Семенов Д. Г.

СПЕКТРОМЕТРЫAVASPEC И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ В МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ И ЭКОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

Адрес статьи: www.gramota.net/materials/1/2009/5/51.html
Статья опубликована в авторской редакции и отражает точку зрения автора(ов) по рассматриваемому вопросу.

Источник

Альманах современной науки и образования

Тамбов: Грамота, 2009. № 5 (24). С. 126-129. ISSN 1993-5552.

Адрес журнала: www.gramota.net/editions/1.html
Содержание данного номера журнала: www.gramota.net/materials/1/2009/5/

© Издательство "Грамота"

Информация о возможности публикации статей в журнале размещена на Интернет сайте издательства: www.gramota.net Вопросы, связанные с публикациями научных материалов, редакция просит направлять на адрес: almanac@gramota.net

СПЕКТРОМЕТРЫ *AVASPEC* И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ В МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ И ЭКОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

Семенов Д. Г.

Российский государственный гидрометеорологический университет Институт физиологии им. И. П. Павлова, РАН

Введение

Передовые технологии последнего десятилетия позволили разработать новое поколение спектральноизмерительных приборов. В арсенал оптической спектроскопии вошли низко поглощающие кварцевые оптические волокна, оптимизирующие передачу энергии от источника излучения к исследуемому образцу и от объекта к спектрометру, а также компактные многоэлементные фотометрические детекторы, позволяющие проводить спектральные измерения без подвижных оптических элементов [Шмидт, 2007]. К этому новому семейству приборов относятся спектрометры AvaSpec, производимые Голландским холдингом Avantes B. V. с 2003 года. Они обеспечили качественно новый уровень оптической спектрометрии в диапазоне 180-2500 нм с разрешением от 0.025 нм и получили самое широкое распространение в промышленности, сельском хозяйстве и науке. Спектрометр является узловым элементом приборного комплекса, который включает набор дополнительных миниатюрных совместимых модулей (осветители, оптоволокна, пробники, оптические контакты и переходники). Пользователь может составить оптимальную конфигурацию прибора в соответствии с конкретной задачей и выбором спектрометрического. Измерительный процесс спектрометров семейства AvaSpec автоматизирован, реализуется с высокой скоростью и оснащен гибким программным обеспечением, что позволяет вести аналитические исследования в режиме реального времени. Модульный принцип их построения дает возможность оперативной перекомплектации измерительного комплекса в соответствии с меняющимися задачами. Эти спектрометры имеют габариты в сотни, а стоимость в десятки, раз меньше чем сопоставимые классические спектрометры и в то же время превосходят их в эффективности и

Оптоволоконная спектрометрическая техника пользуется все большим спросом не только в прикладных или научно-исследовательских организациях, но и в университетах и колледжах десятков стран мира, включая Россию. В частности парк приборов AvaSpec, объединенный в информационно-аналитическую сеть, послужил основой для создания Научно-образовательных центров физико-химических исследований при Московском государственном университете путей сообщения [Андреев и др., 2008] и Уральском государственном техническом университете. Недавно в Московском государственном техническом университете им. Н. Э. Баумана на базе приборов AvaSpec создана Интернет лаборатория физических исследований "Спектрометрия плазмы", предоставляющая возможность удаленного доступа к уникальному оборудованию и описанию лабораторных работ (МГТУ. Спектрометрия плазмы).

На кафедре общей экологии Российского государственного гидрометеорологического университета (РГГМУ, Санкт-Петербург) применяется приборный комплекс AvaSpec в конфигурации, оптимальной для проведения исследований в области биологии и экологии, позволяющий с высокой точностью проводить исследования макро- и микробиологических образцов, находящихся как в интактном, так и выделенном состоянии. Флуориметрия объектов производиться прибором в изоляции от отраженного света возбуждения без применения светофильтров за счет последовательного включения импульса освещения и импульса измерения флуоресцентного следа. Это свойство крайне полезно при работе с живыми объектами, функционирование которых может быть нежелательно изменено самим фактом длительного жесткого облучения. Для оценки свойств компонентов природной среды в виде изолированных образцов (истинные растворы, осадки, суспензии, эмульсии, аэрозоли, поверхности твердых проб), приборный комплекс оснащен комплектом периферических датчиков и соответствующих программ. Увеличение длины оптоволокна делает возможным мониторинг таких участков среды, взятие проб из которых затруднено или не желательно (содержимое труднодоступных полостей, подледные и подземные воды, донные отложения пр.). Входные оптические устройства двух спектрометров AvaSpec 2000 и AvaSpec 2048 (дифракционная решетка, оптическая щель, кварцевая линза и фильтрующие покрытия), которые являются ядром измерительной установки, подобраны по номиналам наиболее адекватным для объектов изучаемых в лаборатории (листья растений, столоны лишайника, морской фитопланктон, элементы пресноводного бентоса и др.).

Спектрометрический комплекс РГГМУ укомплектован несколькими источниками света различных свойств и назначений, оптическими кабелями различной длины, диаметра и конфигурации, что определяет их рациональное применение, кюветным отделением, оптическими пробниками, коллимационными линзами и т.п. Одна из возможных конфигураций комплекса представлена на Рисунке 1.

В образовательном плане этот приборный комплекс представляет собой полностью укомплектованное рабочее место для практических занятий студентов. Он может быть разделен на два блока, один из которых является стационарным (лабораторным) и базируется на спектрометре AvaSpec 2000, а второй - мобильным, на основе спектрометра AvaSpec 2048 с ноутбуком и 12V блоком питания. Таким образом, комплекс используется как в лабораторных условиях, так и в полевых, во время учебно-производственной практики. В следующей главе более подробно описаны отдельные модули приборного комплекса.

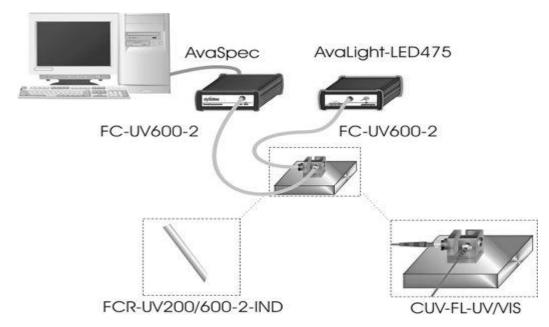


Рис. 1. Спектрометрический комплекс для флуориметрических измерений с указанием номиналов спектрометра, осветителя, оптокабелей и кюветного отделения

Вверху: пример конфигурации для импульсной флуориметрии растворов с использованием кюветного отделения для стандартных кювет.

Внизу: справа - кюветное отделение с прямоугольной позицией оптокабелей, слева - погружной пробник для измерений в больших объемах (подключается Y - образным оптокабелем).

Компоненты спектрометрического приборного комплекса РГГМУ

Оптические спектрометры. Спектрометры AvaSpec строятся на базе различных модульных электронных платформ, оптических скамей и многоэлементных детекторов. Существует множество моделей таких спектрометров и вариантов их исполнения. На кафедре Общей экологии применяется модификация спектрометра AvaSpec 2048. Этот прибор имеет ССD детектор на 2048 пикселей. Встроенные регулируемые входные оптические системы обеспечивают измерения в спектральной области 200-1100 нм. Прибор особенно удобен для измерений слабых излучений с высоким разрешением (от 0.04 нм). Последняя версия прибора с USB-2 интерфейсом обеспечивает высокоскоростное накопление данных (до 500 спектров в секунду). Время интеграции единичных сканов может быть выбрано от 1 мс до 10 мин, что дает возможность измерять как нормальный, так и исключительно слабый свет при соотношении сигнал/шум = 200:1. Прибор питается от сети через 12V адаптер или использует USB подключение к компьютеру. Габариты: 175х110х44 мм, вес 716 г.

Источники света. Импульсный ксеноновый источник света XE-2000. Широкополосный излучатель высокой мощности в спектральной полосе 200-1100 нм, работает как в «постоянном», так и «одноимпульсном» режиме с длительностью импульса - 5мкс. Обладает широкими возможностями, включающими импульсную флуориметрию с UV возбуждением. Миниатюрный диодноизлучающий источник AvaLight-LED-400. Узкополосный излучатель со спектральным максимумом 400 нм, используемый для возбуждения флуоресценции ряда биосубстанций и флуоресцентных маркеров. Светодиоды могут быть заменены в соответствии с требуемым спектральным максимумом. Одно из ценных качеств излучателя - возможность работать без светофильтров, что многократно повышает интенсивность регистрируемой флуоресценции. Галогенный охлаждаемый источник света AvaLight-HAL-S. Широкополосный излучатель высокой мощности в спектральной полосе 360-1800 нм, работающий в режиме постоянного горения и оснащенный управляемым ТТL шаттером. Лампа обладает высокой надежностью, стабильностью и оптимально широким спектром излучения, что обеспечивает решение множества спектрометрических задач в условиях учебного процесса.

Оптокабели. Оптокабели и коллимационные устройства FC-UV, COL-UV/VIS. Используются для сопряжения оптической системы. Могут быть заказаны кабели длиной от 0.2 до 200 метров и диаметром светопроводящей сердцевины от 200 до 600 мкм. Свойства сердцевины и оболочек определяют применение кабеля для оптимальной светопередачи в различных спектральных областях. Для погружных пробников применяется Y образная конфигурация световода, объединяющая каналы облучения и ответа.

Пробники. Многофункциональный погружной пробник FDP-7UV200-2-VAR. Универсальное периферическое устройство с навесным отражающим отделением с переменной длиной оптического пути (от 0.5 до 20 мм), который обеспечивает абсорбционные методы измерений в растворах, находящихся в сосудах любого объема. При снятом отражающем отделении пробник используется как рефлектометрический датчик для исследования отражения (поглощения) света поверхностями твердых образцов.

Кюветное отделение. Флуориметрическое кюветное отделение CUV-FL-UV/VIS. Периферическое устройство, позволяющее работать с образцами малых объемов, находящимися в стандартных аналитических кюветах как в линейной конфигурации падающего и регистрируемого света (поглощение) так и в прямоугольной конфигурации (флуоресценция, рассеяние). Соответствующие кварцевые и одноразовые пластиковые кюветы прилагаются.

Программное обеспечение. Управление работой спектрометров и осветителей, процедуры сбора, накопления и обработки спектральной информации, различные режимы отображения текущей или обработанной информации осуществляется общим пакетом программного обеспечения AvaSoft-full. Программы постоянно совершенствуются в соответствии с прогрессом самих приборов и растущими потребностями пользователей. Наиболее совершенная версия на сегодняшний день AvaSoft-7.3. Существуют также частные пакеты программ для выполнения узких конкретных задач оптической спектрометрии.

Примеры использования оптоволоконных спектрометров AvaSpec

Изготовитель прибора компания Avantes B. V., основываясь на информации, полученной от потребителей своего оборудования во всем мире, перечисляет на своем сайте десятки задач, которые решаются с его помощью в промышленности, сельском хозяйстве, науке, медицине, искусстве т др. (см. сайт компании). Не отклоняясь от медико-биологических или экологических направлений, следует перечислить несколько из них. Сельское хозяйство. Измерение содержания кислорода в почве по интенсивности флуоресценции хлорофиллов. Определение цветности листвы культивируемых растений для выявления необходимости внесения удобрений и их дозировки; такая оценка и соответствующий локальный дозированный впрыск удобрений осуществляется автоматически во время движения трактора. Определение концентрация нитратов в сельскохозяйственных культурах. Биология. Измерение хлорофилла в фитопланктоне. Определение флуктуаций в поглощении УФ спектра покровами рыб, коррелирующих с особенностями их полового поведения. Определение видового и популяционного разнообразия птиц по спектрам отражения перьев. Исследование фотонно-кристаллических структур хитиновых покровов насекомых. Медицина Неинвазивное определение CO2 and HbO2 во время операции на сердце. Диагностика рака и сердечно-сосудистых заболеваний по тканевому потреблению кислорода. Измерение цвета зуба и спектральный анализ состояния десен. Оценка характеристик проницаемости кожи для фармакологических препаратов по степени поглощения УФ излучения. Экология. Мониторинг содержания микроэлементов и рН морской воды в различных участках шельфа. Круглосуточный мониторинг пожароопасного газового состава лесного воздуха в радиусе до 15 км от датчика. Применение в детекторах радиационного контроля. Определение утечки промышленных газов. Определение локализации, мощности и динамики нефтяных разливов при аэро - и космической фотосъемке. Пищевая промышленность. Измерение содержания воды, растворенных компонентов и пигментов в овощах и нормирование их спелости с помощью NIR спектроскопии. Идентификация качества мясных продуктов и степени их готовности при приготовлении блюд. Контроль технологических этапов приготовления молочных продуктов.

К сожалению, приведенные примеры даны на сайте фирмы www.avantes.com без литературных ссылок. Далее более подробно описываются 5 различных исследований со ссылками на литературу, по которым можно представить разнообразие и специфичность в применении приборов данного типа в биологии и медицине.

Венгерскими учеными была исследована хемочувствительность поверхности крыльев различных бабочек, наноархитектура которой относится к типу фотонных кристаллических материалов и определяет цвет и рисунок на крыльях. С помощью спектрометра AvaSpec 2048 было обнаружено, что микромолярные концентрации различных летучих соединений в окружающем воздухе достоверно и по-разному изменяли спектральный профиль отраженного (дифрагированного) белого света бабочками разного вида. Таким образом, установлено, что крылья бабочек могут быть использованы как прототипы «нанотехнологичных» высокочувствительных видоспецифичных и хемоселективных датчиков газового состава атмосферы [Biro et al., 2008].

Латвийские исследователи установили, что облучение кожи пальца человека светодиодами различного спектра вызывает поглощение света разными по глубине структурами, обладающими различной динамикой кровотока. Было обнаружено, что у здоровых и больных людей полихроматические профили светопоглощения различаются определенным образом. Так же охарактеризованы различия между поврежденными и интактными участками кожи одного индивидуума. Эти результаты позволяют использовать AvaSpec 2048 и светодиодные излучатели как инструменты неинвазивной, бесконтактной и моментальной диагностики для широкого круга организменной и тканевой патологии [Spigulis et al., 2007].

Чешские медики совместили оптоволокно с системой эндоскопа, оснащенного светодиодом (450 нм), которым обследуется слизистая оболочка кишечника человека. Спектрометром AvaSpec регистрировался ответный сигнал в спектральной области 550-650 нм, характерной для автофлуоресценции флавинов и порфиринов. Было установлено, что по сравнению со здоровой тканью, в слизистой оболочке, пораженной аденокарциномой, сигнал был снижен в несколько раз. Метод позволил произвести раннюю, безбиопсийную и однозначную диагностику ракового заболевания [Horak et al., 2006].

В Институте физиологии им. И. П. Павлова РАН и на кафедре общей экологии РГГМУ (Санкт Петербург) в рамках аспирантского исследования было проведено сравнение интенсивности фотосинтетических процессов в листьях растений, получающих различную минеральную подкормку и/или микоризацию. С по-

мощью спектрометра AvaSpec 2000 и галогенного осветителя были получены и оценены спектры поглощения хлорофиллов и каротиноидов на разных этапах вегетации. Было в частности установлено, что в растениях, состоящих в симбиозе с эндомикоризным грибом, интенсивность фотосинтетических процессов существенно повышена по сравнению с контрольными растениями. При этом метод неинвазивной спектрометрии листовых пластинок позволил выявить этот эффект микоризации на более ранних этапах индивидуального развития, чем это позволяли классические методы биохимии [Юрков, Семенов, 2008].

В лаборатории Регуляции функций нейронов мозга (Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН) в рамках плановых исследований производится определение динамики содержания внутриклеточного связанного кальция в нервных клетках коры мозга в различных экспериментальных условиях. Исследования проводятся на инкубируемых срезах коры мозга крысы с целью выяснить влияние гипоксии на важнейшие кальций-опосредованные механизмы передачи нервных сигналов. Флуоресценция внутриклеточного кальция определяется с помощью флуорохрома хлортетрациклина при возбуждающем облучении светодиодом с пиковой длиной волны 405 нм. Для регистрации относительно быстрых изменений содержания Са2+ в ответ на гипоксические или фармакологические воздействия применяется спектрометр AvaSpec 2048, установленный на оптическом пути микроскопа, формирующего изображение микроучастков мозга диаметром 50-100 мкм. Исследования в перспективе направлены на разработку мер предупреждения повреждающего действия кислородного голодания на головной мозг [Semenov et al., 2008; Семенов и др., 2009].

Таким образом, высокоточные, автоматизированные оптоволоконные спектрометры семейства AvaSpec менее чем за 5 лет своего существования продемонстрировали многочисленные преимущества перед классической спектрометрической техникой прежних поколений. Они все интенсивнее применяются для проведения профессиональных исследовательских и научно-образовательных работ в области естественных наук на высоком уровне современных технологий.

Список использованной литературы

Андреев А. И. и др. Модульная многофункциональная оптоволоконная спектрометрическая система [Электронный ресурс]. URL: http://www.avantes.ru/articles/up1/

МГТУ. Спектрометрия плазмы [Электронный ресурс]. URL: http://lud.bmstu.ru/plasma/

Семенов Д. Г., Беляков А. В., Самойлов М. О. Умеренная гипобарическая гипоксия модифицирует Са²⁺- опосредованную глутаматергическую сигнальную трансдукцию в коре мозга крыс // Бюллетень экспер. биол. и медицины. 2009. № 2. С. 144-148.

Шмидт В. Мир физики и техники // Оптическая спектроскопия для химиков и биологов. М.: Изд. «Техносфера», 2007. 365 с.

Юрков А. П., Семенов Д. Г. Неинвазивное спектрофотометрическое исследование фотосинтетической эффективности арбускулярной микоризы люцерны хмелевидной // Ученые записки РГГМУ. 2008. № 7. С. 101-110.

Biro L. P., Kertesz K., Vertesy Z., Balint Zs. Photonic Nanoarchitecture Occurring in Butterfly Scales as Selective Gas/Vapor Sensors // Proc. of SPIE. 2008. № 7057. P. 705706-705714.

Horak L., Zavadil J., Duchac V., Javorsky S., Kostka F., Svec A., Lezal D. Auto-Fluorescence Spectroscopy of Colorectal Carcinoma: Ex Vivo Study // J. of Optoelectron and Advanced Materials. 2006. 8 (1). P. 396-399.

Semenov D. G., Samoilov M. O., Lazarewicz J. W. Preconditioning Reduces Hypoxia-Evoked Alterations in Glutamatergic Ca²⁺ Signaling in Rat Cortex // Acta Neurobiologiae Experimentalis. 2008. № 68. P. 169-179.

Spigulis J., Gailite L., Lihachev A, Erts R. Simultaneous Recording of Skin Blood Pulsation at Different Vascular Depth by Multi-Wavelength Photopletysmography // Appl. Opt. 2007. № 44. P. 1850-1857.

ДИКИЕ ПТИЦЫ - РЕЗЕРВЕНТЫ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ НЕМАТОДОЗОВ РЫБ ДЕЛЬТЫ ВОЛГИ

Семенова Н. Н., Иванов В. М., Калмыков А. П. Астраханский государственный биосферный природный заповедник Астраханский государственный университет

Материалом настоящего сообщения послужили данные паразитологических вскрытий 898 экз. птиц 27 видов, обследованных по традиционной методике [Скрябин, 1928, с. 45] в дельте Волги и Северном Каспии в 1995-2005 гг. Большинство птиц (все - фоновые виды) добыто во время регуляционных мероприятий (большой баклан, серая ворона), использованы трофеи промысловой охоты (кряква, серый гусь, чирки, широконоска, лысуха и др.), отход при кольцевании птенцов чайковых, свежие трупы павших по разным причинам птиц. Часть видов (из цаплевых и ржанковых) добыта за пределами заповедника по специальному разрешению Охотинспекции на отстрел и отлов птиц для научных целей.

Почти половина видов птиц оказались зараженными нематодами. Всего обнаружено 106 видов нематод. Значение некоторых из них в распространении нематодозов рыб, учитывая природные условия дельты Волги с ее высокой плотностью популяций хозяев паразитов всех рангов, трудно переоценить. Как правило, это виды, для которых птицы выступают в качестве дефинитивных, а рыбы - дополнительных или резервуарных хозяев. Потенциальными или реальными возбудителями болезней рыб могут быть нематоды родов Contracaecum, Porrocaecum, Eustrongylides, Desmidocercella, Desmidocerca и др.

Эвстронгилидоз - широко распространенное в дельте Волги заболевание рыб, возбудителем которого являются личинки Eustrongylides excisus (Jägerskiöld, 1909), E. mergorum (Rudolphi, 1809), E. tubifex (Nitzsch,