УДК 543.257.1

О.Г. ПИСАКОВ, А.А. БОРИСЕНКО, В.Г. ГУСЛЕВ, В.В ЕГОРОВ, К.К. КОВАЛЕНКО,
С.В. ЛОМАКО, Б.А. НИКОЛАЕВ, Е.М. РАХМАНЬКО, А.А. РАТЬКО

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ИОНОВ K, NA И CL В БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЯХ С ПОМОЩЬЮ ИОНОСЕЛЕКТИВНЫХ ЭЛЕКТРОДОВ

The method of measuring of concentration of sodium, potassium and chloride ions in biological liquids has been worked out as a result of carried out research. Ion-selective electrodes for corresponding ions has been made and method has been compared with a standart equipment. The algorithm of treatment of the information for creation of automatic ion-analyzator has been offered.

Определение содержания ионов K, Na, Cl в биологических жидкостях относится к числу наиболее важных и распространенных клинико-лабораторных исследований. Оно составляет основу неотложного анализа, выполнение которого необходимо многим больным, находящимся в критическом состоянии. Однако в подавляющем большинстве лечебно-профилактических учреждений такие анализы не проводят. Причиной этого являются трудности, связанные с технологической процедурой их осуществления по ранее рекомендованным способам пламенной фотометрии, а также недоступность биохимических автоанализаторов и специальных наборов реагентов для определения концентрации электролитов энзимными фотометрическими методами. Очевидно, что для решения этой проблемы можно использовать метод ионометрии, имеющий ряд существенных достоинств. Это простота, точность, доступность и безопасность в отличие от метода пламенной фотометрии, где используются горючие газы.

Определение концентраций методом ионометрии основано на измерении электрического потенциала ионоселективного электрода, погруженного в исследуемый раствор, относительно электрода сравнения. Значение потенциала позволяет судить об активности присутствующих в растворе ионов. К числу наиболее известных анализаторов такого типа (иономеров) относятся: анализатор ионного состава биологических жидкостей Easylyte ("Medica", США) – "Easylyte", "Easylyte Plus"; "Electrolyte2" ("Beckman", США); "Synchron EL-ISE" ("Beckman", США); ионоселективные анализаторы электролитов фирм "ABL" (Швеция) и "AVL" (Австрия); "Копе" (Финляндия); полуавтоматический калий-натриевый анализатор "ОР–266"; "ОР-Са" ("Radelkis", Венгрия); иономер "ЭЦ-59" (микроанализатор ионоселективный K/Na, разработанный ТОО "Кварти-Мед", Россия, г.Уфа). Все они имеют очень высокую стоимость и поэтому практически недоступны для большинства клинико-диагностических лабораторий. Это обусловлено использованием в данных приборах проточных электродов, что определяет необходимость применения специальных систем подачи пробы к электродам. Кроме того, такой подход подразумевает измерение пиковых значений потенциала, что существенно затрудняет калибровку и требует сложных приборов для регистрации потенциала. В связи с этим нами были предприняты исследования, направленные на разработку подхода к определению содержания ионов K, Na, Cl в биологических жидкостях без использования традиционно применяемых проточных электродов.

Для проведения исследований авторами данной статьи были изготовлены пленочные калий, натрий и хлорид-селективные электроды в соответствии с общепринятыми методиками [1–3]. Состав мембран для электродов приведен в табл. 1.

Изготовленные пленочные ионоселективные электроды измеряют равновесный потенциал, установившийся в растворе после 30 с перемешивания. При разработке алгоритма выполнения измерений авторы постарались учесть влияние концентрационного диапазона построения градуировок. Влияние этого фактора обусловлено тем, что электродная функция при концентрациях, близких к нижнему пределу обнаружения (а именно этот диапазон представляет практический интерес), имеет криволинейный характер. Это приводит к изменению углового коэффициента электродной функции (θ) в зависимости от концентрации определяемого иона, что осо-

This document has been edited with Infix PDF Editor - free for non-commercial use.
To remove this notice, visit: www.iceni.com/unlock.htm

бенно актуально при определении ионов калия, концентрация которого в сыворотке крови низка. Следовательно, чтобы определить угловой коэффициент θ, соответствующий диапазону концентраций, в пределах которого изменяется искомая величина, необходимо было калибровать электрод в узком, близком к анализируемому, интервале концентраций.

Таблица 1

Состав мембран ионоселективных электродов

ИСЭ	Компоненты	Массовые %
K^+	Поливинилхлорид (ПВХ)	32,8
	Дибутилфталат (ДБФ)	65,8
	Валиномицин и триоктилоксибензолсульфокислота (ТОБС)	1,4
	ПВХ	22,0
Cl^-	ДБФ	67,0
	Хлорид тринонилоктадециламмония (ТНОДАСl)	11,0
	ПВХ	33,0
Na^+	Орто-нитрофенилоктиловый эфир (о-НФОЭ)	66,0
	Тетракис(4-хлор) фенилборат натрия и 4-третбутилкаликс[4]арен-тетраэтиловый эфир тетрауксусной кислоты ($C_{60}H_{80}O_{12}$, M=993,29)	1,0

Измерения проводились по методу ограничивающих растворов. Расчет концентрации ионов K^+ проводился по формуле

$$C_i = C_{ст.2} \cdot 10^{(E_i - E_{ст.2})/\theta},$$

где C_i –концентрация ионов K^+ в исследуемом растворе; E_i – потенциал в исследуемом растворе; $C_{ст.2}$ – концентрация ионов K^+ в стандартном (калибровочном) растворе; $E_{ст.2}$ – потенциал в стандартном (калибровочном) растворе; θ – угловой коэффициент градуировочной прямой.

Данный метод позволяет рассчитывать неизвестную концентрацию, исходя из значений потенциалов электрода в исследуемом и стандартном растворах (предварительно определив угловой коэффициент в заданном интервале концентраций). Такой подход дает возможность проводить подстройку градуировочной прямой по одной (базовой) точке, соответствующей стандартному раствору со средней концентрацией ионов калия при условии, что угловой коэффициент θ с течением более или менее длительного промежутка времени существенно не изменяется. Привязка к стандартному раствору со средней концентрацией определяемого иона имеет смысл еще и потому, что вероятность колебания концентрации ионов в анализируемых растворах вблизи среднего значения больше, чем возле максимального или минимального уровня.

При калибровке электродов мы руководствовались следующими критериями: $|\Delta E|_{Na+}$>13мВ; $|\Delta E|_{K+}$>12; $|\Delta E|_{Cl-}$ >14 мВ, где $\Delta E = E_{min} - E_{max}$, т.е. разность между показаниями электрода, находящегося в растворах с минимальной и максимальной концентрацией ионов, должна быть не меньше, чем указано в критерии. В противном случае необходимо производить перекалибровку.

Подстройка калибровочного графика осуществляется по критерию: $|E_n - E_{n-1}|$<0,2 мВ, где $|E_n - E_{n-1}|$ – разница показаний электрода между измерениями, проведенными с интервалом в 30 с. В случае, если разность показаний любого из электродов выше, чем заложено критерием, подстройка повторяется до получения положительного результата.

Поскольку проверка предложенной методики является очень трудоемкой, то был сконструирован прибор, представляющий собой автоматический пробоотборник на 12 образцов с системой обработки сигналов от электродов. Конструктивно пробоотборник выполнен в виде карусели, в которую устанавливаются стеклянные стаканчики с образцами и калибровочными растворами. Встроенная магнитная мешалка обеспечивает однородность раствора при проведении измерений. Позиционирование карусели и перемещение электродов по вертикали для погружения в исследуемые растворы осуществляется при помощи шаговых двигателей. Для удобства использования ионоселективные электроды на натрий, калий и хлорид, а также электрод сравнения были заключены в единый пластиковый цилиндрический корпус с выходами в одном торце и проводами для передачи кон-

This document has been edited with Infix PDF Editor - free for non-commercial use.
To remove this notice, visit: www.iceni.com/unlock.htm

тактного потенциала на плату обработки сигналов – в другом. Измерения сигналов от электродов проводились с помощью 16-разрядного аналого-цифрового преобразователя. Управление работой всего прибора осуществлялось по программе при помощи микропроцессора DS5000F. Результаты измерений выводились на встроенный двухстрочный буквенно-цифровой жидкокристаллический индикатор.

Точность измерений проверялась сравнением полученных данных с результатами других методов. Результаты приведены в табл. 2:

$$S_R = \frac{S_x}{C}100\%, \quad S_x = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n}(C_i - \bar{C})^2}{n-1}},$$

где: S_R – относительное стандартное отклонение, S_x – стандартное отклонение [4].

Таблица 2

Результаты анализа сыворотки крови различными методами

№ анализируемого образца	Метод											
	пламенно-фотометрический				титрометрический		потенциометрический					
	C_{K+}, ммоль/л	ε	C_{Na+}, ммоль/л	ε	C_{Cl-}, ммоль/л	S_x	C_{K+}, ммоль/л	S_x	C_{Na+}, ммоль/л	S_x	C_{Cl-}, ммоль/л	S_x
1	3,73	0,18	140	7,05	100	1	3,6	0,046	141	1,41	101	0,52
2	4,24	0,16	141	6,95	103	1,01	4,0	0,031	140	1,49	103	0,73
3	3,89	0,17	131	6,60	100	1,00	3,9	0,041	132	1,31	100	0,81
4	4,44	0,19	133	6,70	92	0,93	4,4	0,041	135	1,31	94	0,91
5	4,71	0,16	141	7,15	103	1,02	4,6	0,049	142	1,41	105	1,01
6	4,58	0,18	140	7,00	104	1,04	4,5	0,031	140	1,41	104	0,91
7	4,01	0,18	141	7,05	102	1,01	3,9	0,046	141	1,41	103	0,72
8	4,06	0,19	137	6,85	101	1,02	4,0	0.046	138	1,47	101	0,51
9	4,18	0,15	139	6,95	103	1,01	4,1	0,041	139	1,49	103	0,71

Проверка воспроизводимости “изо дня в день” проводилась сравнением показаний прибора и проточного анализатора “Radelkis”. Измерения на приборе выполнялись в клинико-диагностическом отделении областной клинической больницы Минска. Сравнительной оценке подвергались усредненные результаты, полученные на основании семикратного исследования содержания ионов в одной и той же пробе сыворотки крови. В табл. 3 приведены результаты проведенных исследований.

Таблица 3

Данные по анализу сыворотки крови на приборе Radelkis и измеренные по предложенной методике, ммоль/л

Дата выполнения анализа	Na		K		Cl	
	Radelkis	прибор	Radelkis	прибор	Radelkis	прибор
13.04.98	142	133,3	4,1	3,79	104	98,6
14.04.98	—	133,8	—	3,89	—	101,4
06.04.98	146	139,7	4,7	4,36	100	100,4
13.04.98	—	137,0	—	4,39	—	100,2
06.04.98	143	136,5	4,1	3,79	96	94,9
13.04.98	—	140,7	—	3,80	—	91,9

Видно, что результаты отличаются хорошей воспроизводимостью. При этом выявлено систематическое занижение результатов определения в среднем на 5,5% для Na^+ и 7,2% для K^+ по сравнению с результатами проточно-инжекционного анализа (ПИА). Отчасти это может быть объяснено наличием белковой фракции в сыворотке крови, что приводит к завышению результатов определения в неразбавленной сыворотке методом ПИА, отчасти – различиями условий градуировки и выполнения измерений в сопоставляемых методах. Введение поправочных коэффициентов (1,072 для K^+ и 1, 055 для Na^+) позволяет достигнуть максимального соответствия с данными ПИА (среднее расхождение составляет 0,92% отн. для K^+ и 0,97% отн. для Na^+).

Из полученных данных можно заключить, что предложенный алгоритм выполнения измерений с периодической подстройкой калибровки позволяет обойти сложности, связанные с нестабильностью характеристик электродов и получить разброс единичных измерений в пределах двух относительных

This document has been edited with Infix PDF Editor - free for non-commercial use.
To remove this notice, visit: www.iceni.com/unlock.htm

процентов. Эти же результаты свидетельствуют о высокой воспроизводимости и достоверности полученных данных. Таким образом, исследования показывают, что разработанные алгоритмы проведения измерений могут быть использованы при создании автоматического потенциометрического анализатора ионного состава крови.

1. Никольский Б.П., Матерова Е.А. Ионоселективные электроды. Л., 1980.
2. Камман К. Работа с ионоселективными электродами. М., 1989.
3. Николаев Б.А., Ломако В.Л., Рахманько Е.М. //Весці Акадэміі навук Беларусі. 1997. № 3. С.10.
4. Фишер Р. Статистические методы для исследователей. М., 1958.

Поступила в редакцию 18.01.99.

This document has been edited with Infix PDF Editor - free for non-commercial use.

To remove this notice, visit: www.iceni.com/unlock.htm