

Применение спектрофотометрических методов в задачах дистанционного мониторинга состояния здоровья

Е. Н. Шалобыта¹, И. П. Корнеева²

Санкт-Петербургский государственный электротехнический университет
«ЛЭТИ» им В.И. Ульянова (Ленина)

¹enshalobyta@stud.etu.ru, ²korneeva.inkorn@gmail.com.

Аннотация. В работе описано применение спектрофотометрических методов исследования для дистанционного мониторинга состояния пациентов с хроническими заболеваниями. Перечислены наиболее простые и информативные диагностически значимые показатели, приведены методики их отбора и анализа методами спектрофотометрии. Разработана схема компактного прибора для дистанционного мониторинга, реализующего анализ выбранными методами.

Ключевые слова: спектрофотометрия; спектральный анализ; оптические методы; дистанционный мониторинг здоровья; портативные спектрофотометры

I. ВВЕДЕНИЕ

Основными преимуществами оптических методов измерения являются их высокая точность и наглядность, благодаря чему они нашли широкое применение во многих областях науки и производства. Оптические измерительные приборы применяются при проектировании ядерной и космической техники, в машино- и приборостроении, для разработок ядерных технологий, а также при проведении большинства современных лабораторных исследований в области физики, химии, биологии, экологии и др. [1].

Широкое распространение оптические методы получили в медицине и фармацевтике. В онкологии, хирургии, педиатрии, дерматологии, косметологии и ряде других областей они используются как для диагностики состояния организма, так и в качестве одного из способов терапии. Без оптических измерительных приборов невозможно осуществление многих биохимических анализов, а значит и проведение иммунохимических, гормональных, бактериологических специальных исследований. Их наличие является обязательным для большинства отделений санитарно-эпидемиологического надзора. Помимо этого, оптические методы измерения используются на всех этапах фармацевтического анализа лекарственных препаратов, как наиболее простой и эффективный метод исследования.

В основе оптических методов измерений лежит использование законов, описывающих механизмы и природу распространения излучения (света), а также характер взаимодействия его с различными веществами. По аналогии с тем, как в дисциплине физической оптики

выделяют ряд разделов, изучающих те или иные свойства света, оптические методы делят на совокупности, в зависимости от исследуемых процессов и применяющихся в них измерительных приборов.

Среди оптических методов, получивших наиболее широкое применение, относят совокупность абсорбционных или фотометрических методов анализа, использующиеся для измерения поглощения света веществом с целью анализа состава и структуры образца. Они отличаются сравнительной легкостью проведения измерений, дешевизной, эффективностью и высокой чувствительностью, что и обусловило их повсеместное применение в лабораторных исследованиях биологических жидкостей для качественного и количественного анализа компонентов проб. Такие исследования играют важнейшую роль в диагностической медицинской практике, так как предоставляют врачу принципиальные данные о скрытых патологических изменениях, протекающих в организме.

Долгое время основным ограничивающим недостатком применения данных методов оптических измерений являлась необходимость использования сложных и дорогостоящих спектрофотометрических систем для получения высокоточных и надежных данных, обладающих достаточной научной значимостью, а также требующих воспроизводимости измерений. Однако последние годы наблюдается тенденция активного проведения исследований в области разработки более компактных, портативных устройств, позволяющих проводить спектрофотометрические анализы в полевых условиях, «на дому» и пригодных для использования людьми, не обладающими навыками специалистов в области лабораторного дела [2].

Такие устройства, портативные мини-спектрофотометры, помимо всего прочего, могли бы найти применение также в задачах телемедицины в качестве компонента системы удаленного мониторинга состояния пациента, позволив проводить достоверный анализ проб биологических жидкостей для осуществления динамического наблюдения важнейших диагностически значимых показателей [3–4].

Учитывая все вышеописанное, актуальной становится разработка компактного устройства для расширенного исследования состояния пациента, позволяющего проводить качественный и количественный анализ биологических жидкостей, базирующийся на спектрофотометрическом методе проведения измерений. Целью данной работы было определение концепции данного устройства, путем последовательного решения следующих задач:

Определить основные диагностически значимые параметры, подходящие для измерения спектрофотометрическим методом;

Подобрать возможные конструктивные решения и элементную базу разрабатываемого устройства.

Проанализировать преимущества и возможности выбранных функциональных решений для разработанного прибора.

II. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОСНОВНЫХ ДИАГНОСТИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫХ ПАРАМЕТРОВ ДЛЯ ИЗМЕРЕНИЙ

На сегодняшний день существует огромное количество разных типов фотометрического анализа, классифицирующихся, как правило, в соответствии с применяемой для проведения анализа аппаратурой. Однако все они базируются на едином принципе существования пропорциональной зависимости между светопоглощением и концентрацией поглощающего вещества, а также положении о том, что различные биологические молекулы по-разному поглощают свет разной длины волны [5].

При этом предполагается, что каждое вещество в смеси или растворе обладает своими собственными специфическими спектральными характеристиками и независимо взаимодействует с поступающим на него электромагнитным излучением, т. е. суммарная оптическая плотность смеси веществ складывается из индивидуальных оптических плотностей веществ в этой смеси. Однако в большинстве типов анализа большее значение имеет не абсолютные значения интенсивностей поглощения, а сравнительные, соотносящиеся с исследуемым и эталонным образцами.

Такие измеряемые параметры, как количество максимумов в спектре поглощения, их положение и ширина, величина максимумов и ряд других позволяют достаточно точно отождествить измеренный спектр с одним из приведенных в специализированных справочных таблицах спектральных линий, и таким образом установить наименование вещества или последовательно качественно определить состав смеси. Сложность спектра поглощения при этом будет зависеть от числа электронных переходов между разными уровнями.

Температурный режим и агрегатное состояние образца не играют роли во время проведения анализа, так как прибор сравнивает только потоки света изначально направленного на вещество и прошедшего через него.

Существующую зависимость между этими значениями описывает закон Бугера–Ламберта–Бера:

$$\lg(I_0/I) = \varepsilon cl = D$$

где I_0 и I – интенсивности светового пучка, падающего на раствор и прошедшего через него, ε – коэффициент пропорциональности, называемый молярным коэффициентом поглощения или коэффициентом инстинкции [л/(моль·см)], c – концентрация в [моль/л] и l – длина оптического пути в см.

В спектрофотометрии величину отношения интенсивностей I_0 и I измеряет непосредственно сам прибор, преобразуя ее в показатель оптической плотности D , который еще называют экстинкцией. Таким образом производят количественный спектрофотометрический анализ, позволяющий рассчитать устойчивость комплексов и их стехиометрию при исследовании процессов комплексообразования, изучить кинетику протекающих реакций и вычислить константы диссоциации соединений.

В области медицины спектрофотометрические методы для количественного и качественного анализа соединений нашли достаточно разнообразное применение.

Если говорить о спектрофотометрии в видимой части спектра, то, помимо непосредственного измерения концентрации, в число ее основных прикладных функций входят: исследование химических реакций, структурно-функциональный анализ соединений, определение строения молекул и веществ, исследование межмолекулярного взаимодействия.

При помощи спектрофотометрии с высокой точностью определяют содержание в жидких биопробах (кровь, плазма, моча) белков, витаминов, коферментов, аминокислот, оксикортикостероидов, липидов, НАДФ, углеводов. Достаточная чувствительность метода позволяет изучать с его помощью активность ферментов (например, альдозазы и фосфазы), определять их диапазон действия. Турбодиметрический анализ, также включает в себя спектрофотометрию. С его помощью возможно исследование клеточных культур, жировых эмульсий и других полимерных структур биопроб.

Особенно информативными спектрофотометрические методы оказываются при исследовании свойств молекул белков и нуклеиновых кислот, имеющих характерные полосы поглощения в видимой и ультрафиолетовой частях спектра. По сравнению с другими методами они имеют ряд преимуществ, в числе которых, например, быстрота и простота проведения, а также отсутствие структурных разрушений в исследуемом материале.

Определение концентрации белков входит в число наиболее распространенных и фундаментальных спектрофотометрических процедур. Кроме того, их применяют для определения некоторых особенностей конформации белков, обнаружения связывания с белками малых молекул, наблюдения процессов денатурации, ренатурации и ассоциации молекул.

На сегодняшний день уже существуют научные исследования, доказывающие эффективность применения спектрофотометрических анализаторов для контроля некоторых диагностических параметров, таких как, например, уровень глюкозы и содержание в крови жирных кислот [6–7]. Изучаются возможности оценки с их помощью содержания в биопробах продуктов белкового распада, вредных для организма [8–9].

В связи с чем можно сделать вывод о высоком потенциале применения компактного портативного спектрофотометрического устройства в разнообразных задачах удаленного мониторинга состояния здоровья пациентов.

III. ОПИСАНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО УСТРОЙСТВА ПРИБОРА

В любом устройстве для проведения спектрофотометрического анализа можно выделить две общие для всех моделей составляющие: внешнюю (корпус, внешние элементы управления, периферийный интерфейс) и внутреннюю (измерительная система устройства, блок управления и питания). Как правило, основные различия между существующими типами спектрофотометров связаны с различными вариантами проектирования внутренней части, а именно с особенностями конструкции измерительной системы. В случае разработки компактного, портативного спектрофотометра, к ней также будут предъявляться особые требования.

Измерительная система спектрофотометра представляет собой комбинацию источника излучения, необходимого для формирования исходного светового потока, направляемого на исследуемое вещество; и фотоприемника, регистрирующего частично поглощенный световой поток после прохождения вещества. А также один из вариантов исполнения оптических систем источника и фотоприемника (систему линз, дифракционную решетку, полихроматор), основным назначением которых является модуляции светового потока.

В современном мире широкую популярность набирает метод конструирования спектрофотометров, в котором свет от источника направляется непосредственно на образец, после этого – на дифракционную решетку, проецирующую разложенный по поддиапазнам свет на светочувствительную матрицу, как правило, полупроводниковую (КМОП). Подобные матрицы содержат определенное количество светочувствительных датчиков, способных преобразовывать световую энергию в электрические импульсы. Важно заметить, что при данной конструкции спектрофотометра, любой диапазон длин волн дает свой "отклик" практически мгновенно, а не последовательно, как это имеет место в традиционных спектрофотометрах, что позволяет существенно ускорить срок проведения анализа.

При разработке портативного спектрофотометра рекомендуется использовать именно такое конструктивное решение, так как оно обеспечивает

самое высокое быстродействие (менее 1 с на диапазон сканирования). Кроме того, современные производители оптических модулей изготавливают специализированные спектральные модули, уже включающие в себя такие элементы, как дифракционная решетка, формирующая щель, приемник изображения и цепи управления и обработки, интегрированные в компактном корпусе. Применение MEMS технологий позволяет добиться ультрамалых габаритов модулей. В настоящее время наиболее распространены мини-спектрометры от компании Hamamatsu.

Они представляют собой высокочувствительные компактные устройства, содержащие входную щель, вогнутую фокусирующую отражающую дифракционную решетку с плоским полем для сформированного изображения и расположенной на нем линейной КМОП-матрицей фотодиодов.

На рис. 1 представлена схема, описывающая строение и принцип работы мини-спектрометра.

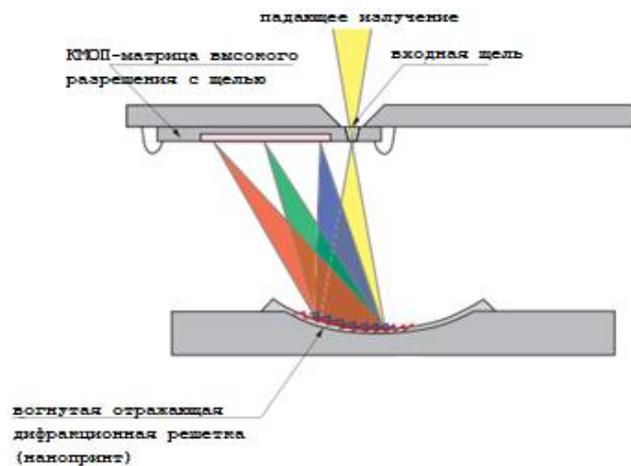


Рис. 1. Схема встроенного в датчик полихроматора

Прошедший через исследуемый образец луч света через узкую входную щель датчика, интегрированную в КМОП-матрицу, попадает на вогнутую отражающую дифракционную решетку, сформированную по технологии наноимпринта, после чего рассеивается в разных направлениях, за счет чего происходит выделение разных спектров. Полупроводниковая матрица фоточувствительных датчиков преобразует попавшее на нее световое излучение в электрический сигнал, который и будет передаваться на управляющее устройство – программируемый микроконтроллер, обеспечивающий регулировку режима работы источника излучения, обработку сигнала, полученного с выхода спектрального модуля и передачу информации через интерфейсы периферии.

Благодаря своим уникальным техническим характеристикам: ультрамалым линейным размерам (максимальный параметр не более 2 см), широкому спектральному диапазону восприятия (340–850 нм), высокому спектральному разрешению (15 нм) и относительной дешевизне, подобные мини-спектрометры можно назвать наиболее подходящими

для использования в портативных компактных спектрофотометрах, что также подтверждается проведенными исследованиями с данными датчиками [10, 3]. Предполагается, что их использование позволит существенно снизить итоговую стоимость устройства и его габариты, благодаря отсутствию необходимости устанавливать дополнительные оптические элементы, помимо датчика.

Немаловажной частью разработки спектрофотометрического устройства является подбор источника излучения. Использование мини-спектрометрического модуля позволяет установить в устройство единственный LED-светодиод теплого белого света в качестве источника излучения, и этого будет достаточно для проведения точных и надежных измерений. Спектр его излучения охватывает область от 350–800 нм, то есть, весь видимый диапазон и нижнюю границу инфракрасного света, вдобавок светодиод обладает наименьшими линейными размерами, самой малой мощностью потребления и самой низкой стоимостью. Вместе с тем обеспечивает продолжительный срок эксплуатации и надежное функционирование.

Обобщая все вышесказанное, можно выделить перечень ключевых функциональных узлов внутреннего устройства компактного портативного устройства для проведения спектрофотометрического анализа:

- источник излучения (LED-светодиод);
- оптическая измерительная система (мини-спектрометрический датчик);
- управляющее устройство (программируемый МК);
- источник питания;
- интерфейс периферии;
- кюветное отделение.

IV. Выводы

В ходе проведенного исследования был обозначен перечень основных параметров биопроб, измеряемых с применением спектрофотометрических методов и имеющих важное диагностическое значение при мониторинге состояния здоровья пациента, описаны

функциональные модули устройства, позволяющего проводить измерения. Проанализирована и определена его структура.

Результаты исследования будут использованы при разработке опытного образца для проведения тестовых измерений и оценки надежности полученных данных.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- [1] Кирилловский В.К., Точилина Т.В. Оптические измерения. Часть 1. Введение и общие вопросы. Точность оптических измерений: учеб. пособие для вузов. 2-е изд., стер. СПб.: Университет ИТМО, 2017. 49 с.
- [2] G.C. Bertinotto, M. Schoot, M. Dingemans, "Influence of measurement procedure on the use of a handheld NIR spectrophotometer," *Food research international*, 2022, vol. 161: 111836.
- [3] K. Laganovska, A. Zolotarjovs, M. Vázquez, K. Mc Donnell, J. Liepin, H. Ben-Yoav, V. Karitans & K. Smits, "Portable low-cost open-source wireless spectrophotometer for fast and reliable measurements," *HardwareX*, 2020, vol. 7 e00108.
- [4] K. Khachornsakkul, & W. Dungchai, "A Portable Reflective Absorbance Spectrophotometric Smartphone Device for the Rapid and Highly Accurate Determination of Amlodipine in Pharmaceutical Formulation and Human Urine Samples," *Analytical sciences : the international journal of the Japan Society for Analytical Chemistry*, 2021, vol. 37(7), pp. 963–969.
- [5] Оптические методы анализа: методические указания / сост.: Л.М. Рагузина, Ж.П. Анисимова, Е.В. Сальникова. Ориенбург: ГОУ ОГУ, 2009. 41с.
- [6] N. Chaianantakul *et al*, "Development of mini-spectrophotometer for determination of plasma glucose," *Spectrochimica acta. Part A, Molecular and biomolecular spectroscopy*, 2018, vol. 204, pp. 670–676.
- [7] M. C. Hespanhol, J. C. Souza & C. Pasquini, "Feasibility of a portable, low-cost near-infrared spectrophotometer for the quality screening of omega-3 dietary supplements," *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 2020, vol. 189, 113436.
- [8] T. J. Lin, K. T. Yen, C. F. Chen, S. T. Yan, K. W. Su & Y. L. Chiang, "Label-Free Uric Acid Estimation of Spot Urine Using Portable Device Based on UV Spectrophotometry," *Sensors (Basel, Switzerland)*, 2022, vol. 22(8), p. 3009.
- [9] S. O. Catarino, P. Felix, P. J. Sousa, V. Pinto, M. I. Veiga & G. Minas, "Portable Device for Optical Quantification of Hemozoin in Diluted Blood Samples," *IEEE transactions on bio-medical engineering*, vol. 67(2), pp. 365–371.
- [10] V.A. Firago, N.V. Levkovich, K.I. Shuliko, "Diffuse Reflectance Spectrophotometers Based on C12880MA and C11708MA Mini-Spectrometers Hamamatsu", *Devices and Methods of Measurements*, 2022, vol. 13, no. 2, pp. 93-104.