

WOJSKOWA AKADEMIA TECHNICZNA  
im. Jarosława Dąbrowskiego

---



**ROZPRAWA DOKTORSKA**

mjr mgr inż. Artur Prokopiuk

**Mikroprocesorowy system pobierania próbek  
frakcji pęcherzykowej do analizatorów powietrza  
wydychanego przez człowieka**

Promotor:

płk dr hab. inż. Jacek WOJTAS, prof. WAT

Promotor pomocniczy:

ppłk dr inż. Janusz MIKOŁAJCZYK

*Chciałbym podziękować tym wszystkim, dzięki którym ta praca mogła powstać.*

*A w szczególności:*

***Panu Profesorowi Jackowi Wojtasowi** za motywację do wyjątkowej pracy, wskazywanie celów, cierpliwość, nieocenione wsparcie merytoryczne, wyrozumiałość, koleżeńską pomoc i poświęcony czas.*

***Panu Profesorowi Zbigniewowi Bieleckiemu**  
**i Panu Doktorowi Januszowi Mikołajczykowi** za osobiste zaangażowanie, poświęcony czas, życzliwość, opiekę naukową, mobilizację do pracy oraz wszelką pomoc.*

***Panu Profesorowi Tadeuszowi Staciewiczowi** za współpracę w ramach projektu „Sensormed”.*

***Panu Profesorowi Bogusławowi Buszewskiemu i Panu Profesorowi Tomaszowi Ligorowi** za współpracę i umożliwienie badań na Wydziale Chemii UMK w ramach projektu „Sensormed”.*

***Panu Profesorowi Tomaszowi Targowskiemu** za umożliwienie badań w Centrum Medycznym Alpejska.*

***Koleżankom i Kolegom z Zespołu Detekcji Sygnałów Optycznych** za pomoc w realizacji badań, wyrozumiałość, przyjacielską atmosferę i okazane wsparcie.*

***Żonie Annie** za cierpliwość.*



# Streszczenie

Rozprawa poświęcona jest opracowaniu systemu pobierania próbek powietrza wydychanego przez człowieka, przeznaczonego do współpracy z optoelektronicznym czujnikiem gazu wykorzystującym laserową spektroskopię absorpcyjną. Związana z badaniami nad nieinwazyjną metodą wykrywania markerów chorobowych - gazów, których zmiana stężenia jest charakterystyczna dla określonej choroby. W pracy szczególną uwagę zwrócono na tlenek azotu (NO), którego podwyższone stężenie we frakcji pęcherzykowej wydechu jest wskaźnikiem astmy i przewlekłego zapalenia dróg oddechowych.

Przeprowadzono analizę zasady działania i parametrów układów pobierania próbek opisanych w literaturze oraz dostępnych komercyjnie, która wykazała niższą wynikającą z braku metodyki pobierania próbek wydechu człowieka uwzględniającej uwarunkowania współdziałania z analizatorami tlenku azotu wykorzystujących laserową spektroskopię absorpcyjną w podczerwieni. Opracowano autorski system pobierania próbek wydychanego powietrza spełniający wytyczne Amerykańskiego Towarzystwa Chorób Układu Oddechowego (ATS - *American Thoracic Society*) oraz Europejskiego Towarzystwa Oddechowego (ERS - *European Respiratory Society*), precyzujące zalecenia dotyczące warunków pracy aparatury medycznej, przeznaczonej do pobierania próbek powietrza z wydechu człowieka i pomiaru zawartości tlenku azotu – feNO (ang. *fractional exhaled nitric oxide*). System umożliwia również automatyczne wyznaczenie oraz szybkie wydzielanie frakcji pęcherzykowej w sposób niezależny od parametrów wydechu pacjenta takich jak przepływ, ciśnienie, wilgotność, temperatura. Minimalizacja wpływu temperatury i ciśnienia próbki powietrza została zrealizowana poprzez przeprowadzenie korekcji wskazań czujnika CO<sub>2</sub> prowadzącą do uzyskania jak najmniejszej niepewności pomiaru stężenia CO<sub>2</sub>. Do wyznaczenia początku frakcji pęcherzykowej wydechu opracowany został autorski algorytm analizujący dynamikę zmian średniej kroczącej dla punktów sąsiadujących (SMAA – *Simple Moving Adjacent Average*). Stwierdzono, że zarówno w przypadku krzywych kapnograficznych osób chorych jak i zdrowych, metoda ta precyzyjnie wykrywa początek III fazy wydechu i jest wysoce niezależna od wydolności oddechowej pacjenta.

Przeprowadzono badania eksperymentalne opracowanego systemu z wykorzystaniem chromatografu gazowego i spektroskopu masowego. W stosunku do próbki powietrza bez separacji faz wydechu uzyskano zwiększenie ilości biomarkera o ponad 98%. Przeprowadzono badania porównawcze z komercyjnym urządzeniem i otrzymano zwiększenie ilości

koncentracji biomarkera o ponad 21%. Dodatkowo stwierdzono także, że opracowany system umożliwia skuteczne pobieranie innych biomarkerów takich jak: aceton i acetonitryl.

Przeprowadzono badania opracowanego systemu pobierania próbek w warunkach klinicznych. Zgromadzone próbki frakcji pęcherzykowej zbadano z wykorzystaniem optoelektronicznego analizatora NO. Uzyskane wyniki potwierdziły stężenie tlenu azotu w zgromadzonych próbkach powyżej wartości progowej 50 ppbv, przyjętej dla zdrowej, dorosłej osoby. Opracowany system osiągnął VII poziom gotowości technologii.

# Abstract

## **Microprocessor based alveolar fraction sampling system for human exhaled air analyzers**

The dissertation is dedicated to the development of a sampling system for human exhaled air, designed to operate with an optoelectronic gas sensor using laser absorption spectroscopy. It is related to research on a non-invasive method of detecting disease markers - gases whose concentration changes are characteristic for a specific disease. In this study, particular attention was paid to nitric oxide (NO), whose increased concentration in the alveolar fraction of exhalation is an indicator of asthma and chronic airway inflammation.

An analysis of the principle of operation and parameters of the sampling systems described in the literature and commercially available ones was carried out, which revealed the lack of human exhalation sampling methodology taking into account the considerations of interoperability with nitric oxide analyzers using laser infrared absorption spectroscopy. The author's system for sampling exhaled air has been developed, which meets the guidelines of the American Thoracic Society (ATS) and the European Respiratory Society (ERS), specifying the recommendations for the operating conditions of medical devices intended for sampling human exhaled air and measuring the fractional exhaled nitric oxide - feNO. The system also allows for automatic and fast determination of the alveolar breath fraction independent of the patient's exhalation parameters such as flow, pressure, humidity, temperature. The influence of temperature and pressure of the air sample was minimized by correction of CO<sub>2</sub> sensor readings leading to the lowest uncertainty of CO<sub>2</sub> concentration measurement. To determine the beginning of the alveolar fraction in exhaled air, an original algorithm was developed to analyze the dynamics of changes CO<sub>2</sub> concentration using Simple Moving Adjacent Average (SMAA) algorithm. It was found that this method accurately detects the beginning of alveolar fraction expiratory phase in both sick and healthy subjects and is highly independent of the patient's respiratory capacity.

Experimental studies of the developed system were carried out using a gas chromatography and a mass spectroscopy. Compared to the air sample without expiratory phase separation, an increase in biomarker amount of over 98% was obtained. Comparative studies with a commercial device were carried out and an increase in the biomarker amount of over

21% was obtained. In addition, it was also found that the developed system allows the efficient collection of other biomarkers such as acetone and acetonitrile.

The developed system reached technology readiness level VII and was tested in a clinical conditions. The collected alveolar fraction samples were examined using an optoelectronic NO analyzer. The obtained results confirmed the concentration of nitric oxide in the collected samples above the threshold of 50 ppbv, assumed for a healthy adult person.

# Spis treści

<b>Lista ważniejszych akronimów i oznaczeń .....</b>	<b>11</b>
<b>1. Wstęp.....</b>	<b>13</b>
<b>2. Aktualny stan wiedzy.....</b>	<b>15</b>
2.1. Geneza prac dotyczących systemu do pobierania próbek powietrza wydychanego przez człowieka .....	15
2.2. Aktualny stan wiedzy dotyczący analizy składu wydychanego powietrza .....	15
2.3. Metody pobierania próbek wydychanego powietrza .....	17
2.3.1. Metoda „on-line” .....	18
2.3.2. Metoda „off-line” .....	19
2.4. Metody gromadzenia i przechowywania próbek wydychanego powietrza .....	21
2.5. Fazy wydechu oraz metody ich określania .....	22
2.6. Algorytmy wyznaczania początku III fazy wydechu .....	28
2.7. Analiza czujników CO <sub>2</sub> do wykorzystania w procedurze separacji faz wydechu .....	30
2.8. Analiza rozwiązań stosowanych w układach pobierania próbek wydechu .....	31
2.9. Wymagania stawiane układom pobierania próbek .....	34
2.10. Podsumowanie .....	39
<b>3. Cele szczegółowe, teza, przewodnik po pracy .....</b>	<b>42</b>
<b>4. Analiza parametrów poszczególnych układów systemu pobierania próbek .....</b>	<b>44</b>
4.1. Wstęp .....	44
4.2. Projekt systemu pobierania próbek.....	45
4.3. Układ dystrybucji powietrza .....	47
4.3.1. Budowa i zasada działania układu .....	48
4.3.2. Implementacja wymagań ATS/ERS .....	48
4.3.3. Wyznaczenie maksymalnego czasu pomiaru parametrów próbki .....	49
4.3.4. Wybór czujników parametrów powietrza .....	51



4.4. Układ monitorowania parametrów wydychanego powietrza .....	53
4.4.1. Budowa i zasada działania układu .....	53
4.4.2. Model czujnika NDIR do pomiaru stężenia CO <sub>2</sub> w ludzkim oddechu .....	53
4.4.3. Analiza niepewności pomiaru stężenia CO <sub>2</sub> .....	62
4.4.4. Wybór czujników do pomiaru parametrów próbki powietrza .....	66
4.5. Układ separacji faz wydechu .....	70
4.5.1. Opracowanie algorytmu wyznaczania początku III fazy w SPP .....	70
4.5.2. Opracowanie procedur separacji III fazy wydechu w SPP .....	76
4.6. Integracja systemu pobierania próbek .....	77
4.7. Podsumowanie .....	81
<b>5. Badania parametrów elementów systemu pobierania próbek .....</b>	<b>83</b>
5.1. Wstęp .....	83
5.2. Badania układu dystrybucji powietrza.....	83
5.2.1. Wyznaczenie dokładności pomiaru ciśnienia wydychanego powietrza .....	83
5.2.2. Badanie procedury pomiaru przepływu .....	86
5.2.3. Weryfikacja zgodności pracy z wymaganiami ATS/ERS .....	88
5.3. Badania układu monitorowania parametrów wydychanego powietrza .....	89
5.3.1. Wyznaczenie niepewności pomiaru temperatury .....	90
5.3.2. Badania czujnika wilgotności .....	91
5.3.3. Badania i wybór czujnika stężenia CO <sub>2</sub> .....	92
5.3.4. Wyznaczenie funkcji korekcji wskazań czujnika CO <sub>2</sub> .....	96
5.4. Badanie układu separacji faz wydechu .....	100
5.4.1. Testy algorytmu wyznaczania III fazy wydechu osób zdrowych .....	100
5.4.2. Testy algorytmu wyznaczania III fazy wydechu osób chorych.....	101
5.4.3. Badania objętości frakcji pęcherzykowej gromadzonych przez SPP .....	103
5.5. Podsumowanie .....	108

<b>6. Badania systemu pobierania próbek</b> .....	111
6.1. Wstęp .....	111
6.2. Badania algorytmu separacji faz wydechu .....	112
6.3. Badania porównawcze SPP .....	115
6.3.1. Badania porównawcze ilości izoprenu w próbkach.....	115
6.3.2. Analiza zgromadzonej objętości III fazy wydechu.....	116
6.4. Analiza ilości innych biomarkerów .....	117
6.5. Badania SPP w warunkach klinicznych .....	119
6.6. Podsumowanie.....	121
<b>7. Wnioski końcowe</b> .....	124
<b>Literatura</b> .....	129

# Lista ważniejszych akronimów i oznaczeń

<i>ppm, ppb</i>	Część na milion ( <i>part per milion</i> ), część na miliard ( <i>part per billion</i> )
<i>NO</i>	Tlenek azotu ( <i>nitric oxide</i> )
<i>VOC</i>	Lotne związki organiczne ( <i>volatile organic compounds</i> )
<i>MES</i>	Pobieranie próbek wydechu mieszane ( <i>mixed expiratory sampling</i> )
<i>ET</i>	Pobranie próbek końcowo-wydechowe ( <i>end-tidal</i> )
<i>feNO</i>	Fracja tlenu azotu w wydychanym powietrzu ( <i>fractional exhaled nitric oxide</i> )
<i>P<sub>et</sub>CO<sub>2</sub></i>	Ciśnienie parcjale końcowo-oddechowe ( <i>partial pressure of end-tidal</i> )
<i>NDIR</i>	Absorpcja w podczerwieni bez rozpraszania ( <i>non-dispersive infrared</i> )
<i>GC/MS</i>	Chromatografia gazowa i spektrometria masowa ( <i>gas chromatography/mass spectrometry</i> )
<i>ATS</i>	Amerykańskie Towarzystwo Chorób Układu Oddechowego ( <i>American Thoracic Society</i> )
<i>ERS</i>	Europejskie Towarzystwo Oddechowe ( <i>European Respiratory Society</i> )
<i>P</i>	Ciśnienie gazu ( <i>pressure</i> )
<i>V</i>	Objętość gazu ( <i>volume</i> )
<i>T</i>	Temperatura gazu ( <i>temperature</i> )
<i>C</i>	Stężenie gazu ( <i>concentration</i> )
<i>Q</i>	Przepływ gazu ( <i>volume flow rate</i> )
<i>SPP</i>	System pobierania próbek ( <i>breath sampling unit</i> )
<i>t</i>	Czas ( <i>time</i> )
$\lambda$	Długości fali ( <i>wavelength</i> )
<i>R<sub>i</sub>, R<sub>v</sub></i>	Czułość widmowa detektora, odpowiednio prądowa i napięciowa ( <i>sensitivity</i> )
<i>T<sub>F</sub></i>	Transmisja filtru ( <i>transmission</i> )
<i>P<sub>ZR</sub></i>	Moc źródła promieniowania ( <i>radiation source power</i> )
<i>D*</i>	Wykrywalność znormalizowana detektora ( <i>detectivity</i> )
<i>t<sub>R</sub></i>	Czas narastania ( <i>rise time</i> )
<i>f<sub>-3dB</sub></i>	Pasmo przenoszenia 3dB ( <i>3dB bandwidth</i> )
$\Delta f$	Pasmo szumowe detektora ( <i>noise bandwidth of detector</i> )
<i>f</i>	Częstotliwość ( <i>frequency</i> )
<i>NEP</i>	Moc równoważna szumom ( <i>Noise Equivalent Power</i> )
<i>ABS</i>	Absorbancja ( <i>absorbance</i> )
<i>L</i>	Długość ( <i>length</i> )

$\sigma$	Przekrój czynny ( <i>cross-section</i> )
$\alpha$	Współczynnik absorpcji ( <i>absorption coefficient</i> )
<i>TRS</i>	Transmitancja ( <i>transmittance</i> )
<i>SNR</i>	Stosunek sygnał-szum ( <i>Signal to Noise Ratio</i> )
<i>RH</i>	Wilgotność względna ( <i>relative humidity</i> )
<i>L<sub>II</sub>, L<sub>III</sub></i>	Regresja liniowa II/III fazy wydechu ( <i>linear regression</i> )
<i>SMA</i>	Prosta średnia krocząca ( <i>Simple Moving Average</i> )
<i>DLPF</i>	Cyfrowy filtr dolnoprzepustowy ( <i>digital low-pass filter</i> )
<i>DSP</i>	Cyfrowe przetwarzanie sygnałów ( <i>digital signal processing</i> )
<i>SMAA</i>	Prosta średnia krocząca punktów sąsiadujących ( <i>Simple Moving Adjacent Average</i> )
<i>I<sup>2</sup>C</i>	Magistrala danych ( <i>Inter-Integrated Circuit</i> )
<i>RS232</i>	Standard RS-232 ( <i>Recommended Standard 232</i> )
<i>Ev</i>	Elektrozawór ( <i>electrovalve</i> )
$\delta$	Niepewność względna ( <i>relative uncertainty</i> )

## Wstęp

Tematyka pracy doktorskiej jest związana z obszarem badań gazowych markerów chorobowych polegających na analizie powietrza wydychanego przez pacjenta za pomocą czujników gazów. Analiza oddechu należy do najmniej inwazyjnych technik stosowanych w diagnostyce klinicznej m.in. w badaniach przesiewowych pacjentów, w procesie kontroli stanu ich choroby oraz w ocenie oddziaływania środowiska na organizm. W powietrzu wydychanym przez człowieka wyróżniono dotychczas ponad 3000 różnych komponentów [1], które można podzielić na dwie grupy:

- gazy egzogeniczne, pochodzące od czynników środowiskowych, o względnie dużym stężeniu rzędu od pojedynczych do dziesiątek procent,
- gazy endogeniczne, będące produktem procesów biochemicznych zachodzących w organizmie człowieka, o stężeniu rzędu ppm-ppb (ang.: *part-per-milion* – cząstka na milion, ang.: *part-per-bilion* – cząstka na miliard).

Wśród gazów endogenicznych znajdować się mogą gazy, tzw. biomarkery (tab. 1.1), których zmiana stężenia jest charakterystyczna dla określonej choroby [2].

**Tab. 1.1. Wybrane choroby oraz przyporządkowane im biomarkery [3].**

Choroba	Biomarker	Wzór chemiczny
Choroby układu oddechowego, choroby układu krążenia	Tlenek azotu	NO
Nowotwór płuc	Lotne związki organiczne	różne
Nowotwór piersi	Formaldehyd, pentan	CH <sub>2</sub> O, C <sub>5</sub> H <sub>12</sub>
Cukrzyca	Aceton	(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> CO
Choroba wrzodowa żołądka i dwunastnicy wywołana <i>Helicobacter pylori</i>	Amoniak, dwutlenek węgla	NH <sub>3</sub> , CO <sub>2</sub>
Choroby układu oddechowego, Hiperbilirubinemia	Tlenek węgla	CO
Choroby wątroby	Siarczek karbonylowy, amoniak	OCS, NH <sub>3</sub>
Schizofrenia	Dwusiarczek węgla	CS <sub>2</sub>
Odrzucenie przeszczepu	Siarczek karbonylowy	OCS
Mukowiscydoza	Cyjanowodór	HCN

Jest to stosunkowo nowy obszar badawczy dla wielu grup naukowców na całym świecie. Rozprawa doktorska dotyczy zasadniczo problematyki pobierania próbek wydechu w celu pomiaru stężenia tlenu azotu za pomocą laserowej spektroskopii absorpcyjnej. Opisane badania stanowią część prac zrealizowanych w ramach programu badań stosowanych i projektu pt. „Optoelektroniczny system sensorów markerów chorobowych” (SENSORMED).

Tlenek azotu (NO) odgrywa bardzo ważną rolę w organizmie ludzkim. Dowiedli tego R. F. Furchgott, L. J. Ignarro i F. Murad, za co otrzymali nagrodę Nobla w 1998 r [4]. Tlenek azotu zawarty w wydychanym powietrzu pochodzi z różnych zjawisk zachodzących w organizmie ludzkim i jak wykazano, może być m.in. markerem astmy lub przewlekłego zapalenia dróg oddechowych. Najbardziej interesująca ze względów diagnostycznych jest część powietrza pobierania z pęcherzyków płucnych, gdzie znajduje się największa ilość NO pochodzącego z przemian metabolicznych zachodzących w organizmie [5]. Aby wyodrębnić tą część wydechu stosuje się najczęściej analizę zmian stężenia ditlenku węgla (CO<sub>2</sub>) [6].

Praca ma charakter badawczo-konstrukcyjny, a jej celem jest opracowanie oraz zbudowanie systemu pobierania próbek, który umożliwi wydzielenie i zgromadzenie powietrza z pęcherzyków płucnych z przeznaczeniem do analizy stężenia NO z wykorzystaniem wysokoczułego optoelektronicznego analizatora tlenu azotu.

### Aktualny stan wiedzy

#### 2.1. Geneza prac dotyczących systemu do pobierania próbek powietrza wydychanego przez człowieka

W ramach prac naukowo-badawczych realizowanych w Instytucie Optoelektroniki WAT, dotyczących projektu systemu do wykrywania biomarkerów chorób zawartych w wydychanym powietrzu, zaistniała potrzeba opracowania specjalistycznego systemu do pobierania próbek powietrza wydychanego przez człowieka. Jednym z badanych markerów był tlenek azotu (NO). System ten miał także zapewnić pobranie próbki powietrza, a następnie jej przesłanie do analizatora działającego w oparciu o laserową spektroskopię absorpcyjną. Niniejszy rozdział dotyczy analiz mających na celu sformułowanie wymagań określonych przez współdziałanie z pacjentem oraz wynikających z właściwości próbek i parametrów optoelektronicznego analizatora NO.

#### 2.2. Aktualny stan wiedzy analizy składu wydychanego powietrza

Początki analizy składu gazowego powietrza wydychanego przez człowieka i jego powiązania ze stanem zdrowia sięgają starożytności. Już starożytni greccy lekarze wiedzieli, że zapach ludzkiego oddechu może dostarczyć wskazówek, które są podstawą do postawienia diagnozy. Przykładowo słodki, owocowy zapach acetonu był związany z cukrzycą. Choroby wątroby wiązano z rybim odorem, zapach moczu towarzyszył niewydolnościom nerek, a zgniły zapach występował w przypadku ropnia płuc. Współczesne badania nad wykrywaniem związków chemicznych w oddechu, które powiązane były ze zdrowiem człowieka, przeprowadził A. Nebelthau [7]. Stosując „pułapkę” jodową zauważył on, iż w przypadku osób chorych na cukrzycę występowała szybsza i bardziej intensywna zmiana zabarwienia analitu niż w przypadku osób zdrowych. Próba jodoformowa umożliwiła wykrycie acetonu w wydychanym powietrzu, a ilość wytrącanego z roztworu jodoformu pozwalała oszacować stan zdrowia badanego człowieka.

Rozwój metod analitycznych umożliwił Linusowi Paulingowi wykrycie w oddechu człowieka ponad 200 różnych związków chemicznych z wykorzystaniem chromatografii gazowej [8]. Ówczesne metody nie były jednak na tyle dokładne, aby przeprowadzić identyfikację i separację związków. Znaczącym etapem rozwoju metod analizy oddechu było sprzężenie chromatografii gazowej i spektrometrii masowej.

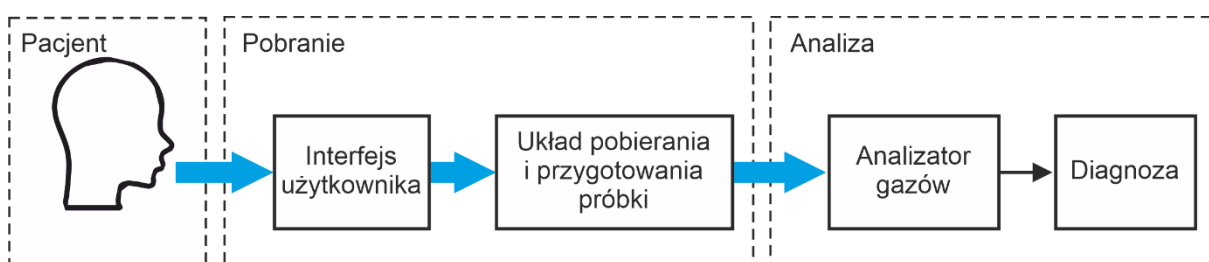
Wydechane przez człowieka powietrze jest mieszaniną azotu (o stężeniu 78%), tlenu (o stężeniu 14% ÷ 17%) oraz lotnych związków: ditlenku węgla (o stężeniu 3% ÷ 6,5%), pary wodnej (do 6%), argonu (ok. 1%) oraz śladowych ilości substancji, takich jak węglowodory nasycone (metan, etan, pentan), węglowodory nienasycone (izopren), węglowodory aromatyczne (benzen), aldehydy (etanal, metanal, acetaldehyd), ketony (aceton), alkohole (metanol, etanol, 2-propanol), estry (octan metylu, octan etylu), związki siarkowe (metanotiol, etanotiol, disiarczek węgla, siarczek karbonylu, siarkowodór, dimetylosiarczek), związki zawierające azot (dimetyloamina DMA, trimetyloamina TMA, amoniak) i inne. Próbkę oddechu może zawierać kilkaset lotnych związków organicznych o stężeniu rzędu nmol/l ÷ pmol/l (ppbv ÷ pptv) [9]. Okazało się, że stężenia niektórych związków chemicznych w wydechym powietrzu są charakterystyczne zarówno dla osób zdrowych, jak i chorych (tab. 2.1) [10].

**Tab. 2.1. Stężenia wybranych składników powietrza wydychanego przez osoby zdrowe i chore.**

Związek chemiczny	Stężenie w powietrzu atmosferycznym	Stężenie w wydychanym powietrzu	
		Osoby zdrowe	Osoby chore
Wodór H <sub>2</sub>	0,55 ppm	1-100 ppm	powyżej 100 ppm
Tlenek węgla CO	0,12 ppm	1-10 ppm	10-20 ppm
Amoniak NH <sub>3</sub>	0,006-0,02 ppm	0,25-2,9 ppm	powyżej 2,9 ppm
Tlenek azotu NO	2 ppb	10-50 ppb	powyżej 50 ppb
Siarczek karbonylu COS	0,5 ppb	0,5-1,0 ppb	
Siarkowodór H <sub>2</sub> S	< 0,2 ppb	<75 ppb	100 ppb
Izopren C <sub>5</sub> H <sub>8</sub>		>29 ppb	<14,1÷29 ppb
Aceton C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O [11]		<1 ppm	>1,8 ppm
Siarczek dimetylu DMS	<< 1 ppt	7 ppb	10-40 ppb
Dimetylodisulfid (CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> S <sub>2</sub>	<< 1 ppt	5,6-8,2 ppb	10-40 ppb
Dwusiarczek węgla CS <sub>2</sub>	0,1 ppt	<0,1 ppt	
Metanotiol CH <sub>3</sub> SH		2,1 ppb	0-10 ppb
Etanotiol C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> SH			4,2 ppb
Trimetyloamina (CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> N			100-150 ppb



Gazowe składniki wydychanego powietrza stały się w wielu wypadkach markerami chorób, które mogą być efektywnie stosowane w badaniach przesiewowych ludzi. Dodatkowo, prowadzone są też badania nad możliwością prowadzenia monitorowania zmian stanu zdrowia pacjentów podczas terapii farmakologicznej. Dlatego też, naukowcy i przemysł medyczny coraz większą uwagę skupiają na opracowaniu skutecznych metod umożliwiających pobranie i analizę wydychanego przez człowieka powietrza. Umożliwia to realizację nieinwazyjnej oceny stanu zdrowia pacjenta oraz opracowanie urządzeń do badań przesiewowych pod kątem selekcji wybranej choroby. W praktyce, głównymi elementami takiego urządzenia jest analizator gazów oraz układ pobierania i przygotowania próbek do analizy. Na rysunku 2.1 przedstawiono jego schemat blokowy.



**Rys. 2.1. Schemat blokowy urządzenia do wykrywania biomarkerów chorób zawartych w wydychanym powietrzu.**

W pierwszym etapie, pacjent dokonuje wydechu powietrza do systemu pobierania i przygotowania próbki przez interfejs użytkownika, którym najczęściej jest ustnik lub maska twarzowa. W drugim etapie, w zależności od zastosowanego analizatora gazów, próbka może zostać poddana procesom zatężania, osuszania, podgrzewania, itd. W etapie trzecim, zostaje ona przesłana do analizatora. Analiza jakościowa i ilościowa umożliwia odpowiednio wykrycie obecności szukanego biomarkera oraz określenie jego stężenia.

### 2.3. Metody pobierania próbek wydychanego powietrza

Niezwykle istotnym zagadnieniem w analizie powietrza wydychanego przez człowieka jest procedura pobierania próbki. Procedura ta nie tylko musi uwzględnić warunki pracy w bezpośrednim kontakcie z pacjentem, ale również zapewnić wiarygodność pozyskiwanych próbek pomiarowych. Zagadnienie to jest bardzo złożone pod kątem badawczym ze względu na następujące fakty:

- interesujące związki chemiczne charakteryzują się bardzo małym stężeniem, zazwyczaj w obecności bardzo dużego stężenia innych gazów,
- skład chemiczny pobranej próbki może zmieniać się w czasie, a zatem czas jej przechowania, transportu i analizy powinien być jak najkrótszy [12],

- skład chemiczny próbki zależy od metody jej przechowywania [13],
- skład chemiczny gazów może zmieniać się również podczas procedury pobierania oraz wstępnej obróbki [14],
- pacjent nie może być narażony na zbędne obciążenie układu oddechowego podczas pobierania próbki oraz rozprzestrzenianie się chorób zakaźnych.

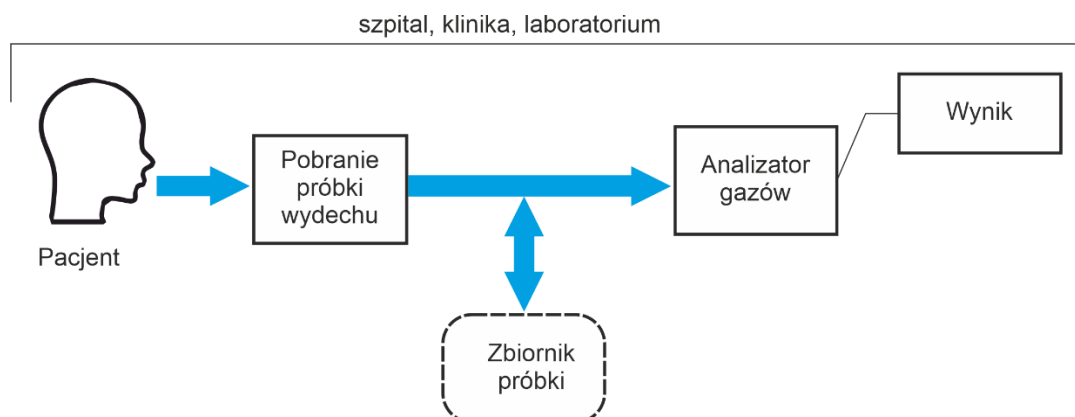
Oprócz zachowania wymaganych procedur w zakresie pobierania i gromadzenia próbki, niezwykle istotne jest zapewnienie jej „jakości” poprzez wydzielenie określonych części wydychanego powietrza (faz). Okazuje się bowiem, iż stężenie biomarkerów w wydychanym powietrzu zmienia się nie tylko wraz ze stanem zdrowia człowieka, ale również w poszczególnych jego fazach. Biomarkery mogą znajdować się w górnych drogach oddechowych obejmujących nos, nosogardło, jamę ustną, gardło, krtani i tchawicę. Na przykład, albumina jest potencjalnym wskaźnikiem obecności osocza (*plasma leaking*) w drogach oddechowych [15], lotne związki organiczne (*VOC – volatile organic compounds*) z jamy ustnej mogą stanowić sygnaturę nowotworu płaskonabłonkowego jamy ustnej (*oral squamous cell carcinoma*) [16]. Biomarkery mogą również znajdować się w dolnej części dróg oddechowych (oskrzela i płuca). Przykładowo, tlenek azotu jest biomarkerem astmy, dławicy piersiowej, hiperbilirubinemii [17], zaś butanian etylu wskazywany jest jako biomarker COVID-19 [18]. Powietrze pobrane z tzw. przestrzeni martwej, czyli objętości zatoki nosowej, gardła, krtani, tchawicy i oskrzeli nie bierze udziału w wymianie gazowej z krwią [19]. Szczególną uwagę zwraca się więc na powietrze pochodzące z wymiany gazowej w pęcherzykach płucnych [20,21] zawierające produkty procesów metabolicznych organizmu [22]. Pochodzenie znacznej ilości biomarkerów, ich znaczenie w diagnostyce chorób jest ciągle dużą niewiadomą [23].

Procedury pobierania próbek wydechu od pacjenta zostały podzielone na dwie zasadnicze grupy: „on-line” i „off-line”. Różnią się one sposobem gromadzenia próbki.

### 2.3.1. Metoda „on-line”

Zasada pobierania próbki w trybie „on-line” została przedstawiona na rys. 2.2. Próbki powietrza są najczęściej pobierane w szpitalu, klinice lub w laboratorium i przekazywane bezpośrednio do analizatora gazu, który określa ich skład chemiczny [24]. Analiza jest przeprowadzana w funkcji czasu wydechu, prędkości przepływu oraz ciśnienia gazu. Zaletą tej metody jest to, iż pomiar jest realizowany w czasie pobierania próbki od pacjenta. Zatem, można na bieżąco obserwować zmiany składu chemicznego wydychanego powietrza oraz w miarę potrzeby

modyfikować niektóre parametry np. szybkość przepływu, czy ciśnienie. W przeciwnym wypadku konieczne jest zastosowanie zbiornika na próbkę wydechu, spełniającego rolę bufora.

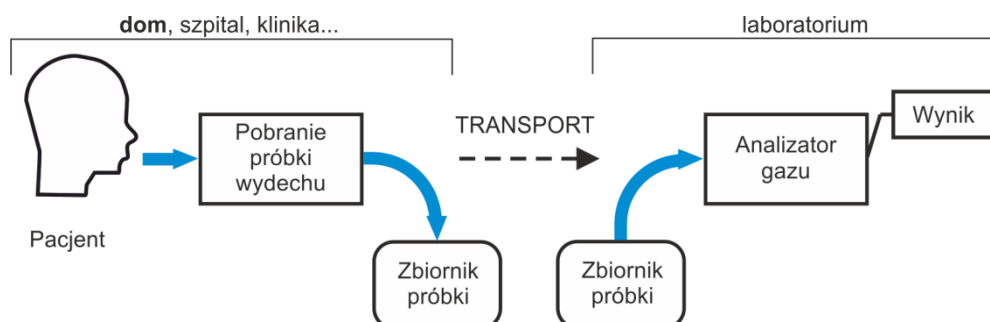


Rys. 2.2. Schemat metody „on-line” pobierania próbki wydechu człowieka.

W takiej konfiguracji, należy najpierw badaną próbkę wydychanego powietrza zgromadzić w zbiorniku, a następnie przesłać do analizatora. Istotną zaletą metody „on-line” jest nie tylko skrócenie czasu oczekiwania na wynik pomiaru oraz realizacja analizy składu wydychanego powietrza w trakcie pobierania próbki, ale również uniknięcie problemów związanych z transportem próbki do miejsca jej analizy. Jednakże, ze względu na złożoność obsługi układu analizy wydechu, niezbędny jest wykwalifikowany personel.

### 2.3.2. Metoda „off-line”

W metodzie „off-line”, pobranie próbki powietrza odbywa się najczęściej w szpitalu lub klinice (rys. 2.3).



Rys. 2.3. Schemat metody „off-line” pobierania próbki wydechu człowieka.

Współcześnie dąży się do tego, aby umożliwić pacjentowi pobranie i zgromadzenie próbki również w bardziej komfortowych warunkach, np. w domu. Powstają nowe rozwiązania, zapewniające również analizę wydychanego powietrza z wykorzystaniem urządzeń przenośnych [25]. Ich użycie zmniejsza poziom stresu w wypadku konieczności wizyty u lekarza oraz zapewnia dowolność wyboru czasu i miejsca pobrania próbki (nawet

w warunkach domowych). Powoduje to jednak konieczność opracowania urządzenia miniaturowego, prostego w obsłudze, z opcją automatycznej pracy. Następnie pobrana próbka powietrza transportowana jest do laboratorium, gdzie podlega analizie w celu identyfikacji zdefiniowanych składników. Dodatkową zaletą tej metody jest zapewnienie niezależności pracy układu względem wymagań technicznych zastosowanego analizatora gazów. Wymagania te mogą dotyczyć m.in. ciśnienia roboczego, przepływu gazu, czasu pomiaru, objętości zgromadzonej próbki, czystości i stopnia wilgotności [3]. Uzyskuje się przez to efektywniejsze wykorzystanie czasu pracy analizatora poprzez realizację wielu badań w jednym cyklu uruchomieniowym. Do wad metody „off-line” należy zaliczyć znacząco dłuższy czas oczekiwania na wyniki badań oraz pojawienie się ryzyka wystąpienia zmian chemicznych w pobranej próbce w funkcji czasu przechowania, temperatury, warunków transportowych itp. Dlatego też, w praktyce stosuje się termostатовane komory, w których przechowuje się zgromadzone próbki [26] oraz dąży się do maksymalnego skrócenia czasu ich transportu.

Aktualnie prowadzone są badania związane z próbą opracowania procedur pobierania próbek, które mają na celu:

- ocenę wpływu hiperwentylacji i postawy ciała pacjenta na skład chemiczny gromadzonej próbki wydechu [27,28],
- kontrolę przepływu lub objętości oddechu podczas pobierania, jak również oceny efektywności pobierania próbek przez nos lub usta [29,30],
- zdefiniowanie liczby próbek oddechu, które należy pobrać, w celu osiągnięcia dokładności i powtarzalności pomiarów (jeden lub kilka wdechów) [31],
- zdefiniowanie problemów rozcieńczenia i zanieczyszczenia próbki oraz metody ich ograniczania [32],
- identyfikację parametrów fizjologicznych pacjenta podczas pobierania próbki, takich jak częstość oddechów i ilość uderzeń serca [33],
- analizę metod pobrania próbki z odpowiedniej fazy wydychanego powietrza, np. z górnych lub dolnych dróg oddechowych, czy np. końcowej objętości oddechowej [34],
- syntezę wpływu innych czynników takich jak wiek, płeć, sposób odżywiania, palenie tytoniu i inne [35].

## 2.4. Metody gromadzenia i przechowywania próbek wydychanego powietrza

Istotne znaczenie dla efektywności wykrywania biomarkerów ma także sposób gromadzenia i przechowywania pobranej próbki powietrza. Dotyczy to m.in. konieczności minimalizacji wpływu materiału, z którego został wykonany dany pojemnik. Powinien on charakteryzować się m.in.:

- minimalną permeacją oraz adhezją analizowanych gazów,
- brakiem emisji dodatkowych zanieczyszczeń oraz neutralnością chemiczną,
- stabilnością poziomu stężenia zgromadzonych gazów,
- wysoką odpornością na czynniki zewnętrzne (środowiskowe),
- dużą odpornością fizyczną na uszkodzenia,
- możliwością zgromadzenia dużej objętości próbki.

W praktyce okazuje się, że próbki o mniejszej objętości są bardziej narażone na straty w wyniku permeacji. Badania wykazały, że objętość pobranej próbki również wpływa na jej stabilność. Dodatkowo stwierdzono, że pobranie powinno dotyczyć objętości tak dużych jak to jest możliwe, aby zminimalizować wpływ zanieczyszczeń tła [36]. Powszechnie stosowane zbiorniki gazowe zestawiono w tab. 2.2.

**Tab. 2.2. Najczęściej stosowane zbiorniki do przechowywania próbek wydychanego powietrza.**

Materiał	Właściwości
Pojemniki szklane i strzykawki	Łatwe w użyciu, tanie, powszechnie dostępne. Odporne chemicznie, niski poziom wnoszonych zanieczyszczeń. Mało odporne na uszkodzenia mechaniczne, ograniczony zakres dostępnych objętości, duże wymiary [37].
Zbiorniki metalowe	Wygodne w użyciu, zapewniają stabilność pobranej próbki gazu po odpowiednim przygotowaniu powierzchni. Stosunkowo ciężkie, nieporęczne, drogie, wymagają odpowiedniego czyszczenia w celu wielokrotnego użycia [38].
Worki polimerowe	Wygodne i poręczne w użyciu, odporne chemicznie, duże objętości. Stosunkowo mała stabilność chemiczna próbek gazu, problematyczne czyszczenie, drogie [39].

Obecnie, ze względów praktycznych, stosuje się najczęściej worki wykonane z:

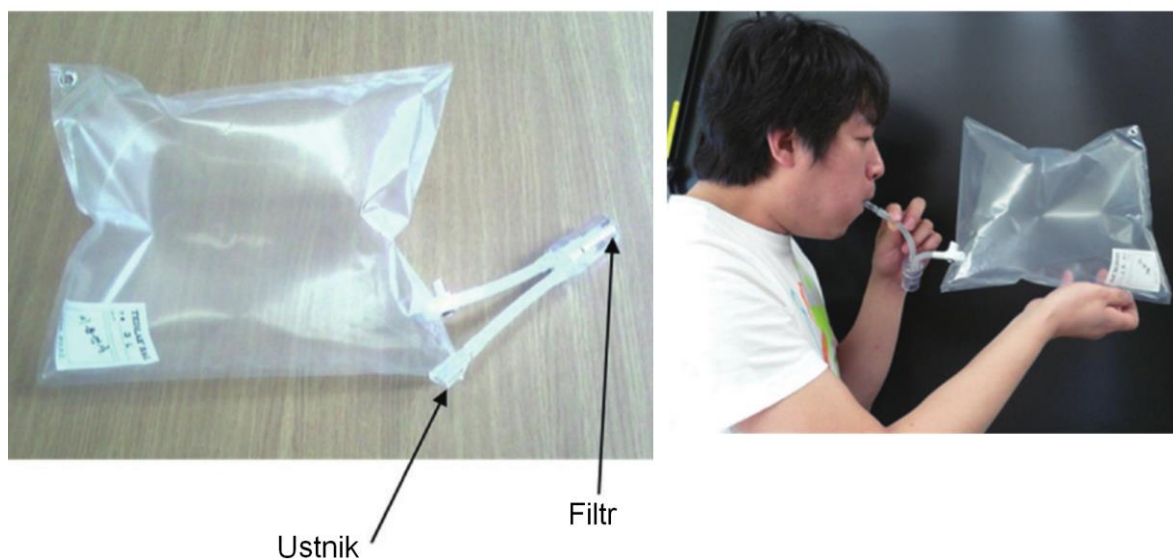
- tedlaru (*PVF, polyvinyl fluoride*),
- teflonu (*PTFE, polyte-trafluoroethylene*),
- wielowarstwowych metalizowanych Flexfoil (*PET/NY/AL/ CPE-polyethylene terephthalate/nylon/aluminium foil/chlorinated polyethylene*),
- mylaru, nalophanu (*PET, polyethylene terephthalate*).

Jednak stosunkowo mała stabilność chemiczna próbek wydechu zgromadzonych w tego typu workach powoduje, że przeprowadzenie analizy powinno odbyć się w czasie nie później niż 6 ÷ 8 godzin od chwili pobrania.

## 2.5. Fazy wydechu oraz metody ich określania

W zależności od zakresu wymaganej diagnostyki medycznej, wydychane powietrze można pobierać bezpośrednio, jako całą próbkę wydechu (tzw. „*mixed expiratory sampling*” - MES [40]) lub wybierając z całego wydechu tylko jego określoną część, tzw. pobranie końcowo-wydechowe (tzw. „*end-tidal*” – ET [41]).

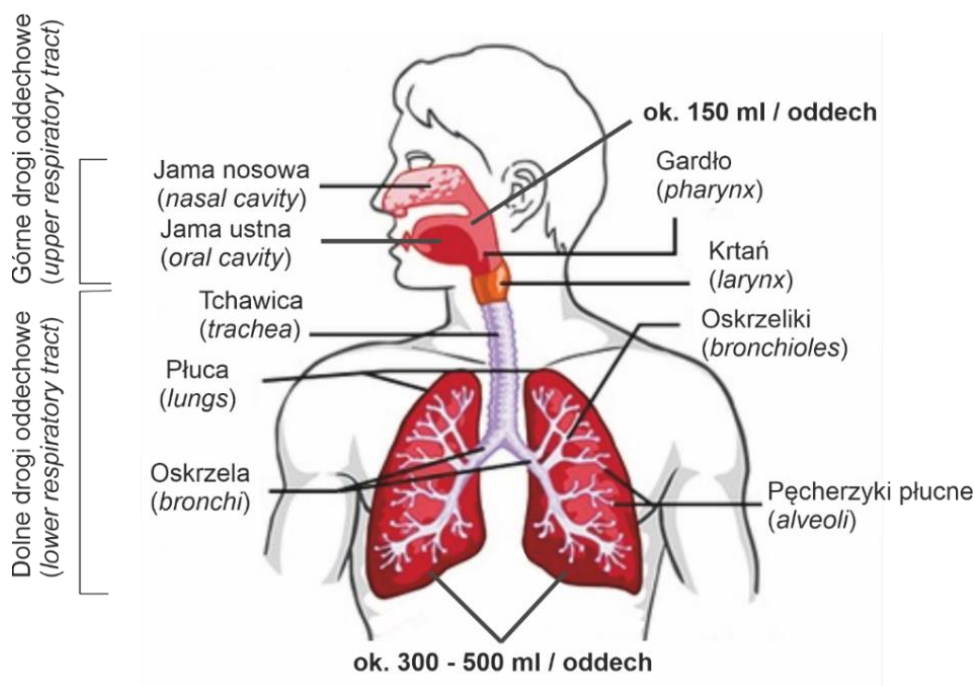
Pobranie próbki wydechu metodą MES jest najprostsze, gdyż nie wymaga specjalistycznego oprzyrządowania. Cała próbka wydechu pobierana jest bezpośrednio do specjalnego zbiornika, bez przeprowadzania analizy fizycznej lub chemicznej. W typowej konfiguracji układ pobierania próbki składa się z ustnika, filtra powietrza zabezpieczającego przed zanieczyszczeniem (ślina, kurz) oraz worka (rys. 2.4).



Rys. 2.4. Bezpośrednie pobieranie powietrza wydychanego przez człowieka [42].

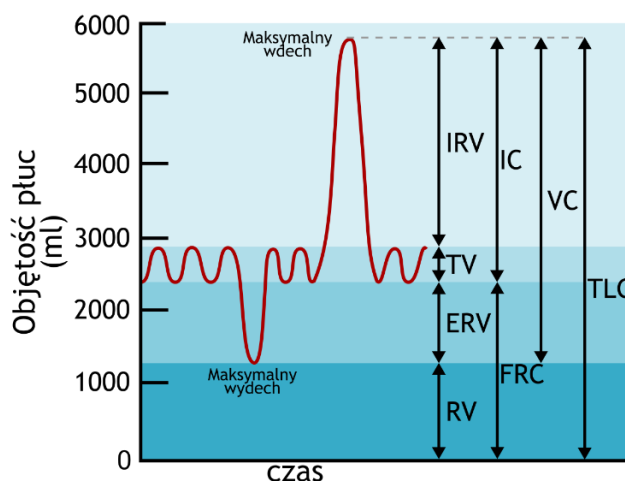
Próbka może zostać później poddana procesowi zateżenia, który jest stosowany w chromatografii gazowej, spektrometrii masowej przy użyciu mikroekstrakcji do fazy stacjonarnej.

Metoda pobierania ET umożliwia natomiast gromadzenie powietrza zawierającego składniki pochodzące bezpośrednio z wymiany powietrznej z krwią w pęcherzykach płucnych. W tej procedurze tylko niewielka ilość powietrza (300 ml ÷ 500 ml) pochodzi z pęcherzyków płucnych [43] (rys. 2.5).



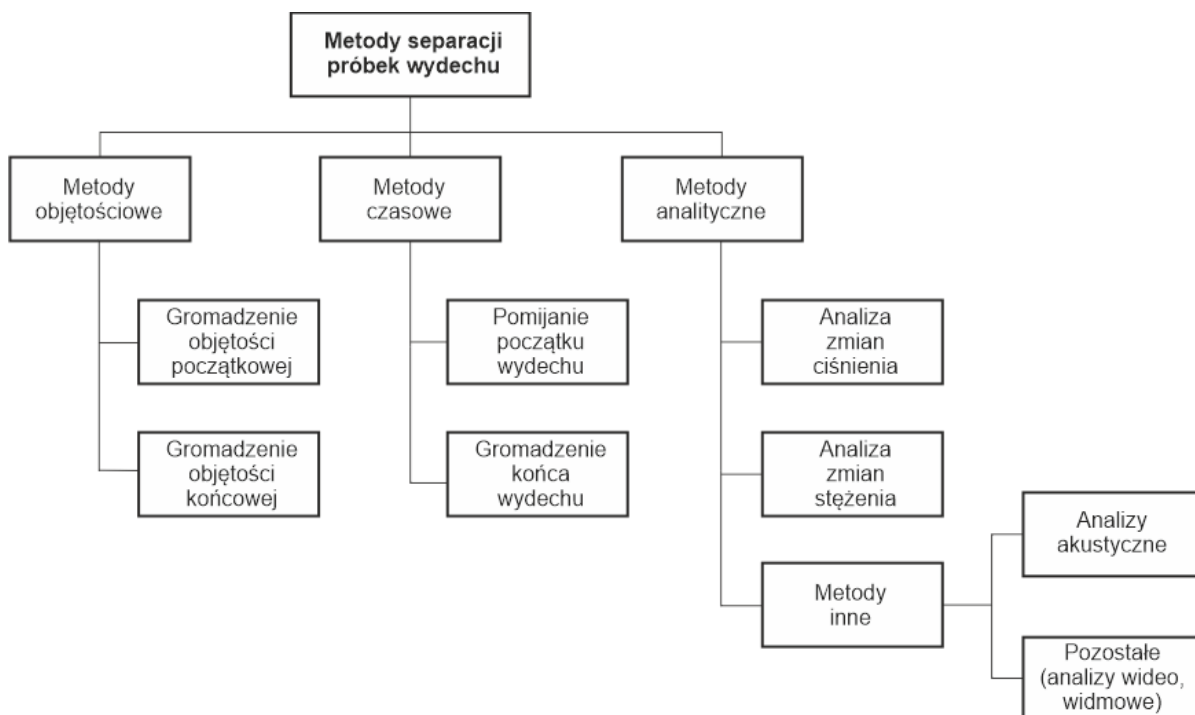
**Rys. 2.5. Budowa układu oddechowego człowieka z podziałem na górne (jama ustna, jama nosowa, gardło, krtań) i dolne (tchawica, oskrzela, oskrzeliki, płuca pęcherzyki powietrzne) drogi oddechowe oraz odpowiadające im przybliżone objętości w typowym wydechu [19]. Przestrzeń martwa – część układu oddechowego prowadzącego do pęcherzyków płucnych.**

Właśnie ta część wydechowego powietrza zawiera nawet do trzech razy więcej lotnych związków organicznych [44,45] w stosunku do innych faz. Dlatego jest ona niezwykle cenna w badaniach medycznych i z tego powodu wskazane jest jej odseparowanie podczas pobierania próbki wydechu (rys. 2.6). Dodatkowo, unika się w ten sposób mieszania wydechowego powietrza pochodzącego z przestrzeni martwej [46].



**Rys. 2.6. Objętości i pojemności płuc: TLC - całkowita pojemność płuc, VC - pojemność życiowa, RV - objętość zalegająca, IC - pojemność wdechowa, FRC - czynnościowa pojemność zalegająca, IRV - zapasowa objętość wdechowa, TV - objętość oddechowa, ERV - zapasowa objętość wydechowa [47].**

Z przeprowadzonej analizy literatury wynika, że zastosowane metody separacji faz próbek wydechu można podzielić na objętościowe, czasowe i analityczne (rys. 2.7):



**Rys. 2.7. Metody separacji faz wydechu stosowane w układach pobierania próbek.**

Metody objętościowe polegają na pobraniu lub pominięciu określonej objętości wydychanego powietrza. Stosuje się w nich proste rozwiązania polegające na użyciu worka buforowego gromadzącego powietrze o objętości ok. 100 ml ÷ 150 ml z początku lub ok. 150 ÷ 200 ml z końca cyklu wydechu. W innej natomiast konfiguracji, z całego strumienia wydechu jest zasysana do strzykawki interesująca część wydychanego powietrza. Tego typu pobieranie próbki jest proste w realizacji. Jest skuteczne zwłaszcza w metodach analitycznych niewymagających dużych objętości gazów. W metodach objętościowych zakłada się, że objętości określonych części wydechu u pacjentów są takie same lub różnice nie są istotne. Nie uwzględnia się przy tym wieku, płci, wagi czy różnic pojemności dolnych dróg oddechowych poszczególnych pacjentów. W metodzie tej należy brać pod uwagę również fakt, że u pacjentów może wystąpić różny przepływ powietrza w trakcie wydechu. Dotyczy to przede wszystkim dzieci i osób z dysfunkcjami układu oddechowego, co warunkuje krótsze lub dłuższe pobieranie wydechu. Dla uniknięcia wpływu różnic między pacjentami (wiek, waga, płeć) realizowane są dodatkowe procedury wyznaczania objętości strefy martwej, które umożliwiają zminimalizowanie tych rozbieżności [46]. Należy jednak zauważyć, że metody te obarczone są subiektywnością wyboru oraz objętością tylko określonej części wydechu, a co za tym idzie trudna jest do osiągnięcia np. maksymalizacja objętości frakcji pęcherzykowej wydychanego powietrza.



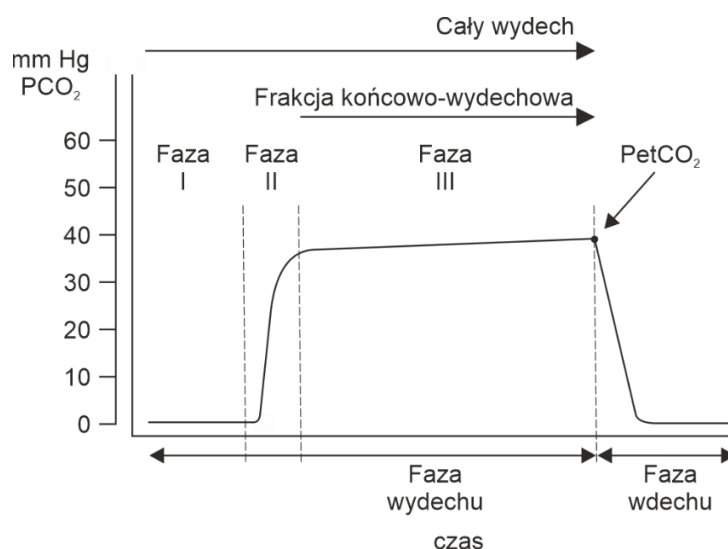
Metody czasowe działają na podobnej zasadzie, lecz determinantem początku poszczególnych faz nie jest objętość, lecz czas trwania wydechu. Polegają one na pobraniu lub pominięciu próbek wydychanych w określonym przedziale czasu wydechu. Realizowane jest to przez pominięcie pierwszych 2s ÷ 3s, lub gromadzenie próbek w trakcie 1/2 lub 1/3 czasu trwania wydechu. Analogicznie, niepewność wyznaczenia fazy wydechu wynika z założenia takich samych parametrów układu oddechowego pacjentów, stałego przepływu powietrza w urządzeniu, itp. Może to doprowadzić do utraty części cząsteczek biomarkera pochodzących od przemian metabolicznych w organizmie, co jednocześnie warunkuje konieczność wykorzystania bardzo czułych analizatorów. W takiej konfiguracji separacja faz wydechu umożliwia jedynie zgrubnie określenie końcowej fazy wydechu oraz wymagany jest nadzór doświadczonego operatora.

Znacznie dokładniejsze są metody analityczne. Polegają one na analizie zmian określonych parametrów (np. ciśnienia powietrza, stężenia gazu w trakcie wydechu, dźwięku przepływającego powietrza). Do ich realizacji stosuje się rozbudowane układy monitorowania zachowania pacjenta, które umożliwiają pomiary akustyczne dźwięków z płuc, analizując zmiany impedancji tkanek [48,49]. Dodatkowo, metody mogą być zastosowane w układach automatycznej separacji faz wydechu, które identyfikują fazy wydechu według zdefiniowanych procedur. Zaletą tych metod jest bezinwazyjność oraz możliwość zastosowania u pacjentów z niewydolnością oddechową. Ponadto nie wpływają one na cykl oddechowy i mogą być wykonywane nawet podczas snu pacjenta. Niezbędne jest jednak wykorzystanie zaawansowanych technik analizy sygnałów lub algorytmów uczenia maszynowego [50]. Syntetyczny przegląd metod separacji wydechu zestawiono w tab. 2.3.

**Tab. 2.3. Przegląd metod separacji wydechu.**

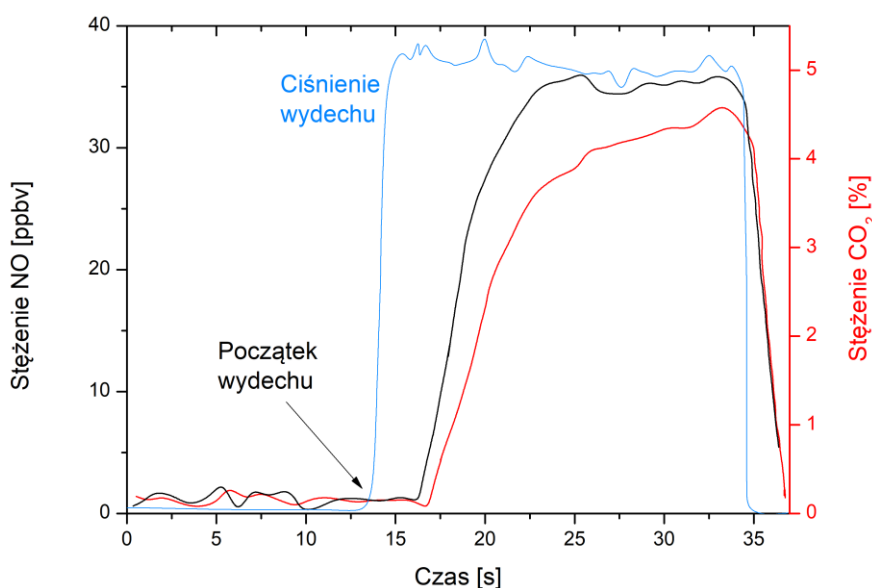
Zasada działania	Wady	Zalety	Źródło
Założona stała objętość lub czas trwania fazy	Czas trwania lub objętość fazy jest zmienna i zależy od wieku, płci itd.	Prostota realizacji	[51–53]
Określana przez operatora	Wymagany doświadczony operator, subiektywna ocena	Prostota realizacji	[54–56]
Analiza zmian ciśnienia w wydechu pacjenta	Może zależeć od stanu zdrowia pacjenta	Prostota realizacji, nie wymaga dodatkowych czujników	[57–59]
Stały próg stężenia wybranego gazu	Próg może być różny dla różnych pacjentów	Prostota realizacji	[60–62]
Analiza dynamiki zmian stężenia wybranego gazu	Stosunkowo skomplikowana, wymaga dużej mocy obliczeniowej, zazwyczaj realizowana po zakończeniu wydechu	Mała niepewność pomiaru	[63–65]
Analiza sygnałów akustycznych z tchawicy lub płuc	Stosunkowo skomplikowana analiza sygnałów (czasu, fazy, częstotliwości), zastosowanie logiki rozmytej	Nie wymaga współpracy pacjenta	[66–71]

W celu precyzyjnego wyznaczenia i separacji faz wydechu jest stosowana analiza zmian stężenia ditlenku węgla ( $\text{CO}_2$ ) w wydychanym powietrzu. Przebieg zmian stężenia  $\text{CO}_2$  w trakcie wydechu nazywany jest krzywą kapnograficzną lub kapnogramem (rys. 2.8).



Rys. 2.8. Typowy kapnogram z przyporządkowanymi fazami wydechu [72].

Krzywa ta jest bardzo istotna z punktu widzenia konstrukcji układu pobierania powietrza dla opracowanego optoelektronicznego analizatora, ponieważ istnieje zależność pomiędzy zmianami stężenia  $\text{CO}_2$  a największą ilością wydychanego  $\text{NO}$  ( $\text{feNO}$  - ang. *fractional exhaled nitric oxide*) [73]. Wydzielenie powietrza wyłącznie z frakcji końcowo-wydechowej stanie się wyznacznikiem skuteczności działania systemu pobierania próbek dla analizatora  $\text{NO}$  (rys. 2.9).



Rys. 2.9. Zależność między stężeniem  $\text{CO}_2$  oraz  $\text{NO}$  w wydychanym powietrzu: ciśnienie wydechu – kolor niebieski (zakres zmian od 1013 mbar do 1033 mbar), stężenie  $\text{CO}_2$  – kolor czerwony, stężenie  $\text{NO}$  – kolor czarny [73].

Analiza stężenia CO<sub>2</sub> w wydychanym powietrzu umożliwia podział wydechu na cztery fazy (tab. 2.4).

**Tab. 2.4. Fazy wydechu określone na podstawie pomiaru stężenia CO<sub>2</sub> w wydychanym powietrzu [19].**

Faza wydechu	Charakterystyka	Kapnogram
I	Początek wydechu. Powietrze z górnych dróg oddechowych, nie biorące udziału w wymianie gazowej z krwią.	Małe stężenie CO <sub>2</sub> (zbliżone do atmosferycznego)
II	Mieszanina powietrza z objętości martwej i powietrza pochodzącego z pęcherzyków płucnych.	Szybkie zwiększanie się stężenia CO <sub>2</sub> (do ok. 3% ÷ 5%)
III	Powietrze pochodzące z pęcherzyków płucnych.	Powolny wzrost stężenia CO <sub>2</sub> aż do osiągnięcia maksymalnej wartości (PetCO <sub>2</sub> )
IV	Koniec wydechu i początek kolejnego wdechu.	Gwałtowny spadek stężenia CO <sub>2</sub> do poziomu stężenia w powietrzu atmosferycznym

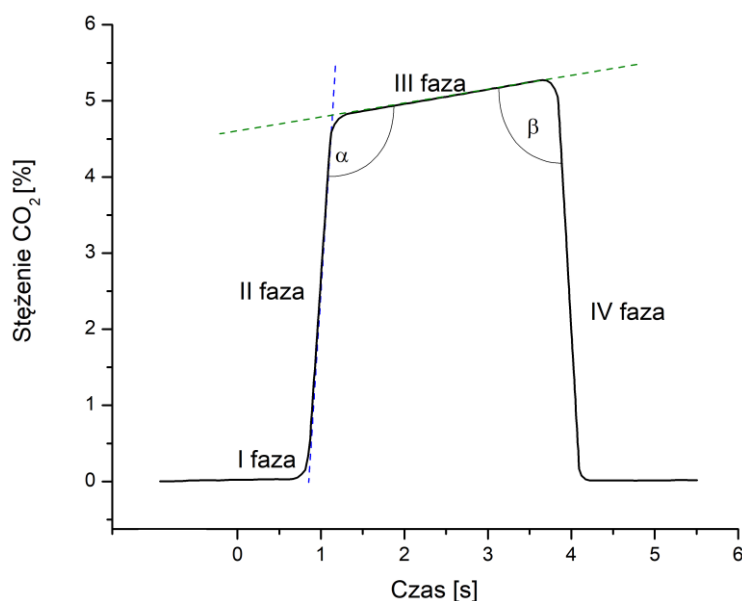
Analizowane powietrze w fazie I zazwyczaj nie zawiera CO<sub>2</sub> i endogennych lotnych związków organicznych. W fazie II następuje gwałtowny wzrost stężenia CO<sub>2</sub>, wynikający z narastającej ilości powietrza z frakcji pęcherzykowej. W trakcie jej trwania, następuje opróżnianie zawartości pęcherzyków płucnych. Następnie rozpoczyna się faza III, określana też jako „plateau wydechowe”, gdzie stężenie CO<sub>2</sub> przyjmuje maksymalne wartości. Punkt PetCO<sub>2</sub> (cząsteczkowe ciśnienie końcowo-wydechowe, ang. *partial pressure of end-tidal CO<sub>2</sub>*) definiuje końcową fazę wydechu.

Dla czujników CO<sub>2</sub>, najprostszy algorytm wyznaczania początku fazy III wydechu zakłada zdefiniowanie wartości stężenia progowego CO<sub>2</sub>. Wartość ta jest dobierana eksperymentalnie [61] lub metodami statystycznymi [62]. Z analizy literatury wynika, że najczęściej przyjmowane były wartości wynoszące od 3% do 4% CO<sub>2</sub> w wydychanym powietrzu [74,75]. Jednocześnie zauważono, iż wartość ta pojawia się przy zgromadzeniu 70% objętości wydechu, co również może umożliwić na separację faz [76]. Metoda ta cechuje się prostotą realizacji, która polega na uruchomieniu procesu separacji pobierania próbek wydechu natychmiast po wykryciu przekroczenia progu. Fundamentalnym czynnikiem wpływającym jednak na efektywność tej metody jest fakt, że przyjęta wartość progowa będzie inna dla każdego z pacjentów. Wyznaczenie początku III fazy jest więc istotne dla zapewnienia maksymalnej objętości zgromadzonej próbki oddechu pochodzącej z wymiany pęcherzykowej i jednocześnie zawierającej tlenek azotu.

## 2.6. Algorytmy wyznaczania początku III fazy wydechu

Współcześnie dąży się do automatyzacji procesu wykrywania faz wydechu w celu zmniejszenia niedokładności, które pojawiają się w metodach opierających się na subiektywnych ocenach. Z przeglądu literatury wynika, że do tej pory nie zostały opracowane wspólne kryteria określania faz wydechu [76]. Problemy te uwypuklają się szczególnie przy próbach analizy krzywych kapnograficznych u osób z chorobami płuc [77]. Wskazuje to na konieczność opracowania metod wykrywania faz wydechu niezależnych od predyspozycji pacjenta oraz jego stanu zdrowia. Wymaga to jednak opracowania odpowiednich algorytmów oraz praktycznej weryfikacji ich funkcjonalności.

Metoda analityczna dotyczy analizy kątów nachylenia poszczególnych części krzywej kapnograficznej [78]. W fazie II wydechu następuje gwałtowne zwiększenie  $\text{CO}_2$ , wynikające z mieszania się powietrza z przestrzeni martwej oraz powietrza z wymiany pęcherzykowej. W fazie III występuje tylko powietrze z pęcherzyków płucnych, a przebieg  $\text{CO}_2$  osiąga swoje plateau. Punkt przecięcia prostych stycznych do przebiegów odpowiednich faz wydechu wyznacza początek tej fazy [79–83] (rys. 2.10).



Rys. 2.10. Określanie początku III fazy wydechu z wykorzystaniem metody przecięcia stycznych [80].

Z analizy literatury wynika, że akceptowalne są również inne metody analityczne określające:

- rozpoczęcie III fazy wydechu jako początek wyłącznie płaskiej części krzywej kapnograficznej („alveolar plateau”) [84],
- początek „załamania” fazy II i fazy III powiększony o 50% objętości fazy II [65],
- stałą wartość czasu przed zakończeniem wydechu [77].

Metody te mają jednak dwie zasadnicze wady. Początek III fazy można wyznaczyć dopiero po pewnym czasie jej trwania oraz występuje problem w jej wykryciu u osób ze schorzeniami płuc. Dla tych osób kształt krzywej kapnograficznej może znacząco odbiegać od typowego kształtu otrzymywanego dla zdrowego człowieka, potocznie określanego jako „płetwa rekina” („*shark fin*”).

Opracowano również metodę, która opiera się na analitycznym wyznaczeniu linii trendu stężenia CO<sub>2</sub> oraz kątów nachylenia prostych obu faz [85]. Do wyznaczenia regresji liniowej fazy II brane są punkty od pojawienia się jej początku do 40% objętości wydechu, natomiast dla fazy III są to punkty odpowiadające zakresowi od 40% do 80% objętości wydechu [86]. Metoda ta nie jest jednak przydatna klinicznie ze względu na fakt, iż wyznaczenie linii trendu dla III fazy jest możliwe dopiero po osiągnięciu „alveolar plateau”, czyli już w trakcie jej trwania. W tym wypadku, analiza faz oddechu może być dodatkowo utrudniona samym szumem sygnału wyjściowego z czujnika CO<sub>2</sub>. Proponowane jest więc uśrednianie wyników (np. z wykorzystaniem średniej kroczącej [64]) oraz ograniczenie pasma sygnałowego czujnika CO<sub>2</sub> [63]. Autorzy pracy [64] wykorzystali zmiany szybkości wymiany gazowej CO<sub>2</sub> i O<sub>2</sub> do wyznaczenia tzw. progu beztlenowego (AT - *anaerobic threshold* [87]), czyli natężenia wysiłku powodującego nagłą wyżkę stężenia kwasu mlekowego do poziomu, w którym organizm nie nadąża z jego utylizacją. W pracy [63] metoda ta wykorzystana była do dodatkowego filtrowania sygnału. Takie procedury wykorzystano m.in. do analizy krzywych kapnograficznych w funkcji objętości wydechu („*volumetric capnography*” [88]) oraz oscylacji kardiogenicznych [89]. Istnieją również bardziej zaawansowane metody analizy krzywych kapnograficznych [65]. Jednakże ich działanie wymaga dużej mocy obliczeniowej oraz użycia specjalistycznych środowisk programowania. Autorzy kilku prac wskazują na przydatność analiz m.in. widmowej gęstości mocy sygnału [90] lub sygnału wideo do określania cyklu oddechowego [91].

Z przeglądu dostępnych sposobów analizy faz wydechu oraz scenariusza działania układu pobierania próbek, uwzględniającego jego praktyczne zastosowanie do współpracy z analizatorem NO wynika, że zaimplementowana w nim może być analiza zmian przyrostów stężenia CO<sub>2</sub>. Będzie ona szczególnie efektywna dla pacjentów cierpiących na choroby układu oddechowego, którzy nie mogą wykonać głębokiego i długiego wydechu. Wymaga to opracowanie algorytmu działania całego układu, który zapewniłby pobranie maksymalnej objętości frakcji pęcherzykowej z maksymalnym stężeniem NO. Dodatkową zaletą tej metody, będzie brak konieczności zastosowania zaawansowanych rozwiązań wymagających dużych mocy obliczeniowych.

## 2.7. Analiza czujników CO<sub>2</sub> do wykorzystania w procedurze separacji faz wydechu

Obecnie do pomiaru stężenia CO<sub>2</sub> są stosowane różne czujniki, zarówno laboratoryjne jak i komercyjne (tab. 2.5).

Tab. 2.5. Analiza dostępnych czujników CO<sub>2</sub>.

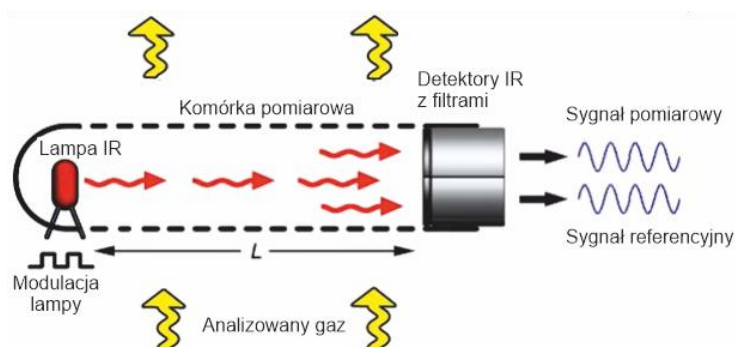
Typ	Zasada działania	Zakres pomiarowy	Niepewność bezwzględna pomiaru	Czas odpowiedzi	Źródło
Czujniki termiczne	Analiza przewodności termicznej, pojemności cieplnej	Od 0 do 15%	~ 5%	~ dziesiątki ms	[92–96]
Czujniki elektrochemiczne typu „solid state”	Analiza zmian pojemności/impedancji w komórce elektrochemicznej	Od ~ 0,04% do ~ 90%	~ 20%	~ minuty	[97–103]
Czujniki membranowe	Pomiar zmian pH między elektrodą a selektywną membraną	Od ~ pojedynczych ppm do ~ setek ppm	~ 10%	~ minuty	[104–107]
Czujniki optoelektroniczne	Analiza absorpcji promieniowania w gazie	Od 0 do 100%	~ 5%	~ 10 ms	[108–111]

Jednak nie wszystkie z nich mogą być stosowane jako czujniki kapnograficzne ze względu np. na małą selektywność, długi czas analizy, zmiany czułości w trakcie pracy. Przykładowo, mała selektywność, czyli potencjalne zafałszowanie wskazań czujnika w wyniku obecności innych gazów oraz potencjalne uszkodzenie czujnika cieczami uniemożliwia wykorzystanie termicznych czujników CO<sub>2</sub>. Również czujniki elektrochemiczne nie są stosowane w układach wykrywania faz wydechu. Wynika to z długiego czasu odpowiedzi oraz konieczności nagrzewania (wymagany jest czas nawet do 2 godz. [99]).

Większość producentów kapnografów nie ujawnia szczegółów technicznych dotyczących zastosowanych w nich konkretnych czujników CO<sub>2</sub> i metod identyfikacji fazy wydechu. Producenci ograniczają się zazwyczaj do ogólnych informacji. Przykładowo, dla czujników optoelektronicznych CO<sub>2</sub> wspominają jedynie, że jest stosowana metoda bezdyspersyjnej absorpcji w zakresie średniej podczerwieni (*NDIR - non-dispersive infrared*) [112,113]. Nie ma żadnych natomiast dodatkowych danych na temat ich konstrukcji oraz parametrów. Jednak ze względu na ich zalety, są one najczęściej stosowane w kapnografach. Do najważniejszych z nich należy zaliczyć:

- możliwość ciągłej pracy i pomiar dużych stężeń badanego gazu bez pogorszenia jego parametrów,
- długi czas bezawaryjnej pracy,
- dużą szybkość odczytu stężenia gazu (np. 100 odczytów na sekundę).

Typowy czujnik NDIR zbudowany jest ze źródła promieniowania IR, detektora podczerwieni, komórki pomiarowej oraz detektora referencyjnego. Detektor referencyjny stosowany jest jako źródło monitorowania poprawnej pracy źródła promieniowania (rys. 2.11).



**Rys. 2.11. Zasada działania czujnika NDIR [114].**

Należy jednocześnie zauważyć, że sygnał wyjściowy z tego typu czujników zależy m.in. od ciśnienia i temperatury i niezbędna jest ich okresowa kalibracja (ok. raz na rok) [115]. Odbywa się ona rzadziej niż dla innych typów czujników.

## 2.8. Analiza rozwiązań stosowanych w układach pobierania próbek wydechu

Analiza urządzeń do pobierania próbek wydechu została przeprowadzona na podstawie informacji zawartych w publikacjach dostępnych w bazach: MEDLINE, BIOSIS, EMBASE, INSPEC, COMPENDEX, PQSCITECH i SCISEARCH [116,117]. Umożliwiło to wstępne zdefiniowanie parametrów obecnie stosowanych układów do pobierania próbek wydechu (tab. 2.6) oraz zapoznanie się z aktualnym stanem wiedzy dotyczącym rozwiązań stosowanych w tego rodzaju urządzeniach.

Analiza ta wykazała, że wśród przeszło 70 doniesień literaturowych, w 59 zostały opisane urządzenia do pobierania próbek, w których próbki wydechu człowieka są najczęściej gromadzone w workach polimerowych (Tedlar, Mylar, Supel foil), pojemnikach szklanych lub w stalowych strzykawkach. Pobranie próbki w zasadzie ogranicza się do wypełnienia przez pacjenta zastosowanego zbiornika. W takich rozwiązaniach brak jest możliwości przeprowadzenia standaryzacji, zachowania dużej precyzji i powtarzalności wyników.

Rozpatrując procedurę pobierania próbki okazuje się, że z przeanalizowanych rozwiązań tylko jedna konstrukcja umożliwia pobranie próbki powietrza bezpośrednio z płuc za pomocą sondy endoskopowej [118]. Z analizy procedur separacji faz wydechu wynika, że dla każdego układu istnieje „własna” procedura, wykorzystująca zróżnicowany zestaw czujników (ciśnienia, temperatury, wilgotności lub kapnografy) [54,119,120].

**Tab. 2.6. Zestawienie tabelaryczne wybranych układów pobierania próbek opisanych w literaturze.**

Nazwa	Metoda	Zalecane biomarkery	Czas	Zastosowane czujniki	Dedykowane analizatory
Versatile breath sampler [121]	Wydech do urządzenia	Izopren 80 ppb Etanol 200 ppb Aceton 600 ppb	Ok. 100 sekund	Różnicowy czujnik ciśnienia (SDP2108, Sensirion), czujnik CO <sub>2</sub> (Capnostat 5, Respironics)	PTR-TOF-MS (proton transfer reaction mass spectrometry)
Dual mode breath sampler [122]	Worek Nalophan	Izopren 2 ppb, aceton 40 ppb, toluen 1 ppb, etanol 30 ppb	Brak danych (czas potrzebny na napełnienie worka o pojemności 1 l)	Czujnik CO <sub>2</sub> (Capnostat 5, Respironics), czujnik ciśnienia (pneumotachometer)	GC/MS (chromatografia gazowa i spektrometria masowa), czas pomiaru 56 min
Compact breath acetone analyser [119]	Worek Tedlar	Aceton 0,7 ppmv	Brak danych (czas potrzebny na napełnienie worka tedlarowego)	Czujnik wilgotności (Honeywell HIH4000-003), czujnik temperatury i ciśnienia (Bosch BMP280)	Absorpcja UV, 285nm
Pneumopipe [123]	Absorbery Tenax	n-butanol 115 ppb	3 minuty		GC (chromatografia gazowa)
BAMOD [59]	Worek Tedlar	VOC od 0,1 do 2,1 ppb	Brak danych (czas potrzebny na napełnienie worka tedlarowego)	Kapnograf Novamatrix	GC (chromatografia gazowa)
Breath sampling device [120]	Worek Tedlar	Toulen i aceton 0,6 ppb, Acetaldehyde 0,85ppb, metanol, benzen styren 1 ppb	Brak danych (czas potrzebny na napełnienie worka tedlarowego)	Czujnik ciśnienia	PTR-TOF-MS (proton transfer reaction mass spectrometry)



EBS - endoscopic breath sampling [118]	Worek Tedlar			Zasysanie powietrza z płuc przez endoskop	GC/MS chromatografia gazowa i spektrometria masowa
In vivo breath sampler [54]	Szklana strzykawka		2-3 wydechy	Czujnik CO <sub>2</sub> , fazowanie na podstawie obserwacji operatora	GC/MS chromatografia gazowa i spektrometria masowa
In Vivo Breath Gas Sampling [124]	Szklana strzykawka	10,3 toluen, 14,1 benzen, 11,0 1,2,4-trimetylobenzen	2-3 minuty	Kapnograf Novamatrix Medical System	Thermal-Desorption Photoionization Mass Spectrometer
Breath gas sampling device [51]	Worek Tedlar, strzykawka			Kapnograf Novamatrix Medical System	GC (chromatografia gazowa)

## 2.9. Wymagania stawiane układom pobierania próbek.

Celem dalszych prac było określenie wymagań i analiza możliwości wykorzystania dostępnych komercyjnie urządzeń do pobierania próbek w opracowywanym optoelektronicznym sensorze NO. Dokonano klasyfikacji urządzeń uwzględniając ich najważniejsze cechy, m.in. stosowanie procedur separacji faz wydechu, możliwość pracy w trybie off-line lub/i on-line, oraz z uwzględnieniem możliwości ich współdziałania z analizatorami wykrywającymi NO. Szczególną uwagę zwrócono na spełnienie wytycznych Amerykańskiego Towarzystwa Chorób Układu Oddechowego (ATS – *American Thoracic Society*) i odpowiednika europejskiego (ERS – *European Respiratory Society*), które definiują warunki pracy aparatury medycznej przeznaczonej do pobierania próbek wydechu celem pomiaru stężenia tlenu azotu [125,126]. Rekomendacje zawarte w tych wytycznych wskazują praktyczne aspekty pobierania próbek w celu:

- zapewnienia oddychania czystym powietrzem, ze względu na konieczność zminimalizowania wpływu tła i zanieczyszczeń od powietrza atmosferycznego,
- pobrania wdechu powietrza przez 2÷3 sekundy i natychmiastowego wydechu do urządzenia,
- realizacji swobodnego wydechu, uniknięcie hiperwentylacji lub wstrzymania wydechu,
- zapewnienia oporu podczas wydychania, które spowoduje wzrost ciśnienia podczas wydechu powyżej 4,9 mbar (5 cm H<sub>2</sub>O). Jest ono niezbędne w celu zamknięcia przegrody nosowej i uniknięcia mieszania się powietrza z górnych i dolnych dróg oddechowych. Ponadto, aby uniknąć przeciążenia pacjenta podczas badania, naciśnienie podczas wydechu nie powinno przekraczać 19,6 mbar (20 cm H<sub>2</sub>O),
- utrzymania przepływu powietrza w układzie w zakresie od 2,7 l/min do 3,3 l/min. Taka wartość wynika z zapewnienia bezpieczeństwa pacjenta i dopasowania do naturalnego rytmu oddechowego człowieka,
- zapewnienia czasu gromadzenia próbki przynajmniej przez 6 sekund, w tym 3 sekundy czasu trwania III fazy, dla powtarzalności wyników pomiarów,
- wizualizacji procesu wdechu i wydechu, dla utrzymania prawidłowego przepływu powietrza w układzie),
- zapewnienia separacji faz wydechu realizowanej w czasie rzeczywistym na podstawie ciśnienia cząstkowego CO<sub>2</sub> w wydychanym powietrzu [36].

Wyniki przeprowadzonej analizy zostały przedstawione w tab. 2.7.

**Tab. 2.7. Przegląd komercyjnych układów pobierania próbek.**

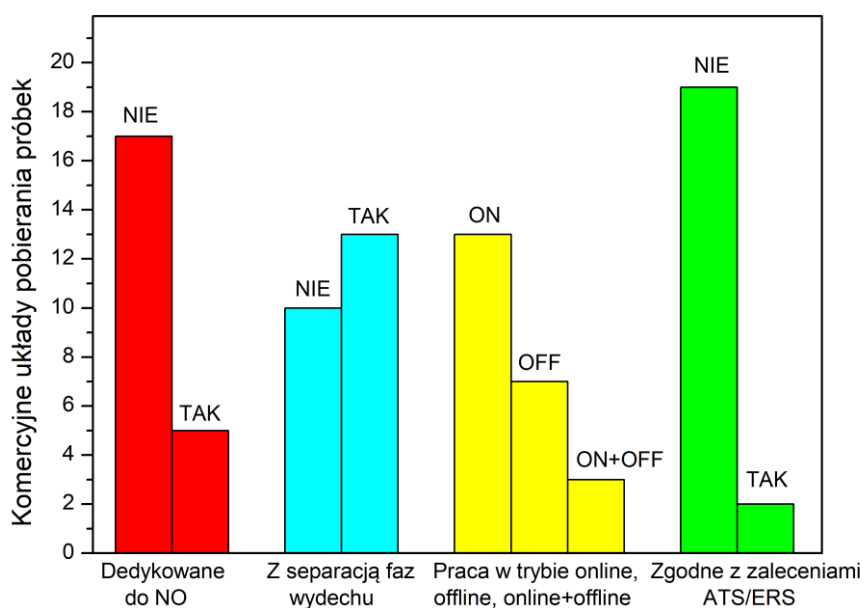
Lp	Nazwa	Metoda gromadzenia próbki	Zalecane biomarkery	Zalecane stężenie biomarkerów	Czas gromadzenia próbki	Wykorzystane czujniki	Dedykowany analizator biomarkerów	Separacja faz	Tryb pracy	Zgodność z ATS/ERS
1	ReCIVA Breath Sampler [127]	Sorbenty	VOC	Od ppb	Od 1 do 10 minut	CO <sub>2</sub> , ciśnienia	Lonestar VOC Analyzer (różnicowa spektrometria ruchliwości jonów FAIMS)	TAK	OFFLINE	NIE
2	Zysense NO Breath Kit [128]	Worki Mylar	NO	0,5 ppb ÷ 500 ppm	Różny	Ciśnienia	Nitric Oxide Analyzer (NOA 280i) - chemiluminescencja	TAK	OFFLINE ONLINE	TAK
3	(BET) Breath Analysis [129]	Wydech do urządzenia	VOC	Pojedyncze pptv z jednego wydechu	Kilka sekund		IONICONS PTR-MS (Proton Transfer Reaction - Mass Spectrometry)	TAK	ONLINE	NIE
4	BreathX (Menssana Research Products) [130]	Worki BreathBag	n-alkany		< 10 min		GC SAW (Chromatografia z powierzchniową falą akustyczną)	NIE	OFFLINE ONLINE	NIE
5	Bio-VOC breath sampler [52]	Sorbenty	VOC		Jeden wydech		TD-GC (Thermal desorption-gas chromatography mass spectrometry)	TAK	OFFLINE	NIE
6	PAS Technology sampling cases [131]	Sorbenty	VOC				GC-PID, GC-IMS lub IMS	NIE	OFFLINE	NIE
7	QuinTron Instrument AlveoSample Breath Test Kit [132]	Dedykowane worki	CH <sub>4</sub> , H <sub>2</sub>	ppm	Kilka wydechów, gromadzone przez 3h		BreathTracker Analyzer SC, solid-state	NIE	OFFLINE	NIE
8	BreathSpec [55]	Jednorazowe strzykawki	VOC	ppb	Kilka minut	Przepływu i CO <sub>2</sub>	Chromatograf gazowy (GC) i spektrometria ruchliwości jonów (IMS)	TAK	ONLINE	NIE
9	Loccioni Breath Sampler SOFIA [133]	Sorbenty	VOC			CO <sub>2</sub> , ciśnienia	Loccioni Instrument	TAK	ONLINE	NIE

10	Breath Diagnostics – Onebreath [134]	Dedykowane worki oraz sorbenty	VOC		Jeden wydech		spektrometr masowy (MS)	NIE	ONLINE	NIE
11	SUPER SESI [135]	Wydech do urządzenia	VOC		Minuty	CO <sub>2</sub> , przepływu	Secondary Electro-Spray Ionization + masowa spektrometria wysokorozdzielcza	TAK	ONLINE	NIE
12	GLUCAIR [136]	Wydech do urządzenia	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O	Wykrywanie acetonu	Pojedyncze wydechy		Wbudowany czujnik acetonu (chemiczny)	NIE	OFFLINE	NIE
13	Gastric Emptying Breath Test (GEBT) [137]	Dedykowane pojemniki szklane	<sup>13</sup> C	Wykrywanie <sup>13</sup> C w oddechu	Pojedyncze wydechy		laboratoryjny Gas Isotope Ratio Mass Spectrometry (GIRMS)	NIE	OFFLINE	NIE
14	AmBeR [138]		NH <sub>3</sub>	Wykrywanie amoniaku			Czujnik chemiczny	NIE	OFFLINE ONLINE	NIE
15	Breathtec [139]	Wydech do urządzenia	VOC				Field Asymmetric Ion-Mobility Spectrometry (FAIMS)	NIE	ONLINE	NIE
16	Syft [140]	Wydech do urządzenia	NO	ppt			Selected Ion Flow Tube Mass Spectrometry (SIFT-MS) - Voice200ultra	NIE	ONLINE	NIE
17	FENO offline collection kit [141]	Worki Mylar	NO	Od 0,1 ppb do 5000 ppb	Pojedyncze wydechy	Ciśnienia	Czujnik chemiluminescencyjny	TAK	OFFLINE	TAK
18	NObreath [142]	Wydech do urządzenia	NO	5 ÷ 300 ppb		Przepływu	Czujnik elektrochemiczny	NIE	ONLINE	NIE
19	Gastro+ [143]	Wydech do urządzenia	H <sub>2</sub>	0 ÷ 250 ppm			Czujnik elektrochemiczny	NIE	ONLINE	NIE

20	ToxCO [144]	Wydech do urządzenia	CO	0 do 600 ppm		Czujnik elektrochemiczny	NIE	ONLINE	NIE
21	GastroCH4ECK [145]	Wydech do urządzenia	CH <sub>4</sub> , H <sub>2</sub>	0 ÷ 200 CH <sub>4</sub> 0 ÷ 200 H <sub>2</sub>		Czujnik elektrochemiczny + czujnik NDIR	TAK	ONLINE	NIE
22	NEPHROLUX [146]	Wydech do urządzenia	NH <sub>3</sub>	1 ppb		Laserowa spektroskopia akustyczna	NIE	ONLINE	NIE
23	RTubeVOC [147]	Sorbenty	VOC		Pojedyncze wydechy	Spektrometria masowa	TAK	ONLINE	NIE
24	IMU BreathSampler [61]	Worki Tedlar	VOC	0,22 ÷ 437 ppb	CO <sub>2</sub>	Chromatograf gazowy (GC) i spektrometria masowa (MS)	TAK	ONLINE	NIE

W większości wypadków producent nie podaje szczegółowych informacji technicznych, ograniczając się do ogólnego opisu i prezentacji parametrów, nie ujawniając zastosowanych rozwiązań konstrukcyjnych. Są one budowane z przeznaczeniem do współdziałania ze ściśle określonym modelem analizatora danej substancji. Należy jednak zauważyć, że obok urządzeń bardzo popularnych i często używanych [48, 103–106] pojawiają się w ostatnich latach nowe rozwiązania, opracowywane przez start-upy [134,135,137,138,140].

Na podstawie analizy parametrów komercyjnych układów pobierania próbek wydechu można stwierdzić, że tylko pięć układów jest dedykowanych do współpracy z analizatorami wykrywającymi NO (rys. 2.12). W pozostałych wypadkach producenci nie przewidują takiej możliwości bądź nie informują o niej. Ponadto, parametry tylko dwóch urządzeń (model *Zysense On-Line NO Breath Kit* oraz model *FENO off-line collection kit*) są zgodne z wytycznymi ATS/ERS. Aby wdychane powietrze było pozbawione „tła” są stosowane specjalne filtry.



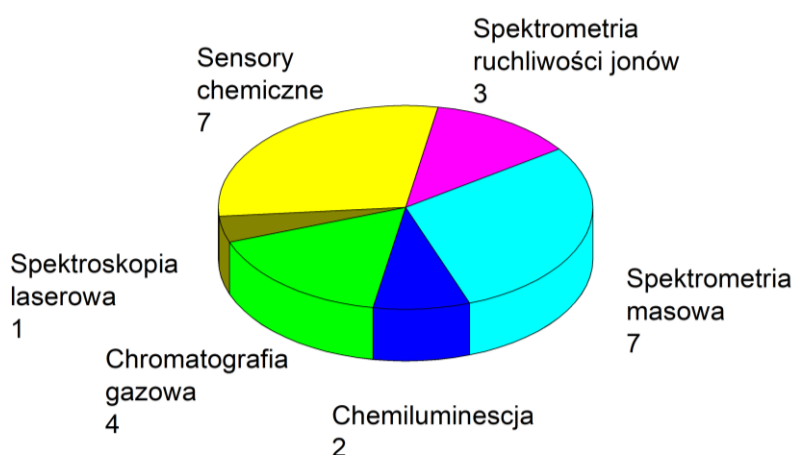
Rys. 2.12. Analiza parametrów komercyjnych układów pobierania próbek.

Przykładowo, w celu zapewnienia oddychania powietrzem z zawartością tlenu azotu o stężeniu < 5 ppb) jest stosowany tzw. „*NO scrubber*” [148,149]. Ze względu na ograniczoną trwałość tych filtrów (ok. 1 rok) oraz konieczność ich okresowej kontroli, zasadne jest rozważenie innej metody, która zapewni pacjentowi możliwość oddychania powietrzem z minimalnym poziomem tła. Warunki te zostaną spełnione wówczas, gdy pacjent będzie miał możliwość oddychania powietrzem syntetycznym z butli [59].

Analiza wykazała, że większość urządzeń zapewnia separację próbek wydechu. Jednak metody separacji stosowane przez producentów są realizowane w zróżnicowany sposób [150].

Część urządzeń gromadzi małą objętość powietrza z końcowej części wydechu, aby uniknąć mieszania z powietrzem pochodzącym z przestrzeni martwej. Dodatkowym zagadnieniem stawianym układom pobierania próbek jest możliwość pobrania i zgromadzenia pojedynczego wydechu. Taka funkcjonalność jest rozwiązaniem wygodnym dla pacjenta, zapewniającym minimalny wysiłek w trakcie badania. Jednak, w takiej sytuacji mogą wystąpić problemy wynikające z potencjalnym brakiem powtarzalności wydechów pacjenta. Lepszym rozwiązaniem jest pobranie próbki z wielu wydechów. Możliwe jest wówczas przeprowadzenie dodatkowych analiz statystycznych, porównanie zmian wydolności oddechowej pacjenta oraz zgromadzenie większej objętości próbki do celów badawczych. Może się to jednak wiązać z większym obciążeniem pacjenta, które ma istotne znaczenie dla osób z chorobami płuc.

Ostatnim zagadnieniem dotyczącym analizy budowy i parametrów układów pobierania próbek jest możliwość współdziałania z różnymi analizatorami gazów (rys. 2.13).



**Rys. 2.13. Przegląd metod analitycznych stosowanych w badaniach wydechu pacjenta.**

W zastosowaniach laboratoryjnych do wykrywania oraz określania stężeń związków chemicznych, najbardziej rozpowszechniona jest analiza gazów z wykorzystaniem chromatografii gazowej, spektrometrii mas lub łączenia obu tych metod [30]. Wśród zastosowanych metod tylko w jednym modelu [146] wykorzystano spektroskopię laserową do wykrywania amoniaku [151,152]. Brak jest natomiast układów pobierania próbek umożliwiających współpracę z analizatorami wykrywającymi NO z zastosowaniem laserowej spektroskopii absorpcyjnej.

## 2.10. Podsumowanie

Konieczność opracowania specjalistycznego systemu do pobierania próbek powietrza (SPP) wydychanego przez człowieka wynika z realizacji prac naukowo-badawczych prowadzonych w Instytucie Optoelektroniki WAT związanych z opracowaniem zintegrowanego układu do

wykrywania gazowych komponentów ludzkiego wydechu charakterystycznych dla wybranych chorób. System pobierania próbek ma docelowo współpracować z optoelektronicznym sensorem tlenku azotu, który to związek jest biomarkerem astmy, dławicy piersiowej czy hiperbilirubinemii. Umożliwi przeprowadzenie nieinwazyjnych analiz określających stan pacjenta jako jedno z narzędzi do badań przesiewowych pod kątem selekcji wybranej choroby.

Przeprowadzona została synteza aktualnego stanu wiedzy dotyczącego problematyki analizy składu gazowego powietrza wydychanego przez człowieka. Szczególną uwagę zwrócono na metody umożliwiające pobranie i analizę śladowych ilości biomarkerów w oddechu. Dokonano analizy metod „on-line” i „off-line” pobierania próbek wydychanego powietrza oraz uwzględniono wstępne założenia procedury pobierania próbek. Przeprowadzony został przegląd metod gromadzenia próbek powietrza wydychanego przez człowieka.

Dalsza analiza wykazała, że istnieje konieczność wydzielenia z całego okresu pobierania próbki tylko określonej jej części, tzw. fazy wydechu. Konieczność wydzielenia konkretnej części wydechu, zwanej „III fazą” lub „frakcją pęcherzykową” wynika z faktu, iż właśnie w tej fazie pojawiają się związki chemiczne związane z przemianami metabolicznymi w organizmie. Pozwala to na wnioskowanie o stanie zdrowia pacjenta. Przeprowadzona została także analiza metod separacji próbek wydechu. Wskazano na metody bazujące na analizie zmian stężenia ditlenku węgla ( $\text{CO}_2$ ), które umożliwiają precyzyjne wyznaczenie i separację faz wydechu. Dokonano analizy dostępnych rozwiązań czujników  $\text{CO}_2$  oraz wytypowano czujniki optoelektroniczne wykorzystujące zjawisko bezdyspersyjnej absorpcji promieniowania w zakresie bliskiej podczerwieni do pomiaru szybkich zmian stężeń gazu, przy jednoczesnym zapewnieniu selektywności oraz długiej żywotności. Ze względu na fakt, że w trakcie jego pracy następują zmiany ciśnienia, temperatury, może to prowadzić do późniejszych jego błędnych wskazań. Może to być pomijalne w kapnografach, które nie wymagają dużej precyzji wskazań stężenia  $\text{CO}_2$ , ale jest konieczne do uwzględnienia w systemie pobierania próbek. W tym celu niezbędne jest wykorzystanie dodatkowych czujników, dzięki którym możliwa jest korekta wskazań czujnika  $\text{CO}_2$ . Pozwoli to dostosować czujnik NDIR do wykorzystania w analizie próbek wydechu pacjentów dzięki minimalizacji wpływu ciśnienia i temperatury na przepływające przez czujnik powietrze.

Przeprowadzona została analiza rozwiązań technicznych, zasady działania i parametrów układów pobierania próbek opisanych w literaturze dostępnej w bazach czasopism naukowych Web of Science i Scopus. Analiza ta umożliwiła sprecyzowanie wymagań stawianych układom pobierania próbek. Szczególną uwagę zwrócono na spełnienie wytycznych Amerykańskiego



Towarzystwa Chorób Układu Oddechowego (ATS) oraz jego europejskiego odpowiednika (ERS), precyzującego zalecenia dotyczące warunków pracy aparatury medycznej, przeznaczonej do pobierania NO z wydechu człowieka. Następnie przeprowadzono przegląd komercyjnie dostępnych układów pobierania próbek wraz określeniem ich zasady działania, parametrów i funkcjonalności. Analiza obejmowała zgodność z wytycznymi ATS/ERS, możliwość separacji faz wydechu, możliwość pracy w trybach „on-line” i „off-line” i możliwości ich zastosowania do współpracy z optoelektronicznym czujnikiem NO.

Stwierdzono brak możliwości współpracy istniejących komercyjnie oraz opisanych w literaturze układów pobierania próbek z analizatorami wykrywającymi tlenek azotu wykorzystującymi laserową spektroskopię absorpcyjną. Dodatkowo, zastosowanie automatycznej separacji faz wydechu powinno zapewnić prawidłowe wyznaczenie frakcji pęcherzykowej oraz uniknąć subiektywnej oceny separacji faz.

Proponowanym rozwiązaniem tego problemu może być zastosowanie mikroprocesorowego systemu pobierania próbek wyposażonego w optoelektroniczny czujnik CO<sub>2</sub> współpracujący z dodatkowymi czujnikami temperatury i ciśnienia przepływającej próbki powietrza. Można zatem przyjąć założenie, że **na podstawie danych z poszczególnych czujników oraz specjalnie opracowanego algorytmu wykrywania początku III fazy wydechu, będzie możliwe uzyskanie maksymalnej objętości frakcji pęcherzykowej o maksymalnym stężeniu badanego biomarkera.**

### 3. Cele szczegółowe, teza, przewodnik po pracy

**Celem** rozprawy doktorskiej było rozwiązanie problemów związanych z zapewnieniem warunków pracy systemu pobierania próbek wydychanego powietrza, z uwzględnieniem funkcjonalności optoelektronicznego czujnika gazu NO oraz wyselekcjonowaniu III fazy wydechu przy spełnieniu wymagań stawianych urządzeniom medycznym.

Teza rozprawy doktorskiej:

**Możliwa jest maksymalizacja objętości frakcji pęcherzykowej pobranej z powietrza wydychanego przez człowieka w wyniku minimalizacji wpływu ciśnienia i temperatury próbki na sygnał wyjściowy czujnika CO<sub>2</sub> oraz implementacji algorytmu analizy szybkości jego zmiany do wyznaczania początku III fazy wydechu.**

W celu udowodnienia tezy niezbędne było zrealizowanie następujących zadań cząstkowych:

1. Określenie wymaganych parametrów systemu pobierania próbek z uwzględnieniem uwarunkowań zdefiniowanych przez właściwości układów spektroskopii absorpcyjnej w podczerwieni przeznaczonych do wykrywania tlenu azotu.
2. Opracowanie koncepcji systemu pobierania próbek wydychanego powietrza do precyzyjnej i szybkiej separacji faz wydechu zapewniającego pobieranie maksymalnej objętości frakcji pęcherzykowej.
3. Przeprowadzenie eksperymentalnej weryfikacji przyjętej koncepcji z uwzględnieniem ewentualnej korekcji pracy poszczególnych elementów składowych systemu oraz algorytmów analizy danych.
4. Przeprowadzenie badań eksperymentalnych opracowanego systemu pobierania próbek w celu potwierdzenia osiągnięcia przyjętych założeń.
5. Zastosowanie systemu w rzeczywistych warunkach klinicznych podczas badań pacjentów.

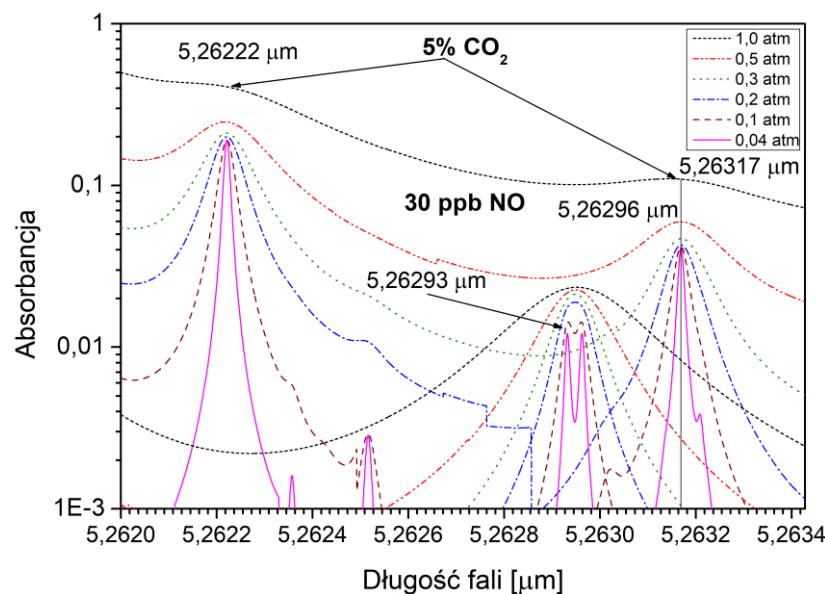
**Wymiernym efektem rozprawy doktorskiej** jest opracowanie unikalnego systemu pobierania próbek powietrza wydychanego przez człowieka. Jego parametry zostały dopasowane do wymagań zdefiniowanych przez optoelektroniczny czujnik gazu, w którym wykorzystuje się laserową spektroskopię strat we wnęce optycznej.

Rozprawa składa się z 7 rozdziałów. W rozdziale pierwszym opisana została geneza i motywacja realizowanych prac. Rozdział drugi zawiera analizę stanu wiedzy obejmującą wykorzystywane obecnie technologie detekcji biomarkerów, które znajdują zastosowanie w badaniach przesiewowych pacjentów. Zdefiniowano kluczowe elementy składowe tych technologii ze szczególnym uwzględnieniem wymagań dla układów pobierania próbek, a także przeanalizowano dostępne w literaturze oraz komercyjne rozwiązania tego typu. Przeprowadzona została analiza możliwości automatyzacji wyznaczania początku III fazy wydechu – frakcji pęcherzykowej – jako najbardziej interesującej ze względu na potencjał aplikacyjny we wczesnej diagnostyce chorób człowieka. Omówiono wyniki dotychczasowych badań związanych z zastosowaniem laserowej spektroskopii laserowej w wykrywaniu biomarkerów chorób, które pojawiać się mogą w powietrzu wydychanym przez człowieka. W efekcie przeprowadzonych analiz została określona teza pracy oraz zadania cząstkowe, które zostały zawarte w rozdziale trzecim. W rozdziale czwartym przedstawiono projekt systemu pobierania próbek. Przeprowadzono analizę teoretyczną modelu czujnika NDIR do pomiaru stężenia CO<sub>2</sub> w wydychanym powietrzu oraz wyselekcjonowano czujniki do pomiarów jego wilgotności, temperatury i ciśnienia. Dokonano szczegółowej analizy wytycznych Amerykańskiego Towarzystwa Chorób Układu Oddechowego (ATS - *American Thoracic Society*) oraz Europejskiego Towarzystwa Oddechowego (ERS - *European Respiratory Society*), dotyczących pobierania próbek powietrza przeznaczonych do pomiaru stężenie tlenu azotu. Opracowano algorytm wyznaczania początku III fazy wydechu oraz procedurę jej separacji. Rozdział piąty obejmuje opracowanie układu monitorowania parametrów wydychanego powietrza, metodykę analizy czynników mających wpływ na pomiary parametrów próbki oraz wyniki badań eksperymentalnych kluczowych komponentów systemu. Rozdział szósty zawiera wyniki badań opracowanego systemu pobierania próbek w warunkach laboratoryjnych oraz klinicznych, które wskazują osiągnięcie celu oraz dowodzą poprawności stawianej tezy rozprawy. Pracę kończą wnioski, które zawarto w rozdziale 7.

## Analiza parametrów poszczególnych układów systemu pobierania próbek

### 4.1. Wstęp

Przeprowadzona analiza wykazała konieczność opracowania systemu pobierania próbek powietrza (SPP) przeznaczonego do laserowych analizatorów tlenku azotu wykorzystujących spektroskopię absorpcyjną w podczerwieni. Jako główne wyzwanie badawcze zidentyfikowano maksymalizację objętości frakcji pęcherzykowej pobranej z powietrza wydychanego przez człowieka. Rozwiązanie tego zadania jest także uwarunkowane parametrami eksploatacyjnymi opracowanego w IOE WAT optoelektronicznego analizatora tlenku azotu, do którego projektowany system SPP ma dostarczać próbki wydychanego powietrza. W analizatorze tym zastosowana jest jedna z najczulszych metod laserowej spektroskopii absorpcyjnej, wykorzystująca zależność dobroci wnęki optycznej od rodzaju i stężenia znajdującego się w niej gazu. Analizator działa na zasadzie analizy absorpcji NO w paśmie  $5,260 \div 5,266 \mu\text{m}$ , z maksimum na  $5,263 \mu\text{m}$  [153]. W powietrzu wydychanym przez człowieka pasma absorpcji tlenku azotu pokrywają się z pasmami absorpcji pary wodnej i ditlenku węgla. Rozwiązaniem minimalizującym niekorzystny wpływ tych interferencji jest osuszenie próbki oraz obniżenie ciśnienia gazu powodujące zawężenie i separację pasm absorpcyjnych (rys. 4.1).



Rys. 4.1. Widma absorpcyjne NO o stężeniu 30 ppb i CO<sub>2</sub> o stężeniu 5% dla wybranych ciśnień z zakresu od 0,04 atm do 1 atm. Stężenia gazów są zbliżone do wartości występujących w wydechu człowieka.

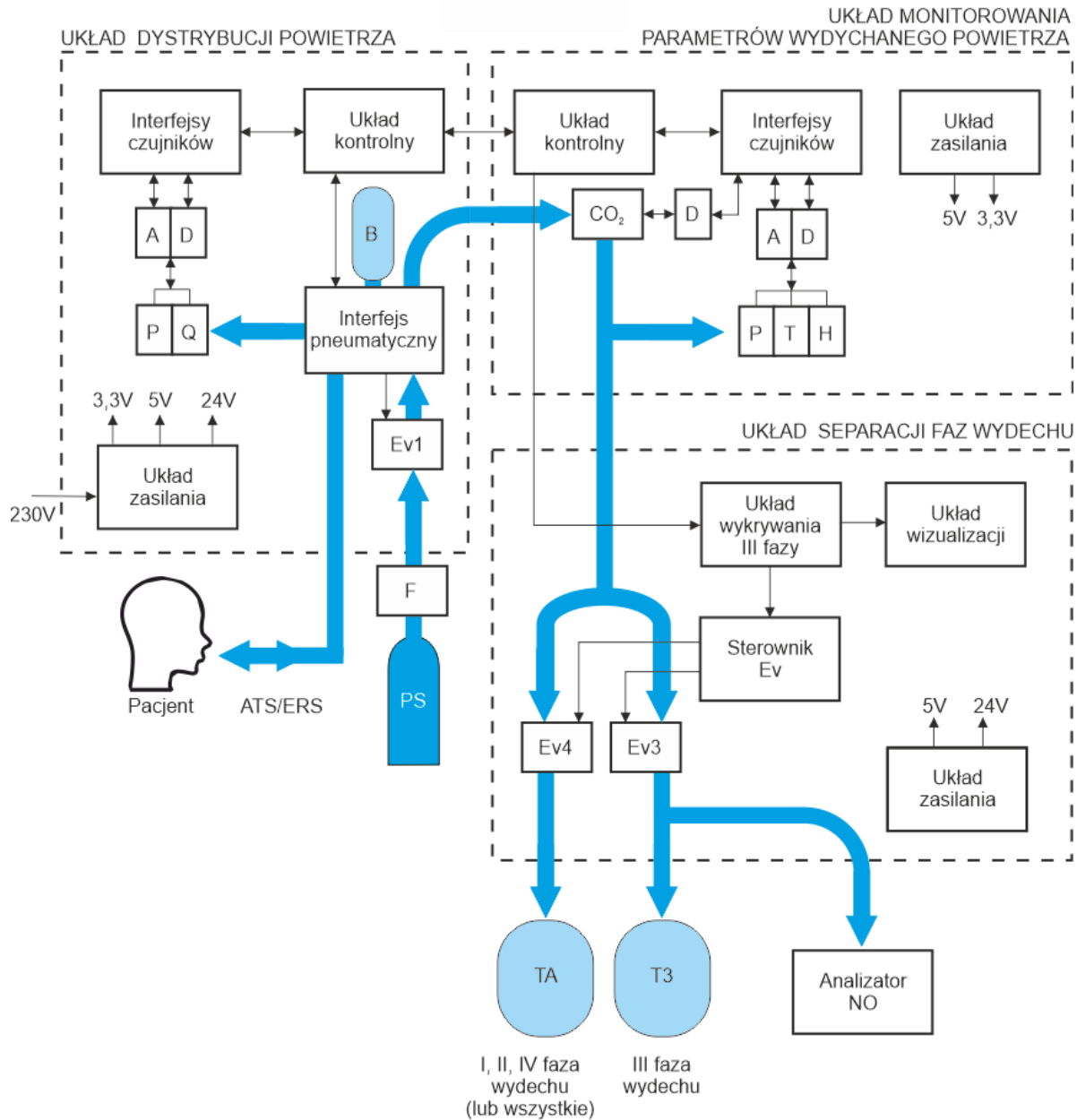
W rozdziale 2 przedstawiono wytyczne ATS/ERS, określające zasady pobierania próbek dla prawidłowego zgromadzenia NO z powietrza wydychanego przez pacjenta. Z przeprowadzonych analiz wynika także, że w systemie pobierania próbek, do identyfikacji faz oddechu należy zastosować czujnik CO<sub>2</sub>. Jednak do tej pory nie przeprowadzono badań, które mogłyby ilościowo określić wpływ parametrów próbki wydechu (ciśnienia, temperatury) na działanie czujnika CO<sub>2</sub> typu NDIR a tym samym na efektywność działania SPP. W związku z tym, zagadnienie to wymaga przeprowadzenia analiz umożliwiających zdefiniowanie kluczowych czynników, które będą wpływać na objętość powietrza gromadzonego z trzeciej fazy wydechu. Drugim czynnikiem wpływającym na efektywną i wydajną pracę systemu pobierania próbek, w którym do wykrycia początku III fazy wydechu stosuje się analizę krzywej kapnograficznej, jest kryterium determinujące moment rozpoczęcia i zakończenia procesu gromadzenia określonej części wydychanego powietrza.

#### 4.2. Projekt systemu pobierania próbek

SPP powinien działać poprawnie w wypadku pacjentów o różnej wydolności układu oddechowego, zależnej od stanu zdrowia, wieku, płci itp., w wyniku czego strumień pobieranego powietrza może mieć różne ciśnienie, temperaturę, przepływ, wilgotność czy stężenie CO<sub>2</sub>. Ponadto pacjent w trakcie pobrania próbki wydechu może zachowywać się w sposób nienaturalny. Najczęściej jest to spowodowane „syndromem białego fartucha”, czyli stresem wynikającym z kontaktu z personelem i koniecznością badań. Tego typu zachowanie może zaburzyć procedurę pobierania próbek. W wielu wypadkach może to być na tyle uciążliwe, że nie będzie można pozyskać określonej ilości powietrza do analizy. Dlatego też istotne jest, aby z danego wydechu zgromadzić jak największą ilość powietrza pochodzącego z III fazy i uniezależnić się od możliwości i cech danego pacjenta.

Projekt systemu pobierania próbek wykorzystuje trzy główne układy funkcjonalne: układ dystrybucji powietrza, układ monitorowania parametrów wydychanego powietrza oraz układ separacji faz wydechu (rys. 4.2). Zadaniem układu dystrybucji powietrza jest dostarczenie pacjentowi czystego powietrza oraz umożliwienie pobrania próbki wydechu przy zapewnieniu zgodności z wytycznymi ATS/ERS. Układ składa się z butli ze sprężonym powietrzem syntetycznym (PS), interfejsu pneumatycznego z regulatorem przepływu (F) i elektrozaworem (Ev1) oraz czujników ciśnienia (*P*) i przepływu (*Q*). Zadaniem czujnika ciśnienia jest wykrycie pojawienia się zbyt dużego ciśnienia w układzie, dla zapewnienia bezpieczeństwa pacjenta. Komunikacja z czujnikami oraz sterowanie interfejsem pneumatycznym realizowane jest przez dedykowany układ kontrolny. Układ kontrolny

wykorzystując dane z czujnika przepływu ma za zadanie tak stabilizować przepływ powietrza syntetycznego, aby zapewnić nieprzerwaną jego dostawę podczas realizacji przez pacjenta wdechu oraz zapewnić przepływ wydychanego powietrza z prędkością nie większą niż 3 l/min, zgodnie z wytycznymi ATS/ERS.



**Rys. 4.2.** Schemat blokowy modelu systemu pobierania próbek. A - przetworniki analogowo/cyfrowe, D - interfejsy cyfrowe.

Przy objętości wdechowej 3,5 l [47] i czasie wdechu 2s wystąpiła konieczność dostarczenia czystego powietrza syntetycznego z butli i natychmiastowego zwiększenia przepływu z 3 l/min do co najmniej 105 l/min. Zaproponowano zatem rozwiązanie polegające na wykorzystaniu w układzie dystrybucji powietrza worka „oddechowego” (bufora)

o objętości 3l. Rozwiązanie to wprowadziło dodatkową objętość w układzie, co umożliwiło rozwiązanie jednocześnie dwóch problemów - rezerwuaru powietrza syntetycznego umożliwiającego wykonanie szybkiego i pełnego wdechu oraz redukcję do bezpiecznych wartości skoków ciśnienia podczas przełączania elektrozaworu. Zastosowany regulator przepływu (F) umożliwił płynną regulację przepływu powietrza do pacjenta oraz zwiększenie przepływu powietrza z butli np. do przeprowadzenia procedury czyszczenia całego układu.

Zadaniem układu monitorowania parametrów wydychanego powietrza jest analiza parametrów fizycznych powietrza wydychanego przez pacjenta. Układ składa się z zestawu czujników: ciśnienia (*P*), temperatury (*T*) i wilgotności (*H*). Czujnik CO<sub>2</sub> mierzy stężenie ditlenku węgla w wydychanym powietrzu i przesyła dane do interfejsu czujników i dalej do układu kontrolnego. Na podstawie zmian parametrów *P*, *H* i *T* przepływającego powietrza, układ kontrolny dokonuje korekcji wskazań czujnika CO<sub>2</sub> w celu zminimalizowania wpływu ciśnienia, wilgotności i temperatury.

W układzie separacji faz wydechu sterownik elektrozaworów, zgodnie z algorytmem zaimplementowanym w układzie wykrywania III fazy, zmienia stan elektrozaworów Ev3 i Ev4. Otwarcie zaworu Ev3 powoduje w trybie „off-line” przesłanie wydzielonej frakcji pęcherzykowej powietrza do worka tedlarowego (T3). Powietrze z wydzielonych innych faz w trybie „off-line” jest kierowane do drugiego worka tedlarowego (TA). Jeżeli nie ma konieczności realizacji separacji faz, system SPP działa w trybie przesyłania całej objętości próbki wydechu do worka tedlarowego (TA). Dla pracy w trybie „on-line”, wydzielona próbka powietrza kierowana jest bezpośrednio do analizatora NO. Stan działania SPP jest sygnalizowany za pomocą układu wizualizacji, co jest również jednym z zaleceń ATS/ETS. Dzięki układowi wizualizacji pacjent otrzymuje informacje o aktualnym przepływie powietrza oraz o zgromadzeniu wymaganej ilości powietrza do badań.

Po zakończeniu procesu separacji faz wydechu w trybie „off-line”, próbka z III fazy wydechu zgromadzona w worku tedlarowym (T3) zostanie przesłana do analizatora NO celem pomiaru stężenia biomarkera.

### 4.3. Układ dystrybucji powietrza

Powietrze syntetyczne z butli musi być dozowane zgodnie z cyklem oddechowym pacjenta. Należy tak dostarczać czyste powietrze, aby umożliwić pacjentowi w dowolnym momencie jego zaczerpnięcie oraz zapewnić bezpieczne ciśnienie w całym układzie. Opracowano konstrukcję interfejsu pneumatycznego, która zapewnia pacjentowi nabranie pełnego „wdechu” powietrza. Próbka powinna być pobrana przy zachowaniu stałej wartości przepływu oraz

odpowiednich zakresów ciśnień wydechane powietrza, zgodnie z wytycznymi ATS/ERS. Konieczne jest określenie wymaganych parametrów, kryteriów wyboru oraz wytypowanie rozwiązań czujników do zastosowania w układzie dystrybucji powietrza.

Aby zapewnić bezpieczeństwo pacjenta, dostarczenie powietrza syntetycznego oraz pobranie próbki wydechu zostało realizowane z wykorzystaniem sterylnych, jednorazowych elementów zgodnie z zaleceniami medycznymi (maska twarzowa, filtry, łączniki, zastawki itp.).

#### 4.3.1. Budowa i zasada działania układu

Pomiar ciśnienia dostarczanego i wydechane powietrza pacjenta jest realizowany za pomocą czujnika ciśnienia ( $P$ ). Przepływ powietrza syntetycznego oraz przepływ próbki wydechu pacjenta realizowany jest z wykorzystaniem czujnika przepływu ( $Q$ ). Na podstawie informacji uzyskanych z tych dwóch czujników układ kontrolny poprzez interfejs pneumatyczny steruje elektrozaworem Ev1, co zapewnia dostawę pacjentowi powietrza syntetycznego.

Powietrze musi być swobodnie dostarczane pacjentowi podczas wykonywania wdechu oraz szybko odcinane przy wykryciu momentu wydechu. Ma to na celu uniknięcie rozrzedzania wydechane powietrza czystym powietrzem z butli. Dodatkowo ułatwia to wykonanie wydechu, ponieważ pacjent nie musi pokonywać wysiłkiem płuc ciśnienia strumienia napływającego powietrza. Układ ten zapewnia również natychmiastowe odłączenie dopływu powietrza z butli w wypadku zwiększenia ciśnienia powyżej bezpiecznego poziomu.

#### 4.3.2. Implementacja wymagań ATS/ERS

Na podstawie wytycznych ATS/ERS jako bezpieczny poziom nadciśnienia w układzie dystrybucji powietrza przyjęto ciśnienie 20 mbar powyżej ciśnienia atmosferycznego. Pojawienie się wyższego ciśnienia może być wskaźnikiem uszkodzenia układu lub błędu obsługi (ustawienie zbyt dużego przepływu). Skutkuje to natychmiastowym odcięciem powietrza do czasu usunięcia problemu.

Dobierając długości i średnice elementów wykorzystywanych w medycznej terapii oddechowej opracowano konstrukcję układu dystrybucji powietrza zapewniającą przepływ na poziomie 3 l/min (50 ml/s). Przy większym przepływie występuje spadek stężenia NO w wydechane powietrze [154]. Natomiast zbyt niskie ciśnienie wydechu (poniżej 5 mbar) może spowodować pobranie tlenu azotu pochodzącego z górnych dróg oddechowych w wyniku niezamknięcia gardła przez podniebienie miękkie [155].



### 4.3.3. Wyznaczenie maksymalnego czasu pomiaru parametrów próbki

Wydechana przez pacjenta próbka powietrza jest gazem ściśliwym, wykazującym odstępstwa opisane prawem gazu doskonałego. Jej stan określony jest równaniem gazu rzeczywistego

$$PV = znRT, \quad (4.1)$$

gdzie:  $P$  - ciśnienie gazu,  $V$  - objętość gazu,  $z$  - współczynnik ściśliwości,  $n$  - liczba moli gazu,  $R$  - uniwersalna stała gazowa ( $R = N_A \cdot k_B$ , gdzie:  $N_A$  - stała Avogadra,  $k_B$  - stała Boltzmanna,  $R = 8,314 \text{ J/mol}\cdot\text{K}$ ),  $T$  - temperatura gazu. Współczynnik ściśliwości gazu uwzględnia współczynniki poprawkowe, które opisują zachowanie się gazu dla zmian parametrów stanu. Współczynnik ten jest funkcją składu gazu, ciśnienia oraz temperatury. Objętość gazu można wyznaczyć ze wzoru

$$V = \frac{M}{\rho}, \quad (4.2)$$

gdzie  $M$  - masa molowa,  $\rho$  - gęstość gazu. Zależności te jednoznacznie wskazują na konieczność pomiaru zarówno ciśnienia, jak i temperatury próbki powietrza.

Stężenie ditlenku węgla, czyli liczba cząsteczek  $\text{CO}_2$  w danej objętości wydechane go powietrza jest opisana wzorem

$$C_{\text{CO}_2} = \frac{N_{\text{CO}_2}}{N_0} \quad (\text{cząsteczek/cm}^3), \quad (4.3)$$

gdzie:  $N_{\text{CO}_2}$  – liczba cząsteczek  $\text{CO}_2$ ,  $N_0$  jest liczbą Loschmidta =  $2,67 \cdot 10^{19}$  określającą liczbę cząsteczek lub atomów gazu doskonałego w jednym centymetrze sześciennym w warunkach normalnych.

Stężenie  $\text{CO}_2$  w wydechany m powietrzu zależy wprost proporcjonalnie od ciśnienia oraz odwrotnie proporcjonalnie od temperatury próbki powietrza w czujniku. Dla temperatur wydechane go powietrza w zakresie  $20 \div 36^\circ\text{C}$  współczynnik ściśliwości, wyrażający odchyłkę własności gazu rzeczywistego od gazu doskonałego, zmienia się w bardzo małym zakresie, tj. od 0,9999 do 1,000 [156].

Zmiany ciśnienia gazu przepływające go przez czujnik NDIR mogą powodować zmianę liczby cząsteczek badanego gazu w danej objętości [6] oraz zmianę szerokości linii absorpcyjnych tego gazu, a w rezultacie prowadzić do błędnych wskazań. Szerokość linii absorpcyjnej gazu  $w_l$  określona jest zależnością

$$w_l = w_0(P/P_0)(T_0/T)^x, \quad (4.4)$$

gdzie  $w_0$  jest szerokością linii dla ciśnienia  $P_0 = 1013 \text{ mbar}$  i temperatury  $T_0 = 273 \text{ K}$  [157]. Dla różnych gazów szerokość linii absorpcyjnej gazu, w warunkach normalnych, przyjmuje zwykle

wartości od ok. 0,01 do 0,1 cm<sup>-1</sup>. Wykładnik  $x$  jest stałą wynoszącą od 0,5 do 1,0 w zależności od typu cząsteczki. Na podstawie zależności (4.4) oraz biorąc pod uwagę zmiany temperatury przepływającego przez czujnik powietrza wynika, że może być konieczne przeprowadzenie dodatkowej korekty jego wskazań [158].

Kolejnym czynnikiem mającym wpływ na niepewność pomiaru stężenia CO<sub>2</sub> jest wilgotność. Jest to spowodowane pokrywającymi się pasmami absorpcji CO<sub>2</sub> oraz pary wodnej. Przy zastosowaniu szerokopasmowych źródeł promieniowania podczerwonego może dojść do sytuacji, iż promieniowanie będzie pochłaniane zarówno przez badany gaz, jak i parę wodną, co może również prowadzić do przekłamań wskazań czujnika [159–162]. Drugim negatywnym zjawiskiem jest wykroplenie się pary wodnej wewnątrz układu pneumatycznego SPP oraz czujnika dwutlenku węgla, co skutkuje dużymi niepewnościami pomiarowymi. Konieczne jest zatem zbadanie wpływu zawartości pary wodnej w wydychanym powietrzu na pomiar stężenia CO<sub>2</sub> oraz analiza wilgotności jego próbki przed przesłaniem do analizatora NO.

Dobór czujników temperatury, ciśnienia, wilgotności, przepływu i stężenia CO<sub>2</sub> uwarunkowany jest czasem, w jakim musi być przeprowadzony pomiar parametrów próbki wydychanego powietrza oraz rozpoczęta procedura separacji frakcji pęcherzykowej. Zbyt długi czas pomiaru uniemożliwi szybką reakcję układu kontrolnego na dynamikę zmiany parametrów powietrza, zaś zbyt późne rozpoczęcie separacji III fazy wydechu skutkuje "utrata" objętości próbki.

Jako kryterium poprawności pobrania próbki wydechu przyjęto stosowany w technikach badań spirometrycznych parametr określający maksymalną rozbieżność pomiędzy kolejnymi objętościami powietrza wydychanego przez pacjenta. Mianowicie, jeżeli różnica między największą objętością powietrza jaką można pobrać z płuc podczas maksymalnego wydechu (ang. *Forced Vital Capacity* - FVC), a pobraną objętością powietrza wydychaną w czasie jednej sekundy (ang. *Forced Expiratory Volume in 1 second* - FEV1) różni się w poszczególnych cyklach o więcej niż 5%, oznacza to konieczność powtórzenia badania [163,164].

Zgromadzona objętość frakcji pęcherzykowej  $V_R(t)$  w funkcji czasu określona jest zależnością:

$$V_R(t) = Q \cdot t \quad (4.5)$$

gdzie  $Q$  oznacza przepływ wydychanego powietrza, a  $t$  jest czasem trwania frakcji pęcherzykowej. Przy założeniu zgodnie z wytycznymi ATS/ERS stałego przepływu 50 ml/s, niepewność wyznaczenia objętości frakcji pęcherzykowej będzie zależała w głównej mierze od niepewności pomiaru stężenia CO<sub>2</sub> i od przyjętej metodyki wyznaczania III fazy. Według

ATS/ERS pacjent jest w stanie wykonać wydech przez 10s. Jeżeli przyjmie się, że czas trwania III fazy wynosi 7 s oraz  $\delta = 5\%$ , wówczas maksymalny czas systemu przeznaczony na wykonanie algorytmu dotyczącego wydzielenia III fazy powinien wynosić  $t_{MAX} = 350$  ms. Z tego względu wymagane jest jak najszybsze zadziałanie układu separacji faz wydechu definiowane przez czas przeznaczony na korekcję wskazań czujnika CO<sub>2</sub>, wypracowanie decyzji o wyznaczeniu początku III fazy oraz zadziałania elektrozaworów.

Analiza parametrów czasowych dostępnych elementów składowych umożliwiła wyznaczenie maksymalnego czasu odpowiedzi poszczególnych elementów wykonawczych biorących udział w procesie selekcji faz wydechu: czasu zadziałania elektrozaworów, czasu niezbędnego na wyznaczenie początku III fazy oraz czasu pomiaru parametrów próbki. Szybkie elektrozawory typu NC do aplikacji medycznych charakteryzują się czasami zadziałania na poziomie 180 ms [101]. Dokładne dopasowanie czasu zadziałania poszczególnych elementów wymagało zastosowania medycznych węży silikonowych o średnicy  $\varnothing = 6$  mm. Tak dobrano jego długość, aby przy założonym przepływie 3 l/min wprowadzić opóźnienie niezbędne na czas zadziałania elektrozaworów. Założono, że czas przewidziany na obsługę portów wejścia/wyjścia, procedur komunikacji oraz analizy matematycznej nie powinien w mikrokontrolerze przekroczyć 5 ms [212]. Zakładając minimalny wpływ czasu wyłączenia elektrozaworów na ilość zgromadzonego biomarkera (koniec wydechu i  $Q = 0$ ), to pozostały czas na pomiary parametrów próbki wynosi 165 ms. Przyjęto więc założenie początkowe, że to ograniczenie czasowe będzie determinowało czas pomiaru dostępnych czujników ciśnienia, temperatury, przepływu, wilgotności i stężenia CO<sub>2</sub>.

Konieczne było również zdefiniowanie objętości próbki powietrza, którą należy zgromadzić z wykorzystaniem SPP. Komora pomiarowa (wnęka rezonansowa) optoelektronicznego analizatora NO wraz z dodatkowym wyposażeniem [165] ma objętość 1200 ml. Pomiar przy mniejszej objętości próbki jest również możliwy, ale obarczony będzie większą niepewnością pomiaru. Dla czasu trwania pojedynczego wydechu 7s, czasu trwania III fazy 5s [166] oraz dla przepływu  $Q = 50$  ml/s, pacjent musi wykonać 5 pełnych oddechów, trwających łącznie 35 s, aby zgromadzić powietrze o objętości 1200 ml z III fazy.

#### 4.3.4. Wybór czujników parametrów powietrza

Na podstawie uzyskanych wyników z przeprowadzonych analiz zdefiniowano wymagania dla czujników ciśnienia, które zostały zestawione w tab. 4.1.

**Tab. 4.1. Analiza kluczowych parametrów czujników ciśnienia do układu dystrybucji powietrza.**

Parametr	Wartość	Wymogi
Zakres pomiaru ciśnienia	Od 950 mbar do 1100 mbar	Zapewnienie bezpieczeństwa pracy układu.
Czas pomiaru ciśnienia	< 165 ms	Ze względu na założone warunki czasowe pracy czujników.
Względna niepewność pomiaru	< 1%	Dokładne określenie ciśnienia dostarczanego powietrza oraz wydychanego przez pacjenta.

Parametry te umożliwiły wytypowanie potencjalnych czujników, które spełniły wymagania dotyczące ich użycia w SPP (tab. 4.2). Na podstawie danych katalogowych do dalszych analiz przyjęto czujnik model BMP280 firmy BOSCH [167].

**Tab. 4.2. Zestawienie parametrów wybranych komercyjnych czujników ciśnienia.**

Typ (Producent)	Zakres pomiarowy	Niepewność względna	Czas odczytu	Rozdzielczość pomiaru
MS4515DO ( <i>TE Connectivity</i> )	Od ~900 mbar do ~1100 mbar	0,25%	~ 0,5 ms	14 bit (~ 0,1 mbar)
MS5803 ( <i>TE Connectivity</i> )	Od 10 mbar do 1300 mbar	0,2%	~ 10 ms	0,012 mbar
MS8607 ( <i>TE Connectivity</i> )	Od 10 mbar do 2000 mbar	0,2%	~ 17 ms	0,016 mbar
MPRLS0025PA00001A ( <i>Honeywell</i> )	Od 0 mbar do 1723 mbar	0,25%	5 ms	14 bit (~ 0,1 mbar)
BMP280 ( <i>BOSCH</i> )	Od 300 mbar do 1100 mbar	0,1%	13,3 ms	0,01 mbar
HSCDAND015PG2A3 ( <i>Honeywell</i> )	Od 0 mbar do 1034 mbar	0,25%	~ 1 ms	0,3 mbar

Analizy umożliwiły również zdefiniowanie wymagania dla czujników przepływu (tab. 4.3.)

**Tab. 4.3. Analiza kluczowych parametrów czujników przepływu do układu dystrybucji powietrza.**

Parametr	Wartość	Wymogi
Zakres pomiaru przepływu	Od 0 l/min do 4 l/min	Zapewnienie pełnego zakresu przepływu powietrza zgodnie z wytycznymi ATS/ERS
Czas pomiaru przepływu	< 165 ms	Ze względu na założone warunki czasowe pracy czujników
Względna niepewność pomiaru	< 4 %	Precyzyjne określenie przepływu powietrza wydychanego przez pacjenta

Następnie dokonano przeglądu komercyjnie dostępnych czujników przepływu, które w możliwie największym stopniu spełniają zdefiniowane w pracy wymagania (tab. 4.4). Na podstawie ich danych katalogowych wytypowano model FS4003 firmy Siargo [168], gdyż spełnia on wszystkie wymagania jakie są niezbędne do zastosowania w układzie dystrybucji powietrza.

Tab. 4.4. Zestawienie parametrów wybranych komercyjnych czujników przepływu.

Typ (Producent)	Zakres pomiarowy	Niepewność względna	Czas odczytu	Rozdzielczość pomiaru	Zastosowanie medyczne
HAFUHM0010L4AXT ( <i>Honeywell</i> )	Od 0 l/min do 10 l/min	4%	1 ms	2 ml/min	Tak
FS4003 ( <i>Siargo</i> )	Od 0 l/min do 4 l/min	1,7%	10 ms	1 ml/min	Tak
MFC2030 ( <i>Memsic</i> )	Od -7 l/min do 7 l/min	3%	10 ms	16 bit	Tak
PMF2105 ( <i>Posifa Technologies</i> )	Od 0 l/min do 4 l/min	4%	5 ms	14 bit	
FS2012-1100-NG ( <i>Renesas</i> )	Od 0,015 l/min do 10 l/min	5%	0,4 s	16 bit	Tak
WTAL040DUP ( <i>First Sensor</i> )	Od 0 l/min do 4 l/min	4,25%	10 ms	~ 4 ml/min	

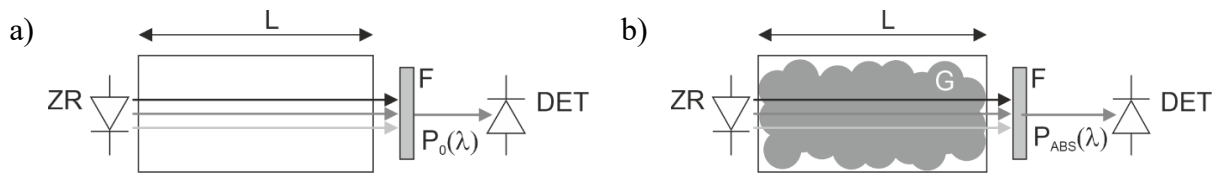
#### 4.4. Układ monitorowania parametrów wydychanego powietrza

##### 4.4.1. Budowa i zasada działania układu

Wydychane przez pacjenta powietrze kierowane jest z układu dystrybucji powietrza do układu monitorowania parametrów wydechu, w którym realizowany jest pomiar jego ciśnienia ( $P$ ), wilgotności ( $H$ ), temperatury ( $T$ ) oraz stężenia  $\text{CO}_2$ . Informacja z czujników przesyłana jest do cyfrowego interfejsu czujników (D) i przetworników analogowo-cyfrowych (A). Dane są analizowane i przetwarzane w układzie kontrolnym. Następnie dokonywana jest korekcja wskazań czujnika  $\text{CO}_2$  w celu zminimalizowania wpływu wilgotności, ciśnienia i temperatury. Dane te są następnie przekazywane do układu wykrywania III fazy. W celu określenia wpływu wilgotności, temperatury i ciśnienia na wskazania czujnika  $\text{CO}_2$ , opracowano jego model teoretyczny oraz przeprowadzono analizę jego pracy.

##### 4.4.2. Model czujnika NDIR do pomiaru stężenia $\text{CO}_2$ w ludzkim oddechu

Na podstawie analizy literatury zaproponowano model czujnika  $\text{CO}_2$ , którego ideę pracy przedstawiono na rys. 4.3. Składa się on ze źródła promieniowania ( $ZR$ ), detektora ( $DET$ ) oraz filtru optycznego ( $F$ ). Badany gaz ( $G$ ) wprowadzany jest do komory pomiarowej o długości  $L$ , w której zachodzi absorpcja promieniowania emitowanego ze źródła  $ZR$ . Źródło to emituje promieniowanie optyczne w określonym zakresie długości fal, od  $\lambda_L$  do  $\lambda_H$ . Jednak tylko część tego promieniowania jest absorbowana w gazie ( $\lambda_{GL} - \lambda_{GH}$ ). Filtr optyczny umożliwia wyselekcjonowanie charakterystycznego dla badanego gazu pasma długości fali. Dzięki temu na detektor pada promieniowanie, którego moc jest uzależniona od stężenia  $\text{CO}_2$ .



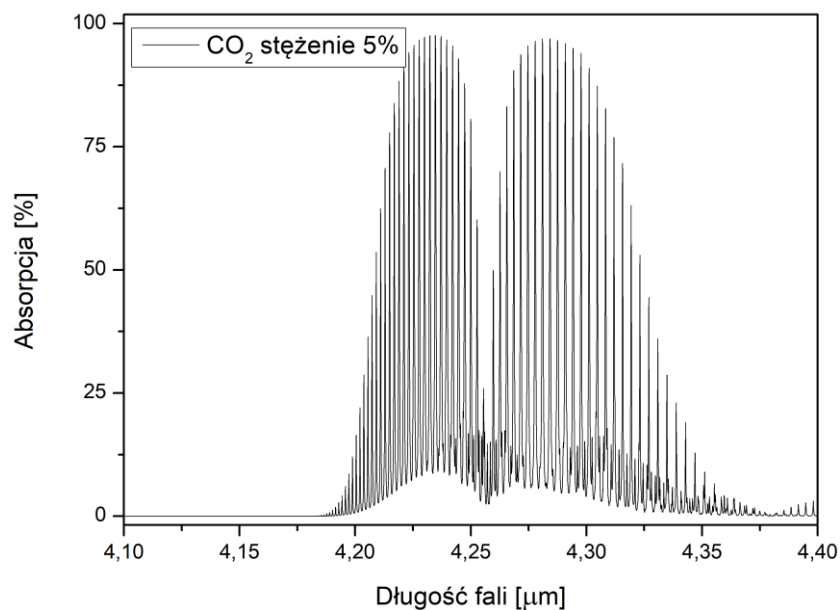
Rys. 4.3. Elementy składowe czujnika NDIR, gdzie  $P_0(\lambda)$  oznacza moc promieniowania na wejściu czujnika NDIR, a zarazem moc promieniowania padającą na detektor przy braku gazu w komorze pomiarowej (a), natomiast  $P_{ABS}(\lambda)$  jest mocą promieniowania padającego na detektor gdy w komorze pomiarowej znajduje się badany gaz (b).

Istotnym parametrem tego czujnika jest prąd na wyjściu detektora  $I_{DET}$ . Jego wartość zależy od wielu czynników i jest opisana zależnością

$$I_{DET} = f(R_i(\lambda), T_{GAZ}(T, P, \lambda), T_{INT}(T, P, \lambda), P_{ZR}(T, \lambda), T_F(\lambda)), \quad (4.6)$$

gdzie:  $R_i(\lambda)$  - czułość widmowa detektora,  $T_{GAZ}(T, P, \lambda)$  oraz  $T_{INT}(T, P, \lambda)$  - transmisja promieniowania odpowiednio w badanym gazie z uwzględnieniem interferencji innych gazów,  $P_{ZR}(T, \lambda)$  - moc źródła promieniowania,  $T_F(\lambda)$  - transmisja filtru.

Przeprowadzono analizę wpływu poszczególnych składników na sygnał wyjściowy detektora. Założono straty mocy promieniowania na skutek absorpcji badanego gazu oraz interferencji pochodzących od pasm absorpcji  $H_2O$  (rys. 4.4).



Rys. 4.4. Widmo absorpcji  $CO_2$  o stężeniu 5% w paśmie od 4,1  $\mu m$  do 4,4  $\mu m$ , dla  $P = 1013$  hPa i  $T = 21^\circ C$ .

Obliczenia zostały wykonane z wykorzystaniem oprogramowania *Hitran 4.1* oraz *OriginPro* wersja 8.5 [169]. Uwzględniono w obliczeniach parametry dostępnych na rynku elementów, tj. źródeł promieniowania, filtrów optycznych oraz detektorów promieniowania. Zostały one wstępnie wyselekcjonowane pod kątem zastosowania w laboratoryjnym modelu

optoelektronicznego czujnika CO<sub>2</sub> pracującym w paśmie 4,1 ÷ 4,4 μm i spełniającym przedstawione w poprzednich rozdziałach wymagania.

Do detekcji promieniowania w tym zakresie długości fal najczęściej stosowane są detektory piroelektryczne, termopary oraz fotodiody [170]. Porównanie ich właściwości przedstawiono w tab. 4.5.

**Tab. 4.5. Zestawienie zalet i wad detektorów stosowanych w czujnikach NDIR.**

Rodzaj (zasada działania)	Zalety	Wady
Piroelektryczne [171,172] (generowanie ładunku pod wpływem zmiany temperatury materiału piroelektrycznego)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Proste w zastosowaniu</li> <li>• Tanie</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ograniczona częstotliwość pracy (~ kHz, przy zastosowaniu wzmacniacza prądowego, ~ Hz, przy zastosowaniu wzmacniacza napięciowego)</li> <li>• Stosunkowo mała wykrywalność i czułość (<math>D^* \sim 10^7 \div 10^8 \text{ cm}\cdot\text{Hz}^{1/2}/\text{W}</math>, <math>RV \sim 2 \div 5 \text{ kV/W}</math>)</li> <li>• Szeroki zakres czułości widmowej</li> </ul>
Termopary [173,174] (generowanie napięcia pod wpływem ogrzewania (zjawisko Seebecka))	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Proste w zastosowaniu</li> <li>• Tanie</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ograniczona częstotliwość pracy (~ kilkanaście Hz)</li> <li>• Mała wykrywalność i czułość (dla termostosów <math>D^* \sim 10^7 \text{ cm}\cdot\text{Hz}^{1/2}/\text{W}</math>, <math>RV \sim 100 \text{ V/W}</math>)</li> <li>• Szeroki zakres czułości widmowej</li> </ul>
Fotodiody [175,176] (generowanie nośników prądu pod wpływem absorpcji promieniowania optycznego - zjawisko fotoelektryczne wewnętrzne)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Duża częstotliwość pracy</li> <li>• Duża czułość i wykrywalność (<math>R_i \sim 1 \text{ A/W}</math>, <math>D^* \sim 10^9 \div 10^{11} \text{ cm}\cdot\text{Hz}^{1/2}/\text{W}</math>)</li> <li>• Selektywna charakterystyka czułości widmowej</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Charakterystyka czułości widmowej zależy od rodzaju półprzewodnika lub związku półprzewodników (składu) a także od temperatury</li> <li>• Bardziej skomplikowane układy zasilania, stabilizacji punktu pracy i odczytu</li> </ul>

Detektory termiczne mają płaskie charakterystyki czułości widmowej w szerokim zakresie długości fal. Ponadto charakteryzują się małymi czułościami i długimi czasami odpowiedzi, a zatem nie mogą być zastosowane w modelu czujnika CO<sub>2</sub>. Dlatego zaproponowano fotodiody, które charakteryzują się dużo większą czułością, wykrywalnością i szybkością odpowiedzi. W zakresie MWIR najczęściej stosowane są fotorezystory PbS, fotodiody np. InAsSb, InSb HgCdTe lub supersieci II rodzaju [177]. W celu obniżenia poziomu szumów, poprawy stosunku sygnału do szumu (SNR) oraz zapewnienia wyższej wykrywalności mogą być one chłodzone. W celu określenia limitu detekcji czujnika NDIR do obliczeń wybrano chłodzony detektor fotowoltaiczny z soczewką immersyjną typu PVI-3TE-5 firmy VIGO System S. A., którego główne parametry zestawiono w tab. 4.6 [178].

Tab. 4.6. Główne parametry detektora PV-3TE-5.

Parametr	Wartość
Zakres czułości widmowej	(2,5 ÷ 4,7) μm
Powierzchnia detektora A	(1 · 1) mm <sup>2</sup>
Czułość prądowa R <sub>i</sub>	≥ 1,3 A/W
Wykrywalność znormalizowana D*	≥ 1,0 · 10 <sup>11</sup> cm · Hz <sup>1/2</sup> /W
Stała czasowa τ	≤ 80 ns
NEP	1,41 nW (uwzględniając tylko szum termiczny)

Mając stałą czasową τ odpowiedzi detektora wyznaczono jego pasmo przenoszenia  $f_{-3dB}$  z zależności [179]

$$f_{-3dB} = \frac{0,35}{t_n}, \quad (4.7)$$

gdzie czas narastania dla układu jednobiegunowego wynosi  $t_n = 2,197 \cdot \tau$ . Dla analizowanego detektora uzyskano  $t_n = 175$  ns oraz  $f_{-3dB} \approx 2$  MHz, co dla filtru pierwszego rzędu oznacza pasmo szumowe detektora  $\Delta f \approx 3,14$  MHz.

Wartość skuteczną prądu szumu termicznego  $I_{nt}$  wyznaczono z zależności [180]

$$I_{nt} = \frac{R_i(\lambda) \sqrt{\Delta f \cdot A}}{D^*}. \quad (4.8)$$

Natomiast moc równoważną szumom  $NEP$  (ang. *Noise Equivalent Power*), czyli minimalną moc promieniowania, która może być wykryta przez detektor obliczono ze wzoru

$$NEP = \frac{I_{nt}}{R_i(\lambda)}. \quad (4.9)$$

Wartości tych parametrów wynoszą odpowiednio  $I_{nt} = 1,84$  nA oraz  $NEP = 1,41$  nW.

Jeżeli źródłem promieniowania jest ciało doskonale czarne, wówczas widmowy strumień promieniowania  $M(\lambda, T)$  emitowanego przez to ciało jest określony wzorem Plancka

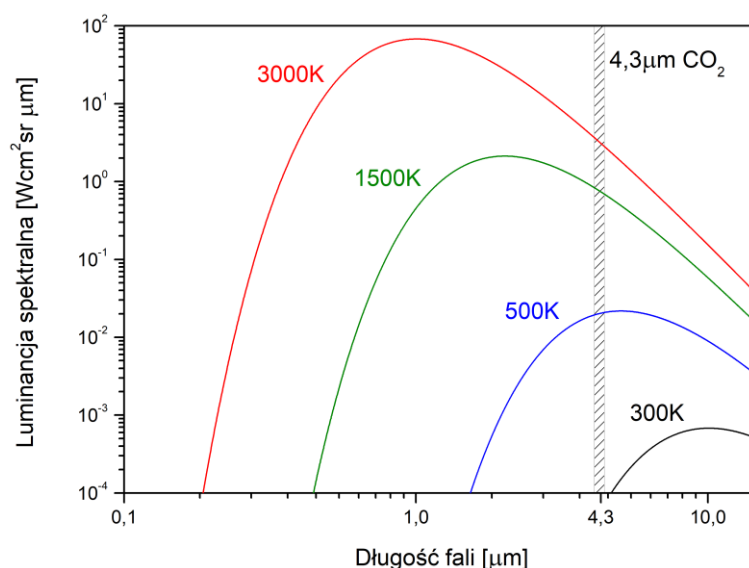
$$M(\lambda, T) = \frac{2\pi h c^2}{\lambda^5} \frac{1}{e^{hc/\lambda k_B T} - 1}, \quad (4.10)$$

gdzie  $h$  jest stałą Plancka,  $c$  – prędkością światła w próżni, a  $k_B$  - stałą Boltzmanna. Na rysunku 4.5 przedstawiono spektralny strumień promieniowania emitowanego przez ciało doskonale czarne o temperaturze od 300K do 3000K, z wyróżnionym pasmem absorpcji CO<sub>2</sub> w zakresie 4,1 ÷ 4,4 μm. W czujnikach NDIR mogą być stosowane miniaturowe żarówki, emiterzy IR, LED-y lub lasery [113,181] (tab. 4.7).

Zastosowanie tego typu źródła promieniowania o tak szerokim widmie, uniemożliwia bezpośrednią i szybką modulację oraz charakteryzuje się stosunkowo dużym poborem mocy.



Zastosowanie modulacji promieniowania umożliwia zawężenie pasma szumów, zmniejszenie prądu szumów, a zatem zwiększenie stosunku mocy sygnału do mocy szumu (np. detekcja fazoczuła).



Rys. 4.5. Spektralny strumień promieniowania emitowany przez ciało doskonale czarne o temperaturze od 300K do 3000K oraz pasmo absorpcji CO<sub>2</sub> w zakresie 4,1 ÷ 4,4  $\mu\text{m}$ .

Tab. 4.7. Źródła promieniowania stosowane w czujnikach NDIR.

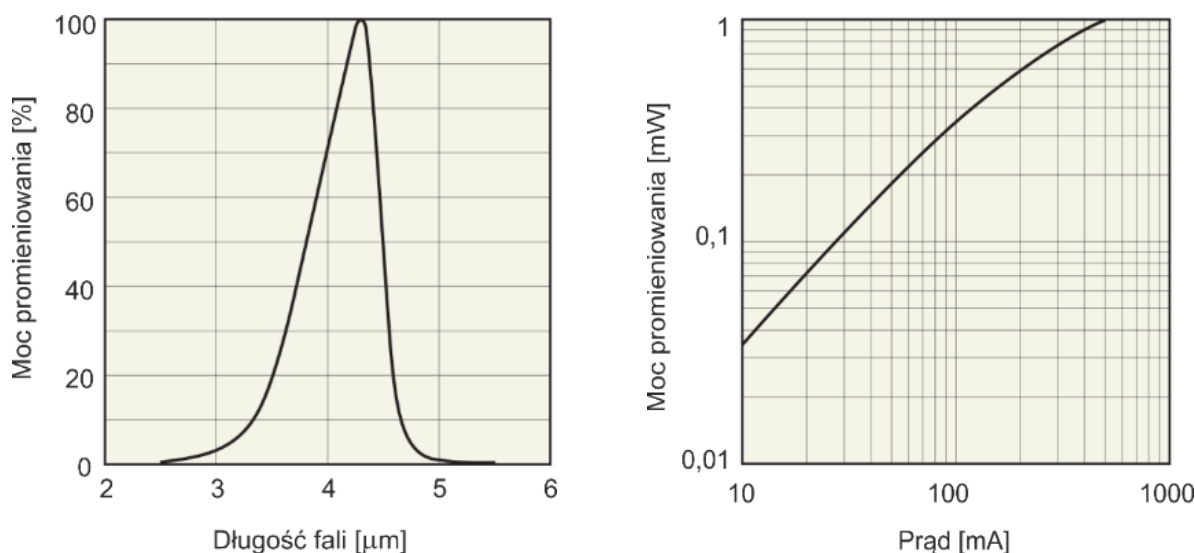
Rodzaj źródła promieniowania	Zalety	Wady
Miniaturowe żarówki [182–184]	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Duża całkowita moc promieniowania (&gt; setek mW),</li> <li>• Szerokie pasmo promieniowania (od widzialnego do ~ 15 <math>\mu\text{m}</math>),</li> <li>• Niewielkie rozmiary,</li> <li>• Tanie,</li> <li>• Duża dostępność</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Stosunkowo krótki czas pracy (ok. kilka lat)</li> <li>• Stosunkowo duża podatność na uszkodzenia</li> <li>• Duży pobór mocy (&gt; setek mW)</li> <li>• Ograniczone możliwości modulacji prądem (do ok. 100 Hz)</li> <li>• Mała gęstość widmowa mocy w wybranym zakresie detekcji CO<sub>2</sub></li> </ul>
Emitory IR [185–187]	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Duża całkowita moc promieniowania (&gt;1 W)</li> <li>• Szerokie pasmo promieniowania (od widzialnego do ~ 20 <math>\mu\text{m}</math>),</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Stosunkowo mała trwałość (ok. kilka lat w zależności od mocy)</li> <li>• Duży pobór mocy (&gt; 1 W)</li> <li>• Wysoka temperatura pracy (do setek °C)</li> <li>• Ograniczone możliwości modulacji prądem (do ok. 100 Hz)</li> <li>• Mała gęstość widmowa mocy w wybranym zakresie detekcji CO<sub>2</sub></li> </ul>
Diody LED [188–190]	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Duża trwałość (&gt; 5 lat)</li> <li>• Stosunkowo wąskie pasmo emisyjne (~ kilkaset nm)</li> <li>• Mały pobór mocy</li> <li>• Duże częstotliwości modulacji (&gt;&gt; kHz i więcej)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Stosunkowo mała moc (~ mW)</li> </ul>
Lasery [191–193]	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Bardzo wąskie pasmo emisyjne (&lt;&lt; nm)</li> <li>• Możliwość przestrajania</li> <li>• Duże częstotliwości modulacji (&gt; MHz)</li> <li>• Duża moc promieniowania (&gt; 1 W)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Zazwyczaj wymagana jest stabilizacja temperatury</li> <li>• Stosunkowo skomplikowane układy zasilania i sterowania</li> </ul>

Ponadto, dla źródeł termicznych zachodzi konieczność stosowania dodatkowych filtrów. Bardziej praktyczne są diody LED. W przeciwieństwie do miniaturowych żarówek, diody LED charakteryzują się większą widmową gęstością mocy w wybranym paśmie absorpcji CO<sub>2</sub> oraz większą trwałością (do 100 000 godzin) i stabilnością długookresową. Typowa dioda LED pracująca w zakresie 4,3 μm może być zasilana w sposób impulsowy prądem o wartości kilkuset miliamperów z częstotliwością kilkuset herców, przy czasie trwania impulsów rzędu kilkudziesięciu mikrosekund (tab.4.8).

**Tab. 4.8. Główne parametry wybranych diod LED do zastosowania w czujniku CO<sub>2</sub> typu NDIR.**

Parametr	L13201-0430M [194]	LED-430-NS [195]	Lms43LED-CG [196]
Środkowa długość fali promieniowania	4300 nm	4300 nm	4300 nm
Szerokość połówkowa widma	700 nm	200 nm	400 nm
Moc promieniowania	0,3 mW	4 μW	180 μW
Napięcie pracy	1,6 V	0,3 V	0,8 V

Do dalszych analiz wytypowano diodę LED typu L13201-0430M firmy Hamamatsu. Charakteryzuje się ona największą mocą promieniowania w paśmie absorpcji CO<sub>2</sub>. Na rysunku 4.6a przedstawiono względną charakterystykę widmową mocy promieniowania diody LED  $P_{ZR}(\lambda)$ , natomiast na rys. 4.6b zależność mocy promieniowania od prądu zasilania.



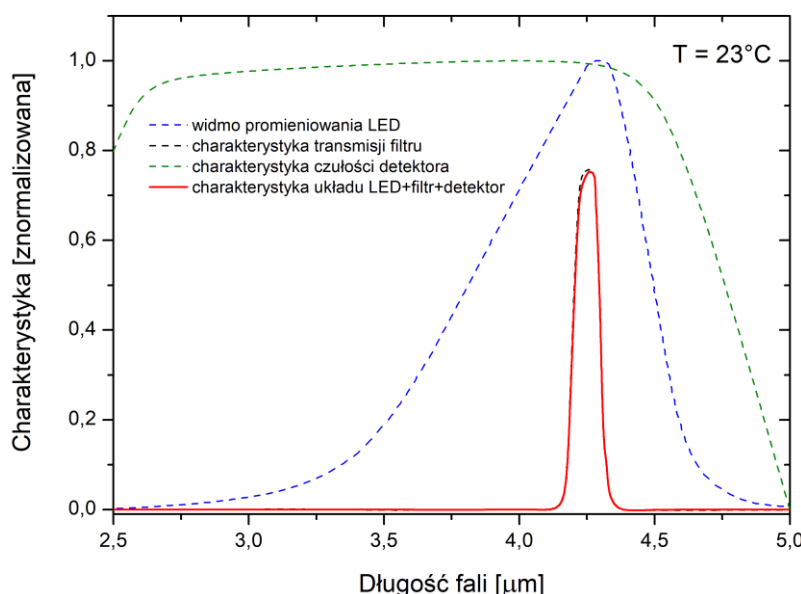
**Rys. 4.6. Względna charakterystyka widmowa mocy promieniowania  $P_{ZR}(\lambda)$  diody LED model L13201-0430M (a) oraz zależność mocy promieniowania diody LED od prądu zasilania (b) [194].**

W celu zwiększenia selektywności czujnika (dopasowanej do widma absorpcji badanego gazu), zaproponowano zastosowanie dodatkowego filtra optycznego typu BPF 4260-120 firmy Iridian Spectral Technologies [197]. Główne parametry tego filtra zestawiono w tab. 4.9.

**Tab. 4.9. Wybrane parametry filtra optycznego BPF 4260-120.**

Parametr	Wartość
Środkowa długość fali	4260 nm
Szerokość połówkowa ( <i>FWHM</i> )	120 nm
Współczynnik transmisji dla $\lambda = 4260$ nm	80%
Transmisja poza pasmem	< 0,1%
Grubość filtra	0,75 mm

Na rysunku 4.7 zestawiono względne charakterystyki mocy promieniowania diody LED, filtra optycznego oraz wykrywalności fotodiody dla rozpatrywanego czujnika NDIR. Największy wpływ na charakterystykę wypadkową czujnika ma charakterystyka transmisyjna filtra.



**Rys. 4.7. Charakterystyki podzespołów modelu czujnika NDIR do wykrywania CO<sub>2</sub>: widmo promieniowania diody LED, widmo transmisji filtra optycznego oraz charakterystyka czułości widmowej fotodiody.**

Wartość fotoprądu zależy od charakterystyki źródła promieniowania  $P_{ZR}(T, \lambda)$ , charakterystyki filtra optycznego  $T_F(\lambda)$  oraz czułości detektora  $R_i(\lambda, f)$ . Znając charakterystyki poszczególnych podzespołów czujnika można wyznaczyć wpływ zmian stężenia gazu (poprzez wyznaczenie  $T_{GAZ}(T, P, \lambda)$ ) na wartość prądu wyjściowego detektora.

Moc promieniowania padającego na powierzchnię detektora, po przejściu przez gaz, można wyznaczyć z prawa Lamberta-Beera [113]

$$P_{ABS}(\lambda) = P_0(\lambda) e^{-\alpha(\lambda)L}, \quad (4.11)$$

gdzie:  $\alpha(\lambda)$  - współczynnik absorpcji gazu określony  $\alpha = \sigma \cdot C$  ( $\sigma$  jest przekrojem czynnym na absorpcję, a  $C$  – stężeniem gazu),  $P_0(\lambda)$  - moc promieniowania rejestrowana przez detektor bez obecności gazu w komorze pomiarowej,  $P_{ABS}(\lambda)$  - moc promieniowania rejestrowana przez detektor po przejściu przez komorę pomiarową z gazem oraz  $L$  – droga optyczna promieniowania.

Wielkością charakteryzującą absorpcję promieniowania jest absorbanca  $ABS$  określona wzorem

$$ABS = \ln\left(\frac{P_0}{P_{ABS}}\right). \quad (4.12)$$

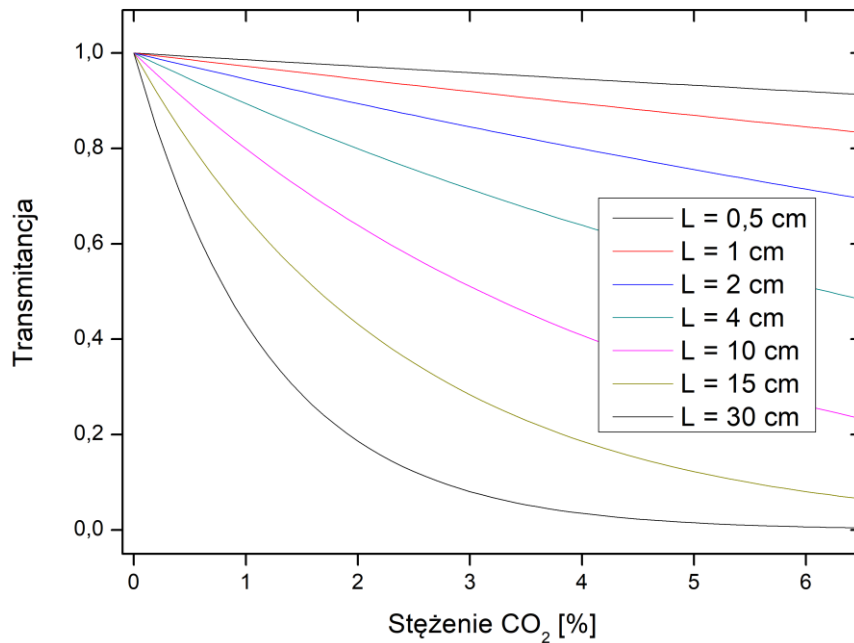
Zależności (4.11) oraz (4.12) po przekształceniach można zapisać jako

$$ABS = \alpha L. \quad (4.13)$$

Na podstawie bazy danych RADIS określono, że współczynnik absorpcji  $CO_2$ , dla temperatury 300 K i ciśnienia 1013 mbar, wynosi  $\alpha = 280 \text{ cm}^{-1}$  dla  $\lambda = 4,3\mu\text{m}$  [198]. Korzystając z zależności (4.12) oraz (4.13) wyznaczono transmitancję  $TRS$

$$TRS = \frac{P_{ABS}}{P_0}, \quad (4.14)$$

dla próbki  $CO_2$  o stężeniu w zakresie od 0% do 6,5% umieszczonej w komorze pomiarowej o różnych długościach  $L$  (rys. 4.8).



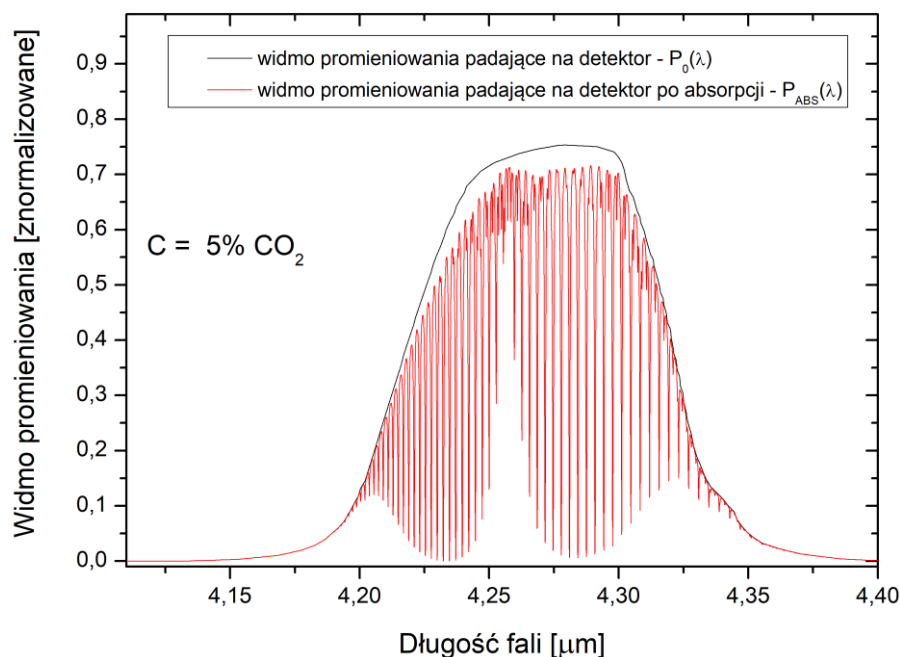
**Rys. 4.8.** Zależność transmitancji od stężenia  $CO_2$ , dla wybranych długości komory pomiarowej, dla  $\lambda = 4,3\text{mm}$ .

Uwzględniając charakterystyki widmowe elementów składowych zaproponowanego czujnika NDIR oraz widmo absorpcyjne badanego gazu, wykonana została analiza widma

promieniowania po przejściu przez próbkę badanego gazu. W obliczeniach i kolejnych analizach przyjęto następujące założenia:

- badany gaz jest jednorodny w całej objętości,
- brak jest strat geometrycznych w komorze pomiarowej,
- brak jest obecności innych gazów,
- w badanym gazie nie zachodzą dodatkowe zjawiska (rozpraszanie, załamanie).

Zakładając ciśnienie normalne  $P_0 = 1013$  mbar, stężenie  $\text{CO}_2 = 5\%$ , długość komory pomiarowej 2 cm, zakres długości fali od  $4,1 \mu\text{m}$  do  $4,4 \mu\text{m}$ , wyznaczona została charakterystyka widmowa absorpcji promieniowania (rys. 4.9). Obliczenia analityczne umożliwiły identyfikację podstawowych zjawisk zachodzących z czujniku NDIR, bez uwzględnienia dodatkowych czynników występujących w układach detekcyjnych, takich jak szumy źródła promieniowania czy szumy tła.



Rys. 4.9. Widmo promieniowania diody LED po absorpcji w  $\text{CO}_2$  o stężeniu 5%.

W dalszych analizach przedstawiono działanie czujnika w wypadku braku analizowanego gazu w komorze pomiarowej ( $\alpha = 0$ ) oraz po wprowadzeniu do komory pomiarowej  $\text{CO}_2$  o stężeniu 5% ( $\alpha > 0$ ). Celem analizy działania czujnika przy braku  $\text{CO}_2$  jest określenie maksymalnej mocy padającej na detektor oraz wyznaczenia stosunku mocy sygnału do mocy szumu.

Przy braku absorpcji transmitancja  $TRS = 1$  i absorbancja  $ABS = 0$ . Dla przyjętych założeń, przy mocy diody LED wynoszącej 0,3 mW (tab.4.8), na wyjściu filtru pojawi się promieniowanie o mocy 0,032 mW. Znając moc padającą na detektor  $P_0 = 36$  nW oraz jego

czułość prądową (tab.4.6), wartość generowanego fotoprądu  $I_f$  wynosi 47,3 nA. Stosunek mocy sygnału do mocy szumu SNR (ang. *Signal to Noise Ratio*) wyrazić można wzorem

$$\frac{S}{N} = 20 \log \frac{I_f}{\sqrt{I_{ns}^2 + I_{nt}^2}}, \quad (4.15)$$

gdzie  $I_{ns}$  jest wartością skuteczną prądu szumu śrutowego a  $I_{nt}$  wartością skuteczną prądu szumu termicznego. Wartość  $I_{ns}$  wyznaczono ze wzoru

$$I_{ns} = \sqrt{2e \cdot I_f \cdot \Delta f}, \quad (4.16)$$

uzyskując  $I_{ns} = 0,17$  nA. Wartość skuteczną prądu szumu termicznego  $I_{nt} = 2,3$  nA wyznaczono natomiast z danych katalogowych modułu detekcyjnego (tab. 4.6) [180]. Na podstawie wyznaczonych prądów wyznaczony stosunek sygnału do szumu SNR wynosi  $\approx 28$  dB.

Po wprowadzeniu próbki CO<sub>2</sub> do komory pomiarowej, część promieniowania zostanie zaabsorbowana przez gaz. Na podstawie charakterystyk przedstawionych na rysunku 4.9 oszacowany poziom  $P_{ABS}$  wyniósł 28,1 nW. Oznacza to, że na skutek absorpcji wystąpił spadek mocy sygnału o 21,9%.

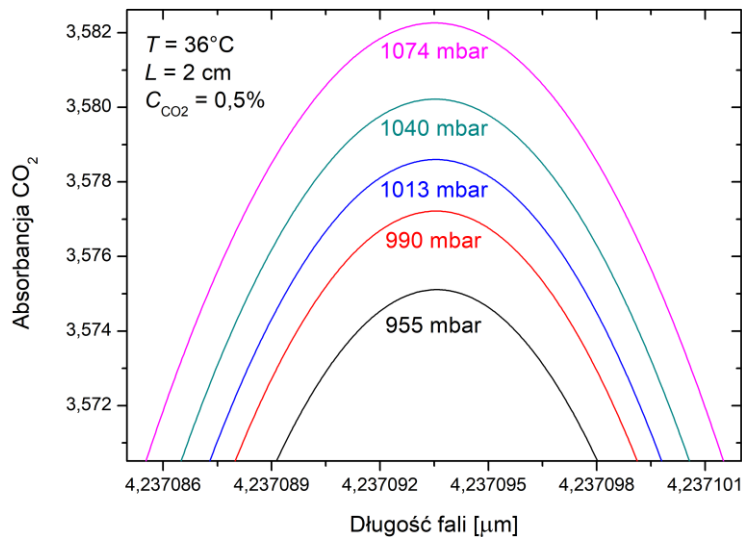
Na podstawie stosunku mocy promieniowania docierającego do detektora, dla komory pomiarowej pustej i wypełnionej badanym gazem, można wyznaczyć stężenie  $C$  badanego gazu ze wzoru

$$C = \log \left( \frac{P_{ABS}/P_0}{\sigma L} \right). \quad (4.17)$$

Przeprowadzona analiza wykazała, że zaproponowany czujnik charakteryzuje się stosunkiem sygnału do szumu  $SNR \approx 28$  dB oraz umożliwia zarówno wykrycie, jak i określenie stężenia badanego gazu w komorze pomiarowej o długości  $L = 2$  cm. Uzyskane wyniki potwierdzają, że wybrana metoda NDIR jest przydatna do wykorzystania w systemie pobierania próbek. Zatem czujnik NDIR z komorą pomiarową o długości  $L = 2$  cm umożliwia wykrycie ditlenku węgla w wydychanym powietrzu. Dalsza analiza będzie dotyczyła zbadania wpływu ciśnienia, wilgotności i temperatury na pracę czujnika.

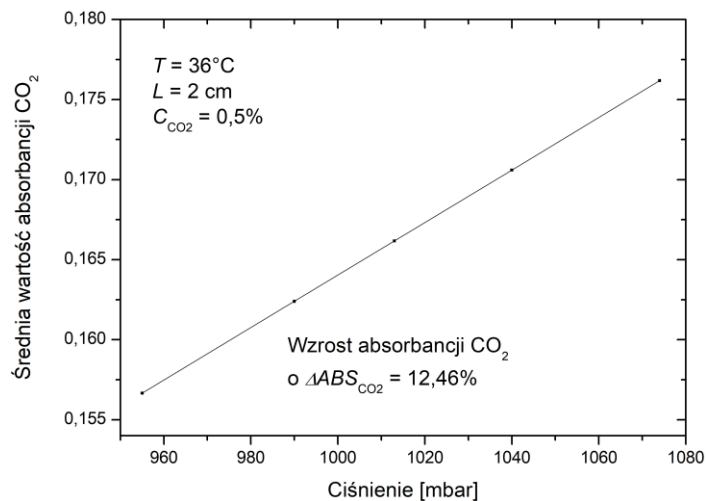
#### 4.4.3. Analiza niepewności pomiaru stężenia CO<sub>2</sub>

W Polsce najniższe zanotowane ciśnienie wyniosło 965,2 mbar, natomiast najwyższe - 1054 mbar. Mając na uwadze fakt, iż ciśnienie wydychanego powietrza jest o 20 mbar większe od górnego ciśnienia atmosferycznego, warunkuje to konieczność przeprowadzenia analizy wpływu ciśnienia w zakresie od 965 mbar do 1074 mbar. Wraz z obniżeniem ciśnienia gazu występuje zawężenie linii absorpcji oraz zmniejszenie jego wartości maksymalnej (rys. 4.10).



**Rys. 4.10.** Zależność maksimum absorbancji CO<sub>2</sub> od ciśnienia powietrza wydychanego przez człowieka dla wybranej przykładowej linii absorpcyjnej.

Korzystając z powyższych analiz wyznaczono zależność absorbancji CO<sub>2</sub> od ciśnienia powietrza wydychanego przez człowieka. Wyniki analiz przedstawiono na rys. 4.11.

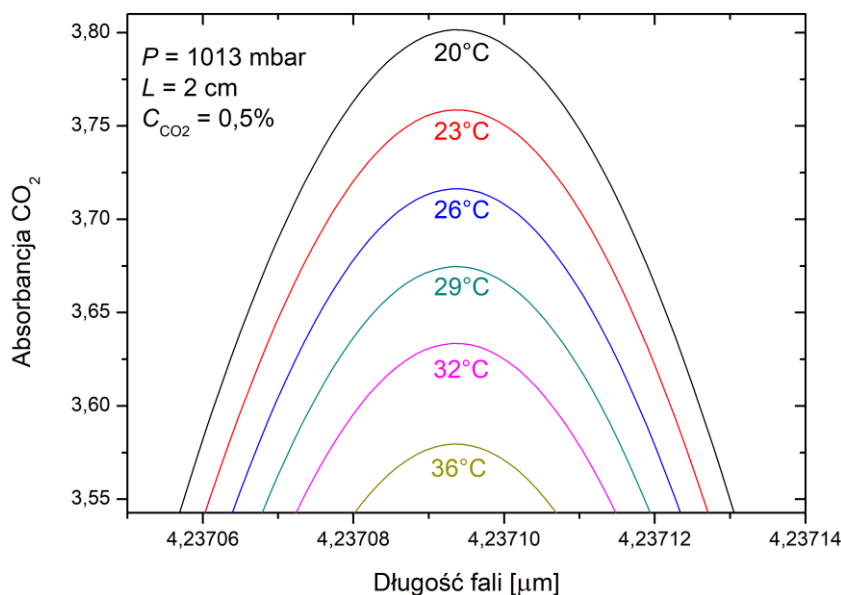


**Rys. 4.11.** Zależność średniej wartości absorbancji CO<sub>2</sub> w zależności od ciśnienia powietrza wydychanego przez człowieka w zakresie od 4,1 μm do 4,4 μm (zdeteminowanym przez charakterystykę filtra optycznego).

Z analiz wynika, że zmiana ciśnienia powietrza od 955,2 mbar do 1074 mbar (przyjęte stężenie CO<sub>2</sub> = 0,5%, temperatura 36°C, długość komory pomiarowej 2 cm) wpływa na zwiększenie wskazań czujnika CO<sub>2</sub> o 12,46%. W związku z tym, dla zmniejszenia niepewności wskazań czujnika CO<sub>2</sub> w SPP należy przeprowadzić procedurę korekcji przed jego użyciem.

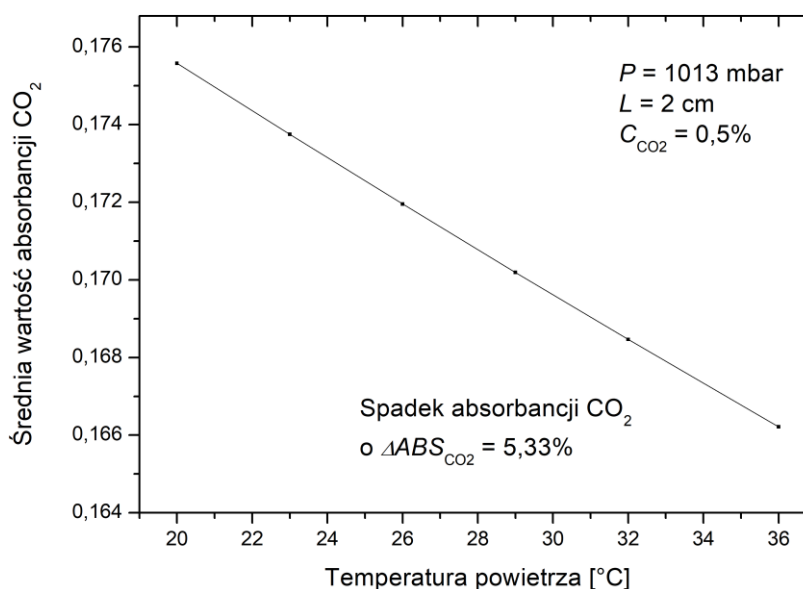
W analogiczny sposób została przeprowadzona analiza wpływu temperatury na niepewność pomiaru stężenia CO<sub>2</sub> za pomocą czujnika NDIR. Przyjęto zakres temperatur od 20°C do 36°C, odpowiadający temperaturze otoczenia oraz temperaturze powietrza wydychanego przez człowieka [199]. Dla założonego ciśnienia 1013 mbar zaobserwowano, że

wraz ze wzrostem temperatury następuje zwiększenie wartości maksymalnej linii absorpcji promieniowania oraz jej zawężenie (rys. 4.12) [200].



**Rys. 4.12. Zależność kształtu linii absorpcyjnej CO<sub>2</sub> od temperatury wydychanego powietrza dla wybranej przykładowej linii absorpcyjnej.**

Dzięki uzyskanym wynikom możliwe było wyznaczenie charakterystyki absorbancji CO<sub>2</sub> od temperatury (rys. 4.13). Charakterystykę tę uzyskano dla stężenia CO<sub>2</sub> = 0,5%, ciśnienia 1013 mbar oraz długości komory pomiarowej 2 cm.



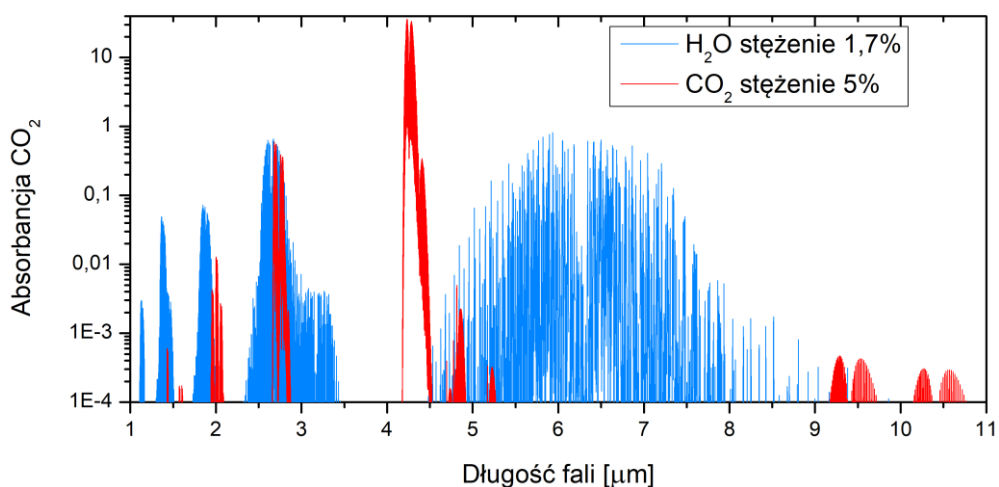
**Rys. 4.13. Zależność średniej wartości absorbancji od temperatury wydychanego powietrza w zakresie od 4,1 μm do 4,4 μm (zdeteminowanym przez charakterystykę filtra optycznego).**

Z przeprowadzonej analizy wynika, że przy zmianie temperatury od 20°C do 36°C wskazania czujnika zmniejszą się o 5,33%. Aby zwiększyć dokładność wskazań czujnika CO<sub>2</sub>



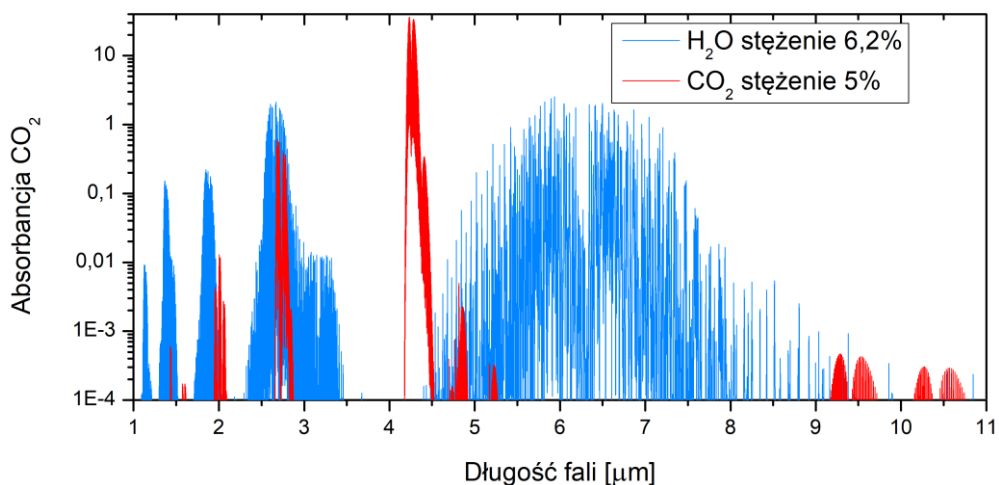
należy więc przed jego zastosowaniem w SPP wprowadzić korekcję wskazań ze względu na zmiany temperatury wydychanego powietrza.

Pomiar stężenia CO<sub>2</sub> w wydychanym powietrzu może być również obarczony błędem wynikającym z dużej wilgotności badanych próbek [201]. Analiza widm absorpcyjnych została przeprowadzona z wykorzystaniem oprogramowania *Hitran-PC* w wersji 4.1 oraz bazy danych programu w wersji 2008 [202]. Przeprowadzono symulację widm absorpcyjnych H<sub>2</sub>O i CO<sub>2</sub>. Można zauważyć, że nawet dla powietrza atmosferycznego przy stężeniu pary wodnej w powietrzu na poziomie 1,79% (co odpowiada wilgotności względnej RH = 30% dla powietrza o temperaturze pokojowej) widoczne są interferencje pomiędzy widmami obu gazów w pobliżu fali o długości 4,3 μm (rys. 4.14).



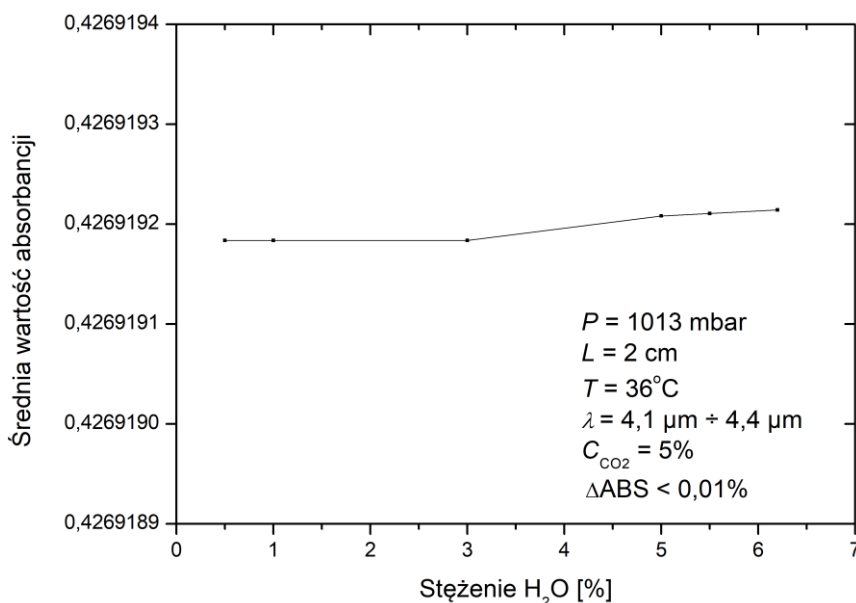
Rys. 4.14. Widma absorpcyjne CO<sub>2</sub> o stężeniu 5% i H<sub>2</sub>O o stężeniu 0,79% w powietrzu wydychanym przez człowieka.

Jednak dla powietrza wydychanego przez człowieka stężenie pary wodnej może osiągnąć wartość 5,0 ÷ 6,2%, dla temperatury 36°C i RH = 100% [203]. Dla tych warunków widma absorpcji zostały przedstawione na rys. 4.15.



Rys. 4.15. Widmo absorpcyjne CO<sub>2</sub> o stężeniu 5% i H<sub>2</sub>O o stężeniu 6,2% w powietrzu wydychanym przez człowieka.

W kolejnym etapie został wyznaczono wpływ stężenia pary wodnej na absorbancję mieszaniny H<sub>2</sub>O i CO<sub>2</sub> w paśmie 4,1 ÷ 4,4 μm. Obliczenia przeprowadzono dla stężenia CO<sub>2</sub> = 5%, ciśnienia 1013 mbar, temperatury 36°C i długości komory pomiarowej równej 2 cm. Z analizy wynika, że obecność pary wodnej w zakresie stężeń od 0,5% do 6,2% H<sub>2</sub>O powoduje pomijalnie małe zmiany wskazań czujnika CO<sub>2</sub> (rys. 4.16).



Rys. 4.16. Zależność absorbancji od stężenia H<sub>2</sub>O dla mieszaniny CO<sub>2</sub> i H<sub>2</sub>O wypełniającej czujnik CO<sub>2</sub>.

Pomiar wilgotności próbki powietrza w systemie SPP nie wpływa istotnie na wskazania czujnika CO<sub>2</sub>, jednak jest niezbędny w celu uniknięcia wykrapalania się pary wodnej na chłodniejszych elementach systemu.

#### 4.4.4. Wybór czujników do pomiaru parametrów próbki powietrza

W dalszej części pracy przeprowadzona została analiza parametrów czujników niezbędnych do zastosowania w SPP.

Przeprowadzona analiza pracy tego systemu oraz parametrów dostępnych komercyjnie czujników wilgotności umożliwiła zdefiniowanie kryteriów ich wyboru (tab. 4.10).

Tab. 4.10. Kryteria wyboru głównych parametrów czujników wilgotności.

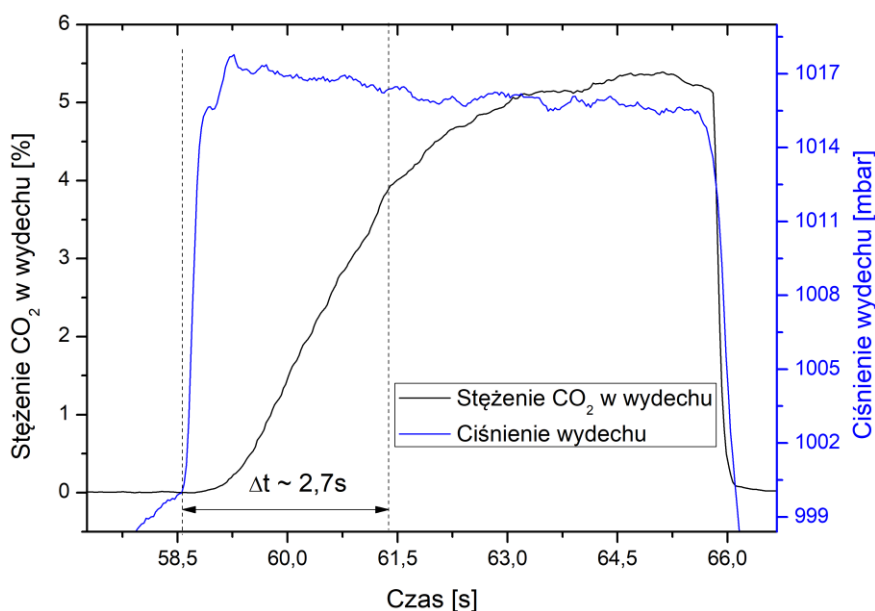
Parametr	Wartość	Wymóg
Zakres pomiaru wilgotności	od 10% RH do 90% RH z niepewnością względną mniejszą niż 5%	Precyzyjny pomiar wilgotności powietrza atmosferycznego oraz powietrza wydychanego przez pacjenta
Czas pomiaru wilgotności	< 165 ms	Ze względu na założone warunki czasowe pracy czujników

Po przeprowadzeniu analizy danych katalogowych czujników wilgotności (tab. 4.11), do układu monitorowania parametrów wydychanego powietrza został wytypowany model SHT21 firmy Sensirion [204].

**Tab. 4.11. Parametry przykładowych komercyjnych czujników wilgotności.**

Model (Producent)	Zakres pomiarowy [RH]	Niepewność względna	Czas odczytu	Rozdzielczość pomiaru
HDC1080 ( <i>Texas Instruments</i> )	Od 10% do 70%	2%	6,5ms	14bit $\pm$ 0,1 % RH
SHT21 ( <i>Sensirion</i> )	Od 0% do 100%	2%	22 ms	Od 8 do 12 bit (0,7 - 0,04 % RH)
HIH8121 ( <i>Honeywell</i> )	Od 10% do 90%	2%	< 50 ms	14bit $\pm$ 0,04 % RH
HTS221 ( <i>STMicroelectronics</i> )	Od 20% do 80%	3,5%	80 ms	16 bit
MS8607-02BA01 ( <i>Servoflo</i> )	Od 0% do 100%	3%	15,89 ms	0,04 % RH
EE03 ( <i>E + E Elektronik</i> )	Od 0% do 100%	3%		Ok. 0,01 % RH
HSICAL ( <i>ALPS</i> )	Od 0% do 100%	1,5%		14 bit

Z analizy parametrów dostępnych czujników temperatury wynika, że czas pomiaru < 165 ms może być trudny do osiągnięcia. Miniaturowe termistory charakteryzują się stałą czasową na poziomie ok. 0,6 s [205], natomiast termopary w zakresie pojedynczych sekund [206].



**Rys. 4.17. Określenie czasu pojawienia się początku III fazy względem początku wydechu.**

Przeprowadzona analiza zmian temperatury wydychanego powietrza wykazała, że wzrost temperatury jest bardzo szybki tylko w I fazie wydechu, natomiast w trakcie trwania III fazy nie zmienia się w sposób znaczący [207]. Oznacza to, że możliwe jest określenie temperatury

wydechu w III fazie, pod warunkiem precyzyjnego określenia zmian temperatury w I fazie. Zatem, określony został czas pojawienia się III fazy licząc od rozpoczęcia procedury wydechu, na podstawie krzywych kapnograficznych oraz zmian ciśnienia wydychanego powietrza otrzymanych w wyniku eksperymentu. Początek III fazy wydechu pojawia się po czasie ok. 2,7s od chwili rozpoczęcia wydechu (rys. 4.17).

Zakładając pomijalnie małe różnice temperatury możliwe jest zatem określenie temperatury wydechu w III fazie na podstawie pomiaru temperatury rozpoczynającego się już w fazie I i trwającego do początku fazy III. Wprowadzono w procedurze pracy SPP tryb, w którym pacjent wykonuje próbne wydechy do urządzenia przed praktyczną realizacją etapu gromadzenia próbek wydechu. Podczas tej procedury analizowane są minimalne i maksymalne wartości temperatury wydychanego przez pacjenta powietrza co pozwala wstępnie określić docelową temperaturę próbki wydechu oraz wpływ na niepewność pomiaru stężenia CO<sub>2</sub>.

Zdefiniowane zostały również wymagania dla czujników temperatury, których kryteria wyboru przedstawiono w tab. 4.12.

**Tab. 4.12. Kryteria wyboru głównych parametrów czujników temperatury.**

Parametr	Wartość	Wymogi
Zakres pomiaru temperatury	Od 20°C do 36°C	Zakres temperatur od pokojowej do maksymalnej temperatury ciała człowieka, brak konieczności kalibracji czujnika
Czas pomiaru temperatury	< 2,7 s	Ze względu na założone warunki pracy czujnika
Względna niepewność pomiaru	< 2%	Dokładne określenie temperatury powietrza wydychanego przez pacjenta

Wyniki analiz parametrów komercyjnie dostępnych czujników temperatury przedstawiono w tab. 4.13. Do zastosowania w układzie dystrybucji powietrza wytypowano czujnik model BMP280 firmy BOSCH, którego dodatkową funkcjonalnością oprócz pomiaru ciśnienia jest pomiar temperatury.

**Tab. 4.13. Główne parametry wybranych komercyjnych czujników temperatury.**

Typ (Producent)	Zakres pomiarowy	Niepewność względna	Czas odczytu	Rozdzielczość pomiaru
AS6200C ( <i>ams</i> )	Od -40°C do 125°C	1%	40 ms	12 bit
MCP9800 ( <i>Microchip</i> )	Od -55°C do 125°C	2%	75 ms	9 bit
MLX90614 ( <i>Melexis</i> )	Od -70°C do 380°C	0,75%	38 ms	14 bit
MAX31889 ( <i>Maxim Integrated</i> )	Od -40°C do 125°C	0,63%	17,85 ms	16 bit
BMP280 ( <i>BOSCH</i> )	Od 0°C do 65°C	1,25%	13,3 ms	16 bit
TMP117 ( <i>Texas Instruments</i> )	Od -20°C do 50°C	0,1%	124 ms	16 bit
ADT7420 ( <i>Analog Devices</i> )	Od -10°C do 85°C	0,5%	60 ms	16 bit

Przeprowadzono procedurę selekcji czujników ciśnienia. Zdefiniowano wymagania stawiane czujnikowi, które zostały opisane tab. 4.14.

**Tab. 4.14. Kryteria wyboru głównych parametrów czujników ciśnienia.**

Parametr	Wartość	Wymogi
Zakres pomiaru ciśnienia	Od 800 mbar do 1100 mbar	Zapewnienie pełnego zakresu pomiarowego wydolności płuc człowieka [208]
Czas pomiaru temperatury	< 165 ms	Ze względu na założone warunki czasowe pracy czujników
Względna niepewność pomiaru	< 0,1%	Dokładne określenie ciśnienia powietrza wydychanego przez pacjenta

Wyniki analiz parametrów komercyjnie dostępnych czujników ciśnienia przedstawiono w tab. 4.15. Biorąc pod uwagę zakres pomiarowy oraz niepewność względną pomiaru wytypowano czujnik ciśnienia model BMP280 firmy BOSCH [167].

**Tab. 4.15. Główne parametry wybranych komercyjnych czujników ciśnienia.**

Typ (Producent)	Zakres pomiarowy	Niepewność względna	Czas odczytu	Rozdzielczość pomiaru
MS4515DO (TE Connectivity)	Od ~900 mbar do ~1100 mbar	0,25%	~ 0,5 ms	14 bit (~ 0,1 mbar)
MS5803 (TE Connectivity)	Od 10 mbar do 1300 mbar	0,2%	~ 10 ms	0,012 mbar
MS8607 (TE Connectivity)	Od 10 mbar do 2000 mbar	0,2%	~ 17 ms	0,016 mbar
MPRLS0025PA00001A (Honeywell)	Od 0 mbar do 1723 mbar	0,25%	5 ms	14 bit (~ 0,1 mbar)
BMP280 (BOSH)	Od 300 mbar do 1100 mbar	0,1%	13,3 ms	0,01 mbar
HSCDAND015PG2A3 (Honeywell)	Od 0 mbar do 1034 mbar	0,25%	~ 1 ms	12 bit (0,3 mbar)

Przeprowadzona została również analiza parametrów dostępnych czujników CO<sub>2</sub>. W tabeli 4.16 zestawiono wymagania dla tych czujników. Na ich podstawie, wytypowano cztery czujniki: SPRINTIR-WF-5 firmy Gas Sensing Solution, EE871 firmy E+E Elektronik, C200 firmy GOLDWEI oraz UT100C firmy UTECH.

**Tab. 4.16. Wymagania stawiane czujnikowi CO<sub>2</sub> do zastosowanie w układzie monitorowania parametrów wydychanego powietrza.**

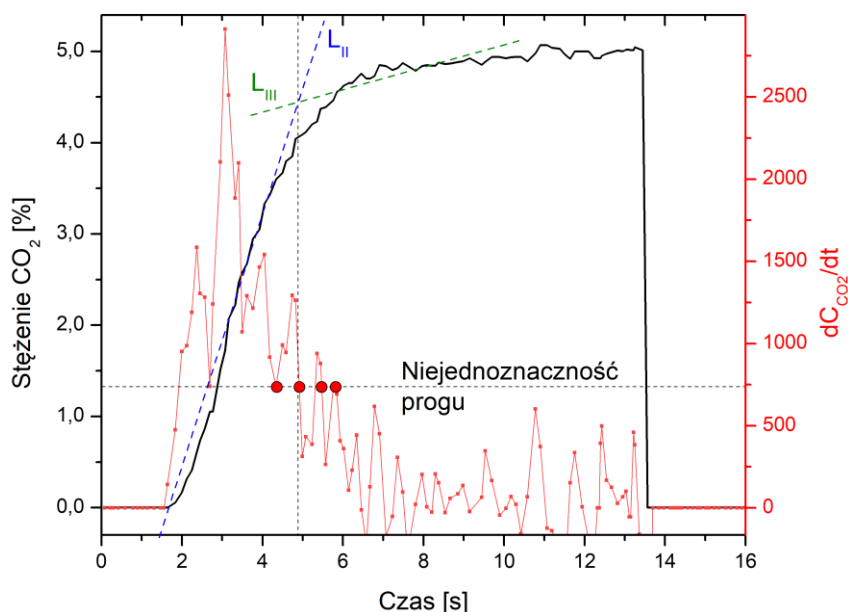
<b>Wymagania główne</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Zakres pomiarowy: stężenie od 0 do minimum 5% CO<sub>2</sub> w powietrzu.</li> <li>• Czas pomiaru &lt; 165 ms.</li> <li>• Niepewność względna pomiaru: maksimum 5%.</li> </ul>
<b>Wymagania dodatkowe</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Odporność na interferencje z innymi gazami.</li> <li>• Spełnienie wymagań medycznych.</li> </ul>

## 4.5. Układ separacji faz wydechu

Na podstawie przeprowadzonej analizy (rozdział 2.6), początek III fazy wydechu wyznaczono wykorzystując metodę regresji liniowej równania prostych II fazy oraz III fazy wydechu [209].

### 4.5.1. Opracowanie algorytmu wyznaczania początku III fazy w SPP

Przykładowy przebieg zmian stężenia CO<sub>2</sub> w wydychanym powietrzu oraz odpowiadająca mu szybkość zmian  $dC_{CO_2}/dt$  zostały przedstawione na rys. 4.18.



**Rys. 4.18.** Przebieg stężenia CO<sub>2</sub> w wydechu (czarny) oraz dynamiki zmian  $dC_{CO_2}/dt$  (czerwony). L<sub>II</sub> (niebieski) – regresja liniowa II fazy wydechu, L<sub>III</sub> (zielony) – regresja liniowa III fazy wydechu. Początek III fazy wydechu – wyznaczony jako miejsce przecięcia się prostych L<sub>II</sub> i L<sub>III</sub>.

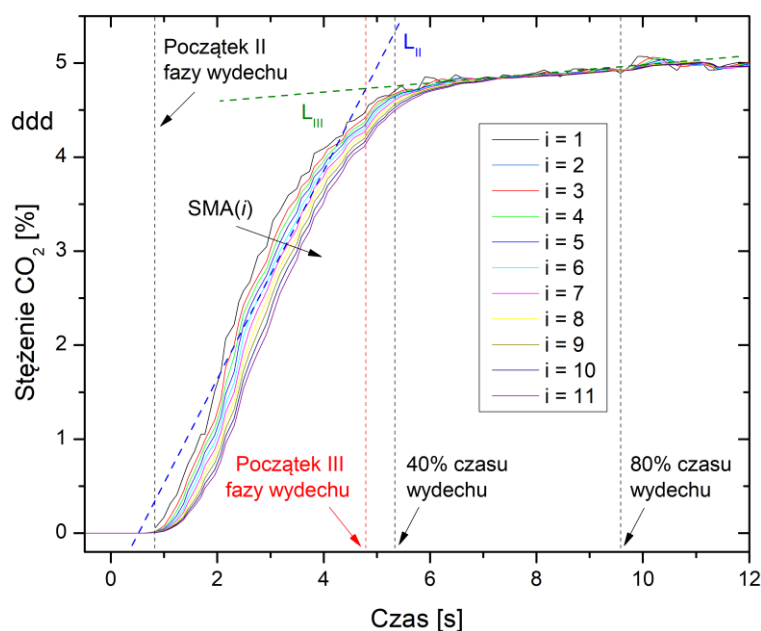
Na podstawie otrzymanych przebiegów sygnału wyznaczono, metodą regresji liniowej, równania prostych aproksymujących fragment przebiegu funkcji w drugiej fazie wydechu (oznaczonej kolorem niebieskim L<sub>II</sub>) oraz w trzeciej fazie (oznaczonej kolorem zielonym L<sub>III</sub>). Zgodnie z przeprowadzoną wcześniej analizą, początek III fazy wydechu można wyznaczyć jako punkt przecięcia tych prostych.

Można zauważyć, że zmiany stężeń dla kolejnych punktów pomiarowych cechują się dużą zmiennością i znacznie utrudniają wyznaczenie momentu pojawienia się początku III fazy wydechu. Aby ten efekt zminimalizować, zdecydowano wykorzystać metodę średniej kroczącej (SMA - *Simple Moving Average*). Metoda ta dla każdego punktu pomiarowego  $n_0$  wyznacza średnią arytmetyczną ostatnich „ $i$ ” pomiarów

$$SMA = \sum \frac{n_{i-1} + n_{i-2} + \dots + n_0}{i} \quad (4.18)$$

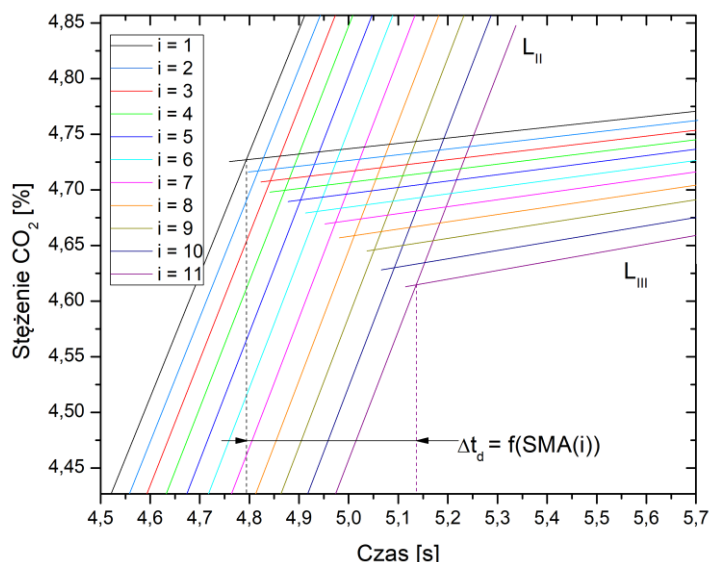
Algorytm ten umożliwia również uśrednienie danych z określonych przedziałów czasowych i spełnia rolę cyfrowego filtra dolnoprzepustowego (*DLPF – Digital Low-Pass Filter*) powszechnie stosowanego w cyfrowym przetwarzaniu sygnałów (*DSP - Digital Signal Processing*). Im mniejsza jest wartość „*i*”, czyli im mniej punktów pomiarowych jest uśrednianych, tym większa jest górna częstotliwość graniczna *DLPF*, przez co sygnał wyjściowy może charakteryzować się większymi fluktuacjami. Im liczba uśrednianych punktów pomiarowych jest większa, tym mniejsze jest pasmo *DLPF* i szybkozmienne fluktuacje sygnału są bardziej tłumione, ale jednocześnie można utracić informacje o szybkich zmianach sygnału użytecznego.

Przeprowadzono analizę wpływu parametrów filtra cyfrowego SMA na przebieg krzywej kapnograficznej w funkcji czasu dla różnej liczby „*i*” uśrednianych punktów. Wyznaczona została regresja liniowa II fazy wydechu  $L_{II}$  oraz regresja liniowa III fazy wydechu  $L_{III}$  bez filtracji ( $i = 1$ ). W punkcie przecięcia tych dwóch prostych wyznaczony został początek III fazy wydechu. Następnie, zmiany stężenia  $CO_2$  poddano filtracji SMA dla parametru „*i*” o wartościach z przedziału od 2 do 11 (rys. 4.19).



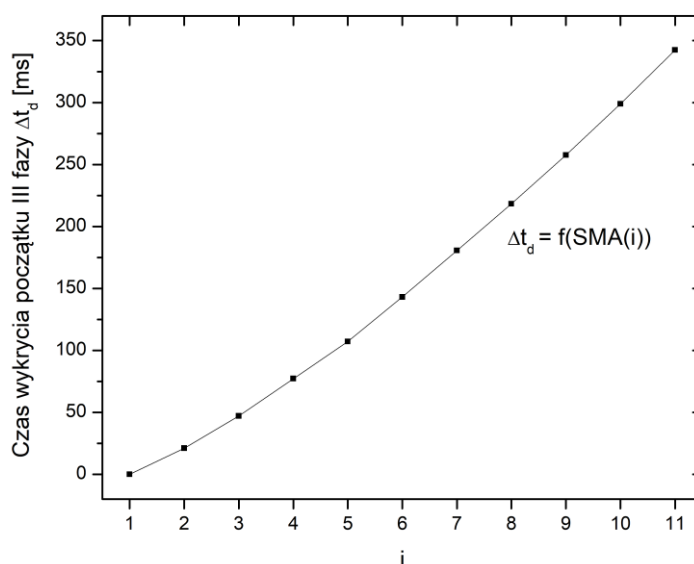
**Rys. 4.19.** Analiza wpływu filtracji cyfrowej SMA na przebieg krzywej kapnograficznej w funkcji czasu w zależności od wartości parametru „*i*”.

W kolejnym etapie, wyznaczony został punkt przecięcia prostych regresji  $L_{II}$  i  $L_{III}$  dla każdego przebiegu krzywej kapnograficznej poddanego filtracji cyfrowej SMA (rys. 4.20). Zdefiniowany został parametr  $\Delta t_d$ , oznaczający różnicę czasu pomiędzy początkami III fazy wydechu wyznaczonymi dla krzywej kapnograficznej bez filtracji oraz po filtracji cyfrowej metodą SMA dla różnej liczby punktów pomiarowych „*i*”.



**Rys. 4.20.** Wyznaczanie opóźnienia wykrywania początku III fazy wydechu dla różnej wartości parametru „i” przy zastosowaniu metody SMA.

Zwiększanie liczby uśrednień „i” powoduje wzrost wartości  $\Delta t_d$ , czyli opóźnienia wyznaczenia początku III fazy wydechu. Przeprowadzona w rozdziale 4.3.3 analiza parametrów wpływających na czas odczytu danych z czujników pokazała, że czas wyznaczenia początku III fazy powinien być krótszy od 5 ms. Zatem dokonano analizy opóźnień wyznaczenia początku III fazy wydechu dla różnych wartości „i” metody SMA (rys. 4.21). W przypadku  $i = 11$ , opóźnienie to może wynosić ponad 350 ms. Z analizy wynika, że dla  $i = 2$ , czas ten został przekroczony ( $\Delta t_d = 21$  ms), co nie pozwala na zastosowanie tego rodzaju filtru cyfrowego w systemie SPP.



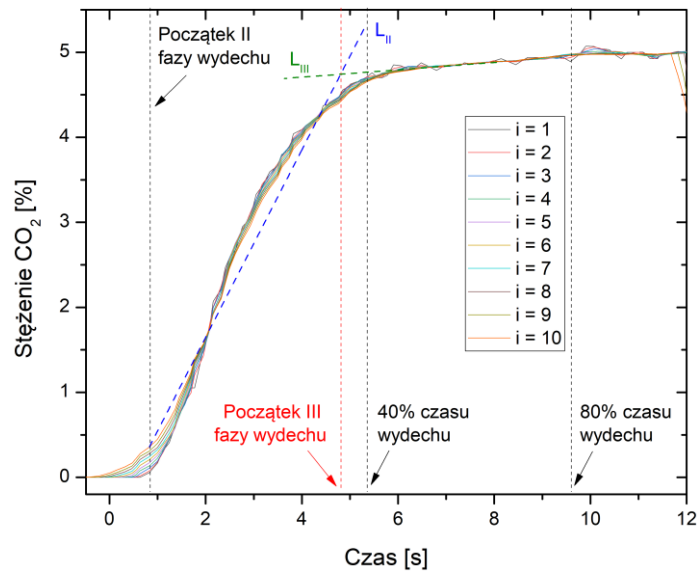
**Rys. 4.21.** Czas wykrycia początku III fazy wydechu, dla różnej wartości parametru „i”, metodą SMA.

W drugiej iteracji, zaproponowano zastąpienie metody SMA algorytmem tzw. prostej średniej kroczącej dla punktów sąsiadujących (SMAA – *Simple Moving Adjacent Average*)



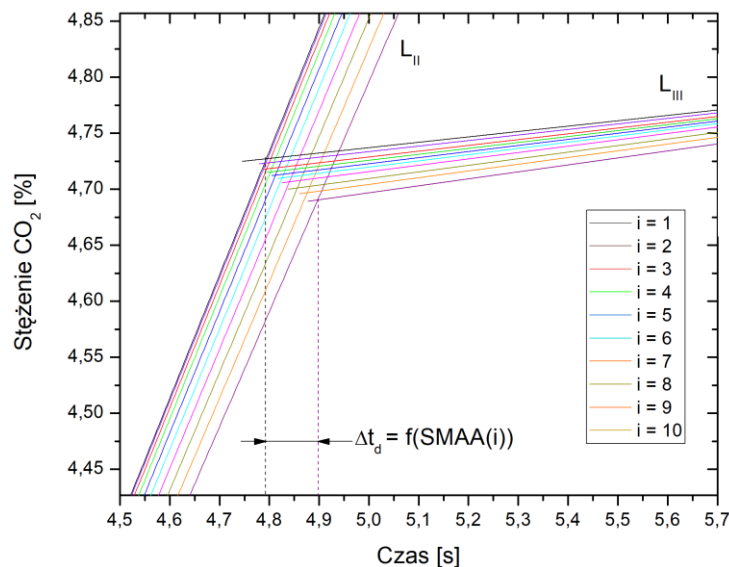
$$SMAA = \sum \frac{n_{i+1} + n_i + \dots + n_0 + \dots + n_{i-1}}{2i - 1} \quad (4.19)$$

Metoda ta realizuje uśrednianie nie ostatnich „i” pomiarów dla danego punktu  $n_0$ , ale uśrednianie od  $i-1$  do  $i+1$  wartości sąsiadujących. Polega ona na tym, że dla danego punktu  $n_0$  wyznacza się średnią z „i” punktów pomiarowych poprzedzających  $n_0$  oraz z „i” punktów następujących po  $n_0$ . Na rysunku 4.22 przedstawiono przykładowe zastosowanie SMAA do filtracji zmian stężenia CO<sub>2</sub> w funkcji czasu wydechu dla „i” o wartościach od 1 do 10.



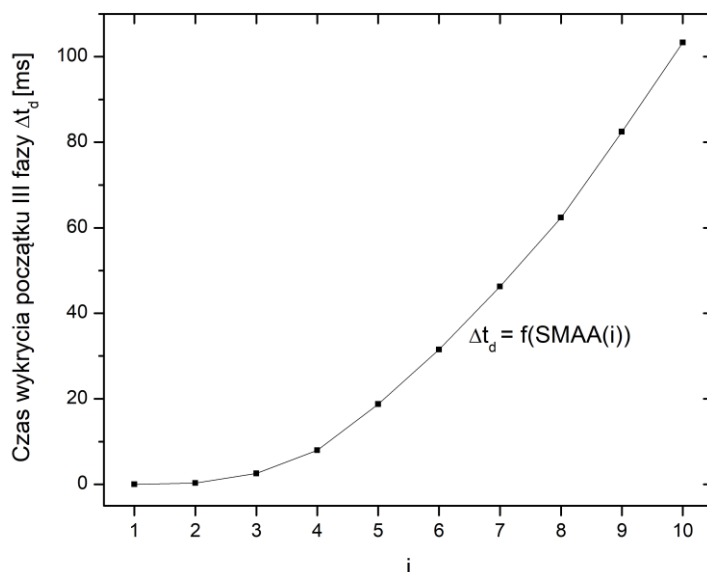
Rys. 4.22. Analiza wpływu filtracji cyfrowej SMAA na przebieg krzywej kapnograficznej w funkcji czasu w zależności od wartości parametru „i”.

Również w tym przypadku, wyznaczony został początek III fazy wydechu oraz parametr  $\Delta t_d$ , oznaczający różnicę czasu pomiędzy początkami III fazy wydechu wyznaczonymi dla krzywej kapnograficznej bez filtracji oraz po filtracji cyfrowej SMAA, dla parametru „i” o wartościach z przedziału od 1 do 10 (rys. 4.23).



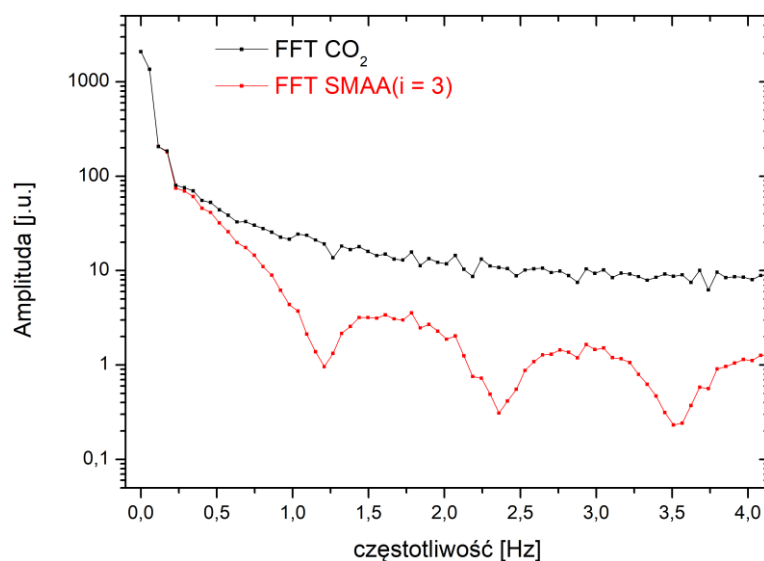
Rys. 4.23. Wyznaczanie opóźnienia wykrywania początku III fazy wydechu dla różnej wartości „i” przy zastosowaniu metody SMAA.

Zależność czasu  $\Delta t_d$  wyznaczenia początku III fazy wydechu dla różnej ilości „ $i$ ” punktów pomiarowych algorytmu SMAA przedstawiono na rys. 4.24.



Rys. 4.24. Czas wykrycia początku III fazy wydechu dla różnej wartości „ $i$ ” po zastosowaniu metody SMAA.

Jak można zauważyć, nawet dla  $i = 9$ , czas  $\Delta t_d$  nie przekracza 100 ms. W celu spełnienia warunku wykrycia początku III fazy wydechu w czasie krótszym od 5 ms do dalszych analiz wybrano wartość  $i = 3$ , dla której opóźnienie wyniesie 2,6 ms. Dla zweryfikowania działania metody SMAA i przy użyciu szybkiej transformaty Fouriera ( $FFT$ ), wyznaczono charakterystyki częstotliwościowe sygnału z czujnika  $CO_2$  przed oraz po zastosowaniu tej metody. Uzyskane wyniki potwierdzają, że metoda SMMA skutecznie tłumi składowe powyżej 0,5 Hz (rys. 4.25). Pojawiające się skoki przy częstotliwości 1,15 Hz oraz jej harmoniczne 2,36 Hz i 3,5 Hz wynikają z operowania na skończonych sygnałach czasowych [210].

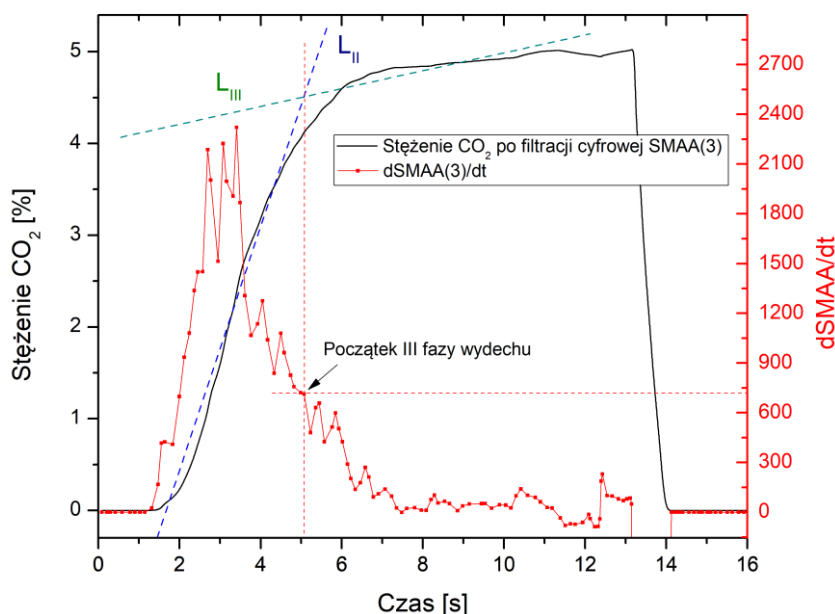


Rys. 4.25. Charakterystyki widmowe sygnału stężenia  $CO_2$  bez zastosowania metody SMAA (czarny) oraz po zastosowaniu metody SMAA, dla  $i = 3$  (czerwony).

Dla zobrazowania dynamiki zmian SMAA sygnału czujnika CO<sub>2</sub> wyznaczono jego pierwszą pochodną w funkcji czasu

$$\frac{dSMAA}{dt} = \frac{SMAA_{t_2} - SMAA_{t_1}}{t_2 - t_1}, \quad (4.20)$$

gdzie  $SMAA_{t_2}$  i  $SMAA_{t_1}$  oznaczają średnią kroczącą punktów sąsiadujących dla czasów odpowiednio  $t_2$  i  $t_1$ . Przebieg zmian sygnału stężenia CO<sub>2</sub> po filtracji cyfrowej metodą SMAA oraz szybkość zmian SMAA w funkcji czasu przedstawiono na rys. 4.26.



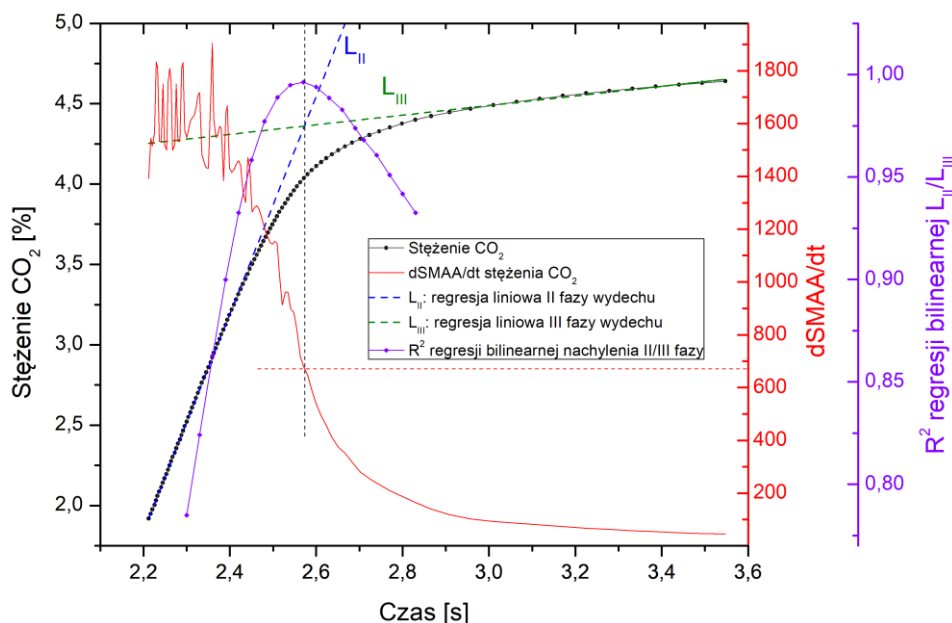
Rys. 4.26. Charakterystyka stężenia CO<sub>2</sub> po filtracji SMAA (czarny) oraz dynamika zmian  $dSMAA/dt$  (czerwony).

Dla punktu rozpoczęcia III fazy wydechu (przecięcia prostych  $L_{II}$  i  $L_{III}$ ) wyznaczono wartość pochodnej  $dSMAA/dt$  zgodnie ze wzorem (4.20). Otrzymane wyniki wskazują, że możliwe jest określenie wartości progowej  $dSMAA/dt$ , która definiuje początek III fazy wydechu metodą cyfrowej analizy sygnałów.

Zaproponowaną metodę zweryfikowano poprzez porównanie z metodą „breakpoint” [65], w której autorzy uzyskują wykrycie faz wydechu poprzez analizę zmian stężenia azotu w wydychanym powietrzu i wyznaczenie miejsca, w którym współczynnik  $R^2$  regresji bilinearnej segmentów danych, podczas przejścia pomiędzy II fazą a III fazą wydechu, przyjmuje wartość maksymalną. Analizę wyznaczania współczynnika determinacji przeprowadzono z wykorzystaniem aplikacji *OriginPro* oraz funkcji *Piecewise Fit* [211] (rys. 4.27).

Analiza wykazała, że niezależnie od zastosowanego algorytmu początek III fazy wydechu wskazuje na ten sam punkt z dokładnością 20 ms na charakterystyce  $dSMAA/dt$ , co

potwierdza poprawność przyjętej metody. Dodatkowo, zaproponowana metoda charakteryzuje się prostszym opisem matematycznym i mniejszą złożonością obliczeniową.

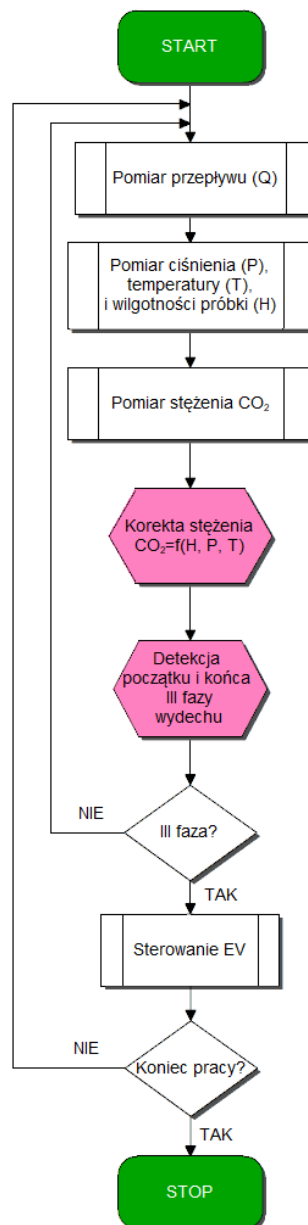


**Rys. 4.27.** Detekcja początku III fazy wydechu z wykorzystaniem różnych algorytmów. L<sub>II</sub> (niebieska linia), L<sub>III</sub> (zielona linia) – regresja liniowa II i III fazy wydechu. Linia fioletowa: współczynnik determinacji R<sup>2</sup> regresji bilinearnej danych II i III fazy wydechu. Linia czerwona - detekcja początku III fazy wydechu z wykorzystaniem metody dSMAA/dt.

#### 4.5.2. Opracowanie procedur separacji III fazy wydechu w SPP

Na podstawie przeprowadzonych analiz oraz uwzględniając parametry poszczególnych układów SPP, opracowano procedurę separacji faz wydechu (rys. 4.28). Pojawienie się przepływu w układzie dystrybucji powietrza oznacza początek wydechu pacjenta. Jednocześnie realizowany jest pomiar wilgotności, temperatury oraz stężenia CO<sub>2</sub> w wydychanym powietrzu.

Na podstawie tych danych następuje korekcja wskazań stężenia czujnika CO<sub>2</sub>. Otrzymana skorygowana krzywa kapnograficzna zostaje poddana analizie w układzie wyznaczenia początku III fazy wydechu. Po wykryciu III fazy informacja przekazywana jest do sterownika elektrozaworów (EV), który przekierowuje tę część powietrza do worka tedlarowego lub analizatora NO, w zależności od wybranego trybu pracy („off-line” lub „on-line”). Gromadzenie próbki trwa tak długo, aż zostanie stwierdzony koniec III fazy wydechu na podstawie gwałtownego spadku przepływu. Wówczas nastąpi zamknięcie elektrozaworu III fazy i cały cykl powtarza się.



Rys. 4.28. Procedura separacji III fazy wydychanego powietrza.

#### 4.6. Integracja systemu pobierania próbek

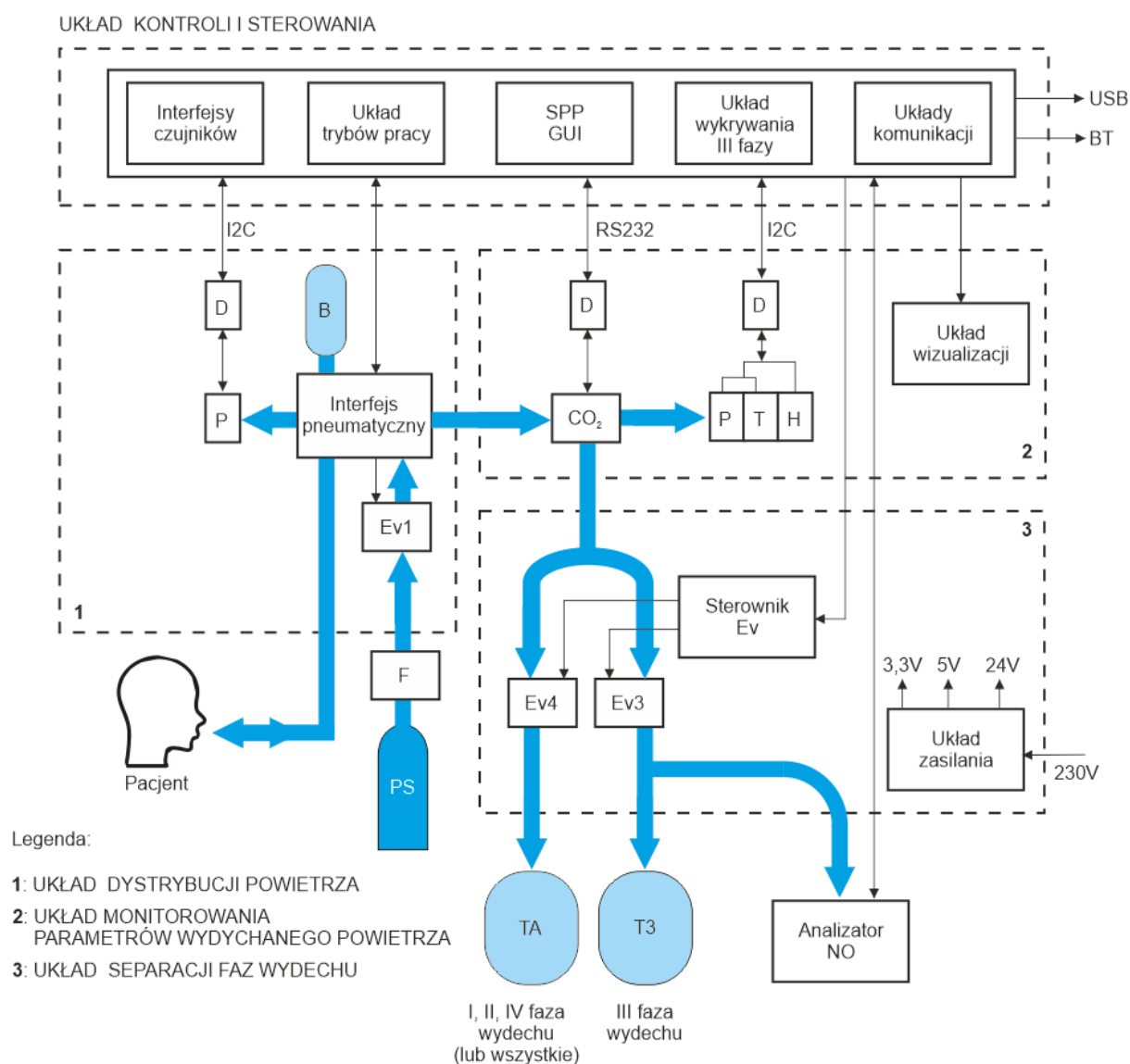
Integracja poszczególnych układów SPP wymagała opracowania wspólnego algorytmu działania, dopasowania interfejsów czujników oraz integracji na płaszczyźnie elektrycznej, elektronicznej i pneumatycznej. Proces ten umożliwił wyeliminowanie niektórych elementów układów, przez co uzyskano uproszczenie algorytmu, skrócenie czasu jego realizacji oraz zmniejszenie kosztów wykonania modelu laboratoryjnego.

W pierwszym kroku prac, do wyznaczania przepływu zastosowano metodę pośrednią wykorzystującą pomiar ciśnienia, przez co wyeliminowano konieczność zastosowania dedykowanego czujnika przepływu. Wykorzystano fakt, że zarówno w układzie dystrybucji powietrza oraz w układzie monitorowania parametrów wydychanego powietrza znajdują się

czujniki ciśnienia. Wyznaczenie przepływu objętościowego odbywa się na podstawie różnicy ciśnień w przewodzie o przekroju kołowym zgodnie z prawem Hagen-Poiseuille'a

$$Q = \frac{dV}{dt} = \frac{\pi r^4 \Delta P}{8\eta L} = B\Delta P, \quad (4.21)$$

gdzie:  $V$  – objętość gazu przepływająca przez przewód w jednostce czasu  $t$ ,  $r$  – promień wewnętrzny przewodu,  $L$  – długość przewodu,  $\eta$  - współczynnik lepkości dynamicznej powietrza i  $\Delta P$  – różnica ciśnień na końcach przewodu. Przepływ jest więc wprost proporcjonalny do różnicy ciśnień oraz współczynnika konstrukcyjnego  $B$ . Wyniki badań zaproponowanej metody pomiaru przepływu w SPP i wyznaczenie zależności pomiędzy przepływem a różnicą ciśnień w układzie dystrybucji powietrza oraz układzie monitorowania parametrów wydychanego powietrza przedstawiono w kolejnym rozdziale pracy.



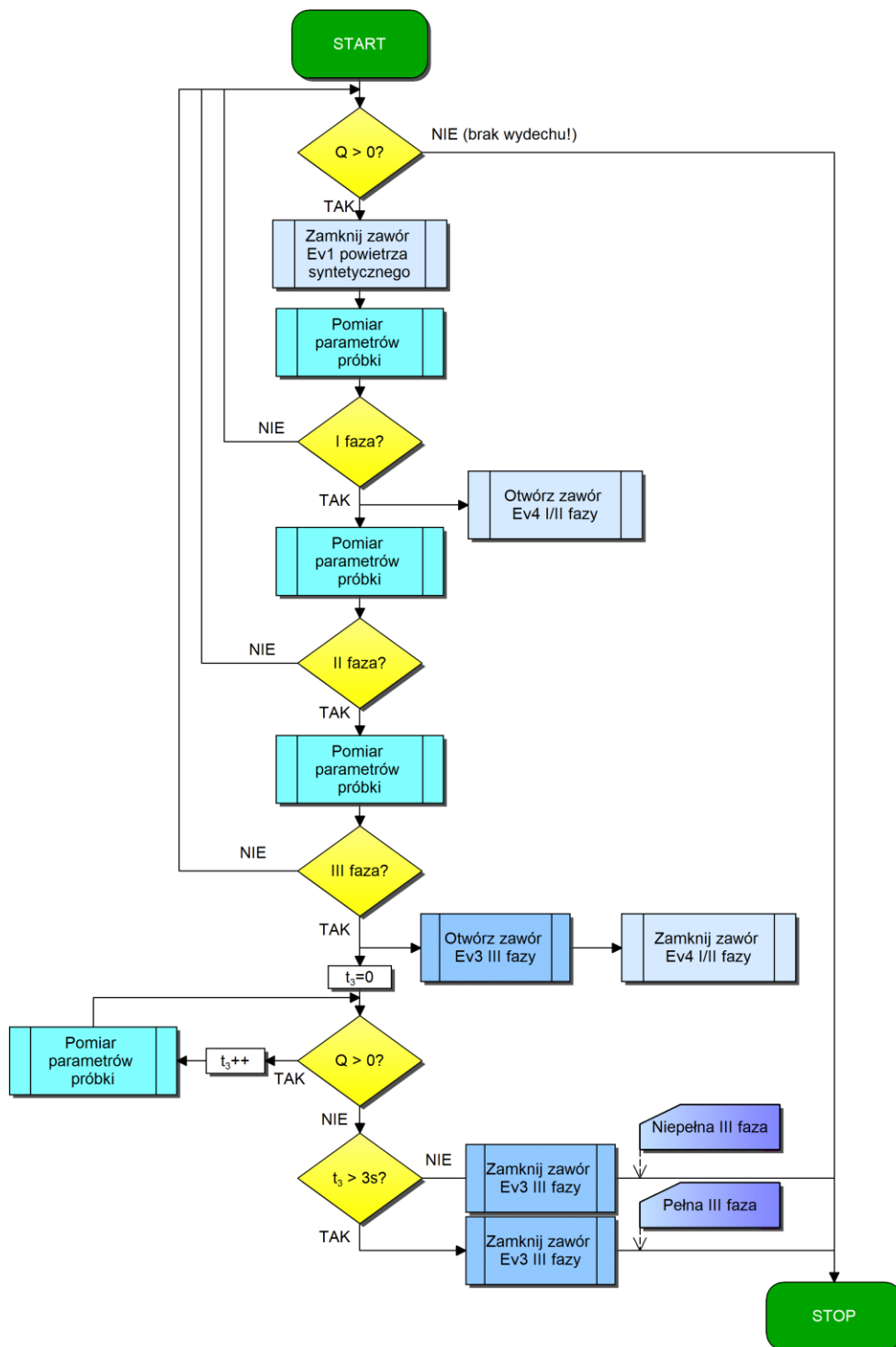
Rys. 4.29. Schemat blokowy zmodyfikowanego modelu SPP.

Zważywszy na fakt, że wybrane czujniki ciśnienia, wilgotności i temperatury stosowane w obu układach SPP wykorzystują do komunikacji interfejs I<sup>2</sup>C, a czujnik CO<sub>2</sub> – szyny danych zgodne z RS232, możliwe było zrezygnowanie z zastosowania dedykowanego toru analogowego i przetworników analogowo-cyfrowych. Umożliwiło to również na uniknięcie potrzeby stosowania układu interfejsu czujników. W efekcie, uzyskano zmniejszenie liczby obsługiwanych czujników do trzech (dwa czujniki ciśnienia i jeden czujnik wilgotności). Wszystkie kontrolery oraz interfejsy czujników układów systemu SPP zintegrowano w ramach wspólnego układu kontroli i sterowania (rys. 4.29) [212].

Zasoby mikrokontrolera umożliwiły także implementację procedury układu wykrywania III fazy. Układ kontroli i sterowania wyposażono w interfejs użytkownika (*GUI - Graphical User Interface*), który umożliwił obserwację wszystkich istotnych parametrów systemu SPP (m.in. ciśnienie, wilgotność, temperaturę, przepływ powietrza, zmiany stężenia CO<sub>2</sub>, zgromadzoną objętość próbki, tryb pracy, fazy wydechu itp.) oraz sterowanie pracą SPP.

Wprowadzono tryb pracy „IDLE” służący do zapoznania pacjenta z działaniem SPP oraz pomiarem temperatury wydychanego powietrza. Dotyczy to procedur nabierania głębokiego wdechu powietrza syntetycznego z butli przez maskę twarzową i wykonania spokojnego wydechu do układu tak, aby nie przekraczać przepływu 3 l/min. Po zapoznaniu się z systemem i praktycznym przećwiczeniu całej procedury, operator przełącza SPP w tryb „WORK”, w którym następuje praktyczna realizacja procedur separacji i gromadzenia faz wydechu. Przełączanie między trybami „on-line” i „off-line” następuje automatycznie po podłączeniu do SPP analizatora NO.

Uproszczony algorytm pracy systemu SPP przedstawiono na rys. 4.30. Pojawienie się przepływu w układzie oznacza początek realizowanego przez pacjenta wydechu. Zostaje zamknięty zawór Ev1 dostarczający powietrze syntetyczne. Jeżeli w którymkolwiek momencie nastąpi zanik przepływu, zostanie natychmiastowo wznowiona dostawa powietrza syntetycznego z butli. W wypadku pojawienia się przepływu następuje odczyt parametrów próbki (ciśnienia, wilgotności, temperatury i stężenia CO<sub>2</sub>). Rozpoczyna się I faza wydechu i otwierany jest elektrozawór Ev4 umożliwiający przesłanie tej części wydechu do worka tedlarowego lub analizatora NO. Jeżeli pacjent będzie kontynuował wydech, przewidywany jest wzrost stężenia CO<sub>2</sub> w wydychanym powietrzu, co oznacza początek II fazy. W przeciwnym wypadku nastąpi wznowienie dostawy powietrza syntetycznego. Podczas pracy SPP przeprowadzany jest ciągły pomiar parametrów próbki powietrza i dokonywana jest korekta wskazań czujnika CO<sub>2</sub>. W momencie przekroczenia zadeklarowanej wartości  $dSMAA/dt$  dla zmian stężenia CO<sub>2</sub> następuje otwarcie elektrozaworu III fazy (Ev3).



**Rys. 4.30. Algorytm pracy systemu pobierania próbek.**

Rozpoczyna się pomiar czasu trwania III fazy wydechu ( $t_3$ ) oraz cykliczny pomiar parametrów próbki. Gwałtowny spadek przepływu powietrza oznacza zakończenie wydechu pacjenta i zakończenie gromadzenia próbki III fazy. Jeżeli czas trwania III fazy wydechu osiągnął wymagane w rekomendacjach ATS/ERS minimum 3 sekundy, oznacza to zgromadzenie pełnej III fazy wydechu. Jeżeli jest krótszy, wówczas należy zgromadzić więcej



wydechów pacjenta. Po zakończeniu wydechu, pacjent otrzymuje kolejną porcję powietrza syntetycznego z butli i cały cykl powtarza się.

Transmisja danych zastosowana w SPP została zrealizowana za pomocą autorskiego protokołu będącego zmodyfikowaną wersją protokołu stosowanego w produktach medycznych [213]. Wykorzystano w nim mechanizm sum kontrolnych dla zapewnienia integralności przesyłanych danych.

#### 4.7. Podsumowanie

W ramach prac opracowany został projekt systemu SPP składający się z układu dystrybucji powietrza, układu monitorowania parametrów wydychanego powietrza oraz układu separacji faz wydechu.

Przeprowadzona została analiza maksymalnego czasu działania poszczególnych elementów systemu SPP uwzględniająca wykonanie pomiaru temperatury, ciśnienia i wilgotności próbki wydechu pacjenta. Określono maksymalne wartości tych czasów przy zachowaniu niepewności względnej wyznaczenia objętości frakcji pęcherzykowej wydechu nie większej niż 5%. Okazało się, że pomiary te należy zrealizować w czasie krótszym niż 165 ms.

Zdefiniowane zostały kluczowe parametry dla każdego z czujników oraz dokonany został wybór czujników najlepiej spełniających narzucone wymagania. Przeprowadzono analizę wpływu parametrów próbki (temperatury, ciśnienia, wilgotności) na wskazania czujnika CO<sub>2</sub> przeznaczonego do wykrywania faz wydechu.

Opracowany został model matematyczny czujnika CO<sub>2</sub> typu NDIR do analizy powietrza wydychanego przez człowieka uwzględniający parametry źródła promieniowania, filtru optycznego, detektora promieniowania pracujących w paśmie 4,1 ÷ 4,4 μm. Przeprowadzona analiza wykazała, że zaproponowany model czujnika charakteryzuje  $SNR \approx 28$  dB przy założeniu komórki absorpcyjnej o długości  $L = 2$  cm. Dokonano analizy wpływu ciśnień z zakresu od 965 mbar do 1074 mbar, w którym może pracować czujnik CO<sub>2</sub>. Stwierdzono, że zmiana ciśnienia powietrza spowoduje wzrost absorbancji o 12,46%. W analogiczny sposób została przeprowadzona analiza wpływu temperatury na niepewność pomiaru stężenia CO<sub>2</sub>. Przyjęto przedział temperaturowy od 20°C do 36°C. Wykazała ona, że przy wzroście temperatury absorbancja CO<sub>2</sub> zmniejszy się o 5,33%.

Z przeprowadzonej analizy wpływu widm absorpcyjnych pary wodnej na działanie czujnika CO<sub>2</sub> wynika, że jest on pomijalnie mały. Należy jednak mieć na uwadze, że w praktycznych rozwiązaniach wpływ pary wodnej oraz zmian temperatury otoczenia mogą

mieć istotny wpływ na działanie systemu pobierania próbek poprzez osadzanie cząsteczek wody.

Opracowany został algorytm wykrywania początku III fazy wydechu na podstawie analizy dynamiki zmian średniej kroczącej dla punktów sąsiadujących (*SMAA – Simple Moving Adjacent Average*). Stała wartość progowa  $dSMAA/dt$  pozwala na określenie początku III fazy wydechu. Algorytm ten został opracowany na podstawie metody opartej na wyznaczeniu punktu przecięcia prostych regresji liniowej drugiej II oraz III fazy wydechu. Działanie algorytmu zostało zweryfikowane z wykorzystaniem metody analizy współczynnika determinacji  $R^2$  regresji bilinearnej przebiegów II i III fazy wydechu. Zaproponowana metoda charakteryzuje się mniejszą złożonością obliczeniową i krótszym czasem wykonania.

Zauważono, że integracja poszczególnych układów SPP umożliwiła zmniejszenie liczby czujników oraz dalsze uproszczenie algorytmów, skutkujące skróceniem czasu jego wykonania. Wprowadzono dwa tryby pracy: „IDLE” - służący do zapoznania pacjenta z działaniem SPP i pomiaru temperatury wydychanego powietrza oraz „WORK” – do praktycznej realizacji gromadzenia faz wydechu. Opracowana została procedura separacji faz wydechu w SPP, protokół komunikacji oraz algorytm pracy całego systemu.

Na podstawie przeprowadzonych analiz określone zostały parametry zaprojektowanego systemu pobierania próbek (tab. 4.17).

**Tab. 4.17. Główne parametry SPP.**

Parametr	Wartość	Uwagi
Selekcjonowana i gromadzona faza wydechu	III faza	Możliwe selekcjonowanie i gromadzenie innych faz lub całego wydechu bez wydzielania faz
Zgromadzona objętość powietrza pobrana z III fazy	Od ok. 60 ml	
Max. niepewność objętości III fazy	5%	Przy zachowaniu warunku pomiaru parametrów próbki powietrza w czasie < 165 ms
Czas pobrania jednej próbki wydychanego powietrza	35 sekund	Czas trwania pełnych 5 oddechów

W kolejnym rozdziałach opisane zostaną badania poszczególnych elementów składowych systemu SPP, w tym wybór oraz badanie czujnika CO<sub>2</sub>.

## Badania parametrów elementów systemu pobierania próbek

### 5.1. Wstęp

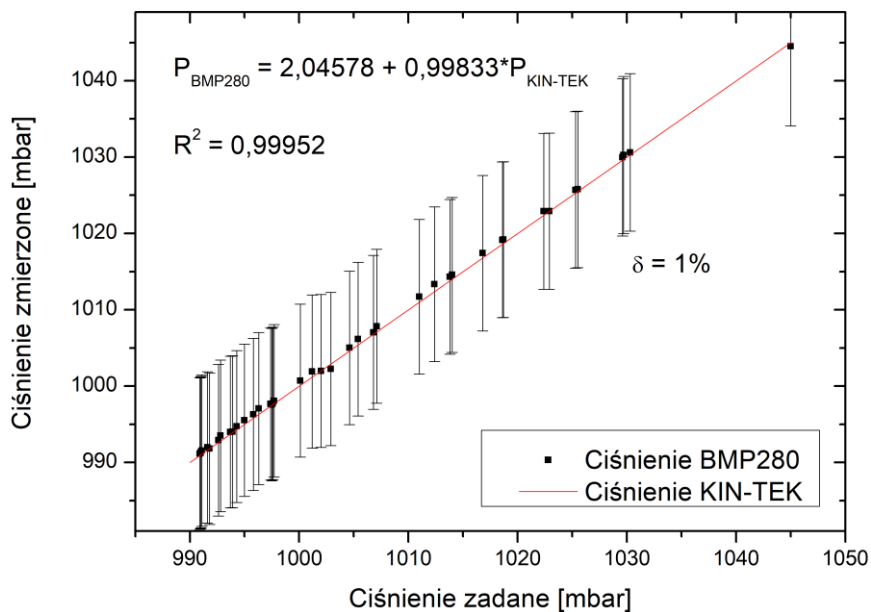
W rozdziale 4 przedstawiony został projekt systemu pobierania próbek oraz jego podstawowe bloki funkcjonalne. Opracowany został również algorytm wyznaczania początku III fazy i procedury separacji faz wydechu. Na tym etapie realizacji pracy wymagane było przeprowadzenie badań elementów monitorujących parametry próbek. Wykonano także badania mające na celu określenie wpływu ciśnienia, temperatury, wilgotności na wyniki pomiaru stężenia CO<sub>2</sub> oraz weryfikacja procedury wyznaczenia początku III fazy wydechu.

### 5.2. Badania układu dystrybucji powietrza

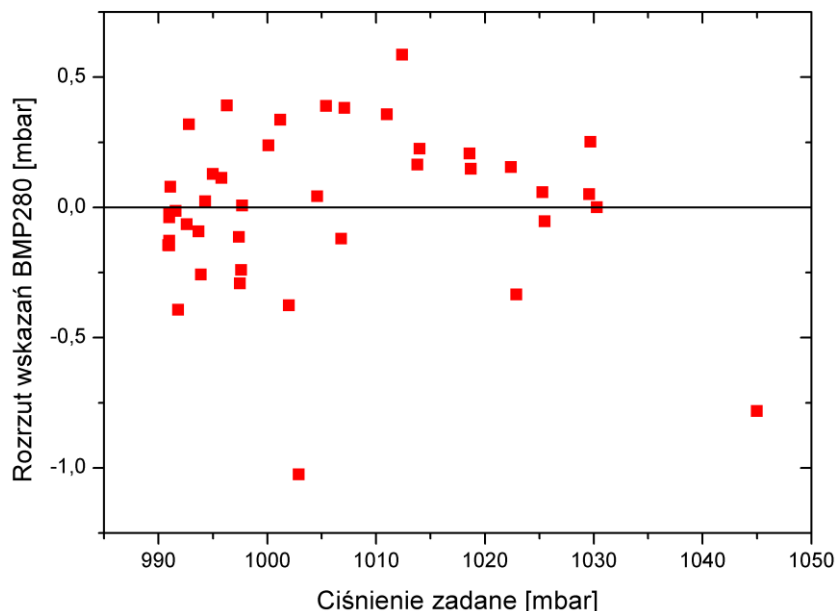
Badania układu dystrybucji powietrza miały na celu weryfikację działania czujnika ciśnienia, procedury wyznaczenia przepływu oraz zgodności pracy z wymaganiami ATS/ERS w zakresie zapewnienia bezpiecznych dla pacjenta poziomów ciśnień oraz przepływu wydychanego przez niego powietrza.

#### 5.2.1. Wyznaczenie dokładności pomiaru ciśnienia wydychanego powietrza

Przeprowadzona została weryfikacja działania czujnika BMP280, w opcji pomiaru ciśnienia, poprzez określenie dokładności i jej porównania z wartością deklarowaną przez producenta przy użyciu certyfikowanego czujnika MKS 842B Ultraclean (referencyjnego) o niepewności  $\delta = 1\%$  [214]. W generatorze KIN-TEK wytworzono ciśnienie powietrza z zakresu od 991 mbar do 1015 mbar, które następnie mierzono przy użyciu czujnika BMP280. Wyniki pomiarów przedstawiono na rys. 5.1. Stwierdzono, że wytypowany do układu dystrybucji powietrza czujnik charakteryzuje się liniową charakterystyką zależności wskazań ciśnienia od ciśnienia zadanego ( $R^2 = 0,99952$ ) w zakresie od 991 mbar do 1045 mbar. Różnica wskazań czujnika BMP280 względem wartości oczekiwanej mieściła się w zakresie od -1,03 mbar do 0,59 mbar (rys. 5.2). Niepewność względna pomiaru nie przekroczyła wartości  $\delta = 1\%$ .

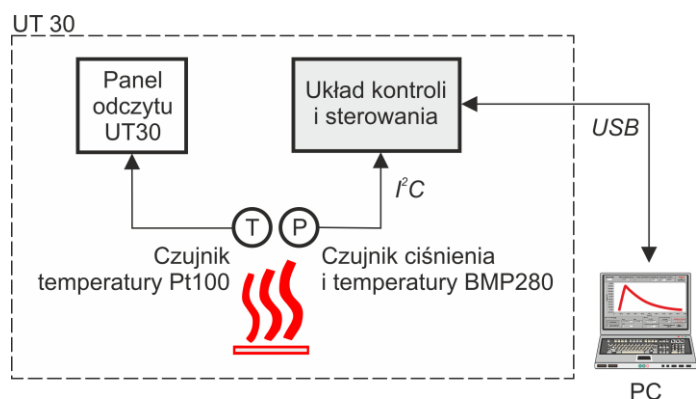


Rys. 5.1. Wyniki badań porównawczych czujnika BMP280.



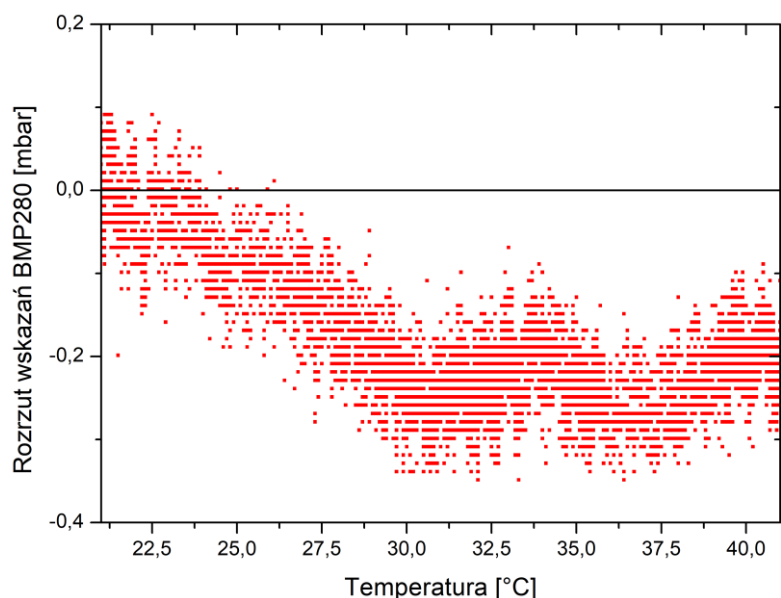
Rys. 5.2. Wykres różnicy wskazań czujnika BMP280 od wartości oczekiwanej ciśnienia w zakresie od 991 mbar do 1045 mbar.

Ze względu na przewidywane zmiany temperatury elementów układu dystrybucji powietrza, konieczne było również zbadanie wpływu temperatury na wskazania czujnika ciśnienia. Badania wykonano dla ciśnienia atmosferycznego 1015,44 mbar i zmian temperatury powietrza w zakresie od 20°C do 41°C w komorze termostatowanej UF30 firmy Memmert [215]. Komora wyposażona była w czujnik Pt100 klasy A o dokładności pomiaru temperatury wynoszącej 0,2% wartości wskazanej + 0,15°C (rys. 5.3).



Rys. 5.3. Schemat układu do badania czujnika temperatury BMP280 w komorze termostatowanej.

Wyniki badań pokazały, że zmiany temperatury w zakresie od 20°C do 41°C wpływają na zmiany wartości wskazań badanego czujnika ciśnienia, ale nie przekraczają one poziomu wcześniej wyznaczonej niepewności względnej  $\delta=1\%$ . Różnica wskazań temperatury względem wartości oczekiwanej mieściła się w zakresie od -0,35 mbar do 0,09 mbar (rys. 5.4).

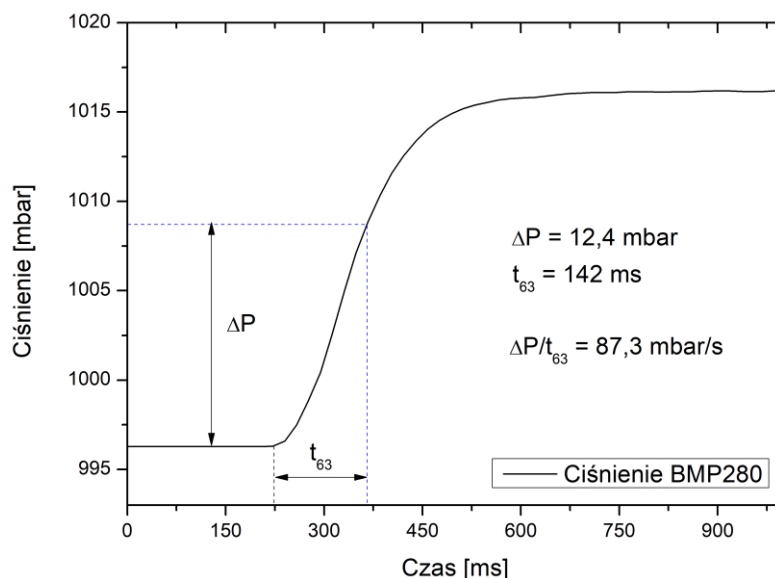


Rys. 5.4. Wykres rozrzutu wskazań czujnika BMP280 od wartości referencyjnej ciśnienia w zakresie temperatur od 21°C do 41°C.

Przeprowadzono badania czasu pomiaru badanego czujnika ciśnienia. Przy ciśnieniu atmosferycznym 996,2 mbar czujnik podłączony został do butli ze sprężonym powietrzem syntetycznym poprzez reduktor ciśnienia i zawór model V165V02 Z031C o czasie otwarcia 10 ms [216]. Otwarcie zaworu generowało skok ciśnienia do 1016 mbar. Dokonano rejestracji zmian wskazań ciśnienia czujnika BMP280 oraz wyznaczony został czas pomiaru czujnika przy zadanym skoku ciśnienia (rys. 5.5).

Wyznaczona szybkość zmian ciśnienia zarejestrowana przez czujnik BMP280 wyniosła 87,3 mbar/s. Czas pomiaru czujnika, czyli osiągnięcie 63,2% wartości maksymalnej stężenia wyniósł  $t_{63} = 142$  ms. W tym czasie czujnik wykonał 11 pomiarów ciśnienia, co oznacza czas

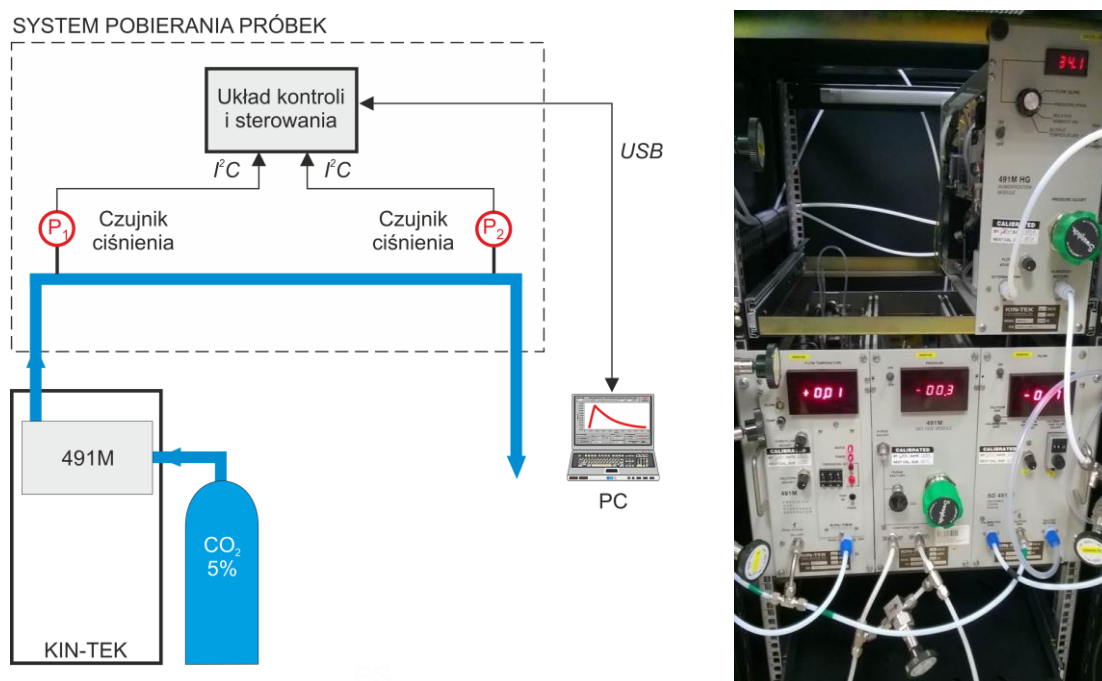
odczytu równy 12,9 ms. Badania te jednoznacznie potwierdziły możliwość zastosowania czujnika BMP280 do układu dystrybucji powietrza.



Rys. 5.5. Przykładowy wykres czasu odczytu ciśnienia czujnika BMP280.

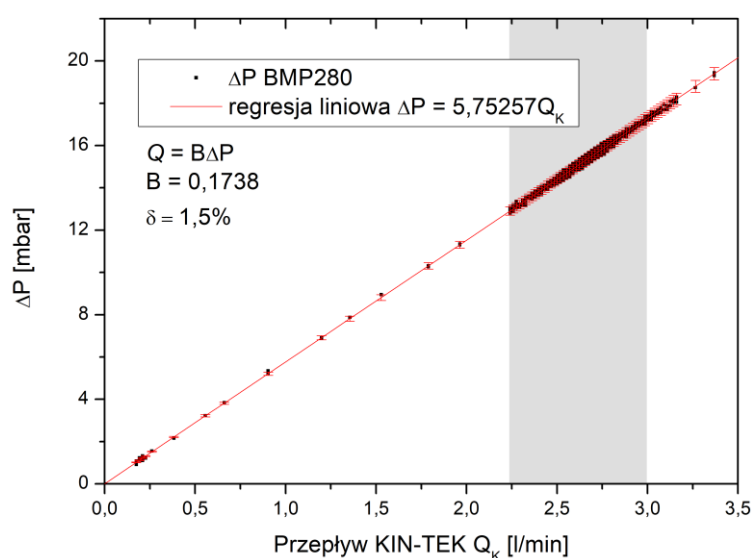
### 5.2.2. Badanie procedury pomiaru przepływu

Do pomiaru przepływu w układzie dystrybucji powietrza zastosowano metodę pomiaru różnicy ciśnień zgodnie z zależnością (4.1). Przepływ wyznaczony zgodnie prawem Hagen-Poiseuille'a jest powiązany z różnicą ciśnień w układzie dystrybucji powietrza poprzez współczynnik konstrukcyjny  $B$ . Do jego wyznaczenia przygotowany został dedykowany układ eksperymentalny (rys. 5.6).



Rys. 5.6. Schemat układu eksperymentalnego do wyznaczenia współczynnika konstrukcyjnego  $B$  oraz fotografia generatora gazów KIN-TEK wykorzystanego do badań.

Układ ten został zbudowany z łączników typu „martwa przestrzeń” model Superset® firmy Intersurgical [217]. Łączniki zapewniały regulację długości od 70 mm do 150 mm (objętość od 20 ml do 40 ml) i dopasowanie konstrukcyjne w układzie dystrybucji powietrza. Jako źródło gazu wykorzystano mieszaninę powietrza syntetycznego o stężeniu  $C_{CO_2} = 5\%$ . Stężenie to odpowiada średniej zawartości tego gazu w wydychanym przez człowieka powietrzu. Generator KIN-TEK wytwarzał strumień powietrza o zadanym przepływie w zakresie od 0 do 3,5 l/min i o temperaturze 34,1°C. Dokonano analizy wskazań przepływu powietrza w generatorze KIN-TEK oraz różnicy ciśnień wskazanych przez czujniki ciśnienia znajdujące się w układzie dystrybucji powietrza i pomiarów parametrów próbki (odpowiednio  $P_1$  i  $P_2$ ). Wyniki badań przedstawione zostały na rys. 5.7.



Rys. 5.7. Procedura wyznaczania przepływu w SPP.

Dzięki takiemu rozwiązaniu zastosowane czujniki ciśnienia realizują jednocześnie dwa zadania – zapewniają spełnienie wymagań ATS/ERS oraz umożliwiają wyznaczenie przepływu. Ze względu na liniową zależność przepływu od różnicy ciśnień sprowadza się to do obliczenia  $Q$  ze wzoru (5.1).

$$Q = B(P_2 - P_1). \quad (5.1)$$

Zależność między różnicą ciśnień oraz przepływem jest liniowa zgodnie ze wzorem  $\Delta P = 5,75257Q_K$ , gdzie  $Q_K$  oznacza przepływ powietrza wytworzony w generatorze KIN-TEK [l/min] a  $\Delta P$  oznacza zmierzoną różnicę ciśnień [mbar]. Na podstawie równania (4.21) wyznaczono współczynnik konstrukcyjny  $B = 0,1738$ , dzięki któremu możliwe jest określenie przepływu powietrza wydychanego przez człowieka w SPP.

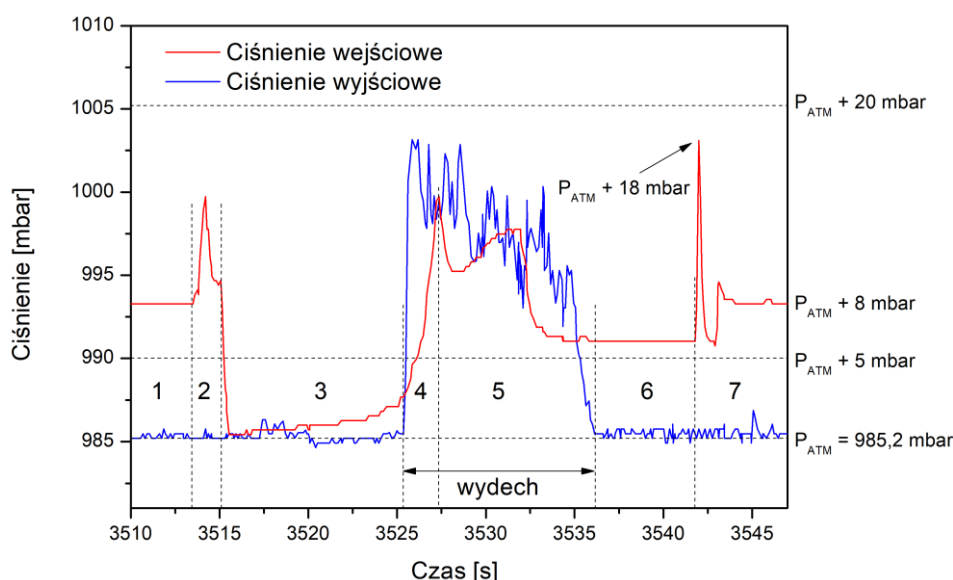
Znając niepewności względne pomiaru przepływu modułu 491M ( $\delta_K = 1,5\%$ ) oraz czujników ciśnienia BMP280 ( $\delta_P = 1\%$ ), wyznaczono niepewność względną pomiaru przepływu  $\delta_Q$  z zależności

$$\delta_Q = \sqrt{\delta_K^2 + 2\delta_P^2}. \quad (5.2)$$

Dla przyjętych danych wyniosła ona  $\delta = 1,9\%$ .

### 5.2.3. Weryfikacja zgodności pracy z wymaganiami ATS/ERS

W celu sprawdzenia poprawności założeń związanych z zaleceniami ATS/ERS przeprowadzono pomiary zmian ciśnienia wejściowego i wyjściowego podczas swobodnego wdechu i wydechu oraz pomiar przepływu wydychanego powietrza. Wyniki badań przedstawiono na rys. 5.8.



Rys. 5.8. Przebiegi ciśnień w układzie dystrybucji powietrza (1 ÷ 7 – wybrane obszary analizy zmian ciśnienia w SPP).

Pomiary przeprowadzono za pomocą dwóch czujników BMP280: wejściowego w układzie dystrybucji powietrza i wyjściowego w układzie monitorowania parametrów próbki powietrza. Według wytycznych ATS/ERS bezpieczny poziom ciśnienia wynosi 20 mbar powyżej ciśnienia atmosferycznego. Procedura pobrania próbki powietrza od pacjenta została zrealizowana zgodnie z algorytmem pracy systemu SPP opisanym w rozdziale 4.5.2. Pomiary przeprowadzono przy ciśnieniu atmosferycznym wynoszącym 985,2 mbar dla siedmiu charakterystycznych obszarów zmian ciśnienia. Celem badań było sprawdzenie czy zakresy tych zmian są zgodne z wytycznymi ATS/ERS.

Badania wykazały, że podczas swobodnego przepływu powietrza syntetycznego z butli, ciśnienie na wejściu interfejsu pneumatycznego jest wyższe o ok. 8 mbar od ciśnienia atmosferycznego i odpowiada przepływowi 1,4 l/min (zakres „1”). Pacjent nie wykonuje wydechu, więc na wyjściu interfejsu pneumatycznego ciśnienie jest równe ciśnieniu atmosferycznemu. Założenie maski twarzowej powoduje zwiększenie oporu dla



przepływającego powietrza, co objawia się chwilowym zwiększeniem ciśnienia (zakres „2”). Pacjent nabiera głęboki wdech, w wyniku czego ciśnienie na wejściu układu pneumatycznego równe jest ciśnieniu atmosferycznemu, a następnie powoli rośnie (zakres „3”). Wzrost ten jest spowodowany dodatnim bilansem objętości powietrza syntetycznego dostarczanego z butli oraz powietrza pobieranego przez pacjenta podczas wdechu.

Pacjent rozpoczyna wydech (zakres „4”) i ciśnienie na wyjściu interfejsu pneumatycznego gwałtownie wrasta (o ok. 18 mbar). Ciśnienie na wejściu interfejsu pneumatycznego wrasta, ponieważ otwarty jest dopływ powietrza z butli. Napływające powietrze napełnia worek oddechowy o objętość, jaką pacjent pobrał podczas wdechu. Po zgromadzeniu pełnej objętości 3 litrów w worku oddechowym, dla uniknięcia przepełnienia i dalszego wzrostu ciśnienia, dopływ powietrza z butli (zakres „5”) zostaje zamknięty, a pacjent kontynuuje wydech.

Zakończenie wydechu powoduje spadek przepływu na wyjściu interfejsu pneumatycznego i wyrównanie mierzonego ciśnienia z ciśnieniem atmosferycznym (zakres „6”). Czujnik ciśnienia w układzie dystrybucji powietrza przesyła do układu kontroli i sterowania informację o tym spadku, w wyniku czego zostaje ponownie otwarty zawór umożliwiający dopływ powietrza syntetycznego z butli. Gwałtowne otwarcie zaworu powoduje chwilowy skok ciśnienia (zakres „7”). Następuje wznowienie dostawy powietrza i układ jest gotowy do pobrania kolejnego wydechu pacjenta.

Badania wykazały, że w żadnym momencie ciśnienie w układzie dystrybucji powietrza oraz w układzie monitorowania parametrów wydychanego powietrza nie przekroczyło 20 mbar powyżej ciśnienia atmosferycznego, co zapewnia bezpieczeństwo pacjenta podczas badania. Zaproponowane rozwiązanie konstrukcyjne zapewnia również odpowiedni opór podczas wykonywania wydechu przez pacjenta, dzięki któremu ciśnienie jest większe o minimum 5 mbar od ciśnienia atmosferycznego. Jest to niezbędne do zamknięcia gardła przez podniebienie miękkie, przez co do wydychanego powietrza nie dostaje się powietrze z zatoki nosowej z egzogenicznym NO. Na podstawie różnicy ciśnień wejściowego oraz wyjściowego wyznaczono przepływ wydychanego powietrza. Różnica ciśnień wynosząca średnio 18 mbar odpowiada przepływowi powietrza od 2,8 l/min do 3 l/min, który jest zgodny z wytycznymi ATS/ERS.

### **5.3. Badania układu monitorowania parametrów wydychanego powietrza**

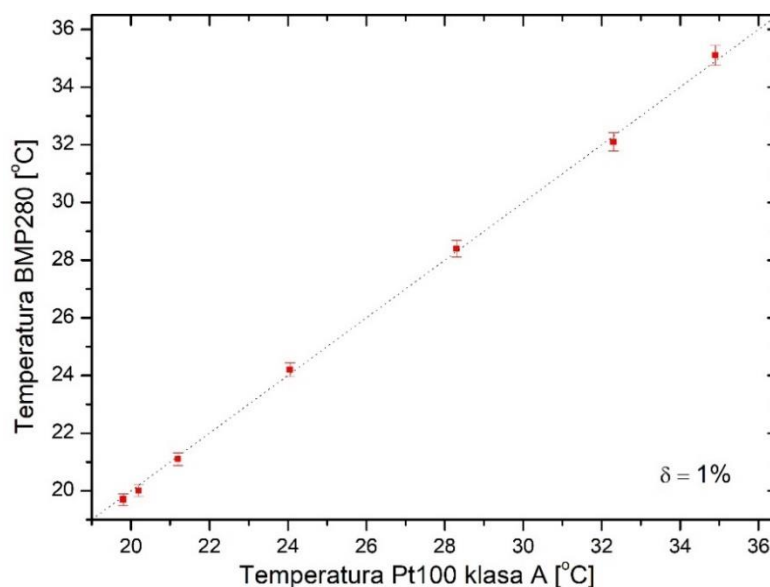
Badania układu monitorowania parametrów wydychanego powietrza związane były z weryfikacją działania wytypowanych czujników ciśnienia, temperatury i wilgotności.

Wykorzystano drugi egzemplarz czujnika ciśnienia BMP280 identyczny jak w układzie dystrybucji powietrza. Przeprowadzone badania tego egzemplarza w zakresie charakterystyki, czasu odczytu ciśnienia oraz niepewności pomiarowej wykazały, że nie było istotnych różnic względem egzemplarza zbadanego w rozdziale 5.2. W tym punkcie przedstawione zostaną zatem wyniki badań dwóch pozostałych rodzajów czujników.

### 5.3.1. Wyznaczenie niepewności pomiaru temperatury

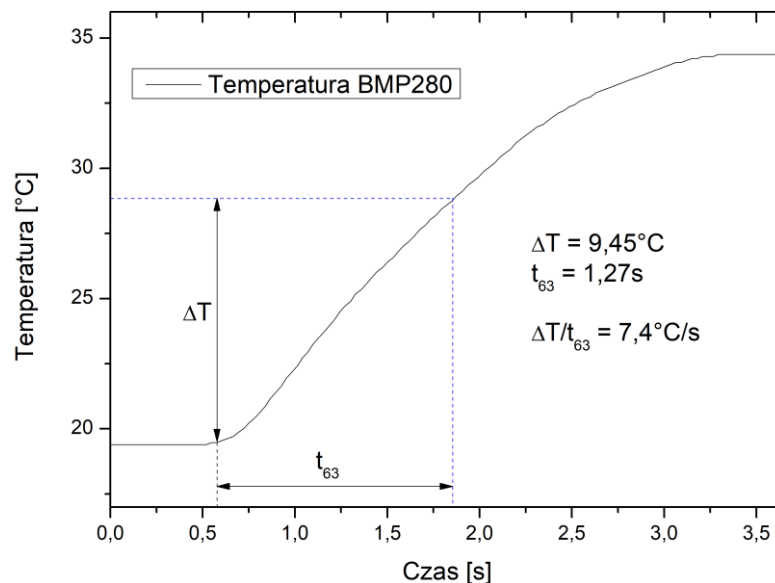
Badania czujnika BMP280, w opcji pomiaru temperatury, przeprowadzono z wykorzystaniem wcześniej opisanej komory UF30 wyposażonej w czujnik Pt100.

W związku z wymaganiami opisanymi w rozdziale 4.4.4 dotyczącymi temperatury powietrza wydychanego przez człowieka [199], pomiary przeprowadzono w zakresie temperatur od 20°C do 36°C. Wskazania czujnika temperatury BMP280 porównane zostały ze wskazaniami czujnika w komorze UF30. Wyniki badań przedstawiono na rys. 5.9.



Rys. 5.9. Analiza niepewności względnej pomiaru temperatury czujnika BMP280.

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, iż w całym zakresie pomiarowym niepewność względna pomiaru temperatury czujnikiem BMP280 nie przekroczyła wartości  $\delta = 1\%$ . Następnie przeprowadzone zostały badania czasu wykonania pomiaru temperatury przy zmianie temperatury w zakresie od 20°C do 34,5°C za pomocą modułu Peltiera. Czujnik umieszczono bezpośrednio na stronie ciepłej modułu i przeprowadzono rejestrację wskazań, na podstawie których wyznaczono czas pomiaru (rys. 5.10). Wyznaczona szybkość zmian temperatury zarejestrowana za pomocą czujnika BMP280 wyniosła 7,4 °C/s. Czas pomiaru wyniósł 1,27 s. W tym czasie czujnik wykonał 95 pomiarów temperatury, co oznacza, że czas odczytu wynosi 13,3 ms i pokrywa się z wartościami deklarowanymi przez producenta.

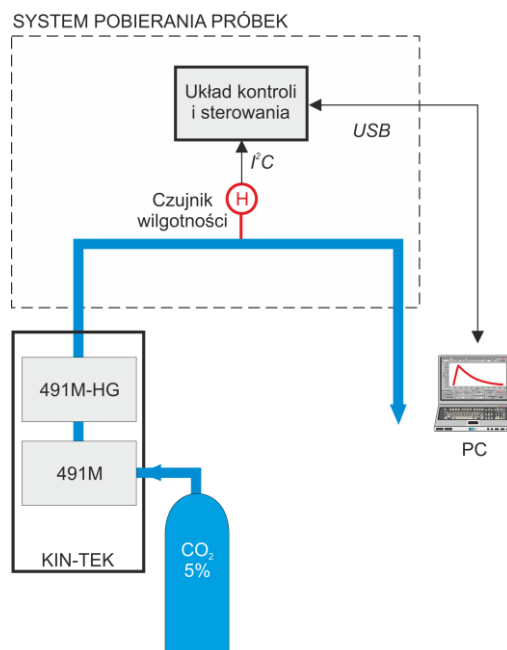


Rys. 5.10. Wyznaczenie czasu pomiaru temperatury za pomocą czujnika BMP280.

W związku z uzyskanym wynikiem przyjęto, że pomiar temperatury zostanie rozpoczęty w trybie „IDLE” aby zminimalizować niepewność wyznaczania początku III fazy wydechu oraz pobrać jak największą objętość frakcji pęcherzykowej powietrza. W rezultacie uzyskano wyniki potwierdzające możliwość zastosowania czujnika BMP280 do układu dystrybucji powietrza.

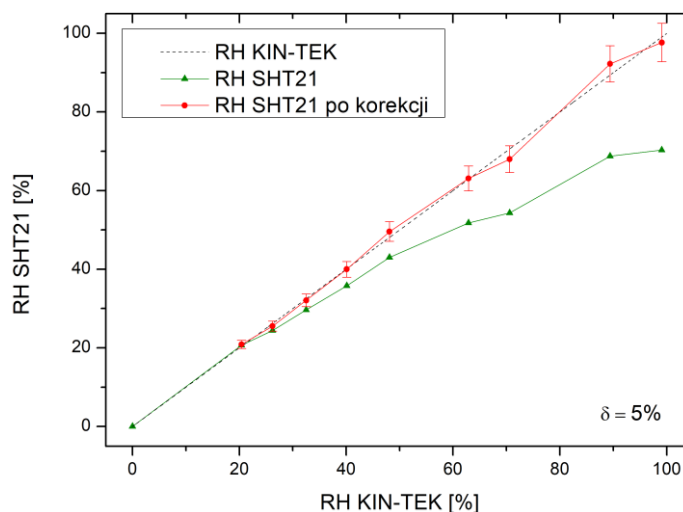
### 5.3.2. Badania czujnika wilgotności

Badania czujnika wilgotności polegały na porównaniu jego wskazań z danymi otrzymanymi z przyrządu wzorcowego 491M-HG ( $\delta = 5\%$ ) będącego modułem generatora gazów wzorcowych KIN-TEK 491M (rys. 5.11).



Rys. 5.11. Schemat blokowy układu do badania czujnika wilgotności.

Suchy gaz z butli (zawartość H<sub>2</sub>O < 3 ppm), będący mieszanką powietrza syntetycznego i gazu CO<sub>2</sub> o stężeniu 5%, skierowany został do modułu 491M, a następnie do modułu 491M-HG, który umożliwiał nawilżenie powietrza od RH = 20% do RH = 100%. Czujnik wilgotności SHT21 umieszczony został w strumieniu powietrza przepływającego przez czujnik CO<sub>2</sub>. Wynik pomiaru dla przepływu 3 l/min i temperatury powietrza  $T = 34^{\circ}\text{C}$  przedstawiono na rys. 5.12. Przeprowadzone pomiary wykazały znaczne rozbieżności między wskazaniami przyrządu referencyjnego, a wskazaniami czujnika SHT21.



Rys. 5.12. Wykres wskazań czujnika wilgotności SHT21.

Konieczne było więc wyznaczenie funkcji, która umożliwi korektę wskazań czujnika SHT21 w celu zapewnienia zgodności z wzorcem. Funkcję korekcyjną wyznaczono z zależności

$$RH_{SHT21(K)} = 0,0047 \cdot RH_{SHT21} + 0,92294, \quad (5.2)$$

gdzie  $RH_{SHT21}$  – wartość wilgotności względnej odczytana z czujnika SHT21 [%],  $RH_{SHT21(K)}$  – wartość wilgotności względnej po wprowadzeniu korekcji wskazań [%]. Procedura ta umożliwiła uzyskanie wyników pomiarów z niepewnością mniejszą niż 5%.

### 5.3.3. Badania i wybór czujnika stężenia CO<sub>2</sub>

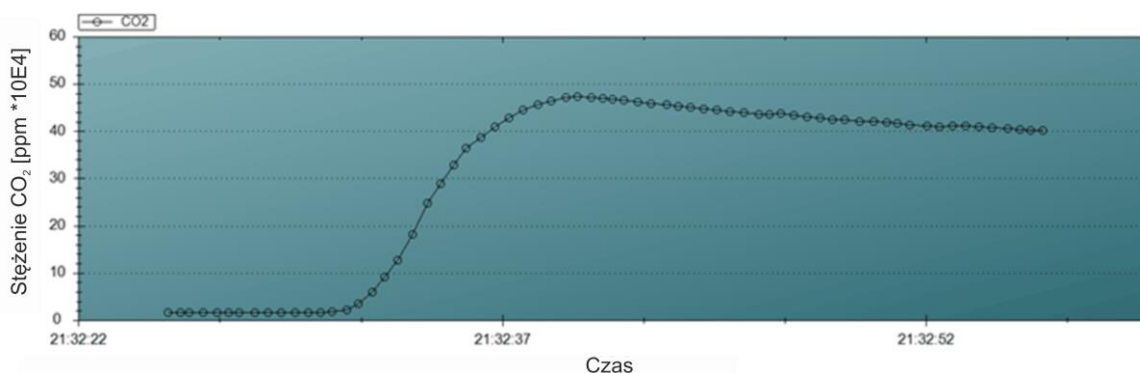
Na podstawie analizy przeprowadzonej w rozdziale 4.4.4 do badań wstępnych wytypowano cztery czujniki CO<sub>2</sub>, których parametry zestawiono w tab. 5.1.

Tab. 5.1. Parametry wytypowanych czujników CO<sub>2</sub>.

Czujnik CO <sub>2</sub>	Zakres pomiarowy stężenia CO <sub>2</sub>	Niepewność pomiaru stężenia	Czas gotowości po włączeniu	Rozdzielczość pomiaru stężenia CO <sub>2</sub>
SprintIR-WF-5	Od 0 do 5%	5% (25°C)	1,2s (typowo)	
EE871	Od 0 do 5%	1,5% pełnego zakresu + 2% mierzonej wartości		
C200	Od 0 do 20%	< 10% (> 5,0% CO <sub>2</sub> )	10s	0,013%
UT100C	Od 0 do 19,7%	< 5%		0,013%

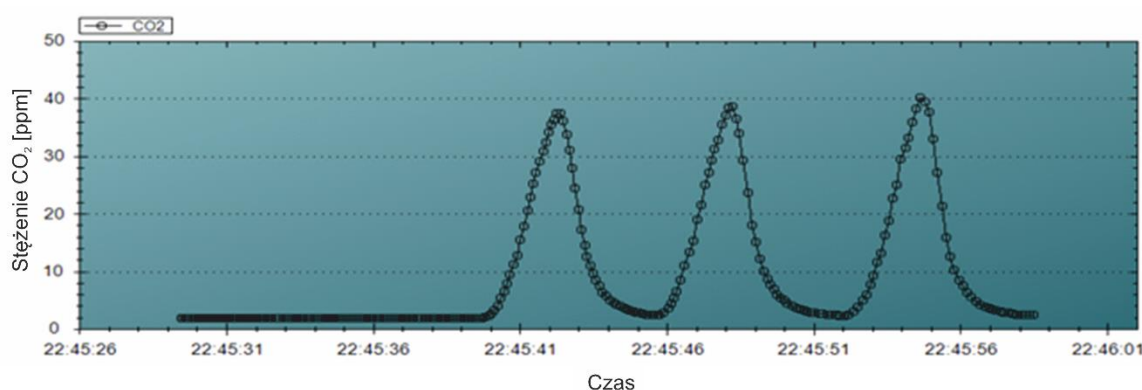
W pierwszym kroku zrealizowano 2-etapowe badania czujnika SPRINTIR-WF-5. Przeprowadzono test poprawności wskazań koncentracji CO<sub>2</sub> w powietrzu znajdującym się w pomieszczeniu laboratoryjnym. Był on wykonany w czasie 5 minut, przy ciśnieniu 998 mbar i temperaturze 23°C. Zmierzone stężenie CO<sub>2</sub> zmieniało się w granicach od ok. 1160 ppm do 1260 ppm. Wskazania te pokrywały się z typowym stężeniem CO<sub>2</sub> w powietrzu znajdującym się w budynku [218].

W drugim etapie, wyznaczono krzywą kapnograficzną oraz czas pomiaru stężenia CO<sub>2</sub>. Zarejestrowaną odpowiedź czujnika na pojedynczy wydech o czasie trwania ok. 4 sekund przedstawiono na rys. 5.13. Maksymalne stężenie ditlenku węgla wyniosło 4,8% co jest wartością typową w wydychanym powietrzu. Należy jednak zauważyć, że po zakończeniu badania, wskazywana przez czujnik wartość stężenia CO<sub>2</sub> nadal utrzymuje się na wysokim poziomie wynoszącym ok. 4%. Wynika to z faktu pozostawiania części gazu w czujniku. Konstrukcja systemu SPP musi więc umożliwić ciągły przepływ powietrza przez czujnik CO<sub>2</sub> w celu uniknięcia resztkowych ilości gazu.



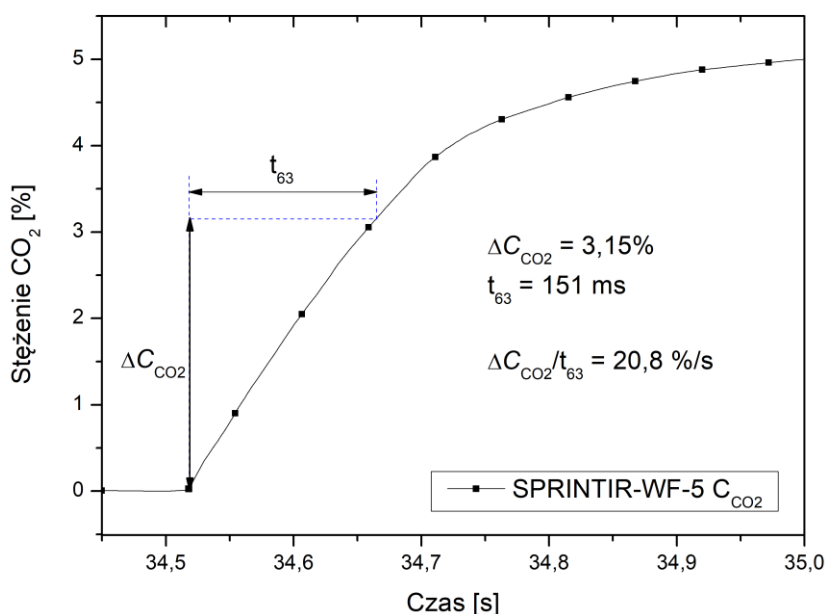
Rys. 5.13. Przykładowe wyniki stężenia CO<sub>2</sub> w wydychanym powietrzu z wykorzystaniem czujnika SPRINTIR-WF-5.

Powtórzono zatem badanie dla trzech pełnych cykli wydechu oraz wdechu, a zmianę wskazań stężenia ditlenku węgla przedstawiono na rys. 5.14.



Rys. 5.14. Przykładowe wyniki stężenia CO<sub>2</sub> za pomocą czujnika SPRINTIR-WF-5 w trzech kolejnych wydechach.

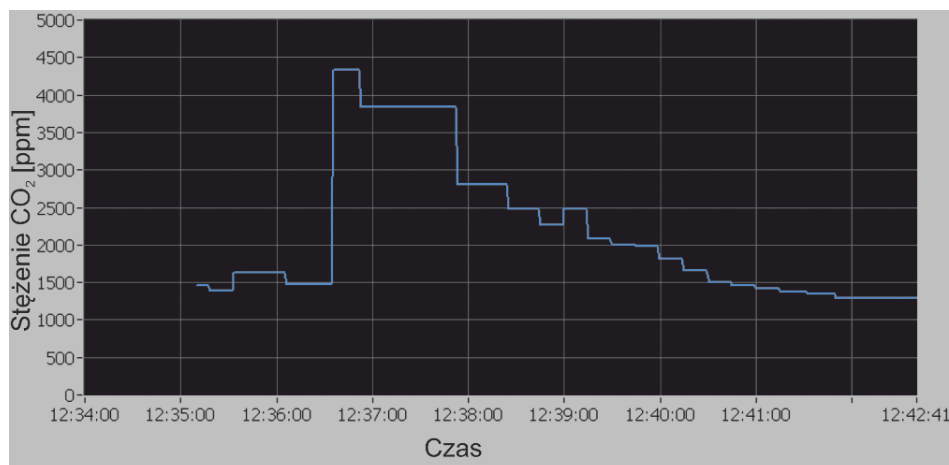
Uzyskanie rezultaty potwierdziły poprawną pracę czujnika CO<sub>2</sub>, gdy zapewnione jest wymuszenie przepływu gazu przez czujnik w trakcie pomiaru. W tym wypadku, wymuszenie to generowane jest przez pacjenta podczas realizacji cyklu wdechu i wydechu. Następnie przeprowadzono badania czasu pomiaru stężenia CO<sub>2</sub> za pomocą czujnika SPRINTIR-WF-5 przy skokowej zmianie stężenia CO<sub>2</sub>. Komorę czujnika połączono poprzez reduktor ciśnienia i elektrozawór do butli ze sprężonym powietrzem syntetycznym o stężeniu C<sub>CO2</sub> = 5%. Otwarcie zaworu generowało skokową zmianę stężenia w ciągu ok. 10 ms. Następnie zarejestrowano zmianę wskazań stężenia CO<sub>2</sub> za pomocą czujnika SPRINTIR-WF-5 oraz wyznaczono czas narastania odpowiedzi. Szybkość zmian stężenia CO<sub>2</sub> zarejestrowana za pomocą czujnika SPRINTIR-WF-5 wyniosła 20,8%/s a czas pomiaru t<sub>63</sub> = 151 ms. W tym czasie czujnik wykonał trzy pomiary stężenia CO<sub>2</sub> co oznacza, że czas odczytu wynosi 50 ms (rys. 5.15).



Rys. 5.15. Odpowiedź czujnika SPRINTIR-WF-5 na szybką zmianę stężenia CO<sub>2</sub>.

Drugim badanym czujnikiem ditlenku węgla był EE871. Dane pomiarowe były rejestrowane przez oprogramowanie producenta E+E Elektronik EE89\_Eval wersja 1.2. Po uruchomieniu, czujnik mierzył stężenie CO<sub>2</sub> w powietrzu laboratoryjnym w czasie 5 minut. Czujnik wskazał stężenie na poziomie ok. 900 ppm, co potwierdziło jego poprawną pracę.

Określono również czas pomiaru stężenia CO<sub>2</sub>, poprzez wygenerowanie skokowego wzrostu stężenia ditlenku węgla. Na rysunku 5.16 przedstawiono zarejestrowane zmiany wskazań tego czujnika w funkcji czasu.



Rys. 5.16. Przebieg stężenia CO<sub>2</sub> w powietrzu w funkcji czasu uzyskany za pomocą czujnika EE871.

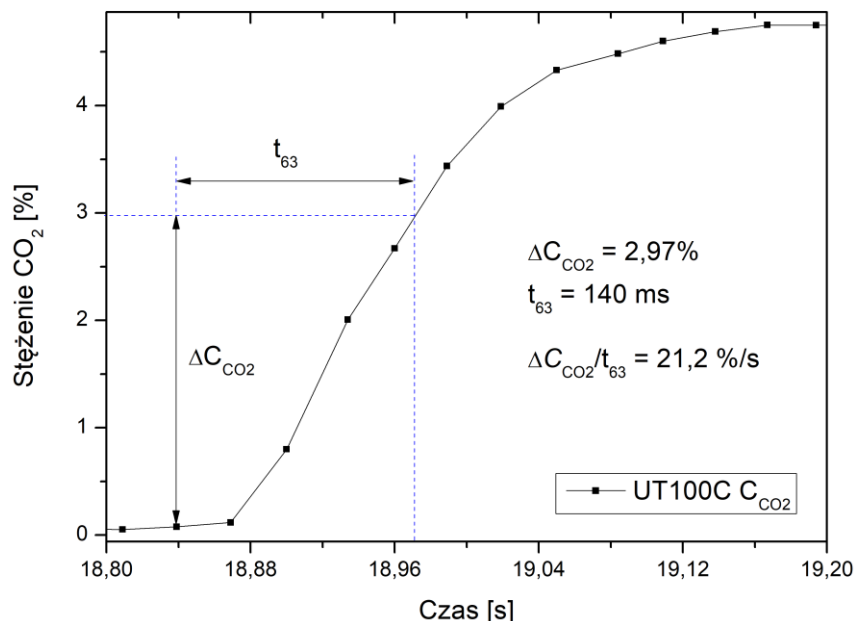
Przebieg zmian stężenia CO<sub>2</sub> w funkcji czasu charakteryzuje się schodkowymi zmianami wartości. Wynika to bezpośrednio z faktu, że czas wyznaczenia stężenia CO<sub>2</sub> za pomocą tego czujnika wynosi 15 sekund. Podobnie jak dla czujnika SPRINTIR-WF-5, konieczne jest zapewnienie przepływu powietrza przez czujnik. Podobnie jak w czujniku SPRINTIR-WF-5, niwzbędne jest zapewnienie przepływu powietrza, a wbudowany filtr cząstek stałych z PTFE służy do jego oczyszczenia.

W kolejnym etapie przeprowadzono badania czujnika ETCO<sub>2</sub> firmy Goldwei model C200 [219]. W tym wypadku analizowana próbka powietrza była zasysana za pomocą pompy o małej mocy. Odczyt danych był możliwy dzięki zastosowaniu dedykowanego oprogramowania CO<sub>2</sub> Wfa. Następnie przeprowadzono pomiary próbek wydychanego powietrza. Uzyskano maksymalne stężenie CO<sub>2</sub> w wydechu o wartości ok. 4%, która jest typowa dla zdrowego człowieka [220]. Częstotliwość pomiaru stężenia CO<sub>2</sub> wynosi 100 Hz, przy czasie odpowiedzi czujnika 200 ms.

Ostatnim badanym urządzeniem do zastosowania w systemie pobierania próbek był czujnik CO<sub>2</sub> typu UT100C. W tym wypadku również został określony czas pomiaru stężenia CO<sub>2</sub>. Szybkość zmian stężenia CO<sub>2</sub> zarejestrowana za pomocą tego czujnika wyniosła 21,2 %/s, a czas pomiaru  $t_{63} = 140$  ms. W tym czasie czujnik wykonał cztery pomiary temperatury, co oznacza czas odczytu 35 ms, (rys. 5.17).

Analiza danych katalogowych oraz przeprowadzone badania umożliwiły porównanie niepewności względnej i czasu pomiaru poszczególnych czujników (tab. 5.2).

Po przeprowadzeniu badań zdecydowano się na zastosowanie w SPP czujnika CO<sub>2</sub> typ UT100C. Zdecydowały o tym dwa parametry: najkrótszy czas pomiaru i najmniejsza niepewność względna pomiaru stężenia CO<sub>2</sub>.



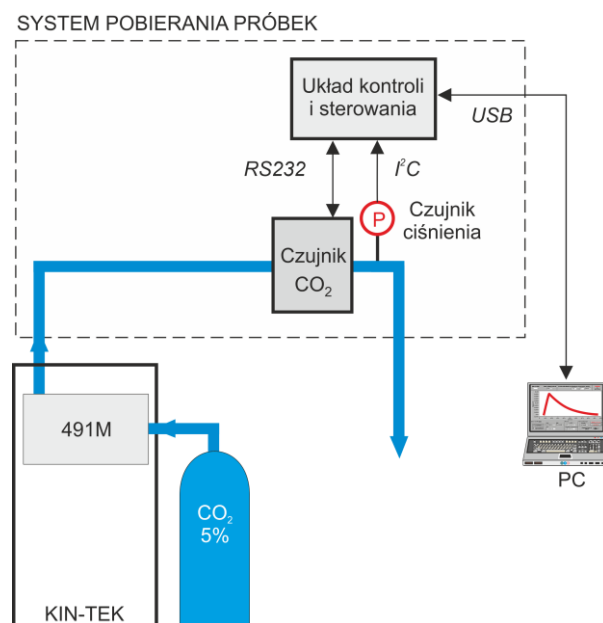
Rys. 5.17. Odpowiedź czujnika UT100C na szybką zmianę stężenia CO<sub>2</sub>.

Tab. 5.2. Porównanie kluczowych parametrów czujników CO<sub>2</sub> do SPP.

Model (producent)	Niepewność względna	Czas pomiaru
EE871 (E+E Elektronik)	5%	15s
SPRINTIR-WF-5 (GasSensingSolution)	5%	151 ms
C200 (GOLDWEI)	< 10%	200 ms
UT100C (UTECH)	< 5%	140 ms

#### 5.3.4. Wyznaczenie funkcji korekcji wskazań czujnika CO<sub>2</sub>

Badania wpływu ciśnienia i temperatury powietrza na wskazania czujnika CO<sub>2</sub> przeprowadzono na stanowisku, którego schemat przedstawiono na rys. 5.18.



Rys. 5.18. Stanowisko do badania wpływu ciśnienia i temperatury na pracę czujnika CO<sub>2</sub>.

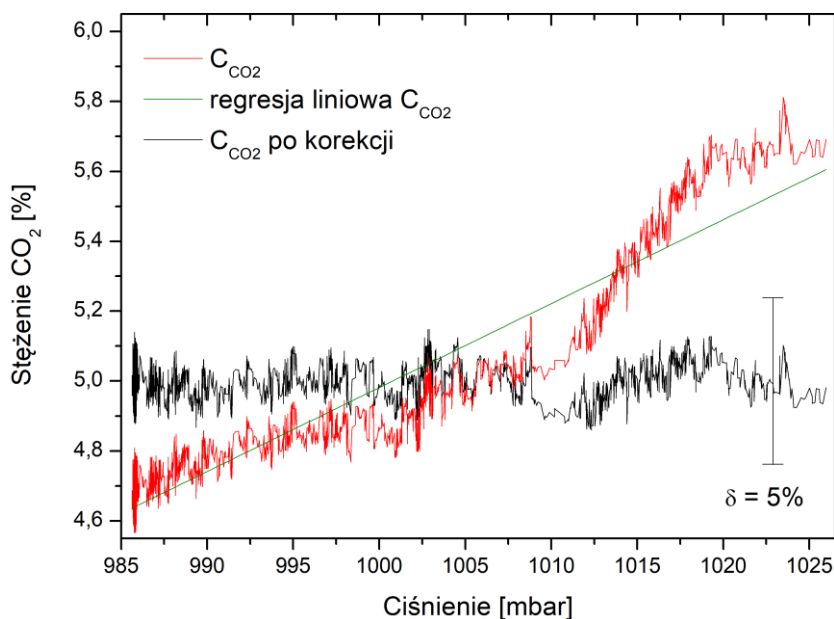


Generator gazu KIN-TEK był zasilany z butli suchym powietrzem syntetycznym o 5% zawartości CO<sub>2</sub>. W strumieniu powietrza przepływającym przez czujnik ciśnienia UT100C umieszczono czujnik temperatury BMP280. Zmianę ciśnienia, przy stałym przepływie powietrza wynoszącym 3 l/min, uzyskano w wyniku regulacji oporu przepływu powietrza. Zależność stężenia CO<sub>2</sub> przy zmianie ciśnienia w zakresie od 986 mbar do 1027 mbar przedstawiono na rys. 5.19. Z badań wynika, że wskazania czujnika CO<sub>2</sub> zależą od ciśnienia przepływającego powietrza. Dla niskich wartości ciśnień czujnik zaniżał, natomiast dla wyższych ciśnień zawyżał wskazania względem stężenia zadanego.

Niezbędne zatem było przeprowadzenie korekcji wskazań czujnika CO<sub>2</sub> uwzględniającej to zjawisko. Określona została funkcja korekcji opisana wzorem

$$C_{CO_2} = C_{SCO_2} \frac{208,2466}{P - 792,5177} \quad (5.2)$$

gdzie  $C_{CO_2}$  – stężenie CO<sub>2</sub> po korekcji [%],  $C_{SCO_2}$  – stężenie CO<sub>2</sub> zarejestrowane przez czujnik [%],  $P$  – ciśnienie powietrza wydychanego [mbar]. Dzięki uwzględnieniu tej funkcji uzyskano wskazania czujnika CO<sub>2</sub> mieszczące się w granicach niepewności deklarowanej przez producenta, tzn.  $\delta = 5\%$  dla rozpatrywanego zakresu zmian ciśnienia.



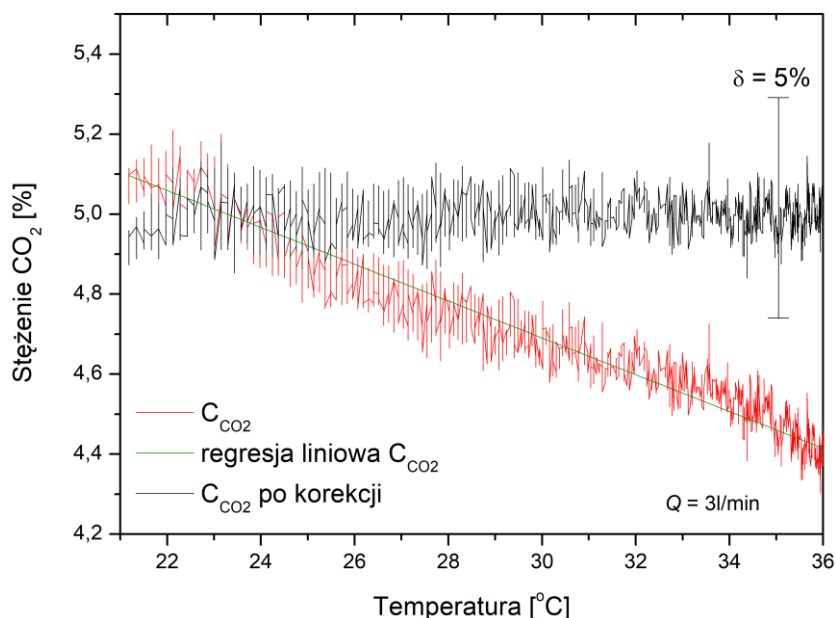
Rys. 5.19. Wynik badania wpływu ciśnienia na wskazania czujnika CO<sub>2</sub>.

Analogiczna procedura została przeprowadzona w wypadku badań wpływu temperatury na wskazania czujnika CO<sub>2</sub>. Do pomiaru temperatury zastosowano czujnik BMP280. Wyniki badań przedstawiono na rys.5.20.

Okazało się, że wraz ze wzrostem temperatury wskazania stężenia czujnika CO<sub>2</sub> malały z szybkością ok. 0,05%/°C. Dlatego wyznaczona została funkcja korekcji w postaci

$$C_{CO_2} = C_{SCO_2}(0,0102 \cdot T + 0,76212), \quad (5.3)$$

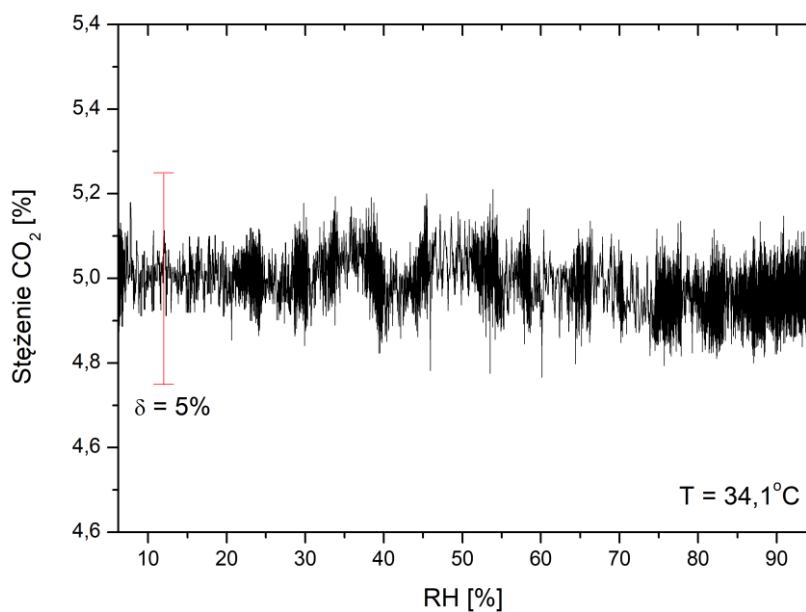
gdzie  $C_{CO_2}$  – stężenie  $CO_2$  po korekcji [%],  $C_{SCO_2}$  – stężenie  $CO_2$  zarejestrowane przez czujnik [%],  $T$  – temperatura powietrza wydychanego przez pacjenta [ $^{\circ}C$ ]. Dzięki uwzględnieniu tej funkcji udało się zminimalizować wpływ temperatury analizowanego powietrza na wskazania czujnika  $CO_2$  i zmniejszyć niepewność względną wskazań czujnika do  $\delta = 5\%$ .



Rys. 5.20. Wynik badań wpływu temperatury na wskazania czujnika  $CO_2$ .

Przy wilgotności względnej wydychanego powietrza bliskiej 100%, na elementach czujnika  $CO_2$  może pojawić się rosa. W efekcie mogą wystąpić przekłamania jego wskazań, a także niepoprawna praca czujników ciśnienia i wilgotności. W celu uniknięcia tego zjawiska należy utrzymywać wszystkie elementy mające kontakt z wydychanym powietrzem w temperaturze wyższej od temperatury z zakresu ok.  $33^{\circ}C \div 35,5^{\circ}C$  [199,221]. Dodatkowo przewidziano możliwość zastosowania układu osuszania powietrza. Realizowana była procedura polegająca na „przedmuchiowaniu” SPP suchym powietrzem, aż do spadku jego wilgotności poniżej 5% RH.

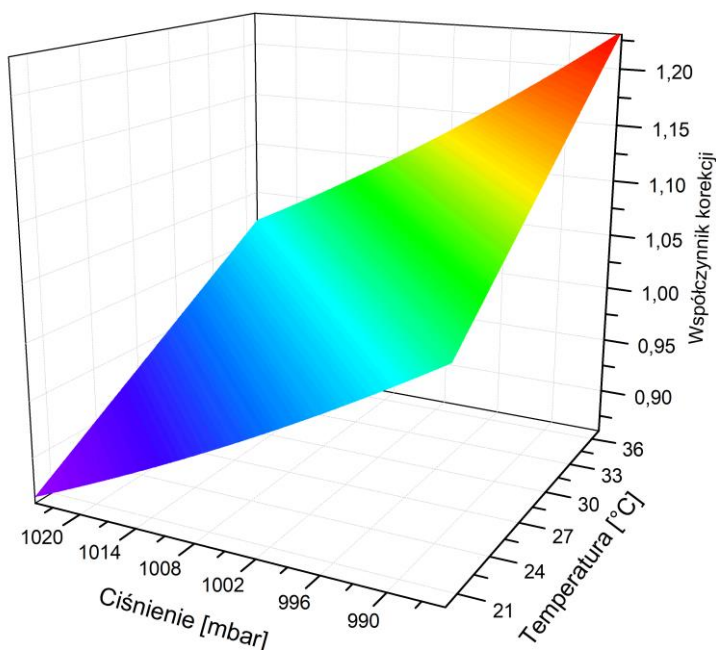
W ostatnim etapie przeprowadzono badania wpływu zawartości pary wodnej w próbce powietrza na wskazania czujnika  $CO_2$ . Zmiany wilgotności powietrza pozyskanego z butli o stałym stężeniu  $CO_2 = 5\%$  uzyskano w module nawilżającym 491HG. Badania przeprowadzono w zakresie od ok. 5% RH do 100% RH, utrzymując stałą wartość temperatury przepływającego powietrza wynoszącą  $34,1^{\circ}C$ . Wyniki tych badań przedstawiono na rys. 5.21.



Rys. 5.21. Wyniki badań wpływu wilgotności na wskazania stężenia czujnika CO<sub>2</sub>.

W mierzonym zakresie wilgotności powietrza, zmiana wskazań czujnika nie przekroczyła deklarowanej przez producenta niepewności wynoszącej  $\delta=5\%$ . Z przeprowadzonych badań wynika, że w tym wypadku nie jest wymagane wprowadzenie korekcji wskazań czujnika, a zatem uzyskane wyniki są zgodne z analizą teoretyczną, która została przedstawiona w rozdziale 4.4.3.

Na podstawie zaproponowanych funkcji korekcyjnych wskazań czujnika CO<sub>2</sub> (5.2) oraz (5.3) wyznaczona została charakterystyka pokazująca wpływ temperatury oraz ciśnienia na wartość współczynnika korekcji wskazań czujnika CO<sub>2</sub>, (rys. 5.22).



Rys. 5.22. Funkcja korekcji wskazań czujnika CO<sub>2</sub>.

## 5.4. Badanie układu separacji faz wydechu

Zaimplementowano korekcję wskazań czujnika CO<sub>2</sub> oraz algorytm wyznaczenia początku III fazy wydechu w układzie kontroli i sterowania. Następnie dokonano porównania objętości gromadzonych próbek powietrza.

### 5.4.1. Testy algorytmu wyznaczenia III fazy wydechu osób zdrowych

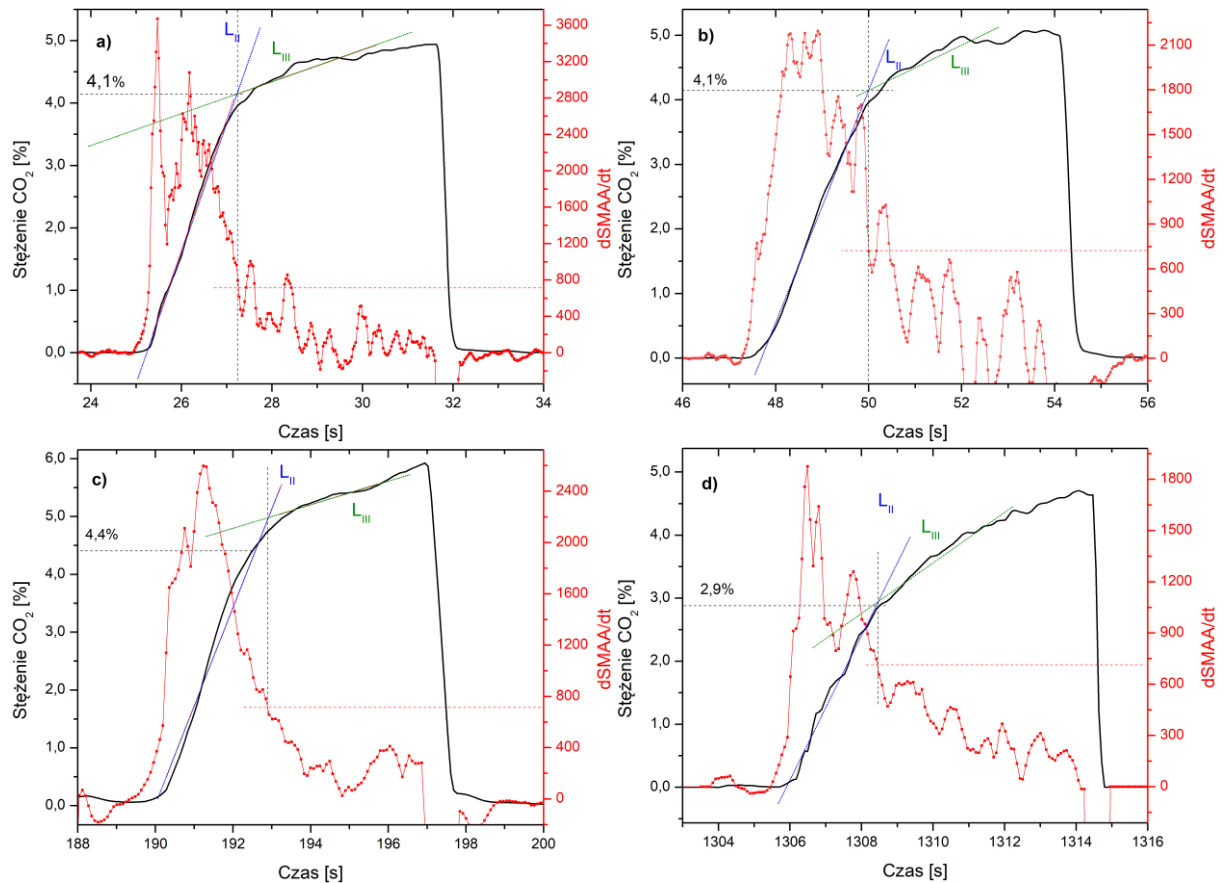
Testy układu przeprowadzono dla siedmiu zdrowych osób, których cechy zestawiono w tab. 5.3.

Tab. 5.3. Podstawowe cechy badanych osób na podstawie ankiety.

Płeć	Wiek (lat)	Masa (kg)	Wzrost (cm)
M	46	85	176
K	35	60	164
M	26	63	166
K	42	52	164
M	45	98	186
M	47	70	170
K	33	58	169

Grupa ochotników obojga płci charakteryzowała się zróżnicowanym wiekiem, wzrostem oraz masą. Żaden z ochotników nie miał zdiagnozowanych chorób układu oddechowego. Celem badania było eksperymentalne zgromadzenie przebiegów zmian CO<sub>2</sub> w wydychanym powietrzu. Z tego powodu ochotnicy dokonywali wydechów o różnych porach dnia, przed i po wysiłku, oraz przed i po posiłku. Z charakterystyk CO<sub>2</sub> uzyskanych na drodze eksperymentalnej wybrano charakterystyki z fluktuacjami stężenia CO<sub>2</sub> w trakcie trwania III fazy wydechu oraz o różnym czasie wydechu (rys. 5.23). Umożliwiło to przeprowadzenie analizy działania układu z czujnikiem CO<sub>2</sub>, w którym zastosowano korekcję, dla rzeczywistych próbek danych.

Pierwszy wykres (rysunek 5.23a), przedstawiający zmiany stężenia CO<sub>2</sub> w czasie, jest zbliżony kształtem do typowej krzywej kapnograficznej zdrowego człowieka. Charakteryzuje się stałym nachyleniem II fazy oraz wyraźnym plateau III fazy. Na rysunku 5.23b przedstawiono krzywą kapnograficzną, w której III faza wydechu charakteryzuje się znacznymi fluktuacjami sygnału. Może zatem pojawić się ryzyko, że zmiany te spowodują błędną interpretację przekroczenia progu metodą  $dSMAA/dt$  określającego początek III fazy wydechu. Na rysunku 5.23c przedstawiono krzywą kapnograficzną bez fluktuacji sygnału, ale charakteryzującą się gwałtownym zwiększeniem stężenia CO<sub>2</sub> pod koniec wydechu. Wybór tej krzywej podyktowany był koniecznością weryfikacji, jak metoda  $dSMAA/dt$  wyznaczy początek III fazy wydechu przy pojawieniu się „podbicia” stężenia CO<sub>2</sub> w czasie końca III fazy.



Rys. 5.23. Przykłady zarejestrowanych krzywych kapnograficznych: a) przebieg normalny, b) fluktuacje III fazy, c) „podbicie” III fazy, d) „shark fin”.

Ostatni przypadek dotyczy krzywej kapnograficznej przypominającej kształtem płetwę rekina („shark fin”, rys. 5.23d). W tym wypadku zmiany stężenia CO<sub>2</sub> są nieznaczne, z bardzo łagodnym przejściem II do III fazy i jednocześnie bez wyraźnego plateau III fazy. Ze względu na brak charakterystycznej granicy faz, stosunkowo trudne może być wyznaczenie początku III fazy. Dla każdej z wybranych krzywych kapnograficznych wyznaczono początek III fazy wydechu metodą regresji liniowej prostych L<sub>II</sub> i L<sub>III</sub>.

Dla każdej z wybranych krzywych kapnograficznych, początek III fazy wydechu wyznaczony został również z wykorzystaniem metody  $dSMAA/dt$ . Początek III fazy wydechu został wyznaczony zarówno dla typowej charakterystyki zmian stężenia CO<sub>2</sub>, jak i dla charakterystyk w różnych sposób zniekształconych. Dodatkowo, punkt ten pokrywa się z punktem wyznaczonym metodą regresji liniowej prostych L<sub>II</sub> i L<sub>III</sub>. Na tej podstawie można stwierdzić, iż metoda  $dSMAA/dt$  umożliwia wyznaczenie początku frakcji pęcherzykowej niezależnie od kształtu charakterystyki stężenia CO<sub>2</sub> w wydychanym powietrzu.

#### 5.4.2. Testy algorytmu wyznaczania III fazy wydechu osób chorych

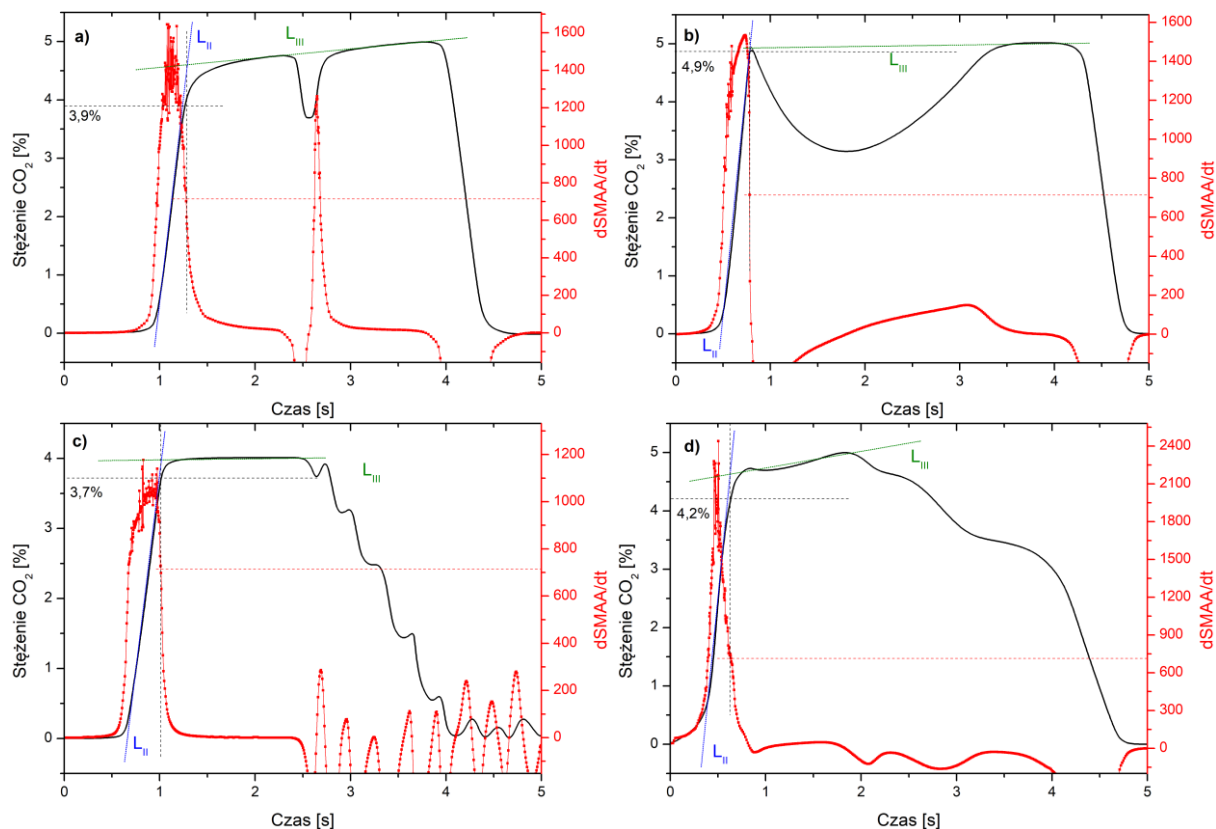
W analogiczny sposób dokonano weryfikacji działania algorytmu wyznaczania III fazy wydechu u osób chorych. Przebiegi zmian stężenia wydychanego CO<sub>2</sub> u osób z chorobami

układu oddechowego mogą odbiegać pod względem kształtu od typowych krzywych kapnograficznych pacjentów zdrowych. Zatem istotne jest, aby opracowany algorytm umożliwiał precyzyjne wyznaczenie początku fazy pęcherzykowej również w wypadku osób chorych.

Do badań algorytmu zastosowano wyniki pomiarów stężenia CO<sub>2</sub> w próbkach wydychanego powietrza uzyskanych od chorych m.in. na wiotczenie mięśni (ang. „*curare cleft*”), kyphoskoliozę, odmę opłucną oraz problemy kardiologiczne. Dane te uzyskano z publikacji naukowych [222–225] za pomocą procedury digitalizacji z wykorzystaniem oprogramowania WebPlotDigitizer, przy założeniu, że czas wydechu wynosi 5s [226]. Analizowane schorzenia wybrano ze względu na nietypowe kształty krzywych kapnograficznych. Wiotczenie mięśni płuc objawia się charakterystycznym silnym spadkiem na wykresie stężenia CO<sub>2</sub> w czasie trwania III fazy. Może ono również wpłynąć na analizę danych z czujnika z wykorzystaniem metody  $dSMAA/dt$ . Podobny spadek jest zauważalny w przypadku kyphoskoliozy. Jednakże w tym wypadku spadek stężenia CO<sub>2</sub> w wydechu pojawia się tuż po zakończeniu II fazy i może trwać przez większość czasu trwania III fazy. Oscylacje kardiologiczne mogą powodować charakterystyczne zmiany stężenia CO<sub>2</sub> w wydechu w obrębie III fazy oraz łagodny jej koniec. W przypadku odmy opłucnej można się spodziewać krótkiego czasu trwania III fazy oraz powolnego spadku stężenia CO<sub>2</sub> w wydechu.

Otrzymane w ten sposób dane zostały poddane analizie z zastosowaniem metody  $dSMAA/dt$ . Dla każdej z wybranych krzywych kapnograficznych wyznaczono początek III fazy wydechu metodą regresji liniowej prostych  $L_{II}$  i  $L_{III}$ . Następnie początek III fazy wyznaczony został z wykorzystaniem metody  $dSMAA/dt$  (rys. 5.24).

Określono również wartość stężenia CO<sub>2</sub> w początku fazy pęcherzykowej. W analizowanych przypadkach wartość ta nie jest stała i zmieniała się w zakresie od 3,7% do 4,9%. Wskazuje to na potencjalną przewagę nad metodami, w których progowa wartość stężenia CO<sub>2</sub> w wydechu, oznaczająca początek III fazy jest przyjęta jako wartość stała. Istnieje wówczas ryzyko mieszania się powietrza z II i III fazy, skutkujące zmniejszeniem stężenia biomarkera w zgromadzonej próbce wydechu.



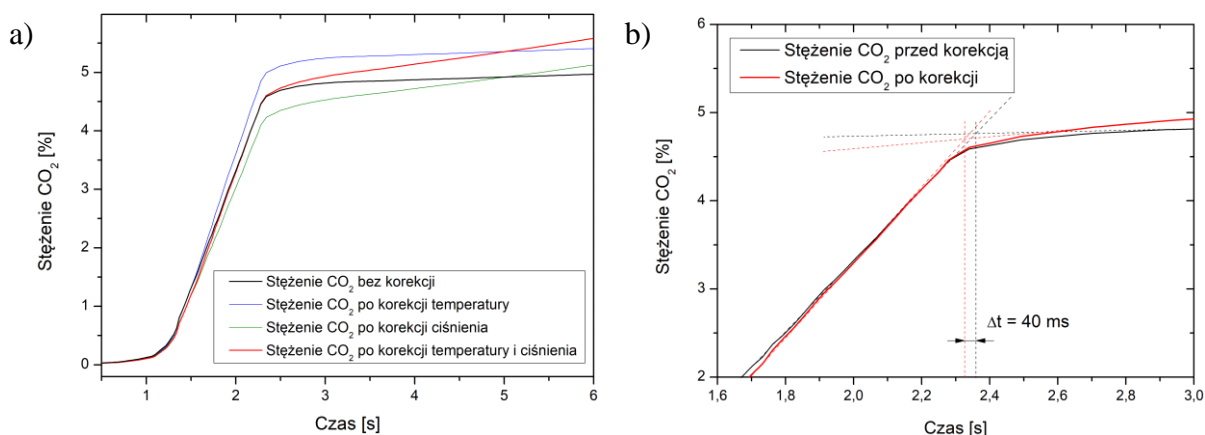
**Rys. 5.24.** Wynik działania algorytmu  $dSMAA/dt$  dla różnych krzywych kapnograficznych pozyskanych z literatury: a) wiotczenie mięśni płuc, b) kyphoskolioza, c) oscylacje kardiologiczne, d) odma opłucnej.

### 5.4.3. Badania objętości frakcji pęcherzykowej gromadzonych przez SPP

Celem badań było wyznaczenie zmian objętości fazy pęcherzykowej, z wykorzystaniem metody  $dSMAA/dt$ , przed oraz po korekcji wskazań czujnika  $CO_2$ . Przeprowadzono analizę wpływu korekcji ciśnienia i temperatury na kształt krzywych kapnograficznych (rys. 5.25). Zaobserwowano, że ze względu na stosunkowo małe zmiany temperatury wydechu zwiększenie wskazań czujnika  $CO_2$  jest praktycznie stałe podczas trwania całego wydechu. Wynika to z faktu, że stopniowe zmniejszanie się ciśnienia wydechu, będące naturalnym zjawiskiem [227], powoduje proporcjonalne zwiększenie wskazań czujnika  $CO_2$  w trakcie trwania wydechu (rys. 5.8), ponieważ zwiększa się kąt nachylenia II i III fazy. Wówczas początek III fazy zostaje wyznaczony wcześniej, co w efekcie zwiększa się objętość zgromadzonej w SPP fazy pęcherzykowej.

Do badań wytypowano dwóch pacjentów. Pierwszy z nich miał dużą wydajność płuc i był w stanie wykonać długi wydech (powyżej ok. 5 sekund). Możliwe zatem było zgromadzenie w krótkim przedziale czasu, wymaganej przez analizator, objętości próbki powietrza III fazy. Wydechy te określono jako „długie”. Drugi przypadek dotyczył pacjenta o ograniczonej wydajności płuc, który nie był w stanie wykonać tak długiego wydechu.

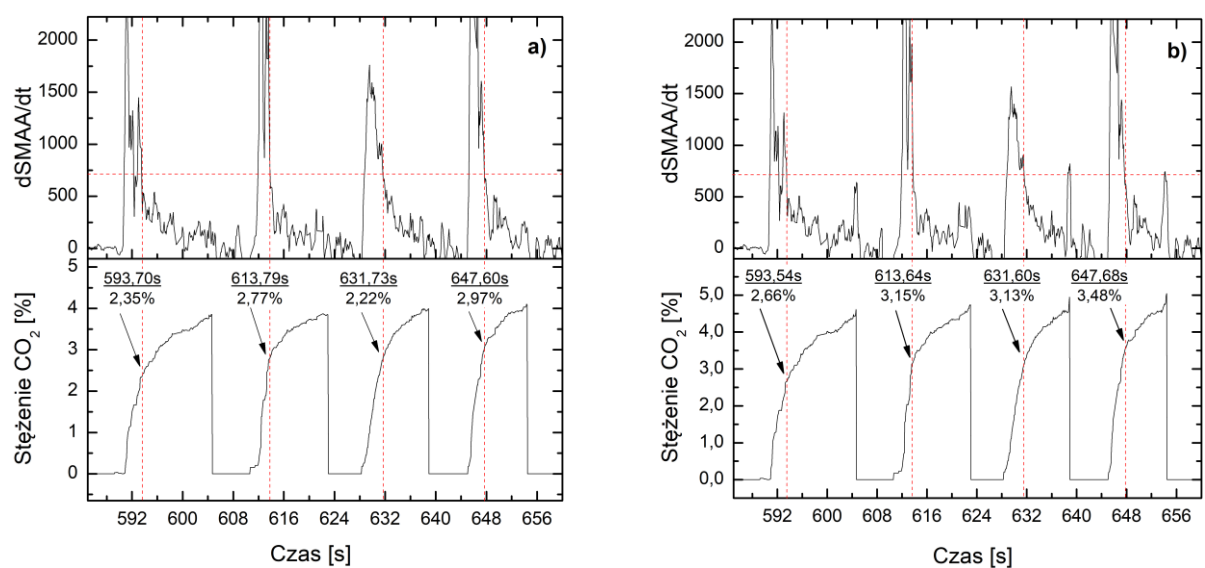
Wydechy te określono jako „krótkie”, trwające 2 ÷ 3 sekundy. Każdy z pacjentów wykonał cztery kolejne wydechy do SPP. Wyznaczone zostały czasy trwania wydechów, czasy wykrycia początku III fazy, stężenie CO<sub>2</sub> początku III fazy oraz zgromadzone objętości.



**Rys. 5.25. Przykładowe wyniki badań: a) wpływu temperatury i ciśnienia na korekcję wskazań czujnika CO<sub>2</sub>, b) zmiana czasu wyznaczenia początku III fazy po wprowadzeniu korekcji.**

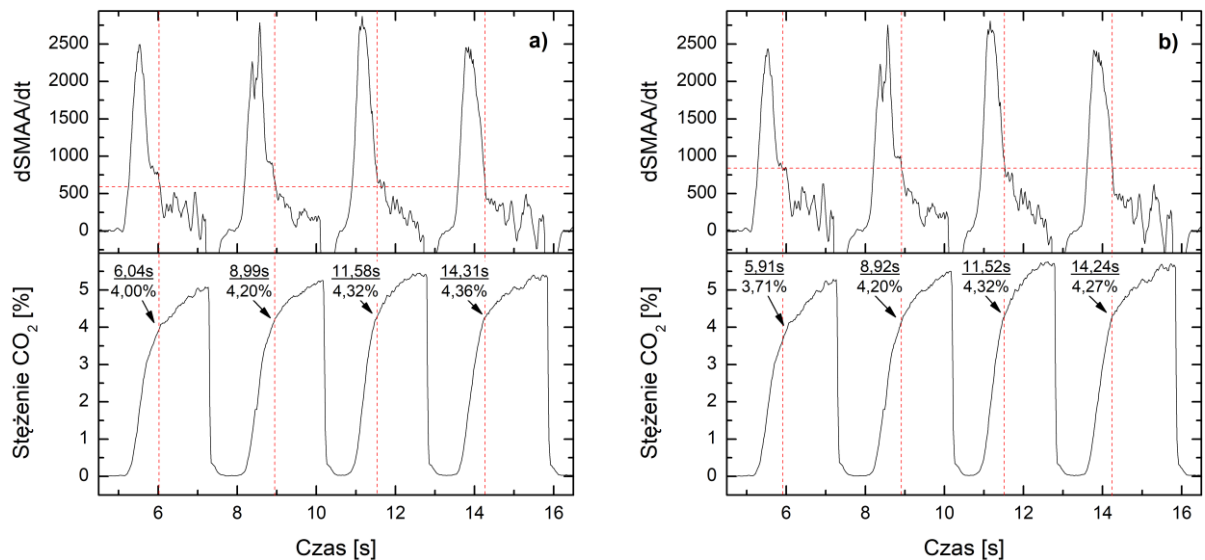
W przypadku pierwszego pacjenta maksymalne stężenie CO<sub>2</sub> w wydychanym powietrzu wynosiło 4,1%. Początek III fazy wydechu został wyznaczony przy stężeniu CO<sub>2</sub> 2,22% ÷ 2,97% (rys. 5.26a). W przypadku pacjenta o ograniczonej wydolności płuc maksymalne stężenie CO<sub>2</sub> w wydychanym powietrzu wynosiło 5,2%, zaś początek III fazy wydechu został wyznaczony przy stężeniach CO<sub>2</sub> z zakresu od 4,00% do 4,36% (rys. 5.27a).

Po wprowadzeniu korekty wskazań czujnika, w przypadku pierwszego pacjenta początek III fazy wydechu został wyznaczony przy stężeniu CO<sub>2</sub> z zakresu od 2,66% do 3,48% (rys. 5.26b), w przypadku drugiego pacjenta początek III fazy wydechu został wyznaczony przy stężeniu CO<sub>2</sub> 3,71% ÷ 4,32% (rys. 5.27b).



**Rys. 5.26. Wskazania czujnika CO<sub>2</sub> przed (a) oraz po (b) wprowadzeniu funkcji korekcyjnych wskazań dla czterech przykładowych „długich” wydechów.**

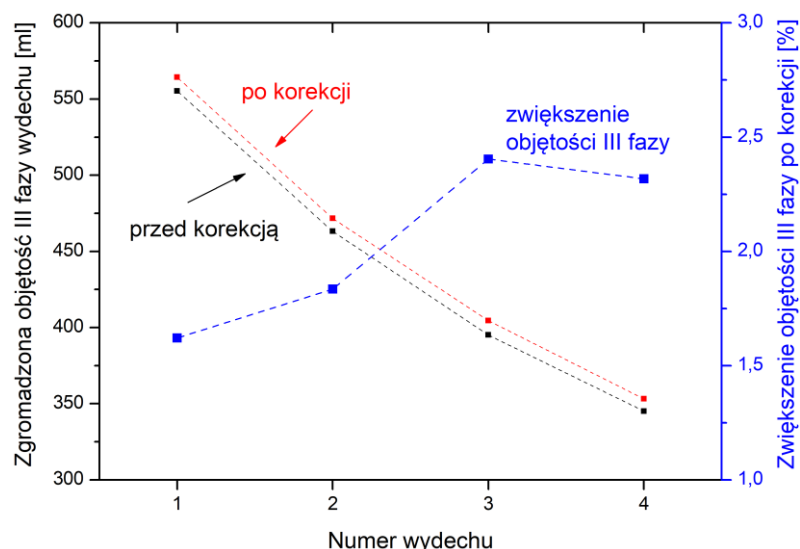




Rys. 5.27. Wskazania czujnika CO<sub>2</sub> przed (a) oraz po (b) wprowadzeniu funkcji korekcyjnych wskazań dla czterech przykładowych „krótkich” wydechów.

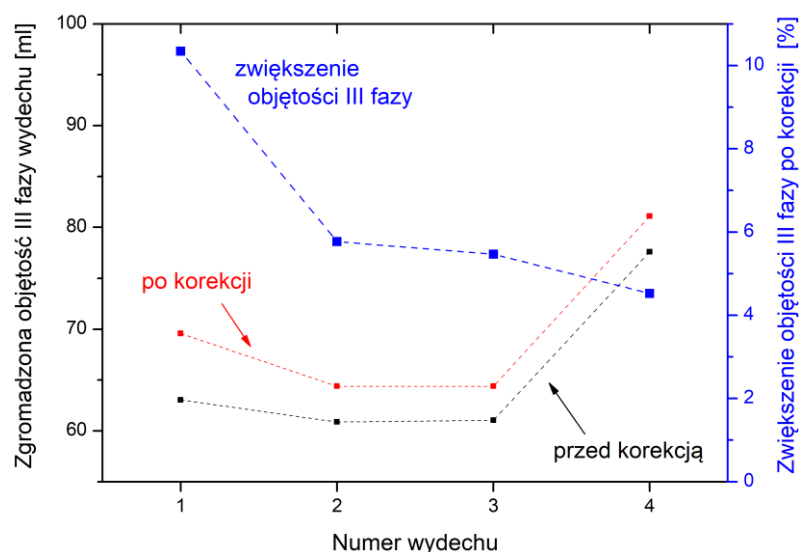
Ponadto, po wprowadzeniu korekty wskazań czujnika, początek III fazy został wyznaczony o 130 ms ÷ 170 ms wcześniej dla wydechów „długich” i o 60 ÷ 130 ms wcześniej dla wydechów „krótkich”. Potwierdza to, że korekta wskazań czujnika CO<sub>2</sub>, w celu minimalizacji wpływu ciśnienia i temperatury, zwiększa objętość zgromadzonej fazy pęcherzykowej. W przypadku pacjenta o dużej wydolności płuc wystarczy więc kilka (ok. 3 ÷ 4) wydechów do SPP, aby napełnić worek tedlarowy o objętości 1,2 litra. Dla pacjenta o mniejszej wydolności płuc do zebrania wymaganej objętości III fazy wymagane będzie wykonanie ok. 15 ÷ 19 wydechów.

Przeprowadzono analizę zmian objętości zgromadzonej próbki III fazy wydechu. Objętość ta określona jest jako iloczyn czasu trwania III fazy wydechu oraz przepływu wydychanego powietrza. Dla „długich” wydechów objętość ta wynosiła od 350 ml do 560 ml, natomiast dla wydechów „krótkich” od 64 ml do 81 ml. Dla wydechów „długich” po wprowadzeniu korekty wskazań czujnika CO<sub>2</sub> objętość zgromadzonej III fazy wydechu zwiększyła się względnie o ok. 1,6÷2,4% (rys. 5.28).



Rys. 5.28. Wykres zmian zgromadzonej objętości próbki III fazy wydechu przed i po korekcji wskaźników czujnika CO<sub>2</sub> dla „długich” wydechów.

Natomiast dla wydechów „krótkich” objętość zgromadzonej III fazy wydechu zwiększyła się względnie o ok. od 4,5 do 10,5% (rys. 5.29).



Rys. 5.29. Wykres zmian zgromadzonej objętości próbki III fazy wydechu przed i po korekcji wskaźników czujnika CO<sub>2</sub> dla „krótkich” wydechów.

Postanowiono także odpowiedzieć na pytanie jak zmienia się stężenie CO<sub>2</sub> w wydzielonej III fazie wydechu w stosunku do stężenia CO<sub>2</sub> w próbce wydechu bez separacji faz. Tego typu analiza umożliwi określenie przewidywanego wzrostu stężenia biomarkera po wprowadzeniu w SPP separacji faz z wykorzystaniem metody  $dSMAA/dt$ . Dla „krótkich” wydechów średnie stężenie CO<sub>2</sub> w III fazie wydechu wyznaczono jako

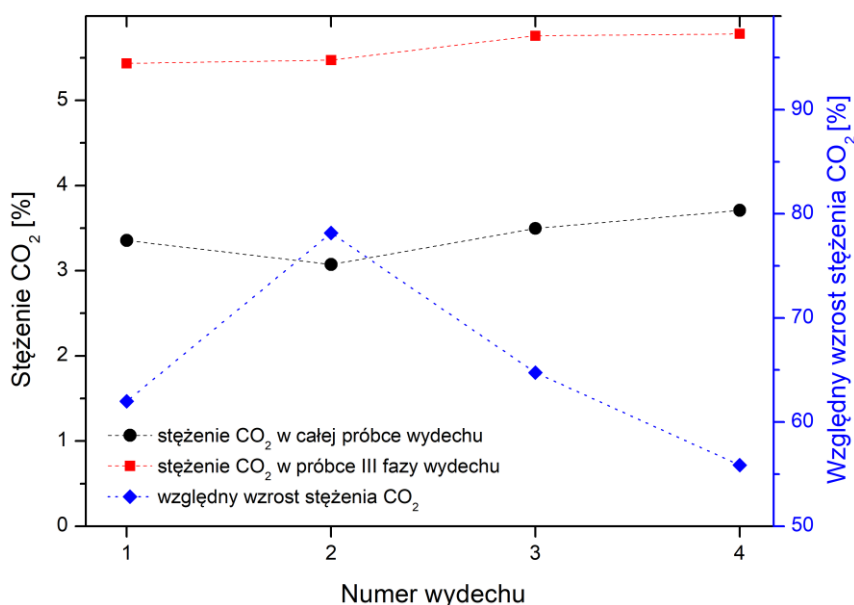
$$C_{CO_2(III)} = \frac{1}{t_{stop} - t_{start(III)}} \int_{t_{start(III)}}^{t_{stop}} C_{CO_2}(t) dt \quad (5.3)$$

gdzie  $t_{start(III)}$  oznacza początek III fazy wydechu,  $t_{stop}$  koniec wydechu. Analogicznie, średnie stężenie  $CO_2$  w całej próbce wydechu zostało wyznaczone jako:

$$C_{CO_2(I-IV)} = \frac{1}{t_{stop} - t_{start(I)}} \int_{t_{start(I)}}^{t_{stop}} C_{CO_2}(t) dt \quad (5.4)$$

gdzie  $t_{start(I)}$  oznacza początek I fazy wydechu,  $t_{stop}$  koniec wydechu.

Dla wybranych krzywych kapnograficznych otrzymanych z wykorzystaniem SPP określono początek wydechu oraz początek III fazy wydechu z wykorzystaniem metody  $dSMM/dt$ . Na podstawie zależności (5.3) i (5.4) możliwe było wyznaczenie stężenia  $C_{CO_2(III)}$  i  $C_{CO_2(I-IV)}$  dla każdego wydechu oraz względnego wzrostu stężenia  $CO_2$  frakcji pęcherzykowej (rys. 5.30).



**Rys. 5.30.** Wykres stężenia  $CO_2$  w całej próbce wydechu i w wydzielonej III fazie oraz względny wzrost stężenia  $CO_2$ .

Gromadząc powietrze bez separacji faz wydechu średnie stężenie  $CO_2$  w zgromadzonej próbce wynosi ok. 3,5%. Po przeprowadzeniu separacji III fazy wydechu w próbce udaje się zgromadzić ponad 5,5%  $CO_2$ . Dla poszczególnych analizowanych wydechów oznacza to zwiększenie stężenia  $CO_2$  o ok. 55 ÷ 78%. Należy więc spodziewać się również zwiększenia koncentracji  $NO$  po wprowadzeniu do SPP metody separacji faz wydechu z wykorzystaniem metody  $dSMAA/dt$ .

## 5.5. Podsumowanie

Badania kluczowych elementów systemu pobierania próbek, miały na celu weryfikację poprawności działania układu dystrybucji powietrza, układu pomiaru parametrów próbki i układu separacji faz wydechu.

W ramach badań układu dystrybucji powietrza przeprowadzono analizę działania wytypowanego czujnika ciśnienia BMP280. Niepewność pomiaru ciśnienia nie przekroczyła niepewności czujnika referencyjnego zastosowanego w generatorze gazów wzorcowych KINTEK  $\delta = 1\%$ . Z wykorzystaniem komory termostatowanej UF30 zbadano wpływ temperatury od  $20^{\circ}\text{C}$  do  $41^{\circ}\text{C}$  na wskazania czujnika ciśnienia. Wykazano, że zmiany temperatury w tym zakresie wpływają na zmiany wartości wskazań badanego czujnika ciśnienia, ale nie przekraczają niepewności wskazań czujnika BMP280  $\delta = 1\%$ . Przeprowadzona została analiza czasu pomiaru ciśnienia badanego czujnika, który wyniósł  $t_{63} = 142$  ms. Przeprowadzone badania potwierdziły możliwość zastosowania czujnika BMP280 do konstrukcji układu dystrybucji powietrza.

Przeprowadzono weryfikację zaproponowanej metody wyznaczenia przepływu z wykorzystaniem pomiaru różnicy ciśnień. W układzie eksperymentalnym wyznaczono współczynnik konstrukcyjny  $B = 0,1738$ , dzięki któremu możliwe było określenie przepływu powietrza wydychanego przez człowieka w SPP z niepewnością względną pomiaru przepływu  $\delta = 1,9\%$ .

Dokonano weryfikacji zgodności działania systemu SPP z wymaganiami ATS/ERS w zakresie zapewnienia bezpiecznych dla pacjenta poziomów ciśnień oraz przepływu wydychanego powietrza, zapewniającego selektywne pobranie próbki powietrza z dolnych dróg oddechowych. Dokonano weryfikacji procedury swobodnego wdechu i wydechu. Badania wykazały, że ciśnienie w układzie dystrybucji powietrza oraz w układzie monitorowania parametrów wydychanego powietrza nie przekracza 20 mbar powyżej ciśnienia atmosferycznego, co jest zgodne z wymaganiami ATS/ERS. Konstrukcja SPP zapewnia również odpowiedni opór podczas wydechu, dzięki któremu ciśnienie jest większe o 5 mbar od ciśnienia atmosferycznego. Jest to niezbędne do zamknięcia gardła przez podniebienie miękkie dla uniknięcia mieszania się powietrza z płuc i z zatoki nosowej. Dzięki temu zapewniono przepływ powietrza wydychanego przez pacjenta zgodnie z wytycznymi ATS/ERS.

W ramach badania układu monitorowania parametrów wydychanego powietrza przeprowadzono weryfikację działania wytypowanych modeli czujników temperatury, wilgotności i  $\text{CO}_2$ . Wyznaczenie niepewności pomiaru temperatury przeprowadzono

w zakresie od 20°C do 36°C i stwierdzono, że w całym określonym zakresie pomiarowym niepewność względna czujnika temperatury BMP280 nie przekroczyła wartości 1%. Przeprowadzone zostały badania czasu pomiaru temperatury, który wyniósł 1,27 s. Konieczne było zatem opracowanie procedury wyznaczania temperatury wydychanego powietrza rozpoczynającej się już w trybie „IDLE”. Pozwoliło to zminimalizować niepewność wyznaczania początku III fazy wydechu oraz pobranie możliwie największej objętości frakcji pęcherzykowej powietrza.

W kolejnym etapie przeprowadzono badania czujnika wilgotności, porównując jego wskazania z przyrządem referencyjnym typu 491M-HG firmy KIN-TEK. Badania wykazały, że konieczne jest wyznaczenie funkcji, która umożliwi korektę wskazań czujnika SHT21. Wyznaczenie i implementacja funkcji korekcji zapewniły pomiary z niepewnością nie przekraczającą 5%.

Następnie, przeprowadzono badania czterech wyselekcjonowanych modeli czujników CO<sub>2</sub>: SPRINTIR-WF-5, EE871, C200 i czujnika CO<sub>2</sub> typu UT100C. Rejestrowano zmiany wskazań czujników w funkcji czasu, celem wyznaczenia krzywych kapnograficznych oraz wyznaczono czas pomiaru stężenia CO<sub>2</sub> w przepływającym powietrzu. Z przebadanych czujników zdecydowano się zastosować czujnik UT100C, ze względu na najmniejszą niepewność względną pomiaru oraz najkrótszy czasu odczytu. Ponadto dowiedziono, że wskazania czujnika CO<sub>2</sub> zależą od ciśnienia i temperatury przepływającego powietrza, co potwierdziło konieczność wprowadzenia korekcji. Natomiast zmiana względnej wilgotności powietrza od ok. 5% do 100% powodowała zmiany w dopuszczalnym zakresie. Opracowano funkcję korekcji niezależną od ciśnienia i temperatury próbki, co pozwoliło zmniejszyć niepewność względną wskazań czujnika CO<sub>2</sub> do 5%. Algorytm wyznaczenia początku III fazy wydechu zaimplementowano w układzie kontroli i sterowania.

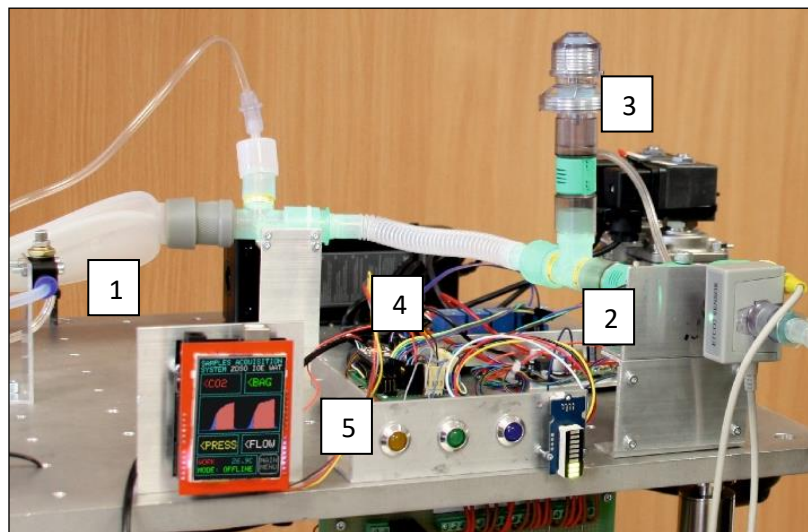
Na podstawie zmierzonych charakterystyk CO<sub>2</sub> oraz z danych literaturowych wybrano krzywe kapnograficzne charakterystyczne dla wybranych chorób układu oddechowego. W ten sposób dokonano weryfikacji metody  $dSMAA/dt$  wyznaczania początku III fazy wydechu dla różnych krzywych kapnograficznych. We wszystkich przypadkach udało się prawidłowo wyznaczyć początek III fazy wydechu z dokładnością do 20 ms. Wykazano, iż algorytm został opracowany poprawnie i niezależnie od kształtu charakterystyki stężenia CO<sub>2</sub> w wydechu człowieka, prawidłowo wykrywa początek III fazy wydechu. Następnie wyznaczono zmiany objętości fazy pęcherzykowej przed oraz po korekcji wskazań czujnika CO<sub>2</sub>. W zależności od długości wydechu pacjenta objętość zgromadzonej III fazy wydechu zwiększyła się od 1,6% do 10,5%. Wykazano także, że średnie stężenie CO<sub>2</sub> w III fazie wydechu jest większe

o 55 ÷ 78% w stosunku do stężenia w całej pobranej próbce wydechu. Należy więc spodziewać się tego rzędu zwiększenia stężenia NO po zaimplementowaniu w SPP metody separacji faz wydechu z wykorzystaniem metody  $dSMAA/dt$  oraz korekcji czujnika CO<sub>2</sub>.

## Badania systemu pobierania próbek

### 6.1. Wstęp

Po przeprowadzeniu analizy możliwości weryfikacji postawionej tezy wytypowano wszystkie kluczowe elementy niezbędne do opracowania SPP, dokonano korekcji wskazań czujnika CO<sub>2</sub> uwzględniającej wskazania ciśnienia i temperatury wydychanego powietrza oraz zaproponowano metodę wyznaczania początku III fazy wydechu. Pozwoliło to na opracowanie modelu laboratoryjnego SPP w celu przeprowadzenia badań weryfikacyjnych działania poszczególnych jego komponentów i parametrów, w tym algorytmu pobierania próbek wydychanego powietrza oraz metody wyznaczania III fazy wydechu. Czujnik CO<sub>2</sub> oraz czujniki ciśnienia, wilgotności i temperatury podłączone zostały do układu kontroli i sterowania, skąd dane pomiarowe przesyłane były z wykorzystaniem interfejsu USB do komputera. Układ wizualizacji z ekranem LCD zapewnia zobrazowanie krzywych kapnograficznych oraz parametrów pracy urządzenia (rys. 6.1).



Rys. 6.1. Fotografia SPP (1 - układ dystrybucji powietrza, 2 - układ monitorowania parametrów wydychanego powietrza, 3 - układ separacji faz wydechu, 4 - układ kontroli i sterowania, 5 - układ wizualizacji).

W rozdziale przedstawiono wyniki badań przeprowadzonych w warunkach laboratoryjnych z użyciem próbek powietrza wydychanego przez zdrowe osoby, badania porównawcze SPP z urządzeniem komercyjnym oraz badania osób chorych w warunkach klinicznych.

## 6.2. Badania algorytmu separacji faz wydechu

Badania zostały przeprowadzone w Katedrze Chemii Środowiska i Bioanalitiky Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu w ramach współpracy z Panem prof. dr hab. Bogusławem Buszewskim i Panem dr hab. Tomaszem Ligorem. Obejmowały one m.in. pomiary składu chemicznego próbek powietrza gromadzonych przez SPP w różnych fazach wydechów oraz porównanie uzyskanych rezultatów z wynikami badań urządzenia BreathSampler opracowanego w Medical University of Innsbruck, Austria.

Badania zostały przeprowadzone z wykorzystaniem chromatografu gazowego (GC) model 7890A firmy Agilent sprzężonego z ze spektrometrem masowym (MS) TruTOF firmy Leco [228]. Próbkę wydechu były gromadzone w workach tedlarowych, do których następnie wprowadzono igłę z adsorberem (sito molekularne Carboxen/PDMS). Przez 15 minut następowała adsorpcja analitów z fazy gazowej do fazy stałej, a następnie adsorber umieszczano w chromatografie gazowym, gdzie zaabsorbowane związki ulegały desorpcji termicznej (SPME - solid phase microextraction) i były separowane w kolumnie kapilarnej.

Metoda SPME GC/MS jest przydatna do analizy gazów organicznych i nie sprawdza się w przypadku gazów nieorganicznych takich, jak np. tlenek azotu. Aby określić stężenie tlenu azotu w zgromadzonej próbce wydechu, wykorzystano zależność pomiędzy stężeniem izoprenu a stężeniem tlenu azotu w wydychanym powietrzu [229,230]. W tych warunkach pomiarowych, zmiany poziomu izoprenu stały się wyznacznikiem zmian NO.

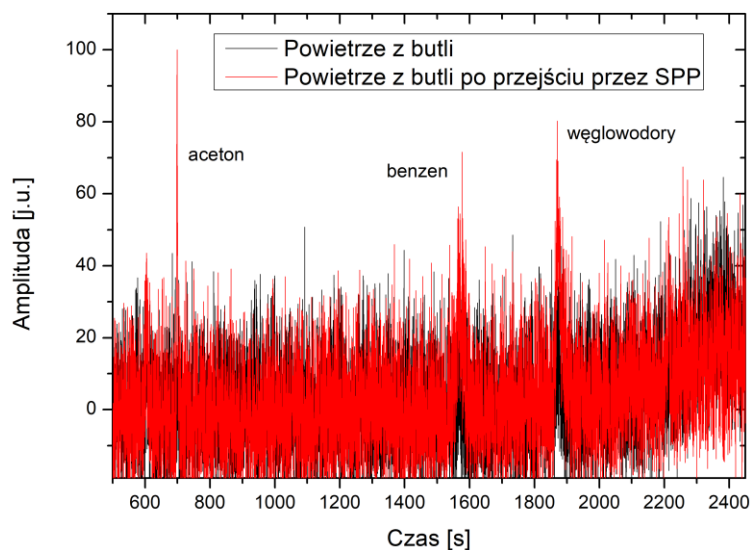
Dzięki zastosowanej metodzie pomiarowej możliwe było określenie poziomu zanieczyszczeń próbki powietrza w systemie SPP, strat tlenu azotu (izoprenu) z próbki wydechu oraz efektywności wydzielania z próbki wydechu frakcji pęcherzykowej.

Pierwszy czynnik wynika z wykorzystania w systemie elementów, takich jak plastikowe rurki, worek silikonowy i zawory ze stali, które mogą wprowadzić zanieczyszczenia do analizowanej próbki. Drugi dotyczy ryzyka utraty tlenu azotu (izoprenu) w wyniku reakcji chemicznych lub adsorpcji na elementach systemu. Trzecia kwestia jest ściśle powiązana z tezą rozprawy doktorskiej i zostanie szczegółowo omówiona w dalszej części rozdziału.

Przeprowadzone badania dały możliwość analizy zmian składu chemicznego powietrza po przejściu przez cały system SPP i stwierdzeniu czy układ nie wydziela do próbki powietrza własnych zanieczyszczeń chemicznych. W tym celu przeprowadzono analizę chromatograficzną powietrza syntetycznego bezpośrednio pobranego z butli. Następnie przeprowadzono taką samą analizę dla powietrza po przejściu przez opracowany układ dystrybucji powietrza, układ monitorowania parametrów powietrza i układ separacji faz wydechu. Identyfikację związków chemicznych zrealizowano poprzez wykorzystanie bazy



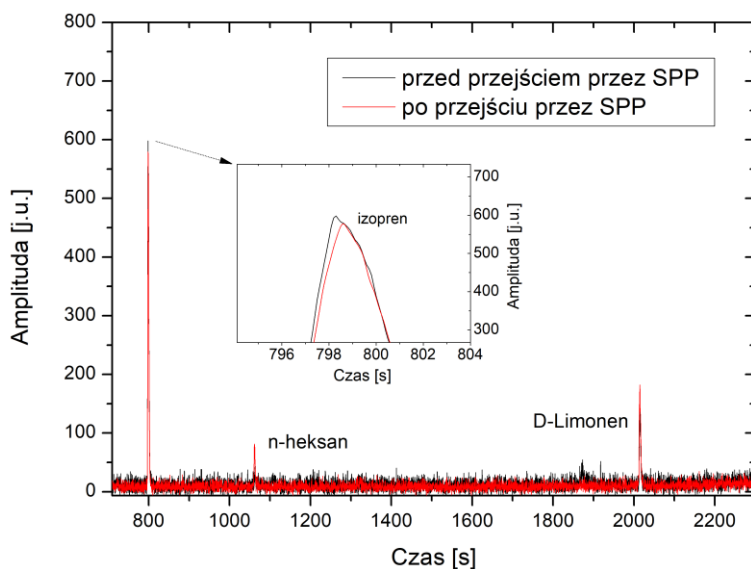
widm z biblioteki NIST (National Institute of Standards and Technology) w programie ChromaTOF [231]. Wyniki w postaci tzw. chromatogramu przedstawiono na rys. 6.2.



**Rys. 6.2.** Wynik analizy chromatograficznej (chromatogram) powietrza syntetycznego oraz powietrza syntetycznego po przejściu przez SPP.

Powietrze syntetyczne zawierało śladowe ilości benzenu oraz innych węglowodorów. Po przejściu powietrza syntetycznego przez SPP związki te pojawiły się ponownie na chromatogramie z dodatkowym pikem acetonu. Związek ten pochodził jednak z powietrza w laboratorium chemicznym, w którym przeprowadzono eksperyment. Wyniki te wskazały, że SPP nie wydziela do zgromadzonej próbki powietrza własnych zanieczyszczeń.

Następnie przeprowadzono badania, które miały wskazać ewentualne straty tlenu azotu w SPP. Porównano chromatogramy próbki wydechu zgromadzonego w worku tedlarowym napełnionego bezpośrednio stosując maskę i ustnik oraz napełnionego przy użyciu SPP (rys. 6.3).

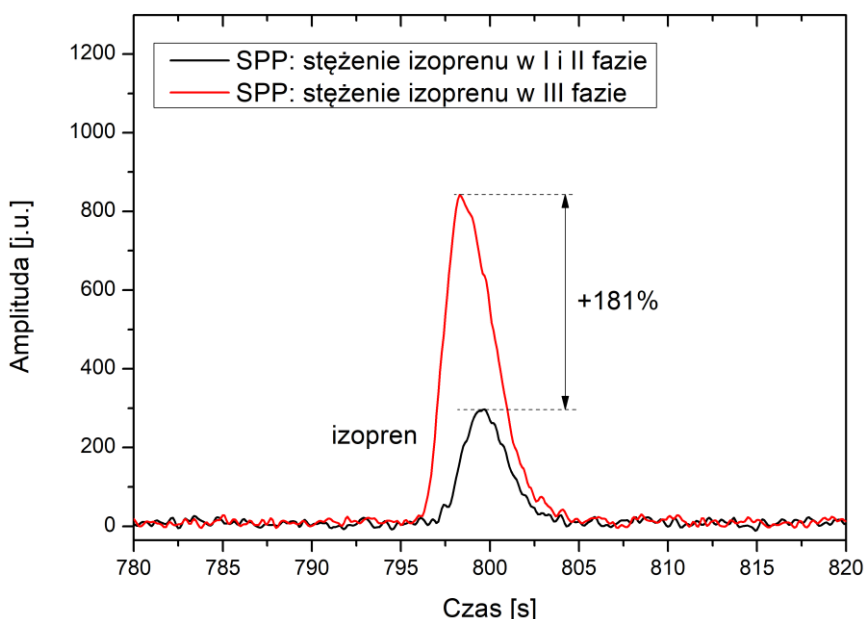


**Rys. 6.3.** Przykładowe chromatogramy wydechu zgromadzonego w worku tedlarowym przed przejściem przez SPP oraz po przejściu bez separacji faz.

Wykryto następujące związki chemiczne: izopren, n-heksan oraz D-Limonen (najprawdopodobniej pochodzący z oparów środków czystości [232]). Nie zaobserwowano spadku ilości izoprenu, co może świadczyć o braku efektu zmniejszenia stężenia tlenu azotu z badanej próbki na skutek działania samego systemu.

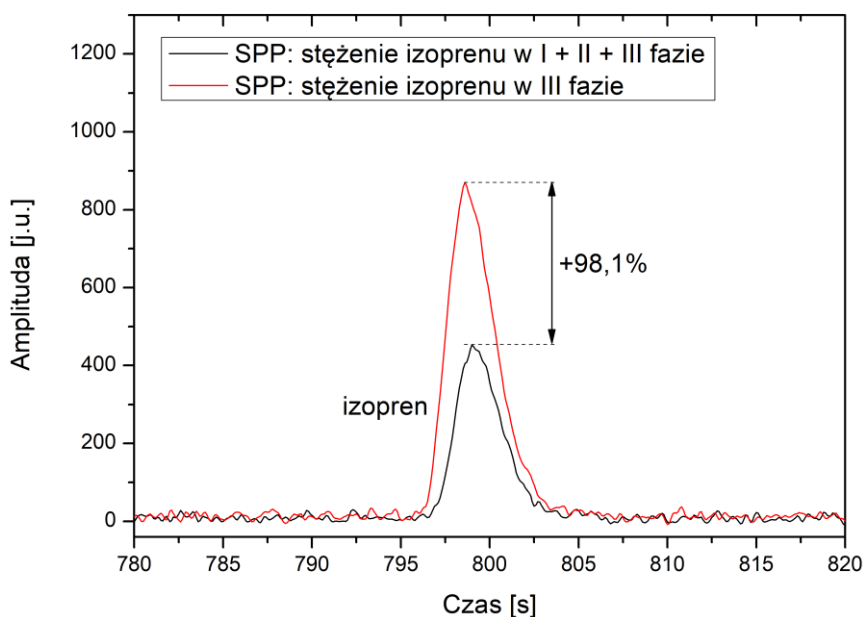
Dokonano analizy ilości biomarkera zgromadzonego w próbce frakcji pęcherzykowej, określając jego ilości w różnych fazach wydechu poprzez porównanie chromatogramów powietrza z I i II fazy z powietrzem z III fazy wydechu. Następnie porównano chromatogramy powietrza bez podziału na fazy i z wydzielonym powietrzem III fazy wydechu.

W tym wypadku badania polegały na pobraniu powietrza od pacjenta, wydzieleniu poszczególnych faz wydechu, a następnie analizie chromatograficznej otrzymanych próbek. Pozwoliło to na porównanie ilości wybranych substancji w różnych fazach wydechu. Przy użyciu SPP napełnione zostały dwa worki tedlarowe. Jeden z nich zawierał powietrze z I i II fazy wydechu, drugi powietrze z III fazy wydechu. Porównano chromatogramy próbek z obydwu worków w celu określenia ilości izoprenu, która trafia do wyselekcjonowanej fazy wydechu. Przeprowadzona analiza wykazała, że ilość izoprenu zgromadzonego w próbce III fazy zwiększyła się o 181% w stosunku do próbki powietrza z I i II fazy wydechu (rys. 6.4).



**Rys. 6.4.** Przykładowe wyniki badań izoprenu w próbce powietrza I i II fazy oraz powietrza z III fazy wydechu.

Następnie dokonano porównania składu chemicznego powietrza pobranego do worka tedlarowego przy użyciu SPP bez podziału na fazy oraz próbki powietrza pobranej z III fazy wydechu. Przykładowe chromatogramy przedstawiono na rys. 6.5.



**Rys. 6.5. Przykładowe wyniki badań izoprenu w próbce powietrza bez selekcji faz wydechu oraz wyselekcjonowanej w SPP III fazy wydechu.**

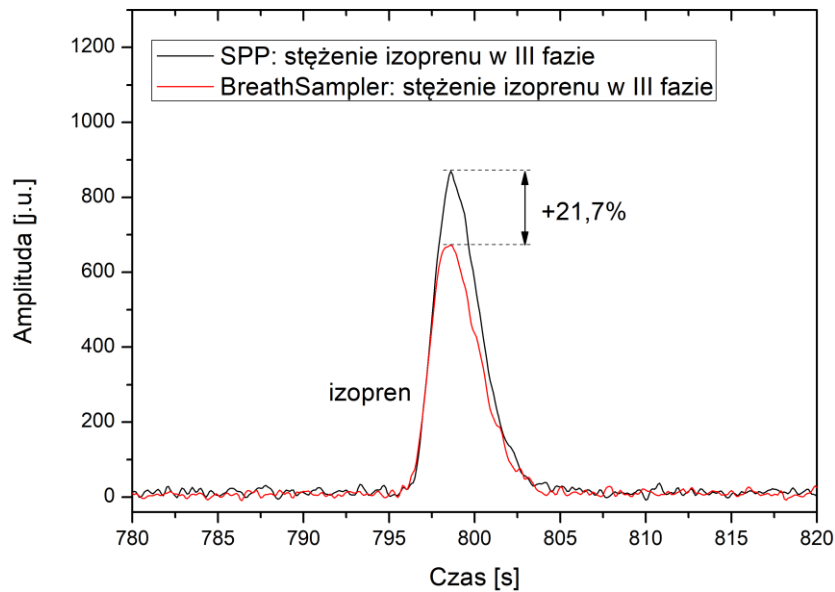
Stwierdzono zwiększenie o ponad 98% amplitudy piku izoprenu w zgromadzonej próbce w stosunku do powietrza bez separacji faz.

### 6.3. Badania porównawcze SPP

W celu weryfikacji poprawności wydzielania próbki powietrza z III fazy wydechu, przeprowadzono badania porównawcze opracowanego SPP oraz komercyjnego urządzenia BreathSampler opracowanego w Uniwersytecie Medycznym w Innsbrucku. Wyniki badań z wykorzystaniem tego urządzenia opisane są w wielu publikacjach naukowych [74,75,230,233,234]. Do selekcji faz wydechu w tym urządzeniu zastosowano czujnik CO<sub>2</sub> typu NDIR (podobnie jak w opracowanym systemie SPP). Porcja powietrza z fazy pęcherzykowej w BreathSamplerze jest definiowana poprzez przekroczenie zadeklarowanej 3%, wartości progowej stężenia CO<sub>2</sub>

#### 6.3.1. Badania porównawcze ilości izoprenu w próbkach

Badanie polegało na napełnieniu worków tedlarowych próbkami powietrza z III fazy wydechu przy użyciu systemu SPP i BreathSamplera. W celu minimalizacji wpływu tła, pacjent kilkakrotnie wdychał powietrze syntetyczne z butli, a następnie realizował wydech. Obydwa urządzenia wydzieliły III fazę wydechu, które poddano badaniom określającym różnicę stężenia izoprenu w zgromadzonych próbkach dla tego samego pacjenta, pobranych w tych samych warunkach, wynikających z użycia dwóch metod wyznaczania frakcji pęcherzykowej. Przeprowadzono analizę chromatograficzną obydwu próbek (rys. 6.6).

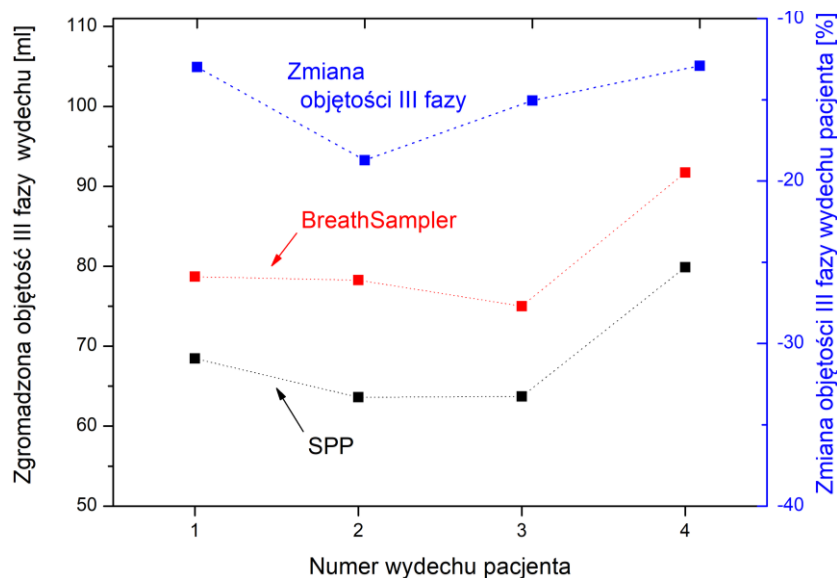


Rys. 6.6. Porównanie ilości izoprenu zgromadzonego w próbkach z wykorzystaniem SPP oraz BreathSamplera.

Stwierdzono, że amplituda piku izoprenu w próbce zgromadzonej z wykorzystaniem SPP jest większa niż w próbce zgromadzonej z wykorzystaniem BreathSamplera o ok. 21%.

### 6.3.2. Analiza zgromadzonej objętości III fazy wydechu

W kolejnym kroku dokonano analizy zgromadzonych objętości próbek wydechu, dla określenia czy zwiększenie stężenia izoprenu wynika z faktu dokładniejszego wyznaczenia początku III fazy przez SPP pozwalającego uniknąć mieszania objętości wydychanego powietrza z różnych faz.



Rys. 6.7. Objętości III fazy wydechu zgromadzone przez BreathSampler (punkty czerwone) oraz SPP (punkty czarne) oraz względnym zwiększeniem objętości frakcji pęcherzykowej (punkty niebieskie).

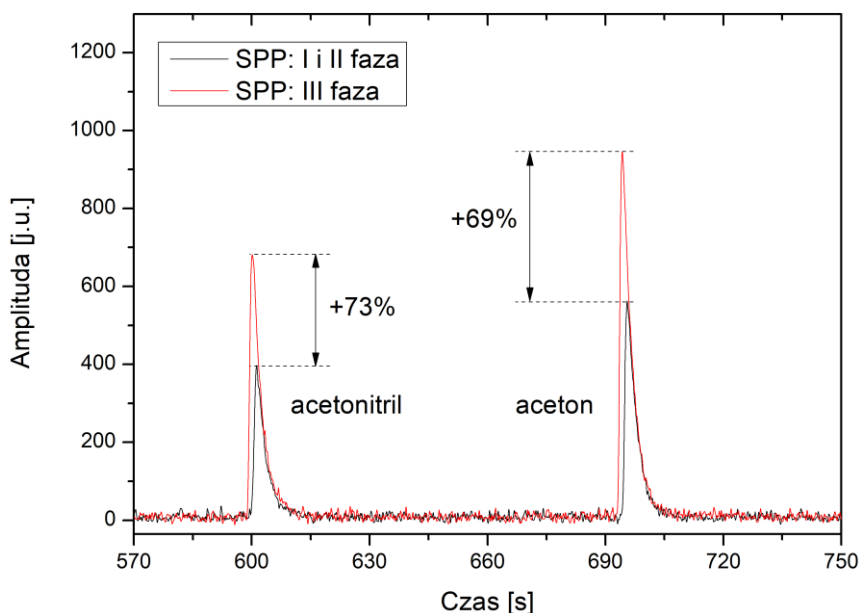
Na podstawie przebiegów pomiarów stężeń CO<sub>2</sub> otrzymanych na drodze eksperymentalnej i opisanych w rozdziale 5.4.2 określono początki III fazy wydechu. Początek frakcji pęcherzykowej został zdefiniowany w BreathSamplerze jako stały poziom stężenia CO<sub>2</sub> w wydechu na poziomie 3%, natomiast w systemie SPP przy użyciu metody dSMAA/dt. Następnie, dla każdego z urządzeń obliczono objętość zgromadzonej frakcji pęcherzykowej. Na rysunku 6.7 przedstawiono przykładowe wyniki dla czterech wydechów wyselekcjonowanego pacjenta ze zdiagnozowaną astmą.

Można zaobserwować, że SPP zgromadził w każdym wydechu od ok. 63 ml do 79 ml objętości fazy pęcherzykowej. Dla BreathSamplera, przy stałym poziomie 3% stężenia CO<sub>2</sub> wskazującym na początek III fazy, zgromadzono od ok. 75 ml do 92 ml. Zatem SPP gromadził mniejszą objętość III fazy o około 13% do 19% w porównaniu do BreathSamplera. Mniejsza objętość III fazy wydechu w SPP wynika z faktu, że przyjęty stały poziom stężenia CO<sub>2</sub> zastosowany w urządzeniu BreathSampler może powodować wcześniejsze rozpoczęcie pobierania próbki powietrza z wydechu jako III fazy, na co zwrócono uwagę w rozdziale 2.5. Biorąc pod uwagę wyniki badań przeprowadzonych za pomocą chromatografu GC-MS, pokazujące mniejsze stężenia izoprenu w próbkach pobranych za pomocą BreathSamplera niż dla systemu SPP, można stwierdzić, że nastąpiło mieszanie objętości powietrza z II i III fazy skutkujące rozrzedzeniem izoprenu. **Zatem opracowany system pobierania próbek wydychanego powietrza umożliwi dokładniejsze wyznaczenie początku frakcji pęcherzykowej, a tym samym minimalizację niekorzystnego wpływu próbki powietrza z fazy II, przy jednoczesnym zgromadzeniu możliwie największej objętości powietrza z III fazy wydechu.** W rezultacie, dowodzi to prawdziwości przyjętej w doktoracie tezy, w której założono, że dzięki korekcji wskazań czujnika CO<sub>2</sub> oraz odpowiedniemu algorytmowi analizy jego wskazań możliwa jest maksymalizacja objętości frakcji pęcherzykowej pobranej z powietrza wydychanego przez człowieka.

#### 6.4. Analiza ilości innych biomarkerów

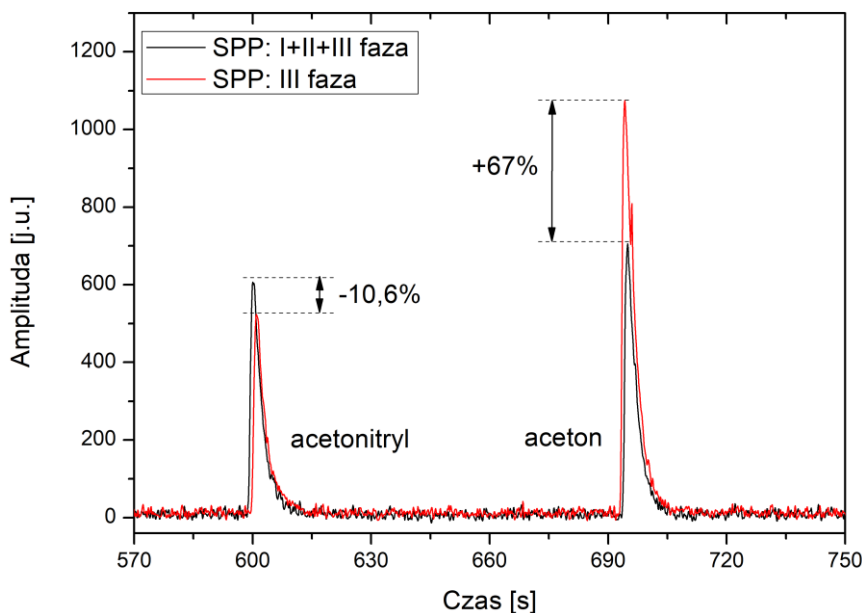
W trakcie realizacji prac, oprócz analizy stężenia NO, przeprowadzono badania możliwości wykorzystania SPP do wykrywania innych biomarkerów. Wykryto dwa biomarkery: acetonitril oraz aceton. Acetonitril może być traktowany jako wskaźnik obecności dymu tytoniowego w płucach, zarówno u palaczy czynnych jak i biernych [235–237]. Obecność acetonu o stężeniu ~ppm może wskazywać na cukrzycę [233], ale jego obecność w małych stężeniach (rzędu kilkuset ppb) w wydechu może zależeć od płci, wieku, diety, wysiłku fizycznego [238]. Przeprowadzono analizę chromatograficzną wydychanego powietrza i zgromadzonego

z wykorzystaniem systemu SPP. Stwierdzono zwiększenie się ilości acetonitrilu i acetonu w III fazie wydechu, odpowiednio o 71% i 69% (rys. 6.8).



Rys. 6.8. Przykładowe wyniki analizy porównawczej acetonitrilu i acetonu w próbce powietrza I i II fazy oraz powietrza z III fazy wydechu.

Przeprowadzono również analizę chromatograficzną składu chemicznego powietrza z wydzielonej III fazy wydechu oraz powietrza bez separacji faz (rys. 6.9).

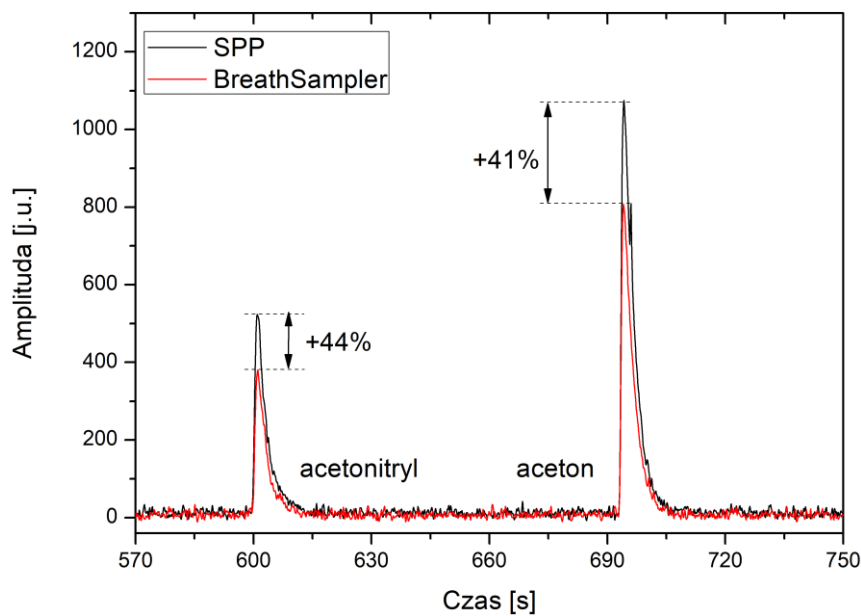


Rys. 6.9. Przykładowe wyniki analizy porównawczej acetonitrilu i acetonu w próbce powietrza bez separacji faz oraz powietrza z wydzielonej III fazy wydechu.

Stwierdzono zmniejszenie amplitudy piku acetonitrilu o ok. 10%, co może świadczyć o tym, że biomarker ten może pochodzić z innych faz wydechu niż faza pęcherzykowa.

Amplituda piku acetonu praktycznie nie uległa zmianie, co wskazuje, że jego stężenie jest stałe w II i III fazie wydechu.

Przy użyciu dwóch urządzeń, pobrano próbkę wydechu III fazy i przeprowadzono również jej analizę chromatograficzną (rys. 6.10). Zaobserwowano zwiększenie amplitud pików acetonitrylu i acetonu o ponad 40%, co wskazuje, że system SPP umożliwia pobranie większych objętości próbek tych biomarkerów (jest wydajniejszy).



Rys. 6.10. Przykładowe wyniki analizy porównawczej acetonitrylu i acetonu w próbce powietrza zgromadzonej przez SPP i BreathSampler.

## 6.5. Badania SPP w warunkach klinicznych

Przeprowadzone badania w warunkach laboratoryjnych z wykorzystaniem chromatografii gazowej i spektrometrii mas potwierdziły, że SPP umożliwia precyzyjne wydzielenie frakcji pęcherzykowej. Kolejnym etapem prac były badania w warunkach klinicznych w celu potwierdzenia działania systemu SPP z udziałem osób z chorobami układu oddechowego.

Badania SPP zrealizowano w Centrum Medycznym Alpejska (CMA) we współpracy z prof. dr. hab. n. med. Tomaszem Targowskim, specjalistą chorób wewnętrznych i chorób płuc. Próbkę powietrza zostały pobrane od pacjentów CMA ze zdiagnozowanymi chorobami układu oddechowego (astma), których biomarkerem był tlenek azotu oraz innymi chorobami dróg oddechowych (rozszerzenie oskrzeli). Dla zwiększenia komfortu pacjentów oraz ze względu na możliwość szybkiego transportu próbek do laboratorium zastosowano metodę pobierania próbek „off-line” (rys. 6.11).

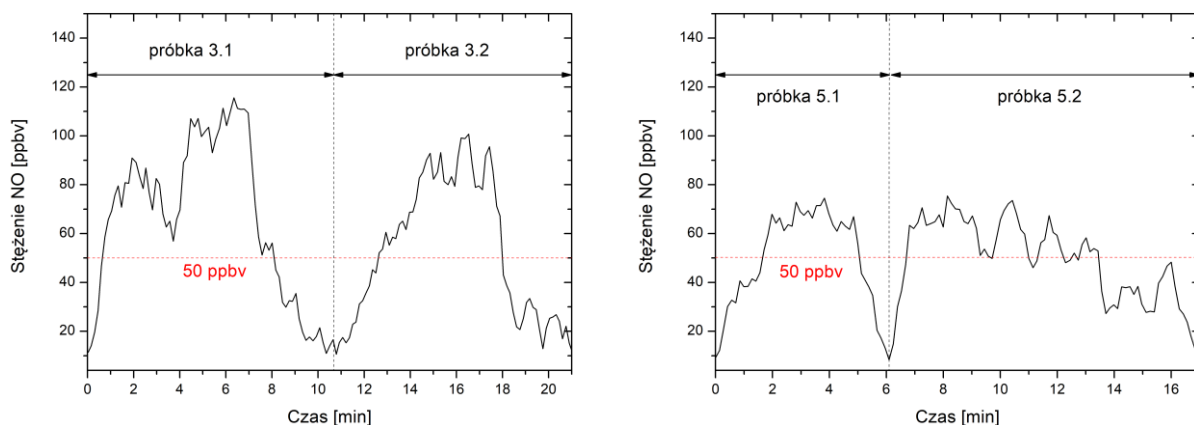


**Rys. 6.11.** Fotografie SPP podczas badań pacjentów w Centrum Medycznym Alpejska (1 – komora termostatowana do transportu próbek, 2 – butla z powietrzem syntetycznym, 3 – SPP zamontowany w wózku medycznym, 4 – worki tedlarowe do gromadzenia próbek).

Pobranie próbek przeprowadzono w pomieszczeniu o temperaturze 26°C przy ciśnieniu atmosferycznym 985 mbar. W czasie pobierania próbek wydychanego powietrza, osoby wykonywały wydechy tak, aby w worku tedlarowym zgromadzić ok. 1,2 litra próbki z III fazy wydechu, co wynikało z wymagań procedury pomiarowej opracowanego optoelektronicznego analizatora tlenu azotu. Dla uniknięcia wpływu tła, pacjenci wdychali powietrze syntetyczne z butli. Pomiędzy każdym wydechem pacjent miał także krótkie (10 ÷ 30 sekundowe) przerwy, w zależności od własnych potrzeb oraz oceny sił i możliwości. Zgodnie z wytycznymi ATS/ERS, pacjenci wykonywali wydech z przepływem ok. 3 l/min. W wypadku, gdy zauważono problemy z utrzymaniem dostatecznie długiego wydechu, procedura pobierania była skracana, aby zminimalizować wysiłek i zmęczenie. Dla sprawdzenia powtarzalności pomiarów, po odpoczynku każdą z osób proszono o powtórzenie procedury pobierania. Od każdego pacjenta pobrano po dwie próbki frakcji pęcherzykowej wydechu. Worki tedlarowe ze zgromadzonymi próbkami wydechu przechowywane były w temperaturze 8 ÷ 11°C w komorze termostatowanej w celu minimalizacji zmiany składu chemicznego pobranych próbek [26]. Następnie, pobrane próbki powietrza przetransportowano i dalsze ich badania przeprowadzono w laboratorium Instytutu Optoelektroniki WAT. Na rysunku 6.12 przedstawiono przykładowe wyniki badań stężenia NO w wybranych próbkach zgromadzonej frakcji pęcherzykowej pacjentów. W zarejestrowanych wypadkach zaobserwowano wzrost stężenia tlenu azotu



nawet do wartości przekraczających 100 ppbv. Pomiary stężenia NO potwierdziły przekroczenie wartości progowej dla zdrowych osób dorosłych wynoszącej 50 ppbv [239].



Rys. 6.12. Przykładowe wyniki badań stężenia NO w wybranych próbkach powietrza pobranych od pacjentów w CMA. Czerwoną linią oznaczono wartość progową 50 ppbv poziomu NO zdrowej osoby.

Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że pobrane z wykorzystaniem SPP próbki wydechu w trybie „off-line” umożliwiają przeprowadzenie badań przesiewowych. **System pobierania próbek umożliwił wydzielenie i zgromadzenie III fazy wydechu pacjenta w celu wyznaczenia stężenia biomarkera jakim jest tlenek azotu. Odpowiednia konstrukcja układu dystrybucji powietrza zapewniła zgodne z wytycznymi ATS/ERS zakresy ciśnienia i przepływu w układzie dystrybucji powietrza**, co spełniło wymagania stawiane układom pobierania próbek przedstawione w rozdziale 2.9. Badania zrealizowane z wykorzystaniem wysokoczułego optoelektronicznego czujnika NO zademonstrowały możliwość szybkiego określenia czy stężenie tlenu azotu w wydechu człowieka osiąga wartość przyjętą dla stanu chorobowego.

## 6.6. Podsumowanie

Efektem przeprowadzonych prac było opracowanie modelu zintegrowanego systemu pobierania próbek do gromadzenia objętości frakcji pęcherzykowej z wydechu pacjenta. Zgromadzone próbki poddano badaniom mającym na celu analizę zawartości biomarkera - tlenu azotu w III fazie wydechu. Z wykorzystaniem chromatografii przeprowadzono analizę chemiczną zgromadzonych próbek I i II oraz III fazy wydechu i powietrza bez separacji faz oraz dokonano porównania wyników. Pozwoliło to na określenie zmiany stężenia badanego biomarkera w próbkach wydechu.

Aby określić stężenie tlenu azotu w zgromadzonej próbce wydechu, wykorzystano zależność pomiędzy stężeniem tlenu azotu a stężeniem izoprenu w wydychanym powietrzu. Opracowany SPP poddano badaniom wstępnym dla potwierdzenia czy nie wpływa on na skład

chemiczny analizowanej próbki powietrza. Badania wykazały, że nie zaobserwowano zmiany stężenia biomarkera w całej próbce wydechu. SPP nie powoduje utraty NO z badanej próbki oraz nie wprowadza do próbki dodatkowych związków chemicznych. Dokonano analizy stężeń biomarkera w zgromadzonych próbkach różnych faz wydechu. W zgromadzonej objętości frakcji pęcherzykowej amplituda piku badanego biomarkera była o 181% większa niż w I i II fazie oraz o 98,1% większa niż w całej próbce wydechu bez separacji faz.

Następnie, przeprowadzono badania możliwości wykorzystania SPP do wykrywania innych biomarkerów: acetonitrilu oraz acetonu. Stwierdzono zwiększenie ilości acetonitrilu i acetonu w III fazie wydechu, odpowiednio o 71% i 69%. Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że acetonitril pochodził z innych faz wydechu niż faza pęcherzykowa, zaś stężenie acetonu najprawdopodobniej było stałe w II i III fazie wydechu.

W kolejnym etapie, przeprowadzono badania porównawcze opracowanego SPP z komercyjnym urządzeniem BreathSampler opracowanym w Uniwersytecie Medycznym w Innsbrucku. BreathSampler wykorzystywał metodę wyznaczania początku III fazy na podstawie stałego progu stężenia CO<sub>2</sub> w wydychanym powietrzu. Stwierdzono, że amplituda piku izoprenu w próbce zgromadzonej z wykorzystaniem SPP jest większa względem próbki zgromadzonej z wykorzystaniem BreathSamplera o ok. 21%. Większe stężenie izoprenu wynika z faktu dokładniejszego wyznaczenia początku III fazy przez SPP, co pozwoliło uniknąć mieszania objętości wydychanego powietrza z różnych faz. Zaobserwowano także zwiększenie amplitudy piku acetonitrylu i acetonu o ponad 40% co potwierdziło, że SPP umożliwia również niezakłócone pobranie dużych objętości innych biomarkerów.

Po badaniach w warunkach laboratoryjnych przeprowadzono badania systemu pobierania próbek w warunkach klinicznych w Centrum Medycznym Alpejska. Pobrano próbki wydechu od wyselekcjonowanych pacjentów ze zdiagnozowanymi chorobami układu oddechowego. Ważnym elementem tych badań, było także sprawdzenie spełnienia wymagań ATS/ERS. Umożliwienie pacjentowi oddychania powietrzem syntetycznym pozwoliło na minimalizację sygnału tła pochodzącego od potencjalnych zanieczyszczeń powietrza w miejscu pobierania próbek, odpowiednia konstrukcja SPP zapewniła bezpieczne poziomy ciśnień w poszczególnych układach, wizualizacja przepływu oraz ciśnienia wydychanego powietrza umożliwiła pacjentom wykonanie wydechu do urządzenia zgodnie z wytycznymi ATS/ERS. Następnie przeprowadzono pomiary stężenia NO w pobranych próbkach wydechu przy użyciu optoelektronicznego analizatora NO. Uzyskane stężenia NO w zgromadzonych próbkach przekraczały wartość progową 50 ppbv, określoną dla zdrowej, dorosłej osoby. **Wyniki te potwierdziły wnioski z badań laboratoryjnych SPP oraz ostatecznie dowiodły spełnienie**

wymagań dotyczących wydzielenia i zgromadzenia III fazy wydechu pacjenta w celu wyznaczenia stężenia biomarkera jakim jest tlenek azotu. Można zatem stwierdzić, że przeprowadzone badania potwierdziły tezę, że po przeprowadzeniu korekcji wskazań czujnika CO<sub>2</sub> oraz implementacji w SPP zaproponowanego algorytmu analizy kształtu charakterystyki zmian stężenia CO<sub>2</sub> metodą dSMAA/dt możliwa jest maksymalizacja objętości frakcji pęcherzykowej pobranej z powietrza wydychanego przez człowieka.

### 7. Wnioski końcowe

Rozprawa dotyczy problematyki pobierania próbek powietrza wydychanego przez człowieka, które są analizowane przez optoelektroniczny czujnik gazu wykorzystujący laserową spektroskopię absorpcyjną. Rozwój nowych czujników optoelektronicznych umożliwia wykrycie śladowych ilości pewnych związków chemicznych - biomarkerów. Mogą być one zastosowane do przeprowadzenia nieinwazyjnych badań poprzez wykrywanie biomarkerów w powietrzu wydychanym przez ludzi. Efektem pracy jest opracowanie unikalnego mikroprocesorowego systemu pobierania próbek, który może być jednym z istotnych narzędzi stosowanym do badań przesiewowych pod kątem wykrywania chorób, których biomarkerem jest NO.

Największe stężenie NO pochodzącego z przemian metabolicznych organizmu znajduje się w pęcherzykach płucnych, przez co konieczne jest pobranie i zgromadzenie tylko tej części wydychanego powietrza. Wyselekcjonowanie próbki powinno odbywać się w ściśle określonym momencie, tzw. fazie wydechu. Część wydechu o największym stężeniu NO pochodzącego z pęcherzyków płucnych nazywa się III fazą wydechu lub frakcją pęcherzykową. Ze względu na bardzo małe stężenie NO nie można bezpośrednio zidentyfikować tej fazy i konieczne jest zastosowanie metody pośredniej. W tym celu stosuje się np. metodę monitorowania stężenia ditlenku węgla, wykorzystując korelację pomiędzy stężeniem CO<sub>2</sub> a fazami wydechu człowieka.

W ramach pracy doktorskiej, przeprowadzono analizę zasady działania i parametrów układów pobierania próbek opisanych w literaturze oraz komercyjnie dostępnych. Wykazała ona niszę wynikającą z braku metodyki pobierania próbek wydechu człowieka, uwzględniającej uwarunkowania współdziałania z analizatorami tlenu azotu, wykorzystujących laserową spektroskopię absorpcyjną w podczerwieni. Konieczne zatem było opracowanie autorskiego systemu pobierania próbek wydychanego powietrza, który automatycznie i precyzyjnie wyznacza oraz szybko wydziela frakcję pęcherzykową w sposób niezależny od parametrów wydychanego powietrza, przy jednoczesnym spełnieniu wytycznych Amerykańskiego Towarzystwa Chorób Układu Oddechowego oraz Europejskiego Towarzystwa Oddechowego, precyzujących zalecenia dotyczące warunków pracy aparatury medycznej do podobnych zastosowań.

Do analizy stężenia ditlenku węgla w wydychanym powietrzu zaproponowano zastosowanie czujnika CO<sub>2</sub> typu NDIR. Opracowany został model teoretyczny tego czujnika uwzględniający uwarunkowania wynikające z wykrywania faz wydechu. Na jego podstawie przeprowadzono analizy wpływu parametrów próbki wydechu na niepewność pomiaru stężenia. Badania symulacyjne zostały przeprowadzone z wykorzystaniem programu *OriginLab*. W pierwszym etapie obejmowały one analizę widm absorpcyjnych CO<sub>2</sub> z wykorzystaniem baz programu *Hitran*. Następnie, dokonano wyboru źródła promieniowania, filtru optycznego i detektora promieniowania, co pozwoliło na zbudowanie modelu czujnika umożliwiającego symulację wpływu pasma absorpcji CO<sub>2</sub> oraz pasm interferujących innych substancji, temperatury, ciśnienia i wilgotności próbki.

Przeprowadzone symulacje pokazały, że w paśmie 4,1 ÷ 4,4 μm wpływ widma absorpcyjnego pary wodnej na działanie czujnika CO<sub>2</sub> jest pomijalnie mały, jednak wilgotność wydychanego powietrza jest istotna ze względu na możliwość wykroplenia się pary wodnej na chłodniejszych elementach systemu. Ponadto, obliczenia dotyczące wpływu ciśnienia z zakresu od 965 mbar do 1074 mbar wykazały, że zmiana ciśnienia powietrza w tym zakresie przy stałym stężeniu CO<sub>2</sub> spowoduje wzrost absorbancji o 12,46%. Symulacje wpływu temperatury z zakresu od 20°C do 36°C pokazały, że absorbancja CO<sub>2</sub> zmniejszy się o 5,33%. Zatem w celu precyzyjnego i szybkiego wyznaczenia frakcji pęcherzykowej niezbędne było przeprowadzenie korekcji wskazań czujnika CO<sub>2</sub> prowadzącej do minimalizacji wpływu temperatury i ciśnienia próbki powietrza.

Przeprowadzone symulacje umożliwiły zdefiniowanie wymagań dotyczących poszczególnych składowych systemu, a następnie na ich podstawie dokonano oceny właściwości dostępnych na rynku czujników ciśnienia, temperatury, wilgotności oraz innych elementów niezbędnych do opracowania SPP. Szczególną uwagę poświęcono czujnikowi CO<sub>2</sub>, dla którego wyznaczono funkcję korekcji wskazań. Przeprowadzona analiza wykazała, że wprowadzenie tej korekcji spowodowało zwiększenie objętości zgromadzonej III fazy wydechu nawet o 10,5%. Następnie, dla określenia przewidywanego wzrostu stężenia biomarkera w próbce wydechu, przeanalizowano zmiany stężenia CO<sub>2</sub> w wydzielonej III fazie wydechu w stosunku do stężenia CO<sub>2</sub> w próbce wydechu bez separacji faz. Wykazano, że możliwe jest zwiększenie średniego stężenia CO<sub>2</sub> o ok. 55 ÷ 78%.

Do wyznaczenia początku III fazy wydechu opracowany został autorski algorytm analizujący dynamikę zmian średniej kroczącej dla punktów sąsiadujących (*SMAA – Simple Moving Adjacent Average*). Wykazano, że metoda ta umożliwia wyznaczenie tego punktu z dokładnością na poziomie 20 ms. Bazując na krzywych kapnograficznych

charakterystycznych dla wybranych chorób układu oddechowego, uzyskanych na drodze eksperymentalnej oraz z danych literaturowych, przeprowadzono weryfikację metody  $dSMAA/dt$  wyznaczania początku III fazy wydechu. Wykazano, że zarówno dla krzywych kapnograficznych dla osób chorych jak i zdrowych, metoda ta umożliwia precyzyjnie wykrycie początku III fazy wydechu.

Opracowane zostały bloki funkcjonalne SPP: układ dystrybucji powietrza, układ monitorowania parametrów wydychanego powietrza, układ separacji faz wydechu i układ kontroli i sterowania. Potwierdzono uzyskanie zgodności ich pracy z wymaganiami ATS/ERS w zakresie zapewnienia bezpiecznych dla pacjenta poziomów ciśnień oraz przepływu wydychanego przez niego powietrza, który umożliwił pobranie próbki powietrza wydychanego z dolnych dróg oddechowych.

Badania weryfikacyjne opracowanego systemu, które stanowiły podstawę potwierdzenia osiągnięcia przyjętych założeń oraz udowodnienia tezy, wykonano przy użyciu chromatografu gazowego i spektroskopu masowego. Wykazały one m.in.:

- brak wpływu systemu na skład chemiczny analizowanej próbki powietrza,
- zwiększenie ilości badanego biomarkera o 181% w porównaniu z innymi fazami, co odpowiada wartości 98,1% w stosunku do objętości całej próbki wydechu bez separacji faz,
- możliwość wykorzystania SPP do wykrywania innych biomarkerów: acetonitrylu oraz acetonu, dla których zanotowano zwiększenie ilości w III fazie wydechu, odpowiednio o 71% i o 69%.

W kolejnym etapie, przeprowadzono badania porównawcze opracowanego SPP z komercyjnym urządzeniem BreathSampler opracowanym w Uniwersytecie Medycznym w Innsbrucku. Urządzenie to wykorzystywało metodę wyznaczania początku III fazy na podstawie stałego progu stężenia CO<sub>2</sub> w wydychanym powietrzu. Na podstawie wyników tych badań:

- stwierdzono, że amplituda piku chromatogramu izoprenu w próbce zgromadzonej z wykorzystaniem SPP jest większa o ok. 21% względem próbki zgromadzonej z wykorzystaniem BreathSamplera. Większa ilość izoprenu wynika z faktu dokładniejszego wyznaczenia początku III fazy przez SPP, co pozwoliło uniknąć mieszania objętości wydychanego powietrza z różnych faz,
- zaobserwowano także zwiększenie stężenia acetonitrylu i acetonu o ponad 40%.

Powyższe badania potwierdziły, że system pobierania próbek SPP umożliwia maksymalizację objętości frakcji pęcherzykowej w wydechu człowieka. Jednocześnie stanowią

bezpośredni dowód, że **możliwa jest maksymalizacja objętości frakcji pęcherzykowej pobranej z powietrza wydychanego przez człowieka w wyniku minimalizacji wpływu ciśnienia i temperatury próbki na sygnał wyjściowy czujnika CO<sub>2</sub> oraz implementacji algorytmu analizy szybkości jego zmiany do wyznaczenia początku III fazy wydechu.**

Końcowa konstrukcja systemu została wykorzystana w trakcie badań w Centrum Medycznym Alpejska w Warszawie. Przy jego użyciu, pobrane zostały próbki powietrza wydychanego przez pacjentów ze zdiagnozowanymi chorobami układu oddechowego. Zgromadzone próbki frakcji pęcherzykowej zbadano z wykorzystaniem optoelektronicznego analizatora NO. Uzyskane wyniki potwierdziły zwiększony poziom stężenia tlenu azotu powyżej wartości progowej 50 ppb, która jest przyjęta jako referencyjny poziom dla zdrowej, dorosłej osoby.

W opinii autora, do głównych osiągnięć przedmiotowej rozprawy można zaliczyć:

- opracowanie metody korekcji wskazań czujnika CO<sub>2</sub> typu NDIR uwzględniającej parametry próbek wydychanego powietrza,
- opracowanie metody wyznaczenia początku III fazy wydechu umożliwiającej maksymalizację objętości frakcji pęcherzykowej, implementacja programowa algorytmu separacji faz oraz weryfikacja praktyczna tej metody,
- przeprowadzenie weryfikacji działania opracowanego SPP w warunkach laboratoryjnych oraz w warunkach klinicznych.

Wymiernym efektem pracy jest opracowanie mikroprocesorowego systemu pobierania próbek frakcji pęcherzykowej do analizatorów powietrza wydychanego przez człowieka, którego konstrukcja osiągnęła VI poziom technologii, spełniającego wytyczne Amerykańskiego Towarzystwa Chorób Układu Oddechowego oraz Europejskiego Towarzystwa Oddechowego dotyczące warunków pracy aparatury medycznej. Parametry tego systemu zostały zestawione w tabeli 7.1.

W ramach dalszych prac planuje się kontynuację opisanych badań, głównie zmierzających do minimalizacji czasu wykonywania poszczególnych algorytmów oraz zastosowania do analizy innych biomarkerów chorób, w tym wywołanych przez bakterie i wirusy.

**Tab. 7.1. Parametry opracowanego SPP.**

Parametr	Wartość	Uwagi
Poziom gotowości technologii	VII	Testy w warunkach klinicznych
Czas gotowości do pracy	5 sekund od włączenia	Pierwsza instalacja - ok. 30 minut
Czas pobrania próbki	6 sekund do 2 minut	Zależnie od pacjenta
Objętość próbki III fazy / niepewność	Od 60 ml do 5l / 5%	
Zalecenia Europejskiego Towarzystwa Chorób Układu Oddechowego (ERS)	Spełnione	
Zalecenia Amerykańskiego Towarzystwa Chorób Układu Oddechowego (ATS)	Spełnione	
Kompatybilność z analizatorami gazów	Laserowa spektroskopia absorpcyjna w podczerwieni	Pozytywne testy z chromatografem gazowym i spektrometrem mas
Zakres pomiaru ciśnienia / niepewność	od 950 do 1050 mbar / 1%	
Zakres pomiaru temperatury / niepewność	od 20°C do 41°C / 1%	
Zakres pomiaru przepływu / niepewność	od 0 do 3 l/min / 1,9%	
Zakres pomiaru wilgotności/ niepewność	od 5% RH do 100% RH/ 5%	
Tryby pracy	On-line oraz off-line	Przełączanie automatyczne
Skuteczności filtracji powietrza	> 99,99% bakterii i wirusów	Anestetyczna maska twarzowa z filtrem oddechowym
Masa / wymiary	5kg / 63x20x50 cm	
Zasilanie / pobór mocy	230V / <50W	



## Literatura

1. Phillips M., Herrera J., Krishnan S., Zain M., Greenberg J., C.R.N. Variation in volatile organic compounds in the breath of normal humans. *J. Chromatogr. B* **1999**, 729, 75–88, doi:10.1016/S0378-4347(99)00127-9.
2. Buszewski B., Keszy M., Ligor T., A.A. Human exhaled air analytics: biomarkers of diseases. *Biomed Chromatogr* **2007**, 21, 553–556, doi:10.1002/bmc.
3. Cikach, F.S.; Dweik, R.A. Cardiovascular Biomarkers in Exhaled Breath. *Prog. Cardiovasc. Dis.* 2012.
4. A.J., R. Nobel prize in Medicine and Physiology 1998 for the discovery of the role of nitric oxide as a signalling molecule. *Ned Tijdschr Geneeskd.* **1998**, 142, 2828–30.
5. Michael G. Levitzky *Pulmonary Physiology, 8th edition*;
6. Marchenko, D.; Mandon, J.; Cristescu, S.M.; Merkus, P.J.F.M.; Harren, F.J.M. Quantum cascade laser-based sensor for detection of exhaled and biogenic nitric oxide. *Appl. Phys. B Lasers Opt.* **2013**, 111, 359–365, doi:10.1007/s00340-013-5341-5.
7. Nebelthau, A. Ein Beitrag zur Kenntnis der Acetonurie. *Centr. Inn. Med.* **1897**, 18, 977–982.
8. Pauling, L.; Robinson, A.B.; Teranishi, R.; Cary, P. Quantitative Analysis of Urine Vapor and Breath by Gas-Liquid Partition Chromatography. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1971**, 68, 2374–2376, doi:10.1073/pnas.68.10.2374.
9. Ligor, T. *Analitika wydychanego powietrza z zastosowaniem sprzężonych technik chromatograficznych z przeznaczeniem do badań przesiewowych chorób płuc*; Wydawnictwo Naukowe Uniwersytetu Mikołaja Kopernika: Toruń, 2011;
10. Skowron M., Grabowska-Polanowska B., Faber J., Ś.I. *Zarys metod analitycznych w badaniach oddechu dla celów diagnostyki medycznej*; Raport Nr.; 2012;
11. Rydosz, A. Sensors for enhanced detection of acetone as a potential tool for noninvasive diabetes monitoring. *Sensors (Switzerland)* 2018.
12. Van Der Schee, M.P.; Fens, N.; Brinkman, P.; Bos, L.D.J.; Angelo, M.D.; Nijsen, T.M.E.; Raabe, R.; Knobel, H.H.; Vink, T.J.; Sterk, P.J. Effect of transportation and storage using sorbent tubes of exhaled breath samples on diagnostic accuracy of electronic nose analysis. *J. Breath Res.* **2013**, 7, doi:10.1088/1752-7155/7/1/016002.
13. Harshman, S.W.; Mani, N.; Geier, B.A.; Kwak, J.; Shepard, P.; Fan, M.; Sudberry, G.L.; Mayes, R.S.; Ott, D.K.; Martin, J.A.; i in. Storage stability of exhaled breath on Tenax TA. *J. Breath Res.* **2016**, doi:10.1088/1752-7155/10/4/046008.
14. Knobel H., Soers R., Weda H., Vink A., Rattray N., Fowler S., B.L. Optimization of human breath sampling for VOC analysis. In Proceedings of the 2015; IABR: Vienna.
15. Bake, B.; Larsson, P.; Ljungkvist, G.; Ljungström, E.; Olin, A.C. Exhaled particles and small airways. *Respir. Res.* 2019.

16. Bouza, M.; Gonzalez-Soto, J.; Pereiro, R.; De Vicente, J.C.; Sanz-Medel, A. Exhaled breath and oral cavity VOCs as potential biomarkers in oral cancer patients. *J. Breath Res.* **2017**, doi:10.1088/1752-7163/aa5e76.
17. Wojtas, J. Application of cavity enhanced absorption spectroscopy to the detection of nitric oxide, carbonyl sulphide, and ethane—breath biomarkers of serious diseases. *Sensors (Switzerland)* **2015**, *15*, 14356–14369, doi:10.3390/s150614356.
18. Chen, H.; Qi, X.; Ma, J.; Zhang, C.; Feng, H.; Yao, M. Breath-borne VOC Biomarkers for COVID-19. *medRxiv* **2020**, doi:10.1101/2020.06.21.20136523.
19. Levitzky, M.G. Chapter 3. Alveolar Ventilation. *Pulm. Physiol.* **8e** **2013**.
20. Miekisch, W.; Schubert, J.K.; Noeldge-Schomburg, G.F.. Diagnostic potential of breath analysis - focus on volatile organic compounds. *Clin. Chim. Acta* **2004**, *347*, 25–39, doi:10.1016/j.cccn.2004.04.023.
21. Kwiatkowski, A.; Chludziński, T.; Saidi, T.; Welearegay, T.G.; Jaimes-Mogollón, A.L.; El Bari, N.; Borys, S.; Bouchikhi, B.; Smulko, J.; Ionescu, R. Assessment of electronic sensing techniques for the rapid identification of alveolar echinococcosis through exhaled breath analysis. *Sensors (Switzerland)* **2020**, *20*, doi:10.3390/s20092666.
22. Jia, Z.; Patra, A.; Kutty, V.K.; Venkatesan, T. Critical review of volatile organic compound analysis in breath and in vitro cell culture for detection of lung cancer. *Metabolites* **2019**.
23. Haick, H.; Broza, Y.Y.; Mochalski, P.; Ruzsanyi, V.; Amann, A. Assessment, origin, and implementation of breath volatile cancer markers. *Chem. Soc. Rev.* **2014**.
24. Zhou, W.; Huang, C.; Zou, X.; Lu, Y.; Shen, C.; Ding, X.; Wang, H.; Jiang, H.; Chu, Y. Exhaled breath online measurement for cervical cancer patients and healthy subjects by proton transfer reaction mass spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.* **2017**, doi:10.1007/s00216-017-0498-0.
25. NIOX® FeNO, dostępne na: <https://www.circassia.com/products/>.
26. Goldoni, M.; Caglieri, A.; Andreoli, R.; Poli, D.; Manini, P.; Vettori, M.V.; Corradi, M.; Mutti, A. Influence of condensation temperature on selected exhaled breath parameters. *BMC Pulm. Med.* **2005**, doi:10.1186/1471-2466-5-10.
27. Sukul, P.; Trefz, P.; Kamysek, S.; Schubert, J.K.; Miekisch, W. Instant effects of changing body positions on compositions of exhaled breath. *J. Breath Res.* **2015**, doi:10.1088/1752-7155/9/4/047105.
28. Cope, K.A. Effects of ventilation on the collection of exhaled breath in humans. *J. Appl. Physiol.* **2004**, *96*, 1371–1379, doi:10.1152/jappphysiol.01034.2003.
29. Hunt J., B.R. *Instrumentation for Monitoring Breath Biomarkers for Diagnosis of Health Condition Toxic Exposure and Disease*; 2007;
30. Sukul, P.; Oertel, P.; Kamysek, S.; Trefz, P. Oral or nasal breathing? Real-time effects of switching sampling route onto exhaled VOC concentrations. *J. Breath Res.* **2017**, doi:10.1088/1752-7163/aa6368.

31. Beauchamp, J.D.; Pleil, J.D. Simply breath-taking? Developing a strategy for consistent breath sampling. *J. Breath Res.* **2013**, *7*, doi:10.1088/1752-7155/7/4/042001.
32. Phillips, M. Method for the collection and assay of volatile organic compounds in breath. *Anal. Biochem.* **1997**, doi:10.1006/abio.1997.2069.
33. Lees, T.; Shad-Kaneez, F.; Simpson, A.M.; Nassif, N.T.; Lin, Y.; Lal, S. Heart Rate Variability as a Biomarker for Predicting Stroke, Post-stroke Complications and Functionality. *Biomark. Insights* 2018.
34. Bikov, A.; Hernadi, M.; Korosi, B.Z.; Kunos, L.; Zsamboki, G.; Sutto, Z.; Tarnoki, A.D.; Tarnoki, D.L.; Losonczy, G.; Horvath, I. Expiratory flow rate, breath hold and anatomic dead space influence electronic nose ability to detect lung cancer. *BMC Pulm. Med.* **2014**, doi:10.1186/1471-2466-14-202.
35. Lourenço, C.; Turner, C. Breath Analysis in Disease Diagnosis: Methodological Considerations and Applications. *Metabolites* **2014**, *4*, 465–498, doi:10.3390/metabo4020465.
36. Ghimenti, S.; Lomonaco, T.; Bellagambi, F.G.; Tabucchi, S.; Onor, M.; Trivella, M.G.; Ceccarini, A.; Fuoco, R.; Di Francesco, F. Comparison of sampling bags for the analysis of volatile organic compounds in breath. *J. Breath Res.* **2015**, doi:10.1088/1752-7155/9/4/047110.
37. Thrall, K.D.; Callahan, P.J.; Weitz, K.K.; Edwards, J.A.; Brinkman, M.C.; Kenny, D. V Design and Evaluation of a Breath-Analysis System for Biological Monitoring of Volatile Compounds. *AIHAJ - Am. Ind. Hyg. Assoc.* **2001**, *62*, 28–35, doi:10.1080/15298660108984606.
38. Lindstrom, A.B.; Pleil, J.D. A review of the USEPA's single breath canister (SBC) method for exhaled volatile organic biomarkers. *Biomarkers* **2002**, *7*, 189–208, doi:10.1080/13547500110119750.
39. Mochalski, P.; Wzorek, B.; Śliwka, I.; Amann, A. Suitability of different polymer bags for storage of volatile sulphur compounds relevant to breath analysis. *J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* **2009**, doi:10.1016/j.jchromb.2008.12.003.
40. Španěl, P.; Smith, D. Comment on „Influences of mixed expiratory sampling parameters on exhaled volatile organic compound concentrations”. *J. Breath Res.* 2011.
41. Casati, A.; Gallioli, G.; Passaretta, R.; Scandroglio, M.; Bignami, E.; Torri, G. End tidal carbon dioxide monitoring in spontaneously breathing, nonintubated patients. A clinical comparison between conventional sidestream and microstream capnometers. *Minerva Anesthesiol.* **2001**.
42. Byun, H.-G.; Yu, J.-B.; Huh, J.-S.; Lim, J.-O. Exhaled Breath Analysis System based on Electronic Nose Techniques Applicable to Lung Diseases. *Hanyang Med. Rev.* **2014**, doi:10.7599/hmr.2014.34.3.125.
43. Anaesthesia UK, dostępne na: <http://www.anaesthesiauk.com/article.aspx?articleid=100023>.
44. Schubert, J.K.; Esteban-Loos, I.; Geiger, K.; Guttman, J. In vivo evaluation of a new method for chemical analysis of volatile components in the respiratory gas of mechanically ventilated patients. *Technol. Health Care* **1999**.

45. Shorter, J.H.; Nelson, D.D.; McManus, J.B.; Zahniser, M.S.; Sama, S.R.; Milton, D.K. Clinical study of multiple breath biomarkers of asthma and COPD (NO, CO<sub>2</sub>, CO and N<sub>2</sub>O) by infrared laser spectroscopy. *J. Breath Res.* **2011**, *5*, doi:10.1088/1752-7155/5/3/037108.
46. Di Francesco, F.; Loccioni, C.; Fioravanti, M.; Russo, A.; Pioggia, G.; Ferro, M.; Roehrer, I.; Tabucchi, S.; Onor, M. Implementation of Fowler's method for end-tidal air sampling. *J. Breath Res.* **2008**, *2*, doi:10.1088/1752-7155/2/3/037009.
47. Saladin, K.S. *Saladin: Anatomy & Physiology: The Unity of Form and Function*; 2003; ISBN 9780072919264.
48. Mašanauskiene, E.; Sadauskas, S.; Naudžiunas, A.; Unikauskas, A.; Stankevičius, E. Impedance plethysmography as an alternative method for the diagnosis of peripheral arterial disease. *Med.* **2014**, doi:10.1016/j.medici.2014.11.007.
49. Chen, C.H.; Huang, W.T.; Tan, T.H.; Chang, C.C.; Chang, Y.J. Using K-nearest neighbor classification to diagnose abnormal lung sounds. *Sensors (Switzerland)* **2015**, doi:10.3390/s150613132.
50. Santos, P.; Vassilenko, V.; Vasconcelos, F.; Gil, F. Implementation of Machine Learning for Breath Collection. In Proceedings of the BIODEVICES 2017 - 10th International Conference on Biomedical Electronics and Devices, Proceedings; Part of 10th International Joint Conference on Biomedical Engineering Systems and Technologies, BIOSTEC 2017; 2017.
51. Miekisch, W.; Kischkel, S.; Sawacki, A.; Liebau, T.; Mieth, M.; Schubert, J.K. Impact of sampling procedures on the results of breath analysis. *J. Breath Res.* **2008**, *2*, doi:10.1088/1752-7155/2/2/026007.
52. Bio-VOC breath sampler, dostępne na: <https://www.markes.com/Products/Sampling-accessories/Sampling/BIO-VOC-breath-sampler.aspx>.
53. Mandy, M.; Cornelia, F.; Malgorzata, L.; Oliver, S.; Achim, S.; Dorothee, S. Volatile organic compounds (VOCs) in exhaled breath of patients with breast cancer in a clinical setting. *Ginekol. Pol.* **2012**, *83*, 730–736.
54. Filipiak, W.; Filipiak, A.; Ager, C.; Wiesenhofer, H.; Amann, A. Optimization of sampling parameters for collection and preconcentration of alveolar air by needle traps. *J. Breath Res.* **2012**, *6*, doi:10.1088/1752-7155/6/2/027107.
55. BreathSpec, dostępne na: <https://www.gas-dortmund.de/index.php?spath=420>.
56. Wang, C.; Ke, C.; Wang, X.; Chi, C.; Guo, L.; Luo, S.; Guo, Z.; Xu, G.; Zhang, F.; Li, E. Noninvasive detection of colorectal cancer by analysis of exhaled breath. *Anal. Bioanal. Chem.* **2014**, doi:10.1007/s00216-014-7865-x.
57. Cheifetz, I.M.; Myers, T.R. Should every mechanically ventilated patient be monitored with capnography from intubation to extubation? *Respir. Care* **2007**, *52*, 423–438.
58. Siobal, M.S. Monitoring Exhaled Carbon Dioxide. *Respir. Care* **2016**, *61*, 1397–1416, doi:10.4187/respcare.04919.

59. Basanta, M.; Koimtzis, T.; Singh, D.; Wilson, I.; Thomas, C.L.P. An adaptive breath sampler for use with human subjects with an impaired respiratory function. *Analyst* **2007**, doi:10.1039/b608608j.
60. Smith, T.C.; Green, A.; Hutton, P. Recognition of cardiogenic artifact in pediatric capnograms. *J. Clin. Monit.* **1994**, doi:10.1007/BF02899514.
61. Grabowska-Polanowska, B.; Faber, J.; Skowron, M.; Miarka, P.; Pietrzycka, A.; Śliwka, I.; Amann, A. Detection of potential chronic kidney disease markers in breath using gas chromatography with mass-spectral detection coupled with thermal desorption method. *J. Chromatogr. A* **2013**, *1301*, 179–189, doi:10.1016/j.chroma.2013.05.012.
62. Schubert, J.K.; Spittler, K.H.; Braun, G.; Geiger, K.; Guttman, J. CO<sub>2</sub>-controlled sampling of alveolar gas in mechanically ventilated patients. *J. Appl. Physiol.* **2001**, *90*, 486–492, doi:10.1152/jappl.2001.90.2.486.
63. Singh, O.P.; Howe, T.A.; Malarvili, M.B. Real-time human respiration carbon dioxide measurement device for cardiorespiratory assessment. *J. Breath Res.* **2018**, *12*, doi:10.1088/1752-7163/aa8dbd.
64. Beaver, W.L.; Wasserman, K.; Whipp, B.J. A new method for detecting anaerobic threshold by gas exchange. *J. Appl. Physiol.* **2016**, *121*, 2020–2027, doi:10.1152/jappl.1986.60.6.2020.
65. Stuart-Andrews, C.R.; Kelly, V.J.; Sands, S.A.; Lewis, A.J.; Ellis, M.J.; Thompson, B.R. Automated detection of the phase III slope during inert gas washout testing. *J. Appl. Physiol.* **2012**, *112*, 1073–1081, doi:10.1152/jappphysiol.00372.2011.
66. Palaniappan, R.; Sundaraj, K.; Sundaraj, S.; Huiraj, N.; Revadi, S.S. A novel approach to detect respiratory phases from pulmonary acoustic signals using normalised power spectral density and fuzzy inference system. *Clin. Respir. J.* **2016**, doi:10.1111/crj.12250.
67. Palaniappan, R.; Sundaraj, K.; Sundaraj, S. Adaptive neuro-fuzzy inference system for breath phase detection and breath cycle segmentation. *Comput. Methods Programs Biomed.* **2017**, doi:10.1016/j.cmpb.2017.04.013.
68. Palaniappan, R.; Sundaraj, K.; Nabi, F.G. An Overview of Breath Phase Detection – Techniques & Applications. *J. Telecommun. Electron. Comput. Eng.* **2015**, *10*, 33–36.
69. Bozic, I.; Klisic, D.; Savic, A. Detection of breathing phases. *Serbian J. Electr. Eng.* **2011**, *6*, 389–398, doi:10.2298/sjee0903389b.
70. Huq, S.; Moussavi, Z. Acoustic breath-phase detection using tracheal breath sounds. *Med. Biol. Eng. Comput.* **2012**, doi:10.1007/s11517-012-0869-9.
71. Huq, S.; Moussavi, Z. Automatic breath phase detection using only tracheal sounds. In Proceedings of the 2010 Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society, EMBC'10; 2010.
72. Schubert, J.K.; Spittler, K.-H.; Braun, G.; Geiger, K.; Guttman, J. CO<sub>2</sub>-controlled sampling of alveolar gas in mechanically ventilated patients CO<sub>2</sub>-controlled sampling of alveolar gas in

- mechanically ventilated patients. *J. Appl. Physiol.* **2006**, doi:8750-7587/01.
73. Marchenko, D.; Mandon, J.; Cristescu, S.M.; Merkus, P.J.F.M.; Harren, F.J.M. Quantum cascade laser-based sensor for detection of exhaled and biogenic nitric oxide. *Appl. Phys. B Lasers Opt.* **2013**, doi:10.1007/s00340-013-5341-5.
  74. Mochalski, P.; King, J.; Klieber, M.; Unterkofler, K.; Hinterhuber, H.; Baumann, M.; Amann, A. Blood and breath levels of selected volatile organic compounds in healthy volunteers. *Analyst* **2013**, doi:10.1039/c3an36756h.
  75. Boshier, P.R.; Marczin, N.; Hanna, G.B. Repeatability of the measurement of exhaled volatile metabolites using selected ion flow tube mass spectrometry. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2010**, doi:10.1016/j.jasms.2010.02.008.
  76. Yaron, M.; Padyk, P.; Hutsinpillier, M.; Cairns, C.B. Utility of the expiratory capnogram in the assessment of bronchospasm. *Ann. Emerg. Med.* **1996**, *28*, 403–407, doi:10.1016/S0196-0644(96)70005-7.
  77. Nik Hisamuddin, N.A.R.; Rashidi, A.; Chew, K.S.; Kamaruddin, J.; Idzwan, Z.; Teo, A.H. Correlations between capnographic waveforms and peak flow meter measurement in emergency department management of asthma. *Int. J. Emerg. Med.* **2009**, doi:10.1007/s12245-009-0088-9.
  78. Herry, C.L.; Townsend, D.; Green, G.C.; Bravi, A.; Seely, A.J.E. Segmentation and classification of capnograms: Application in respiratory variability analysis. *Physiol. Meas.* **2014**, *35*, 2343–2358, doi:10.1088/0967-3334/35/12/2343.
  79. Nieman, G.F.; Satalin, J.; Andrews, P.; Aiash, H.; Habashi, N.M.; Gatto, L.A. Personalizing mechanical ventilation according to physiologic parameters to stabilize alveoli and minimize ventilator induced lung injury (VILI). *Intensive Care Med. Exp.* **2017**, *5*, 1–21, doi:10.1186/s40635-017-0121-x.
  80. Manifold, C.A.; Davids, N.; Villers, L.C.; Wampler, D.A. Capnography for the nonintubated patient in the emergency setting. *J. Emerg. Med.* **2013**, *45*, 626–632, doi:10.1016/j.jemermed.2013.05.012.
  81. Verscheure, S.; Massion, P.B.; Verschuren, F.; Damas, P.; Magder, S. Volumetric capnography: Lessons from the past and current clinical applications. *Crit. Care* **2016**, *20*, 1–9, doi:10.1186/s13054-016-1377-3.
  82. Tusman, G.; Gogniat, E.; Bohm, S.H.; Scandurra, A.; Suarez-Sipmann, F.; Torroba, A.; Casella, F.; Giannasi, S.; Roman, E.S. Reference values for volumetric capnography-derived non-invasive parameters in healthy individuals. *J. Clin. Monit. Comput.* **2013**, doi:10.1007/s10877-013-9433.
  83. Doorduyn, J.; Nollet, J.L.; Vugts, M.P.A.J.; Roesthuis, L.H.; Akankan, F.; van der Hoeven, J.G.; van Hees, H.W.H.; Heunks, L.M.A. Assessment of dead-space ventilation in patients with acute respiratory distress syndrome: A prospective observational study. *Crit. Care* **2016**, doi:10.1186/s13054-016-1311-8.
  84. Anderson, J.C.; Hlastala, M.P. Breath tests and airway gas exchange. *Pulm. Pharmacol. Ther.*

- 2007**, 20, 112–117, doi:10.1016/j.pupt.2005.12.002.
85. Howe, T.A.; Jaalam, K.; Ahmad, R.; Sheng, C.K.; Nik Ab Rahman, N.H. The use of end-tidal capnography to monitor non-intubated patients presenting with acute exacerbation of asthma in the emergency department. *J. Emerg. Med.* **2011**, 41, 581–589, doi:10.1016/j.jemermed.2008.10.017.
  86. Böhm, S.H.; Maisch, S.; Von Sandersleben, A.; Thamm, O.; Passoni, I.; Arca, J.M.; Tusman, G. The effects of lung recruitment on the phase III slope of volumetric capnography in morbidly obese patients. *Anesth. Analg.* **2009**, doi:10.1213/ane.0b013e31819bcbb5.
  87. Ghosh, A.K. Anaerobic threshold: Its concept and role in endurance sport. *Malaysian J. Med. Sci.* 2004.
  88. Suarez-Sipmann, F.; Bohm, S.H.; Tusman, G. Volumetric capnography: The time has come. *Curr. Opin. Crit. Care* 2014.
  89. Min, K.; Wada, S. A mathematical model for the first derivative wave analysis of the volumetric capnogram from the perspective of erythrocyte motion profiles. *Heliyon* **2019**, doi:10.1016/j.heliyon.2019.e01824.
  90. Kazemi, M.; Krishnan, M.B.; Howe, T.A. Frequency analysis of capnogram signals to differentiate asthmatic and non-asthmatic conditions using radial basis function neural networks. *Iran. J. Allergy, Asthma Immunol.* **2013**.
  91. Massaroni, C.; Lopes, D.S.; Lo Presti, D.; Schena, E.; Silvestri, S. Contactless monitoring of breathing patterns and respiratory rate at the pit of the neck: A single camera approach. *J. Sensors* **2018**, doi:10.1155/2018/4567213.
  92. Kliche, K.; Billat, S.; Hedrich, F.; Ziegler, C.; Zengerle, R. Sensor for gas analysis based on thermal conductivity, specific heat capacity and thermal diffusivity. In Proceedings of the Proceedings of the IEEE International Conference on Micro Electro Mechanical Systems (MEMS); 2011.
  93. Cai, Z.; Van Veldhoven, R.H.M.; Falepin, A.; Suy, H.; Sterckx, E.; Makinwa, K.A.A.; Pertijs, M.A.P. An integrated carbon dioxide sensor based on ratiometric thermal-conductivity measurement. In Proceedings of the 2015 Transducers - 2015 18th International Conference on Solid-State Sensors, Actuators and Microsystems, TRANSDUCERS 2015; 2015.
  94. AWM5000 Series Microbridge Mass Airflow Sensors, dostępne na: <https://sensing.honeywell.com/sensors/airflow-sensors/AWM5000-series>.
  95. Thermal Mass Flow Meters Measuring Carbon Dioxide (CO<sub>2</sub>), dostępne na: <https://www.thermalinstrument.com/news/thermal-mass-flow-meters-measuring-carbon-dioxide-co2/>.
  96. Airflow Sensors Microbridge Mass Airflow AWM Series. *Control* **2000**.
  97. Sadaoka, Y.; Sakai, Y.; Manabe, T. Detection of CO<sub>2</sub> using a solid-state electrochemical sensor based on sodium ionic conductors. *Sensors Actuators B. Chem.* **1993**, doi:10.1016/0925-4005(93)85044-B.

98. Yoon, H.J.; Jun, D.H.; Yang, J.H.; Zhou, Z.; Yang, S.S.; Cheng, M.M.C. Carbon dioxide gas sensor using a graphene sheet. *Sensors Actuators, B Chem.* **2011**, doi:10.1016/j.snb.2011.03.035.
99. Pre-calibrated module for carbon dioxide CDM4161, dostępne na:  
<http://www.apollounion.com/en/p-Pre-calibrated-module-for-carbon-dioxide-CDM4161-208.html>.
100. Solid State Carbon Dioxide Sensor (CO2 Sensor) - CO2-D1, dostępne na:  
[https://www.isweek.com/product/solid-state-carbon-dioxide-sensor-co2-sensor-co2-d1\\_1785.html](https://www.isweek.com/product/solid-state-carbon-dioxide-sensor-co2-sensor-co2-d1_1785.html).
101. Elektrozawory do zastosowań medycznych, dostępne na: <https://ph.parker.com/pl/pl/valves>.
102. Boudaden, J.; Klumpp, A.; Eisele, I.; Kutter, C. Smart capacitive CO2 sensor. *Proc. IEEE Sensors* **2017**, 1–5, doi:10.1109/ICSENS.2016.7808664.
103. Chapelle, A.; Oudrhiri-Hassani, F.; Presmanes, L.; Barnabé, A.; Tailhades, P. CO2 sensing properties of semiconducting copper oxide and spinel ferrite nanocomposite thin film. *Appl. Surf. Sci.* **2010**, doi:10.1016/j.apsusc.2010.02.079.
104. Revsbech, N.P.; Garcia-Robledo, E.; Sveegaard, S.; Andersen, M.H.; Gothelf, K.V.; Larsen, L.H. Amperometric microsensor for measurement of gaseous and dissolved CO2. *Sensors Actuators, B Chem.* **2019**, doi:10.1016/j.snb.2018.12.038.
105. Zosel, J.; Oelner, W.; Decker, M.; Gerlach, G.; Guth, U. The measurement of dissolved and gaseous carbon dioxide concentration. *Meas. Sci. Technol.* 2011.
106. Carbon Dioxide Combination Ion Selective Electrode (ISE), dostępne na:  
<https://www.hannainst.com/hi4105-carbon-dioxide-combination-ion-selective-electrode.html>.
107. Orion™ 9502BNWP Carbon Dioxide Electrode, dostępne na:  
<https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/9502BNWP#/9502BNWP>.
108. Charpentier, F.; Nazabal, V.; Troles, J.; Coulombier, Q.; Brilland, L.; Boussard-Plédel, C.; Nemeč, P.; Lhermite, H.; Charrier, J.; Smektala, F.; i in. Infrared optical sensor for CO 2 detection. In Proceedings of the Optical Sensors 2009; 2009.
109. Introduction to Gas Sensing Using Non-Dispersive Infrared (NDIR), dostępne na:  
<http://www.azosensors.com/article.aspx?ArticleID=544>.
110. CO2 Sensors from E+E Elektronik, dostępne na: <https://www.epluse.com/en/products/co2-measurement/co2-sensor/>.
111. SprintIR®-R CO2 Sensor, dostępne na: <https://www.sstsensing.com/product/sprintir-co2-sensor/>.
112. Singh, O.P.; Malarvili, M.B. Review of infrared carbon-dioxide sensors and capnogram features for developing asthma-monitoring device. *J. Clin. Diagnostic Res.* 2018.
113. **Prokopiuk, A.** Optoelectronics sensors of hydrocarbons based on NDIR technique. In Proceedings of the Proceedings of SPIE - The International Society for Optical Engineering; 2017; T. 10455.
114. Introduction to Gas Sensing Using Non-Dispersive Infrared (NDIR), dostępne na:  
<https://www.azosensors.com/article.aspx?ArticleID=544>.



115. Liu, Y.; Ni, X.; Wu, Y.; Zhang, W. Study on effect of temperature and humidity on the CO<sub>2</sub> concentration measurement. In Proceedings of the IOP Conference Series: Earth and Environmental Science; 2017.
116. Lawal, O.; Ahmed, W.M.; Nijssen, T.M.E.; Goodacre, R.; Fowler, S.J. Exhaled breath analysis: a review of ‘breath-taking’ methods for off-line analysis. *Metabolomics* **2017**, *13*, 1–16, doi:10.1007/s11306-017-1241-8.
117. Kim, K.H.; Jahan, S.A.; Kabir, E. A review of breath analysis for diagnosis of human health. *TrAC - Trends Anal. Chem.* **2012**, *33*, 1–8, doi:10.1016/j.trac.2011.09.013.
118. Santonico, M.; Lucantoni, G.; Pennazza, G.; Capuano, R.; Galluccio, G.; Roscioni, C.; La Delfa, G.; Consoli, D.; Martinelli, E.; Paolesse, R.; i in. In situ detection of lung cancer volatile fingerprints using bronchoscopic air-sampling. *Lung Cancer* **2012**, doi:10.1016/j.lungcan.2011.12.010.
119. Li, J.; Smeeton, T.M.; Zanolà, M.; Barrett, J.; Berryman-Bousquet, V. A compact breath acetone analyser based on an ultraviolet light emitting diode. *Sensors Actuators, B Chem.* **2018**, *273*, 76–82, doi:10.1016/j.snb.2018.05.114.
120. Steeghs, M.M.L.; Cristescu, S.M.; Munnik, P.; Zanen, P.; Harren, F.J.M. An off-line breath sampling and analysis method suitable for large screening studies. *Physiol. Meas.* **2007**, *28*, doi:10.1088/0967-3334/28/5/005.
121. Schon, S.; Theodore, S.J.; Güntner, A.T. Versatile breath sampler for online gas sensor analysis. *Sensors Actuators, B Chem.* **2018**, *273*, 1780–1785, doi:10.1016/j.snb.2018.07.094.
122. Salvo, P.; Ferrari, C.; Persia, R.; Ghimentì, S.; Lomonaco, T.; Bellagambi, F.; Di Francesco, F. A dual mode breath sampler for the collection of the end-tidal and dead space fractions. *Med. Eng. Phys.* **2015**, doi:10.1016/j.medengphy.2015.03.013.
123. Pennazza, G.; Santonico, M.; Incalzi, R.A.; Scarlata, S.; Chiurco, D.; Vernile, C.; D’Amico, A. Measure chain for exhaled breath collection and analysis: A novel approach suitable for frail respiratory patients. *Sensors Actuators, B Chem.* **2014**, *204*, 578–587, doi:10.1016/j.snb.2014.08.007.
124. Kleeblatt, J.; Schubert, J.K.; Zimmermann, R. Detection of gaseous compounds by needle trap sampling and direct thermal-desorption photoionization mass spectrometry: Concept and demonstrative application to breath gas analysis. *Anal. Chem.* **2015**, doi:10.1021/ac5039829.
125. American Thoracic Society Documents ATS / ERS Recommendations for Standardized Procedures for the Online and Offline Measurement of Exhaled Lower Respiratory Nitric Oxide and Nasal Nitric Oxide, 2005. *Crit. Care Med.* **2005**, *171*, 912–930, doi:10.1038/s41598-018-27545-4.
126. Dweik, R.A.; Boggs, P.B.; Erzurum, S.C.; Irvin, C.G.; Leigh, M.W.; Lundberg, J.O.; Olin, A.; Plummer, A.L.; Taylor, D.R. AMERICAN THORACIC SOCIETY DOCUMENTS-An Official ATS Clinical Practice Guideline: Interpretation of Exhaled Nitric Oxide Levels (FENO) for. *Am.*

- J. Respir. Crit. Care Med.* **2011**, *184*, 1–33, doi:10.1164/rccm.912011ST.
127. ReCIVA® Breath Sampler, dostępne na: <https://www.owlstonemedical.com/products/reciva/>.
  128. Zysense On-Line NO Breath Kit, dostępne na: <http://www.zysense.com/gas-applications/>.
  129. (BET) Breath Analysis, dostępne na: <https://www.ionicon.com/product/accessories/bet>.
  130. BreathX, dostępne na: [http://www.menssanaresearch.com/products\\_breathX\\_Menssana.html](http://www.menssanaresearch.com/products_breathX_Menssana.html).
  131. PAS Technology, dostępne na: <http://www.pas-tec.com/en/sampling-and-analysis/>.
  132. QuinTron Instrument AlveoSampler, dostępne na: <https://www.breathtests.com/breath-test-kits>.
  133. Loccioni Breath Sapler, dostępne na: <https://www.loccioni.com/en/>.
  134. Breath Diagnostics - Onebreath, dostępne na: <http://www.breathdiagnosticsinc.com/>.
  135. SUPER SESI, dostępne na: <https://www.fossiliontech.com/breath-analysis>.
  136. GLUCIAR, dostępne na: <https://www.newenglandbreath.com/gluciar>.
  137. Gastric Emptying Breath Test, dostępne na: <https://cairndiagnostics.com/cairn-gastric-emptying-breath-test/>.
  138. AmBeR, dostępne na: <https://www.breathdx.com/solutions/amber/>.
  139. Breathtec, dostępne na: <http://breathtecbiomedical.com/>.
  140. Syft, dostępne na: <https://www.syft.com/industries/breath-research/>.
  141. FENO offline collection kit, dostępne na: <http://www.ecomedics.com/index.php?id=22>.
  142. NObreath, dostępne na: <https://www.bedfont.com/shop/nobreath/nobreath-feno-monitor>.
  143. Gastro+, dostępne na: <https://www.bedfont.com/shop/gastrolyzer/gastro>.
  144. ToxCO, dostępne na: <https://www.bedfont.com/shop/toxco>.
  145. GastroCH4ECK, dostępne na: <https://www.bedfont.com/shop/gastrolyzer/GastroCH4ECK>.
  146. NEPHROLUX, dostępne na: <http://www.pranalytica.com/products-services/nephrolux.php>.
  147. RTubeVOC, dostępne na: <https://respiratoryresearch.com/rtube-voc/>.
  148. *Sievers Nitric Oxide Analyzer NOA 280i: Operation and Maintenance Manual*; Technologies, GE Water & Process; 2010;
  149. *NObreath User manual*; Bedfont® Scientific Ltd.; 2018;
  150. Francescato, M.P.; Thieschäfer, L.; Cettolo, V.; Hoffmann, U. Comparison of different breath-by-breath gas exchange algorithms using a gas exchange simulation system. *Respir. Physiol. Neurobiol.* **2019**, doi:10.1016/j.resp.2019.04.009.
  151. Harren, F.J.M.; Cristescu, S.M. Photoacoustic Spectroscopy in Trace Gas Monitoring. *W Encyclopedia of Analytical Chemistry*; 2019.
  152. Hibbard, T.; Killard, A.J. Breath ammonia levels in a normal human population study as determined by photoacoustic laser spectroscopy. *J. Breath Res.* **2011**, *5*, 1–18, doi:10.1088/1752-7155/5/3/037101.
  153. Mikołajczyk, J.; Wojtas, J.; Bielecki, Z.; Stacewicz, T.; Szabra, D.; Magryta, P.; **Prokopiuk, A.**; Tkacz, A.; Panek, M. System of optoelectronic sensors for breath analysis. *Metrol. Meas. Syst.* **2016**, *23*, doi:10.1515/mms-2016-0030.

154. Silkoff, P.E.; Sylvester, J.T.; Zamel, N.; Permutt, S. Airway nitric oxide diffusion in asthma: Role in pulmonary function and bronchial responsiveness. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **2000**, doi:10.1164/ajrccm.161.4.9903111.
155. Silkoff, P.E.; Mcclean, P.A.; Slutsky, A.S.; Furlott, H.G.; Hoffstein, E.; Wakita, S.; Chapman, K.R.; Szalai, J.P.; Zamel, N. Marked flow-dependence of exhaled nitric oxide using a new technique to exclude nasal nitric oxide. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **1997**, doi:10.1164/ajrccm.155.1.9001322.
156. Perry's chemical engineers' handbook. *Choice Rev. Online* **2008**, doi:10.5860/choice.45-4393.
157. Liou, K.N. *An Introduction to Atmospheric Radiation (Second Edition)*; 2002; ISBN 0080491677.
158. Park, J.S.; Cho, H.C.; Yi, S.H. NDIR CO<sub>2</sub> gas sensor with improved temperature compensation. In Proceedings of the Procedia Engineering; 2010.
159. Di Bartolomeo, E.; Traversa, E.; Montanaro, L.; Aono, H.; Sadaoka, Y. Influence of humidity on electrochemical CO<sub>2</sub> sensors based on sol-gel processed NASICON with new compositions. *J. Sol-Gel Sci. Technol.* **2000**, doi:10.1023/A:1008719801695.
160. Kim, J.; Yi, S. Effects of Temperature and Humidity on NDIR CO<sub>2</sub> Gas Sensor. *J. Sens. Sci. Technol.* **2017**, doi:10.5369/jsst.2017.26.3.179.
161. Wang, W.; Lee, K.; Kim, T.; Park, I.; Yang, S. A novel wireless, passive CO<sub>2</sub> sensor incorporating a surface acoustic wave reflective delay line. *Smart Mater. Struct.* **2007**, doi:10.1088/0964-1726/16/4/053.
162. Pantò, F.; Leonardi, S.G.; Fazio, E.; Frontera, P.; Bonavita, A.; Neri, G.; Antonucci, P.; Neri, F.; Santangelo, S. CO<sub>2</sub> sensing properties of electro-spun Ca-doped ZnO fibres. *Nanotechnology* **2018**, doi:10.1088/1361-6528/aac27c.
163. Jasik, A. Spirometry in general practice. *Postępy Nauk Med.* **2007**, *4*, 125–129.
164. Ziółkowska-Graca, B. Spirometria praktycznie-jak wykorzystac badania spirometryczne w diagnostyce i leczeniu chorób dróg oddechowych? *Pediatr. i Med. Rodz.* **2013**.
165. Szabra, D.; **Prokopiuk, A.**; Bielecki, Z.; Zając, A.; Majsterek, D. System kondycjonowania próbek gazowych do optoelektronicznego sensora markerów chorobowych. *Przegląd Elektrotechniczny* **2015**, *R. 91, nr*, 178–180.
166. Henderson, B.; Khodabakhsh, A.; Metsälä, M.; Ventrillard, I.; Schmidt, F.M.; Romanini, D.; Ritchie, G.A.D.; te Lintel Hekkert, S.; Briot, R.; Risby, T.; i in. Laser spectroscopy for breath analysis: towards clinical implementation. *Appl. Phys. B Lasers Opt.* **2018**, doi:10.1007/s00340-018-7030-x.
167. Bosch Sensortec - BMP280, dostępne na: [https://www.bosch-sensortec.com/bst/products/all\\_products/bmp280](https://www.bosch-sensortec.com/bst/products/all_products/bmp280).
168. FS4000 mass flow sensors, dostępne na: <https://www.siargo.us/fs4000-mass-flow-sensors.html>.
169. OriginLab: OriginPro, dostępne na: <https://www.originlab.com/index.aspx?go=Products/Origin>.
170. Camargo, E.G.; Tokuo, S.; Goto, H.; Kuze, N. Nondispersive infrared gas sensor using InSb-based

- photovoltaic-type infrared sensor. *Sensors Mater.* **2014**.
171. PYS 3228 Dual Channel Pyro, dostępne na: <http://www.excelitas.com/Lists/PyroelectricSenors/DispForm.aspx?ID=7>.
  172. Excelitas Pyroelectric Infrared Detectors, dostępne na: <https://www.excelitas.com/product-category/pyroelectric-ir-detectors-and-sensors>.
  173. Complete Gas Sensor Circuit Using Nondispersive Infrared (NDIR), dostępne na: <http://www.analog.com/en/analog-dialogue/articles/complete-gas-sensor-circuit-using-nondispersive-infrared.html>.
  174. Excelitas Thermopile Sensors, dostępne na: <https://www.excelitas.com/product-category/thermopile-detectors-and-sensors>.
  175. PbSe Preamplified Detector User Guide, dostępne na: <https://www.thorlabs.com/thorproduct.cfm?partnumber=PDA20H-EC>.
  176. EOC Infrared Photodiode Detectors, dostępne na: <https://www.eoc-inc.com/mid-ir-led-photoreceivers/infrared-photodiode-detectors/>.
  177. Rogalski, A.; Bielecki, Z. *Detekcja sygnałów optycznych*; PWN Wydawnictwo Naukowe, 2020;
  178. PV-3TE-5, dostępne na: <https://vigo.com.pl/produkty/pv-3te/>.
  179. Cardinale, M. Free Space Optical Systems Engineering: Design and Analysis (Stotts, L.B.) [Book Review]. *IEEE Aerosp. Electron. Syst. Mag.* **2019**, doi:10.1109/maes.2019.2914984.
  180. Richards, P.L. Bolometers for infrared and millimeter waves. *J. Appl. Phys.* **1994**, doi:10.1063/1.357128.
  181. Smith, S.D.; Hardaway, H.R.; Crowder, J.G. Recent developments in the applications of mid-infrared lasers, LEDs, and other solid state sources to gas detection. In Proceedings of the Novel In-Plane Semiconductor Lasers; 2002.
  182. HSL Series IR-Lamps, dostępne na: [https://www.heimanssensor.com/products\\_irsources.php](https://www.heimanssensor.com/products_irsources.php).
  183. ILT's Subminiature T-¾ and T-1 NDIR lamps, dostępne na: <https://www.intl-lighttech.com/instrumentation-sensor-light-sources/subminiature-t-34-and-t-1-ndir-lamps>.
  184. Oshino NDIR high IR output lamps, dostępne na: <https://www.oshinolamps.com/ndir-sensor-lamps.html>.
  185. HSL EMIRS Series IR Sources for broad range Gas Analysis, dostępne na: [https://www.heimanssensor.com/products\\_irsources.php](https://www.heimanssensor.com/products_irsources.php).
  186. Axetris IR sources, dostępne na: <https://www.axetris.com/en/irs/products/emirs50>.
  187. Boston Electronics infrared emitters, dostępne na: <https://www.boselec.com/product-category/infrared-thermal-sources/>.
  188. Hamamatsu MIR-LED, dostępne na: <https://www.hamamatsu.com/eu/en/product/light-and-radiation-sources/led/index.html>.
  189. LED Microsensor NT LLC MID-IR LEDs, dostępne na: <http://lmsnt.com/leds1600-5000/models/>.

190. Microsensor Technology Mid-Infrared Light Emitting Diodes, dostępne na:  
<http://ir.microsensoretech.com/leds.htm>.
191. Electro Optical Components, Inc. Laser Gas Detection Using Tunable Diode Laser Spectrometry (TDLS), dostępne na: <https://www.eoc-inc.com/lasers-ndir-gas-detection/>.
192. Mikołajczyk, J.; Bielecki, Z.; Stacewicz, T.; Smulko, J.; Wojtas, J.; Szabra, D.; Lentka, Ł.; **Prokopiuk, A.**; Magryta, P. Detection of gaseous compounds with different techniques. *Metrol. Meas. Syst.* **2016**, *23*, doi:10.1515/mms-2016-0026.
193. Alpes Lasers High Power Quantum Cascade Lasers, dostępne na:  
<https://www.alpeslasers.ch/?a=28,126,169>.
194. Mid infrared LED L13201-0430M, dostępne na:  
<https://www.hamamatsu.com/jp/en/product/type/L13201-0430M/index.html>.
195. IBSG - LEDs with the narrow spectrum for wavelength range of 2.7 - 4.7 um, dostępne na:  
[http://www.ibsg-st-petersburg.com/led\\_3.html](http://www.ibsg-st-petersburg.com/led_3.html).
196. LED Microsensor NT - Light Emitting Diode for 2800-5000 nm Spectral Range, dostępne na:  
<https://www.eoc-inc.com/mid-ir-led-photoreceivers/light-emitting-diode-for-2800-5000-nm-spectral-range/>.
197. BPF 4260-120 Iridian mid-IR Filter, dostępne na: <https://www.elliotscientific.com/Iridian-BPF-4260-120>.
198. Pannier, E. *Absorption spectra for all HITRAN molecules at 300 K, 1 atm, calculated with RADIS* (<http://radis.github.io/>); 2020;
199. Popov, T.; Dunev, S.; Kralimarkova, T.; DuBuske, L.M. Measurement of Exhaled Breath Temperature to Assess Changes in Airway Inflammation. *J. Allergy Clin. Immunol.* **2006**, doi:10.1016/j.jaci.2005.12.763.
200. Guo, J.Q.; Xu, Y.Z.; Gao, X.R.; Wang, L.; Wang, Z.Y. The impacts of temperature on the absorption spectral lines of carbon monoxide. In Proceedings of the Journal of Physics: Conference Series; 2011.
201. Effros, R.M.; Dunning, M.B.; Biller, J.; Shaker, R. The promise and perils of exhaled breath condensates. *Am. J. Physiol. - Lung Cell. Mol. Physiol.* 2004.
202. HITRAN, dostępne na: <https://www.cfa.harvard.edu/hitran/>.
203. Dhama, P.S.; Chopra, G.; Srivastava, H.N. *Text Book of Biology for Class XII of +2 Stage*; Pradeep Publications, 2017; ISBN 9789386008282.
204. Sensor, T. Datasheet SHT25 Humidity and Temperature Sensor Fully calibrated with 1.8% RH accuracy Digital output , I2C interface Low power consumption Excellent long term stability DFN type package – reflow solderable D0AC4. *Response* **2010**, 1–12.
205. Shibaura Electronics Product Catalogue, dostępne na:  
<https://www.shibauraelectronics.com/products/download.html>.
206. Majdak, M.; Jaremkiwicz, M. The analysis of thermocouple time constants as a function of fluid

- velocity. *Meas. Autom. Monit.* **2016**, *62*, 284–287.
207. Scheenstra, R.J.; Muller, S.H.; Vincent, A.; Ackerstaff, A.H.; Jacobi, I.; Hilgers, F.J.M. A new heat and moisture exchanger for laryngectomized patients: Endotracheal temperature and humidity. *Respir. Care* **2011**, doi:10.4187/respcare.00810.
208. Lausted, C.G.; Johnson, A.T.; Scott, W.H.; Johnson, M.M.; Coyne, K.M.; Coursey, D.C. Maximum static inspiratory and expiratory pressures with different lung volumes. *Biomed. Eng. Online* **2006**, doi:10.1186/1475-925X-5-29.
209. Singh, O.P.; Palaniappan, R.; Malarvili, M. Automatic Quantitative Analysis of Human Respired Carbon Dioxide Waveform for Asthma and Non-Asthma Classification Using Support Vector Machine. *IEEE Access* **2018**, doi:10.1109/ACCESS.2018.2871091.
210. Steven W. Smith Moving Average Filters. W *The Scientist & Engineer's Guide to Digital Signal Processing*; 1997 ISBN 0966017633.
211. OriginLab DataAnalysis: Piecewise Fit, dostępne na:  
<https://www.originlab.com/fileExchange/details.aspx?fid=325> (udostępniono lip 21, 2020).
212. Arduino Nano board, dostępne na: <https://store.arduino.cc/usa/arduino-nano>.
213. Szabra, D.; **Prokopiuk, A.**; Bielecki, Z.; Majsterek, D.; Zając, A. Mikroprocesorowy czujnik CO<sub>2</sub>. *Prz. Elektrotechniczny* **2015**, *91*, 181–183, doi:10.15199/48.2015.09.47.
214. KIN-TEK 491Flex™ System, dostępne na: <https://kin-tek.com/491flex-system/>.
215. Memmert Operating Instruction: Universal Oven, Incubator, Sterilizer. **2015**, 58.
216. ASCO Quick response micro solenoid valve V165V02 Z031C, dostępne na:  
<https://www.emerson.com/documents/automation/datasheet-micro-solenoid-valve-series-v165-asco-en-5377046.pdf>.
217. Intersurgical - Katalog produktów 2011, 88.
218. Sribanurekha, V. Effect of Different Ventilation Conditions on Indoor CO<sub>2</sub> Levels. *Univ. Moratuwa Alumnus* **2016**, 10.
219. GOLDWEI Medical, dostępne na: <http://www.goldwei.com>.
220. Jaffe, M.B. Infrared measurement of carbon dioxide in the human breath: „breathe-through” devices from tyndall to the present day. *Anesth. Analg.* **2008**, *107*, 890–904, doi:10.1213/ane.0b013e31817ee3b3.
221. Cowan, J.M.; Burris, J.M.; Hughes, J.R.; Cunningham, M.P. The relationship of normal body temperature, end-expired breath temperature, and BAC/BrAC ratio in 98 physically fit human test subjects. *J. Anal. Toxicol.* **2010**, doi:10.1093/jat/34.5.238.
222. Soleimanpour, H. Capnography in the Emergency Department. *Emerg. Med. Open Access* **2012**, *02*, 7–10, doi:10.4172/2165-7548.1000e123.
223. Thompson, J.E.; Jaffe, M.B. Capnographic waveforms in the mechanically ventilated patient. *Respir. Care* **2005**, *50*, 100–108.
224. Farish, S.E.; Garcia, P.S. Capnography primer for oral and maxillofacial surgery: Review and

- technical considerations. *J. Anesth. Clin. Res.* 2013.
225. Griffis, C.A. End-tidal CO<sub>2</sub> monitoring during anesthesia. *J. Am. Assoc. Nurse Anesth.* **1986**.
226. Web Plot Digitizer - Web based tool to extract data from plots, images, and maps, dostępne na: <https://automeris.io/WebPlotDigitizer/> (udostępniono lip 21, 2020).
227. Guyton, A.C.; Hall, J.E. *Textbook of Medical Physiology ELEVENTH EDITION*; 2006; ISBN 0721602401.
228. Szabra, D.; **Prokopiuk, A.**; Mikołajczyk, J.; Ligor, T.; Buszewski, B.; Bielecki, Z. Air sampling unit for breath analyzers. *Rev. Sci. Instrum.* **2017**, 88, doi:10.1063/1.4995502.
229. Khan, A.; Staimer, N.; Tjoa, T.; Galassetti, P.; Blake, D.R.; Delfino, R.J. Relations between isoprene and nitric oxide in exhaled breath and the potential influence of outdoor ozone: A pilot study. *J. Breath Res.* **2013**, doi:10.1088/1752-7155/7/3/036007.
230. Amann, A.; Miekisch, W.; Pleil, J.; Risby, T.; Schubert, J. Methodological issues of sample collection and analysis of exhaled breath. *Exhaled Biomarkers* 2010, 96–114.
231. Leco - ChromaTOF Software, dostępne na: <https://www.leco.com/product/chromatof-software>.
232. Amann, A.; Miekisch, W.; Pleil, J.; Risby, T.; Schubert, J. Methodological issues of sample collection and analysis of exhaled breath. W *Exhaled Biomarkers*; 2010.
233. Wang, C.; Mbi, A.; Shepherd, M. A study on breath acetone in diabetic patients using a cavity ringdown breath analyzer: Exploring correlations of breath acetone with blood glucose and glycohemoglobin A1C. *IEEE Sens. J.* **2010**, 10, 54–63, doi:10.1109/JSEN.2009.2035730.
234. Ulanowska, A.; Ligor, T.; Amann, A.; Buszewski, B. Evaluation of septa quality for automatic SPME-GC-MS trace analysis. *J. Chromatogr. Sci.* **2012**, doi:10.1093/chromsci/bmr006.
235. Houeto, P.; Hoffman, J.R.; Got, P.; Dang Vu, B.; Baud, F.J. Acetonitrile as a possible marker of current cigarette smoking. *Hum. Exp. Toxicol.* **1997**, doi:10.1177/096032719701601105.
236. Abbott, S.M.; Elder, J.B.; Španěl, P.; Smith, D. Quantification of acetonitrile in exhaled breath and urinary headspace using selected ion flow tube mass spectrometry. *Int. J. Mass Spectrom.* **2003**, doi:10.1016/S1387-3806(03)00212-4.
237. Gordon, S.M.; Wallace, L.A.; Brinkman, M.C.; Callahan, P.J.; Kenny, D. V. Volatile organic compounds as breath biomarkers for active and passive smoking. *Environ. Health Perspect.* **2002**, doi:10.1289/ehp.02110689.
238. Wang, Z.; Wang, C. Is breath acetone a biomarker of diabetes? A historical review on breath acetone measurements. *J. Breath Res.* 2013.
239. Bielecki, Z.; Stacewicz, T.; Wojtas, J.; Mikołajczyk, J.; Szabra, D.; **Prokopiuk, A.** Selected optoelectronic sensors in medical applications. *Opto-electronics Rev.* 2018.