



## Doctoral Thesis

# Flüssigmembranen für die potentiometrische Bestimmung der Aktivität bzw. Konzentration von Wasserstoff-, Natrium-, Kalium- und Calcium-Ionen in Serum und Blut

**Author(s):**

Anker, Peter

**Publication Date:**

1984

**Permanent Link:**

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-000333054> →

**Rights / License:**

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

Diss. ETH Nr. 7526

Flüssigmembranen für die potentiometrische Bestimmung der  
Aktivität bzw. Konzentration von Wasserstoff-, Natrium-,  
Kalium- und Calcium-Ionen in Serum und Blut

---

A B H A N D L U N G

zur Erlangung des Titels eines

DOKTORS DER NATURWISSENSCHAFTEN

der

EIDGENÖSSISCHEN TECHNISCHEN HOCHSCHULE ZUERICH

vorgelegt von

PETER ANKER

dipl. Chem. ETH

geboren am 6. Mai 1955

von Ins (BE)

Angenommen auf Antrag von:

Prof. Dr. W. Simon, Referent

Prof. Dr. D. Vonderschmitt, Korreferent

1984

## 12. ZUSAMMENFASSUNG

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden Messverfahren zur potentiometrischen Bestimmung der Konzentration von freiem  $\text{Li}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  und  $\text{Ca}^{2+}$ , der Konzentration des totalen Calciums, sowie der  $\text{H}^+$ -Aktivität im Blut entwickelt. Dabei kamen Elektroden mit optimierten Flüssigmembranen beruhend auf ionenselektiven neutralen Carriern zum Einsatz. Ein Teil der Messungen wurde mittels eines im Laufe dieser Arbeit verbesserten Durchflusselektrodensystems durchgeführt.

Verschiedene grundlegende Probleme der Anwendung von ionenselektiven Elektrodenmessketten im Blut, wie z. B. der Einfluss von Proteinen, Pufferlösungen sowie Eichlösungen, oder Auswirkungen von Flüssigkeits- und Strömungspotentialen wurden diskutiert. Bedingt durch Proteine und Lipide sind so z. B. auf Grund unterschiedlicher Bezugsvolumina etwa um 6.8 % höhere Konzentrationswerte bei direkt potentiometrischen im Vergleich zu atomspektrometrischen Bestimmungen zu erwarten.

Die Einsetzbarkeit von zwei synthetischen, nicht makrocyclischen Ionophoren (ETH 157 und ETH 227) für  $\text{Na}^+$ -Bestimmungen mittels PVC-Flüssigmembranelektroden im Blut wurde untersucht. Optimierte Membranen beruhend auf dem  $\text{Na}^+$ -Liganden ETH 227 und dem PVC-Weichmacher Bis(1-butylpentyl)adipat erfüllten denn auch die gestellten Anforderungen. Die in 40 Serumproben ermittelten  $\text{Na}^+$ -Konzentrationen korrelierten erwartungsgemäss mit den flammenphotometrisch erhaltenen Werten. Die direkt potentiometrisch bestimmten Konzentrationen waren durchschnittlich um 5.4 % höher als die Vergleichswerte.

Für die  $\text{K}^+$ -Bestimmungen wurden herkömmliche PVC-Flüssigmembranen sowie Silikongummimembranen mit dem Antibiotikum Valinomycin als ionenselektiver Komponente eingesetzt. Die Brauchbarkeit beider Membranen für  $\text{K}^+$ -Konzentrationsbestimmungen in Blutserum wurde mittels flammenphotometrischer Vergleichsmessungen aufgezeigt. Im Gegensatz dazu kann jedoch in Urin wegen der geringeren Anioneninterferenz nur die Silikongummi-

membran eingesetzt werden.

Eine  $\text{Ca}^{2+}$ -selektive Flüssigmembran beruhend auf dem synthetischen, neutralen Carrier ETH 1001 und dem Weichmacher Bis(2-äthylhexyl)sebacat wurde im Hinblick auf Messungen im angesäuerten Serum entwickelt. Durch Verdünnung von Serumproben mit Hilfe eines Acetatpuffers (pH 3.50) wurde das gebundene Calcium freigesetzt und die Konzentration des totalen Calciums potentiometrisch erfasst. Diese Werte korrelierten nahezu perfekt mit atomspektrometrisch erhaltenen Konzentrationswerten.

Zwei auf dem Liganden ETH 1001 und dem Weichmacher Bis(2-äthylhexyl)sebacat bzw. o-Nitrophenyl-n-octyläther beruhende  $\text{Ca}^{2+}$ -selektive Membranen wurden zur kontinuierlichen Konzentrationsbestimmung des ionisierten  $\text{Ca}^{2+}$  im extrakorporalen Blutkreislauf von wachen Hunden eingesetzt. Zur Anwendung kam ein im Rahmen dieser Arbeit ausgebautes Durchflusselektrodensystem, welches sich im Hinblick auf pharmakokinetische Untersuchungen als ideal erwies.

Optimierte  $\text{H}^{+}$ -selektive Flüssigmembranen mit Tri-n-dodecylamin als ionenselektive Komponente wurden in einem Blutgasanalysator (Gas Check AVL 939) auf ihre klinisch Relevanz geprüft. Die mittels einer Flüssigmembranelektrode in tonometrierten, heparinisierten Blutproben ermittelten pH-Werte waren mit den Werten, welche mit Hilfe einer bereits im Analysator eingebauten Glaselektrode bestimmt wurden, in guter Uebereinstimmung.

Verschiedene  $\text{Li}^{+}$ -selektive Flüssigmembranelektroden beruhend auf den Carriern ETH 149 bzw. ETH 1644 wurden im Hinblick auf die Ueberwachung von manisch-depressiven, unter Lithiumtherapie stehenden Patienten charakterisiert. Keine der untersuchten Membranelektroden erfüllte jedoch die gestellten Anforderungen.

Die  $\text{Na}^+$ -,  $\text{K}^+$ - und  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentrationen sowie die  $\text{H}^+$ -Aktivität wurden mittels der vier neuen, im Rahmen der vorliegenden Arbeit entwickelten ionenselektiven Flüssigmembrandurchflusselektroden im extrakorporalen Blutkreislauf eines wachen Kaninchens simultan während mehrerer Stunden verfolgt. Dabei kam in allen vier Membranen der hoch lipophile Tetraester ETH 469 als PVC-Weichmacher zum Einsatz. Durch verschiedene intravenöse Salzzugaben wurde das Verhalten der einzelnen Elektroden überprüft.

Die ausserordentlich strengen Anforderungen an potentiometrische Messungen im Hinblick auf klinisch relevante Messergebnisse, wie sie im Rahmen dieser Arbeit diskutiert wurden, werden für  $\text{H}^+$ -,  $\text{Na}^+$ -,  $\text{K}^+$ - und  $\text{Ca}^{2+}$ -selektive Flüssigmembranelektroden bei Benutzung von geeigneten Messeinrichtungen durchwegs erfüllt.

### 13. SUMMARY

LIQUID MEMBRANES FOR THE POTENTIOMETRIC DETERMINATION OF THE CONCENTRATION AND THE ACTIVITY OF THE HYDROGEN, SODIUM, POTASSIUM AND CALCIUM IONS IN SERUM AND BLOOD

Potentiometric procedures to determine the concentration of  $\text{Li}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  and  $\text{Ca}^{2+}$ , as well as total calcium and the activity of  $\text{H}^+$  in blood have been developed and are presented in this work. The sensors used are all based on neutral carriers incorporated in optimized liquid membranes. Some of the measurements have been done with an improved flow-through electrode system.

Several fundamental problems in the application of ion-selective electrode systems in blood are discussed, e. g. the influence of proteins, buffer and calibration solutions, the effects of liquid junction and streaming potentials. Due to the volume of proteins and lipids in serum, values obtained by direct potentiometry are expected to be 6.8 % larger than those measured by atomic spectrometry.

Two synthetic ionophores (ETH 157 and ETH 227) have been investigated in PVC liquid membrane electrodes for the determination of  $\text{Na}^+$  in serum. The carrier ETH 227, together with bis(1-butylpentyl) adipate as the plasticizer, has been found to fulfill the imposed requirements. The  $\text{Na}^+$  concentrations of 40 serum samples determined by direct potentiometry correlated as expected with the values obtained by flame photometry. The values determined by direct potentiometry were on average 5.4 % greater.

Flame photometric measurements have shown that, with the antibiotic valinomycin as the ionophore, both PVC based liquid membranes and silicone rubber membranes are suitable for  $\text{K}^+$  determination in blood. For measurements in urine, only a silicone rubber membrane is suitable because of its smaller anion interference.

A  $\text{Ca}^{2+}$  selective liquid membrane based on the synthetic neutral carrier ETH 1001 with bis(2-ethylhexyl) sebacate as plasticizer has been shown to be suitable for measurements in acidified serum. The dilution of serum with an acetate buffer (pH 3.50) releases complexed calcium, and therefore the total calcium concentration could be determined potentiometrically. These measured values agreed perfectly with those obtained by atomic spectrometry.

Membranes containing the ionophore ETH 1001 with bis(2-ethylhexyl) sebacate or o-nitrophenyl-n-octyl ether as plasticizer have been used for continuous monitoring of ionized  $\text{Ca}^{2+}$  in an extracorporeal blood bypass of a conscious dog. The flow-through electrode system developed in our laboratories turned out to be ideally suited for pharmaco-kinetic investigations.

Optimized  $\text{H}^+$  selective liquid membranes based on tri-n-dodecylamine have been tested in a blood gas analyzer (Gas Check AVL 939) for their clinical suitability. The pH values of tonometered heparinized blood samples obtained with a liquid membrane electrode were in good agreement with those measured with the glass electrode of the analyzer.

Several  $\text{Li}^+$  selective liquid membrane electrodes based on ETH 149 or ETH 1644 have been evaluated for an application in lithium therapy. None meets the required performance characteristics.

A simultaneous and continuous monitoring of  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  and  $\text{H}^+$  in an extracorporeal blood bypass of a rabbit has been performed with the developed flow-through liquid membrane electrodes. The newly synthesized highly lipophilic plasticizer ETH 469 has been employed in all four membranes. The responses of the electrodes were tested using intravenous injections of electrolyte solutions.

The  $\text{H}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  and  $\text{Ca}^{2+}$  selective liquid membrane electrodes fulfilled the extremely high demands required of clinical potentiometric measurements.

## 14. RESUME

MEMBRANES LIQUIDES POUR LA DETERMINATION POTENTIOMETRIQUE DE LA CONCENTRATION ET DE L'ACTIVITE DES IONS HYDROGENE, SODIUM, POTASSIUM ET CALCIUM DANS LE SERUM ET LE SANG

Le présent travail met en évidence le développement de méthodes potentiométriques destinées à la détermination de la concentration des ions libres  $\text{Li}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  et  $\text{Ca}^{2+}$ , du calcium total ainsi que de l'activité ionique de  $\text{H}^+$  dans le sang. Des membranes liquides basées sur des porteurs neutres à sélectivité ionique furent optimisées et mises en application dans des électrodes. Une partie des mesures fut effectuée à l'aide d'un système d'électrodes à flux continu.

Divers problèmes fondamentaux relatifs à l'application de chaînes d'électrodes à sélectivité ionique furent examinés: l'influence des protéines ou de solutions tampons, les effets de potentiels de liquides et de potentiels de flux. La présence de protéines et de lipides appelant différents volumes de référence, des résultats supérieures de environ 6.8 % sont ainsi à prévoir pour des déterminations potentiométriques comparativement aux mesures par absorption atomique.

L'application de deux ionophores synthétiques non macrocycliques (ETH 157 et ETH 227) pour la détermination de  $\text{Na}^+$  dans le sang au moyen d'électrodes avec membrane liquide en CPV fut étudiée. Des membranes optimisées, basées sur le ligand ETH 227 et sur le plastifiant adipate de bis(1-butyl-pentyl) répondèrent aux exigences imposées. Les concentrations de  $\text{Na}^+$  déterminées dans 40 échantillons de sérum donnèrent avec les valeurs obtenues par photométrie de flamme une corrélation en accord avec le modèle présenté. Les concentrations déterminées par potentiométrie directe étaient en moyenne 5.4 % supérieures aux valeurs de comparaison.



Pour les déterminations de  $K^+$ , des membranes liquides en CPV et des membranes en silicone plastifié, avec l'antibiotique valinomycine comme composant à sélectivité ionique, furent utilisées. L'applicabilité des deux membranes pour la détermination de concentrations des ions  $K^+$  dans le sérum sanguin fut démontrée à l'aide de mesures de comparaison par photométrie de flamme. Dans l'urine, seule une membrane en silicone plastifié put toutefois être utilisée grâce à l'interférence anionique réduite.

Une membrane liquide sélective pour  $Ca^{2+}$  basée sur le porteur neutre synthétique ETH 1001 et le plastifiant sébaçate de bis(2-éthylhexyl) fut développée en vue de la mesure dans le sérum acidifié. Par la dilution d'échantillons de sérum à l'aide d'un tampon d'acétate (pH 3.50) le calcium lié fut libéré et la concentration du calcium total put être déterminé par potentiométrie. Ces valeurs étaient en corrélation presque parfaite avec les concentrations obtenues par absorption atomique.

Deux membranes sélectives pour  $Ca^{2+}$  basées sur le ionophore ETH 1001 et le plastifiant o-nitrophényl-n-octyléther, respectivement sébaçate de bis(2-éthylhexyl) furent utilisées pour la détermination continue de la concentration du  $Ca^{2+}$  ionisé dans la circulation sanguine extracorporelle de chiens non anesthésiés. Un système d'électrodes pour la mesure continue fut développé, lequel se montra particulièrement approprié pour des études pharmacocinétiques.

Des membranes liquides sélectives pour  $H^+$  avec tri-n-dodécylamine comme composant sélectif furent incorporées dans un analyseur de gaz sanguins (Gas Check AVL 939) et examinées dans l'optique des exigences cliniques. Les valeurs de pH déterminées dans des échantillons tonométrés de sang héparinisé par l'intermédiaire d'une électrode à membrane liquide correspondaient aux valeurs obtenues avec l'électrode à membrane de verre de l'analyseur.

Différentes électrodes à membrane liquide sélective pour  $\text{Li}^+$ , basées sur le porteur ETH 149 ou ETH 1644, furent évaluées en vue de la surveillance de patients maniaco-dépressifs soumis à une thérapie de lithium. Aucune des électrodes étudiées ne satisfaisait toutefois les exigences demandées.

La concentration de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  et  $\text{Ca}^{2+}$ , ainsi que l'activité de  $\text{H}^+$  furent déterminées simultanément et de manière continue durant plusieurs heures dans la circulation sanguine extracorporelle d'un lapin, à l'aide des quatre nouvelles électrodes à membrane liquide développées dans le cadre du présent travail. Le tétraester ETH 469 de lipophilie très élevée fut appliqué dans les quatre membranes comme plastifiant du CPV. Le comportement de chaque électrode fut étudié par l'intermédiaire d'injections intraveineuses de solutions aqueuses de divers sels.

Les exigences exceptionnellement élevées imposées aux mesures potentiométriques en vue de déterminations cliniques représentatives sont largement satisfaites par les électrodes à membrane liquide sélective pour  $\text{H}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  et  $\text{Ca}^{2+}$  en application dans des systèmes de mesure appropriés.