

TALLINNA TEHNIKAÜLIKOOL  
Infotehnoloogia teaduskond

Deniss Karai 196068IALB

**MINIATUURSE OPTILISE  
NEERUASENDUSRAVI SENSORI  
KALIBRATSIOONIMEETODI JA  
ANDMEHÕIVE TARKVARA  
VÄLJATÖÖTLUS NING KATSETE  
LÄBIVIIMINE**

Bakalaureusetöö

Juhendaja: PhD Paul Annus  
Kaasjuhendaja: Prof. Ivo Fridolin  
Kaasjuhendaja: PhD Kristjan Pilt

Tallinn 2020

## **Autorideklaratsioon**

Kinnitan, et olen koostanud antud lõputöö iseseisvalt ning seda ei ole kellegi teise poolt varem kaitsmisele esitatud. Kõik töö koostamisel kasutatud teiste autorite tööd, olulised seisukohad, kirjandusallikatest ja mujalt pärinevad andmed on töös viidatud.

Autor: Deniss Karai

02.01.2020

## Lõputöö ülesande püstitus

Käesoleva töö peamiseks eesmärgiks on välja töötada miniatuurse optilise neeruasendusravi sensori kalibratsioonimeetod, realiseerida tarkvara sensori juhtimiseks ja andmehõiveks, ning läbi viia mõõtmised.

Eesmärkide täitmiseks on püstitatud järgnevad ülesanded:

- realiseerida graafiline kasutajaliides seadme juhtimiseks, andmehõiveks ning signaalide salvestamiseks
- välja töötada meetodika seadmete kalibreerimiseks
- läbi viia vastavad uuringud
- analüüsida tulemusi.

## Annotatsioon

Miniatuurse optilise neeruasendusravi sensori kalibratsioonimeetodi ja andmehõive tarkvara väljatöötlus ning katsete läbiviimine.

**Märksõnad:** hemodialüüs, krooniline neeruhaigus, trüptofaan, kalibratsioon, ultraviolet kiirgus, fluorestsents.

**Lühikirjeldus:** Ettevõtte Optofluid Technologies OÜ väljatöötatud neeruasendusravi jälgimiseks mõeldud optilise anduri prototüüp võimaldab hinnata valguse neelduvuse ja fluorestsentsi põhjal dialüsaadi koostist. Antud töö raames realiseeriti prototüübi graafiline kasutajaliides, juhtimine ning andmehõive tehniline lahendus. Tarkvara võimaldab juhtida seadet, sättida voolu tugevusi, võendada signaale, salvestada signaale, kuvada signaale operaatorile, teostada signaalide analüüsi reaajas ning kuvada tulemusi, teostada seadmete kalibratsiooni, salvestada kalibratsiooni andmed seadmesse, töödelda ning visualiseerida salvestatud signaalid järelvaatamiseks. Töö käigus viidi läbi erinevaid katseid kalibratsiooni optimeerimiseks ja läbiviimiseks: seadme pesemise optimeerimine, lahuste degaseerimise vajadus, makromullide eemalduse optimeerimine, fluorestsentsi sõltuvus temperatuurist, trüptofaani, fotokeemilised reaktsioonid, trüptofaani lahuste pikaajaline säilivus.

Töö käigus leiti optimaalne seadmete pesemise viis. Samuti degaseerimise vajadus osutus oluliseks fluorestsentsi tulemuste hajuvuse vähendamiseks. Lisaks leiti optimaalne aeg makromullide eemaldamiseks. Tulemused näitavad trüptofaani lahuse fluorestsentsi vähenemist ligikaudu 18% 10°C temperatuuri tõusu puhul. Lahuste säilivust on kontrollitud kuni 96 tundi pärast valmistamist. Fotokeemiliste reaktsioonide kontroll osutus mitte teostatavaks seoses sellega, et seadme temperatuuri sensor ei olnud paigaldatud optimaalselt ning ei kajastanud kiireloomulisi temperatuuri muutusi. Temperatuuriga seotud muutused olid olulisemalt suuremad võrreldes fotokeemilistega muutustega.

Lõputöö on kirjutatud eesti keeles ning sisaldab teksti 37 leheküljel, 6 peatükki, 32 joonist, 14 tabelit.

## Abstract

Development of the calibration method and data acquisition software for a miniature renal replacement therapy optical sensor and performing the experiments

**Keywords:** hemodialysis, chronic kidney disease, tryptophan, calibration, ultraviolet radiation, fluorescence.

**Short description:** Within the framework of this work, a graphical user interface, control and data acquisition technical solution of Optofluid Technologies OÜ was realized. The prototype measures various optical parameters in the dialysate. The software allows you to control the device, adjust the current, amplify signals, record signals, display signals to the operator, perform real-time signal analysis and display results, perform device calibration, save calibration data to the device, process and visualize recorded signals for monitoring. Various experiments were carried out to optimize and perform calibration: optimization of washing of equipment, need for degassing of solutions, optimization of removal of macro bubbles, fluorescence dependence of temperature, tryptophan photochemical reactions, long-term stability of tryptophan solutions.

An optimal way of washing the equipment was found in the process, and the need for degassing proved to be significant in reducing the dispersion of results. An optimal time was also found to remove the macro bubbles. The results show a decrease in the fluorescence of the tryptophan solution by approximately 18% with a 10°C increase in temperature. The shelf life of the solutions has been checked for up to 96 hours after preparation. The control of the photochemical reactions proved impractical due to the fact that the temperature sensor of the device was not installed optimally and did not reflect fast temperature changes. The temperature-related changes were significantly greater than the photochemical changes.

The thesis is in Estonian and contains 37 pages of text, 6 chapters, 32 figures, 14 tables.

## Lühendite ja mõistete sõnastik

ASCII ( <i>American Standard Code for Information Interchange</i> )	Ameerika Informatsioonivahetuse Standardkood
a.u (Arbitrary Unit)	Suhtelised ühikud
dH20 (Distilled water)	Destilleeritud vesi
DLL (Dynamically Linked Library)	Dünaamiliselt lingitav teek
EEPROM ( <i>Electrically Erasable Programmable Read-Only Memory</i> )	Programmeeritav elekterkustutusega püsimälu
FIFO ( <i>First In, First out</i> )	Elavjärjekorra põhimõte
GF ( <i>Glomerular Filtrate</i> )	Glomerulaarfiltraat
HD ( <i>Hemodialysis</i> )	Hemodialüüs
LED ( <i>Light-Emitting Diode</i> )	Valgusdiod
PD (Photo Diode)	Fotodiod
Trp ( <i>Tryptophan</i> )	Trüptofaan
USB ( <i>Universal Serial Bus</i> )	Universaalne järjestiksiin
UV ( <i>Ultraviolet</i> )	Ultraviolettkiirgus

## Sisukord

1 Sissejuhatus .....	12
2 Kirjanduse ülevaade.....	13
2.1 Neerud ja hemodialüüs .....	13
2.1.1 Neerud.....	13
2.1.2 Neerupuudulikkus .....	14
2.1.3 Neeruasendusravi .....	14
2.1.4 Hemodialüüsi kvaliteedi hindamise meetodid .....	14
2.2 Optilise signaali mõõtmise füüsikalised alused .....	17
2.2.1 Heitdialüsaadi fluorestsents .....	17
2.2.2 Kalibratsiooni läbiviimine .....	18
2.2.3 Etalonaine .....	19
3 Materjalid ja meetodid .....	20
3.1 Tarkvara arendus.....	20
3.2 Katseskeem ja seadmed.....	23
3.2.1 Kalibreerimise katseskeem .....	23
3.2.2 Signaalide mõõtmine .....	25
3.2.3 Kalibreerimislahuste valmistamine .....	26
3.2.4 Kalibreerimislahuste degaseerimine.....	27
3.2.5 Algaaine lahustamine ultrahelivanni abil.....	28
3.2.6 Kalibreerimislahuste ja mõõtesüsteemi termostateerimine .....	28
3.3 Kalibratsioonimetoodika .....	29
3.3.1 Seadme pesemise optimeerimine .....	30
3.3.2 Makromullide eemaldamine .....	30
3.3.3 Kalibreerimis lahuste degaseerimine mikromullide eemaldamiseks .....	31
3.3.4 Fluorestsentsi sõltuvus temperatuurist.....	31
3.3.5 Trüptofaani fotokeemilised reaktsioonid.....	31
3.3.6 Trüptofaani lahuste pikaajaline säilivus .....	31
3.3.7 Seadmete kalibratsioon lainepikkustel L4 ja L3 .....	32
4 Tulemused .....	33

4.1 Seadme pesemise optimeerimine .....	33
4.2 Mikromullide eemaldamine .....	34
4.3 Makromullide eemaldamine .....	36
4.4 Fluorestsentsi sõltuvus temperatuurist .....	36
4.5 Trüptofaani fotokeemilised reaktsioonid.....	37
4.6 Trüptofaani lahuste pikaajaline säilivus .....	39
4.7 Seadme kalibreerimine .....	39
4.8 Kalibratsiooni meetodika .....	40
4.8.1 Lahuste valmistamine .....	40
4.8.2 Kalibreerimise läbiviimine.....	42
5 Arutelu.....	43
6 Kokkuvõte .....	45
Kasutatud kirjandus .....	47
LISA 1 <i>LabVIEW</i> plokkiagrammid .....	49
LISA 2 Logifaili näidis .....	52
LISA 3 Lahused.....	53
LISA 4 Mõõtmise protokollid .....	54
LISA 5 Tulemused.....	57



## Jooniste loetelu

Joonis 1. Neerude ristlõige. [CC: By Holly Fischer, © Regents of the University of Michigan <a href="http://creativecommons.org/licenses/by/3.0/">http://creativecommons.org/licenses/by/3.0/</a> ]	13
Joonis 2. Hemodialüüsi reaajas jälgimise süsteem [2]	15
Joonis 3. Skemaatiline vere, heitdialüsaadi ja UV neelduvuse parameetrite muutumine hemodialüüsi jooksul. A0 – UV neelduvus, C0_b (hall) – kusihaape kontsentratsioon dilüsaadis, C0_b (must) – kusihaape kontsentratsioon veres [10].	16
Joonis 4. Fluorestsentsi signaal dialüüsi protseduuri käigus [14].	18
Joonis 5. Trp lahuse eksitatsiooni ja emissiooni spektrid [15].	19
Joonis 6. <i>Moore Machine</i> realisatsiooni plokk skeem.	21
Joonis 7. Kalibreerimise programmi plokk skeem.	22
Joonis 8. Kalibreerimise tarkvara kasutajaliides.	23
Joonis 9. Kalibreerimise skeem.	24
Joonis 10. Kalibreerimisestend koos paigaldatud seadmetega.	25
Joonis 11. Lahuste degaseerimine ultrahelivanni abil.	28
Joonis 12. dH <sub>2</sub> O ja Trp.12 lahuse mõõtetulemused.	33
Joonis 13. Seadmete SN7 ja SN9 normeeritud fluorestsentsi baasjoon lainepikkusel L4, enne (1-3) ja pärast proovi mõõtmist (8-12).	34
Joonis 14. Seadmete SN7 ja SN9 normeeritud baasjoon lainepikkusel L3 enne (1-3) ja pärast proovi mõõtmist (8-12).	34
Joonis 15. Seadme SN7 lainepikkusel L4 degaseerimata ja degaseeritud lahuste mõõtetulemuste hajuvuse võrdlus.	35
Joonis 16. Seadme SN7 lainepikkusel L4 normeeritud fluorestsents erinevate pausiga süstimise ja mõõtmise vahel.	36
Joonis 17. Fluorestsentsi sõltuvus temperatuurist seadmel SN7 lainepikkusel L4 lahusega Trp.12.	37
Joonis 18. Lahuse Trp.12 normeeritud fluorestsents mõõdetud seadmega SN7 lainepikkusel L4.	38
Joonis 19. Lahuse Trp.12 normeeritud fluorestsents mõõdetud seadmega SN7 lainepikkusel L4.	38

Joonis 20. Lahuse Trp.12 normeeritud fluorestsents ja standardhälve on mõõdetud seadmetega SN7 ja SN9 lainepikkusel L4. ....	39
Joonis 21. Seadme SN7 fluorestsentsi sõltuvus Trp kontsentratsioonist lainepikkusel L4. ....	40
Joonis 22. Seadme SN7 fluorestsentsi sõltuvus Trp kontsentratsioonist lainepikkusel L3. ....	40
Joonis 23. Andmehõive alammoduli plokkdiagramm. ....	49
Joonis 24. Visualiseerimise alammoduli plokkdiagramm.....	49
Joonis 25. Lihttäpsusega arvu teisaldamine 8-bit märgita täisarvu massiivi. ....	50
Joonis 26. Kalibratsiooni andmete kirjutamine EEPROM-i DLL abil. ....	51
Joonis 27. Kalibratsiooni andmete kirjutamise funktsiooni kirjeldus.....	51
Joonis 28. Seadme SN7 lainepikkusel L4 normeeritud fluorestsents erinevate pausiga süstimise ja mõõtmise vahel. ....	57
Joonis 29. Seadme SN9 lainepikkusel L4 normeeritud fluorestsents erinevate pausiga süstimise ja mõõtmise vahel. ....	57
Joonis 30. Seadme SN9 lainepikkusel L3 normeeritud fluorestsents erinevate pausiga süstimise ja mõõtmise vahel. ....	58
Joonis 31. Lahuse Trp.12 normeeritud fluorestsents ja standard hälve mõõdetud seadmetega SN7 ja SN9 lainepiikusel L3. ....	59
Joonis 32. Fluorestsentsi sõltuvus temperatuurist seadmel SN7 lainepikusel L4 lahusega Trp.2.....	60
Joonis 33. Fluorestsentsi sõltuvus temperatuurist seadmel SN7 lainepikusel L4 lahusega Trp.8.....	60

## Tabelite loetelu

Tabel 1. Seadme SN7 lainepikkusel L4 degaseerimata ja degaseeritud lahuste mõõtetulemused. ....	35
Tabel 2. Trp lahuste valmistamise ajakava. ....	41
Tabel 3. Optimeeritud kalibreerimise protokoll. ....	42
Tabel 4. Trp lahuste kontsentratsioonid. ....	53
Tabel 5. Seadme pesemise optimeerimise mõõtmisprotokoll. ....	54
Tabel 6. Kalibreerimise lahuse degaseerimise mõõtmisprotokoll. ....	54
Tabel 7. Makromullide eemaldamise mõõtmisprotokoll. ....	55
Tabel 8. Lühiajalise UV-mõju Trp-le mõõtmisprotokoll. ....	55
Tabel 9. Trp lahuse fluorestsentsi temperatuurilise sõltuvuse mõõtmisprotokoll. ....	56
Tabel 10. Seadme SN7 lainepikkusel L3 degaseerimata ja degaseeritud lahuste mõõtetulemused. ....	58
Tabel 11. Seadme SN9 lainepikkusel L4 degaseerimata ja degaseeritud lahuste mõõtetulemused. ....	58
Tabel 12. Seadme SN9 lainepikkusel L3 degaseerimata ja degaseeritud lahuste mõõtetulemused. ....	59
Tabel 13. Lahuse Trp.12 normeeritud fluorestsents ja standard hälve mõõdetud seadmetega SN7 ja SN9 lainepiikusel L4. ....	59
Tabel 14. Lahuse Trp.12 normeeritud fluorestsents ja standard hälve mõõdetud seadmetega SN7 ja SN9 lainepiikusel L3. ....	60

# 1 Sissejuhatus

Neerupuudulikkus on ülemaailmne probleem. WHO aasta bülletääni andmete järgi suri 2015. aastal maailmas ligikaudu 1.2 mln inimest neerupuudulikkuse tõttu, mis on 32% rohkem kui 2005. aastal. 2010. aastal suri hinnanguliselt 2,3–7,1 miljonit lõppstaadiumis neeruhaigusega inimest, kellel ei olnud juurdepääsu dialüüsi ravile. Samuti neerupuudulikkusel on kaudne mõju haigestumisele ja suremusele, suurendades riske mis on seotud südame-veresoonkonna haigustega, diabeediga, hüpertensiooniga, nakatumine inimese immuunpuudulikkuse viiruse ja malaariaga [1]. Diagnoositud neerupuudulikkusega patsiendid saavad dialüüsi ravi 3-4 korda nädalas. See on 4-5 tundi kestev ravi, mis on patsiendile koormav. Dialüüsi efektiivsuse määramiseks tehakse vereanalüüse, mis annab lisakoormust patsiendile. Vereproovid ei anna dialüüsi protsessi käigust täielikku ülevaadet. Dialüüsi efektiivsuse määramiseks tehakse vereanalüüse, mis annab lisakoormust patsiendile. Selle koormuse vähendamiseks on välja arendatud optiline tehnoloogia dialüüsi efektiivsuse määramiseks kaudsel meetodil [2]. Optiline moodul mõõdab heitdialüsaadi neelduvust ja fluorestsentsi erinevatel lainepikkustel ning suudab määrata jääkaineid kvalitatiivselt ja kvantitatiivselt kasutades algoritme, mis on arendatud eelnevalt tehtud teadustöö põhjal [3]. Optilise mooduli kvalitatiivseks ja kvantitatiivseks kalibreerimiseks on vaja identifitseerida heitdialüsaadis leiduvad jääkained ja nende kontsentratsioonid ning optilised parameetrid, valida sobilikud lainepikkused, rakendada optilised filtrid, filtreerida signaalid, välja töödelda ja rakendada matemaatilised mudelid erinevate efektide arvestamiseks, teostada korratavuse teste ja analüüsi erinevate seadmete puhul suure seadmete arvuga, teostada reprodutseeritavuse teste ja analüüsi erinevate haiglate vahel, panna vastavuse etalon ained ning dialüüsadi proovid ning võrrelda tulemused kuldse standardiga – vereproovidega. See on suuremahuline töö ning antud töös kirjeldatakse kogu tegevuse väikset osa – optilise mooduli juhtimise tarkvara ning suurete veaallikate eemaldamine kvantitatiivsel kalibreerimisel.



### **2.1.2 Neerupuudulikkus**

Neerufunktsiooni normaalse täitmise eelduseks on glomerulaarfiltraadi (GF) tootmine. Ööpäevas toodavad neerud ca 170 L GF, millest eritatakse 1 kuni 2 L uurini [4]. Juhul, kui GF tootmine kriitiliselt väheneb, siis patsiendil on neerupuudulikkus. Neerupuudulikkus viib tasakaalust välja vee-, elektrolüütilise- ja teisi ainevahetusega seotud mehhanisme. Esineb kahte tüüpi neerupuudulikkust – äge ja krooniline. Ägeda neerupuudulikkuse põhjused on vigastused, nefrotoksiinid ning nefroisheemia. Krooniline neerupuudulikkus areneb aastate jooksul, ning tihti on erinevate haiguste tagajärg nt suhkurtõbi või veresoonkonna haigused [5].

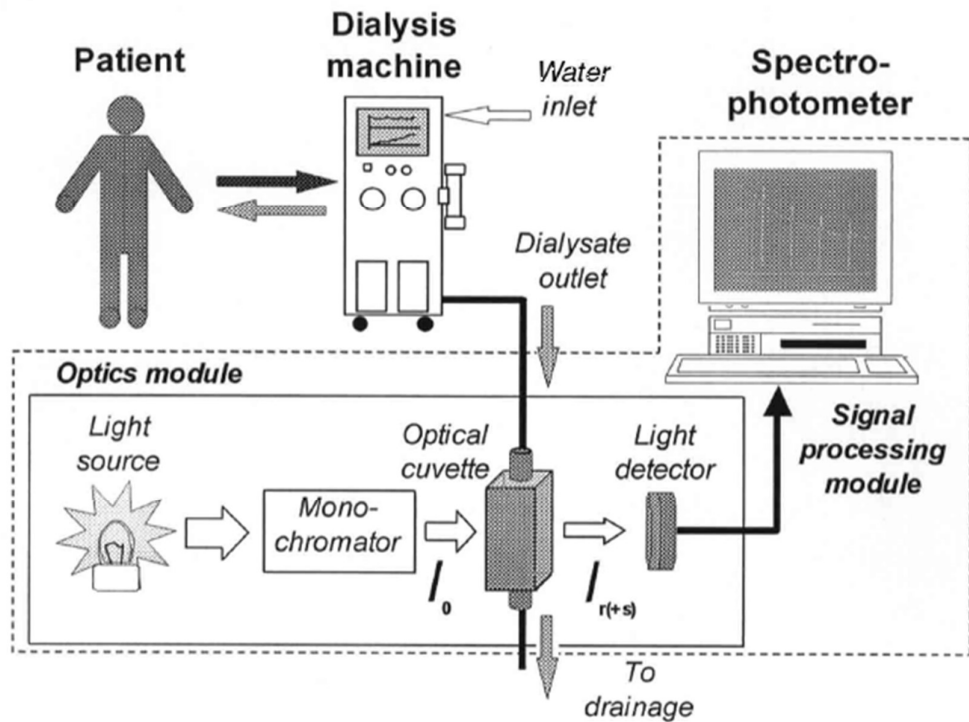
### **2.1.3 Neeruasendusravi**

Olemas on kolm erinevat neeruasendusravi meetodit: neerutrantsplantaatsioon, peritoneaalne-dialüüs ja hemodialüüs. Kõige paremaks meetodiks võib pidada neerutrantsplantaiooni, kuid tihti puudub sobiv neerudoonor [6]. Hemodialüüs (HD) on neeruväline verepuhastuse meetod ägeda ja kroonilise neerupuudulikkuse puhul. Hemodialüüsi jooksul toimub toksiliste ainete (uurea, kreatiniin) eraldus organismist, vee- ja elektrolüütilise balansi taastamine. Dialüüsi jooksul liigub mööda ühte vereliini veri organismist HD aparati, kus toimub vere puhastamine ureemilistest jääkainetest ja vedelikust ning seejärel mööda teist vereliini liigub puhastatud veri aparadist tagasi organismi [7]. Neeruasendusravi on haigetele eluliselt oluline. Patisendid peavad käima hemodialüüsi protseduuril 3-4 korda nädalas ja üks protseduur kestab ligikaudu 4-5 tundi.

### **2.1.4 Hemodialüüsi kvaliteedi hindamise meetodid**

Tõhusa ravi osutamiseks on vaja hinnata hemodialüüsi efektiivsust. Selle hinnangu abil saab teada, kas veri on piisavalt puhastatud ning kas dialüüsi parameetrid on optimaalsed. Hemodialüüsi kvaliteedi hindamiseks on kasutusel kaks lähenemist: klassikaline vereproov ning heitdialüsaadi analüüs reaajas. Vereproove võetakse iga tunni tagant ehk 4-5 korda protseduuri jooksul ning see võib olla patsiendile koormav.

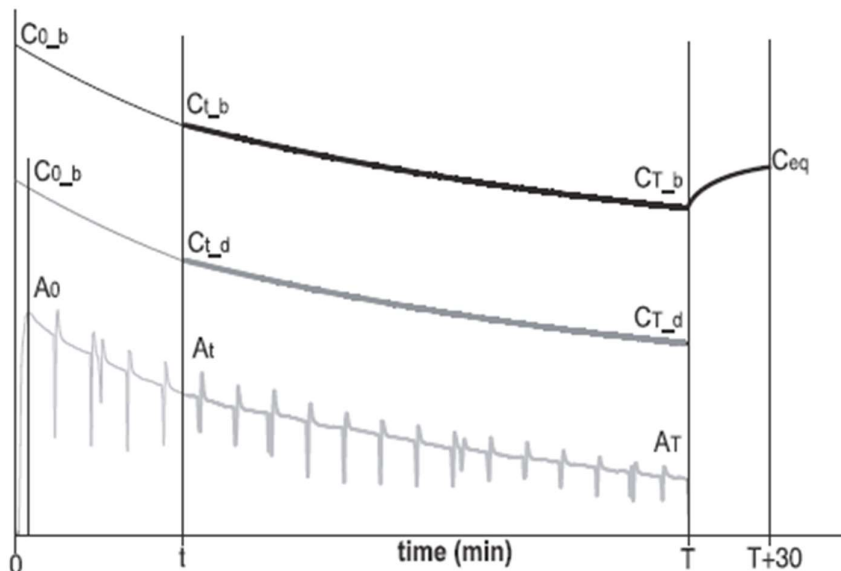
Teiseks lähenemiseks on heitdialüsaadi reaajas toimuv analüüs, mille väljatöötamisega on aktiivselt tegeldud üle kahekümne aasta. Originaalset süsteemi on tutvustatud 2002. a. [2], milles tavalisele hemodialüüsi seadmele on lisatud optiline moodul ja signaali töötlemise moodul (Joonis 2). Analüüsitakse heitdialüsaati ning mõõtmise ei mõjuta hemodialüüsi protsessi.



Joonis 2. Hemodialüüsi reaalajas jälgimise süsteem [2].

Arendustööd osutusid suureks väljakutseks teadlastele, kuna on vaja identifitseerida jääkained ning määrata nende kontsentratsiooni reaalajas. Jääkainete identifitseerimiseks kogutakse haiglas proove ning biovedeliku esialgne analüüs toimub laborites, kasutades analüütilisi meetodeid, nt massspektromeetriat, flourestentspektromeetriat, vedelik-kromograafiat. Tulemusi võrreldatakse kuldse standardiga ehk vereproovide tulemustega. Pärast jääkainete identifitseerimist uuritakse, kas on võimalik neid detekteerida heitdialüsaadist kvalitatiivselt ja kvantitatiivselt kasutades optilisi mõõtmismeetodikaid. Seejärel on võimalik väljatöötada optiline sensor, mis on optimeeritud teatud jääkainete tuvastamiseks. Teades jääkainete eksitatsiooni/emissiooni spektreid, on võimalik valida vastavad valgusallikad ning vastuvõtjad. Antud töö raames oli kasutusel prototüüp, kus kasutati valgusallikana ultraviolet (UV)-valgusdiodi (LED) ning vastuvõtjana fotodiodi (PD). Valgusallikate ja vastuvõtjate lainepikkused ning filtrid olid valitud selliselt, et oleks võimalik hinnata jääkainete kontsentratsiooni heitdialüsaadis. Hiljuti

TTÜ-s kaitstud doktoritöodes näidati, et kusihape ning kreatiin on olulised hemodialüüsi kvaliteedi markerid ning neid on võimalik mõõta reaalajas spektrofotomeetri abil. [8] [9].



Joonis 3. Skemaatiline vere, heitdialüsaadi ja UV neelduvuse parameetrite muutumine hemodialüüsi jooksul.  $A_0$  – UV neelduvus,  $C_{0\_b}$  (hall) – kusihape kontsentratsioon dialüsaadis,  $C_{0\_b}$  (must) – kusihape kontsentratsioon veres [10].

On näha, et hemodialüüsi käigus valguse neelduvus väheneb, ehk jääkainete kontsentratsioon heitdialüsaadis väheneb (Joonis 3). Vastavalt ka patsiendi veri puhastatakse jääkainetest. Järsud neelduvuse signaali muutused on seotud hemodialüüsi aparadi omapäraga, mis seisneb seadme automaatses perioodilises kalibreerimises ja sel juhul dialüsaadi ringlemine peatatakse. Samas pumbad, mis pumpavad patsiendi verd, ei peatu ning pumpavad konstantse kiirusega edasi. Singaali järsk langus, on seotud klappide sulgemisega ning seadmesse jõuab juba puhtam dialüsaat, kuid ikka sisaldab jääkained, mis olid torustikus sulgemise hetkel. Signaali tõus üle baasjoone võib olla seotud sellega, et filtri membraanis kogunesid jääkained ja pärast pumba sisselülitamist korraga läbisid sensori.

Praegusel hetkel parimaks hemodialüüsi hindamise kriteeriumiks loetakse ainevahetuse jääkaine, ureaal, põhinevat dialüüsravi hindamise parameetrit  $Kt/V$  [11], mis arvutatakse järgnevalt:



$$\frac{Kt}{V} = -\ln\left(\frac{C_T}{C_0} - 0.008T\right) + \left(4 - 3.5\frac{C_T}{C_0}\right) * \frac{\Delta BW}{BW_{\text{post}}}. \quad (1)$$

$Kt/V$  on ühikuta suurus, kus  $K$  – kusihapest puhastatud plasma kogus,  $t$  – hemodialüüsi kestvus [min],  $V$  – kusihappe jaotusruumala,  $C_0$  – kusihappe kontsentratsioon enne dialüüsi [mmol/l],  $C_T$  – kusihappe kontsentratsioon pärast hemodialüüsi [mmol/l],  $T$  – hemodialüüsi kestvus [tund],  $\Delta BW$  - kehamassi kaotus hemodialüüsi käigus [kg],  $BW_{\text{post}}$  – kehamass pärast hemodialüüsi.

## 2.2 Optilise signaali mõõtmise füüsikalised alused

Optiline mõõtmisüsteem koosneb kolmest põhiosast: valgusallikast, mõõdetavast objektist ning valgusdetektorist. Footonid puutuvad pärast valgusallikast kiirgumist kokku bioloogilise vedelikuga ning nende edasine tee on järgnev:

a) vedeliku tasapinnal

- peegelduvad tasapinnalt
- edasikanduvad vedelikku [12]

b) vedeliku sees

- neelduvad
- hajuvad
- sisemiselt peegelduvad [13].

c) vedeliku läbimisel

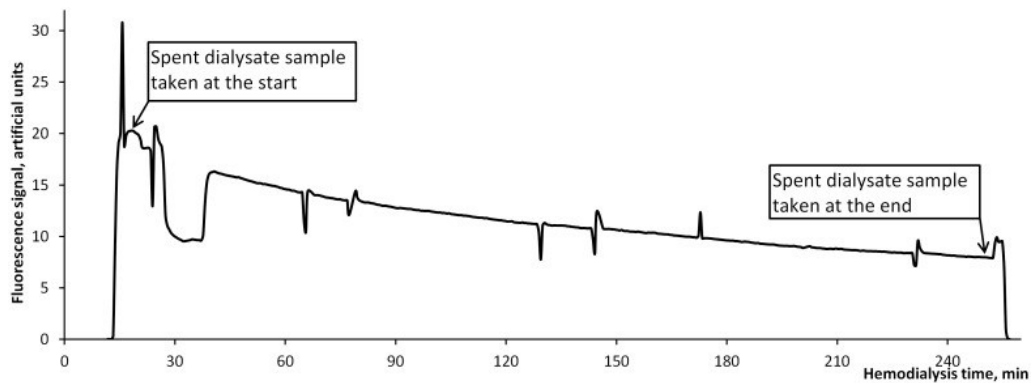
- pole hajutatud [12]
- ülekantud nõrgendatud kujul neeldumise ja hajumise tõttu
- tagasipeegeldatud vedelikust.

Heitdialüsaat on läbipaistev vedelik, selle tõttu tuleb arvestada footonite neeldumise, ülekandmise ja peegeldusega ning hajumist saab ignoreerida [13].

### 2.2.1 Heitdialüsaadi fluorestsents

Heitdialüsaadi fluorestsents on optiline nähtus, mis tekib UV kiirgusega ergastamisel. Pärast ergastamist kiirgavad heitdialüsaadi molekulid saadud energia pikkemal

lainepikkusel uuesti välja. Igal molekulil on olemas erinevad energianivood. Kõige madalam energianivoo on molekulil põhiolekus. Pärast UV kiirgusega ergastamist molekuli energianivoo tõuseb, ning saavutab selle tulemusel ebastabiilse oleku. Aja möödudes annab molekul osa saadud energiast teistele molekulitele ning liigub põhiolekusse tagasi. Selle liikumise käigus kiirgab molekul välja väiksema energiaga footoni (emissioonikiirgus), kui ergastamiseks kulunud footon. Kiiratud footonil on vastavalt väiksem sagedus ning pikem lainepikkus. Emissioonikiirgust on võimalik registreerida nii kvalitatiivselt kui ka kvantitatiivselt.



Joonis 4. Fluorestsentsi signaal dialüüsi protseduuri käigus [14].

Joonisel. 4 on näidatud, et fluorestsents väheneb dialüüsi käigus ehk jääkainete hulk veres väheneb.

### 2.2.2 Kalibratsiooni läbiviimine

Vastavalt EVS 17025:2017 standardile: „kalibreerimine on menetlus, mille abil määratakse fikseeritud tingimustel kindlaks seos etaloni abil esitatud suuruse väärtuse ja mõõtemääramatuse ning vastava näidu ja mõõtemääramatuse vahel ning mille käigus saadud teavet kasutatakse näidust mõõtetulemuse saamiseks“. Kalibratsiooni abil saab nivelleerida seadmete erinevused, mis on põhjustatud valgusallika, valgusvastuvõtja, klaasist küveti, korpuse anodeerimise ebahomogeensuste tõttu. Samuti võivad muutuda komponentide parameetrid kasutamise käigus. Näiteks, valgusallika valgustugevus võib ajaga väheneda, klaasi läbipaistvus langeda seoses jääkainete sadestumisega. Perioodilise kalibratsiooniga saab avastada vastavad muutused ning teha vajalikud korrigeerimised.

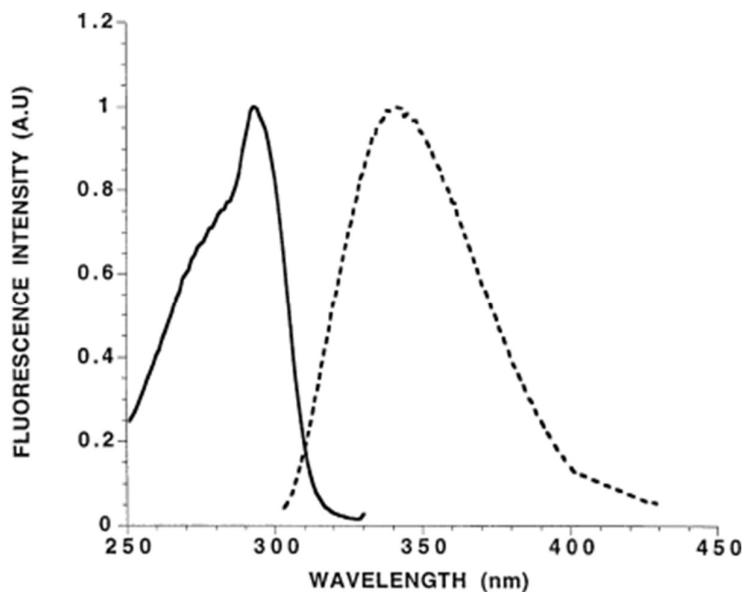
Üldiselt kalibratsiooni protseduur koosneb järgnevatest põhimomentidest:

1. seadme sisselülitamine ja soojendamine ehk termostabilisatsioon

2. seadme puhtaks pesemine lahustiga. destilleeritud vett (dH<sub>2</sub>O) ( kasutatakse Trp lahustina)
3. kolmekordne baasjoone mõõtmine: dH<sub>2</sub>O mõõtmine
4. Trp.2 - lahusega pesemine. (Trp.2, Trp.8, Trp.12 kalibreerimise lahused kasvava mõõdetava aine kontsentratsiooniga (Lisas 3 Tabel 4))
5. kolmekordne Trp.2-lahuse mõõtmine
6. kõrgema kontsentratsiooniga Trp.8-lahusega pesemine
7. kolmekordne Trp.8-lahuse mõõtmine
8. kui Trp.12 lahus on mõõdetud, siis pestakse seade dH<sub>2</sub>Oga ning kolmekordselt mõõdetakse dH<sub>2</sub>O lahust, et veenduda seadme puhtuses
9. saadud andmete põhjal koostatakse vastav kalibratsiooni mudel.

### 2.2.3 Etalonaine

Etalon aine baasil valmistatakse kindla kontsentratsiooniga lahuseid. Neid lahuseid kasutatakse etalonina erinevate seadmete kalibreerimiseks. Lähtudes heitdialüsaadis esinevate ureemiliste jääkainete neeldumis-ja fluorestsentsomadustele oli etalonaineks valitud trüptofaan (Trp) [14]. Trp on aminohape valemiga C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>N<sub>12</sub>O<sub>2</sub>, molekulaar massiga 204,23 g/mool, vees lahustub halvasti. Trp omab kõige suuremat fluorestsentsi kõikide proteiinide põhinevate aminohapete seas. Trp neelab kiirgust lainepikkustel 240-310 nm ( 280 nmmaksimum) ning kiirgab diapasoonis 300-400 nm.



Joonis 5. Trp lahuse eksitatsiooni ja emissiooni spektrid [15].

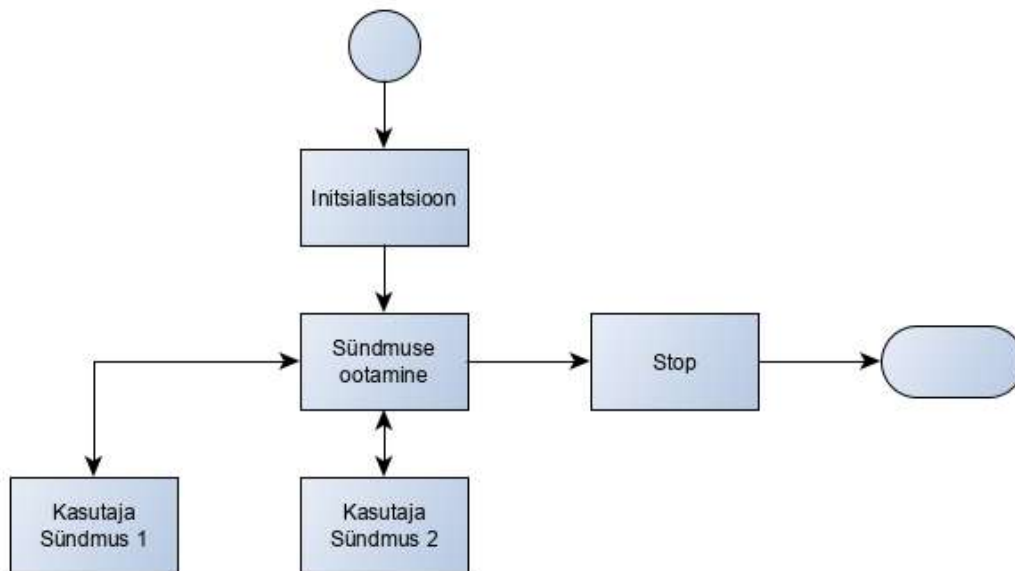
## 3 Materjalid ja meetodid

### 3.1 Tarkvara arendus

Projekti raames realiseeriti autori poolt järgnevad programmid: dialüüsi protseduuri reaajas monitoorimise moodul, kalibreerimise moodul ning signaalide järelvaatamise moodul. Antud töös käsitletakse ainult kalibreerimise moodulit. Programm oli arendatud National Instruments LabVIEW 2015 SP1 (ver. 15.0.1f10 64-bit) arenduskeskkonnas. Lõppkasutajate arvutites programmi käivitamiseks kasutati LabVIEW Runtime (ver. 15.0.1f10 64-bit). LabVIEW Runtime on tarkvaraline raamistik, mis võimaldab käivitada LabVIEW kompileeritud programmid lõppkasutajate arvutites. Prototüübi juhtimine ning andmehõive toimub läbi USB pordi. Seade saab elektrilise toite läbi USB kaabli. Suhtlemiseks seadmega kasutati DLL, mis oli arendatud prototüübi tootja poolt. Kasutades DLL funktsioone oli realiseeritud järgnev funktsionaalsus:

- arvutiga ühendatud seadmete detekteerimine
- valitud seadmega ühenduse loomine
- ühenduse sulgemine
- konfigureerimine
- seadme staatuse küsimine (raudvara versioon, seerianumber, sardtarkvara versioon, staatus, veakood)
- mõõtmise alustamine
- andmehõive
- mõõtmise peatamine
- seadmega taasühendamine (reconnect)
- kalibratsiooni andmete EEPROM-ist lugemine
- kalibratsiooni andmete EEPROM-i kirjutamine
- LED taimerite andmete lugemine.

Programm oli realiseeritud kasutades *Moore machine* mehhanismi (Joonis 6). Niisugune lähenemine võimaldab kergesti lisada uusi koodisektsioone, kustutada koodisektsioone, muuta sektsioonide käivitamise järjekorda, muutmata programmi põhistruktuuri.

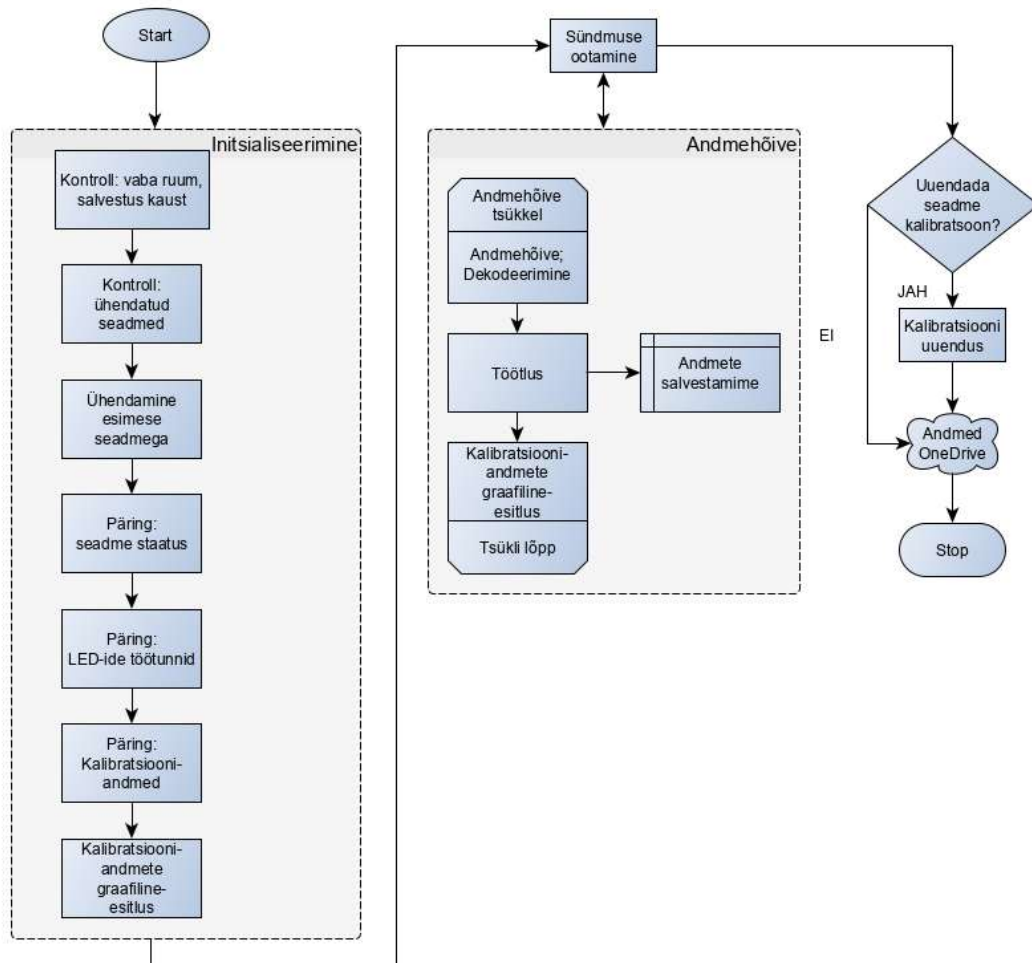


Joonis 6. Moore Machine realiseerimise plokkskeem.

Andmete vahetuseks programmi erinevate sektsioonide (andmehõive, dekodeerimine, salvestamine, faili logimine) vahel kasutati *Queue* puhvermälu mehhanismi. See mehhanism on realiseeritud FIFO põhimõttel, puhvri paindliku suuruse muutmise ning läbipääsuga. *Queue* mehhanismi abil on garanteeritud, et andmed ei lähe kaduma ega neid ei kirjutata uute andmetega üle.

Programmi töökindluse tõstmiseks, prototüübi töö jälgimiseks ja vigade otsimise lihtsustamiseks oli kasutusele võetud järgmised meetmed: vigade töötlus, programmi tegevuse logimine faili, salvestusruumi piisavuse kontroll, seadme korrasoleku kontroll. Logifailist (LISA 2) on võimalik välja lugeda informatsiooni salvestuse kulgemise kohta, veakoodid, arvuti ning seadme parameetreid.

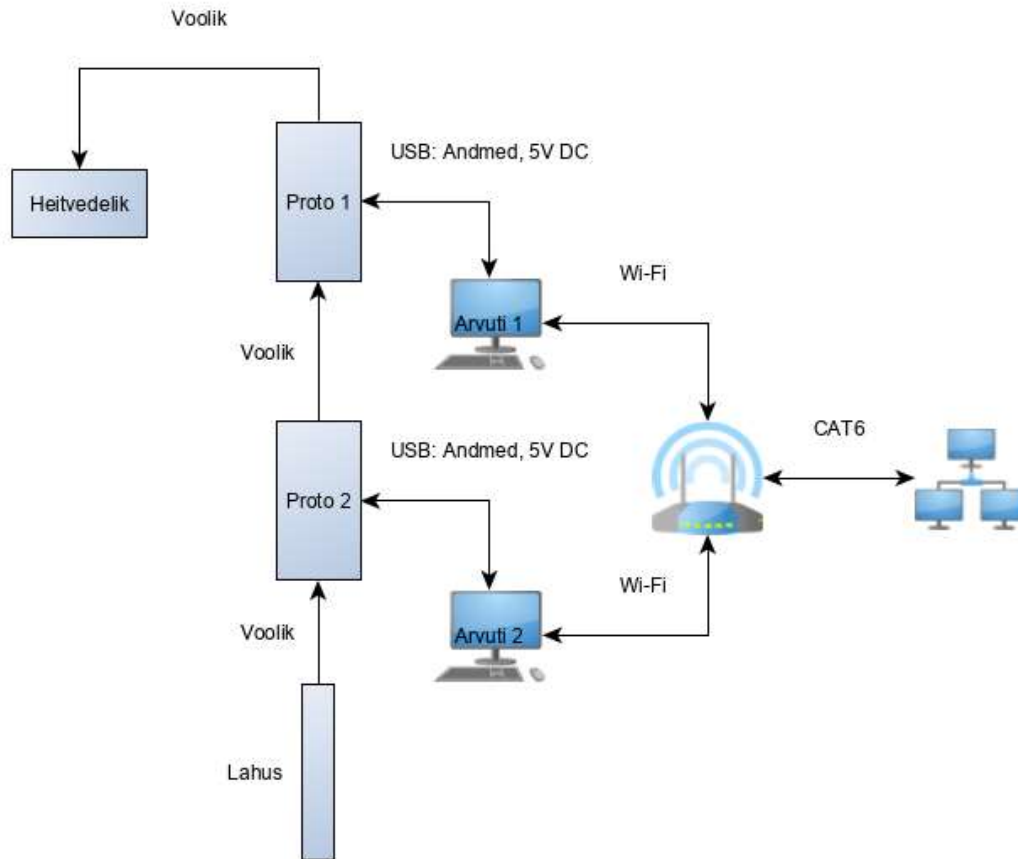
Kalibreerimise programmi plokkskeem on esitatud Joonis 7. Pärast programmi käivitamist toimub seadme ja graafilise kasutajaliidese initsialiseerimine ning programm jääb ootama kasutaja poolt genereeritud sündmuse. Pärast sündmuse töötlemist programm läheb tagasi ooterežiimi. Kui tööülesanne on täidetud ning operaator soovib programmist väljuda, käivitatakse programmi sulgemise koodi sektsioon.



Joonis 7. Kalibreerimise programmi plokk skeem.

Graafiline kasutajaliides omab järgnevat funktsionaalsust: seadmega ühendamine, kalibratsiooni andmete lugemine ning kuvamine, kalibratsiooni läbiviimine, algandmete kuvamine, uue kalibratsiooni parameetrite arvutamine ning seadmesse salvestamine, andmete ja logide salvestamine arvutisse. Kasutajaliides võimaldab võrrelda seadmesse eelnevalt kirjutatud olemasoleva kalibratsiooni ja hetkel teostatavat kalibratsiooni (Joonis 8).





Joonis 9. Kalibreerimise skeem.

Puidust stend oli valmistatud vastavalt seadmete mõõtmetele ning sisaldas kinnitusi seadmete ohutuks käsitlemiseks (Joonis 10). Prototüüpide asukoha ja positsiooni kindlustamiseks kasutati metallist statiivi. Seadmed paigaldati vertikaalselt, et vedelikus olevad õhumullid saaksid läbi ülestõstetud toru eralduda. Proov/dH<sub>2</sub>O sisestati süstlaga, mille maht oli 60 ml. Erineva kontsentratsiooniga lahuste ja dH<sub>2</sub>O jaoks kasutati erinevaid süstlaid. Proovi/dH<sub>2</sub>O vahetamisel pesti küvett esialgu vastava prooviga/dH<sub>2</sub>Oga/standardiga ning seejärel sisestati uus proov/dH<sub>2</sub>O.





Joonis 10. Kalibreerimisestend koos paigaldatud seadmetega.

### 3.2.2 Signaalide mõõtmine

Seade mõõdab fotovoolu neljal lainepikkustel L1, L2, L3 ja L4 võendamissagedusega  $F_s = 0,67$  Hz. Antud töös käsitletakse kalibratsiooni lainepikkustele L4 ja L3. Seadmes on paigaldatud igale lainepikkusele kolm fotovoolu mõõtvat optilist komponenti – LED-i valgusintensiivsuse (referentsi), fluorestsentsi ja neeldumise mõõtmiseks. LED-e ja fotovoolu mõõtvaid komponente juhitakse integreeritud mikrokontrolleri abil impulssrežiimis. Optiliste komponentide pimevoolu mõju eemaldamiseks mõõdetakse fotovool, kui LED<sub>väljas</sub> on väljalülitatud ( $I_{väljas}$ ) ning lahutatakse LED<sub>sees</sub> väärtusest ( $I_{sees}$ ), mis avaldub järgnevalt:

$$I = I_{sees} - I_{väljas} \quad (2)$$

Kuna LED-i valgusintensiivsus väheneb tööea kasvuga ning temperatuuri tõusuga, siis mõõdetakse referentskanalis LED-i poolt kiiratud valgusintensiivsust. Kasutades referentskanali väärtusi, normeeritakse fluorestsentsi kanali mõõtetulemusi järgnevalt:

$$I_{fluo\_norm} = \frac{I_{fluo}}{I_{ref}} \quad (3)$$

Tulemuste esitamisel on kasutatud keskväärtust ( $\mu$ ) ja standardhälvet (SD), mis arvutatakse vastavalt järgnevalt:

$$\mu = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n} \quad (4)$$

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(x_i - \mu)^2}{n-1}}. \quad (5)$$

Summa märgi indeksid on „1“ kuni „n“, kuigi LabVIEW-s ja „C-keeles“, mis olid antud töös kasutusel, vektori elementide loendamine algab „0“-st. Teksti selguse jaoks kasutas autor enamlevinud indekseerimise viisi nt MATLAB-is ja Microsoft Excel-is.

Baasjoone, mida tekitab dH<sub>2</sub>O, eemaldamiseks arvutatakse parameeter  $G$ :

$$G = \sum_{i=1}^n \frac{I(lahus)_{fluo\_norm}}{n} - \sum_{i=1}^n \frac{I(dH_2O)_{fluo\_norm}}{n}. \quad (6)$$

Lõplikult saame fluorestsentsi välja arvutada järgnevalt:

$$F = \frac{I(lahus)_{fluo\_norm} - \sum_{i=1}^n \frac{I(dH_2O)_{fluo\_norm}}{n}}{G}, \quad (7)$$

kus *lahus* on vastavad lahused Trp.2, Trp.8, Trp.12.

### 3.2.3 Kalibreerimislahuste valmistamine

Seadmete kalibreerimise läbiviimisel on lahuste korrektne valmistamine ülioluline. Tähtis on jälgida järgnevat:

- lahuste anumate puhtust
- lahuste algaine ja dH<sub>2</sub>O kogused, et tagada vastav kontsentratsioon (Tabel 4)
- lahuste temperatuuri
- lahuste valmistamise aega

Kogu töö oli tehtud kasutades ühekordseid kindaid ning jälgiti, et juhuslikult ei katsutud määratud objekte. Vastasel juhul võivad bakterid mõjutada lahuste säilivust. Klaasist anumad mahuga ca 1,1 L ning plastikust korgid (kannatavad temperatuur kuni 145°C)

olid kolmekordselt loputatud dH<sub>2</sub>O veega ning steriliseeritud MAMMERT Modell 100-800 kuivatuskapis temperatuuril 90°C 60 minuti jooksul. Pärast steriliseerimist anumad jahtusid 30 minutit.

Trp oli kaalutud TOLEDO METTLER XP205 analüütilise kaalu (maksimaalne mass. 81 g/220 g d=0,01 mg/0,1 mg) abil kasutades eelnevalt steriliseeritud plastikust topsikut. Kaalumisel kasutati staatilise laengu eemaldamiseks antistaatilist moodulit. Kuna kaalutava aine kogus on üsna väike (nt 0,01234 g), siis kaalumise nõudis suurt tähelepanu ning erinevate võtete kasutamist. Pärast proovi kaalumist paigaldati topsik koos prooviga ettevaatlikult steriliseeritud anumasse ning anum paigaldati kaalule KERN PCB 6000-1 (maksimaalne. mass 6000 g d=0,1 g). Kaalul lisati vastav kogus dH<sub>2</sub>O. dH<sub>2</sub>O oli destilleeritud, kasutades GFL 2004 distillaatorit, mille dH<sub>2</sub>O passijärgne juhtivus on 2.3 µs/cm temperatuuril 25°C. Juhtivus oli kontrollitud veejuhtivuse mõõtjaga WTW Profiline Cond 3310. Kasutusel oli sensor TetraCon 325 (kalibreeritud 04.2019).

### **3.2.4 Kalibreerimislahuste degaseerimine**

Õhus sisalduvad gaasid CO<sub>2</sub> ja O<sub>2</sub> lahustuvad kergesti vees ning mõjutavad lahuse juhtivust ja pH. Samuti lahustunud gaasid võivad moodustada mikromulle ning mõjutada optilist mõõtetulemust. Järgneva testide seeria eesmärgiks oli välja selgitada, kuidas veelahustes lahustunud õhk mõjutab mõõdetud tulemuste hajuvust. Gaaside eemaldamiseks lahusest (degaseerimise protseduur) kasutati ultrahelivanni. Kasutusel oli ultrahelivann (Joonis 11) tootjalt BANDELIN electronic GmbH & Co. KG (Saksamaa). Mudel: Typ: DT 225H. Ultraheli sagedus oli 35 kHz. Degaseerimise kestvus oli 30 minutit ning kasutati impulssrežiimi. Degaseerimise kestvus oli valitud maksimaalne, mida seade võimaldas, ning katseid degaseerimise aja optimeerimiseks ei olnud läbi viidud. Kuna ultraheli tekitab kavitatsiooni efekti, siis gaaside eemaldamiseks lahusest on sobivam kasutada impulssrežiimi. Impulsi kestvus on ligikaudu 2.5 s ning paus ligikaudu 2.5 s. Anumad lahustega paigaldati kandepinnale ning kontrolliti, et vann oleks täidetud detergendi lahusega vastavalt juhendile. Kandepinna kasutamine on kohustuslik, vastasel juhul vanni piezoelektrilised kristallid saavad pöördumatult kahjustada. dH<sub>2</sub>O kasutamine ei ole optimaalne, kuna vee pindpinevus (ca 73\*10<sup>-3</sup> N/m) on suurem detergendi pindpinevusest (43\*10<sup>-3</sup> N/m). Suurema pindpinevuse tõttu puhtas vees lahustunud gaasid eemalduvad halvemini ning ultraheli vähemal määral ulatub anumani lahusega. Selle tõttu degaseerimise efektiivsus langeb. Kõikide kalibreerimise lahuste degaseerimiseks kulus 2 kuni 3 tundi sõltuvalt lahuste arvust.

### 3.2.5 Algaie lahustamine ultrahelivanni abil

Üks ultraheli kasutamise eesmärkidest on garanteeritult lahustada algaie ning saavutada lahuse homogeensus.



Joonis 11. Lahuste degaseerimine ultrahelivanni abil.

Tööohutuseks olid kasutusel kõrvaklapid 3M Peltor X1A, mis vastavad standardile EN 352. Eestis on kasutusel vastav standard EVS-EN 352-1:2003.

### 3.2.6 Kalibreerimislahuste ja mõõtesüsteemi termostateerimine

Kuna lahuse fluorestsents sõltub temperatuurist, siis oli vaja tagada katsete jooksul stabiilsed ja korratavad temperatuurilised tingimused.

- pärast lahuste valmistamist nende temperatuur võib erineda sõltuvalt dH<sub>2</sub>O vee temperatuurist. dH<sub>2</sub>O temperatuur oli sõltuvuses, kui palju vett destilleerimis-seadme paagist kasutati lahuste tegemisel
- kuna degaseerimise käigus lahused soojenevad kuni temperatuurini 28-29°C, siis enne kalibreerimist need jahtusid 120 minutit toatemperatuuril. Juhul, kui degaseeritud lahused koheselt paigutada termokappi, siis termokappi temperatuur

tõuseb ning termostateerimine kuni 25°C -ni osutub väga pikaajaliseks protsessiks kestusega üle 6 tundi

- lahused termostateeritakse termokapis MAMMERT BE-200 temperatuuril 25°C
- anum lahusega pärast proovi võtmist koheselt asetatakse tagasi termokappi
- lahuste temperatuur oli mõõdetud elavhõbedaga klaastermomeetriga Labortherm.N. (-5 kuni 35°C, skaalaühik 0.1 K).

Autoril ei olnud võimalust kasutada piisavalt suurt termokappi ning tuli võtta kasutusele erinevaid meetmeid, et tagada ruumi minimaalse temperatuuri kõikumist. Kuid vaatamata kõikidele meetmetele, tingimused võisid erineda ning avaldada mõju tulemustele. Tööruumiks oli valitud akendeta ruum topelt ustega ja paigaldatud lokaalse kliimaseadmega. Ruumi temperatuur oli mõõdetud termomeetriga Oregon Scientific BAR266. Ruumis seadistati termostaat asendisse, mis tagab temperatuuri ligikaudu  $22,5 \pm 0,5^\circ\text{C}$ . Seadmed olid pandud mõõtmisrežiimi kaks tundi enne katse algust eesmärgiga soojendada seadet töötemperatuurini ca 25°C ning välistada mõjud seoses seadme temperatuuri muutumisega.

### **3.3 Kalibratsioonimetoodika**

Kvaliteetse, kiire ja säästliku kalibratsiooni tagamiseks on vaja kontrollida järgnevad printsiibid:

- seadme pesemise optimeerimine
- lahuste degaseerimise vajadus
- makromullide eemalduse optimeerimine
- fluorestsentsi sõltuvus temperatuurist
- Trp fotokeemilised reaktsioonid
- Trp lahuste pikaajaline säilivus.

### 3.3.1 Seadme pesemise optimeerimine

Järgneva testide seeria eesmärgiks oli välja selgitada optimaalne dH<sub>2</sub>Oga küveti ja torustiku pesemise kordade arv enne järgmist proovi mõõtmist. Oluline oli eemaldada eelmise vee või proovi jäägid täielikult, kuid seda tuli teostada optimaalsel viisil. Vastasel juhul pole välistatud olukorrad, kui kalibreerimise või mõõtmise käigus eelmine proov mõjutab järgmist mõõtetulemust. Testi käigus kasutati järjestikku ühendatud kahte seadet seerianumbritega SN7 ja SN9. Testi protokoll on toodud Lisas 4 (Tabel 5). Seade pesti puhtaks dH<sub>2</sub>O abil, siis mõõdeti standard Trp.12 ning pärast seda pesti seade korduvalt puhtaks seni kuni Trp lahuse jälgi rohkem ei registreeritud. Seoses etteantud süsteemi konstruktsiooni eripäradega kasutati järgmist proovi sisestamise/pesemise meetodikat:

- 60 ml süstlasse võeti ca 41 ml lahust
- süstal ühendati keermestatud ühenduse abil mõõtesüsteemiga
- süstiti proov
- tõmmati proov süstlasse tagasi
- süstiti proov
- ühendatud süstal paigaldati alusele, mis takistas lahuse kogunemist süstla raskusjõu tõttu.

Antud juhul on võimalik kasutada ka läbivoolu meetodikat. Suurema lahuse kogusega ca 50-55 ml saavutatakse tulemus, mille korral osa proovist väljub väljundühendusest ning see voolab valamusse.

### 3.3.2 Makromullide eemaldamine

Lahuse võtmisel süstlasse ning seadmesse süstimisel tekkivad silmaga nähtavad õhumullid. Pärast süstimist mullid liiguvad küvetti ja võivad mõjutada mõõtetulemust. Tänu sellele, et seadmed olid paigaldatud vertikaalselt liikusid õhumullid mööda torustikku ülesse ning teatud aja möödumisel väljusid küvetist. Järgneva testide seeria eesmärgiks oli leida süstimise ja mõõtmise vahel oleva pausi optimaalne aeg. Pausid süstimise ja mõõtmise alustamise vahel olid valitud järgnevalt: 0 s, 15 s, 30 s, 60 s, 120 s. Katsetes kasutati dH<sub>2</sub>O ja Trp.12 lahust. Testi protokoll on toodud Lisas 4 (Tabel 7).

### **3.3.3 Kalibreerimis lahuste degaseerimine mikromullide eemaldamiseks**

Testide käigus mõõdeti lahused degaseerimata ning degaseeritult. Selles katseseerias mõõdeti kolm lahust Trp.2, Trp.8 ning Trp.12, et katta kogu seadme dünaamilist piirkonda. Testi protokoll on toodud Lisas 4 (Tabel 6).

### **3.3.4 Fluorestsentsi sõltuvus temperatuurist**

Kuna on teada, et fluorestsents väheneb temperatuuri tõusuga, tehti töö käigus üks mõõteseeria temperatuuridel 25°C, 28°C ja 35°C. Temperatuurid olid valitud järgnevalt:

- 25°C seadme töötemperatuur
- 28°C lahuse temperatuur pärast degaseerimist
- 35°C sobivamaks temperatuuriks on 36°C (heitdialüsaadi temperatuur kui see jõuab seadmesse, mis on kasutusel haiglas), kuid olemasoleval termomeetri skaala oli kuni 35°C.

Mõõtmisel kasutati lahuseid dH<sub>2</sub>O, Trp.2, Trp.8 ja Trp.12. Testi protokoll on toodud Lisas 4 (Tabel 9).

### **3.3.5 Trüptofaani fotokeemilised reaktsioonid**

Teada on, et Trp laguneb UV kiirguse käes. Seetõttu on oluline välja selgitada, kuidas avaldab Trp-le mõju katseseade lainepikkustel L4 ja L3. Testi pikkuseks oli valitud 360 sekundit, kasutatud lahus oli Trp.12, ning keskkonna temperatuur  $T = 25^{\circ}\text{C}$ . Testi protokoll on toodud Lisas 4 (Tabel 8).

### **3.3.6 Trüptofaani lahuste pikaajaline säilivus**

Praktikas tuleb ette olukordi, kus seadmeid tuleb kalibreerida järjest ning on tähtis teada kalibreerimise lahuse stabiilsust ajas. Kalibreerimise lahuse stabiilsuse testimiseks hoiustati lahuseid termokapis temperatuuril  $T = 25^{\circ}\text{C}$  ja mõõdeti fluorestsentsi 0, 24, 48 ja 96 tundi pärast valmistamist, degaseerimist ja termostateerimist. Mõõtmisel kasutati makromullide eemaldamine protokolliga pausiga 15 s. Protokoll on toodud Lisas 4 (Tabel 7).

### 3.3.7 Seadmete kalibratsioon lainepikkustel L4 ja L3

Kasutades eelnevaid tulemusi olid valitud optimaalsed parameetrid kalibreerimise teostamiseks:

- 5 lahuse süstimist
- degaseeritud lahused
- paus 15 s
- temperatuur 25°C.

Kalibreerimise protokoll on toodud Lisas 4 (Tabel 9).

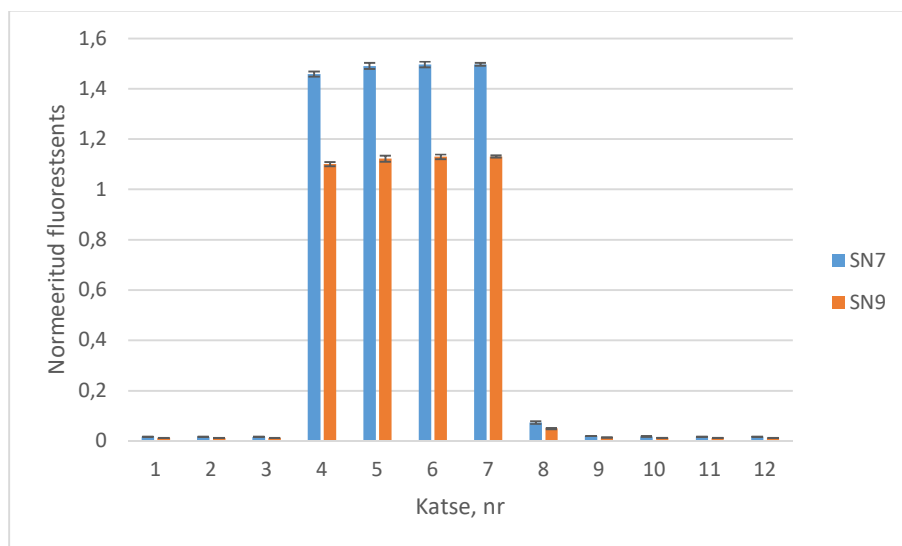
Kvantitatiivse võrdluse jaoks kasutati Lisas 3 (Tabel 4) toodud kontsentratsioonid.



## 4 Tulemused

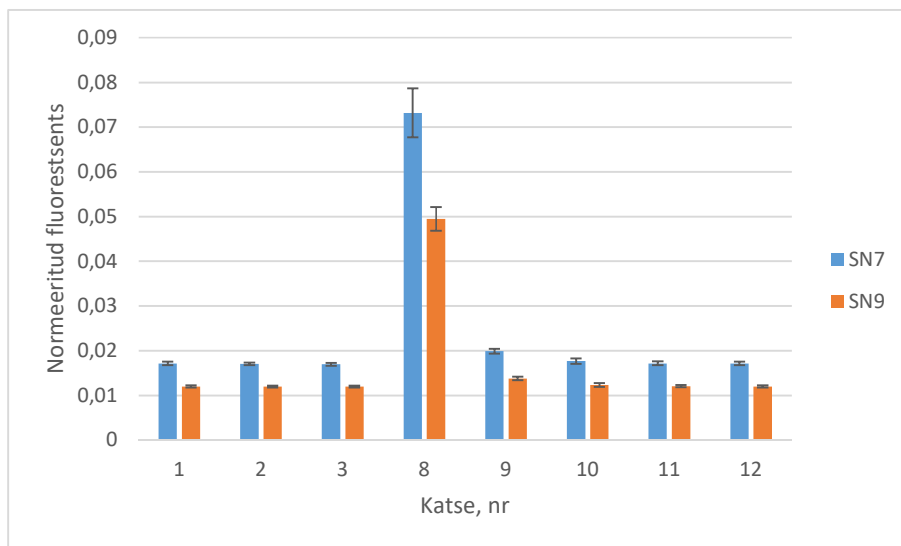
### 4.1 Seadme pesemise optimeerimine

Optimeerimise käigus viidi läbi katseseeria degaseeritud dH2O ja Trp.12 lahusega. Esialgu mõõdeti dH2O, siis Trp.12 lahust ning pärast jätkuvalt dH2O, kuni baasjoone taastumiseni algtasemele. Tulemused on toodud normeeritud kujul (Valem 3). Joonisel 11 on kuvatud keskmine ning standardhälve. Baasjoon (dH2O) on  $(0,0172 \pm 0,0003)$  ja Trp.12 on  $(1,496 \pm 0,0110)$ .



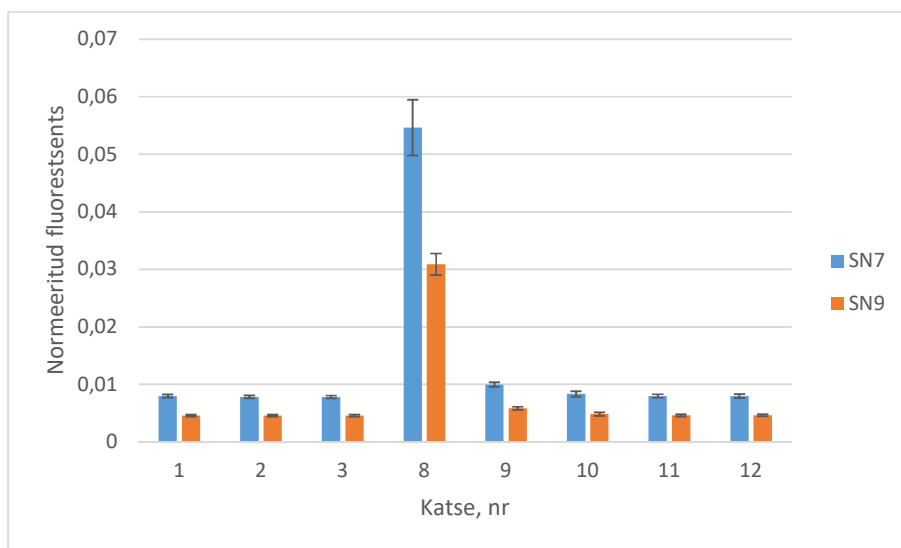
Joonis 12. dH2O ja Trp.12 lahuse mõõtetulemused.

dH2O mõõtetulemused on eraldi toodud joonisel 12. (Trp.12 lahuse mõõtetulemused on eemaldatud illustratiivsel eesmärgil). Katsete 1-3 puhul viidi mõõtmised läbi dH2O-ga  $(0,0176 \pm 0,0002)$ . Peale lahuse mõõtmist ja ühekordset pesemist on näha (katse nr. 8), et baasjoon on oluliselt muutunud  $(0,0732 \pm 0,0055)$ . Baasjoon taastub pärast teist pesemist  $(0,0176 \pm 0,0006)$ .



Joonis 13. Seadmete SN7 ja SN9 normeeritud fluorestsentsi baasjoon lainepikkusel L4, enne (1-3) ja pärast proovi mõõtmist (8-12).

Sarnane tulemus on saadud ka lainepikkusel L3 (Joonis 14). Seade saab puhtaks pärast kahte pesemist.



Joonis 14. Seadmete SN7 ja SN9 normeeritud baasjoon lainepikkusel L3 enne (1-3) ja pärast proovi mõõtmist (8-12).

## 4.2 Mikromullide eemaldamine

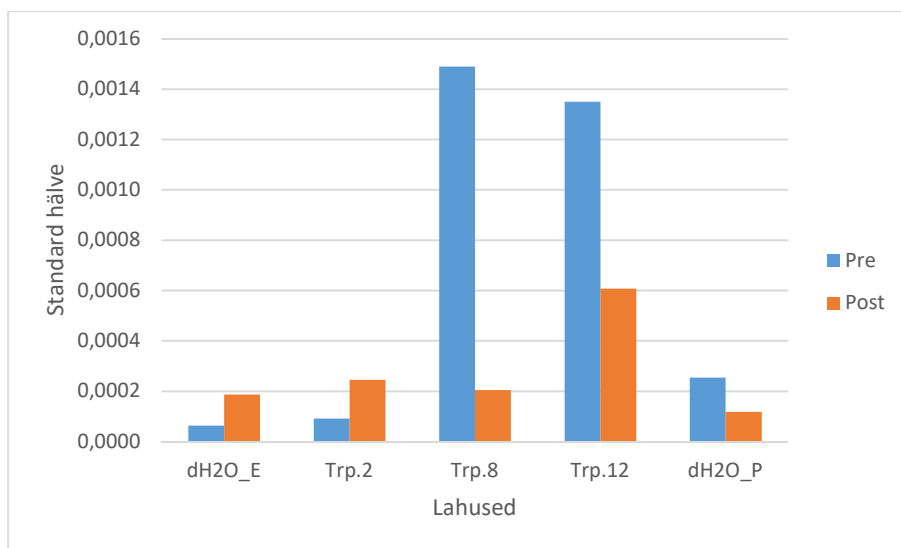
Antud katses mõõdeti degaseerimata (Pre) ning degaseeritud (Post) lahused. Viidi läbi üks katseseeria kasutades lahuseid dH<sub>2</sub>O, Trp.2, Trp.8 ja Trp.12. Katseseeria koosnes 23 mõõtmisest: 3 – dH<sub>2</sub>O\_E (dH<sub>2</sub>O lahuse mõõtmine enne Trp lahuste mõõtmist), 5 – Trp.2,

5 – Trp.8, 5 – Trp.12, 5 – dH2O\_P. Tabelis 1. on esitatud viiest mõõtmisest kolme viimase Trp lahuse mõõtmise keskmine ja standard hälve. Kolm viimast tulemust oli valitud tuginedes p4.1 tulemustele.

Tabel 1. Seadme SN7 lainepikkusel L4 degaseerimata ja degaseeritud lahuste mõõtetulemused.

Degaseerimine	Lahus	Norm. fluor	SD
Pre	dH2O_E	0,017416	0,000046
Post	dH2O_E	0,017675	0,000100
Pre	Trp.2	0,160664	0,000096
Post	Trp.2	0,160427	0,000283
Pre	Trp.8	0,742418	0,001193
Post	Trp.8	0,744664	0,000423
Pre	Trp.12	1,448713	0,001838
Post	Trp.12	1,449300	0,000424
Pre	dH2O_P	0,018056	0,000371
Post	dH2O_P	0,017837	0,000265

Degaseerimata ja degaseeritud lahuste tulemused erinevad minimaalselt (Trp.2 – 0,15%, Trp.8 – 0,3%, Trp.12 – 0,04%). Samuti on tulemustest näha, et dH2O\_E ja dH2O\_P erinevus on 3,4%. See võib olla põhjustatud sellega, et küvetti jäid Trp.12 jäägid. Hajuvus on suurem degaseerimata Trp.8 ja Trp.12 lahustel, kuid Trp.2 lahuse hajuvus on väiksem.

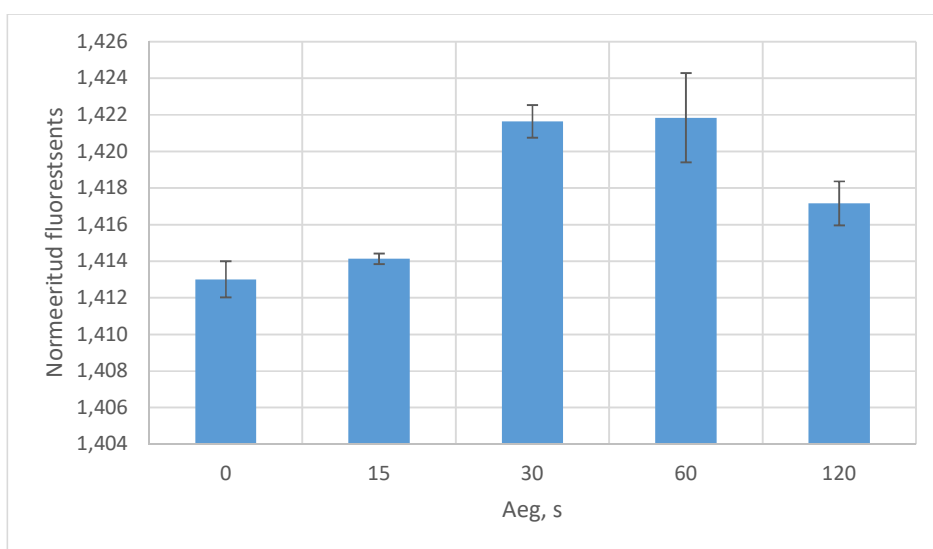


Joonis 15. Seadme SN7 lainepikkusel L4 degaseerimata ja degaseeritud lahuste mõõtetulemuste hajuvuse võrdlus.

Sarnased tulemused on saadud ka seadmega SN7 lainepikkusel L3 ning seadmega SN9 lainepikkustel L4 ja L3. Vastavad tulemused on toodud Lisas 5 (Tabel 10, Tabel 11, Tabel 12).

### 4.3 Makromullide eemaldamine

Trp.12 lahuste mõõtmise tulemused on toodud Joonis 16. Seadme SN7 lainepikkusel L4 normeeritud fluorestsents erinevate pausiga süstimise ja mõõtmise vahel. Seadmed enne mõõtmist olid puhtaks pestud ning mõõdeti kolm korda dH<sub>2</sub>O. Läbi viidi viis katseseeriat pausidega 0 s, 15 s, 30 s, 60 s, 120 s, kasutades kahte seadet SN7 ja SN9.



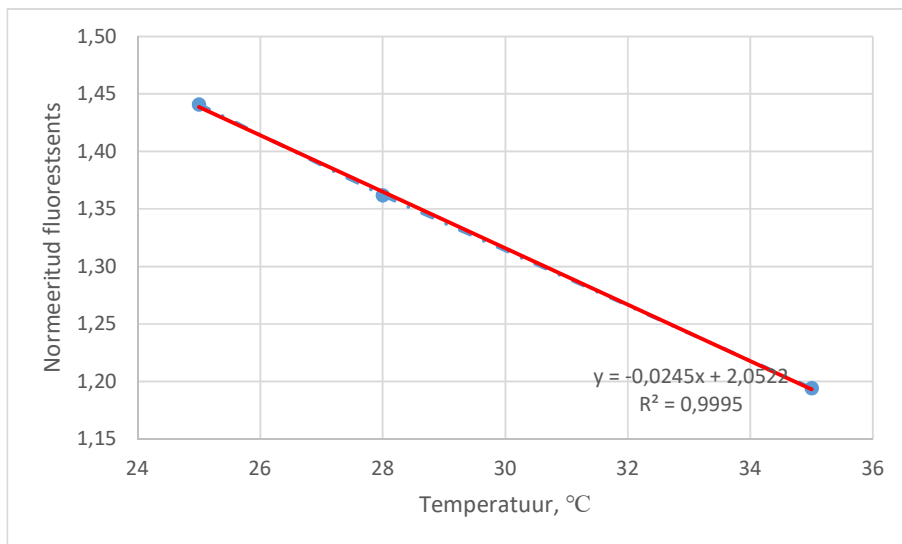
Joonis 16. Seadme SN7 lainepikkusel L4 normeeritud fluorestsents erinevate pausiga süstimise ja mõõtmise vahel.

Trp.12 lahuse mõõtmise keskmine ja standard hälve. Minimaalne standardne hälve on saadud 15 s pausi puhul ( $1,414 \pm 0,0003$ ). Sarnased tulemused on saadud ka seadme SN9 puhul ning L4 ja L3 lainepikkusete puhul. Tulemused on toodud Lisas 5 (Joonis 28, Joonis 29, Joonis 30).

### 4.4 Fluorestsentsi sõltuvus temperatuurist

Kõikide lahuste puhul (Trp.2, Trp.8, Trp.12) saadi sarnased tulemused, mis vastavad teooriale – fluorestsents väheneb temperatuuri tõusuga. Fluorestsentsi vähenemine oli sarnane kõigi kolme lahuse puhul (Trp.2 – 15,3%, Trp.8 – 17,2%, Trp.12 – 17,1%).

Samuti temperatuuri muutus on lineaarne kogu mõõdetud 25 kuni 35°C diapsoonis. Trp.12 lahuse puhul korrelatsiooni koefitsient  $r^2=0.9995$  (Joonis 17).

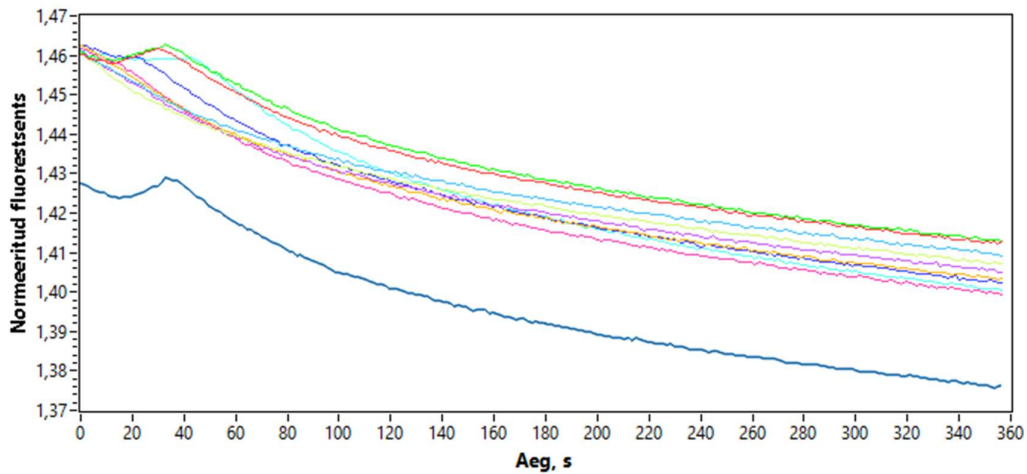


Joonis 17. Fluorestsentsi sõltuvus temperatuurist seadmel SN7 lainepikusel L4 lahusega Trp.12.

Punasega on kuvatud regressioonisirge. Trp.2 ja Trp.8 lahuste tulemused on toodud Lisas 5 (Joonis 32, Joonis 33).

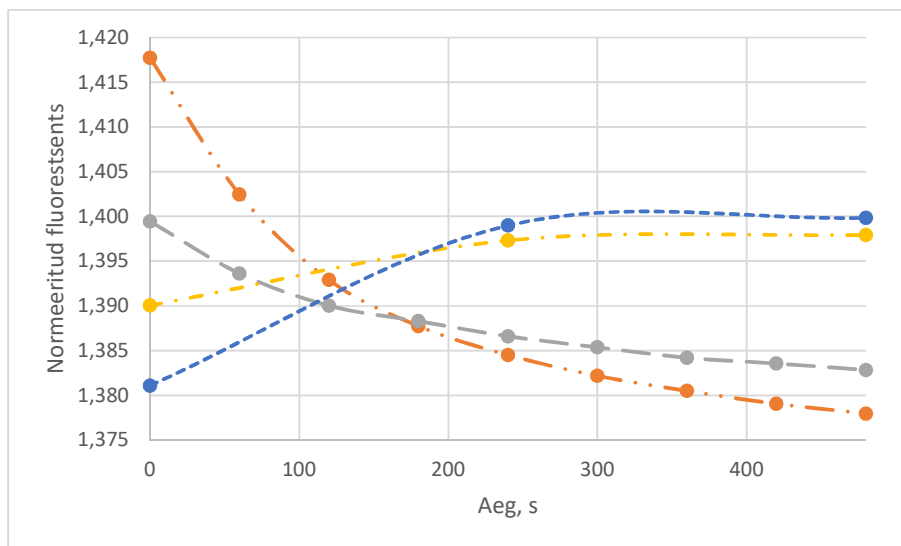
#### 4.5 Trüptofaani fotokeemilised reaktsioonid

Joonisel (Joonis 18) on esitatud normeeritud fluorestsentsi muutus 360 sekundi jooksul üheksal mõõtmisel. Esimese katse (joonisel esitatud sinisena) nivoo erineb ca 3%, kuid muutus on sarnane teiste tulemustega.



Joonis 18. Lahuse Trp.12 normeeritud fluorestsents mõõdetud seadmega SN7 lainepikkusel L4.

Kuna seadme temperatuuri sensor on paigaldatud trükkplaadile ning ei kajasta otseselt küveti temperatuuri, siis nende tulemuste põhjal on võimatu eristada temperatuuri ja UV muutusi.

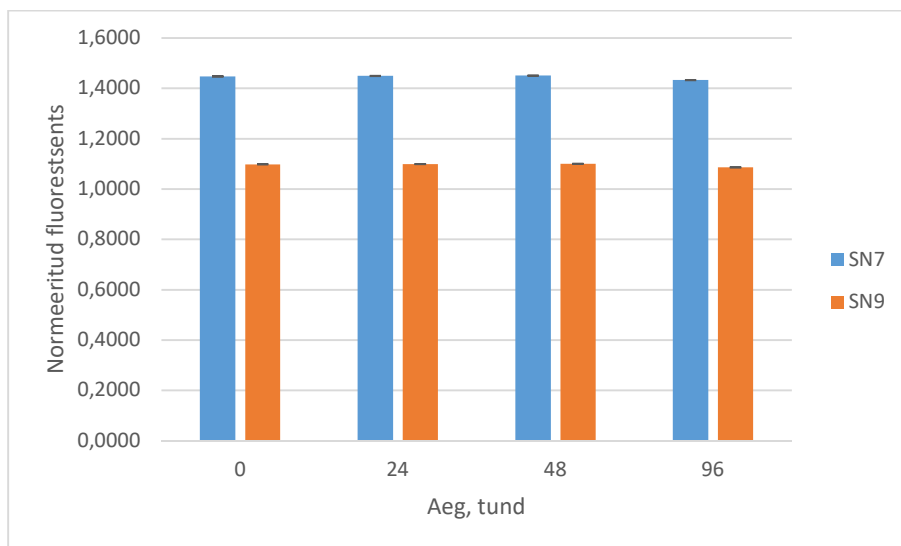


Joonis 19. Lahuse Trp.12 normeeritud fluorestsents mõõdetud seadmega SN7 lainepikkusel L4.

Selle katses (Joonis 19) oli näha, et fluorestsents väheneb ka mitte pideval mõõtmisel (helesinine ja hall). Kolme mõõtmise puhul (kollane ja tumesinine) fluorestsents tõuseb ja jääb stabiilseks.

## 4.6 Trüptofaani lahuste pikaajaline säilivus

Teostati neli katseseeriat Trp.12 lahusega temperatuuril 25°C. Mõõtmised teostati 0, 24, 48, 96 tundi pärast lahuse termostateerimist.



Joonis 20. Lahuse Trp.12 normeeritud fluorestsents ja standardhälve on mõõdetud seadmetega SN7 ja SN9 lainepikkusel L4.

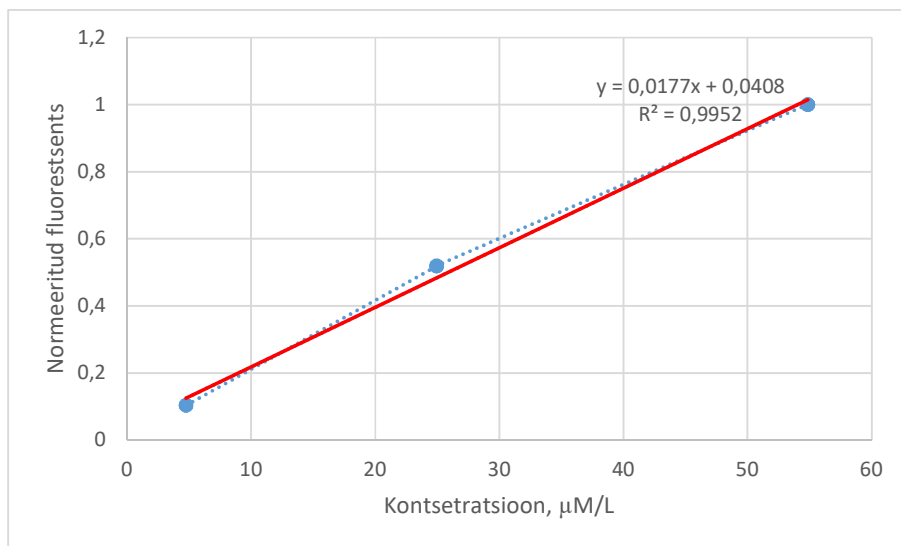
Muutused tulemustes on alla 1%. Tulemused numbrilisel kujul on esitatud Lisas 5 (Tabel 13, Tabel 14).

## 4.7 Seadme kalibreerimine

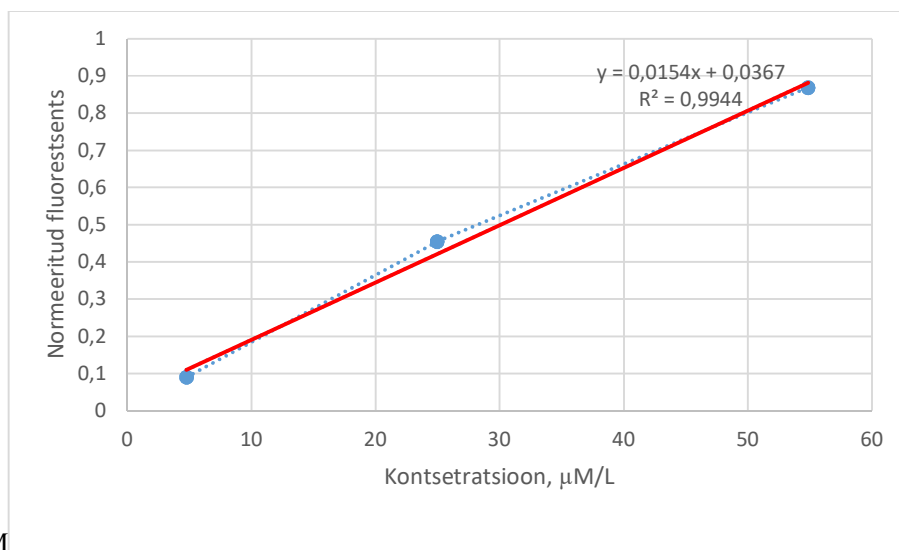
Kasutades valmistatud lahused arvutatud kontsentratsiooniga (Valem 8) oli läbiviidud seadmete kvalitatiivne kalibratsioon.

$$C = \frac{m(Trp)}{M(Trp) \cdot V(dH_2O)} \quad (8)$$

Trp kontsentratsiooni kasvuga tõuseb fluorestsentsi signaal. (Joonis 21). Tõus on peaaegu lineaarne ( $R^2=0,9952$ ). On näha Trp.8 punkt ( $24,96 \mu\text{M/L}$ ) ei asu sirgel, see on tingitud sellest, et Trp.12 ( $54,84 \mu\text{M/L}$ ) annab madalama tulemuse sisefiltrieffekti tõttu. Sisefiltrieffekt avaldub selles, et kõrgematel kontsentratsioonidel fluorestsents väheneb lahuse neelduvuse tõttu. Sarnane tulemus on saadud ka lainepikkusel L3 (Joonis 22).



Joonis 21. Seadme SN7 fluorestsentsi sõltuvus Trp kontsentratsioonist lainepikkusel L4.



Joonis 22. Seadme SN7 fluorestsentsi sõltuvus Trp kontsentratsioonist lainepikkusel L3.

## 4.8 Kalibratsiooni meetodika

### 4.8.1 Lahuste valmistamine

Lahuste valmistamine koosneb 7 põhitegevusest ja kestab ligikaudu 10 tundi (Tabel 2). Tööaega kulub ca 2 tundi, kui kõik vastavad kemikaalid ja varustus on olemas ning töökorras ja kättesaadavad.



Tabel 2. Trp lahuste valmistamise ajakava.

Nr	Tegevus	Kestvus, tund
1	Anumate pesemine	0,5
2	Anumate desinfitseerimine	1,5
3	Anumate jahtumine	0,5
4	Trp kaalumine ja lahuste valmistamine	0,5
5	Lahuste degaseerimine	1,5
6	Lahuste jahtumine kuni 25°C	3,0
7	Termostateerimine (25°C)	2,0

Seadmete kalibreerimise läbiviimiseks on vaja planeerida vähemalt kaks tööpäeva. Üks kulub lahuste valmistamise peale ja teine kalibreerimisele. P 4.6 on näidatud Trp lahuste säilivust üle 96 tunni.

#### 4.8.2 Kalibreerimise läbiviimine

Pärast lahuste valmistamist ja termostateerimist on võimalik viia läbi seadmete kalibreerimine. Arvestades töötulemusi pakuti välja kasutada järgneva protokoll (Tabel 3).

Tabel 3. Optimeeritud kalibreerimise protokoll.

Parameetrid	Väärtus	Nr.	Tegevus
Degaseerimine	Jah	1	dH2O mõõtmine (1)
Temperatuur, °C	25	2	dH2O mõõtmine (2)
Lahjendaja	dH2O	3	dH2O mõõtmine (3)
Lahus 1	Trp.2	4	Trp.2 mõõtmine (1)
Lahus 2	Trp.8	5	Trp.2 mõõtmine (2)
Lahus 3	Trp.12	6	Trp.2 mõõtmine (3)
Programm	Mancal	7	Trp.2 mõõtmine (4)
Paus, s	15	8	Trp.2 mõõtmine (5)
Kestvus, s	120	9	Trp.8 mõõtmine (1)
Mõõtmisi	23	10	Trp.8 mõõtmine (2)
Aeg, t	45	11	Trp.8 mõõtmine (3)
Seade1	SN7	12	Trp.8 mõõtmine (4)
Seade2	SN9	13	Trp.8 mõõtmine (5)
		14	Trp.12 mõõtmine (1)
		15	Trp.12 mõõtmine (2)
		16	Trp.12 mõõtmine (3)
		17	Trp.12 mõõtmine (4)
		18	Trp.12 mõõtmine (5)
		19	dH2O mõõtmine (1)
		20	dH2O mõõtmine (2)
		21	dH2O mõõtmine (3)
		22	dH2O mõõtmine (4)
		23	dH2O mõõtmine (5)

## 5 Arutelu

Seadme optimeerimise tulemusi analüüsidest selgus, et seadme puhtaks pesemiseks on vaja kahekordset pesemist prooviga või dH<sub>2</sub>O. Järgneva proovi mõõtmise saab teha kolmanda süstimise puhul. Kuid dH<sub>2</sub>O mõõtmisel, pärast kõige kangema Trp.12 lahust mõõtmist, on märgata kõrgemaid väärtusi võrreldes esialgse baasjoonega ka kolmanda süsti puhul. Kui järgnevalt tuleb mõõta teisi lahuseid, siis peab pesema 5 korda dH<sub>2</sub>O-ga. Teiselt poolt antud töö raames arvestati sellega, et pärast viimast Trp lahuse mõõtmist seadet pesti 5 korda dH<sub>2</sub>O-ga. Järgneva katseseeria alguses mõõdeti dH<sub>2</sub>O ainult 3 korda. Praktikas on mõistlik baasjoone mõõta 5 korda, et garanteerida seadme puhtust. Mõõtes järjest Trp lahuseid kasvava kontsentratsiooniga on piisav ka neli mõõtmist.

Makromullide eemaldamisel optimaalseks ooteajaks osutus 15 s. ( $1,414 \pm 0,0003$ ). Suurema pausi puhul tulemus ja standardhälve kasvas (30 s –  $1,422 \pm 0,00896$ ; 60 s –  $1,422 \pm 0,002438$ ). Tulemuse kasvu võib põhjustada lahuse temperatuuri muutus, pikemal paiknemisel küvetis. Seade ei võimalda täpselt mõõta küveti temperatuuri. Praktilisest aspektist 15 s paus osutus optimaalseks, nii tulemuste poolest, kui ka operaatori töö korralduse poolt.

Ultrahelivanni kasutamine kalibreerimise lahuse valmistamise käigus on hea tava keemialaboratooriumi praktikas, mille abil lahustatakse täielikult algaine, homogeeniseeritakse lahus ning eemaldatakse lahustunud gaasid. Antud töö raames ultrahelivanni kasutamine vähendas mõnevõrra Trp tulemuste hajuvust Joonis 15 (Lisas 5: Tabel 10, Tabel 11, Tabel 12). Siiski tulemuste keskmised oluliselt ei muutunud. Teiselt poolt ultrahelivanni kasutamine tõstab lahuse temperatuuri kuni 29-30°C. Lahuse jahutamine temperatuurini 25°C võtab 2-3 tundi aega, mis pikendab lahuse valmistamise aega. Tuleb arvestada ka järgmist:

- teised algained kalibreerimise lahuste jaoks ei ole nii hästi lahustatavad vees
- pikematel lainepikkustel, mis on kasutusel kanalites L1 ja L2, degaseerimata lahused võivad suurendada hajuvust.

Järeldub, et ultrahelivanni kasutamine on kohustuslik ning tuleb leida viis kiiremaks lahuste jahutamiseks kuni  $T=25,0^{\circ}\text{C}$ .

Fluorestsentsi sõltuvus temperatuurist osutus lineaarseks, nii kogu mõõtepiirkonnas (Trp.2 kuni Trp.12) kui ka temperatuurilises vahemikus  $25,0$  kuni  $35,0^{\circ}\text{C}$  (Joonis 17). Sellest võib järeldada, et kalibratsiooni saab teostada temperatuuril  $25,0^{\circ}\text{C}$ , mis on praktilises aspektis oluliselt mugavam. Üheks töö puuduseks on tehnilise lahenduse puudumine täpse proovi temperatuuri tagamiseks. Lahuse esmasel mõõtmisel  $T=34,9^{\circ}\text{C}$  ning viiendal  $T=34,6^{\circ}\text{C}$ . See oli seotud pideva proovianuma termokapist väljvõtmisele ja tagastamisele. Edasises töös tuleks kasutada termovanni, et garanteerida lahuste stabiilse temperatuuri kogu katseseeria käigus.

Fotokeemiliste reaktsioonide mõõtmine oli täielikult ebaõnnestunud (Joonis 18, Joonis 19). Antud seadmega ei ole võimalik mõõta lühiajaliselt väikseid muutusi, mida põhjustab UV-kiirgus. Muutused, mis on seotud temperatuuri muutusega on oluliselt suuremad. Peamiseks põhjuseks on mitteoptimaalne temperatuurilise sensori paigaldus. Antud katses oleks vaja mõõta küveti temperatuuri. Samuti on vaja uurida, kuidas mõjutavad küveti temperatuuri optilised komponendid.

Üheks probleemiks osutus toatemperatuuri pidev muutumine. Maksimaalne temperatuur seadistatakse laboris majahalduri poolt ning oli väljaspoolt autori kontrolli. Oli teada, et hoone temperatuur muudetakse nädalavahetusel ning pühade ajal ning seda tuli arvestada ka katsete planeerimisel.

## 6 Kokkuvõte

Käesoleva bakalaureusetöö raames arendati miniatuursele optilisele neeruasendusravi sensorile tarkvara. See tarkvara omab järgmist funktsionaalsust: seadme juhtimine, andmehõive, signaalide esmane töötlus, signaalide kuvamine, signaalide salvestamine, kalibratsiooni läbiviimine, kalibratsiooni parameetrite arvutamine, kalibratsiooni parameetrite salvestamine ja lugemine seadme mällu ja tööprotsessi logimine faili. Vastav tarkvara realiseeriti täies mahus. Tarkvara testiti koduselt kliinilisele keskkonnale lähedastes töötingimustes ja näitas oma stabiilsust ka pikaajalise salvestuste puhul.

Loodud tarkvaraga viidi läbi vastavad katsed ja välja töötatud esmane meetodika sensori kalibreerimiseks. Katsete käigus rakendas töö autor keemia laboratooriumi praktikaid, et valmistada kalibreerimislahuseid parimal võimalikul viisil arvestades olemasolevaid tehnilisi võimalusi.

Töö käigus uuriti seadme pesemise optimeerimist, lahuste degaseerimise vajadust, makromullide eemalduse optimeerimist, fluorestsentsi sõltuvust temperatuurist, Trp fotokeemiliseid reaktsioone ja Trp lahuste pikaajalist säilivust.

Seadme pesemise optimeerimise küsimus lahendati töös kirjeldatud katsemaketiga. Järeldati, et seade saab puhtaks kahe pesemisega ning mõõtmiskõlbulikkuna saab kasutada kolmandat süsti. Tuleb märkida, et pesu lahuse läbisurumisega on efektiivsem kui töös kasutatud viis. Katsemaketis tuleks teha arendustööd, et garanteerida ohutus heit-dialüsaadi mõõtmisel.

Lahuste degaseerimine osutus vajalikuks mõõdetava aine täielikuks lahustamiseks, lahuse homogeenseerimiseks ja lahustunud gaaside eemaldamiseks. Degaseeritud lahuste puhul hajuvus väheneb.

Optimaalseks pausiks osutus 15 s pärast proovi süstimist, selle aja jooksul makromullid jõuavad väljuda mõlema seadme küvetist. Samas tuleb arvestada, et kui seadme temperatuur erineb lahuse temperatuurist, siis pikema aja jooksul lahuse temperatuur muutub ning see muutus mõjutab tulemusi.

Üheks oluliseks momendiks töö käigus osutus fluorestsentsi sõltuvus temperatuurist. Autori poolt olid kasutusele võetud kõik tehnilised meetmed, et tagada katsete jooksul temperatuuri stabiilsust. Oli vaja tagada vastav temperatuur ruumile, lahustele ja seadmetele. Kuna katsed toimusid kuu aja jooksul, siis tuli temperatuuri stabiilsust tagada pidevalt, sest vastasel juhul ei ole tulemused võrreldavad. Fluorestsentsi sõltuvus temperatuurist osutus lineaarseks, nii kogu mõõtepiirkonnas (Trp.2 kuni Trp.12) kui ka temperatuurilises vahemikus 25,0 kuni 35,0°C (Joonis 17). Sellest võib järeldada, et kalibratsiooni saab teostada temperatuuril 25,0°C, mis on praktiliselt oluliselt mugavam.

Trp fotokeemiliste reaktsioonide uuring ei õnnestunud. Kuna fluorestsents sõltub tugevalt temperatuurist, siis katse tulemusi mõjutasid temperatuurist sõltuvad muutused. Küveti temperatuuri sensor otseselt ei mõõda ja seetõttu ei saa seda seadet kasutada Trp fotokeemiliste reaktsioonide uuringuks.

Korrektelt valmistatud Trp lahus säilib tingimustel ( $T = 25^{\circ}\text{C}$ , pime ruun) vähemalt 96 tundi. Edaspidi võiks uurida lahuse säilivust ka pikema aja, näiteks 168 kuni 720 tunni jooksul.

On arusaadav, et selle töö käigus lahendati ainult mõned tehnilised aspektid sensori kalibreerimise standardi väljatöötlemiseks. Autor peab oluliseks puuduseks taatlemata temperatuuri sensorite kasutamist termokapis, seadmes, lahuste temperatuuri mõõtmiseks ja ruumi temperatuuri mõõtmiseks. Samuti mõjutab tulemusi mitteoptimaalne temperatuurisensori paigutus seadmes. Kasutades rohkem seadmeid, saaks teostada korratavuse teste ja reprodutseeritavuse teste ning vastava analüüsi. Edaspidi oleks vaja teostada reaalseid kliiniliste dialüüsiproovide mõõtmisi, teha võrdlusi kuldstandardiga ehk vereproovidega ning välja töötada metoodika tulemuste võrdluseks spektrofluorimeetri tulemustega.

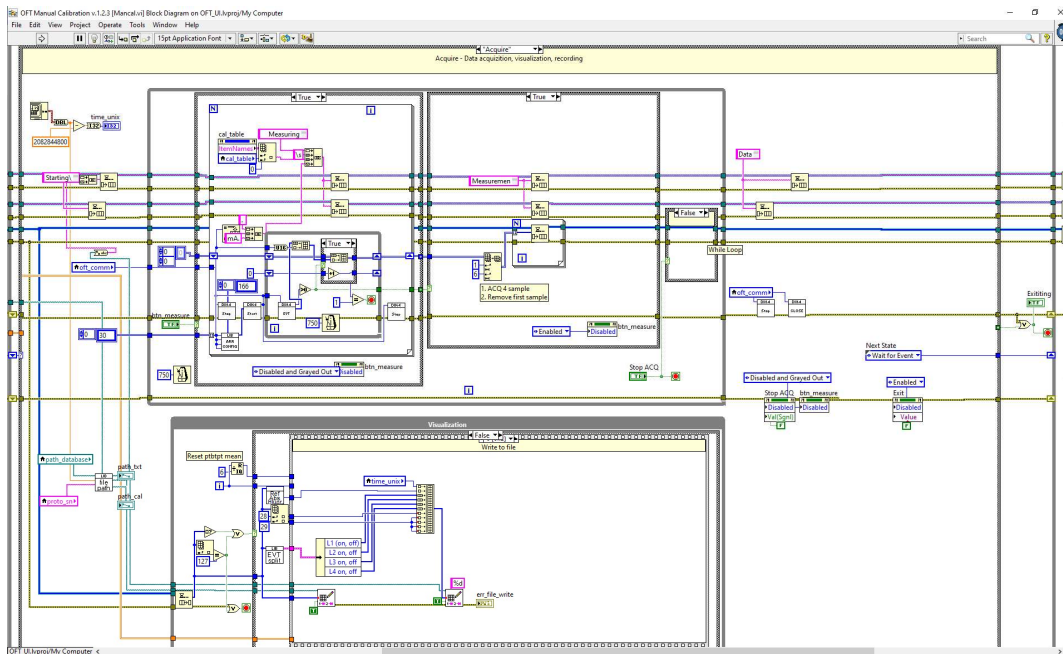
## Kasutatud kirjandus

- [1] V. Luyckx, M. Tonelli ja S. John, „The global burden of kidney disease and the sustainable development goals,“ *Bulletin of the World Health Organization*, kd. 96, pp. 414-422, 2018.
- [2] I. Fridolin, M. Magnusson ja L.-G. Lindberg, „On-Line monitoring of solutes in dialysate using absorption of ultraviolet radiation: Technique description,“ *The International Journal of Artificial Organs*, kd. 25, nr 8, pp. 748-761, 2002.
- [3] K. Pilt, J. Arund, A. Adoberg, L. Leis, I. Fridolin ja M. Luman, „Intradialytic on-line multicomponent reduction ratio monitoring in spent dialysate by a novel miniaturized optical sensor,“ *Nephrology Dialysis Transplantation*, kd. 34, nr Sup 1, 2019.
- [4] R. F. Schmidt, *Inimese füsioloogia*, Tartu: Tartu Ülikool, 1997.
- [5] U.S National Library of Medicine, "U.S National Library of Medicine," [Online]. Available: <https://medlineplus.gov/ency/article/000471.htm>. [Accessed 17 10 2019].
- [6] M. Neip, S. Jackobs ja J. Klempnauer, *Renal transplantation today*, Langenbeck's Arch Surg, 2009.
- [7] T. Ü. Kliinikum, „Hemodialüüs,“ [Võrgumaterjal]. Available: <https://www.kliinikum.ee/et/infovoldikud/protseduurid/41-infovoldik/1047-hemodialueues>. [Kasutatud 18 10 2019].
- [8] J. Holmar, *Optical Method for Uric Acid Removal Assessment During Dialysis. Optiline meetod kusihaape eemaldamise määramiseks dialüüsiravi käigus*, Tallinn: TTÜ Kirjastus, 2013.
- [9] R. Tomson, *Urea- and Creatinine-Based Parameters in the Optical Monitoring of Dialysis: The Case of Lean Body Mass and Urea Rebound Assessment.*, Tallinn: Tallinn University of Technology, 2017.
- [10] R. Tomson, F. Uhlin ja I. Fridolin, „Urea Rebound Assessment Based on UV Absorbance in Spent Dialysate,“ *ASAIO*, kd. 60, nr 4, pp. 459-65, 2014.
- [11] National Kidney Foundation, „KDOQI Clinical Practice Guideline for Hemodialysis Adequacy. 2015 Update,“ *Am J Kidney Dis*, kd. 66, nr 5, pp. 884-930, 2015.
- [12] v. d. Hulst, *Multiple light scattering : tables, formulas, and applications*, New York: Academic Press, 1980.
- [13] W. J.A, *Optical-thermal response of laser-irradiated tissue*, New York: Plenum Press, 1995.
- [14] J. Arund, M. Luman, F. Uhlin, R. Tanner ja I. Fridolin, „Is Fluorescence Valid to Monitor Removal of Protein Bound Uremic Solutes in Dialysis?,“ *PLOS ONE*, 2016.

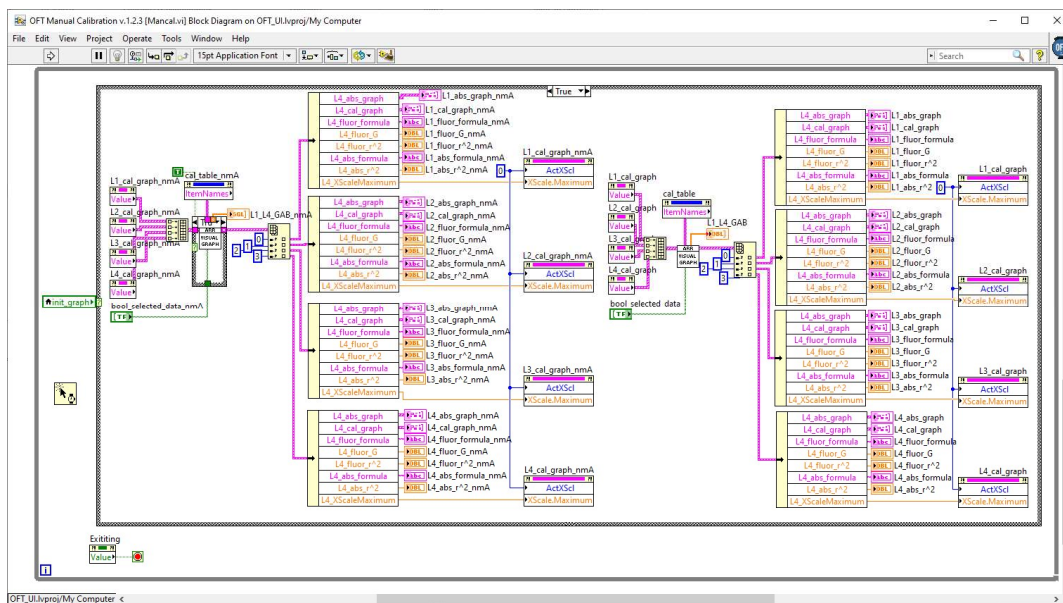
- [15] G. L. N. K. Lorenzo Brancaleon, „The In Vivo Fluorescence of Tryptophan Moieties in Human Skin Increases with UV Exposure and is a Marker for Epidermal Proliferation,“ *Journal of Investigative Dermatology*, kd. 113, nr 6, pp. 977-982, 1999.
- [16] P.-H. Kingisepp, *Inimese Füsioloogia*, Tartu, 2001.
- [17] I. Fridolin, *Monitoring of dialysis adequacy with an optical technique*, Tallinn: Tallinn University of Technology, 2011.
- [18] *The Human Body Atlas*, Kent: Grange Books, 2004.
- [19] *Pilk inimkeha sisemusse*, Tallinn: Koolibri, 2011.
- [20] M. G. Cogan, *Introduction to dialysis*, Churchill Livingstone, 1991.
- [21] *Modeling and Control of Dialysis Systems Vol. 2*, New York: Springer Heidelberg, 2013.
- [22] M.-A. Mycek ja B. W. Pogue, *Handbook of Biomedical Fluorescence*, New York: Marcel Dekker, 2003.
- [23] Riigikogu, „Mõõteseadus,“ Riigi Teataja, 09 05 2018. [Võrgumaterjal]. Available: <https://www.riigiteataja.ee/akt/112122018057>. [Kasutatud 04 10 2019].
- [24] „Методика выполнения измерений (МВИ). Разработка методики выполнения измерений (МВИ),“ [Võrgumaterjal]. Available: [metro.ru/html/metrology/MVI/razrabotkaMVI.html](http://metro.ru/html/metrology/MVI/razrabotkaMVI.html). [Kasutatud 04 10 2019].
- [25] C. D. Geddes, *Reviews in Fluorescence 2007*, New York: Springer, 2007.
- [26] K. Pilt, J. Arund, A. Adoberg, L. Leis, I. Fridolin ja M. Luman, „Online Urea Concentration Estimation from Spent Dialysate Using Optical Sensor,“ %1 *XV Mediterranean Conference on Medical and Biological Engineering and Computing – MEDICON 2019 - 2020*, Coimbra, Portugal, 2019.
- [27] M.-. j. Taristuminister, „uded mõõteprotseduurile ja mõõtja erialasele pädevusele ning pädevuse hindamise ja tõendamise kord,“ 13 12 2018. [Võrgumaterjal]. Available: <https://www.riigiteataja.ee/akt/118122018017>. [Kasutatud 04 10 2019].



# LISA 1 LabVIEW plokkiagrammid

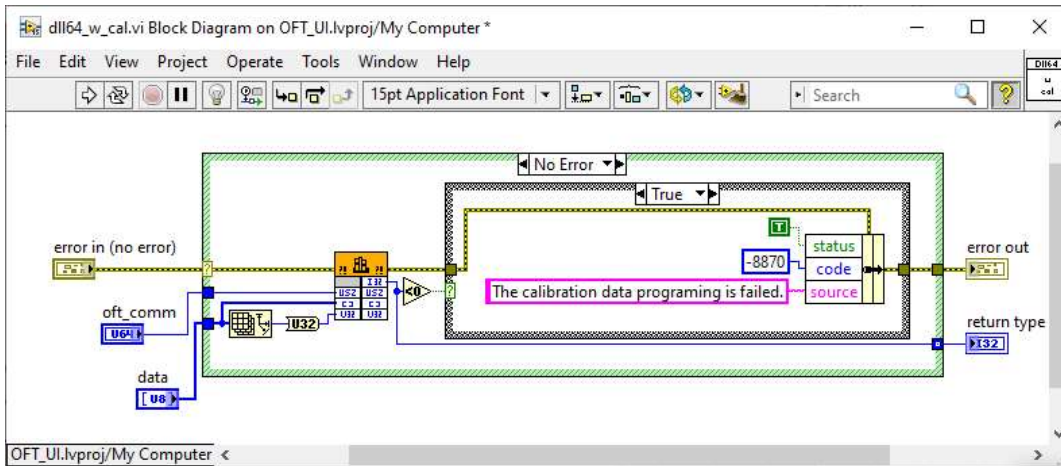


Joonis 23. Andmehõive alammoduli plokkiagramm.



Joonis 24. Visualiseerimise alammoduli plokkiagramm.





Joonis 26. Kalibratsiooni andmete kirjutamine EEPROM-i DLL abil.

`int oft_w_cal ( struct oft_comm * comm, uint8_t * data, size_t len )`

Write calibration data. The device contains a little calibration EEPROM to store user-defined application specific calibration data. This function can be used to write the calibration data into the EEPROM. The data is written in 32B blocks, the last partial block is zero-padded.

**Parameters**

<i>comm</i>	Comm object
<i>data</i>	Pointer to data buffer to write
<i>len</i>	Length of data buffer to write

**Returns**

Returns 0 on success, <0 on failure

Joonis 27. Kalibratsiooni andmete kirjutamise funktsiooni kirjeldus.

## LISA 2 Logifaili näidis

Inimloetava logifaili formaat on ASCII, eraldus tabeldusmärk.

Väljad: Unix ajatempel, kuupäev AAAA-KK-PP, kellaeg TT:MM:SS, infokirje.

```
1566903230 2019-08-27 13:53:49
1566903230 2019-08-27 13:53:49   Starting application...
1566903230 2019-08-27 13:53:49   OFT Manual Calibration v.1.2.3
1566903230 2019-08-27 13:53:49   OS: Windows 10 Pro , Windows
x64, 10.0, 18362, LVRTE: 15.0.1, User: oftest5.
1566903230 2019-08-27 13:53:49   Disk free size is 72 GB.
1566903230 2019-08-27 13:53:49   IP addresses: 192.168.0.143
1566903230 2019-08-27 13:53:49   SN: 8, fwver: 2.1, hwver:
0,state: 0, syserr: 0.
1566903230 2019-08-27 13:53:49   LEDs active time LED1: 2 d 6 hr
48 min 23.406 s, LED2: 2 d 6 hr 48 min 23.406 s, LED3: 2 d 6 hr
48 min 23.406 s, LED4: 2 d 6 hr 48 min 23.406 s.
1566903230 2019-08-27 13:53:49   Starting calibration...
c:\databases\calibration\2019_08_27_13_53_sn8.txt
1566903343 2019-08-27 13:55:42   Measuring solution NN1.
1566903346 2019-08-27 13:56:45   Measuring solution NN2.
.....
1566906667 2019-08-27 14:51:06   Measurement ended
1566906679 2019-08-27 14:51:18   Data acquisition stopped.
1566906688 2019-08-27 14:51:27   Calibration data is not
changed.
1566906688 2019-08-27 14:51:27   Copied to OneDrive
c:\databases\calibration\2019_08_27_13_53_sn8.txt
1566906688 2019-08-27 14:51:27   Exiting...
1566906688 2019-08-27 14:51:27
1566906688 2019-08-27 14:51:27   No Error
```

## LISA 3 Lahused

Tabel 4. Trp lahuste kontsentratsioonid.

Nr.	Nimi	Soovitud kontsentratsioon, $\mu\text{M/L}$	Trp aine mass, g	dH <sub>2</sub> O, g	Saadud kontsentratsioon, $\mu\text{M/L}$
1	Trp.12	54.91	0.01234	1100.0	54.93
2	Trp.8	24.97	0.00561	1100.0	24.97
3	Trp.2	4.61	0.00104	1100.0	4.63

## LISA 4 Mõõtmise protokollid

Tabel 5. Seadme pesemise optimeerimise mõõtmisprotokoll.

Parameetrid	Väärtus	Nr.	Tegevus
Degaseerimine	Jah	1	dH2O mõõtmine (1)
Temperatuur, °C	25	2	dH2O mõõtmine (2)
Lahjendaja	dH2O	3	dH2O mõõtmine (3)
Lahus 1	Trp.12	4	Trp 12 mõõtmine (1)
Lahus 2		5	Trp 12 mõõtmine (2)
Lahus 3		6	Trp 12 mõõtmine (3)
Programm	Mancal	7	dH2O mõõtmine (1)
Paus, s	60	8	dH2O mõõtmine (2)
Kestvus, s	150	9	dH2O mõõtmine (3)
Mõõtmisi	10	10	dH2O mõõtmine (4)
Aeg, t	0,5	11	dH2O mõõtmine (5)
Seade1	SN7		
Seade2	SN9		

Tabel 6. Kalibreerimise lahuse degaseerimise mõõtmisprotokoll.

Parameetrid	Väärtus	Nr.	Tegevus
Degaseerimine	Ei/Jah	1	dH2O mõõtmine (1)
Temperatuur, °C	25	2	dH2O mõõtmine (2)
Lahjendaja	dH2O	3	dH2O mõõtmine (3)
Lahus 1	Trp.2	4	Trp.2 mõõtmine (1)
Lahus 2	Trp.8	5	Trp.2 mõõtmine (2)
Lahus 3	Trp.12	6	Trp.2 mõõtmine (3)
Programm	Mancal	7	Trp.2 mõõtmine (4)
Paus, s	30	8	Trp.2 mõõtmine (5)
Kestvus, s	120	9	Trp.8 mõõtmine (1)
Mõõtmisi	46	10	Trp.8 mõõtmine (2)
Aeg, t	2	11	Trp.8 mõõtmine (3)
Seade1	SN7	12	Trp.8 mõõtmine (4)
Seade2	SN9	13	Trp.8 mõõtmine (5)
		14	Trp.12 mõõtmine (1)
		15	Trp.12 mõõtmine (2)
		16	Trp.12 mõõtmine (3)
		17	Trp.12 mõõtmine (4)
		18	Trp.12 mõõtmine (5)
		19	dH2O mõõtmine (1)
		20	dH2O mõõtmine (2)
		21	dH2O mõõtmine (3)
		22	dH2O mõõtmine (4)
		23	dH2O mõõtmine (5)

Tabel 7. Makromullide eemaldamise mõõtmisprotokoll.

Parameetrid	Väärtus	Nr.	Tegevus
Degaseerimine	Jah	1	dH2O mõõtmine (1)
Temperatuur, °C	25	2	dH2O mõõtmine (2)
Lahjendaja	dH2O	3	dH2O mõõtmine (3)
Lahus 1	Trp.12	4	Trp.12 mõõtmine (1)
Lahus 2		5	Trp.12 mõõtmine (2)
Lahus 3		6	Trp.12 mõõtmine (3)
Programm	Mancal	7	Trp.12 mõõtmine (4)
Paus, s	0/15/30/60/120	8	Trp.12 mõõtmine (5)
Kestvus, s		10	dH2O mõõtmine (1)
Mõõtmisi	70	11	dH2O mõõtmine (2)
Aeg, t	3	12	dH2O mõõtmine (3)
Seade1	SN7	13	dH2O mõõtmine (4)
Seade2	SN9	14	dH2O mõõtmine (5)

Tabel 8. Lühiajalise UV-mõju Trp-le mõõtmisprotokoll.

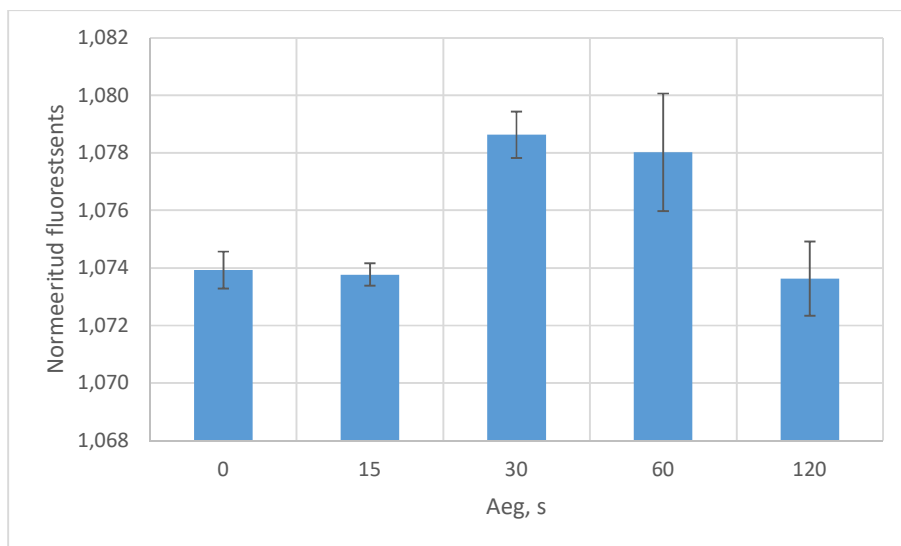
Parameetrid	Väärtus	Nr.	Tegevus
Temperatuur, °C	25	1	Trp 12 mõõtmine (1)
Lahjendaja	dH2O	2	Trp 12 mõõtmine (2)
Lahus 1	Trp.12	3	Trp 12 mõõtmine (3)
Lahus 2		4	Trp 12 mõõtmine (4)
Lahus 3		5	Trp 12 mõõtmine (5)
Programm	OFT_UI	6	Trp 12 mõõtmine (6)
Kestvus, s	360	7	Trp 12 mõõtmine (7)
Mõõtmisi	10	8	Trp 12 mõõtmine (8)
Aeg	1 tund	9	Trp 12 mõõtmine (9)
Seade1	SN7		
Seade2	SN9		

Tabel 9. Trp lahuse fluorestsentsi temperatuurilise sõltuvuse mõõtmisprotokoll.

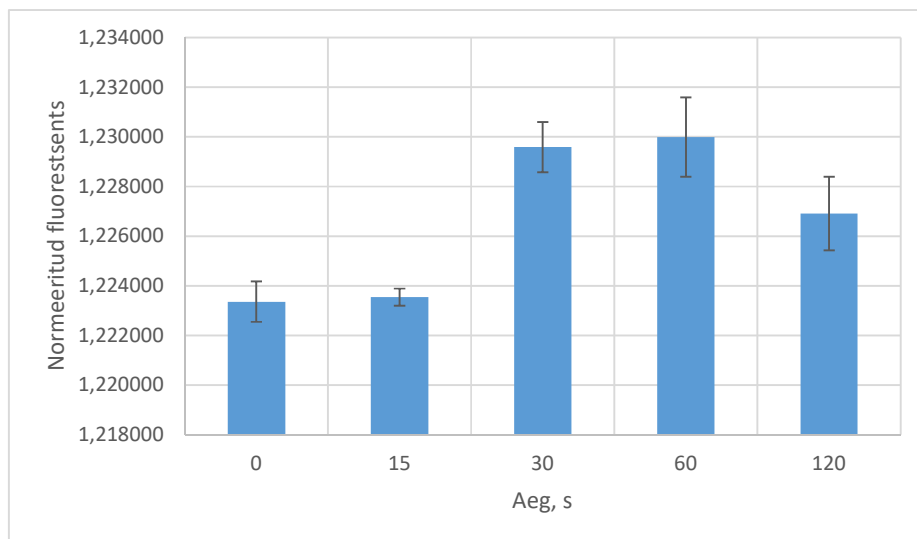
Parameetrid	Väärtus	Nr.	Tegevus
Degaseerimine	Jah	1	dH2O mõõtmine (1)
Temperatuur, °C	25/28/35	2	dH2O mõõtmine (2)
Lahjendaja	dH2O	3	dH2O mõõtmine (3)
Lahus 1	Trp.2	4	Trp.2 mõõtmine (1)
Lahus 2	Trp.8	5	Trp.2 mõõtmine (2)
Lahus 3	Trp.12	6	Trp.2 mõõtmine (3)
Programm	Mancal	7	Trp.2 mõõtmine (4)
Paus, s	15	8	Trp.2 mõõtmine (5)
Kestvus, s	120	9	Trp.8 mõõtmine (1)
Mõõtmisi	69	10	Trp.8 mõõtmine (2)
Aeg, t	3	11	Trp.8 mõõtmine (3)
Seade1	SN7	12	Trp.8 mõõtmine (4)
Seade2	SN9	13	Trp.8 mõõtmine (5)
		14	Trp.12 mõõtmine (1)
		15	Trp.12 mõõtmine (2)
		16	Trp.12 mõõtmine (3)
		17	Trp.12 mõõtmine (4)
		18	Trp.12 mõõtmine (5)
		19	dH2O mõõtmine (1)
		20	dH2O mõõtmine (2)
		21	dH2O mõõtmine (3)
		22	dH2O mõõtmine (4)
		23	dH2O mõõtmine (5)



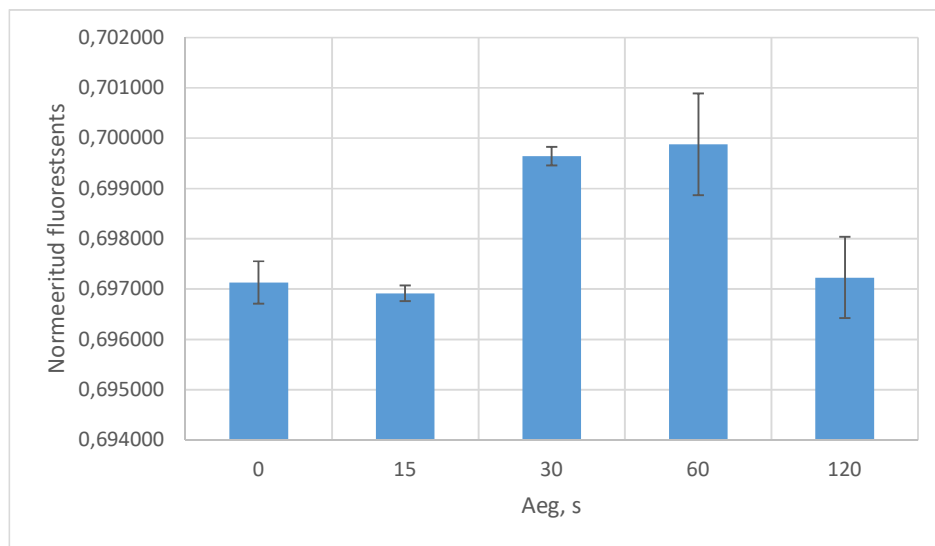
## LISA 5 Tulemused



Joonis 28. Seadme SN7 lainepikkusel L4 normeeritud fluorestsents erinevate pausiga süstimise ja mõõtmise vahel.



Joonis 29. Seadme SN9 lainepikkusel L4 normeeritud fluorestsents erinevate pausiga süstimise ja mõõtmise vahel.



Joonis 30. Seadme SN9 lainepikkusel L3 normeeritud fluorestsents erinevate pausiga süstimise ja mõõtmise vahel.

Tabel 10. Seadme SN7 lainepikkusel L3 degaseerimata ja degaseeritud lahuste mõõtetulemused.

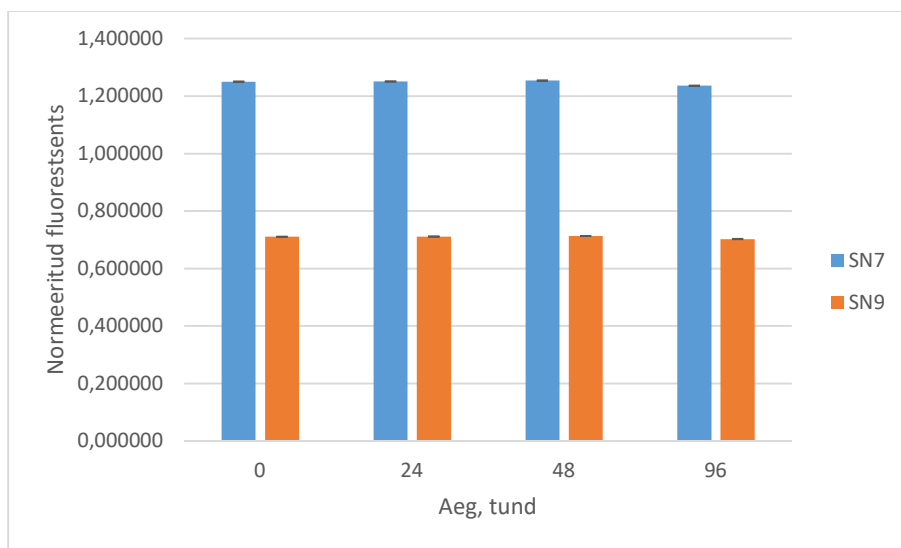
Degaseerimine	Lahus	Norm. Fluor.	SD
Pre	dH2O_E	0,007794	0,000060
Post	dH2O_E	0,007981	0,000061
Pre	Trp.2	0,132276	0,000056
Post	Trp.2	0,132172	0,000179
Pre	Trp.8	0,643950	0,001023
Post	Trp.8	0,646360	0,000346
Pre	Trp.12	1,254160	0,001472
Post	Trp.12	1,254933	0,000710
Pre	dH2O_P	0,008259	0,000271
Post	dH2O_P	0,008048	0,000215

Tabel 11. Seadme SN9 lainepikkusel L4 degaseerimata ja degaseeritud lahuste mõõtetulemused.

Degaseerimine	Lahus	Norm. Fluor.	SD
Pre	dH2O_E	0,012003	0,0001
Post	dH2O_E	0,012177	0,0002
Pre	Trp.2	0,117512	0,0001
Post	Trp.2	0,116985	0,0002
Pre	Trp.8	0,556045	0,0015
Post	Trp.8	0,557559	0,0002
Pre	Trp.12	1,095206	0,0014
Post	Trp.12	1,095420	0,0006
Pre	dH2O_P	0,012449	0,0003
Post	dH2O_P	0,012204	0,0001

Tabel 12. Seadme SN9 lainepikkusel L3 degaseerimata ja degaseeritud lahuste mõõtetulemused.

Degaseerimine	Lahus	Norm. Fluor.	SD
Pre	dH2O_E	0,004489	0,000002
Post	dH2O_E	0,004583	0,000003
Pre	Trp.2	0,077152	0,000099
Post	Trp.2	0,077072	0,000125
Pre	Trp.8	0,364919	0,001031
Post	Trp.8	0,366400	0,000218
Pre	Trp.12	0,709768	0,000941
Post	Trp.12	0,710472	0,000452
Pre	dH2O_P	0,004818	0,000175
Post	dH2O_P	0,004664	0,000080



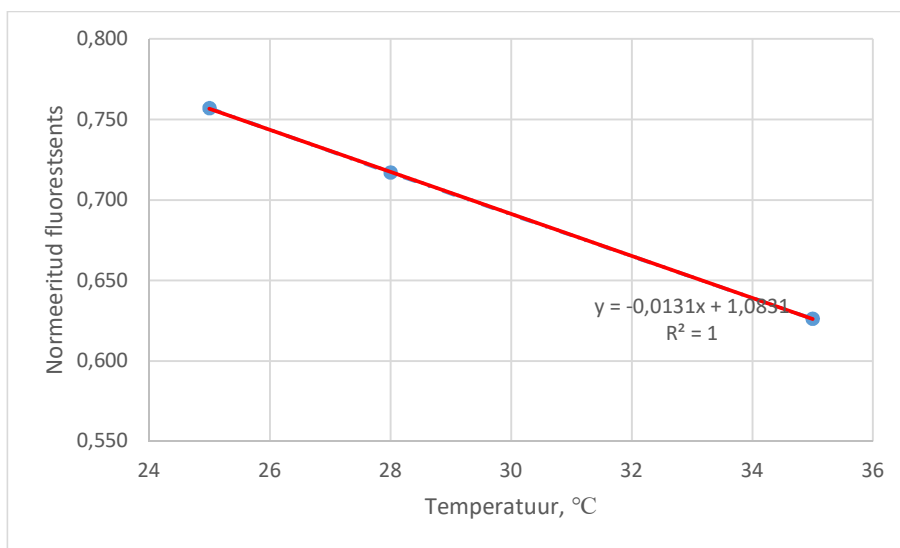
Joonis 31. Lahuse Trp.12 normeeritud fluorestsents ja standard hälve mõõdetud seadmetega SN7 ja SN9 lainepikkusel L3.

Tabel 13. Lahuse Trp.12 normeeritud fluorestsents ja standard hälve mõõdetud seadmetega SN7 ja SN9 lainepikkusel L4.

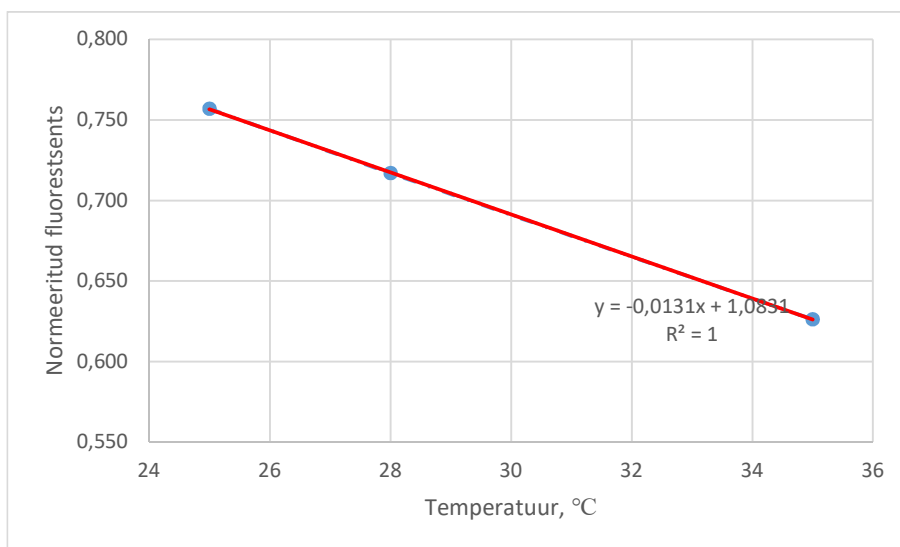
Aeg, tund	Norm. fluor. SN7	SD SN7	Norm. Fluor. SN9	SD SN9
0	1,4472	0,0009	1,0982	0,0009
24	1,4492	0,0003	1,0990	0,0006
48	1,4509	0,0005	1,0999	0,0002
96	1,4325	0,0008	1,0859	0,0008
Keskmine	1,4450		1,0957	
SD	0,0073		0,0057	

Tabel 14. Lahuse Trp.12 normeeritud fluorestsents ja standard hälve mõõdetud seadmetega SN7 ja SN9 lainepikusel L3.

Aeg, h	Norm. fluor. SN7	SD SN7	Norm. Fluor. SN9	SD SN9
0	1,2492	0,0011	0,7111	0,0005
24	1,2504	0,0001	0,7115	0,0002
48	1,2534	0,0009	0,7131	0,0002
96	1,2360	0,0005	0,7031	0,0005
Keskmine	1,2473		0,7097	
SD	0,0067		0,0039	



Joonis 32. Fluorestsentsi sõltuvus temperatuurist seadmel SN7 lainepikusel L4 lahusega Trp.2.



Joonis 33. Fluorestsentsi sõltuvus temperatuurist seadmel SN7 lainepikusel L4 lahusega Trp.8.

