

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
НОВГОРОДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМЕНИ ЯРОСЛАВА МУДРОГО

Н. П. Корнышев

**ТЕЛЕВИЗИОННАЯ ВИЗУАЛИЗАЦИЯ И
ОБРАБОТКА ИЗОБРАЖЕНИЙ
ЛЮМИНЕСЦИРУЮЩИХ ОБЪЕКТОВ
В КРИМИНАЛИСТИКЕ,
МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ И МЕДИЦИНЕ**

ВЕЛИКИЙ НОВГОРОД
2004

УДК 621.397.13
решению
К67

Печатается по
РИС НовГУ

Рецензент

Заведующий кафедрой радиопередающих и телевизионных устройств
Санкт-Петербургского государственного университета
аэрокосмического приборостроения, доктор технических наук,
профессор **Б. С. Тимофеев**

Корнышев Н. П.

К67 Телевизионная визуализация и обработка изображений
люминесцирующих объектов в криминалистике, молекулярной
биологии и медицине / НовГУ им. Ярослава Мудрого. – Великий
Новгород, 2004. – с.

В монографии рассматриваются основные законы люминесценции, ее применение в криминалистике, молекулярной биологии и медицине, принципы построения телевизионных спектральных систем (ТСС) и их основные компоненты, теоретические аспекты создания оптимальной моноспектральной ТСС, методы обработки и количественного анализа изображений люминесцирующих продуктов полимеразной цепной реакции после электрофореза в гелях и изображений газоразрядного свечения участков кожного покрова тела человека для медицинской диагностики и мониторинга за состоянием основных систем организма человека. Приводятся конструктивные особенности и технические характеристики аппаратуры, предназначенной для этих целей.

Предназначена для студентов, аспирантов, преподавателей соответствующих специальностей, а также специалистов в области прикладного телевидения и пользователей аппаратуры.

УДК 621.397.13

© Новгородский государственный
университет, 2004
© Н. П. Корнышев, 2004

Предисловие

Монография к.т.н., доцента Н.П.Корнышева «Телевизионная визуализация и обработка изображений люминесцирующих объектов в криминалистике, молекулярной биологии и медицине» посвящена актуальному и активно развиваемому в настоящее время в НИИ промышленного телевидения «Растр» направлению прикладной телевизионной техники. Работа содержит научные результаты, которые способствуют решению задач повышения чувствительности аппаратуры, улучшения качества телевизионных изображений люминесцирующих объектов, а также получения их количественных характеристик.

Монография состоит из четырех глав, введения и заключения, а также списка литературы, содержащего 84 публикации, 16 из которых выполнены автором лично или в соавторстве.

В первой главе монографии приведены основные понятия, связанные с явлением люминесценции, рассмотрены вопросы ее применения в технико-криминалистической экспертизе документов, в молекулярно-биологических методах, связанных с регистрацией результатов электрофореза в гелях продуктов полимеразной цепной реакции (ПЦР), а также с использованием явления газоразрядного свечения участков кожного покрова человека для мониторинга за состоянием основных систем организма и медицинской диагностики.

Во второй главе монографии рассмотрены принципы построения телевизионных спектральных систем (ТСС) для визуализации фотолюминесценции, их основные компоненты, теоретические аспекты создания оптимальной телевизионной моноспектральной системы, а также вопросы обработки и количественного анализа люминесцирующих ПЦР-продуктов.

В третьей главе приводятся технические характеристики и конструктивные особенности ТСС, созданных в НИИ промышленного телевидения «Растр» в ходе ряда ОКР, проведенных под непосредственным руководством автора монографии, выпускаемых в настоящее время серийно и успешно используемых в экспертно-криминалистических службах различной ведомственной принадлежности, в художественно-реставрационных работах, а также в геномной дактилоскопии.

Четвертая глава работы посвящена телевизионной визуализации газоразрядного свечения. В ней описаны принципы построения и серийные образцы телевизионной аппаратуры, созданные в НИИ промышленного телевидения «Растр» в ходе совместных с Санкт-Петербургским институтом точной механики и оптики проектов, руководимых автором монографии, рассмотрены методы съемки газоразрядных изображений и построения моделей для их диагностической интерпретации, а также обсуждены вопросы стабильности аппаратуры и произведена оценка погрешностей измерения основных количественных характеристик

газоразрядного свечения, связанных с флуктуациями видеосигнала телевизионного датчика.

Монография несомненно будет полезна как для студентов и аспирантов соответствующих специальностей, так и для специалистов в области прикладного телевидения и пользователей аппаратуры.

В.П.Кузьмин, директор ФГУП НИИ ПТ «Растр», к.т.н.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение.....	7
Глава 1. Люминесценция в криминалистике, биологии, медицине	
1. Виды люминесценции. Основные понятия.....	9
2. Фотолюминесценция в технико-криминалистической экспертизе документов.....	24
3. Фотолюминесценция продуктов полимеразной цепной реакции (ПЦР)	32
4. Электролюминесценция (газоразрядное свечение) в медицинской диагностике.....	51
Глава 2. Телевизионная визуализация фотолюминесценции.....	
1. Принципы построения телевизионных спектральных систем (ТСС)	59
2. Источники возбуждения люминесценции (ИВЛ).....	68
3. Приемники люминесценции	103
4. Оптимальная телевизионная спектральная система	131
5. Улучшение качества люминесцентных изображений	139
6. Количественный анализ изображений люминесцирующих продуктов ПЦР	141
7. Вопросы автоматизации диагностики инфекционных заболеваний по изображениям люминесцирующих ПЦР-продуктов в гелях	147
Глава 3. Телевизионная аппаратура для визуализации фотолюминесценции	
1. Телевизионные спектральные системы для криминалистических экспертиз.....	155
2. Телевизионные системы для визуализации продуктов ПЦР	176
Глава 4. Телевизионная визуализация газоразрядного свечения	
1. Структурная схема и особенности конструкции телевизионной системы для визуализации газоразрядного свечения.....	181
2. Аппаратно-программная часть системы визуализации газоразрядного свечения	187
3. Методы телевизионной съемки газоразрядного свечения	190

4. Конструирование моделей для оценки функционального состояния организма человека по изображениям газоразрядного свечения пальцев рук.....	202
5. Обработка газоразрядных изображений и алгоритмы определения их внутренних областей	207
6. Телевизионная аппаратура для визуализации газоразрядного свечения.....	210
7. Стабильность аппаратуры визуализации газоразрядного свечения.....	216
 Заключение	 224
Примечания	226

ВВЕДЕНИЕ

Увидеть слабо различимые или совсем невидимые невооруженным глазом объекты, расширить возможности человеческого зрения – важная прикладная задача телевидения. Один из способов обнаружения таких объектов – это возбуждение люминесценции под действием внешних источников. Явление люминесценции широко используется в криминалистике, биологии, медицине.

В настоящее время вместо визуального наблюдения и фотографирования широко используется телевизионный метод визуализации люминесцирующих объектов, который в сочетании с методами компьютерной обработки позволяет не только оперативно получать качественные изображения, но и производить их количественную оценку.

Необходимость обнаружения слабого свечения исследуемых объектов, например, из-за предельно малых количеств люминесцирующих веществ, требует повышения чувствительности телевизионных систем, а возникающие задачи обработки изображений с целью повышения их качества, выделения наиболее информативных признаков и получения количественных характеристик свечения требуют новых подходов и технических решений при разработке аппаратуры и программного обеспечения.

В предлагаемой работе сделана попытка обобщения более чем десятилетнего опыта разработки телевизионных систем такого рода, рассмотрен ряд идей и подходов для решения практических инженерных задач, а также описаны серийно выпускаемые телевизионные системы визуализации люминесцирующих объектов.

Работа предназначена для специалистов в области прикладного телевидения, пользователей данного класса аппаратуры, аспирантов и студентов высших учебных заведений соответствующих специальностей.

Разработка – это труд коллективный. Выражаю глубокую благодарность в создании тех образцов техники и программного обеспечения, которые описаны в книге, специалистам НИИ промышленного телевидения, а именно: Е.В. Андреевой, В.В. Бутусову,

Н.С. Никитину, Г.А. Камышеву, Н.И. Смирнову, С.А. Архипову, Н.Г. Трошину, А.Н. Герасимову, В.Е. Антонову, А.В. Тимофеевой, Н.С. Крыловой, Н.А. Мелешко, Г.В. Луций и др. Отдельно хотелось бы упомянуть людей, у которых в процессе научно-производственной деятельности мне многому удалось научиться. Это прежде всего Г.С. Новиков, В.А. Максимов, О.Ф. Родионов, Ю.Ф. Коркунов.

В работе над книгой оказали поддержку и дали ценные советы директор НИИПТ – В.П. Кузьмин, гл. инженер НИИПТ – В.И. Челпанов, Б.С. Тимофеев – заведующий кафедрой радиопередающих и телевизионных устройств Санкт-Петербургского государственного университета аэрокосмического приборостроения, заведующий каф. «Радиофизики и электроники» НовГУ – Е.В. Петров, профессор НовГУ – С.Н. Бритин. Хочется высказать признательность сотрудникам Московского городского центра ДНК-исследований за консультации по вопросам обработки изображений ПЦР-продуктов, а также сотрудникам лаборатории и лично профессору К.Г. Короткову за консультации по прикладной и медицинской биоэлектрографии. Я благодарю также аспирантку НовГУ Н.И. Ефимову за большую помощь в оформлении рукописи книги.

ГЛАВА 1

ЛЮМИНЕСЦЕНЦИЯ В КРИМИНАЛИСТИКЕ, БИОЛОГИИ, МЕДИЦИНЕ

1. Виды люминесценции. Основные понятия

Определение и классификация люминесценции. Люминофоры. Особенности и природа люминесценции. Характеристики люминесцирующих веществ. Правило Стокса, Стокса–Ломмеля, Лёвшина. Закон Вавилова. Квантовый и энергетический выходы. Кинетика процесса. Люминесцентный анализ.

Классификация процессов люминесценции и их протекание

Все виды самосвечения, кроме свечения нагретых тел, называют *холодным свечением* или *люминесценцией*. Люминесценция является избирательным свойством тел, хотя и весьма распространенным, причем, излучение не может принять равновесный характер в отличие от теплового излучения. Люминесценция прекращается, как только будет израсходована энергия того процесса, который её вызывает. Поэтому говорят, что при люминесценции тело *высвечивает* фотоны [1].

Люминесценция (от лат. *lumen* – свет и *-escent* – слабое действие) – это свечение веществ, избыточное над их тепловым излучением при данной температуре и возбужденное какими-либо источниками энергии. Это излучение может быть вызвано бомбардировкой вещества электронами и другими заряженными частицами, пропусканием через вещество электрического тока, освещением вещества ультрафиолетовым или видимым светом, рентгеновскими и гамма-лучами, а также некоторыми химическими реакциями в веществе (гниение органических веществ, окисление фосфора и т. п.).

Люминесцентное излучение вызывается сравнительно небольшим числом атомов, молекул или ионов, которые после внешнего воздействия переходят в возбужденное состояние. При этом на определенных более высоких уровнях может находиться значительно большее число атомов, чем на нижележащих (*«инверсная заселённость уровней»*). Их последующее возвращение в нормальное или менее возбужденное состояние

сопровождается испусканием люминесцентного излучения. Длительность свечения обусловлена длительностью возбужденного состояния, которое, помимо свойств люминесцирующего вещества (*люминофора*), зависит от окружающей среды. Если возбужденное состояние метастабильно, то время пребывания в нем частицы может достигать 10^{-4} с, что соответственно увеличивает и длительность люминесценции.

На рис. 1.1 показана схема установки для изучения люминесценции различных веществ.

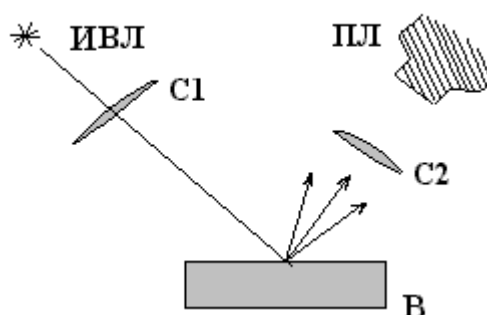


Рис. 1.1. Общая схема установки

ИВЛ – источник возбуждения люминесценции (для детальных исследований он должен давать монохроматические участки спектра различных длин волн); В – исследуемое вещество; С1 – светофильтр, выделяющий спектр поглощения исследуемого люминесцирующего вещества; С2 – светофильтр, выделяющий спектр люминесценции исследуемого вещества; ПЛ – приемник люминесценции, с помощью которого она регистрируется

Люминофорами являются:

- 1) пары и газы некоторых элементов (натрий, сера, иод, кислород);
- 2) соли некоторых веществ и их растворы (большинство неорганических солей не люминесцируют, исключение составляют соединения лантаноидов: цезия, празеодима, неодима и др.);
- 3) ряд органических веществ (бензол и его производные, нафталин, антрацен и др.; красители: флуоресцеин, родамины и др.);
- 4) кристаллические неорганические вещества, содержащие в своей структуре (в небольшом количестве) примеси ионов тяжелых металлов

(напр., сернистый цинк, в кристаллическую структуру которого введены ионы меди или марганца).

Металлы в твердом и в жидком состоянии не люминесцируют. Некоторые вещества обнаруживают люминесцентные свойства только при определенных условиях (низкие температуры, выбор специального красителя, необходимая концентрация в растворе и т. п.) [2].

Люминесценцию классифицируют:

- 1) по природе процессов, вызывающих возбуждения атомов и молекул;
- 2) по длительности послесвечения;
- 3) по происходящим при возбуждении внутриатомным процессам.

1) Люминесценция под действием света называется *фотолюминесценцией*, под действием бомбардировки электронами — *катодолюминесценцией*, под действием электрического поля — *электролюминесценцией*, под действием химических превращений — *хемилюминесценцией*.

Фотолюминесценция возбуждается светом видимой или ультрафиолетовой области спектра. Для сложных люминесцирующих веществ (сложные молекулы, конденсированные среды) спектральный состав фотолюминесценции не зависит от длины волны света, вызывающего люминесценцию, и подчиняется правилу Стокса. Наблюдаются линейчатые, полосатые и сплошные спектры фотолюминесценции. Ее характер существенно зависит от агрегатного состояния вещества.

Электролюминесценция в газах вызывается электрическим разрядом, в котором энергия возбуждения сообщается молекулам газа механизмом электронного или ионного удара. Возбужденное состояние при электролюминесценции всегда вызывается прохождением какого-либо тока и связано с наличием электрического поля. Электролюминесценция возникает при развитии газового разряда вокруг объекта, помещенного в переменное электрическое поле высокой напряженности (эффект Кирлиан). В твердых телах электролюминесценция наблюдается, например, на *p-n*-переходе в полупроводниках.

Хемилюминесценция сопровождает некоторые экзотермические химические реакции. Химические превращения в веществе сопровождаются перестройкой внешних электронных оболочек атомов. Излучение света приводит к образованию химического соединения с более устойчивой в данном окружении и при данных условиях электронной конфигурацией. Хемилюминесценция часто сопровождает процессы окисления с образованием более устойчивых продуктов сгорания (свечение высокотемпературных и низкотемпературных пламен, а также свечение при рекомбинации перекисных радикалов в цепном окислении жидких углеводородов).

2) Люминесценция, прекращающаяся сразу после окончания действия возбудителя свечения называется *флуоресценцией*; сохраняющаяся длительное время после прекращения действия возбудителя свечения (не менее 10^{-3} с, во многих случаях – минуты и даже часы) – *фосфоресценцией*. Вещества с особенно длительным послесвечением называются *фосфорами*. Разграничение на флуоресценцию и фосфоресценцию является достаточно условным.

Флуоресценция обусловлена переходами атомов, молекул или ионов из возбужденного состояния в нормальное.

Фосфоресценция обусловлена наличием метастабильных возбужденных состояний атомов и молекул, переход из которых в нормальное состояние затруднен по тем или иным причинам.

3) В зависимости от характера элементарных процессов, приводящих к люминесцентному излучению, различают *спонтанные*, *вынужденные* и *рекомбинационные* процессы люминесценции, а также *резонансную* флуоресценцию.

При *спонтанной люминесценции* излучение происходит непосредственно вслед за возбуждением. Под действием внешнего источника вначале происходит возбуждение атомов (молекул или ионов) на промежуточные возбужденные энергетические уровни. Переход с возбуждённого уровня на основной может быть как единым, в этом случае излучение называется *резонансным*, так и ступенчатым. Далее с этих уровней происходят излучательные, а чаще безизлучательные переходы на уровни, с которых излучается люминесцентное свечение. Такой вид

люминесценции наблюдается у сложных молекул в парах и растворах и у примесных центров в твердых телах.

У определённых веществ имеются энергетические уровни, переход с которых на основной путем излучения фотонов имеет малую вероятность, т. е. происходит медленно и постепенно, поэтому возбуждённые атомы могут задерживаться на них достаточно долго. Такие уровни называются *метастабильными*. В процессе возбуждения на таком уровне может происходить значительное накопление атомов.

Переход с метастабильного уровня на основной может быть ускорен каким-либо энергетическим воздействием на атомы, например, воздействием квантами излучения той же длины волны. Вызванное при этом излучение называется *вынужденным (индуцированным, или стимулированным)*, а само явление – *вынужденной люминесценцией*. Примером является фосфоресценция органических веществ.

Рекомбинационная люминесценция представляет собой рекомбинационное излучение, возникающее при воссоединении тех частиц, которые были разделены в результате поглощения энергии от источника люминесценции (в газах – радикалы или ионы, в кристаллах – электроны и дырки). Рекомбинационная люминесценция может происходить на дефектных или примесных центрах (*центры люминесценции*), когда дырки захватываются на основной уровень центра, а электроны – на его возбужденный уровень.

Резонансная флуоресценция наблюдается в парах атомов и состоит в спонтанном высвечивании с того же энергетического уровня, на котором оказался излучающий атом при поглощении. В результате возбуждения резонансной флуоресценции светом происходит *резонансное излучение*, переходящее в *резонансное рассеяние* при увеличении плотности паров.

Природа люминесценции

Люминесцентное излучение отличается от других видов излучения следующими характерными особенностями:

1. Каждое вещество (люминофор) имеет определённый спектр люминесценции (по составу и распределению энергии), который не зависит от спектра поглощённого излучения, вызвавшего люминесценцию. Если

возбуждение вещества и последующая люминесценция вызваны бомбардировкой быстрыми частицами (электронами, альфа-частицами), то в исходном веществе возможны химические и структурные изменения и поэтому спектр люминесценции будет определяться не только исходным веществом, но и составом и структурой образующихся новых веществ. Это справедливо и при облучении ультрафиолетовыми, рентгеновскими и гамма-лучами. Спектр люминесцирующего вещества не зависит от способа возбуждения.

2. Люминесцентное излучение при одной и той же температуре имеет большую спектральную плотность энергетической светимости по сравнению с тепловым излучением, которое всегда добавляется к люминесцентному, но имеет значительно меньшую мощность. Многие люминофоры излучают видимый свет при нормальных и низких температурах, тогда как при таких температурах в тепловом излучении абсолютно черного тела и самих люминофоров эти участки спектра имеют малую мощность. Ввиду этого, одно только наличие видимых участков спектра при невысоких температурах («холодный свет») достаточно для того, чтобы отнести это излучение к люминесценции.

3. В спектре люминесценции имеется коротковолновая граница $\lambda_{гр}$, отличная для различных веществ. Фотолюминесценцию можно вызвать только при условии, если в падающем (и поглощенном этим веществом) излучении содержатся длины волн, меньшие $\lambda_{пред}$, т. е. поглощённое излучение должно быть более коротковолновым, чем люминесцентное. Это правило Стокса имеет некоторое отступление, рассмотренное ниже.

4. Люминесцентное излучение не подчиняется закону Кирхгофа: отношение спектральных плотностей энергетической светимости люминесцентного излучения r_λ к соответствующим коэффициентам поглощения α_λ не одинаково для всех люминесцирующих веществ. Согласно правилу Стокса, люминесцентное излучение всегда более длинноволновое, чем излучение, возбуждающее люминесценцию. Поэтому излучение, исходящее от данного люминофора, не может быть использовано для возбуждения таких же люминофоров. Ввиду этого люминесцентное излучение называют неравновесным.

5. Люминесцентное свечение продолжается некоторое время после прекращения облучения. Это время у различных веществ неодинаковое, от 10^{-10} с.

6. Способность данного вещества к люминесценции может быть сильно ослаблена (и даже сведена к нулю) добавлением специальных примесей – «*тушителей люминесценции*» (аналин, гидрохинон, иодистый калий, ионы железа и др.). Зависимость интенсивности излучения от наличия примесей является характерной отличительной особенностью люминесценции.

7. Люминесцентное излучение, как и тепловое, является некогерентным, что свидетельствует об отсутствии связи («согласованности») между частицами – источниками этого излучения.

8. Энергия, излучаемая люминесцирующим телом, не превышает энергии, поглощенной при облучении [3, 4].

Характеристики люминесцирующих веществ

Люминесцентные вещества характеризуются:

1) спектром излучения (составом спектра и функцией распределения мощности излучения по длинам волн);

2) спектром поглощения (зависимостью спектрального коэффициента поглощения от длины волны);

3) выходом люминесценции (отношением энергии, затраченной на возбуждение, к энергии люминесцентного излучения);

4) кинетикой процесса люминесценции (нарастанием и затуханием люминесценции в зависимости от внешнего воздействия).

1) Спектр люминесценции определяется: а) составом и внутренней структурой вещества; б) воздействием внешней среды.

2) Спектр поглощения вместе со спектром излучения является важной характеристикой состава и строения люминофоров. Коэффициент поглощения определяется следующим образом: допустим, что на толщине d/l слоя люминофора поток монохроматического излучения $\Phi_e(\lambda)$ ослабевает на $d\Phi_e(\lambda)$. Полагая, что поглощение прямо пропорционально $\Phi_e(\lambda)$ и d/l , получим:

$$d\Phi_e(\lambda) = -k_\lambda \Phi_e(\lambda) d\lambda; \Phi_e(\lambda) = \Phi_{eo}(\lambda) e^{-k_\lambda l}; k_\lambda = \frac{1}{l} \ln \frac{\Phi_{eo}(\lambda)}{\Phi_e(\lambda)},$$

где l – толщина слоя, в котором мощность проходящего через люминофор внешнего излучения ослабевает от $\Phi_{eo}(\lambda)$ до $\Phi_e(\lambda)$;

k_λ – спектральный коэффициент поглощения для излучения с длиной волны λ .

Однако не всякое излучение, поглощенное данным люминофором, вызывает люминесценцию. Поэтому из всего спектра поглощения выделяются те его участки, которые могут вызвать необходимое возбуждение люминофора. Эти участки называются *спектром возбуждения*.

Связь между спектрами излучения и поглощения при фотолюминесценции выражается несколькими правилами:

1. *Правило Стокса: излучение, вызывающее люминесценцию, должно иметь, как правило, меньшую длину волны, чем коротковолновая граница спектра люминесценции.*

С квантовой точки зрения правило Стокса означает, что энергия $h\nu$ кванта возбуждающего света частично расходуется на неоптические процессы:

$$h\nu = h\nu_{\text{люм}} + W, \text{ т. е. } \nu_{\text{люм}} < \nu \text{ или } \lambda_{\text{люм}} > \lambda,$$

где W – энергия, затраченная на различные процессы кроме фотолюминесценции;

$\nu_{\text{люм}}, \lambda_{\text{люм}}$ – частота и длина волны люминесценции;

ν, λ – частота и длина волны возбуждающего света;

h – постоянная Планка.

В некоторых случаях фотолюминесцентное излучение имеет в своем спектре длины волн, меньшие длины волны возбуждающего света (*антистоксово излучение*). Это явление объясняется тем, что к энергии возбуждающего фотона добавляется энергия теплового движения атомов, молекул или ионов люминофора:

$$h\nu_{\text{люм}} = h\nu_{\text{погл}} + \alpha kT,$$

где α – коэффициент, зависящий от природы люминофора, k – постоянная Больцмана, T – абсолютная температура люминофора. Антистоксово

излучение проявляется все отчетливее по мере повышения температуры люминофора.

Более общей является следующая закономерность.

2. Правило Стокса–Ломмеля: спектр люминесцентного излучения в целом и его максимум находятся в области более длинных волн (меньших частот) по отношению к спектру поглощения и его максимуму.

Это правило уже относится не к отдельному акту взаимодействия фотона и молекулы, а к совокупности всех процессов поглощения и излучения в веществе, т. е. имеет вероятностный смысл: более вероятными являются акты, при которых фотоны больших энергий вызывают появление фотонов меньших энергий и менее вероятными – присоединение избыточных энергий молекул W к энергии $h\nu_{\text{люм}}$ падающего фотона и выход фотона с большей энергией.

В.Л. Лёвшиным было установлено ещё одно правило, относящееся к большой группе органических люминофоров.

3. Функции распределения энергии в спектрах поглощения и излучения оказываются зеркально симметричными.

На рис. 1.2 показаны спектры поглощения и излучения одного из органических красителей (родамина в ацетоне), иллюстрирующие все перечисленные выше правила. По оси абсцисс отложены частоты колебаний, по оси ординат – квантовая интенсивность $I_{\text{кв.}} = \psi(\nu) / h\nu$, где $\psi(\nu)$ – функция распределения энергии по спектру. Кривая люминесцентного излучения показана сплошной линией, кривая поглощения – пунктирной. Оба спектра оказываются симметричными относительно частоты $\nu_{\text{люм}}$, соответствующей точке пересечения кривых. На этом рисунке показана также антистоксовая область в том частном случае, когда на люминофор действует внешнее излучение частоты $\nu_{\text{люм}}$: заштрихованная часть спектра излучения имеет $\nu_{\text{люм}} < \nu$.

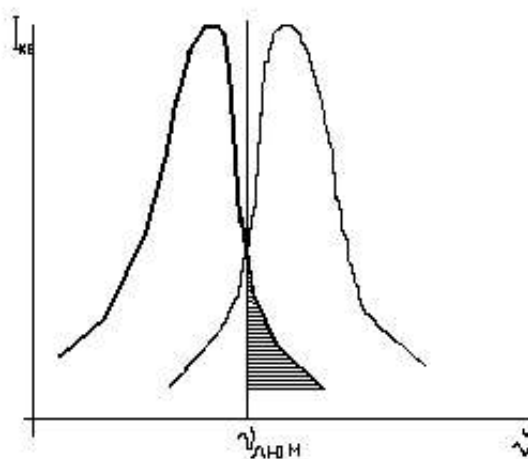


Рис. 1.2. Спектры поглощения и излучения органического красителя родамина

1) Выход люминесценции. Люминесценцию можно рассматривать как процесс преобразования энергии, подаваемой для возбуждения, в излучение определенного спектрального состава, характерного для данного люминофора. Этот процесс может иметь некоторый коэффициент полезного действия, называемый в данном случае *выходом*. Различают *энергетический выход* – соотношение энергии, поглощенной люминофором при возбуждении $W_{\text{полг}}$, и полной энергии излучения (до его прекращения) $W_{\text{люм}}$:

$$B_э = W_{\text{люм}} / W_{\text{полг}},$$

и *квантовый выход* – отношение числа фотонов люминесцентного излучения $N_{\text{люм}}$ к числу поглощённых фотонов $N_{\text{полг}}$ (если люминесценция вызвана облучением):

$$B_{\text{кв}} = N_{\text{люм}} / N_{\text{полг}}.$$

Отличие величин $B_э$ и $B_{\text{кв}}$ от единицы обусловлено тем, что часть энергии, поглощенной люминофором, превращается в теплоту (или в другие виды энергии), а также наличием стоксовских потерь.

Энергетический выход фотолюминесценции возрастает прямо пропорционально длине волны λ поглощаемого излучения (рис. 1.3), а затем, достигая в некотором интервале при $\lambda \sim \lambda_{\text{мах}}$ максимального значения, быстро спадает до нуля при дальнейшем увеличении λ (*закон Вавилова*).

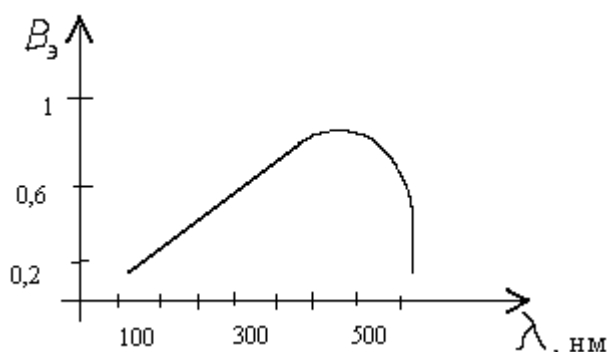


Рис. 1.3. График энергетического выхода фотолюминесценции

С увеличением длины волны возбуждающего света растет число фотонов с энергией $h\nu$, содержащихся в данной энергии первичного излучения. Поскольку каждый фотон может вызывать появления кванта $h\nu_{\text{люм}}$, то с увеличением длины волны происходит возрастание энергетического выхода фотолюминесценции. Резкое уменьшение энергетического выхода при $\lambda > \lambda_{\text{макс}}$ объясняется тем, что энергия поглощаемых фотонов становится недостаточной для возбуждения частиц люминофора.

Согласно закону Вавилова квантовый выход фотолюминесценции не зависит от длины волны возбуждающего света в стоксовой области ($\lambda_{\text{люм}} > \lambda$) и резко падает в области антистоксова излучения ($\lambda_{\text{люм}} < \lambda$).

Величины квантового и энергетического выходов сильно зависят от природы люминофора и внешних условий. Это связано с возможностью безызлучательных переходов частиц из возбужденного в нормальное состояние (*тушение люминесценции*). Имеет место также резкое уменьшение интенсивности флуоресценции при чрезмерно большой концентрации молекул люминесцирующего вещества (*концентрационное тушение*). В этом случае из-за сильной связи между частицами невозможно образование центров люминесценции.

У ряда кристаллофосфоров с увеличением частоты возбуждающего света квантовый выход растет (размножение фотонов) при условии $h\nu > 2\Delta W$, где ΔW – ширина запрещенной зоны.

2) Кинетика процесса. Интенсивность свечения для спонтанной и метастабильной люминесценции изменяется с течением времени по экспоненциальному закону:

$$I_t = I_0 e^{-t/\tau},$$

где I_t – интенсивность свечения в момент времени t , I_0 – интенсивность свечения в момент прекращения возбуждения люминесценции, τ – средняя продолжительность возбужденного состояния атомов или молекул люминофора. Величина τ обычно имеет порядок 10^{-9} – 10^{-8} с. В отсутствии тушащих процессов τ слабо зависит от условий и определяется в основном внутримолекулярными процессами.

Интенсивность рекомбинационного люминесцентного свечения изменяется с течением времени по гиперболическому закону:

$$I_t = \frac{I_0}{(1 + \alpha t)^n},$$

где I_0 – интенсивность рекомбинационной люминесценции в момент ее возбуждения; α и n – постоянные (n заключено в пределах от 1 до 2, $\alpha \sim \sqrt{I_0}$ и находится в пределах от долей с^{-1} до многих тысяч с^{-1}).

При электронном возбуждении люминесценции энергия бомбардирующих электронов передается электронам атомов (или молекул, ионов) и переводит их в возбужденное состояние. Передача энергии возможна лишь при условии, что кинетическая энергия бомбардирующего электрона

$$T = \frac{mV^2}{2} \geq E_{\epsilon} - E_n,$$

где E_{ϵ} и E_n – полная энергия атома (молекулы, иона) в нормальном и ближайшем к нему возбужденном состоянии, m и V – масса и скорость частицы. Атом (молекула, ион) возвращается из возбужденного состояния в нормальное, испустив квант света (фотон) частоты ν :

$$h\nu = E_{\epsilon} - E_n.$$

При достаточных энергиях возбуждения возвращение атома (молекулы, иона) из возбужденного в нормальное состояние может происходить в несколько этапов через все менее возбужденные состояния. Этому соответствует испускание нескольких фотонов различных частот, причем суммарная их энергия равна энергии начального возбуждения [4–6].

Люминесцентный анализ

Определение природы и состава вещества по спектру его люминесцентного излучения, называется *люминесцентным анализом*. При соответствующих условиях этим путём можно обнаружить наличие ничтожных количеств вещества (до 10^{-10} г).

Люминесцентный анализ делится на макроанализ – при наблюдении невооруженным глазом, и микроанализ, когда наблюдение производится с помощью микроскопа.

Люминесцентный макроанализ имеет большое значение для промышленности, гигиены и медицины. Большая часть органических соединений (кислоты, эфиры, жиры, алкалоиды, красители и т. д.), в натуральном виде или после обработки соответствующими реактивами под действием ультрафиолетового излучения дает характерное по цвету вторичное свечение.

Под действием ультрафиолетового излучения флуоресцируют многие ткани организма (ногти, зубы, непигментированные волосы, роговая оболочка, хрусталик глаза и др.). В некоторых случаях по характеру свечения можно отличить патологически измененные ткани от нормальных. Характерное свечение дают бактериальные и грибковые колонии. В связи с этим люминесцентный анализ применяется при диагностике многих заболеваний, особенно в области дерматологии.

При люминесцентной микроскопии исследуются естественные препараты, имеющие собственную флуоресценцию или окрашенные флуоресцентными красками.

Люминесцентный анализ по сравнению с химическим и спектральным обладает некоторыми преимуществами:

1) не требуется такого воздействия на исследуемое вещество, при котором могли бы измениться его состав, структура или агрегатное

состояние (напр., нет необходимости оказывать химическое воздействие или переводить исследуемое вещество в газообразное состояние и т. п.);

2) очень высокая чувствительность, позволяющая обнаружить миллиардные доли процента люминесцирующих примесей в различных средах, растворах или смесях (напр., следы нефти в породе и т. д.);

3) при люминесцентном анализе определяются не химические элементы, из которых состоит исследуемое вещество, а непосредственно наличие того или иного интересующего нас вещества: органического соединения, краски и т. п.;

4) простота методики анализа и дешевизна необходимой аппаратуры.

Важные для химического анализа свойства люминесценции:

1. Возможность различения объектов по способам возбуждения люминесценции и его параметрам, например:

- фотолюминесценция (спектр возбуждения);
- хемилюминесценция (параметры реакции);
- перенос энергии (характер донорно-акцепторного взаимодействия и условия возбуждения донора).

2. Возможность различения объектов по параметрам излучения:

- спектр излучения;
- кинетика высвечивания (при импульсном возбуждении фотолюминесценции или при импульсном смешении хемилюминесцентных реагентов).

3. Возможность регистрации люминесценции в отсутствии иных свечений в спектральном диапазоне регистрации.

4. Интенсивность люминесценции прямо пропорциональна интенсивности возбуждения.

5. Параметры люминесценции молекул и ионов в конденсированной среде сильно зависят от свойств матрицы и, в первую очередь, ближайшего окружения.

Сегодня люминесцентный анализ охватывает широкий круг методов определения разнообразных объектов от простых ионов и молекул до высокомолекулярных соединений и биологических объектов. Детектируется люминесценция самого объекта или его производных,

возможно также использование изменения люминесценции специфичных агентов. Для сложных проб люминесцентное детектирование сочетается с химическим разделением (хроматография, электрофорез) или с биологическим выделением (иммуноанализ, метод полимеразной цепной реакции – ПЦР) [3–6].

2. Фотолюминесценция в технико-криминалистической экспертизе документов

Техническая экспертиза документов и ее основные методы. Определение признаков подлинности документов по их люминесцентным свойствам. Примеры изображений люминесцирующих объектов при технической экспертизе документов.

Техническая экспертиза документов

1. Предмет технико-криминалистической экспертизы документов.

Теоретические разработки отечественной криминалистики, сложившейся на базе комплексного использования правовых и технических наук, являются основой технико-криминалистической экспертизы документов. Немалую роль в становлении данного вида экспертизы сыграли такие известные криминалисты как Е.Ф. Буринский, В.И. Громов, Б.Р. Киричинский, Д.Я. Мирский, Н.И. Терзиев, А.А. Эйсман и многие другие. А само название «техническая экспертиза документов» впервые было предложено в 1949 г. Н.В. Терзиевым в работе «Введение в криминалистическое исследование документов».

Содержание предмета криминалистической экспертизы имеет важное значение как в практическом, так и в процессуальном аспектах. Оно может быть определено характером вопросов, вытекающих из задач исследования по уголовным делам, а также специальными познаниями эксперта в области науки и техники, на основе которых устанавливаются фактические обстоятельства (факты) по уголовному делу.

Предмет технико-криминалистической экспертизы документов составляют имеющие значение для уголовного дела фактические данные (факты, обстоятельства), связанные с исполнением документов и устанавливаемые на основе специальных познаний в области технико-криминалистического исследования документов и в предусмотренном законом порядке.

2. Задачи технико-криминалистической экспертизы документов.

Составляющие предмет экспертизы задачи принято условно подразделять на две группы: диагностические и идентификационные. К задачам диагностического исследования можно отнести следующие:

- установление способа изготовления документа и его частей;
- установление факта и способа внесения изменений в документ либо его части;
- определение рода, вида документа;
- установление первоначального содержания документа (выявление невидимых и слабовидимых текстов, выцветших, залитых, зачеркнутых, замазанных, вытравленных, подчищенных записей, текстов на сгоревших документах, текстов по вдавленным штрихам и др.);
- определение возраста документа и последовательности выполнения его реквизитов.

Задачами идентификационного исследования являются следующие:

- установление, к одному ли роду, виду, группе принадлежат сравниваемые объекты (документы, их материалы);
- к одному или разным источникам происхождения относятся сравниваемые объекты;
- одни и те же или разные материалы или технические средства использованы для изготовления документа или сравниваемых документов (в т. ч. одной или разными печатными формами нанесены оттиски на документ, на одной или разных пишущих машинках напечатаны тексты документа в целом или его части и т. п.);
- составление целого документа по его частям.

3. Объекты технико-криминалистической экспертизы документов (ТКЭД).

В теории судебной экспертизы к объектам экспертного исследования относят вещественные доказательства, а также некоторые собранные по делу сведения.

Основным признаком, который объединяет объекты криминалистического исследования, считается наличие в любом из них скрытых качеств и свойств, которые могут быть выявлены и изучены лишь с помощью специальных знаний экспертов.

Объектами ТКЭД являются письменные документы, исследованию в которых подлежат в первую очередь их реквизиты (записи, оттиски печатей и штампов, машинописные тексты, пометки и пр.); материалы, из которых

они выполнены (бумага, краски, клеи и пр.); следы, оставленные орудиями письма и иными приспособлениями (печатами, штампами, полиграфическими машинами и т. п.); остатки травящих веществ, использованных для удаления текста и др.

К таким документам относятся следующие:

- личные (удостоверительные – паспорта, водительские документы, дипломы и пр.);
- характеризующие трудовую деятельность (трудовые книжки, больничные листки, характеристики, личные дела и т. п.);
- справочно-удостоверительные (справки об учебе, наличии детей, зарплате, месте работы и пр.);
- денежные, т. е. отражающие операции по приходу и выплате наличных денег (чековые книжки, приходные и расходные ордера, кассовые книги, платежные ведомости и т. п.);
- отражающие движение материальных ценностей (накладные, учетные журналы, путевые листки и т. д.);
- иные (лотерейные билеты, денежные билеты, железнодорожные и авиационные билеты, рецепты, кассовые чеки и т. п.).

Объектами технико-криминалистической экспертизы документов являются и технические средства, которые используются при выполнении документов – пишущие машинки, удостоверительные печатные формы и т. п., а также материалы документов – бумага, красящие вещества, клеи и др.

Методы технико-криминалистической экспертизы документов

При технико-криминалистическом исследовании документов применяется достаточно широкий комплекс методов. Рассмотрим основные методы, при которых используются различные виды освещения документа.

1. Визуальное исследование при особых условиях освещения:

- исследование в *проходящем* свете применяется для обнаружения признаков, свидетельствующих о подчистке, замене частей документа, выявления водяных знаков, текстов на копировальных бумагах, выявления залитых и замазанных текстов.

– исследование в *косопадющем* свете (т. е. при освещении объекта направленным пучком света с углом падения лучей менее 90°) применяется для выявления рельефных следов давления от пишущих приборов, нарушений поверхностного слоя бумаги, наклеенных участков, способа нанесения оттисков печатей и штампов, водяных знаков.

– исследование при *вертикальном* освещении (т. е. наблюдение объекта в свете, падающем перпендикулярно к его плоскости) позволяет фиксировать неодинаковую способность бумаги и штрихов текста документа отражать свет, падающий по нормали, – рассеивать или отражать зеркально. Применяется для дифференциации материалов письма в штрихах, при выявлении текстов на документах, поврежденных высокой температурой.

2. *Визуальное исследование с применением светофильтров (цветоделение)*. Метод основан на избирательном поглощении, отражении или пропускании света различных длин волн материалами документа. В видимой области спектра (360–680 нм) вещества, имеющие различные спектральные характеристики, визуально воспринимаются как объекты разного цвета.

Применяется для выявления различий в цвете объектов – при выявлении залитых, замазанных, зачеркнутых текстов, усилении контраста между слабовидимыми записями, установлении факта дописки, травления и др.

Эффективную спектральную зону и светофильтр, ей соответствующий, можно подобрать на основе правила дополнительных цветов, используя цветовой круг.

Эффективную спектральную зону можно определить и опытным путем, просматривая документ через различные светофильтры. Располагая друг за другом несколько стеклянных светофильтров можно получить довольно узкую зону.

При фоторегистрации результатов исследования необходимо, чтобы спектральная чувствительность фотоэмульсии соответствовала пропускаемой светофильтром эффективной спектральной зоне. Наиболее

подходят для этой цели несенсибилизированные, ортохроматические, панхроматические и изопанхроматические фотоматериалы.

В ряде случаев фотографическое цветоделение можно провести без использования светофильтров – с применением фотоматериалов, не чувствительных к цвету штрихов (для усиления контраста), либо с применением сенсibilизированных фотоматериалов, чувствительных к лучам спектра, соответствующим цвету ослабляемых штрихов (для ослабления контраста).

Исследование с применением светофильтров проводят двумя способами: документ освещают фильтрованным светом или рассматривают через светофильтры.

В качестве источников освещения лучше использовать источники света с непрерывным спектром излучения (лампы-накаливания).

3. Исследование в отраженных ультрафиолетовых лучах. Метод основан на различной способности штрихов отражать и пропускать ультрафиолетовые лучи. УФ-область различает три зоны – ближнюю, примыкающую к видимому спектру (400–315 нм), среднюю (315–280 нм) и дальнюю, еще более коротковолновую.

Используется для выявления обесцвеченных записей, замены фотографий и листов, подделки частей оттиска печатей; для определения способа изготовления бланков, следов травления и дифференциации некоторых материалов письма (напр., остатков штрихов первоначального текста).

В качестве источников ультрафиолетового излучения используют ртутно-кварцевые лампы высокого и сверхвысокого давления различной мощности, люминесцентные лампы, импульсные лампы-вспышки.

Для регистрации результатов исследования лучше всего использовать специальные контрастные и несенсибилизированные фотоматериалы, например, фототехнические пленки ФТ-20, ФТ-30, фотопленки типа «Микрат-200», диапозитивные и спектральные пластинки.

Съемку проводят с кварцевым объективом, в некоторых случаях применяются светофильтры серии УФС.

4. *Исследование в отраженных инфракрасных лучах.* Метод основан на различии коэффициентов отражения и поглощения инфракрасных лучей различными веществами.

Используется для обнаружения фактов дописки, подчистки, травления, смывания, выявления невидимых и слабовидимых записей; для выявления наличия зон, выполненных специальными красителями; для идентификации повреждённых документов (залитые, зачёркнутые фрагменты).

Условия освещения и фотосъемки подбираются экспериментально в зависимости от характера документа. Источники излучения – лампы высокого и сверхвысокого давления, лампы накаливания, газоразрядные, импульсные и ртутные. Лучше всего использовать светофильтры КС-18, КС-19, ИКС-1, ИКС-2, ИКС-3.

Для фотосъемки используют фотоматериалы, сенсibilизированные к данной зоне спектра, например, И-1, И-2, И-1060, И-500–1100, И-720–940, а также спектральнональные пленки.

5. *Световая микроскопия* дает возможность изучать мелкие объекты и их детали. Метод применяется для обнаружения частиц красящих веществ, удаленных записей, измерения письменных знаков, глубины трасс от пишущих приборов, выявления деформации элементов знаков и др.

Исследование проводят как в видимом свете, так и в инфракрасных и ультрафиолетовых лучах. С помощью световой микроскопии проводят исследование в отраженном и проходящем свете, в светлом или темном поле, в теновом или бестеновом освещении, в поляризованном свете (рис. 1.4).

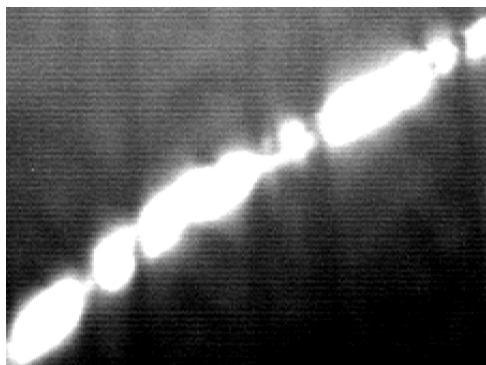


Рис. 1.4. Изображение защитного волокна в документе, люминесцирующее в инфракрасной области спектра

При освещении документов в различных спектральных диапазонах часто исследуют люминесценцию красителей и других химических веществ, а также бумажной основы документа. Так, например, денежные билеты, ценные бумаги, акцизные марки и целый ряд других документов имеют специальные элементы защиты, люминесцирующие в видимой области спектра под воздействием ультрафиолетовых лучей (рис. 1.5), а также в инфракрасной области спектра под воздействием интенсивного света видимого диапазона.

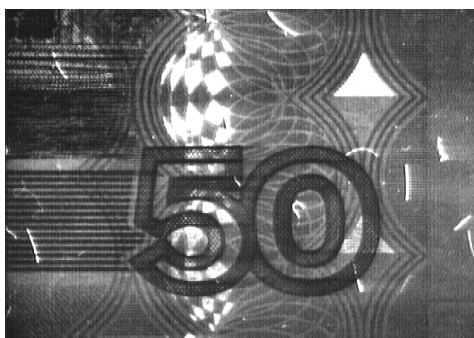


Рис. 1.5. Изображение фрагмента денежного билета, люминесцирующее под воздействием ультрафиолетового света

Свойством люминесценции в инфракрасной области спектра обладает специальная штемпельная краска для оттисков печатей (рис. 1.6).

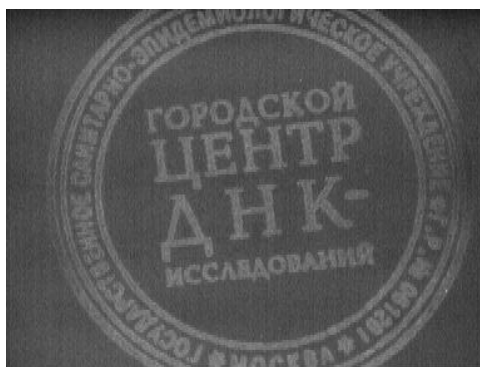


Рис. 1.6. Изображение фрагмента оттиска печати, люминесцирующее в инфракрасной области спектра

Под воздействием ультрафиолетового света обнаруживается люминесценция следов травления органическими растворителями.

Для производства денежных билетов используется бумага, которая, в отличие от обычной, не содержит оптического отбеливателя и поэтому в ультрафиолетовом свете выглядит темной. Бумага же общего назначения будет люминесцировать голубым светом. Это хорошо заметно даже если осветить боковую сторону пачки денежных билетов. Однако если

денежный билет попал в раствор стирального порошка, то бумага адсорбирует оптический отбеливатель и будет люминесцировать.

Часто в бумагу денежных билетов вводят цветные защитные волокна, которые, как правило, люминесцируют под действием ультрафиолета (рис. 1.7). Краски для денежных билетов по сравнению с обычными полиграфическими более устойчивы к действию различных химических веществ и не изменяют свой цвет. Очень распространено использование пигментов, люминесцирующих под действием ультрафиолета (свечение красного, зеленого и желтого цветов). В результате действия различных химических веществ (в том числе и стиральных порошков) краски могут частично изменять первоначальный цвет, а иногда и вымываются компоненты, светящиеся под действием УФ-излучения.



Рис. 1.7. Изображение люминесценции банкноты 50 евро под воздействием ультрафиолетового света

Для увеличения интенсивности люминесценции красящих веществ применяется *адсорбционно-люминесцентный метод*, основанный на их адсорбировании полимерной пленкой. Метод применяется для дифференциации материалов письма с целью установления факта подделки, а также для выявления замазанных и зачеркнутых текстов. Копирование производят на поливинилхлоридную пленку по принципу влажного копирования. Полученный отпечаток облучают ультрафиолетовым светом и изучают его люминесценцию. Метод изменяет внешний вид документа, поэтому он может быть применен только после согласования с лицом, назначившим экспертизу, и после всех иных рекомендуемых методов исследования [7–10].

3. Фотолюминесценция продуктов полимеразной цепной реакции (ПЦР)

Метод ПЦР. Перспективы практического использования метода ПЦР. Основные этапы ПЦР. Электрофорез. Красители и их характеристики. Методы детекции результатов электрофореза.

Метод полимеразной цепной реакции

Дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК) является универсальным носителем генетической информации у всех существующих на Земле организмов (исключение – РНК-содержащие микроорганизмы). ДНК представляет собой двойную нить, скрученную в спираль. Каждая нить состоит из соединенных последовательно нуклеотидов. Нити ДНК имеют противоположную направленность. Уникальным свойством ДНК является ее способность удваиваться (репликация). В живой клетке этот процесс происходит следующим образом: с помощью специальных ферментов – гираз происходит расплетение спирали в том ее участке, где должна происходить репликация. Далее водородные связи, связывающие нити, разрываются и нити расходятся. Одна из цепей («+» или смысловая) используется в качестве основной матрицы. Построение новой нити ДНК идет только в одном направлении. Этот процесс осуществляется по принципу комплиментарности ферментом ДНК-полимеразой. Для того чтобы фермент начал свою работу, требуется наличие стартового блока – небольшого начального двухцепочечного фрагмента. Стартовый блок образуется при взаимодействии небольшого одноцепочечного фрагмента ДНК, называемого праймером, с комплиментарным участком соответствующей цепи родительской ДНК. Репликация одновременно идет и на второй нити ДНК («–» или антисмысловой), только наращивание цепи происходит в обратном направлении. В результате процесса репликации из одной молекулы ДНК образуется две молекулы ДНК, в которых одна нить от материнской молекулы ДНК, а вторая, дочерняя, вновь синтезированная.

Таким образом, цикл репликации ДНК включает в себя три основные стадии:

- 1) расплетение спирали ДНК и расхождение нитей (денатурация);
- 2) присоединение праймеров;

3) достраивание цепей ДНК.

Метод ПЦР (амплификации) основан на описанном выше принципе естественной репликации ДНК. В реакции участвуют искусственно синтезированный олигонуклеотид, повторяющий строение участка гена и фермент Таг-полимераза. С помощью последнего происходит воспроизведение специфического фрагмента ДНК. Вновь синтезированные фрагменты ДНК служат матрицей для синтеза новых нитей в следующем цикле амплификации.

В ПЦР эти процессы осуществляются в пробирке в циклическом режиме. Переход от одной стадии реакции к другой достигается изменением температуры инкубационной смеси.

1 стадия: денатурация ДНК. Протекает при 93–95 °С в течение 30–40 с.

2 стадия: отжиг праймеров. Присоединение праймеров происходит комплиментарно к соответствующим последовательностям на противоположных цепях ДНК на границах специфического участка (рис. 1.8). Для каждой пары праймеров существует своя температура отжига, значения которой располагаются в интервале 50–65 °С. Время отжига 20–60 с.

Поскольку наращивание дочерних нитей ДНК должно идти одновременно на обеих цепях материнской ДНК, то для репликации второй цепи также требуется свой праймер. Таким образом, в реакционную смесь вносятся два праймера: один для «+»-цепи, второй для «-»-цепи. Присоединившись к противоположным цепям молекулы ДНК, праймеры ограничивают собой тот ее участок, который будет в дальнейшем многократно удвоен или амплифицирован. Длина такого фрагмента, который называется ампликоном, обычно составляет несколько сот нуклеотидов.

Разработка праймеров для ПЦР является самым ответственным звеном в создании диагностикума. Требуется подобрать такой фрагмент молекулы ДНК, который бы отличался генетической консервативностью и присутствовал бы только у интересующего вида микроорганизмов или в исследуемом гене. При этом длина такого фрагмента должна составлять 15–30 нуклеотидов. Прodelать эту работу помогают специальные компьютерные программы, использующие информацию о нуклеотидной

последовательности известных микроорганизмов или генов человека. Получить подобную информацию можно из международных компьютерных банков данных (Gen bank, EMBL) через сеть Internet. Синтез праймера по заданной последовательности нуклеотидов осуществляется в автоматических синтезаторах.

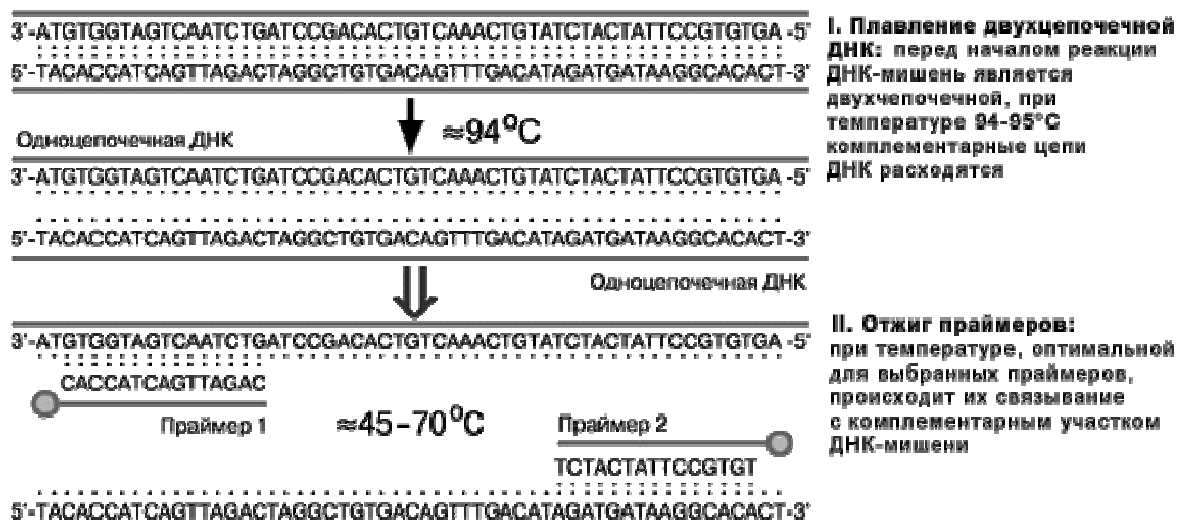


Рис. 1.8. 1 и 2 стадии ПЦР

3 стадия: достраивание цепей ДНК. Комплементарное достраивание цепей ДНК происходит от 5'-конца к 3'-концу цепи в противоположных направлениях, начиная с участков присоединения праймеров (рис. 1.9). Материалом для синтеза новых цепей ДНК служат добавляемые в раствор дезоксирибонуклеозидтрифосфаты. Процесс синтеза катализируется ферментом Taq-полимеразой и проходит при температуре 70–72 °C. Время протекания синтеза – 20–40 с.

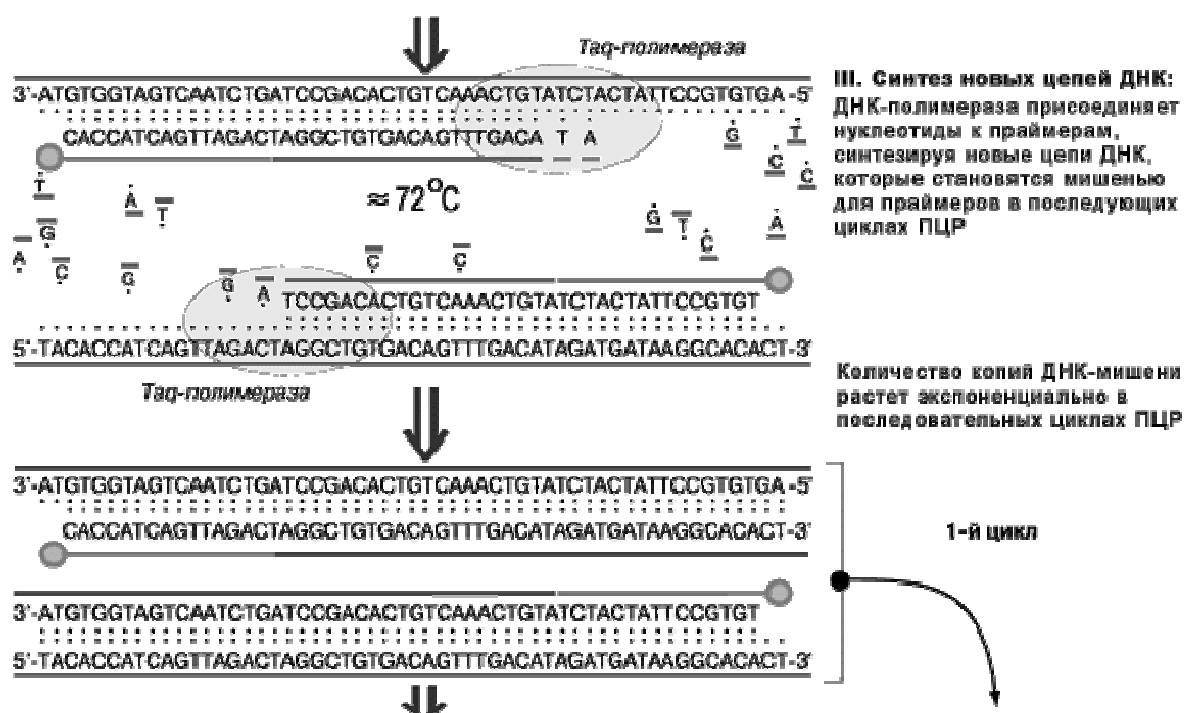


Рис. 1.9. 3 стадия ПЦР

Количество накапливаемых специфических фрагментов ДНК (ампликонов) в растворе равно 2^n , где n – число циклов амплификации. За 35–45 циклов амплификации из 1–10 копий ДНК нарабатывается до 10^8 копий (рис. 1.10). Этого количества достаточно для достоверной визуальной детекции после электрофореза в агарозном геле.

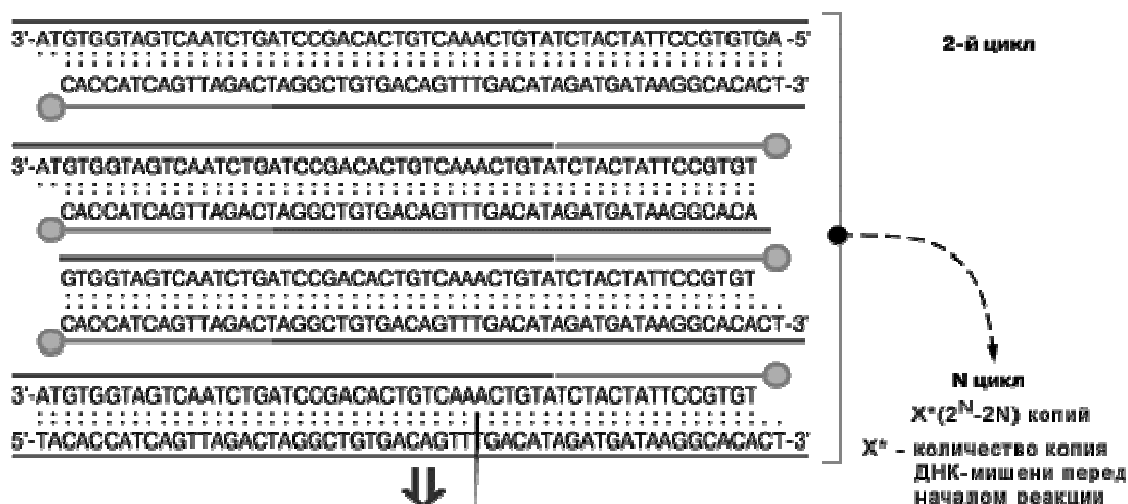


Рис. 1.10. Циклирование

Перспективы практического использования метода ПЦР

В настоящее время наиболее быстро развиваются следующие направления:

- диагностика инфекционных заболеваний;
- диагностика онкологических заболеваний (лейкемий и лимфом, рака груди и других злокачественных заболеваний);
- диагностика наследственных заболеваний;
- диагностика в неонатологии;
- диагностика в пульмонологии и фтизиатрии;
- применение ПЦР в практике службы крови;
- идентификация личности (судебная медицина, криминалистика, трансплантация органов и тканей, определение отцовства);
- диагностика патогенов в пище.

Диагностика инфекционных заболеваний является основным направлением развития ПЦР-диагностики. В отличие от широко используемого иммуноферментного анализа ПЦР-диагностика позволяет определять непосредственно возбудителя заболевания. С помощью усовершенствованных схем постановки ПЦР можно выявлять патогенные микроорганизмы в очень низкой концентрации.

Количественное определение ДНК инфекционных агентов в ходе лечения позволяет получать информацию о правильности или безрезультатности проводимой терапии, помогает предсказывать периоды обострения заболевания и принимать адекватные меры для скорейшего излечения больного без нанесения ущерба для его здоровья, связанного с неэффективной терапией.

Наиболее эффективно и экономически обоснованно использование метода в урогинекологической практике – для выявления хламидиоза, уреаплазмоза, гонореи, герпеса, гарднереллеза, микоплазменной инфекции; в пульмонологии – для дифференциальной диагностики вирусных и бактериальных пневмоний, туберкулеза; в гастроэнтерологии – для выявления геликобактериоза; в клинике инфекционных заболеваний – в качестве экспресс-метода диагностики сальмонеллеза, дифтерии, вирусных

гепатитов В, С и G; в гематологии – для выявления цитомегаловирусной инфекции, онковирусов [11].

Диагностика рака. Молекулярная диагностика в онкологии представляет собой обширное поле научно-исследовательской деятельности и имеет принципиальное значение для клиники. Условно можно выделить четыре основных направления: 1) диагностика наследственных форм рака; 2) поиск и диагностика молекулярных маркеров неблагоприятного прогноза при онкологических заболеваниях; 3) поиск маркеров и диагностика микрометастазов; 4) диагностика полиморфных ДНК-маркеров, predisposing к онкогенезу.

Основная масса злокачественных новообразований возникает спорадически, без отягощенного семейного анамнеза. В этом случае не приходится ожидать эффективной диагностики мутаций в определенном гене. При этом изменения происходят в геноме одной соматической клетки, превращающей ее в злокачественную. Эти изменения могут быть не идентичны в одном типе опухоли у разных пациентов. Они могут быть не идентичны и у одного пациента, но на разных этапах опухолевого процесса. Таким образом, одной из основных задач онкогеномики является определение наиболее характерных нарушений в определенном типе опухоли – создание своеобразного молекулярного портрета [12].

Диагностика микрометастазов в крови, лимфатических узлах и костном мозге является совершенно необходимой в случае высокоинвазивных опухолей, для контроля эффективности лечения и в периоды ремиссий. Иногда бывает достаточно сложно определить единичные метастатические клетки с помощью цитологических, биохимических и иммунологических методов. Молекулярные методы, имеющие очень высокую чувствительность, позволяют определить 1–2 клетки среди 1–5 млн. лимфоцитов.

Экспрессия опухолеспецифических генов, характерная для метастатической клетки, позволяет идентифицировать ее среди сотен тысяч неизмененных клеток. Поэтому одной из задач этого направления исследований является определение круга генов, экспрессирующихся

только в определенном типе опухоли. Для ряда опухолей такие маркеры уже определены.

Изучение факторов предрасположенности к онкологическим заболеваниям, в основе которых лежит полиморфизм ДНК, также является очень актуальной областью исследований, дающей прямой выход в профилактическую медицину. Формирование групп риска, мониторинг носителей определенных полиморфизмов и даже профилактическое их лечение может позволить сократить показатели смертности от онкологических заболеваний [13].

Диагностика моногенных наследственных заболеваний. Сводка, представленная в нижеприведённой таблице, составлена на основании анализа работ основных отечественных лабораторий и публикаций, связанных с проблемой молекулярной диагностики наследственных болезней. Сводка не является исчерпывающей и включает преимущественно те заболевания, для которых возможна или уже проводится диагностика на внутриутробных стадиях развития.

№ тип	Болезни
1	Муковисцидоз
2	Миодистрофия Дюшенна-Беккера
3	Гемофелия А
4	Гемофелия В
5	Фенилкетонурия
6	Синдром ломкой X-хромосомы
7	Миотоническая дистрофия
8	Болезнь Виллебранда
9	Хорея Гентингтона
10	Болезнь Леш-Нихана
11	Спинально-бульбарная мышечная атрофия
12	Гепатолентикулярная дегенерация
13	Болезнь Хантера

14	Андрогениальный синдром
15	Атаксия Фридрейха
16	β -Талассемия
17	Болезнь Верднига-Гоффмана
18	Дефицит альфа-1-антитрепсина
19	Семейная гиперхолестеринемия
20	Предрасположенность к инсулинозависимому диабету
21	Дефицит ацил-СоА дегидрогеназы

Все приведённые нозологии были первыми моногенными болезнями, которые исследовались молекулярными методами в России и для которых в итоге были разработаны и оптимизированы с учётом этнических и национальных особенностей аллельного полиформизма, частот и паттерна мутаций оптимальные схемы молекулярного обследования семей высокого риска с целью пренатальной диагностики и выявления гетерозиготного носительства. Практически все эти исследования проводились в рамках основных научных программ ГКНТ «Геном человека» и «Приоритетные направления генетики» [14–17].

Диагностика в неонатологии. Целый ряд микроорганизмов способны поражать плод во время беременности. Это цитомегаловирус (ЦМВ), токсоплазмы, вирус герпеса, вирус краснухи, микоплазмы, хламидии и др. Использование серологических тестов для определения этих инфекций у новорожденных неэффективно, поскольку формирование иммунной системы у ребенка происходит в течение нескольких месяцев, и наличие инфекционного агента может не сопровождаться выработкой специфических антител. С другой стороны, в крови новорожденного длительное время могут присутствовать материнские антитела, способные проникать через плацентарный барьер. Таким образом, наличие специфических антител у ребенка в первые месяцы жизни не свидетельствует о присутствии возбудителя.

Применение ПЦР-анализа значительно увеличивает возможности диагностики неонатальных инфекций, в том числе и на внутриутробном

этапе. Материалом в этом случае может служить амниотическая жидкость или ворсинки хориона.

Эффективным является ПЦР-анализ ЦМВ у новорожденных. Для анализа используется моча или слюна ребенка. При конъюнктивитах и пневмонии новорожденных исследование эпителиального соскоба с конъюнктивы или задней стенки глотки методом ПЦР позволяет выявлять этиологический фактор, которым часто являются хламидии, микоплазмы [18].

Диагностика в пульмонологии и фтизиатрии. Частой причиной атипичных пневмоний, рецидивирующих хронических бронхитов являются микоплазмы и хламидии. ПЦР позволяет не только эффективно диагностировать хламидиозы и микоплазмозы, но и проводить видовую идентификацию возбудителя (*C. pneumoniae*, *C. trachomatis*, *M. hominis*, *M. pneumoniae*).

Использование метода ПЦР позволяет значительно улучшить раннюю диагностику туберкулеза. Метод ПЦР сочетает в себе высокую чувствительность, которая не уступает культуральному методу и равна 10–50 копий генома, и высокую оперативность (время проведения анализа – 6–8 часов). Материалом для анализа может служить мокрота, бронхоальвеолярный лаваж, спинномозговая жидкость, экссудаты, моча, что позволяет эффективно выявлять как легочные, так и внелегочные формы инфекции. В настоящее время разработаны и появились на рынке ПЦР-наборы для определения устойчивости микобактерий к антибиотикам [18].

Применение ПЦР в практике службы крови. Обследование донорской крови на гепатиты, сифилис, ВИЧ серологическими методами не исключает опасности использования инфицированной крови из-за наличия у этих заболеваний определенного серонегативного периода, который может составлять до нескольких недель с момента появления возбудителя в крови. По данным 9 европейских стран риск посттрансфузионных вирусных инфекций может составлять до 40 на 1 000 000 донаций. Риск значительно возрастает при использовании пулированной плазмы в производстве

препаратов крови. Использование метода ПЦР позволяет значительно снизить степень риска подобных осложнений.

Весь процесс ПЦР-анализа занимает максимально 4 часа, и результат ПЦР-анализа готов практически одновременно с результатом серологического тестирования. Чувствительность ПЦР составляет менее 1 000 геном-эквивалентов на 1 мл плазмы одного донора. Все компоненты крови (плазма, эритроциты и тромбоциты), подвергнутые ПЦР-тестированию, выдаются без дополнительной задержки по сравнению с ИФА-методом. Возможность генотестирования плазмы крови на вирусы не одного донора, а минипула, в котором объединена плазма от нескольких десятков или сотен доноров доказана многими крупными банками крови Европы. Такое дополнительное генотестирование серонегативной крови в минипулах значительно снижает затраты, ускоряет получение результатов и реально увеличивает вирусную безопасность донорской крови и ее компонентов.

При использовании крови и препаратов из нее для переливания новорожденным, больным СПИДом, лицам с пересаженными органами, получающим иммунодепрессивную терапию, необходим дополнительный контроль донорской крови на вирусы герпеса и цитомегалии. Наиболее эффективным методом анализа крови на присутствие этих возбудителей является метод ПЦР [18].

Идентификация личности. ДНК является основой передачи всей наследственной информации в животном и растительном мирах. У каждого человека ДНК располагается в 46 парных хромосомах в ядрах клеток. Нумерация каждой пары хромосом производится в соответствии с международной классификацией. Половину ДНК (23 непарные хромосомы) человек получает от биологической матери, другую половину – от биологического отца. Дополнительно небольшая по размерам кольцевая ДНК локализуется в клеточных митохондриях (митохондриальная ДНК). Она наследуется исключительно по материнской линии.

Каждый человек, за исключением однояйцевых (монозиготных) близнецов, имеет свою неповторимую, уникальную ДНК. Клетки крови, слюны, кожи, различных тканей, костей, зубов, спермы одного человека

содержат абсолютно одинаковую ДНК. В общем, ДНК остается постоянной на протяжении всей жизни, не подвергаясь изменениям.

В настоящее время исследование ДНК (ДНК-диагностика) является важнейшей составной частью и одним из наиболее мощных методов прикладных медико-биологических исследований. В частности, для определения отцовства такие «классические» тесты, как анализ наследования различных групп и факторов крови, зачастую вообще неприемлимы в дородовой период и до 6 месячного возраста ребенка. Современные технологии позволяют быстро и эффективно исследовать специфические свойства ДНК, выделенной из различного биологического материала. Из особенностей ПЦР-анализа следует отметить:

- высокую и регулируемую специфичность;
- высокую чувствительность, позволяющую анализировать образцы, содержащие минимальные количества ДНК различной степени сохранности.

ПЦР-анализ в настоящее время является наиболее точным и продуктивным методом для использования судебно-медицинскими и криминалистическими экспертизами, медико-диагностическими лабораториями при решении задач, связанных с идентификацией личности и установлением родственных связей, в том числе спорного отцовства и материнства [20].

Диагностика патогенов в пище. Сектор рынка ДНК-диагностики патогенов в пище в настоящее время является самым скромным. В настоящее время на ДНК-диагностику микробного загрязнения производимых продуктов питания приходится менее 5% от общего количества методов, применяемых для тестирования загрязненности продуктов (культуральные методы и методы с использованием моноклональных антител). Однако методы ДНК-диагностики являются, по оценкам экспертов, более быстрыми, точными и информативными, что в ближайшее время, по-видимому, приведет к резкому возрастанию доли данного сектора рынка ДНК-диагностики [11, 20].

Основные этапы ПЦР

Методика проведения полимеразной цепной реакции предусматривает:

- 1) выделение ДНК из биологического материала;
- 2) проведение полимеразной цепной реакции;
- 3) электрофорез;
- 4) детекция результатов электрофореза.

Этапы исследования проводятся с соблюдением «Правил устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы здравоохранения СССР», М., 1981. Работа проводится в отдельных помещениях, снабженных отдельными комплектами пипеток, оборудованием, маркированным соответствующим образом, набором одноразовых пробирок и наконечников, перчатками, лабораторной одеждой, сменяемой при переходе из одного помещения в другое [21].

Выделение ДНК

Способ выделения ДНК зависит как от вида определяемого возбудителя, так и от вида клинического образца. В случае соскоба эпителиальных клеток, клеточного осадка мочи широкую распространенность получил метод твердофазной сорбции, заключающийся в добавлении лизирующего агента, содержащего раствор гуанидина, сорбции ДНК на сорбенте, многократной отмывки и ресорбции ДНК буферным раствором. В случае обработки сыворотки, плазмы или цельной крови обычно используется метод фенольной экстракции. Метод включает депротеинизацию фенолом / хлороформом с последующим осаждением ДНК (или РНК) этанолом или изо-пропанолом. Обработка производится в микроцентрифужных пробирках типа «Eppendorf» объемом 1,5 мл. Время обработки составляет 1,5–2 часа. Детально способ выделения ДНК / РНК из образцов описывается в инструкции по использованию соответствующих наборов реагентов.

Проведение полимеразной цепной реакции

Определенное количество образца из обработанной клинической пробы переносится в специальную микроцентрифужную пробирку типа «Eppendorf» объемом 0,2 или 0,5 мл. В эту же пробирку добавляется амплификационная смесь, состоящая из воды, ПЦР-буфера, растворов дНТФ, праймеров и Taq-полимеразы (добавляется в смесь в последнюю очередь). Как правило, объем реакционной смеси составляет 25 мкл. Затем в каждую пробирку добавляется одна капля минерального масла для предотвращения испарения реакционной смеси в процессе амплификации. Пробирки переносятся в программируемый термостат (амплификатор) и проводится амплификация в автоматическом режиме по заданной программе, соответствующей виду определяемой инфекции. Время проведения реакции в зависимости от заданной программы составляет 2–3 часа. Параллельно с опытными пробами ставятся контрольные: положительный контроль включает в себя все компоненты реакции, но вместо материала клинического образца вносится контрольный препарат ДНК исследуемого возбудителя. Отрицательный контроль включает в себя все компоненты реакции, но вместо клинического материала или препарата ДНК вносится соответствующее количество деионизованной воды или экстракта, не содержащего исследуемой ДНК. Отрицательный контроль необходим для проверки компонентов реакции на отсутствие в них ДНК или клеток возбудителя вследствие контаминации и исключить учет ложноположительных результатов.

Некоторые тест-системы допускают осуществление одновременного определения нескольких инфекций в одной реакции амплификации если для определяемых инфекций совпадают программы проведения реакции. Однако следует отметить, что в этом случае чувствительность реакции уменьшается пропорционально разбавлению. Поэтому, рекомендуется одновременно определять не более трех инфекций за одну реакцию. Количество циклов амплификации и температурный режим указаны в инструкции к используемой тест-системе. Обычно число циклов выбирается в диапазоне 30–40. Проведение более 40 циклов амплификации нежелательно, так как при этом значительно увеличивается количество неспецифических продуктов.

Электрофорез

Для визуализации результатов амплификации используют различные методы. Наиболее распространенным на сегодняшний день является метод электрофореза, основанный на разделении молекул ДНК по размеру. Для этого готовят пластину агарозного геля, представляющего собой застывшую после расплавления в электрофорезном буфере агарозу в концентрации 1,5–2,5% с добавлением специального красителя. Краситель встраивается (интерколирует) плоскостными группами в молекулы ДНК. Застывшая агароза образует пространственную решетку.

При заливке с помощью гребенок в геле формируют специальные лунки, в которые в дальнейшем вносят продукты амплификации. Пластины геля помещают в аппарат для электрофореза и подключают источник постоянного напряжения. Отрицательно заряженная ДНК начинает двигаться в геле от минуса к плюсу. На скорость движения ДНК в геле в основном влияет концентрация агарозы, напряженность электрического поля, температура и состав электрофорезного буфера. Все молекулы одного размера движутся с одинаковой скоростью. При этом более короткие молекулы ДНК движутся быстрее, чем длинные. Таким образом, положение полос продуктов амплификации в геле после электрофореза зависит от их размеров.

После окончания электрофореза, продолжающегося от 10 мин до 1 часа, гель просвечивают светом ультрафиолетового диапазона (254–315 нм). Энергия ультрафиолета, поглощаемая ДНК, передается на краситель, заставляя его флуоресцировать в видимой области спектра. Яркость полос продуктов амплификации может быть различной и зависит от количества ДНК в них. Поэтому часто в ПЦР-лабораториях принято оценивать результат по трех- четырех- или пятибалльной системе. Однако, необходимо иметь в виду, что часто уменьшение яркости свечения полос связано со снижением эффективности амплификации под влиянием различных факторов.

Различают горизонтальный и вертикальный электрофорез. Их отличие заключается в том, что при вертикальном электрофорезе вместо агарозы используют полиакриламидные гели и специальную вертикальную

камеру. Электрофорез в полиакриламидном геле имеет большую разрешающую способность по сравнению с агарозным и позволяет различать молекулы ДНК разных размеров с точностью до одного нуклеотида. Приготовление полиакриламидного геля несколько сложнее агарозного. Кроме того акриламид является токсичным веществом. Поскольку необходимость определения размера продукта амплификации с точностью до 1 нуклеотида возникает достаточно редко, то в повседневной работе чаще используют метод горизонтального электрофореза [20].

Люминесцирующие красители и их характеристики

В настоящее время для окрашивания ПЦР-продуктов имеется целый ряд специальных люминесцирующих красителей. К наиболее известным из них относятся Ethidium Bromide (этидийбромид), Fluorescein, Radiant Red, Texas Red, SYBR Green, Ribo Green, Pico Green. Красители обладают специфическими прокрашивающими свойствами, различными квантовыми выходами, спектральными характеристиками и адаптированы для различных приложений ПЦР.

Приведем некоторые сведения об эмиссионных и спектральных свойствах вышеперечисленных красителей. Так, например, по данным [23] краситель Ribo Green имеет линейную зависимость между флуоресценцией и концентрацией РНК в диапазоне 1,0 нг/мл–50 нг/мл, в два раза больший квантовый выход для РНК по сравнению с этидийбромидом (ЭБ), а краситель Pico Green имеет линейную характеристику в диапазоне 25 пг/мл–1000 нг/мл. Максимум люминесценции Ribo Green – 530 нм при максимуме спектра поглощения 485 нм. Весьма популярными красителями являются Fluorescein и SYBR Green, люминесцирующие в зеленой области спектра, а также Radiant и Texas Red, люминесцирующие в красной области спектра под воздействием ультрафиолетового излучения 302 нм. Применение данных красителей позволяет различать образцы в геле по цвету люминесценции. В распоряжении исследователей имеются специальные наборы красителей [23], обладающие избирательными свойствами по отношению к структурам ДНК и позволяющие дифференцировать их по цвету в диапазоне длин волн 450–700 нм с шагом порядка 30 нм.

Вместе с тем в настоящее время наиболее распространенным и доступным красителем для ДНК является ЭБ. Остановимся более подробно на его характеристиках. Окрашенные ЭБ ДНК имеют оранжево-красную флуоресценцию в области 590–610 нм. При взаимодействии с нативными ДНК и РНК квантовый выход флуоресценции ЭБ возрастает в 100 и 46 раз. Увеличение квантового выхода ЭБ специфично и линейно в широких пределах, что позволяет применять его для обнаружения малых количеств ДНК и РНК [22]. По данным [23] применение ЭБ позволяет обнаруживать от 0,1 до 50 нг ДНК в полосе для полиакриламидного геля. Для выявления количества ДНК в геле пластину геля выдерживают в растворе ЭБ, затем облучают ультрафиолетовым светом в области 256–315 нм и по интенсивности флуоресценции судят о количестве ДНК (рис. 1.11 и 1.12).

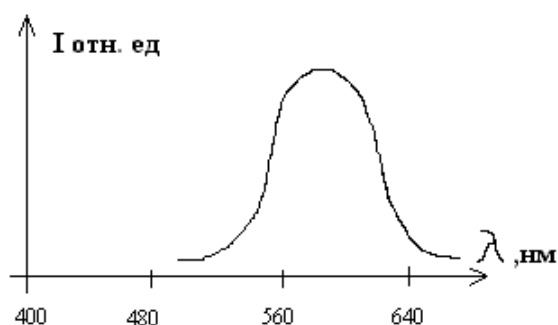


Рис. 1.11. Спектр флуоресценции ЭБ

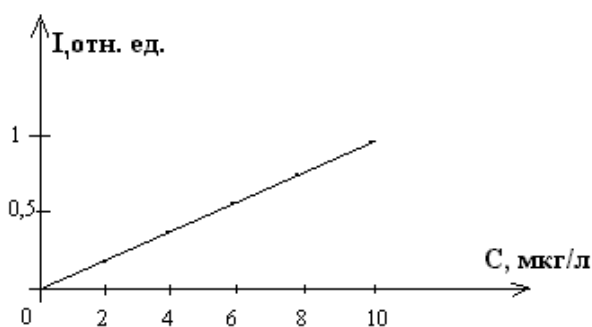


Рис. 1.12. Зависимость флуоресценции ЭБ от концентрации ДНК

Спектральные характеристики красителей и интенсивности их свечения определяют вид регистрирующей системы. Это может быть либо моноспектральная система, адаптированная на обнаружение конкретного типа люминесцирующего красителя, или мультиспектральная система для обнаружения нескольких красителей с априорно известными характеристиками. Примером моноспектральной системы является

телевизионная система Gel Doc 1 000 для обнаружения люминесценции в красной области спектра (в частности, ЭБ), а мультиспектральной системы – телевизионная система Fluor-S Multiimager System для обнаружения люминесценции как в красной, так и в зеленой областях спектра (в частности, ЭБ, Radiant Red, Texas Red, Fluorescein, SYBR Green). Системы созданы фирмой BIO RAD, США [24].

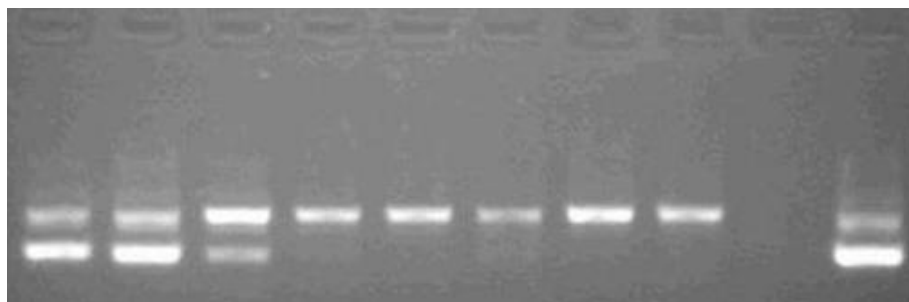


Рис. 1.13. Телевизионное изображение люминесцирующих продуктов ПЦР, получаемых при диагностике инфекционных заболеваний

Молекулярные маркеры

Молекулярными маркерами служат последовательности ДНК с известными количественными характеристиками: размерами фрагментов (обычно в парах оснований – п. о. или, так называемых, базовых парах – b. p., или в количестве нуклеотидов) и количеством содержащихся в них ДНК (обычно в мкг, нг или пг). Молекулярные маркеры – это своеобразные масштабные и градационные линейки, которые могут быть помещены в гель для оценки количественных характеристик исследуемой ДНК по характеру распределения в геле и интенсивности свечения фрагментов. На рис. 1.14 приведен пример распределения молекулярного маркера в геле [25], а на рис. 1.15 – изображение геля, содержащего молекулярный маркер.

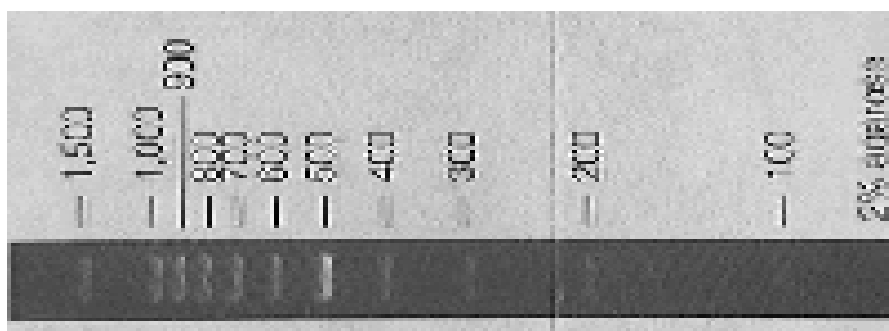


Рис. 1.14. Распределение в геле фрагментов молекулярного маркера 100 b. p. DNA Ladder с размерами от 1 000 до 100 п. о. с шагом 100 п. о.

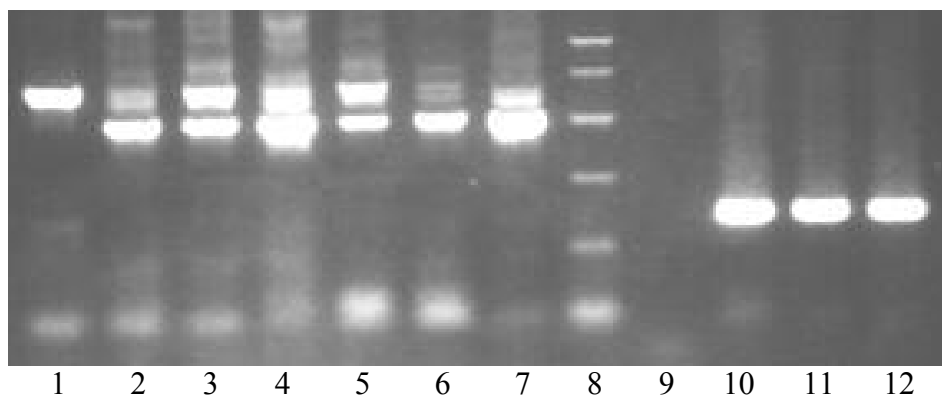


Рис. 1.15. Изображение геля с молекулярным маркером (дорожка 8)

Как правило, фрагменты молекулярного маркера имеют нелинейное распределение в геле. При этом отношения координат фрагментов маркера в геле являются инвариантными к условиям электрофореза.

Методы детекции результатов электрофореза

Можно выделить три основных метода детекции результатов электрофореза: визуальный, фотографический и телевизионный.

При *визуальном* методе гель просматривают непосредственно в УФ, субъективно оценивая результат.

При *фотографическом* методе полученный гель фотографируют, проводя дальнейшую диагностику по фотоснимкам. С помощью сканера возможна передача фотоснимков в компьютер с целью обработки и создания базы данных. Метод весьма чувствителен при применении специальных фотографических материалов, но требует определенных затрат времени на фотосъемку и обработку, что часто исключает возможность повторной съемки из-за относительно короткой жизни геля.

При *телевизионном* методе изображения гелей получают с помощью телевизионной камеры или цифрового фотоаппарата с последующим вводом в компьютер. Метод позволяет получать изображения в реальном времени, использовать цифровую обработку изображений, а также автоматизировать процесс определения количественных показателей (напр., количество и размер ДНК в полосе свечения) и диагностики, осуществлять ведение базы данных.

Нижний предел количества ДНК, при котором возможна денситометрия, определяется используемым методом детекции. Если

применяется окрашивание ЭБ, то предел визуального обнаружения соответствует 10 ng. Что касается верхнего предела, то слишком большое количество ДНК на дорожке приводит к заниженным оценкам (точность совсем низкая, начиная приблизительно с 0,5 μg). Оптимальный диапазон для денситометрического определения: 0,02–0,15 μg на полосу. При денситометрии следует также иметь ввиду, что ДНК легко теряет ЭБ особенно при повышении температуры [26].

Чувствительность фотографического и телевизионного метода детекции сопоставимы и составляют 0,1–1 нг ДНК при окрашивании ЭБ. Высокая чувствительность этих методов обусловлена применением специальных фотоматериалов и длительной экспозиции (до нескольких минут) или специальных преобразователей свет/сигнал.

4. Электролюминесценция (газоразрядное свечение) в медицинской диагностике

Основные виды газового разряда. Процесс визуализации. Количественные характеристики газоразрядных изображений. Области применения и перспективы биоэлектрографии.

Свечение объектов в электромагнитных полях (ЭМП) высокой напряженности (*эффект Кирлиан*) вызывает большой практический интерес как метод экспериментальных исследований изменений уровня и характера физиологической и психоэмоциональной активности организма человека под влиянием ряда воздействий: аллопатических и гомеопатических препаратов, терапии, аутотренинга и т. п. При описании результатов исследований биологических объектов применяется термин *биоэлектрография*, а также термин *газоразрядная визуализация* (ГРВ), введенный в практику и развитый как самостоятельный метод К.Г. Коротковым.

Изображения формируются за счет свечения газового разряда, возникающего вблизи поверхности объекта. Объект вносит вклад в инициирование и развитие газоразрядного свечения за счет собственных эмиссионных, электрофизических и энергоинформационных характеристик. Существуют два основных вида газового разряда: лавинный, возникающий в узком зазоре, ограниченном диэлектриком и поверхностный, скользящий по поверхности диэлектрика. На рис. 1.16 приведены примеры газоразрядного свечения некоторых объектов, представляющие собой различные динамические структуры, устойчиво образующиеся возле точек локализации – участков, имеющих поверхностные неоднородности.

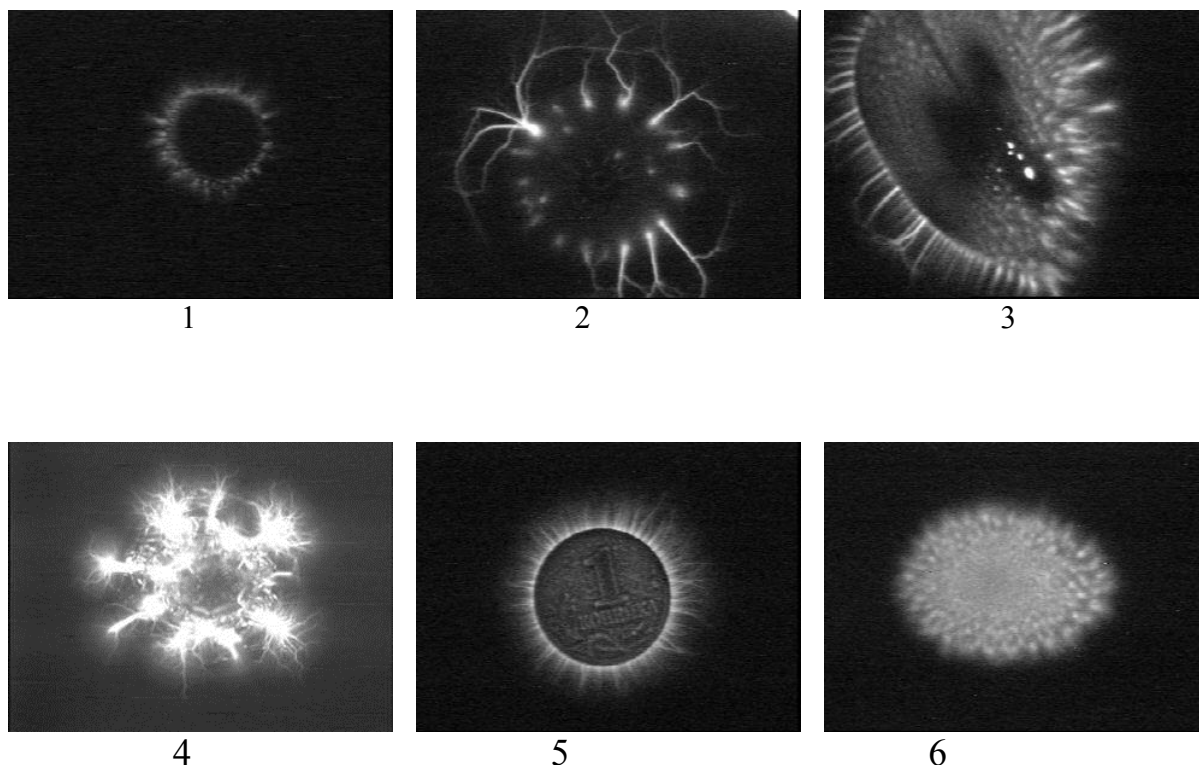


Рис. 1.16. 1 – газоразрядное свечение пальца руки; 2 – капли жидкости;
3 – листа растения; 4 – минерала; 5 – монеты; 6 – куриного яйца

Принцип формирования изображения заключается в следующем. Исследуемый объект размещается на диэлектрической пластине с нанесенным с обратной стороны прозрачным токопроводящим покрытием – электродом, на который подаются импульсы высокого напряжения от генератора ЭМП. При высокой напряженности поля в газовой среде пространства контакта объекта и пластины развивается лавинный и/или скользящий газовый разряд (ГР), характеристики которого определяются свойствами объекта. Газоразрядное свечение с помощью оптической системы и телевизионной камеры преобразуется в видеосигнал, который через устройство видеозаписи вводится в компьютер в виде одиночных или avi-файлов для последующей обработки с целью вычисления количественных параметров и диагностической интерпретации.

Сущность процесса визуализации может быть сведена к следующей теоретической схеме (рис. 1.17).

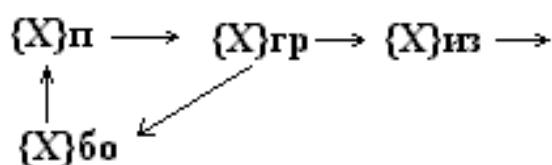


Рис. 1.17. Теоретическая схема процесса визуализации

Первичным процессом является процесс взаимодействия ЭМП с объектом исследования. При этом набор свойств объекта отражает множество $\{X\}_{\text{бo}}$, в котором определяющую роль играют физико-химические и эмиссионные процессы, а также процессы газовыделения, которые зависят от активных и пассивных свойств биологических тканей, их структурных и эмиссионных свойств. Изменения параметров проявляются на наружном покрове биологического объекта (коже) за счет рефлексогенных зон и биологически активных точек.

Набор параметров ЭМП – множество $\{X\}_{\text{п}}$. В результате взаимодействия $\{X\}_{\text{п}}$ с $\{X\}_{\text{бo}}$ происходит искажение ЭМП за счет поверхностных и объемных свойств объекта, а при определенных значениях напряженности ЭМП возникает эмиссия поверхностью объекта заряженных частиц, участвующих в инициировании начальных фаз ГР $\{X\}_{\text{гр}}$. Неоднородности поверхности и объема, процессы эмиссии заряженных частиц или выделения газов оказывают влияние на параметры ЭМП, за счет чего изменяются параметры свечения ГР. Такими параметрами являются характеристики тока разряда и оптического излучения.

ГР в свою очередь может влиять на состояние объекта, вызывая вторичные эмиссионные, деструктивные и тепловые процессы.

Основная информация извлекается из характеристик излучения, которое представляет собой пространственно распределенную группу участков различной яркости. Приемник излучения (телевизионная камера) преобразует пространственное распределение яркости в изображение, а анализ амплитудных характеристик видеосигнала приводит к формированию набора параметров, по которым строится диагностическое заключение о состоянии биологического объекта. В изображениях газоразрядного свечения проявляется комплекс параметров и особенностей организма, связанных как с процессами гомеостаза, так и с локальными электрохимическими явлениями, протекающими на ограниченных участках кожного покрова.

Можно выделить следующие факторы, позволяющие получить в изображениях газоразрядного свечения информацию о состоянии биологического объекта (БО):

1. Импеданс электрической цепи, зависящей от электрофизических свойств БО (БО включен в цепь протекания электрического тока в системе связанных LC контуров, поэтому изменения комплексного сопротивления БО за счет физиологических процессов приводит к перераспределению токов в контурах и влияет на параметры ГР).

2. Факторы, влияющие на распределение электрического поля в разрядном зазоре (БО представляет собой объект с неоднородным распределением элементов различной проводимости, например, кровеносные и лимфатические сосуды, соединительная ткань и т. п., что приводит к формированию неоднородного рельефа ЭМП и влияет на развитие ГР).

3. Пространственно-временная неоднородность собственного газовыделения или испарения поверхности БО (наличие влажности, выделение газов влияют на условия развития разряда).

4. Эмиссионные процессы поверхности БО являются факторами, инициирующими ГР (от особенностей эмиссионных свойств зависят интенсивность и частота следования разрядов).

Информативной является видимая область спектра газоразрядного свечения, несмотря на присутствии в нем ультрафиолетовой (от 250 нм) составляющей. Это обстоятельство позволяет использовать обычную оптику и преобразователи свет/сигнал.

Для возбуждения свечения рекомендуется использовать пачки импульсов с длительностью 10 мкс, частотой следования 1 кГц и напряжением 3–20 кВ. Форма импульсов не оказывает существенного влияния на информативность получаемых изображений. Скважность импульсов, получаемая при указанных выше параметрах, обеспечивает достаточное время релаксации объекта после каждого импульса [27–30].

Минимальное время съемки, определяемое, в основном, временем возбуждения газового разряда и быстроедействием стандартных устройств видеозаписи изображения в компьютер, может составлять от 100 мс. При этом общее время воздействия на объект высоковольтным напряжением

составит 1 мс. Максимальное время съемки определяется допустимым временем воздействия, при котором сохраняются информационные свойства объекта. Так, например, при ограничении общего времени высоковольтного воздействия на объект до 1 с общее время съемки может быть увеличено до 1,5 мин. Исходя из этих соображений, в программном обеспечении, управляющем режимами работы аппаратуры, предусматривается блокировка процесса непрерывной съемки.

В отличие от распространенных способов медицинской визуализации в биоэлектрографии заключение дается не путем изучения анатомических структур организма, а на основании конформных преобразований и математической оценки многопараметрических образов, параметры которых зависят от психофизиологического состояния организма. Функциональные особенности БО проявляются в основном в вариабельности и динамике картин свечения ГР, что позволяет использовать для их анализа широкий спектр аналитических и графических моделей. Так, например, К.Г. Коротковым на основе уточнения зон Питера Манделя разработан ряд моделей, позволяющих строить секторные диаграммы, отображающие распределение площадей свечения отдельных зон пальцев рук, являющихся проекциями соответствующих органов и систем организма человека, а также синтезирующих картину распределения физического поля вокруг тела человека в трех проекциях. В соответствии с этими моделями создано программное обеспечение GDV-Diagram, GDV-Chakra, GDV-Aura. На рис. 1.18 показаны примеры построения таких моделей с помощью программ GDV-Aura и GDV-Diagram.

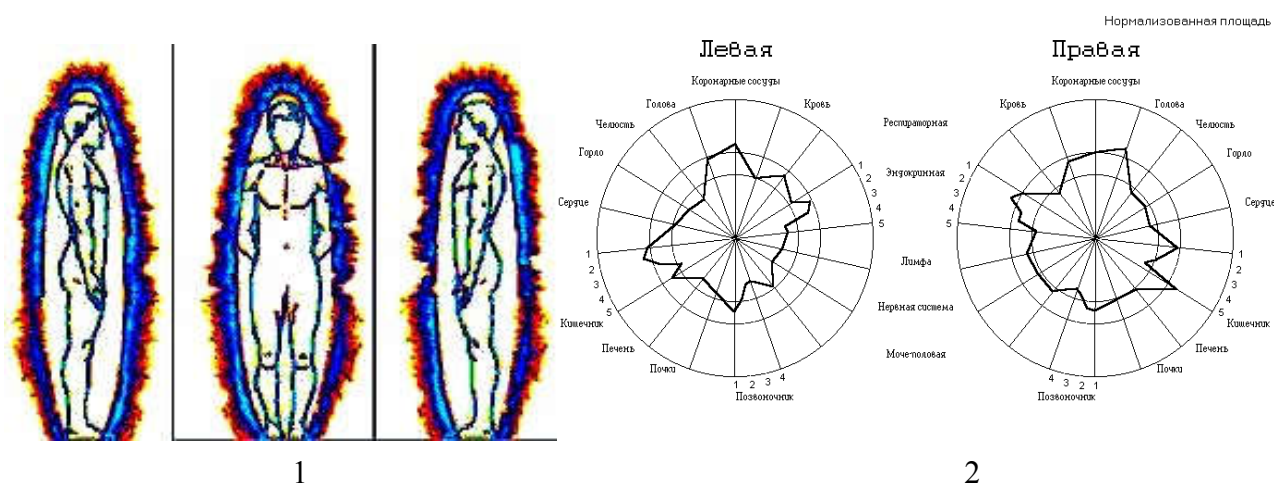


Рис. 1.18. 1 – Построения моделей по методу К.Г. Короткова: распределение физического поля вокруг тела человека (аура); 2 – секторная диаграмма распределения площади свечения отдельных зон пальцев рук

Основными количественными характеристиками газоразрядных изображений являются:

1. Интегральные параметры:

S – общая площадь свечения, определяемая как сумма пикселей с яркостью выше заданного порога;

J – интегральная яркость свечения, определяемая как сумма яркостей пикселей с яркостью выше заданного порога;

$J_{\text{ср}}$ – средняя яркость свечения, определяемая как отношения интегральной яркости к общей площади свечения;

L – длина периметра, определяемая как сумма пикселей внешнего контура свечения.

2. Спектральные параметры:

– яркостной спектр (гистограмма распределения яркостей) – показывает количество пикселей с заданной яркостью в анализируемом изображении;

– фрактальный спектр – показывает количество связных компонентов заданного размера в анализируемом изображении;

– площадь спектра (яркостного или фрактального) – сумма значений функции спектра для всех ее аргументов;

– медиана спектра (яркостного или фрактального) – значение аргумента функции, делящего площадь спектра пополам.

Фрактальный параметр: коэффициент формы – определяется как отношение квадрата периметра к площади.

Структурные параметры:

– количество и средняя длина стримеров;

– количество связных компонентов изображения и их площадь.

Статистические параметры: Средние значения и дисперсии параметров по выборке.

Вероятностные характеристики:

1. Дисперсия:

$$m_1 = \int |f(x) - f_0|^2 g(f) df, \quad f(x) \in [f_{\max}, f_{\min}],$$

где $f(x) = \frac{2\pi F(x)}{\int F(x) dx}$ – нормированная функция $F(x)$ радиального

распределения параметра изображения (напр., яркости) при $x \in [0; 2\pi]$;

f_0 – математическое ожидание функции $g(f)$;

$$g(f) = \frac{G(f)}{\int G(f) df} \quad \text{– нормированная функция } G(f) \text{ распределения}$$

плотности значений $f(x)$, где $f(x) \in [f_{\max}, f_{\min}]$.

2. Энтропия – мера отклонения от равновесия (степень разброса параметров), убывающая при стремлении к равновесному состоянию

$$E = - \int g(f) \log \{g(f)\} df, \quad f(x) \in [f_{\max}, f_{\min}].$$

3. Автокорреляционная функция – характеристика регулярности процесса, степень повторяемости свойств $f(x)$ на определенном расстоянии – y

$$K(y) = \int_0^{2\pi} (f(x) - f_0)[f(x+y) - f_0] dx.$$

[28, 29, 31].

Области применения и перспективы биоэлектрографии

За последние годы развития биоэлектрографии определились следующие основные области ее применения:

- разработка медицинских диагностических методик;
- исследование психофизиологического состояния человека;
- изучение свойств различных жидкостей, веществ, минералов.

Медицинская диагностика. Направление основано на предложенных Питером Манделем и развитых К.Г. Коротковым принципах секторального разбиения изображений пальцев рук (ног) и их привязки к органам и

системам организма человека с использованием восточных представлений о системе меридианов и биологически активных точек, а также практического опыта. Кроме этого, для диагностики используются параметрические оценки изображений газоразрядного свечения, дающие возможность делать заключения о норме, дисфункции или гиперфункции органа или системы организма.

Метод биоэлектрографии имеет следующие достоинства, важные для применения в медицинской практике:

- возможность скрининга и мониторинга как за комплексным состоянием организма, так и его отдельных частей;
- объективность контроля;
- неинвазивность;
- методическая простота, удобство и оперативность контроля;
- наглядность и интерпретируемость результатов, возможность хранения и обработки [28].

Исследования психофизиологического состояния организма. Для отсекаания компонентов, связанных с биофизическими процессами на кожном покрове (перспирации, газовыделения, поверхностных веществ), используется методика съемки через полимерный фильтр [32, 33], что позволяет разделить информацию о работе симпатической и парасимпатической нервной системы и на основе вычисления параметров изображений, полученных в различных условиях съемки, вычислить индекс стресса для оценки психофизиологического состояния [28].

Получены статистически достоверные результаты, подтверждающие связь параметров изображений газоразрядного свечения (площадь свечения, коэффициент формы, количество фрагментов, наличие удаленных фрагментов – «дистантная эмиссия») с психоэмоциональным состоянием высококвалифицированных спортсменов, их психофизической готовностью и успешностью соревновательной деятельности, что позволяет успешно использовать метод биоэлектрографии в спортивной психодиагностике [34].

Изучение жидкофазных объектов. Для исследования жидкофазных объектов (образцов крови, растворов препаратов и т. п.) разрабатываются специальные методические приемы, которые позволяют выявлять действие различных факторов на их качество [35]. В настоящее время развиваются

новые технические подходы, связанные с анализом динамики развития газоразрядного свечения путем съемки avi-файлов.

ГЛАВА 2

ТЕЛЕВИЗИОННАЯ ВИЗУАЛИЗАЦИЯ ФОТОЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ

1. Принципы построения телевизионных спектральных систем (ТСС)

Определение и классификация ТСС. Обобщенная структурная схема ТСС. Описание основных компонентов системы.

Классификация ТСС

Под ТСС понимается система, в которой интегрированы все необходимые компоненты для возбуждения люминесценции исследуемого объекта и регистрации ее телевизионного изображения. В состав ТСС входят средства светозащиты объекта, источник возбуждения люминесценции и телевизионная камера в качестве приемника люминесценции.

ТСС могут быть условно классифицированы следующим образом:

1) по количеству спектральных диапазонов, в которых производится визуализация люминесценции:

Моноспектральные ТСС – предназначены для обнаружения объекта с априорно известными спектральными характеристиками, имеют фиксированные светофильтры C_1 и C_2 , выделяющие соответственно спектр поглощения и спектр люминесценции. Моноспектральная ТСС применяется, например, для визуализации продуктов ПЦР, которые в лаборатории, как правило, окрашивают только одним люминесцирующим красителем.

Мультиспектральные ТСС – предназначены для обнаружения широкого класса объектов, обладающих различными спектральными характеристиками, в том числе априорно неизвестными. Они имеют наборы светофильтров C_1 и C_2 . Эти наборы могут быть дискретными при использовании стандартных цветных оптических стекол и узкополосных

интерференционных светофильтров или плавными при применении клиновидных интерференционных фильтров. Мультиспектральные ТСС необходимы при криминалистических исследованиях, поскольку очень часто заранее неизвестны физико-химические свойства веществ, примененных при нарушении подлинности документов.

2) По типу источника возбуждения люминесценции (ИВЛ):

Непрерывные, в которых используются ИВЛ, постоянно излучающие свет во время работы ТСС. Это могут быть, например, галогенные источники света видимого диапазона для возбуждения инфракрасной люминесценции, а также эритемные или бактерицидные лампы для возбуждения ультрафиолетовой люминесценции.

Очевидным достоинством непрерывных ТСС является возможность наблюдения люминесценции в реальном времени. Однако, в ряде случаев энергетических характеристик непрерывных ТСС недостаточно для обнаружения слаболюминесцирующих объектов. Тем не менее, они имеют наибольшее распространение в силу простых технических решений и удобств эксплуатации.

Импульсные, в которых используются лампы-вспышки, обладающие высокой мощностью излучения в импульсе.

В отличие от непрерывных, импульсные ТСС не обеспечивают возможность работы в реальном времени. Они более сложны в реализации, так как данный режим работы требует синхронизации процессов вспышки и захвата информационного телевизионного кадра. Импульсные ТСС применяются, как правило, для обнаружения слаболюминесцирующих объектов. Обычно импульсный режим работы в ТСС является дополнительным к непрерывному и используется для более качественной визуализации люминесцирующих объектов.

3) Классификация по типу приемника люминесценции ПЛ:

Стандартные, имеющие фотоприемник обычной чувствительности до 0,01 лк.

Высокочувствительные, имеющие фотоприемник с чувствительностью от 0,01 лк и выше. Такие фотоприемники имеют или увеличенное время накопления на мишени, или электронно-оптические преобразователи (ЭОП).

4) Классификация по условиям эксплуатации:

Стационарные, предназначенные для проведения исследований в лабораторных условиях.

Мобильные, имеющие малые габариты, массу и автономный источник питания для работы в условиях выезда на место происшествия.

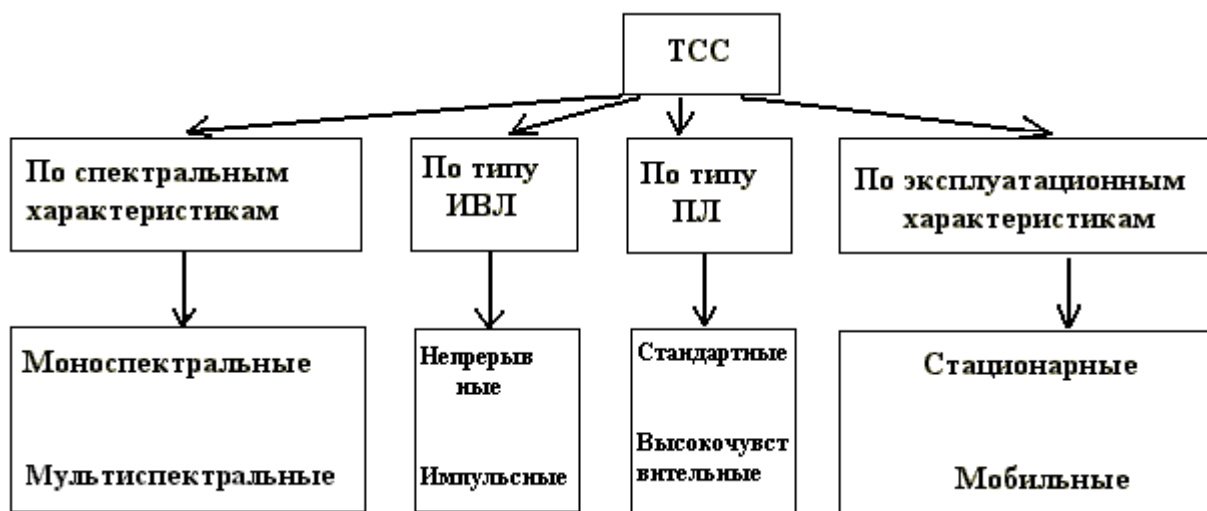


Рис. 2.1.1. Условная классификация ТСС

При построении ТСС, предназначенной для визуализации люминесцирующих объектов, решается задача оптимального выбора компонентов системы, исходя из необходимости достижения наилучшего качества получаемого изображения, а именно: контрастности и различимости деталей. Ниже рассматривается обобщенная структурная схема ТСС и отдельные составные части.

Обобщенная структурная схема ТСС

Обобщенная структурная схема ТСС приведена на рис. 2.1.2. В ее основу положена схема установки для изучения люминесценции различных веществ.

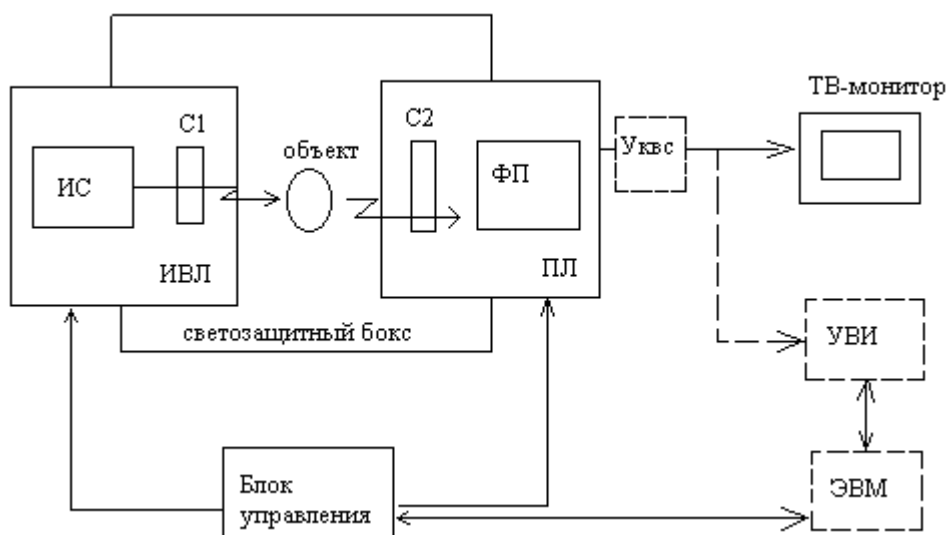


Рис.2.1.2. Обобщенная структурная схема ТСС

С₁ и С₂ – светофильтры (или наборы светофильтров для ТСС); ИС – источник света (или набор источников света для ТСС); УВИ – устройство ввода изображений; Уквс – узел коррекции видеосигнала; ФП – фотоприемник; ПЛ – приемник люминесценции

Источники света (ИС), используемые в ТСС, имеют достаточно широкий спектр, из которого надо выделять участки, соответствующие спектрам поглощения исследуемых веществ. Так, например, обычно используемые в качестве источников ультрафиолетового света эритемные и бактерицидные лампы имеют кроме полезной УФ-составляющей достаточно мощное излучение в видимой и инфракрасной областях спектра. В качестве светофильтра С₁ в ИВЛ ультрафиолетового диапазона используются чаще всего стандартные светофильтры типа УФС.

Для возбуждения люминесценции в красной и инфракрасной областях спектра обычно используются галогенные лампы, из широкого спектра излучения которых выделяется сине-зеленый спектральный диапазон. В качестве светофильтра С₁ для таких ИВЛ используются либо светофильтры типа СЗС, либо узкополосные интерференционные фильтры.

Рассмотренные выше источники света позволяют возбуждать люминесценцию на достаточно большом поле зрения, соответствующем формату А4. Вследствие необходимости ограничения тепловых нагрузок, как на светофильтры, так и на исследуемый объект, в ТСС обычно не используют галогенные лампы мощностью более 100 Вт. Для

люминесцентных ламп УФ-диапазона увеличение мощности связано с увеличением их длины, поэтому применяемые в ИВЛ люминесцентные лампы, как правило, не превышают 15 Вт.

Для возбуждения люминесценции на небольшом поле зрения в пределах нескольких см² можно использовать сверхяркие светодиоды, излучающие свет в узких диапазонах спектра (ближнем ультрафиолетовом, голубом, зеленом, оранжевом и красном). Для ИВЛ на светодиодах не требуется дополнительных светофильтров.

Увеличение мощности в ИВЛ может быть достигнуто за счет применения импульсных кварцевых ламп-вспышек, излучающих в широком диапазоне от коротковолнового (200 нм) ультрафиолетового до ближнего (1 000 нм) инфракрасного. Лампы-вспышки с обычным стеклом ограничивают ультрафиолетовую область спектра ее длинноволновой частью (от 390 нм).

Примером используемой в ТСС лампы-вспышки является импульсная лампа ИФК-120 с энергией в импульсе 120 Дж.

В качестве фотоприемника в ТСС в настоящее время применяются телевизионные камеры на основе матриц приборов с зарядовой связью (ПЗС). ПЗС-матрицы стандартной чувствительности (0,1–0,01лк) могут использоваться только для визуализации достаточно интенсивной, хорошо наблюдаемой невооруженным глазом люминесценции, например, свечение элементов защиты в денежных знаках и ценных бумагах.

Для телевизионного наблюдения люминесценции, интенсивность которой лежит на границе визуального метода обнаружения, необходимо использовать ПЗС-матрицы с повышенной чувствительностью (0,01–0,008 лк). Достаточную для этих целей чувствительность имеют ПЗС-матрицы с микролинзами. В современных ПЗС-матрицах часто увеличивают интегральную чувствительность в основном за счет подъема в ближней ИК области спектра, что оказывается полезным при визуализации ИК-люминесценции.

ТВ-камера используемая в ТСС должна иметь достаточно мощную АРУ для усиления слабых сигналов, а также обеспечивать фиксацию уровня «черного» в видеосигнале. Эффективно работающая камера должна обеспечивать темный фон изображения с локальными светлыми люминесцирующими объектами различной интенсивности. При этом не должно быть «хвостов» на границах яркостных перепадов, локальных пересветок от яркolumинесцирующих объектов, тактовых помех в виде вертикальных линий или наклонных полос.

Отношение сигнал/шум, при котором обеспечивается предельная чувствительность камеры, имеет важное значение, особенно при непосредственном наблюдении изображений на экране ТВ-монитора. Для визуального выявления слабовидимой люминесценции лучше полезным усилить зашумленный сигнал, который за счет интегрирующих свойств зрения человека может быть обнаружен на экране монитора.

Для этих целей весьма эффективны корректоры видеосигнала, обеспечивающие его аналоговую обработку – дополнительную регулировку уровня «черного» и усиления.

Наличие в системе устройства ввода изображений и ЭВМ обеспечивает возможность не только визуализации и документирования, но и позволяет использовать цифровые методы обработки вводимых изображений. Для статических изображений люминесцирующих объектов наиболее эффективен метод цифрового накопления видеосигнала, устраняющий равномерный шум. Накопление позволяет улучшить отношение сигнал-шум в $\sqrt{n}$ раз, где n – число накапливаемых кадров изображений. На практике для получения хорошего качества оказывается достаточным усреднить от 20 до 60 кадров.

Для выявления люминесцирующих следов, не обнаруживаемых визуальным методом, требуются высокочувствительные ТСС, в которых необходимо использовать или специальные камеры с длительным накоплением на мишени, или камеры с ЭОПом, обеспечивающие чувствительность от 0,008 лк и ниже.

Камера с ЭОПом дает возможность наблюдения изображения в реальном времени, однако, со значительным уровнем шума, который необходимо устранять цифровым накоплением. Применение ЭОПа существенно повышает стоимость камеры и требует специальной оптики переноса изображения с ЭОПа на мишень ПЗС-матрицы.

ПЗС-камеры с накоплением на мишени также имеют достаточно сложные конструктивные особенности, а именно при реализации в них длительного цикла накопления (более 20 с), требующего принудительного охлаждения фотоприемника с целью уменьшения величины его темнового тока [36]. При накоплении на мишени отсутствует возможность наблюдать объект в реальном времени, что создает некоторые неудобства при проведении исследований.

Несмотря на ряд проблем, таких как: темновой ток, факторы, вызывающие размытие изображения (напр., из-за динамического характера сюжета или промышленных вибраций), в настоящее время режим накопления на мишени используется не только в телевизионных камерах, но и в ряде моделей цифровых фотоаппаратов (ЦФ). Несомненным достоинством данного метода является его высокая эффективность за счет накопления сигнала до воздействия шума телевизионного канала.

Важным фактором для повышения чувствительности ПЛ является уменьшение потерь в оптике и использование светосильных объектов, а также светофильтров S_2 с большим коэффициентом пропускания в области спектра люминесценции и высокой степенью подавления вне ее. Предпочтительно использование короткофокусной оптики, позволяющей уменьшить потери света за счет максимально возможного приближения ПЛ к объекту исследования. Однако, здесь необходим поиск компромисса между минимальным расстоянием до объекта, величиной поля наблюдения и допустимой величиной геометрических искажений, свойственных короткофокусным объективам. Практика показывает, что объективы с фокусным расстоянием короче 6 мм в ТСС применять нецелесообразно из-за заметных геометрических искажений, получаемых уже при поле зрения 90×120 мм.

В качестве светофильтров C_1 в ПЛ для ТСС обычно используются стандартные цветные стекла, отсекающие коротковолновую часть спектра от некоторой границы, например, светофильтры типа ЖС, ОС, КС, ИКС. Узкополосные интерференционные фильтры в силу своей относительно высокой стоимости применяются реже при необходимости проведения детальных спектральных исследований. Конструктивно ПЛ и ИВЛ обычно объединяются в светозащитном боксе, исключающем внешние паразитные засветки.

На блок управления возлагаются функции выбора режима работы ТСС, а именно: включение нужного источника света и установка требуемого набора светофильтров C_1 и C_2 . Например, при включении режима контроля ультрафиолетовой люминесценции (УФЛ) блок управления обеспечивает включение УФ источника света и установку светофильтра типа ЖС, выделяющего люминесценцию в видимой области. При включении режима контроля инфракрасной люминесценции (ИКЛ) – включение источника сине-зеленого света и установку светофильтра типа КС или ИКС, выделяющего красную или ближнюю ИК- область спектра.

В более сложных системах функционирование блока управления целесообразно осуществлять по программе от ЭВМ. При этом обеспечивается проведение исследований объектов (документов) по заданному алгоритму в соответствии с типовыми методиками. Например, в режиме УФЛ осуществляется последовательный просмотр и контроль люминесценции по участкам видимого диапазона спектра при облучении ультрафиолетовым светом.

Управление от ЭВМ позволяет значительно расширить функциональные возможности аппаратуры, например, производить сложение, вычитание, соединение изображений, полученных в различных участках спектрального диапазона, с целью наилучшего выявления тех или иных информативных признаков.

В качестве устройства ввода изображений (УВИ) могут использоваться стандартные устройства видеозаписи (видеобластеры), обеспечивающие достаточное качество вводимых изображений при количестве элементов разложения не менее 640×480 . Устройства

видеозаписи, поддерживающие стандарт VIDEO FOR WINDOWS, позволяют обращаться к их драйверам для захвата кадров изображений через буфер обмена из программ управления ТСС.

Большинство современных ЭВМ соответствует требованиям, предъявляемым к работе с высококачественной графикой, к которой относятся полутонные и цветные изображения исследуемых объектов. Для реализации «живого» видео на экране дисплея, так называемого режима быстрого или аппаратного просмотра – OVERLAY, достаточно быстродействия ЭВМ Intel Pentium II от 300 МГц с ОЗУ не менее 32 МБ с видеоадаптером, поддерживающим режим True Color 24 bit RGB, и УВИ для шины PCI. УВИ, подключаемые к внешним шинам (напр., к USB), пока не обеспечивают поддержку режима «OVERLAY». Использование УВИ и ЭВМ позволяет в большинстве случаев отказаться от телевизионного монитора и контролировать изображения непосредственно на дисплее ЭВМ.

2. Источники возбуждения люминесценции (ИВЛ)

Некоторые сведения из фотометрии. Классификация люминесцентных ламп. Стандартные люминесцентные лампы. Спектральные характеристики стандартных люминесцентных ламп. Специальные ультрафиолетовые люминесцентные лампы. Внешний вид и параметры некоторых ультрафиолетовых источников света. Схема включения люминесцентной лампы. Галогенные лампы (ГЛ). Внешний вид некоторых ГЛ, основные параметры, диаграммы распределения. Импульсные лампы. Спектр ртути. Устройство простейшей фотовспышки. Технические показатели фотовспышек. Светодиоды. Светофильтры. Основные характеристики светофильтров. Абсорбционные фильтры. Стеклопленочные светофильтры. Интерференционные фильтры.

ИВЛ в ТСС предназначены для создания светового потока в области спектра поглощения исследуемого объекта. ИВЛ, как правило, имеет источник света с достаточно широким спектром $P(\lambda)$ и полосовой светофильтр S_1 со спектральной характеристикой $K_1(\lambda)$ для выделения спектра поглощения. Размеры исследуемых с помощью ТСС объектов обычно не превышают формата А4 из-за ограниченной разрешающей способности телевизионной системы. Оптимальное поле зрения для стандартной телевизионной системы составляет 120×160 мм с возможностью 10–16-кратного увеличения масштаба, что оказывается вполне достаточным для решения большинства практических задач. Размеры поля зрения определяют в свою очередь требования к ИВЛ по равномерности освещенности и световому потоку. Конструктивные особенности ТСС (прибор настольного исполнения) накладывают ограничения на габаритные размеры (особенно для трубчатых ламп) и на мощности источников света. Повышение мощности трубчатых ламп связано с увеличением их длины и, как следствие, ростом габаритов ТСС. При освещении относительно небольшого поля зрения длинная рабочая поверхность трубчатой лампы может использоваться неэффективно. Увеличение мощности ламп связано также с повышением тепловыделения, что негативно влияет как на сам объект исследования, так и на элементы конструкции ИВЛ и ТСС в целом. При недостаточном отводе тепла в ИВЛ возможны локальные перегревы светофильтров, приводящие к их разрушению.

Рассмотрим основные параметры, спектральные характеристики и конструктивные особенности следующих источников света, пригодных для использования в ИВЛ:

- люминесцентные лампы;
- металлогалогенные и галогенные лампы;
- импульсные источники света;
- светодиоды.

Некоторые сведения из фотометрии

Электрическая мощность измеряется в ваттах, которую потребляют лампы. Часть этой мощности теряется в лампе, часть излучается в виде видимого и невидимого (ультрафиолетового и инфракрасного) излучения. Причем большая часть в виде теплового, инфракрасного излучения. На долю видимого излучения приходится всего около 5% мощности в лампах накаливания и около 10–15% – в люминесцентных лампах.

Энергетический поток является величиной, аналогичной световому потоку. По определению поток (Φ) – это количество лучистой энергии в заданном интервале длин волн (λ_1 – λ_2), протекающее в единицу времени сквозь некоторую площадку S . Поток имеет размерность мощности – ватт или микроватт. Часто наряду с интегральным потоком Φ используется спектральный поток, т. е. поток, приходящийся на единичный интервал длин волн $\phi(\lambda)$. Интегральный поток связан со спектральным соотношением:

$$\Phi = \int_{\lambda_1}^{\lambda_2} \phi_{\lambda} d\lambda$$

Мощности соответствует световой поток, измеряемый в люменах. Один ватт, излучаемый на длине волны 555 нм, соответствует 683 лм. Для остальных длин волн надо просто умножить значение кривой чувствительности глаза на мощность, излучаемую на данной длине волны. Чтобы найти полное количество люменов, излучаемое лампой, надо просуммировать (или проинтегрировать) количество люменов для всех длин волн.

Для определения светового потока лампы можно воспользоваться каталогами. Для ламп используется понятие *светоотдачи* (*efficacy*), характеризующее количество излучаемых люменов на единицу потребляемой (но не излучаемой) мощности – например, для ламп накаливания она равна 17 Лм/Вт.

Лампы одинаковой мощности, но с разными спектрами излучают разный световой поток в люменах, даже если излучаемые мощности равны между собой. Наиболее эффективна в этом смысле люминесцентная лампа с цветовой температурой в диапазоне 5600 К–6500 К (соответствует холодно-белому и дневному цветам). Лампы с широким спектром (*wide-spectrum*), у которых улучшенный коэффициент цветопередачи, обладают более низкой светоотдачей, поскольку в спектре такой лампы должны более или менее присутствовать все спектральные компоненты, при этом голубые и красные цвета имеют малую «производительность» люменов на ватт.

Широко используемым фотометрическим понятием является *освещенность*, измеряемая в люксах и определяющая экспозицию. Освещенность равна отношению величины светового потока, проходящего через плоскую площадку, к площади этой площадки, подразумевая, что поток параллельный и постоянный по площадке. Отсюда и единица измерения освещенности – люкс, равный одному люмену, деленному на один квадратный метр. Иногда в англоязычной литературе встречается единица *footcandle* (fc), которая равна одному люмену на квадратный фут (примерно 10 люкс).

Правило косинусов – освещенность площадки, наклоненной на определенный угол между перпендикуляром к поверхности и направлением параллельного потока, равна освещенности площадки, находящейся под углом 90° к направлению потока, умноженному на косинус этого угла.

Правило обратных квадратов – для точечных источников света освещенность площадки обратно пропорциональна квадрату расстояния между источником и площадкой.

Яркостью источника в данном направлении называется поток, посылаемый единицей видимой поверхности в пределах единичного телесного угла:

$$B_{\varphi} = \frac{d\Phi}{S \cos \varphi d\Omega},$$

где S – площадь излучающей поверхности, $d\Omega$ – телесный угол, в котором излучается поток $d\Phi$, φ – угол между нормалью к площадке S и направлением наблюдения.

Для широкого класса источников яркость не зависит от направления наблюдения. В этих случаях индекс φ не учитывается и яркость обозначается через B . Правильнее называть эту величину *интегральной яркостью*. Спектральная яркость b_{λ} связана с интегральным соотношением:

$$B = \int_{\lambda_1}^{\lambda_2} b_{\lambda} d\lambda.$$

Интенсивность спектральных линий I определяется как мощность, излучаемая единицей объема источника в интервале длин волн, соответствующем полной ширине данной спектральной линии:

$$I = \int_{\lambda_1}^{\lambda_2} i_{\lambda} d\lambda,$$

где i_{λ} – спектральная мощность излучения, соответствующая данной линии.

Пределы интегрирования выбираются до таких длин волн, где i_{λ} практически падает до нуля. Так как это падение происходит достаточно быстро, то пределы интегрирования можно расширить:

$$I = \int_{-\infty}^{\infty} i_{\lambda} d\lambda.$$

Во многих каталогах ламп можно встретить значения CCT, CRI и *цветовые координаты*.

CCT (Correlated Color Temperature – цветовая температура) и CRI (Color Rendering Index – коэффициент цветопередачи) – два параметра, используемые для характеристики цвета источников света.

Цветовая температура CCT – это температура абсолютно черного тела, которое имеет «ближайший» цвет к данной лампе. Она ничего не говорит о том как нагрето тело накала или дуга лампы, а характеризует только цвет, например, лампы с CCT – 2 880–3 200 К имеют желтоватый оттенок («теплый», «warm» цвет), лампы с CCT 3 500 К – «нейтральный» белый цвет, лампы с CCT 4 100 К – «холодный», «cool» белый цвет, лампы с CCT – 6 500–10 000 – голубоватый оттенок.

Коэффициент цветопередачи CRI характеризует насколько близко к «истинным» будут видны цвета объектов в результате рассматривания их при свете лампы. Под «истинными» понимаются цвета при рассматривании с использованием тестового источника. Для определения CRI вычисляется среднее значение отклонения цветовых координат (x, y) при рассматривании набора тестовых цветов. CRI принимает значения от 0 до 100. CRI, равный 0, соответствует свету, который не передает цветов вообще. CRI, равный 100, соответствует источнику, который передает цвета так же как и тестовый источник – лампа накаливания (для источников с CCT < 5 000 К) или «daylight» (для ламп с CCT > 5 000 К).

Сравнивать значения CRI можно только для ламп с одинаковым значением CCT, иначе такое сравнение теряет смысл [37].

Люминесцентные лампы

По своему спектральному составу излучения все люминесцентные лампы можно условно разделить на три типа:

1. *Стандартные люминесцентные лампы.* В лампах этой серии применяются однослойные люминофоры, позволяющие получить

различные оттенки белого света. Лампы этого типа широко используются в установках общего освещения.

2. *Люминесцентные лампы улучшенной цветопередачи.* В этих лампах используется высокоэффективный трех- или пятислойный люминофор, который позволяет хорошо передавать цвет различных искусственных и естественных объектов. При этом световой поток у ламп улучшенной цветопередачи примерно на 12% выше чем у стандартных люминесцентных ламп.

3. *Специальные люминесцентные лампы* могут иметь различные добавки или особый тип люминофора, что позволяет выделить из спектра определенные линии или полосы заданной частоты в зависимости от назначения лампы.

Стандартные люминесцентные лампы (fluorescent lamps)

Люминесцентные лампы представляют собой газоразрядные источники света, принцип действия которых заключается в следующем: под воздействием электрического поля в парах ртути, закачанной в герметичную стеклянную трубку, возникает электрический разряд, сопровождающийся ультрафиолетовым излучением. Нанесенный на внутреннюю поверхность трубки люминофор преобразует ультрафиолетовое излучение в видимый свет. Подбирая соответствующие виды люминофора, можно изменять цветовые характеристики ламп. Одной из таких характеристик является общий индекс цветопередачи (Ra). Большее значение Ra соответствует лучшему воспроизведению цвета. Максимальное значение – 100. Люминесцентные лампы создают значительно более рассеянный свет, в отличие от малоразмерных источников, таких как: лампы накаливания, галогенные и газоразрядные лампы высокого давления. *Светоотдача* (т. е. количество излучаемых люменов на единицу потребляемой мощности) зависит от типа лампы и составляет 70–100 люмен/ватт. Срок службы доходит до 15 000–20 000 часов.

Несмотря на более высокую эффективность люминесцентных ламп по сравнению с *лампами накаливания*, только небольшая часть подводимой энергии (рис. 2.2.1) преобразуется в видимое излучение (не считая потерь в балласте). Большая часть энергии превращается в инфракрасное излучение (37%) и рассеянное тепло (42%).

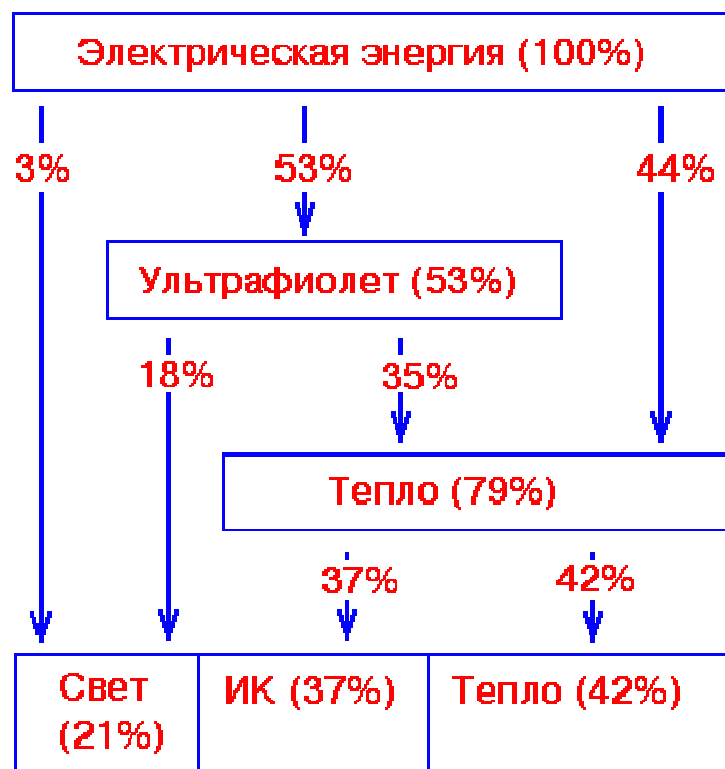


Рис. 2.2.1. Распределение энергии люминесцентных ламп

Световая отдача зависит от длины лампы. Как видно из рис. 2.2.2, имеет смысл применять, например, одну лампу 40 Вт вместо двух ламп по 20 Вт.

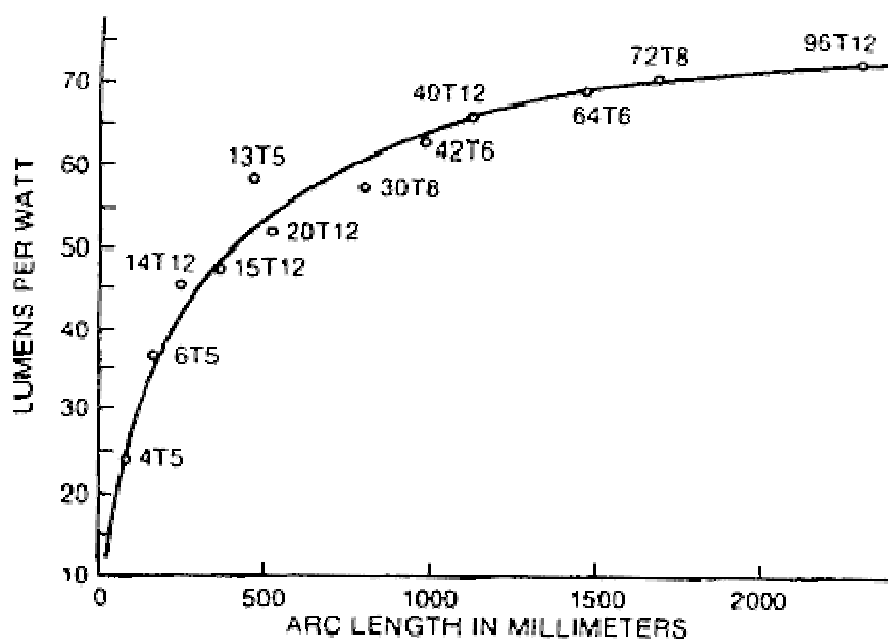


Рис. 2.2.2. Зависимость световой отдачи от длины люминесцентной лампы

Световой поток, излучаемый лампой, очень сильно зависит от температуры окружающего воздуха. Значения потока в люменах, которые указываются в каталогах, измерены при температуре воздуха 25 °С. На рис. 2.2.3 показана типичная кривая для лампы мощностью 40 Вт в воздухе без рефлектора.

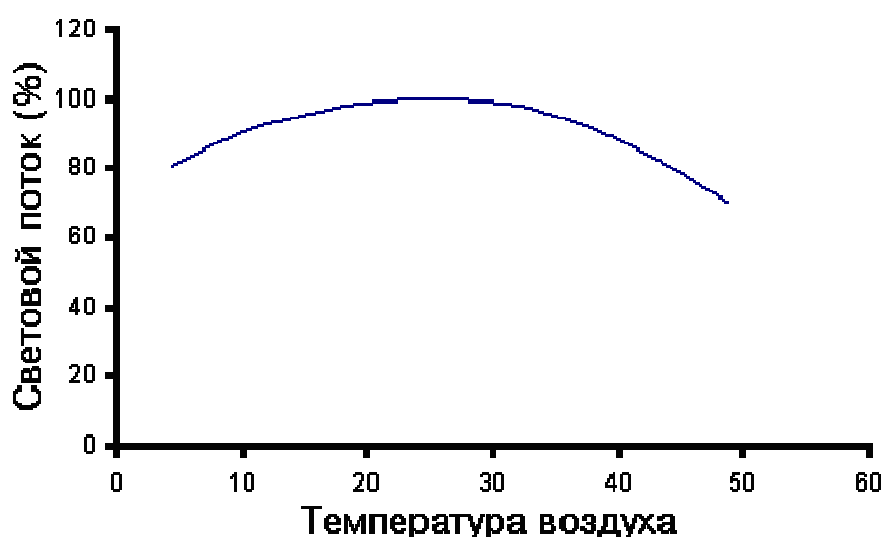


Рис. 2.2.3. Зависимость светового потока от температуры окружающего воздуха

Применение различных рефлекторов может резко увеличить температуру окружающего колбу воздуха и уменьшить световой поток на

10–15%. Поэтому используемые светильники должны иметь отверстия для вентиляции с целью снижения температуры лампы.

По схеме зажигания лампы бывают нескольких видов: требующие стартера (pre-heat start) и не требующие стартера (rapid start и instant start).

Спектральные характеристики стандартных люминесцентных ламп

Различают следующие основные типы стандартных люминесцентных ламп:

- лампы дневного света (daylight) с исправленной цветностью и широким спектром (напр., типа ЛДЦ с цветовой температурой 6 500 K);
- лампы холодно-белого (cool white) света (напр., типа ЛХБ с цветовой температурой 4 850 K)
- лампы белого (white) света (напр., типа ЛБ с цветовой температурой 3 500 K);
- лампы теплого-белого (warm white) света (напр., типа ЛТБ с цветовой температурой 2 700 K).

Их спектральные характеристики приведены на рис. 2.2.4.

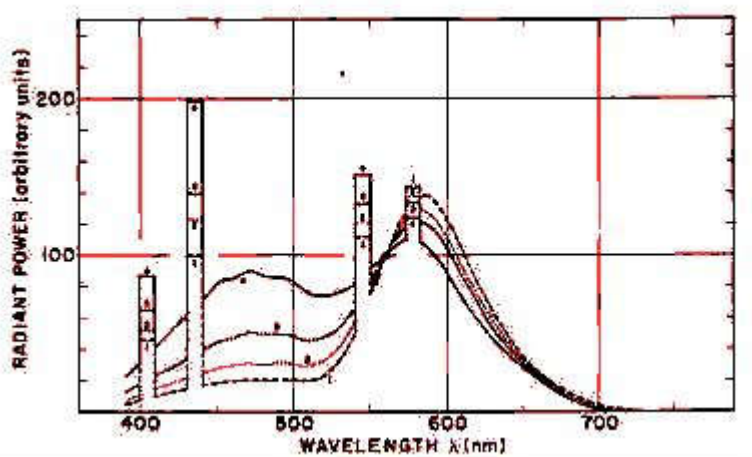


Рис. 2.2.4. Спектральные характеристики стандартных люминесцентных ламп (снизу вверх):

1 – стандартная warm white; 2 – white; 3 – стандартная cool white; 4 – daylight

Таким образом, из графиков видно, что спектры различных ламп похожи (у всех ламп внутри пары ртути) и имеют доминирующую линию

430–450 нм. Так называемые лампы с «широким спектром» (full-spectrum, wide spectrum) имеют однородный спектр в отличие от обычных ламп, имеющих ярко выраженный пик в спектре [38].

Линейчатый характер спектральных характеристик люминесцентных ламп позволяет производить их подбор под априорно известные спектры поглощения исследуемых веществ. Понятно, что далеко не все исследуемые вещества имеют спектры поглощения, совпадающие с линейчатыми спектрами люминесцентных ламп.

Световой поток, создаваемый стандартными люминесцентными лампами, находится в пределах от 1 000 до 9 000 лм. На практике такие лампы для построения ИВЛ используются достаточно редко.

Специальные ультрафиолетовые люминесцентные лампы

Рассмотрим ниже специальные ультрафиолетовые люминесцентные лампы, которые могут быть эффективно использованы при построении ИВЛ ультрафиолетового диапазона.

Для оптимальной работы этих ламп температура окружающей среды должна быть 15–30 °С. Лампы включаются в сеть со специальной пускорегулирующей аппаратурой. На рис. 2.2.5 показана типовая схема их включения.

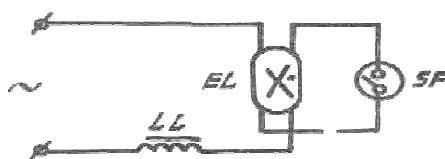


Рис. 2.2.5. Типовая схема включения люминесцентной лампы:

EL – лампа; SF – стартер по ГОСТ 8799–90; LL – устройство балластное индуктивное по ГОСТ 16809–88

Ультрафиолетовый диапазон излучения ламп принято делить на три части:

1. UV-A – 315–400 нм – длинноволновая часть;
2. UV-B – 280–315 нм – средневолновая часть;
3. UV-C – 100–280 нм – коротковолновая часть.

Ультрафиолетовые лампы имеют самые разнообразные конструкции. В качестве справочной информации приведем данные по некоторым ультрафиолетовым источникам света из большой номенклатуры ламп, выпускаемых фирмой *Philips*.

Серия TL/05 Актиничные

Трубчатые ртутные разрядные лампы низкого давления. Стенка трубки покрыта изнутри белым люминофором, который превращает коротковолновое ультрафиолетовое излучение ртутного разряда в длинноволновое УФ-излучение. Лампы TL/05 испускают излучение в диапазоне длин волн между 300 и 460 нм с максимумом в 365 нм. Серия включает в себя лампы с мощностями 4 Вт, 6 Вт, 8 Вт, 11 Вт, 15 Вт, 20 Вт, 30 Вт, 40 Вт, 80 Вт. Длина ламп 150–451,6 мм, диаметр 16–40,5 мм.

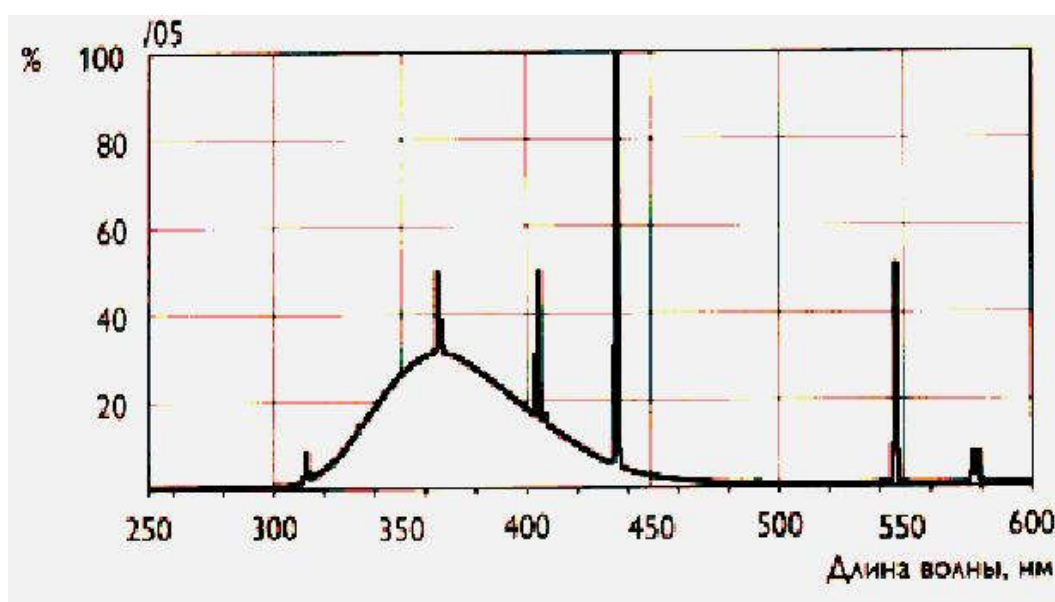


Рис. 2.2.6. Спектральные распределения мощностей

Серия TL(D)/08 черного цвета

Лампы TL(D)/08 черного цвета – ртутные разрядные лампы низкого давления. Внутренняя поверхность колбы покрыта люминофором, испускающим длинноволновое УФ-излучение, возбуждающее свечение люминесцирующих материалов. Темно-синяя стеклянная колба пропускает УФ-А излучение. Излучение в видимом диапазоне сведено к минимуму, чтобы оно не мешало люминесцентному излучению. Лампы черного света TL(D)/08 выполнены в линейных трубчатых колбах и работают в сети переменного тока с ПРА и стартером. Серия включает в себя лампы с мощностями 4 Вт, 6 Вт, 8 Вт, 15 Вт, 18 Вт, 30 Вт, 36 Вт.

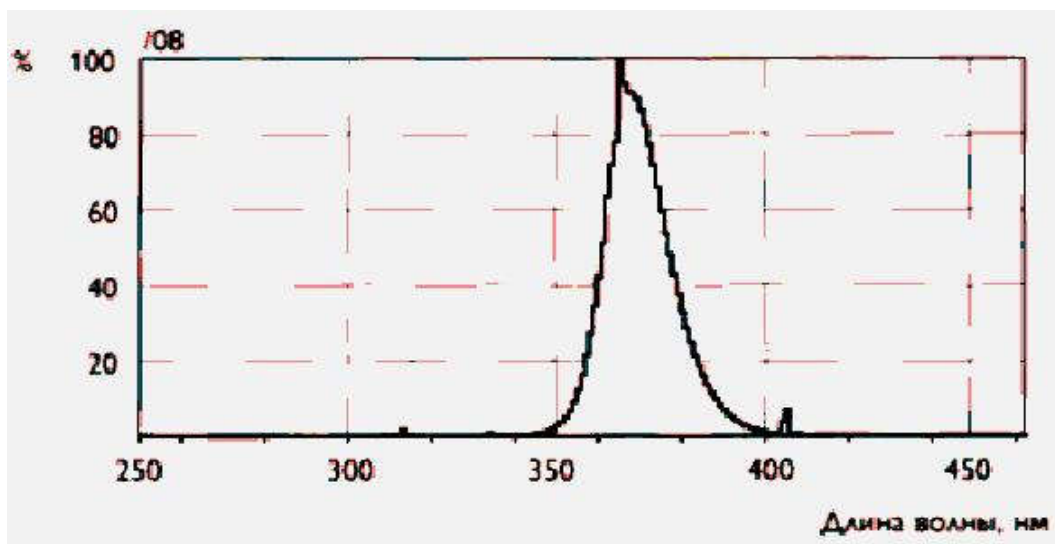


Рис. 2.2.7. Спектральные распределения мощностей ламп серии TL (D)

Серия TUV

Лампы TUV – ртутные разрядные лампы низкого давления, дающие коротковолновое УФ излучение с максимумом в 253,7 нм (УФ-С). Стекло отфильтровывает спектральную линию 185 нм, вызывающую образование озона. Лампы серии Longlife имеют нанесенное изнутри защитное покрытие, которое ограничивает снижение полезной отдачи УФ-С излучения. У ламп PL-S в цоколь встроен зажигающий стартер. Излучение УФ-С вредно воздействует на кожу и глаза. Установки с такими лампами должны быть полностью экранированы. Срок службы ламп 8 000 ч.

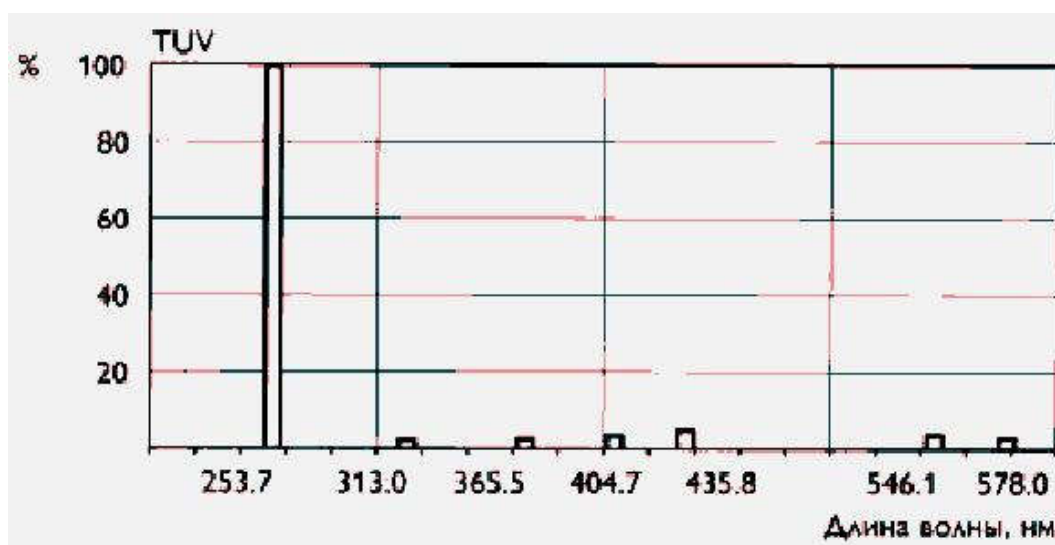


Рис. 2.2.8. Спектральные распределения мощностей ламп TUV

Серия CLEO Compact

Лампы CLEO Compact – трубчатые малогабаритные лампы CLEO испускают излучение, сконцентрированное в диапазоне длин волн 300–400 нм. Лампы производятся с двумя различными соотношениями излучений УФ-В/УФ-А, а именно, 1,2% и 2,3 % (УФ-В диапазон: 280–315 нм). Для УФ-В диапазона 280–320 нм эти отношения составляют 2,1 % и 3,5 %, соответственно. Более высокое отношение УФ-В/УФ-А обозначается символом S (Super) в типе лампы. Рефлекторные (R) типы ламп имеют внутренний отражатель с поперечным углом охвата 200°, что увеличивает интенсивность прямого излучения лампы на 70%. Компактная одноцокольная лампа PL-L, дающая УФ-излучение в диапазоне 300–400 нм, состоит из двух спаянных трубок, помещенных в четырехштырьковый

цоколь (2G 11). Лампа работает со стандартным ПРА для ламп 36/40 Вт и со стартером S10. Отношение УФ-В/УФ-А для лампы PL-L равно 1,2 % (УФ-В диапазон: 280–315 нм) или 2,1% (УФ-В диапазон: 280–320 нм). Срок службы 500 часов.

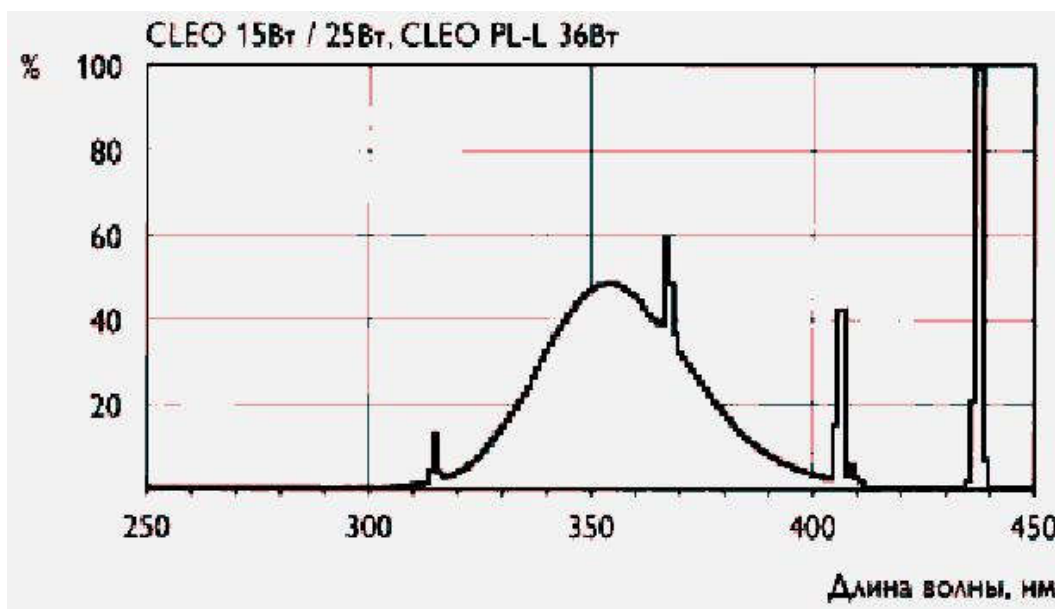


Рис. 2.2.9. Спектральные распределения мощностей ламп серии CLEO Compact

Сравнительная таблица ультрафиолетовых ламп Philips

Тип	Цоколь	Напряжение на лампе, В	Ток лампы, А	Мощность, Вт	Излучение УФ, Вт	Макс. длина волны, нм
TLD 30 Вт/05	G 13	45	0,81	3,0	3,7 (УФ-А)	365 ¹
PL-S 80 Вт/05	G 13	111	0,83	10,9	13,9 (УФ-А)	365 ¹
TLD 30 Вт/08	G 13	98	0,36	30	6,0 (УФ-А)	365 ²
TUV 30 Вт	G 13	100	0,37	30	11,2 (УФ-С)	253,7
TUV 75 Вт	G 13	108	0,84	75	26 (УФ-С)	253,7
TUV PL-L 36 Вт	2G 11	105	0,44	36	12 (УФ-С)	253,7
Compact Cleo PL-L 36 Вт	2G 11	105	0,44	36	9 (УФ-А)	365 ¹

¹ Диапазон длин волн 300–460, нм;

² Диапазон длин волн 340–400, нм [39].

Галогенные лампы

Для построения ИВЛ, возбуждающих инфракрасную люминесценцию, широко используются галогенные лампы, дающие высокоинтенсивное излучение в широком диапазоне спектра (видимая и инфракрасная области). Необходимый участок спектрального диапазона (область поглощения исследуемого вещества) выделяется с помощью светофильтров.

Так, например, для возбуждения люминесценции в красной и ближней инфракрасной областях спектра обычно выделяется сине-зеленая область спектра с помощью светофильтра типа СЗС-21.

В отличие от традиционных ламп накаливания галогенные лампы дают свет с более высокой цветовой температурой (около 3 000 К) при одинаковой способности к цветопередаче. Лампы более долговечны, дают больше света при одинаковой мощности и сохраняют постоянную величину светового потока в течение всего срока эксплуатации. Яркость галогенных ламп можно регулировать. Существуют галогенные лампы, рассчитанные на высокие напряжения, которые можно эксплуатировать без трансформатора при напряжении в сети 230 В. При эксплуатации ламп, рассчитанных на низкие напряжения (6, 12 или 24 В), необходимо использовать трансформатор.

Преимущества галогенных ламп низкого напряжения – компактная конструкция и возможность прецизионного регулирования светового излучения. Существуют варианты галогенных ламп низкого напряжения с отражателем и без него.

У галогенных ламп холодного света поверхность отражателя покрыта специальным дихроическим слоем, пропускающим инфракрасное излучение и отводящим около 66% тепловой энергии через отражатель назад.

Спираль галогенной лампы, как и лампы накаливания, изготовлена из жаропрочного вольфрама и находится в колбе, заполненной инертным газом. При прохождении через спираль электрического тока она накаляется,

вырабатывая тепловую и световую энергию. Накаливание приводит к испарению частичек вольфрама, которые оседают в виде черного осадка внутри колбы. Чем выше температура спирали, тем больше излучается света. В то же время ускоряется процесс испарения вольфрама, что снижает срок службы лампы накаливания. Однако, колба галогенной лампы изготовлена из кварцевого стекла. Кварцевое стекло – жаропрочный материал, а маленькие габариты гарантируют прочность достаточную для того, чтобы создавать высокое давление газа. При повышении давления испарение вольфрама замедляется. Добавляя галоген к газу, заполняющему колбу, можно сформировать цикл регенерации галогена, предотвращающий почернение колбы и гарантирующий постоянный световой поток. Частички вольфрама при температуре 1400 °С еще до достижения поверхности колбы соединяются с частичками галогена. Благодаря термической циркуляции галогенно-вольфрамовая смесь приближается к раскаленной спирали и под воздействием более высокой температуры разлагается. Частички вольфрама снова осаждаются на спирали, а частички галогена снова возвращаются в процесс циркуляции.

Таким образом, процесс циркуляции галогена имеет много преимуществ:

- спираль имеет более высокую температуру, что позволяет получить больше света при той же мощности лампы;
- спираль постоянно обновляется, что увеличивает срок службы лампы;
- колба не чернеет и лампа дает постоянный световой поток.

Для применения галогенных ламп в ИВЛ существуют в первую очередь тепловые ограничения, поскольку высокая температура может повредить объект исследования, вызвать перегревы элементов конструкции и, в частности, разрушение светофильтров. Поэтому в ИВЛ, как правило, используются галогенные лампы с мощностью 20–100 Вт. При этом необходимо предусматривать специальные конструктивные меры для отвода горячего воздуха от поверхностей светофильтров и использовать в качестве их защиты специальные прозрачные тепловые фильтры.

Рассмотрим в качестве примера некоторые типы галогенных ламп фирмы Philips, пригодные для использования в ИВЛ.

Капсульные галогенные лампы низкого напряжения

Капсульные галогенные лампы – самые компактные из галогенных ламп, они представляют собой низковольтные лампы низкого давления (давление газа внутри лампы 2,5 бар) со специальным стеклом UV Block, значительно понижающим УФ-излучение. Используются без переднего защитного стекла. Спираль, расположенная по оси, повышает интенсивность света в середине светового луча. Колбы бывают двух видов: прозрачные и матовые. Напряжение 12 В (24 В), мощность 10, 20, 35, 50, 75, 100 Вт, световой поток 140–2200 лм, цветовая температура 2 850 К, 3 000 К.

Серия PAR 16 HALOGENA

Лампы PAR 16 HALOGENA – это галогенные лампы с параболическим, покрытым алюминием отражателем из прессованного стекла (PAR). Лампы обеспечивают концентрированный световой пучок. Для более широкого светового пучка переднее фасетированное стекло обеспечивает однородное распределение света. Угол рассеяния света – 10° и 30°. Лампы обеспечивают постоянный световой поток, естественную цветопередачу и высокую эффективность. Мощность данной серии ламп 40 Вт, напряжение 220–240 В, цветовая температура 2 900 К, сила света 2 500 и 850 кд.

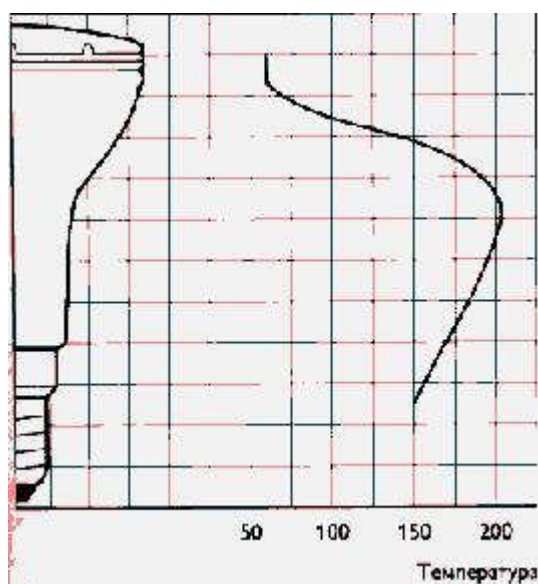


Рис. 2.2.10. Внешний вид галогенной лампы PAR 16 HALOGENA
и диаграмма распределения тепла

Серия PAR 30L HALOGENA 230 В

Лампы PAR 30L HALOGENA 230 В – аналогичны предыдущей серии, но с большей мощностью (75 Вт) и силой света (10 000 и 2 200 кд).

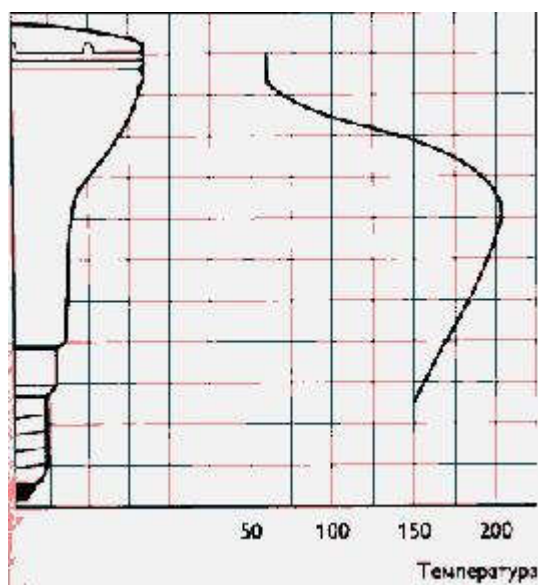


Рис. 2.2.11. Внешний вид галогенной лампы PAR 30L HALOGENA
и диаграмма распределения тепла

Лампы с алюминиевым отражателем

Лампы с алюминиевым отражателем и защитным передним стеклом. В серию входят прозрачные и матовые передние стекла. Могут использоваться с регулятором яркости. Мощность этой серии ламп 15, 20, 35, 50 Вт, напряжение 6 и 12 В, угол рассеяния 4° – 32° , цветовая температура 3 000 К.

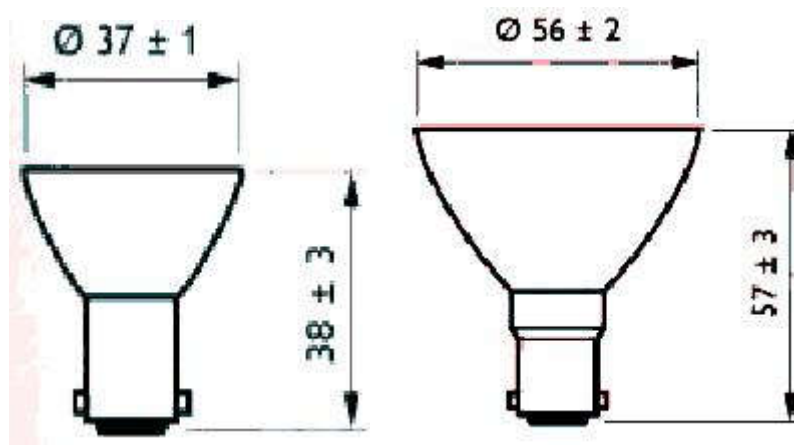


Рис. 2.2.12. Внешний вид ламп

Лампы холодного света с отражателем типа Dichroic

Галогенные лампы с отражателем, покрытым специальным дихроическим слоем, пропускающим инфракрасное излучение. Лампы дают высококонцентрированный пучок света. Мощность таких ламп 20, 35, 45, 50 Вт, напряжение 12 В, угол рассеивания 8° – 60° , цветовая температура 3 000 К.

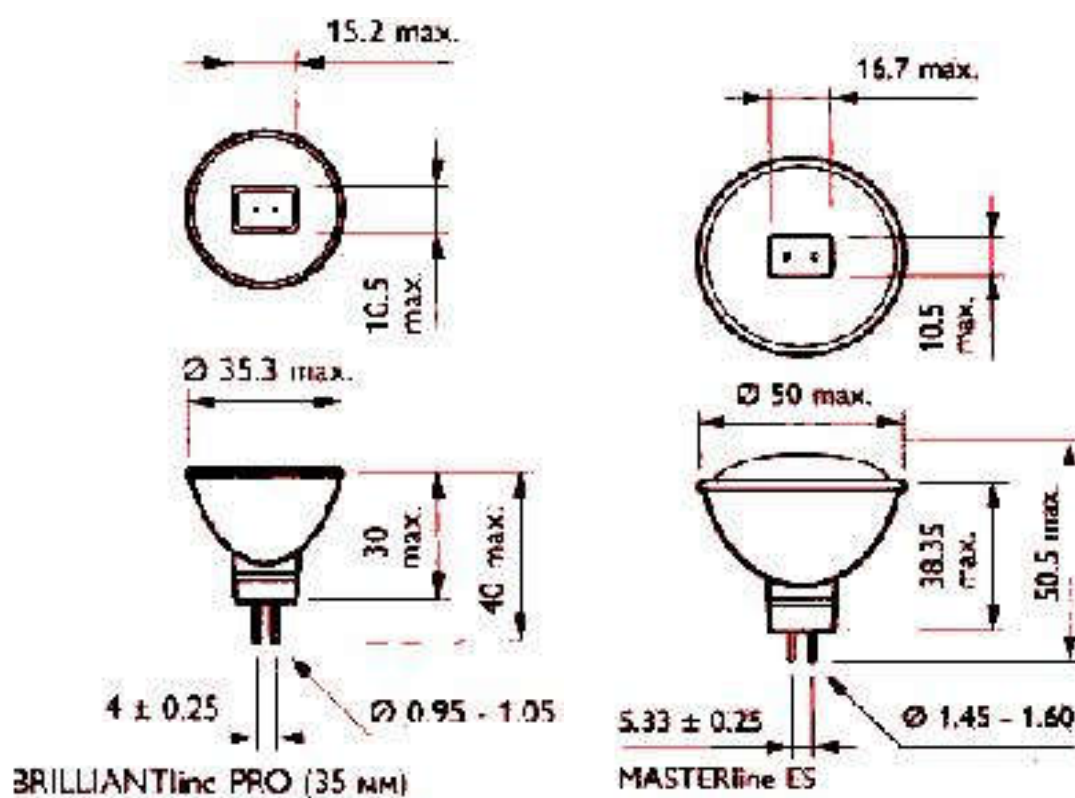


Рис. 2.2.13. Размеры галогенных ламп холодного света с отражателем типа Dichroic

Сравнительная таблица галогенных ламп Philips

Тип лампы	Мощность, Вт	Угол рассеяния, градус	Цоколь	Максимальная сила света, кд	Срок службы, час.
PAR 16	40	10/30	E 14	2 500/850	2 000
PAR 30 L HALOGENA	75	10	E 27	10 000	2 500
Лампы с алюм. отражателем,	35	6	B 15	12 000	2 000
	50	10	D/24×17	18 000	
Лампы с отражателем Dichroic: Accentline Masterline Brilliantline					
	50	10	GU 5,3	8 800	3 000
	45	8/24		16 000/5 450	5 000
	35	10	GU 4	7 000	4 000

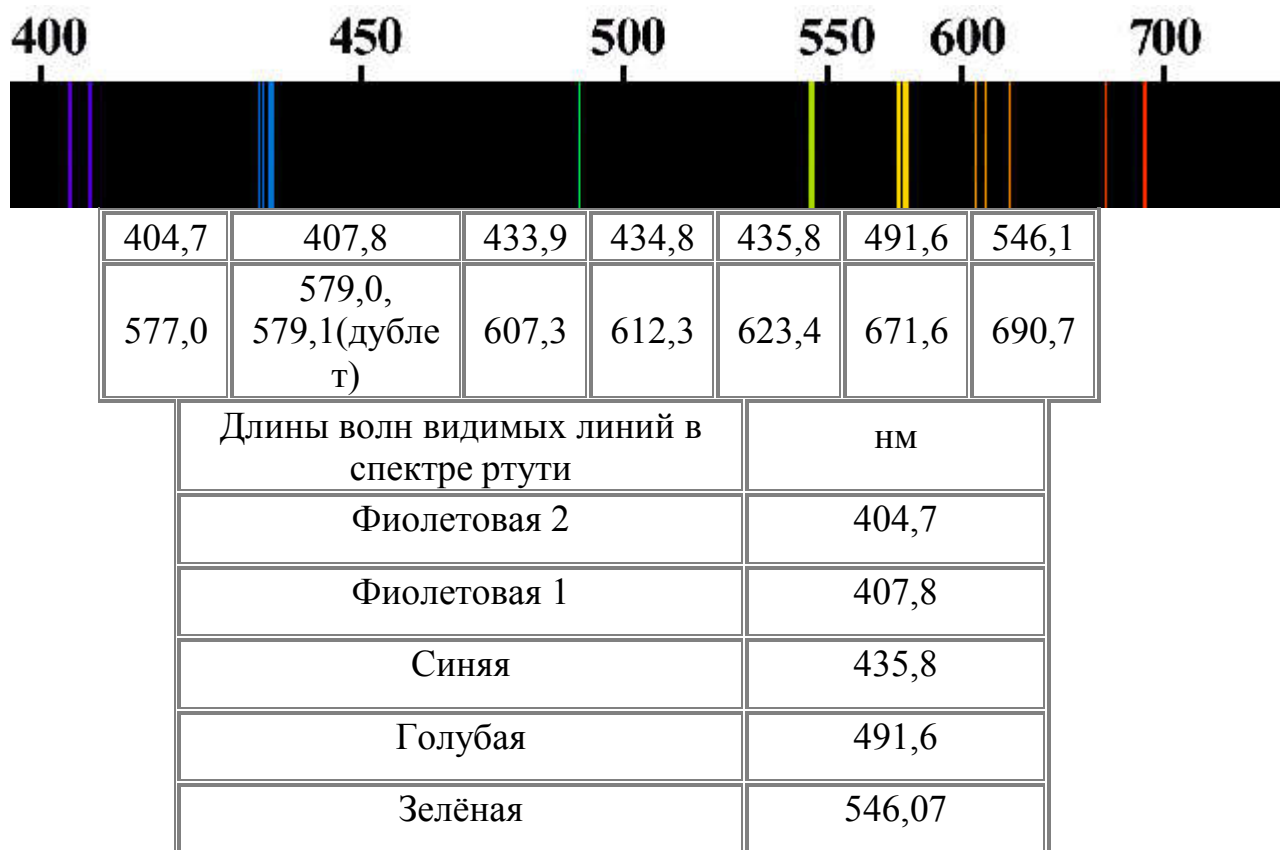
[39].

Импульсные лампы

В фотовспышках и других приборах импульсного подсвета используют специальные импульсные лампы, представляющие собой стеклянную трубку, наполненную инертным газом, обычно ксеноном или парами ртути. В момент разряда накопительного конденсатора происходит мгновенное свечение газа очень большой яркости. Спектральный состав излучаемого видимого света близок к солнечному (рис. 2.2.14) [40].

Для возникновения вспышки необходимо ионизировать газ внутри баллона лампы. Это осуществляется с помощью высокого напряжения, подаваемого на внешний электрод лампы, представляющий собой напыление на стекло баллона или внешний провод, намотанный на трубку лампы. Рекомендуется даже в случае наличия напыления использовать дублирующий тонкий провод без изоляции, наматываемый на баллон, поскольку контакт с напылением не всегда надёжен в процессе работы.

Для сохранения коротковолнового (менее 380 нм) УФ-излучения, имеющегося в спектре ртути, колба импульсной лампы должна быть изготовлена из кварцевого стекла. При использовании только длинноволновой части УФ-излучения колба импульсной лампы может быть изготовлена из обычного стекла.



Жёлтая 2	577,0
Жёлтая 1	579,1
Красная 4	612,3
Красная 3	623,4
Красная 2	690,7
Красная 1	708,2

Рис. 2.2.14. Спектр ртути в видимой области

Устройство простейшей вспышки

На рис. 2.2.15 представлена схема простейшей вспышки. Она состоит из накопительного конденсатора C_1 , ограничивающего сопротивления R_1 и устройства поджига (C_2 , R_2 , кнопки SB и импульсного трансформатора T). После подачи постоянного напряжения происходит зарядка накопительного конденсатора C_1 и конденсатора цепи поджига C_2 – вспышка готова к работе. После нажатия кнопки SB (срабатывания синхроконтакта) конденсатор C_2 разряжается на первичную обмотку импульсного трансформатора, образуя высоковольтный импульс на вторичной обмотке, который ионизирует газ в импульсной лампе. Вспышка продолжает гореть пока напряжение на лампе не упадёт до уровня гашения, который составляет 50–60 В. После чего конденсаторы вновь заряжаются и вспышка готова к новой работе.

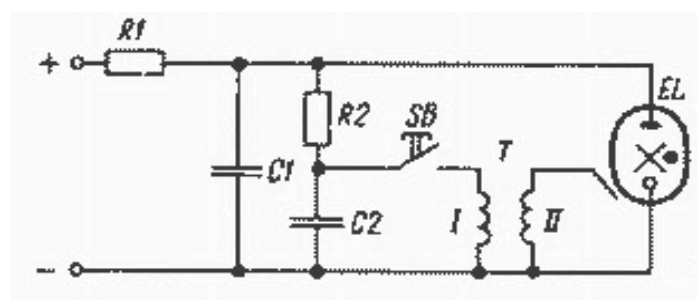


Рис. 2.2.15. Схема простейшей фотовспышки

Технические показатели фотовспышек

К техническим показателям фотовспышек, которые необходимо учитывать при их использовании в качестве ИВЛ относятся: электрическая энергия вспышки, продолжительность ее, угол рассеяния света, вид источника питания и его напряжение.

Основное требование, предъявляемое к фотовспышкам, – высокая освещенность объекта. Световая энергия определяется как произведение среднего светового потока вспышки на ее длительность и пропорциональна электрической энергии заряда конденсатора:

$$W = CU^2 / 2,$$

где W – энергия заряда, Дж; C – емкость конденсатора, Ф; U – напряжение, до которого заряжается конденсатор, В.

Изменяя емкость конденсатора C и напряжение заряда конденсатора U , можно регулировать энергию вспышки. Например, если напряжение заряда конденсатора $U = 300$ В, емкость $C = 800$ мкФ, то электрическая энергия вспышки $W = 36$ Дж.

В действительности конденсатор разряжается через лампу не полностью и, следовательно, энергия вспышки получается несколько меньше, чем энергия заряда:

$$W = C(U_{\text{зж}}^2 - U_{\text{г}}^2) / 2,$$

где $U_{\text{г}}$ – напряжение гашения (обычно 50–60 В). Поэтому для приведенного примера, более точное значение $W = 35$ Дж.

Время заряда накопительного конденсатора C_1 определяет готовность фотовспышки к работе. Очевидно, чем быстрее зарядится конденсатор C_1 до рабочего напряжения лампы, тем чаще можно делать вспышки. Чем больше емкость накопительного конденсатора C_1 и чем больше сопротивление резистора R_1 , тем больше нужно время, чтобы напряжение на конденсаторе достигло значения $U_{\text{зж}}$. При увеличении напряжения $U_{\text{зж}}$, до которого заряжается конденсатор, и неизменных значениях C_1 и R_1 время заряда также увеличивается. Рабочее напряжение и емкость накопительного конденсатора определяется фактором нагрузки $H = CU^4$, превышать который недопустимо.

Во время вспышки выделяется не только световая энергия, но и тепловая. Это приводит к нагреву импульсной лампы и элементов схемы. Поэтому, исходя из средней допустимой мощности рассеяния лампы, устанавливают допустимый период следования вспышек:

$$t = W / P_{cp},$$

где W – энергия заряда, Дж; P_{cp} – средняя мощность, Вт.

Указанный в техническом паспорте фотовспышки период следования не должен уменьшаться при ее эксплуатации.

Конденсатор разряжается через сравнительно малое внутреннее сопротивление лампы, и поэтому продолжительность вспышки незначительна, от десятых долей до единиц миллисекунд. Обычно длительность вспышки измеряется временем, в течение которого световой поток уменьшается до 35% своего максимального значения [41].

В таблице приведены параметры некоторых импульсных ламп.

Параметры импульсных ламп для использования в фотовспышках

	ИФК 20	ИФК 50	ИФК1 20	ИФК5 00	ИФБ3 00	ИФП2 00	ИФП5 00	ФП0, 04
Энергия вспышки, Дж	20	50	120	500	300	200	500	40
Рабочее напряжение, В	130	200	300	500	300	500	500	300
Напряжение зажигания, В	100	140	180	400	240	450	450	250
Напряжение самопробоя, В	700	1 000	1 000	3 000	4 000	2 000	3 000	1 000
Ёмкость накопительн ого конденсатора , мкФ	2 500	2 500	2 700	4 000	6 500	1 600	4 000	800
Фактор нагрузки,	0,7	4	21	250	52	100	250	6,5

мкФ*В								
Ср. мощность, рассеиваемая лампой, Вт	2	5	12	33	40	27	66	4
Минимальны й интервал между вспышками, с	10	10	10	15	7,5	7,5	7,5	10
Длительност ь вспышки, мс	0,2	0,4	1,2	8	8	1,3	7	0,5
Световая энергия, лм*с	250	900	2 500	10 000	5 000	4 000	10 000	1 100
Ёмкость конденсатора поджига, мкФ	0,1	0,1	0,1	4	0,5	1,0	1,0	0,1
Срок службы, тыс. импульсов	10	10	10	10	10	10	10	2,5
Масса, г	3,5	4,5	8	60	30	35	50	15

Светоизлучающие диоды

Светоизлучающие диоды чаще всего используют в индикаторных устройствах, а также в устройствах контроля и измерения [42]. Однако, современные ультрафиолетовые и сверхяркие светодиоды видимого диапазона могут быть эффективно использованы в малогабаритных ИВЛ для работы на малых полях зрения ТСС (от 3×4 мм до 18×24 мм).

Светодиоды ультрафиолетового диапазона изготавливаются на основе нитрида галлия с длинами волн излучения в пределах 375–395 нм.

Светодиоды видимого диапазона спектра выпускаются голубого, синего, зеленого, желтого, оранжевого и красного цветов, а также с переменным цветом свечения. Последние имеют два электронно-дырочных перехода. Общий свет свечения зависит от соотношения токов, протекающих через эти переходы.

Чистота цвета излучения диодов превышает 98%. Обычно цвет свечения диодов характеризуют длиной волны в максимуме спектральной полосы, доминирующей длиной волны излучения или эффективной длиной волны излучения, определяемой координатами на цветовой диаграмме МКО [43]. Современные сверхяркие светодиоды обладают силой света более 1 000 мКд. Как правило, светодиоды имеют круговую диаграмму направленности, однако, существуют светодиоды с диаграммой направленности овальной формы с углом обзора по одной из осей до 116° [44].

Важным техническим требованием к светодиодам, используемым в ИВЛ, является отсутствие собственной люминесценции материала колбы светодиода, которая может создавать фоновую засветку в области спектра люминесценции исследуемого объекта.

В качестве примера приведем таблицы с техническими характеристиками некоторых светодиодов, пригодных для использования в ИВЛ.

Сверхяркие светодиоды TELUX™ фирмы VISHAY [45]

Цвет	Доминант-ная длина волны λ , нм	Тип	Технология	Угол излучения $2\Theta_{1/2}^\circ$	Сила света IV (мКд) типове значение	Номинальный рабочий ток мА
Красный	618	TLWR76	AlInGaP на GaAS	60°	1680	70
	615	00			2400	70
	615	TLWR86	AlInGaP на GaAS		2560	70
		00				
		TLWR96	AlInGaP на GaAS			
		00				
Красно-Оранжевый	605	TLWO76	AlInGaP на GaAS		1680	70
		00				

Желтый	592 590	TLWY76 00 TLWY86 00	AlInGaP на GaAS AlInGaP на GaAS		1120 2400	70 70
Зеленый	523	TLWY79 00	AlInGaP на GaAS		1120	70
Сине- Зеленый	505	TLWTG7 900	InGaN на SiC		720	50
Синий	470	TLWBG7 900	InGaN на SiC		560	50

Ультрафиолетовые светодиоды [45]

Фирма изготовите ль	Длина волны, нм	Напряжени е мин (макс), В	Сила света, мккд	Угол излучени я	Tmi n, град	Tmax, град
NICHIA	375	3,5 (4,0)	750	10	-30	85
NICHIA	375	3,5 (4,0)	1000	110		85
NICHIA	375	3,5 (4,0)	1000	110		85

Светофильтры

Светофильтры являются составной частью как источников возбуждения люминесценции, так и приемников люминесценции.

Светофильтрами, или просто *фильтрами*, называются устройства, меняющие спектральный состав или энергию падающей на них световой волны, не меняя (или почти не меняя) формы ее фронта.

Фильтры могут устанавливаться либо перед объективом, либо в его заднем рабочем отрезке. Фильтры могут быть стеклянными (из плоскопараллельного стекла), полиэфирными (фолиевыми), а также пластмассовыми. Фолиевые фильтры относятся к профессиональному ряду и качество их достаточно высоко. Однако они менее долговечны, чем стеклянные.

Существуют также и желатиновые фильтры, выпускаемые в виде квадратных пластин, которые перед употреблением необходимо вырезать в необходимой вам форме и укреплять перед объективом с помощью специального держателя.

Основная характеристика фильтра – его пропускание $T = \Phi/\Phi_0$, где Φ_0 и Φ – падающий на фильтр и прошедший через него световой поток. Наряду с этим фильтр часто характеризуют *оптической плотностью* D . По определению

$$D = \lg \frac{1}{T}.$$

Если не учитывать многократных отражений в системе фильтров, то оптическая плотность нескольких последовательно расположенных фильтров равна сумме их плотностей

$$D = \sum_{i=1}^k D_i.$$

Фильтры называют *серыми*, или *нейтральными*, если их оптическая плотность в исследуемом спектральном интервале не зависит от длины волны. Фильтры, не удовлетворяющие этому условию, называются *селективными*.

Достаточно серыми в видимой и ближней ультрафиолетовой области спектра являются тонкие пленки алюминия и платины, полученные испарением металла на стеклянную или кварцевую подложку. Растворы коллоидного графита, нигрозина и некоторых других красителей также дают серые фильтры для видимой области. Но даже самые лучшие серые фильтры обладают некоторой селективностью.

Селективные фильтры предназначены либо для отделения широкой области спектра, либо для выделения узкой спектральной области. Фильтры последнего типа называют *узкополосными*, или *условно монохроматическими*.

В большинстве случаев ширина пропускаемого участка спектра составляет десятки и сотни ангстрем. Лучшие узкополосные фильтры имеют ширину полосы пропускания меньше 1 ангстрем, но количество пропускаемого ими света невелико. Поэтому основное назначение светофильтров при спектральных исследованиях – грубая монохроматизация либо неселективное ослабление излучения.

Важнейшей оптической характеристикой светофильтра является спектральная кривая пропускания $T(\lambda)$ или оптической плотности $D(\lambda)$.

Для изменения спектральных свойств излучения или спектральной чувствительности приемников служат так называемые *корректирующие* фильтры. С помощью их можно, например, с достаточной точностью приблизить спектр лампы накаливания к сплошному спектру солнца или спектральную чувствительность фотоэлемента привести в соответствие со спектральной чувствительностью глаза.

Для всех фильтров, кроме корректирующих, желательно, чтобы области пропускания были ограничены как можно более резко и чтобы вне их выполнялось условие $T = 0$. К сожалению, у большинства фильтров пропускание относительно медленно меняется по спектру, а некоторая часть излучения часто проходит вне основной полосы пропускания [37].

Адсорбционные фильтры

Наиболее широко применяемый класс фильтров – абсорбционные. Ослабление света в них происходит, главным образом, в результате поглощения веществом фильтра. Частичное ослабление света обусловлено также отражением от поверхностей фильтра, однако, в большинстве случаев потери на отражение невелики и почти не селективны.

Кроме поглощения и отражения имеют место потери света, связанные с рассеянием в объеме поглощающего тела и на его поверхности. Для обычных светофильтров эти потери незначительны и ими можно пренебречь.

Световой поток, прошедший через поглощающий слой, ослабляется в соответствии с законом Бугера

$$\Phi_{\lambda} = \Phi_{0\lambda} \cdot 10^{-k(\lambda)l}.$$

Здесь $k(\lambda)$ – коэффициент поглощения, а l – толщина слоя.

Закон Бугера можно считать применимым практически всегда, за исключением очень больших плотностей светового потока, создаваемых лазерами. В соответствии с этим законом для коэффициента пропускания можно написать

$$T_{\lambda} = (1 - R_{\lambda})^2 \cdot 10^{-k(\lambda)l},$$

где R_{λ} – коэффициент отражения света поверхностью фильтра.

Обычно в таблицах, характеризующих светофильтры, приводятся значения оптической плотности D_λ для рабочей толщины фильтра без учета потерь на отражение.

Узкополосные фильтры характеризуются длиной волны $\lambda_{\max}$, соответствующей максимуму пропускания, пропусканием в максимуме $T_{\max}$ и полушириной полосы пропускания $\Delta\lambda$. За эту величину принимается интервал длин волн, для границ которого $T = \frac{1}{2} T_{\max}$.

Для фильтров, предназначенных для отрезания длинноволновой или коротковолновой части спектра, иногда приводят также λ_{np} – длину волны, при которой пропускание убывает по сравнению с максимальным в два раза. В большинстве случаев нужно, чтобы вся поверхность фильтра обладала одинаковым пропусканием. Такие фильтры чаще всего изготавливаются в виде плоскопараллельных пластинок или таких же кювет с поглощающим раствором.

Если изготовить клин из поглощающего вещества, то легко видеть, что его оптическая плотность линейно зависит от расстояния до ребра. Такие клинья делаются из стекла или окрашенного желатина. Применяют также осаждённые на стекло металлические пленки переменной толщины. Часто изготавливаются фильтры переменной плотности в виде дисков (круговые клинья), а также ступенчатые ослабители – фильтры, пропускание которых скачком изменяется при переходе от одного участка другому. Ступенчатые ослабители широко применяются в спектрофотометрии.

Адсорбционный светофильтр постоянной толщины по-разному ослабляет лучи света, падающие на него под разными углами. Можно показать, что относительное изменение пропускания при падении света на фильтр под углом α приближенно равно

$$\frac{dT_\lambda}{T_\lambda} \approx 1,2 D_\lambda \frac{\sin^2 \alpha}{n^2}$$

Например, пропускание стеклянного светофильтра ($n = 1,5$) оптической плотности $D_\lambda = 2$ для лучей света, падающих под углом $\alpha = 30^\circ$, на 27% меньше, чем его пропускание для лучей, которые падают на

него нормально. Из этого примера видно, что при использовании абсорбционных фильтров для количественных измерений в световых пучках с большой угловой апертурой нужно учитывать увеличение поглощения наклонных лучей.

Следует также иметь в виду, что задержанный адсорбционным фильтром световой поток полностью преобразуется им в тепло и фильтры иногда сильно нагреваются. Это приводит не только к некоторому изменению оптических характеристик фильтра, но иногда и к появлению трещин [37].

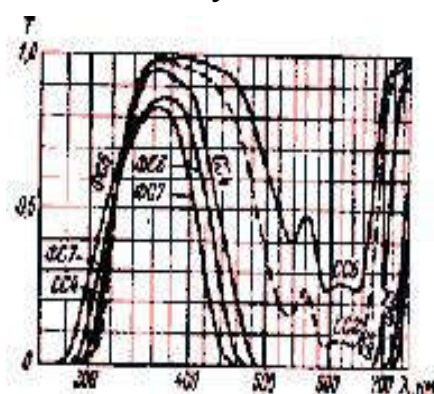
Стекланные светофильтры

Стекланные светофильтры обладают, по сравнению с другими, рядом преимуществ, к которым в первую очередь следует отнести устойчивость к световым и тепловым воздействиям, а также однородность и высокое оптическое качество. Ассортимент цветных стекол достаточно широк и почти во всех случаях позволяет решать задачу предварительной монохроматизации или отсека нежелательной (особенно коротковолновой) части спектра (рис. 2.2.16.).

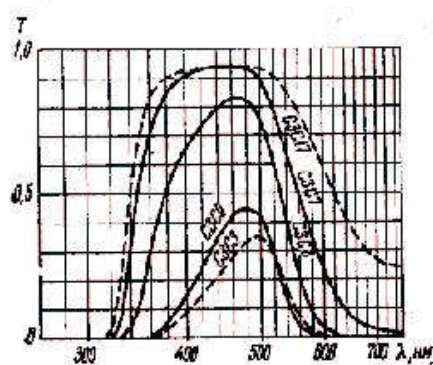
Располагая друг за другом несколько стекланных светофильтров, можно получить довольно узкополосные фильтры для всей видимой и ближней ультрафиолетовой части спектра. В качестве примера в таблице приведены комбинации цветных стекол для выделения линий ртути с различной частотой. Под чистотой выделения подразумевается световой поток данной длины волны, отнесенный ко всему потоку, пропущенному фильтром [46].

Одной из разновидностей комбинированных фильтров являются скрещенные фильтры, широко применяемые при исследованиях фотостимулированных свечений (различные типы рассеяния, люминесценции и т. д.). Первый из этих фильтров пропускает возбуждающее свечение, но задерживает излучение возбуждающего источника в той области спектра, где расположены исследуемые линии или полосы рассеяния или люминесценции. Этот фильтр устанавливается между источником возбуждения и образцом. Вторым фильтром, устанавливаемым между образцом и приемником излучения, должен

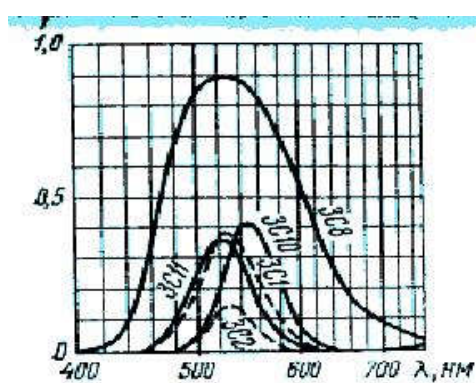
полностью задерживать возбуждающее излучение при минимальном ослаблении исследуемой части спектра.



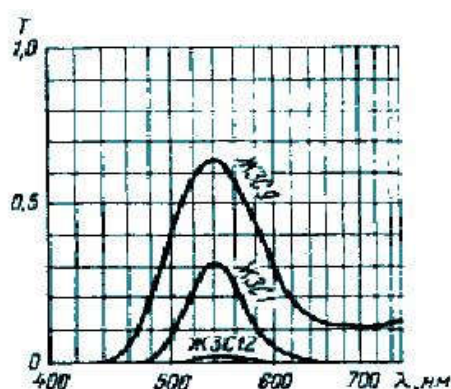
фиолетовые и синие



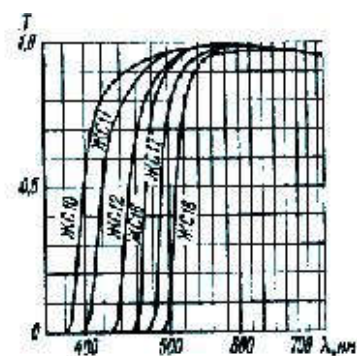
сине-зеленые



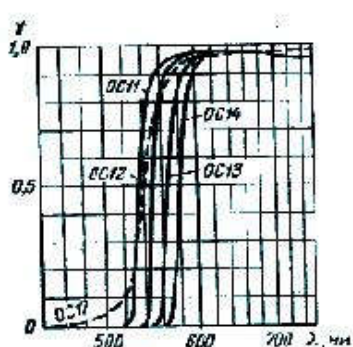
зеленые



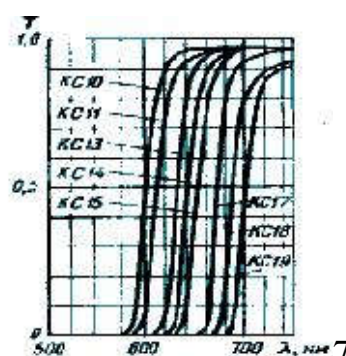
желто-зеленые



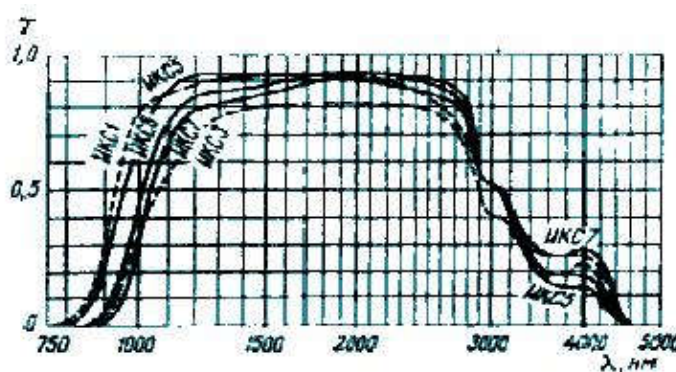
желтые



оранжевые



красные



инфракрасные

Рис. 2.2.16. Пропускание стеклянных фильтров толщиной 3 мм

Светофильтры, выделяющие участки УФ и видимой областей спектра

Длина волны линий ртути, нм	Чистота выделения, %	Марки стекол	Толщина стекол, мм или λпр, нм
303–313	99,0	ЖС3	4,0
		УФС2	2,0
	95,5	ЖС3	2,0
		УФС2	2,0
	90,0	ЖС3	1,2
		УФС2	2,0
365	99,8	БС7	1,2
		УФС6	3,0
	97,8	БС7	2,0
		УФС6	2,5
	95,0	БС7	2,0
		УФС6	2,0
405	99,4	ЖС10	λпр 390
		ПС13	4,5
	96,3	ЖС10	λпр 390
		ПС13	3,2
	91,0	ЖС10	λпр 390
		ПС13	2,5
436	99,8	ЖС12	λпр 435
		СС15	2,0
	95,5	ЖС11	λпр 420
		СС15	1,5
	94,3	ЖС11	λпр 420
		СС15	1,2
546	99,1	ОС11	λпр 535
		ПС7	5,0
		СЗС21	5,0
	97,5	ЖС18	λпр 510
		ПС7	5,0
		СЗС21	2,0
578	93,2	ЖС18	λпр 510
		ПС7	5,0
	99,3	ОС13	λпр 565
		ЗС7	3,0
	95,0	ОС13	λпр 565
		ЗС7	1,0
	90,0	ОС13	λпр 565

Интерференционные фильтры

Простейший интерференционный светофильтр представляет собой интерферометр Фабри-Перо с очень малым промежутком между зеркалами (порядка длины волны). По мере уменьшения этого расстояния увеличивается постоянная интерферометра. Полосы пропускания интерферометра раздвигаются по спектру и уширяются. При этом контраст, относительная ширина и пропускание в максимумах полос остаются неизменными, поскольку они зависят только от свойств зеркальных покрытий. Последние могут быть как металлическими, так и многослойными диэлектрическими.

Если оптическая толщина интерферометра равна Δ , то он имеет ряд полос пропускания, длины волн максимумов которых равны

$$\lambda_{\max 1} = \frac{2\Delta}{1}, \lambda_{\max 2} = \frac{2\Delta}{2}, \lambda_{\max 3} = \frac{2\Delta}{3}, \dots, \lambda_{\max n} = \frac{2\Delta}{n}.$$

Фильтр, предназначенный для выделения первой, наиболее длинноволновой полосы пропускания, называется *фильтром первого порядка*. Он имеет оптическую толщину $\Delta = \lambda/2$ и нуждается в подавлении лишь коротковолновых максимумов пропускания с длинами волн $\lambda_{\max 2} = \lambda/2$, $\lambda_{\max 3} = \lambda/3$ и т. д.

Обычно это легко осуществляется либо специальными адсорбционными фильтрами, либо поглощением материала подложки самого фильтра.

Так, стеклянный фильтр первого порядка, рассчитанный на длину волны короче 6 000 Å, не нуждается в специальном поглощении коротковолновых максимумов, так как все они имеют длину волны меньше 3 000 Å и поглощаются стеклом.

Фильтр второго порядка имеет оптическую толщину $\Delta = \lambda$ и нуждается в подавлении одной полосы пропускания с длинноволновой стороны ($\lambda_{\max 1} = 2\lambda$) и коротковолновых полос ($\lambda_{\max 3} = 2\lambda/3$, $\lambda_{\max 4} = 2\lambda/4$ и т. д.).

Фильтр третьего порядка имеет толщину $\Delta = 3\lambda/2$ и т. д.

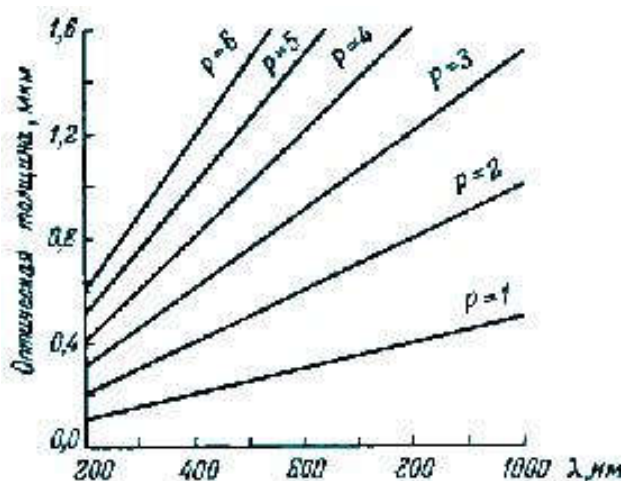


Рис. 2.2.17. Зависимость длины волны в максимуме пропускания интерференционного фильтра от его толщины для фильтров разных порядков

На рис. 2.2.17 приведено положение в спектре полос пропускания для фильтров различных порядков (P) и соответствующие им оптические толщины. Для фильтров порядка выше третьего уже могут возникнуть трудности при подавлении длинноволновых полос пропускания, особенно если рабочая длина волны фильтра лежит в коротковолновой области. Коротковолновые полосы легко подавляются адсорбционными фильтрами.

Низкие порядки интерференции обуславливают сравнительно большую ширину полос пропускания. В настоящее время промышленно изготовленные интерференционные фильтры имеют полуширину полос до нескольких ангстрем при пропускании в максимуме в десятки процентов. Фильтры изготавливаются для областей спектра от ближнего ультрафиолета до инфракрасной области.

Условие образования интерференционного максимума для эталона в виде стеклянной пластинки имеет вид:

$$2tn \cos \varphi = k\lambda .$$

Из данного уравнения следует, что положение в спектре полосы пропускания зависит от угла падения света на интерференционный фильтр.

Этим пользуются для небольшого (несколько полуширин) смещения полосы пропускания фильтра в коротковолновую сторону. Но при этом растет полуширина полос, а при больших наклонах полосы расщепляются вследствие различия в фазовых сдвигах в результате отражения компонентов, поляризованных в плоскости падения и нормально к ней [37].

3. Приемники люминесценции

Телевизионные камеры (ТК). Цветные и черно-белые ТК, ТК стандартного и повышенного разрешения. ТК стандартной и высокой чувствительности. Повышение чувствительности ТК. ТК с ЭОП. Подавление шумов методом накопления. Практические рекомендации по выбору ТК. Цифровые фотоаппараты.

Телевизионные камеры

В настоящее время на российском рынке имеется достаточно широкая номенклатура телевизионных камер (ТК) как импортного (в основном южнокорейского и тайваньского) так и отечественного производства. В этой связи следует отметить отечественного лидера в разработке и производстве ТК – фирму «ЭВС», г. Санкт-Петербург. Рассмотрим телевизионные камеры, которые могут быть использованы в ТСС в качестве приемников люминесценции, условно классифицировав их по следующим признакам:

- черно-белые ТК;
- цветные ТК;
- ТК стандартного разрешения;
- ТК с повышенным разрешением;
- ТК стандартной чувствительности;
- высокочувствительные ТК

Цветные и черно-белые ТК

Цветные камеры позволяют лучше идентифицировать объекты, люминесцирующие в различных частях видимой области спектра, например, люминесценцию банкнот, акцизных марок и т. п. В ряде случаев на цветном изображении можно увидеть то, что незаметно на черно-белом.

Однако, цветные камеры имеют ряд недостатков. Во-первых, стоимость цветной камеры в среднем в полтора раза выше, чем черно-белой. Во-вторых, серьезный недостаток цветных камер – в 5–10 раз более низкая чувствительность и в 1,5–2 раза более низкая разрешающая способность по сравнению с черно-белыми камерами. Поэтому цветные камеры следует использовать только при наличии достаточно интенсивной люминесценции и в тех случаях, когда цветное изображение действительно

необходимо. Спектральная чувствительность цветных камер ограничивается видимой областью спектра, для чего перед матрицей устанавливаются специальные корректирующие светофильтры в то время, когда черно-белые камеры имеют чувствительность в ближней ИК-области спектра. При необходимости визуализации как видимой, так и инфракрасной люминесценции, в цветной камере должна быть предусмотрена возможность оперативной замены корректирующих светофильтров. Черно-белые ТК имеют преимущество в случаях, когда требуется максимальная чувствительность и разрешающая способность, а также минимальная стоимость.

ТК стандартного и повышенного разрешения

ТК стандартного разрешения на матрицах приборов с зарядовой связью (ПЗС) с числом элементов по строке около 500 имеют разрешающую способность примерно 380 телевизионных линий. Это значение, получающееся умножением числа элементов матрицы ПЗС на 0,75, соответствует разрешающей способности большинства стандартных устройств видеозаписи (мультимедиа) для ПЭВМ. Поэтому, при построении простых ТСС, а также ТСС, сопрягаемых с ПЭВМ через мультимедиа-устройства с разрешением до 640×480 элементов, наиболее экономичным будет использование камер стандартного разрешения.

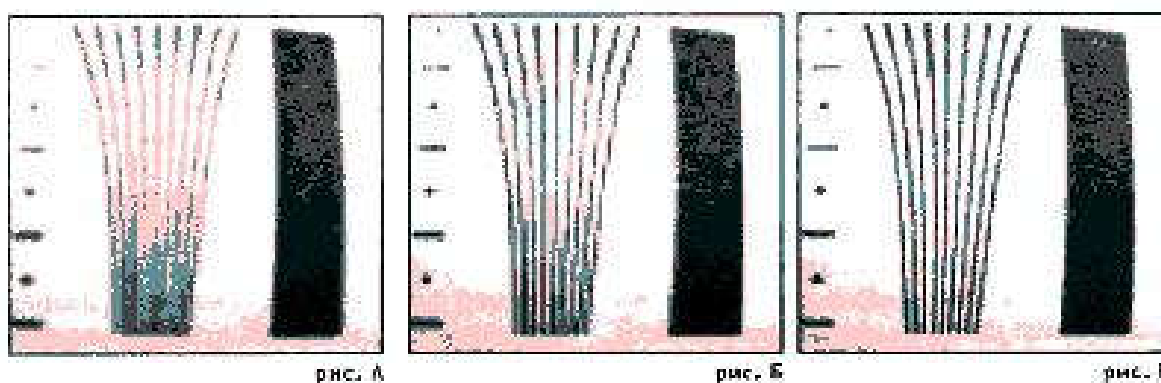


Рис. 2.3.1. Изображение вертикального клина для ТК стандартного разрешения:

А – без корректора четкости; Б – с несимметричным корректором четкости;

В – с адаптивным корректором четкости

Следует отметить, что, несмотря на одно и тоже значение разрешающей способности, камеры различных фирм значительно

различаются по реальной способности различения мелких деталей. Это объясняется тем, что другой важный параметр, связанный с разрешающей способностью, в технической документации на камеры не указывается и отличается в разных моделях в десятки раз – это глубина модуляции сигнала при наблюдении соответствующей миры. В идеальной камере этот параметр должен быть равен 100%. Только тогда различимость мелких и крупных деталей будет одинаковой. Реально в телевизионных камерах лучших фирм глубина модуляций достигает значения 50–70%, а в большинстве печатных плат корейского и тайваньского производства опускается до 10 и менее процентов. При этом изображение ощущается нерезким, в нем трудно различить мелкие детали, хотя формально камера имеет разрешение 380 телевизионных линий.

Другой противоположный случай, когда в ТК применен несимметричный корректор четкости с избыточной коррекцией, как правило, настроенный на максимум миры 150–200 линий. Глубина модуляции в этом диапазоне может достигать и даже превышать 100%. Однако, на штриховой мире в 380 линий глубина модуляции снижается до 10–20%. В результате в таких камерах создается «иллюзия четкости». Все изображение «пестрит» резкими углами, контурами линий, а действительно мелкие детали с большим трудом различаются на изображении.

В телекамерах стандартного разрешения фирмы «ЭВС» применен симметричный корректор четкости, настроенный на максимум разрешающей способности 400 телевизионных линий, обеспечивающий глубину модуляции не менее 50%. Несмотря на возможность наблюдения этими камерами изображений с мирами 400 и даже 450 телевизионных линий, в паспортах указывается значение 380 линий в соответствии с общепринятым коэффициентом 0,75 для дискретных систем наблюдения изображений.

ТК повышенного разрешения на матрицах с числом элементов по строке 750–760 имеют разрешающую способность примерно 570 телевизионных линий, что в 1,5 раза выше, чем у камер стандартного разрешения. В настоящее время доля камер высокого разрешения на рынке постоянно увеличивается. Однако следует отметить, что заметное улучшение четкости изображения в телевизионной системе с камерами

высокого разрешения происходит только тогда, когда все элементы системы поддерживают высокое разрешение.

Формат (размер) фотоприемников непосредственно связан с форматом используемых объективов. Объективы необходимо использовать того же или большего формата, чем фотоприемник камеры, иначе углы формируемого камерой изображения будут затеняться выходной диафрагмой объектива. Преимуществом 1/2" камер является в первую очередь высокое отношение сигнал/шум в дневных условиях, достигающее 56 дБ в ExwaveHAD матрицах ПЗС. Изображение, формируемое 1/2" камерой при освещенности 10 люкс, кажется «нарисованным», как на компьютере. Зернистого шума не видно ни на светлых, ни на темных участках изображения. Очень хорошая перегрузочная способность, искажения ярких объектов минимальны. В ТК 1/3" зернистый шум уже достаточно хорошо заметен на темных деталях даже при солнечном освещении. Значительно размыт «глянец» изображения, характерный для полудюймовых моделей, но качество изображения в камерах 1/3" достаточно высокое. В ТК 1/4" даже днем шум виден на всех фрагментах изображения. Если присмотреться, то все изображение кажется покрытым «рябью». Однако, шум не столь сильный, как в камерах форматом 1/5 и 1/6 дюйма и не мешает различению мелких деталей.

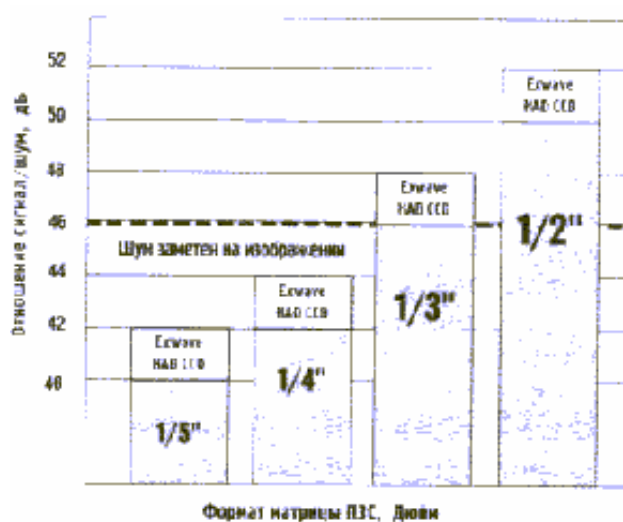


Рис. 2.3.2. Формат матрицы и отношение сигнал/шум

Гораздо более существенным недостатком для применения в ТСС камер с уменьшенными форматами фотоприемников является снижение чувствительности в темноте примерно в 1,5 раза при переходе от одного формата к другому.

Телекамеры со стандартной и высокой чувствительностью

Телекамеры стандартной чувствительности обеспечивают возможность наблюдения до 0,05–0,01 лк в зависимости от светосилы объектива. Эти камеры наиболее распространены и имеют минимальную стоимость. Однако, их целесообразно использовать в ТСС только в тех случаях, когда обеспечен достаточный уровень интенсивности свечения люминесцирующего объекта.

Телекамеры с повышенной чувствительностью появились в 1999 г. в связи с освоением фирмой SONY производства ПЗС-матриц типа ExwaveHад, чувствительность которых в 3–4 раза выше стандартных.

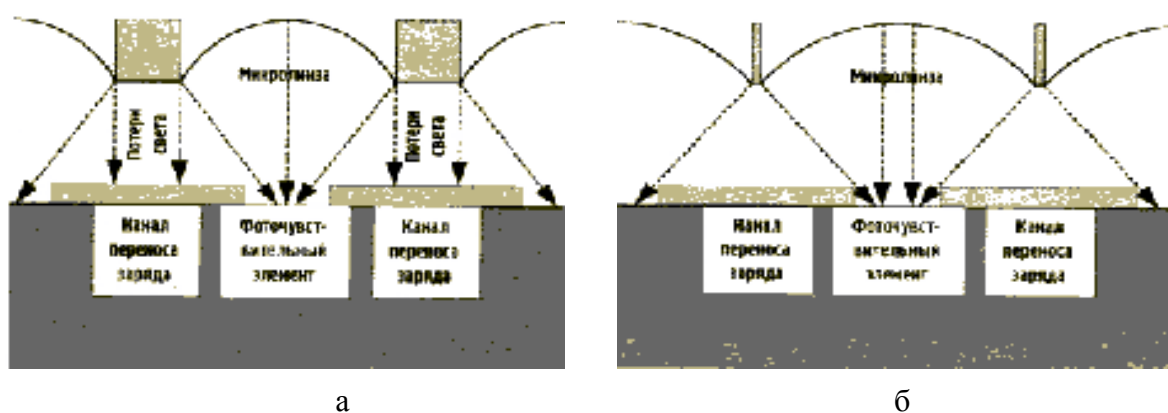


Рис. 2.3.3. Стандартная (а) и ExwaveHад (б) матрица ПЗС.

Повышение чувствительности достигается в этих приборах за счет оптимизации формы микролинзового массива, фокусирующего падающий свет точно в небольшие по размеру фоточувствительные окна. В результате оптимизации материала микролинз SONY удалось дополнительно увеличить коэффициент передачи новых матриц в ближней ИК-области диапазона длин волн.

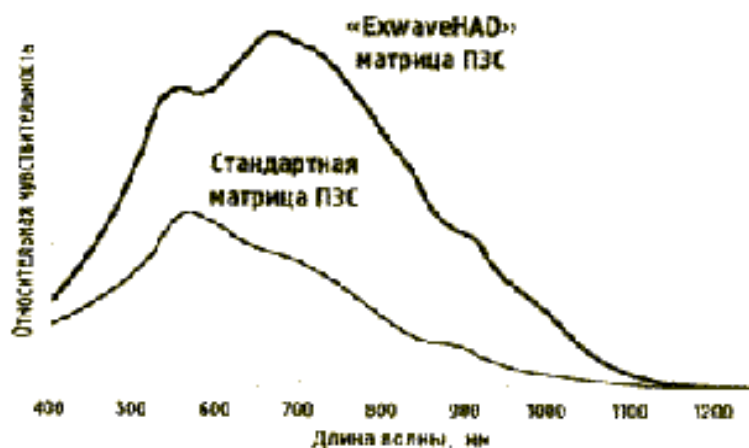


Рис. 2.3.4. Спектральные характеристики стандартной и ExwaveHад матрицы ПЗС

Камеры с повышенной чувствительностью могут работать при уровнях освещенности до 0,008–0,005 лк. Стоимость этих камер в два раза выше, чем ТК со стандартной чувствительностью.

Повышение чувствительности ТК

Перечислим основные факторы, ограничивающие повышение чувствительности современных ПЗС-камер:

- потери света в объективе;
- потери света из-за малой площади фоточувствительных элементов по отношению к полной площади фотоприемника;
- потери при преобразовании фотон-электрон;
- шум считывания выходного устройства матрицы ПЗС;
- свечение транзисторов выходного устройства матрицы ПЗС.

В связи с этим способы повышения чувствительности телевизионных ПЗС-камер следующие:

- применение высокочувствительных матриц и светосильных объективов;
- применение электронно-оптических усилителей яркости изображения;
- введение режимов накопления и считывания заряда в ПЗС.

В настоящее время трудно ожидать заметного увеличения светосилы современных асферических объективов, которая достигла значений 0,75–0,8. Параметры микролинзового массива близки к теоретическому пределу и здесь также трудно ожидать существенных улучшений. Не ожидается в ближайшем будущем и увеличение квантового выхода в фотоприемниках.

Основным фактором, ограничивающим чувствительность ТК, в настоящее время является шум считывания. Его значение 20–30 электронов/пиксел теоретически можно было бы снизить на порядок за счет уменьшения площади затвора первого выходного транзистора в ПЗС-матрице. Однако, затвор с малой площадью не в состоянии вместить заряд пиксела в случае, когда света много, что приведет к ограничению сигнала при локальных пересветках. Вариантом решения данной проблемы является размещение в матрице двух выходных устройств – одно для малых, а

другое для больших зарядов и переключение их в зависимости от величины заряда.

Новым фактором, на который ранее не обращалось внимания, является собственное свечение транзисторов выходных устройств матрицы ПЗС, которое мешает наблюдению объектов при малой освещенности. В системах, где требуется максимальная чувствительность, в настоящее время прибегают к заклеиванию выходного устройства матрицы ПЗС непрозрачным материалом [47].

Для увеличения чувствительности ТК состыковывают с электронно-оптическими усилителями яркости изображения (ЭОП), достигая чувствительности на объекте 0,001–0,00001 лк. Достоинством ТК типа «ПЗС+ЭОП» является сверхвысокая чувствительность с возможностью наблюдения в реальном масштабе времени. Однако, такие камеры достаточно дорогие.

В последние годы в высокочувствительных системах для визуального наблюдения наметилась тенденция к вытеснению ПЗС-камерами приборов ночного видения с ЭОП первого и второго поколений. Новая серия камер с ночными режимами двух видов наряду с высококачественным наблюдением днем позволяет ночью развивать чувствительность, превосходящую чувствительность приборов ночного видения с ЭОП поколений 1,2 и 2+.

В новых камерах фирмы «ЭВС» сверхвысокая чувствительность достигнута за счет автоматического изменения режима работы ПЗС-матрицы при малых освещенностях.

Так, например, в телекамерах VNC-543 и VNC-743 с рекламируемой рекордной чувствительностью 0,00004 лк при снижении освещенности сначала автоматически включается режим интегрирования сигнала внутри матрицы ПЗС по площади изображения (суммируются сигналы соседних элементов), а затем по времени (суммируются сигналы нескольких телевизионных кадров). Иными словами, осуществляется повышение чувствительности за счет уменьшения разрешающей способности камеры и увеличения времени наблюдения сюжета.

Таблица 3.1

Сравнение чувствительности ЭОП и ТК

Освещенность, люкс				
10 ⁻⁵ люкс	10 ⁻⁴ люкс	10 ⁻³ люкс	10 ⁻² люкс	10 ⁻¹ люкс
ЭОП 3 ⁺ 0,00002 лк	ЭОП 2 ⁺ 0,0001 лк	ЭОП 2 ЭОП 1 0,0003 лк 0,001 лк		Приборы ночного видения
	WV-BP550 0,0004 лк F 0,75	WAT-902H 0,005 лк F 1,2	WAT-902B 0,02 лк F 1,2	Лучшие ПЗС- камеры других фирм
VNC-543 0,00004 лк F 0,75	VNC-542 0,0002 лк F 0,75	VSC-541 0,012 лк F 2,0	VBC-541 0,02 лк F 1,2	Высокочувстви- тель-ные ПЗС- камеры фирмы «ЭВС»
VNC-743 0,00005 лк F 0,75	VNC-742 0,0003 лк F 0,75	VSC-741 0,015 лк F 2,0	VBC-741 0,02 лк F 1,2	

[48].

Следует отметить, что интегрирование сигналов соседних элементов, приводящее к уменьшению разрешения, непригодно для ТСС, предназначенных для криминалистических исследований. Хороший результат повышения чувствительности ТК при сохранении ее разрешения дает увеличение времени накопления на мишени.

Электронно-оптические преобразователи (ЭОП)

Приборы, конструируемые на базе ЭОП, предназначены для регистрации объектов в условиях естественных освещенностей от сумерек до глубокой ночи или обнаружения и регистрации сверхнизких излучений. Они обеспечивают в реальном масштабе времени регистрацию однофотонных событий, широкий регулируемый световой диапазон, высокую разрешающую способность и контрастную чувствительность.

Выделяют три поколения ЭОП. Существуют также усовершенствованные модификации второго и третьего поколений: 2+, 2++, 2Super, 3+ и т. д. При этом так называемые «высокоинформативные ЭОП 3-

го поколения», а также ЭОП 3-го поколения состыкованные с ПЗС-матрицей часто в литературе относят к приборам 4-го поколения. Рассмотрим более подробно новые приборы.

ЭОП 3-го поколения

ЭОП 3-го поколения принципиально отличается от своих предшественников высокоэффективным полупроводниковым фотокатодом на основе арсенида галлия с отрицательным электронным средством (ЭОС), впервые были представлены на международных выставках в 1980–1982 гг.

Схема наиболее совершенного ЭОП 3-го поколения представлена на рис. 2.3.5.

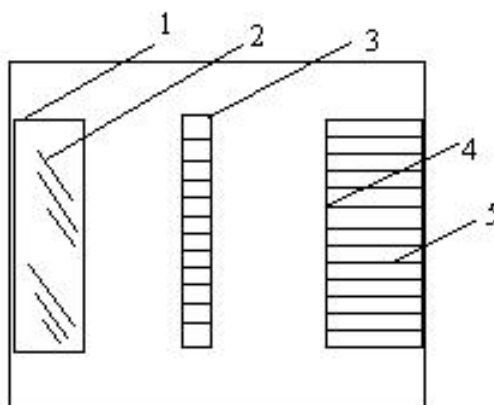


Рис. 2.3.5. Схема ЭОП 3-го поколения

1 – фотокатод с отрицательным электронным средством (на основе GaAs), нанесенный на стеклянное входное окно; 2 и 3 – микроканальная пластина; 4 – экран, нанесенный на волоконно-оптическую пластину – 5 для стыковки с матрицей ПЗС телевизионной камеры

Интегральная чувствительность первых ЭОП 3-го поколения составляла 1 000 мкА/лм при разрешающей способности 32–36 штр/мм. В дальнейшем американские фирмы Litton, ITT, Varian вели интенсивные работы по их совершенствованию. Разработчиками фирмы Litton за счет тщательного контроля процессов получения фотокатодных полупроводниковых структур в ЭОП OMNI IV была достигнута интегральная чувствительность фотокатода 1 800 мкА/лм.

На длине волны 830 нм спектральная чувствительность этого катода (рис. 2) составляла 190 мА/Вт, что соответствует квантовому выходу 30% (0,3 электрона/квант), а на длине волны 600 нм квантовый выход составлял

40% (при теоретическом пределе 50%). По сравнению с более ранними модификациями за счет оптимального подбора входного полупроводникового слоя фотокатод имеет хорошую чувствительность и в «синей» части спектра (до 400–450 нм). Очевидно, что внесение таких значений чувствительности в документацию предполагает наличие определенного технологического запаса и возможности получения чувствительности, превышающей 2 000 мкА/лм.

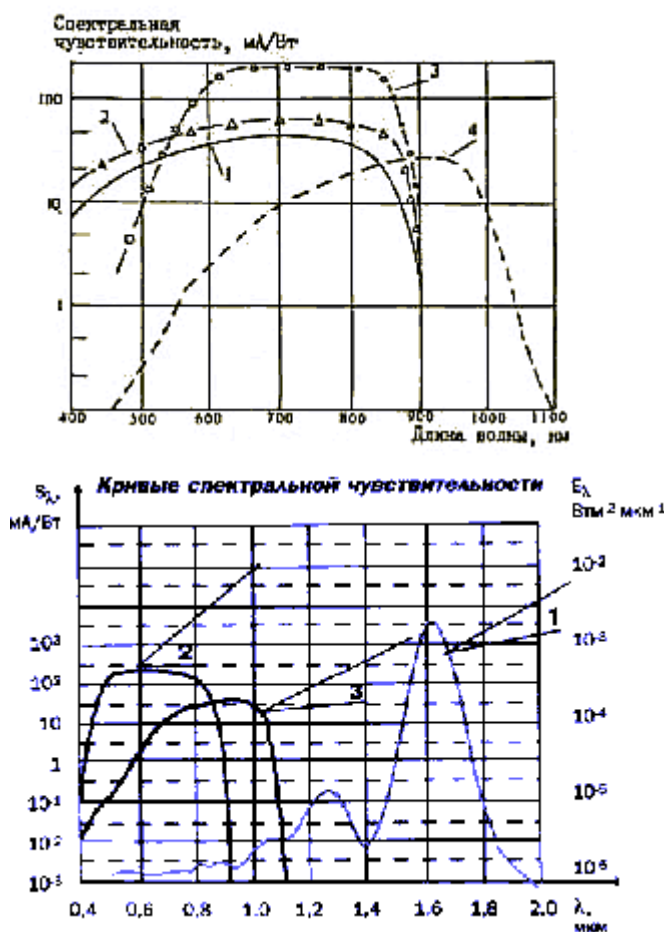


Рис. 2.3.6. Типичные спектральные характеристики современных фотокатодов: 1 – многощелочной (S-25) фотокатод; 2 – улучшенный многощелочной (Super S-25) фотокатод; 3 – фотокатод 3-го поколения (GaAs) модификации OMNI IV; 4 – продленный в ближнюю ИК-область (ENIR) фотокатод на основе InGaAs [49].

ЭОП 3-го поколения с продленной ИК-чувствительностью

Единственным фотокатодом, чувствительным в области за 0,9 мкм, до последнего времени являлся кислородно-серебряно-цезиевый (КСЦ) фотокатод (S-1 по американской классификации), имеющий «красную»

границу 1,2–1,4 мкм. Недостатками этого катода являются низкая интегральная чувствительность и высокий темновой ток. Увеличение ИК-чувствительности фотокатодов 3-го поколения проводилось путем введения в активный слой GaAs 10–15% добавки индия и создания тройного соединения InGaAs.

Фирмой Litton на базе стандартной конструкции 3-го поколения были созданы ЭОП с фотокатодом, названным «Extended Near IR» (продленный в ближнюю ИК-область) – сокращенно ENIR. ЭОП имеет спектральную чувствительность, представленную на рис. 1, при интегральной чувствительности 300–1000 мкА/лм.

Существуют ЭОП с фотокатодом на основе барьеров Шоттки – так называемый ТЕР-фотокатод, смещенный в УФ-область спектра. На рис. 2.3.7 представлена кривая спектральной чувствительности ТЕР-фотокатода (1) в сравнении с кривой чувствительности обычного фотокатода ЭОП 3-го поколения (2) и фотокатода смещенного в ИК-область спектра (3).

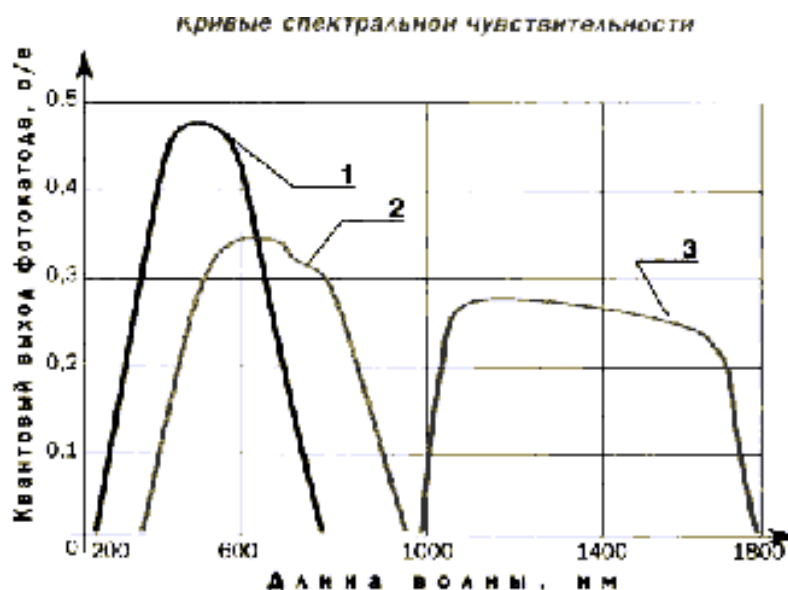


Рис. 2.3.7. Спектральные характеристики: 1 – ТЕР-фотокатод; 2 – фотокатод ЭОП 3-го поколения; 3 – фотокатод смещенный в ИК-область спектра [50]

ЭОП + ПЗС

В первых гибридных преобразователях оптическая «стыковка» изображения с выходного экрана ЭОП 1, 2 или 3-го поколения и приемной матрицы ПЗС осуществлялось либо с помощью оптики переноса, либо с помощью фоконов с большими потерями по энергетике. При пороговой

чувствительности ПЗС-матриц порядка 0,1 лк требовалось усиление ЭОП не менее 10 000, чтобы реализовать разрешение ПЗС для ночной освещенности, и высокое разрешение и качество изображения ЭОП, а в первую очередь, отсутствие пространственных (структурных) шумов.

Исследования сенсорных блоков ЭОП + ПЗС с различными типами ЭОП, стыкованными через фокон с ПЗС ICX 038/039, показали, что разрешающая способность в 100 телевизионных линий достигается использованием ЭОП 2-го поколения при освещенности 0,001 лк, для ЭОП 2+ SuperGen при освещенности 0,00001 лк достигается 180 ТВ-линий. При освещенностях порядка 0,001 лк такие сенсоры обеспечивают 400 ТВ-линий. Ряд зарубежных фирм выпускает ЭОП, состыкованные с ПЗС-матрицами через фокон и называемые Low Light Level Image Sensors или Intensified CCD Sensors. Например, фирма De Oude Delft выпускает такие ЭОП на базе ЭОП 3-го поколения, обеспечивающие при ночной освещенности разрешение до 400 ТВ-линий (тип XX 1760).

Наиболее перспективными являются ЭОП, в которых матрица ПЗС помещается внутри вакуумного объема ЭОП и возбуждается с тыльной стороны непосредственно электронным пучком, несущим информацию об изображении. При этом исключаются потери на преобразование энергии электронов в световую энергию (свыше 80%) и ее переноса через оптику или фокон на ПЗС. В результате такой прибор существенно превосходит все остальные типы ЭОП с ПЗС по информационной емкости и пороговой освещенности, достигающей в ЭОП с электронно-возбуждаемой ПЗС (ЭВПЗС) 0,000001 лк.

ЭОП с высокочувствительным фотокатодом 2+ или 3-го поколения с ЭВПЗС и выходом в виде контактов матрицы ПЗС или сразу видеосигнала принято называть ЭОП 4-го поколения.

Несмотря на явные преимущества таких ЭОП, они являются весьма сложными в плане технологического совмещения фотокатодов и ПЗС в одном вакуумном объеме. Кроме того, получение тонкой ПЗС для возбуждения электронами с тыльной стороны представляет самостоятельную проблему. В связи с этим ЭОП 4-го поколения пока выпускаются очень немногими фирмами, в том числе российской – ЦНИИ «Электрон», и имеют стоимость выше стоимости ЭОП 3-го поколения.

Поэтому в настоящее время более распространены приборы 4-го поколения, в которых ЭОП стыкуются в ПЗС через оптику переноса или фокон. Так, например, фирма Intevac выпускает прибор – «помощник» ПЗС-видеокамер «Nite Mate», состоящий из ЭОП 3-го поколения, блока его питания с входным постоянным напряжением 12 В (унификация с питанием ПЗС-камеры) и оптики переноса. На входе и выходе прибора – унифицированная «С» – резьба для присоединения объектива ПЗС-камеры и самой камеры. При этом сохраняется возможность работы и автоматического контроля объектива «auto-iris». Производитель рекламирует возможность получения со стандартными ПЗС (пороговая чувствительность – 0,1 лк) форматом 1/2" или 2/3" разрешающей способности 425 ТВ-линий при освещенности 0,00001 лк (пасмурная звездная ночь) [50].

Ниже приведены технические характеристики отечественных приборов ЭОП + ПЗС, выпускаемых в ЦНИИ «Электрон», г. Санкт-Петербург [51].

Таблица 3.2

Высокочувствительные приборы ЭОП+ПЗС ЦНИИ «Электрон»

Наименование параметра Единицы измерения	Значение		
	УПЗС-1 Видимый диапазон	УПЗС 2 УФ и видимый диапазон	УПЗС-3 УФ диапазон
Размер входного изображения, мм	9,8 × 13,1		
Тип фотокатода	многощелочной	бищелочной	CsTe
Диапазон спектральной чувствительности, нм	350–850	250–650	200–350
Рабочая освещенность фотокатода, лк	$3 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-13}$	$1 \cdot 10^{-13}$
Облученность, Вт.эл			
Напряжение выходного сигнала на нагрузке 3 кОм, мВ	Более 100		
Разрешающая способность при рабочей освещенности, твл: в центре	450 400	400 350	
в углах			

Пороговая освещенность при разреш. способности 200 твл, лк	$2 \cdot 10^{-6}$	$1 \cdot 10^{-16}$
Отношение сигнал/шум при рабочей освещенности, дБ	18	
Вес, г	420	
Диаметр, мм	63	
Максимальная длина, мм	90	
Устойчивость к ВВФ: вибропрочность диапазон частот, Гц ускорение, g многократный удар: ускорение, g одиночный удар: ускорение, g диапазон рабочих температур, градус	1–500 5 40 150 –50..+50	
Наименование параметра Единицы измерения	Значение	
	УПЗС 4М	УПЗС 5М
Размер входного изображения, мм	$9,8 \times 13,1$	
Тип фотокатода	многощелочной	A_3B_5
Диапазон спектральной чувствительности, нм	400–850	500–900
Рабочая освещенность фотокатода, лк	$2 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-4}$
Напряжение выходного сигнала на нагрузке 3 кОм, мВ	Более 100	Более 100
Разрешающая способность при рабочей освещенности, твл В центре В углах	450 400	
Пороговая освещенность при разреш. способности 200 твл, лк	$2 \cdot 10^{-6}$	$1 \cdot 10^{-6}$
Отношение сигнал/шум, при рабочей освещенности, дБ	18	18
Вес, г	320	320
Диаметр, мм	53	60
Максимальная длина, мм	60	60
Устойчивость к ВВФ: вибропрочность диапазон частот, Гц ускорение, g многократный удар: ускорение, g одиночный удар: ускорение, g диапазон рабочих температур, градус	1–500 5 40 150 –50..+50	

Высокочувствительные камеры для исследования ИК-люминесценции

Вариантом ТВ-систем для исследования ИК-люминесценции, работающих в области спектра 1–1,8 мкм, является ТВ-камеры на базе ИК-видикона. Так, например, фирма Hamamatsu (Япония) разработала малогабаритную ТВ-камеру R5509. Её спектральные характеристики изображены на рис. 2.3.8 (кривая 1). Кривая 2 отражает спектральную чувствительность аналогичной отечественной камеры (модель 7869) НПО «Электрон». ТВ-камера выполнена на базе ИК-видикона с мишенью на основе PbO/PbS (или Pb-O-S) с разрешением 600 ТВ-линий при размере рабочей площадки мишени $9,5 \times 12,7$ мм.

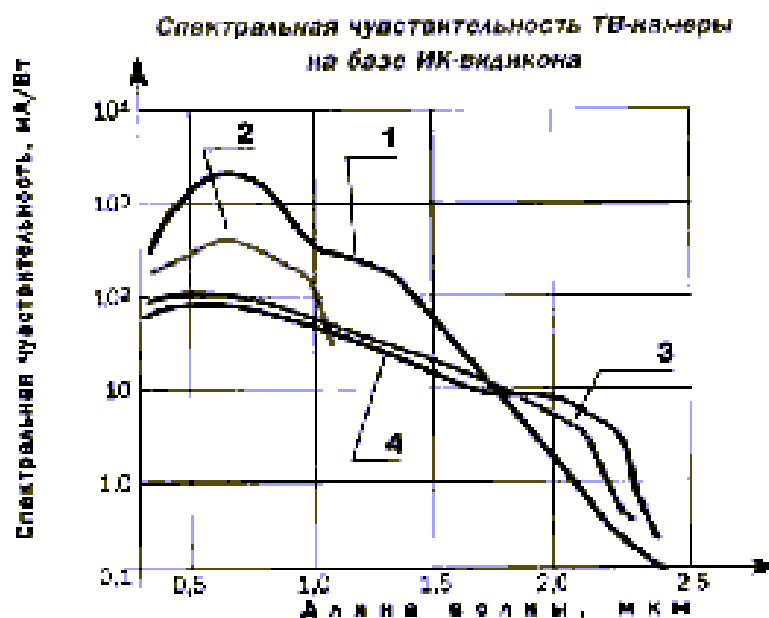


Рис. 2.3.8. Спектральная характеристика ТК на базе ИК-видикона

Фирма Emerging IR Technology (США) создала ТВ-камеру (модель SU320-1,7RT) с использованием матричного фотоприемника с числом элементов 640×480 на базе InGaAs такую с энергопотреблением менее 0,1 Вт для области спектра 0,9–1,7 или 0,9–2,0 мкм. Габариты камеры не превышают $158 \times 103 \times 103$ мм. Ее обнаружительная способность составляет свыше 10^{12} Вт⁻¹Гц¹/см². Кривая спектральной чувствительности ТВ-камеры представлена на рис. 2.3.9.

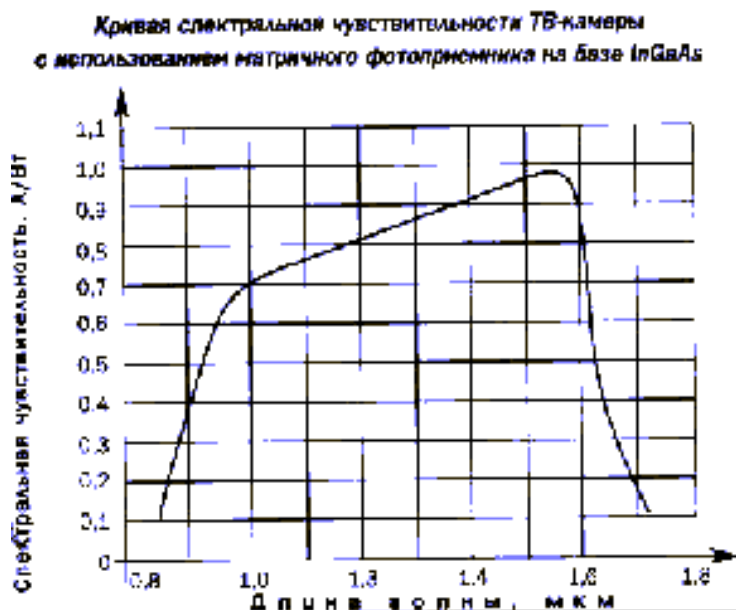


Рис. 2.3.9. Спектральная характеристика ИК ТК на базе ПЗС

В США ведутся работы по созданию гиперспектральных ТВ-детекторов. При этом в одном чипе предполагается совмещение ИК-матрицы и матрицы видимого диапазона. Такие системы работают в различных спектральных диапазонах, варьируя которыми, можно выделять по спектру разнообразные объекты. Однако, недостатком камер на основе InGaAs является высокая стоимость 5 тыс. \$ – 15 тыс. \$ [50].

Подавление шумов в ТК методом накопления

Свет, представляющий собой поток фотонов, проходя через объектив ТК, попадает на фоточувствительную поверхность матрицы ПЗС и на границе раздела полупроводник-диэлектрик преобразуется в фотоэлектроны, которые собираются в накопительных ячейках-пикселях матрицы ПЗС.

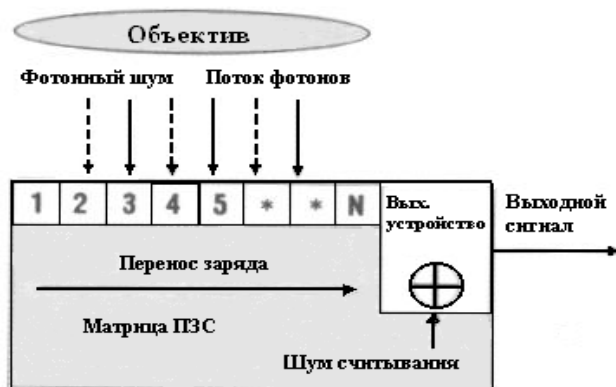


Рис. 2.3.10. Источники шума в ПЗС-матрице

При слабой освещенности поток фотонов уменьшается. Число фотоэлектронов, накапливаемых в пикселе изображения за кадр, уменьшается с сотен тысяч при высокой освещенности до десятков и даже единиц при слабом освещении. Шум становится главным препятствием получения качественного изображения.

Первый источник шума обусловлен дискретной природой света. Фотоны падают на фоточувствительную поверхность неравномерно по времени и неточно в пространстве. Измерить группу фотонов можно с точностью до фотонного шума, определяемого корнем квадратным из их числа. Чем больше фотонов в пикселе, тем лучше отношение сигнал/шум и качественнее и четче изображение.

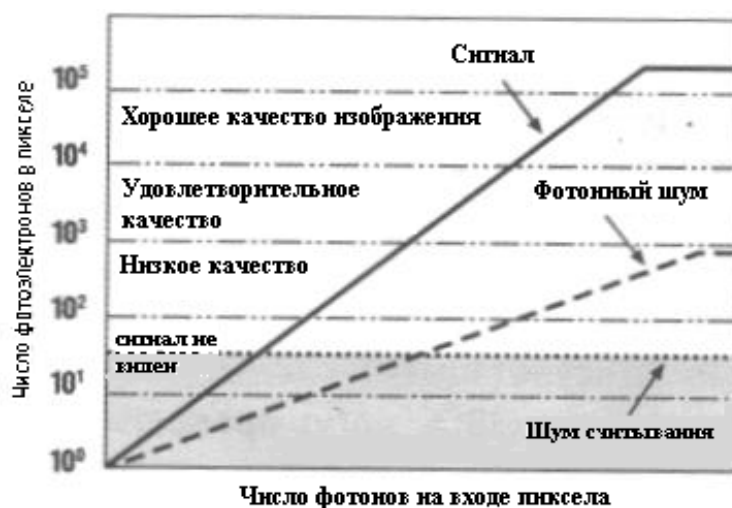


Рис. 2.3.11. Влияние шума на качество изображения

Вторым источником шума является шум считывания выходного устройства ПЗС, который примерно соответствует 30 электронам/пиксел. Чтобы увидеть крупные объекты на изображении, отношение сигнал/шум должно быть не менее 10. Считая квантовый выход ПЗС равным примерно 0,2 и время накопления поля 20 мс, можно определить, что минимальная плотность потока фотонов должна быть $30/0,2 \times 10/0,02 = 75000$ фотонов/элемент/секунду. При объективе с относительным отверстием $F 1,2$ такая плотность фотонов соответствует чувствительности стандартной ТК 0,02 люкса на объекте. При столь малой освещенности уровень сигнала на выходе ПЗС уменьшается до единиц милливольт. Его нужно усилить, иначе будет виден лишь черный экран видеомонитора. При усилении

одновременно с сигналом возрастает шум, который при достаточных освещенностях был незаметен. В результате на экране видеомонитора появляется шум в виде серых снежинок.

При уменьшении освещенности в 100 раз отношение сигнал/шум уменьшается в 5–10 раз, что в свою очередь уменьшает разрешающую способность при непосредственном наблюдении на видеомониторе в 2–3 раза.

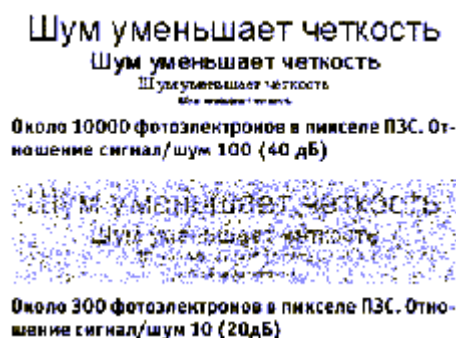


Рис. 2.3.12. Иллюстрация уменьшения шумом четкости изображения

Существуют аналоговые и цифровые методы подавления шумов, основанные на фундаментальном принципе выделения сигнала из шума – «принципе накопления энергии сигнала», который базируется на коренном отличии сигнала от шума. Сигнал всегда однополярный (в телевидении положительный) и имеет ограниченную полосу частот. Шум всегда дифференциальный с нулевым математическим ожиданием и со значительно более высокой полосой частот. В результате простое сложение (накопление) порций «сигнал + шум» будет приводить к линейному росту уровня сигнала и только к замедленному (по закону корня квадратного) росту среднего отклонения размаха шума. Каждые 100 сложений улучшают отношение сигнал/шум в 10 раз. Принцип накопления энергии сигнала используется во всех способах повышения чувствительности: пространственно-временное суммирование и низкочастотная фильтрация. На рис. 2.3.13 показаны принципы накопления сигнала.

Определенным преимуществом обладает способ повышения чувствительности, называемый «накопление до воздействия шума». Его суть заключается в том, что дополнительное суммирование (накопление) сигнала производится в самой матрице ПЗС до того, как сигнал попал в

выходное устройство и к нему присоединился шум считывания. В результате происходит сложение сигнала без сложения шума, а шум добавляется в выходном устройстве ПЗС один раз на каждую сумму сигналов. Таким образом, четырехкратное сложение приводит к десятикратному росту отношения сигнал/шум, а не к двукратному, как в обычных методах. Этот режим возможен благодаря тому, что при малых сигналах шум считывания значительно превосходит фотонный шум и последний практически не оказывает влияния на результат накопления [47,52].

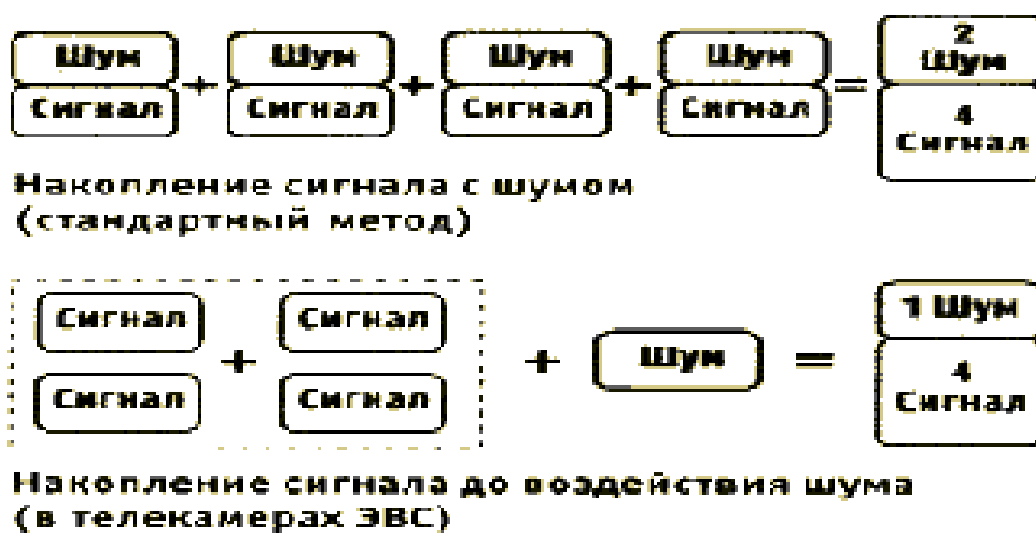


Рис. 2.3.13. Принципы накопления сигнала

Некоторые ТК фирмы «ЭВС»

В качестве примера ТК для ТСС рассмотрим характеристики черно-белых бескорпусных камер фирмы «ЭВС» серии V-A, V-E, V-I [52].

Особенности:

- ExwaveHад матрицы ПЗС фирмы SONY с увеличенной в 3–4 раза чувствительностью в камерах VS (A, E, I)-531 и VS (A, E, I)-731;
- Адаптивный корректор четкости, компенсирующий потери разрешающей способности в объективе и выходном кабеле;
- Возможность включения зеркального режима в камерах VB (A, E, I)-532.

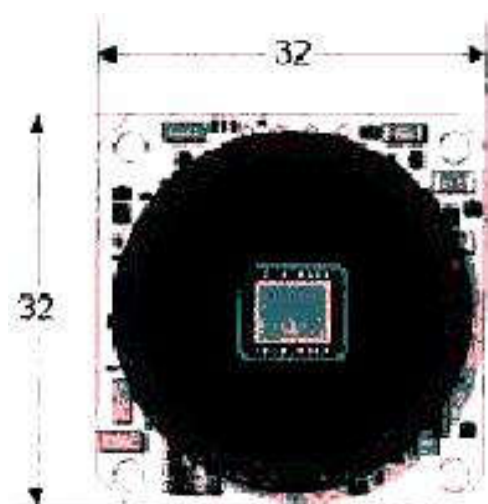


Рис.2.3.14. Телекамера VBI-531 с держателем объектива CS-mount

Выбор типа держателя и объектива зависит от назначения и условий эксплуатации камеры. Наилучшие характеристики достигаются при использовании объективов с креплением CS-mount. Объективы с постоянной диафрагмой и резьбой M12 обладают средними характеристиками как по качеству изображения, так и по чувствительности. Одна и та же камера с объективами M12 и PinHole будет иметь в 3 и 10 раз, соответственно, более низкую чувствительность, чем та же камера с объективом и креплением CS.

Таблица 3.4

Параметры черно-белых ТК с повышенной чувствительностью фирмы «ЭВС»

Модель	VBA-531 VBE-531 ⁽¹⁾ VBI-531 ⁽¹⁾	VSA-531 VSE-531 ⁽¹⁾ VSI-531 ⁽¹⁾	VBA-571 VBE-571 ⁽¹⁾ VBI-571 ⁽¹⁾	VSA-571 VSE-571 ⁽¹⁾ VSI-571 ⁽¹⁾	VBA-532 VBE-532 ⁽¹⁾ VBI-532 ⁽¹⁾	VCA-533 VCE-533 ⁽¹⁾ VCI-533 ⁽¹⁾
Фотоприемник	ICX-405AL SONY, 1/3"	ICX-255AL SONY, 1/3"	ICX-409AL SONY, 1/3"	ICX-259AL SONY, 1/3"	LZ2326 AJ SHARP, 1/3"	LZ2423H SHARP, 1/3"
К-во элементов CCIR EIR	582 × 500 492 × 510	582 × 500 492 × 510	582 × 752 492 × 768	582 × 752 492 × 768	582 × 500 492 × 510	582 × 500 492 × 510

Разрешение, ТВ линий	380	380	570	570	380	300
Мин. освещ-ть на объекте при сигнал/шум =10, люкс	0,05 (F2,0) 0,2 (F4,5) ⁽¹⁾ 0,02(F1,2) ⁽²⁾	0,012 (F2,0) 0,05 (F4,5) ⁽¹⁾ 0,005 (F1,2) ⁽²⁾	0,05 (F2,0) 0,2 (F4,5) ⁽¹⁾ 0,02 (F1,2) ⁽²⁾	0,015 (F2,0) 0,08 (F4,5) ⁽¹⁾ 0,007 (F1,2) ⁽²⁾	0,05 (F2,0) 0,2 (F4,5) ⁽¹⁾ 0,02 (F1,2) ⁽²⁾	0,5 (F2,0) 1,5 (F4,5) ⁽¹⁾ 0,15 (F1,2) ⁽²⁾
Напр. ист. питания, В	+10...+12,5					
Потребляемый ток, не более, мА	90	90	115	115	90	85
Отношение сигнал/шум, дБ	46	48	46	48	46	44

В качестве примера цветных ТК приведем таблицу с характеристиками цветных камер стандартного и высокого разрешения, стандартной и высокой чувствительности фирмы «ЭВС» [52].

Таблица 3.5

Технические характеристики цветных ТК фирмы «ЭВС»

№ платы	44			
№ модуля	C-544	C-744	Z-544	Z-744
Черно-белый, цвет	цвет			
Разрешающая способность, ТВ линий	300	460	300	460
Чувствительность, люкс	0,5 (F1,2)	0,5 (F1,2)	0,12 (F1,2)	0,15 (F1,2)
Матрица ПЗС	ICX-405AK	ICX-409AK	ICX-255AK	ICX-259AK
Камеры без корпуса: V-A, объектив M12 V-E, объектив PinHole	VCA-544 — VCI-544	VCA-744 — VCI-744	VZA-544 — VZI-544	VZA-744 — VZI-744

V-I, объектив CS-mount				
Камеры внутренние: V-C, объектив CS-mount	VCC-544	VCC-744	VZC-544	VZC-744
Камеры наружные: V-N, объектив CS-mount	VCN-544	VCN-744	VZN-544	VZN-744

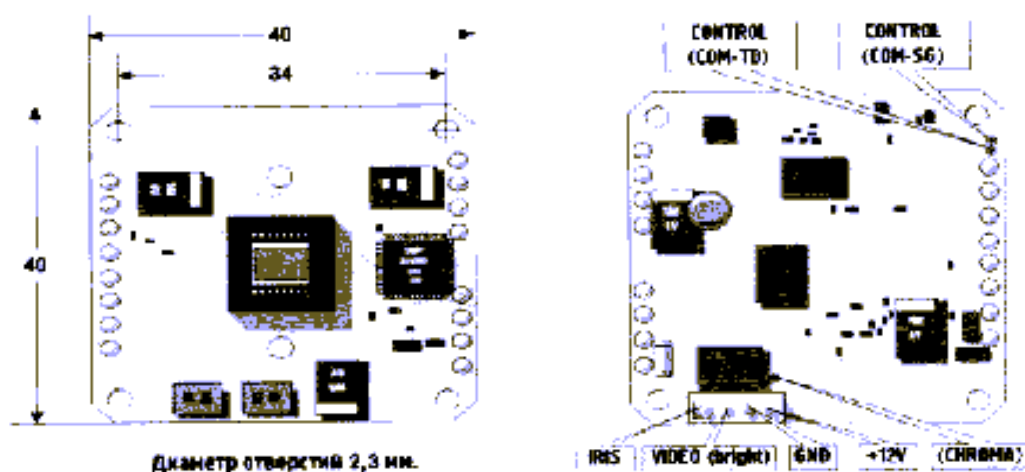


Рис. 2.3.15. Внешний вид цветной камеры С-544

Практические рекомендации по выбору телевизионных камер для ТСС

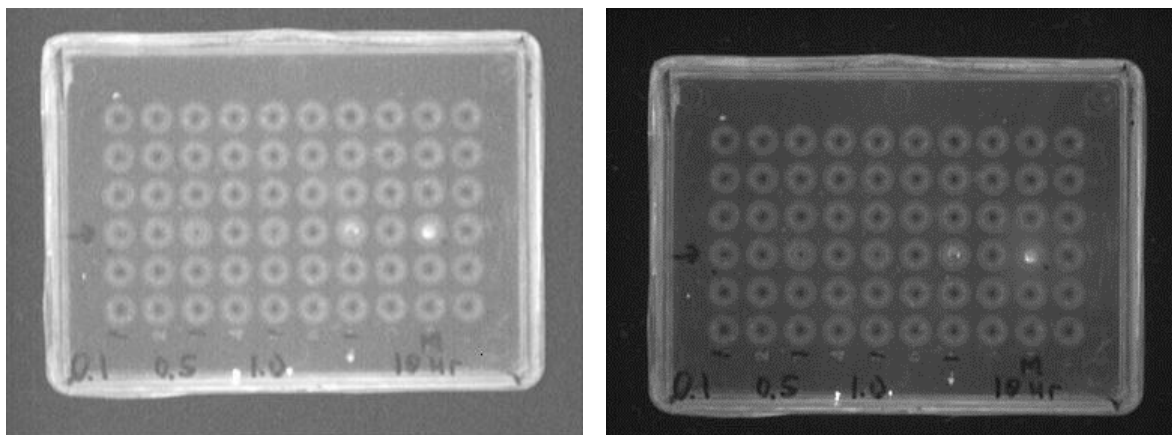
При построении ТСС возникает проблема выбора телевизионной камеры из имеющегося ряда моделей, сходных по техническим характеристикам. В рекламных материалах часто встречается неоднозначность толкования параметров, которая позволяет для одинаковых камер заявлять, например, цифры чувствительности, отличающиеся более чем в 100 раз. Часто не указывается отношение сигнал/шум, принимаемое за пороговое, характеристика объектива при измерении чувствительности, а также где определяется освещенность: на матрице, на объекте или же измеряется ее предельное значение. Так, например, при объективе с относительным отверстием $F1,4$ с коэффициентом отражения объекта 0,75 чувствительность на матрице будет в 10 раз лучше, чем на объекте. Понятно, также, что чувствительность одной и той же камеры с объективом $F0,8$ будет в 10 раз лучше, чем с объективом $F2,0$.

Если под минимальной (предельной) освещенностью понимать такую освещенность, при которой сохраняется полная разрешающая способность ТК, то отношение сигнал/шум будет составлять примерно 34–36 дБ, если минимальная освещенность такая, при которой различаются только крупные детали изображения, то отношение сигнал/шум составит примерно 20–24 дБ, если пороговая освещенность такая, при которой величина сигнала равна величине шумовой дорожки и кроме шума практически ничего не видно, то отношение сигнал/шум составит 5–6 дБ. Для одной и той же ТК, в указанных выше трех случаях, значения чувствительности можно также указать отличающимися на порядок.

Часто интегральная чувствительность камеры в несколько раз повышается за счет подъема спектральной характеристики в ИК-области спектра, оставаясь в видимой области спектра неизменной. Поэтому важно знать при каком освещении производятся измерения.

Для визуализации люминесцирующих объектов на темном фоне недопустимы проявления светлых точек от ячеек с аномальным уровнем темнового тока, появляющихся вследствие несовершенства технологии изготовления матриц. Такие точки могут проявляться после прогрева камеры в течение 5–10 минут её работы. Важным фактором является схемотехника камеры, критерием которой является способность работать при низких уровнях освещенности. Камера с хорошей схемотехникой имеет достаточно эффективную АРУ, усиливающую слабые сигналы. Если объектив камеры закрыть крышкой, то на экране правильная работа АРУ проявляется в виде равномерной пелены мерцающего «снега». Наличие стационарных фигур: полос, сеток, линий свидетельствует о наличии тактовых помех из-за несовершенства схемотехники. ТК должна иметь стойкость к локальным пересветкам, которые у матриц без устройств защиты от переполнения приводит к появлению светлых столбов, а также не иметь «тянучек» за границами яркостных перепадов из-за рассеяния света в оптических элементах ячейки.

В качестве примера приведем изображения люминесцирующего тест-объекта красителя этидия бромида, полученные с помощью ТК со сходными, согласно рекламным данным, техническими характеристиками.



камера 1

камера 2

Рис. 2.3.16. Изображение люминесцирующего теста

Несмотря на одинаковые характеристики, представленные в рекламных материалах, наилучшей контрастной чувствительностью обладает камера 2. В данном случае при выборе камеры производилась оценка контраста люминесцирующего объекта по отношению к фону (0,43 – для камеры 1 и 0,65 – для камеры 2).

Цифровые фотоаппараты

В последнее время в криминалистической экспертизе вместо видеокамер все чаще используются цифровые фотокамеры (ЦФ). Метод цифровой фотографии минует трудоемкий процесс экспонирования и обработки светочувствительных материалов. Его основу составляет дискретный ввод и преобразование изображения любого реального объекта в вид, удобный для компьютерной обработки, и получение копии этого изображения на широком круге носителей: жестком диске, компакт-диске, термобумаге, писчей бумаге. Современные ЦФ позволяют получать изображения с разрешением выше 5 млн. пикселей. Одновременно становятся доступными способы компьютерного улучшения исходного качества и преобразования изображений. Можно улучшить качество изображения за счет фильтрации и снижения уровня шумов, повысить его контрастность, резкость и т. д.

ЦФ обеспечивают получение изображения как можно более детализированного, соответствующего объекту съемки по распределению яркости и цветопередаче. Практическое использование метода цифровой

фотографии сокращает время исследования, улучшает качество изображения объекта и повышает наглядность результатов.

При визуализации люминесценции применение ЦФ в ТСС ограничивается видимой областью спектра и целесообразно в тех случаях, когда необходимо сверхвысокое (более 1 000 пикселей по строке) разрешение. Примером ТСС с ЦФ является система регистрации ПЦР-продуктов в гелях фирмы KODAK на базе цифрового фотоаппарата DC-120.

С точки зрения практического применения ЦФ в ТСС наиболее важными являются следующие характеристики:

1) Чувствительность. Для визуализации люминесценции ЦФ должен иметь возможность увеличения времени экспозиции. Лучшие модели ЦФ имеют возможность увеличения времени экспозиции до 16 с. Экспозиция менее 1 с неэффективна для получения изображения даже достаточно интенсивной люминесценции, которой обладают, например, банкноты.

2) Диапазон фокусировки, наличие ZOOM и режима макросъемки, обеспечивающих возможность съемки объектов формата А4 и менее с расстояния не более 0,5 м. Как правило, модели ЦФ имеют 3-кратный оптический и дополнительный 2-кратный электронный ZOOM с обеспечением автофокусировки с расстояния от 0,5 м, а также режим МАКРО с автофокусировкой от 0,2 м.

3) Наличие и размер электронного видоискателя. Наиболее удобные для пользования современные ЦФ имеют поворотную LCD-панель, на которой можно увидеть изображение близкое к будущей фотографии, ввести необходимые поправки в экспозиции, просматривать отснятый материал, получать информацию о режимах съемки и т. п.

4) Тип и объем памяти. Информация в цифровой камере хранится во встроенной или сменной памяти. Наиболее дешевые образцы имеют только встроенную память с возможностью передачи информации на компьютер через все существующие интерфейсы: COM, LPT, USB и пр. Кроме памяти для хранения отснятого материала и настроек есть еще и оперативная память. От ее размера отчасти зависит, с какой частотой можно снимать кадры или последовательности кадров. Каждый отснятый кадр камера переводит в «цифру» и преобразует в файл определенного формата (наиболее распространенный – JPEG). Для профессионалов

предпочтительнее TIFF и RAW (информация с каждого пикселя матрицы) – с малым сжатием или без него. Два последних формата имеют большой размер, требуют более дорогой сменной памяти и доступны лишь немногим просмотрным программам.

5) Наличие сетевого адаптера. Дополнительный сетевой адаптер весьма важен для обеспечения работы ЦФ в ТСС без подзарядок встроенного аккумулятора, ресурс которого весьма ограничен.

6) Разрешающая способность. Современные ЦФ значительно превосходят по данному параметру стандартные телевизионные камеры и имеют мегапиксельное разрешение. Количество элементов в ЦФ более чем $1\,200 \times 1\,600$ превосходит разрешение стандартных компьютерных мониторов, на которых, как правило, производится просмотр полученных изображений. Сверхвысокое разрешение ЦФ приводит к необходимости пофрагментного просмотра. Часто режим стандартного разрешения, устанавливаемый в ЦФ, оказывается субъективно даже более привлекательным по сравнению со сверхвысоким разрешением, поскольку позволяет визуализировать на мониторе все изображение целиком. Поэтому формат съемки должен выбираться, исходя из конкретной решаемой задачи.

Таблица 3.6

Характеристики некоторых ЦФ, пригодных для визуализации люминесценции

Марка фотоаппарата	CANON PowerShot S45	CANON Powershot A40	Kodak DC-4800
Светочувств. элемент	ПЗС 1/1,8"; 4,1 млн. пикс. (рабочих 4,0 млн. пикс).	ПЗС 1/2,7"; 2,1 млн. пикс. (рабочих 2 млн. пикс).	3,3 млн. пикс.
Разрешение	Large 2 272 × 1 704 Medium1 1 600 × 1 200 Medium2 1 024 × 768 Small 640 × 480	Large 1 600 × 1 200 Medium 1 024 × 768 Small 640 × 480	2 160 × 1 440, 1 800 × 1 200, 1 536 × 1 024, 1 080 × 720
Объектив	Фокус 7,1–21,3 мм, (35–105 мм в эквиваленте)	Фокус 5,4–16,2 мм, (35–105 мм в эквиваленте)	Фокус: 6–18мм (28–84 мм в 35 мм эквиваленте)

	для 35 мм) светосила 1:2,8–4,9.	для 35 мм) светосила 1:2,8–4,8.	Светосила 1:2,8–4,5
Цифр. ZOOM	До ×3,6	До ×2,5	×2, ×3
Фокусировка	Макрорежим: Широкий угол: от 10 см. Теле: от 30 см. Ручная фокусировка: Широкий угол: 10–30см. Теле: 30–50 см.	Диапазон фокусировки: Стандартный режим: от 76 см до бесконечн. Макрорежим: Широкий угол: 16–76 Теле: 26–76 см	Мин. дистанция Фокусировки 20 см
Затвор	Диапазон выдержек 15–1/1 500 сек.	Диапазон выдержек от 15сек. до 1/1 500 сек.	Диапазон выдержек: от 1/1 000 до 16 сек.
Связь с ПЭВМ	USB	USB	USB
Питание	Литий-ионный аккумулятор NB-2L, сетевой адаптер ASK700.	Четыре батареи типа AA, сетевой адаптер CA-PS500 (ASK600).	Li-Ion аккумулятор 1100 мА*час, 3,7 В или адаптер сети переменного тока
Размеры, мм	112 × 58 × 42	110,3 × 71 × 37,6	120 × 65 × 69
Вес, г	260	250	320
Стоимость, долл	624,2	316,8	880
Марка фотоаппарата	MINOLTA DIMAGE F100	NIKON Coolpix 4300	SONY DSC-S85
Светочувств. элемент	ПЗС 1/1,8" 4,13 млн. пикс. (рабочих 3,95 млн. пикс.)	ПЗС 1/1,8" 4,13 млн. пикс. (рабочих 4 млн. пикс.)	ПЗС 1/1,8", 4,1 млн. пикс.
Разрешение	2 272 × 1 704, 1 600 × 1 200 1 280 × 960, 640 × 480, 320 × 240	2 048 × 1 536, 1 600 × 1 200 1 280 × 960, 1 024 × 768 640 × 480	2 272 × 1 704, 1 600 × 1 200 1 280 × 960, 640 × 480, 320 × 240 (MOVIE),

Объектив	Фокус 7,8–23,4 мм, (38–114 мм в эквиваленте для 35 мм) светосила 1:2,8–4,7.	Фокус 8–24 мм, (38–114 мм в эквиваленте для 35 мм) светосила 1:2,8–4,9.	Фокус 7–21мм (в эквиваленте для 35 мм 34–102 мм), светосила 1:2,0–2,5.
Цифр. ZOOM	До ×2,5	До ×4	×2
Фокусировка	Ручная фокусировка. Диапазон фокусировки: Широкий угол/Теле: от 0,45 м до бесконечности. Макро: 14,5–54,5см..	Диапазон фокусировки: Стандартный режим: от 0,3 м до бесконечности. Макрорежим: от 0,04 м до бесконечности	Автоматическая, ручная (предвар. установленная дистанция).
Затвор	Диапазон выдержек от 4 сек. до 1/1 000 сек., «от руки» (макс. 15сек.).	Диапазон выдержек от 8 сек. до 1/1 000 сек.	Диапазон выдержек от 8 сек. до 1/1 000 сек
Связь с ПЭВМ	USB	USB	USB
Питание	Две батареи типа AA	Аккумуляторная батарея EN-EL1, сетевой адаптер	Аккумуляторный блок InfoLITHIUM NP-FM50, сетевой адаптер AC-L10
Размеры, мм	111 × 52,3 × 32	95 × 69 × 52	117 × 71 × 64
Вес, г	185	230	462
Стоимость, долл	506,2	583,5	689,3

4. Оптимальная телевизионная спектральная система

Задачи оптимизации. Математическая модель моноспектральной ТСС. Спектральные характеристики идеальной и реальной ТСС. Выражения для оценки контраста изображения, получаемого в ТСС.

Для моноспектральной ТСС, предназначенной для формирования изображения люминесцирующего объекта с априорно известными спектральными характеристиками, могут быть поставлены задачи поиска ее оптимального построения (оптимизации) в системе реально существующих ограничений [53].

Так, например, могут быть сформулированы следующие задачи:

1. Имеется источник света (ИС) и фотоприемник (ФП) с известными спектральными характеристиками $P(\lambda)$ и $G(\lambda)$. Требуется определить требования к спектральным характеристикам $C_1(\lambda)$ и $C_2(\lambda)$, при которых обеспечивается наилучшее качество получаемого изображения люминесцирующего объекта (максимальный контраст по отношению к фону).

2. Имеется $C_1(\lambda)$ и $C_2(\lambda)$ с известными спектральными характеристиками. Требуется определить требование к спектральной мощности ИС и спектральной чувствительности ФП, необходимой и достаточной для получения изображения люминесцирующего объекта максимально возможного контраста по отношению к фону.

3. Вариант задачи № 1, когда в систему ограничений переходит спектральная характеристика $C_1(\lambda)$ или $C_2(\lambda)$.

4. Вариант задачи № 2, когда в систему ограничений переходит спектральная мощность ИС $P(\lambda)$ или спектральная характеристика ФП $G(\lambda)$.

Рассмотрим математическую модель ТСС, изображенную на рис. 2.4.1.

Математическая модель отображает основные элементы обобщенной структурной схемы ТСС. Спектральная мощность $P(\lambda)$ реальных источников света имеет распределение значительно шире спектра поглощения исследуемого объекта. Светофильтр C_1 , с согласованным со

спектром поглощения коэффициентом пропускания $C_1(\lambda)$, обеспечивает выделение необходимого участка спектра для возбуждения у объекта люминесценции с мощностью излучения J_0 .

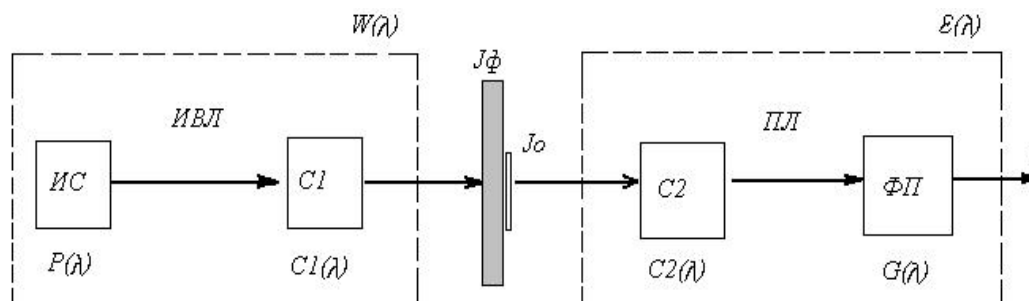


Рис. 2.4.1. Математическая модель ТСС:

ИВЛ – источник возбуждения люминесценции со спектральной мощностью $W(\lambda)$; ПЛ – приемник люминесценции со спектральной чувствительностью $E(\lambda)$; ИС – источник света со спектральной мощностью $P(\lambda)$; ФП – фотоприемник со спектральной чувствительностью $G(\lambda)$; C_1 – светофильтр в ИВЛ с коэффициентом пропускания $C_1(\lambda)$; C_2 – светофильтр в ПЛ с коэффициентом пропускания $C_2(\lambda)$; J_0 – мощность излучения люминесцирующего объекта; J_ϕ – мощность излучения фона

Интенсивность J_0 пропорциональна спектральной мощности ИВЛ – $W(\lambda)$, которая определяется характеристиками ИС и светофильтра C_1 :

$$W(\lambda) = P(\lambda)C_1(\lambda),$$

при этом численное значение спектральной мощности определяется следующим выражением:

$$W = \int_{\lambda_1}^{\lambda_2} P(\lambda)C_1(\lambda)d\lambda.$$

В реальной системе возможно появление люминесценции фона с мощностью J_ϕ , на котором расположены исследуемые объекты. Эта паразитная составляющая может частично или полностью совпадать со спектром люминесценции объекта.

Пусть A_0 – коэффициент, характеризующий люминесцирующие свойства объекта, а A_ϕ – коэффициент, характеризующий свойства фона, причем, $A_0 > A_\phi$. Тогда

$$J_0(\lambda) = A_0 \cdot W(\lambda),$$

$$J_\phi(\lambda) = A_\phi \cdot W(\lambda).$$

Светофильтр C_2 , с согласованным со спектром люминесценции коэффициентом пропускания $C_2(\lambda)$, обеспечивает выделение спектра люминесценции исследуемого объекта и устранение составляющих, создающих паразитные засветки вне спектра люминесценции.

Результирующая спектральная чувствительность ПЛ – $E(\lambda)$ прямо пропорциональна спектральной чувствительности ФП – $G(\lambda)$ и коэффициенту пропускания $C_2(\lambda)$:

$$E(\lambda) = G(\lambda)C_2(\lambda),$$

и вычисляется по формуле: $E = \int_{\lambda_1}^{\lambda_2} G(\lambda)C_2(\lambda)d\lambda$ на промежутке $[\lambda_1; \lambda_2]$.

Полный ток ПЛ может быть определен следующим образом [54]:

$$i = \int_{\lambda_1}^{\lambda_2} E(\lambda)J(\lambda)d\lambda,$$

где $J(\lambda) = J_0(\lambda) + J_\phi(\lambda)$ – суммарная мощность излучения, поступающая на вход ПЛ.

Данное описание справедливо для ИВЛ и ПЛ, имеющих идеальные (неперекрывающиеся) характеристики (рис. 2.4.2).

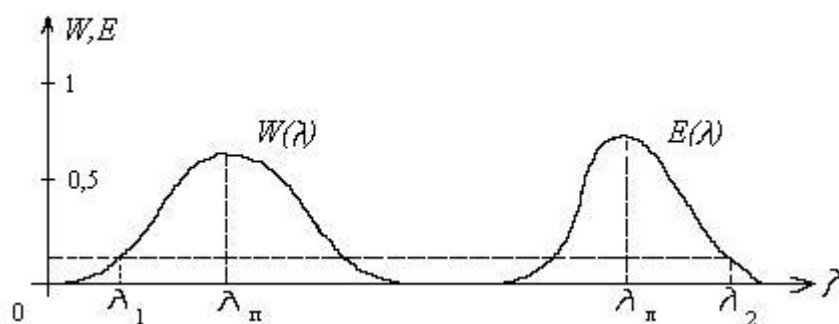


Рис. 2.4.2. Спектральные характеристики идеальных ИВЛ и ПЛ:

$W(\lambda)$ – спектральная мощность ИВЛ; $E(\lambda)$ – спектральная чувствительность ПЛ; λ_n – длина волны поглощения объекта; λ_n – длина волны люминесценции объекта; λ_1, λ_2 – границы спектрального диапазона ТСС

В реальной ТСС спектральные характеристики ИВЛ и ПЛ перекрываются (рис. 2.4.3).

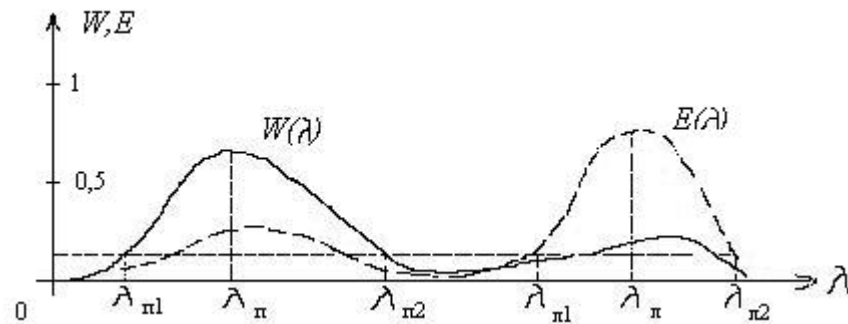


Рис. 2.4.3. Спектральные характеристики реальных ИВЛ и ПЛ:

λ_{n1} , λ_{n2} – границы диапазона длин волн, соответствующие спектру поглощения; $\lambda_{л1}$, $\lambda_{л2}$ – границы диапазона длин волн, соответствующие спектру люминесценции

Как видно из рис. 2.4.3, $W(\lambda)$ и $E(\lambda)$ могут быть представлены в виде суммы из двух составляющих: полезной и паразитной. В ИВЛ полезная составляющая спектральной мощности W_0 идет на возбуждение люминесценции объекта, а паразитная W_ϕ – на создание фоновой засветки для ПЛ:

$$W_0 = \int_{\lambda_{n1}}^{\lambda_{n2}} P(\lambda) C_1(\lambda) d\lambda \quad (1)$$

$$W_\phi = \int_{\lambda_{л1}}^{\lambda_{л2}} P(\lambda) C_1(\lambda) d\lambda \quad (2)$$

$$W = W_0 + W_\phi$$

В ПЛ полезная составляющая спектральной чувствительности E_0 идет на формирование полезного сигнала люминесцирующего объекта, а паразитная E_ϕ – на формирование фонового сигнала от излучения, проникающего в ФП в области спектра поглощения.

$$E_0 = \int_{\lambda_{л1}}^{\lambda_{л2}} G(\lambda) C_2(\lambda) d\lambda \quad (3)$$

$$E_{\phi} = \int_{\lambda_{n1}}^{\lambda_{n2}} G(\lambda) C_2(\lambda) d\lambda, \quad (4)$$

$$E = E_0 + E_{\phi}.$$

Таким образом, полный ток фотоприемника может быть представлен в виде суммы следующих составляющих:

$$i = i_0 + i_{\phi} + i_{\phi 1} + i_{\phi 2},$$

где $i_0 = f(J_0, E_0) \sim A_0 W_0 E_0$ – полезный сигнал объекта;

$i_{\phi} = f(J_{\phi}, E_{\phi}) \sim A_{\phi} W_0 E_0$ – паразитный сигнал люминесцирующего фона;

$i_{\phi 1} = f(W_{\phi}, E_0) \sim W_{\phi} E_0$ – паразитный сигнал фоновой засветки от ИВЛ в области спектра люминесценции;

$i_{\phi 2} = f(W_0, E_{\phi}) \sim W_0 E_{\phi}$ – фоновый сигнал от паразитной чувствительности ФП в области спектра поглощения.

Аналогично выражению для оптического контраста [55]:

$$K = \frac{B_0 - B_{\phi}}{B_0},$$

где B_0 – яркость объекта, B_{ϕ} – яркость фона,

запишем выражение для контрастности люминесцирующего объекта по отношению к фону, используя значения составляющих полного тока фотоприемника:

$$K = \frac{i_0 - i_{\phi} - i_{\phi 1} - i_{\phi 2}}{i_0} \quad \text{или}$$

$$K = 1 - \frac{W_{\phi}}{W_0} - \frac{E_{\phi}}{E_0} - \frac{A_{\phi}}{A_0} \quad (5)$$

Выражение (5) можно рассматривать как целевую функцию, которую необходимо максимизировать в условиях накладываемых ограничений.

Очевидно, что на интервале $[\lambda_{л1}, \lambda_{л2}]$ выполняются неравенства:

$$0 \leq P(\lambda) \leq P_{\lambda} \quad \text{и} \quad 0 \leq G(\lambda) \leq G_{\lambda},$$

где P_{λ} и G_{λ} значение $P(\lambda)$ и $G(\lambda)$ при $\lambda = \lambda_{\lambda}$.

Аналогично на интервале $[\lambda_{п1}, \lambda_{п2}]$ выполняются неравенства:

$$0 \leq P(\lambda) \leq P_n \quad \text{и} \quad 0 \leq G(\lambda) \leq G_n,$$

где P_n и G_n значение $P(\lambda)$ и $G(\lambda)$ при $\lambda = \lambda_{п}$.

Тогда в соответствии с теоремой о среднем значении для выражений (1) – (4) можно записать:

$$W_{\phi} = P_l \cdot C_{1l},$$

(6)

$$\text{где } C_{1l} = \int_{\lambda_{l1}}^{\lambda_{l2}} C_1(\lambda) d\lambda$$

$$W_0 = P_n \cdot C_{1n},$$

(7)

$$\text{где } C_{1n} = \int_{\lambda_{n1}}^{\lambda_{n2}} C_1(\lambda) d\lambda$$

$$E_{\phi} = G_n \cdot C_{2n},$$

(8)

$$\text{где } C_{2n} = \int_{\lambda_{n1}}^{\lambda_{n2}} C_2(\lambda) d\lambda$$

$$E_0 = G_l \cdot C_{2l}, \quad (9)$$

$$\text{где } C_{2l} = \int_{\lambda_{l1}}^{\lambda_{l2}} C_2(\lambda) d\lambda$$

С учетом (6) – (9) выражение (5) приобретает вид, в котором отображены все компоненты системы, необходимые для решения поставленных выше задач:

$$K = 1 - \frac{P_l C_{1l}}{P_n C_{1n}} - \frac{G_n C_{2n}}{G_l C_{2l}} - \frac{A_{\phi}}{A_0}$$

(10)

Выражение (10) может быть использовано в качестве целевой функции, стремящейся к максимуму, в системе ограничений, накладываемых конкретной решаемой задачей.

Анализ выражений (5), (10) показывает, что для идеальной системы, в которой $E = 0$, $W = 0$ отсутствуют ограничения для повышения чувствительности ПЛ и мощности ИВЛ с целью обнаружения слаболюминесцирующих объектов с максимальным значением контраста при $A_{\phi} = 0$.

Наличие в системе люминесцирующего фона с площадью S_0 , превышающей площадь объекта S_ϕ , не только уменьшает контраст получаемого изображения, но и негативно сказывается на эффективности использования динамического диапазона ФП, реагирующего на интегральный световой поток.

Такая ситуация весьма характерна при визуализации продуктов ПЦР, когда люминесцирующая в широком спектре поверхность геля на порядок больше площади люминесцирующих меток. Таким образом, принимая во внимание выражение для интегральной чувствительности системы:

$$\eta = \frac{i}{\Phi},$$

как фототок насыщения i , рассчитанный на один люмен светового потока Φ , выделим в световом потоке две составляющие:

$$\Phi = \Phi_0 + \Phi_\phi,$$

$$\Phi_0 \sim A_0 \cdot S_0,$$

$$\Phi_\phi \sim A_\phi \cdot S_\phi,$$

где Φ_0 – световой поток от люминесцирующего объекта;

Φ_ϕ – световой поток от люминесцирующего фона.

Составляющие фототока определяются как:

$$i = i_0 + i_\phi,$$

где $i_0 = \eta A_0 S_0$ – фототок от объекта,

$i_\phi = \eta A_\phi S_\phi$ – фототок от фона.

Тогда выражение для контраста в идеальной системе приобретает вид:

$$K = 1 - \frac{A_\phi S_\phi}{A_0 S_0}$$

(11)

Выражение (11) позволяет учесть влияние характера сюжета на параметры получаемого изображения.

С учетом всех рассмотренных выше фоновых составляющих и интегрального характера чувствительности системы, выражение (5) может быть скорректировано следующим образом:

$$K = 1 - \frac{W_{\phi}}{W_0} - \frac{E_{\phi}}{E_0} - \frac{A_{\phi}}{A_0} \cdot \frac{S_{\phi}}{S_0}$$

(5.1)

Аналогичным образом может быть скорректировано и выражение (10).

Проведем анализ выражения (11) применительно к изображению геля с продуктами ПЦР, получаемыми при диагностике инфекционных заболеваний.

Для изображений данного класса можно принять условие:

$$\frac{S_{\phi}}{S_0} \approx 10$$

Тогда для обеспечения $K > 0,05$, необходимо иметь $\frac{A_{\phi}}{A_0} \leq 0,095$,

что при 8-разрядном кодировании амплитуды видеосигнала достигается, например, в случае величины фона $A_{\phi} \leq 24$ при величине сигнала объекта $A_0 = 255$, соответствующей максимуму динамического диапазона. При этом предполагается раздельное измерение интенсивности свечения фона и интенсивности свечения объекта в отсутствии фона при одинаковых значениях $P(\lambda)$.

Ограничим предельно обнаруживаемый контраст в реальной системе значением $K > 0,03$. Тогда предельные значения для $\frac{W_{\phi}}{W_0} = \frac{E_{\phi}}{E_0} = 0,01$, что обеспечивается, например, в условиях ограничения паразитных составляющих P_n и G_n до величин, не превышающих 0,1 от уровня соответствующих им полезных составляющих, при наличии аналогичного уровня подавления паразитных составляющих светофильтрами C_1 и C_2 .

5. Улучшение качества люминесцентных изображений

Цифровое шумоподавление. Яркостная коррекция. Масштабирование. Цветовая трансформация. Цветовое контрастирование.

Для изображений люминесцирующих объектов характерны яркостные перепады по отношению к темному фону. Для идеального изображения уровень фона соответствует уровню черного в видеосигнале. В зависимости от интенсивности свечения люминесцирующие объекты могут перекрывать все яркостные градации динамического диапазона. Для слаболюминесцирующих объектов минимальный уровень сигнала соответствует уровню собственных шумов фотоприемника и маскируется им.

Методы внутрикадровой цифровой обработки [56] для таких изображений оказываются неэффективными. Так, например, операции сглаживания, вместе с некоторым подавлением шумов, приводят к «размытию» яркостных перепадов, а медианная фильтрация устраняет только одиночные шумовые выбросы.

Изображения фотолюминесцирующих объектов статичны, поэтому для улучшения их качества можно применять межкадровую обработку. Весьма эффективен в этом случае **метод цифрового шумоподавления** [57], позволяющий уменьшить шумы в изображении за счет усредняемых (накапливаемых) телевизионных кадров. Без цифрового шумоподавления невозможно получение качественного изображения люминесцирующего объекта, поэтому данную операцию следует отнести к разряду обязательных для ТСС функций.

Структурная схема цифрового шумоподавителя приведена на рис. 2.5.1.

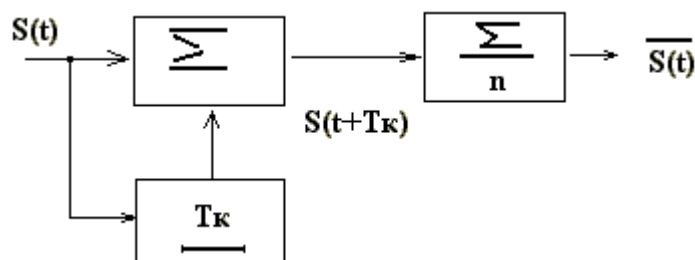


Рис. 2.5.1. Структурная схема цифрового шумоподавителя:

$S(t)$ – входной сигнал; $S(t + T_k)$ – сигнал, задержанный на время кадра T_k ; $\overline{S(t)}$ – усредненный сигнал; n – количество усредняемых кадров

При наличии ЭВМ в составе ТСС цифровой шумоподавитель реализуется программным путем. На рис. 2.5.2 показана эффективность программного усреднения сигнала изображения люминесцирующих объектов.

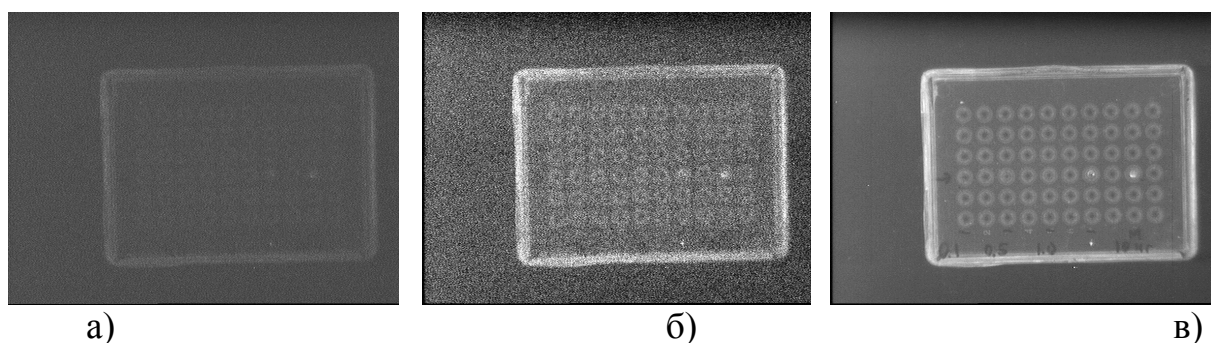


Рис. 2.5.2. Изображение: а – с выхода ТВ-камеры; б – после аналоговой обработки в УКВС; в – после усреднения за 255 кадров

Усредненное изображение может быть дополнительно улучшено за счет контрастирования методом преобразования яркостей, сущность которого заключается в перераспределении значений яркостей исходного изображения в пределах заданного динамического диапазона. Для определения границ диапазона яркостей исходного изображения обычно используется гистограмма их распределения. Для интенсивно люминесцирующих объектов гистограмма имеет два ярко выраженных пика, соответствующих наиболее часто встречающимся значениям фона и сигнала (рис. 2.5.2).

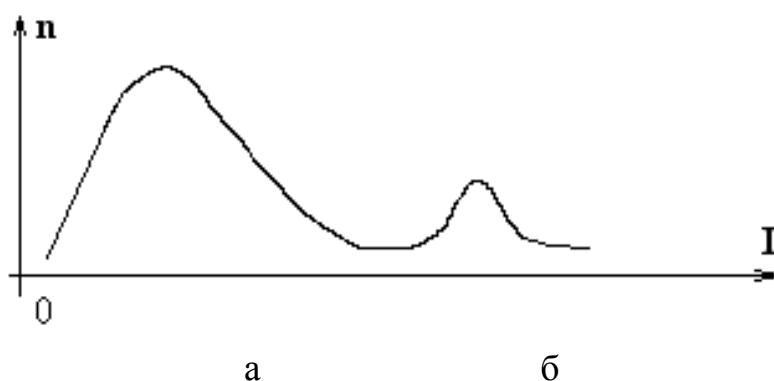


Рис. 2.5.3. Гистограмма распределения яркостей для люминесцирующих ПЦР-продуктов в геле: а – пик фона; б – пик сигнала

В случае слабой люминесценции пик сигнала выражен слабо или не выражен совсем. На рис. 2.5.4 показан результат яркостного преобразования изображений люминесцирующих ПЦР-продуктов в геле.

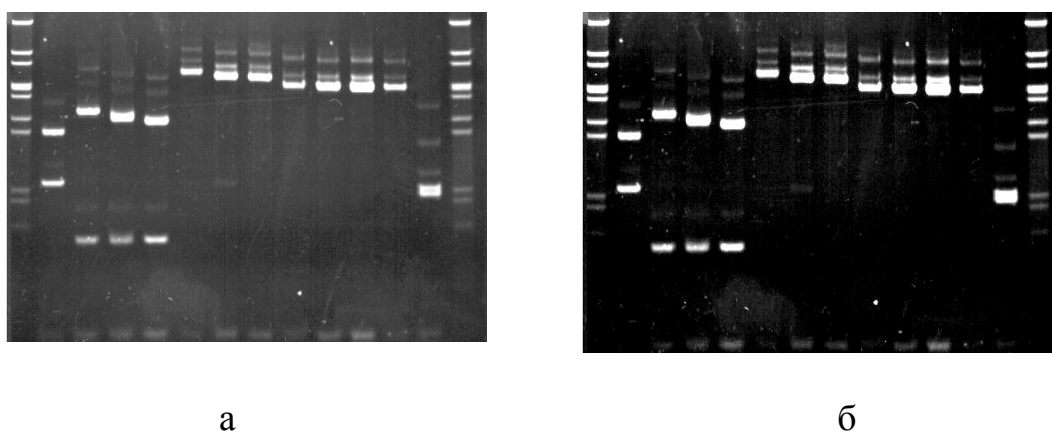


Рис. 2.5.4. Изображения люминесцирующих ПЦР-продуктов в геле до (а) и после коррекции (б)

Яркостная коррекция с целью удаления фона необходима всегда при дальнейшем автоматизированном количественном анализе и весьма полезна для визуального контроля с целью улучшения субъективного восприятия изображения [58].

К операциям над изображениями, полезными при исследовании люминесцирующих объектов, следует отнести **масштабирование** и поворот на заданный угол. Не останавливаясь на них подробно, укажем некоторые особенности, связанные с использованием данных операций. При масштабировании необходимо выбирать некоторый компромисс между

степенью увеличения и допустимой величиной укрупняющейся при этой апертуре (рис. 2.5.5).

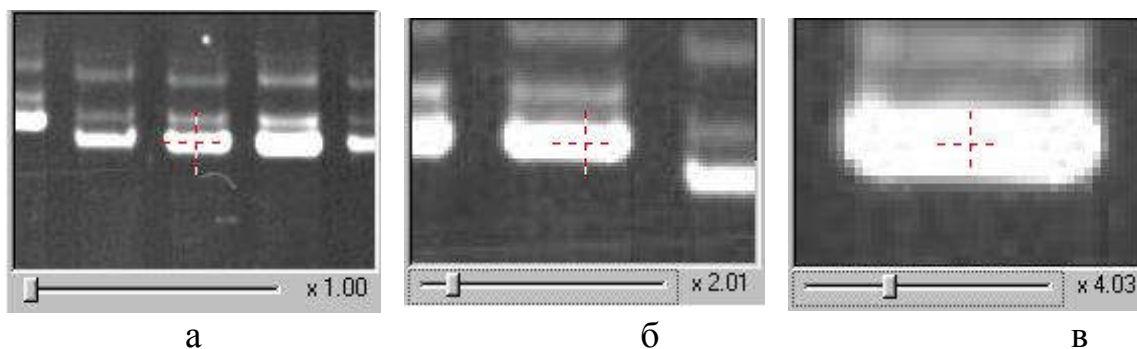


Рис. 2.5.5. Укрупнение апертуры при масштабировании: а – исходное; б – $\times 2$; в – $\times 4$

При повороте изображения возникает необходимость дополнительной операции по «заливке» фоном пустот, появляющихся в углах (рис.2.5.6).

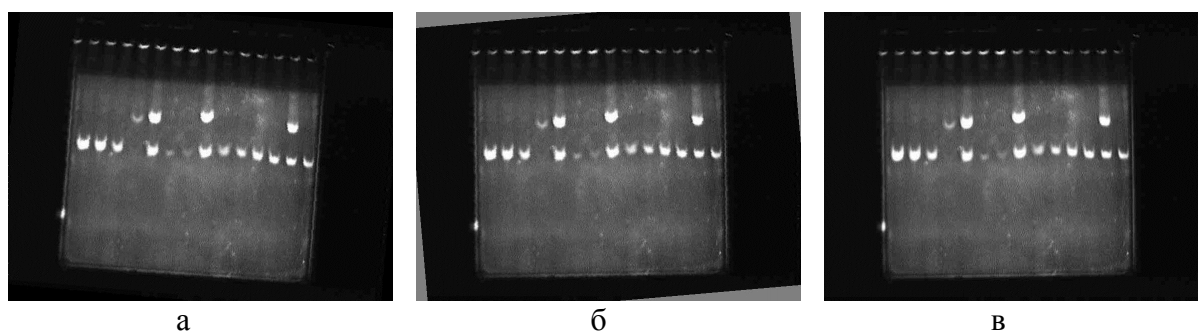


Рис. 2.5.6. Иллюстрация заполнения пустот при повороте изображения для масштабирования: а – исходное; б – результат поворота; в – результат заливки

С точки зрения повышения информативности изображения, получаемого при люминесцентных исследованиях с помощью ТСС, весьма интересен рассмотренный в [59] **метод цветовой трансформации**, при котором получают интегральное цветное изображение из трех изображений, снятых в различных участках спектрального диапазона с присвоением каждому из них одного из трех основных цветов – зеленого, красного и синего.

Метод цветового контрастирования изображения, при котором различные градации яркости окрашиваются в соответствии с некоторой цветовой палитрой, может также оказаться достаточно эффективным, особенно при исследовании структуры люминесцирующих биологических объектов.

6. Количественный анализ изображений люминесцирующих продуктов ПЦР

Оценка количества и размеров ДНК. Построение профилограмм распределения интенсивности свечения ПЦР-продуктов в геле.

Одной из наиболее важных задач при исследовании ПЦР-продуктов в гелях является *получение оценок количества и размеров ДНК*, содержащихся в люминесцирующих фрагментах и полученных в результате электрофоретического разделения проб.

Количество ДНК – M пропорционально интенсивности – I свечения фрагмента и может быть определено следующим образом:

$$M = f\left(\sum_{k=1}^n J_k\right),$$

где n – количество пикселей во фрагменте.

При электрофорезе ПЦР-продукты распределяются в геле в порядке убывания их размера (молекулярной массы). Таким образом, размер ДНК – L , является функцией расстояния – S между координатами фрагмента и его стартовой лунки:

$$L = f(S)$$

Для оценки размеров и количества ДНК в реальных единицах, например, в ng и, соответственно, в *парах оснований* (п. о.), могут быть использованы молекулярные маркеры с известными значениями L и M . Размещая маркер в геле и проводя электрофорез с исследуемыми ПЦР-продуктами, получают маркерную линейку, которую можно использовать для калибровки измерительной системы.

Зависимости $M = f(I)$ и $L = f(S)$ имеют, как правило, нелинейный характер. На практике целесообразно использовать метод кусочно-линейной аппроксимации, позволяющий минимизировать таблицу функций и соответствующих им аргументов до количества фрагментов, имеющихся в применяемом молекулярном маркере. При этом каждому интервалу между соседними фрагментами как для значений L , так и для значений M могут быть поставлены в соответствие свои расчетные значения коэффициентов a и b для элементарной функции $y = ax + b$ [60, 61].

Удобной формой для сравнения распределения проб, содержащихся в соседних дорожках геля, являются **профилограммы распределения интенсивности свечения ПЦР-продуктов** вдоль заданной линии. Предлагается два режима задания линий для построения профилограмм: интерактивный и автоматический. В интерактивном режиме выбор положения производится путем ручного (манипулятором типа «мышь») перемещения маркерной линии по экрану дисплея и фиксации ее положения при визуальном совмещении с исследуемой дорожкой геля [62]. В автоматическом режиме положение маркерных линий устанавливается в соответствии с распределением дорожек автоматически, путем анализа изображения геля. Вдоль заданной линии в каждом пикселе изображения производится измерение интенсивности свечения и построение графика ее распределения – профилограммы. С целью сглаживания профилограммы применяется усреднение значений для пикселов в линиях, находящихся в заданной окрестности профилограммы, а также усреднение значений для соседних пикселов маркерной линии. Иными словами, осуществляется дополнительная цифровая обработка в скользящем окне с заданными размерами.

На рис. 2.6.1 приведен пример изображения геля с построенными для выделенных дорожек профилограммами.

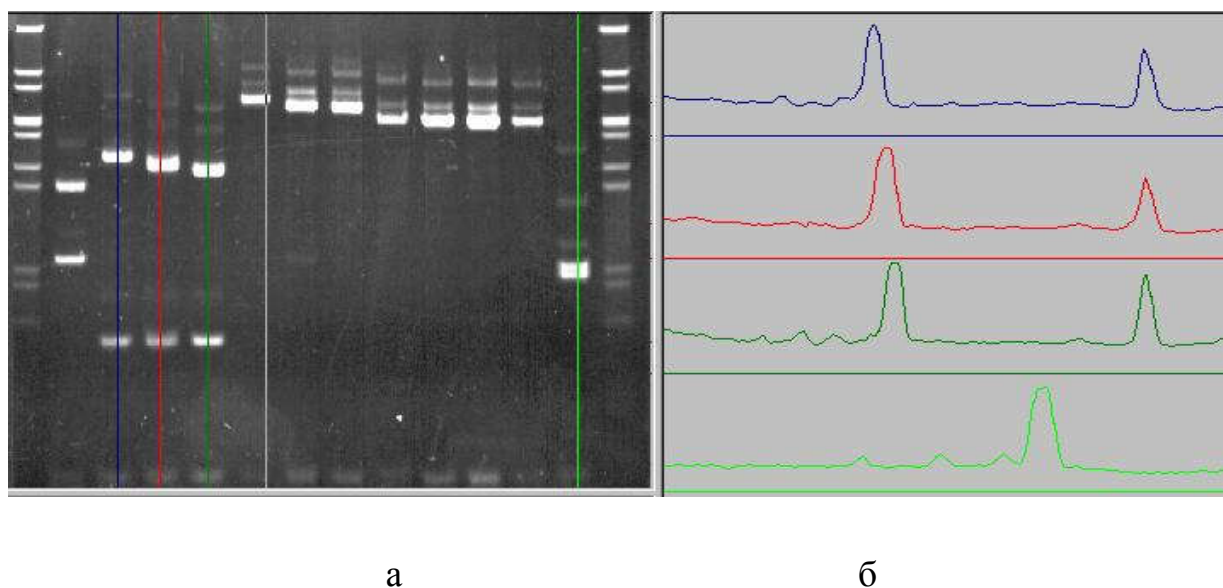


Рис. 2.6.1. Изображение геля (а) и профилограммы распределения интенсивности свечения ПЦР-продуктов вдоль выделенных линий (б)

Алгоритм автоматического определения положения дорожек для построения маркерных линий основан на последовательном просмотре столбцов или строк (в зависимости от расположения дорожек) матрицы изображения и сравнения величины видеосигнала в каждом из пикселей столбца (строки) с заданным порогом. При обнаружении превышения порога фиксируются координаты дорожки и определяется линия, проходящая через ее центр.

Координаты максимумов профилограммы позволяют определить размер фрагментов ДНК, а значения максимумов могут быть использованы в качестве грубой оценки количества ДНК, содержащейся во фрагменте. Для более точной оценки количества ДНК необходимо производить выделение фрагмента и суммирование значений интенсивностей его пикселей. Как и для построения профилограмм предлагается два режима работы: интерактивный и автоматический.

В интерактивном режиме производится формирование прямоугольной рамки с регулируемыми размерами, перемещаемой по экрану монитора с помощью манипулятора. Границы рамки устанавливаются с небольшим превышением внешних границ люминесцирующих фрагментов, размер которых в геле приблизительно одинаков.

При совмещении центра рамки с центром изображения исследуемого фрагмента производится подсчет суммарной интенсивности свечения пикселей, попавших в рамку. Фиксация центра рамки, совпадающего с центром фрагмента, обеспечивает одновременно получение значения координаты фрагмента, пропорциональной его размеру.

При автоматическом режиме производится анализ изображения и определяются координаты центров тяжести фрагментов [63], в которые последовательно выводится центр рамки заданных размеров и производится суммирование пикселей изображения, попавших в ограничиваемое ею окно.

Результаты измерений запоминаются в виде таблицы, в которой указывается порядковый номер фрагмента и его количественные характеристики (рис. 2.6.2).

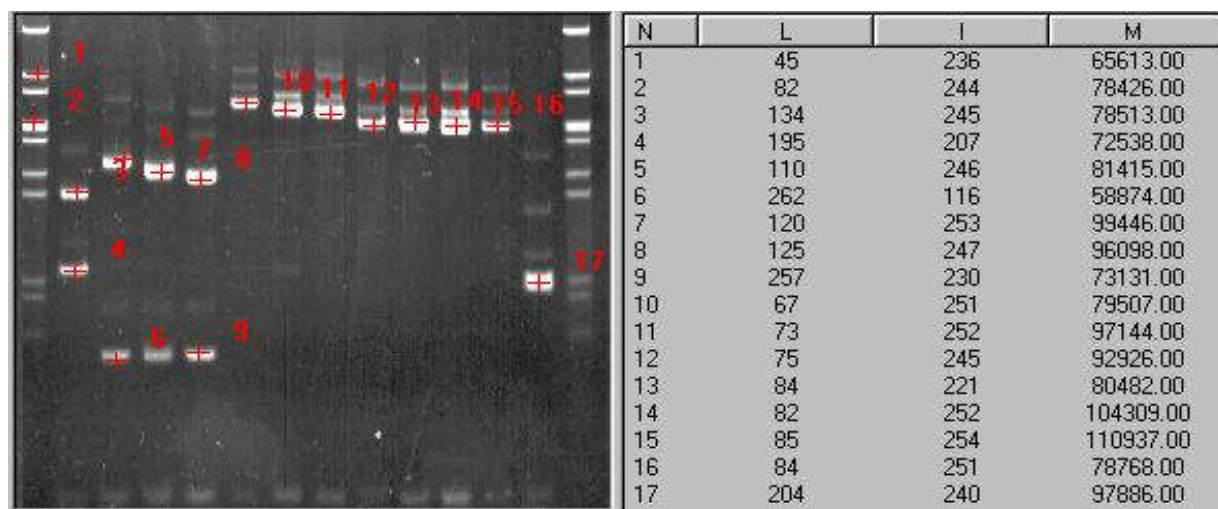


Рис. 2.6.2. Результаты измерения количества ДНК

7. Вопросы автоматизации диагностики инфекционных заболеваний по изображениям люминесцирующих ПЦР-продуктов в гелях

Основные стадии производственного процесса в автоматизированной ПЦР-лаборатории. Виртуальная модель геля. Автоматизированная диагностика по изображениям гелей.

В диагностических ПЦР-лабораториях при большом потоке пациентов, медицинскому персоналу требуются значительные трудозатраты для заполнения текущего журнала входными данными. Опыт работы ведущих диагностических центров г. Москвы показывает, что ежедневно необходимо вручную обрабатывать сведения о 300–500 пациентах, каждый из которых диагностируется на 3–10 инфекций, и, в зависимости от количества и разнородности диагностируемых инфекций, распределять клинические материалы в гелях. Диагностика производится, в основном, непосредственно визуально.

Сокращение трудозатрат, путем автоматизации процессов регистрации пациентов и результатов исследований, учёта дорогостоящих клинических материалов и их распределения в гелях, является весьма актуальной задачей, которая может быть успешно решена при использовании телевизионно-вычислительных методов обработки изображений в сочетании с методами организации баз данных [64].

Рассмотрим *основные стадии производственного процесса в автоматизированной ПЦР-лаборатории*

1. Ввод в ЭВМ данных о пациентах.
2. Создание оптимальной виртуальной модели распределения клинических материалов в гелях для пациентов на текущий день работы лаборатории.
3. Проведение ПЦР и электрофореза в соответствии с виртуальной моделью.
4. Регистрация изображений гелей с люминесцирующими ПЦР-продуктами.
5. Автоматизированная диагностика по телевизионным изображениям гелей.
6. Выдача результатов и их сохранение в базе данных.
7. Сортировка и поиск при анализе работы ПЦР-лаборатории.

Опишем подробнее каждый из перечисленных выше этапов.

На первом этапе в ЭВМ вводятся основные и дополнительные данные о пациентах на текущий день работы лаборатории. К основным данным относятся порядковый номер пациента, его Ф.И.О., перечень диагностируемых инфекций, дата, идентификационный номер пробирки. К дополнительным относятся Ф.И.О. врача, наименование организации и т. п.

Введенная информация в табличной форме заносится в базу данных. В массиве исходной таблицы строки содержат информацию, идентифицирующую пациента (порядковый номер пациента, Ф.И.О., идентификационный номер пробирки, наименование организации), а столбцы – информацию о диагностируемых инфекциях.

Ф.И.О	N п...	N п/п	Хлам	М.г...	М.г...	Ур...	Гер...	ЦМВ	Гон...	Гар...	Три...	Стр...	Кан...
кб													
иванов	21	1	?	?	?		?	?	?	?	?	?	?
петров	43	2	?		?		?	?		?		?	?
сидоров	23	3	?			?			?				
козлов	45	4	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	
нии													
орлов	78	5	?				?		?			?	?
николаев	65	6	?			?		?	?	?		?	
васильев	35	7	?		?		?	?	?			?	

Описание пробы

Пациент:

Возраст: Врач:

Организация:

Проба

N пробы: Дата:

Лаборант:

Инфекция Диагноз

Хламидиоза (Ch. trachomatis)	?
Микоплазмоза (M. hominis)	?
Микоплазмоза (M. genitalium)	?
Уреаплазмоза (U. urealyticum)	?
Герпеса (HSV1,2)	?
Цитомегалии (CMV hominis)	?
Гонореи (N. gonorrhoeae)	?
Гарднереллеза (G. vaginalis)	?
Трихомониаза (T. vaginalis)	?
Стрептококка (Str. pyogenes)	?
Кандидоза (Candida albicans)	?
Вирус папилломы человека в.р.	

Применить Выход

N п/п:

Рис. 2.7.1. Пример диалога для ввода пробы

На втором этапе, исходя из имеющейся системы ограничений: количества лунок в геле, номенклатуры тест-систем, номенклатуры диагностируемых инфекций для каждого отдельного пациента и т. п., производится распределение клинических материалов и создание *виртуальных моделей гелей*.

Алгоритм распределения может быть основан на последовательных просмотрах исходного массива таблицы с выбором из него данных по определенным условиям, например, пробы распределяются в порядке убывания их количества для различных типов инфекций. Алгоритм распределения может быть более сложным при необходимости одновременного распределения в геле лунок с *мультиплексными тест-системами*, с помощью которых в одну лунку закладывается набор для одновременного тестирования нескольких инфекций [65].

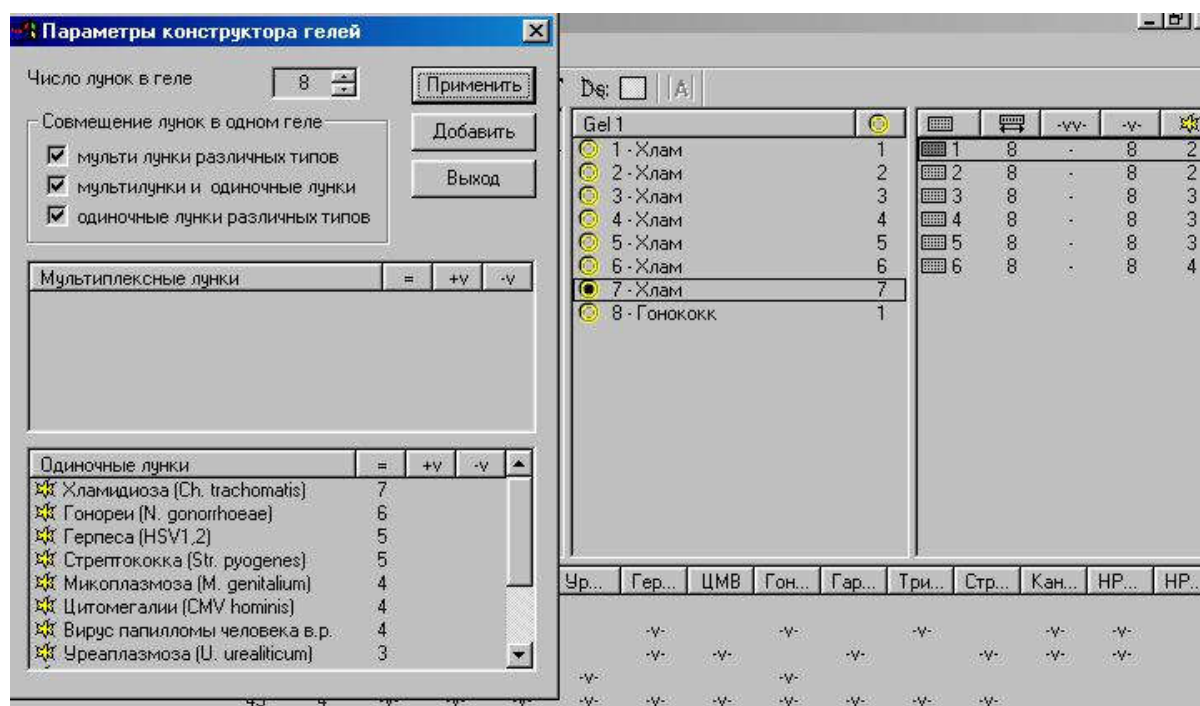


Рис. 2.7.2. Пример конструктора гелей и виртуальной модели

На третьем этапе, в соответствии с виртуальной моделью, распределяются клинические материалы в реальных гелях и проводится электрофорез. Соответствие реальных гелей виртуальным моделям является неременным условием для последующей автоматизированной диагностики по их изображениям, поскольку последняя предполагает

установление взаимно-однозначного соответствия между изображениями люминесцирующих фрагментов и идентификационными данными пациентов.

На четвертом этапе с помощью ТСС производится регистрация изображений гелей, содержащих люминесцирующие ПЦР-продукты. Изображения запоминаются в отдельных файлах или специальной базе данных изображений с именами, соответствующими их виртуальной модели.

На пятом этапе необходимо установить взаимно-однозначное соответствие между изображениями гелей и идентификационными данными пациентов, содержащимися в базе данных. Взаимосвязи устанавливаются в процессе диагностики. Последовательность действий врача при *автоматизированной диагностике* инфекций сводится к следующим операциям:

- 1) указываетсягель из набора виртуальных моделей;
- 2) открывается файл изображения, соответствующий выбранной виртуальной модели;
- 3) нумеруются дорожки геля по методу построения профилограмм, описанному в предыдущем разделе;
- 4) производится указание дорожек геля, содержащих положительные пробы;
- 5) неуказанные дорожки идентифицируются, как содержащие отрицательные пробы.

Рассмотренных операций оказывается достаточно, чтобы установить взаимно-однозначное соответствие между разметкой изображения геля, его виртуальной моделью и идентификационными данными пациентов.

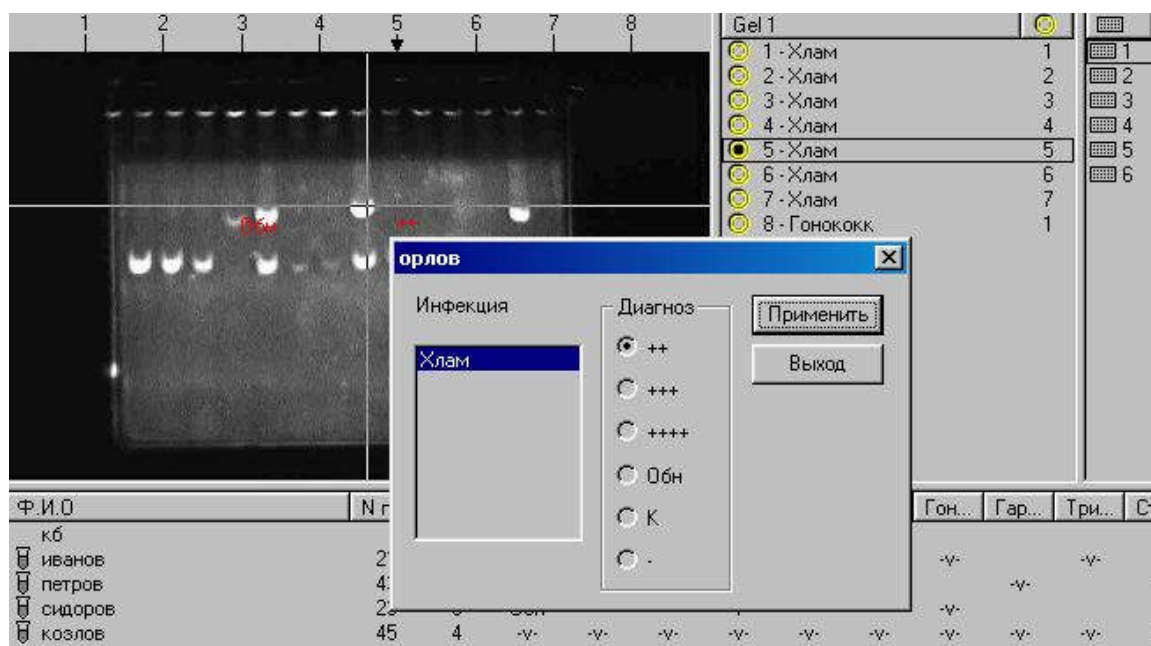


Рис. 2.7.3. Пример окна для автоматизированной диагностики по изображениям гелей

На шестом этапе производится выдача результатов для каждого пациента в отдельности по выбранной форме, в соответствующие графы которой заносятся данные пациента и данные диагностики (положительный или отрицательный диагноз).

Городской центр ДНК-Исследовательский		Организация _____
ул. Кривожиновского, д.8, корп.1		Ф.И.О. пациента _____
тел.:125-36-96		Лечащий врач _____
Принят анализ:		МЕТОД ДНК-ДИАГНОСТИКИ:
Раб. дни - с 8 до 19 час.		1. _Хламидиоза (Ch. trachomatis) ОБНАРУЖЕНО++
1-й подъезд		2. _Микоплазмоза (M. hominis)
регистратура		3. _Микоплазмоза (M. genitalium)
тел.: 125-03-33		4. _Уреаплазмоза (U. urealyticum)
		5. _Герпеса (HSV1,2) НЕ ОБНАРУЖЕНО
		6. _Цитомегалит (CMV hominis)
		7. _Гонорея (N. gonorrhoeae) НЕ ОБНАРУЖЕНО
		8. _Гарднереллеза (G. vaginalis)
		9. _Трихомониаза (T. vaginalis)
		10. _Стрептококка (Str. pyogenes) НЕ ОБНАРУЖЕНО
		11. _Кандидоза (Candida albicans) НЕ ОБНАРУЖЕНО
		12. _Вirus папиломы человека в.р. НЕ ОБНАРУЖЕНО
		13. _Вirus папиломы человека н.р.
		Дата 9.02.2003г. 05:27:14. Врач-лаборант _____

Рис. 2.7.4. Пример оформления результатов исследований в виде карточки пациента

Результаты диагностики сохраняются в базе данных, которая может быть использована, при необходимости, для сортировки и поиска по

определенным критериям отбора при анализе деятельности ПЦР-лаборатории за отчетный период.

Алгоритм обработки изображений ПЦР-продуктов в геле при диагностике бактериального вагиноза

При диагностике бактериального вагиноза применяется специальный мультипраймерный диагностический набор, в основу которого положено полуколичественное определение содержания в мазках лактобацилл и гарднереллы. Положительные контроли в данном наборе соответствуют нижней границе нормы для лактобацилл и верхней границе нормы для гарднереллы. Концентрации контрольных ДНК определяются в сравнении со стандартами количества ДНК на электрофореze.

Интенсивность ответов в клинических образцах сравнивается с интенсивностью свечения соответствующей контрольной полосы. Для лактобацилл интенсивность свечения больше контрольной означает нормальное содержание лактофлоры, а меньше контрольной – ее недостаток. Для гарднереллы, наоборот, интенсивность свечения больше контрольной характеризует патологическое состояние, а меньше контрольной – нормальное содержание гарднереллы.

На рис.2.7.5. приведен пример изображения геля с клиническими образцами для определения бактериального вагиноза



Рис. 2.7.5. Вид геля при определении бактериального вагиноза:

«+» – положительный контроль, верхняя полоса соответствует фрагменту *Gardnerella vag.* (размер 820 п. о.) в верхней границе нормы, нижняя полоса соответствует фрагменту *Lactobacillus spp.* (размер 558 п. о.) в нижней границе нормы; «–» – отрицательный контроль; «1–19» – клинические образцы

Сравнение клинических образцов с положительными контролями показывает следующие результаты.

В пробах 1–7, 10, 12, 18 – интенсивность свечения фрагмента *Lactobacillus spp.* равна или выше интенсивности свечения нижней полосы положительного контроля, а свечение фрагмента *Gardnerella vag.* либо отсутствует, либо ниже интенсивности свечения верхней полосы контроля. Это означает, что состояние микрофлоры у данных пациенток находится в пределах нормы.

В образцах 8, 11, 13, 17 видна картина выраженного бактериального вагиноза: количество гарднереллы превышает норму, а количество лактобацилл ниже нормы. В образцах 15 и 16 состояние микрофлоры может быть охарактеризовано как пограничное: количество лактобацилл несколько ниже, а количество гарднереллы несколько выше нормы.

В пробах 9, 14, 19 при нормальном количестве лактобацилл количество гарднереллы значительно превышает норму. Необходимо наблюдение данных пациенток в динамике.

Предлагается два режима обработки изображения ПЦР-продуктов в геле для полуколичественного определения содержания лактобацилл и гарднереллы при диагностике бактериального вагиноза: интерактивный и автоматический.

При интерактивном режиме формируются две измерительных рамки, одна из которых устанавливается оператором на фрагмент с положительным контролем для измерения его интегральной интенсивности – **Мк**, а вторая совмещается с фрагментом, соответствующем исследуемому клиническому образцу, для измерения его интегральной интенсивности – **Мо**. Случай, при котором отношение **Мо** к **Мк** больше или равно 1, квалифицируется как «меньше нормы», а случай, при котором данное отношение меньше 1 – как «больше нормы».

Последовательность действий оператора при постановке диагноза в интерактивном режиме сводится к следующим действиям: вывод измерительной рамки в центр фрагмента, фиксация центра фрагмента и подтверждение предлагаемого диагноза «больше нормы» или «меньше нормы». Заключение по результатам полуколичественного определения может быть сделано в соответствии со следующей таблицей:

№	Ф.И.О.	Лактобациллы	Гарднереллы	Заключение
1	Пациент1	Больше нормы	Меньше нормы	Норма
2	Пациент2	Меньше нормы	Больше нормы	Бакт. вагиноз
3	Пациент3	Больше нормы	Больше нормы	Доп. контроль
4	Пациент4	Меньше нормы	Меньше нормы	Доп. контроль

Автоматический режим анализа может быть осуществлен следующей последовательностью операций:

1. Выделение профилограмм в изображении геля;
2. Определение максимумов профилограмм, соответствующих центрам фрагментов;
3. Формирование измерительных рамок вокруг центров фрагментов;
4. Идентификация максимумов профилограмм, относящихся к гарднереллам;
5. Идентификация максимумов профилограмм, относящихся к лактобациллам;
6. Идентификация фрагментов положительного контроля (максимумы первой профилограммы);
7. Вычисление отношений M_o к M_k для соответствующих фрагментов;
8. Выбор диагноза и занесение в журнал.

ГЛАВА 3

ТЕЛЕВИЗИОННАЯ АППАРАТУРА ДЛЯ ВИЗУАЛИЗАЦИИ ФОТОЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ

1. Телевизионные спектральные системы для криминалистических экспертиз

Назначение и функциональные возможности ТСС. Примеры изображений, полученных с помощью ТСС. Основные технические характеристики, структурные схемы и конструктивные особенности ТСС-3М, ТСС «Эксперт», ТСС «Радуга», телевизионная лупа ВМ-2.

Назначение и функциональные возможности ТСС

Телевизионные спектральные системы (ТСС), предназначенные для криминалистических экспертиз, обеспечивают:

- обнаружение различного рода подделок документов: установление в первоначальном тексте следов травления, механической подчистки, дописок, исправлений, а также установление последовательности выполнения текста;
- установление способа нанесения оттисков печатей и штампов: плоской, высокой, глубокой печатной формой, определение различий между эталонным оттиском печати и оттиском печати на документе;
- установление способа изготовления бланка;
- выявление наличия специальных меток, штампов, микрошрифтов и других элементов защиты на документах и ценных бумагах;
- выявление малоконтрастных, слаболюминесцирующих следов на документах;
- выявление залитых, зачеркнутых или выцветших (угасших) текстов, записей, образованных вдавленными штрихами или выполненными на копировальной бумаге и т.п.;
- выявление структуры материала документа;
- выявление структуры ткани;
- выявление загрязнений на тканях (сажи и остатков минеральных масел) при огнестрельных повреждениях и транспортных происшествиях;

– выявление замытых следов крови, а также следов крови, расположенных на пестрых, темных и загрязненных предметах.

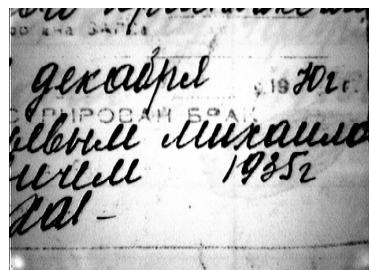
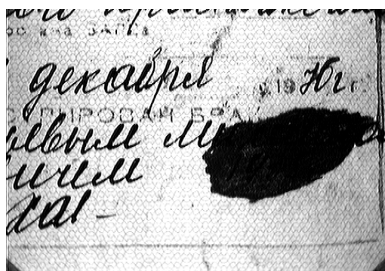
ТСС позволяют проводить исследования в следующих режимах:

- 1) в отраженных УФ-лучах, видимых лучах и ИК-лучах;
- 2) в проходящих видимых или ИК-лучах;
- 3) люминесцентный анализ в видимой области спектра под воздействием УФ-лучей;
- 4) люминесцентный анализ в ИК-области спектра под воздействием видимых лучей;
- 5) в косопадающем свете.

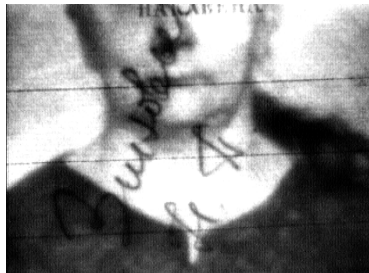
Цветные телевизионные спектральные системы (ТСС-3Ц, «Эксперт-Ц», «Радуга-2-2») дополнительно к возможностям черно-белых (ТСС-3М, «Эксперт», «Радуга-2») обеспечивают наблюдение цветных изображений объектов, исследуемых в видимой области спектра при прямом и косопадающем освещении, а также при люминесценции под воздействием ультрафиолетовых лучей. Это позволяет проводить сопоставительный анализ исследуемых объектов по цветовым различиям с эталонными образцами и значительно повысить эффективность выявления подделок документов и ценных бумаг, имеющих цветовые элементы защиты, например, орловскую и ирисовую печать, фоновую сетку, цветные люминесцентные волокна или изображения и т. п.

ТСС могут быть с успехом использованы не только в криминалистике, но и при проведении художественно-реставрационных работ и исследований. Так, например, с помощью комплекса аппаратуры на базе ТСС «Радуга» были проведены исследования берестяных грамот, найденных Новгородской археологической экспедицией [66,67].

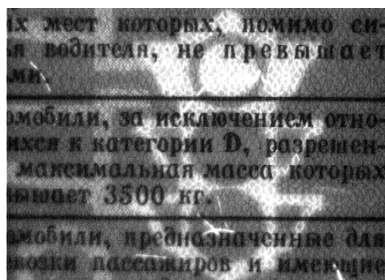
На рис. 3.1.1 приведены некоторые изображения фрагментов документов, полученных с помощью телевизионных спектральных систем.



Фрагмент паспорта в отраженном видимом (слева) и в инфракрасном (справа) свете



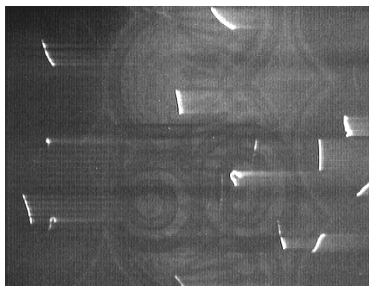
Фрагмент паспорта в косопадющем (слева) и в проходящем инфракрасном (справа) свете



Водительское удостоверение (ультрафиолетовая люминесценция)



Акцизная марка в отраженном видимом свете (слева) и ультрафиолетовая люминесценция номера марки и защитной полоски (справа)



Банковский билет в отражённом видимом свете (слева) и инфракрасная люминесценция защитных волокон (справа)

Рис. 3.1.1. Примеры изображений фрагментов документов, полученных с помощью ТСС

Телевизионная спектральная система ТСС-3М

Данная система предназначена для экспресс-анализа документов непосредственно на контрольных постах ГАИ, таможен, различных служб безопасности и т. п.



Рис. 3.1.2. Внешний вид телевизионной спектральной системы ТСС-3М

Особенности системы:

- оперативность, простота и удобство проведения экспресс-анализа документов;
- коррекция видеосигнала для эффективного выявления люминесценции;
- возможность измерения линейных и угловых размеров печатей и штампов при помощи съемных стекол с мерными сетками.

Состав системы:

- 1) анализатор;
- 2) черно-белый (цветной) монитор с диагональю экрана 9 или 12"

Режим работы		Источник света	Диапазон длин волн источника света	Полоса пропускания встроенных светофильтров
Падающий свет	ультрафиолетовый	2 УФ лампы по 4 Вт	$\lambda = 365$ нм	300–400 нм
	видимый	2 галогенные лампы по 20 Вт		400–600 нм
	инфракрасный	4 ИК светодиода по 15 мВт	$\lambda = 870$ нм	
Косопадающий свет	видимый	4 лампы накаливания по 0,5 Вт	$\lambda = 400–1000$ нм	400–600 нм
Проходящий свет	инфракрасный	4 ИК светодиода по 15 мВт	$\lambda = 870$ нм	

Технические характеристики:

Спектральная чувствительность: 365–1000 нм

Разрешающая способность: 375 тел. лин.

Размер контролируемого поля: 32 × 42 мм

Размер контролируемого документа: 297 × 210 мм

Напряжение питания: 220 В

Габаритные размеры: анализатора – 231 × 248 × 260 мм

монитора – 233 × 225 × 213 мм

Масса: анализатора – 7 кг

монитора – 5 кг

Функциональная схема и особенности конструкции анализатора ТСС-3М

Функциональная схема анализатора ТСС-3М приведена на рис. 3.1.3.

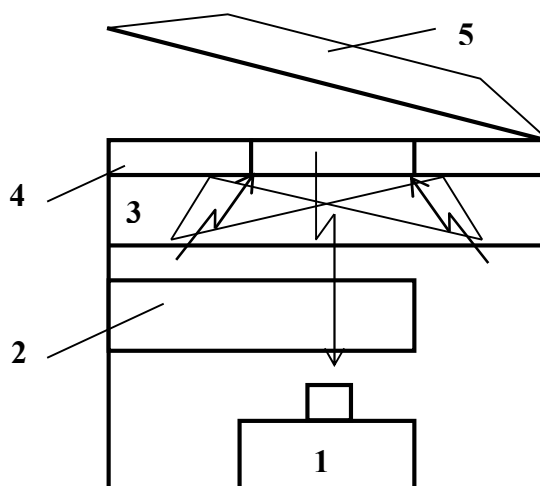


Рис. 3.1.3. Функциональная схема анализатора ТСС-3М:

1 – фотоприемник; 2 – блок выбора режимов работы с узлом ввода светофильтров C_2 ; 3 – комбинированный ИВЛ со светофильтрами C_1 ; 4 – предметная плоскость с прозрачным окном; 5 – откидной прижим со встроенным источником проходящего света

Особенностью ТСС-3М [68,69] является конструктивное исполнение, обеспечивающее максимальную простоту, высокую оперативность и удобство экспресс-анализа документов. Исследуемый документ устанавливается на предметную плоскость (4) с прозрачным окном и прижимается откидным прижимом со встроенным источником (5) проходящего света, который одновременно защищает исследуемый документ от посторонних засветок. В ТСС-3М обеспечивается фиксированная наводка на резкость в предметной плоскости. Исследуемый документ освещается через прозрачное окно ультрафиолетовым, видимым или инфракрасным светом, включаемым в комбинированном ИВЛ (3) в зависимости от выбранного режима работы блоком (2). Блок (2) обеспечивает, одновременно с включением источника света со спектром поглощения C_1 , ввод перед фотоприемником (1) светофильтра C_2 , выделяющего спектр люминесценции. В комбинированном ИВЛ ТСС-3М имеется УФ-источник света со светофильтром УФС-5 и источник сине-зеленого света со светофильтром СЗС-21. Набор светофильтров C_2 в ТСС состоит из двух светофильтров: типа ЖС11 – для выделения люминесценции в видимой области спектра под воздействием ультрафиолетового света и КС-19 – для выделения инфракрасной люминесценции под воздействием сине-зеленого света.

Телевизионная спектральная система «Эксперт»

Данная система предназначена для проведения исследований документов в криминалистических лабораториях.



Рис. 3.1.4. Телевизионная спектральная система «Эксперт»

Особенности системы:

- наличие светозащитного бокса, обеспечивающего возможность работы с объемными и протяженными объектами;
- пофрагментное исследование крупногабаритных предметов путем установки анализатора непосредственно на исследуемый объект;
- увеличенные размеры поля зрения (60×90 мм) и дискретное 4-кратное изменение масштаба изображения с помощью оперативной смены объективов;
- коррекция видеосигнала для эффективного выявления люминесцирующих следов на документах в видимой и ИК-областях спектра;
- наличие выполненных в виде 2 линеек 20 светофильтров, выделяющих отдельные участки спектра в диапазоне 400–1000 нм для проведения спектральнональных исследований объектов.

Состав системы:

- 1) анализатор;
- 2) блок питания;
- 3) источник света со светозащитным боксом;

4) черно-белый (цветной) монитор 9", (12").

Режим работы		Источник света	Диапазон длин волн источника света	Полоса пропускания встроенных светофильтров
Падающий свет	ультрафиолетовый	2 УФ лампы по 4 Вт	$\lambda = 365$ нм	300–400 нм
	видимый	2 галогенные лампы по 20 Вт	$\lambda = 400–1000$ нм	400–600 нм
	широкий спектр (видимый и инфракрасный диапазон)	8 ламп накаливания по 0,5 Вт	$\lambda = 400–1000$ нм	
	инфракрасный	4 ИК светодиода по 15 мВт	$\lambda = 870$ нм	
Косопадающий свет	широкий спектр (видимый и ИК диапазон)	2 галогенные лампы по 20 Вт	$\lambda = 400–1000$ нм	
Проходящий свет	широкий спектр (видимый и ИК диапазон)	2 галогенные лампы по 20 Вт	$\lambda = 400–1000$ нм	

Технические характеристики:

Спектральный диапазон: 365–1000 нм

Разрешающая способность: 375 тел. лин.

Размер исследуемого поля зрения: 60x90 мм

15 x 22 мм

Напряжение питания: 220 В

Габаритные размеры: анализатора – 306 × 234 × 256 мм

блока питания – 50 × 135 × 74 мм

источника света – 325 × 240 × 88 мм

монитора – 223 × 225 × 13 мм

Масса: анализатора –	5,0 кг
блока питания –	1,5 кг
источника света –	2,6 кг
монитора –	5,0 кг

Функциональная схема и конструктивные особенности анализатора ТСС «Эксперт»

Функциональная схема анализатора ТСС “Эксперт” приведена на рис. 3.1.5.

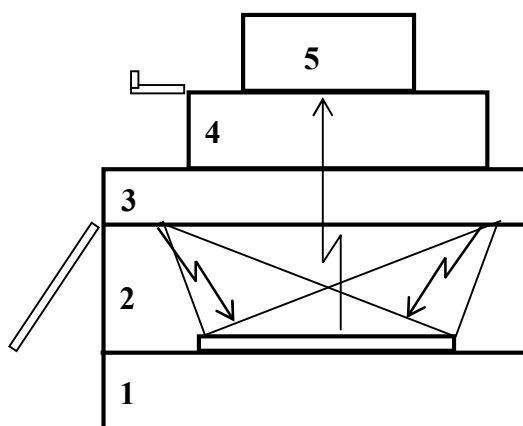


Рис. 3.1.5. Функциональная схема ТСС «Эксперт»:

1 – источник проходящего света; 2 – светозащитный бокс с откидными дверцами; 3 – комбинированный ИВЛ со светофильтрами С1; 4 – оптическая приставка с узлом ввода линейки светофильтров С2; 5 – фотоприемник

Особенностью конструкции ТСС «Эксперт» является наличие малогабаритного светозащитного бокса (2) с откидными дверцами, внутри которого на предметной плоскости источника проходящего света (1) располагается исследуемый объект. Комбинированный ИВЛ (3) аналогичен ИВЛ ТСС-3М. Оптическая приставка (4) обеспечивает возможность дискретного 4-кратного масштабирования за счет смены объективов, а также подфокусировку изображения исследуемого объекта, потребность в которой может возникнуть при его размещении в светозащитном боксе. Узел ввода светофильтров позволяет размещать в заднем рабочем отрезке объектива линейку со светофильтрами из стандартного набора цветных стекол. В качестве фотоприемника используются бескорпусные черно-

белые или цветные телевизионные камеры с повышенной чувствительностью фирмы «ЭВС».

ТСС «Эксперт» за счет увеличенного набора светофильтров позволяет проводить более детальные спектрональные исследования по сравнению с ТСС-3М.

Телевизионная спектральная система «Радуга-2»

Данная система предназначена для проведения углубленных криминалистических исследований документов и других вещественных доказательств в экспертно-криминалистических лабораториях и центрах. Внешний вид системы показан на рис. 3.1.6.



Рис. 3.1.6. Телевизионная спектральная система «Радуга-2»

Возможности системы:

1. Ввод изображения в ЭВМ и дополнительная его обработка.
2. Импульсные источники освещения большой мощности.
3. Плавное изменение масштаба изображения (6, 10, 16-кратный вариообъектив).
4. Значительно увеличенные размеры поля зрения.

Особенности системы:

- высокая интенсивность освещения УФ-диапазона обеспечивает эффективное выявление люминесцирующих объектов (фрагментов) в режиме УФЛ;
- наличие импульсных источников освещения большой мощности видимого и УФ-диапазонов обеспечивают выявление слаболюминесцирующих объектов (фрагментов) в режиме ИКЛ и УФЛ;
- возможность изменения спектра импульсного источника видимого освещения с помощью замены дополнительных светофильтров из комплекта принадлежностей;
- возможность накопления (интегрирования) изображений при работе с ЭВМ с целью выявления слабоконтрастных фрагментов или элементов исследуемого объекта;
- большие размеры и оригинальная конструкция светозащитного бокса позволяют исследовать объемные объекты и документы, подшитые папки;
- большие размеры поля зрения (120×160 мм) и плавное 6, 10 и 16-кратным изменением масштаба изображения посредством вариообъектива;
- наличие 20 светофильтров, выполненных в виде линеек, выделяющих отдельные участки спектра в диапазоне 400–1000 нм для проведения спектрозональных исследований объектов;
- ввод изображения в ЭВМ, дополнительная его обработка (в т. ч. с помощью стандартных графических редакторов), создание архива изображений;
- дополнительный источник света на ярких светоизлучающих диодах, обеспечивающий освещение исследуемой поверхности диаметром 20 мм.

Состав системы:

- 1) анализатор;
- 2) плата ввода изображения в ЭВМ типа PCI Capture Card;
- 3) программное обеспечение.

Режим работы		Источник света	Диапазон длин волн источника света	Полоса пропускания встроенных светофильтров
Падающий свет	ультрафиолетовый	2 УФ лампы по 15 Вт 2 УФ лампы по 15 Вт	$\lambda = 365$ нм $\lambda = 254$ нм	240–400 нм
	видимый	2 галогенные лампы по 20 Вт	$\lambda = 400$ – 1000 нм	400–600 нм
	широкий спектр (видимый и ИК диапазон)	2 галогенные лампы по 20 Вт	$\lambda = 400$ – 1000 нм	
	импульсный УФ диапазон	импульсная лампа 120 Дж		300–400 нм
	импульсный видимый диапазон	импульсная лампа 120 Дж		400–750 нм; 400–520 нм; 400–600 нм; 400–650 нм; 480–750 нм; 530–750 нм; 580–750 нм; 480–600 нм; 480–650 нм; 530–650 нм
Косопадающий свет	широкий спектр (видимый и ИК диапазон)	2 галогенные лампы по 20 Вт	$\lambda = 400$ – 1000 нм	
Проходящий свет	широкий спектр (видимый и ИК диапазон)	2 галогенные лампы по 20 Вт	$\lambda = 400$ – 1000 нм	
Дополнительный источник света	Области спектра: голубая зеленая желтая оранжевая красная	6 типов светоизлучающих диодов: голубые зеленые желтые оранжевые красные (2 вида)	$\lambda = 470$ нм $\lambda = 567$ нм $\lambda = 590$ нм $\lambda = 615$ нм $\lambda = 626$ нм $\lambda = 655$ нм	

Технические характеристики:

Спектральный диапазон:	254–1000 нм
Разрешающая способность:	
вариант черно-белого изображения –	500 тел. лин.
вариант цветного изображения –	400 тел. лин.
Количество светофильтров:	20 шт.
Размер исследуемого поля зрения при работе:	
с 6-кратным вариообъективом –	112 × 148 мм – 21 × 28 мм
с 10-кратным вариообъективом –	105 × 140 мм – 12 × 16 мм
Напряжение питания:	220 В
Габаритные размеры анализатора:	550 × 260 × 410 мм
Масса анализатора:	15 кг

Функциональная схема и особенности конструкции анализатора ТСС «Радуга»

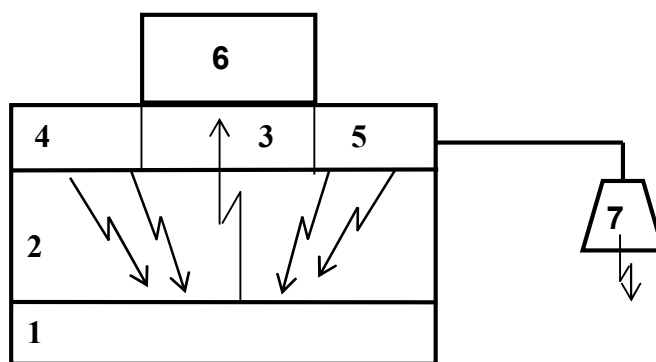


Рис. 3.1.7. Функциональная схема анализатора ТСС «Радуга»:

1 – источник проходящего света; 2 – светозащитный бокс с откидными стенками; 3 – комбинированный ИВЛ; 4 – импульсный ИВЛ видимого диапазона; 5 – импульсный ИВЛ УФ-диапазона; 6 – БКТ; 7 – комбинированный ИВЛ на светодиодах

Особенностью конструкции ТСС «Радуга» является наличие увеличенного светозащитного бокса, более мощных непрерывных ИВЛ УФ-диапазона (2×15 Вт для 254 нм и 365 нм), а также импульсных ИВЛ – для обнаружения слабoluminesцирующих объектов в видимой и

инфракрасной областях спектра. ТСС «Радуга» имеет дополнительный комбинированный ИВЛ на светодиодах, с помощью которого в светозащитном боксе можно подсветить объект светом с длиной волны 470, 567, 590, 615, 626, 655 нм в поле с диаметром около 30 мм.

Рассмотрим более подробно БКТ ТСС «Радуга», которая приведена на рис. 3.1.8.

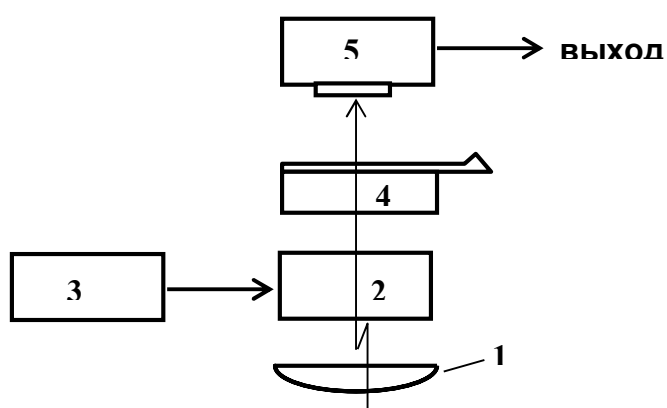


Рис. 3.1.8. Функциональная схема БКТ ТСС «Радуга»:

1 – корректирующая линза; 2 – вариобъектив; 3 – блок управления вариобъективом; 4 – узел ввода светофильтров; 5 – фотоприемник

В БКТ использован моторизованный вариобъектив (2) фирмы COMPUTAR с кратностью масштабирования 6, 10 или 16. Перед вариобъективом для обеспечения его работы на полях зрения от 160×120 мм с плавным увеличением масштаба на расстоянии, позволяющем минимизировать потери света от исследуемого объекта, установлена корректирующая линза (1). С блока (3) производится управление масштабированием, фокусировкой и диафрагмой вариобъектива путем подачи на соответствующие его двигатели управляющих напряжений. С помощью узла ввода светофильтров (4) в задний рабочий отрезок объектива вводятся светофильтры S_2 из дискретного набора (линейки) цветных оптических стекол. Конструкция узла позволяет при необходимости заменять линейки и, тем самым, изменять спектральную характеристику БКТ. В качестве фотоприемника (5) в БКТ используются бескорпусные телевизионные камеры фирмы «ЭВС» с повышенной чувствительностью черно-белого или цветного изображения. Камера цветного изображения адаптируется для работы в широком диапазоне спектра от длинноволновой

УФ-области (380 нм) до ближней ИК-области спектра (1 000 нм). Для этого полосовой фильтр, стоящий перед цветной матрицей удаляется. Правильность цветопередачи при работе в видимом диапазоне спектра достигается за счет установки в дискретный набор соответствующего светофильтра, идентичного удаленному полосовому. Видеосигнал с БКТ поступает через узел коррекции (УКВС), который позволяет увеличить контраст получаемого изображения за счет дополнительной фиксации уровня «черного» и усиления видеосигнала на выход ТСС, подключаемый к устройству ввода изображений в ЭВМ или к видеопросмотровому устройству.

Особенности работы ТСС в импульсном режиме

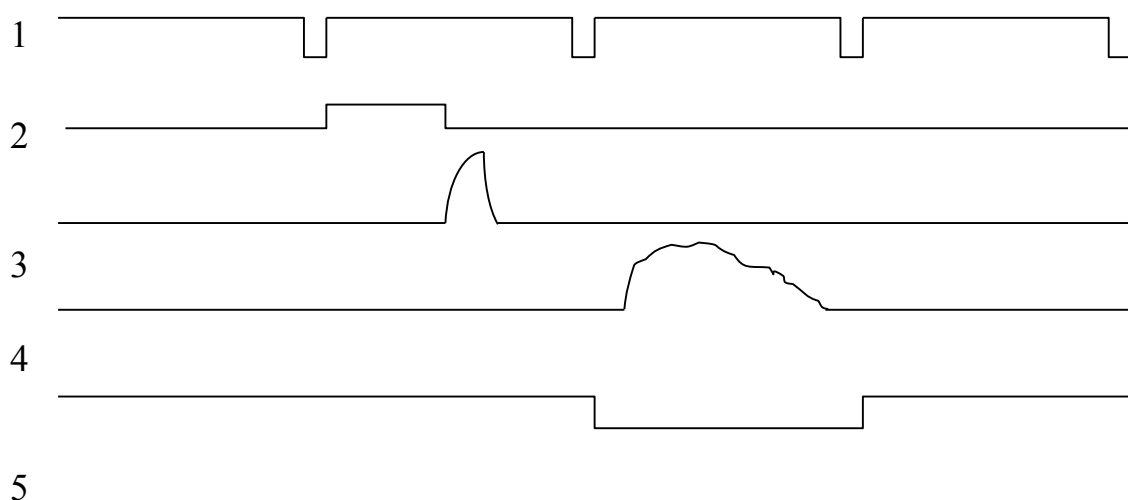


Рис. 3.1.9. Временные диаграммы процесса получения информационного телевизионного кадра в импульсном режиме работы ТСС:

1 – кадровые синхроимпульсы (КСИ); 2 – импульс запуска вспышки; 3 – вспышка; 4 – информационный кадр; 5 – сигнал записи изображения в память

При работе ТСС в импульсном режиме необходимо обеспечить синхронизацию процессов вспышки импульсной лампы и записи следующего за вспышкой одиночного информационного телевизионного кадра. Для этого с привязкой к КСИ (1) формируется импульс запуска (2), который обеспечивает срабатывание импульсной лампы во время прямого хода кадровой развертки (3) и формирование потенциального рельефа от освещенной сцены в секции накопления матрицы ПЗС. Следующий за вспышкой телевизионный кадр является информационным (4) и должен

быть зафиксирован в устройстве памяти (5). Одиночный кадр, особенно при визуализации малоконтрастного изображения является весьма зашумленным. Подавление шума для статичного сюжета может осуществляться методом суммирования сигнала в цифровой памяти за несколько циклов импульсного экспонирования с последующим усреднением по их количеству.

Несмотря на некоторые сложности в достижении синхронизации, описанный выше алгоритм может быть реализован путем управления импульсной лампой через СОМ-порт ЭВМ и записью изображения через стандартное устройство ввода изображений, в котором поддерживается режим аппаратного просмотра OVERLAY. В этом случае импульс запуска вспышки можно привязать к моментам обновления изображения в видеобуфере ЭВМ и считать их некими системными кадрами, длительность которых зависит от параметров ЭВМ и устройства видеозаписи. Для обеспечения устойчивого попадания момента вспышки в прямой ход кадровой развертки телевизионного датчика, импульс запуска должен иметь регулируемую программную задержку. Кроме этого, для фиксации информационного кадра необходимо обеспечить программный выбор одного из нескольких системных кадров, обновляющихся в видеобуфере ЭВМ после формирования сигнала управления вспышкой. Данный вариант управления показал себя достаточно устойчиво при работе ТСС с ЭВМ различных модификаций, начиная от Intel PII 300 МГц, однако, для каждой системы необходимо подбирать величины задержек индивидуально.

Телевизионная лупа «Видеомышь ВМ-2»

Телевизионная лупа предназначена для исследования фрагментов документов с увеличением 40–60-крат.



Рис. 3.1.10. Телевизионная лупа «Видеомышь ВМ-2»

Телевизионная лупа имеет следующие режимы работы:

- широкий спектр, создаваемый путем смешивания голубого (470 нм), зеленого (567 нм) и желтого (590 нм) цветов;
- голубая область спектра (470 нм);
- зеленая область спектра (567 нм);
- желтая область спектра (590 нм);
- красная область спектра (655 нм);
- ИК-область спектра (810 нм);
- косопадающий свет в зеленой области спектра (567 нм);
- косопадающий свет в ИК-области спектра (810 нм);
- ИК-люминесценция.

Технические характеристики:

Разрешающая способность: 375 тел. лин.

Размер контролируемого поля: 3 × 4 мм

Напряжение питания: 12 В

Ток потребления, не более: 250 мА

Габаритные размеры: 120 × 75 × 65 мм

Масса: 0,5 кг

Подключается непосредственно:

- к анализатору черно-белой ТСС любого из базовых вариантов;
- к телевизионному микроскопу;
- к коммутатору видеосигналов;
- или используется автономно в комплекте с блоком питания и монитором.

Функциональная схема и особенности конструкции ВМ-2

Функциональная схема ВМ-2 приведена на рис. 3.1.11.

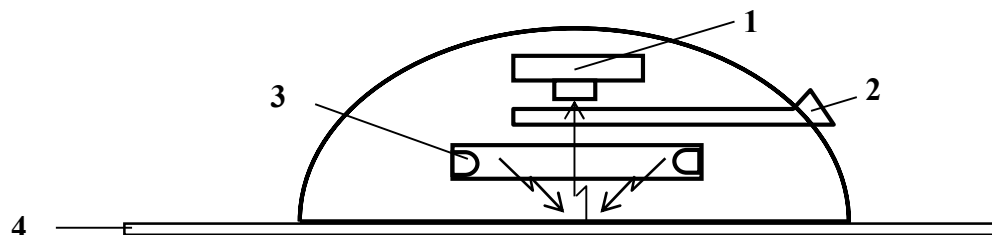


Рис. 3.1.11. Функциональная схема BM-2:

1 – фотоприемник; 2 – узел ввода светофильтра C_2 ; 3 – комбинированный источник света на светодиодах; 4 – исследуемая поверхность документа

Особенностью BM-2 является конструктивное исполнение [70] в виде манипулятора «мышь», позволяющее путем перемещения по поверхности документа исследовать его фрагменты с минимальными размерами 3×4 мм, что соответствует, примерно, увеличению $\times 45$ при выводе на монитор с размерами экрана 9". В BM-2 предусмотрена возможность визуализации ИК-люминесценции при освещении объекта голубыми светодиодами и введения перед фотоприемником (1) светофильтра C_2 типа КС -19 с помощью узла (2).

Сравнительные характеристики ТСС и основные тенденции их развития

Сравнительные характеристики ТСС и их аналогов

Изделие и производитель	«Эксперт-К» ЗАО «ЭВС»	«ED 1100» Регула	VSC-2000 Foster Freeman	ТСС «Радуга-2» ФГУП НИИПТ «Растр»	ТСС «Эксперт» ФГУП НИИПТ «Растр»	«ТСС-3М» ФГУП НИИПТ «Растр»
Параметр						
1. CCD-Camera	цветная цифровая	цветная	черно-белая, цветная	черно-белая, цветная	черно-белая, цветная	черно-белая, цветная
1.1. Разрешение (ТВ-линий)	430	400	ч/б – 500 цв. – 480	ч/б – 500 цв. – 400	ч/б – 500 цв. – 400	ч/б – 500 цв. – 400
1.2. Область спектральной чувствительности (нм)	375–1050	375–1050	375–1050	375–1050	375–1050	375–1050
1.3. Стандарт видеосигнала	CCIR-PFL, SVHS	CCIR-PAL	CCIR/E LA	CCIR PAL	CCIR PAL	CCIR PAL
1.4. Фокусировка	ручная-	ручная	ручная	ручная	ручная	фиксиров

	автомат.					.
1.5. Диафрагма	ручная-автомат.	ручная	ручная	ручная	ручная	–
1.6. Кратность масштабирования	ZOOM 12	ZOOM до 21	ZOOM до 10	ZOOM до 16	дискретно 4	–
1.7. Увеличение (раз) с приборами дооснащения	(2–24) до 150	1,3–28	1,4–14	до 60 с BM-2	до 60 с BM-2	до 60 с BM-2
2. Светофильтры камеры, в том числе:	25	12	14	20	20	2
– корректирующие	5	1	–	2	2	–
– отрезающие	11	11	14	18	18	2
– узкополосные	8	15	плавный 0,57–1 мкм	–	–	–
– поляризационные	1	–	–	–	–	–
2.1. Дополнительные фильтры осветителей	2 поляриз.	–	8 узкопол.	9 коррект.	–	–
2.2. Автоматическая установка фильтров	+	+	+	–	–	–
3. Источники света:						
– универсальный галогенный	2 × 20 Вт	2 × 20 Вт	2 × 20 Вт (вид), 2 × 30 Вт (ИК)	2 × 20 Вт	2 × 20 Вт	2 × 20 Вт
– высокоинтенсивный ксенон	–	–	импульсн. 10 кВт	импульсн. 120 Дж	–	–
– дуговая лампа	–	–	250 Вт	–	–	–
– интенсивный спектральный синезеленый	2 × 150 Вт	250 Вт	250 Вт	2 × 20 Вт + имп. 120 Дж	2 × 20 Вт	2 × 20 Вт
– проходящий	2 × 6 Вт (люмин.)	2 × 20 Вт	2 × 40 Вт	2 × 20Вт	2 × 20Вт	LED 860 нм
– косопadaющий	6 Вт (люминесц.) + ИК	2 × 20 Вт	20 Вт	2 × 20 Вт	2 × 20 Вт	0,5 Вт
– ультрафиолетовый	2 × 6 Вт (люмин.)	36 Вт (люмин.)	2 × 8 Вт (люмин.)	2 × 15 Вт 315 нм 2 × 15 Вт 256 нм	2 × 4 Вт	2 × 4 Вт
– ИК-просвет	LED 860 нм	–	2 × 40 Вт	2 × 20 Вт	–	LED 860 нм
– отраженный свет	+	+	+	+	+	+
– проходящий свет	+	+	+	+	+	+
– косопadaющий свет	+	+	ИК-780нм	+	+	+

– УФ-люминесценция	+	+	+	+	+	+
– ИК-освещение	+	+	+	+	+	+
– ИК на просвет	+	–	+	+	+	+
– ИК-люминесценция	+	+	+	+	+	+
4. Программное управление от ЭВМ	+	+	+	импульсн. ИВЛ	–	–
5. Габаритные размеры, мм	470 × 290 × 300	500 × 400 × 300	560 × 340 × 410	560 × 274 × 500	306 × 234 × 256	231 × 248 × 260
Масса, кг	15	20	25	16	10	7
6. Накопление кадров	до 50	–	до 512	до 256	до 256	до 256
7. Стоимость, у. е.	11 500	9 600	35 000	3 970	1 465–2 058	820–1 540

Анализ таблицы сравнительных характеристик показывает на соответствие ТСС «Радуга» лучшим отечественным и зарубежным аналогам. Совокупность технико-экономических параметров позволяет этой системе успешно выдерживать конкуренцию на внутреннем рынке.

НИИПТ «Растр» предлагает три модельных ряда ТСС, отличающихся друг от друга назначением и уровнем сложности. Массовая система ТСС-3М предназначена для экспресс-анализа на контрольных постах, ее отличает наибольшая простота в эксплуатации, отсутствие регулировок, возможность быстрого последовательного переключения режимов, предусматривающих типовые приемы и методики контроля документов: контроль в видимом, ИК, УФ-свете, проверка люминесценции защитных зон, а также водяных знаков и совмещающихся элементов на просвет. Такого рода экспресс-анализ не требует специальной подготовки в области криминалистики.

При выявлении признаков нарушений в документе более детальная экспертиза может проводиться в лаборатории, оснащенной системой «Эксперт» или «Радуга». Уровень задач, решаемых конкретной лабораторией, определяет оснащение ее той или иной аппаратурой. Для районного и городского звена это может быть ТСС «Эксперт», для областного, краевого или республиканского уровня рекомендуется ТСС «Радуга».

Основные тенденции развития ТСС направлены в сторону насыщения аппаратуры сервисными функциями, программно задаваемыми от ЭВМ. В частности, работа в автоматическом режиме по заданному алгоритму исследования документов с фиксацией получаемых в различных режимах

изображений, автоматизированное управление позиционированием светофильтров, масштабом и диафрагмой в БКТ.

Другим направлением развития ТСС является повышение их чувствительности, избирательности и разрешающей способности. Повышение чувствительности связано с улучшением энергетических характеристик ИВЛ и улучшением параметров фотоприемников: чувствительности и отношения сигнал/шум. Повышение избирательности достигается при использовании узкополосных интерференционных светофильтров, позволяющих проводить более тонкую дифференциацию по спектру с целью обнаружения цветовых различий в документах, а также выделения тех или иных участков в спектре люминесценции. Повышение разрешающей способности связано с применением полноформатных ПЗС-матриц, обеспечивающих соответствие телевизионному вещательному стандарту. Для получения изображений с более высоким разрешением следует ожидать применение в ТСС, в ближайшем будущем, цифровых фотоаппаратов, адаптированных для работы в специфических условиях работы системы, в частности, в расширенном по отношению к видимой части спектральном диапазоне [67].

2. Телевизионные системы для визуализации продуктов ПЦР

ТСС «Люмен», ТСС «Гель». Структурные схемы и особенности конструкции.
Технические характеристики.

Телевизионная спектральная система «Люмен»

ТСС «Люмен» предназначена для визуализации и документирования электрофореграмм ДНК в гелях при геномной дактилоскопии. ТСС обеспечивает чувствительность на порядок превышающий визуальный метод (до 1 нг ДНК) и оперативность документирования результатов исследований.



Рис. 3.2.1. Телевизионная спектральная система «Люмен»

Состав:

- 1) Анализатор;
- 2) Трансиллюминатор;
- 3) Устройство ввода изображений;
- 4) Программное обеспечение;
- 5) ПК.

Технические характеристики:

Чувствительность анализатора:	до 1 нг ДНК
Рабочее поле зрения:	90x120 мм;
Разрешающая способность ПЗС датчика:	450 тел. лин.
Время экспозиции не более:	0,5 с;

Питание от сети:	220 В, 50 Гц
Габаритные размеры:	335 × 286 × 122 мм;
Масса:	3,5 кг

ТСС «Люмен» обеспечивает:

- Защиту персонала от УФ-облучения;
- Наблюдение изображения геля на экране ПК или дополнительном телевизионном мониторе;
- Регулировку уровня «черного» и размаха видеосигнала;
- Ввод изображений в ПК с накоплением;
- Документирование полученных изображений.

Аппаратно-программный комплекс «Гель»



Рис. 3.2.2. Аппаратно-программный комплекс «Гель»

Комплекс предназначен для визуализации сверхмалых количеств продуктов ПЦР и автоматизированной обработки их изображений в медико-биологических исследованиях.

Достоинства:

- превышает возможность визуального контроля в 100 раз за счёт применения импульсного источника возбуждения люминесценции и высокочувствительной телевизионной камеры на базе ЭОПа;
- позволяет проводить анализ электрофореграмм ДНК непосредственно на рабочем столе эксперта (исследователя);
- защищает персонал от ультрафиолетового излучения;
- обеспечивает оперативное получение результатов исследований.

Состав:

- 1) анализатор;
- 2) устройство ввода изображения;
- 3) программное обеспечение;
- 4) ПК.

Технические характеристики:

Чувствительность анализатора: до 0,1 нг ДНК

Разрешающая способность ПЗС-датчика: 450 тел. лин.

Поле зрения анализатора: 150 × 200 мм

Напряжение питания: 220 В

Мощность потребления от сети переменного тока (без учета ЭВМ): 50 Вт

Комплекс обеспечивает:

- ввод телевизионного изображения в ПК с накоплением;
- вывод изображения на дисплей с возможностью масштабирования;
- контрастирование введенного изображения;
- построение профилограмм яркости (оптической плотности) изображения;
- автоматизированную разметку осей профилограмм и оценку количества и молекулярной массы ДНК, содержащихся в исследуемых фрагментах.

**Функциональная схема и конструктивные особенности
анализаторов
ТСС «Люмен», «Гель»**

Функциональная схема ТСС «Люмен», «Гель» приведена на рис. 3.2.3.

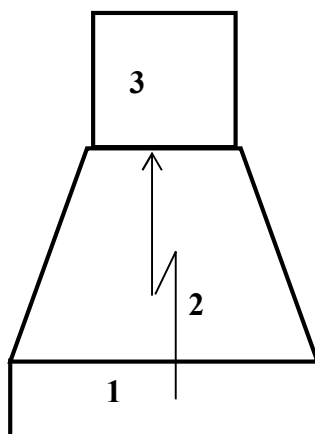


Рис. 3.2.3. Функциональная схема ТСС «Люмен», «Гель»:

1 – предметный столик с источником проходящего УФ-света; 2 – светозащитный бокс; 3 – высокочувствительный БКТ

ТСС «Люмен», «Гель» являются типичными примерами моноспектральных систем. Особенностью конструкции ТСС «Люмен», «Гель» является наличие предметного столика для исследуемого геля с источником проходящего ультрафиолетового света (1) в качестве ИВЛ, светозащитного бокса (2) для размещения в нем исследуемого геля и высокочувствительного БКТ (3).

Отличие ТСС «Люмен» от ТСС «Гель» состоит в том, что в ИВЛ ТСС «Гель» применен высокоинтенсивный импульсный источник света, а в ИВЛ ТСС «Люмен» – люминесцентные эритемные лампы.

Рассмотрим более подробно функциональную схему высокочувствительного БКТ ТСС «Люмен», приведенную на рис. 3.2.4.

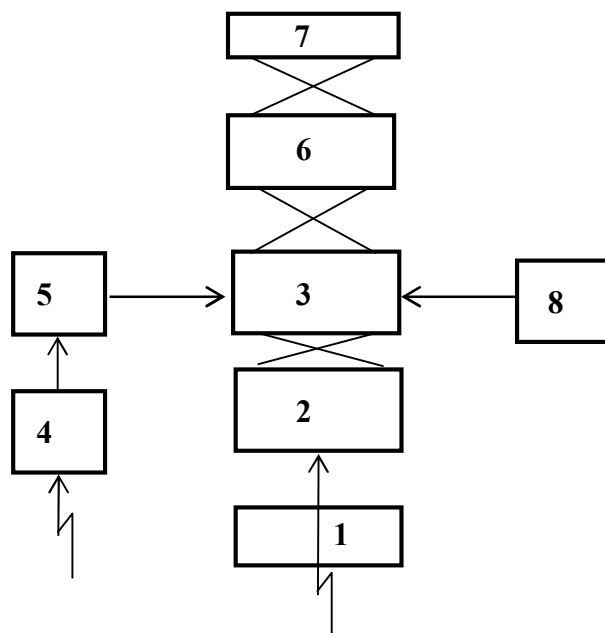


Рис. 3.2.4. Функциональная схема высокочувствительного БКТ ТСС «Люмен»:
1 – светофильтр; 2 – входной объектив; 3 – ЭОП; 4 – фотодатчик; 5 – схема защиты ЭОП; 6 – объектив переноса; 7 – фотоприемник; 8 – преобразователь напряжения

В БКТ обеспечивается работа на фиксированном поле зрения 120×90 мм, определяемом размером исследуемого геля с помощью объектива (2). Перед объективом располагается светофильтр (1), выделяющий красную область спектра, в которой люминесцируют окрашенные бромидом этидия ПЦР-продукты. В БКТ использован отечественный ЭОП второго поколения «Белка» (3) с чувствительностью до 0,001 лк. Полученное на экране ЭОП изображение проецируется на мишень фотоприемника (7) через объектив переноса (6). В качестве фотоприемника используется черно-белая бескорпусная телевизионная камера с повышенной чувствительностью. Питание ЭОП осуществляется через преобразователь (8) от напряжения 12 В. Для предохранения ЭОП от прожога в случае пересветки в БКТ введена схема защиты (5), выключающая ЭОП при срабатывании фотодатчика (4).

Высокочувствительный БКТ на базе ЭОП в ТСС «Люмен» в сочетании с дополнительной аналоговой обработкой в УКВС и цифровым шумоподавлением при вводе в ПЭВМ обеспечил возможность обнаружения люминесценции продуктов ПЦР в геле при их количестве до 1 нг, что в 10 раз ниже порога в непосредственном визуальном обнаружении и

соответствует порогу, достигаемому в результате фотографирования геля на специальную фотопленку типа МИКРАТ-1 с экспозицией 30 с.

ГЛАВА 4

ТЕЛЕВИЗИОННАЯ ВИЗУАЛИЗАЦИЯ ГАЗОРАЗРЯДНОГО СВЕЧЕНИЯ

1. Структурная схема и особенности конструкции телевизионной системы

для визуализации газоразрядного свечения

Составные части системы. Особенности конструкции электронно-оптического блока. Генератор импульсов высокого напряжения.

Основные составные части системы представлены на рис. 4.1.1.

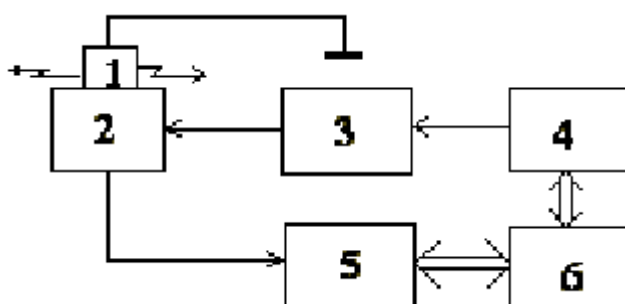


Рис. 4.1.1. Обобщенная структурная схема телевизионной системы для визуализации газоразрядного свечения:

1 – исследуемый объект; 2 – блок электронно-оптический (БЭО); 3 – генератор импульсов высокого напряжения; 4 – блок управления режимами работы генератора; 5 – устройство ввода изображений; 6 – ЭВМ

Исследуемый объект (1) размещается вблизи или на поверхности электрода, являющегося частью БЭО (2). В переменном электрическом поле высокой напряженности, возникающем при подаче на электрод высоковольтных импульсов, образуется газовый разряд (поверхностный или объемный), который служит усилителем сверхслабых эмиссионных процессов, протекающих на поверхности объекта.

Изображение газоразрядного свечения, несущее в себе комплексную информацию о характеристиках объекта, формируется с помощью телевизионного датчика, входящего в состав БЭО. Сигнал изображения преобразуется в цифровую форму с помощью устройства ввода изображений (5) и запоминается в ЭВМ (6). Импульсы высокого напряжения для БЭО вырабатываются генератором (3), режимы работы которого через блок управления (4) задаются от ЭВМ.

Введенное в ЭВМ изображение обрабатывается специальными программами с целью повышения информативности сюжета и количественного анализа. Рассмотрим более подробно компоненты системы.

Электронно-оптический блок

В электронно-оптическом блоке (БЭО) интегрированы высоковольтный электрод, оптическая система и телевизионный датчик. Могут быть использованы различные конструкции БЭО. Наиболее удобен вариант исполнения с оптически прозрачным электродом и диэлектриком [71].

Электрод располагается между диэлектриком и телевизионным датчиком. На диэлектрик, который служит в качестве изолятора, помещается исследуемый объект. Свечение объекта возникает либо на поверхности диэлектрика, либо в узком зазоре между объектом и диэлектриком. При рассмотренном выше варианте конструкции исключается возможность закрытия объектом части свечения.

Наилучшая оптическая прозрачность электрода достигается при напылении на диэлектрик. В качестве напыляемого материала используется двуокись олова или трехокись индия. К качеству напыления, производимому в вакууме, предъявляются определенные требования по чистоте и однородности. Недопустимы разрывы покрытия и попадание посторонних включений, которые могут служить очагами электрической эрозии, разрушающей электрод в процессе подачи на него импульсов высокого напряжения.

Проецирование свечения на мишень фотоприемника (ПЗС-матрицы) осуществляется обычной оптической системой – объективом. В варианте

исполнения БЭО содержит оптическое волокно, сопряженное с ПЗС-матрицей, электрод выполнен в виде металлической сетки и все компоненты устройства жестко закреплены в одном корпусе.

Целесообразно уменьшение расстояния между мишенью фотоприемника и поверхностью электрода для сокращения потерь света. Предпочтительно для этих целей использование короткофокусных объективов, однако, их применение ограничивается допустимыми геометрическими искажениями. На рис. 4.1.2 приведена конструктивная схема БЭО.

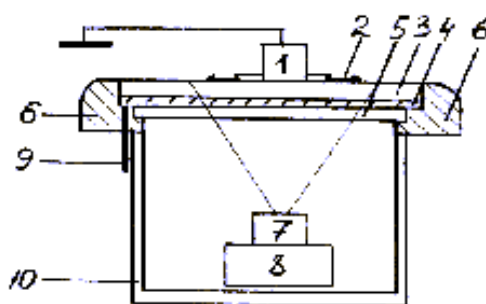


Рис. 4.1.2. Вариант конструктивного исполнения БЭО

1 – объект; 2 – газоразрядное свечение; 3 – прозрачный диэлектрик; 4 – прозрачный электрод; 5 – прозрачное опорное стекло; 6 – компаунд; 7 – объектив; 8 – фотоприемник; 9 – высоковольтный вывод; 10 – корпус

Диэлектрик (оптическое стекло) должен иметь толщину, обеспечивающую достаточную изоляцию объекта от электрода. Вместе с тем его толщина должна быть минимальной для уменьшения потерь напряженности электрического поля. Оптимальная толщина для оптического стекла составляет 1,5–2 мм.

Для обеспечения равномерного радиального распределения электрического поля вокруг исследуемого объекта на токопроводящий слой напыляется кольцевая контактная площадка из меди, к которой подсоединяется высоковольтный провод, подключаемый к генератору импульсов высокого напряжения (рис. 4.1.3.).

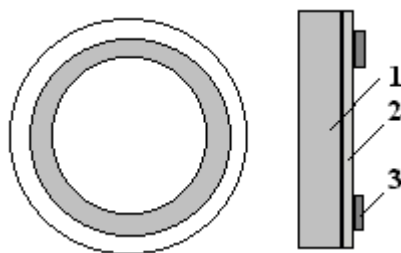


Рис. 4.1.3. Диэлектрик (1), с напыленным токопроводящим слоем (электродом) (2) и кольцевой контактной площадкой (3)

Для прочности используется дополнительное прозрачное опорное стекло, объединяемое в единый стеклопакет, который вместе с зоной контакта высоковольтного провода устанавливается в корпус из изоляционного материала и заполняется компаундом для предотвращения утечек высокого напряжения.

Генератор импульсов

Функциональная схема генератора, формирующего импульсы высокого напряжения, подаваемые на электрод БЭО, приведена на рис. 4.1.4 .

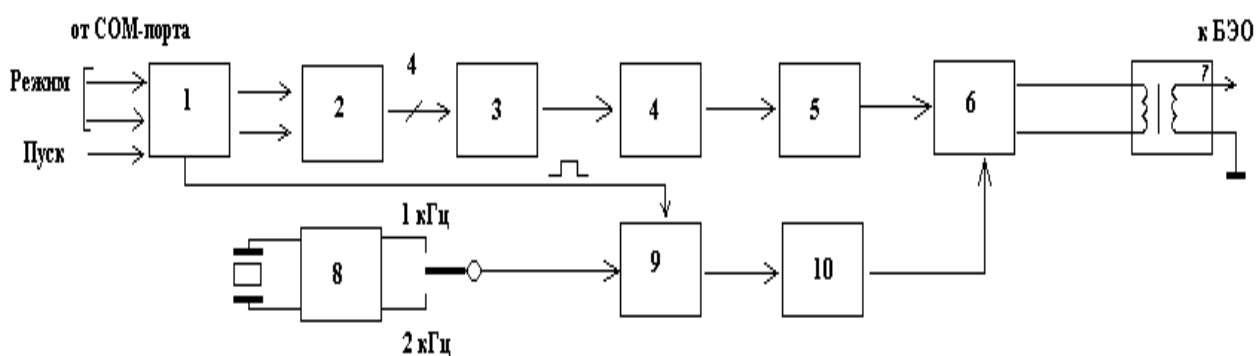


Рис. 4.1.4. Функциональная схема генератора импульсов:

1 – преобразователи уровней; 2 – дешифратор; 3 – источник опорного напряжения; 4 – схема сравнения и формирования управляющего сигнала; 5 – импульсный стабилизатор; 6 – прерыватель; 7 – высоковольтный трансформатор; 8 – задающий генератор; 9 – электронный ключ; 10 – формирователь импульсов запуска

Преобразователи (1) обеспечивают перевод уровней сигналов лог. 1 и лог. 0, принятых для передачи информации через COM-порт, в уровни ТТЛ-

логики. Дешифратор (2) преобразует параллельный 2-разрядный двоичный код выбора режимов работы генератора в 4-разрядный позиционный код. Источник (3) вырабатывает опорное напряжение определенной, установленной с помощью потенциометров величины для каждого из заданных уровней. Схема (4) сравнивает опорное напряжение с напряжением на выходе импульсного стабилизатора (5) и вырабатывает управляющий сигнал, длительность которого зависит от разности сравниваемых напряжений. Импульсный стабилизатор (5) обеспечивает на выходе постоянное напряжение в диапазоне 100–300 В. Прерыватель (6) представляет собой тиристорный ключ, который при появлении запускающего импульса от электронного ключа (9) подключает выход импульсного стабилизатора к обмотке высоковольтного трансформатора (7). При этом высоковольтный трансформатор формирует во вторичной обмотке высокое 4–10 кВ, в зависимости от выбранного режима работы, импульсное знакопеременное напряжение (затухающая синусоида). Задающий генератор (8) формирует последовательности запускающих импульсов с частотами 1 или 2 кГц. Электронный ключ (9) разрешает прохождение последовательности запускающих импульсов в случае поступления на него сигнала ПУСК. В зависимости от положения переключателя «S» электронного ключа формируется либо пачка импульсов с выбранной частотой 1 или 2 кГц, либо обеспечивается трансляция сигнала ПУСК для работы генератора в моноимпульсном режиме. Формирователь запуска (10) вырабатывает запускающие импульсы (импульсы управления тиристорным ключом с длительностью 10–15 мкс), соответствующие фронту выходных импульсов электронного ключа.

Расширить функциональные возможности генератора импульсов за счет плавности регулировки частоты и амплитуды формируемых импульсов позволяет встроенный микроконтроллер. В результате функциональная схема генератора приобретает вид, изображенный на рис. 4.1.5.

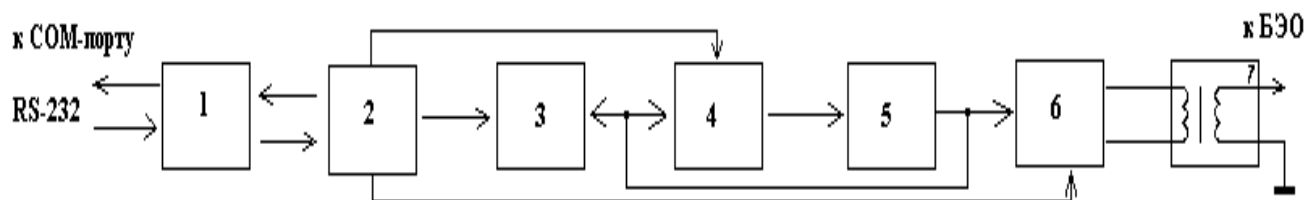


Рис. 4.1.5. Функциональная схема генератора с микроконтроллером:

1 – преобразователи уровней; 2 – микроконтроллер; 3 – делитель напряжения; 4 – схема сравнения и формирования управляющего сигнала; 5 – импульсный стабилизатор; 6 – прерыватель; 7 – высоковольтный трансформатор

Назначение преобразователей уровней, а также блоков (4–7), аналогично рассмотренному выше. Делитель напряжения (3) может быть выполнен в виде обычного резистивного делителя для обеспечения связи микроконтроллера с выходом импульсного стабилизатора.

Микроконтроллер обеспечивает прием и передачу информации в ЭВМ через COM-порт в стандартном протоколе RS-232, одновременно выполняя следующие функции: формирование плавно изменяемого опорного напряжения для управления импульсным стабилизатором, формирование последовательности запускающих импульсов заданной скважности, измерение и передачу в ЭВМ информации о величине выходного напряжения импульсного стабилизатора.

Таким образом, наличие микроконтроллера в генераторе позволяет пользователю самостоятельно проводить контроль стабильности выходного напряжения и при необходимости его подстройку. Возможна реализация программным путем автоматической подстройки системы под заранее введенные эталонные значения [72].

2. Аппаратно-программная часть системы визуализации газоразрядного свечения

Функции управления системой. Особенности ввода изображений. Временные диаграммы.

Аппаратно-программная часть системы газоразрядной визуализации включает в себя персональный компьютер с устройством ввода изображений и программное обеспечение: драйвер мультимедиа, поддерживающий работу устройства в стандарте Video for Windows , а также программы для управления режимами работы системы и захвата изображений через буфер обмена ЭВМ.

Рассмотрим функции управления системой, которые реализуются аппаратно-программным путем. К ним относятся:

- дискретное переключение режимов работы;
- запуск и выключение генератора импульсов высокого напряжения;
- установление времени начала ввода изображения относительно момента запуска генератора;
- установление длительности ввода;
- задание режима ввода (одиночный кадр, серия кадров).

В приборе «Корона-ТВ» переключение режимов работы, а также запуск генератора, производится через COM-порт ЭВМ путем непосредственного программирования отдельных разрядов порта. В аппаратуре «Стример» используется стандартный протокол обмена RS-232, через который реализуются дополнительные функции управления генератором, а именно:

- плавная регулировка амплитуды и частоты импульсов генератора высокого напряжения;
- измерение фактической величины управляющего напряжения для генератора импульсов;
- проверка идентификационного номера прибора.

Ввод изображения газоразрядного свечения в ЭВМ производится через стандартное устройство видеозаписи с привязкой к системным кадрам – интервалам времени обновления изображения в видеобуфере ЭВМ (см. диаграмму 1 рис. 4.2.1). При этом формируется сигнал ПУСК (диагр. 2),

разрешающий формирование импульсов высокого напряжения (диагр. 3). Возникающее газоразрядное свечение преобразуется в сигнал изображения, которое с частотой системных кадров обновляется в видеобуфере ЭВМ (диагр. 4). Команда фиксации изображения (прекращения его обновления в видеобуфере ЭВМ) соответствует кадру записи (диагр. 5), после которого сигнал ПУСК снимается (диагр. 2).

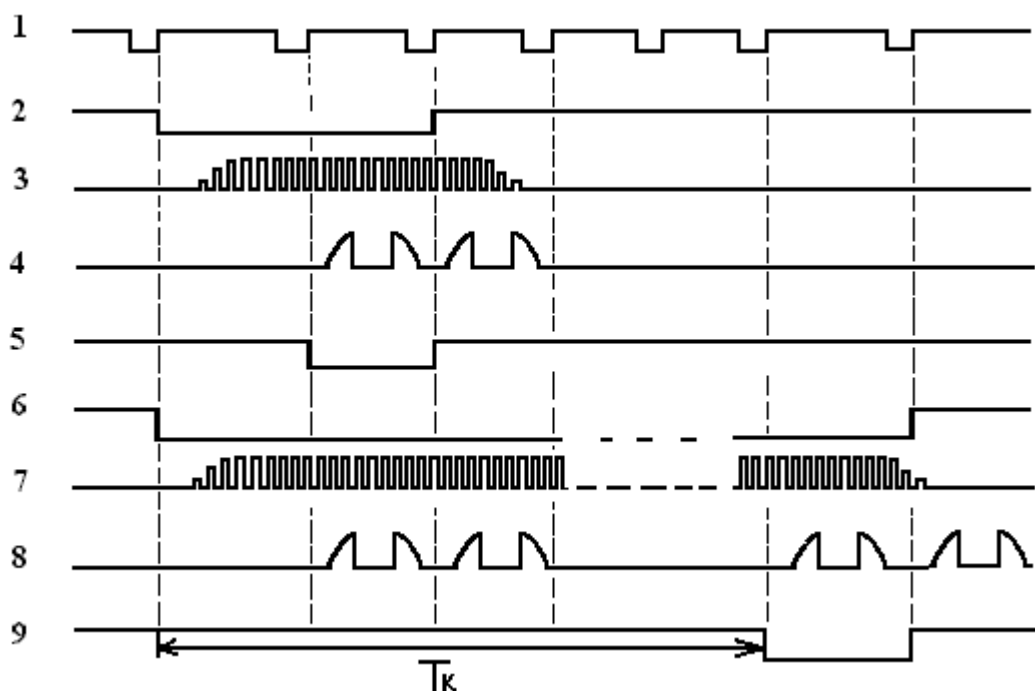


Рис. 4.2.1. Диаграммы ввода изображения в ЭВМ

Таким образом, для устойчивого ввода газоразрядного свечения необходима минимальная задержка в один системный кадр относительно момента включения генератора.

Принцип ввода изображения с заданной задержкой относительно начала возникновения газового разряда (экспозиции) показан на диаграммах 6, 7, 8, 9, на которых изображены сигналы управления, соответствующие диаграммам 2, 3, 4 и 5. Задержка T_k может быть использована для интегрирования кадров газоразрядного свечения. В этом случае сигнал записи (диагр. 9) соответствует команде фиксации в памяти ЭВМ интегрального (усредненного) кадра за время T_k .

В аппаратно-программном комплексе на базе прибора «Корона-ТВ» рассмотренные выше функции выполняются программой GDV Grabber 21, внешний вид панели управления которой представлен на рис. 4.2.3.

С помощью кнопок на панели управления производится дискретное переключение уровней напряжения. При установке ключа Delay имеется возможность задания задержки фиксации кадра относительно начала экспозиции. Ввод кадра осуществляется нажатием клавишей «мыши» на окна ввода изображений. Каждое из окон предназначено для ввода газоразрядного изображения одного из пальцев рук в соответствии с принятой нумерацией. Все десять введенных изображений одновременно могут быть сохранены в выбранной папке.

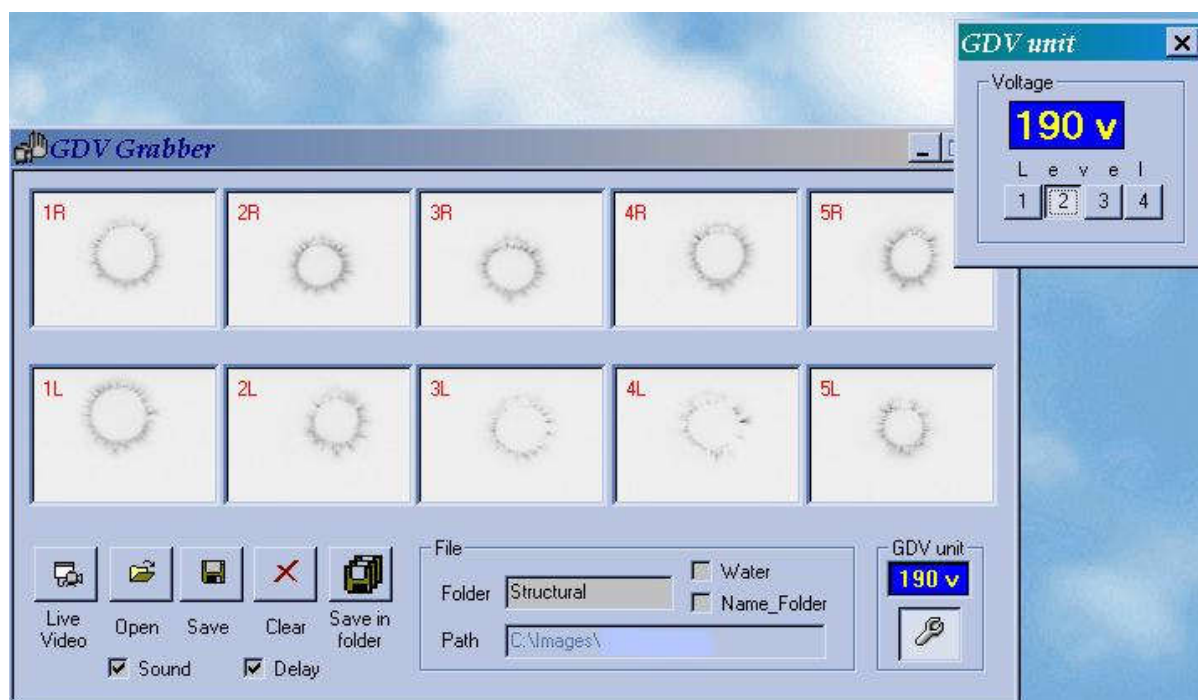


Рис. 4.2.3. Внешний вид панели управления программы GDV Grabber 21

3. Методы телевизионной съемки газоразрядного свечения

Подход к проблеме с точки зрения информационной теории связи. Модели системы связи. Методы телевизионной съемки: одиночного кадра, непрерывной последовательности с заданным временем накопления в заданных временных интервалах, покадровая съемка. Примеры результатов обработки изображений снятых различными методами. Моноимпульсный режим съемки.

При регистрации газоразрядного свечения фиксируется отклик биологического объекта от воздействия на него переменным электромагнитным полем. В картинах свечения пальцев рук запечатляется интегральная картина распределения различного рода неоднородностей поверхности кожного покрова (эмиссионных, газовыделения, электропроводности и т. п.).

При телевизионной съемке важно получить изображение газоразрядного свечения, в котором содержится максимум информации об исследуемом объекте с априорно неизвестными характеристиками. В настоящее время большой практический интерес вызывают исследования газоразрядного свечения с целью поиска и экспериментальных проверок методов интерпретации тех или иных феноменов в получаемых изображениях, что в конечном итоге должно дать возможность определения функционального состояния исследуемого объекта с достаточной степенью вероятности. Для накопления статистических данных важно иметь в распоряжении различные методы съемки, предназначенные для регистрации характерных особенностей газоразрядного свечения.

С этой точки зрения представляет интерес подход к проблеме визуализации газоразрядного свечения с позиции современной информационной теории связи [73]. В отличие от классической модели системы связи по Шеннону (рис. 4.3.1), в которой неискаженная передача сигнала обеспечивается бесконечным усилением сигнала перед воздействием шума канала за счет идеальной бесконечной во времени связи, в модели Л.И. Хромова источник сигнала (в нашем конкретном случае система газоразрядной визуализации) строится проектировщиком с учетом некоторых сведений об объекте и требований получателя к качеству сигнала (информации). Объект оказывает физическое воздействие (стимул)

на источник, который формирует некий ожидаемый проектировщиком и получателем сигнал, смешанный с шумом (рис. 4.3.2).

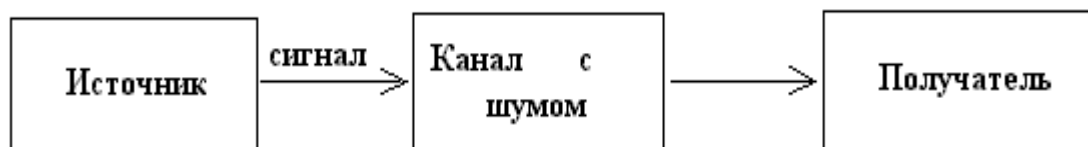


Рис. 4.3.1. Модель системы связи по Шеннону (без кодирования)

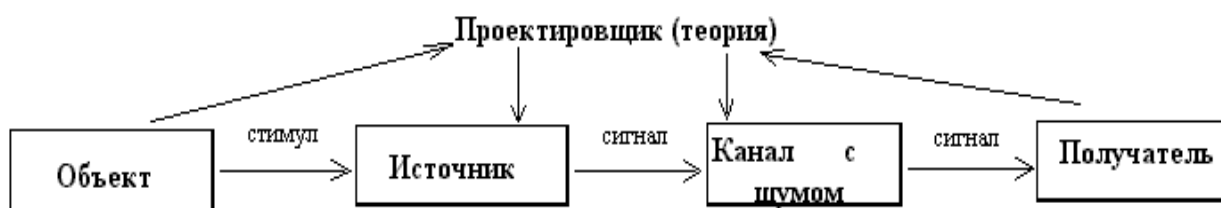


Рис. 4.3.2. Модель системы связи Л.И. Хромова

Л.И. Хромов вводит в модель понятие «проектировщика», как субъективный фактор, а также понятия «полезной», «шумовой» и «качества» получаемой информации. Согласно этой концепции полезная информация смешана с шумовой и в этом смысле ее получение Л.И. Хромов образно сравнивает с отсечением скульптором по своему замыслу всех лишних кусков камня из глыбы при создании скульптуры. Отсекая шумовую информацию, мы неизбежно теряем и полезную. В этой связи к шумовой информации следует отнести также те детали изображения, которые мы в данный момент не умеем интерпретировать, несмотря на то, что они возможно и несут некую полезную информацию об исследуемом объекте.

Такой подход в достаточной степени адекватно моделирует, например, парадоксальную ситуацию, когда исследователь (получатель) для более точной интерпретации феноменов изображения (паттернов) газоразрядного свечения стремится получить узнаваемый образ путем укрупнения считываемой апертуры, т. е. за счет ухудшения разрешающей способности системы, или за счет применения низкочастотных оптических фильтров, приводящих к уменьшению четкости изображения. В сочетании с методами сокращения избыточности, например, уменьшения градаций

яркости изображения, получатель добивается некоторой привычной (узнаваемой) именно для него конфигурации паттернов.

Данный пример хорошо иллюстрирует субъективность понятия «качества» или информативности телевизионного сюжета.

Рассмотрим комплекс «Пациент-система ГРВ» как совокупность последовательно соединенных звеньев, используя как классическую модель Шеннона (источник – канал с шумом – получатель), так и модель Л.И. Хромова (объект – источник – канал с шумом – получатель). Применительно к пациенту, состояние организма которого диагностируется методом ГРВ, можно провести следующие аналогии с классической моделью Шеннона. Источник информации – это орган, некоторая совокупность параметров которого через канал связи с шумом передается получателю – участку кожного покрова пальца руки с рефлекторными зонами и биологически активными точками. Получаемая информация в данном случае – это некое изменение в распределении поверхностных свойств участка кожного покрова. Если предположить, что канал связи и источник информации идеальны, то шум в канале можно интерпретировать, как наличие в нем одновременно действующих сообщений от множества других источников (органов), не интересующих нас в данный момент времени и поэтому дающих шумовую информацию.

Задача, которую мы себе ставим – это получение с помощью системы ГРВ информации о наличии отклонения совокупности параметров интересующего нас органа и, соответственно, параметров распределения поверхностных свойств рефлекторной зоны от заданного допуска. Получатель сообщения в первом звене рассматриваемого комплекса является объектом для второго звена – системы ГРВ. Объект стимулирует источник информации – газоразрядное свечение, изображение которого через видеоканал передается получателю сообщения – регистрирующему компьютеру. Формирование свечения и передача его изображения через видеоканал связаны с воздействием целого ряда шумовых факторов. К ним относятся случайные эмиссионные процессы на поверхности диэлектрика возле точек поверхностных неоднородностей объекта, шумы преобразователя свет/сигнал, шумы дискретизации от оцифровки и ввода в ЭВМ.

Для построения оптимальной системы ГРВ, работающей в реальном времени и обладающей требуемыми параметрами качества получаемой информации, важно знать время возможной ее задержки – m , которое определяется соотношением шага дискретизации (длительность кадра изображения) – T и длительности процесса изменения свойств объекта – t . Если $m = t/T \gg 1$, то возможно накопление информации и, следовательно, повышение ее качества [74].

Однако всегда ли усредненное изображение содержит неискаженную информацию? По всей видимости, нет, т. к. вполне уместно предположение о том, что случайно возникающие однократные феномены, выделяющиеся из среднестатистической группы, также несут важную информацию о биологическом объекте. Здесь может быть проведена аналогия с кардиограммой, на которой фиксируется, например, одиночный экстрасистол, который как раз и несет информацию об отклонении в работе сердечно-сосудистой системы.

Зафиксировать однократное событие возможно только на достаточно длительном, сравнимом с периодом его повторения, отрезке времени. С этой точки зрения весьма информативной является непрерывная съемка динамического сюжета в .avi-файл и последующий анализ кадров этого файла с целью выделения наиболее информативного, или формирования некоторого интегрального телевизионного кадра.

Алгоритм формирования интегрального телевизионного кадра может быть основан на последовательном разделении исходной группы кадров на статистически однородные подгруппы, в которых возможно усреднение изображений. Кадры изображения с усредненными, устойчиво повторяющимися структурами могут быть объединены в одно интегральное изображение, в котором, в отличие от классического метода накопления, будут сохранены специфические особенности изображения, проявляющиеся в однородных подгруппах.

Алгоритм может быть реализован интерактивным путем, когда получатель вручную группирует изображения путем визуального сопоставления, или автоматически, при котором разделение на группы производится, например, путем последовательного сравнения отдельно взятого кадра с остальными и оценки соответствия межкадровой разности

некоторому заданному диапазону. На каждом цикле такого просмотра производится группировка кадров, удовлетворяющих заданному критерию отбора. В образовавшихся группах производится усреднение кадров, после чего усредненные кадры суммируются дополнительно. Возможно использование для последующего анализа интегрального кадра, сформированного из любой группы.

Существуют гипотезы, согласно которым информативность начальной стадии газового разряда и его установившегося режима различны [32, 33]. Для выделения двух временных срезов процесса развития газового разряда (так называемый функциональный и структурный режимы съемки) может быть использован более простой способ, не требующий записи большого объема информации в .avi-файл. Запись изображения газоразрядного свечения производится с заданной задержкой от момента начала экспозиции и с заданным количеством усредняемых кадров. Такой способ съемки изображений по сравнению со съемкой одиночного кадра, позволяет получить некоторое представление о различиях в изображении свечения на разных стадиях развития газового разряда.

Задавая для разных временных срезов режим съемки без усреднения и с ним, можно получить определенное представление об устойчивости процесса газоразрядного свечения по степени различия полученных изображений.

На рис. 4.3.3. показаны изображения газоразрядного свечения пальца руки, полученные при однократной съемке и съемке с накоплением. Как видно из данного рисунка, в одиночном кадре отсутствуют некоторые регулярно возникающие феномены, зарегистрированные в усредненном изображении, и, наоборот, в изображении при однократной съёмке имеются отдельные случайные (разовые) структуры, которые усредняются и поэтому отсутствуют в накопленном изображении. Здесь же отсутствуют также случайные точечные шумы, равномерно распределенные в спектре сигнала, что позволяет увеличить динамический диапазон яркостей при последующей обработке с целью получения количественных характеристик.



Рис. 4.3.3. Изображения газоразрядного свечения пальца для одиночного кадра и усредненного за время равное 1 с

На рис. 4.3.4 показан результат построения модели распределения энергетического поля вокруг тела человека с использованием однократной съемки пальцев рук и съемки с накоплением. Как видно из рис. 4.3.3, при обработке усредненных изображений выявляются не только интенсивные регулярные области свечения, но и устойчивые структуры, возникающие на уровне шумов.

Подход, связанный с получением различных временных срезов газоразрядного изображения, может быть развит и применен при организации покадровой съемки на заданном временном интервале с заданной периодичностью для мониторинга за состоянием биологического объекта. Режим покадровой съемки при достаточных временных интервалах позволяет организовать не только фиксацию изображений, но и отображение в реальном времени процесса изменения их количественных характеристик в графическом виде.

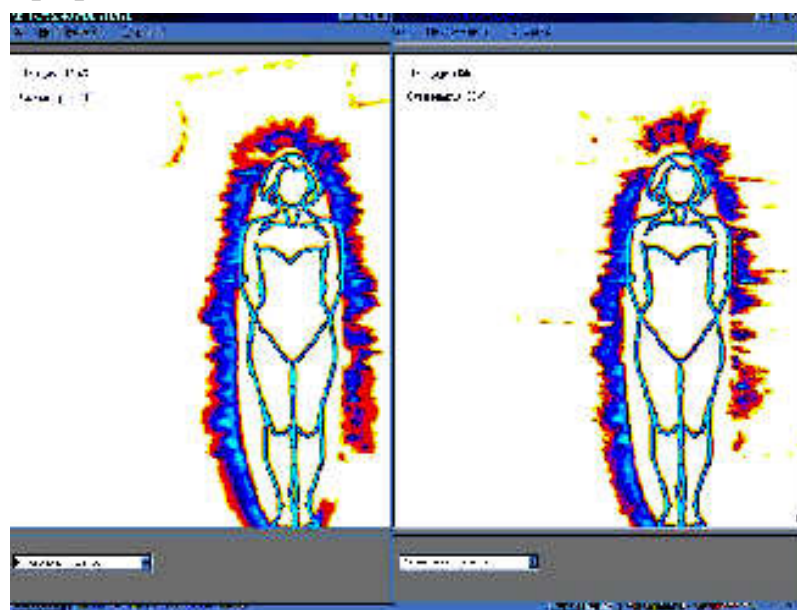


Рис. 4.3.4. Модели распределения энергетического поля тела человека: однократная съемка пальцев рук (справа), результат усреднения изображений (слева)

Моноимпульсный режим съемки

Наиболее распространена визуализация газоразрядного свечения при его возбуждении пачкой импульсов. В итоге получаемое изображение представляет собой суперпозицию картинок, полученных от воздействия каждого импульса в отдельности. Величина напряжения импульса определяет длину и интенсивность свечения стримеров, а частота повторения импульсов в пачке определяет общую величину засветки, состоящей из суммы стримеров. В целом картина вполне удовлетворительно отражает реакцию организма человека на результат воздействия и несет в себе информацию о его функционировании.

В теории сигналов есть понятие импульсной характеристики системы, которая с физической точки зрения, отображает реакцию системы на входной импульсный сигнал произвольной формы с единичной площадью при условии, что длительность этого сигнала пренебрежимо мала по сравнению с характерным временем установления стационарного состояния системы.

В идеальном случае импульсная характеристика системы порождается дельта-функцией:

$$\delta(x - x_0) = \begin{cases} \infty, & \text{если } x = x_0, \\ 0, & \text{иначе} \end{cases} \quad \text{при} \quad \int_{-\infty}^{\infty} \delta(x - x_0) dx = 1$$

и является откликом системы на входной сигнал $\delta(x - x_0)$:

$$h(x - x_0) = T\delta(x - x_0),$$

где T – некоторый оператор, описывающий стационарную систему.

Если система линейна, то выполняется принцип суперпозиции, согласно которому в системе отклик суммы входных воздействий будет равен сумме откликов на эти воздействия [75, 76].

Таким образом, отклик на воздействие пачки импульсов с точки зрения теории сигналов может нести неискаженную информацию об объекте только в случае линейности его характеристик. Однако биологический объект следует рассматривать как систему нелинейную. Поэтому необходимо, чтобы при периодических воздействиях выполнялось условие, при котором период следования импульсов воздействия

значительно превышал время установления стационарного режима (релаксации).

Вместе с тем, как считает В.М. Бондарев [77], воздействующие импульсы влияют как на сам исследуемый биологический объект, так и на близлежащее окружающее его пространство. При этом каждый последующий импульс вносит дополнительные изменения. С этой точки зрения наименьшие искажения относительно к изначальному состоянию биологического объекта вносит режим возбуждения газоразрядного свечения одиночным импульсом – моноимпульсный режим.

На рис. 4.3.5 приведены изображения газоразрядного свечения, полученные в моноимпульсном режиме, а также модели изображения, построенные по моноимпульсным ГРВ-граммам.

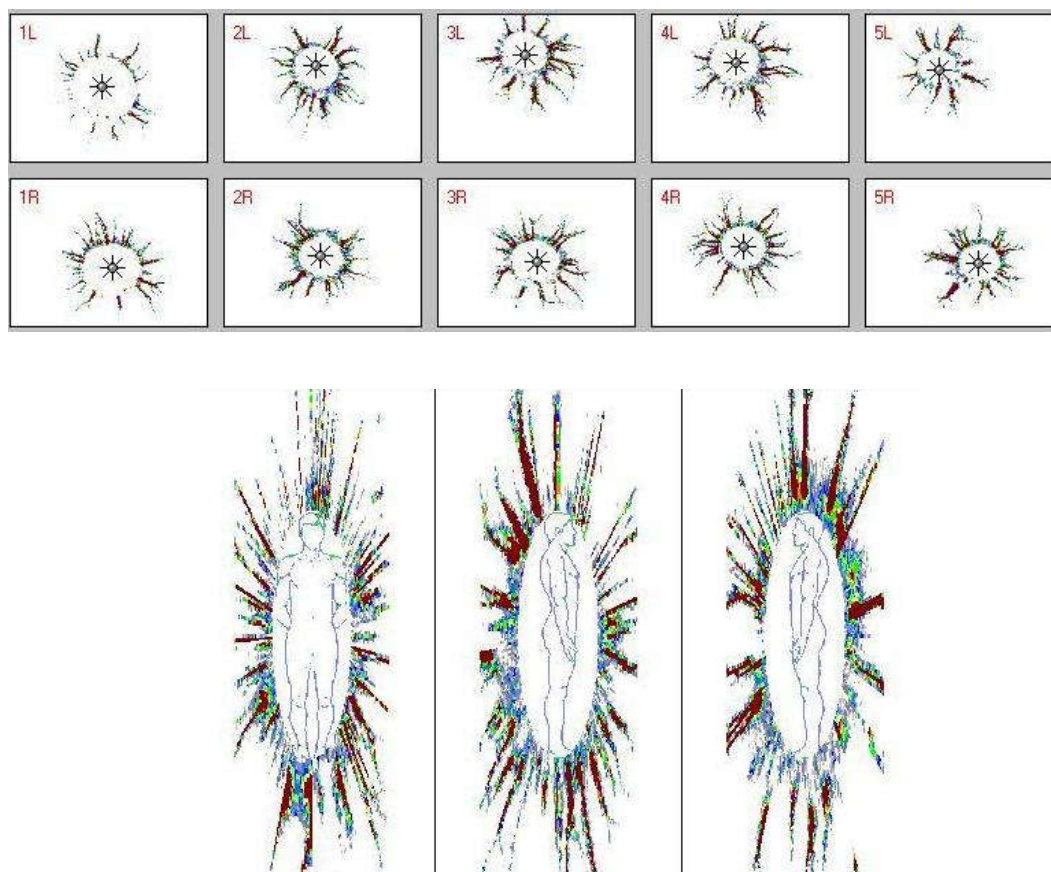


Рис. 4.3.5. Изображения и модели в моноимпульсном режиме

Работа телевизионной системы для визуализации газоразрядного свечения в моноимпульсном режиме аналогична работе ТСС в режиме импульсного экспонирования. На рис. 4.3.6 изображены временные диаграммы работы аппаратно-программной части в моноимпульсном режиме.

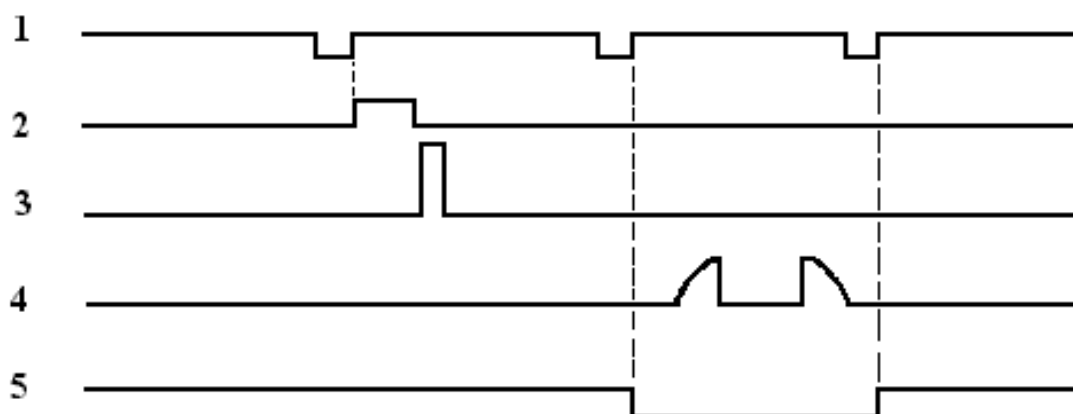


Рис. 4.3.6. Временные диаграммы моноимпульсного режима

С привязкой к КСИ (1) формируется импульс запуска (2) для обеспечения однократного включения генератора высокого напряжения во время прямого хода кадровой развертки (3) ТВ-камеры. Возникающая однократная вспышка газоразрядного свечения объекта формирует потенциальный рельеф на мишени матрицы ПЗС. Следующий телевизионный кадр (4) является одиночным информационным кадром и должен быть введен в устройство памяти по сигналу записи (5). Возможна привязка к системным кадрам и ввод в ЭВМ через стандартное устройство видеозаписи. Проблемы, возникающие в этом случае, аналогичны режиму импульсного экспонирования в ТСС и требуют дополнительных подборов величин программных задержек в каждой конкретной системе для обеспечения синхронизации устройств при захвате одиночного телевизионного кадра.

Спектрозональная съемка

Из литературы известно, что спектральный состав газоразрядного свечения включает в себя видимую и ультрафиолетовую области спектра. По данным, приведенным в работах К.Г. Короткова, основная мощность излучения приходится на ультрафиолетовую область спектра в диапазоне 300–400 нм. Следующим диапазоном, в котором присутствует значительная часть газоразрядного свечения является фиолетово-синяя область 400–450 нм. Отдельные пики в спектре свечения, амплитуда которых сопоставима с фиолетово-синей областью, присутствуют в красной области спектра 630–700 нм. На практике при построении телевизионной системы для визуализации газоразрядного свечения используется обычная стеклянная оптика и черно-белые телевизионные камеры с диапазоном спектральной чувствительности 380–1 000 нм. Применение цветных телевизионных камер, как показали эксперименты, нецелесообразно из-за их значительно меньшей чувствительности по сравнению с черно-белыми камерами, а также из-за отсутствия в наблюдаемом фиолетово-синем изображении газоразрядного свечения каких-либо существенных цветовых оттенков. Однако вопрос о целесообразности применения телевизионных

спектрозональных методов исследования газоразрядных изображений остается открытым.

Рассмотрим возможные варианты построения телевизионных спектральных систем, в которых обеспечивается выделение характерных для газоразрядного свечения участков спектра, а также некоторые практические результаты, полученные в ходе экспериментальных проверок их работоспособности.

Для выделения ультрафиолетовой области спектра требуется специальная оптика, а также специальные преобразователи свет/сигнал, что создает, с одной стороны, вполне определенные технические сложности, а с другой стороны, существенно увеличивает стоимость системы. В связи с этим представляют практический интерес варианты, предусматривающие трансформацию УФ-части излучения в видимую за счет специальных люминесцирующих покрытий предметного стекла, на которое устанавливается исследуемый объект. Для обеспечения работы системы в различных спектрах такое покрытие должно быть съемным, например, выполненным в виде люминесцирующей полимерной пленки. Простейшим, но достаточно эффективным образом трансформация УФ-света в видимую область может быть получена с использованием обычной тонкой бумажной салфетки. Фотолюминесценция целлюлозы под воздействием газоразрядного свечения, как показали эксперименты, позволяет в 2–2,5 раза повысить яркость получаемого изображения. Одновременно одноразовая салфетка выполняет гигиенические функции, предохраняя стеклянную поверхность от загрязнения руками пациента. Увеличение яркости получаемого изображения газоразрядного свечения за счет вторичной фотолюминесценции покрытий, в частности целлюлозы, позволяет снижать амплитуду воздействующих импульсов до минимальных значений, при которых возможно возникновение газоразрядного свечения, уменьшая тем самым степень воздействия на исследуемый объект.

Для выделения рассмотренных выше участков фиолетово-синего и красного диапазонов спектра газоразрядного свечения могут быть использованы стандартные цветные стекла, устанавливаемые перед приемником люминесценции. Проведенные эксперименты по разделению участков спектра газоразрядного свечения, в частности по выделению

красной области спектра, позволяют сделать определенные выводы о различиях в наблюдаемых изображениях. Так, например, сравнение изображений газоразрядного свечения, полученных с использованием светофильтров типа ОС-12, выделяющих оранжево-красную область спектра от 550 нм, и изображений сопоставимой интенсивности, полученных в том же режиме съемки, но с использованием нейтральных светофильтров, показывает на более четкое выявление в первом случае тонких структур, соответствующих стримерам (рис. 4.3.7).

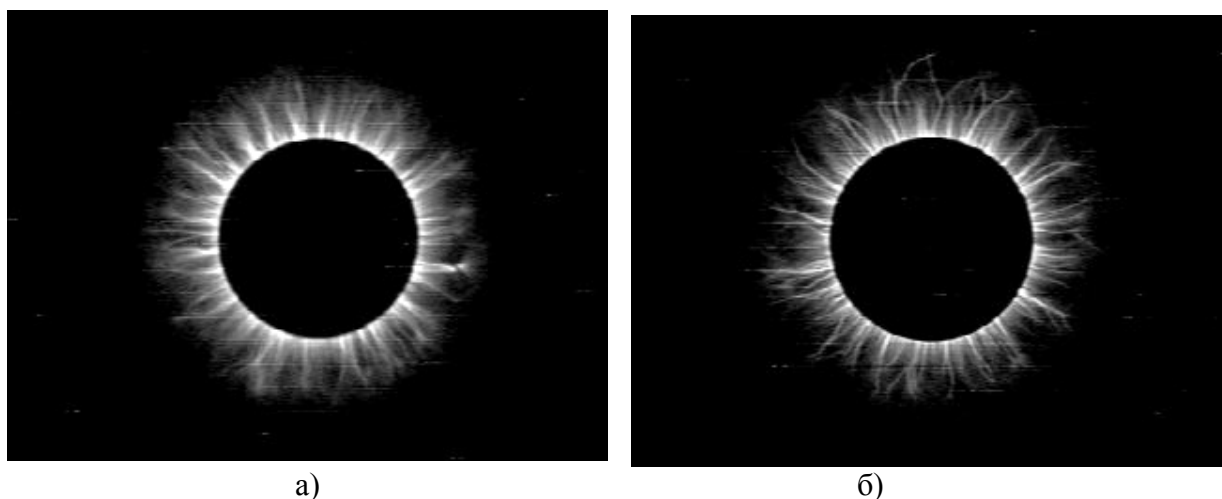


Рис. 4.3.7. Изображения тестового цилиндра:

а – съемка с нейтральным светофильтром; б – съемка со светофильтром ОС-12

Полученный эффект «скелетизации» стримеров, а также подчеркнутости наиболее интенсивно светящихся деталей изображения и подавлении фонового ореола может быть объяснен более широким спектром свечения стримеров, которые выглядят бело-голубыми по сравнению с фиолетово-голубым свечением ионизированного газа вокруг них.

Таким образом, использование телевизионных спектрональных методов может быть полезно для выделения характерных особенностей изображения при визуализации газоразрядного свечения.

4. Конструирование моделей для оценки функционального состояния организма человека по изображениям газоразрядного свечения пальцев рук

Взаимоотношения на множествах секторов ГРВ-грамм, моделей и диаграмм. Алгоритм конструирования. Примеры конструирования моделей и диаграмм.

В работах К.Г. Короткова предложено представлять изображения свечения пальцев рук в виде некоторого интегрального изображения – модели, отображающей распределение энергетического поля человека (ауры), состоящей из соединенных по определенным правилам различных участков (секторов) исходных изображений свечения пальцев.

Другим вариантом интерпретации служит кольцевая диаграмма, в которой графически отображаются результаты измерения площадей газоразрядного свечения в различных секторах пальцев. Такая сегментация исходных ГРВ-грамм в виде секторов, выходящих из общего центра наиболее удобна, поскольку ГРВ-граммы пальцев имеют форму, близкую к кругу или эллипсу. Для трансформации выделенных секторов при построении модели или кольцевой диаграммы также используется эллипс или круг, поскольку именно в этом случае наиболее простым образом можно организовать взаимосвязи между соответствующими секторами исходного изображения и секторами конструируемой диаграммы или модели.

Используя данный подход, поставим задачу в общем виде с целью создания более гибкого и удобного способа самостоятельной интерпретации пользователем получаемых результатов.

Введем понятие множества секторов, определяемых начальными δ_i и конечными δ'_i углами:

$$M\{\delta_i; \delta'_i\}$$

Тогда для нашего случая мы имеем следующие непересекающиеся множества:

– множество секторов ГРВ-грамм: $M_c\{\alpha_i; \alpha'_i\}$,

где $\alpha_i; \alpha'_i$ – начальные и конечные углы секторов ГРВ-грамм;

– множество секторов диаграмм: $M_d\{\beta_i; \beta'_i\}$,

где $\beta_i; \beta'_i$ – начальные и конечные углы секторов диаграмм;

– множество секторов моделей: $M_M\{\gamma_i; \gamma'_i\}$,

где $\gamma_i; \gamma'_i$ – начальные и конечные углы секторов моделей.

Организуем взаимосвязи на этих множествах, введя в M_M и M_D такие элементы, чтобы выполнялись условия:

$$M'_M \cap M_C \neq \emptyset, M'_D \cap M_M \neq \emptyset$$

Рис. 4.4.1. иллюстрирует отношения на множествах M_C, M_M, M_D до и после введения взаимосвязей.

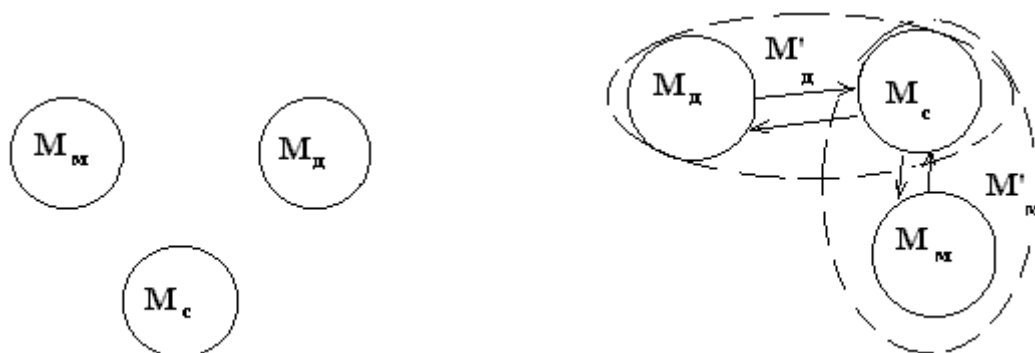


Рис. 4.4.1. Организация отношений на множествах M_C, M_M, M_D

Вводимые элементы взаимосвязи можно назвать *свойствами секторов* диаграммы (модели) и описать в виде таблиц соответствия элементов множеств M_M и M_D элементам множества M_C .

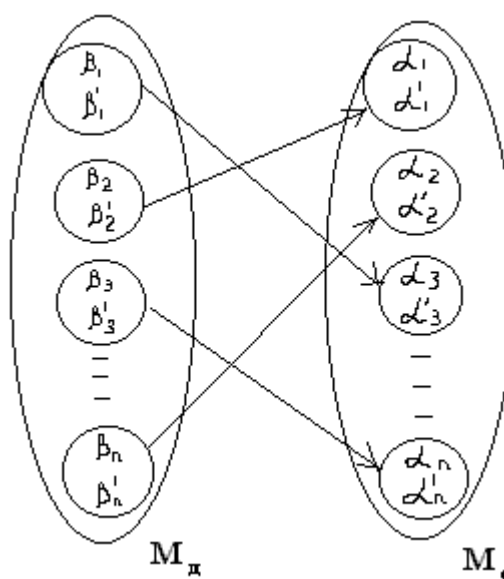


Рис. 4.4.2. Пример отношений на двух множествах M_D и M_C при установлении между их элементами взаимно-однозначного соответствия

Различные варианты взаимосвязей на множествах M_d и M_c , а также M_m и M_c предопределяют наличие множества схем M_{cx} представления (интерпретации) информации, содержащейся в ГРВ-граммах.

Рассмотренные выше взаимоотношения однозначно определяют соответствие секторов ГРВ-грамм, диаграмм и моделей, но не определяют их вид. Введя понятие *свойства диаграммы* – I_d и *свойства модели* – I_m , мы можем изменять их внешний вид и конфигурацию (пропорции).

Пусть $M_{шд}$ – множество шаблонов диаграмм, а $M_{шм}$ – множество шаблонов моделей, тогда для организации взаимосвязей, например, между множеством M_d и $M_{шд}$ дополним M_d' элементами I_d таким образом, чтобы выполнялось условие:

$$M_d'' \cap M_{шд}'' \neq \emptyset,$$

аналогично $M_m'' \cap M_{шм}'' \neq \emptyset$ при введении I_m

Обобщенно взаимосвязи между изображениями (ГРВ-граммами) и их интерпретациями иллюстрируются рис. 4.4.3 и определяют полное множество схем M_{cx} .

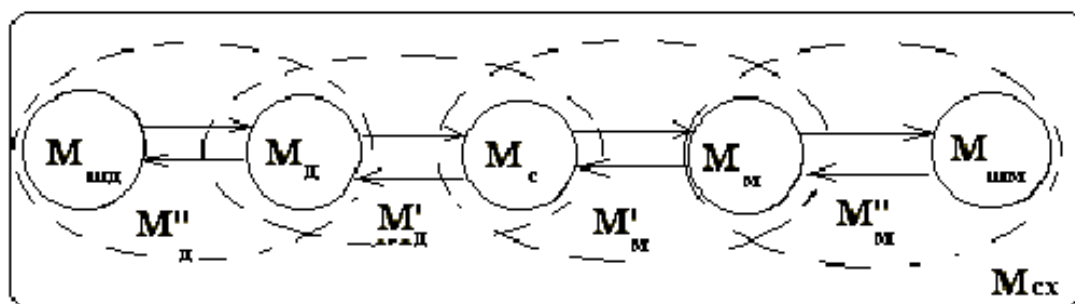


Рис. 4.4.3. Иллюстрация взаимосвязей в множестве схем M_{cx}

Рассмотренные выше взаимосвязи могут быть положены в основу алгоритмов конструирования диаграмм и моделей интегральных изображений секторов ГРВ-грамм.

В результате алгоритм конструирования модели (диаграммы) может быть сведен к следующим шагам:

1) для изображения каждого из пальцев задается требуемое количество секторов, выходящих из общего центра, и их взаимное расположение;

2) определяются свойства каждого сектора путем задания названий или идентификаторов;

3) для выбранного шаблона (круга или эллипса с заданными размерами) модели или диаграммы задается требуемое количество секторов и их взаимное расположение;

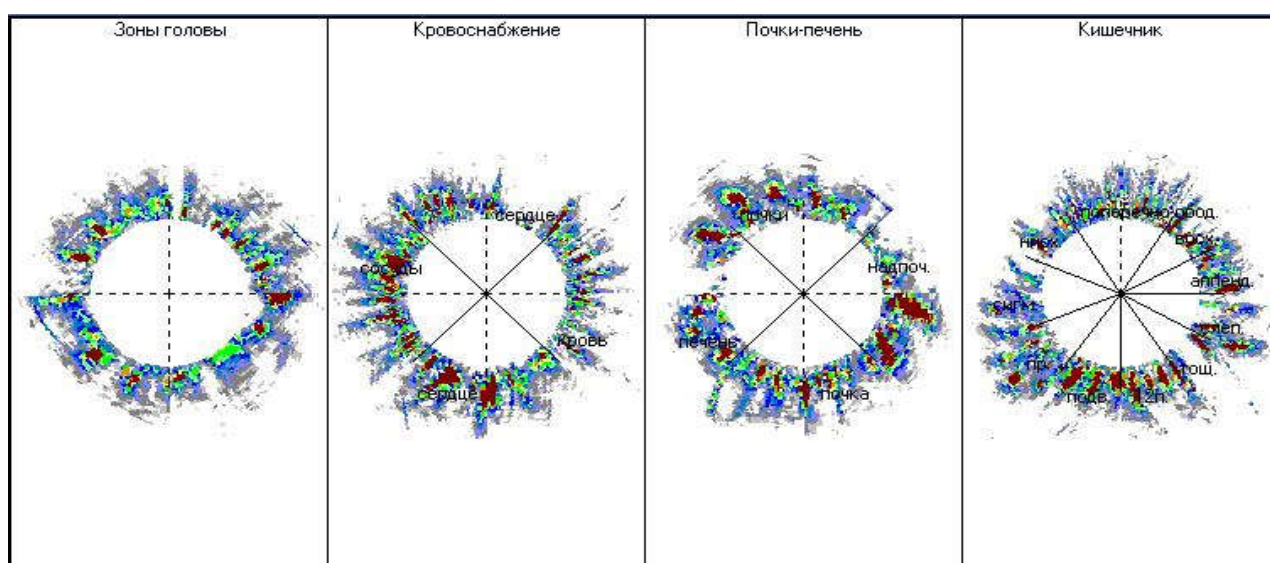
4) каждому сектору модели или диаграммы ставится в соответствие идентификатор сектора пальца;

5) созданная схема секторального разбиения запоминается.

По данному алгоритму может быть создано множество схем, позволяющих по-разному интерпретировать исходные ГРВ-граммы.

Интегральное изображение отличается повышенной информативностью за счет соединения в нем фрагментов изображения, выбранных в соответствии с заложенной схемой и наиболее важных в данный момент для исследователя. Различные схемы построения и полученные в соответствии с ними интегральные изображения – модели, а также диаграммы взаимно дополняют друг друга и позволяют использовать различные подходы для разработки диагностических методик.

На рис. 4.4.4 представлен ряд моделей, в которых отображаются зоны, связанные с функционированием определенных органов и систем, в соответствии с предложенным К.Г. Коротковым секторальным разбиением



ГРВ - грамм пальцев рук.

Рис. 4.4.4. Модели отдельных органов и систем

Аналогично на рис. 4.4.5 представлены диаграммы, дифференцированно отображающие функционирование определенных систем и органов.



Рис. 4.4.5. Построение кольцевой диаграммы

На рис. 4.4.6 представлен пример более информативной модели распределения энергетического поля вокруг тела человека по сравнению с описанной в работе К.Г. Короткова [28]. Модель отличается наличием четвертой проекции, обеспечивающей более равномерное, без пропусков и повторений, распределение зон изображения, связанных с определенными секторами ГРВ-грамм. Рассмотренный выше подход дает широкие возможности для творчества в сочетании с возможностью самостоятельного создания палитр цветового контрастирования изображений для поиска наиболее удачного выделения особенностей в распределении интенсивностей газоразрядного свечения.

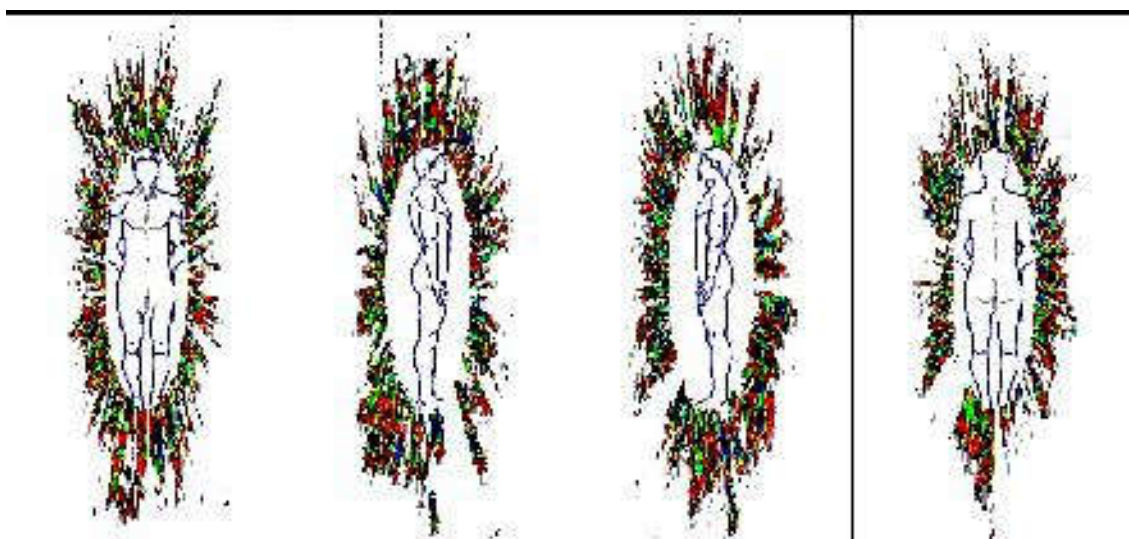


Рис. 4.4.6. Четырехпроекционная модель распределения энергетического поля
вокруг тела человека

5. Обработка газоразрядных изображений и алгоритмы определения их внутренних областей

Операции цифровой обработки газоразрядных изображений. Алгоритмы определения внутренней области. Примеры изображений с выделенной внутренней областью.

Последовательность цифровой обработки газоразрядных изображений (ГРВ-грамм) сводится к следующим операциям:

1. Установка нижней границы диапазона обработки сигнала, находящейся выше уровня фона и шумов телевизионного датчика.
2. Установка верхней границы диапазона обработки сигнала, соответствующей его пиковому значению.
3. Преобразование яркостей изображения путем пересчета значений сигнала в заданном диапазоне для их равномерного перераспределения в полном динамическом диапазоне.
4. Цветовое контрастирование в соответствии с выбранной палитрой цветов, соответствующих заданным участкам диапазона яркостей изображения.
5. Определение центра тяжести изображения.
6. Вписывание овала во внутреннюю область изображения.
7. Построение радиусов из центра тяжести и количественный анализ секторов изображения, начиная от внешней границы вписанного овала.
8. Перенос сектора исходного изображения на сектор модели и его трансформация (сжатие или растяжение).

Для сглаживания шумов в изображениях газоразрядного свечения, полученных при съемке одиночных кадров, возможна внутрикадровая обработка изображения, заключающаяся в усреднении сигналов соседних элементов внутри апертуры. После усреднения целесообразно произвести яркостное преобразование в соответствии с динамическим диапазоном сигнала. Поскольку для количественного анализа газоразрядных изображений обычно используется формат 320×240 эл., то при вводе изображения со стандартным разрешением 640×480 эл. становится

возможным укрупнение апертуры в 4 раза и, соответственно, усреднение сигналов от 4-х элементов в смежных окнах размером 2×2 эл.

Результаты количественного анализа и построения модели существенно зависят от точности вписывания овала во внутреннюю область изображения. В реальных изображениях точного соответствия внутренней области овалу практически не бывает. Поэтому при обработке изображений для повышения точности получаемых результатов необходимо обеспечить выделение внутренней области изображения ГРВ-граммы. Задача выделения внутренней области может быть сведена к обходу внутреннего контура только при отсутствии в нем разрывов. На практике разрывы свечения пальца – явление типичное.

Один из алгоритмов выделения внутренней области основан на построении вдоль ее границ многоугольника с заданным количеством сторон. Построение многоугольника начинается от первой точки пересечения радиуса, проведенного из центра изображения, с его внутренней границей. Далее от точки пересечения строится следующая сторона многоугольника под углом к предыдущей:

$$\alpha = \frac{180 \cdot (n - 2)}{n},$$

где n – число сторон многоугольника, до очередной точки пересечения с внутренней границей и т. д. $(n - 1)$ раз. Последняя сторона многоугольника строится соединением начала и конца ломаной линии, полученной в результате $(n - 1)$ предыдущих шагов. Образованный таким способом неправильный многоугольник более точно, по сравнению со вписываемым овалом, повторяет внутреннюю область ГРВ-граммы. Естественно точность аппроксимации повышается при увеличении числа n .

Для устранения возможных выходов стороны многоугольника за пределы внутренней области, в результате попадания в разрыв, вводится критерий «неокруглости» строящейся внутренней зоны, при нарушении которого длина стороны, выходящей в разрыв, ограничивается заданным значением. На рис. 4.5.1 показан пример эффективности алгоритма выделения внутренней области по сравнению с построением вписанного овала.

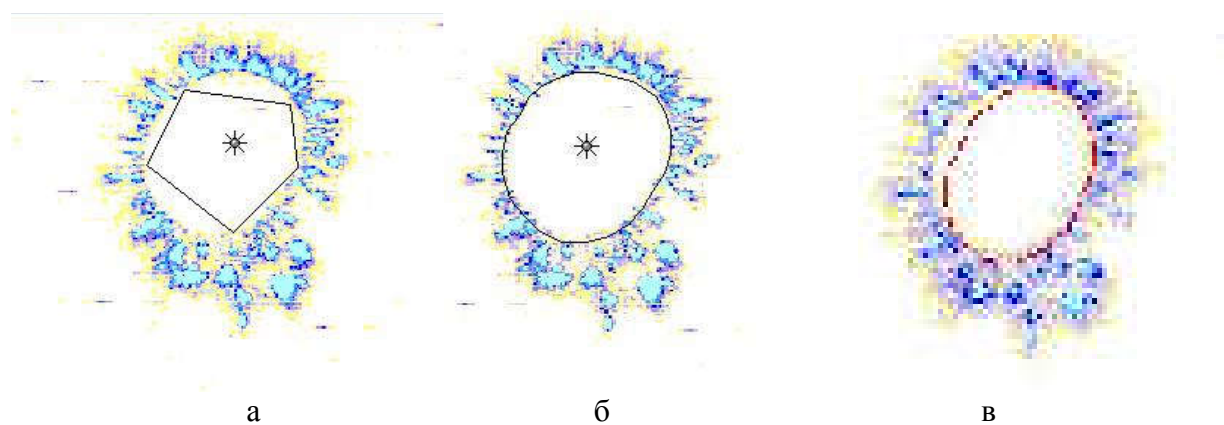


Рис. 4.5.1. Результат выделения внутренней области путем построения многоугольника при $n = 5$ (а), $n = 25$ (б) и вписывания овала (в)

6. Телевизионная аппаратура для визуализации газоразрядного свечения

В данном разделе рассматривается аппаратура газоразрядной визуализации, разработанная и выпускаемая во ФГУП НИИПТ «Растр», Великий Новгород.

Прибор для исследования газоразрядного свечения «Корона – ТВ»

Прибор для исследования газоразрядного свечения «Корона – ТВ» создан совместно с лабораторией профессора К.Г. Короткова (ЗАО «КТИ», г. Санкт-Петербург).



Рис. 4.6.1. Внешний вид прибора «Корона –ТВ»

Прибор предназначен для визуализации газоразрядного свечения различных объектов: тканей, участков кожи, образцов жидкостей, материалов, биологических и цитологических проб и т. д. при воздействии на них переменным электрическим полем высокой напряженности. Возникающее газоразрядное свечение объектов преобразуется в телевизионный сигнал. Программное обеспечение, входящее в комплект поставки, позволяет вводить изображения в ЭВМ через стандартное устройство видеозаписи и управлять режимами работы прибора и экспозицией.

Возможные области применения:

- мониторинг психофизиологического состояния организма человека;
- контроль проб биологических жидкостей, тканей, зерен и растений, в процессе изменения их биологической активности;
- контроль проб воды при изменении их физико-химических свойств.

Технические характеристики:

Рабочее поле зрения:	$\varnothing 35 \pm 5$ мм
Питание от сети:	220 В, 50 Гц
Диапазон рабочих напряжений:	4–12 кВ
Частота высоковольтных импульсов:	1 кГц
Габаритные размеры:	335 × 286 × 122 мм
Масса:	3,5 кг

Аппарат биоуправляемой терапии воздействия на кожу газовым коронным разрядом «Коррекс»

Аппарат «Коррекс» разработан совместно с лабораторией профессора К.Г. Короткова (ЗАО «КТИ», г. Санкт-Петербург).



Рис. 4.6.2. Внешний вид аппарата «Коррекс»

Предназначен для лечения:

- кожных заболеваний;
- дегенеративно-дистрофических процессов;
- различных повреждений и травм;
- последствий хирургических вмешательств.

Используется для коррекции:

- сосудистого тонуса и профилактики утомления;
- повышения иммунитета человеческого организма.

Принцип действия:

- аппарат формирует переменное электрическое поле высокой напряженности, вызывающее газовый разряд вокруг участка кожного покрова человека;
- программное обеспечение позволяет управлять интенсивностью газового разряда и его продолжительностью, наблюдать возникающее газоразрядное свечение участков кожного покрова человека на дисплее ЭВМ через стандартное устройство видеозаписи.

Технические характеристики:

Рабочее поле:	30 × 40 мм
Напряжение питания:	220В
Диапазон рабочих напряжений:	4–5 кВ
Частота высоковольтных импульсов:	1 кГц
Габаритные размеры:	335 × 266 × 132 мм
Масса:	4,5 кг

Система газоразрядной визуализации «Стример»

Новые схемотехнические и конструкционные решения, разработанные в НИИПТ «Растр», реализованы в системе газоразрядной визуализации «Стример».

Систему отличает модульный принцип построения, малые габариты, наличие выносных БЭО, выполненных в различных модификациях: горизонтально устанавливаемый блок с диаметром электрода 60 мм и блоки типа «пистолет» с диаметрами электродов 10, 30 и 60 мм. Особенностью построения системы «Стример» является вынесение высоковольтного трансформатора в состав БЭО, что позволяет увеличить длину кабеля, соединяющего БЭО с генератором, до 1,5–2 м.

Съемка с помощью горизонтального блока производится традиционным способом, когда пациент сам прикладывает палец руки к электроду. Пуск генератора и запись изображения производится от клавиши «мыши». При использовании «пистолетов» специалист, производящий съемку, прикладывает электрод к участку кожного покрова пациента, а команда ПУСК, включающая генератор и фиксирующая кадр изображения, инициируется от пусковой кнопки «пистолета».

Различный диаметр электрода определяет следующее преимущественное применение модификаций БЭО. Горизонтальный блок 60 мм предназначен для традиционной съемки изображений пальцев рук, образцов жидкостей, минералов, зерен растений и т. п. объектов.

«Пистолет» 60 мм предназначается для съемки изображений пальцев рук взрослых пациентов с ограниченной подвижностью суставов. «Пистолет» 30 мм предназначен для съемки изображений пальцев детей дошкольного возраста. «Пистолет» 10 мм предназначен для визуализации акупунктурных точек и воздействия на них. БЭО 30 мм и 60 мм модификации «пистолет» могут быть также использованы для визуализации и терапевтического воздействия на отдельные участки кожного покрова человека.

На рис. 4.6.3 представлен внешний вид приборов системы газоразрядной визуализации «Стример».

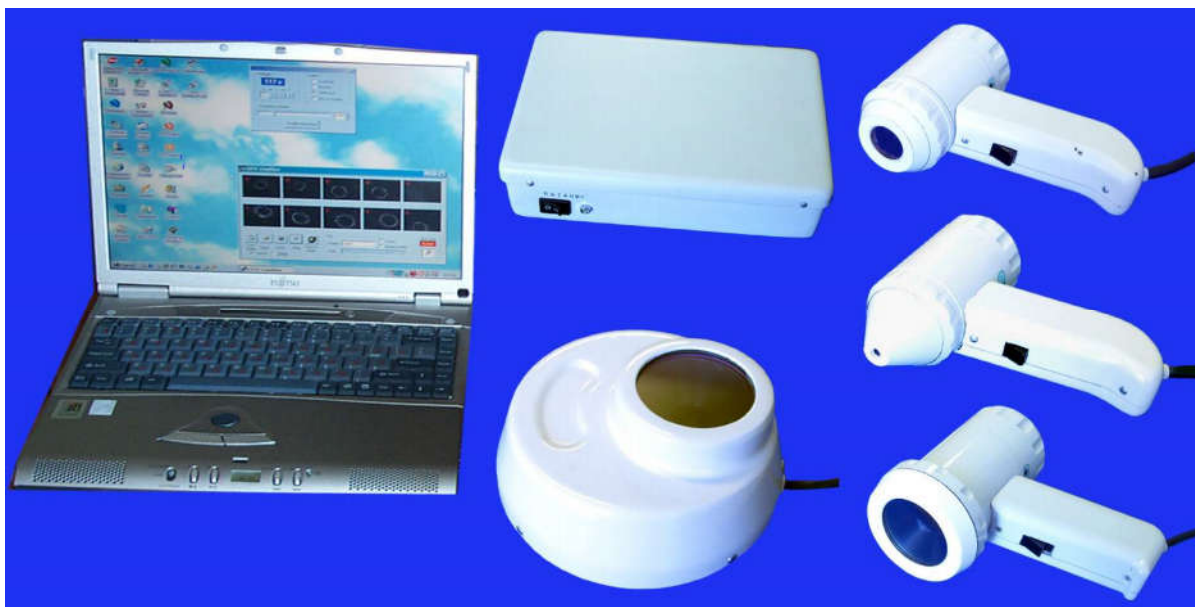


Рис. 4.6.3. Внешний вид приборов системы газоразрядной визуализации «Стример»
Справа – три модификации БЭО типа «пистолет» с различными диаметрами электродов, в центре внизу – горизонтальный вариант БЭО, в центре сверху – программно перестраиваемый генератор, слева – ноутбук с открытой панелью управления программы «GDV – Grabber 20»

Питание программно перестраиваемого генератора осуществляется от стандартного сетевого блока питания для компьютеров типа ноутбук или от аккумулятора 12 В. К генератору может быть подключен БЭО любой модификации. Управление генератором производится от компьютера через COM-порт по стандартному протоколу обмена RS-232. Генератор имеет встроенный микроконтроллер, обеспечивающий возможность выполнения перестройки частоты и амплитуды напряжения импульсов генератора в диапазоне 500–3 000 Гц и 3–10 кВ соответственно. Программа управления генератором и записью изображения «GDV – Grabber 20» имеет аналогичную с рассмотренной выше программой «GDV – Grabber 21» панель управления, отличающуюся наличием дополнительных регулировок (рис. 4.6.4).

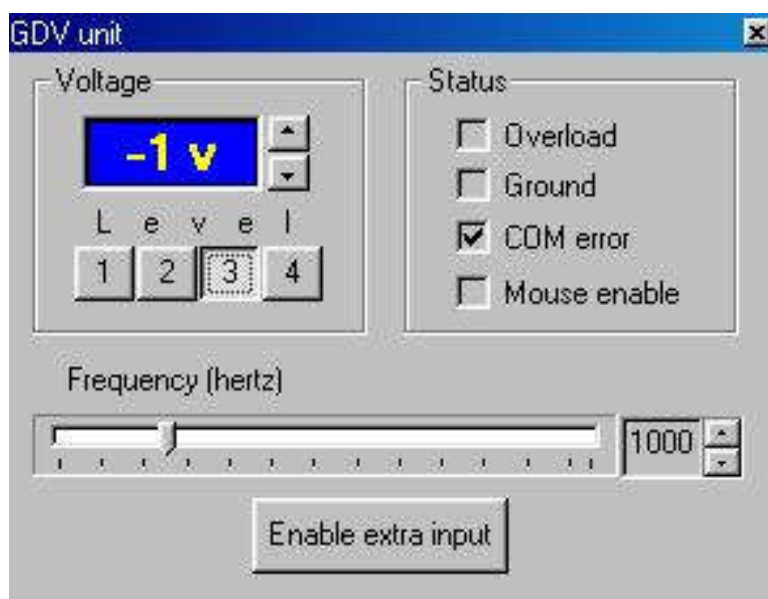


Рис. 4.6.4. Панель управления генератором в программе «GDV – Grabber 20»

С помощью регулировок выходное напряжение импульсного стабилизатора может быть задано для любого из четырех режимов работы. Частота импульсов задается одновременно для всех режимов работы. Выставленные уровни и частота напряжения запоминаются и автоматически устанавливаются при последующих включениях системы. В программе предусмотрена возможность отключения внешнего запуска системы от кнопки «пистолета» и переход к запуску от кнопки «мыши».

7. Стабильность аппаратуры визуализации газоразрядного свечения

Стабильность работы аппаратуры газоразрядной визуализации весьма важна для воспроизводимости получаемых результатов исследований. В качестве параметра для оценки стабильности аппаратуры обычно используется значение среднеквадратического отклонения – σ_s площади свечения – S тест-объекта. Тест-объектом служит металлический цилиндр с полированными краями [78]. По методу моментов [79]:

$$\sigma_s = \sqrt{D_s},$$

где $D_s = \frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (S_i - \bar{S})^2$ – дисперсия,

$\bar{S} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n S_i$ – математическое ожидание площади свечения.

Стабильность газоразрядного свечения может оцениваться также коэффициентом вариации, который равен отношению среднеквадратичного отклонения случайной величины к ее математическому ожиданию, выраженному в процентах.

$$B = \frac{\sigma_s}{\bar{S}} \cdot 100\%$$

Величины среднеквадратического отклонения и коэффициента вариации для площади свечения существенно зависят от метода съемки и от величины нижней границы динамического диапазона, используемой при обработке изображения. Так или иначе факторы нестабильности процесса формирования газоразрядного свечения и его преобразования в телевизионный сигнал проявляются во флуктуациях последнего. Однако, если факторы нестабильности, связанные непосредственно с процессом формирования газоразрядного свечения, влияют, в основном, на временное положение и длительность импульсов видеосигнала, то факторы нестабильности, связанные с преобразованием свет/сигнал, в основном,

сказываются на уровне шумов в видеосигнале, который и определяет выбор нижней границы динамического диапазона.

Вместе с тем на уровень шумовых выбросов в видеосигнале могут оказывать влияние разного рода помехи, связанные с формированием высоковольтных импульсов и с паразитными утечками высокого напряжения. Такие шумовые выбросы имеют характер одиночных импульсных помех, распределенных по полю изображения. С другой стороны, флуктуации фронтов видеосигнала, величина которых зависит от уровня шумов телевизионного канала, влияют на результат измерения длительностей импульсов видеосигнала (хорд объекта), сумма которых определяет площадь свечения.

В начальной стадии развития газоразрядного свечения стабильность получаемых результатов зависит от переходных процессов, связанных как непосредственно с возникновением газового разряда, так и со схемотехникой телевизионной камеры и устройства ввода изображений, в частности работой автоматических регулировок усиления (АРУ) и уровня «черного» в видеосигнале (АРУЧ).

На характер свечения большое влияние оказывает степень ионизации поверхности и воздушного промежутка, в котором возникает газовый разряд. Это явление особенно сильно проявляется при съемке в моноимпульсном режиме если после первой съемки производится повторная с небольшим перерывом, при котором еще сохраняется ионизация от предыдущего воздействия. В результате непрерывной съемки это явление менее заметно, однако, его следует учитывать для воспроизводимости получаемых результатов особенно при однократной съемке с минимальной задержкой относительно начала экспозиции.

В качестве примера возможного влияния АРУЧ видеобластера на изображения начальной стадии развития газоразрядного свечения приведем кадры AVI-файла с параметрами 18 кадров в секунду, полученного при бланкировании видеосигнала сигналом запуска экспозиции прибора «Корона–ТВ», и результат их количественной обработки (рис. 4.7.1).

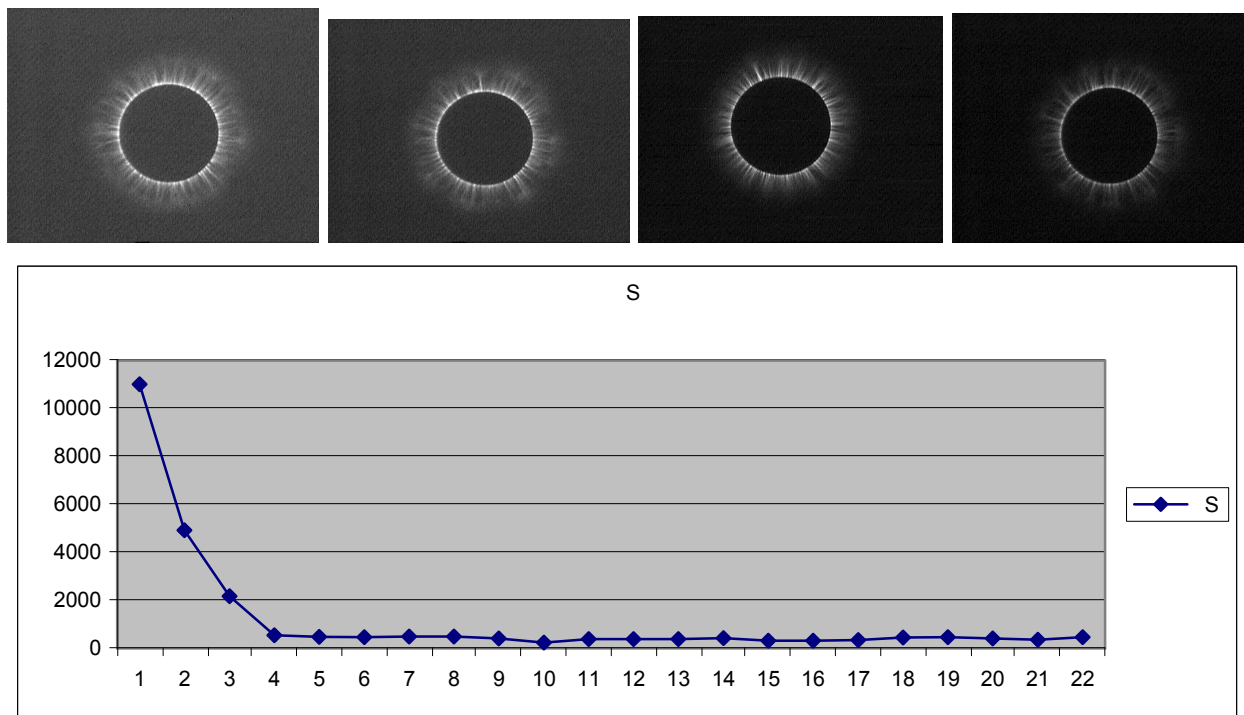


Рис. 4.7.1. Обработка АРУЧ видеобластера и результаты измерения площади S во время переходного процесса

Рассмотрим влияние шума телевизионного канала на точность измерения основных геометрических параметров объектов при однократном сканировании. Измерение горизонтального размера объекта сводится к определению разности координат положения переднего и заднего импульса хорды. Координаты начала и конца импульса хорды определяются точками пересечения переднего и заднего фронтов видеосигнала с пороговым уровнем. Определим X_2 и X_1 – координаты переднего и заднего фронтов импульса хорды.

Как известно [56], шум телевизионного канала аппроксимируется гауссовым законом распределения с параметрами $U_{ш}$ и $U_{эфф}$, где $U_{ш}$ – математическое ожидание напряжения шума, $U_{эфф}$ – эффективное значение напряжения шума (среднеквадратическое отклонение). В результате квантования аддитивной смеси сигнала и шума возникают флуктуации длительности видеоимпульсов. Пусть ΔX_2 и ΔX_1 – величины флуктуаций положений фронтов импульса хорды (рис. 4.7.2). Будем считать, что ошибка дискретизации пренебрежимо мала. Тогда $\Delta X_1 = \Delta X_2 = AU_{ш}$, где $A = \frac{\Delta t}{U_c}$, Δt – длительность фронта видеоимпульса, U_c – напряжение сигнала [80].

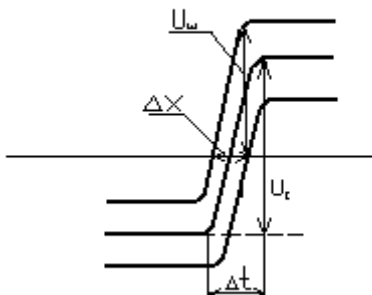


Рис. 4.7.2. Влияние шума на точность измерения координаты фронта импульса хорды

Таким образом, случайные величины X_2 и X_1 оказываются распределенными по нормальному закону с математическими ожиданиями $m_{x_2} = A\overline{U_{ш}}$ и $m_{x_1} = A\overline{U_{ш}} + \tau$,

где τ – длительность импульса хорды, и среднеквадратическим отклонением:

$$\sigma_{x_1} = \sigma_{x_2} = AU_{эфф} = \sigma$$

Разность координат $Z = X_1 - X_2$ – случайная величина, соответствующая горизонтальному размеру объекта, являясь композицией двух нормально распределенных случайных величин, распределена нормально с параметрами:

$$m_z = m_{x_1} - m_{x_2} = \tau$$

$$\sigma_z = AU_{эфф}\sqrt{2}$$

Площадь объекта, определяемая как сумма длин его хорд, представляющих собой независимые случайные величины, также является величиной случайной, имеющей нормальное распределение с параметрами:

$$m_s = \sum_{i=1}^n \tau_i$$

$$\sigma_s = AU_{эфф}\sqrt{2n},$$

где n – количество хорд.

Таким образом, среднее значение горизонтального размера и площади объекта не зависит от шумов телевизионного канала, а

среднеквадратическое отклонение пропорционально эффективному значению напряжения шума.

Рассмотрим влияние шума на точность измерения периметра. При измерении периметра в телевизионных анализаторах используется метод [81], заключающийся в замене контурной линии ломаной, образованной отрезками прямых, соединяющих точки контурной линии в смежных строках телевизионного раstra. Отрезки прямой являются гипотенузами в прямоугольных треугольниках, катетами в которых являются хорды антисовпадений L и отрезки, равные величинам межстрочных расстояний δ . Периметр является суммой гипотенуз:

$$P = \sum_{i=1}^n G_i$$

При оценке влияния шума на точность измерения периметра найдем сначала характеристики случайных величин L и G , связанных между собой функциональной зависимостью. Характеристики гипотенузы определяют характеристики периметра по известным теоремам сложения математических ожиданий и дисперсий.

Длина хорды антисовпадений L определяется по формулам:

$$L = |X| \quad \text{или} \quad L = |X'|,$$

где X и X' – разности координат, соответственно, передних и задних фронтов смежных хорд.

Случайные величины X и X' имеют распределение, аналогичное с рассмотренной выше случайной величиной Z . В данном случае τ – длительность хорды антисовпадений. Так как механизм образования флуктуаций переднего и заднего фронтов видеоимпульсов одинаков, то в дальнейшем будем рассматривать только величину X .

Пользуясь формулами вычисления характеристик случайных величин [82], получим следующие выражения для математического ожидания и дисперсии хорды антисовпадений:

$$m_L = \frac{2AU_{эфф}}{\sqrt{\pi}} \ell^{\frac{-\tau^2}{4A^2U_{эфф}^2}} + \tau \left[1 - \Phi^* \left(-\frac{\tau}{AU_{эфф}\sqrt{2}} \right) \right],$$

где Φ^* – табулированная функция Лапласа.

В частности, при $\tau = 0$, $A = 1$, $m_L = \frac{2U_{эфф}}{\sqrt{\pi}} \approx 1,13U_{эфф}$,

$$D_L = 2U_{эфф}^2 \left(1 - \frac{2}{\pi}\right) \approx 0,72U_{эфф}^2.$$

При достаточно больших значениях τ можно считать:

$$m_L = \tau, \sigma_L = \sqrt{D_L} = AU_{эфф}\sqrt{2}.$$

Раскладывая функцию $G = \sqrt{S^2 + L^2}$ в ряд, и, ограничиваясь числом членов ряда равным 2, определим значение математического ожидания гипотенузы:

$$m_G = \delta + \frac{A^2U_{эфф}^2}{\delta} + \frac{\tau^2}{2\delta}.$$

Тогда математическое ожидание периметра:

$$m_P = \delta + \frac{A^2U_{эфф}^2}{\delta} + \sum_{i=1}^n \frac{\tau_i^2}{2\delta}.$$

Анализ полученного выражения показывает, что имеет место положительное смещение оценки периметра в результате воздействия шума, которое может быть объяснено увеличением изрезанности контура объекта с ростом шумов.

Оценим длину АВ объекта протяженной формы, аппроксимируемого отрезком прямой, расположенным под произвольным углом α к направлению сканирования. Пренебрегая ошибкой отсчетов конечных точек отрезка, попадающих в общем случае в межстрочные промежутки, длину отрезка можно выразить следующим образом:

$$AB = n G,$$

где n – число гипотенуз.

Величина математического ожидания проекции каждой из гипотенуз на ось X для данного случая постоянна и равна:

$$\tau = \frac{\delta}{\operatorname{tg} \alpha}.$$

Следовательно, при наличии шума оценка математического ожидания длины отрезка прямой выражается следующим образом:

$$m_{AB} = nm_G,$$

где

$$m_G = \frac{\delta}{2} + \frac{U_{эфф}^2 A^2}{\delta} + \frac{\delta}{2 \sin^2 \alpha}.$$

Анализ полученного выражения показывает, что величина математического ожидания, а следовательно и абсолютной ошибки в измерениях длины отрезка, начинает существенно возрастать лишь при малых углах наклона $\alpha < 20^\circ$.

Рассмотрим влияние шума на точность измерения горизонтальной проекции объекта, которая определяется выражениями:

$$\begin{aligned} L_\Gamma &= X_{\max} - X_{\min} \\ X_{\max} &= \max\{X_{1i}\} \\ X_{\min} &= \min\{X_{2i}\} \end{aligned}$$

где X_{1i} и X_{2i} – случайные координаты задних и передних фронтов импульсов хорд, имеющие нормальный закон распределения с математическими ожиданиями m_{x1} и m_{x2} и среднеквадратическим отклонением $\sigma = AU_{эфф}$.

Так как при вычислении проекции в процессе сканирования изображения объекта сравниваются координаты X_1 и X_2 фронтов хорд текущей строки с координатами X'_1 и X'_2 фронтов хорд предыдущей строки и определяются $X_{\max}$ и $X_{\min}$, то для оценки влияния шума на точность измерения проекции необходимо определить значения математических ожиданий и дисперсий следующих случайных величин:

$$\begin{aligned} X_{\max} &= \{X_{1i}, X'_1\} \\ X_{\min} &= \{X_{2i}, X'_2\} \end{aligned}$$

Математическое ожидание $m_{X_{\max}}$ величины $X_{\max}$ выражается следующей формулой:

$$m_{X_{\max}} = \int_{-\infty}^{\infty} \max\{X_1, X'_1\} dX_1.$$

Производя необходимые вычисления, получим выражение:

$$m_{X \max} = m_{X1} - \sigma \left[K_1 \Phi^*(K_1) + \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \ell^{-\frac{K_1^2}{2}} \right],$$

где $K_1 = \frac{X'_1 - m_{X1}}{\sigma}$.

Аналогичным образом определяется математическое ожидание $m_{X \min}$ величины $X_{\min}$:

$$m_{X \min} = m_{X2} - \sigma \left[K_2 \Phi^*(K_2) + \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \ell^{-\frac{K_2^2}{2}} \right],$$

где $K_2 = \frac{X'_2 - m_{X2}}{\sigma}$.

Поскольку флуктуации передних и задних фронтов импульсов хорд имеют одинаковый характер, то математическое ожидание горизонтальной проекции может быть выражено следующим образом:

$$m_{L_r} = m_{X \max} - m_{X \min} = m_{X1} - m_{X2} + 2M\sigma,$$

где $M = \left[K \Phi^*(K) + \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \ell^{-\frac{K^2}{2}} \right].$

Анализ полученных выражений показывает, что положительное смещение оценки горизонтальной проекции объекта при воздействии шума составляет $2M\sigma$. При известных значениях A и $U_{эфф}$ для данного канала это смещение может быть учтено в процессе измерения.

Таким образом, при воздействии шума телевизионного канала смещение оценки вычисляемого геометрического параметра появляется при наличии его функциональной зависимости от измеряемой случайной величины (напр., зависимость периметра от длительности хорды антисовпадений). Полученные аналитические выражения позволяют производить оценку точности результатов измерения основных геометрических параметров при воздействии шума, а также могут быть использованы для определения величин, компенсирующих смещение оценок [83, 84].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представленные в книге исследования и разработки характеризуют состояние метода телевизионной визуализации люминесцирующих объектов, а также некоторые прикладные задачи обработки их изображений применительно к криминалистике, молекулярной биологии и медицине. Замена фотографического метода визуализации в сочетании с методами компьютерной обработки изображений позволяет выйти на качественно новый технический уровень, существенно повысив оперативность регистрации изображений и их анализа с получением количественных характеристик и интерпретаций результатов исследований в графическом, табличном или текстовом виде.

Люминесцентные изображения, несмотря на разнообразие объектов их порождающих, обладают определенными свойствами, позволяющими объединить такие изображения в особый класс, который требует специфических подходов к построению телевизионной аппаратуры. Метод телевизионной визуализации люминесцирующих объектов постоянно развивается, совершенствуется аппаратно-программная часть, осваиваются новые прогрессивные направления, связанные с цифровой видеотехникой, интерференционной оптикой и новыми источниками оптического излучения, а также с современными компьютерными технологиями.

В монографии рассмотрены три области применения телевизионной аппаратуры, визуализирующей люминесценцию, – это криминалистика (техническая экспертиза документов), молекулярная биология (визуализация продуктов полимеразной цепной реакции в гелях при установлении генной принадлежности) и медицина (визуализация газоразрядного свечения биологических объектов в электромагнитном поле высокой напряженности для диагностики их функционального состояния).

В работе обобщен личный, более чем десятилетний, опыт работы в данном направлении, а также рассмотрены основные аспекты, связанные с явлением люминесценции и с вопросами ее практического применения в перечисленных выше областях.

В монографии сделана попытка найти решение задачи оптимального построения телевизионной спектральной системы для визуализации

фотолюминесценции в условиях реально действующих ограничений, обусловленных неидеальными спектральными характеристиками источника возбуждения люминесценции и фотоприемника. В книге изложен ряд методов получения и обработки изображений люминесцирующих объектов с целью определения их количественных характеристик, необходимых при решении практических задач, в частности, для автоматизации процесса диагностики. В работе приведены примеры аппаратной и программной реализации рассмотренных методов, а также предоставлены технические характеристики аппаратуры.

ПРИМЕЧАНИЯ

1. *Ливенцев Н. М.* Курс физики. М., 1974.
2. *Ельяшевич М. А.* Спектроскопия. М., 1995.
3. *Геворкян Р. Г.* Курс физики. М., 1979.
4. *Яворский Б. М.* Справочник по физике / Б. М. Яворский, А. А. Детлаф. М., 1977.
5. *Лансберг Г. С.* Курс общей физики. М., 1976.
6. *Яворский Б. М.* Основы физики / Б. М. Яворский, А. А. Пинский. М., 1972.
7. *Васильев А. Н.* Предмет, система и теоретические основы криминалистики / А. Н. Васильев, Н. П. Яблоков. М., 1984.
8. *Образцов В. А.* Криминалистика: Курс лекций. М., 1996.
9. *Ищенко Е. П.* Основы судебной фотографии, киносъемки и видеозаписи / Е. П. Ищенко, П. П. Ищенко. Екатеринбург, 1992.
10. *Сергеев Л. А.* Криминалистика. М., 1971.
11. *Лопухов Л. В.* Полимеразная цепная реакция в клинической микробиологической диагностике / Л. В. Лопухов, М. В. Эйдельштейн. 2000. № 2(3).
12. *Залетаев Д. В.* ДНК-диагностика в онкологии. М., 2000.
13. *Баранова А. Я.* Молекулярная биология / А. Я. Баранова, Н. К. Янковский. М., 1998.
14. *Баранов В. С.* Ранняя диагностика наследственных заболеваний в России, современное состояние и перспективы / Междунар. мед. обзоры. 1994. Т. 2. № 4.
15. *Горбунова В. Н.* Введение в молекулярную диагностику и генотерапию наследственных заболеваний / В. Н. Горбунова, В. С. Баранов. СПб, 1997.
16. *Евграфов О. В.* ДНК-диагностика наследственных заболеваний // Итоги науки и техники: Генетика человека / О. В. Евграфов, В. Б. Макаров. 1991. Т. 9.
17. *Baranov V. S.* Molecular diagnosis of some common genetic diseases in Russia and the former USSR: present and future // Med. Genet., 1993. Vol. 30.
18. *Бонецкий А. А.* Использование ПЦР в клинической практике / А. А. Бонецкий, М. М. Таирова, Т. С. Кутукеев, А. И. Филипченко, А. С. Уголбаева. Бишкек, 2000.
19. *Ефремов И. А.* Тандемные повторы для типирования личности / И. А. Ефремов, В. В. Носиков. М., 1998.
20. *Ивашков Е. А.* Некоторые теоретические основы полимеразной цепной реакции // НПФ ДНК-технология. М., 2000.
21. *Дубина И. Г.* Роль метода полимеразной цепной реакции в генодиагностике / И. Г. Дубина, С. Н. Щербо / Новые генетические технологии: Сб. 1, М., 1998.

22. *Черницкий Е. А.* Спектральный люминесцентный анализ в медицине / Е. А. Черницкий, Е. И. Слобожанина. Минск, 1989.
23. *Molecular Probes: Каталог фирмы «Molecular Probes Inc.».* США. 1997.
24. *Life Science research product 1997: Каталог фирмы BIO RAD.* США. 1997.
25. *Promega Product Information: Каталог фирмы Promega.* США. 1997.
26. Практическая молекулярная биология, М., 2000. Т. 1.
27. *Коротков К. Г.* Эффект Кирлиан. 1995.
28. *Коротков К. Г.* Основы ГРВ биоэлектрографии. 2001.
29. *Коротков К. Г.* Разработка научных основ и практическая реализация биотехнических измерительно-вычислительных систем анализа газоразрядного свечения, индуцированного объектами биологической природы. 1999.
30. *Коротков К. Г.* Способ определения энергоинформационного состояния биологического объекта / К.Г. Коротков и др. Пат. 2141250, бюл. изобрет. № 32. 1999.
31. *Коротков К. Г.* От эффекта Кирлиан к биоэлектрографии. 1998.
32. *Шадури М. И.* БЭО-томография – новый подход к диагностике структурных и функциональных нарушений в организме: Сб. трудов научно-технич. конф. Системный подход к вопросам анализа и управления биологическими объектами / М. И. Шадури, Г. К. Чичинадзе. М., 2000.
33. *Шадури М. И.* Биоголография / М. И. Шадури, Г. К. Чичинадзе. М., 2001.
34. *Бундзен П. И.* Новая технология прогнозирования психической готовности спортсменов в Олимпийском спорте / П. И. Бундзен и др. / Вестн. спортивной медицины России. 1999. № 3(24). С. 13.
35. *Крыжановский Э. В.* Исследование растворов электролитов и развитие методики ГРВ-графии для исследования жидкофазных объектов / Э. В. Крыжановский, К. Г. Коробков. СПб, 2001.
36. *Никитин В. В.* Телевидение в системах физической защиты / В. В. Никитин, А. К. Цыцулин. СПб, 2001.
37. *Зайдель А. Н.* Техника и практика спектроскопии / А. Н. Зайдель, Г. В. Островская, Ю. И. Островский. М., 1972.
38. Каталог фирмы UKROP. 2001.
39. Каталог фирмы PHILIPS. Лампы / пускорегулирующие аппараты / Системы управления. 2000–2002.
40. Физическая энциклопедия / Под ред. А. М. Прохорова / Редкол.: Д. М. Алексеев, А. М. Балдин, А. М. Бонч-Бруевич, А. С. Боровик-Романов и др. М., 1988.
41. *Федотов Г. А.* Электрические и электронные устройства для фотографии. Л., 1991.
42. *Мухитдинов М.* Светоизлучающие диоды и их применение / М. Мухитдинов, Э. С. Мусаев. М., 1988.

43. *Коган Л. М.* Полупроводниковые светоизлучающие диоды. М., 1983.
44. Каталог LIGITEK. 2002.
45. Каталог ПЛАТАН. 2002.
46. Каталог цветного стекла. Машиностроение. 1967.
47. *Куликов А. Н.* Телевизионное наблюдение в сложных условиях // Системы безопасности связи и телекоммуникаций. 2000. № 35.
48. Каталог ЭВС. Телевизионные камеры. Системы наблюдения. СПб, 2002.
49. *Волков В. Г.* Приборы ночного видения новых поколений // Специальная техника, 2001. № 5.
50. *Волков В. Г.* Малогабаритные телевизионные системы. Обзор по материалам отечественной и зарубежной печати за 1980–2000. М., 2000. № 5591.
51. Каталог ЦНИИ Электрон. 2002.
52. Каталог фирмы «ЭВС». 2002.
53. *Ефимова Н. И.* Оптимальная телевизионная спектральная система для обнаружения люминесцирующих объектов / Н. И. Ефимова, Н. П. Корнышев: Сб. трудов научно-технич. конф. «Современное телевидение», Москва, 2002.
54. *Халфин А. М.* Основы телевизионной техники // Сов. радио, М., 1955.
55. Телевидение / Под ред. В. Е. Джаконии // Радио и связь, 1986.
56. *Прэнт У.* Цифровая обработка изображений. М., 1982.
57. Цифровое телевидение / Под ред. М. И. Кривошеева. М., Связь, 1980.
58. *Корнышев Н. П.* Телевизионная регистрация результатов электрофореза ДНК (РНК) в гелях: Сб. трудов междунар. научно-техн. конф. «Приборостроение-99», Винница-Ялта, 1999.
59. *Быков Р. Е.* Телевидение в биологии и медицине / Р. Е. Быков, Ю. Ф. Коркунов. Л., Энергия, Ленинингр. отд-ние, 1968.
60. *Корнышев Н. П.* Телевизионный метод анализа электрофореграмм ДНК с использованием молекулярных маркеров: Сб. трудов междунар. научно-техн. конф. «Приборостроение-98», Винница-Евпатория, 1998.
61. *Ефимова Н. И.* Автоматизированный количественный анализ телевизионных изображений продуктов полимеразной цепной реакции (ПЦР) при диагностике инфекционных заболеваний / Н. И. Ефимова, Н. П. Корнышев: Сб. трудов междунар. научно-техн. конф. «Приборостроение-2002», Винница-Симеиз, 2002.
62. *Корнышев Н. П.* Устройство для формирования маркерных линий на экране видеопросмотрового устройства. Пат. 2041572, бюл. изобрет. № 22, 1995.
63. *Архипов С. А.* Устройство для определения центра тяжести изображения объекта / С. А. Архипов, Н. П. Корнышев. Пат. 2040120, бюл. изобрет. № 20, 1995.
64. *Ефимова Н. И.* Пути автоматизации процесса регистрации результатов исследований при диагностике инфекционных заболеваний в ПЦР-

- лаборатории / Н. И. Ефимова, Н. П. Корнышев: Сб. трудов междунар. научно-техн. конф. «Приборостроение-2001», Винница-Симеиз, 2001.
65. *Ефимова Н. И.* Подход к решению задачи оптимального распределения клинических материалов в гелях при диагностике методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) / Н. И. Ефимова, Н. П. Корнышев: Материалы конференции. М., 2002.
 66. *Корнышев Н. П.* Телевизионные комплексы для исследования документов в криминалистике и художественно-реставрационных работах / Н. П. Корнышев, О. Ф. Родионов, В. И. Челпанов: Сб. трудов научно-техн. конф. «Телевидение: передача и обработка изображений», СПб, 2000.
 67. *Бутусов В. В.* Телевизионные спектральные системы для криминалистических экспертиз / В. В. Бутусов, Н. П. Корнышев, О. Ф. Родионов, В. И. Челпанов // Специальная техника. 2003. № 4. С. 24–33.
 68. *Корнышев Н. П.* Телевизионная система для контроля документов / Н. П. Корнышев, О. Ф. Родионов. Пат. 2094849, бюл. изобрет. № 30, 1997.
 69. *Корнышев Н. П.* Телевизионная спектральная система / Н. П. Корнышев, О. Ф. Родионов, Н. Г. Трошин. Пат. 2066930, бюл. изобрет. № 26, 1996.
 70. *Архипов С. А.* Устройство для считывания / С. А. Архипов, А. Н. Герасимов, Н. П. Корнышев. Пат. 2134932, бюл. изобрет. № 23, 1999.
 71. *Коротков К. Г.* Устройство газоразрядной визуализации / К. Г. Коротков, В. А. Минкин, А. И. Штамм. Авт. свидетельство 2110824, бюл. изобрет. № 13, 1998.
 72. *Корнышев Н. П.* Алгоритм автоматической нормировки телевизионной системы с источником возбуждения электролюминесценции (газоразрядного свечения): Сб. трудов IX междунар. научно-техн. конф. «Современное телевидение», М., 2001.
 73. *Хромов Л. И.* Информационная теория связи на пороге XXI века. СПб, 1996.
 74. *Корнышев Н. П.* Техника газоразрядной визуализации (ГРВ) с точки зрения информационной теории связи // Материалы междунар. конгресса по медицинской и прикладной биоэлектрографии «SIS-2001». СПб, 2001.
 75. *Баскаков С. И.* Радиотехнические цепи и сигналы. М., 1983.
 76. *Гоноровский И. С.* Радиотехнические цепи и сигналы. М., 1986.
 77. *Бондарев В. М.* Моноимпульсная плазмография человека. Алматы, 1997.
 78. *Кузнецов А. Л.* Математические задачи стандартизации кирлианографии / А. Л. Кузнецов, К. Г. Коротков, Б. А. Крылов // От эффекта Кирлиан к биоэлектрографии: Сб. СПб, 1998.
 79. *Бронштейн И. А.* Справочник по математике / И. А. Бронштейн, К. А. Семендяев. М., 1986.
 80. *Халфин А. М.* О точности телевизионного способа измерения размеров объектов // Вопр. радиоэлектроники. Сер. «Техника телевидения». Вып. 6. С. 24–32.

81. *Либенсон М. Н.* Автоматизация распознавания телевизионных изображений / М. Н. Либенсон, А. Я. Хесин, Б. А. Янсон. М., 1975.
82. *Вентцель Е. С.* Теория вероятностей / Е. С. Вентцель, Л. А. Овчаров. М., 1973.
83. *Корнышев Н. П.* Оценка влияния шумов на точность измерения геометрических параметров изображений объектов. Рег. № ДО7793. Деп. в ВИМИ, 1988.
84. *Коркунов Ю. Ф.* Измерение геометрических параметров при воздействии шума / Ю. Ф. Коркунов, Н. П. Корнышев / Техника средств связи. Сер. «Техника телевидения». Вып. 3. 1990.