимумом в центре. Распределение интенсивностей вдоль диаметра этих колец представлено на рис. 6б. Если число эритроцитов на мазке велико, и они расположены случайным образом друг относительно друга, то картина не изменяется.

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

$$\sin\varphi = 1,22\lambda/D; \sin\varphi_2 = 2,23\lambda/D$$

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

$$\sin\varphi_m = \frac{r_m}{\sqrt{r_m^2 + l^2}},$$

где l – расстояние от образца до экрана.

Задание 1. Изучение дифракции лазерного излучения на дифракционной решетке. Определение длины волны излучения.

Установите дифракционную решетку на оптической скамье перпендикулярно лазерному лучу. На расстоянии $l \sim 30$ см от решетки расположите экран. Измерьте это расстояние точно.

Зарисуйте наблюдаемую дифракционную картину.

Измерьте расстояния x_m – от нулевого максимума до максимумов m -го и $-m$ -го порядков по три раза для каждого максимума. Найдите средние расстояния x_m и x_{-m} , а также среднее расстояние $X_m = (x_m + x_{-m})/2$ до максимумов $\pm m$ порядков. С помощью формулы (1), приняв $d = 0,01$ мм, найдите длину волны λ лазерного излучения для всех рассчитанных значений X_m . Результаты измерений и вычислений запишите в таблицу:

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

Задание 2. Изучение дифракции лазерного излучения на круглом диске. Определение размера эритроцита.

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

Измерьте радиусы середин темных колец. Расчет размера эритроцита производится по формулам (2). Использовать длину волны лазерного излучения, полученную в задании 1.

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

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

где $i = 1, 2, 3$.

Оценка погрешности при определении размеров эритроцитов.

Среднее значение диаметра подсчитывается по формуле:

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

Среднеквадратическая ошибка данного измерения:

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

Доверительный интервал среднего арифметического измеряемой величины рассчитывается по формуле:

$$\Delta D = t_{n,p} S_D,$$

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

Окончательный результат записывается в виде:

$$D = D \pm \Delta D$$

Относительная погрешность:

$$E = \pm \Delta D / D \cdot 100\%.$$

Задание 3. Решить задачи.

Задача 1. С помощью какого лазера, непрерывного или импульсного, лучше приваривать сетчатку глаза, чтобы его мощность была минимальной? При ответе учесть процесс отвода тепла от нагреваемого участка сетчатки.

Ответ: Импульсного, т.к. в этом случае все выделяемое тепло остается в нагреваемой области и не успевает нагреть окружающие ткани, как это происходит при непрерывном нагреве.

Задача 2. Какой энергией W должен обладать лазерный импульс, чтобы при приваривании отслоившегося участка сетчатки нагреть ее участок объемом $V = 1 \text{ мм}^3$ от температуры тела $t_T = 37^\circ \text{C}$ до температуры коагуляции $t_K = 90^\circ \text{C}$? Какова мощность P лазерного излучения в импульсе, если его длительность $\tau = 1 \text{ мс}$? Принять теплоемкость ткани $C = 4200 \text{ Дж/кг} \cdot \text{град}$, плотность ткани $\rho = 1000 \text{ кг/м}^3$, долю поглощенной энергии импульса $\eta = 30\%$. Решение: $W = C(t_K - t_T)\rho V/\eta = 0,74 \text{ Дж}$, $P = W/\tau = 740 \text{ Вт}$.

Задача 3. Какова будет форма дифракционной картины, если штрихи дифракционной решетки, лежащей в плоскости, перпендикулярной лазерному лучу, направлены по вертикали, по горизонтали, под углом 45° к вертикали?

Задача 4. Какова будет форма дифракционной картины, создаваемой двумя одинаковыми дифракционными решетками, штрихи которых перпендикулярны друг другу?

Задача 5. В чем сходство дифракционной картины, создаваемой при дифракции лазерного излучения на дифракционной решетке и рентгеновскими лучами на кристалле?

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 6

Физические основы рефрактометрии и эндоскопии

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

Цель работы:

1. Изучить физические законы отражения и преломления света на границе раздела двух сред.
2. Приобрести начальные умения работы с рефрактометром: измерить показатель преломления и концентрацию раствора.
3. Ознакомиться с модельным эндоскопом.

Подготовка к работе

Изучить следующие вопросы:

1. Явления, происходящие при падении света на границу раздела двух сред. Законы отражения и преломления света. Ход лучей при переходе света из оптически более плотной в менее плотную среду. Ход лучей при переходе света из оптически менее плотной в более плотную среду.
2. Физический смысл абсолютного и относительного показателя преломления.
3. Условия полного внутреннего отражения.
4. Связь предельного угла преломления и угла полного внутреннего отражения.
5. Метод определения показателя преломления вещества с помощью рефрактометра.
7. Применение рефрактометров в биологии, фармации и медицине.
8. Устройство и назначение эндоскопа. Ход лучей в световоде.

Теоретические сведения

Пусть две прозрачные среды находятся в контакте и из среды I в сторону среды II распространяется луч света (рис. 1а, б). Тогда на границе раздела двух сред происходит отражение и преломление (рефракция) света.

Эти процессы подчиняются следующим законам:

1. Отраженный (1') и преломленный (1'') луч лежат в одной плоскости, проходящей через падающий луч (1) и перпендикуляр (2) к поверхности раздела.

2. Угол отражения γ равен углу падения α : $\gamma = \alpha$.

3. Синус угла падения α относится к синусу угла преломления β как показатель преломления (n_2) во второй среде к показателю преломления в первой среде (n_1):

$$\frac{\sin \alpha}{\sin \beta} = \frac{n_2}{n_1}.$$

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

$$n = c / v.$$

Отношение показателей преломления двух сред – среды 2 с показателем преломления n_2 и среды 1 с показателем преломления n_1 – называют относительным коэффициентом преломления:

$$n_{2,1} = n_2 / n_1.$$

Если первой средой является вакуум (или воздух), для которых $n_1 = c/v = 1$, то относительный показатель преломления просто равен показателю преломления во второй среде $n_{2,1} = n_2$.

Из двух сред, та, у которой показатель преломления выше, называется оптически более плотной. Например, вода (показатель преломления $n = 1,334$) оптически более плотная среда, чем воздух (показатель преломления $n = 1$).

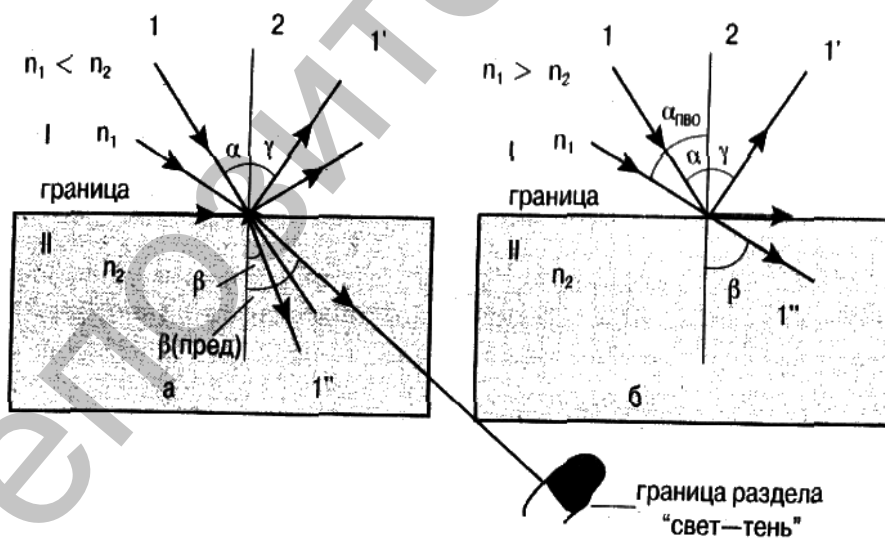


Рис. 1. Схема отражения и преломления лучей на границе раздела двух сред I и II с показателями преломления n_1 и n_2 , соответственно:

а – падение луча света из оптически менее плотной среды в оптически более плотную: $n_1 < n_2$; б – падение луча света из оптически более плотной среды в оптически менее плотную $n_1 > n_2$, 1 – падающий луч, 1' – отраженный, 1'' – преломленный, 2 – перпендикуляр к поверхности раздела, α – угол падения, β – угол преломления, γ – угол отражения.

Жирными стрелками показан ход лучей, соответствующих предельному углу преломления

На рисунке 1а показано падение луча света из оптически менее плотной среды в оптически более плотную: $n_1 < n_2$. В этом случае $\sin \beta < \sin \alpha$, а значит $\beta < \alpha$. На рис 1б показан противоположный случай: падение луча света из оптически более плотной среды в оптически менее плотную: $n_1 > n_2$. В этом случае $\sin \beta > \sin \alpha$, а значит $\beta > \alpha$.

Если луч падает из оптически менее плотной среды в более плотную ($n_1 < n_2$) (рис. 1а), то по мере возрастания угла падения α от 0 до 90° (когда падающий луч скользит вдоль границы между двумя средами) угол преломления β также увеличивается, достигая максимального значения – предельного угла преломления $\beta_{\text{пред.}}$.

$$\beta_{\text{пред.}} = \arcsin \left(\frac{n_1}{n_2} \right).$$

Существование предельного угла преломления означает, что при прохождении луча из первой среды во вторую, во второй отсутствуют лучи, распространяющиеся под углами, большими, чем предельный. При этом возникает граница раздела «свет – тень».

Если луч падает из оптически более плотной среды в менее плотную ($n_1 > n_2$) (рис. 1б), то угол преломления β больше угла падения α . По мере возрастания угла падения α от 0 до критического значения – угла полного внутреннего отражения (ПВО) $\alpha_{\text{ПВО}}$, угол преломления β также увеличивается, достигая максимального значения 90° . В этом случае преломленный луч скользит вдоль границы между двумя средами. При дальнейшем увеличении угла падения α выше $\alpha_{\text{ПВО}}$ преломленный луч исчезает, и остается только отраженный луч. Это явление называется **полным внутренним отражением**. Угол полного внутреннего отражения

$$\alpha_{\text{ПВО}} = \arcsin(n_2/n_1).$$

Существование угла полного внутреннего отражения означает, что при падении луча из первой среды во вторую под углами, большими, чем $\alpha_{\text{ПВО}}$, свет полностью отражается и не происходит потерь энергии, связанных с выносом энергии волнами, покидающими эту среду.

Если лучи света распространяются из среды менее плотной в среду оптически более плотную ($n_1 < n_2$) (рис. 1а), то существует предельный угол преломления $\beta_{\text{пред.}}$. Если же рассмотреть распространение лучей в обратном направлении – из нижней среды в верхнюю, мы приходим к случаю, когда луч идет из оптически более плотной среды в менее плотную. Для этого случая характерно существование угла полного внутреннего отражения $\alpha_{\text{ПВО}}$. Поскольку при этом луч идет из среды с показателем преломления n_2 в среду с показателем n_1 для расчета значения $\alpha_{\text{ПВО}}$ надо вместо отношения n_2/n_1 подставить обратную величину. Нетрудно видеть, что в этом случае справедливо равенство $\beta_{\text{пред.}} = \alpha_{\text{ПВО}}$. Итак, для границы раздела двух сред в зависимости от направления распространения света существуют либо предельный угол преломления, либо угол полного внутреннего отражения, численно эти углы равны.

Явление существования предельного угла преломления и явление полного внутреннего отражения используют в различных устройствах, применяемых в медицине и фармации. Первое явление используют для измерения показателя преломления различных веществ, второе – в эндоскопах.

Показатель преломления растворов n определяется показателем преломления растворителя n_0 и линейно зависит от концентрации c растворенного вещества:

$$n = n_0 + Ac$$

где A – коэффициент пропорциональности, характерный для данного растворенного вещества. Значения этого коэффициента определены с высокой точностью для многих веществ. Поэтому формулу можно использовать для измерения концентрации известных веществ. Для этого используют приборы для определения показателя преломления – рефрактометры.

Назначение, принцип действия и устройство рефрактометра.

Рефрактометр (рис. 2а) предназначен для измерения коэффициента преломления растворов различных веществ. Принцип действия рефрактометра состоит в измерении предельного угла преломления на границе исследуемой жидкости и стеклянной призмы с известным коэффициентом преломления. Рефрактометр состоит из двух призм: вспомогательной откидной призмы (1) с матовой нижней гранью (2) и измерительной призмы (3). Между ними имеется тонкий зазор толщиной 0,1 мм, в который помещается несколько капель исследуемой жидкости (4). Измеряется предельный угол преломления на границе жидкость – измерительная призма. Величину угла i , соответственно, коэффициент преломления определяют с помощью отсчетного устройства (5). Встроенный в него компенсатор (6) позволяет сделать границу свет – тень черно-белой при освещении белым светом. Отсчеты производятся глазом (7).

Рефрактометр работает следующим образом. Луч света проходит через вспомогательную откидную призму (1) и рассеивается на матовой нижней грани (2). При этом рассеянные лучи распространяются во всех направлениях, в том числе и параллельно поверхности измерительной призмы (3) (рис. 2б). Далее эти лучи преломляются на границе жидкость (4) – измерительная призма (3), и, пройдя сквозь эту призму (3), попадают в отсчетное устройство (5). Если граница свет – тень оказалась окрашенной и размытой, надо с помощью компенсатора (6) добиться резкой черно-белой границы. Конструкция отсчетного устройства позволяет путем поворота специального рычага совместить границу свет – тень с маркером отсчетного устройства. При этом маркер показывает на встроенной шкале непосредственно значения – коэффициента преломления.

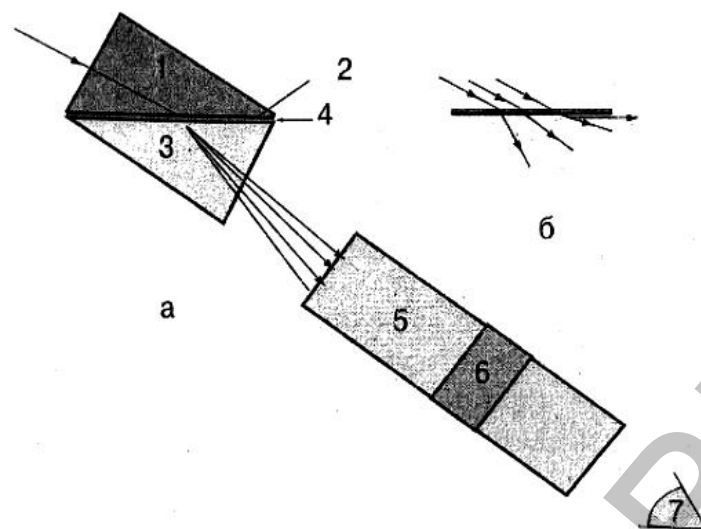


Рис. 2. а – блок-схема рефрактометра: 1 – вспомогательная откидная призма с матовой нижней гранью (2); 3 – измерительная призма; 4 – исследуемая жидкость; 5 – отсчетное устройство; 6 – компенсатор; 7 – глаз; б – схема рассеяния света матовой нижней гранью (2) откидной призмы

Устройство и назначение эндоскопа.

Эндоскопия (от греч. *эндо* (внутри) и греч. *скопо* (смотрю) – врачебный метод исследования полостных органов тела (например, мочевого пузыря, пищевода, желудка) при непосредственном осмотре их с помощью введения в них специальных инструментов – так называемых эндоскопов. Эндоскоп фактически представляет собой микроскоп с небольшим увеличением, приспособленный для введения в полость, то есть имеющий малый диаметр при большой длине тубуса.

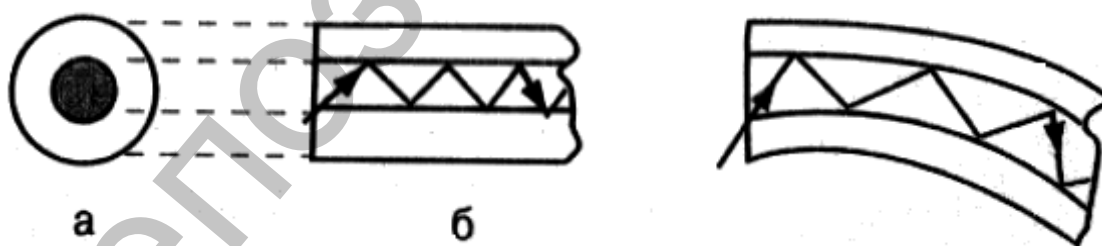


Рис. 3. Распространение луча в световоде

В настоящее время широко используются гибкие эндоскопы, в которых для передачи изображения используется не система линз, а световоды – стеклянные нити диаметром 10– 50 мкм. В основу устройства и действия гибких световодов положено явление полного внутреннего отражения света. Стеклянная нить в световоде окружена оболочкой из другого вещества с меньшим показателем преломления (рис. 3а). Вследствие этого лучи, падающие на поверхность раздела двух сред под углом $\alpha > \alpha_{\text{пво}}$, распростра-

няются по сердцевине волокна, не выходя за нее (рис. 3б). Тем самым, световод позволяет передавать свет на значительные расстояния как по прямолинейному, так и по криволинейному пути (рис. 3в).

С помощью отдельного световода диаметром 5-20 мкм удобно освещать полости, но неудобно получать изображение предметов. Поэтому, как правило, изображение предметов переносится с помощью стекловолоконного жгута, составленного из отдельных волокон.

На рис. 4а представлено изображение торца такого стекловолоконного жгута. Около торца волокна жестко скреплены между собой. Каждый элемент изображения передается по своему волокну (рис. 4б). Имеются специальные разветвленные жгуты, с помощью которых можно одновременно и осветить стенку внутренней полости и получить ее изображение (рис. 4в).



Рис. 4. Стекловолоконный жгут

Выполнение работы

Работа с рефрактометром.

Задание 1. Ознакомление с работой рефрактометра РПЛ-3. Конструкция рефрактометра схематично представлена на рис. 5.

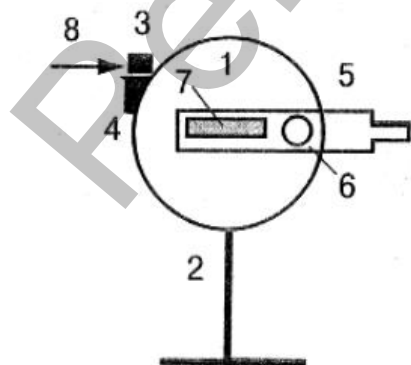


Рис. 5. Конструкция рефрактометра РПЛ-3:
1 – корпус; 2 – штатив; 3 – вспомогательная откидная призма с матовой нижней гранью; 4 – измерительная призма; 5 – рукоятка отсчетного устройства;
6 – окуляр отсчетного устройства;
7 – рукоятка компенсатора;
8 – луч света

Корпус рефрактометра (1) закреплен на штативе (2). На корпусе закреплена вспомогательная откидная призма с матовой нижней гранью (3) и измерительная призма (4). Отсчетное устройство снабжено рукояткой (5), на которой расположены окуляр (6) отсчетного устройства и рукоятка компенсатора (7). Луч света (8) должен падать на призму (3) из окна или от специального осветителя.

Откиньте вверх вспомогательную откидную призму с матовой нижней гранью и нанесите пипеткой 3 капли дистиллированной воды на поверхность измерительной призмы. Опустите откидную призму. Сориентируйте рефрактометр так, чтобы на вспомогательную призму падал свет, как это показано на рис. 5. Глядя в окуляр (6) отсчетного устройства и передвигая рукоятку (5) отсчетного устройства найдите границу свет – темнота. Если граница окрашена, поворотом рукоятки компенсатора (7) добейтесь, чтобы граница стало черно-белой. Вращением окуляра (6) добейтесь, чтобы граница стала резкой.

Передвигая рукоятку отсчетного устройства совместите три штриха, с границей черной полосы. Сделайте отсчет значения показателя преломления жидкости по левой шкале. Если измеренный показатель преломления воды $n = 1,333-1,334$, прибор отрегулирован. *Внимание:* после каждого измерения поверхность призмы промокнуть мягкой тряпочкой, затем капнуть на призму дистиллированной воды и еще раз промокнуть.

Задание 2. Определение неизвестной концентрации раствора хлористого натрия NaCl по трем известным концентрациям C_1, C_2, C_3 . Для дистиллированной воды и трех растворов соли с известными концентрациями провести по три измерения показателя преломления n', n'', n''' . Для этого три раза с помощью рукоятки отсчетного устройства сместите маркер и снова установите его на границу свет – тень. Измерения проводите сначала для меньших, а затем для больших концентраций. Результаты запишите в таблицу:

Вещество	Концентрация с, г/л	Показатель преломления			
		n'	n''	n'''	N
Вода	0				
NaCl	C_1				
	C_2				
	C_3				
	c_x				
Сахароза	$c_{сах}$				

Рассчитайте средние значения показателя преломления n для каждой жидкости.

Постройте градуировочную прямую: зависимость n от концентрации c .

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

Задание 3. Измерение отличий показателя преломления для веществ разного химического состава. Измерьте показатель преломления $n_{сах}$ раствора сахарозы заданной концентрации. Вычислите разницу Δn показателей преломления растворов сахарозы $n_{сах}$ и хлористого натрия той же концентрации n_{NaCl} : $\Delta n = n_{сах} - n_{NaCl}$.

Работа с эндоскопом.

Задание 4. Изучение структуры световодного жгута. Убедитесь, что световодный жгут состоит из отдельных тонких волокон. Оцените толщину каждого волокна и убедитесь в его гибкости. Ответьте на вопрос, необходимо ли жесткое закрепление каждого волокна в жгуте в его середине и на торцах.

Задание 5. Изучение работы световодного жгута без линзы. Поднесите жгут к освещенной поверхности. Определите, на каком расстоянии от нее возникает изображение. Проверьте, возникает ли изображение, если поверхность не освещена.

Задание 6. Изучение работы световодного жгута с линзой. Поднести жгут к освещенной поверхности. Убедитесь, что изображение возникает, когда расстояние от линзы до поверхности составляет несколько см. Каким образом можно осветить внутреннюю поверхность полого органа при эндоскопическом исследовании?

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 7

Электрокардиография

Запись электрической активности сердечной мышцы называется *электрокардиограммой* (ЭКГ), а методика ее регистрации – *электрокардиографией*.

Биопотенциалы, возникающие в сердце, создают в окружающем его пространстве динамическое электрическое поле. Живой организм – хороший проводник; поэтому потенциалы работающего сердца могут быть зафиксированы, если отводящие электроды прикладывают не только непосредственно к сердцу, но и к поверхности тела. Это позволяет без сложных процедур и неприятных ощущений записывать ЭКГ человека.

Существуют три классических отведения ЭКГ (рис. 1).

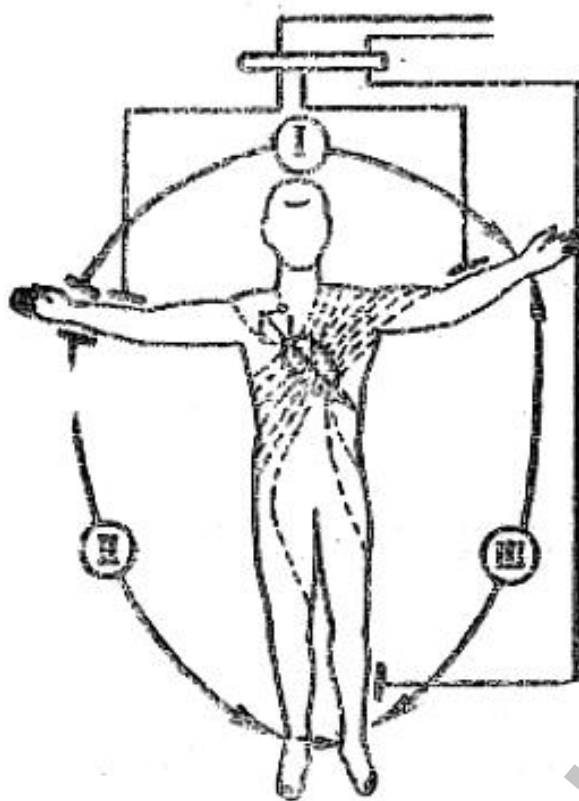


Рис. 1. Распределение электрических потенциалов по поверхности тела и основные отведения электрокардиограммы:
 I – первое отведение;
 II – второе отведение;
 III – третье отведение

В I отведении регистрируют разность потенциалов между правой рукой и левой рукой, во II – между правой рукой и левой ногой, в III – между левой рукой и левой ногой.

Электроды присоединяются к регистрирующему прибору – электрокардиографу, в котором слабые потенциалы сердца преобразуются в полифазную кривую, отражающую морфологическое и функциональное состояние сердечной мышцы.

В электрокардиограмме различают пять зубцов: *P*, *Q*, *R*, *S*, *T* – и пять интервалов: *P-Q*, *QRS*, *S-T*, *Q-T*, *R-R* (рис. 2).

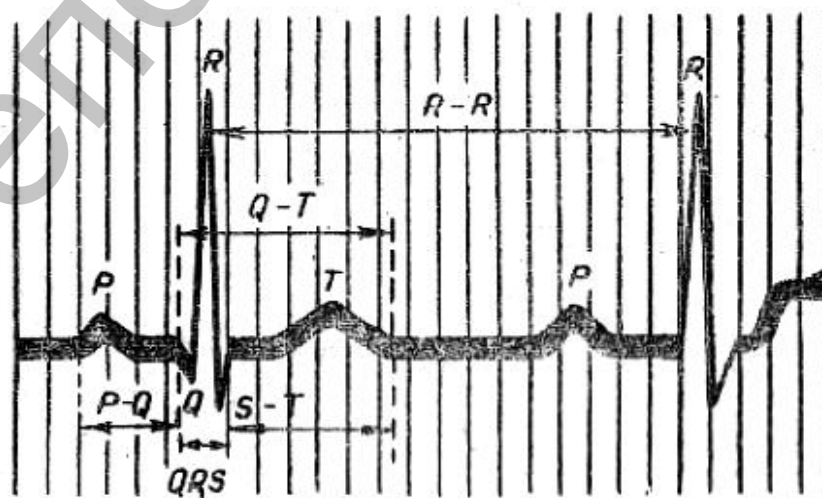


Рис. 2. Электрокардиограмма

О состоянии сердца судят по амплитуде зубцов (она измеряется расстоянием от изоэлектрической линии до вершины зубца) и интервалов.

Зубец *P* является алгебраической суммой потенциалов действия, возникающих в предсердиях, причем потенциал правого предсердия положительный, а левого – отрицательный. Амплитуда зубца *P* колеблется от **0,5 до 2,5 мм**, продолжительность **0,06- 0,10 с**. В III отведении он может быть отрицательным. Интервал ***P-P*** отражает расстояние в мс между пиками следующих друг за другом зубцов *P* (продолжительность 0,75-1,0 мс). Используется для определения числа сердечных сокращений путем деления длительности этих интервалов на 60 (количество секунд в 1 мин). При гипертрофии левого предсердия зубец *P* уширен, раздвоен или расщеплен (расстояние между вершинами более 0,03 с), при исчезновении зубца *P* диагностика гипертрофии (увеличение количества и массы тех или иных функционирующих структур. Количество миокардиальных клеток у человека не увеличивается, возрастает лишь их масса) левого предсердия невозможна. Гипертрофия правого предсердия развивается в результате его функционального перенапряжения. Меньшую роль играют – повреждения, ишемия. Зубец *P* имеет большую амплитуду и расширен (более 0,10 с). Картина развивается при эмфиземе легких, пневмосклерозе, ожирении и т.д.

За зубцом *P* следует интервал ***P-Q***, длительностью 0,12-0,20 с. За это время возбуждение распространяется к атриовентрикулярному узлу и проводящей системе желудочков.

Далее следует желудочковый комплекс ***QRS***, характеризующий возбуждение желудочков (продолжительность 0,06-0,09 с). Зубец *Q* – первый зубец всегда обращен книзу. Это наиболее непостоянный зубец из всех зубцов ЭКГ – он может отсутствовать. Его амплитуда в среднем равна 2 мм.

Зубец *R* – самый высокий, направленный вверх зубец желудочкового комплекса. Он отражает время распространения возбуждения по боковым стенкам и поверхности обоих желудочков и основанию левого желудочка. Его амплитуда колеблется от 3 до 10 мм.

Зубец *S* – третий зубец желудочкового комплекса. Он свидетельствует о том, что возбуждение охватило всю мускулатуру желудочков. Зубец *S*, так же как и зубец *Q*, непостоянен и направлен вниз. Весь процесс от начала и до полного возбуждения желудочков характеризуется интервалом ***QRS*** и длится в среднем от 0,04 до 0,09 с.

По окончании комплекса ***QRS*** регистрируется изоэлектрический интервал ***S-T***, который характеризует исчезновение разности потенциалов на поверхности желудочков и во время их полного охвата возбуждением. Длительность интервала ***S-T*** колеблется от 0 до 0,15 с и зависит от всего желудочкового комплекса.

Зубец *T* – пятый зубец ЭКГ – направлен вверх и ассиметричен: его восходящее колено пологое, а нисходящее – крутое. Он характеризует те-

чение восстановительных процессов в желудочках. Амплитуда зубца Т колеблется от 2,5 до 7 мм. В III отведении он может быть отрицательным.

Интервал **Q-T** от начала зубца **Q** до конца зубца **T** (электрическая систола) соответствует времени, в течении которого желудочки находятся в электрически активном состоянии. Продолжительность электрической систолы изменяется в зависимости от частоты сердечных сокращений.

Установлена математическая зависимость между частотой сокращений сердца и длительностью интервала **Q-T**. Она выражается формулой Базетта:

$$Q = T_{\text{долж}} = K \sqrt{R - R},$$

где К – константа, равная для мужчин 0,37, а для женщин – 0,39.

Интервал **R-R** отражает длительность сердечного цикла в секундах. Несмотря на то, что зубец **R** находится в середине ЭКГ, его используют для расчета длительности сердечного цикла, так как он является наиболее выраженным. Для определения длительности сердечного цикла измеряют расстояние между вершинами зубцов R-R и в зависимости от скорости движения ленты, на которой записывают ЭКГ, рассчитывают время между двумя зубцами. Например, расстояние между зубцами равно 20 мм. Если скорость движения ленты 25 мм/с, то время прохождения 1 мм будет равно 0,04 с. Следовательно, время R-R=20 мм•0,04 с=0,08 с. Отсюда можно рассчитать частоту сердечных сокращений (ЧСС). Если длительность одного сокращения сердца равна 0,08 с, то в течении 60 с оно сделает 75 сокращений.

Распространение возбуждения по сердечной мышце характеризует не только длительность электрической систолы, но и так называемый систолический показатель (СП), представляющий отношение длительности электрической систолы к продолжительности всего сердечного цикла (%):

$$СП = \frac{Q - T}{R - R} \cdot 100.$$

Отклонение от нормы, которая определяется по той же формуле с использованием $Q-T_{\text{долж}}$, не должно превышать 5% в обе стороны.

Таким образом, определение амплитуды основных зубцов и длительности интервалов электрокардиограммы дает возможность судить о состоянии сердца.

Порядок выполнения работы.

Ознакомьтесь с устройством электрокардиографа и принципами его работы. Протрите спиртом участки кожи, к которым прикрепляются электроды. Закрепите электроды на руках и ногах.

Электрокардиограф включите в сеть за 5-10 мин до начала работы. Установите усиление 1 мВ=10 мм.

Запишите последовательно ЭКГ в трех стандартных отведениях. Проведите расшифровку ЭКГ.

1. Определите ЧСС (пульс) по данным интервала R-R.

2. Рассчитайте величину основных зубцов ЭКГ, сравните их с принятыми стандартными величинами.

3. Рассчитайте длительность интервалов ЭКГ и проведите ее анализ.

4. Рассчитайте должную систолу и сравните ее с величиной фактической систолы.

5. Определите величину систолического показателя.

Полученные результаты внесите в таблицу и сделайте общий вывод о состоянии сердца испытуемого. ЭКГ вклейте в тетрадь.

Стандартное отведение	P R T P-Q QRS Q-T	Должная систола	СП	Фактическая систола	R-R	ЧСС
I						
II						
III						

Любые изменения в работе сердца, прежде всего, отражаются на характере ЭКГ. Под влиянием рефлекторных воздействий изменяется не только длительность всей ЭКГ, (что отражает частоту сердечных сокращений), но и конфигурацию ее зубцов.

Так, при увеличении тонуса блуждающего нерва во время осуществления глазо-сердечного рефлекса Ашнера или при раздражении каротидного синуса увеличивается интервал *R-R* (наступает урежение пульса), уменьшается амплитуда зубца *P* во II и III отведениях, увеличивается интервал *P-Q* и амплитуда зубца *T*.

Угнетение тонуса блуждающего нерва под влиянием физической нагрузки приводит к уменьшению интервала *R-R* (учащение частоты сердечных сокращений), увеличению зубца *P* во II отведении, укорочению интервалов *P-Q*, *QRS*, *Q-T*, уменьшению амплитуды зубца *T*, изменению соотношений между фактической и должной величиной, электрической систолы и систолического показателя.

Порядок выполнения работы:

Запишите ЭКГ у испытуемого, находящегося в положении лежа, во II стандартном отведении. Предложите испытуемому закрыть глаза. Затем надавливайте двумя пальцами (указательным и средним) одновременно на оба глазных яблока в течение 8-10 сек. Снова запишите ЭКГ.

В полученных ЭКГ (в покое и при рефлексе Ашнера) рассчитайте ЧСС, амплитуду зубцов *P*, *R*, *T* и длительность интервалов *P-Q*, *QRS*, *Q-T*, *R-R*, а также величины фактической и должной систолы и систолического показателя. Полученные данные занесите в таблицу. Проанализируйте данные, сделайте выводы.

СОДЕРЖАНИЕ

1. МЕХАНИЧЕСКИЕ КОЛЕБАНИЯ. ЗВУК	3
2. ТЕЧЕНИЕ ЖИДКОСТИ. БИОРЕОЛОГИЯ	6
3. ФИЗИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ В БИОЛОГИЧЕСКИХ МЕМБРАНАХ	10
4. ПОЛЯРИЗАЦИЯ СВЕТА	14
5. ТЕПЛОВОЕ ИЗЛУЧЕНИЕ ТЕЛ. ФОТОНЫ	16
6. ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ СВЕТА С ВЕЩЕСТВОМ	18
7. РЕНТГЕНОВСКОЕ ИЗЛУЧЕНИЕ	21
8. ЯДРО. РАДИОАКТИВНОСТЬ	22
ЛАБОРАТОРНЫЙ ПРАКТИКУМ	24
Лабораторная работа № 1. Исследование проницаемости модельных мембран. Изучение осмоса в живых растительных клетках. Определение среднего осмотического давления клеточного сока в препарате растительных клеток методом начинающегося плазмолиза	24
Лабораторная работа № 2. Спектрофотометр и его использование в медико-биологических исследованиях	26
Лабораторная работа № 3. Определение концентрации веществ в растворе с помощью фотоэлектроколориметра	35
Лабораторная работа № 4. Использование поляриметрии для определения концентрации оптически активных веществ ...	45
Лабораторная работа № 5. Лазер, его применение для оценки размеров эритроцитов	51
Лабораторная работа № 6. Физические основы рефрактометрии и эндоскопии	62
Лабораторная работа № 7. Электрокардиография	69