

Strona czasopisma: <http://analit.agh.edu.pl/>

Monitoring gazów jelitowych jako metoda oceny wskaźników biomedycznych w diagnostyce ostrego zapalenia trzustki – modernizacja układu pomiarowego w oparciu o materiały funkcjonalne

Intestinal gas monitoring as a method for evaluating biomedical indicators in the diagnosis of acute pancreatitis - upgrading the measuring system based on functional materials

Mateusz Żółtek, Bogusław Baś

AGH Akademia Górniczo-Hutnicza, Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki, al. Mickiewicza 30, 30-059 Kraków

ABSTRAKT: Przedmiotem pracy była modernizacja stanowiska badawczego przeznaczonego do monitorowania gazów wytwarzanych przez wybrane kultury bakterii, hodowane w warunkach sterylnych i w temperaturze odpowiadającej temperaturze ciała ludzkiego. Głównym celem projektu było udoskonalenie układów elektronicznych współpracujących z czujnikami wykrywającymi wodór, tlen oraz siarkowodór, a także analiza kluczowych parametrów ich pracy: stabilności sygnału, czasu odpowiedzi i dokładności pomiaru. W ramach badań przeprowadzono testy z użyciem gazów wzorcowych, które umożliwiły ocenę precyzji pomiarowej oraz identyfikację problemów związanych z niestabilnością sygnałów i zakłóceniami elektromagnetycznymi. W odpowiedzi na zidentyfikowane trudności opracowano i wdrożono modyfikacje układów elektrycznych, obejmujące m.in. zastosowanie wzmacniaczy operacyjnych o wysokiej precyzji oraz filtrów odkłócających. W wyniku przeprowadzonych działań uzyskano stanowisko umożliwiające bardziej dokładne i stabilne pomiary stężenia gazów, co stwarza solidną podstawę do dalszych badań nad rolą gazów jelitowych w mechanizmach rozwoju ostrego zapalenia trzustki oraz nad aktywnością wybranych kultur bakterii. Ostateczne wyniki wskazują jednak na potrzebę dalszych udoskonaleń systemu w celu pełnego osiągnięcia założeń badawczych.

ABSTRACT: The subject of the study was the modernization of a test bench designed to monitor gases produced by selected bacterial cultures, grown under sterile conditions and at a temperature corresponding to that of the human body. The main objective of the project was to improve the electronic circuits working with sensors detecting hydrogen, oxygen, and hydrogen sulphide, as well as to analyze their key performance parameters: signal stability, response time and measurement accuracy. As part of the research, tests were carried out using reference gases to assess measurement precision and identify problems related to signal instability and electromagnetic interference. In response to the difficulties identified, modifications to the electrical systems were developed and implemented, including the use of high-precision operational amplifiers and interference filters. As a result of these activities, a stand was obtained that allows more accurate and stable gas concentration measurements, providing a solid basis for further research into the role of intestinal gases in the mechanisms of acute pancreatitis development and the activity of selected bacterial cultures. However, the results indicate the need for further improvements to the system to fully achieve the research objective.

Słowa kluczowe: trzustka, ostre zapalenie trzustki, bakterie, czujniki elektrochemiczne gazów, wodór, siarkowodór, tlen

1. Wstęp

Choroby trzustki zazwyczaj charakteryzują się ciężkim przebiegiem i licznymi dolegliwościami bólowymi. Często ich leczenie jest długotrwałe i kosztowne, a w niektórych przypadkach może być niemożliwe. Jedną z najczęściej występujących a za razem najbardziej niebezpiecznych chorób trzustki jest ostre zapalenie trzustki (OZT). Każdego roku na OZT choruje kilkadziesiąt na 100 tysięcy osób. Pomimo, że zachorowalność na OZT nie jest wysoka to jej leczenie jest bardzo trudne i wiąże się

z koniecznością operacyjnego usuwania martwiczych części narządu. W przypadkach, w których choroby nie zdiagnozowano odpowiednio wcześniej (zwykle do tygodnia od pojawienia się pierwszych objawów) leczenie jest już niemożliwe i kończy się śmiercią pacjenta. Śmiertelność może dotyczyć 10 - 50% przypadków ciężkich choroby [1,2].

W świetle najnowszych badań klinicznych rośnie zainteresowanie rolą mikrobioty jelitowej w rozwoju i progresji OZT. Jedną z analizowanych hipotez jest nadprodukcja gazów przez bakterie jelitowe, która może prowadzić do wzrostu ciśnienia w świetle jelita cienkiego i w efekcie – do mechanicznego otwarcia przewodu trzustkowego. Niniejszy artykuł koncentruje się na możliwości udoskonalenia systemu pomiarowego gazów, który opracował mgr inż. Oskar Henzler. System Henzlera został zaprojektowany z myślą o współpracy Wydziału Inżynierii Materiałowej i Ceramiki Akademii Górniczo-Hutniczej z Wydziałem Lekarskim Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w zakresie badania mechanizmów rozwoju ostrego zapalenia trzustki oraz wpływu gazów produkowanych przez bakterie jelitowe na przebieg choroby i rokowania terapeutyczne. Cel nadrzędny tych badań to weryfikacja hipotezy, że jednym z głównych czynników wpływających na rozwój ostrego zapalenia trzustki jest nadmierna produkcja gazów przez bakterie jelitowe, w trakcie której może dojść do fizycznego otwarcia światła trzustki oraz aktywacji enzymów trzustkowych w jej wnętrzu. Prace badawcze z wykorzystaniem hodowli wybranych kultur bakterii, w warunkach sterylnych i temperaturze odpowiadającej ciepłocie ludzkiego ciała dotyczyły odkrycia przyczyny nadmiernej produkcji gazów oraz warunków, które temu sprzyjają. Jednocześnie zidentyfikowano trudności związane z analizą składu chemicznego syntezowanych gazów przy użyciu instrumentalnych metod pomiarowych, takich jak chromatografia gazowa. Jak potwierdzono, problemy te wynikają głównie z konieczności odpowiedniego poboru i przygotowania próbek oraz konieczności stosowania wzorcowych mieszanin gazów oznaczanych. W odpowiedzi na te wyzwania podjęto próbę udoskonalenia prototypowego stanowiska pomiarowego, umożliwiającego ciągły monitoring stężenia produkowanych gazów na różnych etapach rozwoju / aktywności prowadzonych kultur bakterii. W tym celu przeprojektowano układy elektroniczne, uzupełniając je o aktywne elementy odsprężające oraz układy wzmacniaczy, wykonano i zmontowano moduły pomiarowe w technologii HDI PCB i zbudowano nowy zasilacz wolny od tętnień napięcia. Tak zmodernizowany system wyposażony w odpowiednie, komercyjnie dostępne czujniki gazów, poddano wzorcowania i ocenie użyteczności funkcjonalnej.

2. Metodyka i realizacja projektu

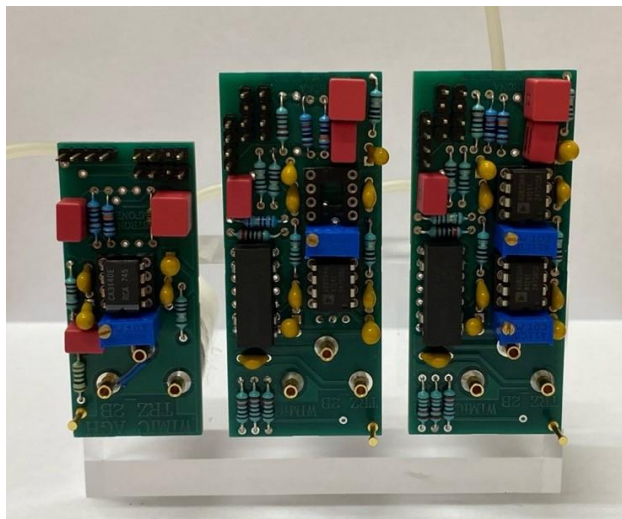
W pracy wykorzystano trzy elektrochemiczne czujniki gazów firmy SGX Sensortech, w tym: EC4-1000-H2 (detekcja wodoru), EC4-1000-H2S (detekcja siarkowodoru) oraz SGX-4OX (detekcja tlenu). Czujniki te wykorzystują procesy elektrochemiczne zachodzące pomiędzy oznaczanym gazem a elektrodą pracującą wewnątrz korpusu czujnika. Proces elektrochemicznego utleniania gazu, zachodzący na elektrodzie pracującej jest zbilansowany reakcją elektroredukcji na elektrodzie pomocniczej. W efekcie, w obwodzie elektrody pracującej generowany jest prąd elektryczny, którego wartość jest proporcjonalna do stężenia gazu w otoczeniu czujnika. W **Tabeli 1** zestawiono podstawowe parametry metrologiczne czujników użytych do budowy systemu. Parametr t_{90} wyrażony w jednostce czasu informuje po jakim czasie od kontaktu z gazem, odpowiedź czujnika osiągnie 90% sygnału nominalnego dla tego stężenia gazu.

Tabela 1. Porównanie parametrów zastosowanych czujników firmy SGX Sensortech [3,4,5].

	Temperatura pracy [°C]	Czułość [nA/ppm]	Czas odpowiedzi t ₉₀ [s]
EC4-1000-H2	(-20) – (+50)	10 – 30	70
EC4-1000-H2S	(-20) – (+50)	50 – 130	45
SGX-40X	(-30) – (+50)	50 – 90	10

Praca z systemem HENZLERA udowodniła, że moduły przetworników, zmontowane na uniwersalnych płytkach drukowanych i w oparciu o typowe układy wzmacniaczy operacyjnych są nieodporne na działanie zewnętrznych pól elektromagnetycznych, których źródłem mogą być np. telefony komórkowe. W efekcie małe sygnały (prądy) generowane przez czujniki, cechują się niesatysfakcjonującym stosunkiem sygnału do szumu (S/N), a tym samym niską precyzją i dokładnością pomiaru. W celu poprawy jakości parametrów sygnału analitycznego w stopniach wejściowych przetworników sygnału zastosowano instrumentalne wzmacniacze operacyjne AD820 o bardzo niskim prądzie wejściowym i znikomym napięciu niezerównoważenia. Wzmacniacz operacyjny AD820 jest precyzyjnym układem pomiarowym przeznaczonym do zastosowań wymagających dużej stabilności sygnału i odporności na zakłócenia zewnętrzne. Posiada dwa wejścia: nieodwracające (-) i odwracające (+) oparte na technologii tranzystorów jedno-złączowych typu FET oraz jedno niesymetryczne wyjście, na którym generowane jest napięcie proporcjonalne do prądu płynącego pętlą ujemnego sprzężenia zwrotnego, oznaczane symbolem V_{out} . Sygnał wyjściowy wzmacniacza operacyjnego może być wzmacniany w dowolnym stopniu, w zależności od wartości rezystancji dobranych oporników dzielnika napięcia i wartości napięcia różnicowego wytwarzanego przez czujnik. Symetryczny układ zasilania wzmacniacza dostarcza niskotętniące napięcie $\pm 9V$, dodatkowo filtrowane przez filtry RC niskiej częstotliwości, zamontowane bezpośrednio przy wzmacniaczu. Linie zasilające zabezpieczono biernymi ogranicznikami prądu chroniącymi wzmacniacze przed zwarciami. Typowe wzmocnienie wzmacniacza AD820 wynosi 120 dB, a minimalny prąd wyjściowy to ok. 15 mA. Linie sygnałowe z rozwieranymi kontaktami elektrycznymi bazujące na nieekranowanych przewodach wstążkowych odklócono stosując zespoły tantalowych kondensatorów elektrolitycznych i kondensatorów poliestrowych, które eliminowały zakłócenia generowania na drodze indukcji elektromagnetycznej. Na wyjściu modułu przetwornika, a przed kartą 12-bitowych przetworników analogowo-cyfrowych zamontowano filtr dolnoprzepustowy z rezystorem (10 k Ω) i kondensatorem poliestrowym (6.8 nF). Wszystkie elementy elektroniczne i złączą zmontowano na dwustronnych płytkach drukowanych HDI PCB (**Fotografia 1**).

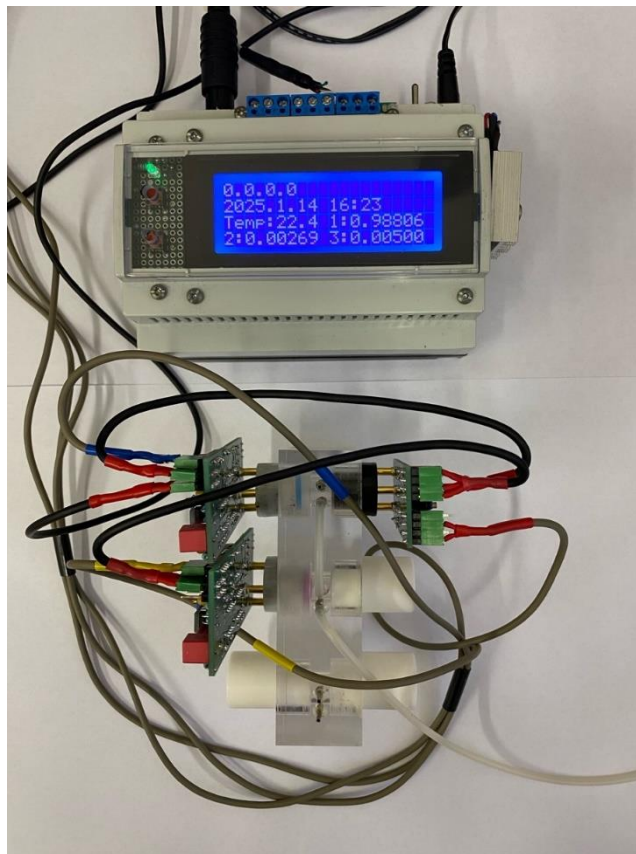
Moduły prototypowe zmontowano na podstawie schematów elektrycznych poglądowych, zalecanych przez producenta czujników, czyli firmę SGX Sensortech, uzupełnionych o dodatkowe elementy, których zasadność stosowania potwierdziły testy systemu HENZLERA oraz elementy przewidziane i zamontowane, ale dołączane tylko w przypadku pojawienia się sygnałów zakłócających w miejscu użytkowania nowego, zmodernizowanego systemu pomiarowego. Do elementów dodatkowych zaliczały się m.in. rezystory i kondensatory ustalające punkty pracy wzmacniaczy operacyjnych. Miały one istotny wpływ na parametry jakościowe i funkcjonowanie systemu jako całości. Po zmontowaniu i uruchomieniu systemu zestawiono kompletne stanowisko pomiarowe i w warunkach przepływu testowanych gazów, tj. wodoru, tlenu i siarkowodoru, w szafce termostatycznej, w temperaturze 37°C dokonano niezbędnych pomiarów, które pozwoliły określić zarówno poziom tętnień sygnałów zasilających jak i wyjściowych, a także czas stabilizowania się odpowiedzi czujników, stabilność długoczasową, oraz odporność na zakłócenia elektromagnetyczne i pojemnościowe.



Fotografia 1. Kompletne moduły elektroniczne współpracujące z czujnikami firmy SGX Sensortech.

3. Wyniki i analiza danych

Na początkowym etapie badań przepływowy układ pomiarowy, w którym zamocowano ściśle czujniki był wypełniony wyłącznie powietrzem atmosferycznym. W tych warunkach wartości sygnałów napięciowych generowanych przez czujniki wodoru i siarkowodoru stabilizowały się na poziomie kilku miliwoltów, natomiast sygnał pochodzący z czujnika tlenu osiągał wartość ok. 980 mV. Wysoka wartość sygnału odpowiedzi dla czujnika tlenu odpowiada ciśnieniu parcjalnemu (stężeniu objętościowemu) tlenu w powietrzu. W trakcie eksperymentów obserwowano niestabilność oraz tętnienie rejestrowanych sygnałów. W kolejnym etapie eksperymentu wprowadzono do układu czysty wodór, otrzymany w reakcji cynku z rozcieńczonym kwasem solnym. Zaobserwowano natychmiastowe obniżenie sygnału napięcia w kanale czujnika tlenu, co było wynikiem wypierania tlenu przez wodór z komórki pomiarowej i zmniejszaniem jego ciśnienia parcjalnego. Jednocześnie czujnik wodoru odpowiedział gwałtownym wzrostem sygnału, wynikającym ze wzrostu stężenia wodoru. Czujnik siarkowodoru również zareagował wzrostem sygnału, co wskazuje na jego wrażliwość na wodór w stężeniu powyżej 1000 ppm o czym donosi producent SGX Sensortech. Po zakończeniu eksperymentu i wysyceniu naczynia pomiarowego powietrzem atmosferycznym odnotowano ujemne napięcie w kanale czujnika wodoru, co może wskazywać na jego wadliwe działanie a nawet uszkodzenie. Tak postawiona hipoteza wymagała weryfikacji, dlatego w kolejnym kroku badań czujniki testowano w powietrzu atmosferycznym i w atmosferze wodoru, ale do pomiaru sygnałów użyto multimetru cyfrowego CD771 firmy SANWA zamiast karty przetworników analogowo-cyfrowych. W tych warunkach wszystkie czujniki reagowały prawidłowo. Nie zaobserwowano wahań lub tętnień sygnałów. Oporność wyjściowa multimetru wynosi 20 M Ω /V więc zmontowane moduły wyposażone w układy wzmacniaczy operacyjnych AD820 nie były obciążone prądem wejściowym przetworników ADC i odczytywane wartości ze wszystkich kanałów były stabilne. Weryfikując przypuszczenie, że powodem niestabilności sygnałów i odczytu wartości „przypadkowy” na wejścia układów ADC sprzężonych z modułem mikrokontrolera ARDUINO podawano sygnały z dzielnika napięcia zasilanego z szeregowo połączonych baterii. W tych warunkach układ działał poprawnie i stabilnie, a wskazywane wartości były utrzymywane przez wiele godzin. Oszacowane prądy wejściowe układów ADC wynosiły ok. 10-20 mA, co wskazywało na zbyt duże obciążenie prądowe wzmacniaczy operacyjnych. Dalsze badania w tym zakresie wymagają wymiany układów przetworników z wejściem prądowym na przetworniki z wejściem napięciowym.



Fotografia 2. Kompletne stanowisko pomiarowe (fotografia własna).

4. Wnioski

Praca stanowiła istotny krok w kierunku modernizacji i optymalizacji budowy stanowiska badawczego przeznaczonego do monitorowania gazów generowanych przez prowadzone kultury bakterii w warunkach sterylnych i temperaturze odpowiadającej ciepłocie ciała ludzkiego. Kluczowym elementem było opracowanie nowej wersji systemu elektronicznego współpracującego z czujnikami gazów, co obejmowało przeprojektowanie schematów elektrycznych oraz wykonanie drukowanych płytek obwodów elektrycznych w technologii HDI PCB. Dokonane modyfikacje pozwoliły wyeliminować wpływ zakłóceń zewnętrznych na sygnały analityczne odpowiedzi czujników oraz umożliwiły poprawę takich parametrów jak stosunek sygnału do szumu (S/N), stabilność i powtarzalność pomiaru. Wyniki badań wstępnych wskazują, że zaprojektowane układy są funkcjonalne i dobrze przystosowane do współpracy z czujnikami wodoru, siarkowodoru i tlenu produkcji SGX Sensortech. Ograniczenia czasowe oraz finansowe uniemożliwiły przeprowadzenie kompleksowych testów z użyciem mieszanek gazów wzorcowych, zwłaszcza siarkowodoru i tlenu. Brak możliwości przeprowadzenia testów w tym zakresie uniemożliwił wzorcowanie i walidację parametrów jakościowych systemu, takich jak dokładność, czas odpowiedzi czy długoterminowa stabilność odpowiedzi. Szczególnie istotnym problemem, który ujawnił się podczas pracy systemu, była niestabilność działania przetworników ADC sprzężonych z układem mikrokontrolera, zwłaszcza przy równoczesnym podłączeniu wszystkich czujników, co skutkowało przeciążeniem prądowym wzmacniaczy operacyjnych. Układ funkcjonował poprawnie jedynie w warunkach podłączenia jednego czujnika, wykazywał nieznaczne odchyłki sygnału przy podłączeniu dwóch czujników i znacząco mylił się, gdy podłączano równolegle trzy czujniki.

W świetle powyższych obserwacji, kontynuacja prac nad systemem powinna się koncentrować na zapewnieniu stabilności pracy układów przy pełnym obciążeniu prądowym, a zatem sprowadzać się do dobudowania dodatkowych stopni wzmacniających lub co jest prostsze do zastąpienia przetworników ADC z wejściami prądowymi na wejścia napięciowe. Można też rozważyć zastosowanie zamienników wzmacniacza operacyjnego AD820 na wzmacniacz instrumentalny o wyższym prądzie wyjściowym. Ostatecznie wykazano duży potencjał metrologiczny zmodernizowanego systemu, a zarazem konieczność prowadzenia dalszych prac badawczo-rozwojowych, w kierunku prawidłowego przetwarzania rejestrowanych sygnałów elektrycznych, co może przynieść przełomowe wyniki w diagnostyce i farmakoterapii OZT.

Literatura

- [1] Zielińska, D., & Durlik, M., Quality of life in patients after pancreas resection – review paper. *Gastroenterology Review*, Vol. 5, 2010, s. 83-87
- [2] Mederos, M. A., Reber, H. A., & Girgis, M. D., Acute pancreatitis: a review. *Jama*, Vol. 325 No. 4, s. 382-390
- [3] EC4-1000-H2 Hydrogen Electrochemical Sensor, karta katalogowa czujnika firmy SGX Sensortech
- [4] EC4-1000-H2S Hydrogen Sulfide Electrochemical Sensor, karta katalogowa czujnika firmy SGX Sensortech
- [5] SGX-40X Industrial Oxygen Sensor, karta katalogowa czujnika firmy SGX Sensortech