

Министерство образования и науки Российской Федерации  
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ  
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ  
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.Г.ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Кафедра оптики и биофотоники

**«Определение концентрации глюкозы в биологических  
образцах методом комбинационного рассеяния света»**

АВТОРЕФЕРАТ МАГИСТЕРСКОЙ РАБОТЫ

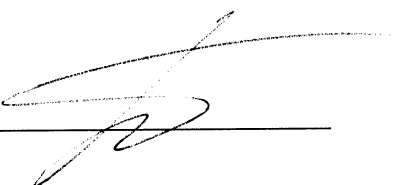
Студента 2 курса 254 группы  
03.04.02 «Физика» (Физика оптических и лазерных явлений)  
Физического факультета  
Еремина Вячеслава Валерьевича

Научный руководитель  
д.ф.-м.н., профессор



В.И. Кочубей

Заведующий кафедрой  
профессор, д.ф.-м.н.



В.В. Тучин

Саратов 2017 год

## **Введение**

### **Актуальность работы:**

Контроль концентрации глюкозы в крови является первоочередной задачей, направленной на предупреждение осложнений, связанных с последствиями сахарного диабета. Существующие методы контроля концентрации глюкозы в крови являются инвазивными, т.е. требующими забора крови (как правило, капиллярной крови, взятой из пальца). Эти методы имеют ряд ограничений, основным из которых является болезненность проведения анализа. Кроме этого, существуют вероятность попадания инфекции в организм пациента и заражения заболеваниями, передающимися через кровь (СПИД, гепатит С и др.). Ежедневный прокол пальца создает неудобства в повседневной жизни, но это необходимо из-за опасности гипогликемии и впадения в кому. Более того, длительное использование проколов пальца приводит к образованию мозолей и ухудшению кровообращения, что затрудняет дальнейшее проведение самодиагностики. Среднестатистический диабетик делает менее 2 тестов в день вместо рекомендуемых 4-7 раз. Неинвазивный метод определения концентрации глюкозы в крови является быстрой, безболезненной, безопасной и удобной альтернативой и позволяет обеспечить адекватный и регулярный контроль. [1]

### **Цель работы:**

Исследование аналитических возможностей неинвазивного измерения концентрации глюкозы, в биологических образцах спектрометрическим методом комбинационного рассеяния света.

### **Задачи работы:**

- 1 Подбор и анализ научно – технической информации по применимости спектроскопии комбинационного рассеяния света для определения концентрации глюкозы в биологических образцах

- 2 Разработка, изготовление и отладка лабораторного образца диагностической системы
- 3 Экспериментальное определение, концентрации глюкозы, в биологических образцах с помощью метода комбинационного рассеивания
- 4 Проведение экспериментальных исследований использования спектрометра(OceanopticsQepro-raman) для работы с биологическими образцами, в частности для измерения концентрации глюкозы

### **Научная новизна работы:**

Новизна работы заключается в сопоставлении мощности лазерного излучения, необходимой для получения сигнала комбинационного рассеяния от молекул глюкозы и изменений спектра КР, вызванных коагуляцией биологической ткани вследствие облучения такой мощностью

### **Научная значимость работы**

Показана динамика изменения комбинационного рассеяния лазерного излучения при изменении концентрации глюкозы в мышечной ткани вследствие ее диффузии с поверхности. Показана также возможность определения концентрации на заданной глубине, при этом глубина зондирования изменяется фокусировкой лазерного излучения.

Структура и объём ВКР.

Магистерская выпускная квалификационная работа состоит из введения, трех глав, заключения и списка литературы, состоящего из 55 наименований. Материалы работы изложены на 73 страницах, содержащих 47 рисунков.

Глава 1. Состояние вопроса развития медицинских технологий контроля содержания глюкозы в крови

Глава 2. Исследование теоретических вопросов применения спектроскопии комбинационного рассеяния света для определения концентрации глюкозы в биологических образцах

Глава 3. Экспериментальная оценка применимости спектрофотометрического метода основанного на Рамановском рассеивании для неинвазивного мониторинга глюкозы организма

## Основная часть

### Глава 1. Состояние вопроса развития медицинских технологий контроля содержания глюкозы в крови.

В настоящее время созданы достаточно эффективные системы контроля содержания глюкозы (СКСГ) и портативных глюкометров (ПГ), которые получают все большее распространение не только среди больных диабетом для самоконтроля уровня глюкозы в домашних условиях, но и во врачебной практике, поликлиниках и отделениях эндокринологии лечебных заведений. Разработано множество портативных приборов на основе малоинвазивных технологий взятия проб крови и совершенствования химических методов измерения. При этом практически все глюкометры, построены на использовании капиллярной крови и применении тест-полосок. Развитие идет в направлении расширения функциональных возможностей приборов, уменьшении объема крови для анализа и времени анализа.

Во многих странах ведутся интенсивные разработки приборов неинвазивного измерения глюкозы [2]. По способу получения измерительной информации различают прямые и косвенные методы. Прямые методы основаны на использовании свойств глюкозы непосредственно или при взаимодействии с другими веществами. Косвенные методы основаны на корреляционной связи других показателей организма человека с уровнем глюкозы. Прямые методы измерения глюкозы можно разделить на химические и волновые в оптическом и ИК-диапазоне.

Наиболее точными прямыми методами измерения глюкозы являются химические, которые используются в глюкометрах, например CobasIntegra, компании ESAT, Глюкохром М, RosheDiagnosticsGmbh, Glucocar, OneTouchProfile и др. Эти приборы позволяют измерять концентрацию глюкозы и изменение ее во времени, реализуют кинетический принцип регистрации скорости глюкозооксидазной реакции. Метод получил

значительное распространение в современных средствах контроля содержания глюкозы. Неинвазивный анализ требует других методов, физических, не нарушающих целостность кожи [3].

Неинвазивные измерения принципиально исключают предварительное препарирование, перевод объекта исследования в форму, наиболее удобную для измерений. С этим связаны значительные технические трудности при разработке неинвазивных оптических сенсоров.

Биологические ткани (далее – биоткани) имеют сложную клеточную микроструктуру, и поэтому оптически очень неоднородны; кроме поглощения, в них происходит значительное рассеяние света, что значительно усложняет задачи анализа; в биоткани, как правило, кроме вещества-аналита присутствует большое количество других биохимических веществ, создающих "фоновое" поглощение; от которого бывает непросто отделить поглощение именно аналита.

В человеческом теле мало участков, пригодных для измерений "на просвет", причем у разных людей такие участки (например, мочка уха, конечная фаланга пальца) имеют разную толщину, которая к тому же зависит от физиологического состояния и от сжатия [4]. Поэтому более универсальной для неинвазивных измерений в живом теле была бы схема измерений "на отражение", когда для измерений используют обратно рассеянный телом свет; однако при работе "на отражение" значительную роль играет способ выделения измеряемого пучка света и оптический контакт между телом и прибором, которые могут значительно варьировать от одного измерения к другому.

Современные успехи в развитии аппаратуры и метода спектроскопии комбинационного рассеяния света (КР) дают возможность исследования его аналитических возможностей по неинвазивному измерению концентрации глюкозы, в биологических образцах.[5]

## **Глава 2. Исследование теоретических вопросов применения спектроскопии комбинационного рассеяния света для определения концентрации глюкозы в биологических образцах.**

Молекулярные спектры гораздо сложнее атомных спектров, что определяется большей сложностью внутренних движений в молекуле. Эта сложность определяется тем, что кроме движения электронов относительно двух и более ядер в молекуле происходит колебательное движение ядер около положения равновесия и вращательное движение молекулы как целого. Электронному, колебательному и вращательному движениям молекулы соответствуют три типа уровней энергии:  $E_{эл}$ ,  $E_{кол}$ ,  $E_{вр}$ ; и три типа молекулярных спектров – вращательные, колебательные и электронные спектры.[6].

В спектроскопии комбинационного рассеяния в большинстве случаев используются обычные спектрометры для видимой области спектра; специфика состоит в источнике возбуждающего излучения. Лазер - практически идеальный источник для комбинационного рассеяния; он обеспечивает очень узкий, высоко монохроматический и поляризованный пучок излучения, который может быть сфокусирован на очень маленький образец и несет в себе сравнительно большую мощность, от нескольких милливатт до нескольких ватт, в зависимости от типа лазера, и при этом в узком интервале частот [7].

На рисунке 1 сравниваются два способа возбуждения. Слева показана ртутная газоразрядная лампа, охватывающая спиралью цилиндрическую кювету с образцом; при этом в образец попадает значительная часть энергии излучения лампы, однако эта энергия распределена по многим линиям испускания паров ртути, наиболее сильными из которых являются линии 435,8 и 253,6 нм. Рассматриваемый способ обладает тремя основными недостатками:

Во-первых, из-за того, что источник является протяженным, в спектрометр попадает заметная доля возбуждающего излучения. Это

приводит к тому, что все линии комбинационного рассеяния, отстоящие менее чем на  $100 \text{ см}^{-1}$  от возбуждающей частоты, неразличимы на фоне крыльев сильной линии возбуждающего света.

Во-вторых, кювета должна иметь длину 20—30 см и диаметр 1—2 см, поэтому для получения спектра требуется большое количество вещества.

В-третьих, из-за того, что линии излучения ртути имеют довольно высокие частоты, в образце часто возникает флуоресценция, спектр которой накладывается на очень слабые линии комбинационного рассеяния. Тем не менее, при работе с газами ртутной лампы и теперь часто отдают предпочтение.

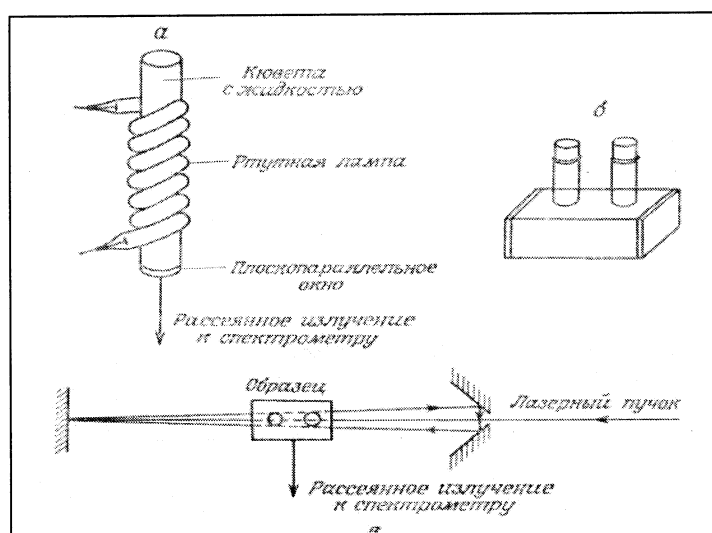


Рисунок 1. Способы возбуждения спектров комбинационного рассеяния  
*а* — возбуждение образца спиралевидной ртутной лампой; *б* — кювета для образца при лазерном возбуждении; *в* — схема установки с многократным прохождением лазерного пучка через кювету. [8]

На рис.2(б) показано, каким образом нужно пропустить через образец луч лазера, чтобы с помощью системы зеркал он несколько раз прошел через кювету; здесь показаны только три таких прохода, но настройкой зеркал можно добиться и десяти проходов, увеличив во столько же раз сигнал комбинационного рассеяния. Стандартная кювета для образца в такой схеме обычно представляет собой кварцевый параллелепипед, изображенный на

рисунке 2(б), длиной около 2 см и  $0,5 \text{ см}^2$  в поперечном сечении, который имеет отростки для заливания жидкости; таким образом, емкость кюветы составляет 1мл. Количество вещества можно значительно уменьшить, если использовать запаянную с одной стороны тонкую капиллярную трубку, заполненную жидкостью, а лазерный луч направлять вдоль ее оси; в этом случае уже нельзя обеспечить многократное прохождение пучка, но тем не менее, имея несколько микролитров жидкости, таким образом удастся получить спектр, всего в 1,5-2 раза менее интенсивный, чем от 1мл жидкости в многопроходной кювете [8]. Твердые образцы в виде порошка или прозрачных таблеток также очень удобно возбуждать лазерным излучением. Кроме того, лазерное излучение обычно имеет более низкую частоту, чем излучение ртутной лампы (например, гелий-неоновый лазер работает при 632,8, а аргоновый— при 514,5 и 488,0 нм), и поэтому вероятность того, что образец будет флуоресцировать, намного уменьшается.

Использование очень узкого лазерного пучка резко снижает интенсивность Рэлеевского рассеяния, и что дает возможность регистрации линий КР, отстоящих всего на  $20 \text{ см}^{-1}$  от возбуждающей  $1083$  линии. В настоящее время в связи с техническим прогрессом в области Фурье-спектроскопии эта техника стала применяться для получения спектров КР. Благодаря большой светосиле Фурье- спектрометров удалось использовать для возбуждения спектров КР инфракрасные лазерные источники, что позволило устранить мешающую флуоресценцию [9].

### **Глава 3. Экспериментальная оценка применимости спектрофотометрического метода основаного на Рамановском рассеивании для неинвазивного мониторинга глюкозы организма**

Для экспериментов был использован спектрометр QEPRO-Raman (Ocean Optics, USA). Регистрировались спектры КР водных растворов глюкозы, а также спектры КР при диффузии 40% раствора глюкозы в тонкие слои мышечной ткани.



Показано, что в условиях эксперимента интенсивность КР глюкозы от концентрации нелинейна (рис. 2). При диффузии глюкозы через поверхность мышечной ткани из неограниченного источника показано увеличение сигнала КР глюкозы в течение 15-20 минут (рис. 4).

1 2

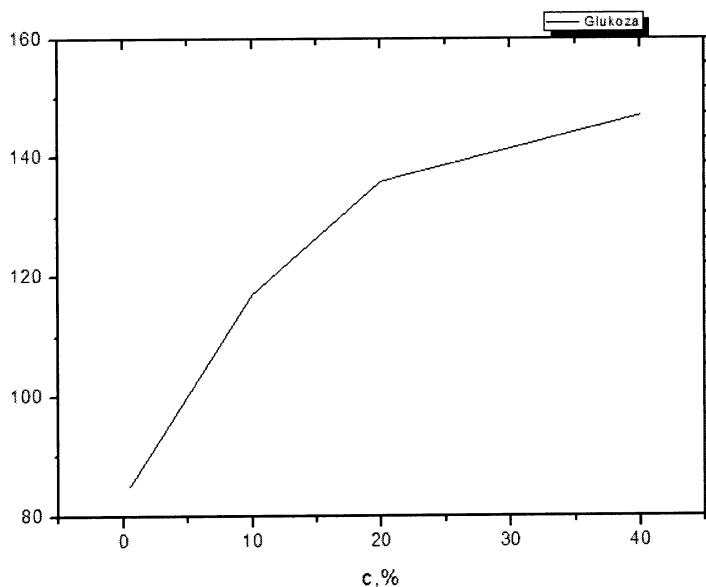


Рисунок 2. Зависимости интенсивности сигнала( $i$ ) от концентрации глюкозы( $c, \%$ )

1 2

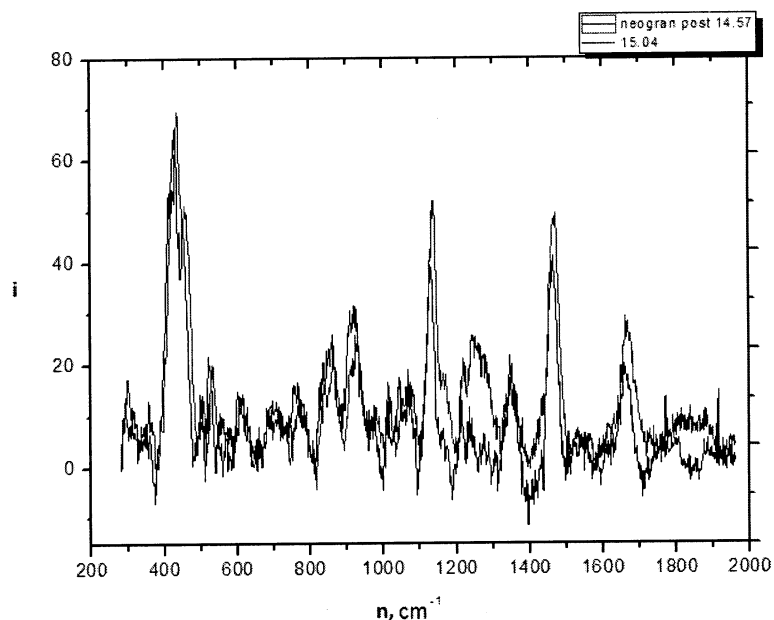


Рисунок 3. Спектры глюкозы при поступлении из неограниченного источника. Показания снимались с интервалом 7 минут. Черный 14.57, синий 15.04

## **Выводы**

1. На основе теоретического анализа современного состояния вопроса развития медицинских технологий контроля содержания глюкозы в крови показано, что преодоление технических трудностей, возникающих при реализации неинвазивных спектрофотометрических сенсоров, возможно на основе применения для определения концентрации глюкозы в биологических образцах метода комбинационного рассеяния света.
2. Получены экспериментальные данные, подтверждающие применимость спектрофотометрического метода, основанного на Рамановском рассеивании для неинвазивного мониторинга глюкозы организма.
3. Выявлены особенности применения спектрометрии комбинационного рассеяния при исследовании биологических материалов. Предложены пути исключения коагуляции биологических тканей при воздействии лазерного излучения.

## Список литературы

1. И.Н. Бокарев., Б.К. Великов., О.И. Шубина. Сахарный диабет. Медицинско - информационное издание // Москва 2006г.
2. Стенхольм С. Основы лазерной спектроскопии // М.: Мир,1987,
3. Демтредер В. Лазерная спектроскопия. Основные принципы и техника эксперимента // М.: Наука, 1985.
4. Свердлова О.В. Электронные спектры в органической химии // Л.: Изд. ЛГУ. 1973.
5. Бахшиев Н.Г. Введение в молекулярную спектроскопию // Учеб.пособие. Л.: Изд.ЛГУ,1987
6. Overview of Non-Invasive Optical Glucose Monitoring, Techniques Special Issue on Non-Invasive Glucose Monitoring with Optical Techniques, LEOS Newsletter // USA, pp. 2-27, April, 1998
7. A. K. Jain, Fundamentals of Digital Image Processing, // Prentice-Hall International, Inc., 1989.
8. Manuel De Landa. A Thousand Years of Nonlinear History // New York: Zone Books. 1997, p. 14
9. <http://www.avantes.com/>