

Darbeli Lazer Diyot Uyarımlı Fotoakustik Yöntemle Glikoz Algılanması

Timuçin Emre Tabaru¹, Ömer Galip Saraçoğlu²

¹ MYO Elektronik ve Otomasyon Bölümü
Hitit Üniversitesi
temretabaru@hitit.edu.tr

² Elektrik Elektronik Mühendisliği Bölümü
Erciyes Üniversitesi
saracog@erciyes.edu.tr

Özet

Fotoakustik (FA) yöntem kullanılarak yapılan bu çalışmada, belirlenen örneklerin glikoz derişimleri ile orantılı çıkışlar elde edilmesi amaçlanmıştır. Bu amaç için uygun bir deney düzeneği hazırlanmıştır. Algılama için farklı glikoz derişimlerine sahip jel örnekler hazırlanıp, her biri lazer darbeleri ile uyarılmıştır. Lazer darbeleri tarafından oluşturulan akustik dalga piezo film dönüştürücü tarafından algılanmıştır. Deney sonucunda, alınan akustik cevapların genliklerinin, örneklerin glikoz derişimleri ile doğrusal orantılı olarak değiştiği görülmüştür.

Abstract

In this work, determination of glucose concentration in gel specimens is aimed by using photo acoustic (PA) method. For this purpose, an appropriate experimental setup is prepared. Gel specimens with different glucose concentrations are excited by laser pulses during experiments utilizing PA method. The acoustic waves produced by laser pulse excitations are detected by piezo film transducer. The results of the experiments show that the amplitudes of acoustic waves are linearly related with glucose concentration.

1. Giriş

Karbonhidratlar, bitkilerde fotosentez yoluyla sentez edildikleri için çoğunlukla bitkisel gıdalara özgü bileşenlerdir. Ancak hayvanlarda da birçok hayati dokunun yapı maddesi olarak bulunabilirler. Glikoz, basit şeker (monosakkarit) olarak adlandırılan ve gıdalarda fazlaca bulunan, en önemli karbonhidrat grubudur [1]. Glikoz miktarının analizi gıda sektöründe, gıdanın genel bileşim analizlerinin yapılmasında, gıda maddelerinin enerji değerinin ve besin içeriğinin belirlenmesinde, ayrıca işlenmiş bazı hayvansal gıdalara bitkisel kökenli gıdaların katılıp katılmadığının belirlenmesinde oldukça önemlidir [2].

Glikoz değerlerinin belirlenmesinin yine çok önemli olduğu diğer bir alan da sağlık sektörüdür. Glikoz vücut için birincil enerji kaynağıdır ve beyin dokusu için tek besin kaynağıdır. Kan glikozu düzeylerinin belirlenmesi için yapılan ölçümler diyabet ve hiperglisemisi olan hastaların tedavisinde çok önemli bir yer tutar. Diyabet, çok ciddi bir hastalıktır. Öyle ki hastaların sadece iç organlarını, dolaşım sistemlerini, görmelerini değil aynı zamanda tüm hayatlarını etkiler. IDF'nin (Uluslararası Diyabet Federasyonu) 2013 verilerine göre şu an dünya üzerinde 382 milyon diyabet hastası bulunmaktadır ve 2035 yılında bu rakamın 591 milyon olması beklenmektedir [3].

Diyabette açlık ve tokluk kan şekerlerini normal limitler içinde tutmak, insan vücudunu, bu hastalığın etkilerinden korumak için oldukça önemlidir. Bu sebeplerden dolayı glikoz algılanması ve ölçümü hayati bir öneme sahiptir [4]. Glikoz ölçümünde yaygın yöntem, diyabetli hastanın parmağının delinmesiyle toplanan kanın kimyasal analizlerinin glukometreler yardımı ile belirlenmesine dayanır. Acı verici olabildiğinden ve deriye zarar verdiğinden diyabet hastalarının çok sık kullanmak istemedikleri bir yöntemdir.

Optik yöntemler noninvaziv (girişimsel olmayan) ölçümlerin temelini oluşturur. Optik yöntemler, iyonize olmayan radyasyon olgusunu kullanırlar, genellikle tüketilebilen reaktifler içermezler ve cevap hızları yüksektir. Ayrıca düşük maliyet, geliştirilmiş lazerler ve optik algılayıcılar bu yöntemlerin etkileyici yönleridir. Bütün optik girişimsel olmayan yöntemler parmak, ön kol, dil, dudak, göz gibi insan vücudunun belirli bölümlerinde ışık demetlerinin yayılması prensibini kullanırlar. İletilen ışık, dokunun içinden geçerken yansır veya derinin dışına saçılır. Bu ışıklar, aydınlatılan dokunun dağılımı hakkında bilgiler içerirler. Daha sonra dedektör tarafından alınan ışıklar, oksijen, hemoglobinin gibi analitlerin derişimlerinin belirlenmesinde kullanılır.

Bu analizler doğal olarak çok karmaşıktır. Çünkü, alınan sinyalin genliği genellikle çok zayıftır ve kandaki diğer analizlerden, insanın sürekli değişen fizyolojisinden çok kolay etkilenir. Klinik açıdan bakıldığında bu yöntemler direk glikoz derişiminin ölçümünde kullanılabilir fakat sistemin akışı zaman alıcıdır. Bu sebepten sonuçlar zaman gecikmeli olarak alınır [5].

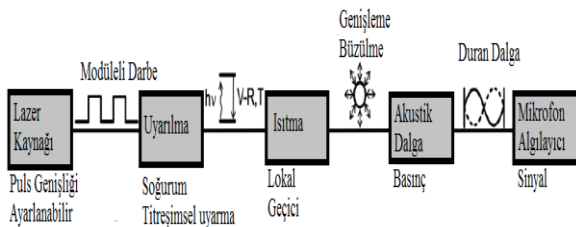
Lazer fotoakustik spektroskopisi (LFAS), sunduğu yüksek hassasiyet sebebiyle analiz tespitinde kullanılmaktadır [5]. Bu metotda, yüksek enerjili lazer ışını, çalışılan madde içinde ışık yayılımı için kullanılır. Işın madde içinde bir termal genişleme meydana getirir ve bu durum akustik dalganın oluşumunu sağlar. Dalganın karakteristiği hem maddenin optik soğurma sabiti hem de termal genişleme, spesifik ısı ve ses hızı gibi fiziksel parametreler tarafından belirlenir. Akustik dalga da ortamın optik saçıcılığından etkilenebilir fakat LFAS yöntemi, diğer optik soğurma tekniklerinden daha yüksek bir hassasiyet sunmaktadır.

Bu yöntemin uygulamaları gaz ve yoğunlaştırılmış maddelerde analizlerin analizine büyük ilerleme katmıştır. Ayrıca, gıda endüstrisinde, medikal görüntülemelerde, atmosferik olayların denetiminde, yağ sektöründe, yarıiletken malzeme süreçlerinde, malzeme testlerinde, tozların partiküler etkilerinin analizinde, jellerde, emülsiyonlarda, süspansiyonlarda ve diğer yüksek saçıcılığı olan opak malzemelerde kullanılmıştır[6-14].

2. Fotoakustik Yöntem

Fotoakustik (FA) yöntemler, optik soğurma teknikleri ile karşılaştırıldığında, yüksek algılama hassasiyeti gibi önemli bir avantajı da beraberinde sunarlar. FA sinyali, sadece optik soğurma sabitini etkilemekle kalmaz, aynı zamanda akustik hızı, özgül sıcaklığı ve termal genişleme gibi diğer fiziksel değişkenleri de etkiler.

FA tekniği, girişimsel olmayan ve güncel ölçümlerde termoelastik süreç olarak adlandırılmaktadır. Bu sürecin asıl mekanizması, bir emici ortama düşük enerji seviyeli lazer darbeleri uygulanmasıdır. Bu darbelerin gücü, malzemenin kimyasal yapısını bozmayacak ve ayrıca buharlaşma oluşturmaya değerler seçilir. Malzeme tarafından soğurulan ışık enerjisi, ısı enerjisine çevrilerek, ısınan bölgenin sıcaklığının artmasına sebep olur. Bu sıcaklık artışı ortamda genişlemeye ve sıkışmaya yol açan bir gerilme üretir. Bu gerilme termoelastik akustik dalgayı oluşturur. Sistemin prensip şeması Şekil 1' de görülmektedir.



Şekil 1. FA Algılama sistemi prensip şeması

İlk olarak Mackenzie tarafından İngiltere' de oluşturulan bir araştırma grubu, kan şekeri ölçümleri için darbeleri FA

metodunu kullanmıştır. Bu grup, yakın infrared FA spektroskopisini, insan vücudunda, girişimsel olmayan glikoz algılama uygulanabilirliğini göstermek için glikoz solüsyonlarında ve kan örneklerinde uygulamıştır [15]. Quan ve arkadaşları, jelatin tabanlı yapay doku ile glikoz solüsyonunu içeren bir dolaşım sistemini simüle etmişlerdir [16]. Bu çalışmada bildirilen algılama hassasiyeti, 1064 μm dalgaboyunda, herbir mmol/l lik karışımında 0.071' dir. Aynı dönem içerisinde Christison, insan kan örneğinde fizyolojik glikoz derişiminin (18-450 mg/dl) algılanması için bir darbeleri hibrit CO2 lazer kullanmıştır [17]. Elde edilen hassasiyet, kliniklerde ve hastanelerde kullanılan ticari enzim tabanlı tanı sistemleriyle karşılaştırılabilir olarak duyurulmuştur.

1995' de bir araştırma grubu, 904 nm dalgaboyunda ışıma yapan, bir veya daha fazla lazer diyotu içeren, FA metot tabanlı taşınabilir, girişimsel olmayan kan glikoz göstergesi yapmıştır [18]. Grup tarafından bildirilen bu cihazla yapılan testlerde elde edilen FA cevapları ile hastanelerde yapılan kan örneklerindeki testlerin cevapları arasındaki, glikoz derişiminin korelasyon sabiti 0.967 olarak tespit edilmiştir.

Spanner önderliğinde Almanya' da oluşturulan bir araştırma grubu, insan vücudunda glikoz ve hemoglobini araştırmak için FA ve optik teknikleri birlikte kullanmıştır [19]. Bu çalışmadaki kayda değer en önemli durum, özel modüllü bir lazer diyot dizisi kullanmalarıydı.

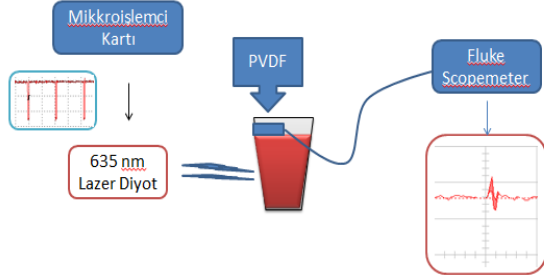
Oraevsky liderliğinde oluşturulan bir araştırma grubu, tavşan sclerasında yaptığı deneylerde, glikoz derişimindeki 1 mmol/l lik yükselişin, optik zayıflamayı %3 düşürdüğünü saptamıştır. Sonuçlar 355 nm de, bir lazer kaynaklı zaman çözümü FA tekniği kullanılarak elde edilmiştir [20]. Bu hassasiyet değeri, daha önceki invivo glikoz ölçümlerinin çok üstünde bir başarı olarak kabul görmüştür.

3. Fotoakustik Yöntem İle Glikoz Algılanması

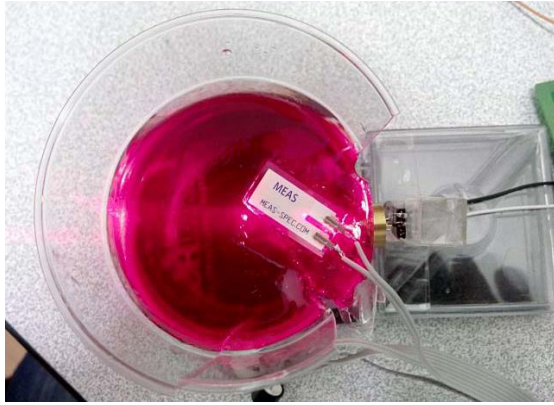
Bu çalışmada, fotoakustik yöntem kullanılarak, oluşturulan jel örneklerin glikoz derişikleri ile orantılı çıkışlar elde edilmesi amaçlanmıştır. Bunun için Şekil 2.' de verilen blok diyagrama uygun bir deney düzeneği hazırlanmıştır. Işık kaynağı olarak, 500 mW gücünde, 635 nm dalgaboyunda ışıyan yapan Mitsubishi ML501P73 marka lazer diyot kullanılmıştır. Işık darbelerinin oluşturulabilmesi için Arduino Due mikroişlemci kartı kullanılmıştır. Ayrıca, lazer diyotun darbeleri çalışabilmesi için bir lazer sürücü devre tasarlanmıştır. Akustik algılayıcı olarak, Vibratab firmasının PVDF piezo film dönüştürücüsü kullanılmıştır. Şekil 3.' de deney düzeneği üzerinde, lazer diyot ve algılayıcı gösterilmektedir. PVDF, 1 $\mu\text{V/g}$ hassasiyete ve 1 Hz ile 1 GHz arası çok yüksek bant genişliğine sahip olduğu için tercih edilmiştir. Algılayıcı cevapları Fluke 199C Scopemeter ile ölçülmüş ve görüntülenmiştir.

Bir kaç denemeden sonra lazer diyot darbelerinin genişliği, 2.5 μs ve tekrarlama frekansı 10 KHz olarak belirlenmiştir. Lazer darbelerinin genişliği, alınan akustik dalganın genliğini etkiler. Lazer ışını, saçıcı bir ortama girdiğinde soğurma uğramadan en kısa sürede ortamı ısıtmalıdır. Isınan ortam, gerilmeye başlar ve bu gerilmenin oluşturduğu titreşimler bir akustik dalganın oluşmasını sağlar. Dolayısı ile en yüksek akustik genlik, en küçük lazer darbeleri ile elde edilebilir. Bu deneyde seçilen darbe genişliğinin çok küçük olmamasına

karşın, lazerin gücünün yüksek olması, akustik algılayıcının çok yakında olması, ortamda çok saçıcı maddenin bulunmaması, bu darbe genişliğinde cevapların alınması için yeterli olmuştur. Darbe genişliği artırılarak da deneyler yapılmış fakat algılanan akustik dalganın genliğinin çok düştüğü, dolayısıyla da net olarak elde edilemediği görülmüştür.



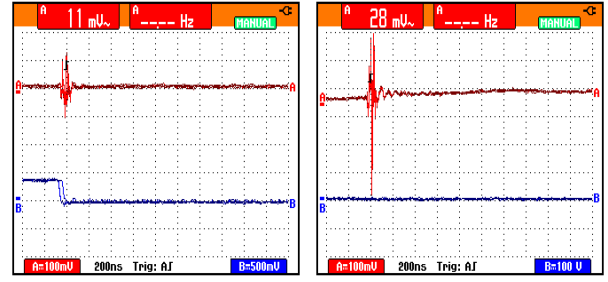
Şekil 2. FA Algılama sistemi blok şeması.



Şekil 3. Lazer diyot ve PVDF film dönüştürücünün ölçüm düzeneğindeki görüntüsü.

Deneyde kullanılmak üzere, glikoz derişimleri % 2,7 ile % 21,5 arasında değişen jel örnekler oluşturulmuştur. Jellerin bulunduğu kapların yan tarafları kesilerek, lazer diyotun doğrudan jele teması sağlanmıştır. Bu sayede ışık enerjisinin tamamının, saçılıma uğramadan örneğe aktarması amaçlanmıştır. Jelin üzerine, lazer diyota yakın bir yere PVDF akustik algılayıcı yerleştirilerek, algılamanın en yakın noktadan yapılması sağlanmıştır.

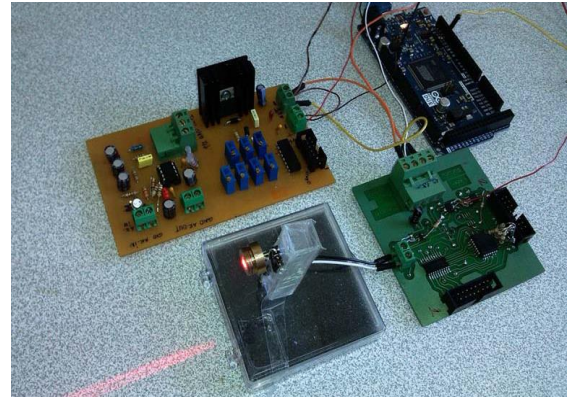
Örneklere sırasıyla 20 s boyunca lazer darbeleri uygulanmış ve osiloskoptan cevaplar alınmıştır. Ölçümler, düşük derişimli çözeltiyle başlayıp, en yüksek derişimli çözeltiye kadar sırasıyla yapılmıştır. Osiloskoptan alınan fotoakustik sinyallerin genlikleri, Şekil 4.a'da gösterildiği gibi 11 mV' tan başlayıp, Şekil 4.b.' de gösterildiği gibi 28 mV' a kadar yükselmiştir. Örneklerin glikoz derişimleri ile fotoakustik cevapların genliklerinin, orantılı bir şekilde arttığı görülmüştür. Ayrıca, lazer diyotun besleme gerilimi ayarlanarak gücü değiştirilmiş, bu nedenle alınan cevapların genliğinin de değiştiği gözlemlenmiştir. Şekil 5.' de deney düzeneği verilmiştir. Deney düzeneği; mikroişlemci, lazer sürücü, besleme kartı ve lazer diyottan oluşmaktadır.



a

b

Şekil 4.a) % 2.7 Derişime sahip örneğin osiloskop ölçüm ekranı. b) % 21.5 Derişime sahip örneğin osiloskop ölçüm ekranı.



Şekil 5. FA Deney düzeneği.

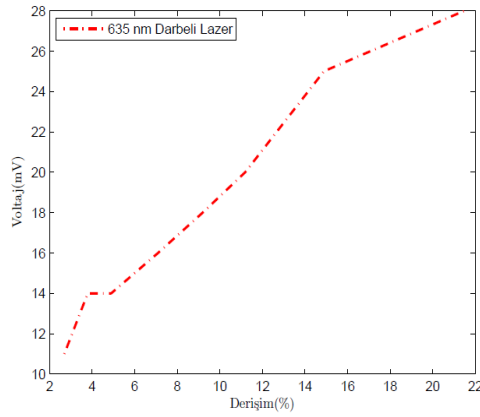
4. Deneysel Sonuçlar

Bu deneyde, oluşturulan jel örnekler, fotoakustik yöntem kullanılarak, darbe genişliği 2.5 μ s ve tekrarlama frekansı 10 KHz olan lazer darbeleri gönderilmiştir. PVDF piezo film dönüştürücü ile fotoakustik cevaplar algılanmıştır. FA cevaplar, 27-28 Mhz frekans bandında elde edilmiştir.

Ölçümlerde, lazer darbesi gönderildikten yaklaşık 40 ns zaman gecikmesiyle FA cevabın en büyük genlikli bileşeni elde edilmiştir. Ölçüm sonuçları Çizelge 1.' de verilmiştir. Ölçüm sonuçlarına göre oluşturulan, FA cevap genlikleri ile örnek derişimlerine ait grafik Şekil 6.' da verilmiştir. Ölçümler, düşük derişimli çözelti ile başlayıp, en yüksek derişimli çözeltiye kadar sırasıyla yapılmıştır. Osiloskoptan alınan fotoakustik sinyallerin genlikleri, 11 mV' tan başlayıp 28 mV' a kadar yükselmiştir.

Çizelge 1. FA Ölçüm sonuçları.

% Derişim	Fotoakustik Cevap (mV)
2.7	11
3.8	14
4.9	14
7.1	16
9.2	18
11.2	20
14.9	25
21.5	28



Şekil 6. Glikoz derişimi ile FA sinyali genliğinin değişimi.

Bu grafikten de anlaşılacağı gibi, alınan FA cevap genliğlerinin, örneklerin glikoz derişimleri ile orantılı bir şekilde arttığı gsterilmektedir. Dolayısı ile yapılan deney ile gıda ve medikal sektörleri başta olmak üzere bir çok alanda, glikoz algılamak için kullanılanabileceği ön gsterilmektedir. Daha sonraki aşamalarda, deneylerin girişimsel olmayan kan glikozu ölçümlerinde kullanılması düşünölmektedir.

5. Sonuřlar ve Tartıřma

Bu bildiride, fotoakustik yöntem kullanılarak, farklı glikoz derişimlerine sahip jel örneklerde, örneklerin glikoz derişimleri ile orantılı optik sinyaller elde edilmesi amaçlanmıştır. Algılama için, jel örnekler lazer darbeleri ile uyarılmıştır. Oluřan akustik dalga piezo film dönüştürücü tarafından algılanmıştır. Deney sonucunda, alınan akustik sinyal genliğlerinin 11 mV'tan 28 mV'a kadar, derişimle doğrusal olarak değiştiği gsterölmüştür. Sonuç olarak, fotoakustik yöntemle, jel türü ortamlarda glikoz algılamasının mümkün olabileceği değerlendirilmüştir.

Teřekkür

Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimince Desteklenmiřtir. Proje Numarası: FYL-2014-4910.

6. Kaynaklar

- [1] Ferraris, R.P., Diamond, J., Regulation of sugar intestinal transport. *Physiological Reviews*, 77(5): 257-301, 1997.
- [2] Mello, L. D., Kubota, L. T., Review of the use of biosensors as analytical tools in the food and drink industries. *Food Chemistry*, 77(2): 237-256, 2002.
- [3] International Diabet Federation, IDF Diabetes Atlas. (www.idf.org/diabetesatlas), (Eriřim tarihi: Mayıs 2013).
- [4] Abaira, C., Duckworth, W. C., Moritz, T., Glycaemic separation and risk factor control in the Veterans Affairs Diabetes Trial: an interim report, *Diabetes Obes Metabolism*, 11(6):150, 2009.
- [5] Zhao, Z., Pulsed Photoacoustic Techniques And Glucose Determination In Human Blood And Tissue. Department of Electrical Engineering and Infotech Oulu, University of Oulu, Doktora Tezi, Oulu, 111, 2002.
- [6] Lahmann, W., Ludewig, H.J., Welling, H., Optoacoustic trace analysis in liquids with the frequency-modulated beam of an Argon ion laser, *Analytical Chemistry*, 49: 549-551, 1977.
- [7] Oda, S., Sawada, T., Kamada, H., Determination of ultra trace cadmium by laser-induced photoacoustic absorption spectroscopy, *Analytical Chemistry*, 50: 865-867, 1978.
- [8] Oda, S., Sawada, T., Nomura, M., Kamada, H., Simultaneous determination of mixtures in liquid by laser-induced photoacoustic spectroscopy, *Analytical Chemistry*, 15: 686-690, 1979.
- [9] Oda, S., Sawada, T., Moriguchi, T., Kamada, H., Analysis of turbid solutions by laser induced photoacoustic spectroscopy, *Analytical Chemistry*, 52: 650-653, 1980.
- [10] Voigtman, E., Jurgensen, A., Winefordner, J.D., Comparison of laser excited fluorescence and photoacoustic limits of detection for static and flow cells, *Analytical Chemistry*, 53:1921-1923, 1981.
- [11] Voigtman, E., Jurgensen, A., Winefordner, J.D., Condensed phase photoacoustic spectroscopic detection of porphyrins and dyes. *Analytical Chemistry*, 53: 1442-1446, 1981.
- [12] Silverman R.H., Kong F., Chen Y.C., Lloyd H.O., Kim H.H., Cannata J.M., Shung K.K., Coleman D.J., High-resolution photoacoustic imaging of ocular tissues., *Ultrasound in Medicine and Biology*, 36(5): 733-742, 2010.
- [13] Xiang L., Wang B., Ji L., Jiang H., 4-D Photoacoustic Tomography, *Nature Scientific Reports*, 3: 1113-1120, 2014.
- [14] Nasirivanakia M., Xiaa J., Wana H., Bauerb A.Q., Culverb J. P., Wang L.V., High-resolution photoacoustic tomography of resting-state functional connectivity in the mouse brain, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(1): 21-26, 2013.
- [15] Mackenzie, H.A., Christison, G.B., Hodgson, P., Blanc, D., A laser photoacoustic sensor for analyte detection in aqueous systems, *Sensors and Actuators B*, 11: 213-220, 1993.
- [16] Quan, K.M., Christison, G.B., MacKenzie, H.A., Hodgson, P., Glucose determination by a pulsed photoacoustic technique: an experimental study using a gelatin-based tissue phantom, *Physics in Medicine and Biology*, 38: 1911-1922, 1993.
- [17] Christison, G.B., MacKenzie, H.A., Laser photoacoustic determination of physiological glucose concentrations in human whole blood, *Medical and Biological Engineering and Computing*, 31: 248-290, 1993.
- [18] Duncan, A., Hannigan, J., Freeborn, S.S., Rae, P.W.H., McIver, B., Greig, F., Johnston, E.M., Einnie, D.T., MacKenzie, H.A., A portable non-invasive blood glucose monitör, *Transducers'95 Eurosensors IX*, 41: 455-458, 1995.
- [19] Spanner, F., Laser arrays measure blood glucose levels, *Opto & Laser Europe*, 32: 31-32, 1996.
- [20] Bednov, A.A., Karabutov, A.A., Savateeva, E.V., March, W.F., Oraevsky, A.A., Monitoring glucose in vivo by measuring laser-induced acoustic profiles, *Proceedings of SPIE*, 3916: 9-18, 2000.