

ПОЛУМ'ЯНИЙ СПЕКТРОФОТОМЕТР ДЛЯ ОДНОЧАСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ КАЛІЮ, НАТРІЮ І КАЛЬЦІУ У МІКРООБ'ЄМАХ

Г. А. Можаяв, О. П. Волхонич

Лабораторія фізико-хімічних вимірювань Інституту фізіології
ім. О. О. Богомольця АН УРСР, Київ

Метод полум'яної фотометрії, який порівняно недавно став використовуватись у біології, вже завоював популярність. За допомогою полум'яних спектрофотометрів проводять визначення вмісту різноманітних неорганічних іонів (К, Na, Ca, Cl, Mg тощо) у рідких пробах та біологічних зразках. В останні роки в зв'язку з інтенсивним розвитком досліджень іонного вмісту окремих клітин чи їх органоїдів до полум'яної фотометрії пред'являються цілком певні вимоги щодо підвищення чутливості приладів.

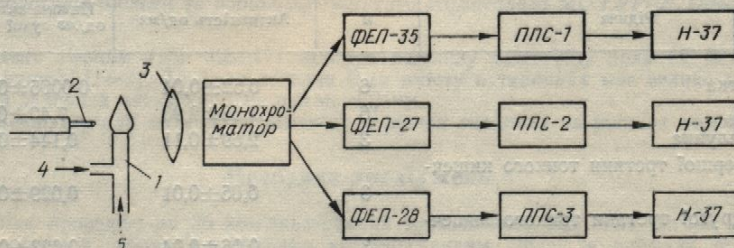


Рис. 1. Блок-схема полум'яного спектрофотометра.

1 — газова горілка; 2 — платинова спіраль; 3 — лінза; 4 — горючий газ бутан-пропан; 5 — суміш кисню та азоту.

точності вимірювання, зменшення вимірюваного зразка до об'єму однієї клітини та придатності приладів для одночасного визначення вмісту не тільки одного іона, а двох, трьох і більше.

Не всі відомі полум'яні фотометри (ПФ), застосовані в біології, задовольняють пред'явленим до них вимогам. Так, наприклад, більшість ПФ являються одноканальними, тобто вони дозволяють проводити вимірювання одночасно тільки одного типу іонів [3—5, 9, 10]. До такого типу ПФ відноситься і фотометр конструкції Кауліна [3], який має чутливість за натрієм 10^{-10} М і калієм $5 \cdot 10^{-11}$ М, але потребує великої кількості проби для одного вимірювання.

Фотометр [4] має напівавтоматичний пристрій для введення проби в полум'я. Чутливість приладу дорівнює 10^{-11} г натрію в пробі об'ємом $(5-100) \cdot 10^{-3}$ мм³, помилка вимірювання становить 5%. Ці ж автори [5] застосували метод підрахунку фотоелектронних імпульсів з виходу фотоелектронного помножувача (ФЕП). При охолодженні ФЕП до -100°C їм вдалося підвищити чутливість ПФ за натрієм до 10^{-12} г, ПФ [10, 11] мають високу чутливість (10^{-10} — 10^{-12} М) за натрієм і калієм та малу похибку вимірювання, але вимагають складної підготовки проби.

Двоканальний ПФ [12] дозволяє одночасно визначати концентрацію іонів калію і натрію. Чутливість приладів за калієм дорівнює 10^{-11} М, за натрієм — $3 \cdot 10^{-11}$ М, точність визначення відповідно становить 3,3 і 1,7%. Недоліком даного ПФ є недосить висока чутливість і складна методика дозування досліджуваного розчину. На відміну від попереднього ПФ двоканальний інтегруючий ПФ [9] має більш високу чутливість за калієм і натрієм, яка дорівнює $2,7 \cdot 10^{-12}$ М. Для реєстрації випромінювання були використані ФЕП, що працюють при зниженій температурі.

Вказані недоліки існуючих ПФ, а також давно назріла необхідність одночасного і безпосереднього визначення концентрації різних іонів в окремих ізольованих клітинах

були передумовою для створення. Описуваний ПФ дозволяє одночасно цію шляхом реєстрації їх емісійних спектрографа ІСП-51. Збудження газової горілки 1 (рис. 1), в якій досліджувані зразки вводяться в з платинового дроту діаметром 0,1 мм витків і закріплюються на державці.

Для підтримання постійності збудження спіралей відносно центра по висоті до $\pm 0,01$ мм. Контроль постійності температури самого полум'я водиться за тиском підводжуваного газу, формою та розміром полум'я.

Полум'я горілки проектується на вхідну щілину монохроматора. На виході монохроматора є три вихідні щілини, які пропускають світлові промені такої довжини хвилі: 766,49 мкм для реєстрації збудження калію; 588,9

Рис. 2. Калібрувальні графіки ПФ. По вертикалі — напруга в мВ, по горизонталі — концентрація розчину в мМ.

для реєстрації збудження натрію; 430,8 мкм для збудження іонів калію. Довжини хвилі згаданих іонів мають місце у полум'ї горілки [6, 8].

Відповідно довжинам хвилі, для вимірювання збуджених іонів. Електричний струм постійного струму ППС-1, який провадиться з допомогою вимірювального пристрою Н-37 на паперовій стрічці.

Калібровка ПФ здійснюється за допомогою стандартних розчинів калію, натрію та кальцію. Визначення концентрації досліджуваних зразків проводиться порівнянням з результатами вимірювання стандартних розчинів.

Калібрування

Концентрація стандартних розчинів (мМ)	К
0,01	0,56 ± 0,0
0,05	2,11 ± 0,0
0,1	2,72 ± 0,0
0,5	9,17 ± 0,1
1,0	15,23 ± 0,0
2,5	24,30 ± 0,1
5,0	38,50 ± 0,3

Характер залежності показників від концентрації узгоджується з результатами, одержаними при вимірюванні інтенсивності спектральних ліній.

Зниження чутливості за калієм при вимірюванні високою температурою полум'я, що пов'язане з великим рівнем шумів ПФ.

Для визначення похибки при вимірюванні порівняно невелика і ста

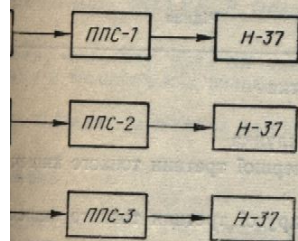
УДК 577.088.5

СПЕКТРОФОТОМЕТР ВІВНЕННЯ КАЛІЮ, НАТРІЮ У РОСЛИНАХ

Волхонич

Інституту фізіології
Н УРСР, Київ

Якщо недавно став використовуватись у
омогою полум'яних спектрофотометрів
анічних іонів (К, Na, Ca, Cl, Mg тощо)
ні роки в зв'язку з інтенсивним розвитком
їх органів до полум'яної фото-
одо підвищення чутливості приладів,



о спектрофотометра.

ліній: 4 — горючий газ бутан-про-
та азоту.

язка до об'єму однієї клітини та при-
місту не тільки одного іона, а двох,
астосовані в біології, задовольняють
ільшість ПФ являються одноканаль-
вання одночасно тільки одного типу
і фотометр конструкції Кауліна [3],
5·10⁻¹¹ М, але потребує великої кіль-

для введення проби в полум'я. Чут-
об'ємом (5—100)·10⁻⁸ мм³, помилка
осували метод підрахунку одноелек-
ножувача (ФЕП). При охолодженні
ПФ за натрієм до 10⁻¹² г, ПФ [10, 11]
рієм і калієм та малу похибку вимі-

визначати концентрацію іонів калію
ює 10⁻¹¹ М, за натрієм — 3·10⁻¹¹ М,
%. Недоліком даного ПФ є недосить
досліджуваного розчину. На відміну
ПФ [9] має більш високу чутливість
реєстрації випромінювання були ви-
атурі.

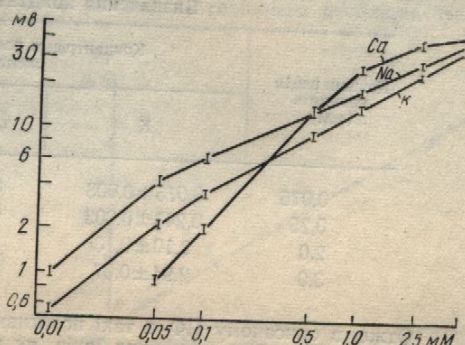
но назріла необхідність одночасного
онів в окремих ізольованих клітинах

були передумовою для створення багатоканального полум'яного спектрофотометра. Описуваний ПФ дозволяє одночасно визначати концентрацію іонів калію, натрію, кальцію шляхом реєстрації їх емісійних спектрів випромінювання. Прилад зібраний на базі спектрографа ІСП-51. Збудження іонів досліджуваних проб проводиться в полум'ї газової горілки 1 (рис. 1), в якій спалюється бутан-пропан в суміші кисню та азоту. Досліджувані зразки вводяться в полум'я з допомогою спіралей, які виготовляються з платинового дроту діаметром 0,15 мм однакової форми та з однаковою кількістю витків і закріплюються на держачах, що забезпечують добре відведення тепла.

Для підтримання постійності температури збудження досліджуваних проб положення спіралей відносно центра полум'я і оптичної осі приладу контролюється з точністю до ±0,01 мм. Контроль стабільності температури самого полум'я проводиться за тиском підводжуваних газів, формою та розміром полум'я.

Полум'я горілки проектується лінзою на вхідну щілину монохроматора. На виході монохроматора є три вихідні щілини, які пропускають світлові потоки такої довжини хвиль: 766,49 мм для реєстрації збудження калію; 588,99 мм

Рис. 2. Калібрувальні графіки ПФ.
По вертикалі — напруга в мВ, по горизонталі —
концентрація розчину в мм.



для реєстрації збудження натрію; 422,6 мм для реєстрації збудження кальцію. На цих довжинах хвиль згадані іони мають максимальну інтенсивність світіння при збудженні їх у полум'ї горілки [6, 8].

Відповідно довжинам хвиль, використані ФЕП-28, ФЕП-27, ФЕП-35, як приймачі вимірювання збуджених іонів. Електричні сигнали, зняті з ФЕП, подаються на підсилювачі постійного струму ППС-1, ППС-2, ППС-3. Реєстрація результатів вимірювання проводиться з допомогою вимірювальних підсилювачів І-37 із записом показників самописцями Н-37 на паперовій стрічці.

Калібровка ПФ здійснюється за допомогою стандартних розчинів [1, 2] солей калію, натрію та кальцію. Визначення концентрації іонів калію, натрію і кальцію в досліджуваних зразках проводиться за допомогою калібрувальних графіків (рис. 2), побудованих за результатами вимірювання стандартних розчинів (табл. 1).

Таблиця 1
Калібрування ПФ за стандартними розчинами

Концентрація стандартних розчинів (мм)	Показники приладу (мВ)		
	К	Na	Ca
0,01	0,56±0,04	1,03±0,11	—
0,05	2,11±0,04	4,26±0,09	0,91±0,06
0,1	2,72±0,04	6,12±0,1	2,03±0,11
0,5	9,17±0,11	12,80±0,04	13,22±0,2
1,0	15,23±0,04	16,91±0,2	27,30±0,04
2,5	24,30±0,18	28,22±0,2	41,23±0,14
5,0	38,50±0,3	42,83±0,16	48,00±0,66

Характер залежності показників приладу від концентрації стандартних розчинів узгоджується з результатами, одержаними Соболевим та ін. [7], які визначали залежність інтенсивності спектральних ліній від концентрації елементів у полум'ї.

Зниження чутливості за кальцієм при великих концентраціях пояснюється недостатньо високою температурою полум'я. Чутливість при мінімальних концентраціях обмежується великим рівнем шумів ФЕП-35 та фоном полум'я горілки.

Для визначення похибки приладу проводилось вимірювання розчинів відомої концентрації (табл. 2). Результати вимірювання показали, що відносна похибка вимірювання порівняно невелика і становить за калієвим каналом ±2,5%, натрієвим —

$\pm 1,2\%$, кальцієвим — $\pm 6,7\%$. Більша похибка за кальцієвим каналом пояснюється більшим впливом нестабільності температури полум'я на збудження іонів кальцію.

Важливою особливістю приладу є мала кількість досліджуваного розчину (0,15 мл), необхідного для одного виміру. Чутливість приладу за калієм та натрієм дорівнює $1,5 \cdot 10^{-12}$ М, за кальцієм — $7,5 \cdot 10^{-12}$ М. Підвищити чутливість можна шляхом зменшення шумів ФЕП, підвищення температури та чистоти полум'я. Точність вимірювання можна поліпшити шляхом підвищення стабілізації тиску газів, які підводяться до горілки, підсилення сигналу на змінному струмі та використання інтегрування сигналу за весь період збудження.

Таблиця 2

Визначення концентрації розчинів

Концентрація розчинів (мМ)	Концентрація розчинів, виміряна з допомогою спектрофотометра (мМ)		
	К	Na	Ca
0,075	$0,075 \pm 0,003$	$0,076 \pm 0,001$	$0,083 \pm 0,001$
0,25	$0,243 \pm 0,003$	$0,247 \pm 0,03$	$0,22 \pm 0,05$
2,0	$2,10 \pm 0,13$	$1,95 \pm 0,06$	$2,15 \pm 0,03$
3,0	$2,94 \pm 0,07$	$3,00 \pm 0,11$	$2,80 \pm 0,12$

Отже, в описаному ПФ є такі позитивні якості: можливість одночасного вимірювання таких біологічно важливих іонів, як калій, натрій і кальцій, висока чутливість та невелика похибка вимірювання. Це дає можливість використати даний ПФ для одночасного вимірювання концентрації іонів калію, натрію і кальцію в окремії ізольованій клітині.

Література

1. Бурриель-Марти Ф., Рамірес-Муньос Х.— Фотометрия пламени, М., 1962.
2. Зейдель А. Н. и др.— Техника и практика спектроскопии, М., 1972.
3. Каулин А. В.— Цитология, 1966, 8, 1, 130.
4. Нестеров В. П., Наумов В. А.— Цитология, 1969, 11, 1, 130.
5. Наумов В. А., Нестеров В. П.— Цитология, 1973, 15, 10, 1315.
6. Русанов А. К.— Основа количественного спектрального анализа руд и минералов, М., «Недра», 1971.
7. Соболев Н. Н. и др.— Журн. exper. и теор. физики, 1951, 21, 2.
8. Стриганов А. Р., Свентицкий Н. С.— Табл. спектральных линий нейтральных и ионизованных атомов, Атомиздат, 1966.
9. Carlsson B., Giacobini E., Hovmark S.— Acta physiol. scand. 1967, 71, 4, 379.
10. Haljamäe H., Wood D.— Anal. Biochem. 1971, 42, 1, 155.
11. Katzman R., Lehrer G., Wilson C.— J. gen. Physiol., 1969, 54, 2, 232.
12. Oberg R., Ultendahe H., Wollin B.— Anal. Biochem., 1967, 18, 543.

Надійшла до редакції
1.II 1974 р

УДК 612.08

ПРИСТРІЙ ДЛЯ КАЛІБРУВАННЯ ПОЛЯРОГРАФІЧНИХ ЕЛЕКТРОДІВ

І. Ф. Соколянський, О. В. Шаповалов

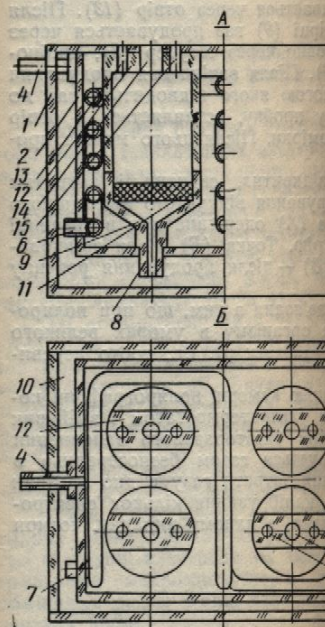
Відділ гіпоксичних станів Інституту фізіології
ім. О. О. Богомольця АН УРСР, Київ

Аналітичні комірки титрометрів, які застосовують для аналізів газів у рідинах [3], не пристосовані для калібрування полярографічних електродів. Це було однією з причин пошуків і виготовлення пристроїв для калібрування електродів, з допомогою яких

Пристрій для калібрування

вивчають напруження кисню в тканинах. Використали для калібрування катодів і продували його газом. Березові електроди. В цьому випадку налитий атмосферним повітрям. У другий раз («безкисневий розчин»). Як тільки камера, то калібрування розчинів кисню газової концентрації [6, 9].

Для зрівноважування розчинів тонометрів [8 та ін.]. В цих випадках



посити в полярографічну комірку розчин електродів. При необхідності вміст кисню процес калібрування

Недостатність методів калібрування електродів, полягає в тому, що внаслідок чого газ надходить в комірку з великою швидкістю, що дає площу відносно невелику. При інтенсивному виході газу, в процесі такого насичення «мертвий» простір неаерованої рідини, кількість газу.

Ми сконструювали пристрій, який дозволяє напруження кисню і його фізіологічний розчин у полярографічній камері продувати її через дрібнопористу пластинку, виготовлену з пористого матеріалу, встановлену у дні полярографічної камери малого діаметра по всій її поверхні. Відносинами між діаметром камери (1) на бокових стінках внутрішньої камери (2). Штуцер камери (3), він розміщений у верхній частині на протилежній стороні, служить для подачі газу в змішувальний апарат з штуцером (4) комірки (9) розміщені у внутрішній частині дрібнопористої пластинки (11). У