

Методика калібрування електродів для амперометричного визначення напруження кисню в тканинах

В. Я. Березовський

Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця Академії наук УРСР, Київ

Однією з головних проблем при амперометричному визначенні напруження кисню в тканинах є проблема стабільності і чутливості кисневих електродів. Без контролю за цими показниками неможливо будувати переконливі висновки з полярографічних

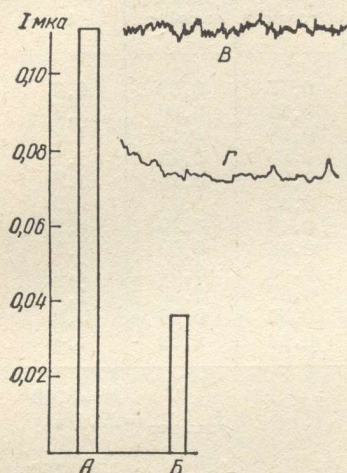


Рис. 1. Зміна абсолютної чутливості (без залишкового струму) платинового електрода № 141 в процесі роботи на протязі 10 днів. А — сила струму в 0,9%-ному розчині хлористого натрію при парціальному тиску кисню близько 160 мм рт. ст. на початку роботи; Б — сила струму того ж електрода в аналогічних умовах через 10 днів (близько 50 годин роботи); В — характер запису на початку роботи; Г — характер запису через 10 днів роботи.

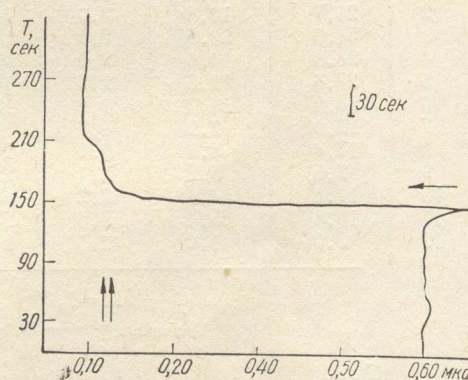


Рис. 2. Зміни сили дифузійного струму при додаванні в розчин сульфату натрію.

По горизонталі — сила струму в мікроамперах, по вертикалі — час в секундах (поділка — 30 сек). Стрілкою позначено момент додавання в розчин сульфату натрію 0,1 г/100 мл. Двома стрілками позначено напрям руху паперу. Запис одержано на потенціометрі ЕПП-09 платиновим електродом діаметром 0,1 мм під номером 102, при референтному каломельному електроді. Барометричний тиск — 754 мм рт. ст.

даних, особливо коли матеріали окремих дослідів, одержані на протязі певного часу, зіставляються між собою та з контрольними результатами [1, 2, 4, 10].

Найбільш поширеним серед дослідників є відкритий платиновий або золотий електрод, що застосовується в схемах із зовнішнім джерелом струму. Для виготовлення такого електрода використовують платинову дрітинуку діаметром від 0,1 до 0,6 мм. Бокову поверхню електрода вкривають шаром електричної ізоляції за винятком вістря або торця. Ізоляцію здійснюють розчиненням у дихлоретані оргсклом, епоксидними смолами, вініфлексом, лаком ХВЛ-21, шелаком тощо. Коли минає певний час, якість ізоляції погіршується, особливо біля активного кінчика, як в результаті механічних пошкоджень при введенні в тканину, так і внаслідок хімічних процесів. Це збільшує площу активної поверхні електрода, тобто змінює його робочу характеристику.

Крім того, навіть при незмінній площі активної поверхні, в процесі роботи на електрод діють поверхнево-активні речовини, що знаходяться в рідині організму (особливо білки і SH-групи) [5, 6, 9]. Відбувається нерівномірний процес «отруєння» електрода, що істотно впливає на його чутливість (рис. 1). Певне значення мають також індивідуальні властивості електрода, зумовлені сортом металу і особливостями структури обраної для роботи її частини [3].

Проведена нами експериментальна перевірка характеристик різноманітних за матеріалом, діаметром, характером робочої поверхні та покриття електродів показує

ла, що навіть в межах певної зовнішньої одноманітності чутливість електрода до кисню може істотно відрізнятися (табл. 1).

Перевірку чутливості електрода до кисню проводили в нейтральному фізіологічному розчині з певним напруженням кисню. Більшість дослідників перед визначенням приводять розчин у рівновагу з газовою сумішшю з певним вмістом кисню

Таблиця 1

Значення сили дифузійного струму для платинових електродів різного діаметру в 0,9%-ному розчині хлористого натрію при нормальному атмосферному тиску ($I_{\text{норм}}$) та при витисненні кисню сульфідом натрію ($I_{\text{залишок}}$) в мкА

Платина 0,5 мм				Платина 0,1 мм			
№	$I_{\text{норм}}$	$I_{\text{залишок}}$	k^*	№	$I_{\text{норм}}$	$I_{\text{залишок}}$	k
1	2,5	1,2	2,1	13	0,57	0,09	6,3
2	21,7	10,8	2,0	14	0,24	0,09	2,7
3	51,0	22,5	2,2	15	0,23	0,13	1,8
4	28,8	14,4	2,0	16	0,33	0,18	1,8
5	27,6	13,5	2,0	17	0,27	0,14	1,9
6	28,9	18,0	1,6	18	0,32	0,11	2,9
7	12,0	7,2	1,7	19	0,48	0,10	4,8
8	17,4	8,1	2,1	20	0,46	0,09	5,1
9	7,5	5,2	1,4	21	0,30	0,04	7,5
10	11,4	4,8	2,2	22	0,67	0,57	1,2
11	10,8	5,4	2,0	23	0,30	0,08	3,8
12	3,0	1,2	2,5	24	0,18	0,12	1,5

$$M=1,89$$

$$I_{\text{залишок}}=58,2\%$$

$$M=3,40$$

$$I_{\text{залишок}}=29,4\%$$

$$* k = \frac{I_{\text{норм}}}{I_{\text{залишок}}}, \text{ звідки процент залишкового струму } z = \frac{I_{\text{залишок}}}{I_{\text{норм}}} \cdot 100 = \frac{100}{k}$$

Таблиця 2

Залежність парціального тиску кисню від атмосферного тиску

Атмосферний тиск (в мм рт. ст.), D	Парціальний тиск кисню (в мм рт. ст.), P	Атмосферний тиск (в мм рт. ст.), D	Парціальний тиск кисню (в мм рт. ст.), P
750	157,50	760	159,60
752	157,92	762	160,02
754	158,34	764	160,44
756	158,76	766	160,86
758	159,18	768	161,28

[6, 10]. Сила дифузійного струму при певному напруженні кисню дає одну з необхідних для визначення точок. Одержання такої ж точки можливе і порівняно простішим способом, без необхідності виготовляти газову суміш.

При цьому треба виходити з того, що розчин, який перебуває в рівновазі з навколишньою атмосферою, має напруження кисню, залежне від барометричного тиску. Знаючи барометричний тиск в момент дослідження, можна визначити парціальний тиск кисню в розчині, тобто його напруження (табл. 2), виходячи з наявності 21% його в повітрі.

Для визначення мінімальної сили дифузійного струму в розчині, позбавленому кисню (так званий залишковий струм, зумовлений наявністю в розчині носіїв стру-

му, крім молекул кисню), з'ясування через розчин витіснення від домішок кисню ми зосталися до 100 мл нейтрального розчину, добре видно при амперометричному вимірюванні момент (рис. 2). Такий роз-

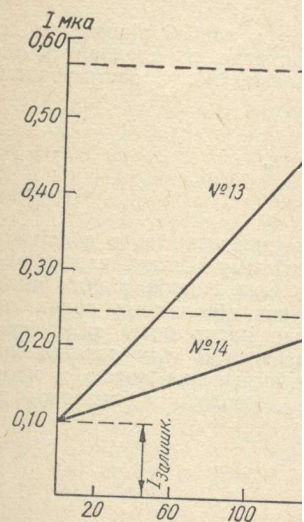


Рис. 3. Графічна характеристика платинових електродів №13 та №14

По вертикалі — сила дифузійного струму в мкА, по горизонталі — напруження кисню в мм рт. ст. Лінія №13 — сила дифузійного струму в розчині, позбавленому кисню, доданню сульфідом натрію. $I_{\text{норм}}$ — сила дифузійного струму при нормальному атмосферному тиску. Розчин хлористого натрію.

Характер графіка для електродів №13 та №14, відношення $I_{\text{норм}}$ до $I_{\text{залишок}}$, був показаний як цифрова величина нахилу графіка.

Як перший, так і другий способи визначення сили дифузійного струму мають властивості різних електродів, з метою компенсації систематичних помилок, без цього порівняння дослідів. Без цього порівняння результати обробки їх, втрачає вірогідність.

Крім реєстрації залежності сили дифузійного струму від напруження кисню (звичайно змінному потенціалі) звичайно вимірюють силу струму від платинових електродів, хвиля кисню на платині. Досліді показують, що сила дифузійного струму від платинових електродів хвиля кисню на платині.

Досить часто на платині вимірюють силу дифузійного струму. Це свідчить про доцільність при напруженні кисню —0,7 і навіть —0,8 в. При напруженні кисню —1,4 в. Це дозволяє при визначенні сили дифузійного струму використовувати напругу до —1,0 в. Графік дозволяє також визначити силу дифузійного струму від платинових електродів до кисню.

Наведені два способи визначення сили дифузійного струму також можливі з певною мірою в досліджуваних тканинах, відомі для даного електрода.

му, крім молекул кисню), звичайно використовують очищений азот, що при пропусканні через розчин витісняє кисень. В зв'язку з труднощами повної очистки азоту від домішок кисню ми зостосували хімічний спосіб [7]. Додавання 0,1 г сульфіту натрію до 100 мл нейтрального водного розчину практично позбавляє його кисню, що добре видно при амперометричному визначенні напруження кисню в розчині в цей момент (рис. 2). Такий розчин зберігає свої властивості на протязі двох-трьох діб і може бути використаний для визначення другої точки — сили дифузійного струму при відсутності кисню — так званого «залишкового струму» ($I_{\text{залишк.}}$).

Після визначення сили дифузійного струму в розчині при нормальному барометричному тиску ($I_{\text{норм.}}$) і в розчині,

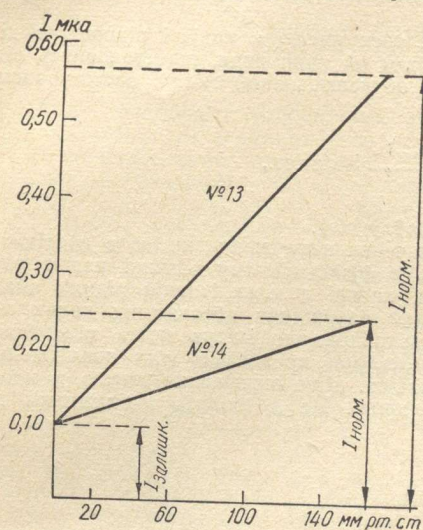


Рис. 3. Графічна характеристика платинових електродів № 13 і 14.

По вертикалі — сила дифузійного струму в мікроамперах, по горизонталі — напруження кисню в розчині в мм рт. ст. $I_{\text{залишк.}}$ — сила дифузійного струму в розчині, позбавленому кисню, додаванням сульфіту натрію. $I_{\text{норм.}}$ — сила дифузійного струму в розчині при нормальному атмосферному тиску. Розчин хлористого натрію 0,9%.

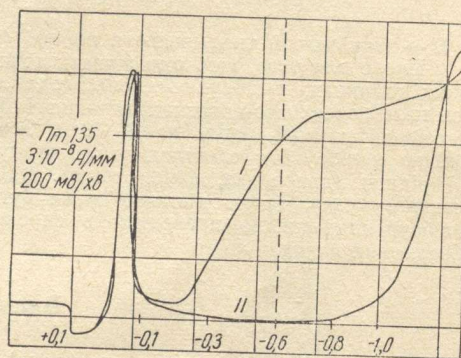


Рис. 4. Класична полярограма на платиновому електроді № 135 в розчині хлористого натрію 0,9% (I) і тому в розчині, позбавленому кисню домішкою сульфіту натрію (II).

Характер графіка для електродів № 13 та 14 з таблиці 1 наведено на рис. 3. Співвідношення $I_{\text{норм.}}$ до $I_{\text{залишк.}}$, що характеризує чутливість електрода до кисню, може бути показано як цифрова величина («к» — в табл. 1) або може бути визначене кут нахилу графіка.

Як перший, так і другий спосіб дають можливість відносно точного порівняння властивостей різних електродів і внесення відповідних поправок до одержуваних ними даних, з метою компенсації систематичної помилки кожного електрода, в кожному досліді. Без цього порівняння конкретних даних різних дослідів, навіть при статичній обробці їх, втрачає вірогідність.

Крім реєстрації залежності сили струму від напруги кисню в розчині при незмінному потенціалі (звичайно це 0,6 в) для кожного електрода необхідно знімати залежність сили струму від потенціалу, тобто класичну полярограму в I/φ координатах. Досліди показують, що в залежності від металу та індивідуальних властивостей електрода хвиля кисню на полярограмі може мати істотні відмінності.

Досить часто на платиновому електроді при такому дослідженні виявляється, що плато дифузійного струму виникає при потенціалах, нижчих за -0,6 в (рис. 4). Це свідчить про доцільність при роботі з таким електродом використовувати напругу -0,7 і навіть -0,8 в. При напрузі -0,9 в звичайно починається хвиля водню. На танталових електродах хвиля водню відставлена до -1,1, а на золотих — до -1,3; -1,4 в. Це дозволяє при визначенні кисню за допомогою золотих електродів використовувати напругу до -1,0; -1,1 в, що підвищує чутливість методу. Класична полярограма дозволяє також визначити силу залишкового струму, тобто чутливість електрода до кисню.

Наведені два способи визначення характеристик кисневих електродів дають також можливість з певною мірою вірогідності графічно визначати напругу кисню в досліджуваних тканинах, відкладаючи відповідну силу струму на графік, побудований для даного електрода. Такий засіб порівняно простіший, ніж запропонований

позбавленому кисню сульфідом натрію, ($I_{\text{залишк.}}$), відкладаємо одержані значення в системі координат і будемо графік.

нами раніше числовий метод визначення напруги кисню за формулою:

$$P_{O_2} = A \frac{(I_{\text{норм}} - I_{\text{залишк}}) \cdot 100}{21 \cdot D} \text{ мм рт.ст.,}$$

де: A — сила дифузійного струму в досліджуваній тканині в мка ; D — барометричний тиск у період дослідження.

Наведені в табл. 2 дані про парціальний тиск кисню в повітрі відповідно до змін загального атмосферного тиску (без поправки на пари води, що становлять від 0,25 до 0,40%) дозволяють спростити також і обчислювальний метод, застосувавши наведений вираз:

$$P_{O_2} = A \frac{(I_{\text{норм}} - I_{\text{залишк}})}{P} \text{ мм рт.ст.,}$$

де P — парціальний тиск кисню в повітрі (за таблицею).

Проте для того, щоб одержувати точні значення напруження кисню в досліджуваних тканинах, калібрування електрода лише в фізіологічному розчині недостатнє. Домішки поверхнево-активних речовин і білки, наявні в міжклітинній рідині, зменшують дифузійний струм на 3—10%. Тому для одержання абсолютних даних необхідно калібрувати електрод у штучному середовищі, що імітує склад міжклітинної рідини (для м'яза, шкіри тощо). Якщо електрод призначено для дослідження кисню в мозку, такою рідиною може бути ліквор. Для визначення кисню в крові калібрування бажано проводити в сироватці крові. Це дозволить наблизитись до абсолютних даних.

Висновки

1. При амперометричному визначенні напруження кисню у тканинах лабораторних тварин в процесі роботи відбуваються зміни активної площі та властивостей поверхневого шару металевих електродів, що приводить до зміни його чутливості до кисню.

2. Порівняння чутливості електродів може бути здійснене відносно простим шляхом — зіставленням сили дифузійного струму в 0,9%-ному розчині хлористого натрію при нормальному атмосферному тиску ($I_{\text{норм.}}$) з силою струму в такому ж розчині, позбавленому кисню ($I_{\text{залишк.}}$). Відношення $I_{\text{норм.}}$ до $I_{\text{залишк.}}$ буде характеризувати ступінь чутливості електрода — «к».

3. Без контролю за ступенем чутливості відкритих металевих електродів зіставлення і обчислення даних окремих дослідів може приводити до невірогідних висновків.

Література

1. Авербух Л. Г. — Врач. дело, 1965, 4, 85.
2. Березовський В. Я. — Фізіол. журн. АН УРСР, 1962, 6, 827; 1963, 4, 559; В сб. «Фармакология и токсикология», К., 1966.
3. Панченко И. Д., Бойко К. М. — Укр. химич. журн., 1965, 31, 2, 190.
4. Скобец Е. М., Туров И. П. — Заводская лаборатория, 1949, 15, 414.
5. Carter D. a. o. — Proc. Roy. Soc., 1959, 151, 256.
6. Carlson F. a. o. — Rev. Sci. Instr., 1950, 21, 11, 923.
7. Kolthoff M. — Science, 1940, 92, 152.
8. Jamieson D., van den Brenk H. — Nature, 1963, 201, 4925, 1229.
9. Meyer J., Denny-Brown D. — EEG a. Clin. Neurophysiol., 1955, 7, 4, 511.
10. Vacek A., Sevcik F. — Physiol. Bohemoslov., 1963, 12, 269.

Надійшла до редакції
28.V 1965 р.

Метод порівняльного

М. А. Кондратович,

Латвія
Інституту фізіології

Серед численних фізіологічних досліджень дуже скромне місце займає вивчення тиску в стінках кровоносних судин. Можемо тепер, в основному, говорити про пружності і в'язкості судин, а не про тиск. Згідно з даними [2, 5, 6, 7, 10, 11, 13 та ін.] біофізичні властивості дрібних судин практично відсутні. Уявлення про відносну резистивність судин різних діаметрів може бути одержане при побудові кривих витратання, кривих, які показують залежність кровоструму від внутрісудинного тиску. Проте, незважаючи на значення цього методу, цей метод не можна вважати за повний, як реалізується в процесі життя судин в процесі зомоторних реакцій.

Для аналізу ролі різних органів при здійсненні різних реакцій ми застосували порівняльний метод оцінки змін розриву гідралічних опорів при перфузії симетричних органів. Для порівняння перфузії непарних органів з перфузією парних органів ми вивчали вплив постійного витратання і постійного тиску.

Основною розрахунковою величиною в наших дослідженнях є гідралічний тиск в судині, крізь яку проходить струменю крові. Цей тиск перебуває в оберненому відношенні до залежності від сумарного тиску в судині досліджуваного органа.

Зміни гідралічного тиску в судині можуть бути викликані зміненою величиною змін гідралічного тиску в судині.

При перфузії постійним тиском м'язів не може повністю підняти тиск в судині підвищенням внутрісудинного тиску.

При перфузії з постійним тиском очевидно, що під час перфузії тиску в судині не буде. Тому очевидно, що під час перфузії тиску в судині не буде. Тому очевидно, що під час перфузії тиску в судині не буде.

При одночасній перфузії двох органів різницею тиску в судині того, якою мірою судина розтягнута під впливом тиску.

Загальна схема дослідження.

рис. 1. Артерію кожного з парних органів живлять насосами, один з яких (А) живить перфузією. Перемінною величиною є тиск перфузії. Перемінною величиною є тиск перфузії. Перемінною величиною є тиск перфузії.