

文章编号 1004-924X(2009)12-2893-06

# 血红蛋白浓度的光学测量方法与装置

黄 博<sup>1</sup>,姚玉峰<sup>1</sup>,姜瑞举<sup>2</sup>

(1. 哈尔滨工业大学(威海) 机器人研究所, 山东 威海 264209; 2. 威海医用高分子集团, 山东 威海 264209)

**摘要:** 为了实现全血中血红蛋白浓度的精确测定, 研制了便携式血红蛋白浓度光学测量系统, 对该系统的测量机理、浓度计算公式、药剂微片、测量装置及控制系统进行了研究。首先, 基于叠氮高铁血红蛋白溶液的吸收光谱曲线设计了二次吸收测量机理, 并明确了浓度计算公式。然后, 设计了供光学测量的微片, 对微片进行亲水处理以确保全血毛细管吸附, 并预填指定配方的药剂, 光学容腔的公差可确保光学测量的精度与一致性。最后, 给出了测量装置与控制系统的详细方案。该装置可在 30~60 s 内实现未稀释未溶血全血的在线快速测量。临床试验表明, 该方法与氰化高铁血红蛋白法相关性可达 0.983 6, 准确性达 96.32%。该测定仪具有便携、无毒和在线快速检测等特点, 适用于移动采供血、运动员机能评定以及家庭保健等。

**关键词:** 血红蛋白; 浓度测量; 光谱分析

**中图分类号:** TH773 **文献标识码:** A

## Optical measuring methods and apparatus for hemoglobin concentration in whole blood

HUANG Bo<sup>1</sup>, YAO Yu-feng<sup>1</sup>, JIANG Rui-ju<sup>2</sup>(1. *Robotics Institute at Weihai, Harbin Institute of Technology, Weihai 264209, China;**2. WeiGao Group, Weihai 264209, China)*

**Abstract:** A portable and accurate optical measuring system for hemoglobin is developed, and its measuring principle, concentration equation, medicament micro-tablet, measurement apparatus and control architecture are also studied. Firstly, the secondary absorb measurement mechanism is designed based on the absorbing spectrum of azide methemoglobin, and the concentration equation is derived. Then the micro-tablet for optical measuring is designed, in which the medicament micro-tablet is hydrophilic to insure the whole blood capillary absorption and to achieve the accuracy and consistency of optical measuring. Finally, the measuring mechanism and control system are introduced in detail, which demonstrates that the measuring system can detect the hemoglobin concentration within 30–60 s. Moreover, the clinical trials show that the correlation of the measurement results between the proposed method and the cyaniding methemoglobin ( $\text{Fe}^{3+}$ ) method is up to 0.983 6 and the veracity can be 96.32%. Because of the portability, no contamination and fast test on line, the instrument can be widely used in moving blood collecting, function judging of the athletes and family health cares.

**Key words:** hemoglobin; concentration measurement; spectral analysis

收稿日期: 2009-01-19; 修订日期: 2009-02-18.

基金项目: 国家 863 高技术研究发展计划资助项目 (No. 2007AA042105); 威海市科技攻关项目

## 1 引言

血红蛋白 (Hemoglobin, Hb) 是由血红素和球蛋白组成的球形大分子化合物, 其主要生理功能是运输氧和二氧化碳, 并对酸性物质起缓冲作用, 参与体内的酸碱平衡调节。成年人正常血红蛋白浓度在 11~16 g/dl。血红蛋白的测定是临床上应用最广、最多的必查项目, 是检查贫血的方法之一<sup>[1-4]</sup>。

目前国内移动采供血机构均采用硫酸铜滴定法进行血红蛋白测定, 而医院、检验检疫机构等则采用进口大型生化分析仪。前者存在自行配制误差大、易受环境温度影响等缺点, 后者仪器价格昂贵, 测试成本高<sup>[5-7]</sup>。国外常用的测试方法为试剂盒和干式生化分析法, 试剂盒法需要大型生化分析仪, 干式生化分析法产品主要有德国的 Reflotron IV 型全血干式生化分析仪和瑞典的 SWELAB 血液分析仪, 采用的均是波长比色法, 所需采血量较大, 测试时间长, 成本高。

本文基于叠氮高铁血红蛋白法研发了血红蛋白浓度测定系统, 只需将一滴全血注入一次性含药微片, 再将微片推入光感区即可实现在线测试。该系统操作简单, 分析快速准确, 便携且价格低廉, 在献血员、运动员机能评定和临床诊断以及家庭保健方面有直接、明确的需求。

## 2 血红蛋白测定原理

### 2.1 叠氮高铁血红蛋白法机理

Vanzetti 氏叠氮高铁血红蛋白法是利用去氧胆酸钠、亚硝酸钠和叠氮化钠将未稀释未溶血的全血反应生成有颜色的复合物<sup>[8-9]</sup>, 具体反应过程如下: 去氧胆酸钠溶解并分散红血球细胞膜, 使红细胞中的血红蛋白溶于溶液中。氧合血红蛋白和去氧血红蛋白中的二价铁离子被亚硝酸钠氧化成三价铁离子, 成为高铁血红蛋白, 高铁血红蛋白和叠氮化钠形成有颜色的复合物。

利用 420~1 000 nm 的光对叠氮高铁血红蛋白溶液进行扫描获得图 2 所示的吸收光谱曲线。

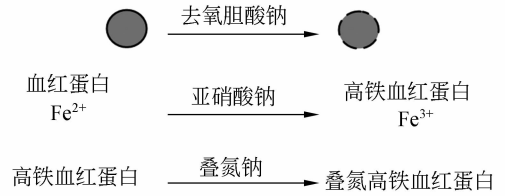


图 1 叠氮高铁血红蛋白反应图

Fig. 1 Azide methemoglobin chemical reaction process

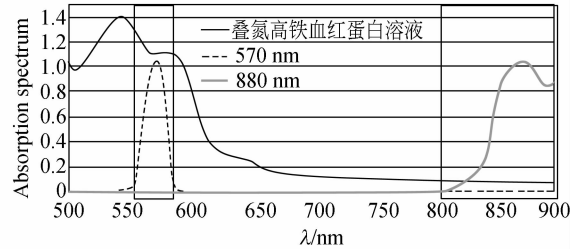


图 2 叠氮高铁血红蛋白溶液的吸收光谱曲线

Fig. 2 Absorption spectra of azide methemoglobin liquor

从该吸收光谱图可以看出, 叠氮高铁血红蛋白对 540 nm 波长的光吸收明显, 对 (570±5) nm 波长的光吸收效果相同, 而在 650~900 nm 区间基本不吸收。为克服反应生成的混合溶液中 5 种不同形式血红蛋白 (氧合血红蛋白、脱氧血红蛋白、碳氧血红蛋白、高铁血红蛋白和硫血红蛋白) 所占比例对吸收效果的影响, 采用 570 nm 作为第一次吸收测量波长。同时为补偿光的散射, 第二次吸收测量在血液光吸收相对小的波长处进行, 文中选择 880 nm 波长的近红外光。

### 2.2 浓度计算公式

按照 Lambert-Beers 法则<sup>[10]</sup>, 当一束单色光通过含有吸光物质的溶液后, 溶液的吸光度  $A$  与吸光物质浓度  $c$  及吸收层厚度  $b$  成正比, 即

$$A = \epsilon bc. \quad (1)$$

由于本血红蛋白测定仪采用双色发光二极管作为光源, 用发射波长为 570 nm 的单色光进行测量, 波长为 880 nm 的单色光进行散射补偿。于是浓度计算公式 (1) 可修正为:

$$Hb_{\text{tot}} = (Ab_1 - Ab_2) \cdot k + F(Ab_2), \quad (2)$$

式中:  $Hb_{\text{tot}}$  是样品中血红蛋白的总浓度;

$Ab_1$  是第一次吸收测量的吸收度;

$Ab_2$  是第二次吸收测量的吸收度;

$k$  为校准系数,取决于测量设备;

$F(Ab_2)$  是取决于所第二次吸收测量的吸收度的函数。

如图 3 简化模型所示,当两束波长的光透过分析血样微片时,可由下式得出式(2)中( $Ab_1 - Ab_2$ ):

$$Ab_1 - Ab_2 = A = \log \frac{\frac{P_{0-570} - P_{D-open}}{P_{570} - P_{D-close}}}{\frac{P_{0-880} - P_{D-open}}{P_{880} - P_{D-close}}}, \quad (3)$$

其中: $P_{0-570}$  和  $P_{0-880}$  分别表示在不放置测试溶液的情况下发射 570 nm 和 880 nm 波长光时光敏单元检测到的光强; $P_{570}$  和  $P_{880}$  分别表示在有测试溶液时,发射 570 nm 和 880 nm 波长光时光敏单元检测到的光强; $P_{D-open}$  和  $P_{D-close}$  表示在推拉杆拉出和推拉杆推进时,光源不发光时光敏单元检测到的光强。

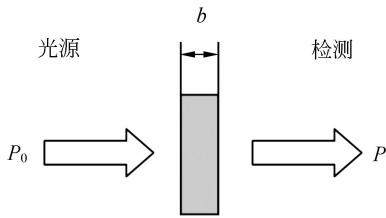


图 3 短光路测量示意图

Fig. 3 Sketch map of short optical path measurement

补偿函数  $F(Ab_2)$  由一个恒定部分和一个可变部分组成,恒定部分是对各种仪器的校准,而可变部分取决于第二次吸收测量的结果。利用高低浓度的血红蛋白所做吸收对比实验表明,当使用与吸收水平成比例的补偿时,可得到血红蛋白浓度的正确值,为此补偿函数中的可变部分为 0。于是血红蛋白浓度计算公式:

$$c = k \times A + n, \quad (4)$$

式中: $k$  为比例系数,对于用于血红蛋白测量的各种仪器是特异性的, $n$  为偏移量。

利用两种不同浓度的血红蛋白标准液,测量其对应的吸光度,便可计算得出  $k$  和  $n$ 。

### 3 血红蛋白测定仪系统

基于上述测定机理,研制的血红蛋白测定仪系统(图 4)由测量机构、含有配方药物的一次性微片、控制系统、打印机和扫描头构成。

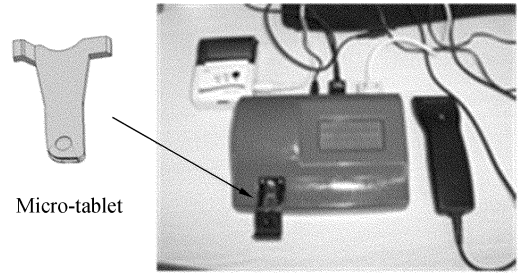


图 4 血红蛋白测定仪

Fig. 4 Hemoglobin apparatus

#### 3.1 微片

微片是血红蛋白测定仪系统中主要的一次性耗材,采用透明聚合材料注射模塑而成,其最为重要的部分为一个可供光学测量的管腔区域,管腔内壁固化指定配方的化学反应药剂,管腔设计容积为  $10 \mu\text{l}$ ,其两个平行平面设计距离为  $0.15 \times (1 \pm 0.05) \text{ mm}$ ,此方案可确保通过微片测量区域的光强及误差满足定量测量需求。此外,为克服容腔的毛细填充困难与填充程度差异,预先对容腔进行了亲水处理,使其表面具有亲水性。

#### 3.2 测量机构

测量机构如图 5 所示,光源安装于测量机构支撑架上盖,光接收单元固定在底座上。承载微片的推拉杆通过双导轨在滑台上滑动,当推拉杆由操作者拉出后可放置或更换微片;轻推推拉杆,在弹簧力的作用下拉杆自动缩回;为避免推拉杆和后端止推机构发生剧烈碰撞,采用了阻尼轮结构。当推拉杆推进到位,光源、微片的光眼及光接收单元处于同一轴线上,硅光电池接收透过光眼的不同波长的光,并转换为电流信号送至控制系统。

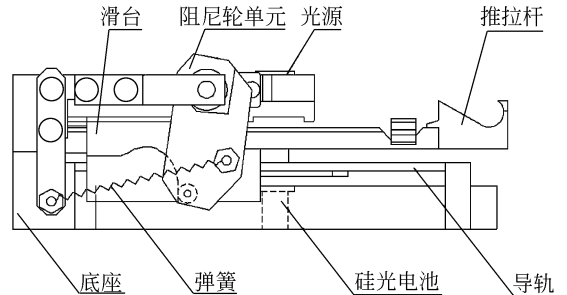


图 5 测量机构示意图

Fig. 5 Sketch map of measurement mechanism

#### 3.3 控制系统

控制系统如图 6 所示,利用单片机 MSP430

f149 自身的功能和外围扩展电路,实现双波长检测光的控制、硅光电池信号的检测、温漂补偿以及触摸屏的控制。

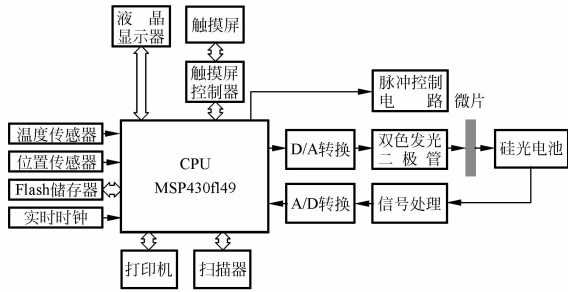


图 6 控制系统原理框图

Fig. 6 Flow diagram of control architecture

由于光源采用的双色发光二极管具有温度漂移特性,系统温度的变化将引起光强的变化,从而影响测试结果,为此,控制系统配置了温漂自消除电路。同理,不同双色发光二极管自身特性的差别导致浓度计算公式的  $k$  和  $n$  值不同。为简化  $k$  和  $n$  值的标定,控制系统通过双色发光二极管的发光强度进行调整,具体电路如 7 所示。

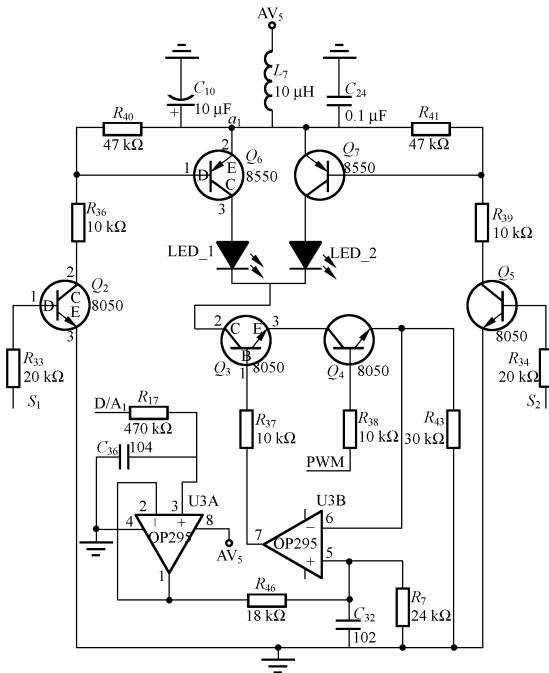


图 7 发射光源控制电路

Fig. 7 Diagram of optical source emission control

在此电路中,PWM 为工作控制信号, $S_1$  和  $S_2$  分别为 LED\_1 (570 nm)和 LED\_2 (880 nm)的控制端口;单片机引出的 D/A 信号用于调整

$Q_3$  基极电压,使其工作在放大区,通过改变 D/A 口输出的电压值,使  $Q_3$  的电流发生变化,从而改变 LED\_1 和 LED\_2 的发光强度,实现  $k$  和  $n$  的校准,而无需通过标准液实现。此外,温度变化引起光强波动时, $Q_4$  输出端的采样电压也将按规律随之波动,从而通过放大器 OP295 反馈至  $Q_3$  基极电压,实时消除温漂的影响。

### 3.4 血红蛋白浓度计算公式的确定

为获取血红蛋白测定仪系统中浓度计算公式中的  $k$  和  $n$  值,采用不同浓度的血红蛋白标准液进行标定,根据测量所得的数据进行标定曲线拟合,如图 8 所示,在相关系数  $R$  达到 0.992 87 时,拟合后的浓度计算公式为: $c = 172.04779A + 9.4432$ 。

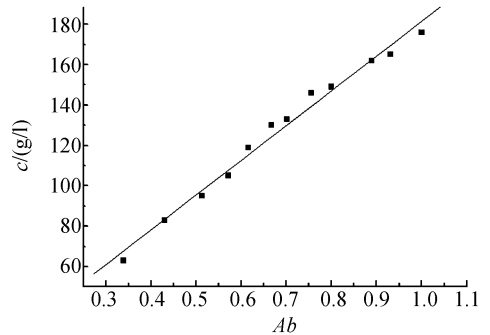


图 8 标定曲线

Fig. 8 Calibration

### 3.5 软件系统

由于 C 语言的结构化和高效性更能满足程序设计的要求,本程序源代码使用 C 语言编写,采用菜单操作形式,人机界面非常友好。

软件系统主要包括设置、记录查询和测试 3 大部分。设置部分主要完成对时钟、操作语言和显示单位等参数的设置;记录查询部分可保存最近测试过的 100 份试样测试信息,并能在该界面下打印出所有或特定测试信息;测试部分分成 4 大步骤:(1)以未改变的全血样品填充一次性微片;(2)用 570 nm 波长的光对样品进行第一次吸收测量;(3)进一步利用 880 nm 波长的光对样品进行第二次吸收测量;(4)最后使用预定算法处理测量结果以测定样品中的血红蛋白浓度。

## 4 系统试验

测试对象是全血,测试条件为室温,利用广

为认可的氰化血红蛋白法以及本文研制的血红蛋白测定仪进行血红蛋白浓度测量,评价示意图如下:

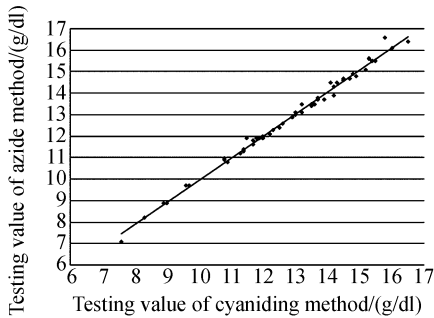


图 9 氰化法和叠氮法测试值相关性对比

Fig. 9 Testing value relativity between cyaniding and azide methods

## 参考文献:

- [1] 张评. 适用于流动采血站的血红蛋白测定新方法[J]. 中国输血杂志, 2005, 18(2): 141-142.  
ZHANG P. New method of hemoglobin measurement be applicable to mobile blood bank[J]. *Chinese Journal Blood Transfusion*, 2005, 18(2): 141-142. (in Chinese)
- [2] 王慧, 田青, 蔡新霞. 用于血红蛋白快速检测的台式检测仪[J]. 高技术通讯, 2006, 16(10): 1039-1042.  
WANG H, TIAN Q, CAI X X. An instrument for rapid test of hemoglobin[J]. *Chinese High Technology Letters*, 2006, 16(10): 1039-1042. (in Chinese)
- [3] 刘莉, 邢玉梅. 氰化高铁血红蛋白测定方法的质量控制[J]. 山西医药杂志, 2005, 34(2): 169-170.  
LIU L, XING Y M. Quality control of cyanide methemoglobin measurement method[J]. *Shanxi Medical Journal*, 2005, 34(2): 169-170. (in Chinese)
- [4] 章荣明. 高铁氰化血红蛋白的测定在推广应用中的若干问题及其质量控制[J]. 中华医学检验杂志, 1980, 3(3): 164-168.  
ZHANG R M. Problem and quality control of cyanide methemoglobin measurement application[J]. *Chinese Journal of Laboratory Medicine*, 1980, 3(3): 164-168. (in Chinese)
- [5] 胡秋雯, 于相丽. 一种无氰化物测定血红蛋白的分光光度法[J]. 分析测试学报, 2007, 27(2): 209-

由图 9 的数据可知, Hb 的测试值在 8.0~16 范围内具有很好的线性关系, 样品数  $n=50$  时, 两者的相关系数达到 0.983 6, 准确度达到 96.32%。

## 5 结 论

本血红蛋白测定仪基于叠氮高铁血红蛋白法, 采用一次性配方微片进行测试, 实现了 30~60 s 内对全血中血红蛋白浓度的定量测量, 精度达到 0.1 g/dl。

相对于目前市面上用于测试血红蛋白浓度测定的大型生化分析仪, 本文研制的测试仪便于携带且精度较高, 所以在移动采供血机构、对运动员现场检测和临床医学上具有广泛的应用前景。

211.

- [6] 王耀华. 血液中血红蛋白含量的测定[J]. 化工时刊, 2007, 27(3): 17-23.  
WANG Y H. Detection of hemoglobin in human blood[J]. *Chemical Industry Times*, 2007, 27(3): 17-23. (in Chinese)
- [7] 李晓燕, 张元勤. 一种高灵敏度测定血红蛋白的荧光分析法[J]. 分析化学研究简报, 2005, 1(33): 54-56.  
LI X Y, ZHANG Y Q. Highly sensitive spectrofluorimetric determination of hemoglobin based on hemoglobin enzymatic activity to catalyze the oxidation of bis (Salicylaldehyde)-o-phenylenediamine [J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2005, 1(33): 54-56. (in Chinese)
- [8] VANZETTI G. An azide-methemoglobin method for hemoglobin determination in blood [J]. *Am. J. Lab. & Clin. Med.*, 1966, 67(1): 116-126.
- [9] SCHENCK H, FALKENSSON M. Evaluation of "HemoCue", a new device for determining hemoglobin [J]. *Clinical Chemistry*, 1986, 32(3): 525-529.
- [10] 罗云翰, 陈哲, 陈星旦. 近红外光谱无创血糖测量的极限检测浓度[J]. 光学精密工程, 2008, 16(5):

785-788.

LUO Y H, CHEN ZH, CHEN X D. Detection limit of glucose concentration in noninvasive sens-

ing with near infrared spectroscopy[J]. *Optics and Precision Engineering*, 2008, 16 (5): 785-788. (in Chinese)

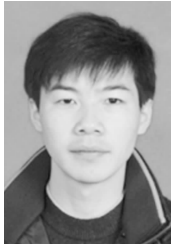
#### 作者简介:



黄 博(1974—),男,湖南人,博士,副教授,1996年,1998年,2007年于哈尔滨工业大学分别获得学士、硕士、博士学位,主要研究方向为医疗装备和微小移动机器人技术。E-mail: huang-bo74@163.com



姜瑞举(1968—),男,山东人,工程师,主要研究方向为生物药剂。E-mail: whjrj007@163.com



姚玉峰(1978—),男,安徽人,博士,副教授,2000年,2002年,2009年于哈尔滨工业大学分别获得学士、硕士、博士学位,主要研究方向为医疗装备及助老助残机器人系统。E-mail: yyf1023@163.com

#### ●下期预告

## 用于无模光刻的连续浮雕谐衍射透镜阵列设计

单明广<sup>1,2</sup>, 钟 志<sup>1</sup>, 郭黎利<sup>1</sup>

(1. 哈尔滨工程大学 信息与通信工程学院, 黑龙江 哈尔滨 150001;

2. 哈尔滨工业大学 超精密光电仪器工程研究所, 黑龙江 哈尔滨 150001)

为了获得实时调焦写入以及高的系统分辨力和衍射效率,提出了一种基于连续浮雕谐衍射透镜阵列的无模光刻方法。该方法采用连续浮雕谐衍射透镜阵列作为无模光刻的物镜阵列,在兼顾系统分辨力和衍射效率基础上,使聚焦写入和检焦由同一衍射透镜阵列实现;同时利用谐衍射透镜的深浮雕特性调制透镜的环带宽度,降低透镜的制作难度。在分析谐衍射透镜特点以及考虑激光直写制作工艺对连续深浮雕衍射聚焦特性影响的基础上,设计、制作并测试了设计波长为 441.6 nm, F/# 为 7.5 的连续浮雕谐衍射透镜阵列。测试结果表明,该阵列同时具有聚焦写入和检焦功能,且对写入激光和检焦激光的衍射效率均优于 70%,从而有望改善无模光刻的制作质量。