

## БИООРГАНИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

УДК 577.1.087+577.3

### ОСОБЕННОСТИ РАБОТЫ ЗАКРЫТОГО КИСЛОРОДНОГО ДАТЧИКА В ИНКУБАЦИОННЫХ СРЕДАХ С РАЗЛИЧНЫМ СОДЕРЖАНИЕМ СОЛЕЙ

**М.В. Миняев, М.Б. Белякова, Н.В. Костюк,  
Д.В. Лещенко, Т.А. Федотова**

Тверской государственный медицинский университет  
*Научно-исследовательский центр*

*Кафедра биохимии с курсом клинической лабораторной диагностики ФПДО*

Изучалось влияние инкубационных сред с различным осмотическим давлением на работу закрытого кислородного датчика, содержащего в качестве электролита раствор КСl (60 г/л). Обнаружено, что при использовании сред, осмотическое давление которых как превышает осмотическое давление электролита датчика, так и не достигает его, наблюдается увеличение времени отклика, относительной погрешности измерения и коэффициента вариации измеренных значений. Наиболее существенные отклонения наблюдались при проведении измерений в дистиллированной воде.

**Ключевые слова:** *кислородный датчик, электрод Кларка, диффузионный слой, осмотическое давление, потребление кислорода, погрешность измерения.*

Показания закрытого полярографического кислородного датчика (электрода Кларка) определяются не только ходом электрохимических реакций на поверхности поляризованного катода [1], но и диффузионными процессами в тонком слое электролита, заключенном между катодом и мембраной [2]. Считается, что проницаемая для кислорода мембрана плотно прижата к электроду и толщина приэлектродного слоя электролита пренебрежимо мала по сравнению с толщиной самой мембраны. Именно этим объясняют высокую стабильность как толщины диффузионного слоя, так и зависящих от нее параметров данного типа электродов [3].

В то же время известно, что пленки из полиэтилена и тетрафторполиэтилена, наиболее часто используемые для изготовления мембран кислородных датчиков [4], проницаемы не только для кислорода, но и для воды [5] при крайне низкой проницаемости для ионов солей [4], являющихся обязательным компонентом как

электролита кислородного датчика, так и распространенных инкубационных сред. Содержание солей в электролите и среде инкубации обычно неодинаково, что должно вести к возникновению диффузионного потока воды из электролита в среду или из среды в электролит во время проведения замера.

Учитывая невысокую проницаемость мембран для воды [5] и сравнительно большой объем электролита, в который идет ее диффузия, считают, что для проникновения внутрь датчика количества воды, достаточного для отслоения мембраны от катода и заметного увеличения толщины диффузионного слоя, требуется довольно много времени [6]. По этой причине осмотические эффекты на мембране закрытого кислородного датчика обычно игнорируют.

Однако при этом не учитывается, что приэлектродный слой электролита фактически представляет собой тонкую пленку на поверхности водопроницаемой мембраны и для существенной модификации его параметров, критичных для стабильной работы датчика, большого количества воды не требуется. Ситуация дополнительно усугубляется малой площадью торцов слоя, через который происходит диффузионный обмен между перемешиваемым основным объемом электролита и приэлектродным слоем, в результате чего в их составе могут наблюдаться существенные и относительно устойчивые различия.

В связи с этим была предложена гипотеза, согласно которой даже непродолжительный контакт датчика с инкубационной средой, осмотическое давление которой отличается от осмотического давления электролита, должно приводить к заметному искажению как результата измерения, так и характера регистрационных кривых.

В работе использовался амперометрический кислородный датчик закрытого типа [7] совместно с оксиметром N5221 (пр-во Польша) и регистратором ЭПП-09 м3. Электролитом датчика служил раствор KCl с концентрацией 60 г/л (объем электролита – 0.2 мл), а в качестве мембраны применялась пленка из тетрафторполиэтилена толщиной 20 мкм.

Измерения производились в термостатированной при 37 °С измерительной ячейке с магнитной мешалкой и боковым расположением датчика [8]. Объем среды инкубации во всех случаях составлял 3.5 мл. Для ограничения газообмена между средой инкубации и атмосферным воздухом на поверхности среды располагали плавающую полиэтиленовую крышку [9]. В качестве условных инкубационных сред использовались растворы KCl с концентрациями 120, 60, 30 г/л и дистиллированная вода (0 г/л). Насыщение сред кислородом производилось путем продувки насыщенными водяными парами атмосферным воздухом при 37 °С в течение 30 мин. Перед

проведением каждой серии измерений кислородный датчик выдерживался в соответствующей среде инкубации при комнатной температуре в течение суток.

В качестве поглощающей кислород добавки в среду вносили 100 мкл свежеприготовленного  $\sim 0.01\text{M}$  раствора  $\text{Na}_2\text{SO}_3$ , действительную концентрацию которого уточняли путем трехкратного титрования одновременно с началом регистрации поглощения кислорода. Количество поглощенного кислорода ( $N$ ) определяли по точке минимума регистрационной кривой, а действительное количество поглощенного кислорода ( $N_T$ ) рассчитывали по результатам титрования поглотителя [6].

Для проверки рабочей гипотезы были проведены четыре серии замеров ( $n=10$ ) поглощения кислорода раствором  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  в условных инкубационных средах с различным содержанием  $\text{KCl}$ . Результаты представлены в табл. 1. Для более полной характеристики результатов были рассчитаны относительные погрешности ( $A$ ), коэффициенты вариации ( $C_V$ ) и среднее время достижения точки минимума ( $t_{\min}$ ) для каждой из использованных сред. Они представлены в табл. 2.

Т а б л и ц а 1

Поглощение кислорода  $0.01\text{M}$  раствором  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  в 3.5 мл условных инкубационных средах с различным содержанием  $\text{KCl}$  ( $n=10$ )

[KCl] (г/л)	$N_T$ (моль· $10^{-7}$ )	$\pm m$	$N$ (моль· $10^{-7}$ )	$\pm m$
120	4.76	0.05	3.03	0.03
60	4.70	0.03	4.04	0.02
30	4.64	0.07	4.40	0.05
0	4.66	0.02	3.72	0.07

Таблица 2

Показатели работоспособности закрытого кислородного датчика в инкубационных средах с различным содержанием КСl

[КСl] (г/л)	$t_{\min}$ (мин)	A (%)	$C_v$ (%)
120	6.01	-36.3	3.2
60	2.38	-14.2	1.97
30	6.46	-4.1	3.8
0	35.20	-20.1	5.5

Согласно результатам титрования поглотителя ( $N_T$ ), во всех случаях потреблялось приблизительно одинаковое количество кислорода  $\sim 4,7$  моль  $\cdot 10^{-7}$ . Тем не менее результаты прямого измерения ( $N$ ), полученные с использованием кислородного датчика, оказались занижены в среднем почти на 20%, что прежде всего объясняется компенсацией части поглощенного кислорода за счет его диффузии из атмосферы [6] через зазор между стенками измерительной ячейки и плавающей крышкой, размещенной на поверхности среды инкубации.

Так как датчик практически не оказывает влияния на действительный ход окисления  $Na_2SO_3$  растворенным в среде кислородом, в разбавленных солевых растворах, где исходная концентрация кислорода выше, поглощение идет с более высокой скоростью и остаточное парциальное давление кислорода также оказывается более высоким. Как следствие, градиент парциальных давлений между средой и атмосферным воздухом в этом случае достигает меньших значений и существует сравнительно недолго. По этой причине относительная погрешность измерения ( $A$ ), в основном обуславливаемая диффузией кислорода из атмосферы, по мере снижения концентрации КСl в среде инкубации должна уменьшаться. Тем не менее данная тенденция прослеживалась лишь в диапазоне концентраций КСl в среде инкубации от 120 до 30 г/л, а для дистиллированной воды менялась на противоположную, как показано на рис. 1.

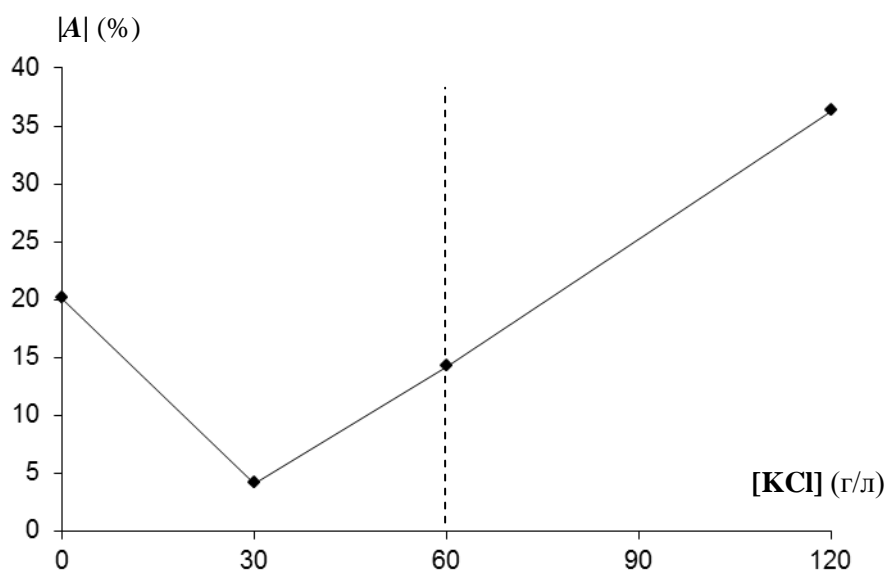


Рис. 1. Зависимость модуля относительной погрешности измерения ( $A$ ) от концентрации KCl в среде инкубации (пунктиром обозначена среда, изомотическая электролиту кислородного датчика)

Причина наблюдаемого отклонения заключалась в том, что при использовании воды в качестве условной среды инкубации время достижения точки минимума на регистрационной кривой увеличивалось почти в 15 раз по сравнению с изомотической средой и достигало 35 мин, что свидетельствует о столь резком снижении чувствительности датчика, что фактически его можно рассматривать как отказ в работе (рис. 2). В результате датчик не успевал корректно отслеживать динамику парциального давления кислорода в инкубационной среде и его показания достигали минимального значения, когда поглощенный кислород уже был в значительной степени компенсирован за счет притока из атмосферы. Наблюдаемое в этом случае завышение минимума и явилось причиной роста погрешности. Столь существенное увеличение времени отклика можно объяснить только утолщением диффузионного слоя индикаторного электрода за счет интенсивного притока воды из среды инкубации в приэлектродный слой электролита.

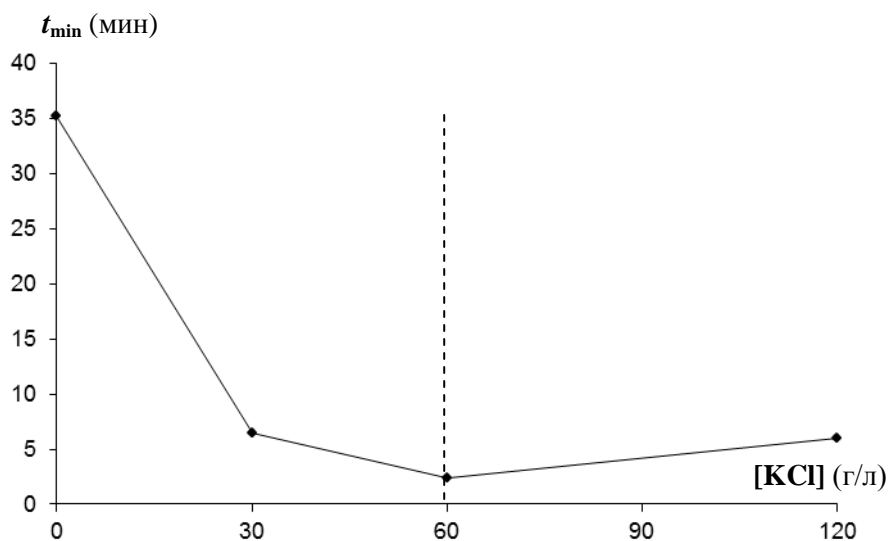


Рис. 2. Зависимость времени достижения точки минимума ( $A$ ) на регистрационной кривой от концентрации KCl в среде инкубации (пунктиром обозначена среда, изоосмотическая электролиту кислородного датчика)

Как следует из рис. 2, возрастание времени отклика наблюдалось и при концентрации KCl в среде 30 г/л. В этом случае оно оказалось почти в три раза выше по сравнению с изоосмотической средой, что также можно объяснить модификацией приэлектродного слоя электролита за счет притока воды сквозь мембрану.

Менее очевидна причина увеличения времени отклика датчика в гиперосмотической среде с концентрацией KCl 120 г/л, где диффузионный слой за счет оттока воды в среду должен утоньшаться. В этом случае, на наш взгляд, диффузия кислорода к индикаторному электроду замедлялась за счет снижения растворимости кислорода в приэлектродном слое электролита по причине повышения в нем концентрации KCl, связанного с оттоком воды в среду.

Таким образом, выдерживание закрытого кислородного датчика в течение суток в растворах, осмотическое давление которых отличается от осмотического давления электролита датчика, существенно влияет на его технические характеристики и заметно искажает результаты измерения, а в случае дистиллированной воды – практически выводит датчик из строя. При более коротких сроках контакта датчика со средами, отличающимися от электролита осмотическим давлением, отклонения будут менее выраженными, однако они вполне заметны, о чем свидетельствует распределение

коэффициента вариации результатов для инкубационных сред с различным содержанием солей (рис. 3).

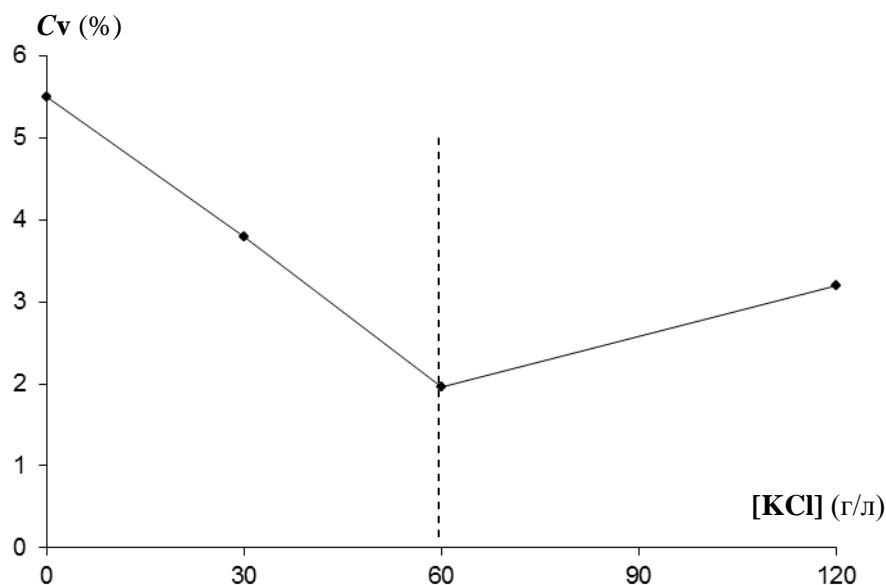


Рис. 3. Зависимость коэффициента вариации ( $C_v$ ) измеренных значений от концентрации KCl в среде инкубации (пунктиром обозначена среда, изомотическая электролиту кислородного датчика)

Как видно из рис. 3, коэффициент вариации отчетливо растет при любом отклонении содержания KCl в среде инкубации от 60 г/л, что по-видимому связано с невозможностью проводить замеры через совершенно одинаковые промежутки времени. В результате как время контакта датчика со средой, так и степень воздействия среды на работу датчика от замера к замеру варьируют. Разница временных промежутков колеблется в пределах 5–10 мин, в течение которых происходит стабилизация начальных показаний кислородного датчика, тем не менее этого оказывается вполне достаточно для внесения заметных отклонений в работу измерительного оборудования. Единственный случай, когда продолжительность контакта со средой не имеет значения – это использование изомотической среды, не вызывающей никаких осмотических эффектов на мембране кислородного датчика. Именно ей соответствует наиболее низкий коэффициент вариации измеренных значений.

Использовании как гипо-, так и гиперосмотических инкубационных сред вызывает заметные отклонения в работе закрытого кислородного датчика. При существенной разности осмотических давлений для их проявления достаточно нескольких минут контакта

датчика со средой инкубации. Длительное (в течение суток) пребывание датчика в дистиллированной воде ведет к резкому и необратимому ухудшению его технических характеристик.

#### Список литературы

1. Аманназаров А. Методы и приборы для определения кислорода. М.: Химия, 1988. 143 с.
2. Альперин В.З., Конник Э.И., Кузьмин А.А. Современные электрохимические методы и аппаратура для анализа газов в жидкостях и газовых смесях. М.: Химия, 1975. 183 с.
3. Коваленко Е.А., Березовский В.А., Эпштейн И.М. Полярографическое определение кислорода в организме. М.: Медицина, 1975. 232 с.
4. Кузьмин А.А., Патетюк В.М. Современные методы и аппаратура автоматического контроля и регулирования кислородного режима нефтесодержащих сточных вод в аэрационных очистных сооружениях. М.: Изд-во ЦНИИТЭ нефтехимии, 1970. 78 с.
5. Руководство по изучению биологического окисления полярографическим методом / под ред. Г.М. Франка. М.: Наука, 1973. 220 с.
6. Markfort C.D., Hondso M. // J. of environmental quality. 2009. V. 38. №. 4. P. 1766–1774.
7. Миняев М.В. // Актуальные проблемы биохимии и биотехнологии: сб. науч. тр. Тверь: ТвГУ, 2001. С. 154–161.
8. Miniaev M.V., Belyakova M.B., Kostiuk N.V., Leshchenko D.V. // SAGE-Hindawi Access to Research - International Journal of Electrochemistry. V. 2011. Article ID 376750. 5 pages doi:10.4061/2011/376750
9. Миняев М.В., Ворончихина Л.И. // Авиакосм. и экол. медицина. 2007. Т. 41, № 2. С. 64–67.

#### WORKING FEATURES OF THE MEMBRANE OXYGEN SENSOR IN INCUBATION MEDIA WITH DIFFERENT CONTENTS OF SALTS

**M.V. Miniaev, M.B. Belyakova, N.V. Kostiuk,  
D.V. Leschenko, T.A. Fedotova**

Tver State Medical University  
*Research Centre*  
*Department of Biochemistry*

The effect of incubation media with different osmotic pressure on the work of the closed oxygen sensor, containing a solution of KCl (60 g / l) as an electrolyte, was studied. It was found that at usage of media, which osmotic pressure exceeds as well as not reaching the osmotic pressure of the sensor electrolyte, it was observed an increase in response time, relative error of measurement and



coefficient of variation of measured values. The most significant deviations were observed during measurements in distilled water.

**Key words:** *oxygen sensor, Clark electrode, the diffusion layer, osmotic pressure of, oxygen consumption, error of measurement.*

*об авторах:*

МИНЯЕВ Михаил Влалимирович – кандидат биологических наук, научный сотрудник, ГБОУ ВПО Тверской государственной медицинский университет Минздрава России, e-mail: [mmb\\_77@mail.ru](mailto:mmb_77@mail.ru)

БЕЛЯКОВА Майя Борисовна – кандидат биологических наук, старший преподаватель, ГБОУ ВПО Тверской государственной медицинский университет Минздрава России, e-mail: [MayaBe@yandex.ru](mailto:MayaBe@yandex.ru)

КОСТЮК Наталья Валериевна – кандидат биологических наук, старший преподаватель, ГБОУ ВПО Тверской государственной медицинский университет Минздрава России, [p001637@mail.ru](mailto:p001637@mail.ru)

ЛЕЩЕНКО Джулианна Викторовна – кандидат биологических наук, доцент, ГБОУ ВПО Тверской государственной медицинский университет Минздрава России, e-mail: [Dvleshchenko@mail.ru](mailto:Dvleshchenko@mail.ru)

ФЕДОТОВА Татьяна Александровна – кандидат медицинских наук, доцент, зам директора научно-исследовательского центра, ГБОУ ВПО Тверской ГМУ Минздрава России, [tafed@mail.ru](mailto:tafed@mail.ru)