ZESZYTY NAUKOWE POLITECHNIKI ŚLĄSKIEJ 1975

Seria: AUTOMATYKA z. 33 Nr kol. 450

Jerzy Reiss

ZASTOSOWANIE POMIARÓW ELEKTRODOWYCH ELEKTROMETRYCZNYCH DO OZNACZANIA NIEKTÓRYCH PARAMETRÓW KRWI

Streszczenie. Artykuł przedstawia możliwości zastosowania do pomiarów niektórych parametrów krwi metody elektrodowej elektrometrycznej. Jest ona szczególnie dogodna przy określaniu parametrów kwasowo-zasadowych, gazowych oraz stężeń elektrolitów. W treści omówiono zasadnicze problemy występujące przy dokonywaniu tych pomiarów oraz podano niektóre możliwości ich rozwiązania. Przedstawiono również pewne poczynione w tym kierunku prace i osiągnięte rezultaty.

W ciągu ostatnich 20 lat analizy krwi nabrały dużego znaczenia w diagnostyce lekarskiej. Między innymi wzrosło zapotrzebowanie na pomiary parametrów kwasowo-zasadowych, analiz gazowych oraz oznaczanie stężenia jonów niektórych pierwiastków we krwi (tzw. bilansu elektrolitycznego).

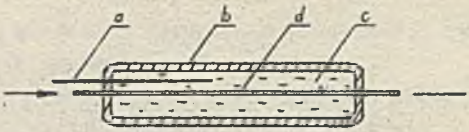
Znane są różne fizykalno-chemiczne metody określania tych wielkości. Najdogodniejsze jednak z punktu widzenia prostoty obsługi, czasu pomiaru i minimalnego zużycia krwi oraz przydatności w automatycznych analizatorach wydają się pomiary realizowane w sposób elektrodowy elektrometryczny. Układy te pozwalają na spełnienie narzuconych przez medium mierzone czyli krew, takich warunków jak odpowiednia dokładność oraz powtarzalność w zakresach fizjologicznych przy ustalonej temperaturze 37°C lub 38°C i minimalna objętość próbki.

1. Pomiary parametrów kwasowo-zasadowych

Zasadniczym parametrem tej grupy jest pH krwi. Fizjologia narzuca zakres pomiarowy od 6,6 pH do 7,8 pH przy pożądanej dokładności 0,01 pH i objętości próbki mniejszej niż 100 μl.

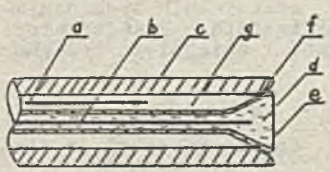
Obecny stan techniki pozwala na realizację układów spełniających te warunki.

Najczęściej spotykanym zestawem jest ogniwo pomiarowe składające się z elektrody szklanej i kalomelowej lub chlorosrebrowej oraz precyzyjnego wzmacniacza pomiarowego. Dla zapewnienia minimalnej objętości próbki zostały opracowane specjalne elektrody szklane o membranie jonoczułej w postaci rurki kapilarnej (1), (9), (20). Zasadę ich działania wyjaśnia rys.1



Rys. 1
a - elektroda chlorosrebrowa, b - osłona zewnętrzna, c - roztwór elektrodowy, d - kapilara jonoczuła

Inne rozwiązanie stanowi skonstruowane ogniwo pomiarowe z mikrokomorą pomiarową i łącznikiem elektrolitycznym w postaci szlifu zwilżonego nasyconym roztworem chlorku potasu (rys. 2) (29), (30), (31).



Rys. 2
a - elektroda chlorosrebrowa, b - elektroda chlorosrebrowa, c - osłona zewnętrzna, d - roztwór elektrodowy, e - membrana jonoczuła, f - szlif, g - roztwór nasycony KCl

Elektrody szklane typu mikro cechuje większa oporność wewnętrzna ze względu na niewielką powierzchnię czynną membrany. W badanych egzemplarzach wykonanych przez Energopomiar w Gliwicach wynosiła ona około 100 megaom (31).

Nachylenie charakterystyk wykonanych ogniw nie odbiegało od normy i zawierało się w granicach 0,90-0,99 wartości teoretycznej 0,1984 T (mV/pH). Badania wykazały, że przy zastosowaniu odpowiedniej jakości wzmacniacza pomiarowego, mikroogniwo pozwala na dokonanie pomiarów z dokładnością 0,01 pH i większą w założonym przedziale i przy objętości próbki rzędu 90 μl.

Pomiar pH obok znaczenia diagnostycznego, jakie sam przedstawia dla lekarzy, służy do określania innych parametrów krwi, takich jak: (2), (6) (15), (17):

- nadmiar zasad (base excess - BE) określany przy pomocy nomogramu Siggaard-Andersena,
- zasady buforujące (buffer base - BB) z równania

$$BB = 41,7 + 0,42\ Hb\ I\ BE,$$

gdzie:

Hb - stężenie hemoglobiny w próbce,

- dwuwęglany (HCO_3^-) z równania Hendersona-Hasselbacha

$$HCO_3^- = \alpha\, pCO_2 \left[\text{antylog}\ (pH - pK)\right],$$

gdzie:

pK - stała dysocjacji,

α = 0,0301 dla temp. 38°C,

- dwuwęglany standardowe (standard bicarbonate) z nomogramu Siggaard-Andersena.

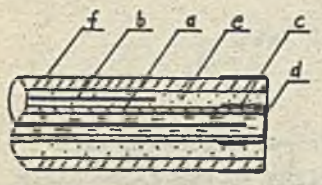
Powyższe wielkości mają zasadnicze znaczenie w wykrywaniu kwasic i zasadowic, zarówno oddechowych jak i nieoddechowych (16). Ich określenie z nomogramu Siggaard-Andersena wiąże się z koniecznością podziału próbki na trzy części, z których dwie wysyca się mieszaninami gazowymi (każda o innej zawartości dwutlenku węgla), po czym dokonuje się pomiaru pH wszystkich próbek. Metoda ta zwana metodą podwójnej ekwilibracji Astrupa pozwala jednocześnie na oznaczenie z nomogramu ciśnienia parcjalnego dwutlenku węgla (pCO_2) we krwi, będącego jednym z tzw. parametrów gazowych (2) (11) (18).

2. Analiza gazowa krwi

Konieczność poznania zachodzących w organizmie przemian związanych z procesami oddychania i przemiany materii stanowiła bodziec do realizacji pomiarów ciśnień parcjalnych dwutlenku węgla (pCO_2) i tlenu (pO_2) we krwi. Znajomość pH, pCO_2 oraz stężenia hemoglobiny pozwala również (po pewnej modyfikacji nomogramu Siggaard-Andersena) na wyznaczenie parametrów kwasowo-zasadowych. Takie postępowanie skraca czas pomiaru przez uniknięcie uciążliwej ekwilibracji próbek gazami (1), (13), (15).

A. Pomiar pCO_2 (2), (8), (22), (23)

Wahania ciśnienia parcjalnego CO_2 we krwi obejmują zakres od około 10 mmHg do 130 mmHg. W tych granicach osiągnięto dobre rezultaty pomiarowe przez zastosowanie specjalnej elektrody selektywnej. Zasada jej działania opiera się na zjawisku zmiany pH roztworu wewnątrzelektrodowego pod wpływem CO_2. CO_2 dyfunduje poprzez cienką błonę teflonową z próbki do wnętrza elektrody, w której znajduje się wodny roztwór $NaHCO_3$ i NaCl (rys. 3). Zachodzi reakcja wg schematu:



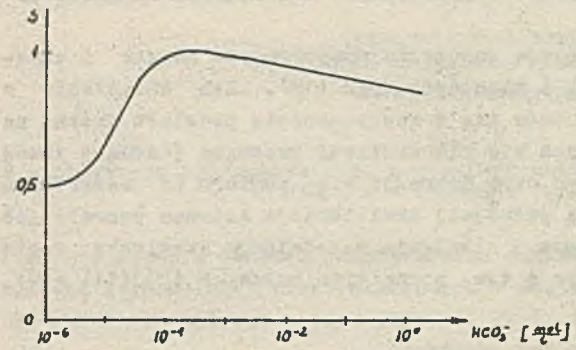
Rys. 3

a - elektroda szklana, b - elektroda chlorosrebrowa, c - warstwa bibułki (zapewnia obecność elektrolitu między membraną elektrody szklanej i błoną teflonową), d - błona teflonowa, e - elektrolit, f - korpus zewnętrzny

$$H_2O + CO_2 \rightleftharpoons H^+ + HCO_3^-$$

Stężenie jonów wodorowych jest wprostproporcjonalne do ilości przedyfundowanego CO_2, a więc do pCO_2.

Charakterystyka elektrody w układzie współrzędnych U_{wy}/log pCO_2 jest liniowa, a oporność wewnętrzna rzędu 500 megaom, co pozwala na dokonanie pomiarów przy pomocy odpowiednio wyskalowanego pH-metru z ekspanderem skali (9).



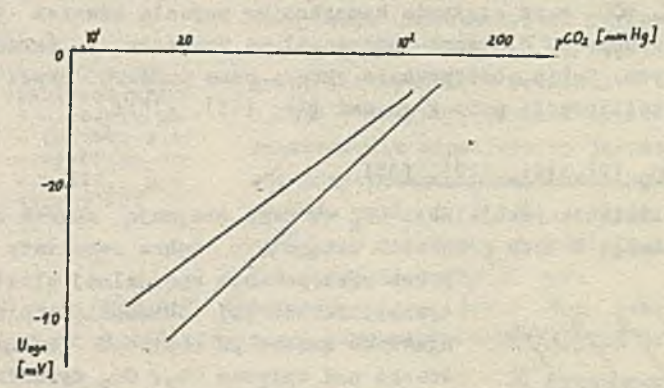
Rys. 4

Czułość ogniwa pomiarowego definiowana jako (32)

$$s = -\frac{\Delta pH}{\Delta \log pCO_2}$$

zależy od stężenia dwuwęglanu $NaHCO_3$ w elektrolicie (rys. 4) i jest największa przy stężeniach od 10^{-3} do 10^{-1} mola/l.

Przeprowadzone próby (31), (32) nad zastosowaniem do pomiarów pCO_2 ogniw w rodzaju pokazanego na rys. 2 dały zadowalające rezultaty, chociaż nie osiągnięto pełnej czułości (za wzorzec przyjęto elektrodę prod. duńskiej firmy Radiometer), przy nieznacznie gorszych również własnościach dynamicznych



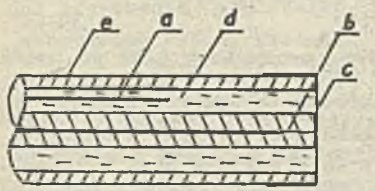
Rys. 5

(rys. 5). Powodem tego była zbytnia grubość membrany elektrody szklanej oraz niezupełne wyeliminowanie martwych objętości w jej sąsiedztwie. Przystosowanie elektrody polegało na zastąpieniu nasyconego roztworu KCl roztworem dwuwęglanu oraz założeniu na membranę jonoczułą cienkiej bibułki oraz błony teflonowej.

B. Pomiar pO_2 (4), (8), (12), (21), (29)

Pomiar pO_2 krwi żylnej pozwala na określenie wydolności jej przepływu w organizmie. Wahania ciśnienia cząstkowego tlenu we krwi zawierają się w granicach od 10 mm Hg do 150 mm Hg, a w wyjątkowych wypadkach dochodzą do 700 mm Hg.

Najpowszechniejsze zastosowanie znalazła tu metoda polarograficzna, a w szczególności układ z elektrodą platynową membranową zwaną również elektrodą Clarka (rys. 6). Jej działanie polega na redukcji tlenu na spolaryzowanej elektrodzie metalowej

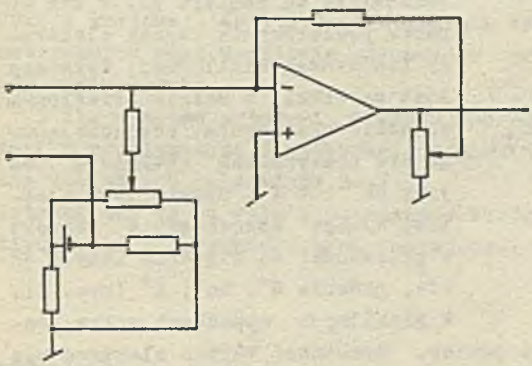


Rys. 6

a - katoda, b - anoda, c - membrana, d - elektrolit, e - korpus elektrody

$$O_2 + 2H^+ + 2e^- \rightarrow H_2O_2$$

Krzywa polarograficzna $I = f(U_{pol})$ posiada plateau, w środku którego obiera się punkt pracy elektrody (około 630 mV). Jako elektrolitu użyto buforu fosforanowego z dodatkiem chlorku potasu w celu ustabilizowania potencjału anody (4), (21),(32).Tlen z próbki dyfunduje poprzez błonę polipropylenową do cienkiej warstewki elektrolitu na czołowej części elektrody, gdzie następuje jego redukcja. Aby zapobiec szybkiemu ubytkowi tlenu z próbki i zapewnić równowagę między szybkościami redukcji i dyfuzji stosuje się elektrody platynowe średnicy rzędu kilkunastu do kilkudziesięciu mikrometrów, inkrustowane w szkło lub sztuczne tworzywo.Stwarza to możliwość zmniejszenia objętości próbki do kilkudziesięciu mikrolitrów.



Rys. 7

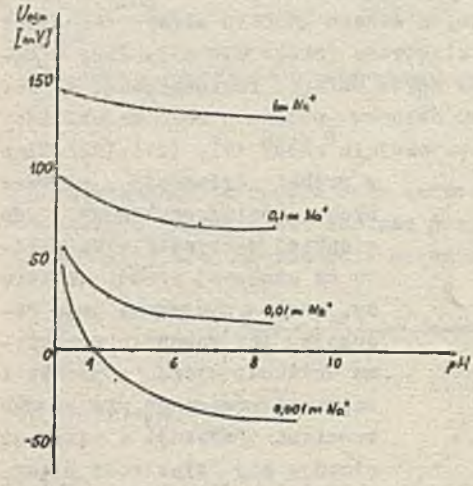
Prąd płynący przez elektrodę jest bezpośrednio proporcjonalny do pO_2 mierzonej krwi. Ze względu na wartość prądu rzędu 10^{-11} A do pomiaru należy zastosować układ elektrometryczny.

Jedno z możliwych rozwiązań polega na wykorzystaniu wzmacniacza pH-metrycznego z odpowiednim układem dopasowującym, zmieniającym sygnał prądowy na napięciowy (rys. 7). Możliwe musi być też uzyskanie odpowiedniego napięcia polaryzującego oraz zerowanie.

Zbudowany w oparciu o powyższą zasadę układ (32) pozwolił na osiągnięcie następujących parametrów przy zastosowaniu elektrody o średnicy anody 20 μm: czułość około 10^{-11} A/mmHg, prąd zerowy rzędu 10^{-10} A, dokładność pomiaru $\pm$ 0,3 mmHg, dryft poniżej 0,7%/^{o}C.

3. Pomiary stężenia elektrolitów

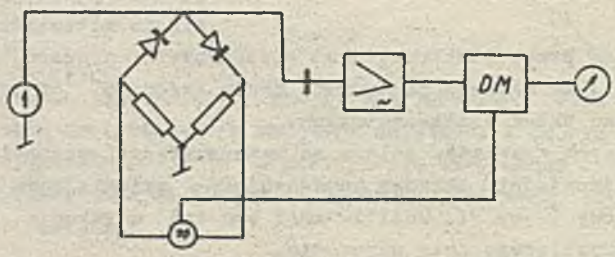
Dużo informacji o stanie zdrowia pacjenta dostarczyć może znajomość gospodarki niektórymi jonami w organizmie. Do najważniejszych jonów należą: Na^+, K^+, Ca^{++}, Mg^{++}, Cl^-, HPO_4^{--}, SO_4^{--}. W dziedzinie oznaczania ich stężeń we krwi znalazły również zastosowanie pomiary elektrometryczne, przy wykorzystaniu tzw. elektrod selektywnych (10), (13), (15).



Rys. 8

Elektrody te podzielić można na dwie zasadnicze grupy: z membraną jonowymienną szklaną oraz wytworzoną z odpowiednich sztucznych tworzyw organicznych.

Pierwsze z nich stosuje się głównie do oznaczania jonów Na^+ i K^+. Zasada działania nie różni się zasadniczo od pomiaru pH. W tym wypadku powierzchnia czynna elektrody (zazwyczaj kapilarnej) wykonana jest ze szkła o ściśle określonym składzie chemicznym, odznaczającego się podwyższoną czułością na jony Na^+ lub K^+. Użycie tych elektrod wymaga wprowadzenia korekt w zależności od stężenia innych jonów, głównie H^+, Na^+, K^+ (rys. 8). W niektórych wypadkach wpływ innych jonów może nawet uniemożliwić pomiar. Żywotność takich elektrod nie jest zbyt duża i nie przekracza kilku miesięcy (5), (11), (24). Elektrody szklane stosuje się również do pomiaru stężenia jonów Cl^- i Ca^{++}.



Rys. 9

Coraz większego znaczenia nabierają przy pomiarach selektywnych elektrody membranowe (5), (10), (25), (26), (27). Zasadniczym ich elementem jest organiczna membrana przepuszczająca wybiórczo poszczególne jony. Membrany te są wymienne, co znaczenie przedłuża żywotność elektrody.

Wszystkie omówione ogniwa współpracować mogą z odpowiednio wyskalowanymi pH-metrami.

Duże wymagania stawiane układom elektrometrycznym, spowodowane wysoką opornością wewnętrzną źródła oraz małymi wartościami mierzonych napięć i prądów, stworzyły potrzebę skonstruowania odpowiedniego wzmacniacza pomiarowego.

Znane są dwie podstawowe koncepcje, wg których realizuje się te układy (3), (9), (14), (19).

Według pierwszej z nich stosuje się na wejściu wzmacniacza bezpośredniego tranzystory polowe z izolowaną bramką typu MOSFET. Druga koncepcja wykorzystuje zjawisko przetwarzania napięcia stałego na przemienne przy pomocy modulatora z diodami pojemnościowymi (rys. 9).

Wzmacniacze elektrometryczne produkowane są obecnie w postaci gotowych podzespołów. Ze względu na ich wysoką cenę podjęto próbę zastosowania jednego wzmacniacza dla kilku pomiarów. W skonstruowanym w tym celu komutatorze stykowym (32) udało się wykorzystać wyselekcjonowane kontaktrony produkcji krajowej. Komutator ten spełnia wysokie wymagania pomiarów elektrometrycznych oraz umożliwia sterowanie pomiarami i dokonywanie ich w sposób automatyczny.

O ile wiadomo autorowi, w kraju nie prowadzono dotychczas prac związanych z problematyką zastosowania pomiarów elektrometrycznych do określania niektórych parametrów krwi.

Artykuł ten ma na celu zapoznanie w skrócie ze specyfiką zagadnienia, możliwościami i dotychczas przeprowadzonymi w tej dziedzinie pracami.

LITERATURA

[1] Astrup P.: Ultra-mikro-Methoden zur Bestimmung von pH, pCO_2 und Standard Bikarbonate im Kapilarblut. Radiometer AS 30.

[2] Astrup P., Jörgensen K., Siggaard-Andersen O.: The acid-base methabolizm. A new Aproach. Lancet 1/1960.

[3] Bates G.: Determination of pH. John Wiley and Sons, Inc. New York, London, Sydney 1964.

[4] Clark L.C.: Electrochemical divice for chemical analysis.USP 2913386

[5] Durst R.A.: Ion-selective electrodes. Nation Bureau of Standards Special Publication 314. Washington 1969.

[6] Jörgensen K., Astrup P.: Standard bicarbonate, its clinical significance and a new method for its determination. Scand. Jour. of Clin. and Lab. Invest. 9/1957.

[7] Lüdenbach H.J.: Dissertation. TU Dresden 1971.

[8] Miller R., Richwien R.: Podstawy elektroniki medycznej. PZWL W-wa 1973.

[9] Modrzejewski B.: Pomiary pH. WNT W-wa 1971.

[10] Moore E.W.: Cation measurements in biological materials. Annals N.Y. Acad. Sci. 93/1968.

[11] Oehme F.: Direkt-potentiometrische Konzentrazionsbestimmung in der klinischen Analyse. Glas Inst. Technik 11/1967.

[12] Reeves R.B., Rennie R.W., Pappenheimer J.R.: Federal Proceedings 16/1957.

[13] Richterich R.: Chemia kliniczna, PZWL W-wa 1971.

[14] Romer E.: Miernictwo przemysłowe. PWN W-wa 1970.

[15] Rooth G.: Clinical acid-base and electrolyte balance. Studentlitteratur Lund 1970.

[16] Siggaard-Andersen O.: An acid-base chart for arterial blood with normal and pathophysiological reference areas. Scand. Jour. of Clin. and Lab. Invest. 3/1971.

[17] Siggaard-Andersen O.: The acid-base status of the blood. Munksgaard Copenhagen 1967.

[18] Siggaard Andersen O.: Blood acid-base alignment nomogram. Scand.Jour of Clin. and Lab. Invest. 15/1963.

[19] Schwabe K.: pH Messtechnik. Verlag Theodor Steinkopff Dresden und Leipzig 1963.

[20] Schwabe K.: pH Fiebel. VEB Deutscher Verlag für Grundstoffindustrie Leipzig 1962.

[21] Severinghaus J.W.: Recent developments in pO_2, pCO_2 und pH electrodes. Radiometer Copenhagen.

[22] Severinghaus J.W., Bradley J.W.: I. appl. Phisiol. 13/1958.

[23] Stowe R.W., Baer R.F., Randall G.F.: Arch.phys.Med. 38/1957.

[24] Taylon J.K.: Modern electrochemistry. Indus. Research 10/1968.

[25] Guide to specific ion electrodes and instrumentation. Orion Research Inc. 1969.

[26] Analytical Methods Guide. Orion Research Inc. 1971.

[27] Philips ion selective electrodes. Philips Bulletin oct. 1970.

[28] Referat Radiometer 28-1 - Tydzień Techniki Duńskiej Warszawa, kwiecień 1974.

[29] Referat Radiometer 28-2 - Tydzień Techniki Duńskiej Warszawa, kwiecień 1974.

[30] Elektroden und Messzubehör für Potentiometrie und Konduktometrie.Forschungsinstitut Meinsberg/SA.

[31] Opracowania Wojewódzkiej Stacji Krwiodawstwa w Katowicach - dotąd niepublikowane.

[32] Prace Instytutu Aparatury i Automatyki Medycznej Politechniki Śląskiej w Gliwicach w latach 1971-74.

ПРИМЕНЕНИЕ ЭЛЕКТРОДНЫХ ЭЛЕКТРОМЕТРИЧЕСКИХ ИЗМЕРЕНИЙ
ДЛЯ ОБОЗНАЧЕНИЯ НЕКОТОРЫХ ПАРАМЕТРОВ КРОВИ

Р е з ю м е

Статья представляем возможности применения электродного электрометрического метода для определения кислотного - основных и газовых параметров, а также концентрации электролитов.

Обсуждаются основные сложности совершения этих измерений, определяются некоторые возможности их решения. Даётся обзор проведённых работ и достигнутых результатов в этом направлении.

THE APPLICATION OF ELECTRODE-ELECTROMETRICAL MEASUREMENTS
IN ORDER TO DETERMINE SOME PARAMETERS OF BLOOD

S u m m a r y

The article shows the possibilities of the application of the electrode-electrometrical method for measuring some blood parameters.This method is very useful for the purpose of determining the acid-base and gas parameters as well as the contentration of the electrolyte.
The article deals with the basic problems connected with those measurements and shows some ways of meeting the difficulties; some work which has been done in this range achicied results are described