

К проблеме видности дифракционной картины в лазерной дифрактометрии эритроцитов

С.Ю.Никитин, А.Е.Луговцов, А.В.Приезжев

Рассматривается проблема видности дифракционной картины, наблюдаемой при рассеянии лазерного излучения на суспензии эритроцитов в эктацитометре. На основе теоретических оценок показано, что 10 %-ный разброс частиц по размерам снижает видность дифракционной картины всего на 1 %.

Ключевые слова: рассеяние света, эритроциты, разброс частиц по размерам, видность дифракционной картины.

1. Введение

Лазерная дифрактометрия эритроцитов (эктацитометрия), предложенная в 1975 г. в работах [1–3], применялась многими авторами для измерений деформируемости эритроцитов при нормальных и патологических состояниях (см., напр., [4–8]). Так, методом лазерной дифрактометрии было установлено, что острые нарушения мозгового кровообращения сопровождаются значительным уменьшением деформируемости эритроцитов [9]. Некоторые теоретические аспекты метода рассматривались в [10–13]. В работе [10] для расчетов рассеяния лазерного излучения эритроцитами предложено использовать приближение аномальной дифракции. Высокая точность таких расчетов была подтверждена в [11], где эритроциты моделировались трехмерными эллипсоидами. В работе [12] проведено сравнение различных методов и приближений, применяемых для расчетов рассеяния света отдельными эритроцитами. В [13] показано, что информация о форме эритроцитов содержится уже в угловых размерах нулевого дифракционного максимума.

Одной из проблем этого метода исследования клеток крови является низкий контраст интерференционной картины, наблюдаемой при дифракции лазерного пучка на суспензии эритроцитов в эктацитометре. Как показывает наш собственный опыт и публикации других авторов [7], обычно видность наблюдаемой картины значительно меньше единицы, а число различимых интерференционных колец не превышает двух-трех. Вместе с тем, как следует из экспериментов по дифракции лазерного пучка на прозрачных сферических частицах [14], возможно наблюдение интерференционных картин с высоким контрастом и видностью, близкой к единице. В связи с этим возникает вопрос о том, какие факторы определяют видность дифракционной картины в лазерном дифрактометре эритроцитов. Одним из таких факторов может быть разброс частиц по размерам, который для нормальной популяции эритроцитов составляет примерно 10 % [15]. Цель настоящей работы – оценить влияние разброса эритроци-

тов по размерам на видность дифракционной картины, наблюдаемой при рассеянии лазерного излучения на суспензии эритроцитов в эктацитометре.

2. Основные параметры

Нормальный эритроцит представляет собой двояковогнутый диск диаметром $a \sim 8$ мкм, толщина h которого в центре составляет около 1 мкм и по краю – около 2 мкм. Показатель преломления материала эритроцита относительно плазмы крови $n = 1.05$. На длине волны $\lambda = 0.633$ мкм, обычно используемой в дифрактометре, эритроцит слабо поглощает свет. Таким образом, с точки зрения оптики эритроцит можно рассматривать как прозрачную, крупную, оптически мягкую частицу.

В дифрактометре диаметр лазерного пучка $A \approx 1$ мм, расстояние от зондируемого объема до экрана наблюдения $z = 10$ см, число эритроцитов в лазерном пучке $N \approx 1000$. Эти данные позволяют вычислить для эритроцита параметр размера $2\pi a/\lambda = 80$, угол дифракционной расходимости $\theta = \lambda/a \approx 0.08$ рад $\approx 4.6^\circ$, дифракционную длину $z_a = ka^2/2 = 0.3$ мм, а также размер дифракционной картины на экране наблюдения $x_0 = z\theta = 0.8$ см и дифракционную длину лазерного пучка $z_A = kA^2/2 = 5$ м ($k = 2\pi/\lambda$).

Заметим, что между параметрами системы существуют сильные неравенства: $z_a \ll z \ll z_A$. Это означает, что на экране наблюдения существует область, в которую попадает излучение, дифрагированное на эритроцитах, но не попадает излучение прямого лазерного пучка (рис. 1).

Ниже проведен расчет распределения интенсивности света именно в этой области.

3. Дифракция лазерного пучка на неоднородном по размерам ансамбле частиц

Как отмечалось выше, одним из факторов, влияющих на видность дифракционной картины, является разброс эритроцитов по размерам. Для того чтобы оценить влияние данного фактора, рассмотрим дифракцию лазерного пучка на неоднородном по размерам ансамбле частиц.

Используя приближение аномальной дифракции [16, 17], в условиях лазерной дифрактометрии эритроцитов учтем следующее:

– дифракционное световое поле, создаваемое части-

С.Ю.Никитин, А.Е.Луговцов, А.В.Приезжев. Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, физический факультет, Россия, 119991 Москва, Воробьевы горы; e-mail: sergeynikitin007@yandex.ru, anlug@tut.by, avp2@mail.ru

Поступила в редакцию 28 октября 2010 г.

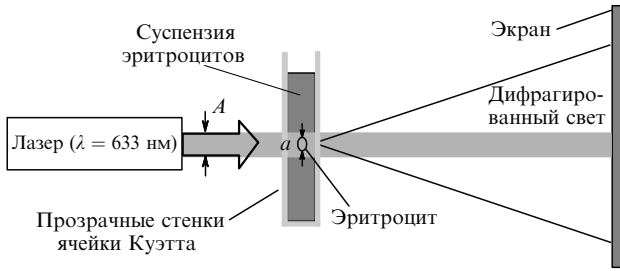


Рис.1. Схема эксперимента по дифракции лазерного пучка на суспензии эритроцитов.

цей в области пространства, лежащей за пределами лазерного пучка, выражается через дифракционный интеграл, который берется по поверхности частицы;

– при дифракции лазерного пучка на ансамбле частиц, координаты которых представляют собой независимые случайные величины, средняя интенсивность света в любой точке экрана наблюдения равна сумме интенсивностей света, создаваемых в этой точке отдельными частицами ансамбля;

– при дифракции лазерного пучка на случайно-неоднородном по размерам ансамбле частиц угловое распределение интенсивности света $I(\theta)$ пропорционально соответствующему распределению для отдельной частицы, усредненному по размерам частиц:

$$I(\theta) = N \int_0^\infty I(\theta, R)w(R)dR.$$

Здесь θ – угол рассеяния света; $I(\theta, R)$ – угловое распределение интенсивности света в дифракционной картине, создаваемое частицей радиусом R ; $w(R)$ – распределение плотности вероятности для радиуса частицы.

Будем моделировать отдельную частицу прозрачным диэлектрическим цилиндром радиусом R и высотой h из материала с относительным показателем преломления n . Допустим, что основания всех частиц лежат в одной и той же плоскости, перпендикулярной лазерному пучку. В этом случае [18]

$$I(\theta, R) = I_0|\alpha|^2 \left(\frac{\pi R^2}{\lambda z} \right)^2 \left[\frac{2J_1(x)}{x} \right]^2,$$

где I_0 – интенсивность лазерного пучка; $x = \rho\theta$; $\rho = kR$ – параметр размера частицы; $|\alpha|^2 = 4 \sin^2(\Delta\varphi/2)$; $\Delta\varphi = kn_0h(n-1)$; n_0 – абсолютный показатель преломления окружающей частицу среды. Для интересующих нас условий $h = 1.5$ мкм, $n_0 = 1.33$, $\Delta\varphi \approx 1$ рад и $|\alpha|^2 \approx 1$.

Предположим для простоты, что значения радиуса частицы R равномерно распределены в некотором интервале, а именно:

$$w(R) = \frac{1}{2\Delta R} \begin{cases} 1, & |R - \bar{R}| \leq \Delta R, \\ 0, & |R - \bar{R}| > \Delta R, \end{cases}$$

где \bar{R} – среднее значение радиуса частицы; ΔR – максимальное отклонение радиуса частицы от его среднего значения. Дисперсия радиусов частиц определяется формулой $\sigma^2 = (\Delta R)^2/3$. Предположим также, что $\Delta R \ll \bar{R}$, т. е. неоднородность ансамбля по размерам частиц является относительно слабой.

Рассмотрим угловое распределение интенсивности света вблизи первого минимума дифракционной картины (первое темное кольцо). В этой области функцию Бесселя можно аппроксимировать линейной функцией

$$J_1(x) = \beta(x - x_1),$$

где x_1 – значение аргумента функции Бесселя, при котором она обращается в нуль; β – производная функции Бесселя в точке $x = x_1$. Известно, что $x_1 = 3.82$ и $\beta = -0.4$. В области значений аргумента $3.0 \leq x \leq 4.2$ погрешность линейной аппроксимации функции Бесселя не превышает 10 % [19]. Из этих формул следует, что вблизи первого минимума дифракционной картины угловое распределение интенсивности света

$$I(\theta, \rho) = I_0|\alpha|^2 \left(\frac{\pi \rho^2}{k^2 \lambda z} \right)^2 \left[\frac{2\beta(x - x_1)}{x} \right]^2.$$

Введем величины $\bar{\rho} = k\bar{R}$, $\Delta\rho = k\Delta R$, $\varepsilon = \Delta R/\bar{R}$ и $\theta_1 = x_1/\bar{\rho} = 0.61\lambda/\bar{R}$. Здесь $\bar{\rho}$ – среднее значение параметра размера частиц, а θ_1 – угол, под которым виден первый минимум дифракционной картины в отсутствие разброса частиц по размерам. Тогда $x_1 = \bar{\rho}\theta_1$, и выражение для $I(\theta, \rho)$ можно переписать так:

$$I(\theta, \rho) = I_0|\alpha|^2 \left(\frac{\pi \rho^2}{k^2 \lambda z} \right)^2 \left[\frac{2\beta(\rho\theta - \bar{\rho}\theta_1)}{\rho\theta} \right]^2. \quad (1)$$

Теперь

$$I(\theta) = N \int_0^\infty I(\theta, \rho)w(\rho)d\rho. \quad (2)$$

Подставив (1) в (2), получим

$$I(\theta) = I_0|\alpha|^2 N \left(\frac{\pi}{k^2 \lambda z} \right)^2 4\beta^2 \frac{1}{2\Delta\rho} \int_{\bar{\rho}-\Delta\rho}^{\bar{\rho}+\Delta\rho} \rho^4 \left(1 - \frac{\bar{\rho}\theta_1}{\rho\theta} \right)^2 d\rho.$$

Вычисление интеграла дает

$$f(\theta) \equiv I(\theta)/I(0) = \left[\frac{2\beta(\theta - \theta_1)}{\theta} \right]^2 + (2\beta\varepsilon)^2 \left[2 - 2\frac{\theta_1}{\theta} + \frac{1}{3} \left(\frac{\theta_1}{\theta} \right)^2 \right] + \frac{1}{5} (2\beta\varepsilon^2)^2,$$

где

$$I(0) = I_0|\alpha|^2 N \left(\frac{\pi \bar{R}^2}{\lambda z} \right)^2$$

– интенсивность света в центральном максимуме дифракционной картины в отсутствие разброса частиц по размерам. Для интересующих нас условий $\theta_1 = 0.096$ рад имеем $I(0)/I_0 = 0.64 \times 10^{-3}$.

Учитывая, что параметр ε является малой величиной, окончательный результат представим в виде

$$\frac{f(\theta)}{(2\beta)^2} = \left(1 - \frac{\theta_1}{\theta} \right)^2 + \frac{\varepsilon^2 \theta_1}{3\theta} \left(\frac{\theta_1}{\theta} - 6 \right) + 2\varepsilon^2.$$

Здесь первое слагаемое в правой части описывает угловое распределение интенсивности света вблизи минимума дифракционной картины в отсутствие разброса частиц по размерам. Остальные слагаемые описывают поправки, обусловленные этим разбросом. Анализ полученного выражения показывает (рис.2), что минимум интенсивности света в дифракционной картине

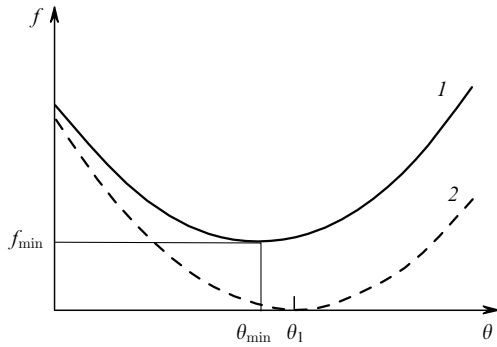


Рис.2. Угловое распределение интенсивности рассеянного света вблизи первого минимума дифракционной картины с учетом (1) и без учета (2) разброса частиц по размерам ($\sigma/R = 0.1$).

$$I_{\min} = I(0) \frac{(2\beta\epsilon)^2}{3} \quad (3)$$

наблюдается под углом

$$\theta_{\min} \approx \left(1 - \frac{2}{3}\epsilon^2\right)\theta_1.$$

Таким образом, вследствие разброса частиц по размерам радиусы интерференционных колец уменьшаются, а минимальная интенсивность света в дифракционной картине становится отличной от нуля. Как видно из формулы (1), интенсивность рассеяния света частицей быстро растет с увеличением радиуса последней (как ρ^4). В результате этого вклад в картину рассеяния относительно крупных частиц становится доминирующим, что и приводит к уменьшению радиусов интерференционных колец.

4. Влияние разброса частиц по размерам на видность дифракционной картины

Теперь оценим видность интерференционной картины в условиях дифракции лазерного пучка на неоднородном ансамбле частиц. Видность определяется как

$$v = \frac{I_{\max} - I_{\min}}{I_{\max} + I_{\min}},$$

где I_{\max} и I_{\min} – интенсивности света в соседних максимуме и минимуме дифракционной картины. Учитывая, что $f_{\min} = I_{\min}/I(0) \ll 1$, $I_{\max} = I(0)$, получаем $v = 1 - 2f_{\min}$. Отсюда, используя формулу (3), находим

$$v = 1 - \frac{8}{3}\beta^2\epsilon^2, \text{ или } v = 1 - 1.3\left(\frac{\sigma}{R}\right)^2,$$

где σ^2 – дисперсия размеров частиц. Например, положив $\sigma/R = 0.1$, получим $v = 0.99$. Эта оценка показывает, что естественный разброс эритроцитов по размерам (около 10 %) мало влияет на видность интерференционной картины, уменьшая ее всего на 1 %. Таким образом, можно сделать вывод о том, что разброс эритроцитов по размерам не препятствует достижению высокой видности дифракционной картины при лазерной дифрактометрии эритроцитов.

5. Заключение

В приближении аномальной дифракции рассмотрено однократное рассеяние лазерного пучка на ансамбле прозрачных цилиндров, моделирующих эритроциты. Учтена неоднородность ансамбля по размерам частиц. Получено аналитическое выражение для углового распределения интенсивности света вблизи минимума интерференционной картины. Определена зависимость угловых координат интерференционных полос, а также видности дифракционной картины от величины разброса частиц по размерам. Более точные оценки могут быть получены на основе численных расчетов дифракционных картин. Отметим в этой связи методы расчета, основанные на дискретно-дипольном [20] и лучеволновом [21, 22] приближениях.

Наши расчеты показывают, что естественный разброс частиц по размерам не должен существенно образом снижать видность интерференционной картины в лазерной дифрактометрии эритроцитов. С практической точки зрения это означает, что в условиях эксперимента важно убедиться в том, что при отсутствии эритроцитов в растворе сигнал на экране наблюдения отсутствует. Если это так, то наблюдаемый сигнал действительно характеризует эритроциты, а не является паразитным сигналом рассеяния на каких-либо других частицах, например на пыли в воздухе.

- Bessis M., Mohandas N. *Blood Cells*, **1**, 307 (1975).
- Bessis M., Mohandas N. *Blood Cells*, **1**, 315 (1975).
- Groner W., Mohandas N., Bessis M. *Clinical Chem.*, **26** (9), 1435 (1980).
- Mohandas N., Clark M.R., Jacobs M.S., Shohet S.B. *J. Clin. Invest.*, **66** (3), 563 (1980).
- Plasek J., Marik T. *Appl. Opt.*, **21** (23), 4335 (1982).
- Wolf G., Bayer R., Ostuni D. *Opt. Eng.*, **31** (7), 1475 (1992).
- Фирсов Н.Н., Джанашия П.Х. *Введение в экспериментальную и клиническую гемореологию* (М.: изд-е Российского гос. мед. ун-та, 2008).
- Streekstra G.J., Dobbe J.G.G., Hoekstra A.G. *Opt. Express*, **18** (13), 14173 (2010).
- Приезжев А.В., Тюрина А.Ю., Фадюкова О.Е., Кошелев В.Б. *Бюлл. эксперимент. биологии и медицины*, **137** (3), 352 (2004).
- Streekstra G.J., Hoekstra A.G., Nijhof E.-J., Heethaar R.M. *Appl. Opt.*, **32** (13), 2266 (1993).
- Streekstra G.J., Hoekstra A.G., Heethaar R.M. *Appl. Opt.*, **33**, 7288 (1994).
- Wriedt T., Hellmers J., Eremina E., Schuh R. *J. Quant. Spectr. Radiat. Transfer*, **100**, 444 (2006).
- Stoltz J.F., Ravey J.C., Larcana A., Mazon P., Lucius M., Guillot M. *Scand. J. Clin. Lab. Invest. Suppl.*, **156**, 67 (1981).
- Berg M.J., Hill S.C., Videen G., Gurton K.P. *Opt. Express*, **18** (9), 9486 (2010).
- Левтов В.А., Регирер С.А., Шадрин Н.Х. *Реология крови* (М.: Медицина, 1982).
- Ван де Хюлст Г. *Рассеяние света малыми частицами* (М.: ИИЛ, 1961).
- Лопатин В.Н., Приезжев А.В., Апонасенко А.Д. и др. *Методы светорассеяния в анализе дисперсных биологических сред* (М.: Физматлит, 2004).
- Ахманов С.А., Никитин С.Ю. *Физическая оптика* (М.: Наука, 2004).
- Янке Е., Эмде Ф., Лёш Ф. *Специальные функции* (М.: Наука, 1977).
- Yurkin M.A., Maltsev V.P., Hoekstra A.G. *J. Quant. Spectr. Radiat. Transfer*, **106**, 546 (2007).
- Priezzhev A.V., Nikitin S.Yu., Lugovtsov A.E. *J. Quant. Spectr. Radiat. Transfer*, **110**, 1535 (2009).
- Луговцов А.Е., Никитин С.Ю., Приезжев А.В. *Квантовая электроника*, **38** (6), 606 (2008).