

# Meetkamer met elektrode voor het meten van de zuurstofopname door cellen

W.A. Mugge, M. Pauw en G.J. Verschragen

Medische Faculteit Leiden, afdeling Fijnmechanica, Fysiologie-Boerhaavekwartier

De opname van zuurstof door cellen is belangrijk voor een groot aantal celfuncties. Een verminderde of verhoogde opname kan in een aantal gevallen diagnostische betekenis hebben.

Voor de vakgroep infectieziekten is een kleine meetkamer ontwikkeld, die de meting van de zuurstofopname door kleine aantallen cellen bij een gedefinieerde zuurstofspanning mogelijk maakt. De commerciële zuurstofmeetkamers zijn vaak te groot om verantwoorde experimenten te verrichten met geringe celaantallen, zoals verkregen worden bij vroeg- en pasgeborenen of bij kleine proefdieren. De meting geschiedt door een in eigen huis ontwikkelde zuurstofelektrode met een diameter van slechts 1 mm; de eigenschappen en de werking daarvan worden nader beschreven.

## Aan de meetkamer gestelde eisen

Bij het ontwerp moest rekening gehouden worden met de eis dat de celsuspensie (vloeistof met cellen) tijdens het experiment zichtbaar blijft, omdat bij het via een capillair inbrengen van de suspensie in de meetkamer luchtbellen ontstaan, die weer weggevangen moeten worden aangezien ze de meting verstoren. Een luchtbel voor de tip van de zuurstofelektrode geeft een totaal andere meetwaarde; tijdens de meting moet dit in de gaten worden gehouden. Voor de wand van de meetkamer komt dus (ondoorzichtig) metaal niet in aanmerking; bovendien kunnen metalen de celwerking beïnvloeden.

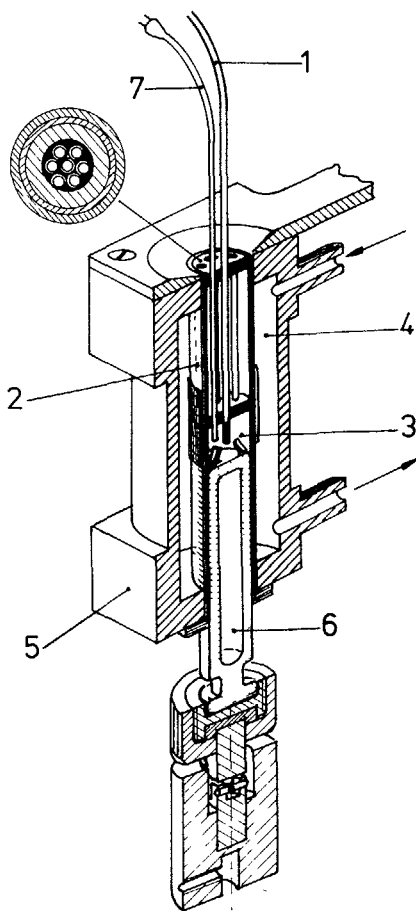
Van belang was ook dat het volume constant blijft tijdens de meting; verder moest dit volume instelbaar zijn van 0,25 ml tot 1,5 ml.

Verder moeten de cellen tijdens het experiment in beweging worden gehouden, de elektrodes moeten eenvoudig in te brengen zijn en het vullen en leegzuigen mag geen problemen opleveren.

## Constructie

Figuur 1 toont de opengewerkte schets van de meetkamer. Deze is opgebouwd uit een glazen spuit van 2 ml waarvan het fronteinde verwijderd is, verbonden aan een glazen cilinder met in boven- en onderzijde zes met glas gesoldeerde capillairen (lengte 25 mm, inwendige diameter 1 mm) waardoor dunne naalden, slangen en elektroden ingebracht kunnen worden. Om de cilinder en de bovenzijde van de spuit wordt een roestvaststalen buis met een kijkgat gelijkmd. Solderen is hier niet mogelijk omdat de zuiger ingeslepen is.

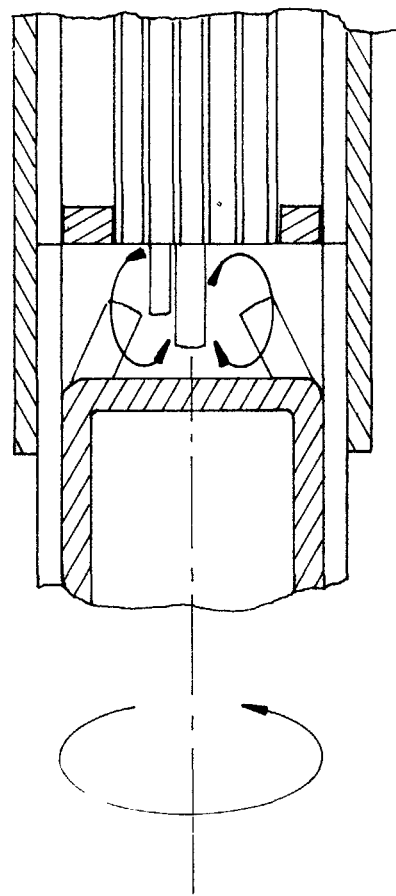
De capillairen die tijdens de meting niet worden gebruikt, worden van een mandarijn voorzien. Het weglekken van de zuurstof wordt door de weglengte van de capillairen tot een minimum beperkt.



Figuur 1 Opengewerkte schets van de meetkamerconstructie. 1 zuurstofmeetelektrode; 2 verlengde spuit van 2 ml; 3 meetkamer; 4 water; 5 mantel; 6 zuiger; 7 pH elektrode

De zuiger wordt geroteerd door een kleine DC-motor (fabrikaat Maxon), welke op zijn beurt weer verbonden is met een verticale geleider, zodat de zuiger ook op en neer bewogen kan worden.

Bovenop de zuiger zijn twee glazen plaatjes gelijkmd met TORR SEAL, bekend uit de vacuümtechniek. Een lijm die zich uitstekend aan glas verbindt; na proeven is gebleken dat deze lijm niet toxisch is. De stand van de plaatjes is zodanig dat de stroming die door de roterende zuiger ontstaat naar de elektrode-tip gericht is. De plaatjes zijn zover mogelijk naar buiten opgesteld opdat de elektrodepunt niet geraakt wordt; zie figuur 2.



Figuur 2 De meetkamer. Duidelijk zichtbaar zijn hier: de spuit en zijn verlenging omsloten door de roestvaststalen buis, de zuiger (die in rotatie wordt gebracht) met erop twee plaatjes die voor de gewenste stroming van de suspensie naar de elektrodetip zorgen.

De totale spuit is tenslotte omgeven door een watermantel die tot iedere gewenste temperatuur via een thermostaatbad te verwarmen is; meestal is dit 37° C.

Voor de mantel is PMMA gekozen omdat het transparant is en isoleert. In eerste instantie was voor de koppeling motoras-zuiger een eenvoudige trillingdemper gebruikt. Deze bleek de zuiger bij het draaien iets omhoog of omlaag te trekken, waardoor het volume meetbaar ging afwijken. Omdat de rondloopnauwkeurigheid van de zuiger niet goed was, moest er een pasring aangeliemd worden; zie de onderzijde van figuur 1.

### De zuurstofelektrode

Met de elektrode wordt de zuurstofspanning van de vloeistof in de meetkamer op polarografische wijze gemeten. Dat wil zeggen dat tussen een platina draadkathode en een zilveranode een elektrisch spanningsverschil wordt aangebracht waardoor zuurstofmoleculen aan het platina-oppervlak van extra elektronen voorzien worden. De stroom die dientengevolge daarvan door de elektrode gaat lopen wordt grotendeels bepaald door de zuurstofspanning van de te meten vloeistof. Het is ook mogelijk om verscheidene miniaturiseerde elektroden in de meetkamer aan te brengen, zodat bijvoorbeeld de zuurgraad van de suspensie tegelijkertijd met de zuurstofopname van de cellen gemeten kan worden.

De unieke elektrode die voor deze meetkamer wordt gebruikt, is al een aantal jaren geleden ontwikkeld voor een werkgroep op het Fysiologische laboratorium die onderzoek doet op het gebied van de ademhalingsregulatie. Daarvoor moet direct gemeten worden in de bloedbaan van kleine proefdieren. Om de gevoeligheid van het ademhalingsregelsysteem voor CO<sub>2</sub> tijdens zuurstofgebrek te meten, moet daar de P<sub>O<sub>2</sub></sub> waarde van het bloed constant blijven.

Verschillende werkgroepen binnen en buiten het laboratorium doen met de elektrode al jaren metingen met succes, omdat zijn stabiliteit zeer groot is.

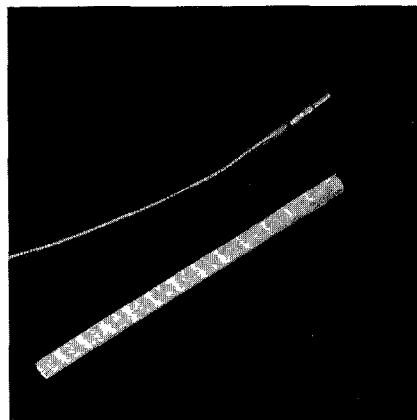
Figuur 3 geeft een indruk van de afmetingen van de elektrode en figuur 4 toont zijn opbouw op schematische wijze weergegeven, waarvan de volgende details interessant zijn om te vermelden.

De anodestroomgeleider en de elektrische afscherming zijn gemaakt van een opgerolde zilveren band onder de nylon slang (niet getekend). De kathode van

de elektrode bestaat uit een met glas geïsoleerde platinadraad met een diameter van 50 µm. De voorkant van de elektrode wordt bedekt met een membraan dat van verschillende dikte en materiaal kan zijn. De standaard die gebruikt wordt is polypropyleen van 25 µm dik. De meetsnelheid van de elektrode is afhankelijk van het type materiaal en de dikte.

De polarisatiespanning bedraagt 0,7 V. De stroom, welke de output van de elektrode is, wordt veroorzaakt door de reductie van zuurstof en is een functie van de zuurstofdruk P<sub>O<sub>2</sub></sub>, de temperatuur en de doorlaatbaarheid van het membraan voor zuurstof volgens de formule:

$$i_e = k \cdot P_{O_2} \cdot e^{-E/RT}$$



Figuur 3 De figuur geeft een indruk van de grootte van de zuurstofelektrode

waarin:

$i_e$  = de stroom tussen anode en kathode (µA);

$k$  = constante afhankelijk van het elektrode-oppervlak;

$E$  = activerende energie voor het doorlatingsproces van zuurstof door het membraan (K.J/mol);

$R$  = universele gasconstante (8,314 J/K.mol);

$T$  = thermodynamische temperatuur (K).

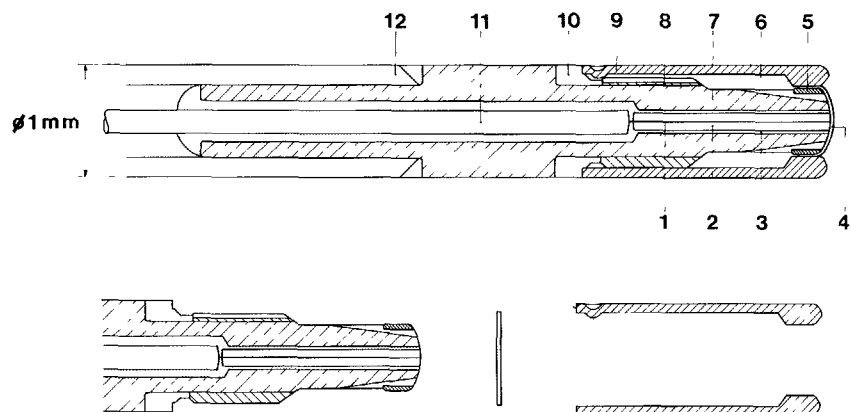
Voor de elektrode is gebruikt  $E = 3684$  K.J/mol. Na versterking wordt het elektrodesignaal digitaal afgebeeld of geregistreerd.

Figuur 5 toont stroom-spanningscurven voor een aantal zuurstofdrukken.

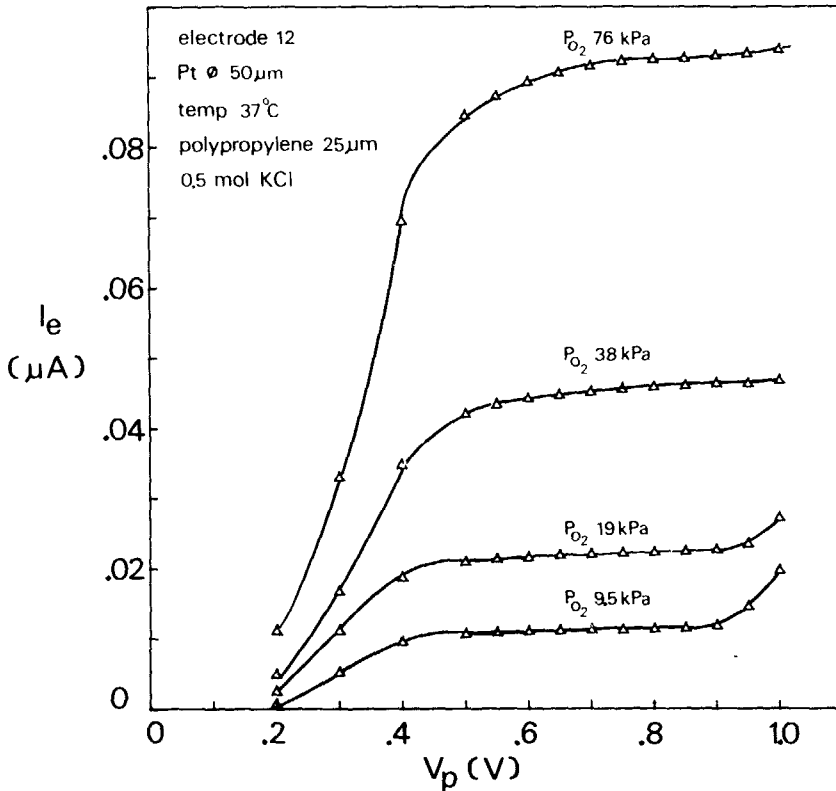
De commercieel verkrijgbare, via ets-technieken vervaardigde elektroden zijn soms wel kleiner dan 1 mm in diameter, maar verre van constant. Ze zijn wel goed te gebruiken voor klinische toepassingen, waar vaak alleen de vraag "wel of geen zuurstof" van belang is. Op de huid geplaatste, grotere elektroden, worden ook veel gebruikt. Deze zijn echter onbruikbaar voor experimenten die vaak lang duren en waarbij juist de meetwaarde de interessante maat is voor de experimenten.

Een groot voordeel van de ontwikkelde elektrode is dat de onderzoeker zelf het membraan kan verwisselen, waardoor het toepassingsgebied groter wordt. De gemiddelde levensduur van de 1 mm-elektrode blijkt circa acht jaar te zijn.

Over de hele wereld wordt veel onderzoek gedaan op het gebied van sensoren waarmee men in en op het lichaam metingen kan verrichten. Het direct en langdurig meten in de bloedbaan, een



Figuur 4 Schematische doorsnede van de zuurstofelektrode. 1 platina draadkathode; 2 glasisolatie; 3 epoxyhars; 4 polypropyleen membraan; 5 zilveren ring; 6 elektrolietkamer; 7 zilveranode; 8 en 9 roestvaststalen sluitring en kap; 10 nylon sluitring; 11 roestvaststalen kathetersteun en kathodestroomgeleider; 12 nylon slang



**Figuur 5** Stroom-spanningskrommen bij verschillende zuurstofdrukken. Een polarisatiespanning van 0,7 V garandeert voor alle zuurstofdrukken een meting in het diffusiestroomgebied.

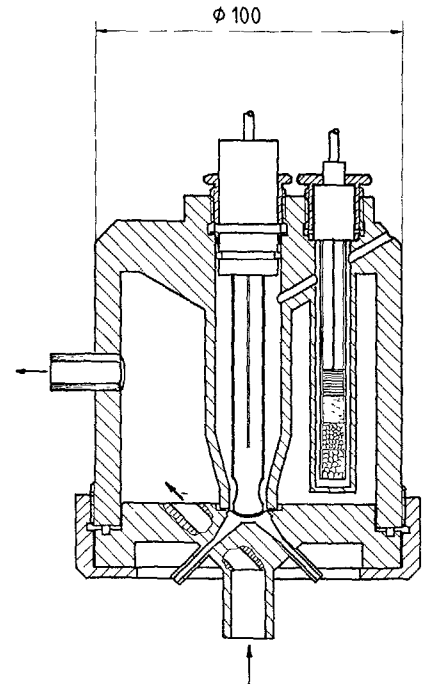
voorwaarde om bepaalde verstoringen op mechatronische wijze te constateren, zal voorlopig nog een probleem blijven vanwege afstotings- en ontstekingsverschijnselen in het lichaam. Echter, met de huidige miniaturisering en technieken zullen er zeker in de toekomst elektroden te fabriceren zijn, die vele malen kleiner zijn als de nu bestaande en die ook door de toepassing van nieuwe materialen door het lichaam beter worden geaccepteerd. Om deze bewering kracht bij te zetten zien we in figuur 6 een voorloper van de huidige 1 mm-elektrode.

**Figuur 7** Een foto van de meetkamer in een opstelling

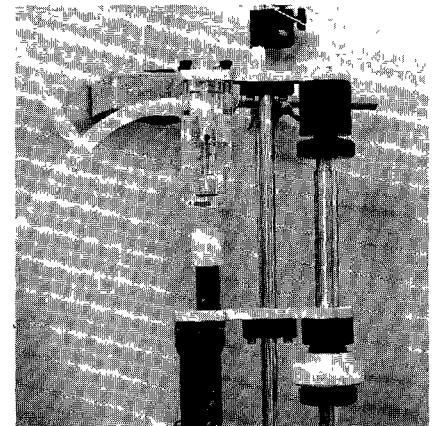
#### Literatuur

M. Pauw, C.N. Olievier en A. Berkenbosch: A miniature  $P_{O_2}$  electrode for measurements in small animals. Ned Ver. voor Fysiologie 1979.

J.T. van Dissel et al. J. Immunological Methods 92, 271-280, 1986.



**Figuur 6** Een voorloper van de huidige zuurstofelektrode. Dit toont overduidelijk in welke mate miniaturisatie en nieuwe technieken succesvol waren.



## boekbespreking

**Industrieroboter und Handhabungsgerate;** auteurs: K. Desoyer, P. Kopacek en I. Troch; uitgave Oldenburg Verlag Munchen, 1985, 365 p p., prijs DM 78,-.

Dit boek bestaat uit 5 hoofdstukken waarin achtereenvolgens worden behandeld - de basisprincipes: waarin onder meer grippers, grijperaandrijfsystemen, meet- en besturingssystemen;

- geometrie, kinematika uitwerking van de kinematische wetten voor diverse typen grijperaandrijfsystemen,
- modelstudie berekeningsmodellen voor grijperaandrijfsystemen en voor het globale robotsysteem;
- besturing en regeling: afzonderlijk worden de eenassige besturing en baanbesturing behandeld;
- ontwikkelingstendensen.

Voor diverse hoofdstukken is een grondige kennis van wiskunde, mechanica en regeltechniek vereist

In een appendix worden enkele begrippen betreffende theoretische mechanica, regeltechniek en matrixberekening op een rijtje gezet.

C. Dekoninck