

**INAUGURAL-DISSERTATION**  
**zur**  
**Erlangung der Doktorwürde**  
**der**  
**Naturwissenschaftlich- Mathematischen**  
**Gesamtfakultät**  
**der Ruprecht - Karls - Universität**  
**Heidelberg**

**vorgelegt von**  
**Dipl.-Phys. Marcel Müller**  
**aus Karl-Marx-Stadt (jetzt Chemnitz)**

**Tag der mündl. Prüfung: 25.06.07**

**Entwicklung, Aufbau und Erprobung  
eines nicht-invasiven  
Temperatur-Gradienten-Infrarot-Emission-Glukometers  
zur Bestimmung des Blutzuckers bei Mäusen**

Gutachter: Prof. Dr. Michael Grunze  
Prof. Dr. Dr. Christoph Cremer

## Abstract

Im Rahmen der Entwicklung zu schmerzfreien Methoden für die Behandlung von Diabetes beschäftigt sich diese Arbeit mit der Konzeption, dem Aufbau und der ersten Erprobung eines kompakten nicht-invasiven Blutglukose-Messgerätes für Mäuse. Zu diesem Zweck wurde die aus dem Schwanz der Maus austretende Infrarotstrahlung genutzt, die aufgrund der Differenz zwischen Körper- und Außentemperatur eine Temperaturgradientenregion innerhalb der äußeren Hautschichten durchläuft. Dieser Temperaturgradient entspricht einer Durchstrahlung der Hautschichten, wodurch ein Absorptionsspektrum der beinhalteten Substanzen erzeugt wird. Im Fingerprint-Bereich der Glukose zwischen 9-10 $\mu$ m wird dadurch eine Absorptionsmessung und somit eine Konzentrationsbestimmung von Glukose in den Hautschichten möglich. Die Umsetzung dieser Messung fand mit einer speziell für Mäuse entwickelten Infrarot-Messeinheit statt, mit der die Geometrie des Mäuseschwanzes optimal detektiert werden kann. Zur exakteren Bestimmung der Werte wurden mehrere Einzeldetektoren verwendet, wovon ein Referenzkanal die Hintergrundstrahlung misst. Das Rauschen der ankommenden Signale wurde zusätzlich mittels Modulation durch ein Chopperrad und einen in der Software integrierten Lock-in-Effekt stark reduziert. Bei den Testmessungen konnte beim Vergleich mit konventionellen Glukosetoleranztests gezeigt werden, dass das hier entwickelte Gerät zur Glukosekonzentration proportionale Messwerte liefern kann. Vergleichsmessungen mit einem implantierten Sensor zeigten einen nahezu identischen Verlauf der Glukosewerte, wodurch die prinzipielle Funktionsfähigkeit des Messprinzips deutlich bestätigt wurde.

Focussing on the development of pain-free methods for the treatment of diabetes, this thesis discusses the design, the construction and the first field tests of a new non-invasive blood-glucose-analyser for mice. For this purpose the infrared radiation from a mouse tail was used. Thermal radiation passes through a temperature gradient between the body and the ambient temperature within the outer skin layers. The temperature gradient causes an effective radiography of the colder skin layers so an absorption spectrum of the finger-print-region between 9 and 10 $\mu$ m is obtained allowing the determination of the glucose concentration. The realisation of these measurements required an optical geometry adjusted for the optimal detection of the tail radiation. The implementation of a signal modulation and a lock-in-effect within the software reduces additionally the noise of the measurement.

The constructed analyser delivers signals proportional to glucose concentration. Continuous glucose measurements were done and compared to an implanted sensor. The glucose values found in both methods are similar, proofing the concept for the non-invasive blood-glucose-analyser developed in the thesis.

# Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung .....	5
2. Theoretische Grundlagen .....	10
2.1. Chemische Eigenschaften von Glukose .....	10
2.2. Wärmeübertragung.....	11
2.2.1. Wärmeleitung .....	11
2.2.2. Infrarotstrahlung.....	12
2.2.3. Wärmeübertragung in realen Systemen .....	13
2.3. Spektroskopie .....	14
2.3.1 Grundlagen der Infrarot-Spektroskopie .....	14
2.3.2. Infrarot-Detektoren.....	16
2.3.3. FTIR-Spektroskopie mit ATR-Aufbau .....	16
2.3.4. Temperaturgradienten Spektroskopie .....	17
2.3.5. Spektrum von Glukose .....	19
2.4. Biologische Aspekte.....	22
2.4.1. Das Versuchstier .....	22
2.4.2. Hautschichten .....	24
2.4.4. Glukose-Toleranz-Test.....	26
2.4.5. Herkömmliche Glukosemessungsverfahren.....	26
3. Vorversuche .....	29
3.1. Infrarot Untersuchungen von Glukose in flüssigem Blut.....	29
3.2. Optische Simulationen .....	32
4. Aufbau und gewählte Komponenten.....	36
4.1. Gesamter Aufbau und geplante Funktionsweise.....	36
4.2. Spiegel und Halterung .....	39
4.3. Linsen .....	43
4.4. Chopper .....	44
4.5. Filterfenster .....	47
4.6. Detektor.....	48

4.7. Verstärkerschaltung.....	52
4.8. Analog/Digital-Messkarte .....	55
5. Abschätzung des zu erwartenden Messsignals.....	58
5.1. Berechnung des Signal-Hintergrund-Verhältnisses .....	58
5.2. Berechnung der Signalstärke.....	59
5.3. Vergleich des Signals mit bekannten Rauschquellen.....	61
6. Messungen und Ergebnisse .....	65
6.1. Vergleich des realen Signals mit der Abschätzung.....	65
6.2. Qualität der Signale nach der Software-Bearbeitung.....	65
6.3. Zeitlicher Verlauf der Signale und dessen Ursachen .....	67
6.4. Glukosetoleranztests.....	71
6.5. Intravenöse Glukose-Injektionen .....	74
6.6. Vergleichende Messungen mit einem implantierten Sensor .....	76
7. Zusammenfassung.....	84
8. Anhang .....	88
8.1. Daten und elektrische Funktionsweise des Detektors.....	88
8.2. Schaltung und Erläuterung der Verstärkerelektronik.....	89
8.3. Software .....	92
8.4. Gehäuse .....	96
8.5. Kühlung.....	97
9. Abbildungsverzeichnis .....	100
10. Tabellenverzeichnis.....	102
11. Literatur.....	103
12. Danksagung.....	110

# 1. Einleitung

Herkömmliche Methoden zur Glukosebestimmung waren bisher immer mit Blutabnahme und den damit verbundenen Schmerzen verbunden. Besonders betroffen sind dabei Patienten deren Glukosewert mehrmals täglich untersucht werden muss. Die Häufigkeit solcher Untersuchungen hat besonderes Interesse gefunden seit dem die „Diabetes Control and Complications Trial Research Group“ [Dia93] 1993 einen Bericht veröffentlicht hat, in dem gezeigt wird, dass häufige und genaue Kontrolle des Blutzuckerwertes und ein entsprechender Ausgleich mittels Insulin die durch Diabetes verursachten Langzeit-Komplikationen deutlich senken kann. Aus diesem Grund ist eine häufige oder sogar permanente Überwachung des Glukosewertes für Diabetiker durchaus erstrebenswert. Um dies zu realisieren muss alternativ zu den schmerzbehafteten Standardmethoden verstärkt an neuartigen nicht-invasiven Messprozessen geforscht werden. Verschiedenste Ansätze wurden dabei getestet, die man im wesentlichen in zwei physikalische Verfahren unterteilen kann. Zum einen die gering invasiven Methoden, die die interzelluläre Flüssigkeit mit einem Sensor in Berührung bringen und zum anderen die Vielfalt an optischen Methoden. Die erste Gruppe lässt sich wiederum in zwei Methoden, je nach Ort des Sensors, unterteilen. Wird der Sensor subkutan in der Haut implantiert, wie z.B. bei Choleau et al. [Cho02], kann er dort *in situ* die Leitfähigkeit der interzellulären Flüssigkeit messen und das Signal nach außen senden. Diese Methode ist bis auf die Implantation schmerzfrei, kann jedoch am Ort des Implantats zu Unannehmlichkeiten führen, wie am Beispiel des „Continuous Glucose Monitoring System Gold“ der Firma Medtronic Minimed (Northridge, CA) von Klonoff [Klo05] berichtet wird. Außerdem ist die relativ kurze Lebensdauer der Sensoren ein kritisches Problem, da genaue Messungen nur über ein paar Tage stattfinden können und danach der Sensor bereits erneuert werden muss. Eine weitere Möglichkeit, die interzelluläre Flüssigkeit zum Sensor zu bringen, ist die umgekehrte Iontophorese [Pot02]; dabei wird der Sensor außen auf der Haut angebracht, wie z.B. bei dem „Gluco Watch G2 Biographer“ (Cygnus, Redwood City, CA, USA) anstelle einer Armbanduhr. Nun wird eine Spannung zwischen 0,3 und 0,8V angelegt, die Ionen entgegengesetzter Polarität anzieht, die sich in der Haut befinden. Der dadurch resultierende Ionenstrom zur Oberfläche trifft nun unter anderen auf Glukose-Moleküle und bewegt diese ebenfalls in Richtung Hautoberfläche, wo sie dann gemessen werden können. Die Genauigkeit dieses schon in der Praxis Anwendung gefundenen Sensors liegt laut einer Studie der „Diabetes Research in Children Network(DirectNet) Study Group“ bei etwa 16% mittlerer

Abweichung [Dia03]. Diese Messungen sind somit zur Zeit noch wesentlich ungenauer als die herkömmlichen Blutbestimmungsmethoden. Probleme dieser Messmethodik resultieren vor allem aus den Hautbelastungen, die durch die angelegte Spannung hervorgerufen werden und zu Hautirritationen führen. Auf dieses Problem ging die Gruppe um Tamada ein [Tam04], die vorschlug dieses Problem mittels einer Vorbehandlung der Haut mit Corticosteroid Spray zu reduzieren. Ein mit diesen Methoden nicht zu behebendes Problem ist die alleinige Messung der Glukose in der interzellularen Flüssigkeit anstatt im Blut. Dabei findet besonders bei raschen Veränderungen der Blutglukose nach Kulcu et al. [Kul03] ein Auseinandergehen beider Werte statt. Dadurch kann die Blutglukose von den genannten Sensoren nicht mehr exakt registriert werden und eine eventuell gefährliche Situation des Patienten wird übersehen. Diese Tatsache führt nunmehr zur Erforschung optischer und elektromagnetischer Methoden, die direkt oder indirekt Blutglukose messen und so risikoreiche Situationen vermeiden können. Im Gegensatz zu den gering invasiven Methoden findet man bei diesen Messprinzipien zur Zeit bei nur sehr wenigen eine erprobte und zugelassene Apparatur. Als Beispiel ist hier das Gerät Pendra der Firma Pendragon Medical (Zürich, Schweiz) zu nennen, das den Blutzuckerspiegel mittels Impedanzspektroskopie bestimmt. Sie beruht darauf, dass Veränderungen des Glukose-Spiegels im Blut zu Veränderungen der dielektrischen Eigenschaften der Haut und des darunter liegenden Gewebes führen. Die Pendra erzeugt ein schwaches, elektromagnetisches Feld. Durch Wechselwirkungen erkennt es indirekt und schnell die Veränderungen der elektromagnetischen Eigenschaften, die auf den Schwankungen der Blutglukose beruhen [Pen03]. Hauptproblem dieses Gerätes war hierbei, dass es nur bei einigen Hauttypen arbeitete und in Feldstudien mit anderen Typen teilweise sogar gegenteilige Ergebnisse lieferte [Pfü04]. Aufgrund dessen ist das Gerät vorerst vom Markt genommen wurden und weitere Forschungen wurden wegen Insolvenz der Firma nicht durchgeführt [Sch05]. Die Optikmethode, die wohl am meisten erforscht wird, beruht auf Transmission oder Reflexion von naher Infrarot-Strahlung. Nachteil ist hierbei jedoch, dass Glukose einer der am schwächsten im NIR absorbierenden Substanzen im menschlichen Körper ist. Transmissionsmessungen finden dabei zum Beispiel am Ohr läppchen, an den Fingerzwischenhäuten und Reflexionsmessungen am Unterarm oder an der Lippenschleimhaut im Bereich von 1000 bis 2500nm statt. Diffuse Reflexionsmessungen zeigten ebenfalls eine gute Korrelation mit der Blutglukose, dennoch lagen bei Studien von Jagemann et al. [Jag95] zumindest 10% der gemessenen Werte komplett außerhalb des klinisch akzeptablen Bereichs. Außerdem wurden von Marbach et al. [Mar93] bei Reflexionsmessungen an der inneren Lippe Zeitverzögerungen von bis zu zehn Minuten

zwischen Messsignal und tatsächlichen Blutzuckerlevel festgestellt, die sich bei starken Veränderungen wie bereits beschrieben negativ auswirken können. Weitere Probleme dieser Methodik sind die starken Interferenzen mit anderen Komponenten des Blutes, wie einfachen Eiweißen und Triglyceriden sowie Störungen durch Wasser und Hemoglobin. Hinzu kommen Fehler durch Einflüsse der Umwelt wie Veränderungen der Temperatur, Feuchtigkeit, Hautfeuchtigkeit, Kohlendioxid und Atmosphärischer Druck [Klo05].

Ein weiterer Schwerpunkt der optischen Forschung ist die Raman-Spektroskopie. Diese nutzt gestreutes Licht, welches durch die Schwingungen und Rotationen des Streuzentrums beeinflusst wird. Auch dabei berichten Roe et al. [Roe05] von einer Reihe von Problemen, so z.B. der relativ große störende Einfluss der anderen Blutkomponenten, lange Messzeiten und die Instabilität der Laser-Intensität und -Wellenlänge, die für die Messung der erzeugten Wellenlängenverschiebungen hinderlich ist. Aufgrund der bekannten Drehung der Polarisationsebene des Lichtes durch die Glukose liegt ebenfalls eine Methode, die diesen Effekt nutzt, nahe. Die Oberfläche der normalen Haut ist dafür allerdings ungünstig, da hier starke Streuung des Lichtes und damit eine Abschwächung des Signals stattfindet. Stattdessen bevorzugt March [Mar77] eine Messung in der Hornhaut des Auges. Dazu wird mit einer größeren Anzahl von Wellenlängen eingestrahlt, um die geringe Selektivität dieser Methode zu verbessern. Die unangenehme Position des Sensors am Auge begrenzte jedoch die Anwendung des Gerätes. Hutchison [Hut91] verbesserte Jahre später diese Anwendung indem er doch blutdurchflossene Stellen des Körpers durchleuchtete. Schwierigkeiten ergaben sich erneut durch interferierende optische Substanzen sowie durch variierende Temperatur und pH-Wert.

Eine weitere optische Methode ist photoakustischer Art. Hierbei erhitzt ein optischer Strahl die Probe in kürzester Zeit und erzeugt dadurch eine akustische Druckwelle, die mittels Mikrofon gemessen werden kann. Nach Christison et al. [Chr93], sowie nach Duncan et al. [Dun95] kann mit diesem Ansatz bei günstig gewählten physikalischen Bedingungen eine bessere Sensitivität erreicht werden als mit der konventionellen Spektroskopie. Nachteile sind auch hier die bereits genannten Einflüsse der Umgebung und der anderen chemischen Substanzen, die mit der Glukose interferieren.

Ebenso erwähnenswert sind Versuche von Bruulsema et al.[Bru96], die Messungen anhand der Veränderungen der Streuungseigenschaften im Optischen und Nah-infraroten Wellenlängenbereich vornahmen. Sie zeigten dabei eine Korrelation zwischen steigender Blutglukose und einem steigenden Brechungsindex, was besagte Veränderung der Streuparameter beinhaltet. Allerdings sorgen auch hier viele andere Einflüsse für eine

natürliche Drift der Streuungseigenschaften, so dass zunächst noch Methoden gesucht werden müssen, diese zu kompensieren.

Was an den hier aufgezählten Varianten der Messmöglichkeiten auffällt, ist, dass sie bereits durch die Genauigkeit der Einstrahlung und den gewählten optischen Bereich erste und leider auch nicht wirklich vermeidbare Fehlerquellen erzeugen, die sich auf das Endresultat negativ auswirken. Um diese zu verringern, stellt sich die Frage nach einer optischen Methode, die nur auf Emission von Infrarotstrahlung basiert und in einem Bereich stattfindet in dem Glukose nicht bzw. nur wenig mit anderen Substanzen überlappt. Erste Vorschläge zu dieser Thematik findet man bei Braig et al. [Bra97], der aufgrund des in der Haut befindlichen Temperaturgradienten eine Emissionsspektroskopie vorschlägt, die im Bereich der Fingerprint-Region des Blutzuckers zwischen 9.1 und 10.5  $\mu\text{m}$  liegen soll. Der darin vorgeschlagene Aufbau sieht eine Modulierung der von der Haut kommenden Strahlung und eine Filterung dieser bzgl. Glukose vor. Anschließend findet dann mittels elektronischen Bandpasses eine Demodulierung statt, die das Detektorrauschen minimieren soll. Eine entsprechende Abschätzung des Signals-Hintergrund-Verhältnisses anhand von thermodynamischen Überlegungen findet man dazu bei Klonoff et al. [Klo98], der dieses Verhältnis bei einer Glukose Konzentration von 100mg/dl auf etwa  $10^{-4}$  festsetzt, was im Prinzip die meisten IR-Detektoren bewältigen können.

Dasselbe Messprinzip wurde ebenfalls in einem Patent von Buchert et al. [Buc97] beschrieben. Hier wurde aber zur Sammlung und Weiterleitung der Strahlung eine Faseroptik verwendet, die das Signal unmoduliert auf einen Zweikanal-Detektor lenkt, der zur Signal und zur Referenzmessung gleichzeitig dient.

Bei beiden Ansätzen ist auffällig, dass kaum eine Optimierung oder Anpassung an die gegebene Geometrie zur Fokussierung der abgestrahlten Wärmeleistung stattgefunden hat. Diese Anpassung würde jedoch eine Vergrößerung des Signals und damit eine automatische Verminderung des Rauscheinflusses bedeuten. An dieser Stelle ist sicher Verbesserungspotential vorhanden. Ebenso kann mit verbesserter Halbleitertechnik die Detektivität des Detektors und die Verstärkung des Signals mittels OPVs inzwischen deutlich verbessert werden. Weiterer Fortschritt wäre auch eine größere Anzahl von gemessenen Signalen, deren Abgleich den Einfluss der biologischen Faktoren minimieren könnte.

Alle hier vorgestellten Verfahren wurden außerdem nahezu ausschließlich an menschlichen Probanden durchgeführt. Das es in der biologischen Forschung, die sich ebenfalls in großem Maße mit Diabetes beschäftigt, meist um andere, einfacher zu handhabende Versuchsobjekte

geht, wurde völlig vernachlässigt. In den meisten Laboratorien dieser Art wird deswegen die Nachfrage nach einem einfachen nicht-invasiven Glukometer, das einen hohen Durchsatz hat, zunehmend stärker. Besonderer Beachtung gilt in diesem Zusammenhang den am häufigsten verwendeten Versuchstieren, den Mäusen. Diese eignen sich durch einfache Haltung, hohe Reproduktionsraten und die genetische Ähnlichkeit zum Menschen hervorragend für biologische Messreihen.

Die Konzeption eines nicht-invasiven Infrarot-Emissions-Glukometers für Mäuse sowie deren Umsetzung und Erprobung liegt daher nahe und soll innerhalb dieser Arbeit ausführlich behandelt werden. Dabei soll auf die Probleme der kleinen Messflächen der Maus, der rauscharmen Messung des sich nahe an der Messgrenze befindlichen Nutzsignals, sowie die biologischen Schwierigkeiten bei Messungen an Mäusen eingegangen werden.

## 2. Theoretische Grundlagen

### 2.1. Chemische Eigenschaften von Glukose

Glukose ist das am meisten vorkommende Kohlenhydrat und hat die Summenformel  $C_6H_{12}O_6$ . Glukose besitzt mehrere Alkohol- und eine Aldehyd-Gruppe und ein Gerüst aus sechs Kohlenstoff-Atomen, was lang genug ist um sich auch ringförmig anordnen zu können.

Betrachtet man zunächst die lineare Konfiguration, so findet man zwei verschiedene Anordnungen, die sogenannte D- bzw. L-Glukose, beide sind in Abb. 2.1-1 in der nach Fischer benannten Projektion gegenübergestellt.

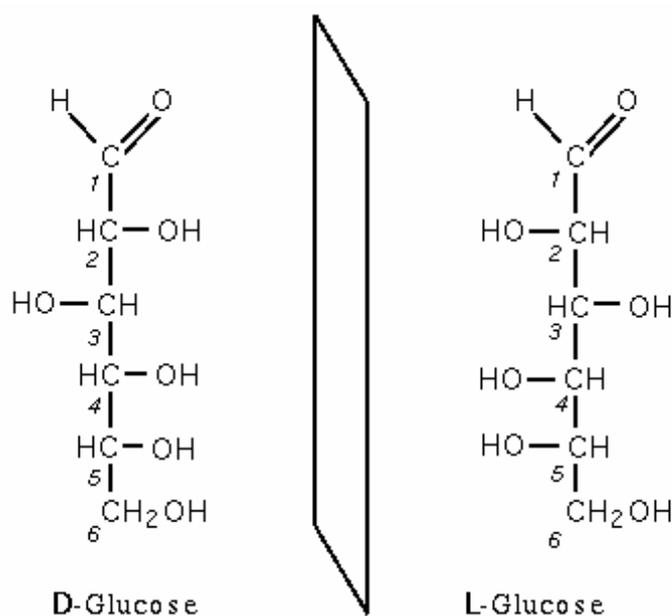


Abb.2.1-1: Fischer-Projektion von D- und L-Glukose aus [Reg07]

Wie aus den Abbildungen ersichtlich, liegt nur ein Unterschied am fünften C-Atom (gezählt von der Aldehyd-Gruppe) vor. Bei der L-Konfiguration befindet sich die Hydroxy-Gruppe in dieser Projektion links und bei der D-Glukose auf der rechten Seite.

Liegt Glukose in einer Lösung vor, dann existieren neben der linearen offenkettigen Aldehyd-Form der Glukose ebenso zwei verschiedene ringförmige Konfigurationen. Dabei resultiert die Ringbildung aus einer Addition der OH-Gruppe des 5. C-Atoms mit der Aldehyd-Gruppe des ersten. Die ringförmigen Anordnungen sind mit Hilfe der Haworth-Projektion in Abb.2.1-2 dargestellt. Diese Projektionsform ersetzt die reale Anordnung durch ein planares

Sechseck, was die Unterschiede zwischen den beiden Konfigurationen besser verdeutlicht. Der signifikante Unterschied zwischen der  $\alpha$ - und  $\beta$ -Form liegt dabei in der Orientierung der entstandenen OH-Gruppe. Befindet sie sich in dieser Darstellungsform unten, so handelt es sich um die  $\alpha$ -Form, ist sie oben, so liegt der  $\beta$ -Typ vor.

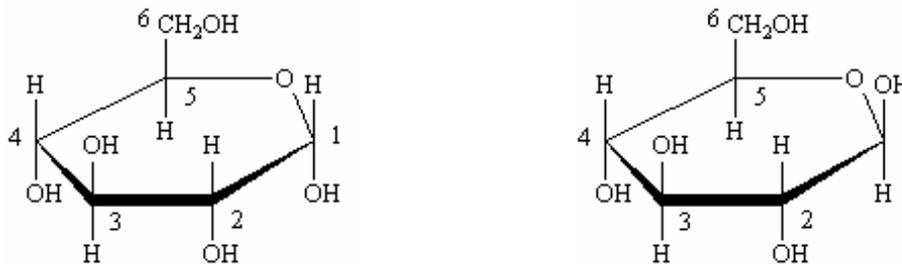


Abb. 2.1-2: Haworth-Projektion von  $\alpha$ -Glukose (links) und  $\beta$ -Glukose (rechts) aus [Gfe07]

## 2.2. Wärmeübertragung

Da es sich bei der hier durchgeführten Messung im wesentlichen um Signale thermischen Ursprungs handelt, soll kurz auf die hier wichtigen Prozesse für die Wärmeübertragung eingegangen werden, die den genutzten Gradienten und die erhaltenen Signale erklären.

### 2.2.1. Wärmeleitung

Wärmeleitung ist nur mittels eines Überträgermaterials möglich, hierbei ist jedoch keine makroskopische Bewegung von Teilchen involviert. Die Energie wird direkt durch Moleküle oder Atomstöße übertragen. Der Energiefluss geht von Teilchen mit höherer thermischer Energie in Richtung der Teilchen niedriger thermischer Energie bis ein Temperatenausgleich erfolgt ist. Existieren zusätzliche Wärmequellen im thermischen System, so stellt sich nach einer entsprechenden Einschwingzeit eine stationäre Temperaturverteilung ein, die sich mit folgender Gleichung beschreiben lässt:

$$\Delta T(\vec{r}) = -\frac{\eta}{\lambda} \quad (2.2-1)$$

Darin sind  $T(\mathbf{r})$  die räumliche Temperaturverteilung,  $\lambda$  die Wärmeleitfähigkeit und  $\eta$  die Wärmeerzeugung pro Volumen einer Wärmequelle.

### 2.2.2. Infrarotstrahlung

Infrarotstrahlung resultiert aus der Strahlungsabgabe durch spontane und stimulierte Emission, die maßgeblich von der Temperatur des Körpers abhängen.

Die Wärmestrahlung ist im Gegensatz zu den anderen Übertragungsformen nicht an Materie gebunden, was einen Energietransport über weite Strecken möglich macht. Trifft die Strahlung wiederum auf andere Materie, so findet Reflexion, Transmission und Absorption statt, wobei letztere zur Erwärmung dieses Körpers führt. Bei der Abstrahlung spielt der Emissionsgrad eine wichtige Rolle, der im allgemeinen von der Temperatur und ebenso von Material- und Oberflächeneigenschaften abhängt. Bei organischen Substanzen mit Körpertemperatur kann er jedoch in der Regel durch eins angenähert und einem schwarzen Strahler gleichgesetzt werden. Ein schwarzer Strahler hat das Strahlungsverhalten eines Lambert-Strahlers, d.h. seine Strahlungsdichte ist in allen Richtungen identisch. Dies hat für die späteren Optiksimulationen Bedeutung. Die spektrale Strahlungsdichte in Abhängigkeit der Temperatur beschreibt das Planck-Gesetz [s.Ger03]. Schematisch für verschiedene Temperaturen ist diese Funktion in Abb. 2.2-1 aufgetragen.

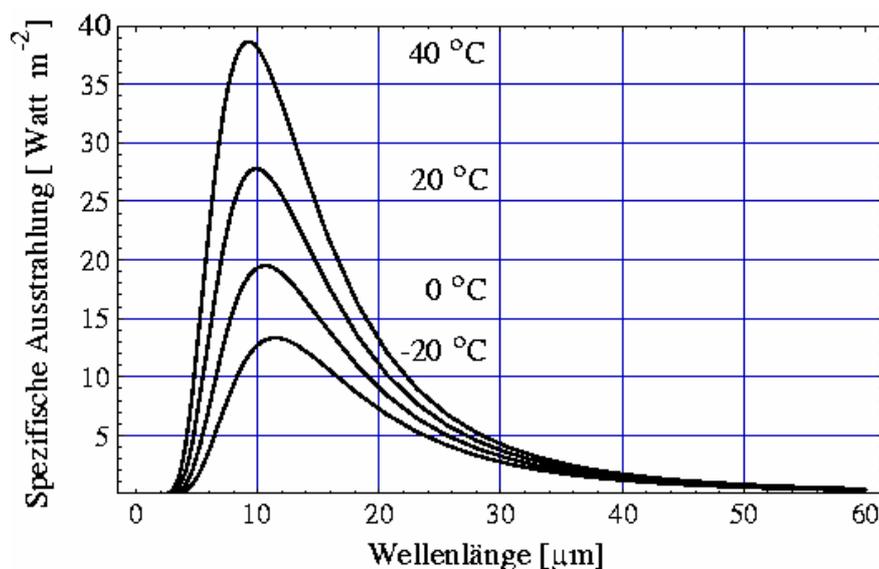


Abb. 2.2-1: Planck-Kurve für verschiedene Temperaturen [Hau97]

Wie aus dem Graphen ersichtlich, besitzt die Funktion ein temperaturabhängiges Maximum, welches sich für höhere Temperaturen zu kürzeren Wellenlängen verschiebt. Materie, die Raum- oder Körpertemperatur besitzt, strahlt vorwiegend im Infraroten bei etwas weniger als  $10\mu\text{m}$  ab und kann somit hervorragend als Strahlungsquelle für die hier durchgeführten Messungen genutzt werden.

### 2.2.3. Wärmeübertragung in realen Systemen

Betrachtet man reale Systeme, so ist häufig nicht nur die Übertragung von einem Körper auf einen zweiten interessant, sondern ebenso der Durchgang der Wärme durch bestimmte Materialien. Dabei ist ein typischer Fall zwei angrenzende Schichten an eine Wand (der in dieser Arbeit verwendete Temperaturgradient in einem Mäuseschwanz ist nahezu äquivalent dazu; ebenso wie die Abschirmung der hier entwickelten Messeinheit gegen die Umgebungstemperatur), den man im Prinzip für beliebig viele Schichten hochrechnen kann.

Dabei spielen in der Regel zwei oder gar alle drei der genannten Wärmeübertragungs-Mechanismen zusammen, was eine Rechnung deutlich schwieriger werden lässt. Üblicherweise nutzt man in diesem Fall eine vereinfachte Form der Berechnung, die alle unbekanntes Größen in einem Wärmeübergangskoeffizienten  $k$  zusammenfasst. [Bae04].

Der Wärmestrom kann auf diese Weise einfach als lineare Abhängigkeit der Temperaturdifferenz, der Fläche  $A$  und besagten Koeffizienten  $k$  ausgedrückt werden:

$$\dot{Q} = kA \cdot (\vartheta_1 - \vartheta_2) \quad (2.2-2)$$

Zur Veranschaulichung kann man ein Diagramm der Temperatur in Abhängigkeit des Ortes in Abb. 2.2-2 sehen. Dieses zeigt beschriebene Anordnung für ebene Wände. Ist die Geometrie komplizierter, findet das in variablen Flächengrößen für die einzelnen „Schichten“ Berücksichtigung.

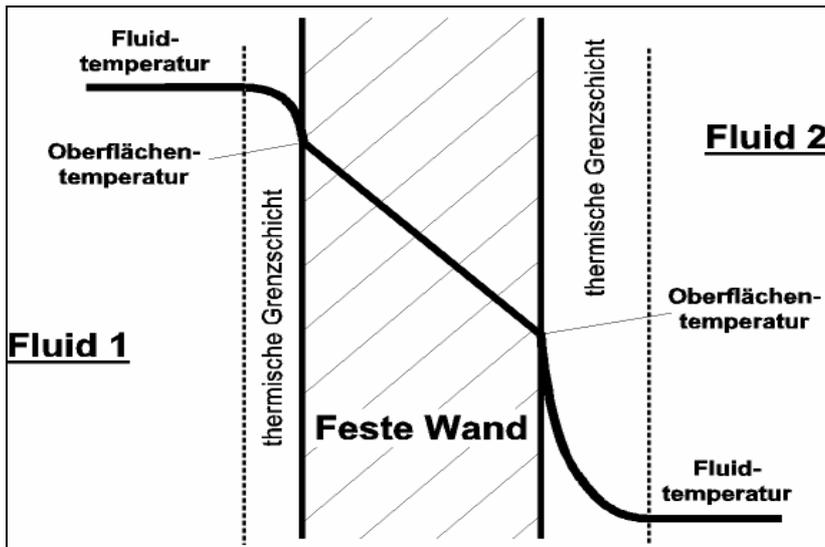


Abb. 2.2-2: Temperaturgefälle beim Wärmedurchgang durch eine Wand [Bio07]

Rechnet man zurück auf die einzelnen Schichten, wie sie in der Haut vorkommen, so kann man, vorausgesetzt die einzelnen Wärmeleitfähigkeiten sind bekannt, lineare Temperaturverläufe in den Schichten annähern.

## 2.3. Spektroskopie

### 2.3.1 Grundlagen der Infrarot-Spektroskopie

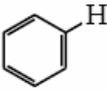
Für spektroskopische Untersuchungen biologischer Moleküle (und somit auch für Glukose) sind die sich an das Optische anschließenden Bereiche der Infrarotstrahlung und der Mikrowellen wichtig. Diese sollen im folgenden Unterkapitel etwas genauer beschrieben werden.

Besteht ein Molekül aus  $N$  verschiedenen Teilchen, so können sich diese prinzipiell in alle drei möglichen Ortskoordinaten bewegen, wodurch das Molekül  $3N$  verschiedene Freiheitsgrade besitzt. Sechs der Freiheitsgrade entfallen auf Translation und Rotation des Moleküls, der Rest sind Schwingungen der Atome gegeneinander. Die formelle Beschreibung dieser Schwingungen kann bei Raumtemperatur mittels Schrödinger-Gleichung und der Annahme eines harmonischen Oszillators stattfinden [s.Atk87]. Die Intensitäten der aus den Übergängen resultierenden Spektrallinien hängt außer von der Größe der Besetzungszahlen

weiterhin noch von dem Betragsquadrat des Übergangsdipolmomentes ab. Das impliziert gleichzeitig, dass ein Molekül, um mit einem Photon bestimmter Frequenz wechselzuwirken zumindest vorübergehend ein Dipolmoment haben muss, dass mit dieser speziellen Frequenz schwingt. Besitzt es kein Dipolmoment, so findet auch kein Übergang statt und die Spektrallinie gilt als „verboten“.

Außer der Intensität der Spektrallinien ist auch deren Breite für eine mögliche Detektion von Bedeutung. Theoretisch müssten die Spektrallinien eines Überganges lediglich eine Frequenz besitzen, was jedoch in der Praxis unmöglich ist, da zumindest zwei Phänomene für eine Verbreiterung der Linien unvermeidbar sind. Neben der natürlichen Lebensdauererbreiterung, sorgt hierbei die thermische Bewegung der Teilchen für einen breiteren Absorptionspeak. Dabei spielt hier nicht nur die Temperatur, sondern auch die Beweglichkeit der Teilchen eine Rolle. Dies führt dazu, dass Absorptionspeaks in Flüssigkeiten deutlich breiter erscheinen als in festen Proben, was für spätere Messungen an flüssigem Blut wichtig ist.

Tabelle 2.3-1 zeigt eine Übersicht über die charakteristischen Schwingungsbanden verschiedener Bindungen, die in organischen Molekülen häufig anzutreffen sind.[Atk87]

Gruppe	ungefähre Frequenz ( $\text{cm}^{-1}$ )	Gruppe	ungefähre Frequenz ( $\text{cm}^{-1}$ )
—OH	3600	$\text{>C=O}$	1750 – 1600
—NH <sub>2</sub>	3400	$\text{>C=O<}$	1650
$\equiv\text{CH}$	3300	$\text{>C=N<}$	1600
	3060	$\left. \begin{array}{l} \equiv\text{C}-\text{C}\equiv \\ \equiv\text{C}-\text{N}\equiv \\ \equiv\text{C}-\text{O}\equiv \end{array} \right\}$	1200 – 1000
$=\text{CH}_2$	3030	$\text{>C=S}$	1100
—CH <sub>3</sub>	2970 (asym. stretch) 2870 (sym. stretch) 1460 (asym. deform.) 1375 (sym. deform.)	$\equiv\text{C}-\text{F}$	1050
—CH <sub>2</sub> —	2930 (asym. stretch) 2860 (sym. stretch) 1470 (deformation)	$\equiv\text{C}-\text{Cl}$	725
—SH	2580	$\equiv\text{C}-\text{Br}$	650
—C $\equiv$ N	2250	$\equiv\text{C}-\text{I}$	550
—C $\equiv$ C—	2220		

Tab. 2.3-1: Übersicht der charakteristischen Schwingungsbanden organischer funktioneller Gruppen [Bor74]

Rotationsspektren sowie gemischte Rotations-Schwingungsspektren spielen in dieser Arbeit aufgrund ihrer zu geringen Energie keine weitere Rolle, daher soll hier von weiteren mehr detaillierten Angaben abgesehen werden. [Atk87]

### **2.3.2. Infrarot-Detektoren**

Infrarot-Detektoren lassen sich nach ihrem Funktionsprinzip in vier verschiedene Gruppen einteilen: Thermosäulen, Bolometer, pyroelektrische Detektoren (alle drei sind wellenlängen-unabhängige thermische Detektoren) und Halbleiterdetektoren.

In dieser Arbeit wurden ausschließlich pyroelektrische Detektoren verwendet, daher soll für eine Beschreibung der anderen Typen nur auf [Ger03] verwiesen werden.

Pyroelektrische Detektoren basieren auf der Grundlage des pyroelektrischen Effektes. Die Sensoren sind aufgebaut aus ferroelektrischen Kristallen oder Keramiken mit unsymmetrischem Gitteraufbau. Folge der Unsymmetrie ist, dass solche Kristalle ein elektrisches Dipolmoment und somit eine permanente Polarisierung besitzen. Bei Einfall von Infrarotstrahlung verändern sich die Gitterkonstanten und damit auch die Dipolmomente und die Polarisierung. Resultierend entstehen Ladungen auf der Oberfläche, die als elektrisches Signal gemessen werden können. Dieses elektrische Signal ist proportional zur Änderung der Strahlungsleistung bzw. zur Änderung der Temperatur.

Der Vorteil dieser Detektorvariante ist der verhältnismäßig moderate Preis bei einem inzwischen sehr guten Signal-Rausch-Verhältnis. Desweiteren ist auch hier lediglich eine besonders konstante Detektortemperatur erforderlich und keine aufwendige Kühlung [Köh04]. Nachteil dieser Detektorgruppe ist die relativ lange Reaktionszeit auf Veränderungen. Normalerweise werden diese Detektoren mit Frequenzen von einigen Hertz bis maximal zum Kilohertz-Bereich betrieben.

### **2.3.3. FTIR-Spektroskopie mit ATR-Aufbau**

Der für die Infrarot-Spektroskopie am häufigsten verwendete Aufbau ist das FTIR-Spektrometer. Da es sich hier um ein gängigen Spektrometertyp handelt, soll zu dessen

grundlegender Funktion nur auf das Buch „Infrared spectroscopy“ von B. Stuart [Stu04] verwiesen werden. An dieser Stelle soll nur auf die spezielle Anordnung der Abgeschwächten Totalreflexion (ATR) eingegangen werden, da diese zur Bestimmung der Blutglukosespektren Anwendung fand. ATR ist besonders für flüssige oder feste Proben mit hoher Absorption geeignet. Das einfallende Lichtbündel trifft senkrecht, auf eine trapezförmigen, infrarotdurchlässigen Kristall und gelangt so unverändert ins Innere des Kristalls. An dieser Stelle trifft es dann einfach oder mehrfach unter einem Totalreflexionswinkel an den Rand des Kristalls auf dem die Probe sitzt. Da an Grenzflächen die Parallelkomponente des elektromagnetischen Feldes stetig sein muss, kann das Feld an dieser Stelle nicht sofort verschwinden. Es bildet sich eine Welle mit abklingender Intensität aus, ein sogenanntes evaneszentes Feld, das in die Probe eindringen kann.

Durch Eindringen des Feldes in die Probe findet eine Absorption statt, die sich aus Energie-Erhaltungsgründen ebenso vermindern auf das reflektierte Lichtbündel auswirken muss. Die Totalreflexion ist somit in Abhängigkeit des Probenmaterials leicht abgeschwächt. Eine tiefergehende Beschreibung der Vorgänge bei der ATR-Spektroskopie findet man bei Harrick [Har87].

Ist der Wirkungsquerschnitt  $\sigma$  für eine Wellenlänge bekannt, so kann mittels Lambert-Beer-Gesetz ebenfalls eine effektive Dicke bestimmt werden und damit ein Spektrum unbekannter Dicke (wie die hier erhaltenen Blutspektren) darauf geeicht werden.

#### **2.3.4. Temperaturgradienten Spektroskopie**

Die in dieser Arbeit hauptsächlich genutzte Form der Spektroskopie ist die sogenannte Temperaturgradienten-Infrarot-Spektroskopie. Die Funktionsweise dieser Methode beruht auf einem Temperaturgradienten zwischen einer Wärmequelle und dem Messpunkt. Dabei wird an jedem Punkt innerhalb dieses Gradienten entsprechend der dort vorhandenen Temperatur eine Wärmestrahlung gemäß dem Planckschen Gesetz abgestrahlt. Schematisch ist dies in Abb.2.3-1 verdeutlicht.

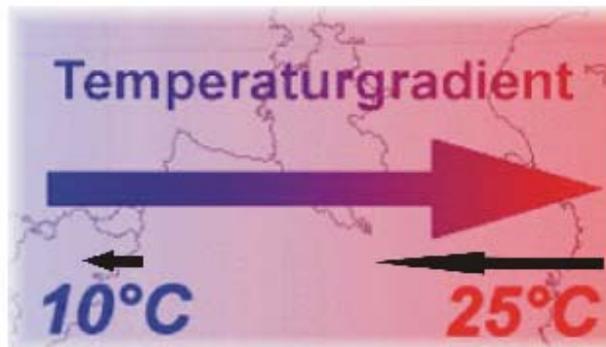


Abb. 2.3-1: Schema des Strahlungsverhaltens in einer Temperatur-Gradienten-Region [Lae06]

Auf diese Weise entsteht ein Strahlungsungleichgewicht innerhalb der Gradientenregion, in dem die kälteren Bereiche stärker durchstrahlt werden, als das sie selbst abstrahlen. Diese Tatsache entspricht im Grunde genommen einer ganz normalen Durchstrahlung einer Probe, verursacht durch eine Strahlungsquelle.

Wichtig ist in diesem Zusammenhang das Signal-Hintergrund-Verhältnis. Es gibt das Verhältnis zwischen der Absorption aller in der Gradientenregion befindlicher Materialien und der Absorption der detektierten Einzelsubstanz an. Aus [Gau94] lässt sich das zu erwartende Signal-Hintergrund-Verhältnis wie folgt abschätzen:

$$\frac{S}{B} = \frac{\hbar\omega}{kT} \cdot \frac{\Delta T}{T} \cdot \frac{\tau_G}{\tau^2} \quad (2.3-1)$$

Hierbei sind  $\hbar\omega$  die Photonenenergie,  $k$  die Boltzmann-Konstante,  $T$  die Temperatur und  $\Delta T$  die Größe des Temperaturgradienten. Die Parameter  $\tau$  und  $\tau_G$  sind die Extinktion der Gesamtmaterie innerhalb der Temperaturgradientenregion und die Extinktion, die nur durch die Glukose verursacht wurde. Unter Verwendung des Lambert-Beerschen Gesetzes kann man  $\tau$  auch schreiben als:

$$\tau = \varepsilon \cdot c \cdot d = n \cdot \sigma \cdot d \quad (2.3-2)$$

Da das in dieser Arbeit benutzte Verfahren nicht wie einige spektroskopische Verfahren im Vakuum stattfindet und die Signale, wie später in dieser Arbeit noch abgeschätzt wird, auch

eher niedrig sind, stellt sich die Frage welche optischen Bereiche für eine eventuelle Messung durch Luft zu bevorzugen sind. Um den Einfluss der Luft zu verdeutlichen, die die Strahlung vor der Messung durchlaufen muss, ist in Abb.2.3-2 ihre Absorption in Abhängigkeit der Wellenlänge anhand einer Atmosphären-Durchstrahlung dargestellt.

Wie man gut daraus erkennt, sind außer dem Anteil bis 1,3  $\mu\text{m}$  noch die Bereich zwischen 3-4,2  $\mu\text{m}$  und zwischen 8 –12  $\mu\text{m}$  gut im Infraroten durchlässig. Diese Tatsache wird bereits bei allen gängigen Infrarot-Kameras berücksichtigt und genutzt [Haa03] und soll hier ebenso die möglichen Messbereiche eingrenzen.

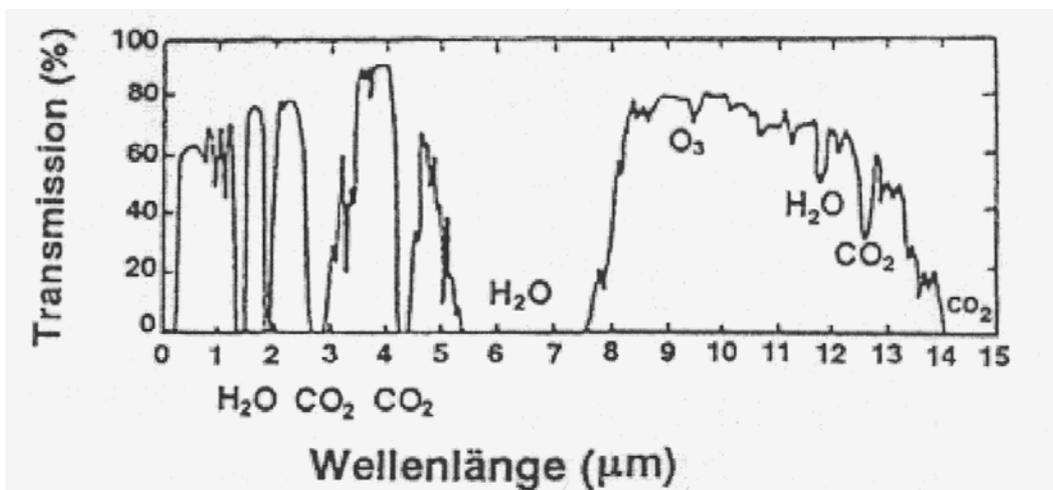


Abb.2.3-2: Infrarot-Absorptionsspektren der Erdatmosphäre [Ebs05]

### 2.3.5. Spektrum von Glukose

Die von Glukose in Kap. 2.1. beschriebene Struktur beinhaltet im wesentlichen C-C-, C-O- und O-H-Bindungen. Die meisten organischen Substanzen haben molekülspezifische Bindungen oder funktionelle Gruppen, die Schwingungen in bestimmten Wellenlängenbereichen absorbieren. Solche Bereiche nennt man Fingerprint-Region der jeweiligen Substanz oder Molekülgruppe. In der Glukose sind vor allem die C-O-Bindungen auffällig, die typische Absorptionsmaxima zwischen 8,5 und 10  $\mu\text{m}$  haben [Mal02]. Um die spezifischen Absorptionen von Glukose zu verifizieren und deren Unabhängigkeit vom Rest der anderen Blutkomponenten aufzuzeigen, sind in den Abb.2.3-3a und b

Transmissionsspektren mit hohem Glukoseniveau (a) und mit niedrigem Glukoseniveau (b) gegenübergestellt.

Abb. 2.3-3c zeigt die Differenz aus beiden Spektren, was einem Absorptionsspektrum entspricht. Hier ist zwischen 8 und 10  $\mu\text{m}$  ein deutliches Maximum zu erkennen, das ausschließlich auf Glukose zurückzuführen ist. Abb. 2.3-4 zeigt diesen Bereich besser aufgelöst für Glukosekonzentrationen zwischen 100-500 mg/dl in einer Wasserlösung. Es sind zwei Maxima bei etwa 9,3 und 9,7  $\mu\text{m}$  ersichtlich. Die Absorption bei diesen Wellenlängen wird bei den Vorversuchen mit flüssigem Blut noch eingehender untersucht.

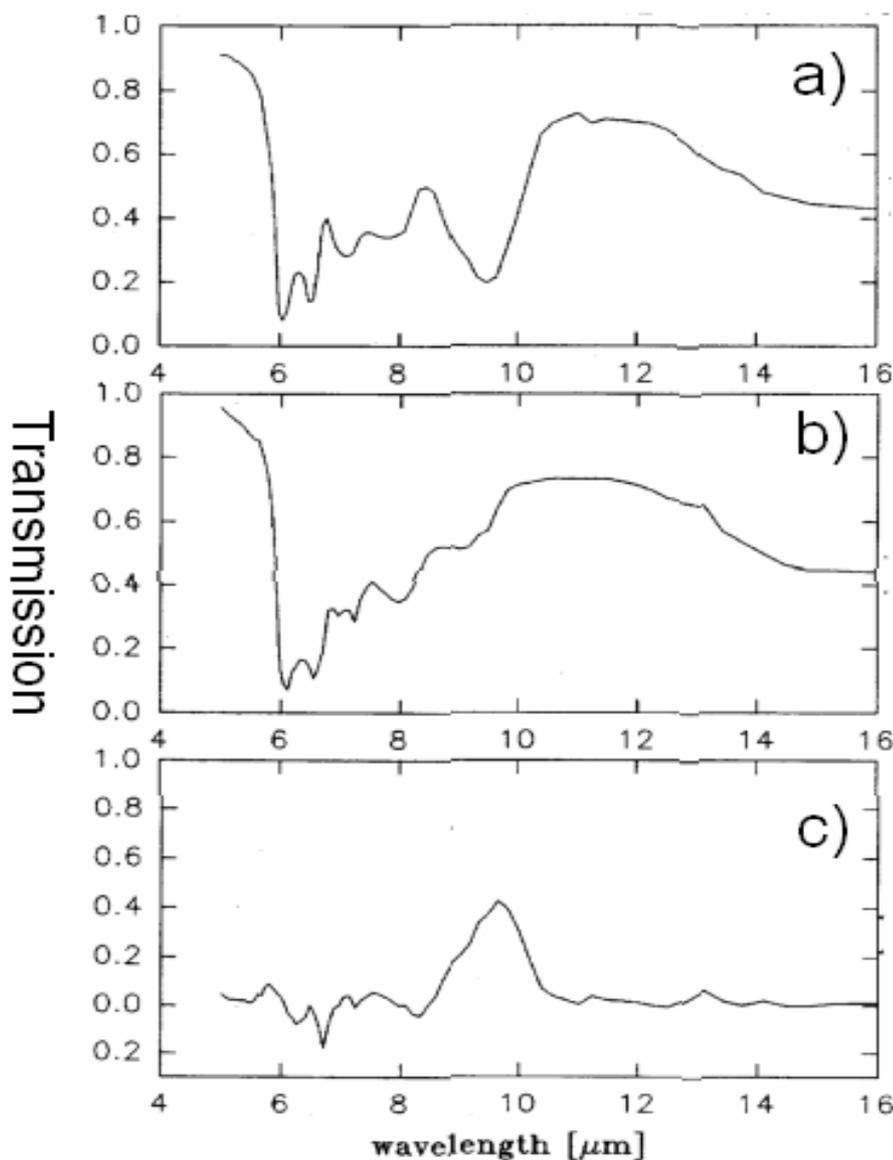


Abb. 2.3-3: Transmission durch getrocknetes Blut mit a) hoher Glukosekonzentration und b) niedriger Glukosekonzentration, c) Differenzspektrum zwischen a) und b) [Buc97]

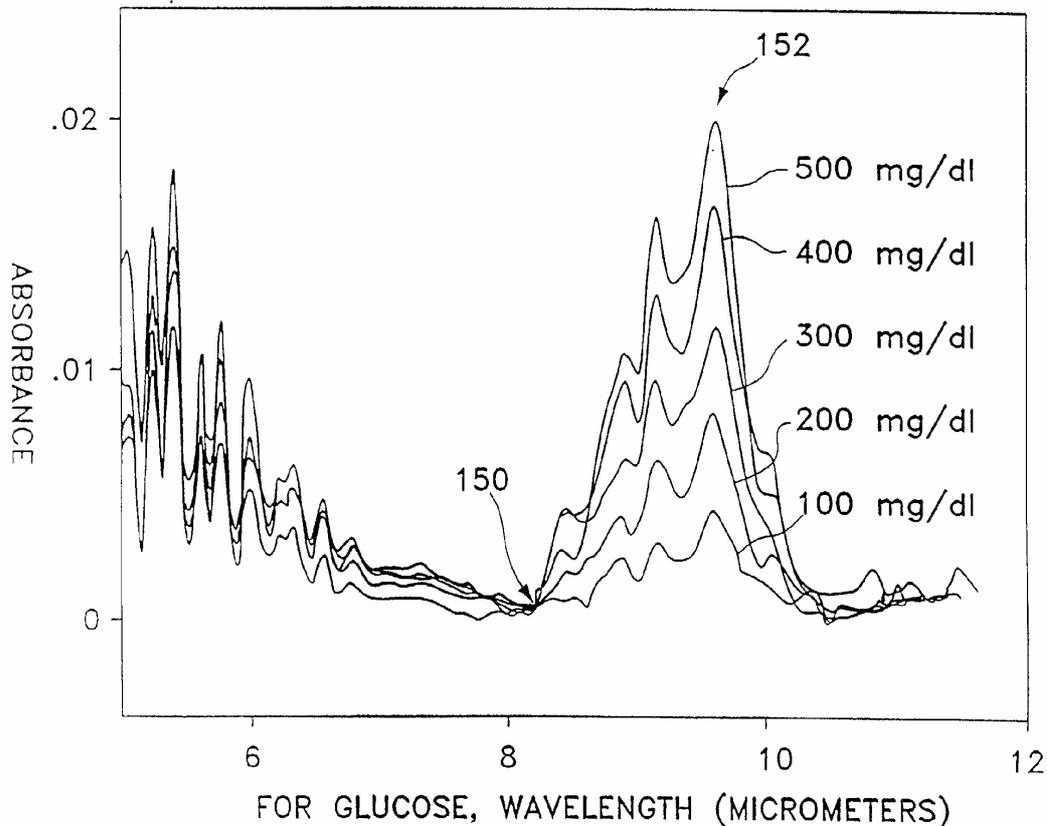


Abb.2.3-4: Detaillierte Absorptionsspektren verschiedener Glukosekonzentrationen in Wasserlösung aus [Ber02]

Dem Spektrum der Glukose überlagert sind zum einen das Spektrum des Wassermoleküls und zum anderen alle Alkoholverbindungen (Methanol, Ethanol etc.). Das Wassermolekül sollte, da es eine breite Absorptionsbande besitzt und somit bei den gemessenen Wellenlängen überall im wesentlichen gleich absorbiert, keine Einfluss auf die Messungen haben. Die Alkoholverbindungen, die selektiv bei den Glukosemaxima absorbieren, würden jedoch eine Messung verfälschen. Normalerweise kommen solche Verbindungen in Organismen jedoch nicht vor, es sei denn man führt sie künstlich von außen zu. Diese Tatsache spielt insbesondere bei Narkosemitteln und Beruhigungsmitteln eine Rolle, auf die aber in dieser Arbeit letztendlich verzichtet wurde.

## 2.4. Biologische Aspekte

### 2.4.1. Das Versuchstier

Die Arbeit mit Kaninchen, Ratten und andere Nagern gewinnt in der biologischen und in der medizinischen Forschung zunehmend an Bedeutung. Die preiswerte, unkomplizierte Haltung und kurze Reproduktionszyklen machen Nagetiere zum „idealen“ Versuchstier für viele wissenschaftliche Fragestellungen [Röm03]. Dabei ist in Deutschland die Maus mit einem Anteil von 48,8% an der Gesamtmenge aller Versuchstiere mittlerweile das wichtigste Tier in der Forschung [Bme01]. Die während dieser Arbeit durchgeführte Kooperation mit dem Jackson Laboratory, welches als einer der bedeutendsten Lieferanten für genmanipulierte Mäuse weltweit gilt, legt ebenso die Nutzung von Mäusen nahe, zumal eine Nachfrage des geplanten Messgerätes direkt an diesem Institut vorhanden ist.



Abb. 2.4-1: Verschiedene Phänotypen der Maus (aus [Bip07], [Gen07])

Mäuse gehören zur Klasse der Säugetiere (mammalia) und zur Ordnung der Nagetiere (rodentia) und sind nachtaktiv. Ihr Rumpf hat je nach Alter und Stamm eine Länge von

4-10 cm und ihr Schwanz zwischen 5-10 cm. Das Gewicht ist ebenfalls stark von Alter und Stamm abhängig und befindet sich in der Regel zwischen 20 und 40 g, kann aber zum Beispiel bei diabetischen Mäusen auch deutlich mehr betragen. Die Phänotypen der Mäuse sind recht vielfältig. Allein die Fellfarbe kann das volle Spektrum von weiß über Dutzende verschiedene Grautöne bis schwarz einnehmen und bei manchen Arten sogar ausgefalleneren Farben annehmen, die beispielsweise leicht ins rötliche gehen.

Die natürliche Lebenserwartung beträgt zwischen zwei bis vier Jahre, die jedoch bei vielen genmanipulierten Mäusen aufgrund der gezüchteten Defekte für gewöhnlich nicht mehr erreichbar ist. Sie reproduzieren sich im Schnitt vier bis sechs mal pro Jahr und haben in der Regel zwischen zwei und neun Junge.

Mäuse haben einen sehr hohen Stoffwechselumsatz, der entscheidend von Faktoren, wie z.B. dem Mäusestamm, der Umgebungs- und der Körpertemperatur sowie der Tageszeit und der Aktivität beeinflusst wird [Kap83].

Großen Einfluss auf den Stoffwechsel hat dabei die Körpertemperatur, die sehr stark mit der Umgebungstemperatur korreliert. So erhöht sich beispielsweise der Stoffwechsel der Maus nach Lindstedt und Schaeffer bei niedrigen Raumtemperaturen [Lin02]. Aus diesem Grund findet man für die Maus auch sehr unterschiedliche physiologische Körpertemperaturbereiche.

Nach Arras et al. [Arr01] liegt die physiologische Körperkerntemperatur im Wachzustand bei ungefähr 36,3°C. Kreislaufparameter wie Blutdruck (zw. 61-127mmHg) und Herzfrequenz (349-694/min) variieren bei der Maus ebenfalls und können sich innerhalb kürzester Zeit verändern, so z.B. ist der Blutdruck der Maus am Nachmittag höher als am Morgen [Röm03]. Eine weitere Besonderheit der Maus ist, dass eine Körpertemperatursteigerung im Gegensatz zu einer Ratte keine Erhöhung des Blutdruckes nach sich zieht. Außerdem kommt es bei manchen Mäusestämmen mit zunehmenden Alter zu einer Blutdruckerhöhung [Kap83].

Das Blutvolumen der Maus steht wie auch das Gewicht der Organe im Verhältnis zum Körpergewicht. Dabei liegt das Gesamtblutvolumen bei 6,6 % des Körpergewichtes, beträgt also bei einer Maus nur einige Milliliter [Lin02]. Diese Tatsache ist vor allem wichtig, da sie die mögliche Anzahl von Glukose-Messungen mit Blutabnahme begrenzt. Unter Nutzung von herkömmlichen Methoden sollten daher nicht mehr als vier oder fünf Messungen pro Tag gemacht werden und anschließend einige Tage zur Regeneration des Blutvolumens ohne Versuche abgewartet werden.

Für die in dieser Arbeit angestrebten Infrarot-Messungen ist es nötig die möglichen Messstellen zu lokalisieren. Um störungsfreie und möglichst hohe Emission zu gewährleisten, bieten sich hier die Körperpartien an, die nicht behaart sind. Im Fall der Maus sind diese Stellen zum einen die Ohren und zum anderen der Schwanz. Als zweites Kriterium muss nun die abstrahlende Fläche gelten, die am Schwanz eindeutig größer ist und daher dessen Strahlung besser messbar sein sollte.

### 2.4.2. Hautschichten

Um nun die genaue Quelle der Strahlung herauszufinden, ist es nötig sich den Aufbau der verschiedenen Hautschichten anzuschauen. Die Haut unterteilt sich zunächst in drei Hauptschichten, die regional verschiedene Dicken aufweisen können. Von außen nach innen findet man die Epidermis, die Dermis und schließlich die Subkutis (Abb.2.4-2). Alle drei sind dabei in Aufbau und Eigenschaften sehr verschieden und erfüllen entsprechend auch verschiedene Funktionen.

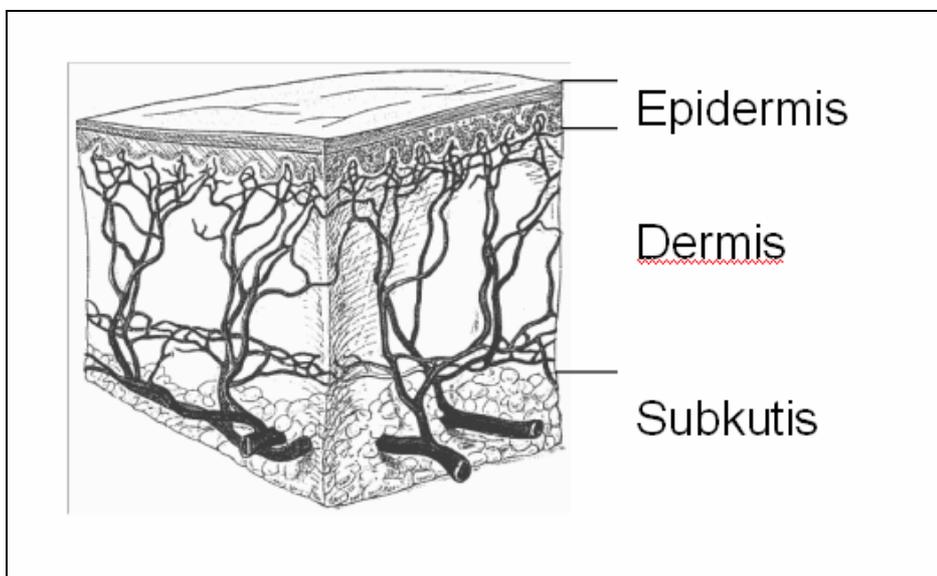


Abb.2.4-2: Lage der drei Haupthautschichten [Net97]

Die Epidermis oder auch Oberhaut dient als äußerste Schicht vor allem der mechanischen Widerstandsfähigkeit der Haut. Die Epidermis kann ihrerseits wiederum in vier Schichten unterteilt werden, die verschiedenen Eigenschaften besitzen. Erläutert ist dies ausführlicher in

[Lan06]. Sieht man von besonders verhornten Stellen der Haut ab, so hat die menschliche Epidermis eine Dicke von etwa 75µm. Im gleichen Bereich findet man auch Werte für Nagetiere, wie beispielsweise rund 32µm für eine Ratte [Rie03]. Der durchschnittliche Wassergehalt in der Epidermis liegt zwischen 10 und 20% und ist im Verhältnis zu den anderen Schichten am niedrigsten. Entscheidend bei dieser Hautschicht ist allerdings, dass sie keine Blutgefäße enthält und somit nicht blutdurchflossen ist. Folglich ist diese Hautschicht für eine Blutglukosebestimmung ungeeignet und die nutzbaren Signale müssen aus tiefer liegenden Regionen kommen.

Unter der Epidermis trifft man auf die Dermis oder auch Corium oder Lederhaut. Die Funktion der Dermis ist neben der Ernährung der Epidermis ebenso die Wärmeregulation und die mechanische Festigkeit. [Net97]

Es lassen sich zwei Schichten unterscheiden: ein dünnes, zell- und gefäßreiches, subepidermales Stratum papillare und ein dickes, faserreiches Stratum reticulare [Smo98].

Das Stratum papillare grenzt an die Epidermis an. In ihr befinden sich Haare, Talg- und Schweißdrüsen als Abkömmlinge der Epidermis [Lie99]. Das Stratum reticulare stellt ein Netz aus größeren und elastischen Fasern dar, das mechanisch hoch belastbar ist [Ric98]. Diese Schicht ist relativ arm an Zellen und Gefäßen, vorzugsweise kleinere Arterien und Venen von und zu den oberflächlichen Hautschichten passieren diese Bindegewebslagen [Lie99].

Die Dicke der Dermis ist recht unterschiedlich, sowohl zwischen den einzelnen Körperstellen als auch zwischen den Tierarten. Bei Menschen liegt sie im Regelfall zwischen 1000 µm und 4000 µm, sie ist also deutlich dicker als die Epidermis. Die Dermis ist sehr gut durchblutet, was auch den Wassergehalt in ihr deutlich höher werden lässt als in den anderen Hautschichten. Er beträgt im Mittel etwa 70%, wobei jedoch die an die Epidermis angrenzenden Lagen meist etwas weniger feucht sind. Da Wasser der Hauptabsorber infraroter Strahlung im Bereich um 10 µm ist, kann aufgrund der Dicke und des hohen Wassergehalt der Dermis nahezu keine Strahlung diese Hautschicht durchdringen. Dies ist auch der Grund, weshalb diese Hautschicht als Wärmeregulation fungieren kann. Ist die Körpertemperatur zu hoch, so wird mehr Blut an die Hautoberfläche geleitet, wo die Wärme besser abfließen kann. Ist die Körpertemperatur zu niedrig, ist die Durchblutung geringer und es wird weniger Wärme abgegeben. Dies führt sogar soweit, dass im körperbedrohlichen Fall der Unterkühlung, einzelne Gliedmaßen nahezu gar nicht mehr durchblutet werden und vom Organismus aufgegeben werden, um die wesentlichen Körperfunktionen aufrecht zu erhalten.

Da die Infrarotstrahlung diese Hautschicht nicht durchqueren kann, sie aber im Gegenzug gut durchblutet ist, kann diese Region als Quelle des glukoseabhängigen Infrarotspektrums lokalisiert werden.

Die unter der Dermis liegende Subkutis (Unterhautfettgewebe) hat daher keinerlei Einfluss mehr auf die von außen messbare Infrarotabstrahlung und ist in ihren genaueren Details für diese Arbeit unbedeutend.

#### **2.4.4. Glukose-Toleranz-Test**

Um bei Versuchstieren eine eventuelle Erkrankung festzustellen, ist es üblich einen sogenannten Glukosetoleranztest durchzuführen. Hierbei wird das Versuchstier vor dem Versuch zwischen 8-12 Stunden ausgenüchert. Anschließend findet eine Blutzuckerbestimmung statt. Direkt danach bekommt das Tier Glukose verabreicht, die im Körper recht rasch für einen starken Anstieg des Blutzuckers führen sollte. Nun werden weitere Blutzuckermessungen durchgeführt, um den zeitlichen Verlauf der Blutglukoseentwicklung zu beurteilen. Gängige Zeitpunkte sind dafür nach 15 Minuten, nach 45 Minuten sowie nach zwei Stunden. Diese Zeitpunkte können jedoch an die für den Beobachter interessanten Zeitraum angepasst werden. In der Regel beinhaltet ein solcher Test somit vier zeitabhängige Glukosewerte, deren Verlauf und Höhe Aufschluss über eine mögliche Erkrankung mit Diabetes mellitus geben kann. Als Orientierung kann man diesbezüglich für Menschen sowie Mäuse einen Normalblutzuckerbereich von 80-120 mg/dl angeben.

#### **2.4.5. Herkömmliche Glukosemessungsverfahren**

Neben dem in dieser Arbeit vorgestellten nicht-invasiven Verfahren gibt es in der Medizin diverse invasive Verfahren, die die Blutglukose unter Nutzung des Gesamtblutes oder von Blutbestandteilen, wie z.B. dem Plasma, bestimmen.

Weit verbreitet unter Diabetikern sind Glukoseteststreifen, die sich der Methode der Glukose-Dehydrogenase bedienen. Dabei wird die Glukose mittels einer Glukoseoxidase oxidiert und es entstehen freie Ladungsträger, deren Menge proportional zur Glukosemenge ist [Tho06].

Im Falle des in dieser Arbeit benutzten Accu-Check (Fa. Roche) kann diese Reaktion folgendermaßen formuliert werden:



Die erhaltenen Ladungen werden dann mit Hilfe einer Spannung zu zwei Elektroden geleitet, zwischen denen dann ein Ausgleichsstrom fließen kann. Dieser kann auf herkömmliche Weise gemessen werden und ist ebenso dem Blutglukosegehalt proportional.

Ähnlich funktioniert auch der in dieser Arbeit verwendete Glucose-Analyzer 2 der Firma Beckman Coulter, bei dem lediglich das abzentrifugierte Blutplasma genutzt wird. In ihm reagiert die vorhandene Glukose mit Sauerstoff zu Glukonsäure und Wasserstoffperoxid unter Verwendung von Wasser und Glukoseoxidase. Die Sauerstoffkonzentration wird dabei kontinuierlich ermittelt, wobei das Maximum der Abnahmegeschwindigkeit der Plasma-Glukosekonzentration direkt proportional ist [Kem01].

Die Genauigkeitsansprüche für Glukosemessgeräte im klinischen Einsatz sind sehr hoch, weswegen auch zahlreiche neuartige Geräte, invasive, wie auch nicht-invasive, längere Test- und Entwicklungsphasen durchleben, bevor sie erfolgreich auf den Markt kommen.

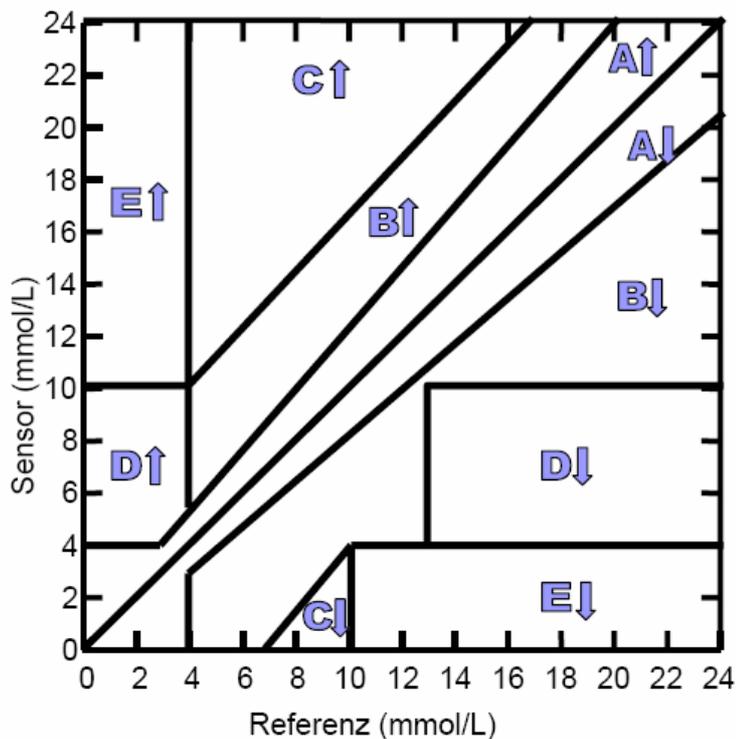


Abb.2.4-3: Genauigkeitsbeurteilung von Glukose-Messern durch Clarke-Error-Grid [Kub05]

Die Richtlinien der Genauigkeit resultieren aus dem von Clarke entwickelten Fehler-Raster [Cla89] (Abb.2.4-3). Dabei ist Zone-A der Bereich mit Übereinstimmung bzw. einer Abweichung von weniger als 20%, in ihm sollten mindestens 67% der gemessenen Werte anzutreffen sein. Zone-B ist der Bereich mit einer Abweichung von über 20%. In dieser Zone dürfen sich nach Clarke weniger als 30% der Werte befinden. Zone-C entspricht Glukosewerten, die, wenn sie von Patienten fälschlicherweise gemessen würden, eine Überkorrektur nach sich gezogen hätte. Werte in diesem Bereich sollten seltener als in einem Prozent der Fälle auftreten. Befinden sich die Werte in den Zonen D und E können sehr gefährliche Behandlungsfehler resultieren. Der Anteil dieser Messpunkte darf für die Zone-D 2% nicht übersteigen und Messpunkte in Zone-E sind sogar ganz verboten. Die zur Erfüllung dessen nötige Messpunkteverteilung im Vergleich zu heutigen höheren Richtlinien [Con00] zeigt Tab. 2.4-1:

	Clarke EGA	Consensus EGA
A	67%	71%
B	30%	24%
C	1%	4%
D	2%	1%
E	0%	0%

Tab.2.4-1:Vergleich der von Clarke erwarteten Genauigkeit und der Consensusmeinung heute [Kub05]

### **3. Vorversuche**

Um ein nicht-invasives Blutzucker-Messgerät sinnvoll zu realisieren, müssen zunächst die optischen Grundgegebenheiten genauer untersucht werden. Hierbei sind zwei Faktoren noch nicht ausreichend geklärt. Zum einen sind die glukosespezifischen Infrarot-Absorptionsbanden bisher nur in getrocknetem Blut und in wässriger Lösung bekannt und zum anderen wird noch eine fokussierende Optikanordnung aus Linsen und Spiegeln gesucht, die für die Geometrie eines Mäuseschwanzes optimiert ist.

#### **3.1. Infrarot Untersuchungen von Glukose in flüssigem Blut**

Im Kapitel zur Spektroskopie wurden bereits Glukosespektren für getrocknetes Blut und für Glukose in einer Wasserlösung gezeigt. Eine Messung der Glukose in flüssigem Blut und die exakte Auswertung dieses Spektrums stehen noch aus und sollen hier besprochen werden.

Bei Blut handelt es sich um eine im Infraroten stark absorbierende Flüssigkeit, die mittels Transmissions- und Reflexionsspektroskopie nur schwierig messbar ist. Aus diesem Grund wurde hier die Methode der ATR-Messung angewendet. Problem bei dieser Messung ist es, eine geeignete Referenz zu finden. Diese muss der zu messenden Probe zum einen ähnlich genug sein, damit keine störenden Banden das Glukosespektrum überlagern. Zum anderen muss sie sich aber im Bereich zwischen 9 und 10 $\mu$ m deutlich von der Probe unterscheiden.

Benutzt wurde dazu das FTIR-Spektrometer FTS-175C der Firma Biorad und für die ATR-Anordnung ein 45°-angeschliffener Germanium-Einkristall, in dem durch Mehrfach-Reflexion zehn aktive Absorptionen stattfinden.

Das untersuchte Blut wurde von einem nicht-diabetischen Patienten einen Tag vor der Infrarot-Messung gewonnen und kühl in einem Heparinröhrchen gelagert, damit sich die biologischen Eigenschaften nicht ändern und das Blut weiterhin flüssig bleibt.

Bei Heparin handelt es sich jedoch auch um eine Art von Zucker, was für eine herkömmliche Glukosemessung, wie in Kap. 2.4.5. beschrieben, zwar keine Rolle spielt, aber bei Infrarotmessungen aufgrund der Strukturähnlichkeit nicht vernachlässigt werden kann.

Um nun dennoch Infrarot-Messungen von Blutglukose in flüssigem Blut durchführen zu können, kommen nur noch Differenzmessungen in Frage. Zu diesem Zwecke wurde die

Blutprobe mit einer Konzentration von 100 mg/dl Glukose angereichert und gegen eine nicht angereicherte Referenz gemessen. Der Heparin-Anteil wurde somit bei beiden als gleich angenommen. Das Resultat dieser Messung ist in Abb. 3.1-1 dargestellt.

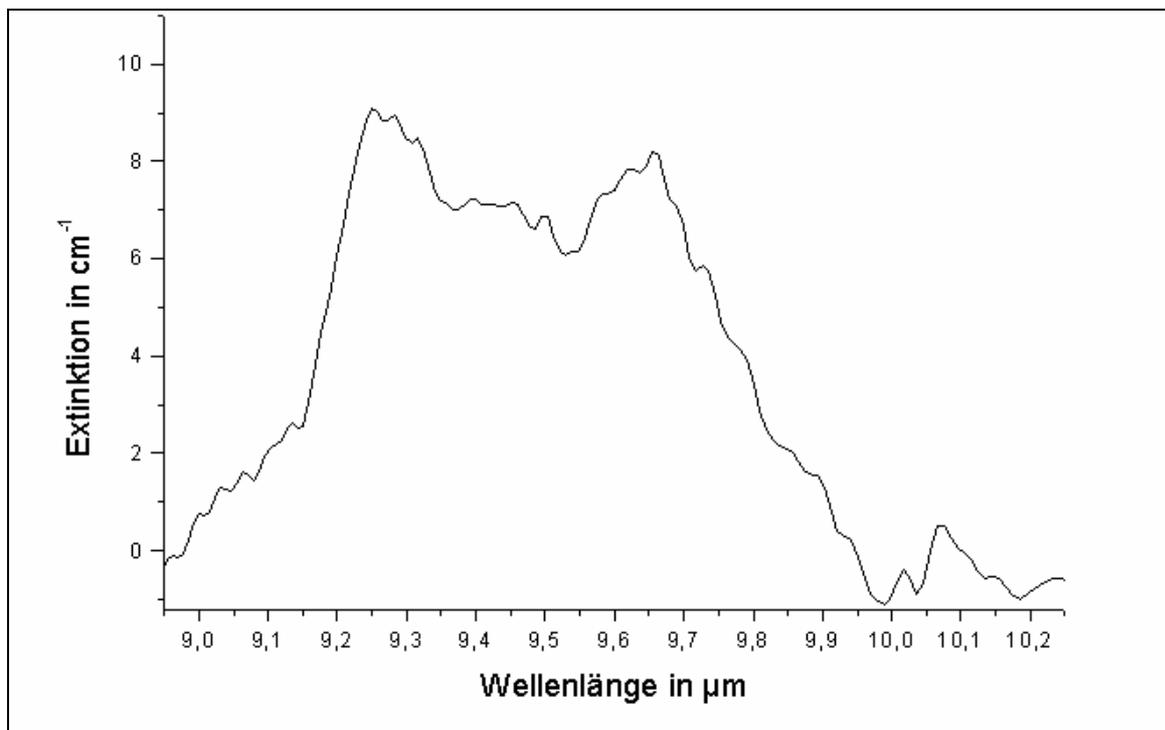


Abb. 3.1-1: Differenzspektrum zwischen einer Blutprobe angereichert mit 100 mg/dl Glukose und einer nichtangereicherten Probe

Das Spektrum der Glukose im Blut zeigt offensichtlich zwei starke Maxima bei 9,25 μm und 9,65 μm, welche wie erwartet jedoch in der Breite stark zugenommen haben und dadurch bereits ineinander laufen. Geht man von dem in der Literatur für Glukose angegebenen Wirkungsquerschnitt von  $2 \cdot 10^{-18} \text{ cm}^2$  bei einer Wellenlänge von 9,7 μm aus [Klo98], so kann man die auf der Ordinate befindliche Extinktion absolut quantifizieren. Der so errechnete Extinktionskoeffizient für das stärkste Maximum liegt dabei bei  $9,1 \text{ cm}^{-1}$ . Die erhaltenen Wellenlängen maximaler Absorption werden später bei der Auswahl der Filter für das Gerät noch eine bedeutende Rolle spielen.

Um die Absorption des gesamten Blutes zu bestimmen, wurde das Absorptionsspektrum von Blut gegen Luft gemessen. Die effektive Dicke der Probe (d.h. die Dicke, die einer Transmissionsmessung entspricht und bei ATR von dem Benetzungsgrad des Kristalls abhängt) kann dabei über die bereits bekannte Glukose-Absorption und Konzentration mithilfe des Lambert-Beer-Gesetzes zurückgerechnet werden. Das komplette Infrarot-Blutpektrum ist in Abb. 3.1-2 ersichtlich.

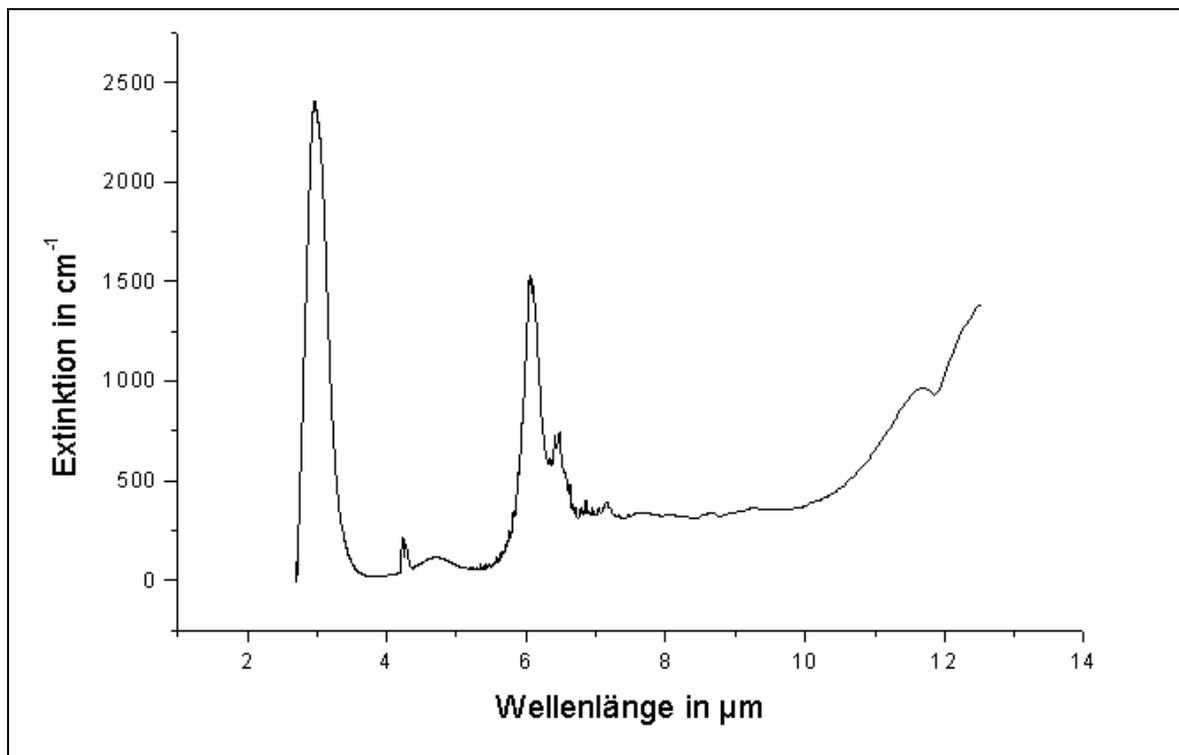


Abb. 3.1-2: Infrarot-Spektrum menschlichen Blutes

Aus diesem Spektrum kann nun die Absorption von Blut bei der Wellenlänge maximaler Glukosekonzentration (9,25 μm) auf 340,3 cm<sup>-1</sup> bestimmt werden.

Weiterhin sind zwei recht starke Maxima zu erkennen. Das erste Maximum zwischen etwa 2,9-3,4 μm resultiert aus C-H-Schwingungen und der Absorption von Wasser. Das zweite Maximum zwischen 5,8-6,7 μm wird durch die Absorption von Proteinen und Wasser hervorgerufen (s.Tab.2.3-1). Auch im Bereich zwischen 9 und 10 μm hat H<sub>2</sub>O starken Einfluss auf das Spektrum und kann als mit Abstand wichtigste Störsubstanz für die Messung eines Glukosespektrums gewertet werden.

### 3.2. Optische Simulationen

Versucht man die diffus abgestrahlte Infrarot-Strahlung effektiv zu messen, so ist eine Optimierung der Optik auf die vorhandene Geometrie des Objektes unerlässlich. Im vorliegenden Fall eines Mäuseschwanzes ist die Geometrie ein leicht konisch zulaufender Zylinder, der wie der bereits beschriebene Lambert-Strahler angesehen werden kann. Der Emissionsgrad der Haut kann dabei ohne größeren Fehler mit eins identisch gesetzt werden, da nahezu alle organischen Gewebe schwarzen Strahlern in ihrem optischen Verhalten recht ähnlich sind. Die Problemstellung lautet in diesem Fall also, die Strahlung eines zylinderförmigen, gleichmäßig in alle Richtung abstrahlenden Körper unter Nutzung von Spiegeln und Linsen auf eine vorzugsweise quadratische Grundfläche zu fokussieren.

Da aufgrund hoher Kosten der optischen Komponenten ein realer Test nicht möglich ist, wurde zum Zwecke der Optimierung das Optik-Simulationsprogramm OSLO (Education Version: 6.3.1. , Fa. Lambda Research Corporation) verwendet. Dieses Programm verfügt über eine Ray-Tracing-Simulation und bereits über einige gängige Strahlungsquellen. Eine zylinderförmige Strahlungsquelle mit Lambert-Strahler Eigenschaften wurde dabei unter Nutzung der Geometrie einer Bogenentladungslampe und der Strahlungseigenschaften einer Lambert-Fläche neu programmiert und somit dem Programm für Simulationen zur Verfügung gestellt. Abb. 3.2-1 gibt einen Eindruck über die programmierte Strahlungsquelle mit ihrer Abstrahlcharakteristik:

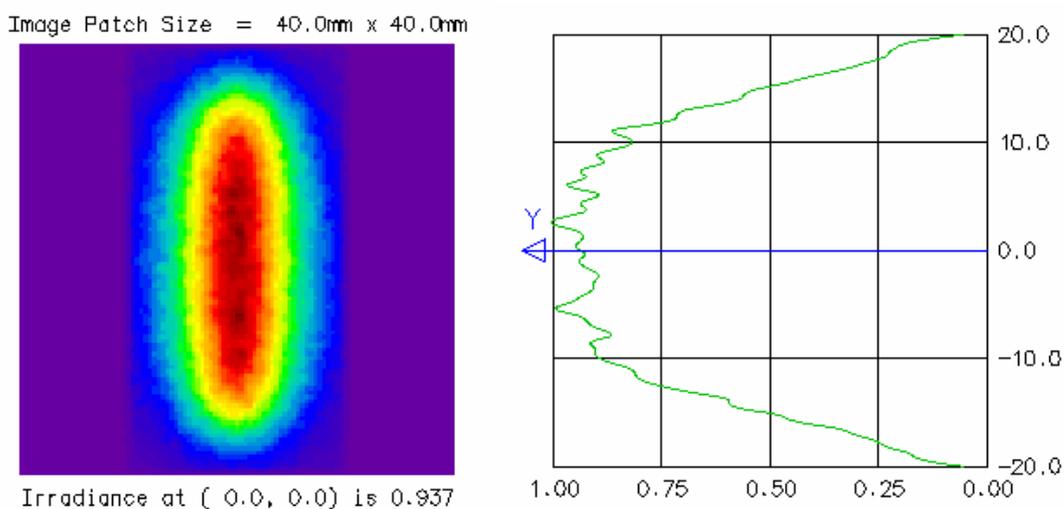


Abb.3.2-1: Abstrahlverhalten der simulierten Mäuseschwanz-Strahlungsquelle

Um nun den Weg zur optimalen Anordnung möglichst systematisch zu beschreiten, wurde dabei von relativ einfachen zu zunehmend komplizierteren Optiken übergegangen. Die Ansätze gingen dabei über Anordnungen aus zwei plan-konvexen Sammellinsen (Effektivität = 0,1%) über Anordnungen mit Ellipsoidspiegel und Sammellinse (Effektivität = 0,43%) bis zu der schließlich eingesetzten Optik aus drei Zylinderlinsen und einem zylinderförmigen Ellipsoidspiegel (Abb.3.3-2). Die Strahlungsquelle wurde mit einem Durchmesser von 3 mm und einer Länge von 3 cm angesetzt und die Detektorfläche mit einer Fläche von 5 mm x 5 mm. (Da räumlich ausgedehnte Quellen leider nicht bei der Darstellung von OSLO sichtbar sind, wurde der Mäuseschwanz durch einen Kreis symbolisiert.)

Simuliert wurden von der Oberfläche dieser Geometrie ausgehende zufällig erzeugte Strahlen und die Linsendurchmesser, -lage und -brennweite wurden auf größtmöglichen „Strahlungseinfang“ optimiert. Der bei den stattfindenden Simulationen relativ weitläufige Parameterbereich wurde zuerst durch optische Überlegungen stark eingengt und anschließend mit zunächst 100.000 zufälligen Strahlen auf die Größenordnung abgeschätzt, wodurch eine weitere starke Einengung des optimalen Bereichs möglich ist. Der zweite Schritt sah dann eine Optimierung mit Simulationen mit zehn Millionen Strahlen vor.

Bei dem optimierten Aufbau befindet sich der Mäuseschwanz in der Brennpunktlinie des Spiegels. Durch den Spiegel und eine der zylindrischen Plan-Konvex-Linsen wird die Ebene senkrecht zur Brennpunktlinie in den Detektor fokussiert, was in der zweidimensionalen Abb. 3.2-3 der Ebene ersichtlich wird (Schwanz steht senkrecht aus der Fläche heraus).

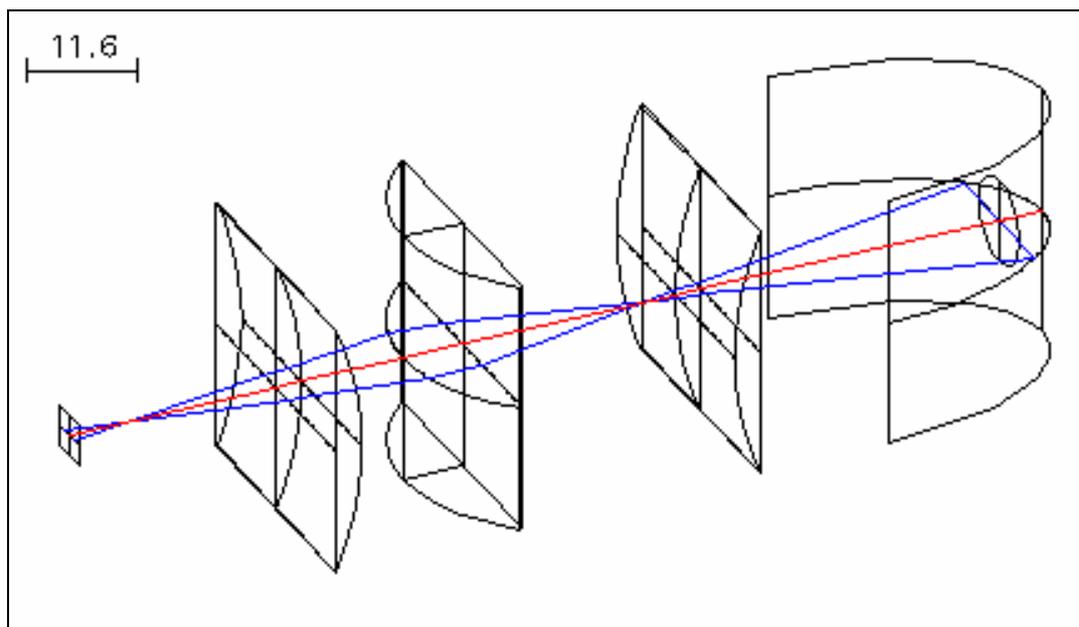


Abb. 3.2-2: Aufbau der verwendeten Anordnung mit zylindrischem Ellipsoidspiegel und drei zylindrischen Plan-Konvex-Linsen (Abstände nicht maßstabsgetreu)

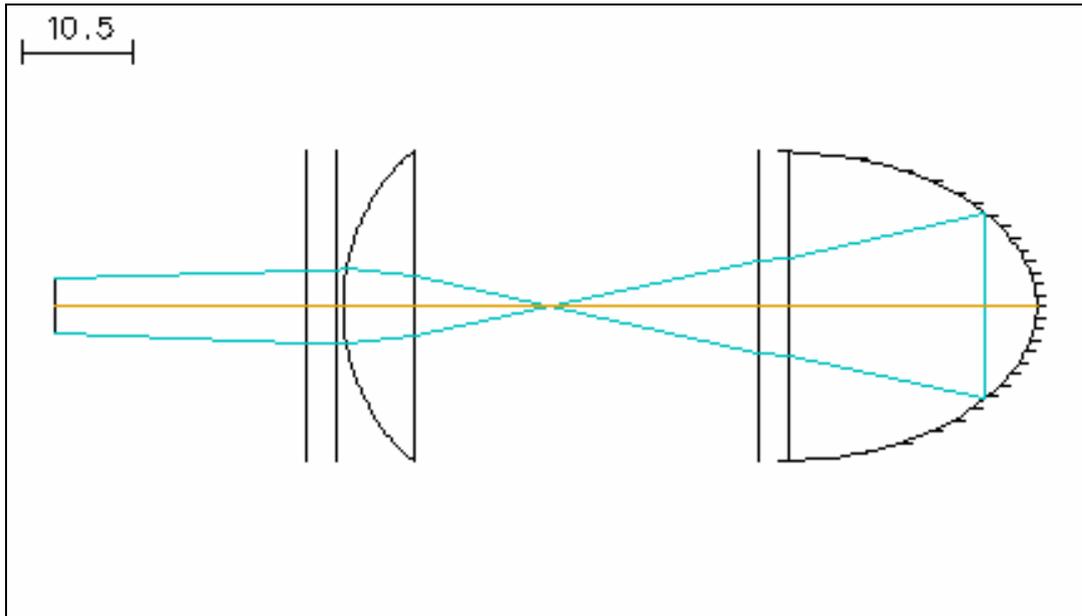


Abb. 3.2-3: Finaler Aufbau in Vorderansicht

In der Ebene senkrecht zu eben beschriebener Ebene und senkrecht zur Ebene der Spiegelöffnung wirken die beiden anderen zylinderförmigen Plan-Konvex-Linsen. Sie sammeln die Anteile der Strahlung, die aus der länglichen Ausdehnung des Schwanzes resultiert. Um diesen Sachverhalt verständlicher zu verdeutlichen ist in Abb. 3.2-4 die Ebene der Anordnung dargestellt.

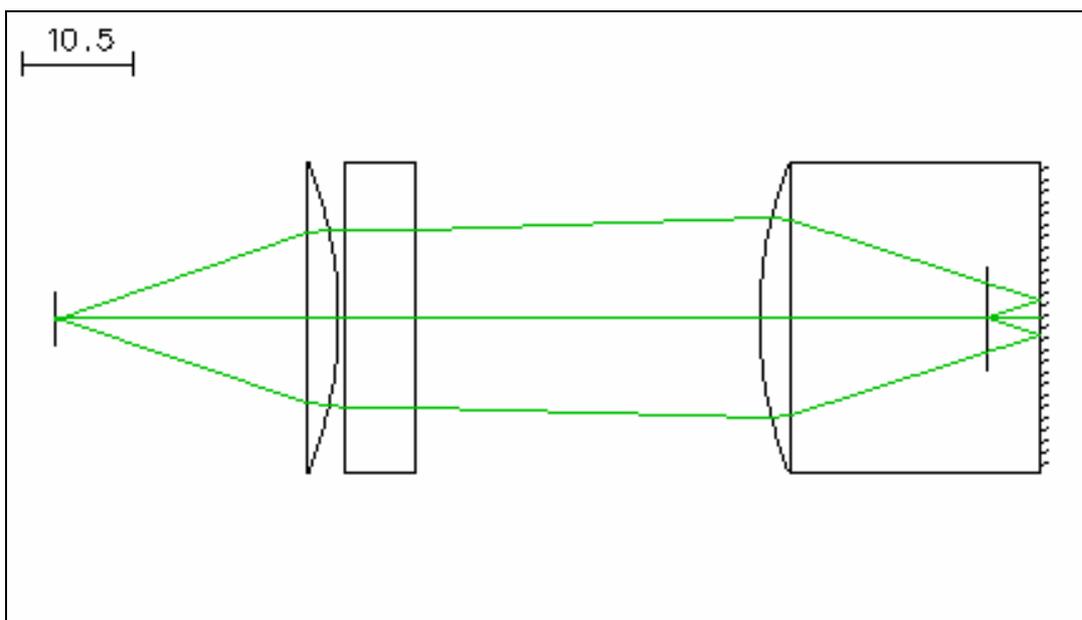


Abb. 3.2-4: Finaler Aufbau in der Draufsicht

Durch die Wahl von zylindrischen Linsen und dem zylindrischen Ellipsoidspiegel ist es somit zumindest teilweise möglich die Strahlung in beiden dieser Ebenen zu sammeln und dadurch verwertbar zu machen. Das Ergebnis dieser Simulationen brachte einen Wert von 4,87% hervor, was um einen Faktor zehn effektiver als die vorhergehende Variante ist. Die meisten Verluste resultieren hier vor allen durch den seitlichen Austritt der Photonen aus der Anordnung.

Um diesen Effekt in dem späteren Geräteaufbau einzudämmen, wurden an den seitlichen Spiegelöffnungen Randstücken angebracht, die mit hochreflektierendem Gold beschichtet wurden. Auf diese Weise werden die dort auftreffenden Photonen wieder in die Anordnung zurückgebracht und können mit gemessen werden. Die Simulation der Randflächen war mit der vorhandenen Software nicht möglich. Aus diesem Grund konnte auch der Einfluss der Randflächen auf das Endsignal nicht bestimmt werden.

Die in dem praktischen Aufbau verwendeten Daten sind in Tab. 3.2.-1 zu sehen. Dabei nummeriert OSLO die einzelnen optischen Flächen einfach nacheinander durch. Die mit AST bezeichnete Oberfläche ist der Ellipsoidspiegel und die letzte angegebene Oberfläche entspricht hierbei dem Ort des Detektors. Die *thickness* gibt den Abstand der optischen Flächen zueinander an, d.h. die Dicke der Linsen oder den Abstand der Randflächen voneinander. Um welches Material es sich zwischen den Flächen handelt wird unter *glass* angegeben. Die Oberflächen, die eine Krümmung besitzen, zeigen den entsprechenden Wert bei *radius*, alle anderen sind nicht gekrümmt. Da im Kapitel über die Einzelkomponenten noch genauer auf den Spiegel und die Linsen eingegangen wird, sind in dieser Tabelle hauptsächlich die Abstände der Anordnung von Bedeutung. Diese werden bei der Gehäusekonstruktion später genauestens beachtet und umgesetzt.

SRF	RADIUS	THICKNESS	GLASS
OBJ	--	5.000000	AIR
AST	-9.000000	-23.900000	REFL_HATCH
2	--	-6.000000	ZISE
3	40.500000	-33.000000	AIR
4	--	-10.000000	ZISE
5	20.000000	-0.500000	AIR
6	-40.500000	-6.000000	ZISE
7	--	-24.200000	AIR
8	--	--	AIR

Tab.3.2-1: Im Gerät verwendete Daten der Optikanordnung

## **4. Aufbau und gewählte Komponenten**

### **4.1. Gesamter Aufbau und geplante Funktionsweise**

An dieser Stelle sollen kurz der allgemeine Aufbau und dessen erwünschte Funktionsweise erklärt werden. Aus ihm können dann recht einsichtig erste Grundkriterien und Anforderungen für die einzelnen Komponenten hergeleitet werden.

Ziel dieser Arbeit war es, ein möglichst tragbares Gerät zu konzipieren, aufzubauen und zu testen, das eine nicht-invasive Blutglukosebestimmung bei Mäusen möglich macht. Genutzt wurde dazu die Methode der Temperaturgradientenspektroskopie in der Fingerprint-Region der Glukose im mittleren Infraroten. Die Funktion des Messgerätes besteht somit in der Detektion, Verarbeitung und Auswertung der von der Maus kommenden Infrarotstrahlung. Am überschaubarsten ist die Funktionsweise zu erklären, wenn man dem Strahlengang in der Messung betrachtet. Ursprung der Infrarot-Strahlung ist, wie bereits beschrieben, die Temperaturstrahlung innerhalb der Dermis. Beim Verlassen der Dermis erfährt das Spektrum aufgrund des Temperaturgradienten nach außen und der in der Dermis befindlichen Glukose neben der Absorption durch das Gewebe eine glukoseabhängige Absorption (s. Kap.3.1.). Nach der glukoseunabhängigen Absorption in der weiter außen liegenden Epidermis verlässt die Strahlung die Maus und ist somit einer Messung zugänglich. Diese Strahlung befindet sich nun in dem optischen Aufbau der in Kapitel 3.2. herausgefunden wurde. Von da aus gelangt ein Anteil der Infrarot-Strahlung direkt oder indirekt über Spiegel oder Reflexion an den Außenwänden durch die drei Linsen und wird dabei in Richtung Detektor gelenkt. Um das Umgebungsrauschen zu minimieren muss sie nach den Linsen zunächst ein Chopperrad passieren, welches eine Modulation des Signals nach sich zieht. Diese Frequenz liegt bei den Messungen in der Regel je nach Wahl zwischen 12 und 17 Hz und kann später bei der Auswertung der Signale unabhängig vom Rauschen bei anderen Frequenzen analysiert werden.

Bevor nun die Strahlung in den Detektor gelangt, ist es sinnvoll durch optische Filter die zu messenden Spektralbereiche von denen zu trennen, die nur als Störung auftreten würden. Mit dem Ziel möglichst viele spektrale Informationen über die gegebene Infrarot-Strahlung zu bekommen, wurde ein Vierfach-Detektor verwendet, der durch vier verschiedene Filter vier Bereiche gleichzeitig erfassen kann. Als Bereiche wurden dabei die

Glukoseabsorptionsmaxima und einer Referenz gewählt. Bei der Detektion werden die vier Photonenflüsse durch den pyroelektrischen Detektor in vier Spannungssignale umgewandelt, die mittels einer Verstärkerschaltung um den Faktor 2001 vergrößert werden. Anschließend werden die Signale unter Nutzung einer Analog/Digital-Messkarte in digitale Signale umgewandelt und über USB an den Computer weitergegeben. Dort findet dann die digitale Filterung der Signale und die Verarbeitung zum Endresultat statt, welches im wesentlichen auf einer Differenzbildung zwischen den glukoseabhängigen Kanälen und der Referenz besteht.

Um eine temperaturstabile und von der Umgebungstemperatur unabhängige Messung zu erzielen, wurde bei der Messung sowohl das Gerät mit dem Detektor als auch der Spiegel auf einer Temperatur von 15°C konstant gehalten. Dazu wurde neben der aktiven Kühlung mit Peltier-Elementen ebenso ein doppelwandiges Gehäuse genutzt.

Zum besseren Verständnis des Aufbaus befindet sich in der Abb.4.1-1 eine Außenansicht des Messgerätes und in Abb. 4.1-2 eine technische Zeichnung des Längsquerschnittes.

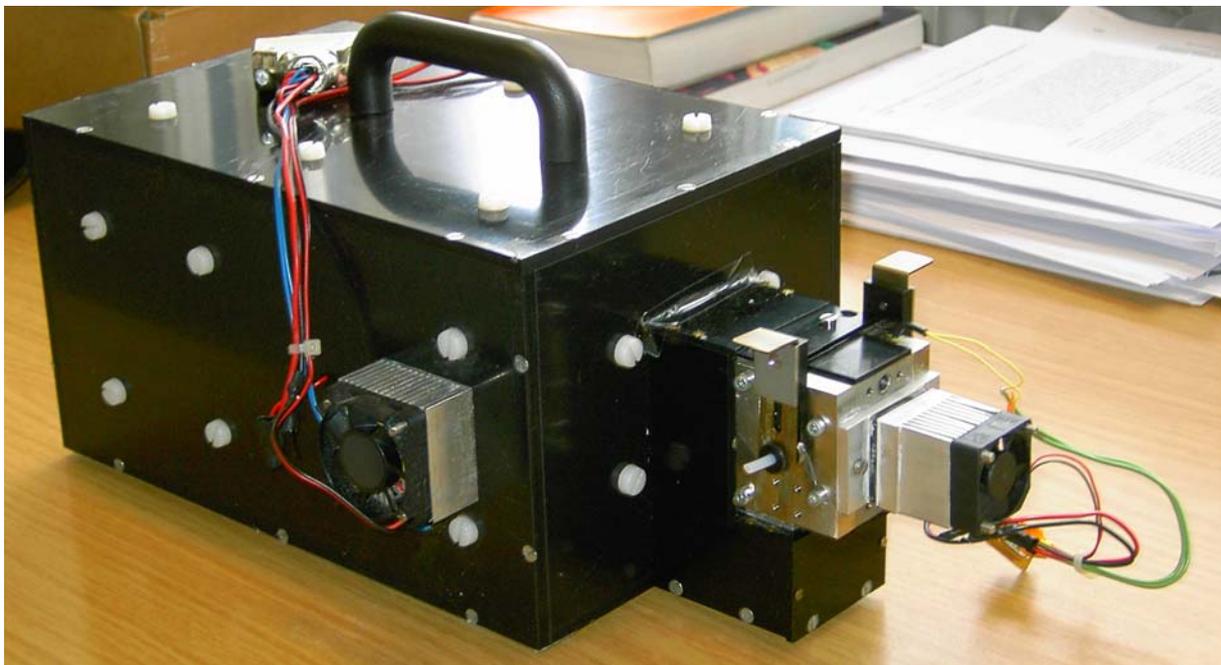


Abb.4.1-1: Außenansicht des nicht-invasiven Infrarot-Emissions-Glukometers

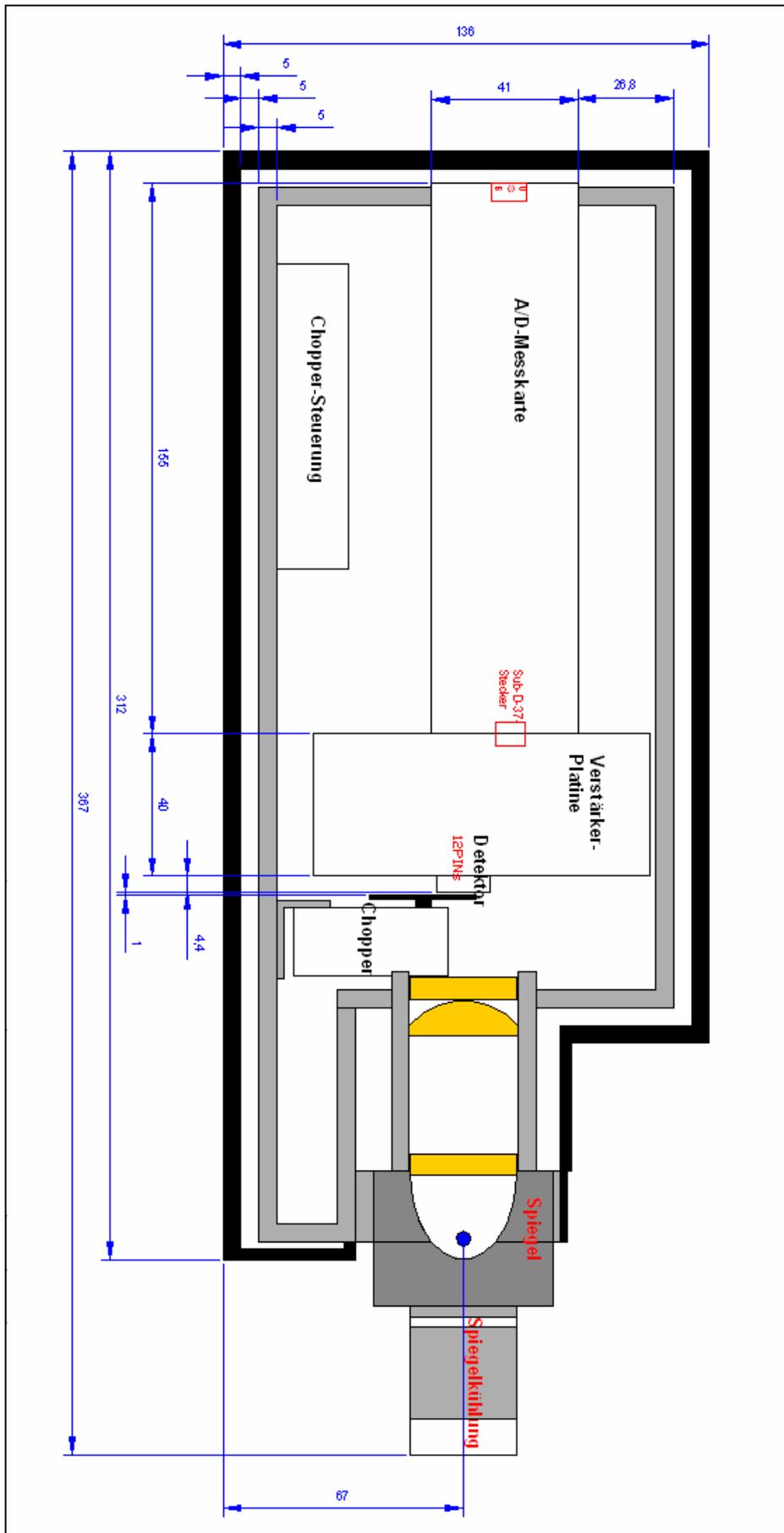


Abb.4.1-2: Längsquerschnitt des nicht-invasiven Glukometers (maßstabstreu)

Am einfachsten ist der Überblick über dieses Gerät in der technischen Zeichnung zu gewinnen. Das äußere Kunststoff-Gehäuse ist hierbei schwarz dargestellt, während das innere Aluminium-Gehäuse hellgrau gehalten ist. Der Mäuseschwanz verläuft hier senkrecht zur Zeichenebene und ist mithilfe eines blauen Punktes dargestellt. Er befindet sich in dem dunkelgrau schattierten Spiegel, dessen thermoelektrische Kühlung (Peltier, Kühlkörper, Lüfter) sich weiter rechts befindet. Auf dessen linker Seite befinden sich wiederum die orange dargestellten IR-Linsen, welche die Strahlung in Richtung Detektor lenken, der seinerseits mit Verstärker- und Messkarte verbunden ist. Direkt vor dem Detektor ist das Chopperrad positioniert. Um ein Gefühl für die Dimensionen zu bekommen, sind die wichtigsten Abmessungen in mm angegeben. Die Breite der Apparatur beträgt 226 mm.

Das Gerät benötigt zu seiner Versorgung und Kühlungsregelung noch folgende Peripheriegeräte, die hier nur kurz erwähnt werden sollen: Ein Kühlungsregler für Gerät und Spiegel, ein Multimeter zum Ablesen und Einstellen der Temperaturen, das Netzteil für die Verstärkerkarte (wurde aus Rauschgründen außerhalb des Gerätes positioniert), ein Spannungskonverter für das amerikanische Stromnetz, sowie die Stromversorgung des Choppers.

Da die prinzipielle Funktionsweise des Gerätes beschrieben wurde, soll jetzt im einzelnen auf die benutzten und gewählten Komponenten genauer eingegangen werden.

## **4.2. Spiegel und Halterung**

Dem Spiegel stehen innerhalb dieses Messgerätes gleich zwei Bedeutungen zu. Zum einen verhindert er, wie in Kap. 3.2. beschrieben, dass große Anteile der Strahlung für die Messung verloren gehen und zum anderen ist an ihm die Halterung für die Probe (also der Mäuseschwanz) verankert, die innerhalb dieses Kapitels noch genauer erklärt wird.

Die Herstellung dieses Spiegels war eine Zusammenarbeit der Werkstätten des Physikalisch-Chemischen und des Physikalischen Instituts. Dabei wurde in den aus Stahl bestehenden Grundkörper unter Nutzung des Drahterodierverfahrens die Halbellipse „hineingeschnitten“. Die Oberflächenrauigkeit ist nach dem Erodieren mit einer im günstigsten Fall zu erreichenden Größenordnung von 200-300 nm sehr niedrig. Im Anschluss an das Erodieren wurde die so erzeugte elliptische Spiegeloberfläche mittels herkömmlicher Polierpasten weiter poliert. Dadurch vermindert sich die Rauigkeit weiter und der Reflexionsgrad wird

somit erhöht. Da Gold ein sehr guter Reflektor im Infraroten ist und außerdem eine gute chemische Beständigkeit gegen äußere Umweltbedingungen aufweist, wurde die erhaltene Oberfläche mit einer 3-4  $\mu\text{m}$  dicken Goldschicht bedampft. Die Oberflächenrauigkeit wird durch Bedampfungsprozess nur unwesentlich verändert. Nach der Herstellung des Spiegels wurde die Oberflächenqualität (eines ebenen Referenzstückes) zunächst mittels AFM vermessen. Obwohl die Oberfläche scheinbar noch deutliche Strukturen aufzuweisen scheint, liefert die topographische Analyse eine Rauigkeit im Bereich zwischen 10-17 nm, was einen Faktor zehn glatter als die unbehandelte Metalloberfläche und deutlich kleiner als die Infrarotwellenlänge ist.

Der spektrale Reflexionsgrad einer glatten elektrolytischen Goldschicht beträgt etwa 95% im Bereich von 8-10 $\mu\text{m}$  Wellenlänge [Gie54]. Um den Einfluss der Rauigkeit der hier vorliegenden Oberfläche auf das Reflexionsvermögen zu erfahren, wurde die Spiegeloberfläche mittels Infrarot-Reflexionsspektroskopie (IRRAS) vermessen. Als Referenz diente dabei eine nahezu atomar glatte Goldschicht auf einen Siliziumwafer. Das Spektrum ist in Abb. 4.2-1 dargestellt. Die linke Ordinate ist dabei die Effizienz im Verhältnis zu der Goldschicht auf dem Siliziumwafer und die rechte entspricht dem absoluten Reflexionsgrad.

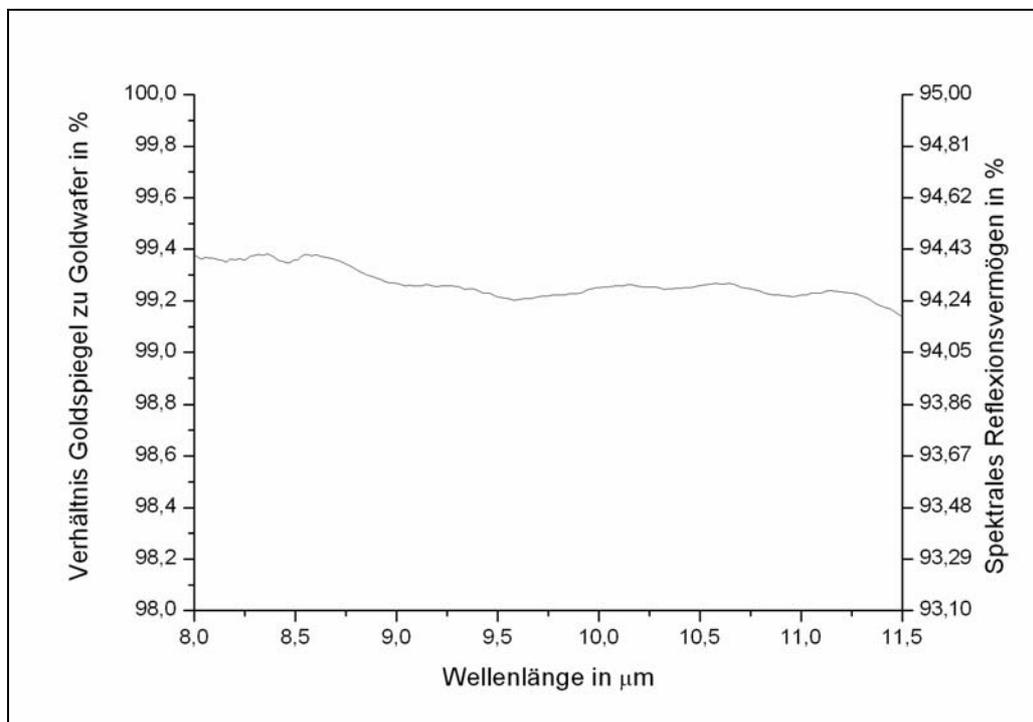


Abb. 4.2-1: Spektrales Reflexionsvermögen der Spiegeloberfläche

Der Aufbau des Spiegelgrundkörpers ist in Abb. 4.2-2 dargestellt. Da die elliptische Form des Spiegels die Fokussierung der Strahlung des in dem ersten Brennpunkte liegenden Mäuseschwanzes in den zweiten Brennpunkt verursacht, mussten die Größenordnung und die Form des Spiegels den biologischen Gegebenheiten angepasst werden. Die Halbachsen der Ellipse haben dabei in Richtung Detektor eine Länge von 25 mm und senkrecht dazu 15 mm, was einen Brennpunkt im Abstand von 5 mm zum Ellipsenscheitelpunkt nach sich zieht. Die Spiegel entspricht dabei exakt einer Halbellipse, damit ein möglichst hoher Raumwinkel der Reflexion erzielt werden kann.

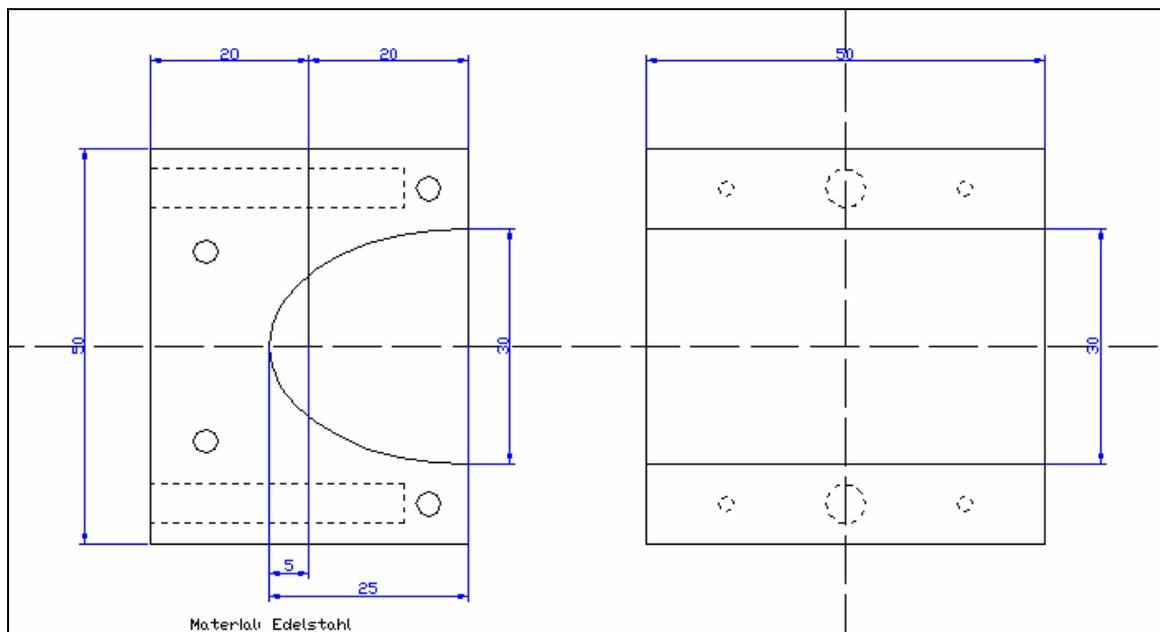


Abb. 4.2-2: Technische Zeichnung des Ellipsoidspiegels

Um den Mäuseschwanz einfacher in den Spiegel einführen zu können, besteht dieser aus drei Teilen. Zwei sind direkt mit dem Gerät verbundene Randstücke des Spiegels und ein drittes abnehmbares Teil beinhaltet den Scheitelpunkt des Spiegels. Der Schnitt des Spiegels befindet sich dabei ebenfalls in dessen Brennpunkt, was das Positionieren der Probe vereinfacht. Das Fixieren des Mäuseschwanzes selbst findet unter Verwendung sogenannter Spannbuchsen statt. Diese verlaufen außen konisch und haben innen einen konstanten Durchmesser, der dem Schwanzdurchmesser angepasst werden kann. (Zu diesem Zweck wurden mehrere verschiedene Größen dieser Spannbuchsen angefertigt.) Die Gegenlöcher der Spannbuchsen befinden sich dabei an den ebenfalls goldbedampften Abschirmungsstücken an den offenen Enden der zylindrischen Ellipsenform.

Soll nun eine Messung durchgeführt werden, wird zuerst der obere Spiegelteil, der nur mittels Bolzen mit dem Rest des Spiegels verbunden ist, abgezogen. Dadurch ist die Spiegelkammer

offen und einer Einführung der Probe zugänglich. Anschließend werden zwei passende Spannbuchsen über den Mäuseschwanz gezogen, wobei die konisch zulaufenden Spitzen zueinander zeigen. Nun wird der Schwanz mit den Buchsen in die Löcher der Abschirmstücke gebracht und der Spiegel durch Anbringung des abgenommenen Teils geschlossen. Zuletzt werden zwei Schranken heruntergedrückt, welche die Spannbuchsen unter Vermeidung eines zu starken Drucks in den Spiegel pressen und somit deren Verengung bewirken. Auf diese Weise ist eine genaue Fixierung verschieden dicker Schwänze exakt im Brennpunkt des Spiegels möglich. Beim Einspannen des Schwanzes wird dieser gestreckt, so dass der zu messende Schwanzabschnitt keine nennenswerte Krümmung aufweist. Nach Beendigung der Messung wird derselbe Ablauf in umgekehrter Reihenfolge durchgeführt, um die Maus wieder aus der Apparatur herauszunehmen. Abbildung 4.2-3 zeigt ein Foto des abnehmbaren Spiegelteils mit den eingeführten Spannbuchsen. Als Mäuseschwanzersatz dient hier ein Teflonschlauch.

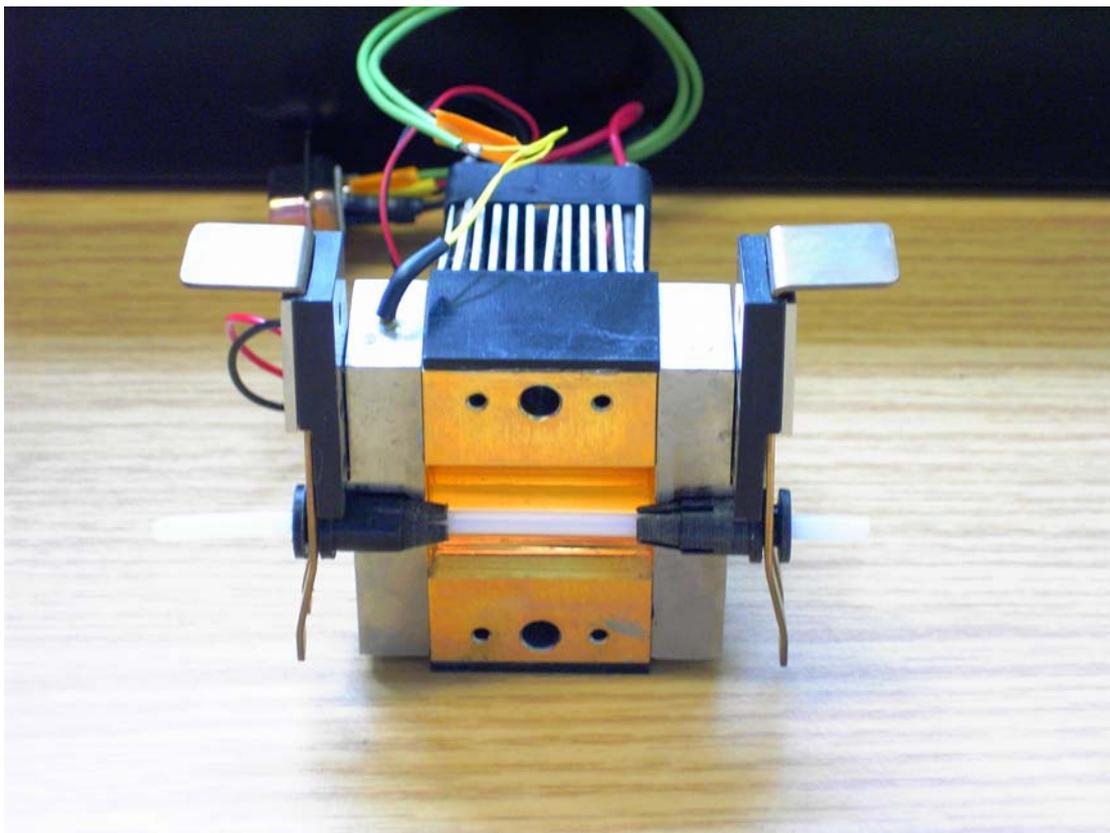


Abb. 4.2-3: Abnehmbares Spiegelstück inkl. Spannbuchsen (schwarz) und deren Befestigung

Da sich die Tiere im Normalfall gegen diese Prozedur wehren und sofort versuchen würden, den Schwanz wieder zu befreien, ist es nötig die Maus während der Versuchszeit in einem

sogenannten Mouse-Restrainer (PLASLABS, Lansing, MI, USA, Part#:551-BSRR) zu platzieren. Dieser ist ähnlich einer Tube und es ist möglich mit einer Art Stempel den genauen Bewegungsraum der Maus festzulegen. Da eine möglichst stressarme Situation für die Maus erzeugt werden sollte, wurde der Restrainer außerdem schwarz gefärbt, damit sich die Maus in einer dunklen Umgebung sicherer fühlen kann.

### 4.3. Linsen

Die Fokussierung der Strahlung in den Detektor findet zusätzlich zum Spiegel noch mit drei Linsen statt, deren Anordnung bereits im Kapitel über die Optiksimulationen gezeigt wurde. Das wichtigste Kriterium zur Wahl der Linsen ist der Transmissionskoeffizient. In Abbildung 4.3-1 ist das Spektrum von ZiSe dargestellt, welches als optimales Material für diese Anwendung ausgewählt wurde. In diesem Spektrum ist der Reflexionskoeffizient für den Übergang zwischen Luft und Linsenmaterial bereits beinhaltet.

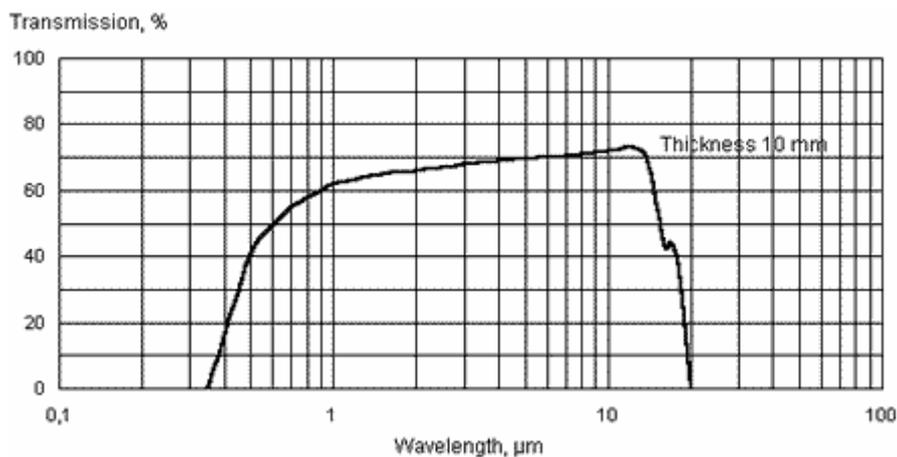


Abb. 4.3-1: Transmissionsspektren von Zinkselenid im Infraroten [Lot05]

Zinkselenid ist ein klassischer II-VI-Halbleiter, der die meiste Strahlung unterhalb der Bandlückenenergie durchlässt. Der Transmissionsgrad dieses Materials liegt daher bei sehr niedrigen  $0,005\text{cm}^{-1}$ . Sein Reflexionsgrad liegt bei einer Brechzahl von 2,4 bei einem Wert von etwa 17%, kann aber mittels Antireflex-Schichten deutlich reduziert werden. Der Hersteller der sonderangefertigten Linsen (Laser Components GmbH, Olching) beziffert den Transmissionsgrad unter Verwendung der AR-Schicht auf mindestens 99,4%. Die Geometrie der plankonvexen Linsen ist quadratisch mit jeweils nur einer ausgewölbten Seite, es handelt

sich also um Zylinderlinsen. Die Größe der quadratischen Grundfläche wurde entsprechend der Spiegelöffnung ebenso auf  $30 \times 30 \text{ mm}^2$  festgesetzt bzw. anhand der Simulationen als sinnvoll erachtet. Die Randdicken sind bei allen aus Stabilitätsgründen auf 3 mm festgesetzt. Da es deutlich preisgünstiger war und die Simulationen keine starken negativen Folgen zeigten, wurden zwei der drei Linsen (die Linsen 1 und 3 in der optischen Abfolge) identisch hergestellt. Sie haben den Krümmungsradius 40,5 mm und somit eine Brennweite von 28,9 mm. Die Fokussierung in der anderen Ebene ist deutlich stärker. Die verbleibende Linse hat einen Krümmungsradius von 20 mm und darausfolgend eine Brennweite von nur 14,3 mm.

#### 4.4. Chopper

Da das gemessene Infrarot-Signal zur Verbesserung des Signal-Rausch-Verhältnisses moduliert werden soll, ist der Einsatz einer Modulationsquelle nötig. Zu diesem Zweck wurde ein mechanischer Chopper verwendet. Die Wahl wurde dabei hauptsächlich nach Größe und möglichen Frequenzen getroffen, da es sich ja um ein kompaktes tragbares Gerät handeln soll. Die Entscheidung fiel dabei zugunsten des „360C Ultra Miniture Rotating Optical Chopper“ der Firma Scitec Instruments (Cornwell, Großbritannien). Dieser Chopper-Typ besteht vor allem durch seinen kleinen, effektiven Aufbau und seine unkomplizierte Ansteuerung. In Abb. 4.4-1 ist eine technische Zeichnung des Choppers dargestellt.

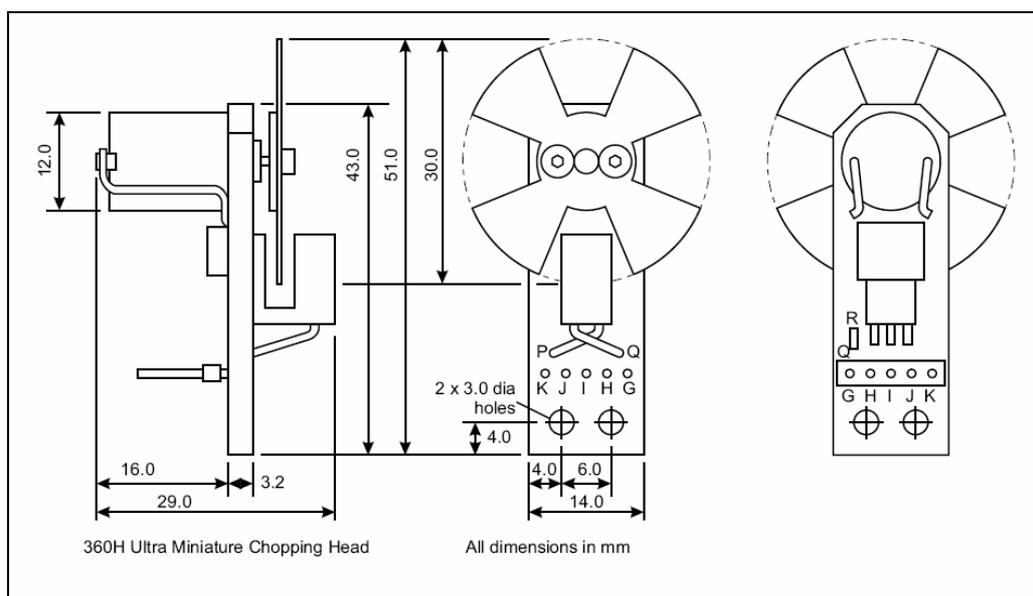


Abb. 4.4-1: Technische Zeichnung der Choppereinheit [Sci05]

Die Höhe beträgt ohne Rad lediglich 43 mm, die Breite 14 mm und die Länge 29 mm. Das Chopperrad hat einen Durchmesser von 30 mm und zwei Flügel. Der daraus resultierende maximale Durchmesser des modulierten Strahlenbündels ist 9 mm und es sind Frequenzen zwischen 10 und 350 Hz damit möglich. Die Steuerung der Frequenz ist über ein Trimmrad auf der Steuer-Leiterplatte direkt möglich, oder mithilfe einer externen Spannung, die mittels Klinkenstecker auf die Leiterplatte übertragen wird. Auf diese Weise besteht auch nach dem Einbau des Choppers eine Möglichkeit seine Frequenz den äußeren Bedingungen anzupassen.

Vor Verwendung des Choppers wurden seine Laufeigenschaften getestet. Die Fouriertransformierte eines mit 100 s Messzeit relativ kurzen Messzeitraums, erlaubt eine Aussage über die kurzfristige Laufgenauigkeit und die verschiedenen Frequenzanteile des Modulationssignals. Da es sich bei dem vom Chopper erzeugtem Signal um ein Rechtecksignal handelt, existieren neben dem Hauptmaximum noch Nebenmaxima, die aber aufgrund späterer Filterung hier keine Rolle spielen.

In Abb. 4.4-2 wurde nun der Hauptpeak deutlich aufgelöst. Hier ist um die Mittenfrequenz eine Verteilung der Frequenzen zu sehen, die sich im wesentlichen im Bereich von  $\pm 0,1$  Hz um die Mittenfrequenz befindet. Da die gewählte Mittenfrequenz in ähnlicher Größe in allen Versuchen Verwendung fand, soll dieser Bereich daher in allen zukünftigen Betrachtungen als absoluter Fehler der Chopper-Laufgenauigkeit angesehen werden.

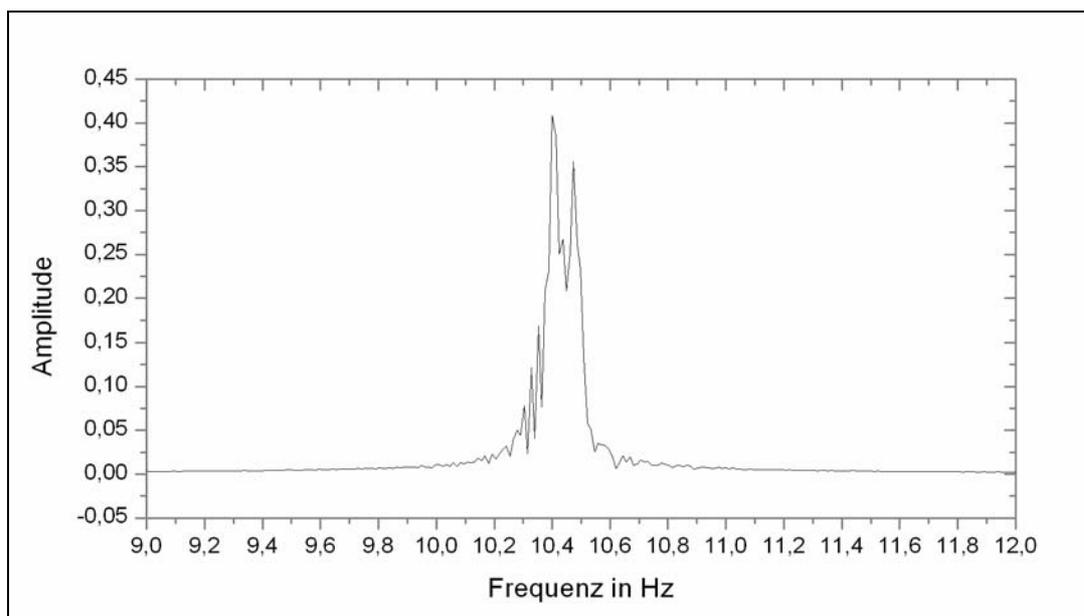


Abb.4.4-2: Laufgenauigkeit des Choppers über 100 s Messzeit

Neben der kurzfristigen Laufstabilität des Choppers ist außerdem sein Verhalten über längere Zeiträume interessant, da so eventuelle Unregelmäßigkeiten und ein mögliches Driften der Mittenfrequenz deutlicher wird. Zu diesem Zweck wurde eine Messung über etwa 20 Minuten durchgeführt und alle zehn Sekunden mittels Frequenzmesser (Philips PM 6654C) die Frequenz bestimmt. Der zeitliche Verlauf der Frequenz wurde in Abb. 4.4-3 dargestellt.

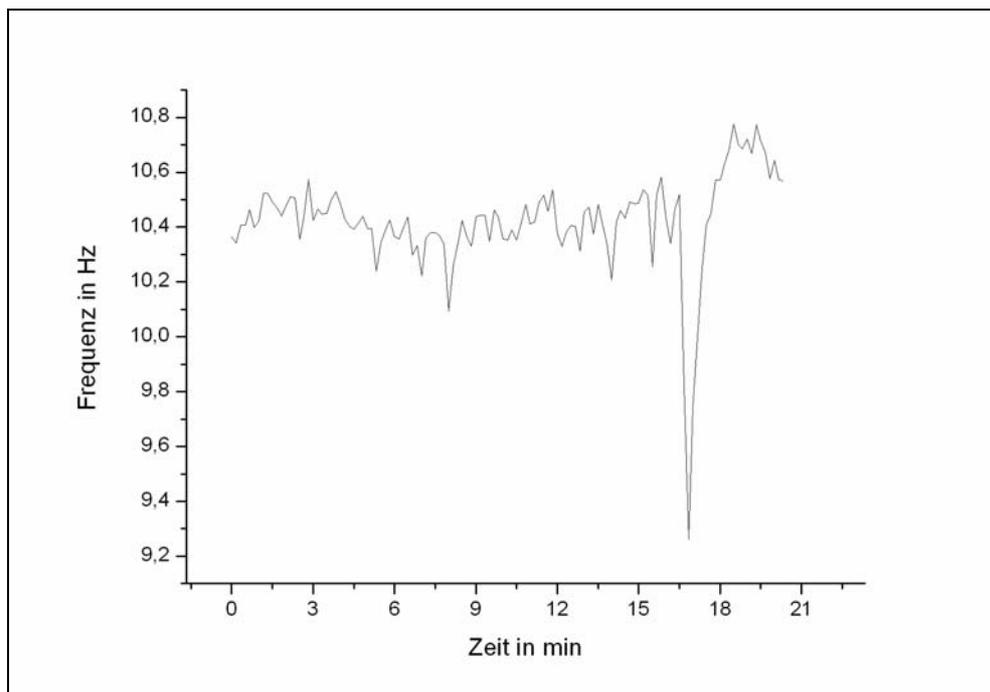


Abb. 4.4-3: Langzeitgenauigkeit des Choppers

Wertet man die Daten statistisch aus, so erhält man bereits eine Standardabweichung  $\sigma$  der Frequenz von 0,18 Hz. Da die Standardabweichung nur 66% der Werte beinhaltet, muss man den Absolutfehler bei langen Laufzeiten also noch deutlich höher wählen ( $\geq 3\sigma$  wären angebracht).

Hervorgerufen wurde dieser hohe Fehlerwert offenbar durch ein kurzfristiges „Hängenbleiben“ des Rades, was eine Leistungserhöhung nach sich zog und nach diesem „Zwischenfall“ eine höhere Frequenz verursachte. Der Grund für solch ein Fehlverhalten liegt offenbar darin begründet, dass mit einer Frequenz von 10 Hz der minimale Grenzwert des Choppers sehr nahe liegt und in diesem Bereich nicht mehr hundertprozentig zuverlässig gearbeitet wird. In den späteren Messungen wird daher die Frequenz etwas höher gewählt, sie liegt meist zwischen 12 Hz und 17 Hz (abhängig von Hintergrundrauschen des jeweiligen Messortes).

## 4.5. Filterfenster

Obwohl die verwendeten optischen Filterfenster bereits bei Lieferung fest in den Detektor eingebaut waren, sollen sie hier dennoch einzeln behandelt werden. Wie bereits beschrieben, orientieren sich die gewählten Wellenlängen an den in den Versuchen ermittelten Absorptionsmaxima. Außerdem spielten auch die praktischen Herstellungsmöglichkeiten eine Rolle, da Einzelanfertigungen dieser Art teuer sind. Gewählt wurden Filter mit den Mittenwellenlängen von 9,26  $\mu\text{m}$ , 9,6  $\mu\text{m}$ , 10,24  $\mu\text{m}$  (Messkanal 0, 1 und 2) und einen breiten Bandpassfilter zwischen 8,6-10,3  $\mu\text{m}$  (Messkanal 4), die von der Firma Dias Infrared (Dresden) zur Verfügung gestellt wurden. Die Mittenwellenlängen haben dabei eine Toleranz zwischen 0,5 und 1% und die Halbwertsbreiten betragen weniger als 5%. Die Wellenlänge bei 10,24  $\mu\text{m}$  diente als Referenzwellenlänge.

Da die Filter bereits in den Detektor eingebaut waren, konnte ihr Transmissionsverhalten nur mit den von der Firma gelieferten Bruchstücken vermessen werden, die vom selben Wafer wie die Filter stammen. Leider wurden nur Bruchstücke der Filter mit den Wellenlängen 9,26  $\mu\text{m}$  sowie 10,24  $\mu\text{m}$  von der Firma zur Verfügung gestellt, die jedoch auch repräsentativ für die Qualität der anderen Filter sind. Die Transmissionskurven der selbst vermessenen Filter sind in den Abbildungen 4.5-1 und 4.5-2 dargestellt.

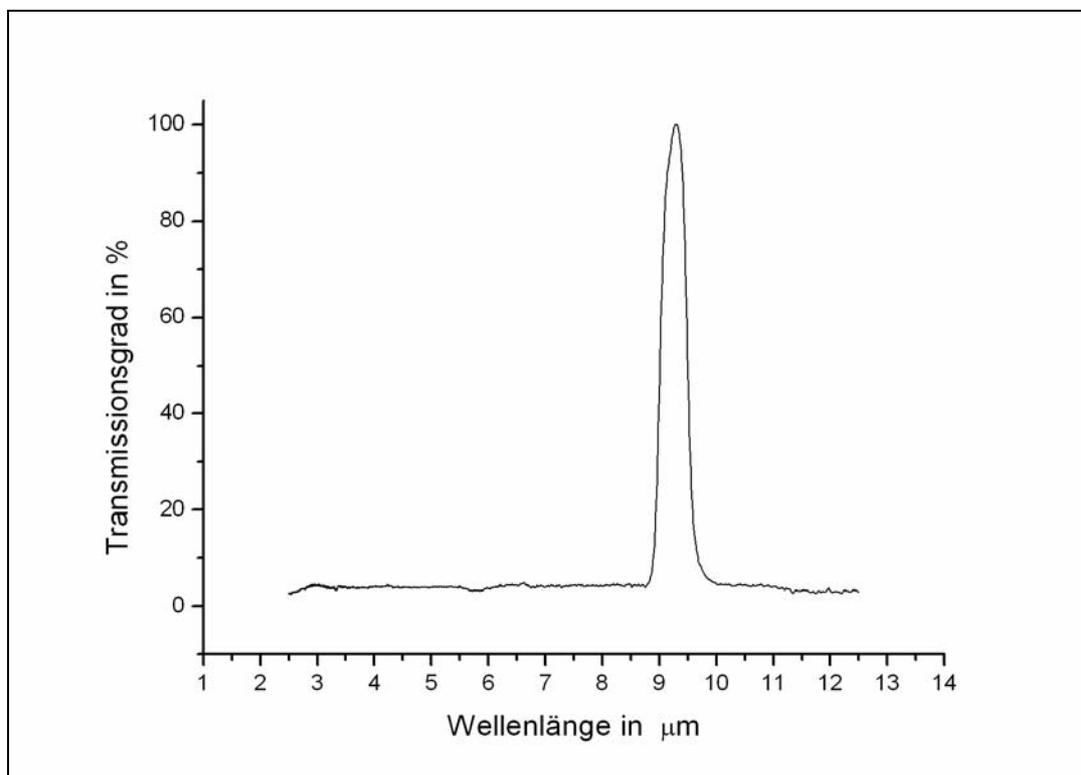


Abb. 4.5-1: Transmission eines glukoseempfindlichen Filters mit 9.26  $\mu\text{m}$  Mittenwellenlänge

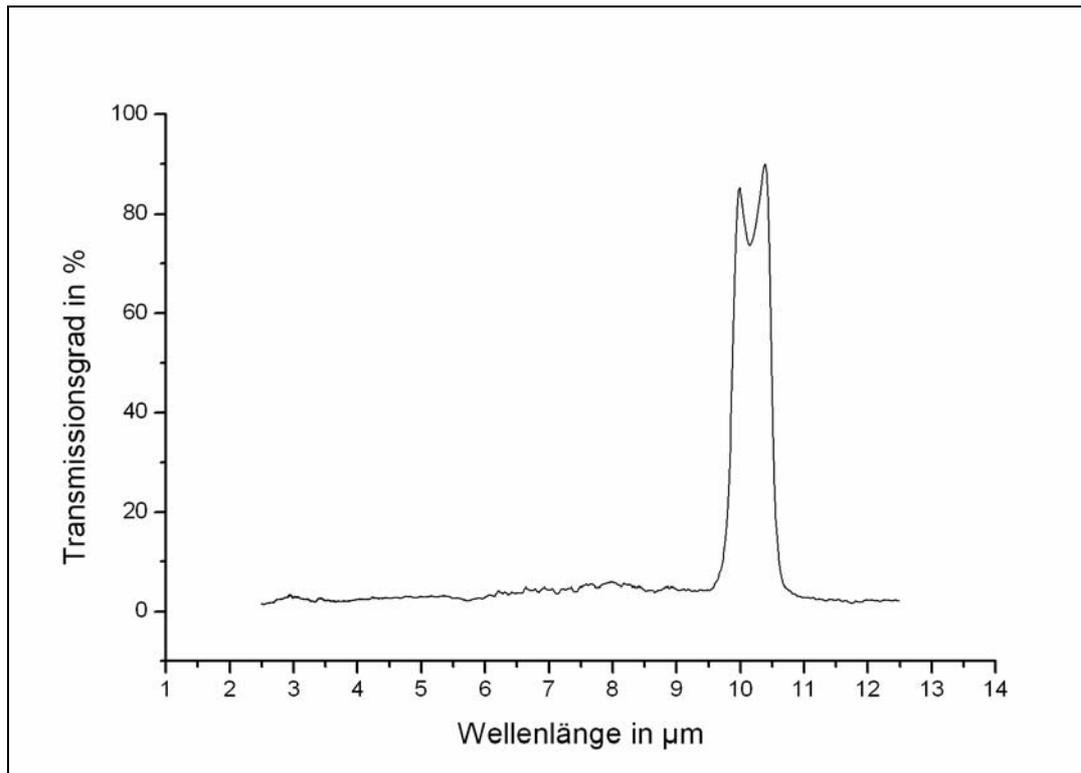


Abb. 4.5-2: Transmissionskurve des Referenzfilters (10.24 μm)

## 4.6. Detektor

Um die Qualität von Detektoren vergleichen zu können, müssen Messgrößen eingeführt werden, die unabhängig von der jeweiligen Funktionsweise des Detektors sind. Wichtige relative Parameter, die direkt zum Vergleichen der Detektoren eingeführt wurden, sind die Rausch-Äquivalente Leistung (NEP: Noise equivalent power) und die spezifische Detektivität  $D^*$ . Die NEP gibt dabei den Wert an, bei dem die Signalstärke der Rauschspannung entspricht. Das heißt also, es ist die Signalstärke, ab der man das Signal nicht mehr vom Rauschen unterscheiden kann. Die Ursachen für das interne Rauschen der Detektoren können vielfältig sein. Die wichtigsten Rauscharten sind das Johnson Rauschen, das  $1/f$ -Rauschen, das Schrot-Rauschen, Generations- und Rekombinationsrauschen sowie das Temperaturrauschen. Dabei sind die ersten beiden vor allem bei thermischen, die dritte und vierte Rauschart nur bei Halbleiterdetektoren vertreten.

Das aus diesen Rauscharten folgende Gesamtrauschen  $U_R$  ist die Wurzel aus der Summe der quadratischen Einzelbeiträge. Um nun die NEP zu berechnen, ist es weiterhin wichtig, die Empfindlichkeit  $R$  des Detektors zu kennen. Diese Größe gibt an, welche Spannung (bzw. bei

stromerzeugenden Detektoren welchen Strom) der Detektor ausgibt, wenn er eine bestimmte Eingangsstrahlungsleistung erfährt. Kennt man alle diese Eigenschaften des Detektors so ergibt sich die NEP aus der Gleichung [Kin78]:

$$NEP = \frac{U_R}{R} \quad (4.6-1)$$

Da die Rausch-Äquivalente Leistung meist noch nicht die Bandbreite  $B$  berücksichtigt (je nach Definition etwas verschieden) und der Detektor verschiedene Flächengrößen  $A$  haben kann, die sich seinerseits wieder auf dessen Rauschintensität auswirken können, muss noch eine zusätzliche Größe definiert werden, die diesen beiden Faktoren Rechnung trägt. Aus diesem Grunde wurde die spezifische Detektivität eingeführt, die sich wie folgt berechnen lässt:

$$D^* = \frac{\sqrt{A} \cdot \sqrt{B}}{NEP} \quad (4.6-2)$$

Mit der spezifischen Detektivität hat man nun eine Größe erlangt, mit der man die Detektoren direkt vergleichen kann. Eine Übersicht für die verschiedenen Detektoren und ihr Einsatzgebiet vermittelt Abb.4.6-1:

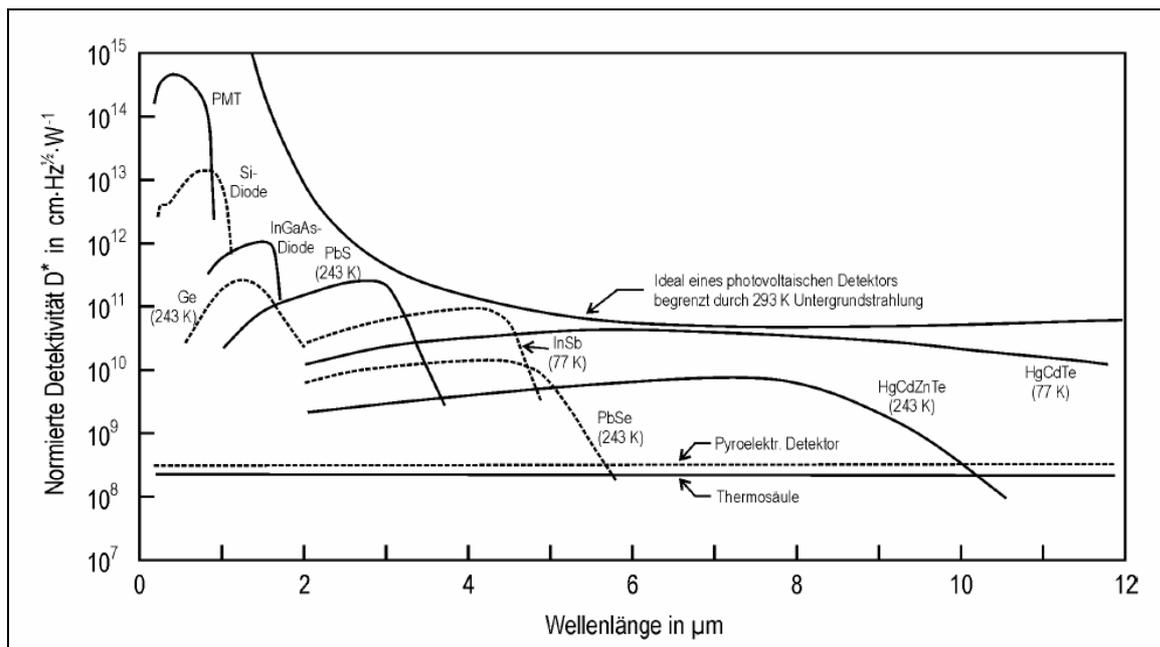


Abb.4.6-1: Übersichtsdiagramm über die Einsatzbereiche möglicher IR-Detektoren [Win04]

In den letzten Jahren wurde vor allem im Bereich der pyroelektrischen Detektoren die spezifische Detektivität gesteigert, wodurch sie den Quantendetektoren nahezu ebenbürtig und den anderen thermische Detektoren bei Detektivität und Geschwindigkeit überlegen geworden sind.

Nachteil der Quantendetektoren ist dabei neben der meist benötigten Kühlung mit flüssigem Stickstoff, wie bei HgCdTe, eine Wellenlängenabhängigkeit der Detektivität. Diese ist im Fall von HgCdZnTe im Bereich zwischen 9 und 10  $\mu\text{m}$  so stark, das auch dieses Material für Glukosemessungen eher ungeeignet ist.

Da bei Messungen in biologischen Laboren ferner nicht von einer ständig verfügbaren Quelle an flüssigen Stickstoff ausgegangen werden kann, wurde hier ein pyroelektrischer Detektor eingesetzt. Die für diese Detektoren nötige Temperaturkonstanz wird mithilfe einer thermoelektrischen Kühlung erzielt, die in Anhang noch genauer beschrieben werden soll.

Der schließlich genutzte Detektor ist der Quadcell-Detektor 4LTAI G2 der Firma Dias Infrared. Die Größe der vier Einzelemente ist, wie in der optischen Simulation angenommen,  $2 \times 2 \text{ mm}^2$ . Diese liegen jedoch aus technischen Gründen (Abschirmung) etwas weiter auseinander. Der Aufbau dieser vier Sensoren wurde in einem normgerechten TO 8 durchgeführt, welches in Abb.4.6-2 mit seinen Abmaßen ersichtlich ist.

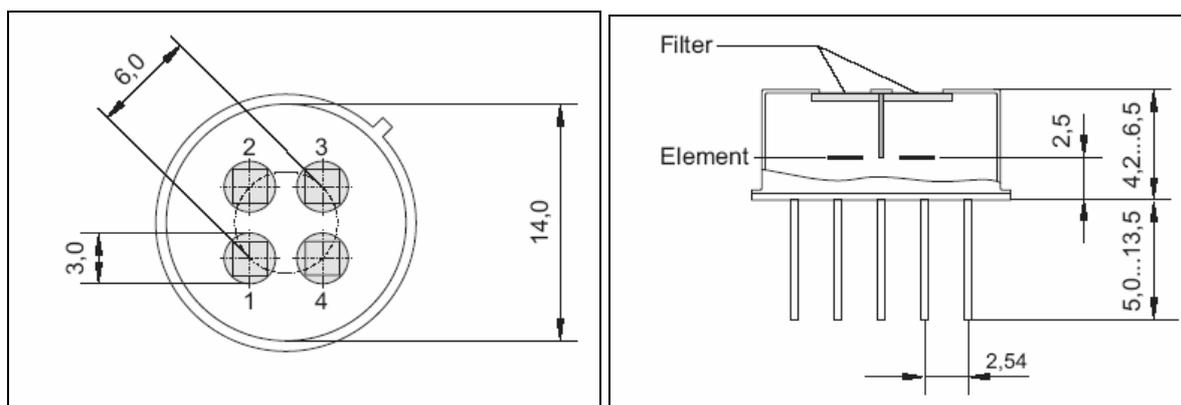


Abb.4.6-2:Pyroelektrischer Quadcell-Detektor: Links Draufsicht, rechts Seitenansicht [Dia07]

Montiert wird der Detektor auf einem Sockel unter Nutzung seiner 12 PINs, über die außerdem seine Versorgungsspannung von 12 V eingespeist wird. Ein konstanter Versorgungsstrom (etwa 0,19 mA) fließt dabei zwischen den *Drain-* und den *Source-PINs*, während das Signal über die *Source-* und *Ground-Pins* abgegriffen wird. Die spezifische

Detektivität des Detektors wurde vom Hersteller mit  $5 \cdot 10^8 \text{ cm}\sqrt{\text{Hz}}/\text{W}$  angegeben. Seine Rauschspannung bei der gewählten Modulationsfrequenz liegt unter 100 nV und die Empfindlichkeit bei etwa 320 V/W. Bei höheren Modulationsfrequenzen verschlechtern sich alle drei dieser Eigenschaften stark, so dass Messungen mit Frequenzen von über 20 Hz bei diesem Detektortyp nicht empfehlenswert sind

Um die Funktion des Detektors zu testen, wurde ein herkömmlicher Widerstand durch elektrische Leistung auf verschiedene Temperaturen zwischen 35 und 50°C erwärmt und mit den vier Kanälen detektiert. Da sich die Geometrie und das Strahlverhalten des Widerstandes sehr von dem eines Mäuseschwanzes unterscheidet, macht es an dieser Stelle keinen Sinn, die Daten über der Temperatur aufzutragen. Aus diesem Grunde wurden die Signale der Kanäle eins bis drei über dem Signal des Kanals null aufgetragen, wodurch deren Korrelation schnell deutlich werden sollte. Da dieser Vortest eher prinzipieller Art war und zum Zeitpunkt dieses Tests weder die Software noch die Koordination zwischen Soft- und Hardware, sprich die Synchronisierung der Kanäle, zur Verfügung stand, wurden die Ergebnisse in diesem speziellen Fall nur manuell aufbereitet. Dabei wurde, um die Signalgröße zu bestimmen, der konstante Anteil der modulierten Signale eliminiert und das Integral über die Fouriertransformierte berechnet. Auf diese Weise erhält man einen Wert, der unabhängig von der Größe der Chopperschwankungen ist, bei dem jedoch auch alle Rauschanteile enthalten sind. Da es sich hier jedoch nur um einen Funktionstest handelte, ist diese Vorgehensweise ein durchaus hinreichend gutes Verfahren. Die Ergebnisse sind in Abb. 4.6-3 und 4.6-4 dargestellt.

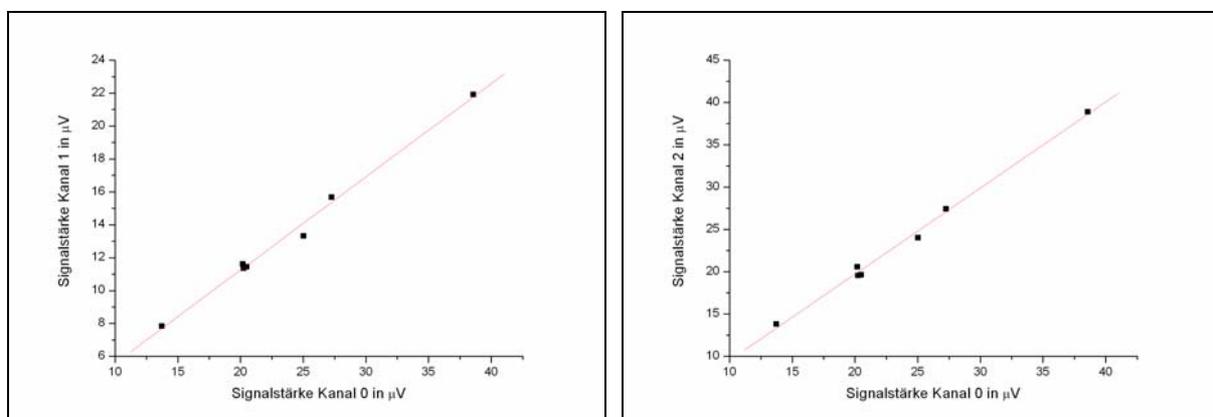


Abb.4.6-3: Proportionalität der Kanal 1 (links) und 2 (rechts) zu Kanal 0 bei Änderung der Einstrahlungsintensität

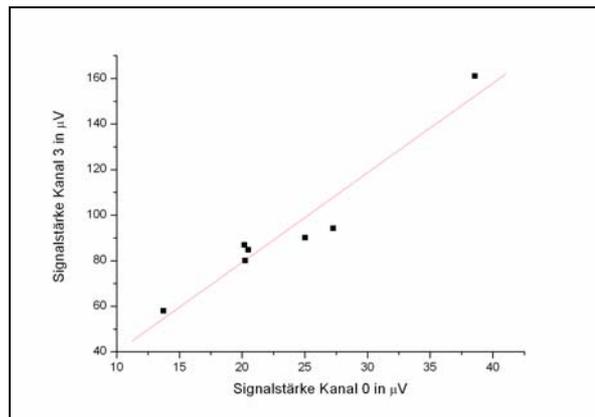


Abb.4.6-4: Proportionalität des Kanals 3 zu Kanal 0 bei Änderung der Einstrahlungsintensität

In allen drei Fällen ist die lineare Abhängigkeit gut sichtbar, was die grundlegende Funktion aller Kanäle gut bestätigt. Die schlechteste Korrelation ist die zu dem breiten Bandpass. Ursache ist, dass dieser aufgrund seines deutlich weniger selektiven Detektierens auch mehr Umgebungseinflüsse und Rauschen misst. Ebenso wird aus den Diagrammen deutlich, dass es sich hier um winzige Signalgrößen handelt, deren Auswertung ohne eine zusätzliche Verstärkereinheit unmöglich ist (auch beim Erstellen dieser Diagramme wurde die Verstärkereinheit bereits genutzt, die Signale jedoch auf ihre Ursprungsgröße zurückgerechnet). Aus diesem Grund soll im nächsten Abschnitt auf die Verstärkerschaltung eingegangen werden.

#### 4.7. Verstärkerschaltung

Die verwendete Schaltung ist eine vierfache Verstärkerschaltung, die darauf ausgelegt wurde, besonders rauscharm zu verstärken. Die Schaltung wurde entwickelt in Kooperation mit der Firma Dias Infrared und realisiert von der Elektronikabteilung des Instituts für Angewandte Physikalische Chemie der Universität Heidelberg. Die exakte Funktionsweise soll aufgrund der vielen technischen Details hier nicht ausführlich besprochen werden, sondern ist zusammen mit der wesentlichen Schaltung in Anhang zu finden.

Das vom Detektor ausgegebene Signal wird zunächst durch einen Hochpass geleitet, wodurch niederfrequente Signale unter 1 Hz unterdrückt werden. Die Wahl des Source-Widerstandes ist hier von besonderer Bedeutung, da er direkt mit dem Eingang des OPV verbunden ist und

sich aus diesem Grunde auch deutlich auf die Größe und die Qualität des Signals auswirken kann. Wird er zu hoch gewählt, so geht sein Rauschen (berechenbar aus:  $U_r = \sqrt{4kTRB}$ ) direkt in die Signalaufnahme des OPV ein und verschlechtert das Signal. Wird er zu tief gewählt, dann wird das Signal über ihn zum größten Teil kurzgeschlossen und ist einer Verstärkung nicht mehr zugänglich. Da der OPV besonders rauscharm zur Verfügung stand und eine hohe mögliche Verstärkung liefern kann, wurde dieser Widerstand mit  $4\text{ k}\Omega$  relativ niedrig angesetzt. Zu diesem Widerstand wurde der OPV LT1007 (Fa.Linear Technology) gewählt, der sich für diesen Schaltungsaufbau durch besonders rauscharme Verstärkung anbot. Der Hersteller gibt das spektrale Rauschen mit einer garantierten Größe von maximal  $4,5\text{ nV}/\sqrt{\text{Hz}}$  an. Die Response-Zeit des OPVs ist für eine Anwendung mit wenigen Hertz ebenfalls hinreichend gut. Ein Offsetabgleich seines Gleichspannungsanteils wurde zusätzlich integriert, da bei Rauschmessungen gezeigt werden konnte, dass sich die Größe des Offsets auch direkt auf das Rauschverhalten aller anderen Frequenzen auswirkt. (Bei der Durchführung wurden die Eingänge der Verstärkerplatine sowie der Eingangskondensator kurzgeschlossen.) Das Ergebnis ist in Abb.4.7-1 zu sehen. Zu erkennen ist hier deutlich, dass bei einem Offset im mV-Bereich das Rauschen um mehrere Größenordnungen höher liegt, als wenn der Offset nur im  $\mu\text{m}$ -Bereich liegt.

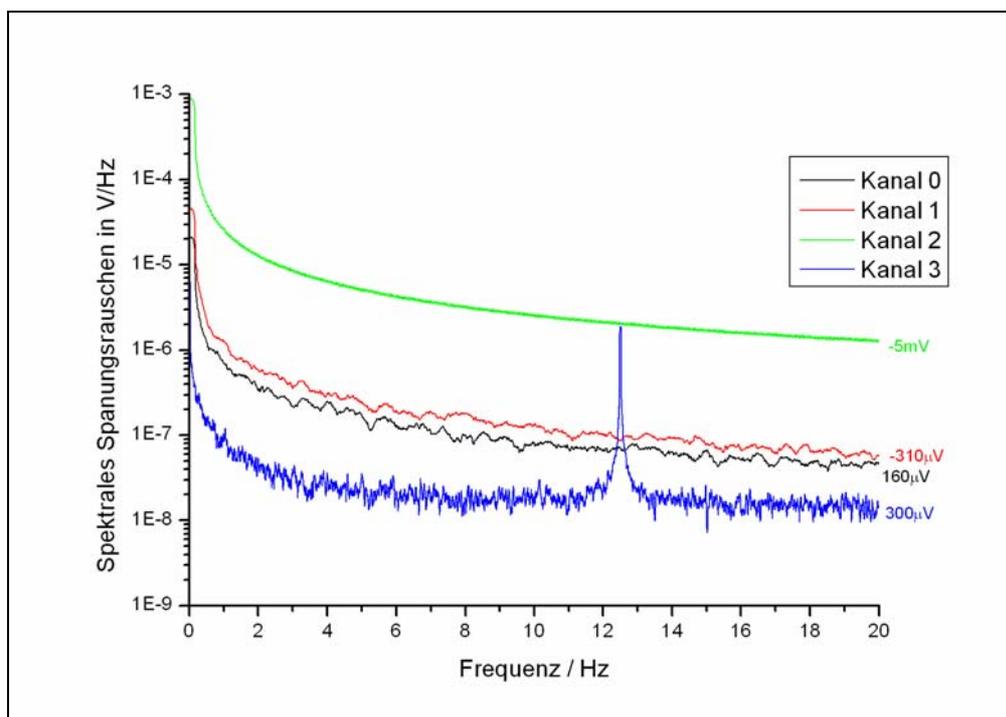
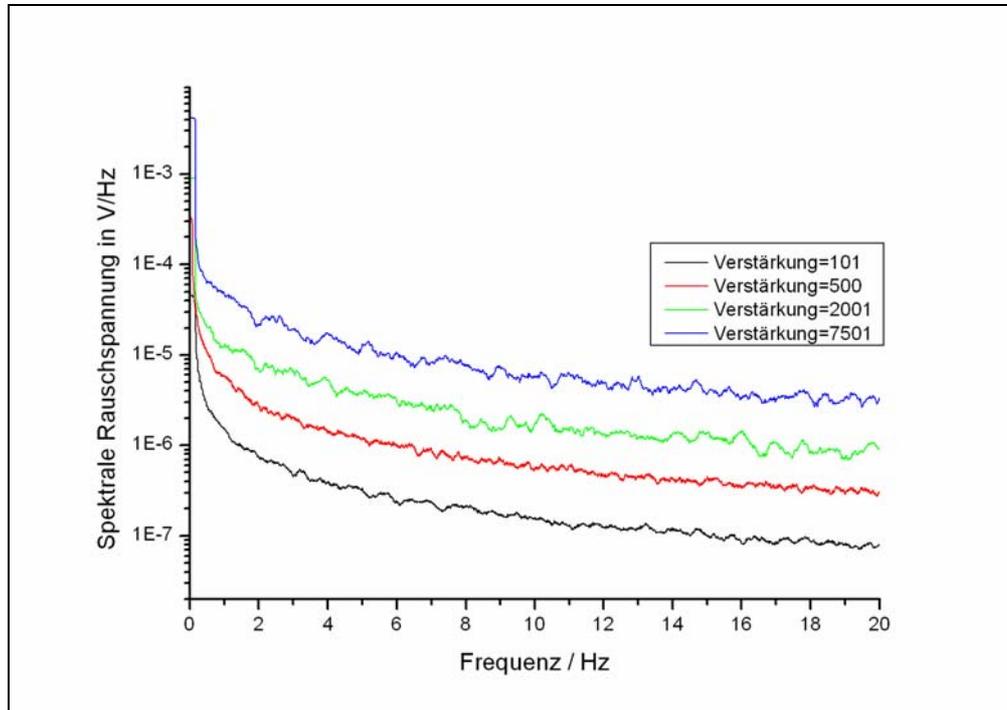


Abb. 4.7-1: Abhängigkeit des Rauschen vom Offset des OPV

Bei Beginn des Schaltplanentwurfes stand hierbei noch nicht fest, welche tatsächlich Signalgröße zu erwarten war. Aus diesem Grund wurde als weitere Wahlmöglichkeit eine mögliche Einstellung der Verstärkung auf 101, 501, 2001 und 7501 mit eingeplant. Nach ersten Tests unter Zuhilfenahme der im nächsten Kapitel erklärten Analog/Digitalkarte wurde die Verstärkung an dieser Stelle zunächst auf 2001 eingestellt.

Misst man nun die Rauschpegel bei den verschiedenen Verstärkungen, so erhält man logischerweise eine Rauschhöhe in Abhängigkeit der Verstärkung, da ja das Rauschen auf gleiche Weise verstärkt wird (Abb.4.7-2). Der Nutzen einer solchen Messung besteht jedoch darin, dass bei sehr großen Verstärkungen das Rauschsignal eine solche Größenordnung annimmt, dass der Rauschpegel der nachgeschalteten Messkarte vernachlässigt werden kann. Auf diesem Weg kann man also anschließend den nahezu unverfälschten Rauschpegel der Verstärkerplatine selbst rückrechnen. Das Ergebnis ist dabei ein Rauschpegel von 2 nV bei 10 Hz und einer angesetzten Messzeit von 60 s.



4.7-2: Abhängigkeit der Rauschspannung der Verstärkerplatine von der Höhe der Verstärkung

Der Einbau der Verstärkerplatine, auf dem der Detektor mit seinen zwölf PINs direkt aufgesteckt ist, wurde unter Verwendung eines zusätzlichen Messingabschirm-Gehäuses durchgeführt. Auf der Rückseite der Platine findet die Datenübertragung mithilfe ein Flachbandkabel zum Deckel des Abschirmgehäuses statt, wo es in einem festmontierten, nach außen gerichteten Sub-D-37-Stecker mündet. Auf diese Weise ist die Platine zusätzlich vor äußeren Rauschquellen geschützt und kann mithilfe des Sub-D-37-Steckers mit der im folgenden beschriebenen Analog/Digital-Messkarte verbunden werden.

#### **4.8. Analog/Digital-Messkarte**

Die Analog/Digital-Messkarte dient als Verbindung zwischen der Messtechnik der Apparatur und der Software bzw. der Datenverarbeitung und -analyse. Dabei besteht ihre Hauptaufgabe darin, die in der Verstärkerschaltung vergrößerten Signale nun möglichst rauschfrei und zeitkorrekt einzulesen und in digitale Daten umzuwandeln. Aus dieser Aufgabe resultieren dann auch die Grundkriterien bei der Auswahl der Karte. Zum einen müssen die vier Signale gut in digitale Daten überführt werden, was durch eine hohe digitale Auflösung realisiert wird und zum anderen muss die Karte eine Modulationsfrequenz von mehr als 10 Hz sehr gut abtasten können, damit der zeitliche Verlauf für eine Weiterverarbeitung gut genug erfasst wird. Ein weiterer praktischer Aspekt ist die verwendete Verbindung zur Recheneinheit. Diese sollte eine gängige Schnittstelle sein, die auf allen Rechnern benutzbar ist und somit das Gerät unabhängig vom verwendeten Computer macht. Gewählt wurde hier eine herkömmliche USB-Verbindung. Desweiteren ist natürlich das übertragene Datenformat wichtig. Dieses Problem ist aber in der Regel bereits von den Kartenherstellern gelöst, da diese meist eine entsprechende Software zur Messkarte anbieten.

Alle aufgelisteten Kriterien zu Grunde gelegt, wurde die A/D-Messkarte DT9822 der Firma Datatranslation (Marlboro, MA, USA) gewählt. Sie besitzt eine 24-Bit Auflösung und ist mit USB ansteuerbar, wodurch sie gleichzeitig auch ihre 5 V Betriebsspannung bezieht. Die maximale Abtastrate beträgt 800 Hz. Die Höhe der Abtastrate beeinflusst dabei die Auflösung der Karte.

Bei den durchgeführten Messungen wurde in der Regel eine Rate von 100 Hz oder 200 Hz gewählt, da bei ihr ein etwa zehn- bis zwanzigfaches *Oversampling* stattfindet, was die zeitliche Entwicklung der Signale hinreichend genau für weitere Berechnungen beschreibt. Die Auflösung liegt dabei zwischen 20,9 und 17,5 Bit, wodurch die hohe Auflösung der Karte

dennoch genutzt wurde. Da die gewählte Karte zum Zeitpunkt des Erwerbs die führende USB-Karte hinsichtlich Geschwindigkeit und Auflösung war, war bei solchen Abtastraten leider keine höhere Auflösung realisierbar. Das Rauschverhalten bei den verschiedenen Abtastraten ist für eine Messzeit von 60 s in Abb.4.8-1 dargestellt. Die Eingänge wurden bei dieser Messung kurzgeschlossen. Das Rauschsignal befand sich bei 10 Hz Modulation und unter Verwendung einer Abtastrate von 200 Hz bei  $6.8 \cdot 10^{-8} V$  und bei 100 Hz bei  $3.6 \cdot 10^{-8} V$ .

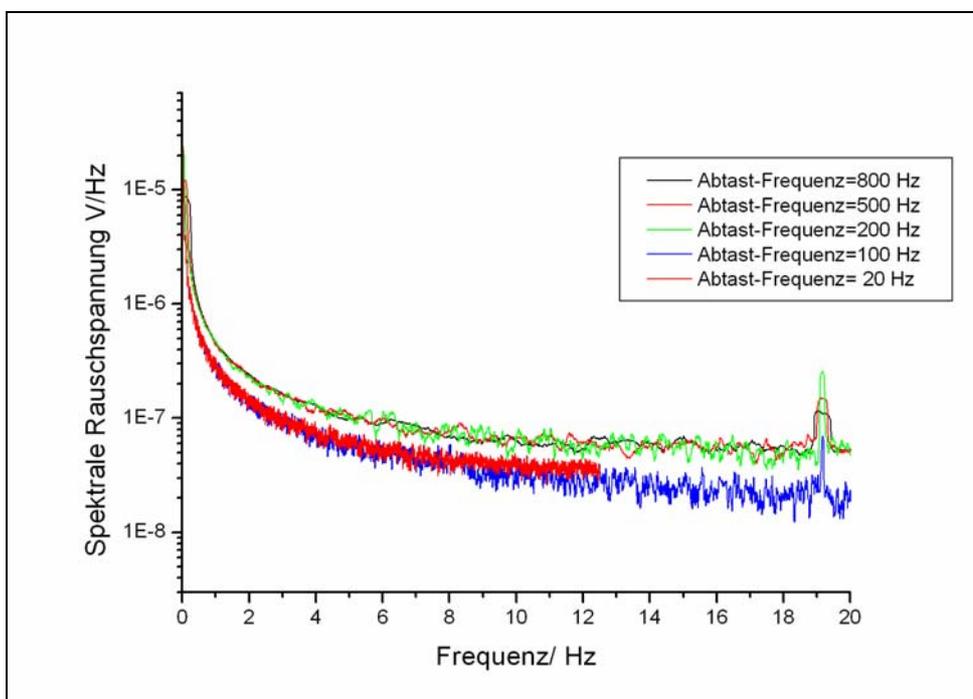


Abb.4.8-1: Rauschspannung der Messkarte als Funktion der Frequenz und Abtastrate

Die Messkarte besitzt vier analoge Eingänge, die zeitgleich erfasst werden können. Weiterhin verfügt sie über zwei analoge 16Bit Ausgänge, wovon einer die Geschwindigkeit des Choppers steuern kann. Neben den analogen Eingängen stellt die Karte außerdem digitale Ein- und Ausgänge zur Verfügung, die zum Beispiel die Synchronisierung der Kanäle steuern können.

Intern in der Karte können zusätzlich noch Verstärkungsbereiche eingestellt werden, die von einfach, d.h. unverstärkt, bis auf 64-fach (in Größen der Zweierpotenzen) reichen. Dabei findet im eigentlichen Sinn allerdings keine Verstärkung statt, sondern die

Digitalisierungstiefe wird auf einen engeren Bereich angewendet und die Messung wird daher genauer. Der Grundbereich ist hier  $\pm 2,5$  V und verringert sich entsprechend des Vergrößerungsfaktors. Der Hersteller empfiehlt in diesem Zusammenhang einen Bereich zu wählen, in dem das Signal gerade noch enthalten ist.

Die mechanischen Eigenschaften passen ebenfalls zu der hier geplanten Anwendung. Mit den Abmaßen  $151,5 \times 106 \times 36,7$  mm<sup>3</sup> ist sie recht einfach in jedes Gerät einbaubar und das Gewicht von weniger als 260 g ist tolerierbar.

Die Signalverarbeitung findet nun mit der zur Karte mitgelieferten Software statt. Ausführlichere Erläuterungen zur Vorbehandlung der Signale sowie zur Realisierung des benutzten Software-Lock-ins befinden sich im Anhang. Dort werden außerdem die für die Detektion weniger wichtigen Komponenten wie die Kühlung und das Gehäuse ergänzend beschrieben.

## 5. Abschätzung des zu erwartenden Messsignals

Um einen kostenaufwendigen Aufbau eines nicht funktionierenden Gerätes vorzubeugen, soll vor der Konstruktion des Messgerätes eine Abschätzung der zu erwartenden Messsignale stattfinden, die nach Auswahl der möglichen Komponenten mit deren Rauschverhalten verglichen werden soll. In diesem Zusammenhang spielen zum einen die Größe des glukoseabhängigen Anteils im Verhältnis zur Gesamtstrahlung eine Rolle, und zum anderen die Größe der Gesamtstrahlung selbst.

### 5.1. Berechnung des Signal-Hintergrund-Verhältnisses

Zunächst soll der Anteil der Strahlung abgeschätzt werden, der direkt von der Konzentration der Glukose und deren Absorption im Temperaturgradientenbereich abhängt.

Aus den gemessenen Glukose-Spektren erhält man für die Wellenlänge der maximalen Absorption der Glukose den Wert  $9,25 \mu\text{m}$ . Bei dieser Wellenlänge haben  $100 \text{ mg/dl}$  Glukose eine Extinktion von  $9,1 \text{ cm}^{-1}$ . Der Wert für Blut bei dieser Wellenlänge liegt bei  $340,3 \text{ cm}^{-1}$ . Aus diesen Messergebnissen folgt mit der Formel für ein Strahlungsgebiet mit Temperaturgradienten:

$$\frac{S}{B} = \frac{h\nu}{k} \cdot \frac{\Delta T}{T^2} \cdot \frac{\alpha_G}{\alpha_B^2 d} = 4,3 \cdot 10^{-4} \quad (5.1)$$

mit:

$d \approx 150 \mu\text{m}$	... Länge des Temperaturgradienten
$\Delta T \approx 5\text{K}$	... Temperaturunterschied
$T \approx 310\text{K}$	... Temperatur
$\alpha_G = 9,1 \text{ cm}^{-1}$	... Extinktion von Glucose mit einer Konzentration von $100 \text{ mg/dl}$ bei $9,25 \mu\text{m}$
$\alpha_B = 340,3 \text{ cm}^{-1}$	... Extinktion von Blut bei $9,25 \mu\text{m}$

Hierbei wurde die angesetzte Größe für die Länge des Temperaturgradienten aus der Veröffentlichung von Klonoff [Klo98] genommen. Der gewählte Temperaturunterschied

resultiert aus einer Kerntemperatur des Schwanzes von etwa 35°C und einer außen gemessenen Temperatur von etwa 30°C. Das erhaltene Resultat von 0,43‰ gibt dabei die Genauigkeit an, mit der der im nächsten Kapitel ermittelte Gesamtfluss gemessen werden muss, um aussagekräftige Ergebnisse zu erhalten.

## 5.2. Berechnung der Signalstärke

Zweiter Schritt dieser Vorbetrachtung ist die Abschätzung der gesamten Strahlung, die von der genutzten Mäuseschwanzpartie abgegeben wird und durch die Optik zum Detektor gelangt. Geht man davon aus, dass die Maus ein nahezu schwarzer Strahler ist, so ist der Ausgangspunkt für die Abschätzung das Planck-Gesetz:

$$P(\lambda, T) = \frac{2hc^2}{\lambda^5} \cdot \left( \frac{1}{e^{hc/k\lambda T} - 1} \right) \cdot \Delta\lambda \quad (5.2)$$

Daraus folgt mit der Relation für den Photonenfluss:

$$j_0 = \frac{\lambda}{hc} \cdot P(\lambda, T) \quad (5.3)$$

mit:  $T=310 \text{ K}$  ,  
 $\lambda=10 \text{ }\mu\text{m}$ ,  
 $\Delta\lambda=0,5 \text{ }\mu\text{m}$

der Ursprungsfluss von:

$$j_0 = 2.9 \cdot 10^{20} \frac{1}{\text{sm}^2 \text{sr}} \quad (5.4)$$

Die gewählte Wellenlängenbandbreite wurde dabei ebenfalls aus den Glukoseabsorptionsspektren festgelegt.

Anschließend folgt die Abschwächung des Signals durch die verschiedenen Hautschichten, welche mit dem Lambert-Beer-Gesetz berechnet wird:

$$j = j_0 \cdot e^{-\sigma \cdot N_A \cdot c \cdot d} \quad (5.5)$$

mit Wasser als Hauptabsorber:  $\sigma = 2 \cdot 10^{-20} \text{ cm}^2$  und  $c_{Dermis} = 27.8 \frac{\text{mmol}}{\text{cm}^3}$

$$d_{Dermis} = 150 \mu\text{m}$$

für die äußeren Schichten der Dermis und für die Epidermis:  $c_{Epidermis} = 11.1 \frac{\text{mmol}}{\text{cm}^3}$

$$d_{Epidermis} = 50 \mu\text{m}$$

Aus der Haut kommt somit ein Photonenfluss von:

$$j_{Epidermis} = 9.8 \cdot 10^{17} \frac{1}{\text{sm}^2 \text{sr}} \quad (5.6)$$

Darauffolgend findet nun eine Schwächung des Signals beim Durchgang durch die Zinkselenid-Linsen statt. Diese haben folgende Parameter:

$$\mu = 0.005 \text{ cm}^{-1} \quad \dots \text{Absorption}$$

$$R = 0.006 \quad \dots \text{Reflektivität}$$

$$d = 2.2 \text{ cm} \quad \dots \text{Gesamtdicke der Linsen}$$

Die Reflektivität der Linsen muss hier entsprechend der Anzahl der Linsen dreimal berücksichtigt werden und die hier angegebene Gesamtdicke ist als die maximale Dicke der Linsen zu verstehen.

Dies führt zu einem Fluss von:

$$j_{Linse} = (0.994)^3 \cdot j_{Epidermis} e^{-\mu d} = 9.5 \cdot 10^{17} \frac{1}{\text{sm}^2 \text{sr}} \quad (5.7)$$

Um nun den absoluten Photonenfluss am Detektor zu bestimmen ist es notwendig, die Geometrie des Systems zu betrachten. Zu diesem Zwecke wurden bereits die Optiksimulationen durchgeführt, welche als Effektivität den Wert von 4,87% lieferten. Bedenkt man nun noch, dass sich der gewählte Detektor etwas von der gewünschten Geometrie unterscheidet und zwischen den Detektoren Strahlung am Gehäuse verloren geht, so erhält man eine Effektivität von 2,85%. Die Strahlungsfläche entspricht hier bei einer angenommenen Mäuseschwanzdicke von 5 mm und einer Fläche von 471 mm<sup>2</sup>. Der komplette Raumwinkel ist bekanntermaßen 4π. Der Photonenfluss, der in Richtung Detektor geht, beträgt somit:

$$j_D = 1.6 \cdot 10^{14} \frac{1}{s} \quad (5.8)$$

Dieser Fluss verringert sich nunmehr noch dadurch, dass er sich auf die vier einzelnen Sensoren verteilt. Es bleibt ein effektiver Fluss pro Einzeldetektor von:

$$j_{eff} = 4 \cdot 10^{13} \frac{1}{s}. \quad (5.9)$$

Dieser Fluss gilt natürlich nur für die schmalen Einzeldetektoren, bei dem Bandpassfilter ist die auftreffende Photonenzahl etwa um einen knappen Faktor 4 größer.

### **5.3. Vergleich des Signals mit bekannten Rauschquellen**

Um nun den Aussagegehalt der Signalstärke beurteilen zu können, ist es wichtig diese mit den verschiedenen Rauschquellen zu vergleichen. Einen Überblick über die Rauschquellen gibt Abb.5.3-1.

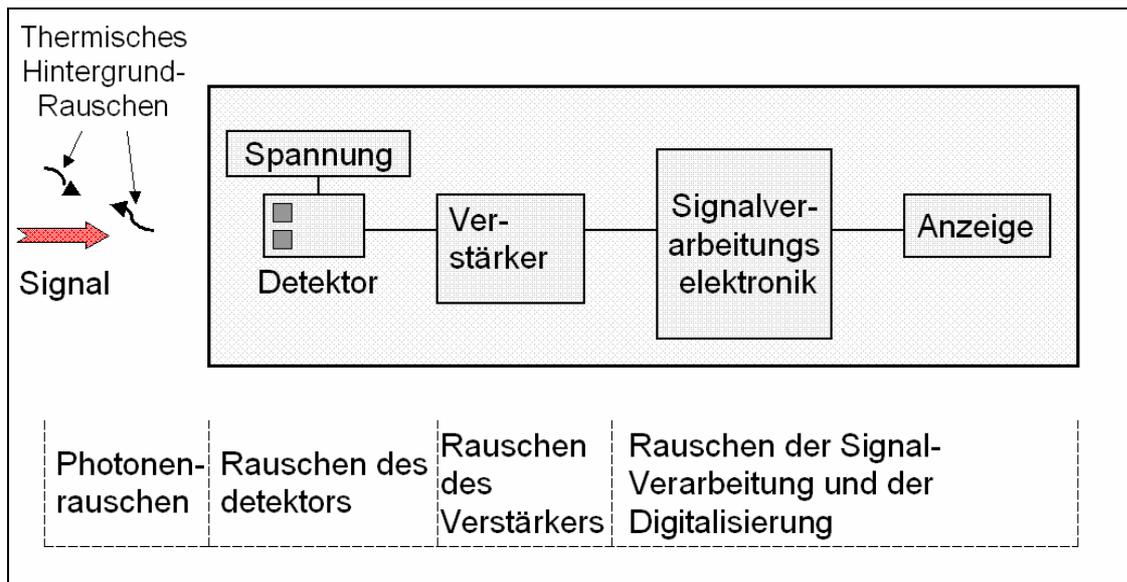


Abb.5.3-1: Übersichtsschema über mögliche Rauschquellen bei der Detektion

Größte Rauschquelle ist bei Messungen im Infraroten in der Regel die thermische Hintergrundstrahlung. Diese lässt sich auch im eigentlichen Sinne nicht vermeiden, da ja jedes Objekt entsprechend seiner Temperatur Strahlung abgibt. In dem in dieser Arbeit gebauten Messgerät soll diesem Rauschen durch eine Differenzbildung von Messsignal und Referenzkanal Rechnung getragen werden, so dass die Verminderung dessen hauptsächlich von einer guten Kalibrierung der Kanäle untereinander abhängt.

Eine weitere nicht zu beeinflussende Rauschart ist das sogenannte Photonengeräusch, was durch eine statische Schwankung des Photonennflusses erzeugt wird. Seine Größenordnung entspricht dabei gerade der Wurzel der Anzahl der Photonen. Setzt man eine Messzeit von einer Sekunde an, so ergibt sich durch das Photonengeräusch ein Verhältnis von Rauschen zu Signal von:

$$\frac{N}{S} = \frac{6.3 \cdot 10^6}{4 \cdot 10^{13}} = 1.6 \cdot 10^{-7} \quad (5.10)$$

Dieses Verhältnis ist deutlicher niedriger als das in Gleichung 5.1 abgeschätzte Signal-Hintergrund-Verhältnis von  $4.3 \cdot 10^{-4}$  und spielt somit für die Messung keine entscheidende Rolle.

Die nächsten Rauschquelle, die sich mit dem Signal vermischt, ist das Rauschen des Detektors selbst. Dieses Rauschen ist als Leistung direkt in Form der reziproken spezifischen Detektivität gegeben. Aus diesem Grund muss der ankommende Photonenfluss zunächst in eine Strahlungsleistung umgerechnet werden.

$$P = 4 \cdot 10^{13} \frac{1}{s} \cdot \frac{hc}{\lambda} = 7.9 \cdot 10^{-7} W \quad (5.11)$$

Beim Detektorrauschen hat die Rauschbandbreite  $\Delta f$  einen entscheidenden Einfluss. Diese wurde, da es sich hier um eine Größtfehlerabschätzung handeln soll, bei der Berechnung mit der Chopperungenauigkeit ( $\pm 0,1 \text{ Hz}$ ) gleichgesetzt.

Setzt man das Rauschsignal mit dem Messsignal ins Verhältnis, so ergibt sich:

$$\frac{N}{S} = \frac{(D^*)^{-1} \cdot \sqrt{A \cdot \Delta f}}{P} = \frac{2 \cdot 10^{-9} W / cm \sqrt{Hz} \cdot 0.2 cm \cdot \sqrt{0.2 Hz}}{7.9 \cdot 10^{-7} W} = 2.2 \cdot 10^{-4} \quad (5.12)$$

Das hier erhaltene Ergebnis entspricht etwa der Hälfte des Signal-Hintergrundverhältnisses und muss daher als kritisch für die Messung eingestuft werden. Da jedoch durch den Lock-in eine deutliche Verringerung der Rauschbandbreite zu erwarten ist und bei zunehmender Messzeit die Rauschgröße um einen Faktor mit der Größe der Wurzel der Messzeit absinkt, sollte eine Messung dennoch möglich sein.

Eine ähnliche Abschätzung kann für den Verstärker gemacht werden. Dazu muss die den Detektor erreichende Leistung anhand der Empfindlichkeit des Detektors in die daraus resultierende Spannung berechnet werden:

$$U = 7.9 \cdot 10^{-7} W \cdot 320 \frac{V}{W} = 2.5 \cdot 10^{-4} V \quad (5.13)$$

Der Wert für das Rauschen der Verstärkerschaltung wurde in Kap. 4.7. zu 2 nV während einer 60 s Messung bestimmt, d.h. also bei einer Messung über eine Sekunde muss mit der Wurzel

dieser Messzeit multipliziert werden. Auch bei der Verstärkerschaltung hat die Rauschbandbreite Einfluss.

Das Verhältnis von Rauschen zu Signal entspricht daher:

$$\frac{N}{S} = \frac{2 \cdot 10^{-9} V \cdot \sqrt{60s} \cdot \sqrt{0.2Hz}}{2.5 \cdot 10^{-4} V} = 2.8 \cdot 10^{-5} \quad (5.14)$$

Die Größenordnung der Verstärkerschaltung liegt somit deutlich unter den Rauschwerten des Detektors und ist mit einem maximalen Fehler von etwa 6,5% eher minder kritisch für die Machbarkeit einer Messung.

Der Verstärkerkarte folgt die A/D-Messkarte, bei der jedoch bereits das um den Faktor 2001 erhöhte Signal anliegt. In Kap. 4.8. wurde für das Rauschen der Messkarte bei 200 Hz Abtastrate und einer Messzeit von einer Minute ein Wert von  $6.8 \cdot 10^{-8} V$  gefunden. Es ergibt sich für N/S folgende Abschätzung:

$$\frac{N}{S} = \frac{6.8 \cdot 10^{-8} V \cdot \sqrt{60s} \cdot \sqrt{0.2Hz}}{2.5 \cdot 10^{-4} V \cdot 2001} = 4.7 \cdot 10^{-7} \quad (5.15)$$

Mit dieser Größenordnung des Rauschens an der Messkarte kann diese also getrost gegenüber den anderen Fehlerquellen vernachlässigt werden.

Nach Abschätzung aller möglichen Rauschquellen kommt man folglich zu dem Schluss, dass eine Messung mit dem in dieser Arbeit beschriebenen Gerät zwar nicht einfach aber dennoch gut möglich sein sollte.

## **6. Messungen und Ergebnisse**

### **6.1. Vergleich des realen Signals mit der Abschätzung**

Zunächst sollen die gemessenen Signale mit den vorher durchgeführten Abschätzungen verglichen werden. Hierzu wurde der Mittelwert der jeweils ersten Messpunkte (entspricht Messzeit von etwa 10 s) von acht Messungen gebildet. Die durchschnittliche Signalgröße betrug dabei 0,11 V und hat somit die gleiche Größenordnung wie die Abschätzung (0,5 V), liegt allerdings etwas niedriger. Dieser Umstand kann mehrere Ursachen besitzen. Neben einer niedrigeren Abstrahlung der Maus durch etwas geringere Außenkörpertemperatur oder kleinere Geometrie als angenommen, kann er auch aus der etwas geringeren Transmission der Filter stammen (die zur Rechnung benutzten Werte beziehen sich auf ein Band mit 100% Transmission in 0,5  $\mu\text{m}$ ). Viel wahrscheinlicher ist in diesem Zusammenhang allerdings, dass durch die reflektierte Strahlung des Choppers (die eigene Emission ist durch eine Goldschicht auf ein Minimum reduziert) das Differenzsignal zwischen offenem und geschlossenem Chopper verringert wurde. Da diese Reflexion jedoch von der auf konstant 15°C gehaltenen Zwischenwand herrührt, wird durch diese Tatsache nahezu kein zusätzliches Rauschen hervorgerufen.

### **6.2. Qualität der Signale nach der Software-Bearbeitung**

Da die Durchführung des Lock-in Effekts im konzipierten Gerät doch eher unkonventionell ist, soll zu Beginn die Qualität des hier verwendeten Programms überprüft werden. Bei den Einzeldetektoren wurden bereits die Kanäle übereinander aufgetragen. Dort wurden dazu die Integrale über die Fouriertransformierten Signale genutzt. An dieser Stelle soll nun das gleiche noch einmal durchgeführt werden, jedoch unter Nutzung der mittels Software erzielten Werte. Da die Software der vorherigen Berechnung überlegen sein sollte, müssten nun die Geraden deutlich bessere Qualität besitzen als mit dem vorhergehenden Verfahren. Genutzt wurde hierbei eine sich ändernde Temperaturquelle mit Mausgeometrie. Trägt man nun die Kanäle über dem Referenzkanal auf, so ergeben sich folgende Verläufe (Abb.6.2-1 bis 6.2-3):

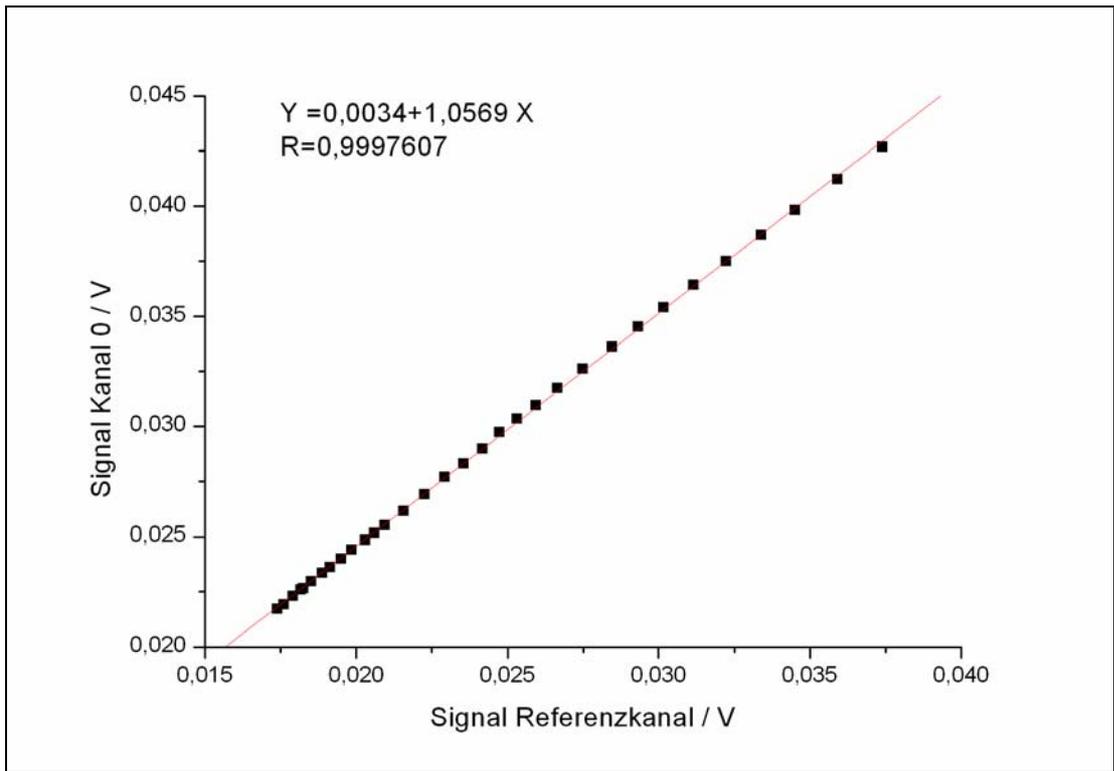


Abb. 6.2-1: Ankommendes Signal am Kanal 0 als Funktion des Referenzkanals

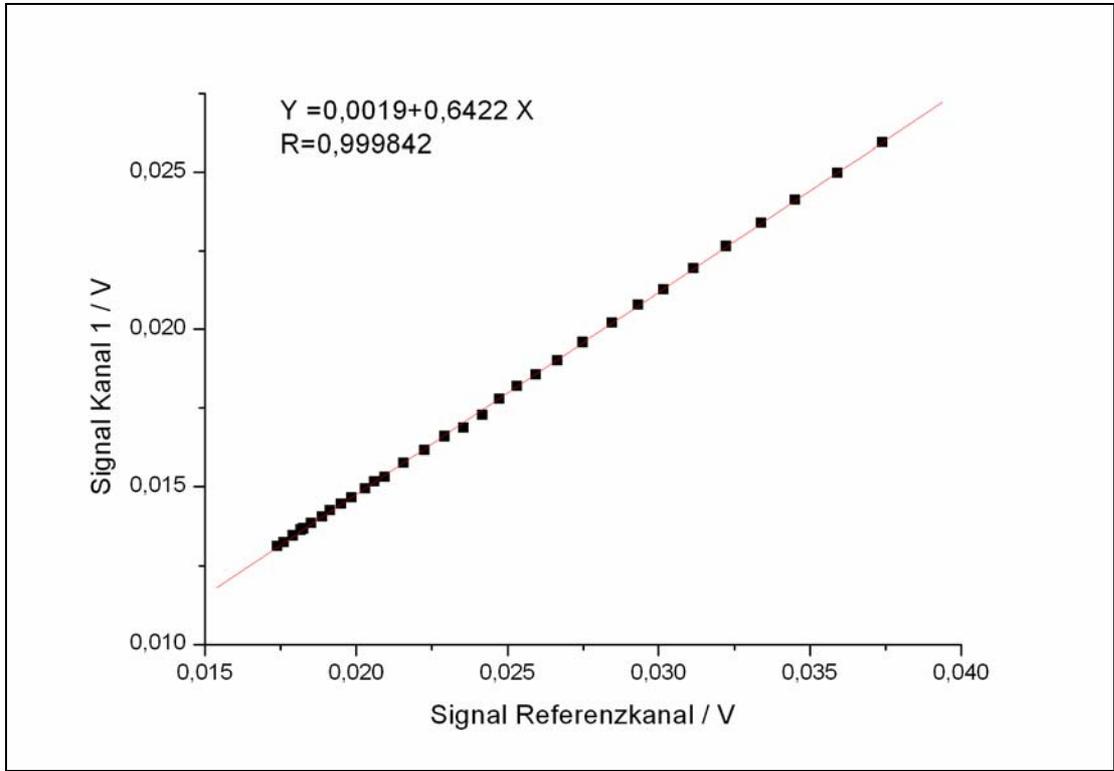


Abb. 6.2-2: Ankommendes Signal am Kanal 1 als Funktion des Referenzkanals

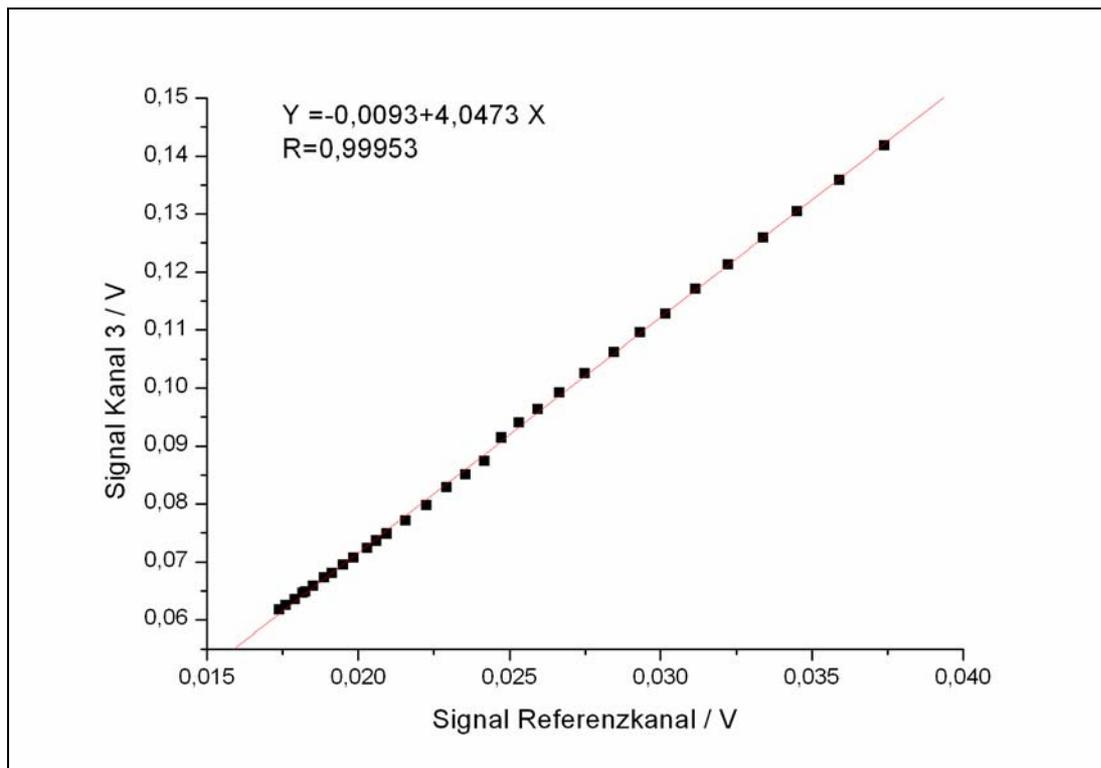


Abb. 6.2-3: Ankommendes Signal am Kanal 3 als Funktion des Referenzkanals

Die erhaltenen Regressionskoeffizienten liegen zwischen 0,99953 und 0,999842 sind also extrem hoch.

Bedenkt man, dass alle vier Detektoren unterschiedlich Rauschen können und ebenso die vier Verstärkereinheiten verschieden starke Rauschanteile hinzufügen, so kann man bei dieser hohen Konstanz der Ergebnisse zueinander auf ein sehr niedriges Rauschverhalten schließen.

### 6.3. Zeitlicher Verlauf der Signale und dessen Ursachen

Als nächster Schritt wurde ein Mäuseschwanz in der Apparatur fixiert und der zeitliche Verlauf der Signale untersucht.

Bei diesen Messungen wurde recht schnell beobachtet, dass ein Mittelwert der Messungen innerhalb der ersten Minuten nicht für eine aussagekräftige Messung verwendbar ist, weil die gemessenen Werte bei allen Detektoren mit der Zeit absinken. Dieses Verhalten deutet direkt auf eine Temperaturveränderung im vorderen Strahlengang also zwischen Strahlungsquelle und dem Detektor hin.

Um diesen Sachverhalt zu überprüfen, wurde anstatt eines Mäuseschwanzes als Probe ein Plastikstab mit ähnlicher Geometrie und Raumtemperatur verwendet. In den Abb.6.3-1 und 6.3-2 sind beide Messungen zum Vergleich gegenübergestellt:

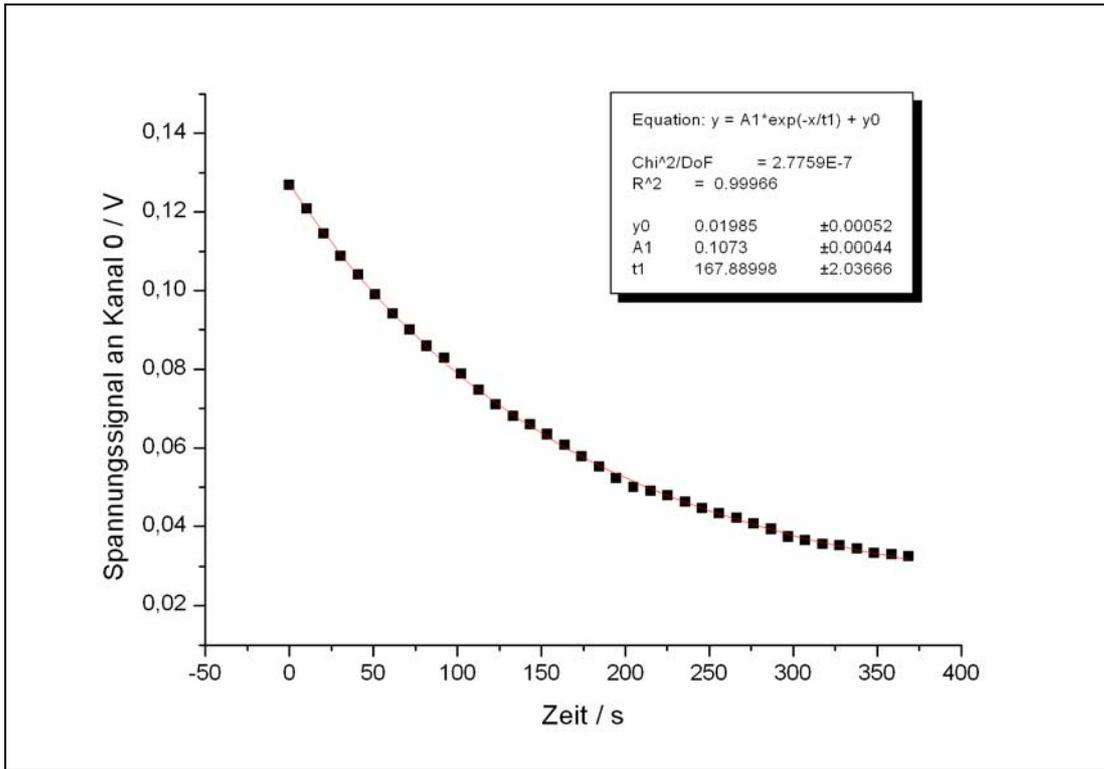


Abb. 6.3-1: Typisches detektiertes Spannungssignal am Kanal 0 bei einem Mäuseschwanz

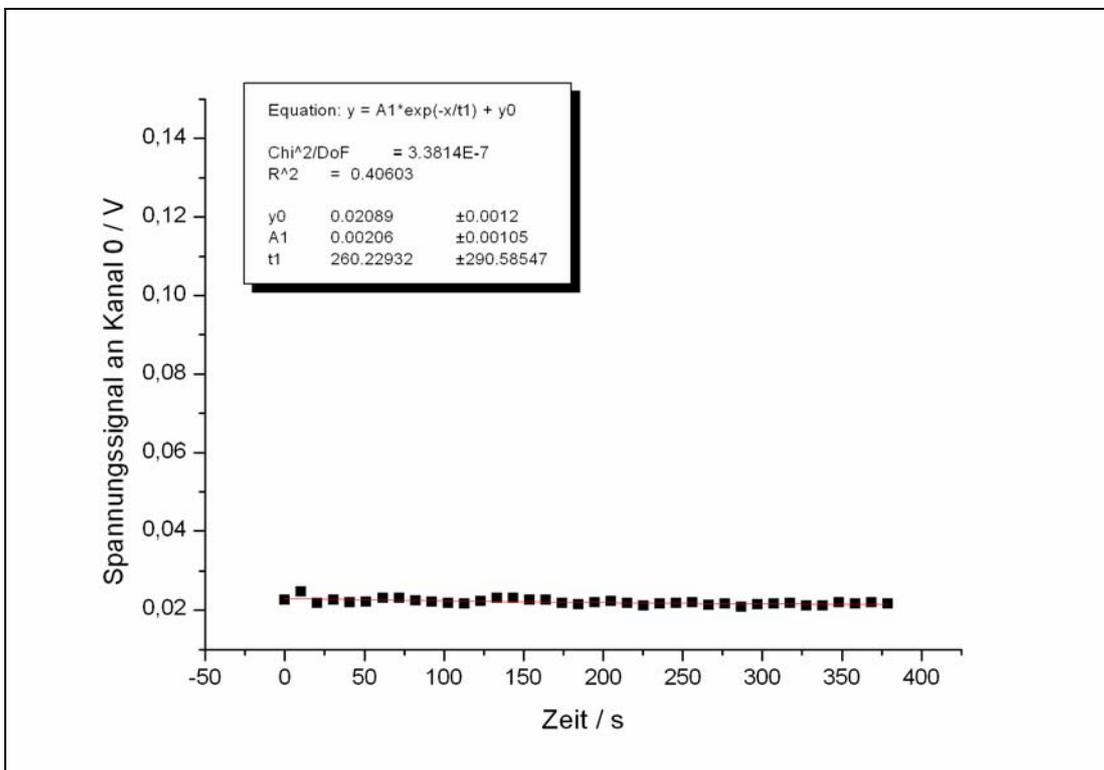


Abb.6.3-2: Detektiertes Spannungssignal am Kanal 0 beim Plastikstab mit Raumtemperatur

Die Diagramme demonstrieren deutlich, dass es sich bei dem abfallenden Signal um ein Abkühlen des Mäuseschwanzes während der ersten Messminuten handelt. Analysiert man die abklingende Kurve des Mäuseschwanzes, findet man eine Funktion des Typs:  $y = Ae^{-x/B} + C$ . Der Ursprung der abfallenden Schwanztemperatur kann wahrscheinlich auf ein teilweises Abschneiden der Blutzirkulation oder auf die straffe und somit bewegungslose Einspannung des Schwanzes in der Spiegeleinheit zurückgeführt werden.

Um zu entscheiden, welche der beiden Möglichkeiten wahrscheinlicher ist, wurde eine Heizplattform hinzugezogen, die eigens von der Firma Hatteras Instruments für Mäuseexperimente konzipiert wurde. Dabei sitzt die Maus in einer verdunkelten Metallkammer, die über eine mit Magneten verbundene Bodenplatte auf einer konstanten Temperatur gehalten wird. Nun wurde einmal mit einem sehr fest eingespannten und einmal mit einem weniger fest eingespannten Mäuseschwanz gemessen. Beide Messungen sind in den Diagrammen in Abb. 6.3-3 und 6.3-4 dargestellt.

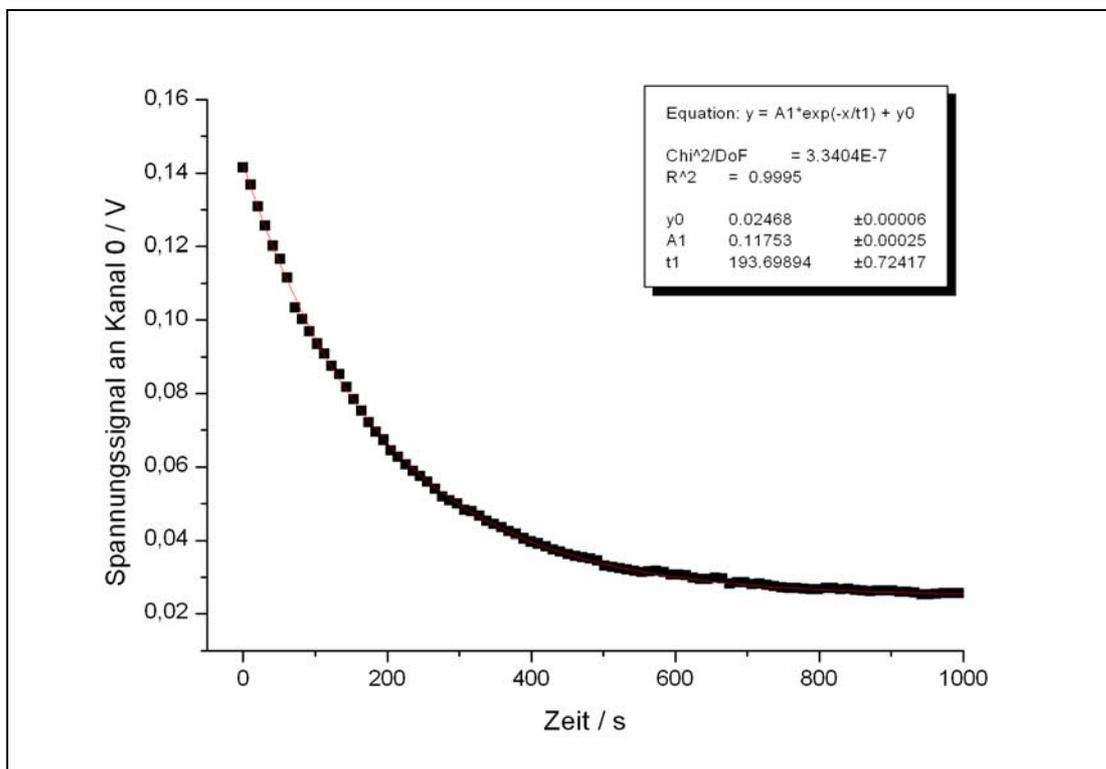


Abb.6.3-3: Maus auf einer Heizplattform, sehr stark fixiert

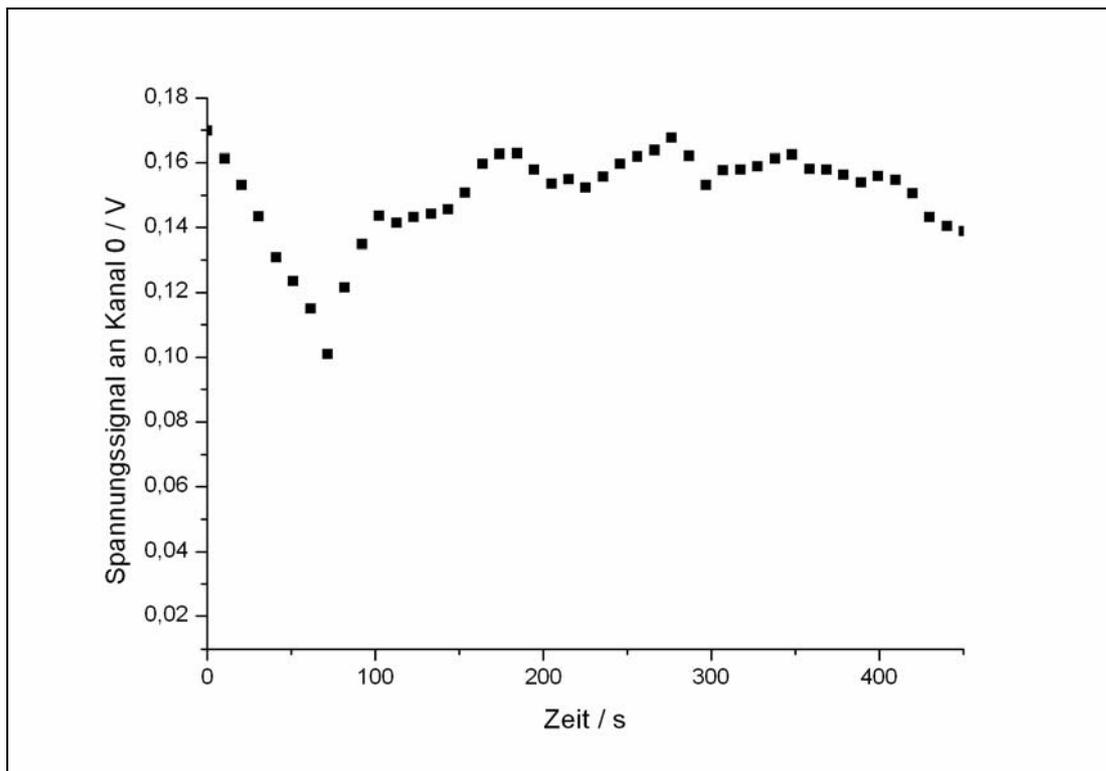


Abb.6.3-4: Maus auf einer Heizplattform, weniger stark fixiert

In Abb.6.3-3 zeigt der Graph, wie in den vorhergehenden Messungen einen Abfall der Temperatur. Dieser Prozess ist allerdings aufgrund der äußeren Wärmezufuhr langsamer als ohne Heizplattform. In Abb.6.3-4 hingegen ist die Spannung zwar leicht schwankend, aber es ist kein so deutlicher Trend gegeben wie vorher (die Schwankungen resultieren hier aus der Bewegung des Schwanzes, da dieser nicht stark genug fixiert ist). Der Mittelwert würde daher kaum noch vom Zeitpunkt der Messung abhängen, es kann in einem bestimmten Fehlerbereich von einer konstanten Messung ausgegangen werden. Es ist folglich aus den Diagrammen ablesbar, dass die Stärke der Einspannung des Schwanzes einen entscheidenden Einfluss auf die Messdaten hat.

Außerdem kann man aus dieser Tatsache ebenso eine Schlussfolgerung für die Parameter in der oben erwähnten Exponentialgleichung ziehen. Der Parameter B, der den Abfall der Funktion beschreibt, hängt somit auch von der Einspannung ab und sollte daher für weitere Berechnungen nicht genutzt werden. Der Parameter C spiegelt die Endtemperatur des durch das Einspannen bewirkten Temperaturabfalls wieder. Da auch diese von der Stärke des Einspannens abhängig ist, sollte auch C nicht für weitere Berechnungen verwendet werden.

Folglich ist es nur noch bei Parameter A empfehlenswert, ihn zur Glukosebestimmung zu verwenden, da nur er unabhängig vom Einspannen sein sollte.

## 6.4. Glukosetoleranztests

Der Großteil der Test-Messungen des Gerätes wurde an NOD/Lt-Mäusen (männlich, 6-12 Wochen alt) im Jackson Laboratory in Bar Harbor, Maine, USA, durchgeführt. Bei diesem Mäusestamm ist ein Gendefekt so gezüchtet worden, das ein verändertes Protein das Sättigungsgefühl des Tieres verhindert. Folge ist, dass die Tiere zunehmend Probleme mit dem Glukosehaushalt bekommen und dadurch recht bald Diabetes Typ 1 ausbricht. Beim Lt-Untertyp hat dieses Verhalten kaum Einfluss auf das Körpergewicht, d.h. sie werden nicht fettleibig (Lt = light).

Typischerweise bricht Diabetes bei den weiblichen Tieren nach etwa vier Wochen aus, die Tieren stellen sich aber nach einer gewissen Zeit (meist um die 7. Lebenswoche) auf die Krankheitssituation ein und leben normal weiter. Bei männlichen Tieren hingegen, bricht der Diabetes meist etwas später aus und die Tiere regulieren sich meist überhaupt nicht mehr auf diese Situation ein. Sie gehen nach Erkrankung in der Regel ziemlich bald daran zugrunde. Da es sich bei Diabetes um eine Autoimmunreaktion handelt, spielt die biologische Reinheit des Haltungsraumes für den Zeitpunkt des Ausbruches von Diabetes eine Rolle. Je reiner daher ein Raum, umso schneller beginnt statistisch die Erkrankung an Diabetes. Aus diesem Grund werden besonders Mäuse dieses Stammes häufig auf erhöhte Glukosewerte untersucht. Das hier realisierte Gerät wurde ursprünglich aus der Motivation entwickelt darüber Auskunft zu geben, ob bei Mäusen dieses Stammes Diabetes vorliegt oder nicht

Für die Experimente in Bar Harbor wurden nichtdiabetische und nichtbetäubte NOD-Mäuse 18 Stunden gefastet und anschließend im Restraîner festgehalten, um den Schwanz in der gebauten Apparatur zu messen. Auf diese Weise wurde ein erster Wert mit einer besonders niedriger Glukose fünf Minuten lang gemessen. Die darauffolgende Messung mit dem herkömmlichen Plasma-Glukose-Messer wurde im Anschluss an die nicht-invasive mittels Blut aus dem Augenlid durchgeführt. Der Zeitabstand zwischen dem Ende der nicht-invasiven Messung und der Blutnahme liegt circa bei drei Minuten. Das Blut wurde zentrifugiert und somit vom Plasma getrennt. Der Glukosewert des separierten Plasmas wurde nun mit dem Beckman Coulter Glucose Analyzer bestimmt. Nach diesem ersten Wertepaar wurde eine Glukose-Injektion von 2 g/kg Körpergewicht in den Bauch durchgeführt, um so den Glukose-Spiegel zu erhöhen und anschließend mit beiden Messverfahren nach 20, 45 und 90 Minuten nach der Injektion den Verlauf der Glukosekonzentration zu dokumentieren.

Zwischen den Messungen wurde die Maus in einem gewöhnlichen Käfig positioniert, in dem Wasser, aber kein Futter zur Verfügung stand (dies sollte eine Beeinflussung des Blutzuckerwertes verhindern).

Es wurden an dieser Stelle zwei nichtdiabetische NOD/Lt-Mäuse an jeweils drei verschiedenen Tagen einem Glukosetoleranztest unterzogen, um genügend Messpunkte verschiedener Glukosekonzentration zu sammeln. Dabei wurden die Daten der beiden Mäuse separat ausgewertet, um biologische Einflüsse auf das Ergebnis zu minimieren.

Zur Auswertung der nicht-invasiven Messung wurden nun die Differenz der A-Parameter der Glukose-Frequenzen und der Referenz-Frequenz gebildet und diese über den mit der Beckman Coulter Glucose Analyzer 2 bestimmten Werten aufgetragen. Die Ergebnisse sind für Kanal 0 in den Abbildungen 6.4-1 und 6.4-2 zu sehen. Die stets zuerst gemessene Maus soll hier als Maus 1 und die zweite als Maus 2 bezeichnet werden.

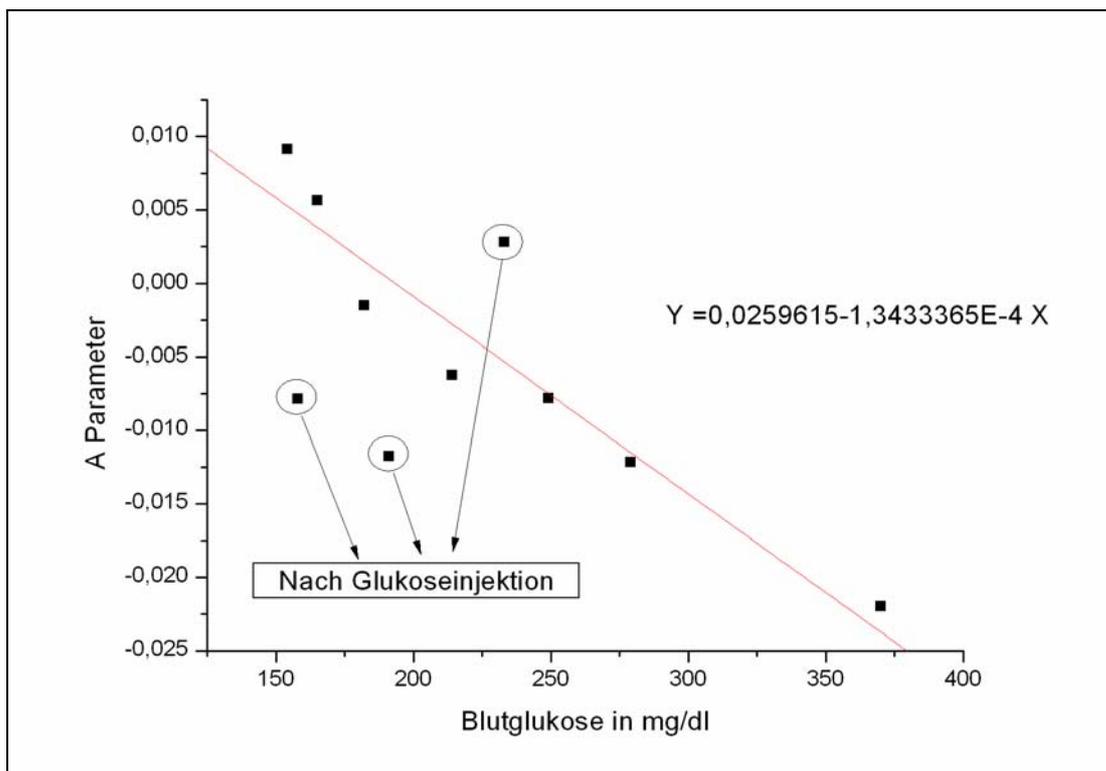


Abb.6.4-1:Differenz der A-Parameter in Abhängigkeit des Glukosewertes bei Maus 1

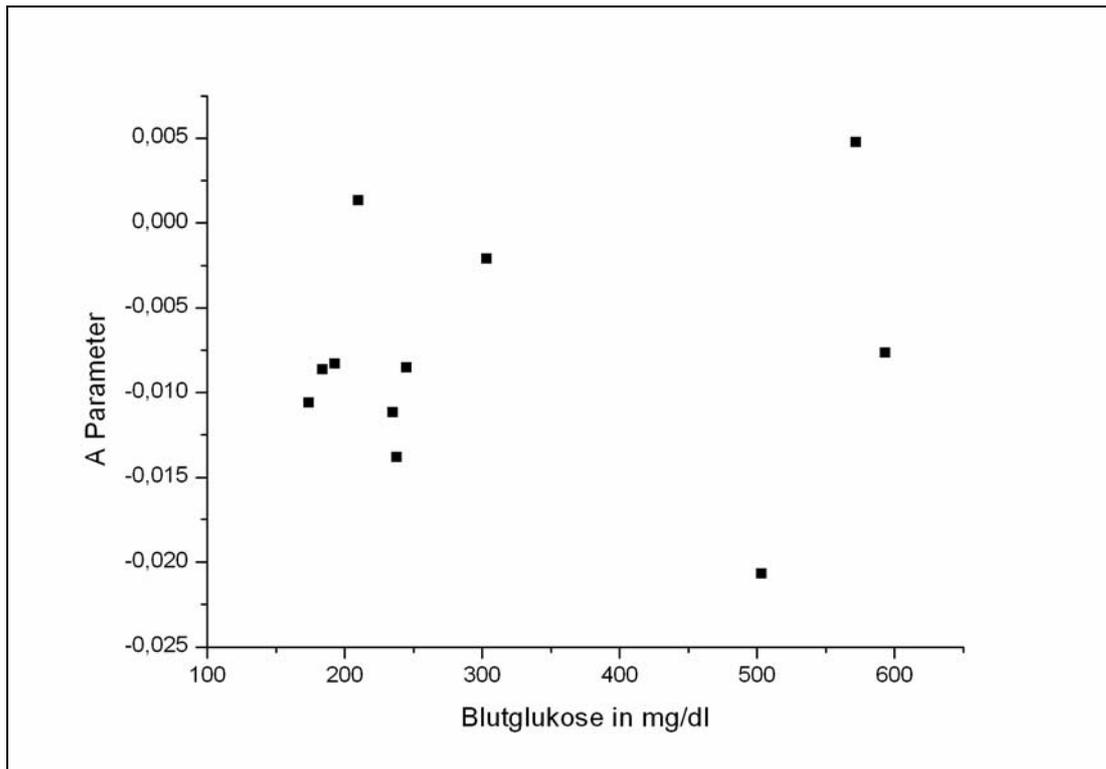


Abb.6.4-2:Differenz der A-Parameter in Abhängigkeit des Glukosewertes bei Maus2

Vergleicht man die Abbildungen, so findet man zwei recht verschiedene Aussagen. Abb.6.4-1 zeigt eine klare lineare Abhängigkeit vom Glukosewert. Es liegen lediglich drei der Messpunkte abseits einer sich recht klar abzeichnenden Regressionsgeraden. Alle drei dieser Werte wurden direkt nach der Injektion gemessen, so dass davon ausgegangen werden kann, dass während der fünfminütigen Messzeit eine doch deutlich spürbare Änderung des Glukoselevels stattgefunden hat. Der Mittelwert, der durch eine Messung dieser Art über den Messzeitraum einer stark ansteigenden Kurve gebildet wird, korreliert nun mal mehr und mal weniger mit dem erst später genommenen Blutplasmawert. Eine Schwankung dieser Werte ist also durchaus plausibel.

Benutzt man die erhaltene Regressionsgerade als Eichung der Signale auf den Blutglukosewert, so kann man eine mit anderen Messmethoden vergleichbare Standardabweichung berechnen. Diese Standardabweichung beträgt hier 50,4 mg/dl. Berücksichtigt man die Werte nach der Injektion nicht, dann sinkt die Standardabweichung auf 19,8 mg/dl.

Leider zeigt Maus 2 in Abb.6.4-2 ein völlig anderes Verhalten. Hier ist eine Korrelation zur Glukose, wenn überhaupt vorhanden, höchstens zu erahnen. Die Ursachen für dieses unterschiedliche Messverhalten sind bis jetzt unklar. (Bei beiden Mäusen fand die gleiche Messprozedur statt, die zweite wurde jedoch stets nach der ersten gemessen.) Von einem

mathematischen Sichtwinkel aus beinhaltet der A-Parameter ebenso eventuelle Zeitverzögerungen zwischen der Positionierung des Schwanzes in der Apparatur und dem Start der Messung. Berücksichtigt man eine solche Verzögerung in der obigen Gleichung (z.B. durch Ersetzen von  $x$  durch  $x+x_0$ ), so ergibt sich ein zusätzlicher Faktor, der bereits mit A multipliziert ist. Auch die Differenzbildung kann diese Fehlerquelle nicht verhindern, da man diesen Faktor in beiden A Parametern gleichermaßen erhält und dieser sich somit ausklammern lässt. Da die Zeitverzögerungen verschieden sein könnten, könnte seinerseits aus Problemen beim Fixieren bei Maus 2 resultieren, die sichtlich nervöser als Maus 1 auf die Apparatur reagierte.

Da die Berechnung den kompletten Zeitraum der Messung berücksichtigt, können ebenfalls Bewegungen der Maus eine weitere Fehlerquelle darstellen. Unregelmäßigkeiten dieser Art konnten zwar an dem resultierenden nicht ganz regelmäßigen exponentiellen Abfall beobachtet werden, eine sinnvolle Korrektur deren wäre jedoch nur willkürlich gewesen und wurde daher nicht durchgeführt. Eine weitere Ungenauigkeit könnte aus der Tatsache folgen, dass nicht exakt der gleiche Schwanzabschnitt im Spiegel eingespannt war. Auf die Weise wäre die Strahlungsgeometrie leicht verändert und daher mit den anderen Werten nicht exakt vergleichbar.

## **6.5. Intravenöse Glukose-Injektionen**

Um den Einfluss der geometrischen und biologischen Faktoren zu reduzieren, sind Messungen interessant, bei denen sich der Mäuseschwanz fixiert in der Probenkammer befindet und gleichzeitig eine Änderung des Blutzuckers herbeigeführt wird. Da die Maus in dem Restrainer schwer zugänglich ist, wurde mittels mikroskopischer Chirurgie eine Kanüle in die Jugularvene im Hals implantiert. Auf die Weise ist es möglich, nachdem sich die Schwanztemperatur konstant eingestellt hat, eine Injektion durchzuführen und somit eine schnelle Änderung des Glukoseniveaus herbeizuführen. Diese Messungen wurden mit Glukoseinjektionen und einfachen Salzlösungsinjektionen durchgeführt und die Auswertung der Ergebnisse fand wie folgt statt:

Aufgrund des verschiedenen Transmissionsverhaltens der einzelnen Filter und der sich ändernden Geometrie in der Apparatur (durch verschiedenartige und verschieden eingespannte Mäuseschwänze) wurden die Signale der Signalkanäle linear gegen den

Referenzkanal kalibriert. Dazu eignet sich hervorragend die Zeitperiode, in der der Schwanz abkühlt, da man darin die Linearität bei verschiedenen Temperaturen am einfachsten aufzeigen kann und sich die Maus dabei bereits in der später zu vermessenden Geometrie befindet. Als zweiter Schritt wurde eine Normierung der Ergebnisse vorgenommen, um unabhängig von den Absolutwerten der Messkanäle zu werden und diese direkt vergleichen zu können. Dabei wurde die Differenz zwischen den Messkanälen 0 und 1 und der Referenz (Kanal 2) durch die Summe beider Werte geteilt und diese über der Zeit aufgetragen. Bedenkt man nun noch, dass mit zunehmender Glukose deren Absorption zunimmt und dadurch die Größe des Messsignals abnimmt, dann muss die Polarität des erhaltenen Resultats gewechselt werden, um bei steigender Glukose einen steigenden Wert zu erhalten. Der Injektionszeitpunkt wurde der Übersicht wegen zeitlich sowie in der Normierung auf Null gesetzt. Die Ergebnisse sind für die Glukoseinjektion in der Abb. 6.5-1 und für die Salzlösungsinjektion in der Abb. 6.5-2 dargestellt.

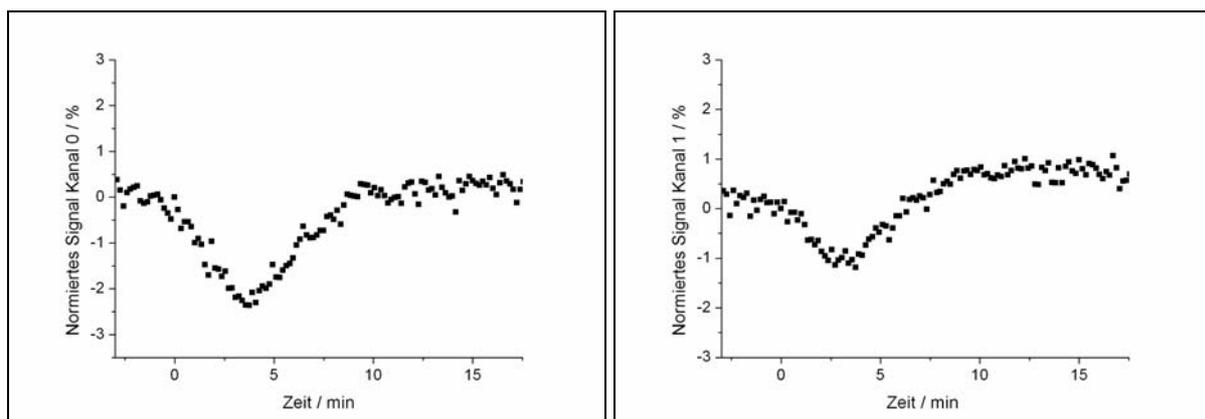


Abb. 6.5-1: Veränderung der Messsignale der Kanäle 0 (links) und 1 (rechts) nach IV-Glukoseinjektion

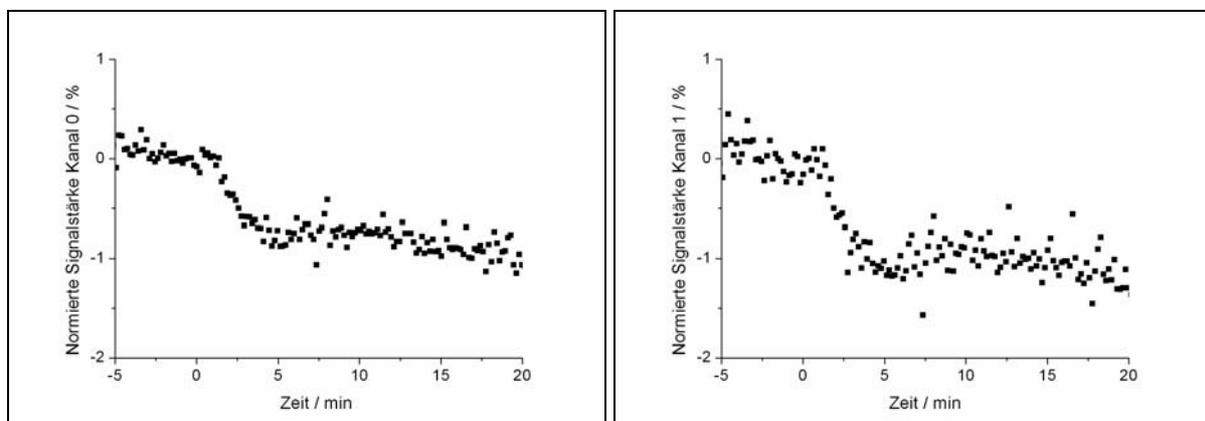


Abb.6.5-2: Veränderung der Messsignale der Kanäle 0 (links) und 1 (rechts) nach IV-Salzlösungsinjektion

Es ist hier recht schnell ersichtlich, dass direkt nach der intravenösen Injektion ein starkes Absinken der Signale sowohl bei der Salzlösung als auch bei der Glukoselösung stattfindet. Ursache dessen kann hierbei nicht das tatsächliche Absinken der Glukose sein, weil die injizierte Dosis den Blutzucker deutlich anreichern sollte. Die Ursache ist hier vielmehr in dem offenbar sehr starken Eingriff in den Blutkreislauf durch die direkte Injektion in die Vene zu suchen. Genauere Erklärungen zu diesem Sachverhalt stehen noch offen, denkbar wäre jedoch, dass durch die Injektion eine Blutdruckerhöhung stattfindet und folgende deutlich anwachsende Abstrahlung die hier aufgetragene Kurve zunächst nach unten versetzt. Wurde nun eine Salzlösung injiziert, bleibt die Funktion auf diesem niedrigen Niveau. Bei den Glukoseinjektionen hingegen überlagert sich das Anwachsen der Glukose mit dem eben erwähnten Absinken der Kurve. Aus diesen Messungen ist folglich ersichtlich, dass die Änderung der Glukose einen klaren Einfluss auf das Messsignal besitzt, jedoch ist dessen Größe und zeitliches Verhalten wegen der Überlagerung der Einflüsse noch unklar.

Ebenso wird aus dem Vergleich der Kanäle miteinander deutlich, dass beide Filterwellenlängen den selben Trend nahezu identisch abbilden. Ableitend aus der Größe des Glukoseeinflusses und der Qualität der Signale hinsichtlich Konstanz wurde für weitere Experimente zunehmend der Kanal 0, d.h. eine Wellenlänge von  $9,26\mu\text{m}$  bevorzugt. Ein weiteres Argument für diesen Messkanal ist die etwa gleiche Breite der Transmissionspeaks im Vergleich zur Referenz, der eine Kalibrierung zu dieser genauer werden lässt.

Natürlich wurden die Messungen auch mit dem Breitbandfilter begutachtet. Das Ergebnis entsprach dabei den Erwartungen. Da der Filter einen breiteren Wellenlängenbereich durchlässt, ist der Anteil der Glukoseabsorption im Verhältnis zur Gesamttransmission geringer und somit der normierte Anstieg der Kurve ebenso geringer ( $<0,3\%$ ).

## **6.6. Vergleichende Messungen mit einem implantierten Sensor**

Um einen besseren Zugang zur Genauigkeit und Aussagekräftigkeit des hier entwickelten Messsystems bei Glukoseschwankungen zu bekommen, war eine kontinuierliche Messung des aktuellen Glukosewertes im Vergleich mit einem zweiten Sensor wünschenswert. Um dies zu realisieren wurden zusätzliche Versuche am Health Center der University of Connecticut in Farmington durchgeführt. Dort war die Beobachtung des aktuellen Glukosewertes mittels eines neuentwickelten implantierten Sensors (Fa. Abbott

Pharmaceuticals) möglich. Dieser ist zur Zeit noch nicht am Markt erhältlich, wird jedoch von der Arbeitsgruppe von Don Kreuzer und Ulrike Klüh in Farmington zu Testmessungen bereits erfolgreich verwendet. Strebt man einen Vergleich mit diesem Sensor an, so ist an dieser Stelle die Tatsache von Bedeutung, dass der mit dem Sensor gemessene Wert genau genommen nicht der Blutglukosewert, sondern der Glukosewert in der interstitiellen Flüssigkeit (Flüssigkeit in den Zellzwischenräumen) ist. In diesem Zusammenhang ist bekannt, dass besonders bei sich schnell ändernder Blutglukose, der Glukosewert in den Zellzwischenräumen meist zeitlich etwas nachläuft.

Die Sensoren werden subkutan in den Rücken der Maus implantiert und können dort einige Tage gelassen werden. Die Langzeitgenauigkeit der Sensoren beträgt dabei einige Tage, anschließend driftet das Signal dann zunehmend. Diese Sensoren legen dabei am Gewebe eine Spannung von 40 mA an, die von einem mit Kabel angeschlossenen Potentiometer (Bioanalytical Systems Inc., W. Lafayette, IN, Model LC-3E) zur Verfügung gestellt wird. Durch die angelegte Spannung findet unter Nutzung des Enzyms Glukoseoxidase eine chemische Reaktion im Gewebe um den Sensor statt, die einen glukoseabhängigen Strom in der Größenordnung von nA erzeugt. Dieser Strom wird nun mit einer A/D-Messkarte (National Instruments, Model: SCB-68) bestimmt. Die Implantation des Sensors wurde etwa 24 Stunden vor der ersten Messung mit ihm durchgeführt. Das Potentiometerkabel wurde dabei durch den oberen Schlitz des Restrainers geführt und blieb auch während der nicht-invasiven Messung innerhalb dessen. Der normale Aufbau mit dem implantierten Sensor ist in Abb. 6.6-1 zu sehen [Klü06]:

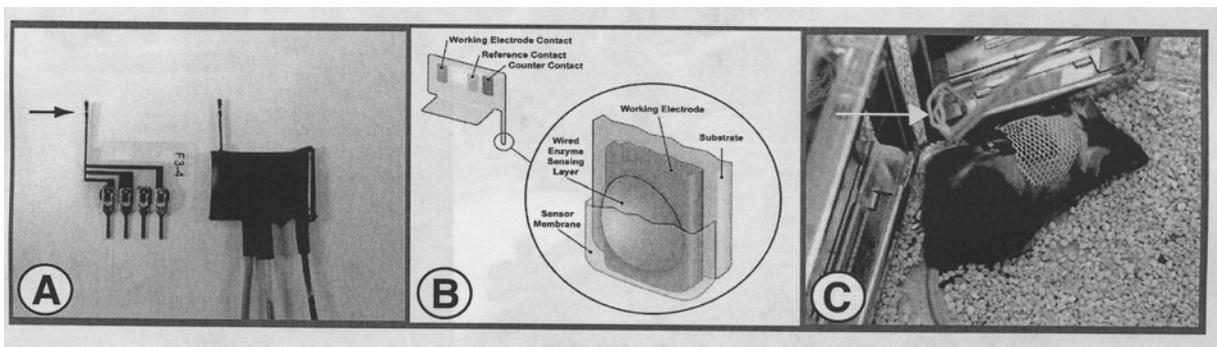


Abb.6.6-1: A: Sensor, B: Aufbau des Sensors, C: Sensor mit Kabel an Maus befestigt [Klü06]

Für die Experimente in Farmington wurden weibliche, 8 Monate alte CD-1<sup>TM</sup>-Mäuse (diese Mäuse besitzen ein bestimmtes immunphänotysches Oberflächenmerkmal an den

Thymozyten bzw. dendritische Zellen, ist jedoch für die hier durchgeführte Messung nicht weiter von Belang) verwendet. Ein Fasten fand vorher nicht statt.

Da am Beginn jeder Messung ein temperaturbedingter Abfall des Signals stattfindet, wurden die ersten Minuten der Messung erneut abgewartet bis sich eine konstante Temperatur eingestellt hat. Außerdem wurde beim Einspannen der Maus beim implantierten Sensor ein vorübergehendes Ansteigen des Glukoseniveaus registriert, welches wahrscheinlich durch Nervosität der Mäuse hervorgerufen wurde. Dieses Ansteigen wurde anfangs immer sehr ausgeprägt, später weniger ausgeprägt beobachtet. Es ist an dieser Stelle anzunehmen, dass bei den Mäusen ein Gewöhnungseffekt an die Prozedur einsetzt. Auch hier wurde gewartet bis der entsprechende Peak vorüber war und die Maus sich beruhigt hatte, d.h. eine konstante Basislinie zu beobachten war. Diese Vorgehensweise sollte eine Überlagerung mit einer tatsächlichen Glukoseveränderung vermeiden und die erzielten Resultate aussagekräftiger machen. Aus diesen Gründen fand die Injektion erst 30 bis 40 Minuten, nachdem der Schwanz eingespannt wurde, statt.

Ein typischer Verlauf einer solchen Prozedur ist in Abb. 6.6-2 am Messwert des implantierten Sensors zu sehen. Am Beginn der Messung, also beim Einspannen des Mäuseschwanzes, geht die Glukosekurve (gemessen mit dem implantierten Sensor) zunächst leicht nach oben, bis der Wert etwa nach 15 Minuten ein erstes Maximum erreicht. Nach 30 Minuten Messzeit hat sich die Maus wieder beruhigt und ihr Glukosewert hat sich normalisiert. Nach circa 75 Minuten fand die Injektion statt, resultierend bildet sich ein deutlich höheres Maximum bei etwa 90 Minuten. Bei 120 Minuten ist diese wieder abgeklungen, die injizierte Glukose wurde verarbeitet.

Die Dosis entsprach den Injektionen der Versuche in Bar Harbor, war also etwa 2 g/kg Körpergewicht. Die Injektion fand diesmal allerdings subkutan statt, da sich die Maus zum Zeitpunkt der Injektion ja bereits im Restraîner befand und dieser nur durch den Schlitz auf der Oberseite zugänglich ist. (Die Haut wurde hierbei leicht an einer Rückenstelle, an der der Sensor nicht störend war, mit einer Pinzette angehoben und möglichst ohne das sich die Maus bewegt hat injiziert.)

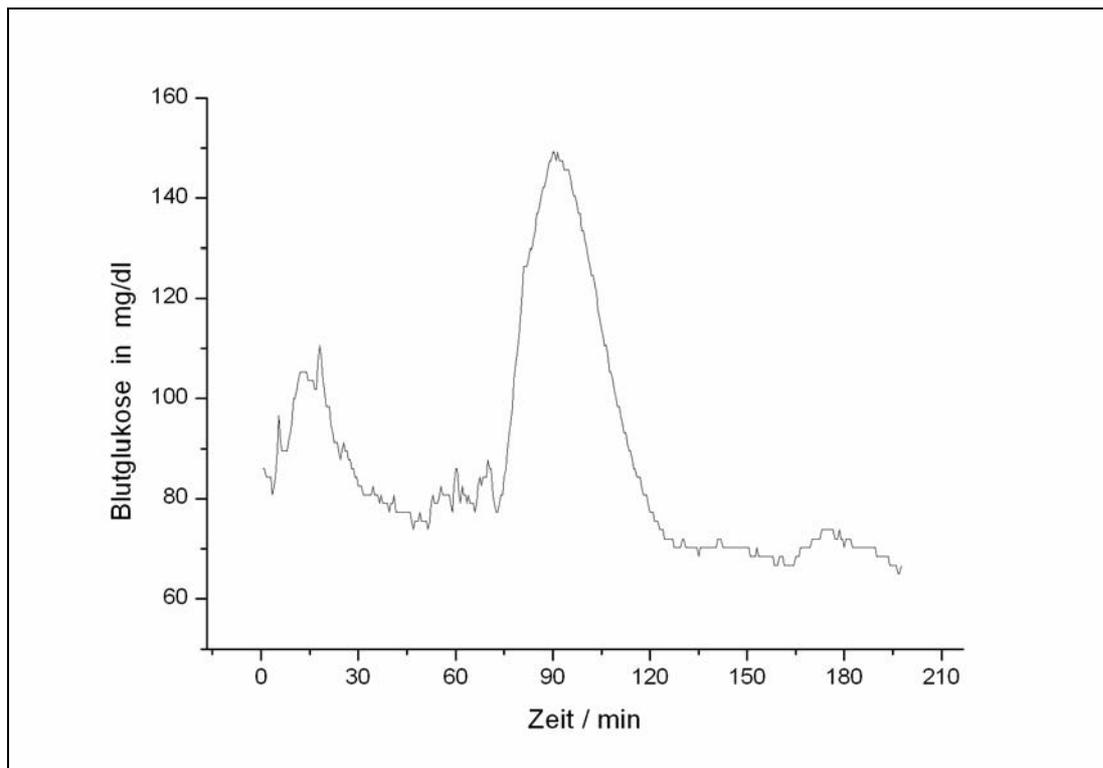


Abb.6.6-2: Typischer Glukoseverlauf bei den Vergleichsmessungen

Am Messzeitpunkt kann also davon ausgegangen werden, dass der Schwanz eine konstante Temperatur hatte und sich die Maus in einem beruhigten Zustand mit normaler Blutglukosekonzentration von etwa 100 mg/dl befand. Die Berechnung der Ergebnisse fand hier genauso wie bei den IV-Messungen statt. Einer linearen Kalibrierung zum Referenzkanal folgte eine Normierung der Kanäle. Zur Auswertung wurde außerdem das Ergebnis der nicht-invasiven Messung zusätzlich mit den durch den Sensor erhaltenen Werten einmalig kalibriert. Diese einmalige Kalibrierung des linearen Anstiegs wurde bei allen im folgenden gezeigten Diagrammen (außer Abb. 6.6-5) gleichermaßen verwendet.

Die Ergebnisse von drei derartigen Messungen sind in den Abb. 6.6-3 bis 6.6-5 dargestellt. Die rote Linie entspricht dabei dem Signal des implantierten Sensors und der schwarze Verlauf der nicht-invasiven Infrarot-Messung. Die Zeit Null entspricht hierbei dem Zeitpunkt der Einspannung des Mäuseschwanzes, der Injektionszeitpunkt befindet sich direkt vor dem Beginn des Anstiegs der roten Kurve.

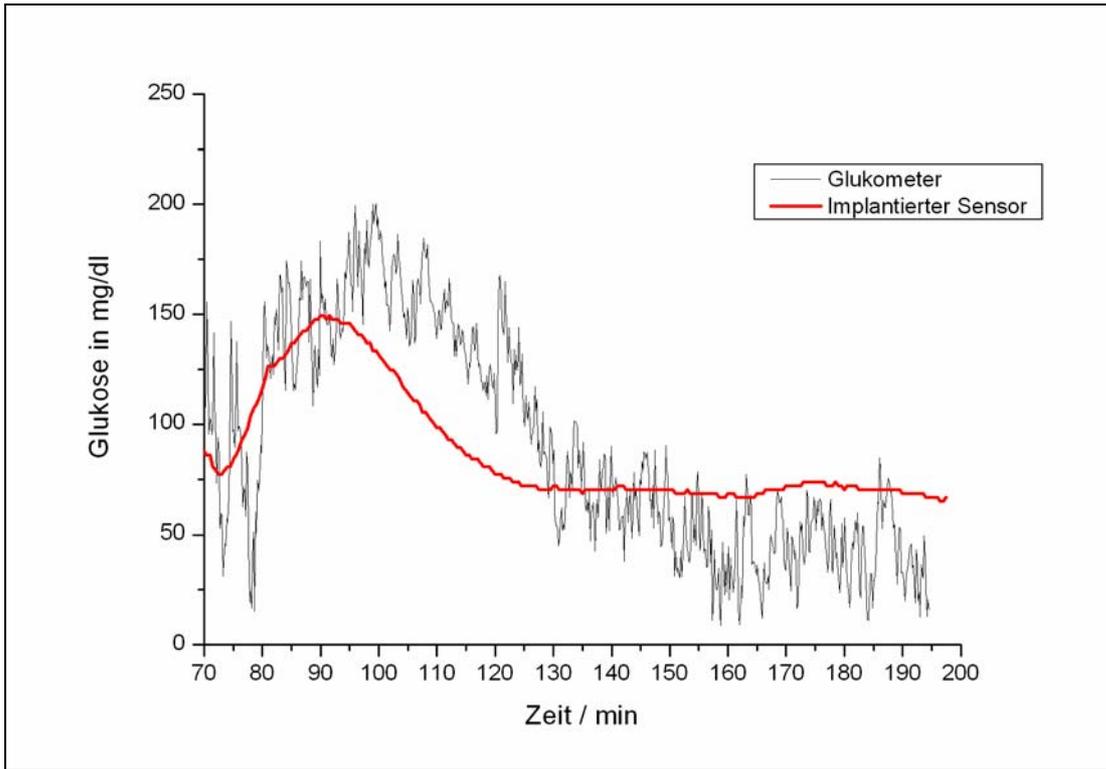


Abb. 6.6-3

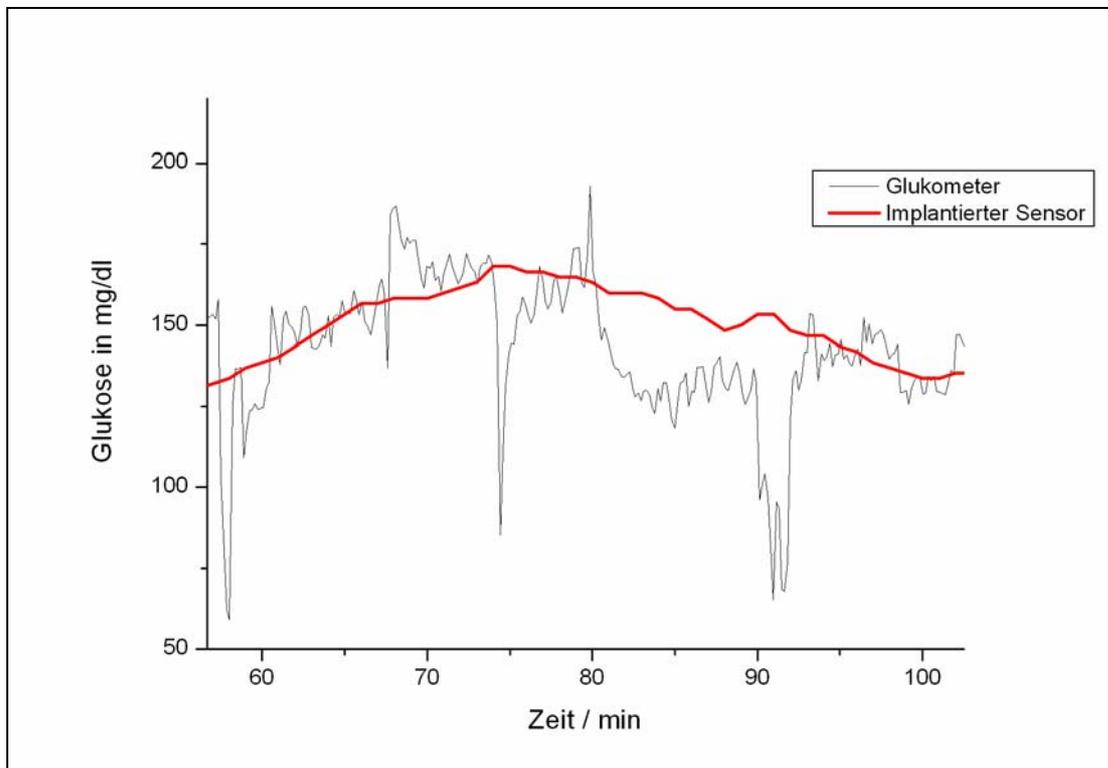


Abb. 6.6-4

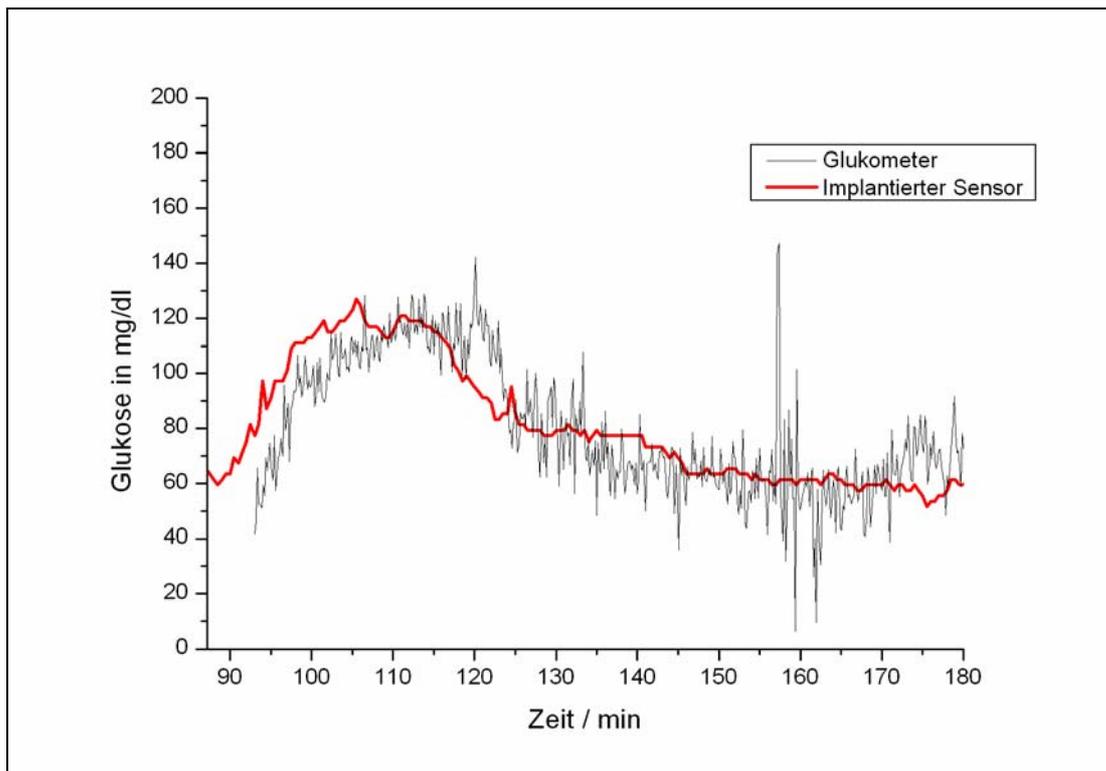


Abb. 6.6-5

Abb. 6.6-3 bis 6.6-5: Vergleich des Glukosetrends zwischen nicht-invasiven Glukometer und einem implantierten Sensor nach einer subkutanen Glukoseinjektion

In allen drei Diagrammen ist der Trend nahezu identisch in beiden Methoden. Dabei wird besonders im letzten Diagramm offensichtlich, dass der Zeitrahmen beider Messungen absolut identisch ist. Das schließt ein zufälliges Verhalten der nicht-invasiv gemessenen Kurve aus. Ebenso kann im Prinzip ausgeschlossen werden, dass hier andere Faktoren das Maximum hervorriefen, da diese sich ja auf absolut die selbe Weise verhalten müssten wie die Blutglukose. Auffallend ist in dem ersten und dritten Diagramm, dass der nicht-invasiv gemessene Wert zeitlich dem mit implantiertem Sensor bestimmten Wert leicht hinterherläuft. Die Ursache dessen ist darin zu suchen, dass bei zu starker Fixierung unter Umständen der Nährstoffstrom verringert wird und das zu Verzögerungen und zur Abschwächung des genannten Messsignals führen kann [Kre06]. In den späteren Messungen wurde folglich besonders darauf geachtet, dass die Spannbuchse am Beginn des Schwanzes keinem zu starkem Druck ausgesetzt war, während die eigentliche Fixierung hauptsächlich mit der am Schwanzende befindlichen Buchse erzielt wurde. Nun stellt sich nur noch die Frage, ob das Maximum wirklich durch die Glukose hervorgerufen wurde oder eventuell durch eine Erhöhung der Durchblutung bzw. des Blutdrucks durch die injizierte Flüssigkeit. Aus diesem

Grund wurden weitere Messungen durchgeführt, bei denen dieselbe Menge an Kochsalz-Lösung (150  $\mu$ L) verwendet wurde, jedoch keine Glukose zugesetzt war. Die Ergebnisse für alle Kanäle sind in der Abb.6.6-6 dargestellt.

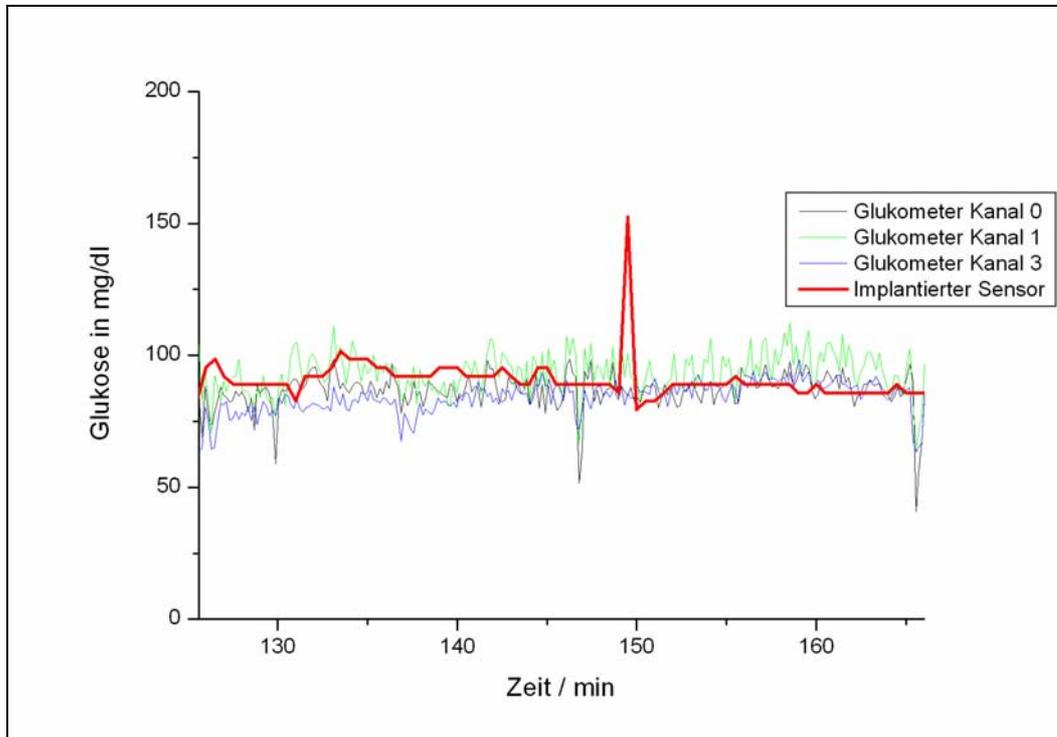


Abb. 6.6-6: Alle detektierten Kanäle des Glukometers und das Signal des implantierten Sensors nach einer Salzlösungsinjektion

Da in diesen Diagrammen keinerlei Veränderungen im Signalverlauf sichtbar sind, kann davon ausgegangen werden, dass die in den Abb. 6.6-3 bis 6.6-5 observierten Signalverläufe wirklich nur aus der Glukose resultieren können. Somit ist der Beweis für die prinzipielle Funktionsweise des hier entwickelten Gerätes erbracht worden.

Auch bei der Injektion der Salzlösung wurde bei manchen Versuchen ein Stresseinfluss durch die Injektion selbst beobachtet, weil diese durch den Schlitz des Restrainers durchaus schwierig und zum Teil auch langwierig war. Ein mit beiden Methoden vermessener Glukosewert bei einem solchen nervositätsbedingten Glukoseanstieg ist in Abb. 6.6-7 zu beobachten:

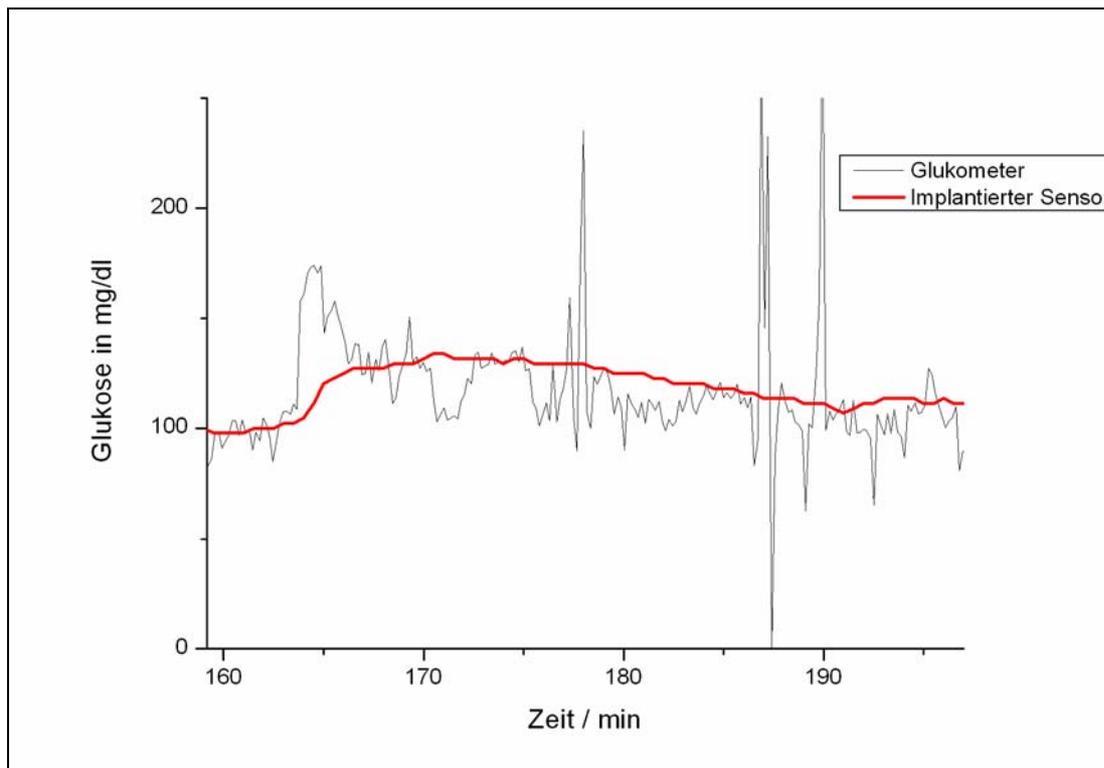


Abb. 6.6-7: Auswirkungen eines starken Stresseinflusses auf die Maus

Deutlich wird auch hier, dass beide Messmethoden diesen etwas geringeren Einfluss zeigen. Auffallend ist dabei jedoch, dass zum Zeitpunkt der Injektion, die nicht-invasive Kurve etwas stärker ausschlägt. Da der implantierte Sensor über längere Zeiträume (1 min) mittelt, ist es hier durchaus denkbar, dass das Glukometer an dieser Stelle ein Signal registriert hat, welches dem implantierten Sensor aufgrund der Messung in der interstitiellen Flüssigkeit und seines Messintervalls nicht mehr zugänglich war. Diese Tatsache ist nicht nur als Fortschritt bezüglich der zeitlichen Auflösung des hier entwickelten Messaufbaus zu werten, sondern deutet ebenso darauf hin, dass hier tatsächlich eine Messung der Blutglukose und nicht der zwischenzellularen Flüssigkeit stattfindet. Weitere Untersuchungen zu diesem Sachverhalt stehen jedoch noch aus.

## 7. Zusammenfassung

Das Ziel der Arbeit war die Konzeption, der Aufbau und die Erprobung eines nicht-invasiven Temperatur-Gradienten-Infrarot-Emissions-Glukometers für Mäuse.

Nach Vortests zum Glukose-Spektrum im Blut und optischen Simulationen zur Anordnung und Gestalt der Linsen und Spiegel, sowie nach kompletter Durchplanung der Messkomponenten wurde das Gerät erfolgreich in Heidelberg aufgebaut.

Zur Messung des Mäuseblutzuckers wurde die aus dem Schwanz kommende Infrarot Emission mittels pyroelektrischen Detektor, entsprechenden Filtern und einer modulierten Verstärkereinheit gemessen. Dabei wurden die Einzelkomponenten auf Qualität und Rauschverhalten eingehend überprüft, um eine Abschätzung der Machbarkeit eines derartigen Messgerätes durchführen zu können.

Die Signalabschätzung und die tatsächlich erzielten Signalstärken stimmen dabei in der Größenordnung überein und deuten darauf hin, dass das geplante Gerät für Messzeiten im Minutenbereich funktionieren sollte.

Die Erprobung des Gerätes fand im Jackson Laboratory in Bar Harbor/ Maine (USA) und am Health Center der Universität von Connecticut in Farmington (USA) statt.

Bereits erste Experimente an Mäusen zeigten, dass mit der hier entwickelten Anordnung durch Fixieren der Maus im Brennpunkt eines Ellipsoidspiegels ein Temperaturabfall im Schwanz einhergeht. Dieser Abfall hängt von der Stärke der Fixierung ab und kann mithilfe einer exponentiellen Funktion beschrieben und mit einer Heizplattform an der Maus verlangsamt werden.

Anschließend wurden mehrere Glukosetoleranztests mit Mäusen durchgeführt und deren Ergebnisse mit einem herkömmlich Plasmaglukosemesser verglichen. Bei einer Messdauer von etwa fünf Minuten und einer Auswertung des Streckungsfaktors der abfallenden Exponential-Funktion (der als einziger nicht von der Stärke der Fixierung abhängt) wurde ein inkonsistentes Ergebnis erhalten.

Die Messserie einer ersten Maus zeigte eine gute Korrelation zwischen nicht-invasiver Messmethode und der herkömmlichen Messung, bei einer zweiten, jeweils direkt im Anschluss gemessenen Maus wurde hingegen nahezu keine Korrelation festgestellt. Die Gründe dafür sind immer noch unbekannt.

Um die biologischen und geometrischen Einflüsse der Mäuse zu reduzieren, wurde diesen eine Kanüle in die Halsvene gelegt, um während der Messung problemfrei über eine intravenöse Injektion das Glukoseniveau zu ändern. Kalibriert wurden die Messkanäle der jeweiligen Mausgeometrie mittels einer linearen Regression über dem Referenzkanal am Beginn der Messung. In diesem Zeitraum ändert sich die Temperatur und die Eichung kann über einen weiteren Bereich daher genauer erfolgen.

Die Ergebnisse zeigten auffällige Unterschiede zwischen einer Glukose- und einer Salzlösungsinjektion, sind jedoch von dem starken Einfluss der injizierten Flüssigkeitsmenge und deren Auswirkung auf den Blutdruck und den Kreislauf der Maus überlagert.

Für eine klarere Darstellung des Glukoseverlaufes wurde in einer weiteren Messkampagne ein neuentwickelter Glukosesensor in den Rücken der Mäuse implantiert. Dieser konnte während der Messung kontinuierliche Vergleichswerte liefern. Hierbei wurde nach Einstellung einer konstanten Schwanztemperatur und eines gleichbleibenden Glukoselevels wiederum durch eine Glukoseinjektion (sc), der Blutzuckerspiegel verändert und mit beiden Methoden simultan aufgezeichnet.

Der erhaltene Peak erfolgte nahezu zeitgleich und hatte für die verschiedenen durchgeführten Messungen eine konsistente ähnliche Höhe. Die Gegenprobe mit einer Salzlösung verursachte hier bei der nicht-invasiven Messung ein konstantes Signal. Auf diese Weise konnte eine deutliche Korrelation beider Messmethoden gezeigt werden, was die korrekte Funktion des hier gebauten Gerätes endgültig belegt.

Vergleicht man die Standardabweichung von 19,8 mg/dl des ersten Glukosetoleranztests mit anderen nicht-invasiven Geräten, so findet man dort eine ähnliche Abweichung. Bei Studien zum bereits beschriebenen Gerät von Braig [Bra97, Klo98] wurde eine Standardabweichung von 24,7 mg/dl ermittelt. In der gleichen Größenordnung befindet sich das Messgerät von Buchert [Buc97], das bei einer Studie von Malchoff [Mal02] eine Standardabweichung von 27 mg/dl zeigte.

Systematische Fehler der hier entwickelten Messanordnung werden vor allem durch die Temperaturveränderung des Schwanzes verursacht. Dabei spielt bei der Bestimmung des genutzten Streckungsfaktors vor allem dessen Abhängigkeit vom Startzeitpunkt der Messung eine Rolle.

Ein weiterer systematische Fehler dieser Messmethode ist der durch das Einspannen der Maus entstehende Stress, der seinerseits die Glukose erhöht. Dieses Problem ist mit einer Anordnung wie dieser kaum zu umgehen, ist jedoch bei anderen Messmethoden, die durch invasives Vorgehen meist noch mehr Stress auslösen, ebenso zu beachten. Zur Optimierung sollte der Versuchsaufbau so verändert werden, dass die Maus größtmöglichen Komfort genießt und sich in der Messsituation nicht unwohl fühlt.

Desweiteren ist es nicht auszuschließen, dass das Infrarotstrahlungsverhalten der Mäuse an sich schon so verschieden ausgeprägt sein kann, dass eine separate Eichung für jede einzelne Maus stattfinden muss. In den hier durchgeführten Versuchen wurde aus diesem Grund in der Regel davon abgesehen, die absoluten Messsignale von verschiedenen Mäuse miteinander zu vergleichen.

Bei dem Aufbau eines komplexen Messgerätes wie diesem, muss nach der ersten Erprobung des Prototyps natürlich im Anschluss über Verbesserungsmöglichkeiten des Aufbaus nachgedacht werden.

Ein entscheidender Faktor für reproduzierbare Daten wird dabei die Entwicklung einer besseren Mäuseeinspannungseinrichtung sein. Dabei darf der Blutzufuss in den Schwanz nicht eingeschränkt werden, wodurch auch kein Temperaturabfall stattfinden würde. Die Signale wären somit nicht mehr zeitabhängig und würden durch die Abkühlung auch nicht schwächer. Eine weitere Veränderung des Designs sollte ferner das akkurate Fixieren des gleichen Schwanzabschnittes bei allen Mäusen sein. Dies hat zur Folge, dass lediglich eine einzige geometrische Eichung der vier Kanäle nötig ist. Eine Verfälschung durch verschieden gemessene und verschieden dicke Schwanzabschnitte wird somit verringert und Kurzzeitmessungen würden ohne separate Eichung auskommen.

Zusätzliche Verbesserungsmöglichkeit besteht in diesem Zusammenhang in der Integration einer Heizplattform, die neben der Komforterhöhung ebenfalls eine Vergrößerung des Messsignals nach sich ziehen kann.

Ebenso ist die hier verwendete Lösung des Lock-in nicht optimal. Es sollte, da jetzt die Verwendbarkeit der Einzelkanäle feststeht, unter Nutzung eines der vier analogen Kanäle auf die herkömmliche Variante mit direkter Rückkopplung des Choppersignals umgestellt werden.

Da es sich hier um eine komplexe und auch noch bewegliche Probengeometrie handelt, sollte an dieser Stelle vielleicht darüber nachgedacht werden, von den vier lokal getrennten Detektoren Abstand zu nehmen. Alternative wäre ein Chopperrad zu konzipieren, in dem zumindest zwei Filter bereits integriert sind. Auf diese Weise würden viele der geometrisch bedingten Probleme von vornherein wegfallen, und eine Kalibrierung der Kanäle untereinander hätte einen durch die Transmission der Filter gegebenen konstanten Wert. Ferner würde es dadurch möglich, an der Messkarte das Signal des Choppers analog anstatt digital einzulesen, um den Lock-in-Effekt noch besser zu nutzen und die Software zu vereinfachen.

Möglicherweise würde auch die Wahl eines stickstoffgekühlten HgCdTe eine Verbesserung der Detektivität und somit rauschärmere Messsignale des Gerätes hervorrufen. In den Patenten von Buchert und Malchoff wurde jedoch berichtet, dass beide Detektorarten für Emissionsmessungen dieser Art möglich sind. Eine genauere Untersuchung dieser Thematik steht allerdings noch aus.

Alles in allem ist mit dem hier realisierten Messgerät ein guter Anfang in Richtung nicht-invasiver Blutzuckermessung bei Mäusen gemacht worden, es sind jedoch weitere Verfeinerungen der Apparatur aufgrund der gemachten Messerfahrung nötig, um ein verlässliches und praktisch einsetzbares Messgerät zu erreichen.

## 8. Anhang

Der Anhang dieser Arbeit beinhaltet ergänzend zu dem bereits beschriebenen Aufbau zusätzliche Informationen über den Detektor und die Verstärkerschaltung, sowie Erklärungen zur exakten Funktionsweise der Software, der Kühlung und des Gehäuses.

### 8.1. Daten und elektrische Funktionsweise des Detektors

Die Anordnung der PINs sowie wie der interne Schaltungsaufbau dieses niederohmigen Bauteils ist in Abb.A.1-1 und Abb.A.1-2 dargestellt. Ein konstanter Versorgungsstrom (etwa 0,19mA) fließt dabei zwischen den *Drain*- und den *Source*-PINs, während das Signal über die *Source*- und *Ground*-Pins abgegriffen wird. Trifft nun Strahlung auf den Detektor, so ändert dieser seinen Widerstand und beeinflusst dadurch die *Gate*-Spannung des Feldeffekt-Transistors. Die Spannung am *Gate* wiederum regelt den Widerstand des gesamten Transistors, der sich in Reihe zu den anderen Widerständen in der Masche mit *Source* und *Ground* befindet und so den Spannungsabfall dort steuert. Durch die Nutzung des Gates des Feldeffekt-Transistors wird dabei schon eine erste Verstärkung des Signals im Detektor durchgeführt.

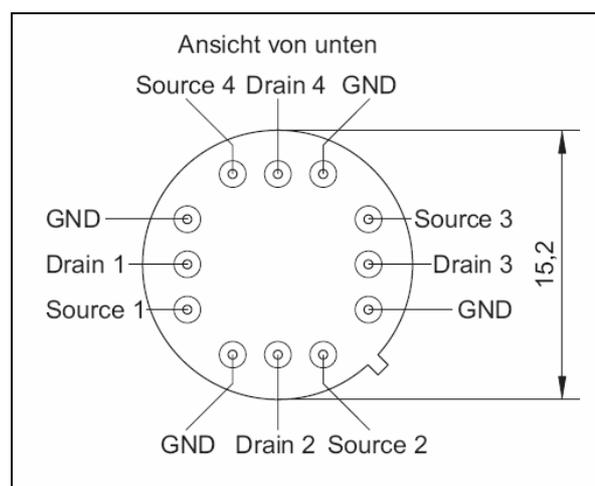


Abb. A.1-1: Anschlüsse des Detektors [Dia07]

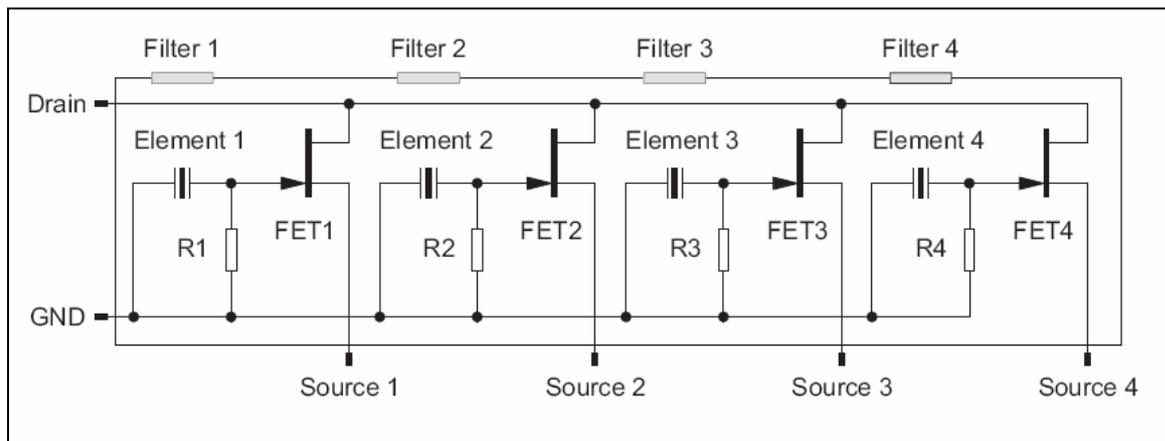


Abb.A.1-2: Interne Schaltung des Detektors [Dia07]

In der Abbildung A.1-3 ist die genaue Frequenz-Abhängigkeit der Detektorgrößen dargestellt. Es ist bei allen drei Parametern ein starker Abfall mit steigender Frequenz zu beobachten, wodurch die mögliche Modulation im wesentlichen auf weniger als 20 Hz eingeschränkt wird.

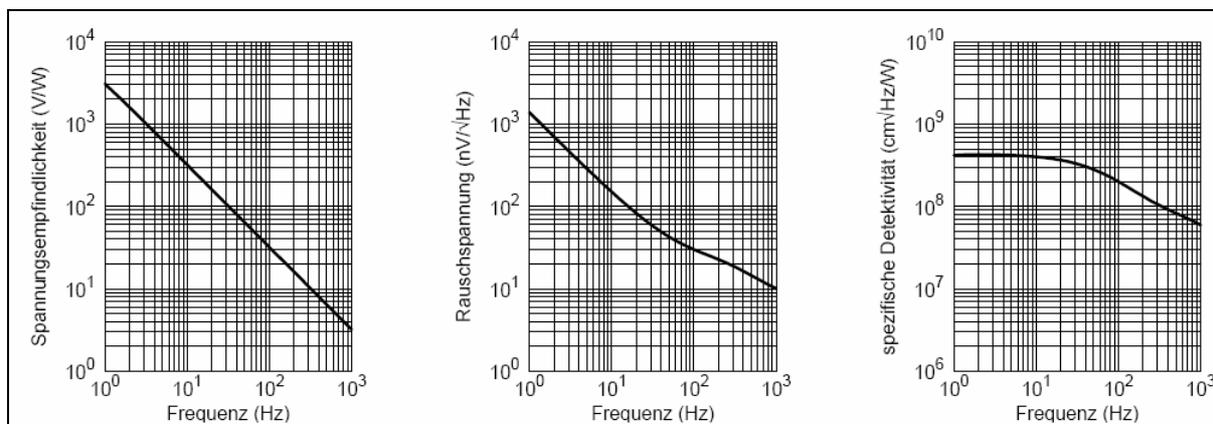


Abb.A.1-3: Typische Detektorgrößen in Abhängigkeit der Frequenz [Dia07]  
(von links nach rechts: Empfindlichkeit, Rauschspannung und Detektivität)

## 8.2. Schaltung und Erläuterung der Verstärkerelektronik

Die Funktionsweise und die Besonderheiten der Schaltung sollen stellvertretend anhand eines der vier Verstärkerkreise erläutert werden, der in Abb. A.2-1 zu sehen ist.

Den Überblick über die Schaltung gewinnt man am besten, wenn man bei der Betrachtung direkt am Detektor beginnt. Dieser befindet sich links in der Mitte der Schaltung und benötigt,

wie bereits erklärt, einen konstanten Stromfluss (der Bereich links über dem Detektor stellt dabei eine rauscharme Spannung zur Verfügung). Das Einstellen des Stromflusses findet dabei mithilfe des Transistors Q101 und der Leuchtdiode LED101 statt.

Das nun vom Detektor ausgegebene Signal wird zunächst durch einen Kondensator (C102) geleitet, der hier zusammen mit dem Widerstand R104 als Hochpass fungiert und somit niederfrequente Signale unterdrückt. Seine Kapazität ist mit 10  $\mu\text{F}$  sehr hoch und wirkt sich hauptsächlich auf Frequenzen bis maximal 1 Hz bedeutsam aus.

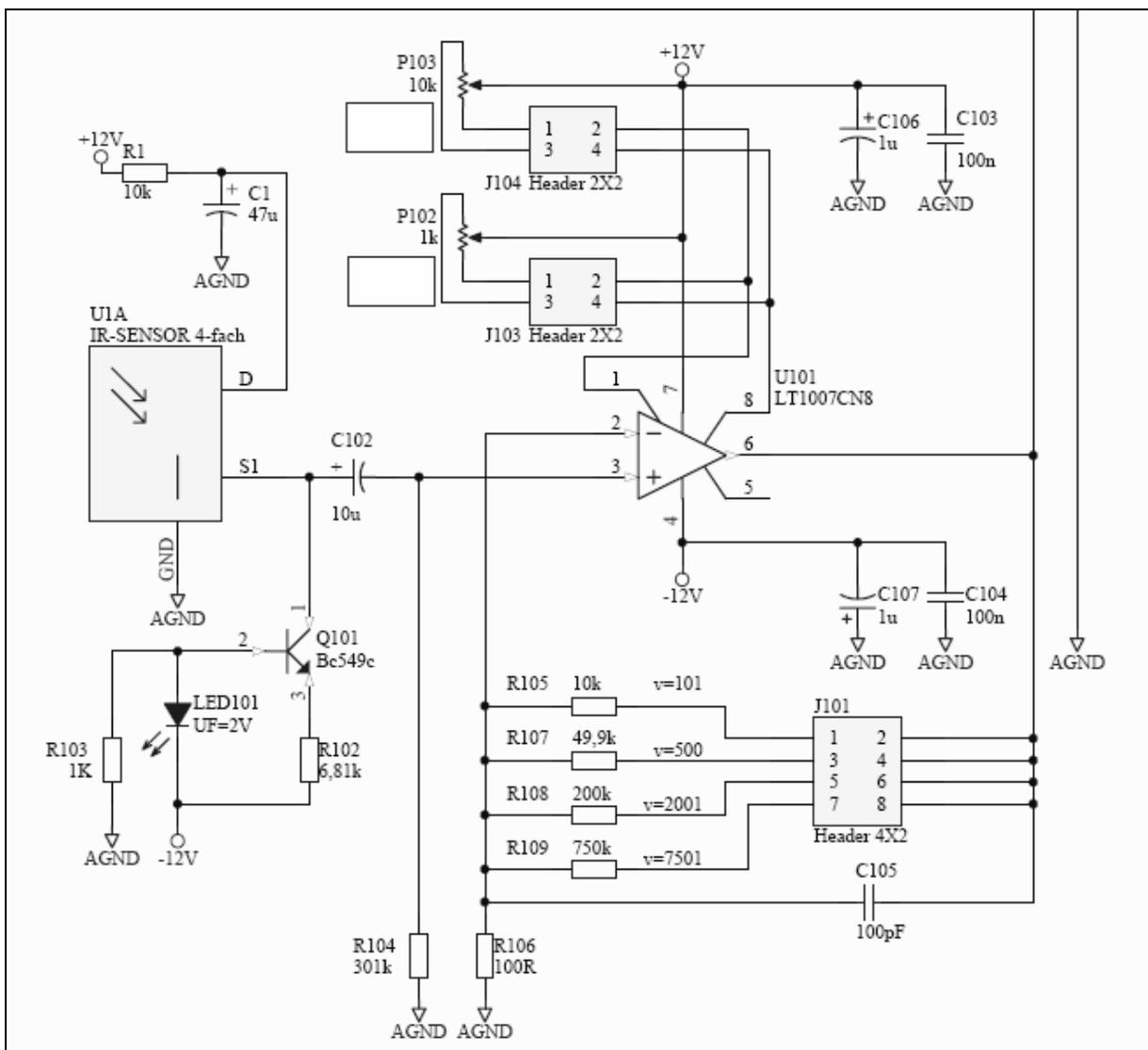


Abb. A.2-1: Verstärkerschaltung anhand eines Kanals

Beim Entwerfen der Schaltung wurde die Möglichkeit vorgesehen zwei verschiedene OPV zu nutzen, nämlich den LT1007 und den LT1028 der Firma Linear Technology. Damit beide ohne Probleme austauschbar sind, findet man im oberen Teil der Schaltung eine Offsetabgleich für beide Möglichkeiten, die unter Nutzung eines Jumpers wählbar sind. Der Offsetabgleich ist nötig, um den Gleichspannungsanteil des OPVs zu reduzieren, da dieser sonst mit seiner Größe das eigentliche Messsignal überlagern würde und so die weitere Verarbeitung von im verhältnismäßig geringen Änderungen ungenauer wäre.

Die Eigenschaften des OPV LT1007 sind in den Diagrammen in Abb. A.2-3 vom Hersteller gegeben.

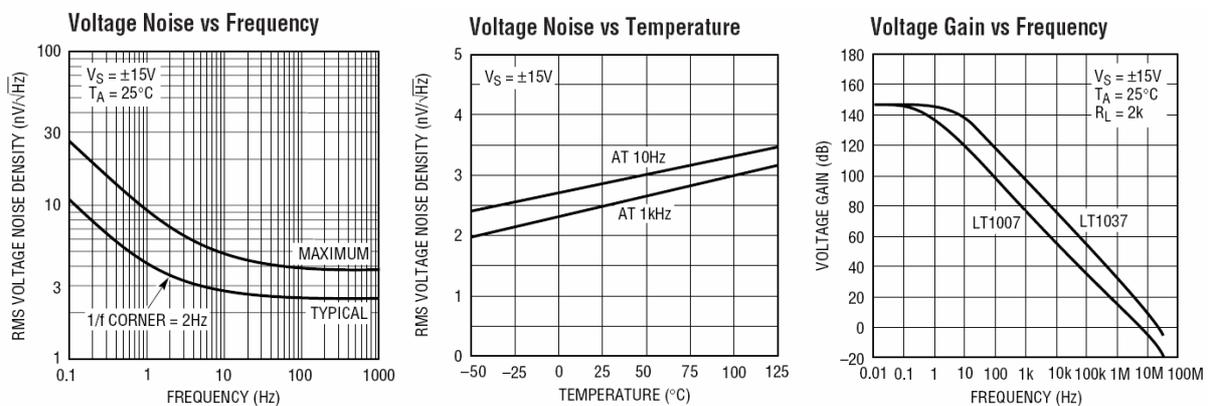


Abb.A.2-2: Eigenschaften des OPVs:Links:Spannungsrauschen als Funktion der Frequenz  
Mitte:Spannungsrauschen als Funktion der Temperatur  
Rechts: Verstärkung als Funktion der Frequenz  
(Herstellerdaten)

Bei Beginn des Schaltplanentwurfes stand hierbei noch nicht fest, welche tatsächlich Signalgröße zu erwarten war. Aus diesem Grund wurde als weitere Wahlmöglichkeit eine mögliche Änderung der Verstärkung mit eingeplant. Ersichtlich ist das in den durch einen Jumper wählbaren Rückkopplungswiderstand R105 bis R109. Die Verstärkung ist dabei im wesentlichen das Verhältnis von eben genannten Widerständen zum Widerstand R106 und kann somit auf die Werte 101, 501, 2001 und 7501 eingestellt werden.

### 8.3. Software

Die gelieferte Software zu der Karte nennt sich Data Measury Foundry 4.0.7. und ist eine typische Benutzeroberfläche für Messanwendungen, ähnlich dem weitverbreiteten LabView. Mit ihr wurden die einkommenden Signale und jeder der Verarbeitungsschritte der Daten überwacht und kontrolliert. Dazu gehört vor allem die Kontrolle über die Choppergeschwindigkeit, die Abtastrate der Signale und der Verstärkungsbereich, sowie die Speicherung der Daten. Neben den eingestellten Messbedingungen findet innerhalb der Software bereits eine Vorbehandlung der Signale statt, welche die spätere Auswertung deutlich einfacher und kürzer gestaltet. Solche Signalverarbeitungsschritte werden der Software über ein dafür vorgesehenes Eingabefenster unter Verwendung einer nahezu rein mathematischen Programmiersprache vorgegeben. Das dafür entwickelte Programm unterlag während der Erprobungsphase des Gerätes einer ständigen Weiterentwicklung. Aus diesem Grund soll hier nur die letzte Version anhand eines Kanals und ohne die nur zur Kontrolle verwendeten Schritte vorgestellt und erläutert werden. Der Übersichtlichkeit wegen befindet sich das Programm geschlossen nach den entsprechenden Erklärungen und ist mit Zeilennummern versehen, um auf die einzelnen Abschnitte besser eingehen zu können. Zu Beginn des Programms werden dabei zunächst diverse Variablen festgelegt, wie die Abtastrate (Z.2) und die Anzahl der für Fouriertransformationen genutzten Datenpunkte (Z.1). Diese ist bei der digitalen schnellen Fouriertransformation (FFT) genauso groß, wie die Zahl der Punkte des ursprünglichen Signals, welches als A0 eingelesen und dementsprechend dimensioniert wurde (Z.3-4). Die Variable *StepVal* (Z.5) entspricht als Verhältnis von Abtastrate zu Datenanzahl der reziproken Messzeit und somit der Frequenzauflösung, d.h. dem Frequenzabstand der Datenpunkte der Fouriertransformierten. Es wurde hier eine Messzeit von circa zehn Sekunden gewählt, da diese Zeit ausreichend ist, um genug Perioden zu messen und außerdem kurz genug um den zeitlichen Verlauf des Signals beobachten zu können.

Als erster Schritt wird nun das Eingangssignal fouriertransformiert (Z.6) und vorgefiltert, um unnötiges Rauschen von vornherein von Nutzsignal zu trennen. Dies wird mittels zweier Schleifen realisiert, die nur ein 4Hz schmales Band der Fouriertransformierten von null verschieden lässt (Z.7-20). Es handelt sich bei diesem Filter also um einen klassischen Rechteckfilter. Nach der Rücktransformation der gefilterten Signale (Z.21), beschäftigt sich der nächste Abschnitt des Programms mit einer verbesserten Synchronisierung und Datenverarbeitung der Einzelsignale (Z.22-47). Denn obwohl der Start der Messung durch

den Chopper synchron für alle Kanäle stattfindet, so sind doch einerseits aufgrund der Chopperbewegung die Signale leicht zeitversetzt und andererseits befinden sich innerhalb des Messzeitraums am Anfang und Ende verschieden große „Bruchstücke“ von Perioden. Zur Lösung dieser beiden Probleme wurden innerhalb des Messintervalls jeweils benachbarte Werte miteinander verglichen und auf diese Weise die Nullstellen einer ansteigenden Flanke gefunden (Z.25-30). Nun wurden entsprechend der Größe des Intervalls eine bestimmte Anzahl von ganzen Perioden zur weiteren Berechnung genutzt (Z.40-47). Durch diese Maßnahme verringert sich der Fehler von im schlechtmöglichen Fall einer überschüssigen Halbperiode bis auf die Genauigkeit, mit der die Nullstellen gefunden werden. Diese ist bei etwa 20 Punkten pro Periode logischerweise ein zwanzigstel einer Periode. Veränderungen dieser Art bei den Signalen bewirken natürlich nur geringe Unterschiede, dennoch sollten bei der Verbesserung hin zu präziseren Messungen solche Feinkorrekturen nicht unterschätzt werden.

Da sich bei dieser Korrektur der Mittelwert von Null weg verschoben haben könnte, wird dieser vom eigentlichen Signal nochmals abgezogen (Z.48-49). Nach all den Vorkorrekturen der Signale geht es nun nur noch darum, dass Signal möglichst präzise, rauschfrei und unabhängig von der exakten Chopperfrequenz zu bestimmen. Zu diesem Zweck wird normalerweise ein herkömmliches Lock-in Verfahren verwendet. Dies beinhaltet die Gewinnung eines Referenzsignals von der Modulationsquelle, Multiplikation dieser Referenz mit dem Originalsignal und die Bildung des Mittelwertes des erhaltenen Produkts.

Auf das Ergebnis können somit alle Frequenzen einwirken, da es sich mathematisch betrachtet hier um eine Faltung beider Frequenzräume handelt. Das heißt rein praktisch, dass alle Frequenzanteile, die sowohl im Signal als auch in der Referenz vorkommen, einen konstanten Anteil im Produktsignal liefern. Aus diesem Grund ist es an der Stelle von großer Bedeutung, dass die Referenz möglichst rauschfrei ist oder zumindest bei anderen Frequenzen rauscht als das Messsignal.

Wie sich nun im Verlauf der Arbeit herauskristallisierte, ist eine hardwaretechnische Synchronisierung der Eingangssignale mit dem über den digitalen Eingang der Karte gewonnenen Choppersignal nicht möglich. Der Hersteller hat bei den digitalen Eingängen keinerlei Echtzeit-Aufnahme der Daten zur Verfügung gestellt. Aufgrund dieser Tatsache ist ein Lock-in im herkömmlichen Sinn hier nicht durchführbar und es muss nach einer Alternative gesucht werden. Eine annähernd gute Alternative wurde mithilfe der hier verfügbaren Programmiermittel gefunden.

Das eigentliche Problem der Software-Variante ist dabei, ein geeignetes Referenzsignal zu bekommen. Da dieses nicht von außen zur Verfügung steht, muss es auf irgendeine Weise kreiert werden. Die Schwankungen des Choppers sollen dabei allerdings möglichst genau miterfasst werden, d.h. das ursprüngliche Messsignal muss diesem Signal zugrunde liegen, da es als einziges die Information über die Chopperbewegung beinhaltet. Desweiteren darf dieses Referenzsignal allerdings nicht dieselben Rauschanteile wie das Messsignal haben, da es sonst zu einer Verfälschung der Messung kommen kann. Rein mathematisch gibt es zu diesem Problem keine Lösung, weil eine Umrechnung des Eingangssignals in eine andere Funktion ebenso alle Informationen über dessen Rauschen weiter übertragen würde. Es musste also ein Weg gefunden werden, bei dem die Information über die Modulationsfrequenz vom Rest des Signals getrennt werden kann. Diese Aufgabe kann man wiederum mithilfe von Schleifen und den gemessenen Nullstellen lösen. Dabei wird, wie im letzten Abschnitt des Programms durchgeführt (Z.50-66), ein Wert der über Null liegt gleich eins gesetzt und ein Wert der unter Null liegt gleich minus eins (Z.55-58). Da so nur konstante Werte in dieser Funktion vorkommen, fällt jegliche Art von Rauschen aus diesem Signal heraus. Einzige Fehlerquelle liegt hier erneut bei der Bestimmung der Nullstellen, die aber an dieser Stelle nicht so schlimm ist, weil das Messsignal ja die Punkte exakt an der selben zeitlichen Position hat. Es würden hier also nur Probleme auftreten, wenn durch das Rauschen Messpunkte ihr Vorzeichen ändern würden. Diese gefundene Lösung kommt selbstverständlich an die Qualität eines herkömmlichen Lock-in nicht heran, ist aber ihrerseits deutlich besser als jeder Bandpass. Die restlichen Schritte des Programms sind dann nur noch die Multiplikation (Z.64) und die Mittelwertfindung des Produktes (Z.65), welches über einen *Output*-Befehl an den Benutzer ausgegeben (Z.66) und gleichzeitig gespeichert wird.

### Quellcode des auf einen Kanal vereinfachten und verkürzten Programms:

```

FFTSize := 2048 (1)
SampleFreq := 200 (2)
VectorSetSize(Analog_Input__DT9822_02_.A_D0.Channel_0, FFTSize) (3)
A0:=Analog_Input__DT9822_02_.A_D0.Channel_0 (4)
StepVal := SampleFreq / FFTSize (5)

A0FT:=RealFFT( A0, 0, 1, phasevectorA0 ) (6)
\\ filter out anything below cutoff freq (7)
j := 0 (8)

```

```

j0:= cutofffreq0/stepval (9)
while (j < j0) (10)
    VectorSetValue( A0FT, j, 0) (11)
    j := j+1 (12)
wend (13)

\\ filter out anything above cutoff freq (14)
k := FFTSize (15)
k0:=( cutofffreq0+4)/stepval (16)
while (k > k0) (17)
    VectorSetValue( A0FT, k, 0) (18)
    k := k-1 (19)
wend (20)

A0IFT:=RealInverseFFT( A0FT, phasevectorA0, 0) (21)

iA:=0 (22)
PNrA:=0 (23)
while (iA < FFTSize) (24)

    Ai:= VectorGetValue(A0IFT, iA) (25)
    Aj:= VectorGetValue(A0IFT, iA+1) (26)
    ResA:= (Ai<0) and (Aj>0) (27)

    if (ResA=1) (28)
        PNrA:= PNrA+1 (29)
    Endif (30)

    if (PNrA=4) (31)
        Astart:=iA+1 (32)
    Endif (33)

    Ende:= trunc(FFTSize/SampleFreq*Frequenz*1000) (34)

    if (PNrA=Ende-4) (35)
        Aende:=iA (36)
    Endif (37)

    iA:=iA+1 (38)
wend (39)

DimA:= Aende-Astart+1 (40)
VectorSetSize(Acut,DimA) (41)
nA:=Astart (42)

while (nA<Aende+1) (43)
    yA:=VectorGetValue(A0IFT,nA) (44)
    VectorSetValue(Acut, nA-Astart,yA) (45)
    nA:=nA+1 (46)
wend (47)

```

```

Acutmean:=VectorGetmean(Acut) (48)
Acutkor:=Acut-Acutmean (49)

Ecut:=Acutkor (50)

m:=0 (51)

while (m<FFTSize) (52)
    x1:=VectorGetValue( Ecut, m) (53)
    If (x1<0) (54)
        x1:=-1 (55)
    else (56)
        x1:=1 (57)
    EndIf (58)
    VectorSetValue ( Ecut, m, x1) (59)
    m:=m+1 (60)
wend (61)

Ecutmean:=VectorGetmean(Ecut) (62)
Ecutkor:=Ecut-Ecutmean (63)
A:=Acutkor*Ecutkor (64)
ADir:=VectorGetMean(A) (65)
Out.Output_Channel_14:=Adir (66)

```

Die mit diesem Programm gefundenen Rohdaten können nun mittels gängiger Datenbearbeitungssoftware weiter geeicht und berechnet werden. Dabei spielen nun noch die Eichung der Kanalbreiten und die Bildung der Differenz eine entscheidende Rolle. Die genaue Vorgehensweise wurde im Kapitel Auswertung bereits ausführlich beschrieben.

## 8.4. Gehäuse

Alle bereits erwähnten Komponenten werden in einem doppelwandigen Gehäuse platziert, dessen innere Wand aus 5 mm starkem Aluminium besteht, was für die Wärmeleitung und -verteilung im Innengehäuse sorgt und so die Kühlung erleichtert. Durch die Verwendung von Aluminium wird zusätzlich das Gewicht niedrig gehalten und durch seine Dicke Stabilität erlangt. Neben dem quaderförmigen Außengerüst des Gehäuses befindet sich an der Frontseite ein ebenso quaderförmiger Schnabel, in dem die Linsen und die fixen Spiegelteile

mittels Schrauben befestigt sind. Zusätzlich wurde senkrecht zum Strahlengang in Höhe des Detektors eine Trennwand eingezogen. Diese verhindert einen Strahlungsaustausch zwischen der Elektronik, die einer gewissen Erwärmung unterliegt, und dem Detektor.

Die einzelnen Bauteile sind zum einen direkt miteinander verbunden und zum anderen mittels Winkeln, die eine Art Schiene bilden, und Schrauben fixiert.

Das äußere Gehäuse besteht aus 5 mm dicken PVC-Platten, deren Abstand vom Innengehäuse ebenfalls 5 mm beträgt. Auf diese Weise ist eine Luftdämmung zwischen den Gehäusen realisiert, die verhindert, dass Wärmeleistung von außen in das Gerät eindringt.

## **8.5. Kühlung**

Die Kühlung des Gerätes ist thermoelektrischer Natur und wird über zwei unabhängige Regelkreisläufe gesteuert. Hierbei wurden Peltier-Elemente als Wärmepumpen genutzt, deren heiße Seite von außen mittels Kühlkörpern und Lüftern abgekühlt wurde. Die Größen von Kühlkörper und Lüfter wurden dabei der entsprechende Peltier-Größe angepasst.

Die Kühlung des Gehäuses erfolgt über zwei Peltier-Elemente. Diese (Typ: TB-125-1,4-2,5CH) wurden von der Firma Kryotherm (St.Petersburg, Russland) hergestellt und über AMS Technologies (Martinsried) vertrieben. Sie haben einen  $40 \times 40 \text{ mm}^2$  Grundriss und eine Höhe 4,7 mm. Bei einem maximalen Strom von 3,7 A und einer maximalen Spannung von 16 V können sie eine optimale Kühlleistung von 36,8 W erzeugen.

Es wurde hierbei von einer Temperatur der heißen Seite von 303 K und einer abzutransportierenden Wärmeleistung von 1,8 W ausgegangen.

Die elektrisch in Reihe geschalteten Peltier-Elemente sind an den Seiten des Innengehäuses angebracht, das wiederum mittels Aluminium Stangen an diesen Stellen mit dem Detektor verbunden ist. Dadurch kann unter Nutzung eines Temperaturreglers die Temperatur im Gehäuse und vor allem am Detektor eingestellt und konstant gehalten werden. Dies verhindert eine Varianz der Detektortemperatur, die ihrerseits ein Signal erzeugen würde, was einem zusätzlichen Rauschen entspricht. Die erforderliche Kühlleistung wurde mit dem Programm Aztec (Fa. Melcor) ermittelt, das unter Berücksichtigung der inneren Wärmeproduktion (Chopper: 1,2 W, Maus: 0,06 W, restliche Elektronik  $\leq 0,5 \text{ W}$ ) und der bereits beschriebenen Isolierung einen Wert von etwa 7 W berechnete.

Zur Kühlung und Wärmeregulierung des Spiegels ist an diesem ein eigenes Peltier-Element (Typ:TB-119-1,0-2,0CH, Fa. Kryotherm) angebracht, was jedoch mit einer Geometrie von  $30 \times 30 \times 4,3 \text{ mm}^3$  und einer maximalen Kühlleistung von  $21,4 \text{ W}$  ( $I_{\text{Max}}=2,3 \text{ A}$  und  $U_{\text{Max}}=14,9 \text{ V}$ ) etwas niedriger dimensioniert ist als die anderen. Die Temperatur der heißen Seite wurde hier mit  $320 \text{ K}$  angesetzt, die Wärmeleistung des Spiegels mit null.

Die Regelung der Kühlkreise wird mit PID-Temperaturreglern (MPT2500) der Firma Wavelength-Electronics durchgeführt, die eigens für thermoelektrische Anwendungen konzipiert sind. Sie besitzen mit  $<0,008^\circ\text{C}$  Schwankung eine sehr gute 24h-Temperaturstabilität und sind bis zu einer Stromstärke von  $2,5 \text{ A}$  einsetzbar. Der relativ hohe nötige Strom der Peltiers wird hierbei ebenfalls durch die Regler geleitet und dort gesteuert. Die Anschlüsse dieser Regler fanden entsprechend Abb. 4.11-1 statt.

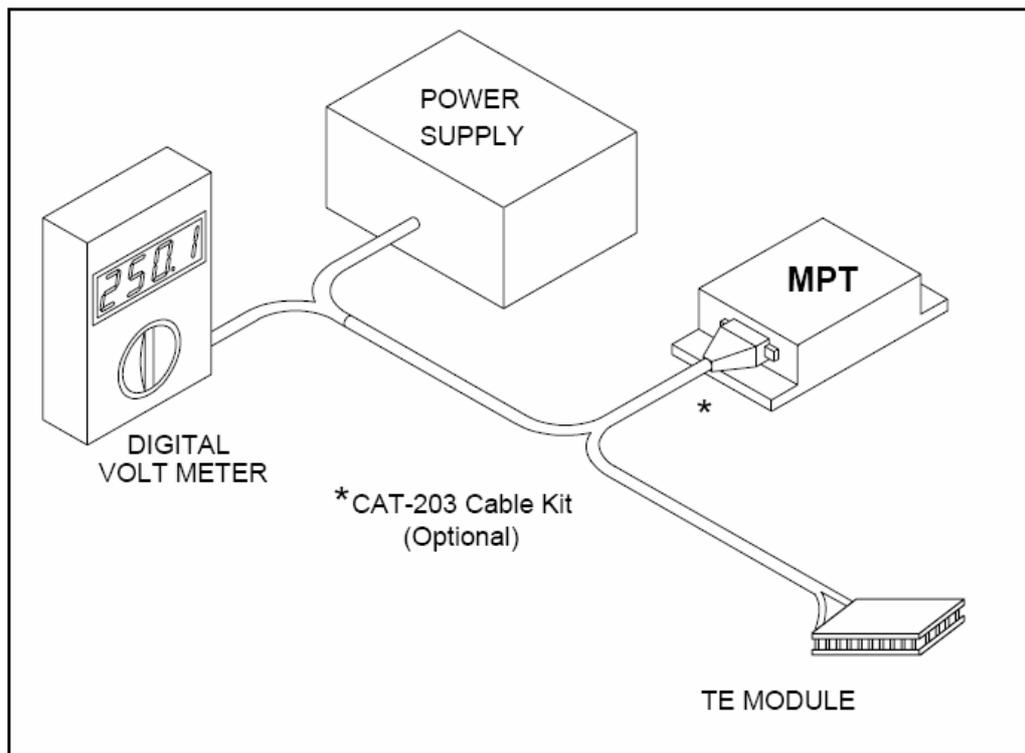


Abb.A.5-1: Prinzipieller Aufbau der Kühlkreisläufe [Mpt05]

Die Stromversorgung beider Kühlkreisläufe war das Netzteil SWS150-15 der Firma LAMBDA (San Diego, USA), das bei einer Spannung zwischen  $13,5\text{-}16,5 \text{ V}$  einen maximalen Strom von bis zu  $10 \text{ A}$  liefert.

Zu dieser Anordnung hinzu kommen noch Thermistoren (TCS-610, Fa. Wavelength electronics), die im Fall der Gerätekühlung innerhalb einer der Aluminiumstreben zum Detektor und im Fall des Spiegels direkt in dessen Begrenzungsstück mit Wärmeleitkleber in dafür vorgefertigte Löcher eingeklebt wurden. Die mit den Thermistoren erfassbare Temperatur liegt zwischen  $-8^{\circ}\text{C}$  ( $\cong 4,967\text{ V}$ ) und  $50^{\circ}\text{C}$  ( $\cong 0,360\text{ V}$ ) und deren Spannung wird mit einem herkömmlichen Multimeter gemessen.

Da die Abschirmung des Spiegels mit dem doppelwandigen Gehäuse nicht mit erfasst wird, wurde bei vielen der späteren Messungen eine Styropor-Box über die Maus und die Spiegeleinheit gestülpt (der Kühlkörper sowie der Lüfter befanden sich dabei natürlich außerhalb dieser Box). Auf diese Weise konnten zusätzlich Wind und Temperaturschwankungen an der sehr sensitiven Messstelle vermindert werden.

Die mit diesem Kreislauf eingestellte Temperatur lag bei Spiegel und Gerät bei  $15^{\circ}\text{C}$  und unterschied sich somit deutlich von der Raumtemperatur.

Alles in allem wurden mit dieser Kühlung Gerätetemperaturschwankungen von  $< \pm 7\text{ mK}$  und Spiegeltemperaturschwanken von  $\pm 14\text{ mK}$  erzielt, was mit einem derartigen Aufbau sehr gute Werte darstellen. (Leider gab es bei der Konstanz jedoch diverse Probleme, da insbesondere bei dem Spiegeloberteil durch die ständige Bewegung vor und nach der Messung einige Kontakte schlechter wurden und somit Schwankungen hervorriefen.)

## 9. Abbildungsverzeichnis

Abb. 2.1-1: Fischer-Projektion von D- und L-Glukose	10
Abb. 2.1-2: Haworth-Projektion von $\alpha$ -Glukose (links) und $\beta$ -Glukose (rechts)	11
Abb. 2.2-1: Planck-Kurve für verschiedene Temperaturen	13
Abb. 2.2-2: Temperaturgefälle beim Wärmedurchgang durch eine Wand	14
Abb. 2.3-1: Schema des Strahlungsverhaltens in einer Temperatur-Gradienten-Region	18
Abb. 2.3-2: Infrarot-Absorptionsspektren der Erdatmosphäre	19
Abb. 2.3-3: Transmission durch getrocknetes Blut mit a) hoher Glukosekonz. und b) niedriger Glukosekonz., c) Differenzspektrum zwischen a) und b)	20
Abb. 2.3-4: Detaill. Glukose-Absorptionsspektrum für verschiedene Konzentrationen	21
Abb. 2.4-1: Versuchstier Maus in verschiedenen Phänotypen	22
Abb. 2.4-2: Lage der drei Haupthautschichten	24
Abb. 2.4-3: Genauigkeitsbeurteilung von Glukose-Messern durch Clarke-Error-Grid	27
Abb. 3.1-1: Differenzspektrum zwischen einer Blutprobe angereichert mit 100mg/dl Glukose und einer nichtangereicherten Probe	30
Abb. 3.1-2: Infrarot-Spektrum menschlichen Blutes	31
Abb. 3.2-1: Abstrahlverhalten der simulierten Mäuseschwanz-Strahlungsquelle	32
Abb. 3.2-2: Aufbau der verwendeten Anordnung mit zylindrischem Ellipsoidspiegel und 3 zylindrischen Plan-Konvex-Linsen (Abstände nicht maßstabsgetreu)	33
Abb. 3.2-3: Finaler Aufbau in Vorderansicht	34
Abb. 3.2-4: Finaler Aufbau in der Draufsicht	34
Abb. 4.1-1: Außenansicht des nicht-invasiven Infrarot-Emissions-Glukometers	37
Abb. 4.1-2: Längsquerschnitt des nicht-invasiven Glukometers (maßstabsgetreu)	38
Abb. 4.2-1: Spektrales Reflexionsvermögen der Spiegeloberfläche	40
Abb. 4.2-2: Technische Zeichnung des Ellipsoidspiegels	41
Abb. 4.2-3: Abnehmbares Spiegelstück inkl. Spannbuchsen und deren Befestigung	42
Abb. 4.3-1: Transmissionsspektren von Zinkselenid im Infraroten	43
Abb. 4.4-1: Technische Zeichnung der Choppereinheit	44
Abb. 4.4-2: Laufgenauigkeit des Choppers über 100s Messzeit	45
Abb. 4.4-3: Langzeitgenauigkeit des Choppers	46
Abb. 4.5-1: Transmission eines glukoseempfindl. Filters mit 9.26 $\mu$ m Mittenwellenlänge	47
Abb. 4.5-2: Transmissionskurve des Referenzfilters (10.24 $\mu$ m)	48

Abb. 4.6-1: Übersichtsdiagramm über die Einsatzbereiche möglicher IR-Detektoren	49
Abb. 4.6-2: Pyroelektrischer Quadcell-Detektor: Links Draufsicht, rechts Seitenansicht	50
Abb. 4.6-3: Proport. Kanal1 und 2 zu Kanal0 bei Änderung der Einstrahlungsintensität	51
Abb. 4.6-4: Proportionalität Kanal3 zu Kanal0 bei Änderung der Einstrahlungsintensität	52
Abb. 4.7-1: Abhängigkeit des Rauschen vom Offset des OPV	53
Abb. 4.7-2: Abhängigkeit der Rauschspannung der Verstärkerplatine von der Höhe der Verstärkung	54
Abb. 4.8-1: Rauschspannung der Messkarte als Funktion der Frequenz und Abtastrate	56
Abb. 5.3-1: Übersichtsschema über mögliche Rauschquellen bei der Detektion	62
Abb. 6.2-1: Ankommendes Signal am Kanal 0 als Funktion des Referenzkanals	66
Abb. 6.2-2: Ankommendes Signal am Kanal 1 als Funktion des Referenzkanals	66
Abb. 6.2-3: Ankommendes Signal am Kanal 3 als Funktion des Referenzkanals	67
Abb. 6.3-1: Typ. detektiertes Spannungssignal am Kanal 0 bei einem Mäuseschwanz	68
Abb. 6.3-2: Detektiertes Spannungssignal am Kanal 0 beim Plastikstab mit Raumtemp.	68
Abb. 6.3-3: Maus auf einer Heizplattform, sehr stark fixiert	69
Abb. 6.3-4: Maus auf einer Heizplattform, weniger stark fixiert	70
Abb. 6.4-1: Diff. der A-Parameter in Abhängigkeit des realen Glukosewertes bei Maus1	72
Abb. 6.4-2: Diff. der A-Parameter in Abhängigkeit des realen Glukosewertes bei Maus2	73
Abb. 6.5-1: Veränderung der Messsignale der Kanäle 0 und 1 nach IV-Glukoseinjektion	75
Abb. 6.5-2: Veränderung der Messsignale der Kanäle 0 und 1 nach IV-Salzlös.-Injekt.	75
Abb. 6.6-2: A: Sensor, B: Aufbau des Sensors, C: Sensor mit Kabel an Maus befestigt	77
Abb. 6.6-3: Typischer Glukoseverlauf bei den Vergleichsmessungen	79
Abb. 6.6-4 bis 6.6-6: Vergleich des Glukosetrends zw. nicht-invasiven Glukometer und einem implantierten Sensor nach einer subkutanen Glukoseinjektion	80
Abb. 6.6-7: Alle detektierten Kanäle des Glukometers und das Signal des implantierten Sensors nach einer Salzlösungsinjektion	82
Abb. 6.6-8: Auswirkungen eines starken Stresseinflusses auf die Maus	83
Abb. A.1-1: Anschlüsse des Detektors	88
Abb. A.1-2: Interne Schaltung des Detektors	89
Abb. A.1-3: Typische Detektorgrößen in Abhängigkeit der Frequenz	89
Abb. A.2-1: Verstärkerschaltung anhand eines Kanals	90
Abb. A.2-2: Eigenschaften des OPVs	91
Abb. A.5-1: Prinzipieller Aufbau der Kühlkreisläufe	98

## 10. Tabellenverzeichnis

Tab. 2.3-1: Übersicht über die Hauptabsorptionen für organische funktionelle Gruppen	15
Tab. 2.4-1: Vergleich der von Clarke erwarteten Genauigkeit und der Consensus- meinung heute	28
Tab. 3.2-1: Im Gerät verwendeten Daten der Optikanordnung	35

## 11. Literatur

- [Arr01] M. Arras, P. Autenried, A. Rettich, D. Spaeni, T. Rulicke: "*Optimization of intraperitoneal injection anesthesia in mice: drugs, dosages, adverse effects and anesthesia depth*", *Comp. Med.*; 51: 443-456, 2001
- [Atk87] Peter W. Atkins: „*Physikalische Chemie*“, VCH Verlagsgesellschaft, 1. Aufl. 1987
- [Bae04] H.D. Baehr, S. Kabelac: „*Wärme- und Stoffübertragung*“, Springer-Verlag, 4. Auflage, Berlin 2004,
- [Ber02] H. L. Berman: „*Infrared ATR Glucose measurement system*“, US Patent Application: US 20020151773, 2002
- [Bio07] Internetseite: [www.biologie.de/biowiki](http://www.biologie.de/biowiki)
- [Bip07] Internetseite: [www.biopix.dk](http://www.biopix.dk)
- [Bme01] BMELF, Tierschutzbericht 2001
- [Bor74] R. Borsdorf, M. Scholz: „*Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie*“, Akademie-Verlag, Berlin 1974
- [Bra97] Braig JR, Goldberger D.S., Sterling B.B.: „*Self-Emission noninvasive infrared spectrophotometer with body temperature compensation*“ US Patent 5615672; Apr. 1997
- [Bro06] Theodore L. Brown, H. Eugene LeMay, Bruce E. Bursten: „*Chemie: Die zentrale Wissenschaft*“, Pearson Studium Verlag 2006
- [Bru96] J.T. Bruulsema, M. Essenpreis et al.: „*Detection of Changes in Blood Glucose Concentration in-vivo with Spatially Resolved Diffuse Reflectance*“ OSA Conf. On Biomedical Optical Spectroscopy and Diagnostics 1996

- [Buc61] Klaus Buchmüller: „Über die ultrarote Emission, Reflexion und Durchlässigkeit der lebenden menschlichen Haut im Spektralbereich  $\lambda \approx 3-15 \mu\text{m}$ “  
Pflügers Archiv European Journal of Physiology: Vol. 272, Nr. 4, July, 1961
- [Buc97] Janusz Buchert: “Instrument and method for non-invasive monitoring of human tissue analyte by measuring the body’s infrared radiation“  
US patent No.5666956, Sep. 1997
- [Cho02] Choleau C, Klein JC, Reach G et al.: “Calibration of a subcutaneous Amperometric glucose sensor. Part I: Effect of measurement uncertainties on the determination of sensor sensitivity and background current”  
Biosens Bioelectron 17:641-646, 2002 [Medline]
- [Chr93] G.B. Christison, H.A. MacKenzie, P. Hodgson: “Laser Photoacoustic Determination of Physiological Glucose Concentration in Human Whole Blood”, Med.& Biol. eng. Comput. 1993: 31, 284-290
- [Cla89] Clarke: „Error-Grid-Analysis“, 1989
- [Con00] Consensus: “Error-Grid-Analyses: Bewertungsschema basierend auf Befragungsergebnissen von 100 “health care professionals““,  
Fa. Becton-Dickinson, Parkes et al. 2000
- [Dia03] Diabetes Research in Children Network(DirectNet) Study Group  
“The accuracy of the Gluco Watch G2 Biographer in children with type 1 diabetes: results of the diabetes research in children network (DirectNet) accuracy study”, Diabetes Technol Ther 5: 791-800, 2003
- [Dia07] Internetseite: [www.dias-infrared.de](http://www.dias-infrared.de)
- [Dia93] The Diabetes Control and Complications Trial Group:  
“The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus”  
N Engl J Med 1993;329:977-86

- [Ebs05] Internetseite: [www.ebs-thermography.com/manual/einflus\\_g.html](http://www.ebs-thermography.com/manual/einflus_g.html)
- [Gau94] Gilbert Gaussorgues: *“Infrared thermography”*, Verlag Chapman&Hall,1994
- [Gen07] Internetseite: [genome.ucsc.edu](http://genome.ucsc.edu)
- [Ger03] D.Meschede: *„Gerthsen Physik“*, Springer-Verlag, 22.Auflage 2003
- [Gfe07] Internetseite: [gfev.univ.tln.fr/Gluicides/Gluicides.htm](http://gfev.univ.tln.fr/Gluicides/Gluicides.htm)
- [Gie54] J. T.Gier, R. V. Dunkle, J. T. Bevans: *J. opt. Soc. Amer.* 44, 558 (1954).
- [Haa03] Dr. Cornelius Haas, Forschungsabteilung Thermographie, Daimler Chrysler Forschung, *persönliche Mitteilungen*
- [Har87] N. J. Harrick: *„Internal Reflection Spectroscopy“*, Harrick Scientific Coporation, 3.Auflage 1987
- [Hau97] H. Haussecker: *„Messung und Simulation von kleinskaligen Austauschvorgängen an der Ozeanoberfläche mittels Thermographie“*  
Dissertation, Heidelberg 1997
- [Hut91] D.P. Hutchinson : *“Personel glucose monitor”*, US Patent 5009230, 1991
- [Jag95] K.-U. Jagemann, C. Fischbacher et al.: *„Application of Near-infrared Spectroscopy for Non-Invasive Determination of Blood/Tissue Glucose Using Neural Networks“*, *Zeitschrift für phys. Chemie* 1995: Bd. 191, 179-190
- [Kap83] H.M. Kaplan, N.R. Brewer,W.H. Blair: *“Physiology”*  
In: Foster H.L., Small J.D., Fox J.G. (eds.): *“The mouse in biomedical research”*, Vol. 3; Academic Press; New York - London: 247-292, 1983

- [Kem01] K.R. Kemp: *“Experimentelle Untersuchungen zu Metabolismus und diabetischem Spätsyndrom nach Transplantation mikroverkapselter Inseln“*, Dissertation Justus-Liebig-Universität Gießen, 2001
- [Kin78] R. H. Kingston: *“Detection of Optical and Infrared Radiation”*, Springer Verlag, 1978
- [Klo05] David C. Klonoff: *“Contineous Glucose Monitoring: Roadmap for 21th century diabetes therapy”*, Diabetes Care 28: 1231-1239,2005
- [Klo98] David Klonoff: *“Mid-infrared spectroscopy for noninvasive blood glucose monitoring“*, University of California, Newsletter: Laser&Electro-Optics-Society, Apr.1998
- [Klü06] Ulrike Klüh, Zenghe Liu, Don Kreutzer: *„Continuous Glucose Monitoring in Normal Mice and Mice with Prediabetes and Diabetes“*  
Diabetes Technology & Therapeutics, Vol.8, No. 3, 2006
- [Köh04] Dr. Reinhard Köhler, Fa. Dias Infrared, *persönliche Mitteilung*
- [Kre06] Don Kreutzer, *persönliche Mitteilungen*, Farmington/Conn. , 2006
- [Kub05] T. Kubiak: *„Kontinuierliche Glukosemonitoring: Anwendungsperspektiven für die psychophysiologische Forschung“*, Vortrag, Universität Greifswald 2005
- [Kul03] Kulcu E, Tamada JA, Reach G, Potts RO, Lesho MJ: *“ Physiological differences between insterstital glucose and blood glucose measured in human subjects”*, Diabetes Care 26: 2405-2409, 2003
- [Lae06] Internetseite: [laerer.aarhusakademi.dk](http://laerer.aarhusakademi.dk)
- [Lie99] H.-G. Liebich, S. Reese, K.-H. Budras: *„Funktionelle Histologie der Haussäugetiere: Lehrbuch und Farbatlas für Studium und Praxis“*  
3. Aufl., Schattauer, Stuttgart, S. 303–324, 1999

- [Lin02] S.L. Lindstedt, P.J. Schaeffer: *“Use of allometry in predicting anatomical and physiological parameters of mammals”* Lab. Anim.; 36: 1-19, 2002
- [Lot05] Internetseite: [www.lot-oriel.com](http://www.lot-oriel.com)
- [Mal02] Carl D. Malchoff, K. Shoukri, J.I.Landau, J.M. Buchert: *“A novel noninvasive blood glucose monitor”*, Diabetes Care 25:2268-2275, 2002
- [Mar77] W.F. March: *“Non invasive glucose sensor system”*, US Patent 4014321, 1977
- [Mar93] R. Marbach, Th. Koschinsky, F.A.Gries, H.M. Heise: *„Non-invasive Blood Glucose Assay by Near-Infrared Diffuse Reflectance Spectroscopy of the Human Inner Lip“*, Appl. Spect. 1993: 47(7), 875-881
- [Mor03] Charles E. Mortimer, Ulrich Müller: *„Chemie: Das Basiswissen der Chemie“* Thieme Verlag, 8. Auflage 2003
- [Mpt05] MPT 2500: Gebrauchsanleitung, von [www.teamwavelength.com](http://www.teamwavelength.com)
- [Net97] Uwe Netz: *„Laser-Doppler-Blutflußmessung an der Haut“*, Diplomarbeit Technische Universität Berlin 1997
- [Pen03] Pentragon Medical (Zürich, Schweiz): *Mitteilung* Dec. 2003
- [Pfü04] Prof. Andreas Pfützner, Pentragon Medical (Zürich, Schweiz): *Vortrag*, Pressekonferenz 5.9.2004, München
- [Pot02] Potts RO, Tamada JA, Tierney MJ: *“Glucose monitoring by reverse iontophoresis”*, Diabetes Metab Res Rev 18 (Suppl.1): 49-53; 2002
- [Reg07] Internetseite: [www.regime-facile.fr](http://www.regime-facile.fr)

- [Ric98] W. Richter, W. Linss : „*Haut und Hautanhangsgebilde*“ in: W. Linss, J. Fasshänel (Hrsg.): „*Histologie, Zytologie, Allgemeine Histologie, Mikroskopische Anatomie*“. Walter de Gruyter, Berlin, New York, S. 307–321, 1998
- [Rie03] Silke Riedel: „*Vergleichende Untersuchungen zur dermalen Penetration und Permeation in Diffusionszellen*“, Dissertation, Tierärztliche Hochschule Hannover, 2003
- [Roe05] J.N. Roe, B.R. Smoller: “*Review of Bloodless Glucose Measurement*”  
Submitted for publication
- [Röm03] Dirk Römer: „*Untersuchungen zur künstlichen Beatmung bei der Maus (Mus musculus) mit dem UNO Micro-Ventilator*“, Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität München, 2003
- [Sch00] L.A. Schwarte, C.J. Zuurbier, C. Ince C.: „*Mechanical ventilation of mice*”  
Basic Res. Cardiol.; 95: 510-520, 2000
- [Sch05] Schweizer Tages-Anzeiger 09.02.2005
- [Sci05] Internetseite: [www.scitec.uk.com/optical\\_chopper/360c](http://www.scitec.uk.com/optical_chopper/360c)
- [Smo98] J. Smolle: “*Grundlagen der Dermatologie*“ in: B.M. Henz, H. Kerl, T. Rosenbach, W. Sterry (Hrsg.): „*Dermatologie und Venerologie*“, 2. Aufl., Walter de Gruyter, S. 1-18, 1998
- [Stu04] Barbara Stuart: „*Infrared spectroscopy*“, Wiley Verlag 1.Auflage, 2004
- [Tam04] Tamada JA, Davis TL, Leptien AD et al.: “*The effect of preapplication of corticosteroids on skin irritation and performance of the gluco Watch G3 Biographer* “, Diabetes Technol Ther 6: 357-367, 2004

- [Tho06] A. Thomas: „*Nanotechnologie, Nanosensoren und ihre Anwendung bei der Glukosemessung bei Patienten mit Diabetes mellitus*“,  
Electrón. J. Nanocs. Moletrón. 2006, Vol. 4, N° 2, 681-694
- [Win04] D. Winklmaier: „*Instrumentelle Analytik (Phys. Chem. Technik)*“,  
Vorlesung, Fachhochschule München, 2004

## 12. Danksagung

Herrn Prof. Michael Grunze möchte ich für dieses überaus spannende und fordernde Thema, sowie für eine sehr konstruktive Betreuung danken. In kritischen Zeiten konnte erst stets mit Tipps aufwarten, die das Gelingen dieser Arbeit deutlich voranbrachten bzw. diese erst ermöglichten. Vielen Dank dafür.

Ebenso möchte ich meinem physikinternen Betreuer, Prof. Christoph Cremer danken, der mit seinem Interesse an der Arbeit und seiner unkomplizierten Organisation die Durchführung dieser externen Arbeit sehr vereinfacht hat.

Dank steht weiterhin Dr. Ed Leiter zu, der mich in seine Arbeitsgruppe im Jackson Lab in Bar Harbor/Maine nett aufgenommen hat und mir bei biologischen Fragen immer zur Seite stand.

Ebenfalls möchte ich Dr. Angelika Bierhaus und ihrer Gruppe recht herzlich danken, die die Vorversuche in Heidelberg und damit eine erste Einschätzung der Funktion des Gerätes ermöglichten.

Großer Dank gebührt außerdem der Arbeitsgruppe um Don Kreutzer und Ulrike Klüh, die mir bei den Messungen in Farmington/ Conn. selbstlos zwei Wochen zur Seite standen und mir zur Gewinnung der überzeugendsten Ergebnisse dieser Arbeit verhalfen.

Desweiteren danke ich Dr. Michael Himmelhaus und David Baddaley für verbessernde Vorschläge bzgl. der optischen Anordnung innerhalb des gebauten Messgerätes.

Bei nahezu allen Mäuseversuchen im Jackson Lab hat mir Peter Reifsnyder geholfen. Ohne seine Hilfe wären fast alle dieser Versuche unmöglich gewesen. Recht herzlichen Dank dafür.

Sehr wichtig für die Erschaffung eines solchen Messgerätes ist natürlich die Elektronik-Crew, Peter Jeschka und Günther Meinusch. Für Ihre Hilfe bei der Planung und Erstellung der Schaltung sowie bei allen elektronischen und informatischen Fragen möchte ich mich zutiefst bedanken. Zusätzlich soll in diesem Zusammenhang noch Jeff Forthofer erwähnt werden, der

die technische Betreuung im Jackson Lab übernahm. Vielen Dank für die technische Unterstützung und das Verständnis elektrischer Probleme.

Neben den elektronischen Fragen gab es ebenso ingenieurtechnische Fragen zu lösen. Bei Problemen dieser Art konnte ich immer auf Reinhold Jehle zählen. Vielen Dank.

Weiterhin wäre diese Arbeit unmöglich gewesen ohne eine entsprechende mechanische Umsetzung des Aufbaus des Messgerätes. Hierfür gebührt der Dank der Werkstatt des Physikalisch-Chemischen-Instituts der Uni-Heidelberg um Meister Weiss und Meister Schmidt, sowie in besonderen Maße Herrn Neuwirth, der nahezu alle Teile angefertigt hat. Ergänzend gebührt Bernhard Haaf und Steffen Welz Dank für das Herstellen des Spiegels mittels Drahterosion.

Die Bedampfung des Spiegels übernahm Georg Albert, dafür und für Tipps zur Oberflächenbehandlung vielen Dank.

Für die intravenösen Versuche war ein chirurgischer Eingriff bei den Mäusen nötig, wofür ich Andrée Lapierre danken möchte.

Außerdem möchte ich Andrea Seehuber für jegliche Hilfe mit der IR- und ATR-Spektroskopie danken. Ferner möchte ich ihr für die moralische Unterstützung und ihren Beistand besonders an den sehr langen Arbeitstagen danken, das weiß ich sehr zu schätzen.

Auch möchte ich Sören Schilp für die Hilfe bei den AFM-Messungen und für die lustigen Pizzaabende im Institut danken.

Nicht zuletzt möchte ich mich bei Dr. Reiner Dahint bedanken, der mir bei vielen organisatorischen und physikalischen Problemen helfen konnte und Fragen aller Art jederzeit offen gegenüberstand.

Desweiteren möchte ich mich bei allen bedanken, die das Arbeitsklima und somit meinen Alltag in Heidelberg positiv beeinflusst haben und für lustige Gespräche jederzeit zu haben waren.

Auch soll die Gruppe in Maine mit F.Scheuplein, J. Driver, L. Bogdanik, C. Bradley, S. Maas, K. Jäger und Q. Hudson hier gesondert genannt werden. Sie sorgten dafür, dass ich mich dort in kürzester Zeit heimisch fühlte. Vielen lieben Dank für Eure Offenheit..

Am Schluss gebührt natürlich immenser Dank meinen Eltern, die mir in all den Jahren der Ausbildung jederzeit beistanden und geholfen haben. Diesen sicheren Rückhalt weiß ich wirklich sehr zu schätzen.

Ebenso möchte ich mich bei meiner restlichen Familie bedanken, die es immer wieder schafft mich aus meinen Alltag herauszulösen und die mich in allen Lebenslagen immer unterstützt hat.

Abschließend möchte ich noch allen recht herzlich danken, die zum Gelingen dieser komplexen Arbeit beigetragen haben, die ich jedoch bis jetzt nicht separat erwähnt habe.

Ich erkläre hiermit, dass ich vorliegende Dissertation selbst verfasst und mich keiner anderen als der von mir bezeichneten Quellen und Hilfsmittel bedient habe. Ich habe an keiner anderen Stelle ein Prüfungsverfahren beantragt bzw. die Dissertation in dieser oder anderer Form bereits anderweitig als Prüfungsarbeit verwendet oder einer anderen Fakultät als Dissertation vorgelegt.

Marcel Müller, Heidelberg, den 7.5.2007