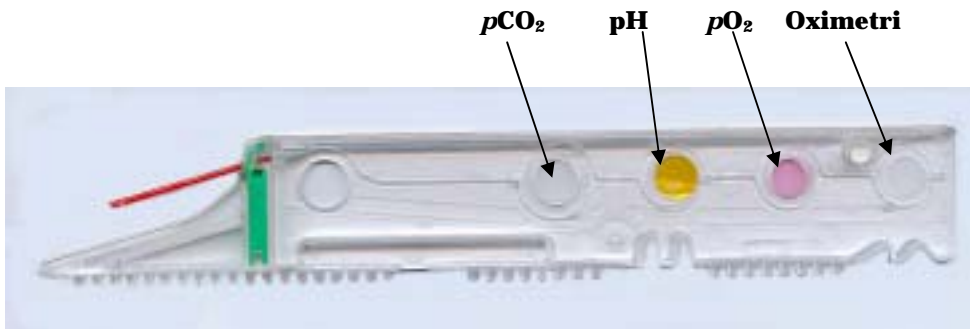


Historien om en lille plastkudms

(13×2×0.5 cm)



Figur 1

Ved første øjekast ser den ikke ud af noget særligt, men bag denne kuvette gemmer sig en mængde god fysik, biologi og (bio)kemi.

Historien bag kuvetten handler om målemetoder, om udviklingsarbejde, om blodgasmålinger, om beregninger og meget mere. Alt sammen drejer det sig om hurtig diagnosticering af kritisk syge patienter.

Kuvetten måler i én meget hurtig arbejdsgang blodgasværdier, pH og hæmoglobinet tilstand. Samtidig kræver den kun en meget lille mængde blod, hvilket for meget skrøbelige patienter (f.eks. for tidligt fødte børn, som i sagens natur ikke har ret stort blodvolumen), kan være af afgørende betydning. Ydermere foretages målingerne via en kassette, der kan indeholde 30 kuvetter på en gang.

Rent praktisk er der altså tale om et apparat, der rationaliserer arbejdsgangen i forbindelse med blodgasmåling ganske betydeligt. Kritiske målinger kan foretages på en gang, de kan foretages tæt på patienten, de kræver meget lidt tid, og der kræves mindre blod fra hver patient, og nok så væsentligt – der er tale om en lukket måling, hvor der ikke er kontakt med blodet i forhold til måleprocessen, og der skal ikke tilføres kemikalier – kuvetten indeholder selv det hele, og målingerne foregår optisk. Efter målingen kasseres kuvetten med indhold. Apparatet kræver ingen kalibrering og er dermed klar til brug øjeblikkeligt, samtidig med at det stort set er vedligeholdelsesfrit.

Kuvetten, med tilhørende måleapparatur og –metode er et resultat af mange års udviklingsarbejde.

Vi har i dette hæfte lagt vægt på en beskrivelse af den biologisk/fysiologiske baggrund for at måle blodgasser, lidt om udviklingen af kuvetten med tilhørende måleapparatur, samt den faglige baggrund for selve måleprocesserne.

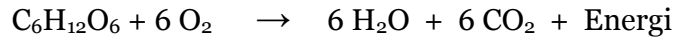
Tanken har været at give gymnasielærere en forhåndsviden om blodgasmålinger foretaget med apparaturet fra Radiometer. Materialet her kan anvendes som optakt til et besøg på Radiometer, men kan også anvendes som inspiration til den almindelige undervisning. Vi har lagt vægt på at vise at de målemetoder eleverne møder i gymnasiet faktisk kan anvendes i "den virkelige verden", og at de faktisk er i stand til at forstå princippet bag processer der ved første øjekast kan virke meget avancerede.

Samtidig er det en god historie om udvikling af noget, der tilsyneladende (og i praksis) er simpelt, men som alligevel har været mange år undervejs. Hvad er det for overvejelser man skal gøre sig når man udvikler apparatur og målemetoder?

*Peter Kibsgaard
Lone Brun Jakobsen*

Blodgasser.

En af blodets vigtigste funktioner er transport af gasser (blodgasser) med ilt (O_2) og kuldioxid (CO_2) som de vigtigste under normale forhold. Ilten bruges til forbrænding af energigivende næringsstoffer og der udvikles kuldioxid som et affaldsstof. Processen kaldes en respiration:



Respirationsprocessen foregår i alle typer af væv og organer, og det betyder at der her er iltfattigt og kuldioxidrigt.

Respirationsprocesserne dækker stort set hele vore behov for energi, og en tilstrækkelig stor iltforsyning er derfor af vital betydning.

I forbindelse med f.eks. brandulykker kan der være andre gasser som kulilte (CO) som griber ind i den normale transport af O_2 og CO_2 . Denne indgriben kan være livstruende såfremt den korrekte diagnose og behandling ikke hurtigt stilles og iværksættes. Også i andre tilfælde som f.eks. for tidligt fødte børn, livstruende sygdomme, forbrændingsulykker m.m., er det vigtigt med en analyse af blodgasser for at sikre og følge en optimal iltforsyning af kroppens forskellige organer.

Transport af blodgasser:

Transport af O_2 og CO_2 er komplicerede processer som griber ind i hinanden og som kan påvirkes af andre parametre i blodet. Blodets surhedsgrad eller pH-værdi reguleres normalt meget fint i kroppen (pH svinger imellem 7,35 og 7,40 i det arterielle blod). Blodets pH-værdi betragtes også som en del af blodgasserne idet CO_2 indholdet har indflydelse herpå, men også andre buffersystemer er vigtige for pH-reguleringen.

Forsyningen af O_2 og bortskaffelsen af CO_2 kan traditionelt opdeles i tre hovedpunkter:

- Optagelsen af O_2 / afgivelse af CO_2 i lungerne
- Transport i blodet
- Afgivelsen O_2 til vævene og optagelse af CO_2 fra vævene

I lungerne sker der en diffusion af ilten fra lungeluften i alveolerne til blodet i lungekapillærerne. Forskellen i iltkoncentrationerne er den drivende kraft for denne transport. I forbindelse med blodgasser bruges ofte gassernes partialtryk som mål for koncentrationen. pO_2 -værdien i arterielt blod er en vigtig oplysning, da den viser om lungefunktionen er normal.

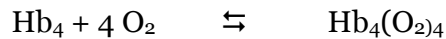
Skema 1. Partialtryk og diffusion i lungerne:

			Blod til lungerne	Blod fra lungerne
	Alveolærluft / mmHg	Diffusionsretning	Venøst blod / mmHg	Arterielt blod / mmHg
pO_2	100	→	40	100
pCO_2	42	←	50	45

Transporten af ilt i blodet foregår på to forskellige måder:

Ilt er fysisk opløst i blodvæsken, men da opløseligheden af ilt i vand er lille, er det kun ca. 2 % der transporteres på denne måde (Se figur 2).

Ilt bindes kemisk til hæmoglobinet i de røde blodlegemer (98 % transporteres på denne måde). Et enkelt hæmoglobinmolekyle kan binde, transportere og afgive 4 iltmolekyler :



Hb_4 = Afiltet tetramert hæmoglobin (andre betegnelser: Hb og RHb (reduceret hæmoglobin))

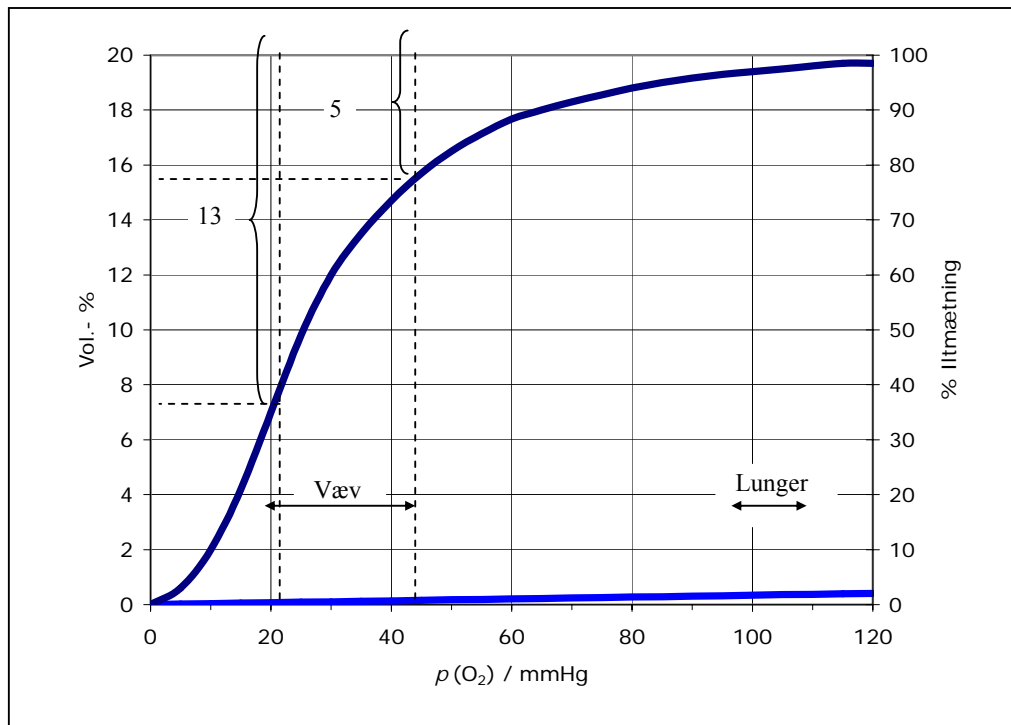
$\text{Hb}_4(\text{O}_2)_4$ = Oxyhæmoglobin (andre betegnelser: HbO_2 (iltet hæmoglobin))

Iltens binding til hæmoglobin afhænger på en ikke lineær måde af det iltryk, som findes i det omgivende væv (lungevæv og iltforbrugende væv). Den S-formede kurve over blodets iltindhold som funktion af iltrykket, kaldes for blodets iltbindingskurve (Se figur 2).

Blodets iltbindingskurve.

Kurverne angiver hvor meget ilt der er bundet til hæmoglobinet (volumen-% eller mL O_2 pr. 100 mL blod). Iltmængden kan også udtrykkes som iltmætningen, der viser hvor stor en procentdel af bindingspladserne der har bundet ilt.

Iltbindingskurve (simpel):



Figur 2. Blodets iltbindingskurve i arterielt blod. Nederste kurve er fysisk opløst ilt i blodvæsken.

En forsimplet anskuelse af iltbindingskurven viser hvordan hæmoglobinet specielle iltbindingen har betydning for iltoptagelsen og iltafgivelsen (Se figur 2): I lungerne udsættes blodet for et iltryk på ca. 100 mmHg, hvilket giver en iltmætning på ca. 98 %, altså næsten en 100% mætning. Da kurven er flad i toppen vil et mindre fald iltryk i alveolerne ikke ændre ret meget på iltmætningen i blodet.

I iltforbrugende væv vil iltrykket være væsentlig lavere (20-40 mmHg), hvilket betyder at der her afgives ilt fra blodet til vævene. Det sker således: Blodet kommer mættet dvs. med ca. 20 mL ilt pr. 100 mL blod ud til vævene, hvor blodet pga. det lavere iltryk eksempelvis 40 mmHg kun kan indeholde ca. 15 mL ilt pr. 100 mL blod. Der afgives herved 5 mL ilt til vævene. Hvis vævet er en hårdt arbejdende muskel er iltrykket endnu lavere måske kun 20 mmHg pr. 100 mL blod, og her vil der så afgives 13 mL ilt til musklen. Kurvens form betyder altså at mætningsgraden i blodet som forlader lungerne ikke er særligt påvirket af iltrykket i lungeluften, og at behovet for ilt tilgodeses med en stor iltafgivelse når behovet er der.

Blodets fysiologiske iltbindingskurve:

Hæmoglobins bindingsevne (affinitet) til ilten er påvirket af flere forskellige faktorer. En ændret affinitet vil medføre en horisontal forskydning af iltbindingskurven:

Faktorer som øger iltaffiniteten dvs. skubber kurven til venstre:

- Stigning pH
- Fald i $p\text{CO}_2$
- Fald i temperatur

Faktorer som mindsker iltaffiniteten, dvs. skubber kurven til højre:

- Fald i pH
- Stigning i $p\text{CO}_2$
- Øget temperatur

pH- og $p\text{CO}_2$ -påvirkning af iltaffiniteten kaldes Bohreffekten og er to sider af samme sag, idet CO_2 opløst i vand giver kulsyre, som hurtig dissocierer til en brintion og en hydrogencarbonation dvs. en pH-sænkning:

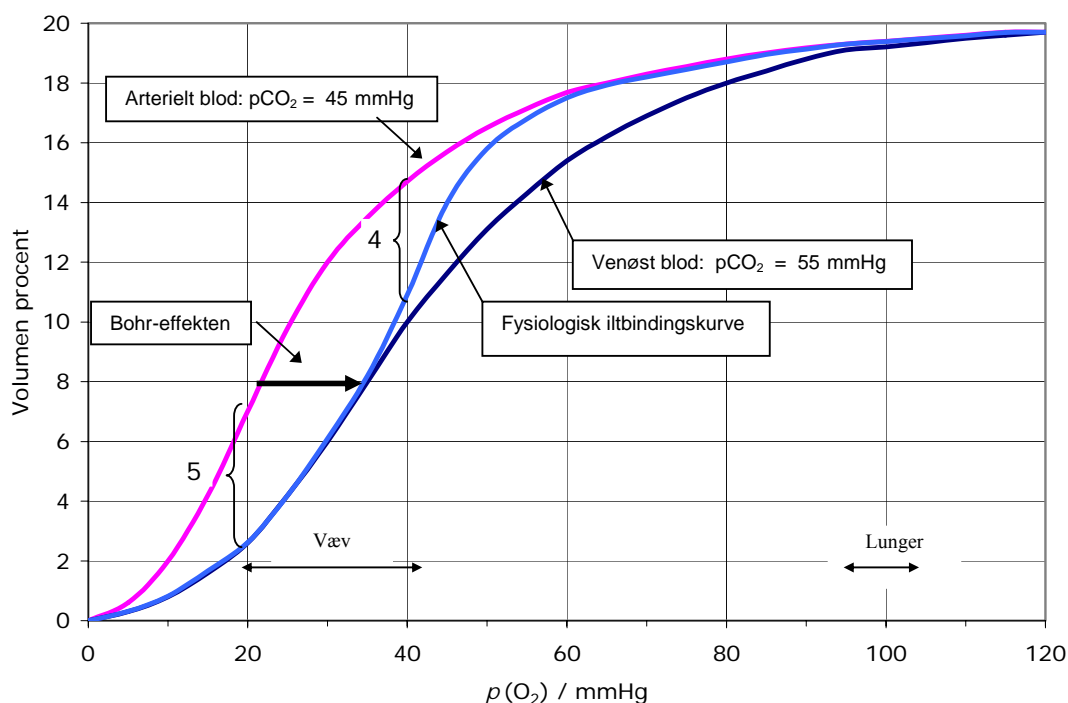


Det betyder, at iltbindingskurven skifter placering alt efter størrelsen af kuldioxidtrykket, hvilket igen betyder forskellige placeringer efter hvor blodet befinder sig i kroppen:

I lungerne, hvor blodet bliver iltet og hvor der afgives kuldioxid er iltbindingskurven forskudt til venstre (større iltaffinitet) pga. faldet i $p\text{CO}_2$. Blodet som forlader lungerne er iltigt og kuldioxidfattigt, og kaldes arterielt blod (Se skema 1). Denne tilstand gælder for det arterielle blod indtil det kommer ud til iltforbrugende væv. Her er iltrykket lavt og kuldioxidtrykket højt, hvilket betyder at kurven forskydes til højre (lavere iltaffinitet). Højre-skiftet betyder at der kan afgives en større iltmængde (se figur 3):

I eksemplet fra før så vi at der kunne afgives hhv. 5 og 13 mL ilt pr. 100 mL blod. Med højre-skiftet kan der yderligere afgives 4-5 mL ilt til vævene.

Iltbindingskurven som viser hvordan der skiftes mellem to kurver med forskellige kuldioxidtryk kaldes den fysiologiske iltbindingskurve (Se figur 3).



Figur 3. Iltbindingskurver ved to forskellige CO₂-tryk (Bohr-effekt) og den fysiologiske iltbindingskurve.

I forbindelse med ulykker kan andre gasser/stoffer binde sig til hæmoglobinet i de røde blodlegemer og herved forhindre at tilstrækkelig med O₂ kan optages og transporteres til vævene.

Kulilte (CO) dannes ved ufuldstændig forbrænding. Ved indånding af CO optages det i lungerne og bindes meget hårdt til hæmoglobinet (HbCO) og nedsætter herved blodets ilttransportkapacitet. Derudover øger det bindingen mellem O₂ og de tilbageværende bindingssteder, især ved lave iltmætninger. Dette vil sammen med den nedsatte ilttransport forstærke manglen på ilt i vævene. Disse sammenhænge viser, at målinger af pO_2 og ilt-mætningen alene ikke giver noget sikkert grundlag for en rationel klinisk behandling af iltproblemstillinger. Andre blodgasparametre skal inddrages for at få et mere komplet billede af det arterielle blods evne til at forsyne vævene med ilt. Dette udvidede billede kaldes The Deep Picture.

The Deep Picture.

I en traditionel blodgasanalyse indgår målinger af pO_2 , pCO_2 , pH og HCO_3^- , men disse målinger giver ikke alene et sikkert billede af ilttilførslen til vævene. Blodgasanalyserne blev udviklet på basis af undersøgelser udført af Dr. Poul Astrup i København under polioepidemien 1952-53.

I The Deep Picture udvides den traditionelle blodgasanalyse med informationer om det arterielle blods kapacitet mht. at forsyne vævene med ilt, og danner hermed

grundlag for behandlinger som kan øge ilttransportkapaciteten i det arterielle blod ved f.eks. øget ventilation af lungerne, øget iltkoncentration/ilttryk i lungeluften og ved behandling som kan øge mængden af ilttransporterende hæmoglobin eller sænke mængden af dyshæmoglobin (hæmoglobin som er forhindret i at transportere ilt, se senere).

I The Deep Picture–analysen indgår følgende parametre:

- pO_2 Det arterielle ilttryk som viser om lungefunktionen er normal
- tHb Det totale hæmoglobin som angiver potentialet af ilttransportkapacitet
- sO_2 Iltmætningen som viser hvor meget af ilttransportkapaciteten der udnyttes
- O_2Hb Fraktion af oxyhæmoglobin, som viser udnyttelsen af ilttransportkapacitetspotentialet
- cO_2 Iltindholdet i det arterielle blod viser mængden af transporteret ilt
- $p50$ Ilttrykket ved 50% mætning viser hæmoglobinet's iltaffinitet, som har betydning for iltafgivelsen i vævene.

Under normale forhold transporteres 98 % af ilten bundet til hæmoglobin. Den totale mængde af hæmoglobin (tHb) er derfor et direkte mål for blodets ilttransportpotentiale. Men der forekommer andre former af hæmoglobin end oxyhæmoglobin (O_2Hb) og afiltet hæmoglobin (RHb). Disse andre former er de såkaldte dyshæmoglobiner, som ikke er istand til at transportere ilt, hvilket betyder at dannelsen af dyshæmoglobiner nedsætter blodets ilttransportkapacitet. De almindeligste dyshæmoglobiner er carboxyhæmoglobin ($COHb$) og Methæmoglobin ($MetHb$). Sammenhængen til totalhæmoglobin er følgende:

$$tHb = cO_2Hb + cRHb + cCOHb + cMetHb \quad (c \text{ angiver koncentration})$$

Hæmoglobinet's CO-affinitet er 200-300 gange stærkere end O_2 -affiniteten, så indånding af CO vil meget hurtigt reducere blodets ilttransportkapacitet. Methæmoglobin kan dannes hvis blodet udsættes for oxiderende stoffer, som vil omdanne jernatomerne i hæmoglobinet fra ferro-ioner (reduceret form) til ferri-ioner (oxideret form). Ferri-formen kan ikke transportere ilt.

Beregningsmæssigt kan blodet evne til at transportere ilt udtrykkes på 2 måder:

1. Fraktionen af oxyhæmoglobin:

$$O_2Hb = \frac{cO_2Hb}{tHb} = \frac{cO_2Hb}{cO_2Hb + cRHb + cMetHb + cCOHb}$$

2. Iltmætningen:

$$sO_2 = \frac{cO_2Hb}{cO_2Hb + cRHb}$$

Sammenlignes de to sidste to ligninger ses det at O_2Hb lig med sO_2 , hvis der ikke er dyshæmoglobin i blodet.

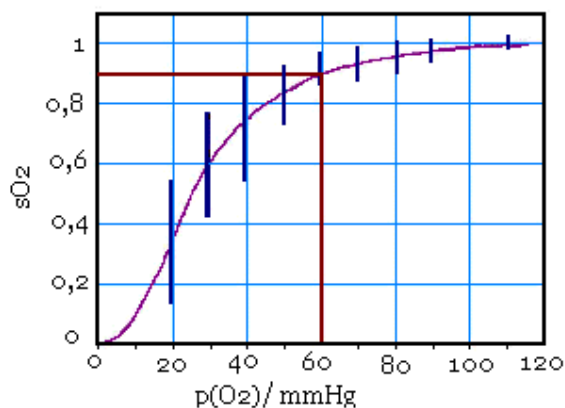
Blodets iltindhold i det arterielle blod (ctO_2) kan beregnes på følgende måde:

$$ctO_2 = tHb \cdot O_2Hb + pO_2 \cdot \alpha$$

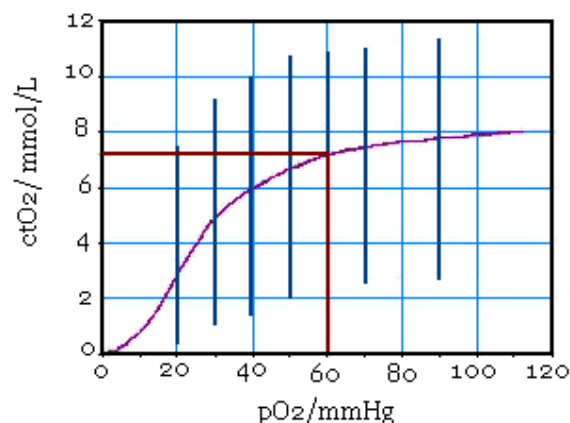
Som det ses, kan blodets iltindhold beregnes som summen af ilt bundet til hæmoglobin og af den fysiske opløste ilt i blodvæsken (α er iltens opløselighedskoefficient i blodvæske). ctO_2 giver det mest direkte billede af ilttransportkapaciteten og er derfor en meget vigtig størrelse for en korrekt diagnose og en efterfølgende rationel klinisk behandling.

En stor undersøgelse viser at The Deep Picture er nødvendig. Omkring 10000 prøver af arterielt blod blev analyseret og resultatet brugt til at undersøge hvilke informationer der bedst kunne vise blodets evne til transport af ilt. Hver blodprøve blev analyseret for pO_2 , sO_2 , tHb , COHb og MetHb. Herudfra blev ctO_2 beregnet.

En sammenligning af de kliniske variationer på iltmætningen (sO_2) med variationer i blodets iltindhold (ctO_2) viser nødvendigheden af The Deep Picture, idet en måling af pO_2 alene ikke giver et sikkert klinisk billede af hverken sO_2 eller ctO_2 , hvor især den sidste er en meget vigtig information.



Figur 4: De lodrette stolper viser variationen i iltmætningen ved forskellige ilttryk.



Figur 5: De lodrette stolper viser variationen i iltindholdet i arterielt blod ved forskellige ilttryk.

CO₂-transport.

Transport af CO₂ foregår på 3 måder:

- Ca. 77 % af kuldioxiden transportes i de røde blodlegemer, hvor der dannes kulsyre som igen dissocierer til H^+ og HCO_3^- . H^+ bindes til hæmoglobin og giver hermed ikke noget stort pH-fald.
- Ca. 20% transporteres bundet direkte til aminosyrerne i hæmoglobin.
- De resterende ca. 3% af kuldioxiden transporteres opløst i blodvæsken.

Alle 3 bindingsmåder mindsker hæmoglobinets iltaffinitet og forskyder iltbindingskurven til højre (Bohreffekten) med en større iltafgivelse til følge.

Iltafgivelse til vævene:

Skema 2. Partialtryk og diffusion i vævene:

	Væv / mmHg	Diffusions- retning	Blod til væv	
			Arterielt blod / mmHg	Blod fra væv Venøst blod /mmHg
pO_2	40	←	100	40
pCO_2	55	→	45	55

Regulering af åndedræt og blodkredsløb.

Både åndedrættet og blodkredsløbet reguleres så kroppens behov for ilt kan efterkommes.

Åndedrættet reguleres primært via blodets CO_2 -indhold, således at et øget pCO_2 i det arterielle blod via centralnervesystemet øger lungeventilationen med op til 10 gange det normale niveau i hvile. Kun ved store fald i pO_2 sker der en øgning af ventilationen. I forbindelse med undervandssvømning/dykning er det en almindelig og farlig forberedelse at hyperventilere; herved tømmes blodet for CO_2 og trangen til at trækkes vejret udskydes så opholdet under vandet kan forlænges. Ved hyperventilationen sker der ikke en tilsvarende større opfyldning af ilt i blodet, idet blodet normalt er mættet når det forlader lungerne. Ved undervandsaktiviteten kommer der et fald i pO_2 som ikke udløser trang til at trække vejret og iltfaldet kan medføre tab af bevidstheden og hermed stor fare for at drukne.

Blodkredsløbet reguleres primært via blodtrykket. Ved hårdt arbejde åbnes for blodgennemstrømningen i store muskelgrupper, hvorved blodtrykket falder. Dette blodtryksfald registreres i de store arterier og via centralnervesystemet øges både hjertets puls og slagvolumen. Hermed øges hjertets minutvolumen (produktet af puls og slagvolumen) og ilttransporten samt kuldioxidtransport øges i takt hermed.

Analysen af blodet – hvordan blodgasværdierne måles.

Nicolas Boalth fortæller: For en snes år siden havde vores udviklingsdirektør læst en del om fremtidens forventede større brug af optiske måleprincipper i bl.a. måleapparatur til hospitaler. Én af vores pionerer på området, Willy Andersen (ingeniør) fik opgaven at kikke på, hvilke målemetoder, som kunne bruges til de forskellige ting, der skulle måles i blodet. Vejen til at finde de bedst egnede måleprincipper til hvert måleparameter tog en del år gennem søgning i litteratur og kontakt og samarbejde med universiteter og bl.a. RISØ. Et udviklingsteam blev dannet af ingeniører indenfor mange fagdiscipliner. Mange forsøgsopstillinger senere gav os efterhånden et indblik i optikkens muligheder, og hvilken vej vi skulle gå i udviklingsforløbet.

Kuvetten (figur 1) er af gennemsigtigt plastik, med tænder til fremføring i målekassetten. De 4 målevinduer er ”huller” dækket med tynd folie (15µm), der svejses fast med et ultralydshorn, og overskydende folie friskæres med en laser. I de enkelte vinduer kan der være en lille ”brik” der kommer til at fungere som sensor (se de enkelte afsnit).

En lille mængde blod (95µL) aspireres fra en injektionssprøjte gennem den røde probe (se figur 1) – blodet fordeler sig i kuvettens 4 målevinduer gennem de meget tynde kanaler der kan anes på billedet (figur 1). Et stopfilter forhindrer overfyldning ved ganske simpelt at svulme op når blodet når frem til det (efter oximetri målevinduet).

Selve måleprocessen tager herefter 110 sekunder:

0-40 sek.: Bestemmelse af $p\text{CO}_2$

40-60 sek.: Bestemmelse af $p\text{O}_2$ (samt $ct\text{Hb}$, $s\text{O}_2$, $F\text{COHb}$, $F\text{MetHb}$, $F\text{O}_2\text{Hb}$, $F\text{HHb}$)

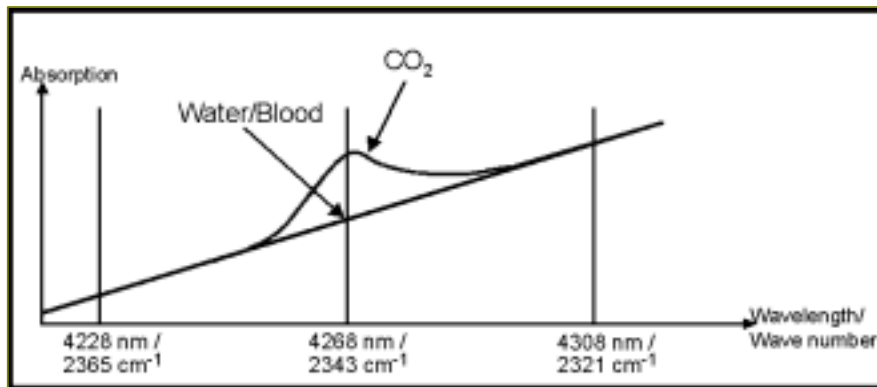
60-70 sek.: pH-måling

70-110 sek.: Kuvetten køres tilbage i kassetten, fastlåses, og en ny kuvette kører frem, klar til aspiration.

Måleprocesserne beskrives herunder hver for sig:

Måling af $p\text{CO}_2$:

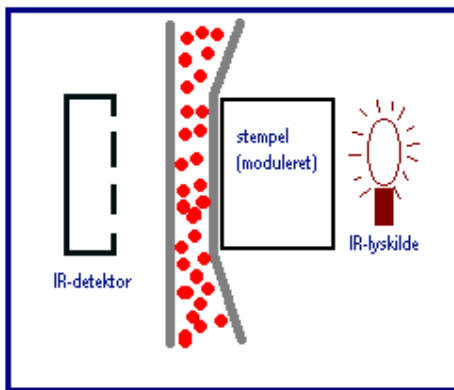
CO_2 i opløsning vil absorbere elektromagnetisk stråling i det infrarøde område. Absorptionen foregår omkring en ganske bestemt bølgelængde (4268 nm), og størrelsen af absorptionen afhænger af mængden af opløst CO_2 . Der laves ikke et traditionelt IR-spektrum, idet absorptionen kun detekteres ved tre forskellige bølgelængder. Det vides at absorptionen ved to af bølgelængderne (4228 nm og 4308 nm) hovedsageligt skyldes plasma og hæmoglobin, samt at der kan interpoleres lineært mellem absorptionen ved disse bølgelængder. Således fås den øgede absorption (i forhold til den lineære kurve) ved bølgelængden 4268 nm fra den opløste mængde CO_2 . Se figur 6 herunder:



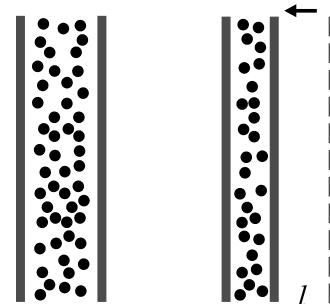
Figur 6

Absorptionsmåling ved 3 bølgelængder sikrer at der korrigeres for bidrag fra plasma og hæmoglobin. Da folien der dækker vinduet ikke nødvendigvis har samme tykkelse i alle kuvetterne, og selve vinduet heller ikke har samme tykkelse fra gang til gang må der findes en metode der tager højde for dette. Ved at trykke på vinduet med et hult stempel ændres vejlængden – og dermed absorptionen – men kun for den del der vedrører CO₂, plasma og hæmoglobin idet de øvrige faktorer ikke ændres ved denne modulation. Der regnes på den vejlængde l der er markeret på figur 7. (Absorptionen i CO₂+plasma+hæmoglobin mindskes svarende til vejlængden l) Hver måling foretages ved 256 forskellige vejlængder.

Nicolas Boalth fortæller: Der var længe et problem med selv små variationer af tykkelsen i forsøgs-kuvetternes folie. Foliefabrikanten var ikke i stand til at lave tilstrækkelige ensartede folie til vores brug. Det er jo ligegyldigt om bøfferne i Brugsen er indpakket i 0,015 mm eller 0,016 mm tyk folie. Det gør ikke bøfferne bedre eller dårligere. De uens folietykkelser gav imidlertid anledning til uacceptable variationer i lysets absorbans derigennem, hvilket derved påvirkede målingen. En sen aften sad Peter Frischauf (ingeniør) hjemme og pludselig slog det ham: Hvis vi mekanisk flytter det ene vindue og måler f.eks. 2 steder, så får vi en differensmåling, hvorved absorbansen kun ændrer sig i blodet. Det svarer til at man vil veje en stor blød sportstaske, som dårligt lader sig veje på en badevægt, fordi den glider ned på gulvet hele tiden. Hvad gør man så? Man tager sportstasken op i armene, man aflæser vægten, man lægger sportstasken fra sig igen, man aflæser vægten igen og trækker sin egen vægt fra den første måling. Derved beregner man sportstaskens vægt, alt imens ens egen vægt er ligegyldig. Peters idé var så god, at der blev udtaget et patent på den.



Figur 7a



Figur 7b

Selve beregningerne bygger på Lambert-Beers lov:

Loven siger at intensiteten af elektromagnetisk stråling gennem absorberende, ikke-spredende materialer aftager eksponentielt med den gennemløbne vejstrækning i materialet. Dette er en konsekvens af antagelsen om at absorptionseffekten er proportional med intensiteten.

Absorptionen ved hver af de 3 bølgelængder opskrives som en funktion af I . Der tages ved opskrivningen hensyn til flere bidrag til absorptionen. For at se princippet opskrives her udtrykket for absorptionen ved bølgelængde "1" – de to andre udtryk er helt tilsvarende.

Følgende betegnelser er brugt: ϵ = svækkelseskoefficienten (bølgelængde- og materialeafhængig), α_p = opløseligheden af CO_2 i plasma, α_h = opløseligheden af CO_2 i hæmoglobin, p = $p\text{CO}_2$, x_h = andel hæmoglobin i blodet, ch = CO_2 opløst i hæmoglobin, cp = CO_2 opløst i plasma. (alle med passende valgte enheder)

$$A_i(\lambda_i) = \epsilon_{1,\text{plasma}}(1-x_h)I + \epsilon_{1,\text{cp}} \alpha_p p(1-x_h)I + \epsilon_{1,\text{ch}} \alpha_h p x_h I + \epsilon_{1,\text{hæmoglobin}} x_h I$$

Med kendte værdier for ϵ og α kan $p\text{CO}_2$ udledes, idet der foretages nogle tilnærmelser: Det vides at absorptionskoefficienten fra CO_2 er forsvindende ved bølgelængderne 4228 nm og 4308 nm, og dermed gælder det at $\epsilon_{1,\text{ch}}/\epsilon_{2,\text{ch}} \approx \epsilon_{1,\text{cp}}/\epsilon_{2,\text{cp}}$ og $\epsilon_{3,\text{ch}}/\epsilon_{2,\text{ch}} \approx \epsilon_{3,\text{cp}}/\epsilon_{2,\text{cp}}$. Derudover indføres hjælpestørrelsen $q = (\epsilon_{2,\text{ch}} \alpha_h) / (\epsilon_{2,\text{cp}} \alpha_p)$

De 3 ligninger for A kan dermed sammenfattes i en matrixligning $\vec{A} = \vec{\epsilon} \cdot \vec{c}$, hvor $\vec{A} = (A_1, A_2, A_3)$ og $\vec{c} = ((1-x_h)I, ((1-x_h)+qx_h)p, x_h I)$ og matricen $\vec{\epsilon}$ indeholder værdierne for ϵ og α

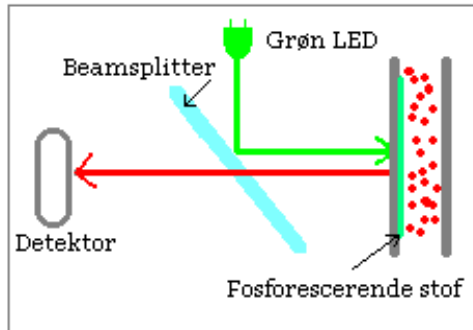
Da A måles og ϵ og α kendes gives hermed værdier for størrelserne udtrykt ved \vec{c} og heraf udledes p (= $p\text{CO}_2$) (og x_h samt I)

Nicolas Boalth fortæller: Der har været flere store udfordringer ved at realisere $p\text{CO}_2$ - målingen. Absorbansændringen fra selve CO_2 -en i blodet er forsvindende i forhold til, hvad blodet selv absorberer. Der er som at smide én dråbe vand i et badekar. Man skal så forsøge at måle størrelse af dråben ved at måle badekarrets samlede mængde vand. Ved et godt målesystem kan man f.eks. godt måle, at der er kommet en dråbe vand i badekarret. Men der skal et supergodt målesystem til at måle hvor stor dråben oprindeligt var! Dette stillede store krav til opfindsomheden i udviklingsarbejdet.

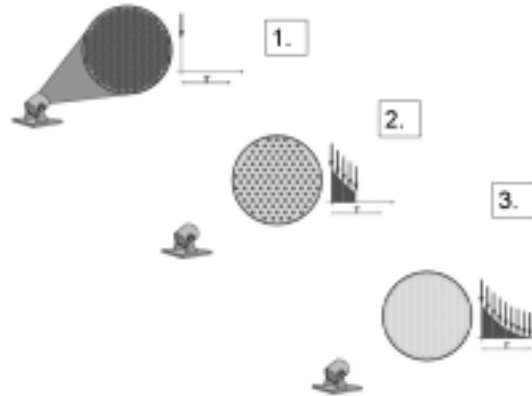
Måling af $p\text{O}_2$:

I vinduet til $p\text{O}_2$ -måling sidder en lille brik med et stof der er fosforescerende.

Når stoffet exciteres med grønt lys, vil det lyse op i rød fosforescens. Når lyset igen slukkes vil fosforescensen aftage. Levetiden for fosforescensen afhænger af iltmængden. Jo mere tilstedeværende ilt, jo kortere levetid (figur 8). Denne levetid er uafhængig af systemet i øvrigt.



Figur 8a



Figur 8b

Det fosforescerende stof er et palladium-kompleks (forkortet PdTFPP), der er bundet homogent til en tynd membran, der ved fremstillingen af kuvetten sættes som en lille brik i et af målevinduerne før disse forsegles.

At finde kombinationen af det rette farvestof (dye) og en passende polymer til at binde dette i, har ikke været problemfrit, idet mange forskellige hensyn skal tages. Farvestoffet skal være stabilt over for bl.a. fugt, og polymeren skal have en passende gennemtrængelighed for opløst oxygen.

Nicolas Boalth fortæller: Denne målemetode var for så vidt kendt til en vis grad i litteraturen, men ikke i sammenhæng med blodmåling

Den basale sammenhæng hvoraf pO_2 udledes er den såkaldte Stern-Volmer ligning, hvor $I/I_0 = \tau/\tau_0 = 1 + K_{\text{Stern-Volmer}} \cdot \alpha \cdot [O_2]$

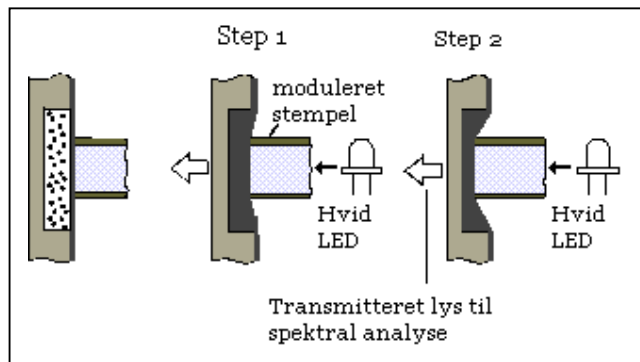
Her er I intensiteten, τ er levetiden og $[O_2]$ er koncentrationen af opløst ilt. Index o angiver de samme værdier, blot uden ilt til stede. Leddet $K_{\text{Stern-Volmer}} \cdot \alpha \cdot [O_2]$ indeholder Stern-Volmer konstanten og α der er en materiale konstant der beskriver opløseligheden af ilt i den aktuelle polymer. Leddet er proportionalt med pO_2 , med endnu en matrialeafhængig proportionalitetskonstant. Vi har således en levetidsmåling, som i anvendelsen er simpel og let håndterlig.

Nicolas Boalth fortæller: Det var netop det at gøre denne målemetode anvendelig til vores formål, der var den store udfordring. Niels-Henrik Jensen (lic.scient., fotokemisk specialist) fik med stor indsats endelig "knækket nødden". Det store arbejde har givet os muligheden for at lave et ekstremt simpelt optisk system til måling af ilt.

Oximetri:

I oximetrimålevinduet er påsat en brik med et sulfonat, der hæmolyserer blodlegemerne, så hæmoglobinet frigøres. Herved forhindres lysspredning fra blodlegemernes overflade.

I lighed med $p\text{CO}_2$ målingerne er der et flytbart stempel, der skal sikre en veldefineret lysvej (figur 9).



Figur 9

Også disse målinger bygger på Lambert-Beers lov. Her er der blot flere komponenter der hver for sig absorberer lyset. Når man måler på absorbans gennem flere komponenter er den totale absorbans en sum af absorbansen fra de forskellige komponenter:

$$A_{\text{total}}^{\lambda_n} = \sum_{y=1}^Y \epsilon_y^{\lambda_n} \times c_y \times l$$

Dette angiver den totale absorbans ved bølgelængden λ_n . y er antallet af komponenter og ϵ er som før svækkelseskoefficienten (matriale- og bølgelængdeafhængig), c_y er koncentrationen af komponent y , som man ønsker at måle.

Der måles med bølgelængder over et bredt interval (ved 128 forskellige bølgelængder), og der fremkommer et kontinuert absorbans spektrum.

Størrelsen af bidraget for hver enkelt komponent giver oplysning om koncentrationen af komponenten, og bestemmes ud fra denne sum:

$$c_y = \sum_{n=1}^{128} K_y^{\lambda_n} A_{\text{total}}^{\lambda_n}$$

(her er $K_y^{\lambda_n}$ en konstant der er specifik for komponent y ved bølgelængden λ_n)

Nicolas Boalsh fortæller: Til spektralanalyse (farvemåling) i det synlige område skal man bruge hvidt lys. Det viste sig, at vi af visse årsager ikke kunne bruge lys fra en almindelig gløde-trådspære som f.eks. halogenlampe, da denne udsendte delvis polariseret lys gennem dens glas. Vi var nødt til at løse dette problem på et tidspunkt i udviklingsfasen. Pludselig en dag, mens jeg en formiddag på arbejdet sidder og læser et teknisk blad, falder jeg over en artikel om en ny hvid lysdiode udviklet i Japan. Jeg ringer straks til firmaet i Japan. Klokkeren var over 22 derovre, men man hører jo nogle gange om, at de ikke kun som os arbejder 37 timer om ugen, men meget mere, så måske var de på arbejde. Det var de! I løbet af formiddagen havde jeg ordnet alle nødvendige papirer og i løbet af få dage fik vi nogle af de nye hvide lysdioder. De sagde, at jeg var den første i Europa, som købte disse dioder. I dag ser man dem af og til i cykellygter med et meget skarpt hvidt/blå-hvidt skær.

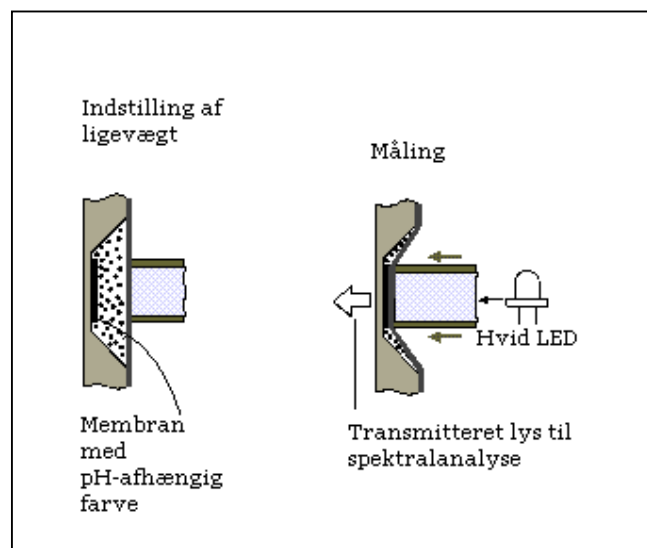
Måling af pH:

Til måling af pH bruges samme optiske system som til oximetrimålingen. Kuvetten bevæges således efter oximetrimålingen, og ud fra spektrets form bestemmes pH.

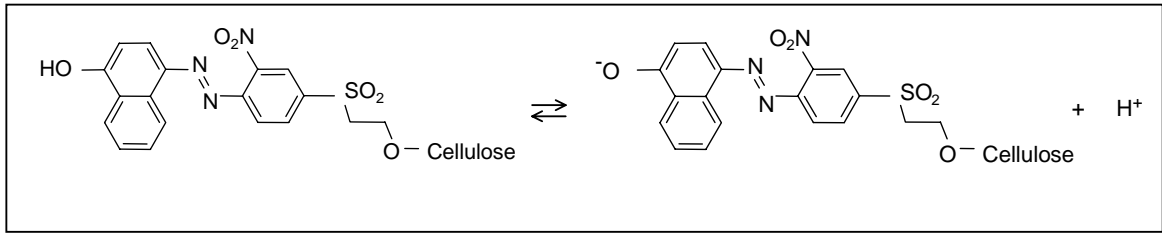
I pH vinduet sidder en lille ”brik” bestående af en azo-farve pH-indikator, der er fastholdt i en kovalent binding til cellulose.

Nedenfor (figur 11) ses strukturformel for farvestoffets to tilstande, hvor ligevægten forskydes afhængig af pH-værdien.

Ligevægten indstilles i løbet af de første 60 sekunder af målesekvensen. Før selve målingen presses et stempel mod målevinduet så blodet fjernes. Først da kan selve farveanalysen foretages.



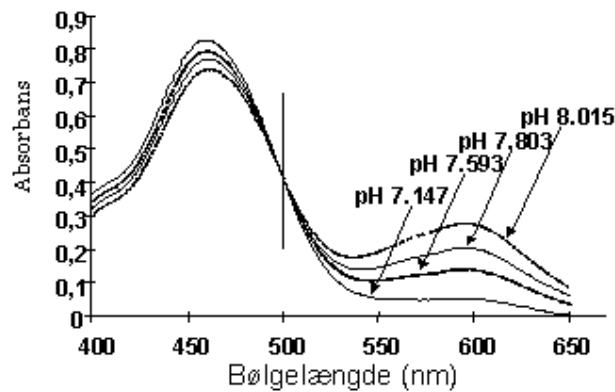
Figur 10



Figur 11

Der optages et absorptionsspektrum ved 128 forskellige bølgelængder, på samme måde som under oximetrimålingerne.

Figur 12 viser hvordan ændringer i pH-værdien påvirker spektret.



Figur 12

Ved bølgelængden 500 nm har begge tilstande samme svækkelseskoefficient (ϵ). Ved bølgelængderne 465 nm og 595 nm har vi toppe i absorptionsspektret, hidrørende fra henholdsvis syre- og base komponenten.

Beregningerne bygger på to love:

Henderson-Hasselbalch: $\text{pH} = \text{pK}_a + \log(c_{\text{In}^-} / c_{\text{HIn}})$ (In = indikator)

Lambert-Beer: $A_\lambda = \epsilon_{\lambda, \text{In}^-} \times l \times c_{\text{In}^-} + \epsilon_{\lambda, \text{HIn}} \times l \times c_{\text{HIn}}$

Sammenholdes med at den totale koncentration c_T er summen af c_{In^-} og c_{HIn} fås et udtryk for A_λ :

$$A_\lambda = \frac{\left[c_T \cdot l \cdot (\epsilon_{\lambda, \text{In}^-} - \epsilon_{\lambda, \text{HIn}}) \cdot \left[10^{(\text{pH} - \text{pK}_a)} \cdot \left(\frac{\epsilon_{\lambda, \text{In}^-}}{\epsilon_{\lambda, \text{In}^-} - \epsilon_{\lambda, \text{HIn}}} \right) + \left(\frac{\epsilon_{\lambda, \text{HIn}}}{\epsilon_{\lambda, \text{In}^-} - \epsilon_{\lambda, \text{HIn}}} \right) \right] \right]}{1 + 10^{(\text{pH} - \text{pK}_a)}}$$