

На правах рукописи

Завгородний Алексей Владимирович

РАЗРАБОТКА МЕТОДА И СРЕДСТВ КОНТРОЛЯ ПРОСТРАНСТВЕННО-ВРЕМЕННОГО
РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ОПТИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК ВЗВЕСИ ИНFUЗОРИЙ ДЛЯ
БИОТЕСТИРОВАНИЯ ВОДНЫХ СРЕД

Специальность: 05.11.13 – Приборы и методы контроля природной среды,
веществ, материалов и изделий

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата технических наук

Санкт-Петербург – 2008

Работа выполнена в Санкт-Петербургском государственном электротехническом университете "ЛЭТИ" им. В.И. Ульянова (Ленина)

Научный руководитель –
кандидат технических наук, доцент И.С. Захаров

Официальные оппоненты:
доктор технических наук, профессор И.А. Брусакова
кандидат технических наук, доцент А.Н. Алипов

Ведущая организация – Санкт-Петербургский государственный научно-исследовательский центр экологической безопасности РАН

Защита состоится « 24 » декабря 2008 г в _____ часов на заседании совета по защите докторских и кандидатских диссертаций
Д 212.238.09 Санкт-Петербургского государственного электротехнического университета "ЛЭТИ" им. В.И. Ульянова (Ленина) по адресу:
197376, С.-Петербург, ул. Проф. Попова, 5.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке университета.

Автореферат разослан «_____» _____ 2008 г.

Ученый секретарь совета
по защите докторских
и кандидатских диссертаций

К.Н. Болсунов

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы. Ухудшающаяся экологическая обстановка требует постоянного контроля токсичности природной среды. Биотестирование согласно российским и международным стандартам наряду с аналитическими физико-химическими методами является важным инструментом для выявления токсичности различных сред: питьевой, сточной, технологической воды, отходов, вытяжек почвы. В качестве чувствительного к токсичным факторам биообъекта широкое распространение получили инфузории. Имеется ряд тест-реакций для контроля токсичности водных сред с применением инфузорий, среди которых можно выделить: летальность (смертность), хемотаксис (уход из опасной зоны), гальванотаксис (перемещение под действием электрического тока жизнеспособных клеток). Из этих реакций каждая имеет свою специфику, позволяющую выявлять различные вредные воздействия. Большой объём исследуемых проб диктует необходимость использования надёжной биотестовой аппаратуры.

Отечественными и зарубежными исследователями давно ведутся работы по изучению влияния токсичности на статические и динамические характеристики популяций микроорганизмов. Достигнутые результаты позволили на основе исследованных тест-реакций разработать специфичную аппаратуру для контроля токсичности водных сред, на основе локального контроля статической характеристики концентрации популяции с помощью одного фотоприёмника. Создание аппаратуры, гибко подстраиваемой под условия проведения тест-реакции, позволит контролировать известные тест-реакции с улучшенной воспроизводимостью, вводить новые исследования характера действия токсиканта, что может упростить поиск источника вредного воздействия.

Потенциально возможность решения задачи построения необходимой для биотестирования аппаратуры дают существующие линейки фотоприёмников. Существенным препятствием на пути создания такой техники является отсутствие методов выделения специфического сигнала и модели, связывающей параметры популяции и оптически измеряемые величины.

Решение этой проблемы открывает дополнительные возможности исследования статических и динамических параметров популяции микроорганизмов, что позволит получать информативные параметры тест-реакции принципиально нового типа.

Цель диссертационной работы - на основе оптического контроля взвеси инфузорий разработать метод и средства получения характеристик популяции для биотестирования.

Для достижения поставленной цели необходимо решить следующие задачи.

1. Разработать математическую модель, устанавливающую связь между свойствами популяции инфузорий и параметрами пространственно-временного распределения оптических характеристик их взвеси.

2. Разработать метод и средства контроля пространственно-временного распределения оптических характеристик взвеси инфузорий для исследования тест-реакций.

3. Разработать программные средства для определения информативных параметров взвеси инфузорий.

4. Разработать макет экспериментальной установки и апробировать предложенные метод и средства определения параметров распределения концентрации и динамики популяции при контроле биотестовых реакций.

Объектами исследования данной работы являются метод и средство фотометрического контроля популяционных реакций инфузорий на базе линейки фотоприёмников, предназначенные для расширения возможностей биотестирования водных сред.

Предметом исследования является инструментальное, методическое и программно-алгоритмическое обеспечения системы, реализующей контроль статических и динамических характеристик популяции микроорганизмов.

Методы исследования базируются на элементах теории фотометрии взвесей частиц, случайных процессов и сигналов, практическом применении вейвлет-анализа и достижений современных информационных технологий.

Новые научные результаты:

1. разработана математическая модель измерительного преобразователя, одновременно учитывающая такие параметры взвеси подвижных вытянутых объектов как их средняя длина, концентрация, скорость, частота смены и преимущественное направление движения;

2. разработан метод расчёта параметра средней скорости движения вытянутых объектов по оптическим характеристикам взвеси;

3. установлена аппроксимирующая функция для сигнала от единичной клетки и обоснован метод его выделения;

4. получены экспериментальные зависимости между параметрами концентрации, вязкости среды и информативными параметрами импульсных сигналов, отражающих пространственно-временное распределение оптических характеристик взвеси инфузорий.

Практическая ценность работы:

1. возможность разработки биотестовой аппаратуры, для исследования популяционных реакций инфузорий: хемотаксиса, гальванотаксиса, летальности

2. оперативный контроль и наглядное представление изменений параметров популяции инфузорий при биотестировании водных сред.

3. создание аппаратно-программного комплекса с возможностью подстройки программного обеспечения для контроля тест-объектов и реакций;

4. возможность комплексного биотестирования водных сред по нескольким тест-реакциям с повышенной чувствительностью и экспрессностью.

Положения, выносимые на защиту:

1. математическая модель измерительного преобразователя связывает параметры популяции инфузорий со статистическими характеристиками сигнала, обусловленного пространственно-временным распределением экстинкции их взвеси;

2. метод контроля пространственно-временного распределения оптических характеристик взвеси инфузорий, основанный на расчёте параметров импульсного процесса, позволяет определять характеристики структуры и динамики популяции;

3. система аппаратного контроля, разработанная на базе метода измерения распределения экстинкции взвеси, позволяет исследовать параметры концентрации и движения инфузорий в биотестовых популяционных реакциях.

Достоверность результатов обеспечена использованием при их получении надежных и проверенных теоретических представлений и экспериментальных методов и технологий; численными расчетами, проведенными на основании полученных соотношений; статистическими оценками величин и характера вытекающих из них зависимостей с использованием надежных экспериментальных данных.

Внедрение результатов работы. Результаты работы внедрены в НИР «Разработка концепции и теоретических основ новых информационных технологий повышения качества и безопасности жизнедеятельности человека», проводимый по целевой программе «Развитие научного потенциала высшей школы (2006-2008 годы)» и практикум инновационного курса «Биотехнические основы оздоровления окружающей среды».

Апробация работы. Основные положения и результаты диссертационной работы докладывались и обсуждались на международной конференции по Мягким вычислениям и измерениям – Санкт-Петербург 2007г., на XII Всероссийской конференции Санкт-Петербургского Политехнического университета по проблемам науки и высшей школы – Санкт-Петербург 2008г. и на Научно-технических конференциях профессорско-преподавательского состава Санкт-Петербургского государственного электротехнического Университета (ЛЭТИ) 2007, 2008 г.г.

Публикации по работе. Основные теоретические и практические результаты диссертации опубликованы в 10 научных работах, из них – 4 статьи, среди которых 2 публикации в ведущих рецензируемых изданиях, рекомендованных в действующем перечне ВАК, 6 работ – в материалах международных, всероссийских и межвузовских научно-практических конференциях.

Структура и объем работы. Диссертационная работа состоит из введения, 4 глав, заключения, списка литературы, включающего 76 наименований, и одного приложения. Основная часть работы изложена на 131 странице машинописного текста. Работа содержит 11 таблиц и 43 рисунка.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении обосновывается актуальность темы, цель и задачи исследования, сформулированы основные положения, выносимые на защиту.

В первой главе на основе анализа отечественной и зарубежной литературы выделены существующие тест-реакции инфузорий (летальность, таксисы) и описано их применение в задачах биотестирования водных сред. Отмечено, что данные популяционные тест-реакции характеризуются изменением структуры популяции по всему объёму взвеси клеток.

При этом современной биотестовой аппаратурой концентрация инфузорий контролируется только локально, что может приводить к ошибочным выводам о качестве водных сред или требовать увеличения числа опытов.

Увеличение числа контролируемых параметров взвеси ведёт к повышению информативности контроля тест-реакции и как следствие к общему повышению качества биотестирования. Однако в ходе литературного обзора не было найдено разработок аппаратурных методов и средств получения комплексных характеристик популяции инфузорий.

Недостаток информации о ходе тест-реакции препятствует повышению качества биотестирования. Данная проблема может быть решена за счёт увеличения информации путём повышения разрешающей способности оптического контроля до уровня выделения единичных клеток. Такой подход позволит определить распределение концентрации и среднюю скорость клеток.

Проведённый обзор приёмников излучения, в том числе интегральных микросхем, содержащих массивы фотоприёмников, показал, что элементная база для реализации указанного подхода существует. Обоснование возможности решения существующих проблем разработки методов и средств контроля популяционных тест-реакций с помощью линейки фотоприёмников (ЛФП) позволило сформулировать цели и задачи исследования.

Вторая глава посвящена разработке и исследованию модели измерительного преобразователя (ИП) на основе ЛФП. ИП формирует сигнал, характер которого отражает свойства популяции.

Математическая модель измерительного преобразователя. Принято допущение, что инфузория совершает непрерывное движение, состоящее из ряда прямолинейных перемещений с некоторой средней скоростью $v_{\text{инф}}$ под случайным углом. Клетки инфузорий в световом потоке проецируются в виде эллипсов длиной b и шириной a .

На рисунке 1. показан ИП, функционирование которого основано на измерении прошедшего потока.

ЛФП периодически преобразует световой поток в электрический сигнал (один кадр), который можно представить в виде столбца $U(i)$ матрицы напряжений $U(i,j)$ [В], где i – номер фотоприёмника (ФП), а j – номер кадра.

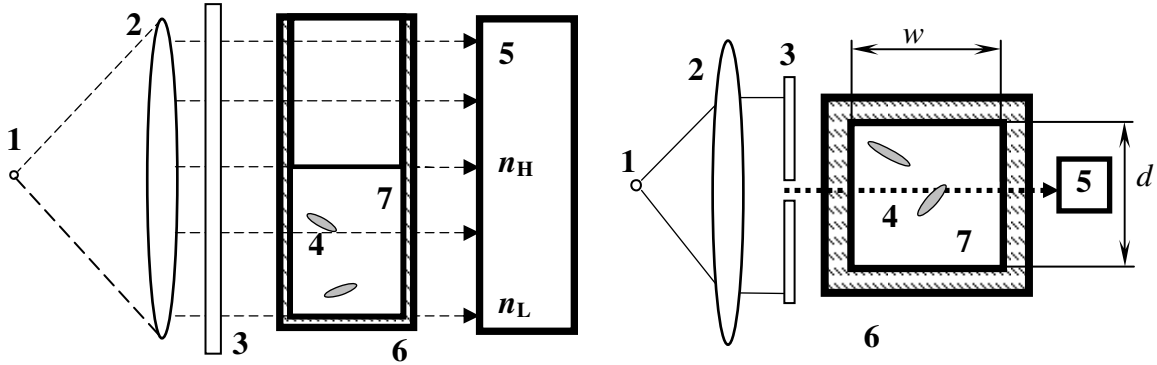


Рис.1. Структурная схема измерительного преобразователя.

1 – точечный источник света; 2 – собирающая линза; 3 – диафрагма; 4 – клетка, формирующая тень на поверхности линейки фотоприёмников; 5 – линейка фотоприёмников; 6 – кювета с исследуемой средой; 7 – исследуемая среда.

Параметры сигнала ЛФП отражают концентрацию подвижных клеток и их динамику. Каждая клетка имеет проекцию под случайным углом на плоскости ЛФП. Некоторые проекции попадают на ЛФП. Данное событие обозначим A . Вероятность события A – $P(A)$, определяется согласно решению задачи Бюффона:

$$P(A) = \varepsilon_{\text{сум}} / (\pi d), \quad (1)$$

где d [м] – ширина кюветы с исследуемой взвесью, $\varepsilon_{\text{сум}}$ [м] – сумма длины проекции клетки и расстояния, проходимого ею за время между кадрами $\tau_{\text{кк}}$ [с] при средней линейной скорости $\bar{v}_{\text{инф}}$ [м/с].

$$\varepsilon_{\text{сум}} = \varepsilon + \tau_{\text{кк}} \cdot \bar{v}_{\text{инф}} \cdot K_{\text{лин}}, \quad (2)$$

где $K_{\text{лин}}$ – безразмерный коэффициент линейности движения.

Процесс движения N инфузорий в ИП формирует поток событий A со средним числом M пересечений за время экспозиции. С учётом (1 – 2) запишем:

$$M = C \cdot w \cdot \Delta h_{\text{ccd}} \cdot (\varepsilon + \tau_{\text{кк}} \cdot \bar{v}_{\text{инф}} \cdot K_{\text{лин}}) \cdot K_{\text{DET}} \cdot 1/\pi = M_{\Delta h} \cdot \Delta h_{\text{ccd}} \cdot C, \quad (3)$$

где C [м⁻³] – концентрация инфузорий, w [м] – толщина кюветы, Δh_{ccd} [м] – высота контролируемого объёма, $M_{\Delta h}$ [1/(м·м⁻³)] – среднее число событий A на единицу длины ЛФП и единицу концентрации, K_{DET} – безразмерный коэффициент детерминированности движения (для учёта отклонения от модели Бюффона в случае направленного движения, когда распределение углов движения клетки неравномерно).

При условии $\bar{v}_{\text{инф}} < \varepsilon / \tau_{\text{кк}}$ пересечение проекций клетки и ЛФП будет длиться несколько кадров, в течение $\tau_{\text{ср}}$ [с].

Величина Q среднего числа событий A получена по аналогии с формулой Литтла, применяемой в теории массового обслуживания.

$$Q = M \cdot \tau_{\text{ср}} / \tau_{\text{кк}} = M \cdot \varepsilon / (\bar{v}_{\text{инф}} \cdot \tau_{\text{кк}}) = K_Q \cdot C, \quad (4)$$

где K_Q [м³] – коэффициент пропорциональности.

Линейная зависимость $Q(C)$ получена без учёта наложений проекций клеток на один и тот же участок ЛФП. Наложение двух проекций приводит к появлению нелинейности, для учёта которой введён коэффициент K_{OVER} :

$$K_{\text{OVER}} = 1 - 2(M - 1)\Delta l / \Delta h_{\text{ccd}} = 1 - 2(M_{\Delta h} \Delta h_{\text{ccd}} C - 1)\Delta l / \Delta h_{\text{ccd}}, \quad (5)$$

где Δl – разрешающая способность системы выделения проекций клеток на ЛФП.

Тогда с учётом (3 – 5) запишем:

$$Q = K_Q \cdot C \cdot K_{\text{OVER}} = \left[C \cdot M_{\Delta h} - 2(C \cdot M_{\Delta h})^2 \Delta l \right] \cdot \left[\Delta h_{\text{ccd}} \cdot \varepsilon / (\tau_{\text{кк}} \cdot \bar{v}_{\text{инф}}) \right] \quad (6)$$

Для определения количества и координат проекций клеток на ЛФП необходимо провести их детектирование, конечным результатом которого является построение матрицы событий $\Xi(i, j)$, где:

$$\Xi_{i, j} = \begin{cases} \Xi_{i, j} = 1 & - \text{пересечены е есть} \\ \Xi_{i, j} = 0 & - \text{пересечены я нет} \end{cases} \quad (7)$$

Среднее число проекций на ЛФП за время $\tau_{\text{кк}}$ определяется выражением:

$$Q = 1 / [(H - L) \cdot Z] \sum_{j=1}^Z \sum_{i=L}^H \Xi_{j, i}, \quad (8)$$

где H и L – номера верхнего и нижнего фотоприёмников n_H и n_L соответственно (см. рисунок 1), Z – число кадров.

Формирование случайного процесса. Столбец выходных напряжений элементов ЛФП $U(i)$ формируется в соответствии с выражением:

$$U(i) = \overline{P(i)} \cdot \tau_{\text{кк}} \cdot A_{\text{ФП}} \cdot S_{\text{ccd}}(\lambda), \quad (9)$$

где $\overline{P(i)}$ [Вт/м²] – среднее значение транзитивной составляющей падающего светового потока на поверхность i -го ФП за время экспозиции $\tau_{\text{кк}}$ [с], $A_{\text{ФП}}$ [м²] – площадь ФП, $S_{\text{ccd}}(\lambda)$ [В/(Вт·с)] – чувствительность ЛФП.

Величина транзитивной составляющей светового потока отражает наличие проекции клетки на ФП. При размерах ФП, сравнимых с размером клетки, экстинкция может быть охарактеризована долей потока ΔP_{ext} , на которую уменьшается падающий поток и выражена формулой:

$$\Delta P_{\text{ext}} / P_0 = 1 - P_{\text{tr}}(x, m, \Omega) / P_0 = K_{\text{осл}} \quad (10)$$

где P_0 – мощность потока, падающего на клетку, $P_{\text{tr}}(x, m, \Omega)$ – транзитивная доля мощности потока, прошедшая через клетку, улавливаемая ФП под те-

лесным углом Ω после рассеяния падающего потока клеткой с относительным показателем преломления m и коэффициентом дифракции x .

Дифракционная составляющая при рассеянии на малых углах и при размерах фотоприемника, сравнимых с размерами клетки, не способна существенно изменить интенсивность прошедшего потока.

Общее выражение для светового потока $P^{\text{ФП}}$, падающего на фотоприёмник, определяется выражением:

$$P^{\text{ФП}} = P_0 - \Delta P_{\text{ext}} + P_N, \quad (11)$$

где P_N - аддитивный шум светового потока. Учтём возможную статическую неравномерность освещённости элементов ЛФП путём перехода к нормированным величинам. Учитывая выражения (10, 11), имеем:

$$P^{\text{ФП}} / P_0^{\text{ФП}} = K^{\text{осл}} + K^{\frac{\text{шум}}{\text{пад}}}, \quad (12)$$

где $K^{\frac{\text{шум}}{\text{пад}}}$ - отношение величин шумового и падающего потоков.

Принимая, что максимальное значение на выходе каждого фотоприёмника соответствует $P_0^{\text{ФП}}$, согласно выражениям (9, 12) запишем:

$$\xi(i, j) = K_U^{\text{осл}}(i, j) + K_U^{\frac{\text{шум}}{\text{пад}}}(i, j), \quad (13)$$

где $K_U^{\text{осл}}(i, j)$ – средний за время кадра коэффициент ослабления потока взвесью, $K_U^{\frac{\text{шум}}{\text{пад}}}(i, j)$ – коэффициент шума выходного напряжения фотоприёмника.

Матрица ξ является математическим представлением случайного импульсного процесса пространственно-временного распределения экстинкции взвеси.

Функция полезного сигнала. Эмпирически было выявлено, что сигнал, формируемый при движении проекции клетки по ЛФП, может быть аппроксимирован двумерным гауссовым импульсом:

$$s(i, j) = B \cdot \exp(-\beta^2(j-j_0)^2) \exp(-\alpha^2(i-i_0)^2), \quad (14)$$

где i_0 – номер ФП, соответствующий центру проекции клетки, j_0 – номер кадра, соответствующий минимуму освещённости в центре проекции, α , B – параметры импульса по координате, β – временной параметр импульса.

Сигнал от проекции клетки на одном кадре имеет форму импульса Гаусса, и сигнал одного ФП при пересечении проекции и ЛФП во времени также имеет вид импульса Гаусса.

На основании канонического представления сигнала в виде импульсного случайного процесса:

$$\xi(i) = \sum_k V_k f(i - i_k), \quad (15)$$

где V_k – случайные величины; $f(i)$ – неслучайная функция.

На основании данных о виде функции было обосновано применение метода вейвлет-декомпозиции для выделения полезного сигнала. Базисом разложения был выбран вейвлет «мексиканская шляпа», который имеет участок, по форме схожий с функцией импульса Гаусса.

Матрица событий Ξ , отражающая координату клеток, получена на основании преобразования столбцов матрицы ξ , см. (13), методом вейвлет-декомпозиции с последующим сравнением полученных величин относительно порогового значения $u_{\text{пор}}$.

Используя выражение (8), получаем среднее число проекций на ЛФП.

Определение информативного параметра динамики движения клеток. Среднее число событий Q при установленном пороговом значении, является функцией от $\tau_{\text{ср}}$, что позволяет получить новый параметр, отражающий динамику движения популяции. Учитывая, что $\tau_{\text{ср}}$ определяет параметр β импульса Гаусса, см. (16), можно меняя $u_{\text{пор}}$, выявить различия Q при разных $\tau_{\text{ср}}$.

Составляя систему из двух уравнений для разных $u_{\text{пор}}$ с учётом (6, 8, 14) получим величину β , которая связана с $\tau_{\text{ср}}$:

$$\tau_{\text{ср}} \approx \tau_{\text{кк}} / \beta. \quad (16)$$

Формирование информативного параметра концентрации клеток. Сигнал ξ (13) является случайным импульсным процессом, состоящим из двумерных гауссовых импульсов, появляющихся с интенсивностью (4):

$$\Lambda = M / \tau_{\text{кк}}. \quad (17)$$

Эта интенсивность пропорциональна концентрации, см. (3). Зависимость (6) числа событий от концентрации клеток нелинейная. Это связано с потерей импульсов при наложении. Рассмотрение параметров сигнала, учитывающих это явление позволит получить линейную зависимость в широком диапазоне концентраций.

На основе теоремы Кэмпбелла, линейно связывающей интенсивность потока со средним значением и дисперсией пуассоновского процесса, и выражения (17), можно утверждать:

$$\bar{X} = \frac{1}{(H-L) \cdot Z} \sum_l \sum_j \xi(i, t_j) = K_M \cdot C, \quad (18)$$

$$D = \frac{1}{(H-L) \cdot Z} \sum_i D(\xi(j, i)) = K_D \cdot C, \quad (19)$$

где K_M и K_D – коэффициенты пропорциональности.

Во второй главе в рамках модели измерительного преобразователя описаны характеристики импульсного сигнала (13), получены аналитические

выражения, связывающие его параметры с концентрацией клеток (18, 19) и со средним временем пересечения проекции и ЛФП (16).

Третья глава посвящена разработке аппаратных средств пространственно-временного контроля оптических характеристик взвеси и программных средств, обеспечивающих обработку полученных сигналов.

Была разработана структурная схема ИП (рисунок 2), которая в своей основе содержит: ИПТУН – источник постоянного тока, управляемый напряжением; ПИП – первичный измерительный преобразователь; СИД – светоизлучающий диод; СФПП – система формирования параллельного пучка; Д – диафрагма; ИО – исследуемый объект; А – аттенюатор; ДКВ – схема двойной коррелированной выборки; УВХ – устройство выборки хранения; ДРВ – драйвер АЦП; БФГТС – блок формирования гальванотаксических сигналов; СУСП – схема управления световым потоком; ВУ – вычитающее устройство; У – усилитель; ЦП – цифровой потенциометр; АЦП – аналого-цифровой преобразователь; ЦАП – цифро-аналоговый преобразователь; МК – микроконтроллер; РИПН – регулируемый источник постоянного напряжения; БУ – буферный усилитель; ДУ – дифференциальный усилитель; СУН – схема установки нуля; Э – электроды; UASRT/USB – преобразователь интерфейсов; ПК – персональный компьютер.

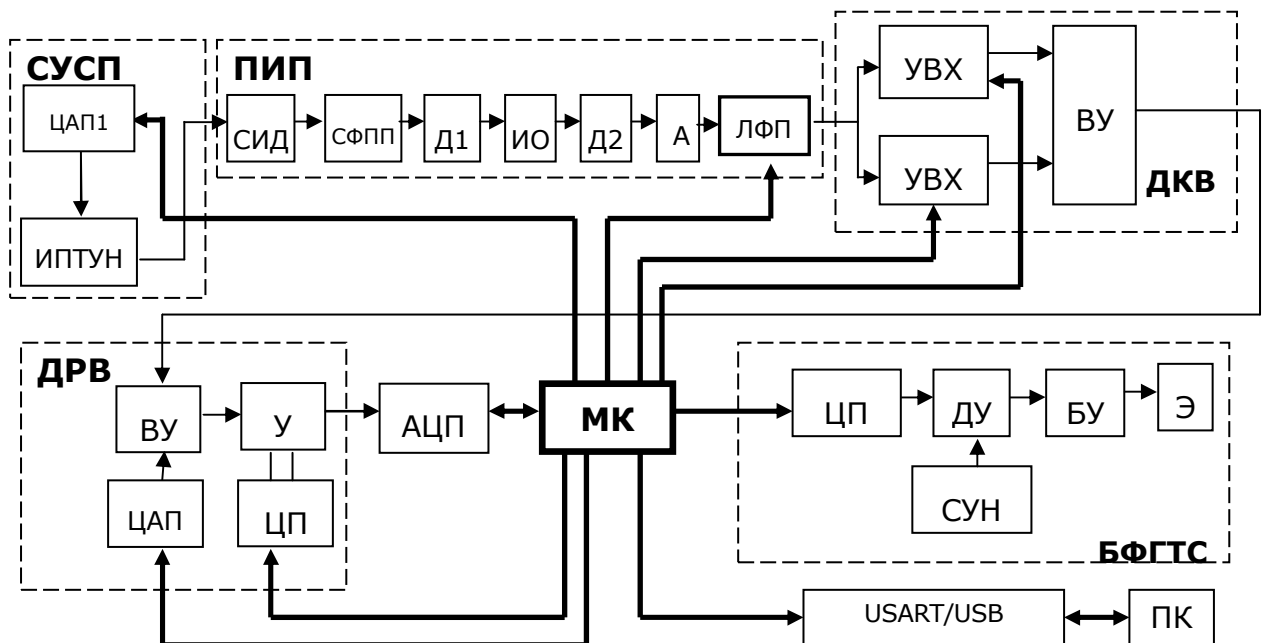


Рис. 2. Структурная схема измерительного преобразователя.

При разработке метода оптического контроля взвеси была выведена зависимость энергетической освещённости $E_{ИИЭ}$ [Вт/м²] ФП от параметров оптической системы:

$$E_{ИИЭ} = \frac{P_{\text{раб}} (1 - r_{\text{отр}})^m q \cdot \rho(\lambda)}{\pi (R + r \cdot \text{tg } \varphi)^2} (1 - \tau_{\text{в}}) \quad (20)$$

где $P_{\text{раб}}$ [Вт] – поток излучения источника; $\rho(\lambda)$ – спектральный коэффициент пропускания оптического аттенюатора; $(1 - r_{\text{отр}})^m$ – величина, учитывающая

отражение при прохождении m границ раздела стекло-воздух; q - доля светового потока, проходящего через оптическую систему; τ_b - коэффициент ослабления транзитивной составляющей при прохождении водной среды; R [м] - радиус апертуры СФПП; φ [рад] - угол расхождения коллимированного потока; r [м] - расстояние от СФПП до ФП.

На основе (20) для напряжения выходного сигнала интегрирующего ФП:

$$U_{\text{вых}} = E_{\text{ИИЭ}} t_{\text{н}} S_{\lambda} \cdot (1 - \tau_b) / V_{\lambda}, \quad (21)$$

где $t_{\text{н}}$ - время накопления заряда; S_{λ} - чувствительность ФП в лк/(м²с); V_{λ} - коэффициент видности для используемого монохроматического излучения.

При условии постоянства величин $r_{\text{отр}}$, τ_b , l , q , ρ_{λ} , V_{λ} путём математических преобразований было получено выражение для максимальной систематической относительной погрешности:

$$\frac{\Delta U_{\text{вых}}}{U_{\text{вых}}} = \left| \frac{\Delta t_{\text{н}}}{t_{\text{н}}} \right| + \left| \frac{2r\Delta\varphi}{(R + rtg\varphi)\cos^2\varphi} \right| + \left| \frac{\Delta S_{\lambda}}{S_{\lambda}} \right| + \left| \frac{\Delta P_{\text{пасп}}}{P_{\text{пасп}}} \right|, \quad (22)$$

где $\frac{\Delta P_{\text{пасп}}}{P_{\text{пасп}}}$, $\frac{\Delta S_{\lambda}}{S_{\lambda}}$, $\frac{\Delta t_{\text{н}}}{t_{\text{н}}}$ - относительные погрешности светового потока ИИ,

чувствительности, времени накопления ФП; $\Delta\varphi$ - абсолютная погрешность угла расхождения φ .

Для интегрирующих ФП с площадью $A_{\text{ФП}}$ [м²] с квантовой эффективностью $\eta(\lambda)$ было получено выражение отношения числа сигнальных фотоэлектронов к среднеквадратическому числу шумовых фотоэлектронов при наличии фоновой интенсивности $E_{\text{фонЭ}}$ [Вт/м²] света и аттенюатора со спектральным коэффициентом пропускания $\rho(\lambda)$:

$$\frac{N_e}{N_{\text{СКО}}} = \frac{\tau_{\text{кк}} A_{\text{ФП}} \left((1 - K_{\text{осл}}) \cdot E_{\text{ИИЭ}} \int_{\lambda_1}^{\lambda_2} \frac{\rho(\lambda)\eta(\lambda)}{hc/\lambda} d\lambda \right)}{\sqrt{\tau_{\text{кк}} A_{\text{ФП}} \left((1 - K_{\text{осл}}) \cdot E_{\text{ИИЭ}} \int_{\lambda_1}^{\lambda_2} \frac{\rho(\lambda)\eta(\lambda)}{hc/\lambda} d\lambda + E_{\text{фонЭ}} \int_0^{\infty} \frac{\rho(\lambda)\eta(\lambda)}{hc/\lambda} d\lambda \right) + n_{\text{ФП}}^2}}, \quad (23)$$

где $K_{\text{осл}}$ - см. (10); $t_{\text{кк}}$ [с] - см. (2).

Для схемы ИП (рис. 2) было получено выражение для описания СКО суммарного шума:

$$\sigma_{\Sigma} = \sqrt{(N_{\text{СКО}}^2 + \sigma_{\text{вш}}^2 + \sigma_{\text{у}}^2) \cdot K_{\text{у}}^2 + \sigma_{\text{у}}^2 + \sigma_{\text{АЦП}}^2} \quad (24)$$

$N_{\text{СКО}}$ - фотонный шум, $\sigma_{\text{вш}}$ - СКО внутреннего шума ФП; $\sigma_{\text{у}}$ - СКО шума усилителей; $\sigma_{\text{АЦП}}$ - СКО шума квантования АЦП.

Было выявлено, что суммарный шум ИП определяется $N_{\text{СКО}}$.

Файл данных ИП формируется в памяти ПК, подключённого по интерфейсу к микроконтроллеру, опрашивающему АЦП. С помощью разработанной программы в ПК производится считывание данных ИП и установка режимов работы ИП и БФГТС.

Последовательность, реализующая обработку файла данных в соответствии с зависимостями (7, 8, 16, 18, 19), показана на рисунке 3.

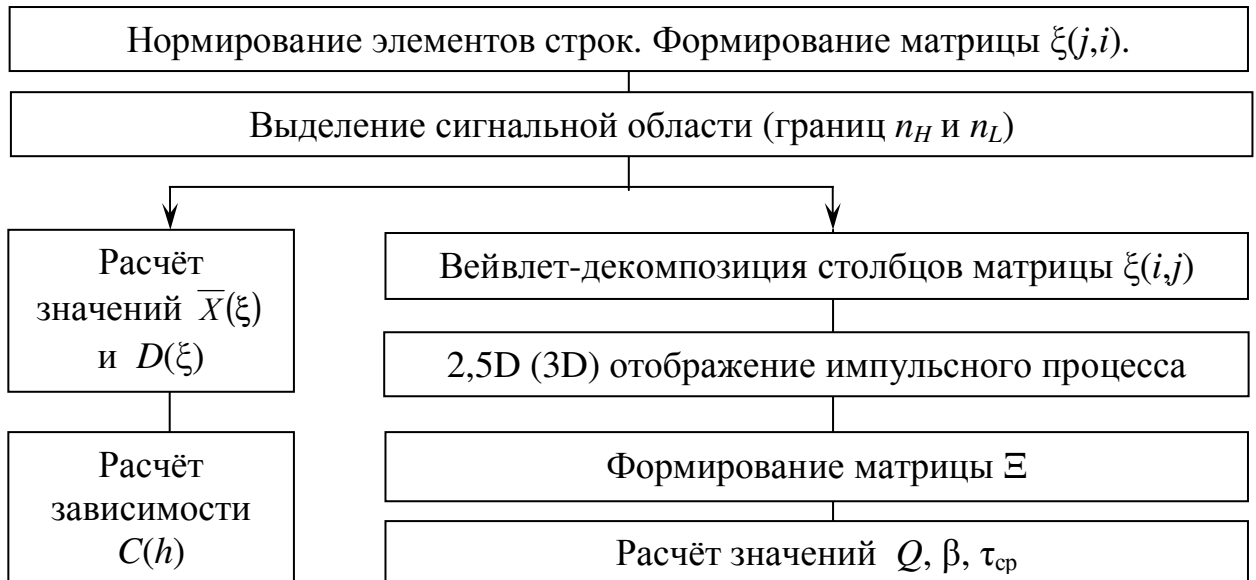


Рис. 3. Последовательность обработки файла данных.

Разработанные аппаратные и программные средства контроля взвеси позволяют выделить информативные параметры, отражающие среднюю концентрацию клеток в слое и их подвижность.

В четвёртой главе приведены результаты биотестовых экспериментов, проведённых на макете экспериментальной установки.

Разработанные программные средства для выявления информативных признаков сигнала включали несколько видов программного обеспечения: операционная система для контроллера ИП, программа ПК для взаимодействия с контроллером ИП и установки параметров БФГТС (см. рисунок 2), программы статистической обработки данных, вейвлет-анализа, определения τ_{cp} , преобразования импульсного процесса в графический вид. Программа обработки файла данных разработана в среде MatLab.

На основе макета экспериментальной установки ИП (рисунок 4) была построена биотехническая система (БТС) для исследования калибровочных зависимостей, тест-реакций летальности (Л), хемотаксиса (ХТ) и гальванотаксиса (ГТ). Схема БТС представлена на рисунке 4. В соответствии со схемой БТС проведён ряд экспериментов со штаммом инфузорий *P. Caudatum*.

Спектральный диапазон источника и приёмника излучения ПИП выбран на основе предварительного измерения спектральных характеристик аттенюатора и взвеси инфузорий на спектрофотометре СФ-56. В качестве ЛФП использована ПЗС-линейка с высотой 28,5 мм и 2048 фотоприёмниками.

Размеры фотоприёмников использованной ЛФП на порядок меньше поперечного сечения клетки.

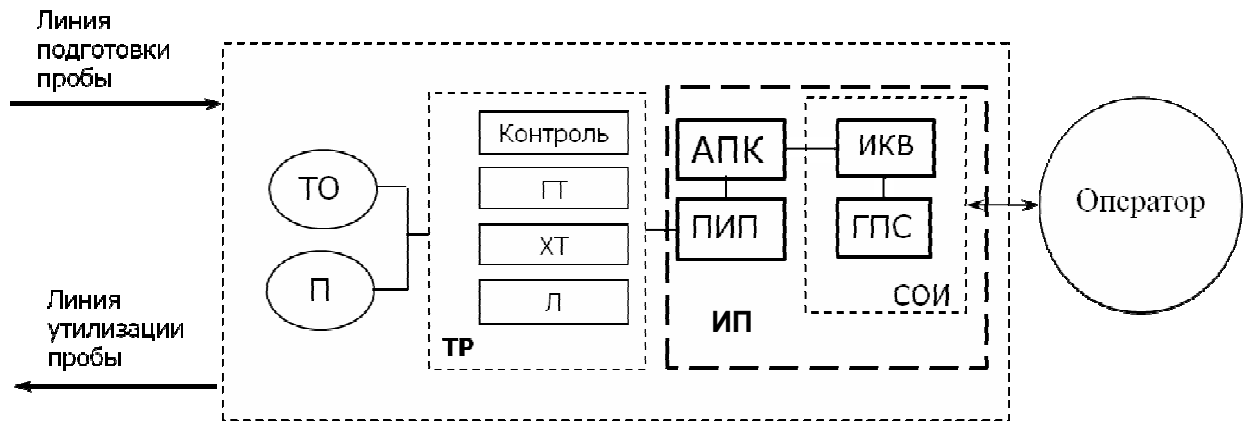


Рис. 4. ТО - тест-объект; П - проба; ТР- тест-реакция, ГТ –тест-реакция гальванотаксиса; ХТ – тест-реакция хемотаксиса; Л – тест-реакция летальности; ИКВ - измеритель средней концентрации и времени импульса от подвижных клеток; ГПС – графический преобразователь структуры; СОИ –система отображения информации; ПИП – первичный измерительный преобразователь, ИП –измерительный преобразователь, АПК – аппаратно программный комплекс.

Проведение экспериментов по исследованию формы импульса полезного сигнала и расчёты коэффициентов корреляции Пирсона между теоретической и экспериментальной зависимостями (рисунок 5) позволило сделать вывод о возможности аппроксимации полезного сигнала импульсом Гаусса.

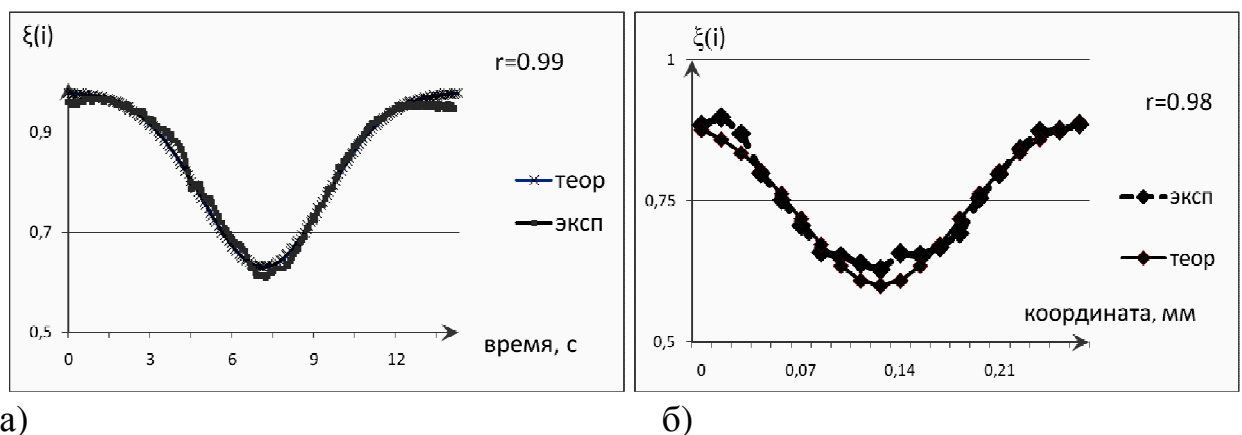


Рис. 5. Сравнение теоретической и экспериментальной кривых сигнала от движения одной клетки: а) развёртка во времени (движение клетки замедлено, получено 190 кадров); б) импульс в сигнале кадра.

На основе выявленной формы импульса был выбран метод вейвлет-анализа для выделения событий A см. (1) и формирования матрицы Ξ см (7). Пример полученных значений вейвлет-коэффициентов (ВК), исходного сигнала кадра (ИСК) и выделенных событий A (Соб) представлены на рисунке 6.

Были проведены исследования зависимости информативных параметров сигнала от концентрации клеток. Результаты сравнения теоретической и экспериментальной зависимостей параметра $Q(C)$ см. (6) приведены на рисунке 7 ($r=0.98$). Экспериментальная кривая аппроксимируется теоретической вида: $y=A \cdot C - B \cdot C^2$ (A и B – неотрицательные коэффициенты), что соответствует формуле (6).

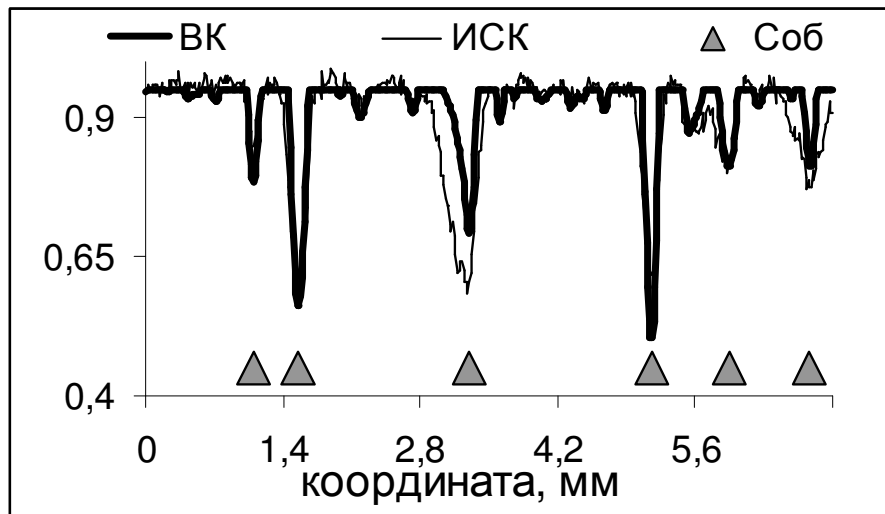


Рис. 6. Выделение событий.

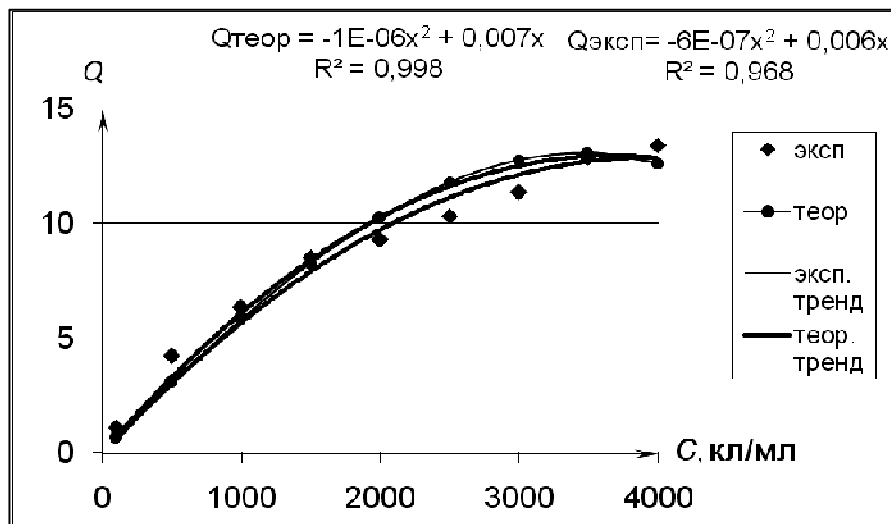


Рис. 7. Зависимость $Q(C)$.

Для проверки справедливости выражений (18) и (19) проведены исследования зависимостей параметров \bar{X} и D от концентрации клеток в диапазоне от 100 – 3500 кл/мл. Для каждой из 8-ми концентраций было получено 5 измерений. Рассчитанные коэффициенты регрессии приведены в таблице 1.

Результаты регрессионного анализа.

$f(C)$	Коэффициент регрессии	Значение	P-value	F	$F_{кр}$	R^2
$\bar{X}_\xi(C)$	b_0	0.853	$1.5 \cdot 10^{-15}$	932	5,99	0.99
	b_1	$-2.1 \cdot 10^{-5}$	$8.2 \cdot 10^{-8}$			
$D_\xi(C)$	b_0	$9.58 \cdot 10^{-6}$	0,975	188		0.97
	b_1	$1,97 \cdot 10^{-6}$	$9,4 \cdot 10^{-6}$			

Для тест-реакций летальности, хемотаксиса и гальванотаксиса, а также для свободного движения инфузорий с помощью предложенного метода оптического контроля взвесей получены случайные импульсные процессы (13), отражающие распределение концентрации инфузорий и характер их движения. Эти процессы на рисунке 8 отображены в виде контурной графики при движении инфузорий в среде без добавки вязкого вещества (А) и с добавкой (Б) (2,5%-ный раствор поливинилового спирта) и при реакции гальванотаксиса (В).

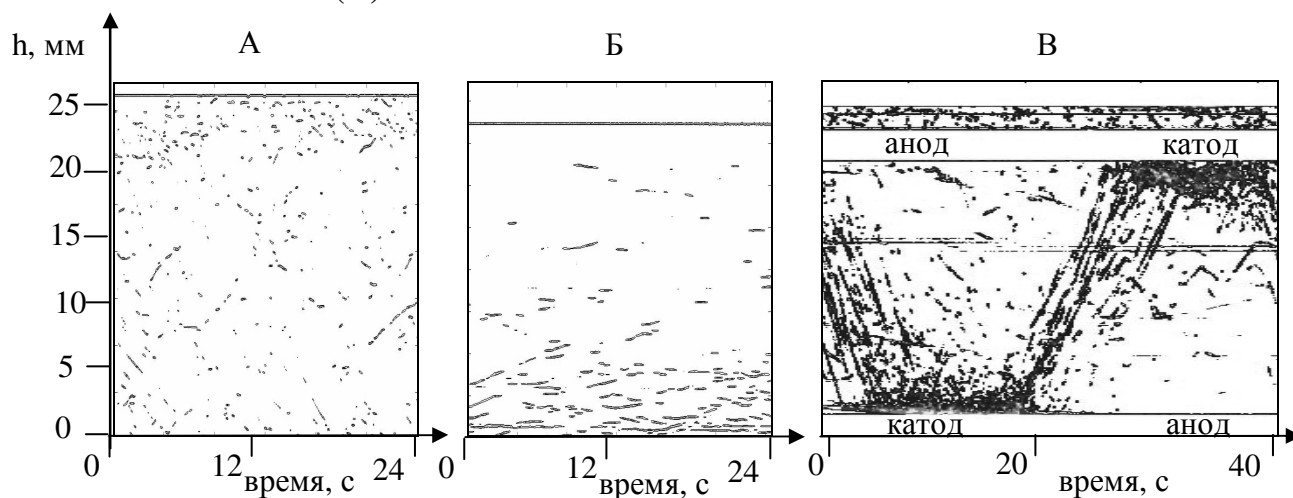


Рис. 8. Экспериментальные данные в виде контурной графики.

На рисунке 9 показаны распределения концентраций инфузорий при реакции хемотаксиса для двух концентраций токсиканта в верхней части кюветы.

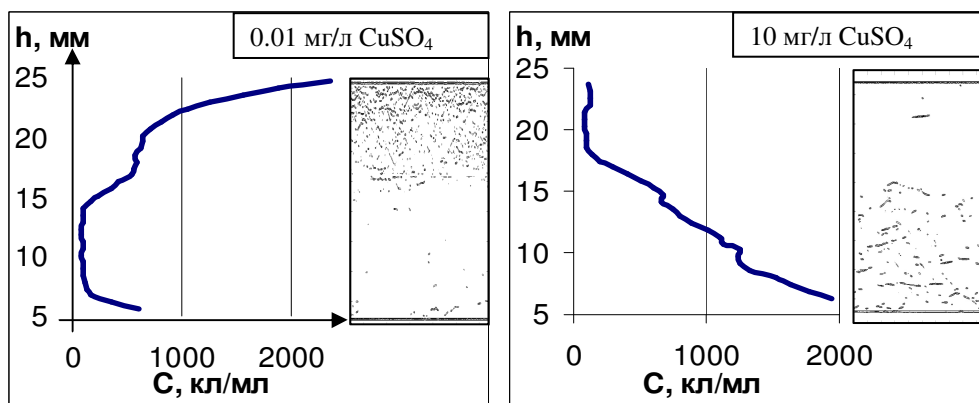


Рис. 9. Графики распределения концентрации инфузорий

На рисунке 10 показаны значения параметра β , см. (16), при различных концентрациях поливинилового спирта и модельного токсиканта CuSO_4 .

Различия в начальных значениях β объясняется тем, что в опытах были использованы разные концентрации, так же влияющие на скорость.

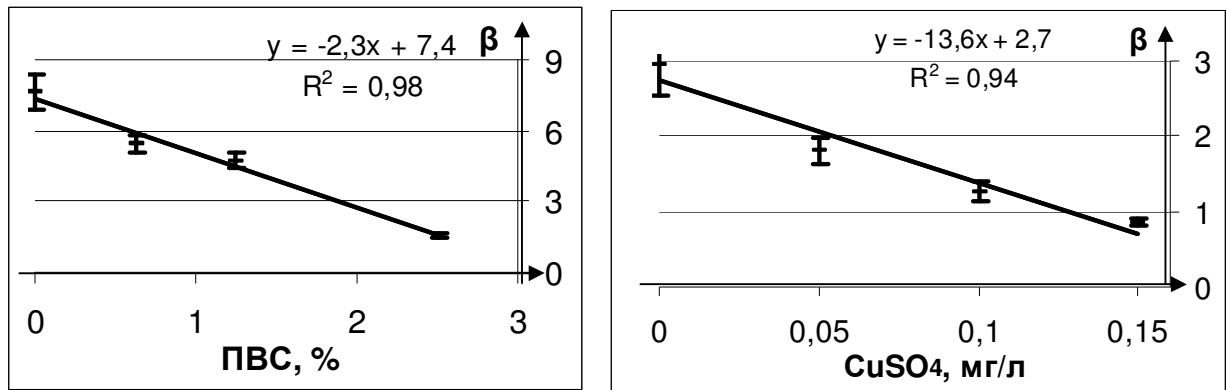


Рис. 10. Изменение параметра β .

Проведённые эксперименты подтвердили справедливость основных положений модели, показали возможность применения одного ИП для контроля 3-х тест-реакций, позволили рассматривать параметр импульсного сигнала β как дополнительную характеристику динамики клеток и токсичности водной среды.

В заключении сформулированы основные научные и практические результаты работы, полученные автором.

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ДИССЕРТАЦИОННОЙ РАБОТЫ

1. Разработана математическая модель, устанавливающая связь между свойствами популяции инфузорий и параметрами пространственно-временного распределения экстинкции взвеси микроорганизмов.

2. Разработан метод и средства контроля пространственно-временного распределения экстинкции взвеси инфузорий для биотестирования.

3. Разработаны программные средства для определения распределения концентрации клеток по высоте кюветы и расчёта параметра их средней скорости движения.

4. На основе разработанных методов создан макет экспериментальной установки и проведены исследования, подтвердившие основные зависимости модели, что открывает новые возможности повышения чувствительности и экспрессности биотестовых реакций и комплексного биотестирования водных сред.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Издания, рекомендованные ВАК России:

1. Захаров И.С. Проектирование аппаратуры для комплексного биотестирования среды / А.В. Завгородний, И.С. Захаров, А.В. Пожаров // Известия СПбГЭТУ «ЛЭТИ» (Известия государственного электротехнического университета), Сер. Биотехнические системы в медицине и экологии. – 2006. – №3. – С.78-84.

2. Захаров И.С. Биотестовые аппаратурные средства и методы контроля локомоций инфузорий / А.В. Завгородний, И.С. Захаров // Известия Южного федерального университета. Технические науки, Тематический выпуск «Медицинские информационные системы». – 2008. – №5(82). – С. 205-209.

Другие статьи и материалы конференций:

1. Захаров И.С. Особенности проектирования биотестовых систем. / А.В. Завгородний, И.С. Захаров, А.В. Пожаров // Сборник научных трудов II научно-практической конференции «Современные проблемы прикладной информатики», посвященной 100-летию Университета ИНЖЕКОН. – Санкт-Петербург, 2006. – С. 137-141.
2. Захаров И.С. Устройство комплексного биотестирования токсичности водных сред в условиях чрезвычайных ситуаций. / А.В. Завгородний, И.С. Захаров, А.С. Ковалевская // Материалы научно-практической конференции «Проблемы прогнозирования и предотвращения чрезвычайных ситуаций и их последствий». – Санкт-Петербург, 2006. – С. 95-98.
3. Захаров И.С. Биологические реакции для комплексного тестирования токсичности среды. / А.В. Завгородний, И.С. Захаров, А.С. Ковалевская // Труды Второго Международного научного конгресса «Нейробиотелеком-2006». – Санкт-Петербург, 2006. – С. 209-210.
4. Завгородний А.В. Экологическая информационная система для контроля токсичности водных сред с использованием реакций полосового хемотаксиса. / А.В. Завгородний // Сборник Докладов на X Международной конференции по мягким вычислениям и измерениям SCM-2007. – Санкт-Петербург, 2007. – С. 189-191.
5. Завгородний А.В. Биотехническая система для контроля популяции микроорганизмов / А.В. Завгородний // Известия СПбГЭТУ «ЛЭТИ» (Известия государственного электротехнического университета), Сер. Биотехнические системы в медицине и экологии. – 2006. – №2. – С. 55-61.
6. Захаров И.С., Завгородний А.В. Система аппаратурного исследования структуры популяции / А.В. Завгородний // Материалы XII Всероссийской конференции по проблемам науки и высшей школы. – Санкт-Петербург, 2008. – С. 271-272.
7. Завгородний А.В. Алгоритмическое обеспечение программно-аппаратного комплекса для определения концентрации подвижных микроорганизмов / А.В. Завгородний // Известия СПбГЭТУ «ЛЭТИ» (Известия государственного электротехнического университета), Сер. Биотехнические системы в медицине и экологии. – 2008. – №3. – С.78-85.
8. Завгородний А.В. Динамические характеристики структуры популяции как информативный параметр токсичности / А. В. Завгородний, А.С. Мелехеда // Материалы XI Санкт-Петербургской международной конференции Региональная информатика-2008 «РИ-2008». – Санкт-Петербург, 2008. – С. 269-270.