

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ  
АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«САМАРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АЭРОКОСМИЧЕСКИЙ  
УНИВЕРСИТЕТ имени академика С.П. КОРОЛЁВА  
(национальный исследовательский университет)» (СГАУ)

## ИЗМЕРЕНИЯ СПЕКТРАЛЬНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК МНОГОКРАТНО РАССЕЙВАЮЩИХ СРЕД

Рекомендовано редакционно-издательским советом федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Самарский государственный аэрокосмический университет имени академика С.П. Королёва (национальный исследовательский университет)» в качестве методических указаний

Самара  
Издательство СГАУ  
2014

УДК 535.8 (075)  
ББК 22.344я7

Составители: *П.Е.Тимченко, Е.В.Тимченко*

Рецензент д-р техн. наук, проф. Н. Д. Б ы с т р о в

**Измерения спектральных характеристик многократно рассеивающих сред:** метод. указания / сост. *П.Е. Тимченко, Е.В. Тимченко.* – Самара: Изд-во Самар. гос. аэрокосм. ун-та, 2014. – 52 с.

Методические указания предназначены для приобретения навыков работы со спектральной измерительной аппаратурой и изучения методов измерения спектральных характеристик многократно рассеивающих сред в рамках выполнения лабораторных работ.

Методические указания предназначены для студентов дневного отделения СГАУ, для студентов, обучающихся по специальности 200500.62 «Лазерная техника и лазерные технологии» по дисциплинам «Оптика лазеров» и «Когерентная оптика» и по направлению подготовки магистров 12.04.04. «Биотехнические системы и технологии» по дисциплинам «Методы измерения оптических параметров биологических тканей» и «Микроскопия».

УДК 535.8 (075)  
ББК 22.344я7

© Самарский государственный  
аэрокосмический университет, 2014

## СОДЕРЖАНИЕ

Методы измерения спектральных характеристик.....	5
Метод дифференциальной спектроскопии.....	8
Лабораторная установка.....	12
Программное обеспечение.....	15
Обработка данных в среде MathCad.....	27
Лабораторная работа №1. Спектр пропускания фильтра.....	31
Порядок выполнения работы.....	31
Контрольные вопросы.....	34
Лабораторная работа №2. Исследование спектра пропускания жидкости.....	35
Порядок выполнения работы.....	35
Контрольные вопросы.....	38
Лабораторная работа №3. Определение спектральных характеристик растительной ткани методом дифференциального обратного рассеяния.....	39
Введение.....	39
Оптическая модель растительной ткани.....	39
Порядок выполнения работы.....	43
Контрольные вопросы.....	45
Список использованных источников.....	46
Приложение 1. Техника безопасности и правила эксплуатации установки.....	48
Приложение 2. Отчёт по лабораторной работе.....	49

## ВВЕДЕНИЕ

Спектральные методы исследования являются мощным средством дистанционного контроля параметров различных сред. Особое значение они приобретают для многократно рассеивающих сред, в которых протекают различные реакции, приводящие к изменению оптических параметров. Применение методов лазерной спектроскопии позволяет повысить чувствительность, проводить количественный и качественный анализ сред. Однако эффективность и качество измерений во многом определяется правильностью выбора метода и аппаратуры, а также знанием программного обеспечения, используемого для обработки результатов измерений.

Целью данных методических указаний является изучение основных спектроскопических методов измерения многократно рассеивающих сред в видимом диапазоне спектра, изучение оптических схем приборов, а также приобретение навыков работы с современным спектроскопическим оборудованием. Лабораторные работы проводятся на базе высокоразрешающего цифрового спектрометра фирмы ANDOR shamrock sr-303i с встроенной охлаждаемой камерой DV420A-OE. Обработка экспериментальных данных обеспечивается с помощью специализированного программного обеспечения, интегрированного с системой управления спектрометра sr-303i, и пакета прикладных программ, реализованных в среде MathCad.

Использование рекомендаций, изложенных в методических указаниях, может полностью осмысленно студентами лишь при усвоении основ курса «Прикладная оптика», в частности раздела «Спектральные приборы».

## **Методы измерения спектральных характеристик**

В настоящее время перспективным направлением физической оптики является развитие бесконтактных методов оптической диагностики многократно рассеивающих сред [1], в которых акту поглощения фотона предшествует множество актов его рассеяния. К таким средам относятся аэрозоли, некоторые кристаллы, многие жидкости и биологические ткани. Исследование последних является наиболее сложным из-за эффектов анизотропии оптических параметров и структурных микро- и макронеоднородностей [2,3]. Данные методы являются основой создания высокоэффективных установок диагностики и контроля, применяющихся в авиационной и нефтехимической промышленности, медицине, экологии.

Среди известных оптических методов контроля характеристик среды особое место занимают спектральные методы, характеризующиеся высокой чувствительностью и позволяющие наряду с комплексным количественным и качественным анализом компонент среды обеспечивать ее 3D визуализацию и наблюдение за кинетическими процессами.

Существующие спектральные методы можно разделить на 3 основные группы:

- адсорбционные методы – основаны на анализе поглощения среды путём спектрального исследования света, прошедшего через среду;

- флуоресцентные методы – основаны на явлении флуоресценции и спектральном анализе при активном воздействии на среду узкополосным излучением.

- методы анализа рассеянного излучения – основаны на спектральном анализе излучения диффузно рассеянного назад.

Существенное значение имеет спектральный диапазон, в котором реализуются данные методы. Учитывая специфику взаимодействия излучения со средами, а также технические особенности источников и приемником излучения выделяют спектральные приборы УФ ( $\lambda < 400\text{нм}$ ), среднего и дальнего ИК

( $\lambda > 1.5\text{мкм}$ ) и видимого и ближнего ИК ( $400\text{ нм} < \lambda < 1200\text{нм}$ ) диапазонов спектра. Излучение ИК диапазона спектра характеризуется относительно большой глубиной проникновения излучения и, как правило, приводит к возбуждению колебательных уровней компонент среды. Соответственно, спектральный анализ прошедшего или рассеянного излучения в совокупности со знанием спектров возбуждения колебательных уровней может быть использован для качественного и количественно анализа состава исследуемой (контролируемой) среды. Применимость данного диапазона спектра для контроля многократно-рассеивающих сред ограничена эффектом уширения и перекрытия полос поглощения, роль которого возрастает при увеличении плотности среды. Спектральные полосы люминесценции, как правило, отвечают УФ диапазону спектра. Однако УФ-излучение затухает практически в скин-слое и для обеспечения надежной регистрации характеристик среды требуется применять источники с высокой плотностью мощности излучения. Методы зондирования сред излучением видимого и ближнего ИК-диапазонов спектра наряду с количественным и качественным анализом среды позволяют осуществлять визуализацию их структуры, а динамическая спектроскопия позволяет реконструировать кинетику процессов, протекающих в среде. Учитывая, что для многих сред (например, биологических тканей) оптические параметры среды несут информацию не только о исследуемой среде, но и обо всей системе частью которой среда является, это даёт возможность контролировать состояние всей системы а, значит, и наблюдать за динамикой различных процессов, отвечающих за ее функционирование.

Интерес к подобным исследованиям вызван следующими причинами:

- повышение безопасности, точности и объективности диагностического исследования;
- создание максимально компактных и быстродействующих диагностических приборов;
- разработка методов мониторинга и контроля функционирования исследуемых объектов в реальном времени;

- потенциальной возможностью получения изображений исследуемых структур с пространственным разрешением, сравнимым с длиной волны зондирующего излучения;
- обеспечение возможности более раннего обнаружения отклонения исследуемых характеристик от нормы (применительно к живым организмам – ранняя регистрация заболевания);
- выяснение физических, в частности молекулярных, механизмов функционирования систем;
- возможностью создания биологически безопасных средств диагностики;
- возможностью многофункциональной диагностики исследуемых объектов.

При всём многообразии оптических методов универсальных методов не существует. Каждый из методов благодаря своим особенностям занял определённую нишу. Наличие многократного рассеяния резко уменьшает глубину проникновения излучения в исследуемую среду, что в большинстве практических случаев делает невозможным применение адсорбционных методов. В связи с этим в настоящее время наибольшее распространение получили методы отражательной спектроскопии [2], основанные на сравнительном анализе спектров рассеяния.

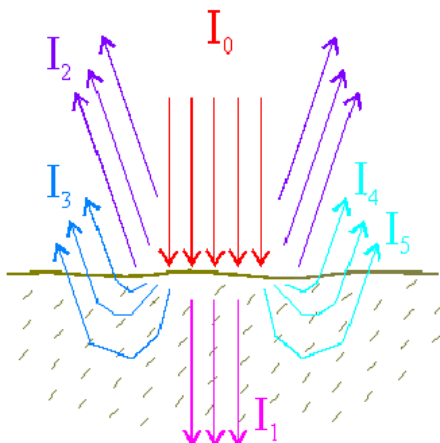
## Метод дифференциальной спектроскопии

Многokrратно рассеивающие среды, как правило, имеют большой коэффициент рассеяния при малом коэффициенте поглощения, а вещества, ответственные за поглощение, распределены в среде неравномерно. Процессы, протекающие в среде, приводят к изменению оптических параметров среды, которое в свою очередь проявляется в модуляции интенсивности обратного рассеяния. Следовательно, регистрируя изменения во времени оптической мощности рассеянного назад излучения, можно судить о процессах, происходящих в среде. При этом изменение спектральной плотности мощности рассеянного излучения несет в себе информацию о распределении неоднородностей – как преимущественно поглощающих, так и преимущественно рассеивающих. Кроме того, в процессе взаимодействия излучения со средой могут возбуждаться резонансные уровни различных компонент среды, что приводит к явлению флуоресценции, т.е. появлению в спектре рассеянного излучения узких пиков, по которым возможна идентификация данных компонент. Следовательно, регистрация кинетики изменения спектральной плотности рассеянного или прошедшего излучения дает возможность реконструировать распределение данных образований в пространстве и обеспечить 3D визуализацию исследуемого объекта.

Оптическое излучение  $I_0$ , падающее на исследуемый объект (рис. 1), в основном поглощается или рассеивается вперед, соотношение  $I_1/I_0$  составляет до 70%. До 30% зеркально отражается ( $I_2/I_0$ ) от поверхности объекта. Доля рассеянного излучения  $I_3/I_0$  не превышает нескольких процентов, а рассеянного с изменением длины волны – десятых долей процента для автофлуоресценции ( $I_4/I_0$ ) и сотых долей процента для комбинационного рассеяния ( $I_5/I_0$ ). Последние три части представляют наибольший интерес, так как отражают состояние исследуемой среды и процессов, протекающих в ней, причём эти части присутствуют как в прошедшем, так и в рассеянном назад излучении, что позволяет использовать как адсорбционные методы, так и спектральные методы анализа рассеянного излучения. Отсюда следует, что при использовании спектральных



методов обратного рассеяния для обеспечения корректных измерений с погрешностью, достаточной для реконструкции характеристик среды, требуется обеспечить высокую чувствительность аппаратуры и выделение полезного сигнала на уровне больших помех, роль которых играет как внешняя засветка среды, так и зеркально отраженная часть излучения.



*Рис. 1 – Схема распространения излучения в многократно рассеивающей среде*

Традиционно методы адсорбции или спектрального анализа рассеянного излучения направлены на решение задачи определения абсолютных значений оптических параметров и восстановлению количественного состава исследуемого объекта. Однако, для многих многократно рассеивающих сред традиционный подход неприемлем в силу следующих причин: высокий уровень помех, перекрытие линий за счет уширения в плотной среде, физические и химические реакции (например, в промышленном цикле нефтехимического производства) могут приводить к существенному разбросу в абсолютных значениях оптических параметров исследуемой среды, в том числе и для одного и того же объекта. Следует также иметь в виду, что часто спектроскопические методы используют для контроля «уровня нормы» для данной среды. Учитывая, что оптические параметры, соответствующие «уровню нормы», могут изменяться в широких пределах, количественные показатели становятся

малоинформативными. В тоже время в ряде случаев можно получить значимую информацию, отказавшись от абсолютных измерений и перейдя к анализу кинетики оптических параметров (фактически производных от регистрируемой функциональной зависимости оптических параметров среды), прежде всего относительного содержания тех или иных компонент среды. Например, для биологических объектов – это изменение соотношения различных типов гемоглобинов, кислотности и состава биосреды. Такой подход допускает использование дифференциальных методов и, следовательно, позволяет исследовать динамику процессов [4-6].

При освещении участка диагностическим излучением часть его будет отражаться от поверхности, часть поглотится, а часть будет диффузно рассеяна, причем изменения концентрации тех или иных ключевых рассеивателей среды должно приводить к изменениям в интенсивности обратного рассеяния. Вместе с тем, значительная доля спектральной мощности рассеянного излучения, прежде всего отраженная от поверхности раздела сред и микронеоднородностей поверхности, носит статистически постоянных характер и, фактически, определяет высокий уровень помех, что затрудняет выделение значимой информации. Для устранения данной трудности используется метод дифференциального рассеяния, суть которого сводится к выделению дифференциальной разности в спектральной плотности рассеянного излучения.

Зеркально рассеянное излучение и диффузно рассеянное излучение имеют существенную разницу в диаграмме направленности. Это позволяет провести дополнительное пространственное разделение рассеянного обратного излучения, направляя зондирующий луч под углом к поверхности. В этом случае диаграмма распространения «зеркально» отраженного излучения определяется законом Снелиуса, а диффузно-рассеянное излучение близко к ламбертовскому.

Как правило, многократно рассеивающая среда является многокомпонентной. Практически для любой многократно рассеивающей среды можно выделить компоненты, оптические свойства которых стабильны. Тогда спектральная плотность

мощности обратно рассеянного излучения, характерная для данной компоненты среды, остается неизменной и может быть использована для выделения кинетических компонент в спектре рассеяния.

Следовательно, дифференциальный сигнал может быть сформирован одним из следующих способов:

- Выделение кинетических процессов по образцу.

- Выделение медленно протекающих кинетических процессов по начальным значениям, принимаемым за начальный стационарный уровень.

- Пространственное выделение спектральных неоднородностей по соотношению спектральных плотностей, для различных неоднородностей среды.

- Выделение спектральных неоднородностей за счёт их люминесценции на фоне квазистационарного значения интенсивности обратного рассеяния.

## Лабораторная установка

Стенд для проведения лабораторных работ основан на высокоразрешающем 3х зеркальном спектрографе **Shamrock sr-303i** (фокальная длина 303 мм) с интегрированной цифровой камерой (1024\*256, 26 мкм<sup>2</sup>, 16 бит). Данный спектрометр позволяет работать с излучением в спектральном диапазоне от ближнего УФ до ближнего ИК (180 - 1200 нм) с погрешностью регистрации  $\pm 0.2$  нм [7] и управляется специализированным программным обеспечением.

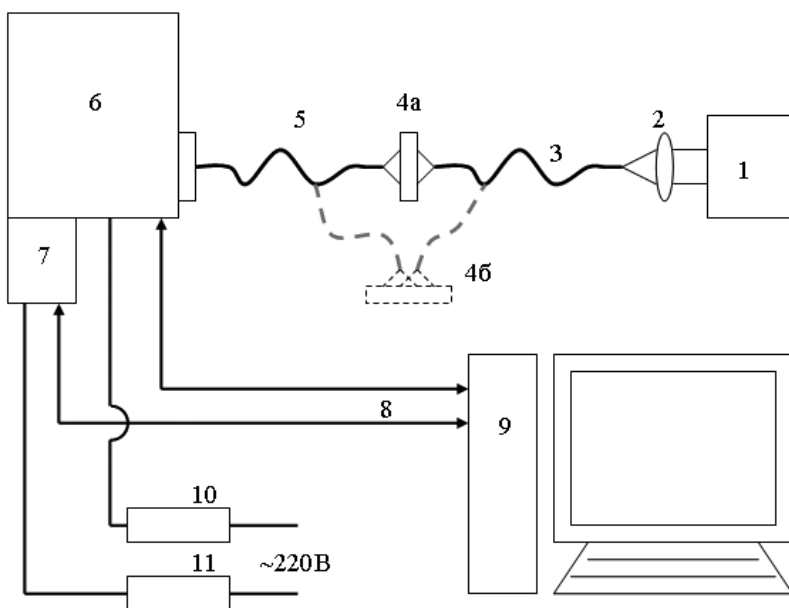
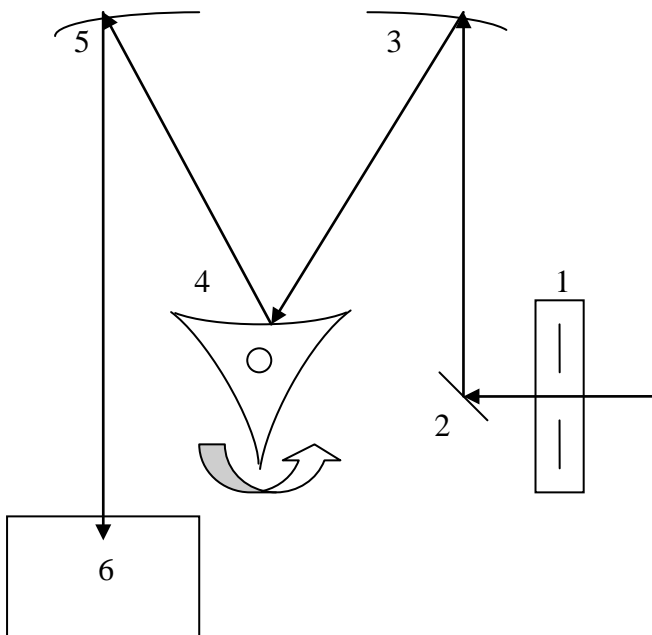


Рис. 2 – Схема лабораторного стенда: 1 – широкополосный источник излучения (галогенная лампа), 2 – объектив, 3 – волокно, 4а – объект, при спектроскопии прошедшего излучения, 4б – объект, при спектроскопии рассеянного излучения, 5 – приёмное волокно, 6 – спектрограф Shamrock sr-303i, 7 – цифровая камера ANDOR DV-420A-OE, 8 – USB интерфейс, 9 – компьютер, 10 и 11 – блоки питания спектрографа и камеры

На рис. 2 приведена схема установки. Данный стенд позволяет реализовать как адсорбционный метод измерения, так и

традиционный и дифференциальный метод обратного рассеяния. Излучение от широкополосного источника 1 (галогенная лампа) вводится с помощью объектива 2 в волокно 3, которое обеспечивает подвод излучения в исследуемую область объекта 4а (4б для регистрации рассеяния). Приёмное волокно 5 расположено позади объекта для абсорбционных измерений или перед объектом для регистрации интенсивности обратного рассеяния. Волокно 5 собирает рассеянное вперед (назад) излучение в телесном угле, равным апертурному углу волокна, и передаёт его на вход спектрографа 6.



*Рис. 3 – Оптическая схема спектрографа: 1 – автоматическая перестраиваемая щелевая диафрагма, 2 – поворотное зеркало, 3 и 5 – стационарные дифракционные зеркала, 4 – подвижная турель с 3-мя сменными дифракционными зеркалами, 6 – цифровая камера*

Спектрограф раскладывает излучение в спектр, который регистрируется интегрированной цифровой камерой 7. Управление камерой и спектрографом, а также запись данных в

файл осуществляется компьютером 9 через USB интерфейс 8 при помощи специального программного обеспечения. Питание спектрографа и камеры осуществляется через блоки питания 10 и 11 от обычной сети 220В.

Спектрограф выполнен по трёх зеркальной схеме, которая представлена на рис. 3. Щелевая диафрагма 1 вырезает узкий пучок света. С помощью программного обеспечения размер входной щели может изменяться от 10 до 2000 мкм. Луч после диафрагмы поворотным зеркалом 2 направляется на стационарное дифракционное зеркало 3, далее на дифракционное зеркало подвижной турели 4. Шаговый двигатель управляет вращением турели, обеспечивая сканирование по спектру. На турели расположены 3 сменных дифракционных зеркала, имеющие различные характеристики (число линий на мм) и позволяющие работать с различной степенью точности и шириной спектра. Луч стационарным дифракционным зеркалом 5 окончательно раскладывается в спектр и направляется на цифровую камеру 6. Камера 6 имеет систему охлаждения на основе холодильника Пельтье, обдуваемого вентилятором, что обеспечивает захлаживание приемной матрицы до  $-65\text{ }^{\circ}\text{C}$ , обеспечивая тем самым низкий уровень собственных шумов матрицы.

## Программное обеспечение

Программное обеспечение спектрографа [8] предназначено для регистрации и первичной обработки спектров излучения, а также управления такими параметрами камеры и спектрографа как: границы исследуемого спектра, время экспозиции, ширина входной и выходной щелей, температура захлаживания матрицы, режим диафрагмы, номер фильтра в барабане, номер решётки на подвижной турели, режим усреднения сигнала на матрице. Фактически изменение данных параметров обеспечивает настройку спектрографа для регистрации того или иного участка спектра вводимого излучения с требуемой погрешностью его разрешения.

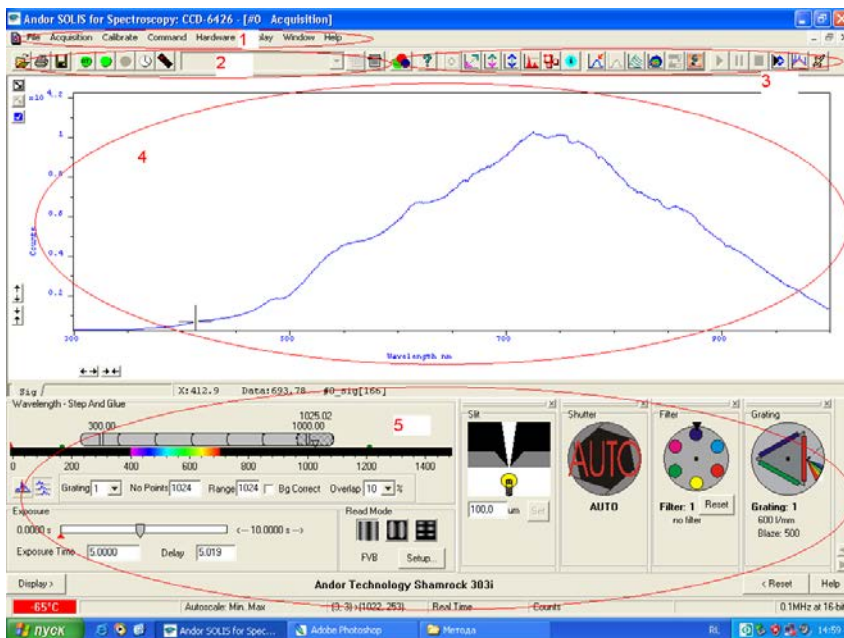


Рис. 4 – окно программы: 1 – главное меню, 2 – стандартная панель, 3 – панель управления графическим представлением данных, 4 – поле графического представления данных, 5 – панель настройки параметров спектрографа

Интерфейс программы представлен на рис. 4 и может быть условно разделен на пять основных областей:

- главное меню 1 – содержит перечень всех команд и доступных операций, а также настроек системы;
- панель управления 2, на которую вынесены основные операции со спектрографом;
- панель управления обработкой данных 3, служащая для изменения режимов представления данных и настройки параметров, связанных с представлением данных;
- окно графического представления данных 4 (регистрируемая спектральная интенсивность, изображение на матрице);

панель настройки параметров спектрографа 5.

Основные разделы главного меню:

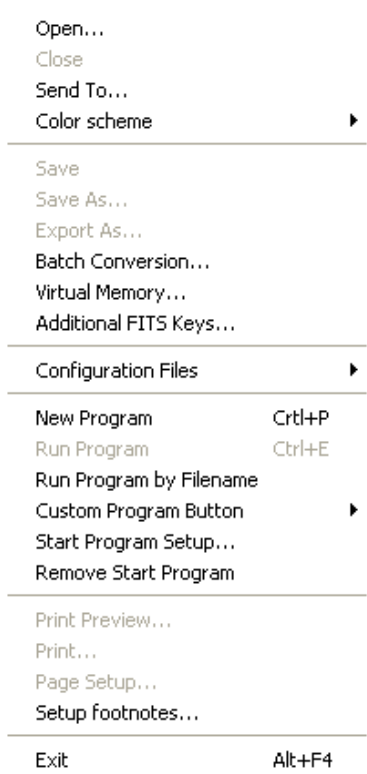
- меню «File» (Файл) – содержит основные действия с файлами данных;
- меню «Acquisition» (Регистрация) – содержит основные настройки по уровням регистрации и масштабирования сигналов;
- в меню «Calibrate» (Калибровка) сгруппированы основные команды калибровки спектрофотометра;
- «Command» (Команды) – основные команды и операции обработки данных;
- «Hardware» (Установка) –
- «Window» (Окно) – действия над открытыми окнами программы;
- «Help» (Помощь).

Меню «File» (файл) представлен на рис. 5 и содержит следующие основные команды:

- «Open» – открытие файла данных;
- «Close» – закрытие текущего файла данных;
- «Save As» – сохранение текущего файла данных в основных форматах программы;
- «Export As» – экспорт текущего файла в форматы других программ;
- «Print Preview» – просмотр данных для печати;



- «Print» ' печать данных;
- «Page setup» – настройки страницы;
- «Exit» – выход из программы.



*Рис. 5 – Меню «File» (файл) главного меню*

Меню «Acquisition» (Регистрация) представлено на рис. 6 и содержит следующие основные команды:

- «Setup acquisition» – настройка параметров регистрации данных;
- «Take Signal» - регистрация полезного сигнала;
- «Take Background» – регистрация фонового сигнала;
- «Take Reference» – установка относительного уровня сигнала;
- «Autoscale Acquisition» – автоматическая установка масштабирования.

Setup Acquisition	Ctrl+A
Setup Data Type	Ctrl+D
Notify On Completion	Ctrl+N
<b>Take Signal</b>	<b>F5</b>
Take Background	Ctrl+B
Take Reference	Ctrl+R
Abort Acquisition	Esc
✓ Autoscale Acquisition	F6

*Рис. 6 – Меню «Acquisition» (Регистрация) главного меню*

Команды регистрации сигналов («Take Signal», «Take Background», «Take Reference») позволяют считать с камеры данные, которые в дальнейшем используются при обработке экспериментальных данных. Для фонового сигнала «Background» диафрагма закрывается во время получения данных. Флажок автоматической установки масштаба данных «Autoscale Acquisition» устанавливает автоматический режим масштабирования данных для вывода в поле графического представления данных 4 – по обеим осям построение графика будет вестись от минимального до максимального значений.

Меню «Calibrate» (Калибровка) представлен на рис. 7 и содержит команды для калибровки спектрографа.

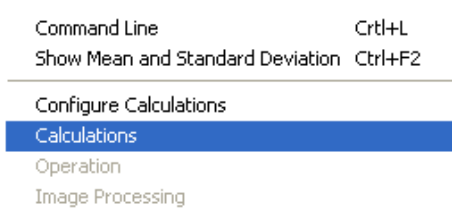
**Предостережение:** Спектрограф полностью подготовлен к работе и не требует выполнения дополнительных операций калибровки. Во избежание порчи аппаратуры использование команд данного меню **категорически запрещено**.

Меню «Command» (команда) представлен на рис. 7 и содержит следующие основные команды:

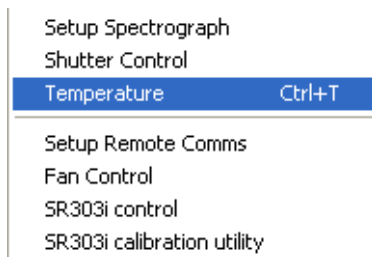
- «Command Line» - отображение командной строки;
- «Show Mean and Standard Deviation» – отображение среднего и стандартного отклонения;
- «Configure Calculations» - задание параметров и режимов расчётов;
- «Calculations» расчёты.

Командная строка «Command Line» позволяет вводить любую управляющую команду. Отображение среднего и стандартного

отклонения «Show Mean and Standard Deviation» выводит в поле графического представления данных соответствующие характеристики. Конфигурирование расчётов «Configure Calculations» позволяет настраивать переменные и операции для математического преобразования данных. Команда расчётов «Calculations» производит расчеты согласно заданным настройкам.



*Рис. 7 – Меню «Command» (команда) главного меню*



*Рис. 8 – Меню «Hardware» (установка) главного меню*

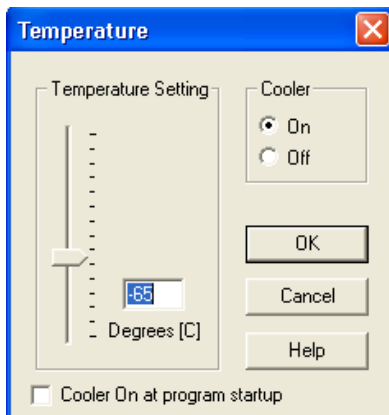
Меню «Hardware» (установка) представлен на рис. 8 и содержит следующие основные команды:

- «Setup Spectrograph» – настройка спектрографа;
- «Shutter Control» – управление диафрагмой;
- «Temperature» – управление температурой захлаживания камеры;
- «Fan Control» – управление вентилятором.

Настройка спектрографа «Setup Spectrograph» позволяют задавать режимы подключения спектрографа и его основные рабочие параметры (число делений решёток и т.д.). Управление диафрагмой «Shutter Control» осуществляет контроль за диафрагмой. Пункт меню температуры «Temperature» позволяет

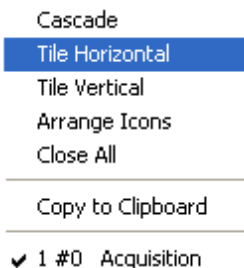
задавать и контролировать температурой захлаживания регистрирующей матрицы (Рис. 9).

Управление температурным режимом матрицы позволяет на порядок уменьшать ее темновой ток, что значительно расширяет возможности спектрографа по регистрации слабых сигналов.



*Рис. 9 – Окно настройки температуры захлаживания матрицы камеры*

Меню «Window» (окно) представлен на рис. 10 и содержит следующие основные команды: окна каскадом «Cascade», закрыть всё «Close All», копировать в буфер «Copy to Clipboard»..



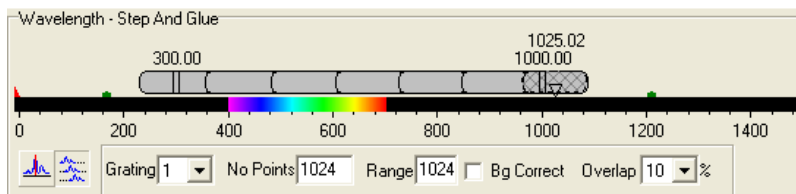
*Рис. 10 – Меню «Window» (окно) главного меню.*

Настройка большей части параметров спектрографа реализована в виде удобного графического интерфейса в нижней половине экрана и включает в себя:

- Панель настройки спектрального диапазона (рис. 11);
- Панель настройки времени экспозиции (рис. 12);

- Панель настройки режима обработки сигнала (рис. 13);
- Кнопка «Настройка» вызывает диалоговое окно управления режимами регистрации и параметрами матрицы (рис. 14);
- Панель настройки положения турели (рис. 15);
- Панель настройки режима диафрагмы (рис. 16);
- Панель настройки ширины входной щели (рис. 17);
- Панель выбора фильтра (рис. 18).

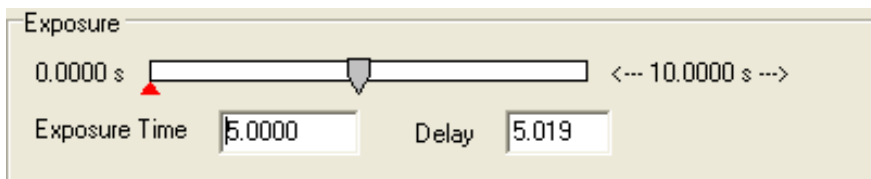
Панель настройки спектрального диапазона сканирования представлена на рис. 11. Здесь шкала – шкала длин волн. Маркеры на шкале определяют диапазон чувствительности камеры, ползунок – диапазон сканирования, цифры над ним – границы диапазона в нм, верхняя цифра - значение, соответствующее текущему положению ползунка. Графические кнопки (слева внизу) переключают режимы сканирования: одиночный – сканирование без перемещения зеркал, последовательный – режим, когда необходимый диапазон сканируется при нескольких положениях зеркал. На данной панели также задаётся номер решётки («Grating») на вращающейся турели (на турели установлено 3 решётки), коэффициент перекрытия полученных данных при разных положениях зеркал («Overlap»), количество точек («Range»), на которое будет разбит диапазон, включение/выключение коррекции темнового сигнала («Bg Correct»).



*Рис. 11 – Панель настройки диапазона сканирования спектрографа*

Панель настройки времени экспозиции представлена на рис. 12. Здесь шкала – шкала времени экспозиции. Время экспозиции задаётся в диапазоне от 0,05 до 10 сек., при этом «время задержки» («Delay») пересчитывается автоматически.

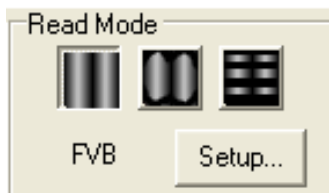
**Предостережение:** Установка времени экспозиции менее 0.05 запрещена. В виду программной ошибки не стоит пытаться задать вспомогательное время вручную, в противном случае программа некорректно завершает работу.



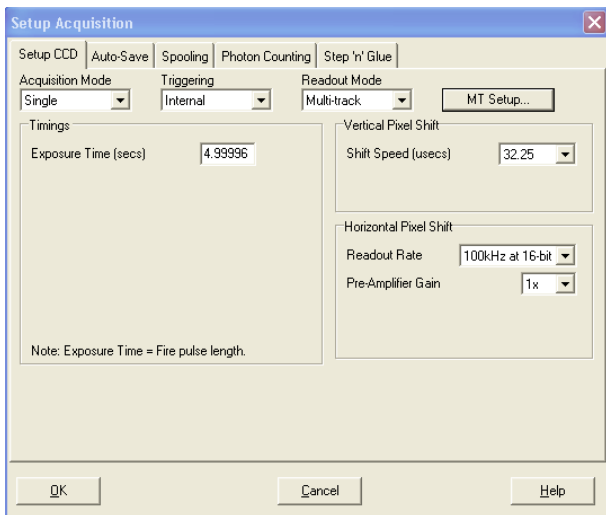
*Рис. 12 – Панель настройки времени экспозиции*

Панель настройки режима обработки сигнала на матрице камеры представлена на рис. 13. Регистрируемый сигнал раскладывается в спектр по горизонтальной оси, при этом линии равной длины волны вертикальны. Спектрограф использует 3 основных режима регистрации и обработки данных:

- значение сигнала для определённой длины волны равняется сумме значений пикселей в вертикальном отрезке (левая иконка на рис. 13),
- второй режим позволяет для уменьшения относительного темнового тока отбрасывать точки с нулевым сигналом, используя только ту часть матрицы, где есть полезный сигнал (средняя иконка на рис. 13),
- многоканальный режим, когда сигнал состоит из нескольких вертикально разнесённых каналов (волоконная связка).



*Рис. 13 – Панель настройки режима обработки сигнала на матрице камеры*

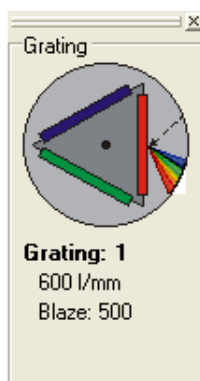


*Рис. 14 – Окно настройки параметров работы матрицы камеры*

При нажатии кнопки «Настройка» выводится окно управления режимами регистрации и параметрами матрицы (рис. 14).

**Примечание:** Все режимы параметры регистрации спектрографа предварительно настроены и не требуют дополнительных установок.

Панель настройки положения турели представлена на рис. 15. Нажатием левой кнопки мыши производится смена текущей решётки монохроматора. Снизу указан номер и характеристики турели.



*Рис. 15 – Панель настройки положения турели*

Панель настройки режима диафрагмы представлена на рис. 16: диафрагма открыта, закрыта, управляется автоматически.



*Рис. 16 – Панель настройки режима диафрагмы*

Панель настройки ширины входной щели диафрагмы представлена на рис. 17. Размеры щели задаются в диапазоне от 10 мкм до 2 мм. Выходная щель управляется аналогичной панелью, но оказывает меньшее влияние на регистрируемые данные.



*Рис. 17 – Панель настройки ширины входной щели*

Панель выбора фильтра представлена на рис. 18 и позволяет провести спектральную фильтрацию входного излучения для снижения уровня засветки. Нажатием левой кнопки мыши происходит выбор фильтра в барабане сменных фильтров



спектрографа. Снизу указываются характеристики выбранного фильтра, если они заданы.



Рис. 18 – Панель выбора сменных фильтров

Для графического отображения данных используется верхняя часть рабочего поля программы (рис. 19). Возможны режимы отображения изображения с матрицы в координатах X и Y, а также построение графиков с длиной волны в нм по оси X и цифровым значением сигнала по оси Y. Возможно изменение масштабов по осям, по умолчанию график нормируется в диапазоне от минимального до максимального зарегистрированного значения.

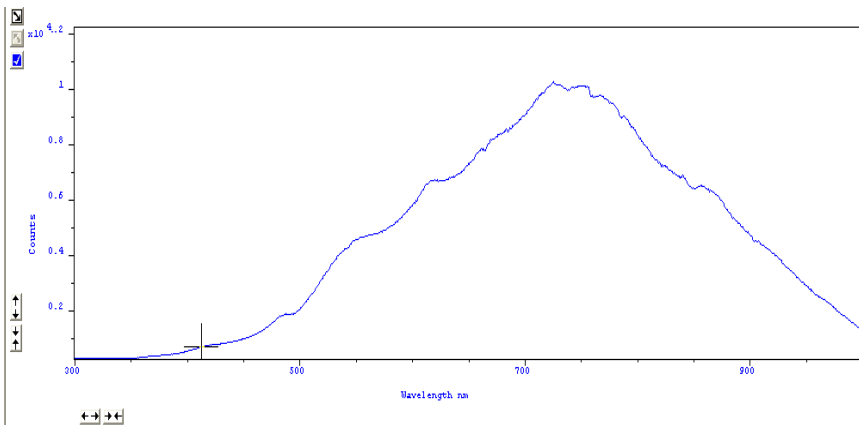


Рис. 19 – Поле графического представления данных

Быстрая смена режимов представления данных осуществляется с помощью управляющих клавиш, расположенных на специальной панели (рис. 20), которая позволяет включать систему представления данных (изображение – график), режим отображения значений экстремумов, режим сопоставления со спектрами основных элементов.



*Рис. 20 – Панель управления графическим представлением данных*

## Обработка данных в среде MathCad

В зависимости от решаемой задачи экспериментальные данные требуют дополнительной обработки, в частности, нормировки на спектральные характеристики источника излучения, выделение дифференциальной части сигнала и ряда других. Для этих целей используются внешние математические пакеты, которые могут быть дополнительно зарегистрированы с помощью пунктов меню «File» (файл) главного меню. Однако, во многих случаях удобнее использовать непосредственно внешние пакеты прикладных программ, используя функции экспорта экспериментальных данных в файлы соответствующего формата. Наиболее универсальным в данном случае представляется экспорт данных в файл формата в «.asc», представляющего собой текстовый массив данных в виде двух столбцов, разделенных пробелом. Первый столбец содержит длины волн в нм, а второй – зарегистрированные экспериментальные значения. Наиболее общие режимы обработки данных реализованы в среде «MathCad 2000» в виде программного модуля «S303i-DataProcessing» и включают в себя:

- нормировку экспериментальных данных на спектр источника излучения;
- исключение помеховых сигналов (вычитание темнового тока);
- выделение дифференциального сигнала.

Пример использования внешнего пакета для выделения дифференциального сигнала (при использовании галогенной лампы) представлен на рис. 21. Здесь анализируются два независимо зарегистрированных сигнала:

- полезный сигнал (файл «Полезный сигнал.asc») – сигнал, несущий «суммарную» информацию об исследуемом объекте и платине (кювете), отделяющей объект от окружающей среды;
- опорный сигнал (файл «Опорный сигнал.asc») – зарегистрированный сигнал в отсутствие объекта.

### Считывание данных из файлов в массивы данных:

Сигнал отражения излучения галог. лампы от пластины MC-20 ---Опорный сигнал.asc

$U := \text{READPRN}(\text{"f\u0430\u0439\u043b\u044b \u043e\u0442 \u043c\u0430\u0441\u0441\u0438\u0432\u044b \u0434\u0430\u043d\u043d\u044b\u0445 \u2014 \u041e\u043f\u043e\u0440\u043d\u044b\u0439 \u0441\u0438\u0433\u043d\u0430\u043b.asc"})$        $OS := U^{(1)}$

Сигнал отражения излучения галог. лампы от объекта ---Полезный сигнал.asc

$U := \text{READPRN}(\text{"f\u0430\u0439\u043b\u044b \u043e\u0442 \u043c\u0430\u0441\u0441\u0438\u0432\u044b \u0434\u0430\u043d\u043d\u044b\u0445 \u2014 \u041f\u043e\u043b\u0435\u0437\u043d\u044b\u0439 \u0441\u0438\u0433\u043d\u0430\u043b.asc"})$        $PS := U^{(1)}$

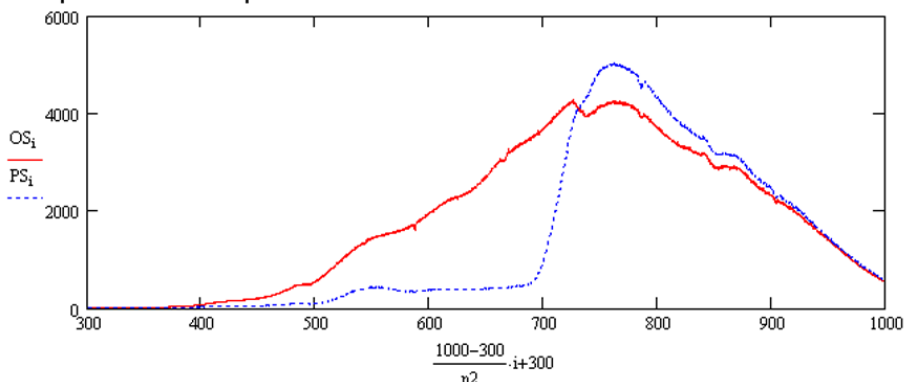
**Задание интервалов:**       $n2 := \text{last}(OS)$        $n2 = 3.499 \times 10^3$        $i := 0..n2$

### Вычитание темнового тока:

$B_i := OS_i$        $B_m := 0.98 \cdot \min(B)$        $B_m = 185.702$        $OS_i := B_i - B_m$

$B_i := PS_i$        $B_m := 0.98 \cdot \min(B)$        $B_m = 185.381$        $PS_i := B_i - B_m$

### Спектры полезного и опорного сигналов без темнового тока:



**Нормировка спектра полезного сигнала на спектр опорного сигнала (из спектра полезного сигнала убираются составляющие, ответственные за источник, оптическую систему и приёмник)**

$$NPS_i = \frac{PS_i}{OS_i}$$

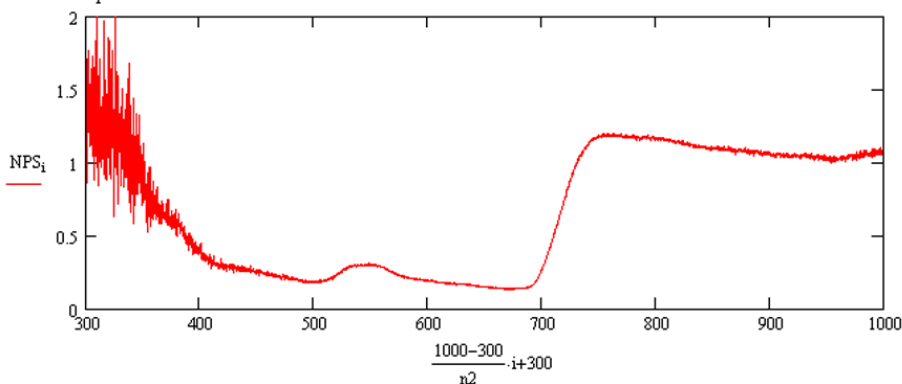


Рис. 21 – Обработка экспериментальных данных

Фактически дифференцирование данных сигналов позволяет исключить из рассмотрения влияние спектральных характеристик кюветы, источника излучения и приемника излучения, выделения из экспериментальных данных файла «Полезный сигнал.asc» только составляющую сигнала, отвечающую за внутренние спектральные характеристики объекта исследования.

Функция « $U:=READPRN(\text{название файла})$ » (см. рис. 21) используется для считывания данных из файла в массив, который в последующем используется для обработки. В файле «.asc» две колонки: нулевая – длина волны в нм, первая – значения нормированной спектральной плотности мощности. Для задания абсцисс точек спектра можно использовать нулевую колонку, либо, учитывая, что диапазон от 300 до 1000 нм разбит на 3500 равных промежутков (с шагом 0,2 нм), использовать ряд целых чисел  $i$ , указав диапазон от 0 до номера последнего значения « $n2:=LAST(U)$ » (3499).

Оба сигнала имеют постоянную составляющую, обусловленную темновым током, которую можно исключить из рассмотрения путем вычитания постоянной, которую можно определить из следующих соображений. Используемый источник (галогенная лампа) не имеет линий в УФ области спектра, следовательно, экспериментально зарегистрированное значение при  $\lambda=300$  нм соответствует уровню темновых шумов системы. Следует отметить, что во избежание появления ложных экстремумов (при делении на ноль) в конечном дифференциальном спектре целесообразно использовать величину чуть меньшую зарегистрированного значения темнового тока (например, 98% от его значения при  $\lambda=300$  нм).

Построение выделенного дифференциального сигнала производится в декартовой системе координат, где по оси ординат значения массивов с данными  $PS_i$  и  $OS_i$ , а по оси абсцисс значения индекса массива  $i$ , которые линейно связаны с длиной волны.

Как отмечено выше, спектр полезного сигнала  $PS_i$  помимо спектра исследуемого объекта содержит составляющие, ответственные за источник, приёмник и оптическую систему. Последние могут рассматриваться в качестве паразитного

сигнала. Опорный спектр  $OS_i$  регистрируется для нормировочного образца (например, молочной пластины МС-20), не имеющей спектральных особенностей, и, следовательно, содержит все те же паразитные составляющие за исключением объекта исследований. Тогда, дифференцируя данные спектры можно удалить из полезного сигнала  $PS_i$  паразитные составляющие. Полученный нормированный спектр  $NPS_i$  является спектром исследуемого объекта. Следует отметить, что из графика видно, что области 300-400 нм соответствуют большие уровни шумов, что связано с отсутствием полезного сигнала для обоих объектов и, как следствие, малых значениях в знаменателе, что резко увеличивает относительную погрешность. Данный диапазон лучше исключить из анализа данных.

# Лабораторная работа №1.

## Спектр пропускания фильтра

**Цель работы:** Отработка навыков работы с цифровыми камерами и спектрографом при измерении спектров пропускания образца.

**Задачи работы:**

- изучение спектрографом Shamrock sr-303i с интегрированной цифровой камерой ANDOR DV-420A-OE;
- измерение спектров пропускания образца (светофильтра);
- получение навыков программной обработки экспериментальных данных.

### *Порядок выполнения работы*

#### **1. Подготовка оборудования к работе.**

- 1.1. Собрать схему лабораторного стенда согласно схеме рис.2 (вариант а).
- 1.2. Включить питание спектрографа и камеры, вставив вилки в розетки сети 220 В 50 Гц и нажав переключатель на блоке питания спектрографа.
- 1.3. Включить компьютер.
- 1.4. Включить широкополосный источник света, включив блок питания напряжения, преобразующий переменное напряжение 220В в постоянное 12В.
- 1.5. Проверить соединения камеры и спектрографа с компьютером посредством USB кабелей (USB кабели должны быть подключены к высокоскоростным портам USB 2.0).

#### **2. Настройка**

- 2.1. Запустить программу управления спектрографом, используя ярлык на рабочем столе компьютера.
- 2.2. Включить охлаждение матрицы (меню «Hardware» (установка) главного меню), установив температуру -60С, и дождаться достижение заданной температуры, наблюдая индикатор в левой нижней части экрана.

- 2.3. Выбрать на панели настройки положения турели (рис. 15) дифракционную решётку №1 (600 штрихов на мм, имеет наименьшее разрешение из 3х доступных решёток на турели, но наибольший диапазон сканирования за 1 проход).
- 2.4. На панели настройки диапазона сканирования спектрографа (рис. 11) задать многопроходный режим. Диапазон сканирования решётки ограничен и определяется числом штрихов на мм и геометрией оптической схемы. Использование многопроходного режима позволяет перекрыть требуемый диапазон несколькими проходами.
- 2.5. Задать диапазон сканирования от 300 до 1000 нм (видимый и ближний ИК и УФ диапазон).
- 2.6. Задать коэффициент перекрытия положений решётки 10% между проходами.
- 2.7. На панели настройки настройки времени экспозиции (рис. 12) задать время экспозиции на 1 положение решётки равным 5 сек. (увеличение времени экспозиции позволяет поднять величину сигнала, но требует большего времени на проведение эксперимента).
- 2.8. Установить разбиение диапазона на 3500 точек или отрезков  $((1000-700)/3500=0,2$  нм – шаг считывания данных). На рис. 22 показана Панель настройки диапазона сканирования спектрографа с заданными параметрами согласно п. 8-12.
- 2.9. На панель настройки ширины входной щели (рис. 17) установить размер входной щели равным 100 мкм (увеличение размера входной щели позволяет поднять величину сигнала, но снижает разрешение).

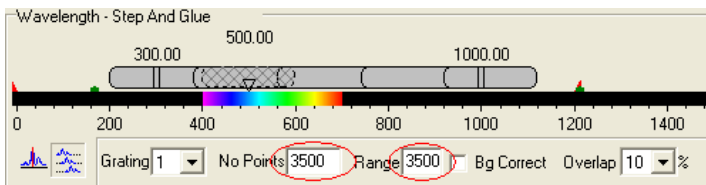


Рис. 22 – Панель настройки диапазона сканирования спектрографа с параметрами заданными согласно п. 8-12



2.10. Диафрагму на панели настройки режима диафрагмы (рис. 16) установить в положение «Авто».

### **3. Снятие спектров пропускания.**

3.1. Установить в качестве образца светофильтр. Снять спектр пропускания.

3.2. Сохранить данные, используя экспорт данных в формат файла «\*.asc».

3.3. Изъять светофильтр и повторить пункты 3.1-3.2, зарегистрировав тем самым спектр источника излучения.

3.4. Повторить п. 3.1 - 3.3 для положения турели №2 и №3 (1200 и 1800 штрихов на мм).

### **4. Обработка данных.**

4.1. Запустить программный модуль «S303i-DataProcessing» среды «MathCAD» с ярлыка на рабочем столе. Загрузить файлы зарегистрированных спектров.

4.2. Вычесть темновой ток.

4.3. Построить графики спектров пропускания фильтра и источника для 3 разных решёток турели. Объяснить различие в спектрах источника для разных дифракционных решёток.

4.4. Выделить дифференциальный спектр образца путем нормировки на спектр источника и построить 3 графика.

4.5. Сопоставить полученные нормированные спектры между собой. Объяснить различия в спектрах. Найти экстремумы в нормированных спектрах пропускания светофильтров.

### **5. Завершение работы.**

5.1. Выключить охлаждение матрицы (меню «Hardware» (установка) главного меню), установив температуру +20С, и дождаться достижения температуры 10С, наблюдая индикатор в левой нижней части экрана.

5.2. Закрыть программу управления спектрографом.

5.3. Выключить компьютер.

5.4. Выключить спектрограф с камерой, отключив блоки питания от сети.

5.5. Выключить источник света.

5.6. Представить для проверки отчёт по лабораторной работе составленный согласно приложению 2.

## ***Контрольные вопросы***

1. Дать характеристику метода. Достоинства и недостатки.
2. Каким образом можно учесть спектр пропускания оптической системы?
3. Какие параметры и как необходимо изменить для получения спектров более высокого разрешения?
4. Каким образом ширина щели сказывается на характеристиках спектра?
5. Отличаются ли спектры отражения дифференциальных решёток? Если да, то попытаться ответить, с чем это может быть связано и какие параметры влияют на это?
6. Для чего используется нормировка при обработки спектральных данных?

## Лабораторная работа №2.

### Исследование спектра пропускания жидкости

**Цель работы:** Отработка навыков работы с цифровыми камерами и спектрографам при измерении спектров пропускания.

**Задачи работы:**

–изучение спектрографа Shamrock sr-303i с интегрированной цифровой камерой ANDOR DV-420A-OE;

–изучение возможностей метода спектрального анализа для качественного и количественного контроля примесей.

### *Порядок выполнения работы*

#### 1. Подготовка оборудования к работе.

1.1. Собрать схему лабораторного стенда согласно схеме рис.2 (вариант а).

1.2. Включить питание спектрографа и камеры, вставив вилки в розетки сети 220 В 50 Гц и нажав переключатель на блоке питания для спектрографа.

1.3. Включить компьютер.

1.4. Включить широкополосный источник света, включив блок питания напряжения, преобразующий переменное напряжение 220В в постоянное 12В.

1.5. Проверить соединения камеры и спектрографа с компьютером посредством USB кабелей (USB кабели должны быть подключены к высокоскоростным портам USB 2.0).

#### 2. Настройка.

2.1. Запустить программу управления спектрографом, используя ярлык на рабочем столе компьютера.

2.2. Включить охлаждение матрицы (меню «Hardware» (установка) главного меню), установив температуру -60С, и дождаться достижение заданной температуры, наблюдая индикатор в левой нижней части экрана.

2.3. Выбрать на панели настройки положения турели (Рис. 15) дифракционную решётку №1 (600 штрихов на мм, имеет наименьшее разрешение из 3х доступных решёток на

турели, но наибольший диапазон сканирования за 1 проход).

- 2.4. На панели настойки диапазона сканирования спектрографа (рис. 11) задать многопроходный режим. Диапазон сканирования решётки ограничен и определяется числом штрихов на мм и геометрией оптической схемы. Использование многопроходного режима позволяет перекрыть требуемый диапазон несколькими проходами.
- 2.5. Задать диапазон сканирования от 300 до 1000 нм (видимый, ближний ИК и УФ диапазоны спектра).
- 2.6. Задать коэффициент перекрытия положений решётки 10% между проходами.
- 2.7. На панели настойки настройки времени экспозиции (рис. 12) задать время экспозиции на 1 положение решётки равным 5 сек (увеличение времени экспозиции позволяет поднять величину сигнала, но требует большего времени на проведение эксперимента).
- 2.8. Установить разбиение диапазона на 3500 точек или отрезков  $((1000-700)/3500=0,2$  нм – шаг считывания данных). На рис. 22 показана Панель настойки диапазона сканирования спектрографа с заданными параметрами согласно п. 8-12.
- 2.9. На панель настойки ширины входной щели (рис. 17) установить размер входной щели равным 100 мкм (увеличение размера входной щели позволяет поднять величину сигнала, но снижает разрешение).
- 2.10. Диафрагму на панели настойки режима диафрагмы (рис. 16) установить в положение «Авто».

### **3. Снятие спектров.**

- 3.1. Снять спектр пропускания пустой кварцевой кюветы.
- 3.2. Сохранить данные, используя экспорт данных в формат файла «\*.asc»
- 3.3. Не извлекая кювету из держателя и не меняя её положения (иначе будет происходить изменение сигнала за счет изменения положения граней или их смещения относительно оптической оси), аккуратно наполнить её на 75-80% обычной водой.

- 3.4. Повторить пункты 3.1 – 3.2.
- 3.5. Используя шприц, ввести в кювету 0,1 мл красителя (краситель синего цвета с хорошей растворимостью в воде)
- 3.6. Повторить пункты 3.1 – 3.2.
- 3.7. Повторить 10-12 раз п. 3.5-3.6, каждый раз добавляя к раствору 0,1 мл красителя, тем самым, увеличивая его концентрацию в растворе.

#### 4. Обработка данных.

- 4.1. Запустить программный модуль «S303i-DataProcessing» среды «MathCAD» с ярлыка на рабочем столе. Загрузить файлы зарегистрированных спектров.
- 4.2. Вычистить темновой ток.
- 4.3. Построить графики спектров пропускания.
- 4.4. Зарегистрированные спектры представляют собой произведение спектров пропускания непосредственно водного раствора, источника, приёмника, пустой кюветы и компонентов оптической системы. Следовательно, чтобы выделить спектр пропускания водного раствора необходимо провести его нормировку на спектр пропускания, полученный для пустой кюветы.
- 4.5. Построить графики нормированных спектров.
- 4.6. Сравнить спектры для разных концентраций красителя.
- 4.7. Определить длину волны соответствующую максимуму поглощения красителя.
- 4.8. Построить график зависимости относительной спектральной мощности поглощения (в максимуме) от концентрации красителя (концентрацию красителя рассчитать по формуле:

$$C_{\text{красит}} = \frac{V_{\text{красит}}}{V_{\text{смеси}}} = \frac{V_{\text{красит}}}{a \cdot b \cdot c}, \text{ пренебрегая изменением}$$

объёма смеси при добавлении красителя).

#### 5. Завершение работы.

- 5.1. Выключить охлаждение матрицы (меню «Hardware» (установка) главного меню), установив температуру +20С, и дождаться достижение температуры 10С, наблюдая индикатор в левой нижней части экрана.

- 5.2. Закрыть программу управления спектрографом.
- 5.3. Выключить компьютер.
- 5.4. Выключить спектрограф с камерой, отключив блоки питания от сети.
- 5.5. Выключить источник света.
- 5.6. Представить отчёт по лабораторной работе, оформленный согласно приложению 2.

### ***Контрольные вопросы***

1. Приемное волокно вырезает лишь часть диаграммы обратного рассеяния. Искажается ли при этом спектр?
2. Будет ли влиять дневное освещение на измеряемые характеристики?
3. Объясните выбор параметров настройки спектрографа?
4. Как влияет неоднородность распределения красителя по кювете?
5. Каким образом можно увеличить чувствительности спектрографа при регистрации слабых сигналов?
6. Объясните причину размытие изображения пятна, формируемого на матрице камеры. Каким образом это можно устранить?

# **Лабораторная работа №3.**

## **Определение спектральных характеристик растительной ткани методом дифференциального обратного рассеяния**

**Цель работы:** Изучение методов диагностики биологических сред с помощью метода дифференциального обратного рассеяния.

**Задачи работы:**

- Изучение методов диагностики биологических сред на примере растительной ткани;
- Измерения спектров обратного рассеяния листьев различных этапах их жизненного цикла.

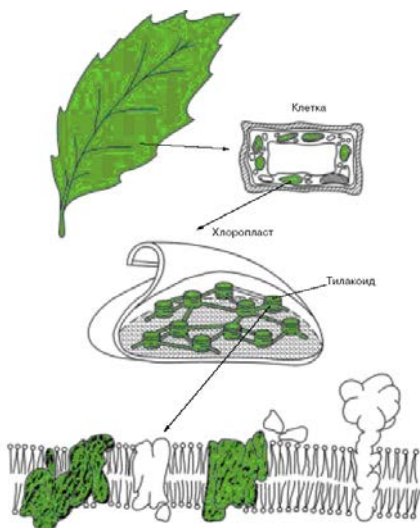
### ***Введение***

Процессы роста и развитие растений, влияние многообразных внешних факторов (погодные условия, экологические условия, минеральные удобрения и другие) приводят к изменению количественно и качественного состава растительной ткани, изменению содержания основных пигментов. Последнее в свою очередь отражается на изменении оптических характеристик растительной ткани и, прежде всего, на спектральных свойствах растений. Следовательно, данные изменения могут быть зарегистрированы по изменению спектральной плотности интенсивности рассеянного излучения [9, 10] и использованы для контроля (диагностики) растений.

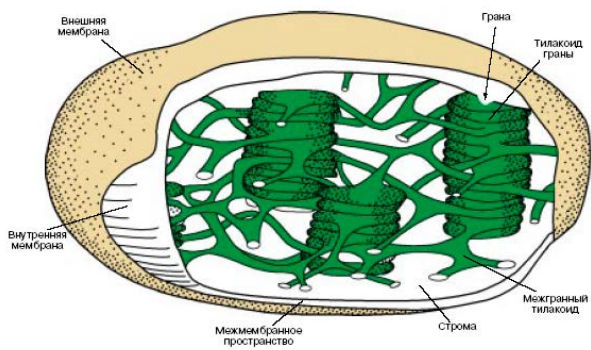
### ***Оптическая модель растительной ткани***

Для получения информации об оптических характеристиках растительной ткани, отвечающих за его жизнедеятельность, рассмотрим физиологические принципы организации фотосинтетического аппарата растения. Лист является главным фотосинтезирующим органом высших растений (рис. 23). У высших растений процессы фотосинтеза протекают в хлоропластах – специализированных энергопреобразующих

органеллах растительной клетки. Схематическое изображение хлоропласта показано на рис. 24.



*Рис. 23 – Локализация фотосинтетического аппарата в клетке зеленого растения*

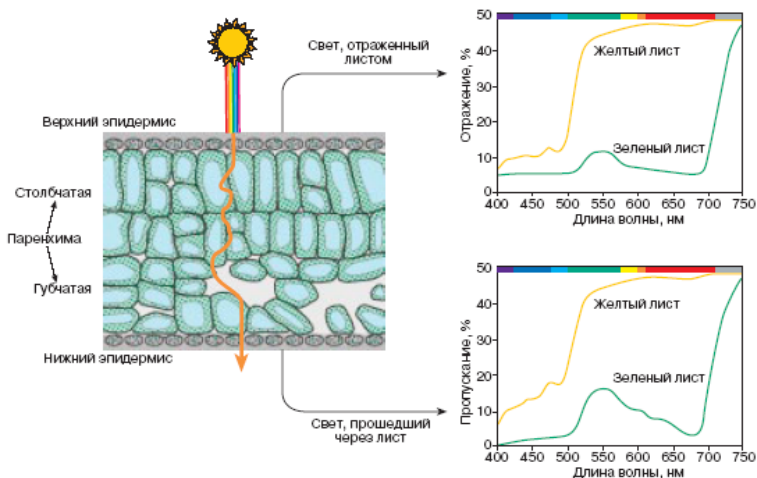


*Рис. 24 – Строение хлоропласта*

Под двойной оболочкой хлоропласта, состоящей из наружной и внутренней мембран, находятся протяженные мембранные структуры, которые образуют замкнутые пузырьки, называемые тилакоидами. Мембраны тилакоидов состоят из двух слоев



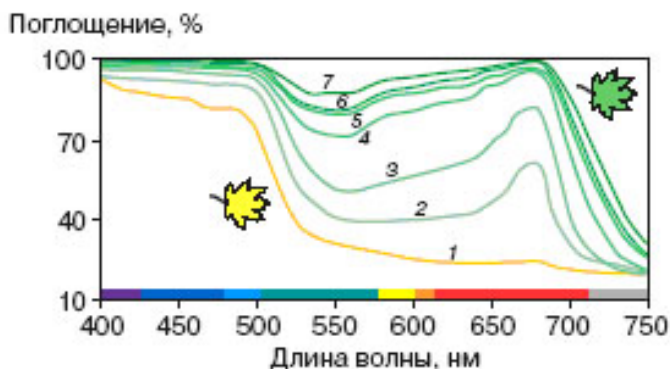
молекул липидов (жироподобные вещества), в которые включены макромолекулярные фотосинтетические белковые комплексы. В этих комплексах находится основной пигмент хлорофилл, который определяет мощность фотосинтетического аппарата листа растений. Можно выделить два типа хлорофиллов: хлорофилл а (максимум поглощения соответствует длине волны 450 нм) и хлорофилл b (максимум поглощения на длине волны 670 нм). Изменение спектральных характеристик растительной ткани в процессе жизненного цикла прежде всего, связано с изменением концентрации данных пигментов в растительной ткани (рис. 25).



*Рис. 25 – Схема взаимодействия излучения с листом*

Излучение, проникая в толщу листа, рассеивается и многократно изменяет свое направление. Это связано с тем, что как на поверхности, так и в толще листа существует множество поверхностей раздела сред, обладающих разными коэффициентами преломления (кутикула, эпидермис, клетки паренхимы, заполненные воздухом межклетники). Сходные эффекты происходят при распространении излучения внутри клетки (различия в коэффициентах преломления между воздухом, жидкой фазой, клеточными стенками, рассеивание на субклеточных структурах). В результате при отсутствии сильного

поглощения оптическая длина пути значительно превосходит геометрическую толщину листа. Благодаря этому листья поглощают значительно больше света, чем экстрагированные из них пигменты или изолированный хлоропласт.



*Рис. 26 – Спектры поглощения для листьев клена при различном содержании хлорофиллов и каротиноидов*

Зеленые листья обладают высоким поглощением в фиолетовой, синей, голубой и красной частях спектра. В этих областях поглощение мало зависит от концентрации хлорофиллов (Рис. 26), что объясняется тем, что в сильно рассеивающей среде и при высокой концентрации пигментов излучение практически полностью поглощается уже у поверхности листа. Интенсивность диффузно рассеянного излучения (вперед и назад) наиболее существенно в области 520-580 нм, именно это определяет зеленый цвет листы [10]. При разрушении хлорофилла в ходе онтогенеза листья становятся более прозрачными не только в зеленой, но и в оранжево-красной области видимого спектра (Рис. 26). Таким образом, основные оптические характеристики растительной ткани являются спектрально зависимыми величинами, что позволяет использовать спектральные методы для контроля состояния растительных объектов.

## ***Порядок выполнения работы***

### **1. Подготовка оборудования к работе.**

- 1.1. Собрать схему лабораторного стенда согласно схеме рис.2 (вариант б).
- 1.2. Включить питание спектрографа и камеры, вставив вилки в розетки сети 220 В 50 Гц и нажав переключатель на блоке питания для спектрографа.
- 1.3. Включить компьютер.
- 1.4. Включить широкополосный источник света, включив блок питания напряжения, преобразующий переменное напряжение 220В в постоянное 12В.
- 1.5. Проверить соединения камеры и спектрографа с компьютером посредством USB кабелей (USB кабели должны быть подключены к высокоскоростным портам USB 2.0).

### **2. Настройка.**

- 2.1. Запустить программу управления спектрографом, используя ярлык на рабочем столе компьютера.
- 2.2. Включить охлаждение матрицы (меню «Hardware» (установка) главного меню), установив температуру -60С, и дождаться достижение заданной температуры, наблюдая индикатор в левой нижней части экрана.
- 2.3. Выбрать на панели настройки положения турели (рис. 15) дифракционную решётку №1 (600 штрихов на мм, имеет наименьшее разрешение из 3х доступных решёток на турели, но наибольший диапазон сканирования за 1 проход).
- 2.4. На панели настройки диапазона сканирования спектрографа (рис. 11) задать многопроходный режим. Диапазон сканирования решётки ограничен и определяется числом штрихов на мм и геометрией оптической схемы. Использование многопроходного режима позволяет перекрыть требуемый диапазон несколькими проходами.
- 2.5. Задать диапазон сканирования от 300 до 1000 нм (видимый, ближний ИК и УФ диапазоны спектра).

- 2.6. Задать коэффициент перекрытия положений решётки 10% между проходами.
- 2.7. На панели настойки настройки времени экспозиции (рис. 12) задать время экспозиции на 1 положение решётки равным 5 сек (увеличение времени экспозиции позволяет поднять величину сигнала, но требует большего времени на проведение эксперимента).
- 2.8. Установить разбиение диапазона на 3500 точек или отрезков  $((1000-700)/3500=0,2$  нм – шаг считывания данных). На рис. 22 показана Панель настойки диапазона сканирования спектрографа с заданными параметрами согласно п. 8-12.
- 2.9. На панель настойки ширины входной щели (рис. 17) установить размер входной щели равным 100 мкм (увеличение размера входной щели позволяет поднять величину сигнала, но снижает разрешение).
- 2.10. Диафрагму на панели настойки режима диафрагмы (рис. 16) установить в положение «Авто».

### 3. Снятие спектров.

- 3.1. Установить в качестве контрольного образца пластину МС-20 (имитатор ламбертовского рассеивателя).
- 3.2. Отрегулировать высоту волоконной сборки до достижения уровня регистрируемого сигнала 10000-20000 единиц.
- 3.3. Снять спектр рассеяния.
- 3.4. Сохранить данные, используя экспорт данных в формат файла «\*.asc».
- 3.5. Заменить объект исследования путем прижатия зеленого листа к платине.
- 3.6. Повторить пункты 3.3 - 3.4.
- 3.7. Повторить пункты 3.5 – 3.6 для желтого и желтеющего листа.

### 4. Обработка данных.

- 4.1. Запустить программный модуль «S303i-DataProcessing» среды «MathCAD» с ярлыка на рабочем столе. Загрузить файлы зарегистрированных спектров.
- 4.2. Вычесть темновой ток.

- 4.3. Построить графики спектров рассеяния.
- 4.4. Зарегистрированные спектры представляют собой произведение спектров рассеяния непосредственно исследуемых листьев, источника, приёмника и компонентов оптической системы. Следовательно, чтобы выделить спектр рассеяния исследуемого объекта необходимо провести его нормировку на спектр рассеяния контрольного образца.
- 4.5. Построить графики нормированных спектров
- 4.6. Проанализировать полученные спектры, выделить спектральные интервалы, соответствующие поглощению хлорофиллов.

## **5. Завершение работы.**

- 5.1. Выключить охлаждение матрицы (меню «Hardware» (установка) главного меню), установив температуру +20С, и дождаться достижение температуры 10С, наблюдая индикатор в левой нижней части экрана.
- 5.2. Закрыть программу управления спектрографом.
- 5.3. Выключить компьютер.
- 5.4. Выключить спектрограф с камерой, отключив блоки питания от сети.
- 5.5. Выключить источник света.
- 5.6. Представить отчёт по лабораторной работе, оформленный согласно приложению 2.

## ***Контрольные вопросы***

1. Какая область спектра ответственна за поглощения основных пигментов?
2. Почему растительная ткань является многократно рассеивающей средой?
3. По полученным вами спектрам обратного рассеяния определите полосы поглощения хлорофиллов «а» и «б».
5. Какие параметры необходимо изменить и в какую сторону для получения более высокоразрешённых спектров?
6. Каким образом ширина щели сказывается на качестве спектра?

## Список использованных источников

1. Исимару, А. Распространение и рассеяние волн в случайно – неоднородных средах [Текст] / А. Исимару. – М.: Мир, 1981, 285 с.
2. Тучин, В.В. Лазеры и волоконная оптика в биомедицинских исследованиях [Текст] / В.В. Тучин. – Саратов: Изд-во Сарат. ун-та, 1998. – 348 с.
3. Синичкин, Ю.П. Спектроскопия кожи человека *in vivo*. I. Спектры отражения [Текст] / Ю.П. Синичкин, Е.А. Пилипенко // Оптика и спектроскопия. – 1996. – Т.80. – №2. – С. 260-267.
4. Захаров, В.П. Полевая модель лазеротерапии [Текст] / В.П. Захаров, С.П. Котова, С.В. Яковлева // Известия СНЦ. – 2002. – Т.4. – №1. – С. 45-54.
5. Экспериментальные исследования воздействия оптических полей малой интенсивности на живые и растительные ткани [Текст] / Е.В. Воробьева, В.П. Захаров, Р.В. Козлов [и др.] // Тезисы 1-ой Троицкой конференции по медицинской физике (19-21 мая, г. Троицк). – 2004. – С. 62.
6. Сравнительный спектральный анализ обратного рассеяния излучения растительной и живой тканью [текст] / Е.В. Воробьева, В.П. Захаров, Р.В. Козлов [и др.] // Физика волновых процессов и радиотехнические системы. – 2005. – Т.8. – №3. – С. 69-74.
7. Users Guide to the Andor shamrock sr-303i [Текст]
8. Users Guide to the Andor iDus [Текст]

9. Мерзляк, М.Н. Пигменты, оптика листа и состояние растений [Текст] / М.Н. Мерзляк // Соровский образовательный журнал. – 1998. – №4. – с. 19-24.

10. Сравнительный спектральный анализ обратного рассеяния излучения растительной и живой тканью [Текст] / Е.В. Воробьева, В.П. Захаров, Р.В. Козлов [и др.] // Физика волновых процессов и радиотехнические системы. – 2005. – Т.8. – №3. – С.69-74.

# **Приложение 1.**

## **Техника безопасности и правила эксплуатации установки**

1. К работе допускаются лица не моложе 18 лет, прошедшие техническую подготовку и инструктаж по технике безопасности.
2. К выполнению работы разрешается приступать после предварительного изучения аппаратуры стенда и принципов его работы.
3. **КАТЕГОРИЧЕСКИ ЗАПРЕЩЕТСЯ:**
  - Работать при открытых крышках и закороченных блокировочных кнопках.
  - Приступать к работе без твердого знания принципа работы спектрографа и расположения основных узлов стенда.
  - Работать в режимах, превышающих технически допустимые.
  - Производить сборку лабораторного стенда при наличии подключенных компонентов к сети 220 В.
  - Производить самостоятельную разборку компонентов стенда.
  - Выключать питание камеры и/или завершать работу программы, если температура ПЗС-матрицы ниже -5С.
  - Прикасаться к открытым токоведущим частям установки.
  - Направлять в приемное окно спектрографа излучения лазеров и других узкополосных источников.
4. Эксплуатацию следует проводить в соответствии с «Правилами техники безопасности и производственной санитарии электронной промышленности».



## Приложение 2.

### Отчёт по лабораторной работе

Отчет по лабораторной работе должен включать в себя:

1. Экспериментальные данные:

Название файла	Параметры спектрометра	Объект	Обозначение в файле «MathCad»
Файл №1	Турель, ширина входной щели, диапазон и т.д.	Объект №1	
.....	.....	.....	.....
.....	.....	.....	.....
Файл №n		Объект №n	

2. Анализ полученных экспериментальных данных и выводы по лабораторной работе.

3. Приложения:

- Файлы с экспериментальными данными
- Текст программы обработки экспериментальных данных
- Графики исходных, обработанных (без темнового тока) и нормированных спектров.
- График зависимости относительной спектральной плотности от концентрации красителя (только для лабораторной работы №2).

Учебное издание

**ИЗМЕРЕНИЯ СПЕКТРАЛЬНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК  
МНОГОКРАТНО РАССЕИВАЮЩИХ СРЕД**

Методические указания

Составители: *Тимченко Павел Евгеньевич,*  
*Тимченко Елена Владимировна*

Печатается в авторской редакции

Подписано в печать 13.10.2014. Формат 60×84 1/16.

Бумага офсетная. Печать офсетная. Печ. л 3,25.

Тираж 100 экз. Заказ .

Самарский государственный аэрокосмический  
университет имени академика С.П.Королёва  
443086 Самара, Московское шоссе, 34.

---

Изд-во Самарского государственного аэрокосмического  
университета имени академика С.П.Королёва  
443086 Самара, Московское шоссе, 34.



