

دستگاه حرارتی و طرز کار دستگاه بن ماری و مدارات آن: نیلوفر حجازیفر

بن ماری یا حمام آب وسیله ای است که کاربرد گسترده ای در آزمایشگاه های مختلف شامل آزمایشگاه های موجود در مراکز تحقیقاتی، کلینیکی، آموزشی، صنایع غذایی و فاضلاب دارد. این وسیله به منظور انجام تست های سرولوژیک، آگلوتیناسیون، بیوشیمی، تست های دارویی و حتی به منظور انجام مراحل انکوباسیون صنعتی، مورد استفاده قرار می گیرد. از بن ماری ها به منظور گرم کردن معرف ها و ذوب کردن نمونه ها نیز استفاده می شود. به عنوان یک قاعده کلی، در بن ماری ها از آب استفاده میشود؛ اگر چه در تعداد معدودی از آن ها از روغن نیز استفاده می شود.

① محدوده دمایی بن ماری ها که به طور طبیعی و بیشتر مورد استفاده قرار می گیرد از دمای اتاق تا ۱۰۰ درجه سانتیگراد می بایست باشد. لازم به ذکر است که بن ماری های قادر به تولید دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد، دارای یک پوشش با ویژگی های خاص هستند. اغلب بن ماری ها دارای محفظه ای به گنجایش ۲ تا ۳ لیتر هستند.

طرح کلی بن ماری ها

به طور کلی، بن ماری ها دارای واحد کنترل الکتریکی، صفحه نمایشگر (Screen)، درپوش، محفظه تانک، ترمومتر و در برخی از انواع آن ها دارای واحد یکنواخت کننده (Agitation unit) نیز هستند.



اصول کار

① بن ماری ها از فولاد ساخته شده و توسط یک رنگ الکتروستاتیک با توانایی جذب و مقاومت بالا در مقابل شرایط محیط آزمایشگاه، پوشیده می شوند. بن ماری ها دارای یک قطعه هستند که کنترل ها درون آن جای گرفته اند. بن ماری ها همچنین دارای یک محفظه تانک بوده که ضد زنگ بوده و دارای مجموعه ای از رزیستورهای الکتریکی در قسمت پایین آن هستند. در این دستگاه ها، حرارت تولید شده به مایع درون تانک (آب یا روغن)

منتقل شده و بدین وسیله، مایع درون محفظه تانک به کمک وسیله‌های کنترل کننده (ترموستات و ...) به دمای مورد نظر می‌رسد.

- ① به طور کلی، رزیستورهای مورد استفاده در بن‌ماری‌ها بر ۲ نوع هستند:
رزیستورهای داخلی: این رزیستورها درون یک لوله قرار گرفته و در قسمت تحتانی محفظه تانک بن‌ماری و در تماس مستقیم با مایع درون آن قرار می‌گیرند.
رزیستورهای خارجی: این نوع رزیستورها در قسمت پایین و در خارج از محفظه تانک قرار گرفته‌اند. این نوع رزیستورها به وسیله یک ماده ایزوله کننده (Isolating material) به منظور جلوگیری از اتلاف گرما، پوشیده شده‌اند. این نوع از رزیستورها، گرما را از طریق هدایت گرمایی (Thermal conduction) به کف محفظه تانک منتقل می‌کنند.
- ② انواع خاصی از بن‌ماری‌ها دارای اجزایی از قبیل سیستم یکنواخت کننده نیز هستند که موجب ایجاد یک حرکت کنترل شده دقیق در مایع درون محفظه تانک شده و بدین وسیله موجب ایجاد یک دمای یکنواخت در سراسر مایع درون آن می‌شود.
به طور کلی، بن‌ماری‌ها از نظر دمایی به سه دسته با دمای پایین، دمای بالا و عایق دار تقسیم بندی می‌شوند.

سیستم‌های کنترل بن‌ماری

- ① بن‌ماری‌ها دارای سیستم‌های کنترلی بسیار ساده هستند. برخی از سازندگان این وسیله، کنترل‌ها را با میکروپروسورها ادغام کرده‌اند که بر حسب نوع بن‌ماری، دارای تفاوت‌هایی با یکدیگر هستند.
پانل کنترل بن‌ماری‌ها دارای اجزای زیر است:
 - کلید کنترل روشن/خاموش
 - چراغ نشان دهنده وضعیت روشن/خاموش بودن دستگاه
 - یک دکمه به منظور انتخاب پارامترهایی از قبیل دمای مورد نظر، دمای هشدار و انتخاب واحد دما (درجه سانتیگراد، درجه فارنهایت)
 - چراغ‌هایی (معمولا ۲ عدد) به منظور نشان دادن واحد دما (درجه سانتیگراد، درجه فارنهایت)
 - دو دکمه به منظور تنظیم پارامترهای مورد نظر
 - صفحه نمایشگر

نصب بن‌ماری

بن‌ماری را در مجاورت با پریز برق نصب کنید. پریز برق باید به منظور تامین حفاظت و ایمنی اپراتور و تجهیزات، دارای یک سیم تخلیه برق در زمین (Ground pole) باشد. بن‌ماری‌ها اغلب با ولتاژ و فرکانس‌های ۱۲۰ ولت/۶۰ هرتز یا ۲۳۰ ولت/۶۰ هرتز کار می‌کنند.

نصب و استفاده از بن‌ماری‌ها ترجیحا باید به منظور تخلیه آب درون محفظه تانک، در نزدیکی سینی ظرفشویی باشد.

سطحی که بن‌ماری روی آن قرار می‌گیرد باید تراز و یکنواخت بوده و بتواند وزن آن را در هنگامی که پر از مایع است، تحمل کند.

ایمنی کار با بن‌ماری

⊙ از کار کردن با بن‌ماری در محیط‌هایی که دارای مواد قابل اشتعال و احتراق هستند، خودداری شود. این وسیله دارای اجزایی (رزیستورهای با قابلیت تولید دماهای بسیار بالا) بوده که قابلیت ایجاد آتش سوزی‌های تصادفی یا احتراقی را دارند.

بن‌ماری را باید به پریز برقی که دارای سیم تخلیه برق در زمین است، وصل کرد. محفظه تانک بن‌ماری باید از مواد غیر قابل اشتعال و همچنین موادی که فاقد خصوصیت خوردگی هستند، پر شود.

در هنگام کار با بن‌ماری باید از وسایل حفاظتی استفاده کرد. بن‌ماری‌ها دارای رزیستورهایی هستند که در صورت لمس (حتی در طی یک زمان خاص پس از خاموش کردن دستگاه) می‌توانند موجب سوختگی شوند.

⊙ برای کار با موادی که تولید بخار می‌کنند باید بن‌ماری را در زیر هود یا در ناحیه‌ای که دارای تهویه مطلوبی است، قرار داد.

بن‌ماری‌ها به گونه‌ای طراحی شده‌اند که محفظه تانک آن‌ها باید از مایعات پر شود. در صورتی که محفظه تانک بن‌ماری خالی باشد، دمای آن می‌تواند بسیار افزایش یابد. بهتر است که از یکنواخت کننده دما در بن‌ماری‌ها استفاده شود که موجب توزیع یکنواخت دما در سراسر مایع درون بن‌ماری می‌شوند.

در صورتی که هر کدام از سیستم‌های کنترلی بن‌ماری (کنترل دما، کنترل دمای هشدار) معیوب بود، از کار کردن با آن خودداری شود.

نکات لازم در هنگام کار کردن با بن‌ماری به منظور افزایش عمر دستگاه

● بر حسب نوع بن‌ماری، محفظه تانک آن را از مایع مورد نظر (آب، روغن) پر کنید. سطح مایع مورد نظر درون محفظه تانک بن‌ماری باید به گونه‌ای باشد که پس از قرار گرفتن نمونه‌ها در داخل آن، ارتفاع سطح مایع از کف محفظه تانک، ۴-۵ سانتی متر باشد. درون محفظه تانک باید تمیز باشد. برخی از سازندگان این وسیله توصیه می‌کنند که به منظور جلوگیری از رشد قارچ، کپک و ...، مواد مهار کننده رشد این ارگانیسم‌ها نیز به آب درون محفظه تانک افزوده شود.

از تمیز کردن بن‌ماری با مواد شیمیایی سفیدکننده خودداری شود. از مایعاتی که دارای مقادیر بالایی از کلر هستند، خودداری شود.

● از محلول‌های نمکی ضعیف مانند کلرید سدیم، کلرید کلسیم یا ترکیبات کروم، خودداری شود.

از ریختن هر نوع اسید قوی در محفظه تانک بن‌ماری، خودداری شود. از مصرف غلظت‌های بالای هر نوع نمک در محفظه تانک بن‌ماری، خودداری شود. از مصرف غلظت‌های پایین هیدروکلرید، هیدروبرومیک، هیدرویدیک، اسیدهای سولفوریک یا کرومیک در بن‌ماری‌ها خودداری شود. از مصرف آب مقطر به منظور پر کردن محفظه تانک بن‌ماری‌ها، به دلیل ایجاد سایش و سوراخ شدن بن‌ماری، خودداری شود.

حمام مهره بدون آب

(Waterless bead bath)

● یکی از مشکلات اساسی استفاده از بن‌ماری‌ها، ایجاد آلودگی با قارچ‌ها، جلبک‌ها و باکتری‌ها در آب درون محفظه تانک است. بدین منظور نسل جدیدی از بن‌ماری‌ها به نام "حمام مهره بدون آب (Waterless bead bath)" طراحی شده است که حاوی مهره‌های خاص از جنس فلزهای جامد قابل برگشت به طبیعت بوده و فاقد آلودگی‌هایی که در بن‌ماری‌های معمولی مشاهده می‌شود، است.

مزیت دیگر استفاده از "حمام‌های مهره بدون آب"، کاهش مصرف الکتریسیته است. به عنوان مثال، مصرف برق در "حمام‌های مهره بدون آب"، برای ایجاد دمای ۶۵ درجه سانتیگراد، در حدود یک چهارم و برای تامین دمای ۳۷ درجه سانتیگراد نیز در حدود یک دوم برق مورد نیاز بن‌ماری‌ها است. از مزیت‌های دیگر "حمام‌های مهره بدون آب" به ایجاد دمای ثابت تر و نوسانات کمتر در دمای ایجاد شده نسبت به بن‌ماری‌ها می‌توان اشاره کرد.

دستگاه نوری و طرز کار دستگاه اسپکتروفتومتر و مدارات آن: ویدای فرخی

اسپکتروفتومتر یا طیف سنج، دستگاهی است که شدت نور را به صورت تابعی از طول موج اندازه گیری می کند. این کار با انکسار پرتو نور به طیف طول موج ها و آشکارسازی شدت ها با دستگاه باردار و نمایش نتایج به صورت گراف انجام می شود. در حقیقت این روش با استفاده از میزان جذب نور، تعیین غلظت می کند. این روش قابلیت اندازه گیری نمونه های فوق العاده کوچک را داشته لذا از آن برای تجزیه و تحلیل مولکول های وراثتی استفاده می شود.

نور از بسته های بسیار کوچکی به نام فوتون تشکیل شده است که انرژی هر یک از آنها به محض برخورد به یک الکترون منتقل می شود. تنها هنگامی انتقال رخ می دهد که انرژی فوتون ها برابر با انرژی مورد نیاز برای انتقال الکترون به لایه انرژی بعدی باشد. این پروسه که در آزمایش های محاسبه کیفیت و کمیت DNA موجود در محلول ها استفاده می شود، پایه طیف بینی جذبی را تشکیل می دهد. به طور کلی نور با طول موج و انرژی خاص به نمونه تابانده شده و مقدار مشخصی از انرژی آن جذب می شود. سپس با اندازه گیری انرژی رد شده از نمونه توسط یک فوتو دتکتور، مقدار جذب تعیین می شود.

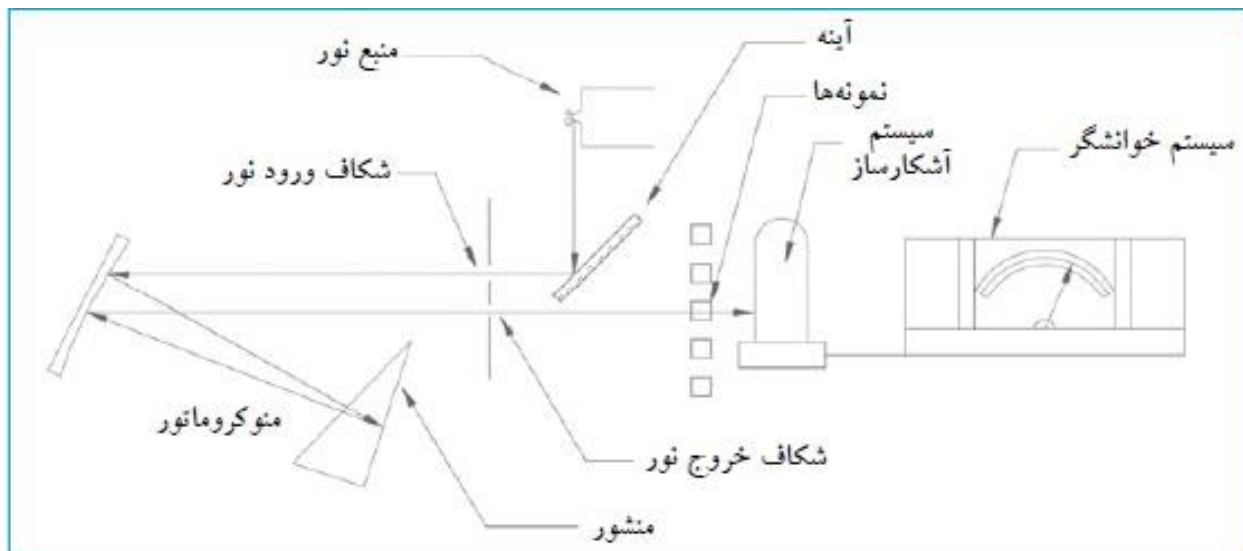
اسپکتروفتومتر دستگاه پیچیده ای است که شدت نور را به صورت تابعی از طول موج اندازه گیری می کند. در این دستگاه نور توسط یک منبع نور تولید شده و پس از گذشتن از میان نمونه مورد نظر نور، به صورت طیفی منتشر می شود سپس به وسیله سنسور ها آشکارسازی شده و به صورت نتایج قابل کاربردی ترجمه می شود. خروجی اسپکتروفتومتر همیشه نموداری از شدت نور نسبت به طول موج است. داده هایی که برای تولید نمودار گردآوری شده، در جدولی از شدت نور و طول موج ذخیره می شود. مقدار گراف بیان کننده مقدار عبور یا مقدار جذب است. اسپکتروفتومتر های امروزی دیجیتالی بوده و به وسیله میکروپروسسور کنترل می شوند.

اجزای اسپکتروفتومتر

چهار بخش اصلی در اسپکتروفتومتر وجود دارد: منبع نور، نمونه، آشکارساز و مفسر.

منبع نور می تواند نور مرئی، مادون قرمز یا ماورا بنفش باشد. پس از منبع نور یک تک فام ساز (مونوکروماتور) وجود دارد تا نور تولید شده را فیلتر و توسط یک منشور یا توری پراش طول موج های

خاصی را انتخاب کند. پس از گذشتن نور تولید شده از داخل نمونه و جذب بخشی از آن، پس از گذشتن از مجموعه ای از لنزها، شکافها، آینهها و فیلترها به سنسورها رسیده و پس از تفسیر شدن به صورت نموداری در خروجی قرار می گیرد.



عملکرد دستگاه

مسیر نور

در حال حاضر دو منبع نور **UV** و **VIS** برای اسپکتروفتومتر وجود دارد. متداول ترین منبع نور برای تولید نور مرئی یک لامپ هالوژن تنگستن با طول موج بین ۲۰۰ و ۳۴۰ نانومتر است. نور از میان نمونه عبور کرده و از طریق شکافی وارد اسپکتروفتومتر می شود. شکاف نازک باعث پراکنده شدن نور و پخش به خارج می شود، از آنجا که دستگاهها تنها یک باریکه نور دارند، در بیشتر موارد طول موج پرتو خوانده شده از نمونه دستخوش تغییر واقع می شود و برای اصلاح این امر از آینه های مقعر استفاده می شود. بدین ترتیب که نور توسط آینه های مقعر به شبکه پراکنده کننده منعکس شده و دوباره به آینه مقعر دیگری منعکس می شود. این آینه کانونی نور را به سمت آشکارساز متمرکز می کند.

آینه هایی که امروزه مورد استفاده قرار می گیرند به سه دسته تقسیم می شوند. اولین دسته از شیشه ساخته شده و برای خواندن جذب در طول موج های **فرا بنفش** بیشتر از ۳۴۰ نانومتر استفاده می شود. دسته دوم از سیلیس گداخته یا کوارتز ساخته شده و به علت شفافیت بسیار زیاد می تواند در اندازه گیری جذب طیف های **فرا بنفش و وی آی اس** استفاده شود و نوع سوم آینه های یک بار مصرف است که انواع مختلفی دارد. یک نمونه از آن از پلی متا اکریلیت بوده و تنها برای اندازه گیری طول موج های ۲۸۰ تا ۸۰۰ نانومتر استفاده می شود.

طبق آخرین تحقیقات آزمایشگاهی، منبع فرابنفش می تواند لامپ هیدروژنی فشار بالا یا لامپ دوتریوم باشد. هنگامی که میزان جذب در طیف فرابنفش اندازه گیری می شود، لامپ دیگر خاموش می شود و زمانی که اندازه گیری جذب در نور مرئی انجام می شود برعکس این مساله اتفاق می افتد که دلیل این امر جلوگیری از تداخل طول موج های غیر ضروری در نور منتشر شده از نمونه است.

آشکار ساز

در انتهای مسیر نور، آشکارساز وجود دارد که وظیفه آن اندازه گیری شدت نور تابیده شده از آینه ها و انتقال اطلاعات به کنترلی است که آنها را ثبت و مقدار را بر روی **ال سی دی** به اپراتور نمایش دهد. امروزه دو نوع آشکارساز در اسپکتروفتومتر **فرابنفش / وی ای اس** متداول است: فتوتیوب و فتومالتی پلایر تیوب. فتوتیوب یا فتوسل با تولید یک جریان الکتریکی عمل می کند. وقتی یک فوتون به کاتد سلول ضربه بزند، الکترون به سمت آند رانده شده و بدین ترتیب جریان الکترونی به وجود می آید که مقدار آن به میزان انرژی فوتون بستگی دارد. تیوب فتومالتی پلایر که بسیار حساس تر است به قانون اثر فتوالکتریک پلانک استناد دارد. فوتون ها به سطح حساس تیوب ضربه زده و الکترون های اولیه را به حرکت در می آورند، با برخورد این الکترون ها با سطح بعدی الکترون های ثانویه نیز رها می شوند. این روال به همین ترتیب ادامه پیدا می کند تا به آند برسند و جریان الکتریکی راه بیفتد. جریان تولید شده چندین بار تقویت می شود تا بتواند انرژی بسیار پایین یک فوتون را آشکار سازی و ثبت کند.

دستگاه باردار (CCD)

آشکارساز در بیشتر اسپکتروفتومتر ها یک دستگاه باردار خطی (**سی سی دی**) است. **سی سی دی** نوعی سنسور است که نور را حس می کند و از مدار های مجتمعی مشتمل بر جفت خازن های کوپل شده حساس به نور تشکیل شده است. این خازن ها شدت نور دریافتی را حس کرده و آن را به سیگنال الکتریکی تبدیل می کند. آشکار ساز خطی **سی سی دی** مشابه دامنه طول موج ها در اسپکتروفتومتر دستی است. هر پیکسل در **سی سی دی** نشان دهنده طول موج خاصی از نور است و فوتون های جذب شده بیشتر، سیگنال های الکتریکی بیشتری تولید می کند. بنابراین سیگنال های الکتریکی خروجی **سی سی دی** در هر پیکسل، برابر نسبت شدت نور در طول موج متناظر است.

مفسر

اسپکتروفتومتر ها می توانند خروجی خود را به صورت های مختلف نمایش دهند، اما متداول تر است که آن را به کامپیوتر وصل کرده و برای آنالیز داده ها از نرم افزار استفاده کنند و آن را به صورت قابل کاربردی مانند نموداری از مقدار عبور یا مقدار جذب بر حسب طول موج نمایش می دهند.

استفاده از اسپکتروفتومتر

اسپکتروفتومتر ها مستقیماً برای اندازه گیری شدت نور در طول موج های مختلف استفاده می شود و می تواند نماینده درصد نور تابشی مخابره شده یا جذب شده باشد. با استفاده از این اطلاعات و مقایسه آن با دانسیته ها و داده های به دست آمده می توان اسپکتروسکوپی را به عنوان یک ابزار استفاده کرد. مقایسه طیف ها برای تعیین غلظت جسم حل شده موجود در حلال مثال خوبی است.

بدین ترتیب که با ثبت نور ارسال و دریافت شده در طول موج خاص و بررسی طول موج جذب شده توسط حلال می توان به غلظت آن پی برد. سپس آنالیز محلول با غلظت ناشناخته، با داده های معلوم مقایسه شده و به کمک تناسب غلظت محاسبه می شود. این عمل برای محلول هایی که در آنها چندین نوع حلال وجود دارد نیز قابل استفاده است و البته به دقت بیشتری در آنالیز طول موج ها احتیاج دارد.

اسپکتروفتومتر هایی که منبع نور ندارند اما طیف هایی مبنی بر نور وارده را تولید می کنند می توانند با روشی مشابه برای تعیین منبع نور استفاده شوند. می توان منحنی طیف های به دست آمده از منبع نوری نامعلوم (یا ترکیبی از منابع) را با اطلاعات منحنی های منبع نور مشخصی مقایسه کرد و منبع نور ناشناخته را شناسایی کرد.

از دیگر کاربردهای اسپکتروفتومتر می توان به تعیین ثابت موازنه واکنش های یونی که در محلول های آبی انجام می شود اشاره کرد.

در ابتدا طیف های محلولی که تنها شامل یک واکنش دهنده است اندازه گیری می شود. سپس دیگر واکنش دهنده ها به آن اضافه می شود و پس از هر بار افزایش، طیف سنجی صورت می گیرد. این روش در صورتی به طور مطلوب کار می کند که طول موج جذب شده توسط محصول مقداری مشخص باشد. از آنجا که بیشتر محصولات از اضافه کردن چندین واکنشگر به دست می آیند، زمانی که محلول اشباع شده و واکنش موازنه می شود نور های بیشتری جذب شده و افزایش نور جذب شده برابر ثابت موازنه است.

طرز کار دستگاه شمارش گر پرتو گاما (gamma counter)

مرضیه امیری مقدم

دستگاه گاما کانتر (gamma counter):

آنالیزهای سنجش ایمنی رادیواکتیو، تکنیک تحلیل ویژه و حساسی را برای اندازه گیری آنالیت‌ها در نمونه‌های بیمار (سرم، ادرار و سایر مایعات بدن) فراهم می‌آورد. حد آشکار سازی این آنالیت از حد نانوگرم (۹ تا ۱۰ نانوگرم) تا پیکوگرم (۱۰ - ۱۲ پیکوگرم) متغیر می‌باشد. سنجش هورمون‌ها با RIA با بررسی عملکرد قلبی، عروقی، تناسلی، هماتوپوئیتیک و سایر عملکردهای متابولیکی، شواهدی دال بر ناهنجاریهای متابولیکی را ارائه می‌دهد. سنجش داروها (بخصوص داروهای درمانی نظیر متوترکسات) به بهبود کیفیت درمان کمک میکند. از تکنیک های RIA هم چنین برای آشکار سازی علائم توموری و گیرنده های هورمون استفاده می‌شود.

آشکار سازی آنتی ژن های هیپاتیت به یکی از کاربردهای بسیار مهم آزمایش بالینی RIA تبدیل شده است و آزمایش RIA گاسترین از نظر کلینیکی به یک روش مناسب و مفید برای تشخیص گاسترینوما مبدل گشته است. در این نوع آزمایش برای ترکیب یک لیگاند به ماده ای که قرار است تجزیه شود و معمولا به آن Ag گفته می‌شود با همبند (معمولا به عنوان آنتی بادی از آن نام برده میشود) ویژه آن لیگاند، روش مناسبی ارائه میشود.

خصوصیات این مواد و ترکیبات، بطور قابل ملاحظه ای، احتمال تداخل سایر مولکول های بیولوژیکی در استفاده از موادی که بوسیله رادیواکتیو نشان دار شده اند، کاهش می‌دهد، این ماده ممکن است با ماده خاصی که قرار است تست شود مشابه باشد.

ید ۱۲۵ - ۱۳۱، کبالت ۵۷ از جمله ایزوتوپی است که برای شمارش گاما مورد استفاده قرار می‌گیرند. در این میان ید ۱۲۵ بخاطر برخورداری از یک نیم عمر طولانی تر و همچنین بخاطر انتشار و تشعشع گاما در یک سطح پایینه دو ایزوتوپ دیگر ترجیح داده میشود. در ضمن ید-۱۲۵ باتوجه به دو دلیل فوق چندان خطرناک نیست انجام آزمایش RIA بصورت دستی مستلزم انجام پروسه های متعدد آزمایشگاهی و محاسبه‌های بسیار زیادی از اطلاعات میباشد.

آنالیز اتوماتیک و خودکار زمان دسترسی به بازده مطلوب را کاهش میدهد، میزان دقت را بهبود می بخشد و انجام آزمایش RIA را آسان تر می کند و از اینرو تکنولوژیست ها را قادر میسازد تا تستهای متنوعی را انجام دهند. با توجه به اینکه اصول Competitive-binding را میتوان در سیستم های غیر ایمونولوژیکی تعمیم داد لذا آزمایش RIA ترجیح داده می شود.

اصول کار دستگاه:

تکنیک های RIA برای اندازه گیری غلظت لیگاند موجود در نمونه ای که قرار است آنالیز شود از واکنش ligand-binder استفاده میکنند. در اغلب آزمایشهای RIA از اصول پیوند رقابتی استفاده میشود که در آن مقدار نامعلومی از لیگاند نشان دار شده با مقدار نامشخصی از لیگاند نشان دار نشده بر سر سایت های پیوندی موجود رقابت میکنند. با توجه به تفاوت های ساختاری بین لیگاند و Binder روش آزمایش به یکی از دو روش آزمایش تعادل حقیقی و یا آزمایش اشباع ترتیبی تعیین میشود. در روش آزمایش تعادل حقیقی، Binder به محلول حاوی لیگاند نشان دار شده و نشان دار نشده اضافه میشود و مخلوط در یک محیط انکوبه میشود. در روش آزمایش اشباع ترتیبی لیگاند نشاندار به یک محلول حاوی لیگاند نشان دار نشده و Binder اضافه میشود. بعد از آنکه مدت زمان انکوباسیون سپری گردید لیگاند باند شده از لیگاند آزاد جدا میشود و سپس مقدار لیگاند باند شده نشان دار بوسیله یک شمارشگر گاما اندازه گیری میشود. شمارشگر اطلاعات قابل بازخوانی را تولید میکند این اطلاعات از نظر ریاضی به مقادیر رادیواکتیویته تبدیل میشوند. هر یک از استانداردها دارای یک مقدار پاسخ مناسب میباشد. بعد از آنکه پاسخ ها بدست آمد غلظت آنالیت با استفاده از منحنی کالیبراسیون سنجیده میشود.

پنج مرحله آزمایش RIA:

۱- اضافه کردن واکنشگر ۲- انکوباسیون آنالیت و معرف ۳- جداسازی و تفکیک اجزا باند به رادیو اکتیو از اجزای آزاد ۴- اندازه گیری رادیو اکتیویته در بخش های مجزا با استفاده از یک شمارشگر بتا یا گاما ۵- تبدیل اطلاعات در مرحله یک، مقادیر از پیش تعیین شده معرف بوسیله پیپت به داخل نمونه بیمار که در یک لوله آزمایش قرار دارد منتقل میشود. این انتقال در فواصل زمانی منظم انجام میشود و در آنالیزهای خودکار اپراتور نمونه مورد نظر را روی یک سینی یا پایه قرار داده و نوع آزمایش را انتخاب میکند.

مدت انکوباسیون و دما بر اساس نوع آزمایش متفاوت و متغیر است. برای جداسازی لیگاند آزاد از کمپلکس آنتی ژن - آنتی بادی از روشهای مختلفی نظیر رسوبسازی، تصفیه، تبادل یونی، استفاده از غربالهای مولکولی و تکنیک های آنتی بادی فاز جامد استفاده میشوند.

یکروش رسوب سازی رایج روش آنتی بادی - دابل میباشد که در آن یک آنتی بادی با یک پروتئین به عنوان یک رسوب ساز مورد استفاده قرار میگیرد. از دیگر رسوب ساز ها میتوان به سولفات آمونیم، اتر، سولفیت سدیم، کلرید سدیم و پلی اتیلن گلیکول اشاره نمود.

در آزمایشات رسوب سازی بجای استفاده از سانتریفوژ میتوان از فیلتر هایی استفاده نمود که میتوانند ذرات به اندازه کوچکتر از میکرون را گیر بیندازند که در این راستا یک تکنیک سانددویچی نیز ارائه شده است که بر اساس آن فیلتر ها (استات سلولز ...) بر روی لایه مورد نظر نسب میشوند و به صورت سانددویچی بین جفت آشکار ساز قرار میگیرند و به این ترتیب میزان رادیواکتیویته را اندازه گیری میکنند.

در جداسازی بوسیله شارژ یا وزن مولکولی از *gel filtration chromatography* و غربال مولکولی استفاده میشود. جز رادیواکتیو مفید پس از جداسازی بوسیله یک شمارشگر گاما شمارش میشود. شمارشگر گاما بوسیله یک کریستال سدیم که قطره آن $1/5$ تا 3 اینچ میباشد و بوسیله تالیوم فعال میشود. آشکار ساز *Well-tipe* بصورت عمودی طراحی شده در حالی که آشکار ساز *Hole - tipe* به صورت افقی طراحی شده است و مستلزم آن است که تیوپ در آن بصورت عمودی قرار گیرد.

ذرات منتشر شده از ایزوتوپ رادیواکتیو داخل نمونه با الکترون های موجود در داخل کریستال یک ارتباط متقابل برقرار میکنند که این امر موجب یونیزاسیون میشود و به این ترتیب الکترونها در داخل کریستال جابجا میشوند. این الکترونها سپس از میان ساختار کریستال عبور میکنند تا به یکی از مراکز نور تابی که بوسیله تالیوم فعال میشوند برسند و به یک سطح انرژی بالاتر ارتقا یابند. الکترونهايي که از پیوند چندان مناسبی برخوردار نیستند پس از برانگیخته شدن با انتشار یک مجموعه از فوتونهای نور یا جرقه به حالت پایه خود باز میگردند.

در شرایط ایده آل انرژی اشعه گاما بطور کامل جذب میشوند. هرچه انرژی اشعه برخورد کننده گاما بیشتر باشد تعداد الکترونهای جابجا شده و تعداد جرقه ها در هر رگبار فوتون های نور، بیشتر خواهد بود. این رگبار بوسیله یک تیوپ فتو مولتی پلایر آشکار سازی میشوند. تیوپ تکثیر کننده نور، سیگنال انرژی نور را به یک سیگنال الکتریکی که با ساطع شدن از ایزوتوپ، تناسب میباشد تبدیل میکند. آنالایزر ارتفاع پالس ضمن تقویت شدت سیگنال، یک پنجره انرژی تعریف میکند که از طریق آن میتوان فقط به پرتوهایی با انرژی

مشخص اجازه عبور داد. در جریان تبدیل داده ها نرخ شمارش با استفاده از منحنی استاندارد به غلظت لیگاند نشاندار نشده در نمونه بیمار تبدیل میشود.

مشکلات گزارش نشده:

تغییر در شرایط عملیاتی نظیر رطوبت، ولتاژ و دما میتواند در پاسخ الکترونیکی یک دستگاه اندازه گیری، نوساناتی را بوجود آورد. آن دسته از تکنیک های جداسازی که مستلزم تصفیه و جداسازی بوسیله شارژ یا وزن مولکولی هستند در مقایسه با تکنیک های جداسازی آنتی بادی فاز جامد میزان ویژگی آنتی بادی را کاهش میدهد. کیفیت معرف به مرور زمان کاهش مییابد و در نتیجه کالیبراسیون پی در پی و مکرر لازم و ضروری میباشد. محدودیت های مربوط به در معرض تشعشع قرار گرفتن در محیط کار و مدیریت دفع هسته ای، نکات مهمی هستند.

محدودیت دستگاه گاما کانتر:

بشیرین محدودیت این دستگاه در شمارش نمونه هایی است که فعالیت رادیواکتیویته آنها زیاد باشد زیرا در این صورت شمارش بدست آمده صحیح نخواهد بود. محدودیت دیگر خصوصاً در دستگاه های جدید عدم انعطاف در انتخاب پنجره های انرژی است.