

Versuchsziel:

Untersucht werden die Verwendung und das Verhalten von Gassensoren mit elektrochemischen Zellen. Für die Anwendung wird das ausgeatmete Stickstoffmonoxid (FeNO) mithilfe dem Messgerät Aerocrine-NIOX gemessen.

Lehrinhalt:

Die Analyse des Atemgases ist eine einfache, nicht-invasive und schnelle Methode der diagnostischen Untersuchung. Beispielsweise lässt die Konzentration von NO im Atemgas auf verschiedene Entzündungen der Atemwege wie chronische Bronchitis schließen. Allerdings beinhaltet die menschliche Atemluft etwa 3.000 flüchtige Substanzen, die größtenteils nicht eindeutig charakterisiert sind. Diese Unbekannten vollständig aufzudecken, sowie die Entwicklung intuitiver und preisgünstiger Analysegeräte sind ein Aspekt der Forschungsziele dieser Untersuchungsmethode.

Jedes Analysegerät basiert auf einem Sensor, also einem Messfühler, der physikalische oder chemische Inputs in elektrische Outputs umwandelt. Sensoren bestehen aus den drei Komponenten Rezeptor, Transducer und Signalverarbeitungssystem und lassen sich unterscheiden in potentiometrische, amperometrische und konduktometrische Sensoren.

Grundlage für Analyse mittels Sensoren ist das chemische Potenzial μ eines Stoffes, also die Abhängigkeit der extensiven thermodynamischen Energiegröße von der Stoffmenge, d.h. dem Bestreben zur Umwandlung des Stoffes. Für Elemente gilt $\mu=0$, für freiwillige Bildung der Stoffe aus Elementen $\mu < 0$ und für Stoffe die zum Zerfall neigen $\mu > 0$. Beschrieben wird das chemische Potenzial durch ein Standardpotenzial:

$$\mu_B = \mu_{B0} + RT * \ln(a_B)$$

Sensoren basieren auf Wechselwirkungen zwischen Analyt und (elektrochemischer) Zelle. In Abhängigkeit der Reaktion des Analyts an der Arbeitselektrode mit der Elektrolyt-Lösung der Zelle entsteht eine Potentialdifferenz zwischen den Phasen α und β , die sogenannte Galvani-Spannung:

$$\Delta\varphi = \varphi^\alpha - \varphi^\beta = \frac{\mu_i^{0\beta} - \mu_i^{0\alpha}}{z_i F} + \frac{RT}{z_i F} \ln \frac{a_i^\beta}{a_i^\alpha}$$

Da durch die Messung dieses Potenzial das Potenzial selbst verfälscht werden würde, wird die Galvanispannung stets relativ zu einer anderen Spannung (z.B. die der Wasserstoff-Platin-Zelle) bestimmt.

$$E = \Delta\varphi(II) - \Delta\varphi(I)$$

Da diese Spannung aber durch Polarisation bei zunehmender Analytkonzentration limitiert wird, wird neben den beiden Elektroden der Zelle eine dritte Referenzelektrode verwendet. Diese wird eigenständig mit Strom versorgt und sorgt damit, dass eine konstante Potentialdifferenz zu messen ist.

Am obengenannten Beispiel zu NO fungiert der Sensor gleichzeitig als eine Art Katalysator. In diesem Beispiel gilt somit:



Folgende Begriffe sind bei der Auswertung der Analyse maßgebend:

Blindwert: beschreibt den Messwert des Geräts, wenn die zu messende Substanz nicht vorhanden ist. Dieser muss bei der Auswertung von dem gemessenen Wert abgezogen werden.

Kalibrierfunktion $y=f(x)$: Abbildungsfunktion der Messung

Nachweisgrenze: Grenzwert für die kleinste messbare Menge an Analyten ($X_L = \bar{X}_{bi} + kS_{bi}$)

Sensorsignal S: Differenz aus Messwert unter Exposition bzw. ohne Exposition ($S = \frac{U}{U_0}$)

Empfindlichkeit: Steigung der Kalibrierfunktion, also Änderung des Signals ($S = \frac{dU}{dU_0} |_c$)

Ansprechzeit t_{resp} : Zeit, die benötigt wird, um 90% des erwarteten Signals zu erreichen

Abklingzeit t_{recov} : Zeit, die benötigt wird, um 90% des Ursprungzustandes zu erreichen

Querempfindlichkeit: Empfindlichkeit auf andere Größen als die zu messende

$$(QE_{rel} = \left(\frac{\Delta x_{mess}}{\Delta x_{stör}} \right) * 100\%)$$

Selektivität m_{ij} : erhaltenes Sensorsignal bezogen auf Signal mit Störfaktoren ($SE = \frac{E_{mess}}{QE_{abs}}, m_{ij}(c_i, c_j) = \frac{S_i}{S_j}$)

Druck und Temperatur: Die Sensoren sind druckunempfindlich, aber temperaturempfindlich

Für die Herstellung des zu analysierenden Gasgemischs wird eine Gasmischanlage verwendet, die die gewünschte Atmosphäre durch Mischen von Trägergas mit gasförmigen Analyten erstellt.

Massenflussregler regeln den richtigen Einfluss der Gase in die Misanlage bei Anlegen einer Spannung (0-5V). Sie werden geregelt durch das Prinzip der bypass Messung. Dieses Prinzip basiert darauf, dass die Energieübertragung eines Gases proportional zum Massenstrom ist, d.h. bei hohem Gasfluss kann viel (Wärme-) Energie zwischen zwei Temperatur-Messfühlern übertragen werden:

$$\Delta Q = W = c * m * \Delta T$$

Somit kann durch Veränderungen der Temperaturmessung das entsprechend richtige Gasgemisch erzeugt werden.

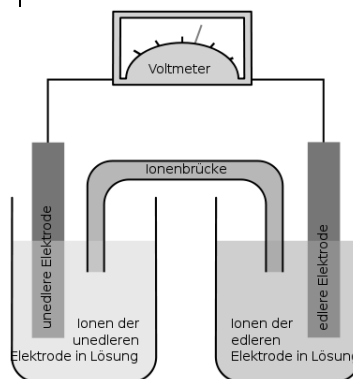
Vorfragen zum Versuch:

Aufgabe 1) Berechnen Sie die Gasflüsse der einzelnen Kanäle, die im Verlauf des Versuchs einzustellen sind.

Siehe Tabelle 1

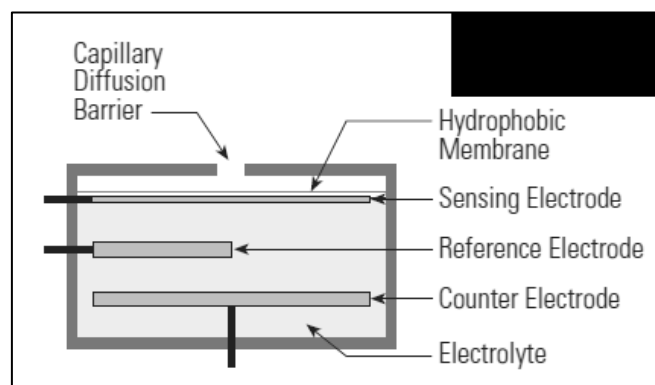
Aufgabe 2) Wie ist eine elektrochemische Zelle in aller Regel aufgebaut, skizzieren Sie kurz und Beschreiben Sie die einzelnen Bestandteile.

Diffusionsbarriere	beschränkt den Standarddurchfluss.
Hydrophobe Membran	beschränkt den Verlust von Elektrolyt an die Umgebung
Messelektrode	nimmt die zu messenden Elektronen auf
Referenzelektrode	Die Elektrode wird durch einen Steuerkreis gespeist und dient als Messreferenz für die tatsächliche Messung.
Elektrolyt	dient als chemische Brücke zwischen den Elektroden und als Lösungsmittel für Ionen



Aufgabe 3) Welchen Einfluss hat die Temperatur auf das zu erwartende Sensorsignal. Begründen Sie.

Die Temperatur geht laut der Nernst'schen Gleichung proportional in das Ergebnis ein. Der Temperatureinfluss liegt typischerweise bei ca. 0,5% bis 1%.



Versuchsbeschreibung:

An der Standard-Gasmischanlage werden die in Tabelle 1 dargestellten Gasatmosphären gemischt. Hierfür werden in der Theorie die in Aufgabe 1 errechneten prozentualen Gasflüsse der einzelnen Kanäle digital eingestellt. Da die Gasflaschen realen Versuch allerdings andere Ausflüsse haben werden die im Versuch zur Verfügung gestellten Gasflüsse verwendet. Diese passen aber dennoch zu vorgegebenen Messungen der Tabelle 1. Die variierten Parameter sind Gesamtfluss, Feuchte, Sauerstoffkonzentration und die NO-Konzentration

Nach einer Versuchslaufzeit von je etwa 180 Sekunden kann am Display die Spannung in mV abgelesen werden. Durchgeführt werden vier Messreihen zur Sauerstoffkonzentration, als Kalibrierfunktion, zur Querempfindlichkeit gegen Wasser und zu Abhängigkeit zum Gesamtfluss. Dargestellt werden die Messergebnisse in Tabelle 1.

Zusätzlich werden durch das Hand-Held-Gerät der Firma Aerocrine die NO-Konzentration in der ausgeatmeten Luft gemessen. Der FeNO-Wert ist auf dem Display des Geräts ablesbar.

Messwerte:

Nr.	Zeitintervall [sec]	Fluss [ml]	Feuchte [%]	O ₂ [%]	NO [ppm]	Messwert [mV]
1	180	150	50	0	6	183
2	180	150	50	2	6	183
3	180	150	50	5	6	183
4	180	150	50	10	6	184
5	180	150	50	10	12	315
6	180	150	50	10	0	61
7	180	150	50	10	6	184
8	180	150	50	10	0	59
9	180	150	50	10	3	120
10	180	150	50	10	0	59
11	180	150	50	10	1	76
12	180	150	50	10	0	58
13	180	150	70	10	6	181
14	180	150	50	10	6	180
15	180	150	25	10	6	180
16	180	150	10	10	6	181
17	180	150	0	10	6	182
18	180	150	50	10	6	182
19	180	125	50	10	6	180
20	180	100	50	10	6	182
21	180	75	50	10	6	180

Tabelle 1: Übersicht über das gesamte Messprotokoll

Auswertung:

Teil 1, Auswertung 1) Ermitteln Sie aus den Daten von Kapitel 4.2 den Mittelwert Ihrer Messungen mit gleichen Geräteeinstellungen bzgl. Sensorsignal und Ansprechzeit, die Standardabweichung vom Mittelwert und mit dem t-Faktor den Vertrauensbereich (95%).

Die Messungen mit identischen Geräteeinstellungen sind die Messungen Nr. 4, 7, 14 und 18 (Einstellungen und Messwerte siehe Tabelle 1). Von den gemessenen Spannungen wird der Mittelwert berechnet.

Es ergibt sich:

Mittelwert:

$$\bar{x} = \frac{1}{n} * \sum_{i=1}^n x_i = 182,50 \text{ mV}$$

Standardabweichung des Mittelwerts:

$$sdv(\bar{x}) = \sqrt{\frac{1}{n * (n - 1)} * \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} = 0,9574 \text{ mV}$$

Vertrauensbereich:

$$\mu = \bar{x} \pm t * sdv(\bar{x}) = 182,50 \text{ mV} \pm 3,18 * 0,9574 \text{ mV} = (182,50 \pm 3,0445) \text{ mV}$$

mit t-Faktor für Vertrauensintervall von 95% (aus Tabelle mit Freiheitsgrad $f = n - 1 = 3$): $t=3,18$

Somit liegen alle gemessenen Werte im Vertrauensbereich. Insgesamt ist somit mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5% die Reproduzierbarkeit des Versuchsteils gewährleistet.

Des Weiteren werden zusätzlich die Blindwerte der Messung, also die Messwerte ohne NO-Einstrom verwendet. Diese entsprechen den Messungen 6, 8, 10 und 12. Erneut wird von den gemessenen Spannungen der Mittelwert berechnet.

Analog ergibt sich:

Mittelwert: $\bar{x} = 59,25 \text{ mV}$

Standardabweichung des Mittelwerts: $sdv(\bar{x}) = 0,6292 \text{ mV}$

Vertrauensbereich: $\mu = (59,25 \pm 2,00) \text{ mV}$

Auch hier liegen alle Messwerte im Vertrauensbereich und die Reproduzierbarkeit ist mit Irrtumswahrscheinlichkeit von 5% gegeben.

Teil 2) Ermitteln Sie aus den Diagrammen der Messung in Kapitel 4 für NO die Werte für die Nachweisgrenze. Zeichnen Sie in ein Schaubild die Kalibriergerade in Abhängigkeit der zu dosierten Konzentration an NO und berechnen Sie mit ORIGIN oder Excel die Kalibrierfunktion.

Nr.	NO [ppm]	Messwert [mV]
6, 8, 10, 12	0	59,25
5	12	315
7	6	184
9	3	120
11	1	76

Tabelle 2: Für die Untersuchung auf NO-Abhängigkeit verwendete Messwerte

Auswertung 2) Kann man eine Gerade durch die Punkte legen?

Über die gemessenen Werte kann eine Ausgleichsgerade $y = ax + b$ ermittelt werden. Hierbei gilt:

$$a = \frac{n * (\sum_{i=1}^n x_i * y_i) - (\sum_{i=1}^n x_i) * (\sum_{i=1}^n y_i)}{c}$$

$$b = \frac{(\sum_{i=1}^n (x_i)^2) * (\sum_{i=1}^n y_i) - (\sum_{i=1}^n x_i y_i) * (\sum_{i=1}^n x_i)}{c}$$

$$c = n * (\sum_{i=1}^n (x_i)^2) - (\sum_{i=1}^n x_i)^2$$

Die x-Werte sind die NO-Konzentrationen, die y-Werte die Messwerte. Die Anzahl der Messungen n beträgt 5.

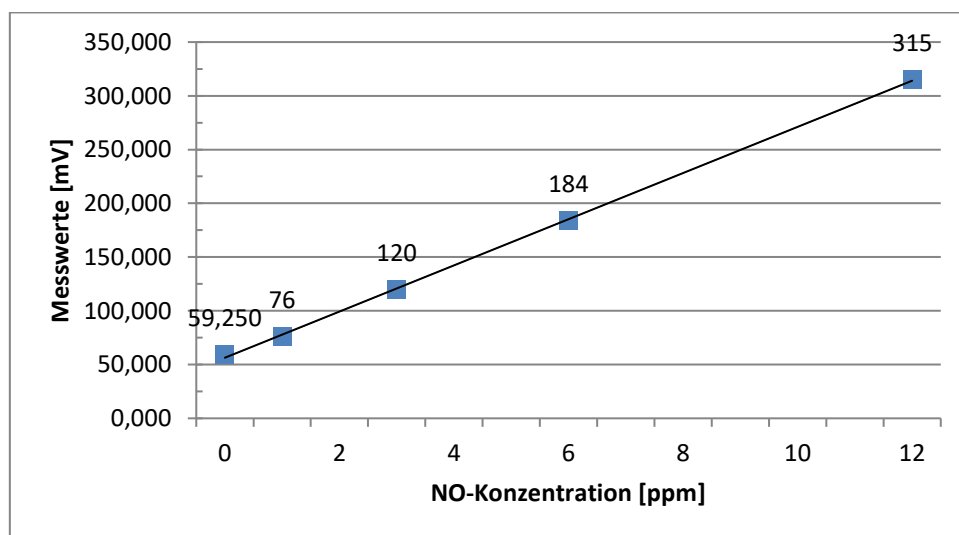


Diagramm 1: Darstellung der NO-Konzentrationsabhängigkeit

Die berechnete Ausgleichsgerade lautet $y = 21,4732x + 56,3680$. Diese bildet, wie in Diagramm 1 zu sehen ist die Messreihe sehr gut ab.

Auswertung 3) Berechnen Sie die Nachweisgrenze für NO. Benutzen Sie das Ergebnis der linearen Regression, um den Fehler anzugeben.

Nachweisgrenze:

$$x_L = \bar{x}_{bi} + k \cdot s_{bi}$$

Der numerische Faktor wird festgelegt auf $k = 3$. $\bar{x}_{bi} = 59,25 \text{ mV}$ ist der in Teil 1 berechnete Mittelwert der Blindmessungen, $s_{bi} = 0,6292 \text{ mV}$ die dazugehörige Standardabweichung:

$$s_{bi} = \sqrt{\frac{1}{n-1} \cdot \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} = 1,2583 \text{ mV}$$

Es ergibt sich somit die Nachweisgrenze: $x_L = 59,25 \text{ mV} + 3 \cdot 1,2583 \text{ mV} = 63,0249 \text{ mV}$

Für die Darstellung des Fehlers wird die Ausgleichsgerade (allgemein: $y = ax + b = x_L$) verwendet:

$$x = \frac{x_L - b}{a} = \frac{63,0249 \text{ mV} - 56,368 \text{ mV}}{61,95 \text{ mV/ppm}} = 0,31 \text{ ppm}$$

Verglichen wird der gemessene Wert mit dem berechneten Wert, die auf der Ausgleichsgerade liegen müsste:

NO [ppm]	Messwert [mV]	berechneter Wert [mV]
0	59,25	56,368
1	76	77,8412
3	120	120,7876
6	184	185,2071
12	315	314,0461

Tabelle 3: Vergleich Messwert mit berechnetem Wert laut Regressionsgerade

Abschließend kann nun der Fehler berechnet werden: (mit $n=5$)

$$\sigma = \sqrt{\frac{1}{n} \cdot \sum_{i=1}^n (F(x_i) - y_i)^2} = 1,71365 \text{ mV}$$

Auswertung 4) Bestimmen Sie die Querempfindlichkeit des Sensors (NO/O₂). Welche Folgen hat ihr Ergebnis in Bezug auf eine reale Patientenevaluierung?

Es gilt:

$$QE_{rel} = \left(\frac{\Delta x_{mess}}{\Delta x_{stör}} \right) \cdot 100\%$$

mit:

Messgröße: Δx_{mess} --> NO-Konzentration

Störgröße: $\Delta x_{stör}$ --> O₂-Konzentration

Für NO werden die berechneten Werte verwendet. Für O₂ ergibt sich:

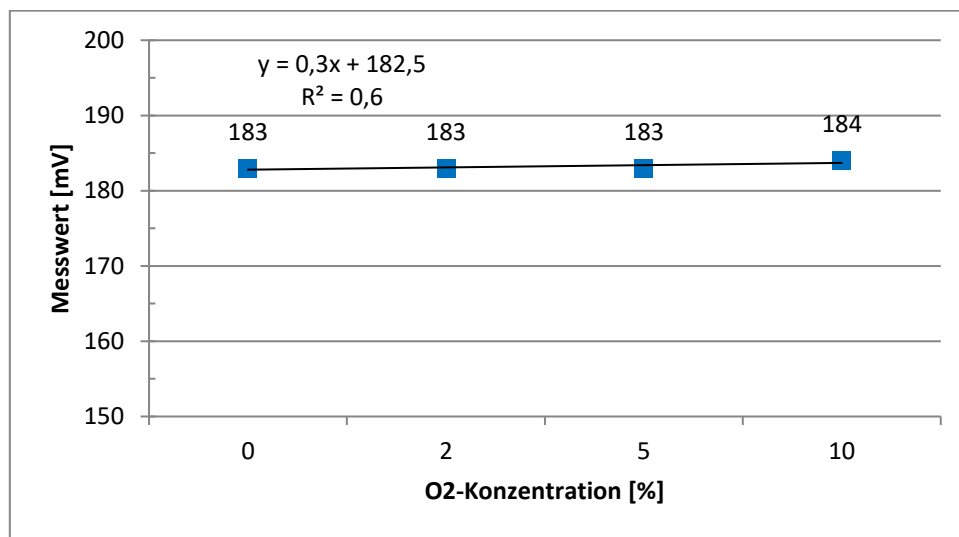


Diagramm 2: O₂-Konzentrationsabhängigkeit

Die berechnete Ausgleichsgerade lautet $y = 0,3x + 182,5$.

Somit ergibt sich für die Querempfindlichkeit:

$$QE_{rel} = \left(\frac{\Delta x_{mess}}{\Delta x_{stör}} \right) \cdot 100 \% = \left(\frac{a_{O_2}}{a_{NO}} \right) = \frac{0,3 \frac{mV}{\%}}{21,4732 \frac{mV}{ppm}} \cdot 100 \% = 1,397 \cdot 10^{-4} \%$$

In der Realität hängt die Querempfindlichkeit vom schwankenden O₂-Gehalt in der Lunge ab. Daher ist es wünschenswert, wenn diese Empfindlichkeit verschwindet klein wird und somit vernachlässigt werden kann. Dies ist im Experiment der Fall.

Auswertung 5) Bestimmen Sie die Querempfindlichkeit des Sensors in Bezug auf die Feuchte. Welche Folgen haben ihre Ergebnisse mit Bezug auf eine reale Patientenevaluierung?

Analog zu Auswertung 4 wird die Querempfindlichkeit gegen Feuchte bestimmt:

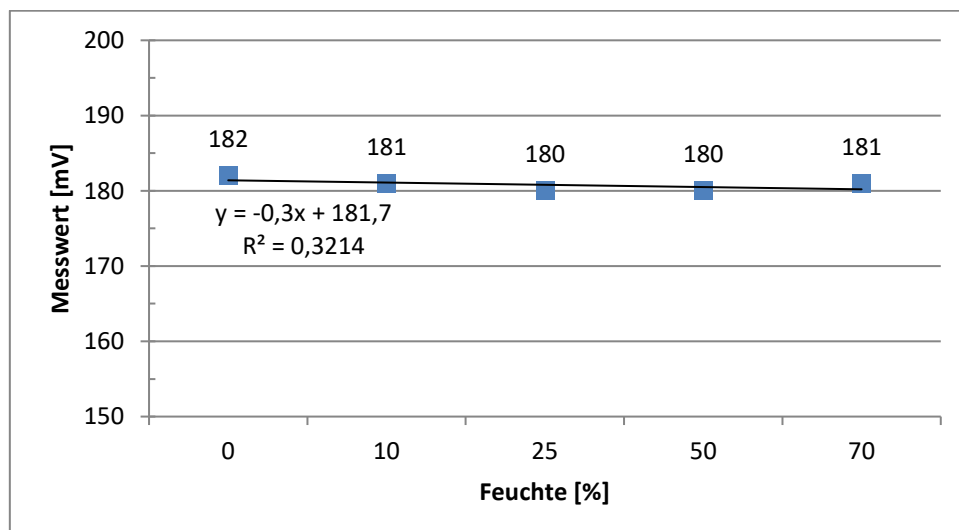


Diagramm 3: Feuchte-Abhängigkeit

Hier lautet die Ausgleichsgerade $y = -0,3x + 181,7$. Somit ergibt sich die Querempfindlichkeit zu:

$$Q_{E_{rel}} = \left(\frac{\Delta x_{mess}}{\Delta x_{stör}} \right) \cdot 100 \% = \left(\frac{a_{Feuchte}}{a_{NO}} \right) = \frac{-0,3 \frac{mV}{\%}}{21,4732 \frac{mV}{ppm}} \cdot 100 \% = -1,397 \cdot 10^{-4} \%$$

Auch diese Querempfindlichkeit ist vernachlässigbar klein. Sie ist in der Realität beispielsweise auf Schwankungen der Luftfeuchtigkeit zurückzuführen.

Auswertung 6) Treffen Sie eine Aussage mit Bezug auf das Verhalten des Sensors zu den verschiedenen Flüssen? Differenziert die elektrochemische Zelle zwischen den bewegten Luftmassen, oder ist sie inert gegen die Flussmengendifferenzen?

Wie in den vorherigen Auswertungen wird das gemessene Signal gegen den Gesamtfluss aufgetragen. Es resultiert die Ausgleichsgerade $y = 0,4x + 180$.

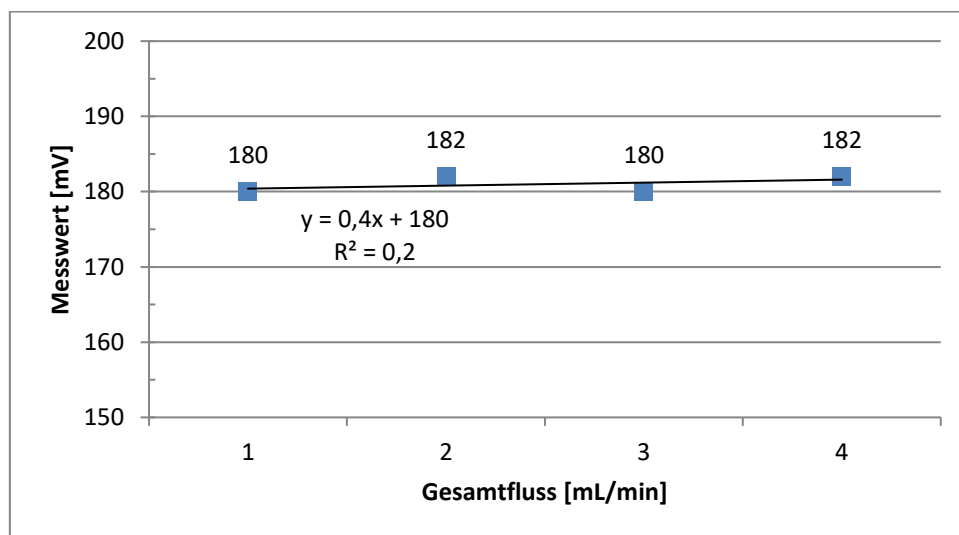


Diagramm 4: Gesamtfluss-Abhängigkeit

Da die Messwerte kaum variieren wird erneut die Querempfindlichkeit bestimmt:

$$Q_{E_{rel}} = \left(\frac{\Delta x_{mess}}{\Delta x_{stör}} \right) \cdot 100 \% = \left(\frac{a_{Gesamtfluss}}{a_{NO}} \right) = \frac{0,4 \frac{mV}{\%}}{21,4732 \frac{mV}{ppm}} \cdot 100 \% = 1,863 \cdot 10^{-4} \%$$

Der Fluss ist in der Realität von Faktoren wie Alter, Geschlecht etc. abhängig. Damit diese Einflüsse die Messung nicht verfälschen sollte die Querempfindlichkeit vernachlässigbar klein sein. Dies ist hier der Fall.

Auswertung 7) Welchen Wert haben Sie bei der Messung (4.2.6) ihrer Ausatemluft erhalten und wie schätzen Sie anhand dessen ihren Gesundheitszustand (bezogen auf die Atemwege) ein?

Gemessen wurde zweimal an einer Person:

Messung	FeNo-Wert
1	49 ppb
2	61 ppb

Tabelle 4: Gemessene FeNO-Werte der ausgeatmeten Atemluft

Die Literatur (<http://thorax.bmj.com/content/61/9/817.full.pdf+html>) gibt als FeNO-Wert gesunder Probanden 5 bis 25 ppb an. Dies deckt sich mit den Angaben von Aerocrine, dem Hersteller des verwendeten Gerätes:

FeNO-GUIDED THERAPY GOAL RANGE			
FeNO levels and inflammation			
FeNO (ppb)*	LOW	INTERMEDIATE	HIGH
Adults	<25	25-50	>50
Children	<20	20-35	>35
Th2-driven inflammation	Unlikely	Likely	Significant
Diagnosis in ICS treatment-naïve patients with suspected asthma (symptomatic during past 6+ weeks)			
Guide to diagnosis	Consider alternative diagnoses ♦ Allergic rhinitis ♦ Anxiety/hyperventilation ♦ Cardiac disease ♦ COPD ♦ GERD ♦ Non-Th2 asthma (noneosinophilic asthma) ♦ Rhinosinusitis ♦ Vocal cord dysfunction ♦ Cystic fibrosis ♦ Primary ciliary dyskinesia (FeNO <5 ppb)	Consider asthma	Supports a diagnosis of asthma
Considerations for therapy	Not likely to respond to ICS	♦ May respond to ICS ♦ Consider starting ICS trial	♦ Highly likely to respond to ICS ♦ Consider starting ICS trial
Follow-up visit		Consider rechecking FeNO in 2 to 4 weeks	Consider rechecking FeNO in 2 to 4 weeks

Abbildung 1: Interpretation von FeNO-Werten

(Quelle: <http://www.niox.com/PageFiles/64/Clinical%20Guidelines%20-%20Digital.pdf>)

Laut Richtlinien liegt somit ein deutlich erhöhter FeNO-Wert vor. Die entsprechende Diagnose wäre Asthma. Die Versuchsperson allerdings hat laut eigener Aussage keinerlei Atemwegsbeschwerden, auch keine bekannten Allergien auf Pollen etc.

Eine Erklärung für den, trotz Gesundheit, erhöhten Wert kann beispielsweise eine fehlerhafte Bedienung des Gerätes bei Aus- und Einatmen sein.

Allgemein ist die Atemgasanalyse nicht allein zur Diagnose geeignet. Der ermittelte FeNO-Wert ist ein Indiz, kein Beleg. Er kann beispielsweise von natürlichen Tagesschwankungen, eingenommenen Medikamenten, Nahrung etc. abhängen und muss daher durch weitere diagnostische Methoden bestätigt und konkretisiert werden.