

для контрольного термометра (або з штучером (8) за допомогою гумо-чотири відгалуження, і надходження

вода заданої температури подається з падаючий штучер (3) і відводиться єднувальними планками (12) розмі-афічними комірками, змішувиком (6) оляррографічних комірок, що важ-різних точках комірки. Циркуляція рування.

заливається через отвір (13). Після комірки (9) газ продувається через іслідно через штучер (8), дрібно-у (9). Після закінчення продування опомого якого підводиться газ до умову пробку, вставляється в отвір ої комірки. Після цього можна про-

ня відкритих, скритих і закритих алібування відкритого платинового точка (А) одержана при визначенні натрію. Точка (В) після зрівнова-ка (В) — після продування розчину

ла зв'язана з тим, що при поляронах організму в умовах великого 148—154 мм рт. ст., тобто переви-

трішню камери, поляррографічні ко-ри з ультратермостатом і змішувик бігання багаторазового заповнення аерується газом безпосередньо в шення затрати газу в дно комірки ого калібрування кількох електро-кілька, в даному випадку, чотири

кислород. К., 1966, 11, 260.

определение кислорода в биол.

зация химич. анализов растворов,

дыхания, гипоксия и оксигенотера-

отерапия, К., 1968, 6.

определение кислорода в биол.

13, 12, 524.

Physiol., 1972, 32, 5, 650.

Надійшла до редакції
15.V 1973 р.

ОГЛЯДИ

ІОНООБМІННІ ЕЛЕКТРОДИ ДЛЯ ВНУТРІКЛІТИННОГО ВИМІРЮВАННЯ АКТИВНОСТЕЙ

З. О. Сорокіна

Лабораторія біохімії нервової клітини
Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця АН УРСР, Київ

Інтенсивний розвиток досліджень процесів іонного обміну зумовив появу в останні роки нових індикаторних електродів на основі іонообмінників для потенціометричного визначення активностей цілого ряду іонів. Іонообмінні електроди дозволяють вимірювати активності в розчинах із значною чутливістю (до 10^{-6} М) та великою селективністю. Розробка таких електродів для біологічних об'єктів дозволила здійснити вимірювання й безперервну реєстрацію активностей іонів не тільки всередині клітин, де K^+ є визначальним іоном, а й у ряді середовищ, в яких переважає Na^+ : у плазмі крові, в позаклітинному середовищі м'язів, мозку теплокровних і холоднокровних тварин, нирок, гангліїв слимаків [7, 25, 28, 41, 42, 45, 54, 55, 57, 75, 78].

Ці дослідження дали уявлення про динаміку іонних змін в міжклітинному просторі мозку при асфіксії й депресії, яка поширюється, в міжклітинниках м'язів під час і після ізометричного скорочення та в міжклітинниках гангліїв слимаків при розвитку потенціалу дії. Внутріклітинні вимірювання активностей іонів здійснені досі лише в трьох лабораторіях світу: в США в лабораторії Уокера і Кхурі, в Інституті фізіології Чехословацької АН і в Інституті фізіології АН УРСР [26, 32, 45—48, 50, 51, 63—65, 77].

В даній статті розглядаються: типи іонообмінних електродів, механізм їх дії, конструкція, основні характеристики і найбільш вірогідні похибки методу.

Типи іонообмінних електродів. Іонообмінні електроди являють собою клас селективних електродів з іонною провідністю. Серед них розрізняють, головним чином, три підгрупи: електроди на основі твердих, рідких іонообмінників і електроди з нейтральними макромолекулами. Експериментально доведено, що всі вони є іонообмінними мембранами, селективними по відношенню до різних одно- і багатова-лентних іонів.

Електроди на основі твердих іонітів виготовляються двох видів: мембрани з неорганічних кристалів, які мають низьку розчинність, і важкорозчинні неорганічні солі металів або їх хелатні сполуки, осаджені в матриці інертної мембрани.

З цієї групи для фізіологів становлять інтерес електроди, селективні до Ca^{++} і Cl^- . Твердофазний Ca^{++} електрод містить кальцієву сіль дивозаміщеної органічної фосфорної кислоти (звичайно, діоктилфосфорна або дидецилфосфорна кислоти) в колоїді [69]. Потенціал Ca^{++} електрода не залежить від рН у широкій межі активностей водню, проте виявляє іонні функції на інші лужноземельні метали. Він може бути використаний в біохімічних дослідженнях і для позаклітинних вимірювань.

Cl^- електроди являють собою мембрани, основою яких є $AgCl$ чи плавлений хлорид срібла, або суміш сполучень сульфідів і хлоридів срібла [17, 33, 52, 61].

Воробієв і Хітров [2] виготовили K^+ селективні мікроелектроди, кінчики яких заповнені малорозчинними калієвими солями нітрату кобальту або дипікриламіну. Ці електроди можна розглядати як осадові мембрани. Можливе виготовлення аналогічних електродів з тетрафенілборатом калію і Na^+ селективних електродів з осадом гідроксидантимонату натрію, або потрійної солі октовокислого цинк-ураніл-натрію [5, 16]. Однак, на відміну від усіх інших твердофазних електродів, селективність осадових мікроелектродів, як показали проведені нами дослідження, дуже мала. Крім того, деякий вплив мають на них і іони кальцію.

Електроди з рідкими мембранами виготовляються на основі рідких органічних іонообмінників. Це органічні кислоти, луги і солі з порівняно великою молекулярною вагою. В полярних розчинниках вони існують у вигляді недисоційованих молекул, проте добре розчинні в розчинниках з низькою діелектричною проникністю. Рідкі мембрани відрізняються від твердих тим, що їх іонообмінні центри можуть вільно переміщуватись в активній фазі електрода.

На основі рідких іонообмінників виготовлені електроди, селективні більш ніж до 20 різних іонів. Серед них найбільшої уваги заслуговують електроди фірми «Оріон» і

«Корнінг» (США) і електроди кафедри фізичної хімії ЛДУ (СРСР). Застосовуються вони в біологічних середовищах для контролю активностей Ca^{++} та Cl^- .

Кальцієві електроди були першими електродами з мембранами з рідких іонообмінників. Це солі діефірів фосфорної кислоти, які містять довгі вуглеводні ланцюги (з 8—16 атомами вуглецю). В розчинниках з сильно полярними групами замісників (найчастіше, ді-н-октилфенілфосфонат) електроди виявляють високу селективність по відношенню до Ca^{++} в присутності іонів Mg^{++} та інших лужноземельних металів й майже 1000-разового надлишку K^+ і Na^{++} [17, 53, 62]. У Ca^{++} -електроді кафедри фізичної хімії ЛДУ як іонообмінник застосована сіль ді-2-етилгексилфосфорної кислоти в толуолі [3].

В хлорних електродах компонентами органічної фази є солі метилтрикаприламонію [17] або метилдістеариламонію [30], розчинені в деканолі-1.

Нарешті, зовсім нещодавно з'явилися електроди, в яких використані нейтральні макроциклічні молекули (циклодєспептиди, макротетраліди, поліаміни, полііоєфіри) на різних інертних підкладках. Електроди виявляють виключно високу селективність до K^+ в присутності Na^+ . Їх селективність порівнювана з селективністю, властивою клітинним мембранам.

В цій групі являють інтерес електроди з гомологом актину, розчиненого у чотирихлористому вуглеці або бензолі [72, 73]. Селективність електрода до K^+ порівняно з Na^+ досягає 750:1, проте крутизна електродної функції становить лише 32 мВ. Електроди, заповнені суспензією нонактину, виявляють теоретичну залежність від логарифма активності K^+ . Їх селективність 100:1 [60].

Франт і Росс [39] застосували для заповнення електродів розчин валіноміцину в нітробензолі й більш високих гомологах, як дифенілефір, хлорбензол і бромбензол. Потенціал цього електрода підпорядкований рівнянню Нернста в широкій області активностей K^+ . Електрод у 10 000 разів більш селективний до K^+ , ніж до Na^+ . На основі валіноміцину фірмами «Оріон» і «Корнінг» (США) розроблені й випускаються «рідкі іонообмінники» які використовують для заповнення K^+ селективних мікроелектродів [74, 76].

Нарешті, для вимірювання активності K^+ в плазмі крові й інших біологічних середовищах розроблено мініатюрний за розмірами твердофазний електрод, який має селективну мембрану з полівінілхлориду з дифенілфталатом і валіноміцином [71].

Механізм дії електродів. До категорії іонообмінних, твердофазних електродів належать і добре відомі скляні електроди, які застосовуються для визначення рН і активностей йонів лужних металів. Тому багато міркувань і висновків щодо механізму утворення потенціалу й принципів потенціометричного вимірювання активностей йонів мають як ряд спільних з рН-метрією властивостей, так і істотні відмінності.

Експериментально показано, що спільним для всіх мембран є те, що при зануренні в розчин на їх межах виникає відтворювана різниця електричних потенціалів, величина якої пов'язана певним чином з активностями йонів [8—13, 22—24, 35—38, 40, 66—68]. Оскільки електроди заповнені сольовим розчином постійного складу, то електричний потенціал таких напівелементів залежить лише від активності йона у зовнішньому розчині. Виникнення електродного потенціалу пов'язане, з одного боку, з процесом обміну між йонами, що знаходяться в мембрані, і вільними йонами, які присутні у водному розчині, а з іншого — з процесом переміщення йонів у фазі мембрани, як наслідком йонного обміну. Різниця між трьома головними типами електродів стосується деталей механізму переміщення визначених йонів крізь мембрану та процесів заглиблення в мембрану йонів.

Так у кристалічних твердофазних мембранах перенос заряду здійснюється за рахунок дефектів кристалічної ґратки. Місця, що звільняються, займаються тими вільними сусідніми йонами, які ідеально відповідають ґратці за формою, розміром і розподілом заряду. Усі інші йони неспроможні переміщуватись у кристалі і не можуть внести свій вклад у процес переносу заряду.

В рідких мембранних електродах будь-який йон, здатний увійти в фазу мембрани, переміщується в ній за законом дифузії у вигляді комплексної солі. І, нарешті, в мембранних системах з нейтральними ліпофільними молекулами останні утворюють з катіонами рухливі заряджені комплекси, які сприяють заглибленню катіонів в органічні розчинники та забезпечують їх катіонну провідність.

Мембрани з нейтральними молекулами нагадують мембрани з рідкими йонами. Водночас, їх виділяють в окрему групу, оскільки в них не спостерігається класичний йонний обмін. При нейтральному рН іоногенні групи цих молекул недисоційовані і кожна молекула являє собою в цілому один активний центр, який зв'язує катіон за допомогою іон-дипольної взаємодії в заряджений комплекс. Для структури цих сполук властива центральна гідрофобна область, що має форму кільця. Відносні розміри «кільця» та йона металу відіграють істотну роль у визначенні стехіометрії й стабільності комплексу [1, 4, 14—15, 29, 34, 43, 56, 59, 70].

Більшість іонообмінних електродів реагують не тільки на ті йони, для яких вони призначені. Тому в системі йонів, наприклад, A^+ і B^+ , кожний з них вносить свій внесок

в електричний потенціал. Для його ма термодинамічного рівняння Нернста

$$E = E_0 + \frac{nR}{Fz}$$

де E — різниця потенціалів між іон порівняння, потенціал якого точно ві залежить від вибору допоміжного е в розчині, що заповнює іонообмінн тенціалу на межі електролітичного к розрахунком, що величина відношен

функції при $\sum K_{A/B} = 0$, $K_{A/B}$ — к

до йона A , що визначається, на фоні

Константа селективності є важ оскільки дозволяє оцінити можливість в змішаних розчинах. Вона вказує н яка може бути виміряна в присуті має тим менше чисельне значення, ч

Хоч рівняння, що описує потен фізичний сенс селективності в цьому ний результат усіх процесів як у ф вплив на селективність. У кожному рухливості йонів у мембранній фазі інших різна.

У твердофазних електродах се нентів йоніту. Величина її залежить брані (U_A/U_B) на константу рівнов досліджується (роз) і мембраною (м

$$B_{(роз)}^+ + A_{(г)}$$

Умова рівноваги цієї реакції виража

робн
 K_{AB}

Теорія й експеримент показали дії рівноважного фактора, що електродів.

В рідких іонітах і в мембранах не виявляють такого істотного вплив йонами та іонообмінниками або ней міщуватися в цих системах. Проте п більш складна й визначається як ск

Від властивостей розчинника з зою й розчином дисоційованих йонів,

$A_{(г)}$

$B_{(г)}$

де k_A і k_B — коефіцієнти розподілу і B^+ , іонізованого агента іонообмінн внаслідок реакції йонного обміну:

$$A_{(роз)}^+ + AS_{(г)}$$

Величина селективності, що ха є як властивостями іонообмінника,

хімії ЛДУ (СРСР). Застосовуються
ивностей Ca^{++} та Cl^- .

дами з мембранами з рідких іонооб-
кі містять довгі вуглеводні ланцюги
ально полярними групами замісників
виявляють високу селективність по
та інших лужноземельних металів й
62]. У Ca^{++} -електроді кафедри фізич-
ді-2-етилгексилфосфороної кислоти в

ної фази є солі метилтрикаприламо-
деканолі-1.

роди, в яких використані нейтральні
ротетраїди, поліаміни, полііоєфіри)
яють виключно високу селективність
увана з селективністю, властивою клі-

молом актину, розчиненого у чотири-
вність електрода до K^+ порівняно з
функції становить лише 32 мВ. Елек-
теоретичну залежність від логарифма

я електродів розчин валіноміцину в
енілефір, хлорбензол і бромбензол.
нню Нерста в широкій області ак-
тивності до K^+ , ніж до Na^+ . На основі
) розроблені й випускаються «рідкі
ння K^+ селективних мікроелектро-

лазмі крові й інших біологічних се-
твердофазний електрод, який має
фталатом і валіноміцином [71].

інних, твердофазних електродів на-
вуються для визначення рН і актив-
нань і висновків щодо механізму
ого вимірювання активностей іонів
так і істотні відмінності.

всіх мембран є те, що при занурен-
ня електричних потенціалів, вели-
ни іонів [8—13, 22—24, 35—38, 40,
зчином постійного складу, то елек-
ише від активності іона у зовніш-
пов'язане, з одного боку, з про-
ні, і вільними іонами, які присутні
іщення іонів у фазі мембрани, як
ними типами електродів стосуються
ізь мембрану та процесів заглиб-

перенос заряду здійснюється за-
льняються, займаються тими віль-
тці за формою, розміром і розпо-
тись у кристалі і не можуть внес-

здатний увійти в фазу мембрани,
мплексної солі. І, нарешті, в мем-
екулами останні утворюють з ка-
заглибленню катіонів в органічні

ть мембрани з рідкими іонітами.
них не спостерігається класичний
и цих молекул недисоційовані і
ий центр, який зв'язує катіон за
плекс. Для структури цих сполук
у кільця. Відносні розміри «кіль-
ченні стехіометрії й стабільності

ільки на ті іони, для яких вони
ожний з них вносить свій внесок

в електричний потенціал. Для його опису застосовується емпірична, видозмінена фор-
ма термодинамічного рівняння Нерста:

$$E = E_0 + \frac{nRT}{Fz_A} \lg \left(a_A + \sum_B K_{AB} a^{z_A/z_B} \right),$$

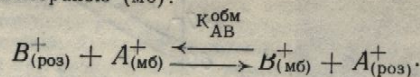
де E — різниця потенціалів між іонообмінним електродом й відповідним електродом
порівняння, потенціал якого точно відомий і стабільний; E_0 — константа, значення якої
залежить від вибору допоміжного електрода, електродів порівняння і активності іона
в розчині, що заповнює іонообмінний електрод, а також невеликого дифузійного по-
тенціалу на межі електродітичного ключа; n — емпірична константа, підібрана з таким
розрахунком, що величина відношення nRT/Fz_A чисельно дорівнює нахилу електродної
функції при $\sum_B K_{AB} a_B = 0$, K_{AB} — константа селективності електрода по відношенню

до іона A , що визначається, на фоні іона B , що заважає.

Константа селективності є важливою характеристикою вимірювального елемента,
оскільки дозволяє оцінити можливість використання даного іоноселективного електрода
в змішаних розчинах. Вона вказує на ту мінімальну концентрацію визначуваного іона,
яка може бути виміряна в присутності заданої концентрації іншого іона. Константа
має тим менше чисельне значення, чим більш селективний електрод до іона A .

Хоч рівняння, що описує потенціал різних типів електродів, однакове за формою,
фізичний сенс селективності в ньому зовсім різний. Величина K_{AB} відображає сумар-
ний результат усіх процесів як у фазі мембрани, так і на її поверхні, які виявляють
вплив на селективність. У кожному типі електродів її визначають, головним чином,
рухливості іонів у мембранній фазі та рівноважні фактори. Проте питома роль тих та
інших різна.

У твердофазних електродів селективність характеризує хімічна природа компо-
нентів іоніту. Величина її залежить від здобутку відношення рухливостей іонів у мем-
брані (U_A/U_B) на константу рівноваги іонообмінного процесу $K_{AB}^{\text{обм}}$ між розчином, що
досліджується (роз) і мембраною (мб):



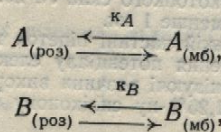
Умова рівноваги цієї реакції виражається законом дії мас:

$$K_{AB}^{\text{обм}} = \frac{a_{A(\text{мб})} a_{B(\text{роз})}}{a_{B(\text{мб})} a_{A(\text{роз})}}.$$

Теорія й експеримент показали, що дія фактора рухливості іонів протилежна
дії рівноважного фактора, що є основним обмеженням селективності таких
електродів.

В рідких іонітах і в мембранах з нейтральними макромолекулами рухливості іонів
не виявляють такого істотного впливу на селективність, оскільки комплекси між проти-
іонами та іонообмінниками або нейтральними макромолекулами можуть вільно пере-
міщуватися в цих системах. Проте природа селективності рідких іонообмінних мембран
більш складна й визначається як складом розчинника, так і іонообмінника.

Від властивостей розчинника залежить, по-перше, розподіл між мембранною фа-
зою й розчином дисоційованих іонів, який здійснюється відповідно до:



де K_A і K_B — коефіцієнти розподілу, по-друге, рухливість у мембрані протіонів A^+
і B^+ , іонізованого агента іонообмінника $S_{(\text{мб})}$ і комплексів AS і BS , які утворюються
внаслідок реакції іонного обміну:



Величина селективності, що характеризується значенням $K_{AB}^{\text{обм}}$, також визначаєть-
ся як властивостями іонообмінника, так і розчинника, оскільки енергія переводу пар

AS і BS з розчину в мембрану залежить від діелектричної проникності розчинника й від електричного поля, яке утворюється протиіоном і активним центром іонообмінника.

Механізм функціонування мембран з нейтральними переносниками, як зазначалось вище, відрізняється від рідких іонообмінних мембран. Тут не беруть участь заряджені іонообмінні центри, а активним центром є самі молекули, які сприяють заглибленню катіонів A^+ і B^+ в органічні розчинники. Розмір і заряд комплексних катіонів $(SA)^+$ і $(SB)^+$, що утворюються, майже не залежать від природи катіона, який зв'язується. Тому відношення їх рухливостей практично дорівнює одиниці. Розчинник у таких мем-

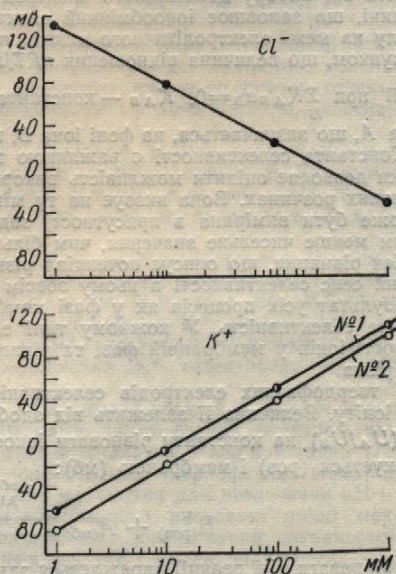
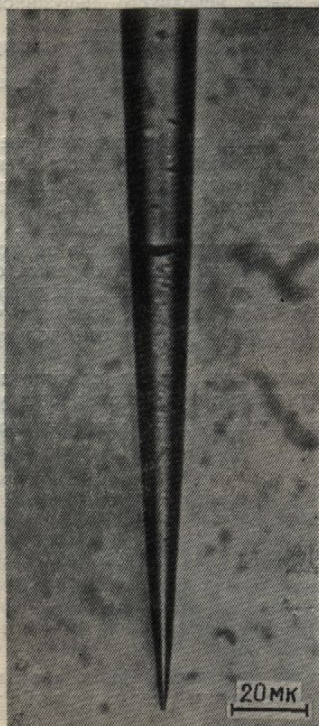


Рис. 2. Калібрувальні криві Cl^- селективного (А) і K^+ селективних (Б) мікроелектродів.

По вертикалі — різниця потенціалів в мВ, по горизонталі — концентрація (в мМ) іонів у середовищі.

Рис. 1. Мікрофотографія електрода з рідким іонообмінником.

бранах є інертним розбавлювачем, і електродна селективність залежить тільки від селективності процесу взаємодії катіонів A^+ і B^+ з нейтральними молекулами, які їх зв'язують.

Конструкція мікроелектродів. Для виготовлення мікроелектродів використовуються трубки із скла «Пірекс» або легкотопкого скла № 29. З них витягуються мікропіпетки із зовнішнім діаметром кінчика менше 1 мк.

З метою надавання термінальній частині піпеток гідрофобних властивостей і для зниження постійної часу встановлення потенціалу електрода кінчики мікропіпеток заздалегідь силіконізують. Як силіконізуючі розчини використовують 1%-ний три-н-бутил-силоксан в 1-хлорнафталені або 1,25%-ну силіконову олію у трихлоретилені [45—48; 74, 76, 78].

Кінчики мікропіпеток заповнюються іонообмінником спонтанно, за рахунок капілярних сил, або за допомогою різних мікрошприців. Іонообмінник повинен піднятися у капілярі мікропіпетки вище покритої силіконом поверхні (150—200 мк). Решта простору піпетки заповнюється 0,5 М розчином KCl.

Для ілюстрації на рис. 1 наведено мікрофотографію готового електрода.

Зберігаються електроди в щільно закритій банці при кімнатній температурі. Кінчики їх занурені в розчин KCl. Вони можуть бути використані для вимірювань на протязі одного — двох тижнів.

Характеристика електродів. Перед використанням електроди вимочуються у 0,5 М розчині KCl протягом 1—2 год. Така підготовка необхідна для зменшення і стабілі-

зації їх власних потенціалів і для потенціалу.

Швидкість реакції електрода на секунди до 1—1,5 хв. У більшості елементів постійною часу реєструючого приладу електродів, оскільки завдяки надто низькій частоті вимірювань неможливо було бути використаним для спостережень з клітин.

Внаслідок великої товщини органічного опору: від 10^8 і вище ом.

Залежність потенціалу електродів від концентрації іонів 10^{-3} — 10^{-4} М. Кутловий коефіцієнт на температурі 20—25°С. Дуже часто спостерігається властивість для так званого неідеального електроду функція.

Дрейф потенціалів електродів не спостерігається.

Для ілюстрації на рис. 2 наведено криві для Cl^- і K^+ селективних мікроелектродів відповідних іонів у середовищі, яка каліброва й хлорної функції у змішаних селективних іонообмінниках нами була «Оріон» (США).

Величини констант селективності іонів у досліджуваних розчинах вони становлять відповідно в середньому KCl і NaCl у розчині від 10^{-3} до селективності не змінюється.

Вплив Ca^{++} і Mg^{++} на потенціал та інших неорганічних аніонів на Cl^- електроди практично нечутливі до реакції з ними.

Точність методу. Як і будь-який іонів іонообмінних електродами важливою й відносною точності. Відносні фактори: 1) точність вимірювань які використано для дослідів; 2) дрейф електроду при введенні.

Електрометри, які використовують, мають дуже високий вихідний опір (від $\pm 0,25$ — $0,5$ мВ). Дрейф потенціалів селективних електродів від логарифма акти передбачити їх хід у часі, тому немає кривих у ході дослідів. Можливі джерела використовуються як електроди порівняння при ретельному відбиранні й при запису хибки, як правило, незначні.

Оцінка відносної точності методу результатів повторних вимірювань акти дані проведених нами вимірювань акти крові й гемолімфи тварин із зазначеною цілком задовільна. Про це свідчать вимірювань. Не залишається ніяких сумнівів розчинів і різних біологічних середовищ.

Точність пробних визначень

Досліджувані розчини

Розчин KCl і NaCl

Розчин Рінгера для жаби

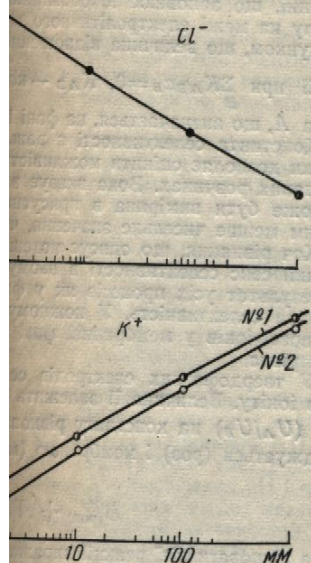
Розчин Рінгера для слимака

Плазма крові жаби

Гемолімфа слимака

діелектричної проникності розчин-
я протиіоном і активним центром

ними переносниками, як зазначалось
ран. Тут не беруть участь заряджені
молекули, які сприяють заглибленню
і заряд комплексних катіонів (SA)⁺
д природи катіона, який зв'язується
ное одиниці. Розчинник у таких мем-



Калібрувальні криві Cl⁻ се-
лого (А) і K⁺ селективних (Б)
мікроелектродів.

калі — різниця потенціалів в мВ,
нталі — концентрація (в мм) іо-
нів у середовищі.

Мікрофотографія електрода з
ідким іонообмінником.

ективність залежить тільки від се-
нейтральними молекулами, які їх

я мікроелектродів використовують-
29. З них витягуються мікропіпет-

ок гідрофобних властивостей і для
електрода кінчики мікропіпеток за-
користовують 1%-ний три-н-бутил-
у олію у трихлоретилені [45—48;

ником спонтанно, за рахунок капі-
Іонообмінник повинен піднятися у
рхні (150—200 мк). Решта просто-

афію готового електрода.

і при кімнатній температурі. Кін-
використані для вимірювань на

м електроди вимочуються у 0,5 М
еобхідна для зменшення і стабілі-

зації їх власних потенціалів і для створення умов для миттєвого встановлення потенціалу.

Швидкість реакції електрода на зміну концентрацій іонів коливається від часток секунди до 1—1,5 хв. У більшості електродів вона майже миттєва і визначається лише постійною часу реєструючого приладу. Це дуже важлива особливість іонообмінних електродів, оскільки завдяки надто незначному часу стабілізації потенціалу вони можуть бути використані для спостережень за швидкістю надходження й виходу іонів з клітин.

Внаслідок великої товщини органічної фази для електродів властивий дуже великий опір: від 10⁸ і вище ом.

Залежність потенціалу електродів від активності лінійна в інтервалі концентрацій 10—1000 мМ. Кутовий коефіцієнт нахилу електродів становить 45—59 мВ при температурі 20—25°С. Дуже часто спостерігається теоретична залежність, яка дорівнює 59 мВ і властива для так званого нерствіського електрода, якому властива ідеальна електродна функція.

Дрейф потенціалів електродів не перевищує 1—2 мВ/год.

Для ілюстрації на рис. 2 наведена залежність потенціалів виготовлених нами K⁺—і Cl⁻ селективних мікроелектродів з рідкими іонообмінниками від активностей відповідних іонів у середовищі, яка дозволяє судити про виконання електродами калієвої й хлорної функцій у змішаних розчинах KCl і NaCl. Як K⁺ і Cl⁻ селективні іонообмінники нами були використані рідини №9286 і 9825 фірми «Оріон» (США).

Величини констант селективності електродів залежать, як правило, від концентрацій іонів у досліджуваних розчинах. Так, наприклад, у K⁺ селективних електродах вони становлять відповідно в середньому 0,038; 0,014 і 0,01 при збільшенні концентрацій KCl і NaCl у розчині від 10⁻³ до 10⁰ М. Найчастіше на протязі дослідів константа селективності не змінюється.

Вплив Са⁺⁺ і Mg⁺⁺ на потенціал K⁺ і Cl⁻ селективних електродів, а також Na⁺ та інших неорганічних аніонів на Cl⁻ селективний електрод зневажливо малий. Електроди практично нечутливі до реакцій середовища в області рН 6—8.

Точність методу. Як і будь-який метод, мікроелектродне вимірювання активностей іонів іонообмінними електродами важливо охарактеризувати з точки зору його абсолютної й відносної точності. Відносна точність визначається головним чином такими трьома факторами: 1) точністю вимірювання потенціалів, отже, якістю електрометрів, які використано для дослідів; 2) дрейфом потенціалів електродів і 3) якістю ізоляції стовбура мікроелектрода при введенні його у вимірювальний ланцюг.

Електрометри, які використовують при вимірюваннях активностей іонів, повинні мати дуже високий вихідний опір (від 10¹² і вище) і точність вимірювань у межах ±0,25—0,5 мВ. Дрейф потенціалів селективних електродів невеликий і лише зрушує криву залежності Е від логарифма активності по осі ординат. Дуже істотно, що можна передбачити їх хід у часі, тому нема необхідності в частих перевірках калібрувальних кривих у ході дослідів. Можливий дрейф потенціалів звичайних мікроелектродів, які використовуються як електроди порівняння, і поява у них катіонної функції. Однак при ретельному відбиранні й при заповненні змішаними розчинами KCl і CaCl₂ ці помилки, як правило, незначні.

Оцінка відносної точності методу може бути проведена шляхом аналізу розкиду результатів повторних вимірювань активностей іонів. Як видно з таблиці, де наведено дані проведених нами вимірювань активностей K⁺ й Cl⁻ у стандартних розчинах, у крові й гемолімфі тварин із зазначенням 95%-ного довірчого інтервалу, відносна точність цілком задовільна. Про це свідчить невеликий розкид результатів повторних вимірювань. Не залишається ніяких сумнівів щодо застосовності електродів для аналізу розчинів і різних біологічних середовищ.

Точність пробних визначень активностей калію й хлору

Досліджувані розчин	ммоль/л M ± 2	
	K ⁺	Cl ⁻
Розчин KCl і NaCl	49,8 ± 0,06	75,3 ± 0,07
Розчин Рінгера для жаби	2,02 ± 0,03	92,2 ± 0,06
Розчин Рінгера для слимака	3,85 ± 0,03	80,4 ± 0,05
Плазма крові жаби	1,96 ± 0,04	88,0 ± 0,07
Гемолімфа слимака	4,05 ± 0,05	74,8 ± 0,09

Абсолютну точність методу оцінити важче внаслідок відсутності абсолютного критерію. Однак можна провести посередню оцінку. Для цього необхідно розглянути: 1) електродну функцію по відношенню до інших іонів та неіонних компонентів; 2) зміну коефіцієнтів активності K^+ і Cl^- в біологічних середовищах, особливо в клітині, порівняно з калібрувальними розчинами і 3) зміну дифузійного потенціалу електрода порівняння всередині клітини.

Про селективність K^+ електрода вже було сказано в попередньому розділі. Селективність Cl^- електрода докладно описана Уокером [76, 77]. Виявлено, що деякий вплив на його функцію виявляють органічні аніони, як ізотіонат і пропіонат. Оскільки в м'язових і нервових клітинах концентрації їх незначні [21, 31], то цієї помилкою можна знехтувати.

Не виключено, що якась похибка у визначенні a_K і a_{Cl} всередині клітин може з'являтися внаслідок поглинання рідким іонітом деяких компонентів цитоплазми. Дійсно, встановлено, що такі органічні сполуки, як ТЕА й інші заміщені змінні, ацетилхолін, сечовина й різні органічні луги в концентраціях 10^{-4} — 10^{-2} М виявляють істотний вплив на електродну функцію [27, 55]. Однак проти цього можна привести принаймні три аргументи. По-перше, всі ці сполуки в клітинах не містяться, або присутні в незначних кількостях. По-друге, одержані іонообмінними електродами показники внутріклітинних активностей іонів збігаються у межах 5—10% з даними, одержаними в дослідках з катіон-селективними скляними електродами [6, 18, 19, 49]. І, нарешті, як показали проведені нами вимірювання активностей K^+ й Cl^- в скелетних м'язах і нейронах деяких безхребетних тварин, значення активностей іонів в одній й тій же клітині відтворюються на протязі тривалого часу.

Різниця між коефіцієнтами активності іонів всередині клітин і в стандартних розчинах дуже вірогідна, оскільки в біологічних системах широко поширені явища комплексоутворення та іонної асоціації. Проте значення цього фактора, а також зміни дифузійного потенціалу електрода порівняння не слід занадто переоцінювати. Вплив їх на вимірювання активностей іонів всередині клітин ми розглядали раніше при оцінці методу вимірювання активностей іонів скляними мікроелектродами [20, 49]. Коефіцієнти активностей іонів і зміни дифузійного потенціалу зеджирть перш за все від іонної сили. Тому використання калібрувальних розчинів приблизно такої ж іонної сили, що й у цитоплазми, повинно звести до мінімуму ті похибки, які вносяться розрізненням f_K і f_{Na} та зміною дифузійного потенціалу.

Отже, наведені дані свідчать про те, що метод вимірювання внутріклітинних активностей іонів іонообмінними електродами може бути використаний для тонкого аналізу іонних змін у клітині. Особливо перспективний він при вивченні механізму дії на клітину фізіологічноактивних речовин і різних фармакологічних засобів.

Література

1. Андреев И. М., Мельников Г. Г., Шкроб А. М., Шемякин М. М.—Молекул. биол., 1971, 5, 614.
2. Воробьев Л. Н., Хитров Ю. А.—Физиол. растений, 1971, 18, 1054.
3. Грекович А. Л., Матерова Е. А., Белинская Ф. А.—Электрохимия, 1970, 6, 1036.
4. Иванов В. Т. и др.—Химия природных соединений, 1971, 3, 221.
5. Коренман И. М.—Аналитическая химия калия, М., «Наука», 1964.
6. Лев А. А.—Биофизика, 1964, 9, 686.
7. Мур Э.—В сб.: Ионоселективные электроды, М., «Мир», 1972, 221.
8. Никольский Б. П.—Журн. физич. химии, 1937, 10, 495.
9. Никольский Б. П., Шульц М. М., Пешехонова Н. В.—Журн. физич. химии, 1959, 33, 1922.
10. Никольский Б. П., Шульц М. М.—Вестник ЛГУ, сер. Ф—Х, 1963, 4, 73.
11. Никольский Б. П., Шульц М. М.—В сб.: Электрич. свойства и строение стекла, М.—Л., «Химия», 1964, 38.
12. Никольский Б. П., Шульц М. М.—Журн. физич. химии, 1962, 34, 1327.
13. Никольский Б. П., Шульц М. М., Белюстин А. А.—В кн.: Бейте Р. Определение рН. Теория и практика, Л., «Химия», 1968, 302.
14. Овчинников Ю. А.—Вестник АН СССР, 1971, 41, 58.
15. Овчинников Ю. А.—Вестник АН СССР, 1970, 40, 49.
16. Реми Г.—Курс неорганич. химии, М., «Мир», 1972.
17. Росс Дж.—В сб.: Ионоселективные электроды, М., «Мир», 1972.
18. Сорокина З. А.—Бюлл. exper. биол. мед., 1964, 12, 17.
19. Сорокина З. О.—Физиол. журн. АН УРСР, 1966, 12, 776.
20. Сорокина З. А., Холодова Ю. Д.—В сб.: Физиол. и биохим. беспозвоночных, Л., «Наука», 1968, 76.
21. Сорокина З. А., Холодова Ю. Д.—Цитология, 1968, 10, 1298.
22. Шульц М. М.—Электродные свойства стекол. Автореф. дисс., Л., 1964.

23. Эйзенман Дж.—В сб.: Вонпро
24. Эйзенман Дж.—В сб.: Ион
25. Arnold D. et al.—Amer. J. Clin.
26. Brown A. et al.—J. gen. Physiol.
27. Burr R.—Clin. Chim. Acta, 1973
28. Chow S. et al.—Proc. Nat. Acad.
29. Christensen J. et al.—Science
30. Coetzee C., Ereiser H.—An
31. Conway E.—Physiol. Rev., 1957
32. Cornwall M. et al.—Brain Res
33. Czaban J., Rechnitz G.—A
34. Duax W. et al.—Science, 1972, 1
35. Eisenmann G.—Biophys. J., 1
36. Eisenmann G.—Analyst. Chem
37. Eisenmann G. et al.—Fed. Pr
38. Eisenmann G., Krasne S. докл., Симпозиумы, М., 1972, 50.
39. Frant M., Ross J.—Science, 1
40. Giani S. et al.—J. Membrane Bi
41. Hnik P. et al.—Brain Res., 1972
42. Hnik P. et al.—Pflügers Arch., 1
43. Izatt R. et al.—Science, 1969, 1
44. Kerkut G., Meech R.—Comp
45. Khuri R. et al.—Pflügers Arch.,
46. Khuri R. et al.—Pflügers Arch.,
47. Khuri R. et al.—Pflügers Arch
48. Khuri R. et al.—J. Appl. Physio
49. Kostyuk P., Sorokina Z., Wiley a. Sons, Inc. N. Y., London,
50. Križ N. et al.—Physiol. bohém
51. Kunc D., Brown A.—Natur
52. Manek B.—In: Ion-Select. elec
53. Moody G. et al.—Analyst, 1970,
54. Moore E., Blum A.—J. clin.
55. Neher E., Lux H.—J. gen. Ph
56. Ohnishi M., Urry D.—Scien
57. Oreskes J., Douglas K.—C
58. Pedersen C.—Fed. Proc., 1968
59. Pioda L. et al.—Helv. Chem. A
60. Pioda L., Simon W.—Chimie
61. Pungor E., Toth K.—Pure a
62. Ross J.—Science, 1967, 156, 66.
63. Russel J., Brown A.—Scienc
64. Russel J., Brown A.—J. gen
65. Russel J., Brown A.—J. gen
66. Sandblom J. et al.—J. phys C
67. Sandblom J. et al.—J. Phys. C
68. Sandblom J., Orme F.—In: Marcel Dekker, N. Y., 1972, 254.
69. Schultz F. et al.—Science, 196
70. Shemyakin M. et al.—Bichem
71. Smith M. et al.—Anal. Chem., 1
72. Stefanac Z., Simon W.—Cl
73. Stefanac Z., Simon W.—M
74. Vyskocil F., Križ N.—Pflüg
75. Vyskocil F. et al.—Brain Res.
76. Walker J.—Anal. Chem., 1971,
77. Walker J., Brown A.—Scien
78. Wise M. et al.—Clin. Chem., 1

слідок відсутності абсолютного кри-
Для цього необхідно розглянути:
в та неіонних компонентів; 2) зміну
повищах, особливо в клітині, порів-
йного потенціалу електрода порів-

азано в попередньому розділі. Се-
ом [76, 77]. Виявлено, що деякий
із іотонат і пропіонат. Оскільки
значні [21, 31], то цієї помилкою

і ак і ас всередині клітин може
ких компонентів цитоплазми. Дійс-
й інші замінені зміни, ацетилхолін,
 10^{-4} — 10^{-2} М виявляють істотний
цього можна привести принаймні
е містяться, або присутні в незнач-
електродами показники внутріклі-
з даними, одержаними в дослідях
19, 49]. І, нарешті, як показали
в скелетних м'язах і нейронах
онів в одній й тій же клітині від-

редині клітин і в стандартних роз-
мах широко поширені явища ком-
я цього фактора, а також зміни
лід занадто переоцінювати. Вплив
ми розглядали раніше при оцінці
мікроелектродами [20, 49]. Коефі-
ціалу зєлажить перш за все від-
инів приблизно такої ж іонної си-
ті похибки, які вносяться розріз-

вимірювання внутріклітинних ак-
ти використаний для тонкого ана-
він при вивченні механізму дії на
ологічних засобів.

об А. М., Шемякин М. М.—

растений, 1971, 18, 1054.

инская Ф. А.—Электрохимия,

енний, 1971, 3, 221.

и, М., «Наука», 1964.

«Мир», 1972, 221.

7, 10, 495.

ехопова Н. В.—Журн. физич.

к ЛГУ, сер. Ф—Х, 1963, 4, 73.

и. Электрич. свойства и строение

физич. химии, 1962, 34, 1327.

юстин А. А.—В кн.: Бейтс Р.

1968, 302.

41, 58.

40, 49.

72.

М., «Мир», 1972.

4, 12, 17.

3, 12, 776.

и. Физиол. и биохим. беспозвоноч-

логия, 1968, 10, 1298.

втореф. дисс., Л., 1964.

23. Эйзенман Д. ж.— В сб.: Вопросы биофизики, М., «Наука», 1964, 215.
24. Эйзенман Д. ж.— В сб.: Ионоселективные электроды, М., «Мир», 1972, 11.
25. Arnold D. et al.— Amer. J. Clin. Path., 1—68, 49, 627.
26. Brown A. et al.— J. gen. Physiol., 1970, 56, 559.
27. Burr R.— Clin. Chim. Acta, 1973, 43, 311.
28. Chow S. et al.— Proc. Nat. Acad. Sci. (Wash.), 1970, 67, 998.
29. Christensen J. et al.— Science, 1971, 174, 459.
30. Coetzee C., Ereiser H.— Anal. Chem., 1968, 40, 2071.
31. Conway E.— Physiol. Rev., 1957, 37, 84.
32. Cornwall M. et al.— Brain Res., 1970, 23, 433.
33. Czaban J., Rechnitz G.— Anal. Chem., 1973, 45, 771.
34. Duax W. et al.— Science, 1972, 176, 911.
35. Eisenmann G.— Biophys. J., 1962, 2, 259.
36. Eisenmann G.— Analyt. Chem., 1968, 40, 310.
37. Eisenmann G. et al.— Fed. Proc., 1968, 27, 1289.
38. Eisenmann G., Krasne S.— В кн.: IV Междунар. биофизич. конгресс. Тез. докл., Симпозиумы, М., 1972, 50.
39. Frant M., Ross J.— Science, 1970, 167, 2456.
40. Giani S. et al.— J. Membrane Biol., 1969, 1, 1.
41. Hnik P. et al.— Brain Res., 1972, 40, 559.
42. Hnik P. et al.— Pflügers Arch., 1973, 338, 177.
43. Izatt R. et al.— Science, 1969, 164, 443.
44. Kerkut G., Meech R.— Comp. Biochem. Physiol., 1966, 19, 819.
45. Khuri R. et al.— Pflügers Arch., 1971, 322, 39.
46. Khuri R. et al.— Pflügers Arch., 1972, 335, 297.
47. Khuri R. et al.— Pflügers Arch., 1972, 338, 73.
48. Khuri R. et al.— J. Appl. Physiol., 1972, 32, 419.
49. Kostyuk P., Sorokina Z., Kholodova J.— In: Glass Microelectrode, John Wiley & Sons, Inc. N. Y., London, Sydney, Toronto, 1968, 322.
50. Křiž N. et al.— Physiol. bohemoslovaca, 1972, 21, 91.
51. Kuncce D., Brown A.— Nature, New Biol., 1971, 229, 229.
52. Manek B.— In: Ion-Select. electr. Symp. Matrafured, Budapest, 1972, 219.
53. Moody G. et al.— Analyst, 1970, 95, 910.
54. Moore E., Blum A.— J. clin. Invest., 1968, 47, 70a.
55. Neher E., Lux H.— J. gen. Physiol., 1973, 61, 385.
56. Ohnishi M., Urry D.— Science, 1970, 168, 1091.
57. Oresces J., Douglas K.— Clin. chim. Acta, 1968, 48, 52.
58. Pedersen C.— Fed. Proc., 1968, 27, 1305.
59. Pioda L. et al.— Helv. Chem. Acta, 1957, 50, 1373.
60. Pioda L., Simon W.— Chimia, 1969, 23, 72.
61. Pungor E., Toth K.— Pure and Appl. Chem., 1973, 34, 105.
62. Ross J.— Science, 1967, 156, 66.
63. Russel J., Brown A.— Science, 1972, 175, 1475.
64. Russel J., Brown A.— J. gen. Physiol., 1972, 60, 499.
65. Russel J., Brown A.— J. gen. Physiol., 1972, 60, 519.
66. Sandblom J. et al.— J. phys. Chem., 1967, 71, 3862.
67. Sandblom J. et al.— J. Phys. Chem., 1967, 71, 3871.
68. Sandblom J., Orme F.— In: Membranes, I, Macroscopic Systems and Models. Ed. Marcel Dekker, N. Y., 1972, 254.
69. Schultz F. et al.— Science, 1968, 162, 267.
70. Shemyakin M. et al.— Biochem. Biophys. Res. Comm., 1967, 29, 834.
71. Smith M. et al.— Anal. Chem., 1973, 45, 1782.
72. Stefanac Z., Simon W.— Chimia, 1966, 20, 436.
73. Stefanac Z., Simon W.— Microchem. J. 1967, 12, 125.
74. Vyskocil F., Křiž N.— Pflügers Arch., 1972, 337, 265.
75. Vyskocil F. et al.— Brain Res., 1972, 39, 235.
76. Walker J.— Anal. Chem., 1971, 43, 89A.
77. Walker J., Brown A.— Science, 1972, 167, 1504.
78. Wise M. et al.— Clin. Chem., 1970, 16, 103.