

Документ подписан простой электронной подписью  
Информация о владельце:  
ФИО: Локтионова Оксана Геннадьевна  
Должность: проректор по учебной работе  
Дата подписания: 31.12.2020 13:36:44  
Уникальный программный ключ:  
0b817ca911e6668abb13a5d426d39e5f1c11eabbf73e943df4a4851fda56d089

## МИНОБРНАУКИ РОССИИ

Федеральное государственное бюджетное  
образовательное учреждение высшего образования  
"Юго-Западный государственный университет"  
(ЮЗГУ)

Кафедра биомедицинской инженерии



## ФОТОМЕТРИЧЕСКАЯ ТЕХНИКА

Методические указания к проведению лабораторных работ для  
студентов направления подготовки 12.03.04 - "Биотехнические  
системы и технологии"

Курск 2017

УДК 615.478

Составитель Д.Е.Скопин

Рецензент

Доктор технических наук, профессор *И.Е. Чернецкая*

Фотометрическая техника: методические указания к проведению лабораторных работ / Юго-Зап. гос. ун-т; сост. Д.Е.Скопин. - Курск, 2017. - 10 с.: ил. 1, табл.1. - Библиогр.: с. 10.

Содержатся сведения, необходимые для выполнения лабораторных работ по фотометрической технике.

Методические указания по структуре, содержанию и стилю изложения материала соответствуют методическим и научным требованиям, предъявляемым к учебным и методическим пособиям.

Предназначены для студентов направления подготовки 12.03.04 очной и заочной форм обучений.

Текст печатается в авторской редакции

Подписано в печать

Формат 60x84 1/16

Усл. печ.л. . Уч. -изд.л. Тираж 100 экз. Заказ. Бесплатно.

Юго-Западный государственный университет

305040, г.Курск, ул. 50 лет Октября, 94

## Лабораторная работа №1

### Колориметрические методы анализа для определения гемоглобина в крови

1.1. Цель работы: изучить основы лабораторного анализа по определению количества гемоглобина в крови с использованием современных колориметров.

#### 1.2. Краткие теоретические сведения

Гемоглобин – основной дыхательный пигмент и главный компонент эритроцита, выполняющий важные функции в организме человека: перенос кислорода из легких в ткани и углекислого газа из тканей в легкие. Он также играет существенную роль в поддержании кислотно-основного равновесия крови. Буферная система, создаваемая гемоглобином, способствует сохранению рН крови в определенных пределах. Гемоглобин представляет собой сложный белок, относящийся к группе гемопротеинов; белковый компонент в котором представлен глобином, небелковый – протетической группой. Протетическая группа в молекуле гемоглобина представлена 4 одинаковыми железопорфириновыми соединениями, которые называются гемами.

Определение содержания гемоглобина в крови человека является одним из самых важных и массовых показателей. Для определения гемоглобина чаще всего анализируют производные гемоглобина, образовавшиеся в процессе его окисления и присоединения к гему различных химических групп, приводящих к изменению валентности железа и окраски раствора.

Для рутинных лабораторных исследований наиболее предпочтительны колориметрические методы, как наиболее дешевые, простые и быстрые в исполнении. Кровь человека – это нормальная смесь производных гемоглобина с различными спектрами поглощения. При количественном определении гемоглобина колориметрическими методами возникает проблема в выборе реагента, который превращал бы все производные гемоглобина только в одну форму перед фотометрическим анализом. Лучшими методами, количественно превращающими гемоглобин в его производные, оказались

гемиглобинцианидный (HbCN), гемихромный (HbChr) и гемиглобиназидный (HbN<sub>3</sub>), которые при фотометрировании дают наименьшую ошибку определения среди других методов анализа.

### 1.3. Ход выполнения работы

Определение гемоглобина в крови традиционно проводится на основе измерения окрашенного железопорфиринового комплекса. При этом используются разные фотометрические методы: цианметгемоглобиновый метод Драбкина, аммиачный метод и другие. Принцип этих методов заключается в подготовке из цельной крови с помощью трансформирующих растворов биопроб с последующим их фотометрированием.

Гемиглобинцианидный метод (метод Драбкина). В этом методе Fe<sup>+2</sup> гемоглобина окисляется до Fe<sup>+3</sup>метгемоглобина, который затем переводится в стабильный цианметгемоглобин (CNmetHb). Абсорбция CNmetHb измеряется при 540 нм, при которой имеется максимум абсорбции. Этот метод характеризуется высокой точностью, простотой исполнения, дешевизной и возможностью выполнения на гематологических анализаторах. Для гемиглобинцианида фактор пересчета коэффициента оптической плотности в концентрацию гемоглобина является известной величиной и равен 367.7(X=540 нм). Расчет проводится по следующей формуле:

$$Hb(\text{г/л}) = 367,7 \times A_{540\text{нм}}$$

где  $A_{540\text{нм}}$  - абсорбция раствора гемоглобина при длине волны 540 нм.

Ход определения. В пробирку с 5 мл трансформирующего раствора добавляют 20 мкл крови (капилляр Сали, разведение 1:251). Содержимое пробирки тщательно перемешивают и оставляют на 10 мин. Измерения проводят на спектрофотометре при длине волны 540 нм или на фотоэлектроколориметре при длине волны 520-560 нм (зеленый светофильтр) в кювете с длиной оптического пути 10 мм против холостой пробы (трансформирующий раствор.).

При использовании спектрофотометра с точной величиной длины волны (540 нм), расчет проводят по указанной выше формуле. При использовании ФЭК и зеленого светофильтра расчёт содержания

гемоглобина производят по специальному калибровочному графику, который строится отдельно для каждого фотометра.

#### 1.4 Содержание отчета

1. Титульный лист
2. Задание на лабораторную работу
3. Порядок выполнения работы
4. Полученные экспериментальные данные

#### Контрольные вопросы

1. Назовите основные функциональные узлы оптических измерительных приборов.
2. Приведите общие характеристики ламп накаливания и светодиодов.
3. Назовите основные типы и параметры оптических фильтров.
4. Раскройте суть понятия основные оптические системы.
5. Раскройте основные направления разработки новейших оптоаналитических устройств.

## Лабораторная работа №2

### Изучение сахариметра и определение концентрации глюкозы в крови

#### 2.1. Цель работы

Получить практические навыки по лабораторному определению уровня сахара в крови, а также овладеть навыками подготовки, использованию и настройке лабораторного сахариметра.

#### 2.2. Краткие теоретические сведения

При прохождении плоскополяризованного света через некоторые кристаллы и растворы органических соединений, таких как камфора, кокаин, никотин, сахаристые вещества, плоскость колебания вектора  $E_{\sim}$  поворачивается. Вещества, обладающие способностью вращать плоскость колебаний, называются оптически активными. На опыте установлено существование двух направлений вращения плоскости колебаний. Если поворот плоскости колебаний вектора  $E_{\sim}$  для наблюдателя, смотрящего навстречу проходящему лучу, совершается по часовой стрелке, то вещество называется правовращающим, а против часовой стрелки — левовращающим. Почти все оптически активные  $Z$  вещества существуют в двух модификациях: правовращающие и левовращающие.

Зависимость угла поворота плоскости колебаний поляризованного света от концентрации оптически активных растворов дает возможность быстро и надежно определять их концентрацию. Метод определения заключается в следующем. Между скрещенными поляризатором и анализатором (установленными на темноту) помещают трубку с раствором вещества. В результате поворота плоскости поляризации поле зрения просветляется. Для определения угла поворота надо повернуть анализатор до получения первоначального состояния поля зрения. Если известны постоянная вращения  $\alpha_0$  и угол поворота  $\phi_0$ , то концентрацию легко рассчитать по приведенной выше формуле (2.1). Приборы, применяемые для определения концентрации оптически активных растворов, называются поляриметрами (частный случай — сахариметрами).

### 2.3. Порядок выполнения работы

Настройка сахариметра. Порядок настройки. 1. Включите прибор в сеть, а тумблер на передней панели поставьте в положение “Вкл.” 2. Установите на резкость окуляр зрительной трубы, ориентируясь при этом на линию раздела полей, которая должна быть видна абсолютно резко. (Резкость подстройте и после помещения в камеру кюветы с раствором.) 3. Установите на резкость лупу отсчетного устройства, ориентируясь при этом на шкалу. 8 4. Порядок выполнения работы 4. Проверьте положение “нуля” прибора. Для этого, при отсутствии в камере поляриметрической кюветы, вращением рукоятки кремальерной передачи добейтесь одинаковой освещенности обеих половин поля зрения. При этом нулевые деления шкалы и нониуса должны совпасть. (Если совпадения нет, то обратитесь к лаборанту для настройки прибора или учтите поправку на “нуль” при измерениях.) После настройки сахариметра приступите к измерениям.

Определение концентрации раствора сахара. Для определения концентрации в камеру поместите трубку с раствором неизвестной концентрации и найдите угол поворота плоскости поляризации, как в задании 3. Измерение угла поворота произведите не менее пяти раз. Результаты измерений занесите в таблицу 2, по форме аналогичную таблице 1. Концентрацию сахара в растворе рассчитайте по формуле  $c = \frac{\phi}{\alpha \ell}$ . Стандартную ошибку определите по формуле  $\Delta c = s \frac{\partial c}{\partial \phi} (\Delta \phi)^2 + \frac{\partial c}{\partial \alpha} (\Delta \alpha)^2 + \frac{\partial c}{\partial \ell} (\Delta \ell)^2$ . Окончательно результат запишите в виде  $c = (c \pm \Delta c)$  г/см<sup>3</sup> при  $\alpha = 23$

### 2.4 Содержание отчета

1. Титульный лист
2. Задание на лабораторную работу
3. Порядок выполнения работы
4. Полученные экспериментальные данные

## Контрольные вопросы

1. Понятие о фотометрических измерительных приборах.
2. Физическая сущность и основы фотометрического метода анализа.
3. Закон Бугера-Бера.
4. Качественные и количественные характеристики светопоглощения.
5. Графическое отображение фотометрического измерения.
6. Методы прямой фотометрии и фотометрического титрования.



## Лабораторная работа №3

Применение фотометрического анализа в стационарных оксиметрах.

### 3.1. Цель работы

Изучить практические подходы к определению уровня оксигенации крови с использованием стационарных лабораторных оксиметров.

### 3.2. Краткие теоретические сведения

Одной из важнейших функций крови в организме является дыхательная функция, которая заключается в обеспечении кислородного обмена. Как известно, кислород находится в крови в двух состояниях, в особой лабильной непрочной связи с гемоглобином, т.е. в виде оксигемоглобина, и в свободном растворенном виде в плазме крови. Свободный и связанный кислород находится между собой в состоянии равновесия. С изменением количества свободного, соответственно меняется количество связанного кислорода, которого, в принципе, в 80 - 100 раз больше, чем свободного.

Свободный растворенный кислород, как всякий растворенный в жидкости газ, развивает определенное напряжение. Содержание растворенного кислорода прямо пропорционально его напряжению и зависит от растворимости газа (т.е. коэффициента его абсорбции) и от температуры. Коэффициент абсорбции кислорода  $a$  в плазме при температуре 37 равен 0,023 (для  $CO_2$   $a = 0,510$ ), а напряжение кислорода в артериальной крови равно 90 мм. рт. ст.

Оксигеметрией называется фотометрический метод непрерывного измерения степени насыщения крови кислородом, основанный на спектральных особенностях гемоглобина. Зависимость между пропусканием монохроматического света и концентрацией поглощающего свет вещества выражается законом Бугера - Ламберта - Бера, согласно которому числовое значение логарифма поглощения света пропорционально концентрации  $c$  растворенного вещества. Предложенная в 70-х годах методика фотооксигеметрии основана на использовании принципов фотоплетизмографии, позволяющих выделить артериальную составляющую абсорбции света для определения оксигенации артериальной крови. Измерение этой составляющей дает возможность использовать спектрофотометрию для неинвазивного

мониторинга сатурации артериальной крови кислородом. Согласно закону Бугера - Ламберта - Бера: интенсивность  $I_0$  падающего света при распространении в среде уменьшается по закону

$$I = I_0 \exp(-ecl),$$

где  $l$  - толщина слоя,  $e$  - показатель поглощения (на единицу концентрации  $c$  вещества), величина абсорбции света пропорциональна толщине слоя поглощающего вещества, т.е. при исследовании кровотока определяется размером сосуда или объемом крови, проходящим через исследуемый участок тканей.

Принцип действия прибора основывается на определении встроенным датчиком уровня концентрации растворённого кислорода. Химический процесс, называемый диффузией, направляет кислород внутрь датчика, на котором расположены электроды, производящие электрический ток. На основе тока, концентрация газа преобразовывается в цифровые данные, которые впоследствии передаются на дисплей. В условиях повышенной температуры и давления в жидкости используются оксиметры. Измерения таким прибором проводятся с помощью магнита, на основе того, что небольшое создаваемое магнитное поле легко притягивает элементы кислорода. Различные модификации современных анализаторов кислорода отличаются уровнем чувствительности, среднеквадратическим отклонением и диапазоном проведения измерений. Особенно ценится в модифицированных приборах линейность исследования – это точное снятие показателей на протяжении длительного времени. Газоанализатор кислорода имеет высокие эксплуатационные характеристики, приемлемую скорость калибровки и обладает незаменимыми техническими характеристиками. Качество прибора обуславливается повышенной эффективностью химических исследований

#### 3.4. Порядок выполнения работы

1. Получите у преподавателя раствор глюкозы.
2. Разбавьте раствор в концентрации 1:10
3. Подготовьте полученный раствор к измерению в окиметре используя стандартное руководство пользователя

4. Внесите раствор в оксиметр, произведите измерение оксигенации и запишите результаты измерения

5. Используя встряхивание раствора в течение 10 минут, насытите раствор кислородом

6. Повторите измерение оксигенации и запишите повторные результаты

### 3.4. Содержание отчета

1. Титульный лист
2. Задание на лабораторную работу
3. Порядок выполнения работы
4. Полученные экспериментальные данные

### Контрольные вопросы

1. Электромагнитное излучение, его свойства и зависимости от частоты.
2. Проникающая, преломляющая и отражающая способности сред
3. Принципы фотоколориметрии.
4. Основы спектрофотометрии.
5. Сущность инфракрасной спектроскопии

## **Разработка пользовательского интерфейса фотометрического измерительного прибора.**

**4.1. Цель работы:** Изучение сбора и анализа исходных данных для проектирования программного обеспечения современного цифрового фотометрического измерительного прибора с графическим интерфейсом.

### **4.2 Краткие теоретические сведения**

Графический пользовательский интерфейс (GUI) представляет собой удобный для пользователя механизм взаимодействия с приложением. Графический интерфейс (произносится как «ГОО-ее») дает приложению отличительный «внешний вид». Графические интерфейсы создаются из компонентов GUI. Иногда они называются элементами управления или виджетами - для оконных гаджетов. Компонент GUI - это объект, с которым пользователь взаимодействует с помощью мыши, клавиатуры или другой формы ввода. Многие IDE (программы, которые позволяют графический интерфейс проектирования) предоставляют инструменты проектирования графического интерфейса, с помощью которых вы можете указать точный размер и местоположение компонента визуально. IDE генерирует для вас код GUI. Хотя это значительно упрощает создание графических интерфейсов, вы не можете понять все свойства и события компонентов. По этой причине мы написали GUI-код руками.

При разработке Java-программы важно выбрать соответствующие компоненты графического интерфейса пользователя (GUI) Java. Есть два основных набора компонентов, с которыми вы, скорее всего, будете строить свои Java-программы. Эти две группы компонентов называются абстрактным инструментарием окна (AWT) и Swing. Обе эти группы компонентов являются частью Java Foundation Classes (JFC). Оба пакета содержат много классов, которые позволяют создавать графические интерфейсы в ваших программах. Чтобы использовать его, вы должны открыть соответствующие пакеты: `import javax.swing.*;` Для компонентов `swing` и импорта `java.awt.*;` Для компонентов `awt`.

Какие компоненты лучше? Ниже мы обобщили оба пакета для описания преимуществ и недостатков каждого из них.

### **Обзор AWT**

AWT означает абстрактное окно Toolkit. Инструмент Abstract Window Toolkit поддерживает графическое программирование на Java. Это портативная графическая библиотека для автономных приложений и / или апплетов. Инструментарий Abstract Window Toolkit обеспечивает соединение между вашим приложением и собственным GUI. AWT обеспечивает высокий уровень абстракции для вашей Java-программы, поскольку он скрывает вас от базовых деталей графического интерфейса, в котором будет работать ваша программа. AWT включает в себя: богатый набор компонентов пользовательского интерфейса; Надежная модель обработки событий; Графические и визуальные инструменты.

Swing реализует набор компонентов GUI, которые основаны на технологии AWT и обеспечивают удобный внешний вид. Возможности Swing включают в себя: все функции AWT, 100% чистые Java сертифицированные версии существующего набора компонентов AWT (Button, Scrollbar, Label и т.д.); Богатый набор компонентов более высокого уровня (например, древовидный вид, окно списка и панели с вкладками). Компоненты Swing не зависят от операционной системы для обеспечения их функциональности. Таким образом, эти компоненты часто называют «легкими» компонентами.

В общем, компоненты AWT подходят для простой разработки или разработки апплетов, ориентированных на определенную платформу (например, программа Java будет работать только на одной платформе). Для большинства других разработок Java GUI вы захотите использовать компоненты Swing. Также обратите внимание, что компоненты Oracle NetBeans IDE и Borland с добавленной стоимостью, включенные в JBuilder, например, dbSwing и JBCL, основаны на компонентах Swing, поэтому, если вы хотите использовать эти компоненты, вы захотите основать свою разработку на Swing.

JOptionPane (пишется как есть) является частью java swing library. Для этого требуется оператор импорта в верхней части программы. Вот что такое утверждение:

```
import javax.swing.JOptionPane;
```

or

```
import javax.swing.*;
```

Статические методы в классе `JOptionPane` позволяют легко создавать модальные диалоги для отображения сообщений `JOptionPane.showMessageDialog`, чтобы рассказать пользователю о чем-то, что произошло;

`JOptionPane.showConfirmDialog`, чтобы задать подтверждающий вопрос, например `yes / no / cancel`.

`JOptionPane.showInputDialog`, чтобы ввести некоторую информацию, такую как текст или цифры;

`JOptionPane.showOptionDialog`, чтобы выбрать один из множества кнопок;

Каждый из этих методов возвращает `int`, определяющую, какая кнопка была нажата, или `String`, определяющая выбранную опцию.

Подробное описание всех статических методов класса `JOptionPane`, расположенного ниже:

`JOptionPane.showMessageDialog (parentComponent, message)`; Отображает модальное диалоговое окно с одной кнопкой, которая помечена как «ОК». Вы можете легко указать сообщение, значок и название, отображаемое диалоговым окном. В простейшем случае метод принимает два параметра: `parentComponent` (или `null` вместо него) и `String` constant «message», который является отображаемым текстом. Первый параметр «parentComponent» определяет компонент, который должен быть родителем этого диалогового окна. Он используется двумя способами: кадр, который содержит его, используется в качестве родителя кадра для диалогового окна, а его координаты экрана используются при размещении диалогового окна. В общем случае диалоговое окно размещается чуть ниже компонента. Этот параметр может быть нулевым, и в этом случае в качестве родителя используется кадр по умолчанию, и диалог будет центрироваться на экране.

Пример: кода

```
JOptionPane.showMessageDialog(  
null, "This is text Message \n to be displayed");
```

Вы можете выделить текст, используя одну строку или много строк, используя \n разделитель. Также вы можете настроить заголовок сообщения и значок, который будет представлен на нем. В следующем примере используется полный синтаксис метода:

```
JOptionPane.showMessageDialog(  
null, "My message", "My  
title", JOptionPane.WARNING_MESSAGE) ;
```

Создает сообщение с текстом «My message», заголовок «My title» и значок «!». Согласно параметру

#### **4.3 Задание для лабораторной работы.**

1. Получите у преподавателя набор исходных данных, которые должен определять проектируемый фотометрический прибор
2. Проведите анализ полученных данных, сформулируйте техническое задание на разработку прибора
3. Используя объектный подход к проектированию разработайте графическое представление интерфейса разрабатываемого прибора
4. Используя интегрированную среду Eclipse и библиотеку AWT и Swing создайте программу, эмулирующую работу фотометрического прибора.

#### **4.4 Содержание отчета**

1. Титульный лист
2. Задание на лабораторную работу
3. Листинг программы
4. Скриншот работы приложения

#### **4.5. Контрольные вопросы**

1. Назовите основные разделы в разработке блока питания фотометрического прибора
2. В чем состоит основная проблема при разработке модуля измерения
3. Назовите основные этапы разработки вычислительной системы и системы управления
4. Расскажите о сущности разработки системы сопряжения с ПЭВМ
5. Назовите основные этапы разработки программного обеспечения ПЭВМ с графическим интерфейсом для управления и получения данных фотометрического измерительного прибора