

УДК 621.317.7.084

© И. С. Захаров, А. В. Ваганов

ИЗМЕРИТЕЛЬ КОНЦЕНТРАЦИИ ПОДВИЖНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ В МАКРО- И МИКРООБЪЕМАХ

В статье рассмотрен измеритель концентрации подвижных микроорганизмов, основанный на измерении интенсивности пуассоновского потока пересечений микроорганизмами поверхности.

ВВЕДЕНИЕ

Измерение концентрации подвижных инфузорий является актуальной задачей для решения экологических и медицинских задач. В экологических исследованиях по уменьшению доли концентрации подвижных организмов можно оценивать токсичность химических веществ и смесей. В медицинских исследованиях аналогичные измерения проводятся для исследования эндотоксикоза путем определения токсичности сыворотки крови. О степени токсичности судят по уменьшению за определенное время концентрации живых (подвижных) инфузорий на 50 % или в общем случае на X %. Если оценку токсичности водных сред возможно проводить в больших кюветах, то токсичность сыворотки крови желательнее исследовать в микрообъемах (минимальный забор крови у пациента).

Обычно число живых инфузорий измерялось методами микроскопного счета в каплях среды. Однако это очень трудоемкий и длительный способ. При создании прибора, позволяющего производить измерения концентрации таких инфузорий в макро- и микрообъемах проб, необходимо разработать модель измерительного преобразователя (ИП). Физико-математическая модель ИП является развитием модели, описанной в [1].

ЗАДАЧА ПОСТРОЕНИЯ ИЗМЕРИТЕЛЯ КОНЦЕНТРАЦИИ ИНFUZOРИЙ В МАКРООБЪЕМАХ

Оптическая модель популяции инфузорий может быть описана равномерной взвесью рассеивающих сфер с радиусом r и коэффициентом дифракции $\rho = 2\pi r/\lambda > 100$, где λ — длина волны падающего света. Расстояние между клетками много больше размеров частиц. Экологические (поведенческие) особенности движения инфузорий характеризуются прямолинейными перемещениями ("пробегами") под случайным углом на расстояние ε с частотой смены направлений ν .

Моменты изменения направлений движения образуют случайный поток. Будем полагать, что случайный поток — пуассоновский. Возможным обоснованием этого предположения может быть то, что изменение направления есть результат суммирования случайных информационных потоков, воспринимаемых множеством сенсоров-ресничек, расположенных по периметру инфузории. В экспериментах наблюдалось (например, при воздействии некоторых антибиотиков), что частота смены направлений и длина "пробега" взаимосвязаны. Иными словами, инфузории могут перемещаться или, редко меняя направления, длинными "пробегами", либо, часто меняя направления, короткими "пробегами".

Для обнаружения движущихся инфузорий предлагается физико-математическая модель измерителя подвижных биологических объектов. Движущиеся частицы находятся в объеме оптического ИП между источником излучения (ИИ) (монокроматическим, коллимированным) и фотоприемником (ФП) (рис. 1, а). Подвижные рассеивающие частицы с $\rho > 100$, движущиеся в освещенном объеме, создают ореол рассеяния на ФП. Из работ Шифрина К.С. [2] известно, что суммарная интенсивность света на фотоприемнике от такой движущейся частицы (например, капли дождя) не меняется при движении частицы в потоке излучения вдоль и поперек. Поэтому, пока частицы находятся внутри освещенного объема, суммарная освещенность ФП не меняется (справедливо для случая малой концентрации частиц). Ее изменение возникает при выходе частиц из контролируемого фотоприемником объема или вхождении их внутрь (рис. 1, а). Если фиксировать изменения сигнала ФП, то появляется возможность счета подвижных биологических частиц в результате образования случайного потока импульсов. Пусть концентрация частиц в единице объема равна C . Поток возникает за счет движения частиц из приграничного слоя, толщиной не превышающего среднюю величину ε "пробега" инфузорий (рис. 1, б). Интенсивность потока зависит от концентрации частиц в объеме:

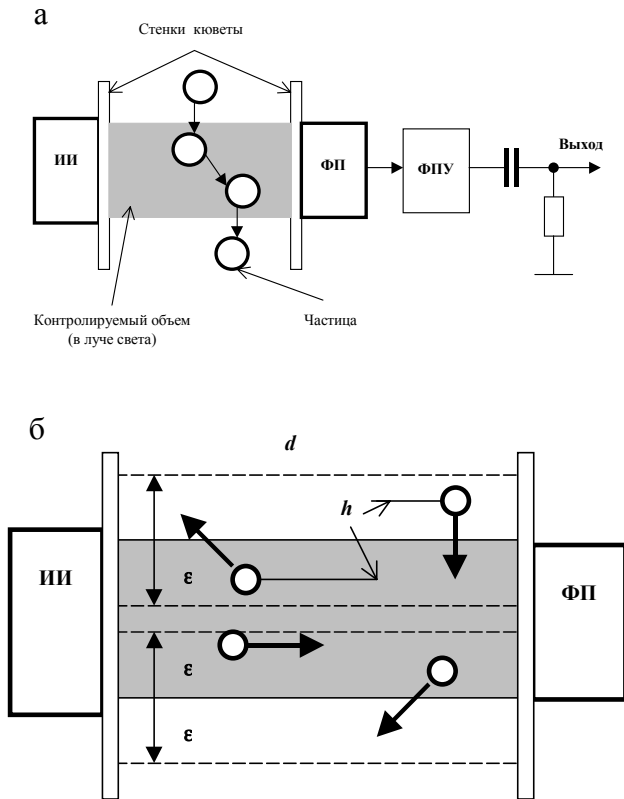


Рис. 1. Оптический ИП для измерения концентрации подвижных инфузорий (а) и поток частиц через границы контролируемого им объема (б). ИИ — источник излучения, ФП — фотоприемник, ФПУ — фотопреобразующий усилитель, h — величина расстояния частицы до границ контроля ИП, ϵ — толщина приграничных слоев

$$\Lambda = 2 \cdot C \cdot L \cdot \epsilon \cdot v \cdot d \cdot p, \quad (1)$$

где L — периметр ФП; d — расстояние между ИИ и ФП; ϵ и v — параметры движения инфузорий, которые обсуждались ранее; p — вероятность для частиц пересечения границы освещенного объема при изменении направления.

Расчет вероятности p основан на следующих предположениях: а) частица находится на случайном расстоянии h от границы ($h \leq \epsilon$); б) частица перемещается скачком под случайным углом на расстояние ϵ . Расчет вероятности p аналогичен задаче Бюффона, т. к. "тень" частицы проецируется на поверхность ФП. Для расчета интенсивности Λ важна не величина вероятности, а ее равенство для всех частиц. Так как ϵ и v взаимосвязаны, то:

$$\Lambda = K \cdot C, \quad (2)$$

где K — коэффициент, зависящий от конструкции ИП и вида микроорганизма.

Число частиц, пересекающих границу ИП за время T ,

$$N = \Lambda \cdot T. \quad (3)$$

В данном случае полагаем, что объем кюветы с частицами много больше контролируемого объема, т. е. в опытах используется большое число частиц (взвесь с концентрацией C).

ЗАДАЧА МАКСИМИЗАЦИИ ИНТЕНСИВНОСТИ ПОТОКА ЧАСТИЦ ДЛЯ СЛУЧАЯ МАЛОГО ИХ ЧИСЛА

Если измеряется концентрация частиц в микрообъемах сыворотки крови, то необходимо учитывать конечность числа частиц в объеме. Тогда одни и те же частицы могут снова изменять направление при соприкосновении со стенками кюветы (такой эффект случайного "отражения" наблюдается при экспериментальных исследованиях) и многократно повторно пересекать границы контролируемого объема ИП. Суммарный однородный поток с независимым приращением "отражений" также будет иметь пуассоновский характер. Важно, что эти свойства обуславливают эргодичность траекторий частиц (то есть одинаковую плотность), что позволяет измерять интенсивность потока в любом месте контролируемого объема.

Даже в случае нарушения условий случайности "отражения" частиц от границы в суммарном потоке с независимыми приращениями возможно выделить пуассоновский поток, т. к., согласно теореме Леви, каждый процесс с независимыми приращениями является суммой трех независимых процессов (которые не обязательно все присутствуют): детерминированного (центрального), с независимыми приращениями со скачками в фиксированные моменты времени, стохастически непрерывного с независимыми приращениями [3].

Непрерывная часть любого процесса с независимыми приращениями есть либо гауссовский процесс с независимыми приращениями, либо пуассоновский, либо их сумма. Поэтому в случае движения частиц пуассоновский поток с независимыми приращениями со скачками в фиксированные моменты времени по Леви будет обязательно присутствовать.

При построении модели будем считать постоянной не концентрацию C , а число частиц n . Тогда концентрация

$$C = \frac{n}{V_{\text{общ}}}. \quad (4)$$

Здесь $V_{\text{общ}}$ — общий объем взвеси в ИП.

Если объем приграничных слоев (рис. 1, б): $V_{пр.} = 2 \cdot L \cdot \varepsilon \cdot d$, тогда интенсивность потока частиц в ИП, согласно формуле (1),

$$\Lambda_{ИП} = \frac{n}{V_{общ.}} V_{пр.} \cdot v \cdot p. \quad (5)$$

Следовательно, интенсивность потока определяется долей числа частиц приграничных слоев от общего числа частиц в контролируемом объеме.

Рассмотрим возможности максимизации интенсивности потока.

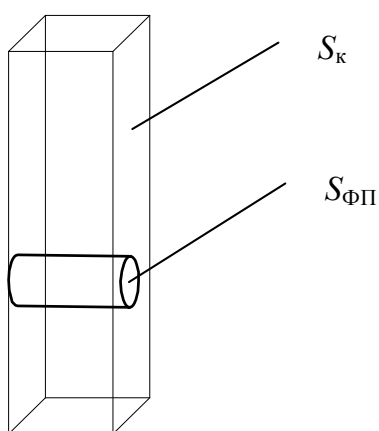


Рис. 2. Соотношение площади ФП с площадью стенки кюветы. S_k — площадь грани кюветы, $S_{ФП}$ — площадь фотоприемника

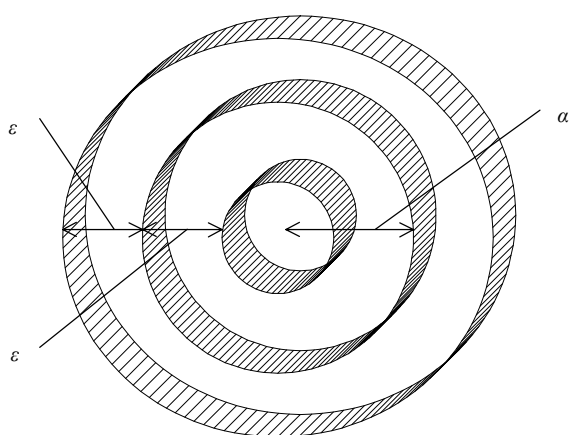


Рис. 3. Вариант ФП. a — радиус ФП, ε — толщина приграничных слоев

Увеличение относительной величины приграничного объема

Для увеличения соотношения $\frac{V_{пр.}}{V_{общ.}}$ до ≈ 1 площадь ФП должна быть сравнима с площадью бокового сечения кюветы (рис. 2). Если ФП имеет форму круга радиусом a (рис. 3), то

$$\begin{aligned} S_{ФП} &= \pi \cdot a^2, \quad L_{ФП} = 2 \cdot \pi \cdot a, \\ V_{пр.} &= 4 \cdot \pi \cdot d \cdot a \cdot \varepsilon. \end{aligned} \quad (6)$$

Площадь внутреннего сечения ИП и его внутренний объем

$$S_{ИП} = \pi(a + \varepsilon)^2, \quad V_{общ.} = \pi \cdot d(a + \varepsilon)^2. \quad (7)$$

Концентрация частиц в этом объеме

$$C = \frac{n}{\pi \cdot d(a + \varepsilon)^2}. \quad (8)$$

Увеличение вероятности пересечения границы ИП инфузориями

Максимизация потока за счет увеличения p возможна, если поток отражается от границ и создает дополнительные независимые приращения. Интенсивность потока для ИП с учетом (6–8)

$$\Lambda_{ИП} = \frac{4 \cdot n \cdot \pi \cdot a \cdot \varepsilon \cdot d}{d \cdot \pi(a + \varepsilon)^2} (v \cdot p). \quad (9)$$

Определим, при каком соотношении a и ε интенсивность потока будет максимальна. Пусть $a = k \cdot \varepsilon$. Тогда

$$\Lambda_{ИП} = 4 \cdot n \cdot v \cdot p \left(\frac{k}{(k + 1)^2} \right). \quad (10)$$

Значение $\Lambda_{ИП}$ будет максимально при $k = 1$, т. е. $a = \varepsilon$.

ИП для микрообъема может иметь, например, форму капилляра. В таком случае отношение интенсивности потока в ИП к интенсивности потока во всем объеме кюветы Λ_k при одних и тех же значениях $S_{ФП}$, n , d и $a = \varepsilon$

$$\frac{\Lambda_{ИП}}{\Lambda_k} = \frac{\frac{n}{V_{общ.}} V_{пр.} \cdot v \cdot p}{\frac{n}{V_{об.к}} V_{пр.} \cdot v \cdot p} = \frac{S_k}{4 \cdot S_{ФП}}. \quad (11)$$

Здесь $V_{об.к} = S_k \cdot d$, где S_k — площадь грани кюветы (рис. 2), которая заполнена инфузориями, d — толщина кюветы.

Так, если площадь грани стандартной фотометрической кюветы $S_k \approx 5 \text{ см}^2$, а $S_{\text{ФП}} \approx 4 \text{ мм}^2$ (например, для фотодиода ФД-256), то выигрыш по потоку при использовании ИП в виде капилляра может достигать 30 раз.

Оценка интенсивности потока событий может проводиться согласно алгоритмам, приведенным, например, в работе [4].

ВЫВОДЫ

1. В статье описана физико-математическая модель измерителя концентрации подвижных инфузорий, основанная на этологических (поведенческих) и оптических свойствах данных микроорганизмов.

2. Предложен ИП, позволяющий измерять концентрацию инфузорий в микрообъемах и обоснованы его основные характеристики.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Захаров И.С.* Метод и аппаратура для измерений концентраций инфузорий в медико-экологических исследованиях. Автореф. дис.

... канд. техн. наук. СПб., 1996. 16 с.

2. *Шифрин К.С.* Введение в оптику океана. Л.: Гидрометеиздат, 1983. 278 с.
3. *Венцель Е.С., Овчаров Л.А.* Теория случайных процессов и ее инженерные приложения. М.: Наука, 1991. 383 с.
4. *Кокс Д., Льюис П.* Статистический анализ последовательностей событий. М.: Мир, 1969. 354 с.

Санкт-Петербургский государственный электротехнический университет (Захаров И.С.)

Санкт-Петербургский государственный университет телекоммуникаций им. проф. М.А. Бонч-Бруевича (Ваганов А.В.)

Материал поступил в редакцию 29.04.2004.

A TRANSDUCER FOR MEASURING LIVE MICROORGANISMS IN MACRO- AND MICROVOLUMES

I. S. Zakharov, A. V. Vaganov*

St. Petersburg State Electrotechnical University

**St. Petersburg State University of Telecommunication named after Prof. M.A. Bonch-Bruевич*

The transducer is based on measuring the Poisson flow intensity of live microorganisms across the photodetector area.