

Analyzátory ABR a krevních plynů

2022/2023

Ing. Martina Podborská, Ph.D.

Počátky ABR analyzátorů

- původní přístroje ABR analyzátorů využívaly Astrupovu ekvilibrační metodu, kdy se stanovovalo pouze pH a aktuální hodnota $p\text{CO}_2$
- vývojem selektivních elektrod k měření $p\text{CO}_2$ a $p\text{O}_2$ začala éra analyzátorů k přímému měření acidobazických parametrů a krevních plynů
- tři zmíněné elektrody pH, $p\text{CO}_2$ a $p\text{O}_2$ umístěné v termostatovém prostoru (37°C) zasahují svými měrnými konci do skleněné kapiláry, do které se nasává měřený vzorek nesrážlivé krve
- po ustálení měřících procesů na elektrodách se naměřené veličiny zaznamenají a kapilára se odsátím vyprázdní, opakovaně se promyje promývacím roztokem a připraví se k nasátí a měření dalšího vzorku krve
- vedle přímoměřených parametrů (pH, $p\text{CO}_2$, $p\text{O}_2$) analyzátory dopočítávají další hodnoty: bikarbonáty (NaHCO_3), deficit bazí („base deficit“, BD), nadbytek bazí („base exces“, BE) a saturaci hemoglobinu kyslíkem
- novější analyzátory umožňují za použití ionotově-selektivních elod stanovit Na, K, Cl, Ca, Mg, v případě enzymových elod laktát a glukózu a spektrofotometricky frakce hemoglobinu (oxyhemoglobin, karbonylhemoglobin, methemoglobin)

Potenciometrie

- měření **rozdílu potenciálu** (napětí) mezi **dvěma elektrodami**, ponořenými do **analyzovaného roztoku**
- jedna z elektrod je **referenční** (srovnávací) a má konstantní **potenciál, nezávislý na složení vzorku**
- potenciál druhé, **indikační (měrné)** elektrody závisí na aktivitě či **koncentraci měřené látky** v roztoku
- **rozdíl potenciálu** mezi oběma elektrodami se **měří milivoltmetrem** s vysokým vstupním odporem

Ampérometrie

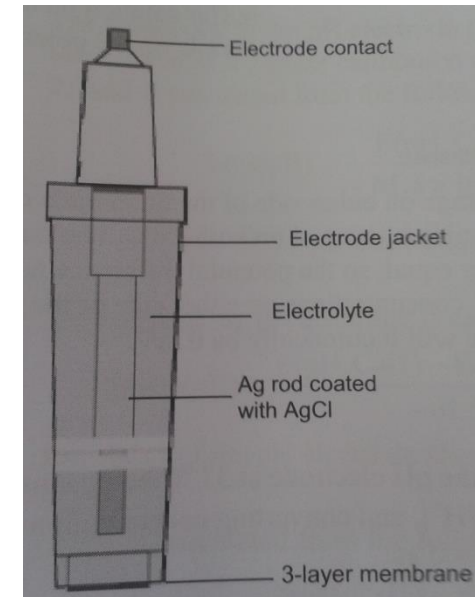
- polarografie prováděná na tuhých elektrodách
- při měření O_2 se používá pO_2 Clarckova kyslíková elektroda
 - skládá se z polarizovatelné platinové katody a stříbrné anody
 - na elektrody je vloženo konstantní stejnosměrné napětí -
> kyslík se redukuje na katodě
 - protékající proud se měří galvanometrem

Referenční elektrody

- **Vodíková** – referenční – Pt potažená platinovou černí nasycenou vodíkem – nulový potenciál – nepraktická
- **Kalomelová** – Hg potažená Hg_2Cl_2 v nasyceném roztoku KCl – stálý potenciál
- **Argentchloridová** – Ag drátek potažený AgCl v HCl nebo alk. chloridu – stálý potenciál

Referenční elektroda - ABL800 Flex

- **Argentochloridová**
- tvořena skleněnou trubičkou, ve které je umístěn stříbrný drátek potažený AgCl
- drátek ponořen do roztoku 4M formiátu sodného (HCOONa) s pH regulovaným na 5,5 pomocí HCl -> roztok udržuje kontakt mezi potaženým drátkem a vzorkem
- dolní část elektrody tvoří třívrstvá membrána
- regulace koncentrace chloridů v roztoku pomocí chloridů v promývacím roztoku obtékajícím vnějšek membrány -> zabránění přechodu Cl přes membránu = stabilnější potenciál
- elektroda uzavřena v elektrodovém obalu (gumový prstenec mezi nimi slouží jako prevence odpařování či unikání elektrolytu)



Typ elektrody	Měřený iont
Skleněná elektroda	H^+ , Na^+
PVC membránová elektroda	K^+ , Na^+ , Cl^- , Li^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+}
pCO ₂	H^+ (změna pH vlivem CO ₂)

Skleněná elektroda

- Reakce skleněné membrány na pH poprvé demonstrována 1906
- Praktická aplikace 1930
- Nejčastěji používaná potenciometrická elektroda
- Pro měření pH v nejrůznějších matricích, vznik potenciálu na základě výměnných dějů
- Souvislost s konstrukcí elektrody na stanovení parciálního tlaku CO_2 (pCO_2 ; Severinghaus 1950) - umožněna výroba analyzátorů ABR
- Membrána skleněné elektrody složena ze směsi SiO_2 (Al_2O_3) s přídavkem oxidů alkalických zemin nebo alkalických kovů
- Různým složením použitého skla je možné dosáhnout různé selektivity pro měřené ionty (K^+ , Na^+ , Cl^- , Li^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+})
- Vnitřní náplň 0,1 M HCl nebo pufr o pH 4-8
- Svod tvoří argentchloridová nebo kalomelová elektroda

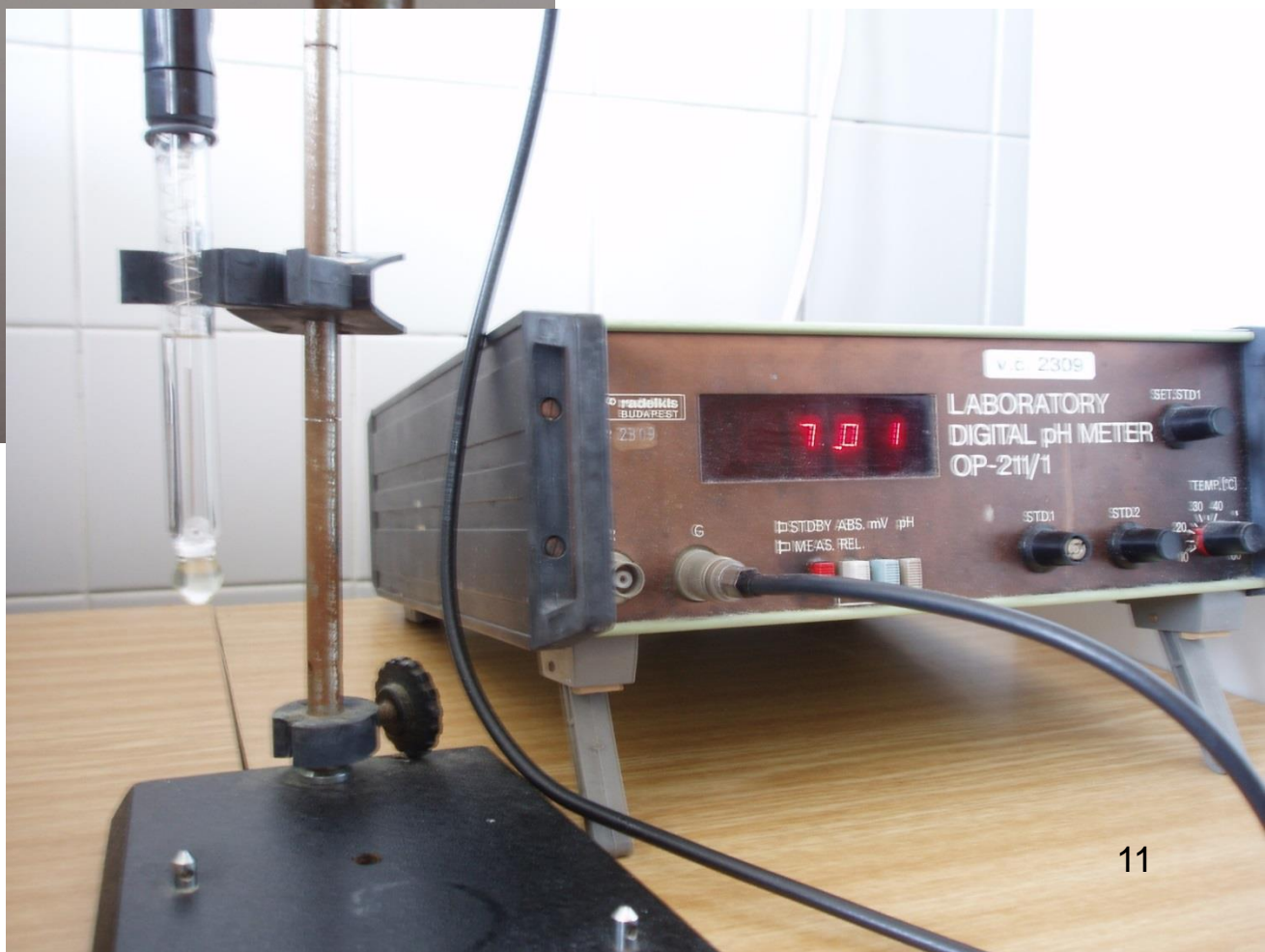
Typické složení selektivní skleněné hmoty pro H^+ :
22% Na_2O , 6% CaO , 72% SiO_2
(selektivita: $H^+ \gg \gg Na^+ > K^+$)

Mírnou změnou složení skleněné hmoty se změnila selektivita
ve prospěch Na^+ :
11% Na_2O , 18% Al_2O_3 , 71% SiO_2
(selektivita: $H^+ > Na^+ > K^+$)

Tím je umožněno použití skleněné elektrody k měření Na^+ při
pH běžném v krevních vzorcích.

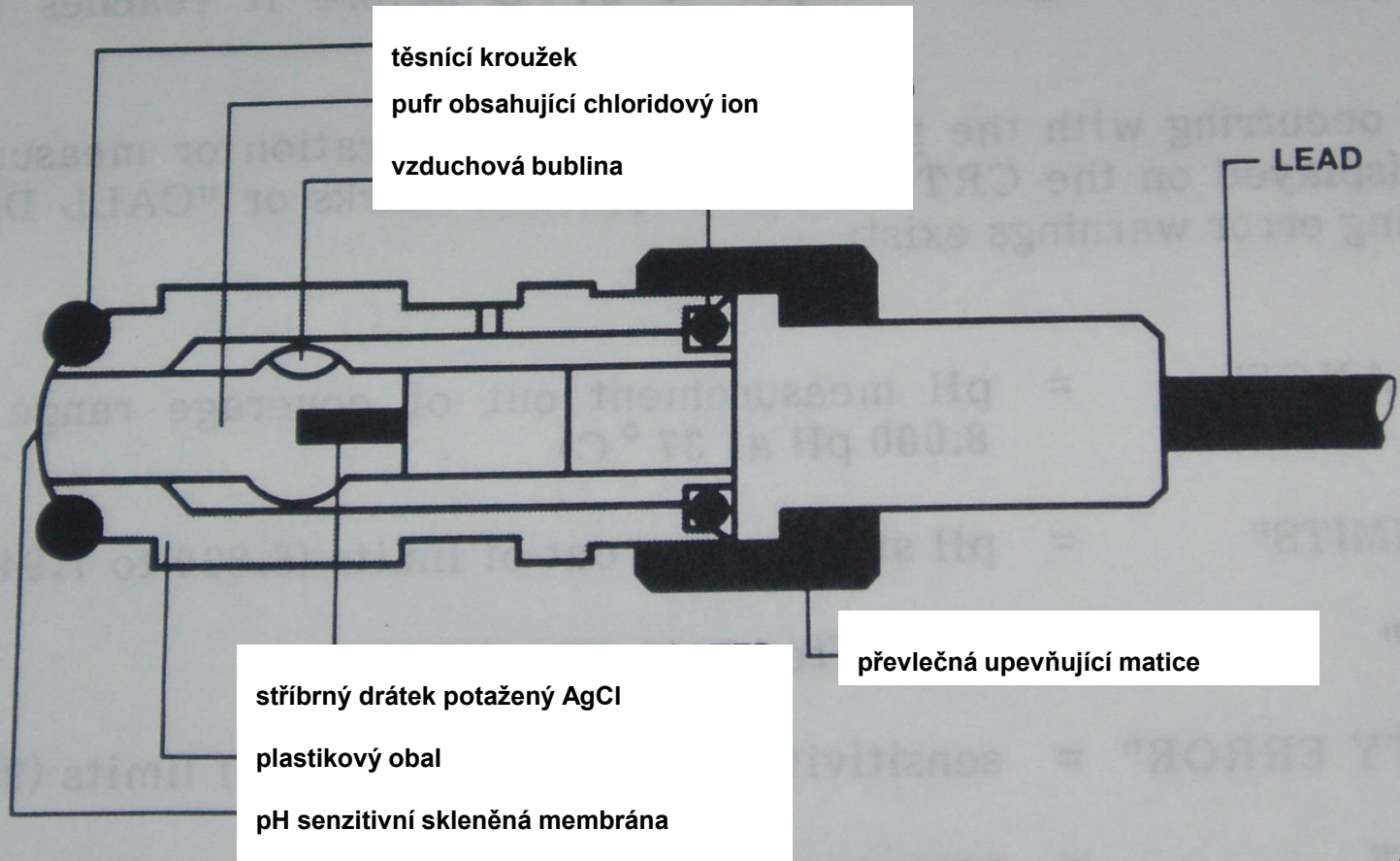
Měření pH

- Po ponoření do roztoku s obsahem vodíkových kationtů
-> difuze
- H^+ ionty difundují přes skleněnou stěnu elektrody do vnitřního roztoku až se vnitřní roztok nabije na takový potenciál, který začíná již odpuzovat další protony
- Dynamická rovnováha - potenciál skleněné elektrody dosáhne rovnovážné hodnoty - úměrná koncentraci vodíkových iontů v roztoku
- Závislost potenciálu skleněné elektrody na pH má přímkový charakter téměř v celém rozsahu hodnot pH.
- **pH-metry** – kalibrace sadou tlumivých roztoků o známé hodnotě pH



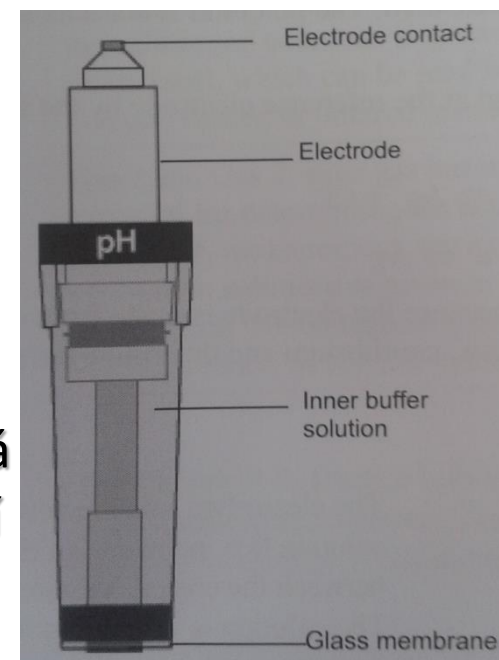
pH ELEKTRODA

(skleněná elektroda)



pH elektroda - ABL800 Flex

- skleněná elektroda
- náplň tvořena pufrem do kterého zasahuje Ag/AgCl drátek
- Ve špičce elektrody je vzduchová bublina -> kompenzace teplotních změn objemu vnitřního pufru
- Na obou stranách membrány dochází k výměně vodíkových iontů z roztoku za ionty kovu z povrchu skla
- Ustanovuje se potenciál. Velikost potenciálu je úměrná rozdílu pH vnitřního pufru a měřeného roztoku = závisí na aktivitě vodíkových iontů ve vzorku
- Nová elektroda musí být před instalací hydratována ponořením do destilované vody na 24 hod. (Na povrchu skleněné elektrody se musí vytvořit hydratovaná vrstva)



Elektroda pro měření pCO₂ (Severinghaus)

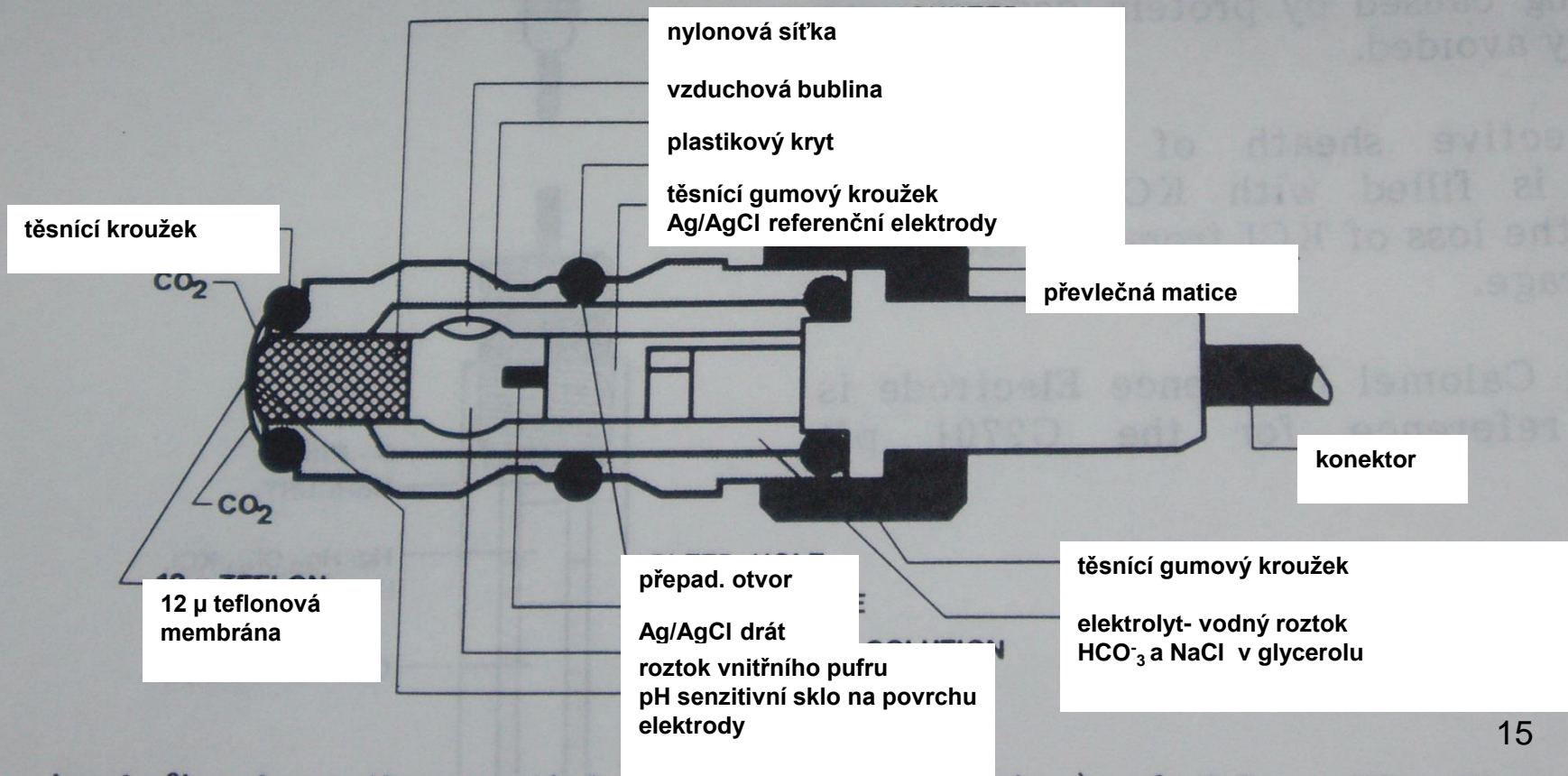
- Příklad aplikace použití skleněné elektrody
- Tenká membrána (20 μm) propustná pouze pro molekuly plynů a vodní páry (silikon, teflon), ionty neprocházejí
- Vrstva elektrolytu - slabý roztok bikarbonátu a chloridů (kolem 5 mmol/l)
- S elektrolytem je v kontaktu skleněná pH elektroda a referenční argentochloridová (Ag/AgCl) elektroda
- Oxid uhličitý obsažený v měřeném krevním vzorku difunduje přes teflonovou membránu a rozpouští se ve vnitřním elektrolytu elektrody
- Vznikající kyselina uhličitá disociuje a posunuje tak pH vnitřního elektrolytu elektrody na kyselou stranu



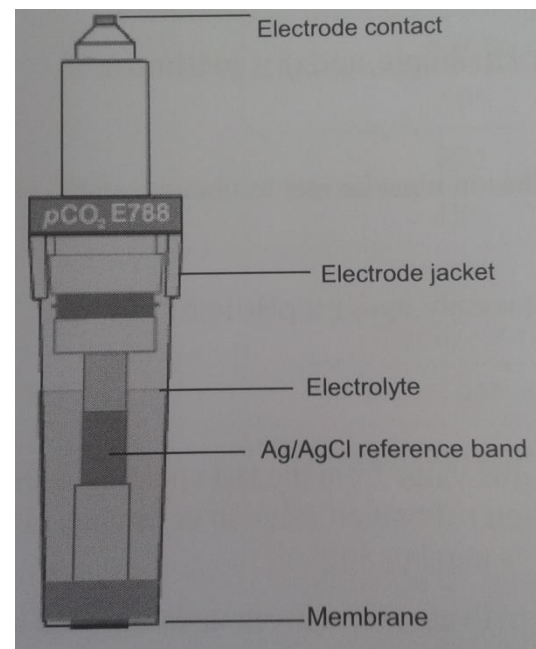
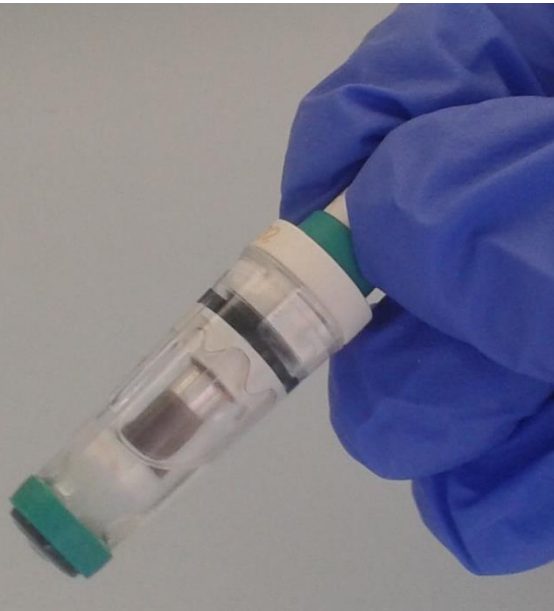
- $\Delta \log p\text{CO}_2$ (vzorek) $\sim \Delta \text{pH}$ (vnitřní elektrolyt elektrody)
- Vztah mezi pCO₂ vzorku a signálem generovaným elektrodou je logaritmický
- **Elektroda může být kalibrována buď přesnou směsí plynů nebo roztokem se stabilní hodnotou pCO₂**

pCO₂ ELEKTRODA (Severinghausova elektroda)

Pco₂ ELECTRODE (E8045)



Výměna membrány na pCO₂ elektrodě – ABL800 Flex



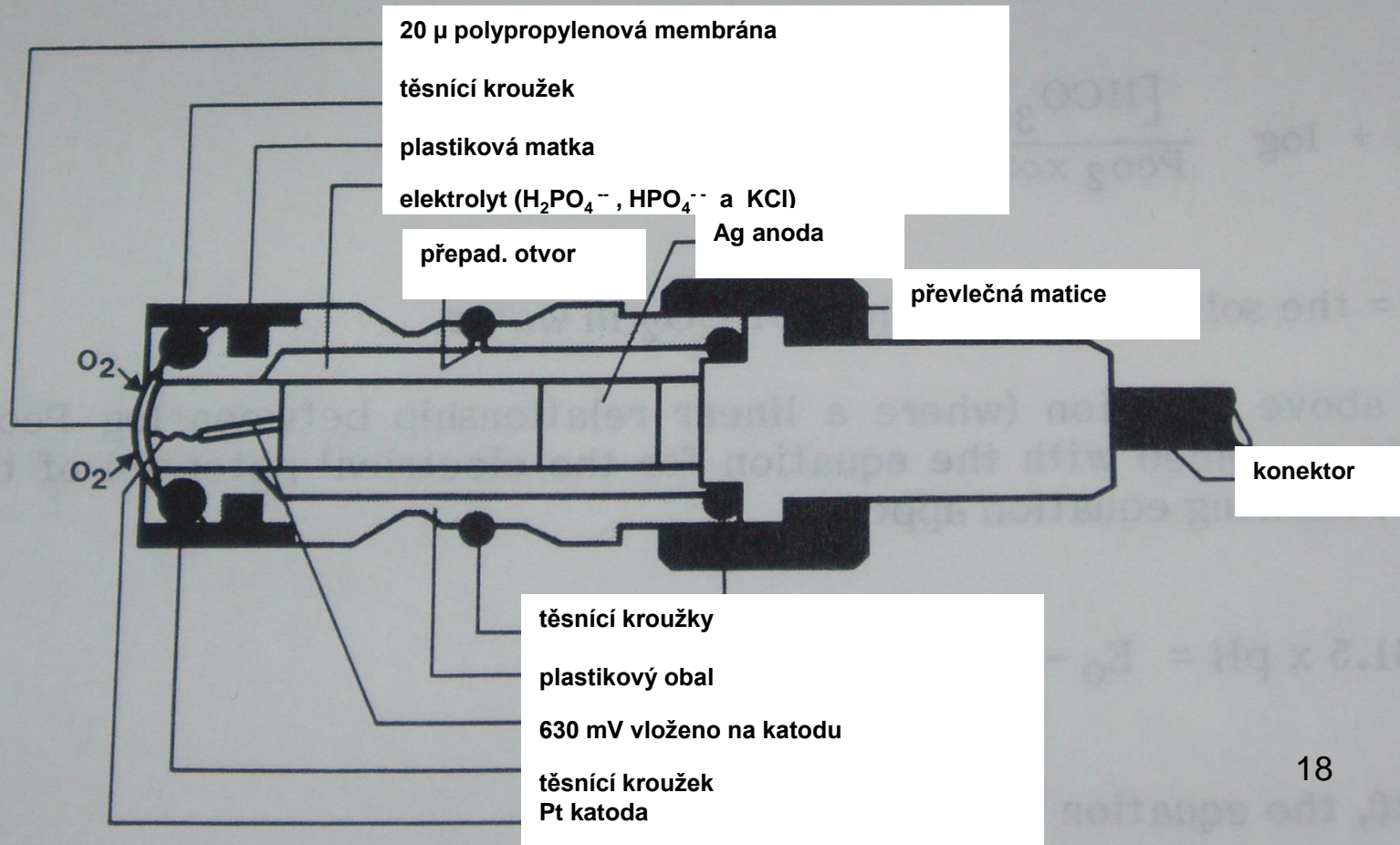
pO₂ ELEKTRODA

(Clarckova elektroda)

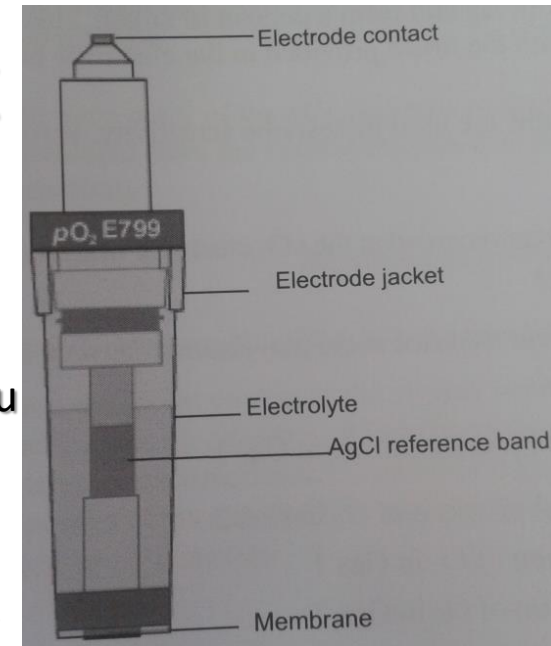
- pO₂ definován jako parciální tlak kyslíku v plynné fázi, který je v rovnováze s krví - měřen kyslíkovou elektrodou
- pO₂ elektroda je amperometrická (polarografická) elektroda.
- Skládá se z katody (platinový drátek zatavený ve skleněné tyčince) a anody (Ag/AgCl argentochloridová elektroda) ponořených do fosfátového pufru
- Plášť elektrody překryt membránou propouštějící molekuly kyslíku (polypropylenová membrána o tloušťce 20um)
- Platinová elektroda je elektrickým obvodem trvale polarizovaná konstantním napětím
- Polypropylenová membrána chrání platinovou elektrodu proti kontaminaci bílkovinami obsaženými v krevním vzorku
- Kyslík z krevního vzorku difunduje přes polypropylenovou membránu do elektrolytu uvnitř kyslíkové elektrody a je redukován na katodě ($O_2 + 4e^-$)
- Vzniká elektrický proud mezi anodou a katodou - je proporcionální parciálnímu tlaku kyslíku v krevním vzorku

pO₂ ELEKTRODA (Clarckova elektroda)

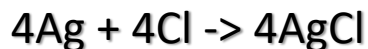
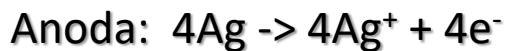
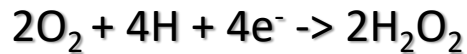
Po₂ ELECTRODE (E9001)



pO₂ elektroda – ABL800 Flex



- Clarkova ampérometrická elektroda
- složena z platinové katody (drátek o průměru 25 μm) a stříbrné anody (potažené AgCl)
- vložena do plastového obalu s fosfátovým pufrům a membránou propustnou pro kyslík
- polarizace konstantním napětím 630 mV
- polypropylenová membrána chrání Pt katodu před znečištěním bílkovinami ze vzorku, vnitřní strana je pokryta platinovou černí
- O₂ ze vzorku prochází přes membránu a je redukován na katodě -> vznik proudu mezi anodou a katodou



Peroxid vodíku se rozkládá v přítomnosti platinové černi: $2\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$

- proud úměrný parciálnímu tlaku pO₂ ve vzorku
- malý průměr Pt katody omezuje spotřebu O₂ a velikost proudu (pikoampéry)

Analyzátory ABR a krevních plynů

Základní měřené parametry

pH

pCO₂

pO₂

Dopočítané parametry

Bikarbonáty

Exces/deficit bazí

Saturace Hb kyslíkem



Parametry měřené na analyzátorech ABR

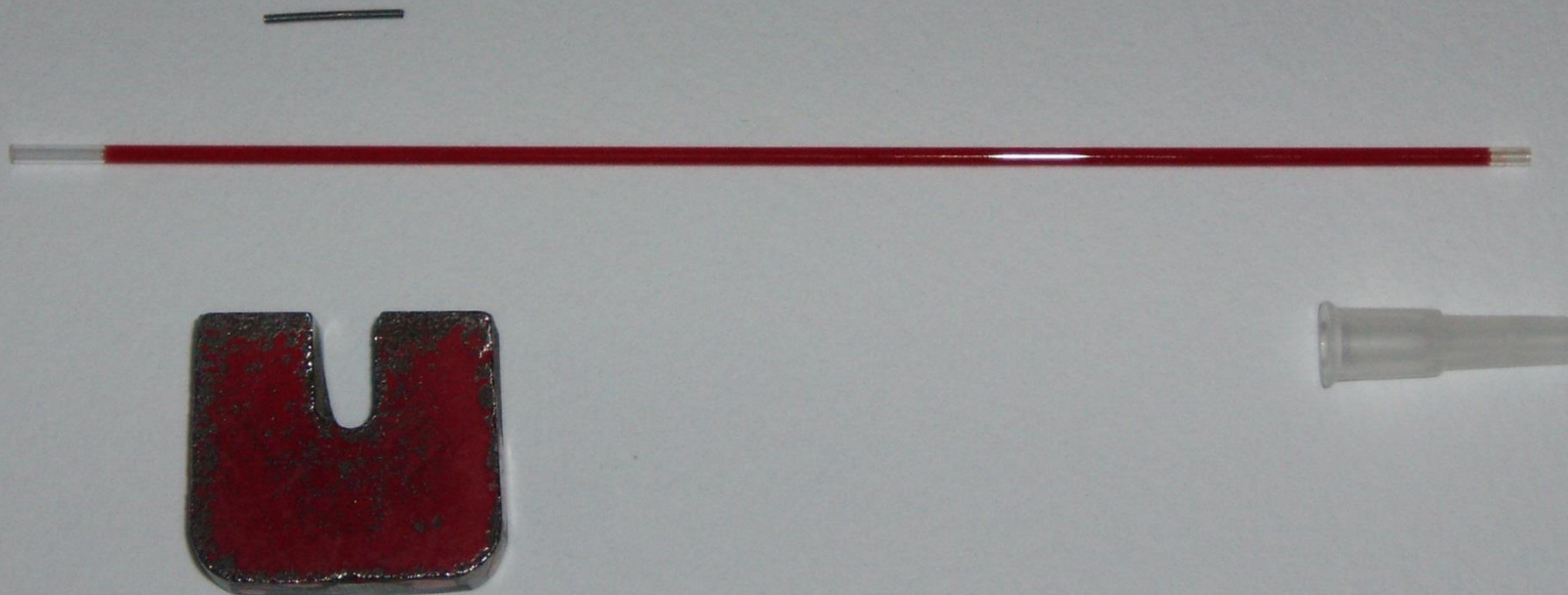
- pH
- $p\text{CO}_2$, $p\text{O}_2$
- $s\text{O}_2$
- $c\text{Ca}^{2+}$, $c\text{K}^+$, $c\text{Na}^+$, $c\text{Cl}^-$
- Hct
- $ct\text{Hb}$, $FO_2\text{Hb}$, $FCO\text{Hb}$, $F\text{MetHb}$, $F\text{HHb}$, $F\text{HbF}$
- $c\text{Glu}$, $c\text{Lac}$
- $ct\text{Bil}$, $c\text{Urea}$, $c\text{Crea}$

Preanalytické předpoklady

- anaerobní odběr
- artérie x véna x kapilára
- zkumavky s Li-Hep, (balancované pro Ca^{2+}), heparinizovaná kapilára
- zamezit přítomnosti bublin ve vzorcích (odstříknout), sraženinám (kapilára)
- ihned po odběru důkladně promíchat
- zpracování do 15 min po odběru
- před analýzou na analyzátoru krevních plynů promíchat na míchačce
- kapilára má uvnitř drátek sloužící k promíchání pomocí magnetu (+ nasadit adaptér/sítko)

Preanalytické předpoklady

- kapilára má uvnitř drátek sloužící k promíchání pomocí magnetu (+ nasadit adaptér/sítko)



Preanalytické předpoklady

- zkumavky s Li-Hep, (balancované pro Ca^{2+})



Radiometer - *safePICO*

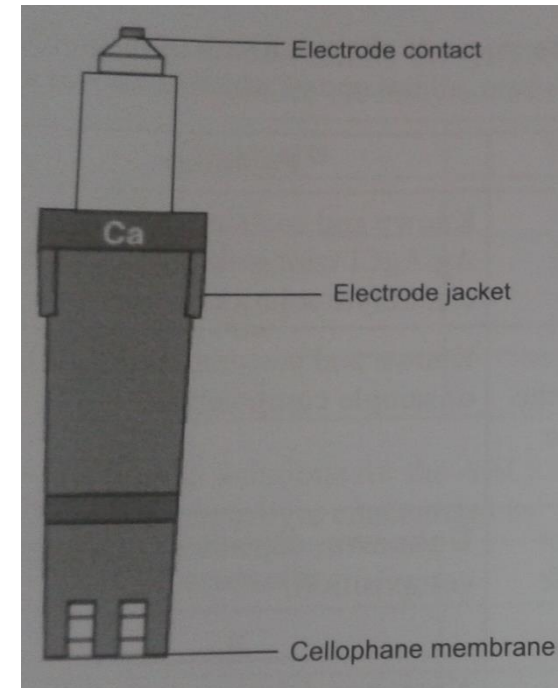


Iontově selektivní elektrody

- Jednotlivé ISE elektrody / Elektrody integrované - integrovaná chipová technologie

Ca²⁺ elektroda – ABL800 Flex

- Iontově selektivní elektroda, jejíž snímací součástí je PVC membrána obsahující přenašeč neutrálních Ca iontů
- Iontově-citlivá membrána je krytá celofánovou vrstvou -> zabraňuje kontaktu se vzorkem
- Elektrolyt má konstantní a známou koncentraci Ca²⁺ iontů
- Když je vzorek přiveden do kontaktu s elektrodou, vyvine se napříč PVC a celofánové membrány potenciál
- Potenciál je závislý na rozdílu aktivit mezi Ca²⁺ v elektrolytu a ve vzorku

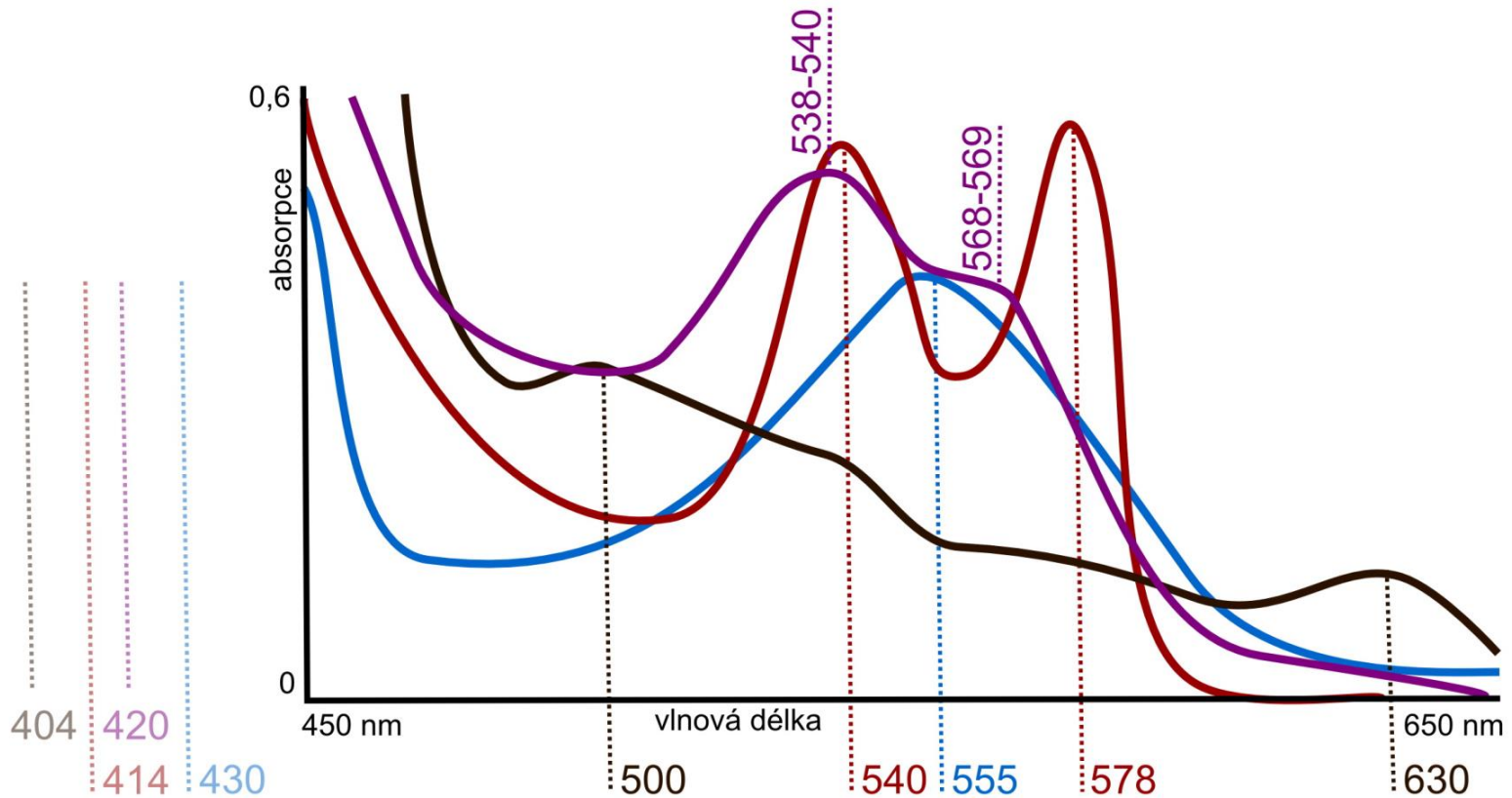


Měření derivátů Hb – ABL800 Flex

- krevní vzorek je transportován do kyvety s konstantní teplotou 37 °C
- 1 µl vzorku je ultrazvukově zhemolyzován v kyvetě
- vznik opticky čirého roztoku
- pro vyloučení vzduchových bublin ve vzorku je udržován přetlak 1 atmosféry
- světlo z halogenové lampy je vedeno přes infračervený filtr, prochází přes kyvetu a je dále vedeno optickým vláknem do spektrofotometru
- světlo je ve spektrofotometru rozděleno na mřížce na 128 vlnových délek
- změřené spektrum je zasláno do počítače analyzátoru, kde dochází k výpočtu oxymetrických parametrů

Měření derivátů Hb – ABL800 Flex

oxyhemoglobin deoxyhemoglobin (redukovaný Hb) methemoglobin karbonylhemoglobin



Překreslil Petr Menzel, 2011.

ABL800 Flex (Radiometer)

- ABL 800 Flex - měřené parametry: pH, pCO₂, pO₂, cCa²⁺, ctHb, sO₂, FO₂Hb, FCOHb, FMetHb, FHHb, FHbF, cK⁺, cNa⁺, cCl⁻, cGlu, cLac
- kalibrace kalibračními roztoky a pomocí směsi kalibračních plynů
- lze použít klasické ABR zkumavky/kapiláry i speciální Radiometer *safePICO* odběrové zkumavky:
 - uvnitř speciální stříkačky míchací kuličky (automatické míchání analyzátozem před analýzou) + zóna s polopropustnou membránou (zabraňuje interferenci vzduchových bublin)
 - Přístroj vybaven podavačem *safePICO* zkumavek – vzorek se vloží, zadá a obsluha může odejít

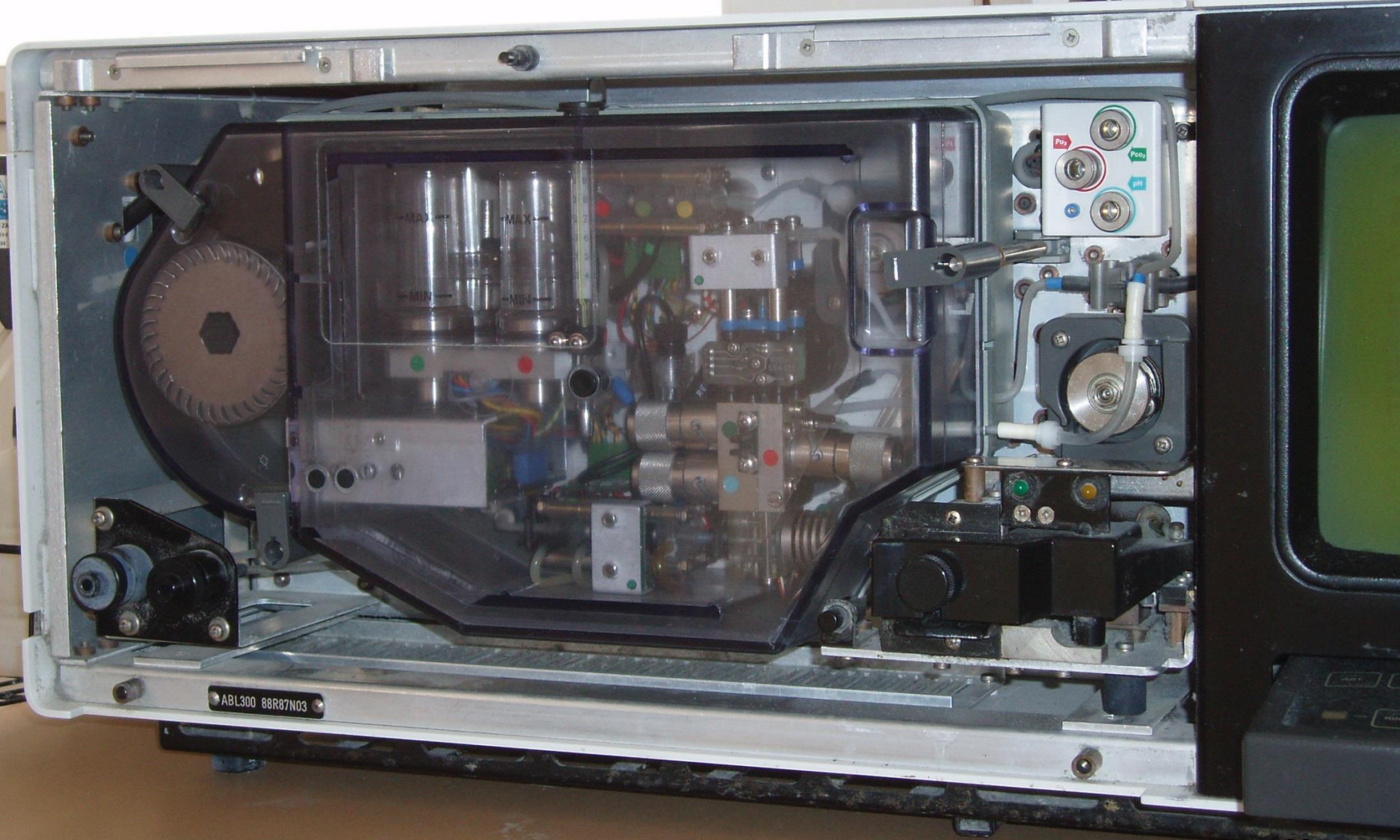
Radiometer:



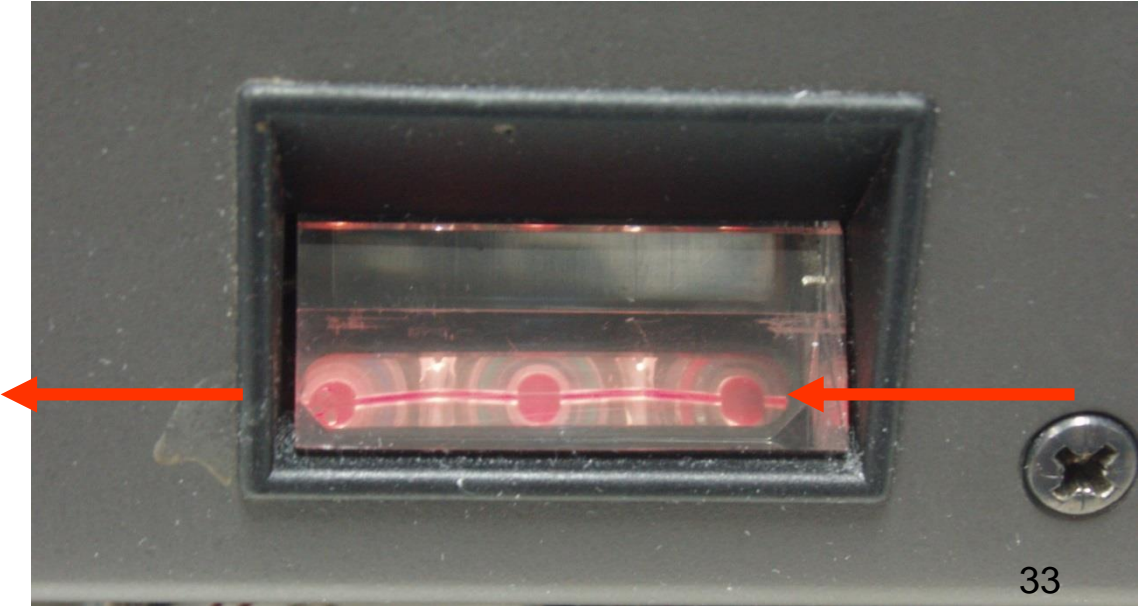
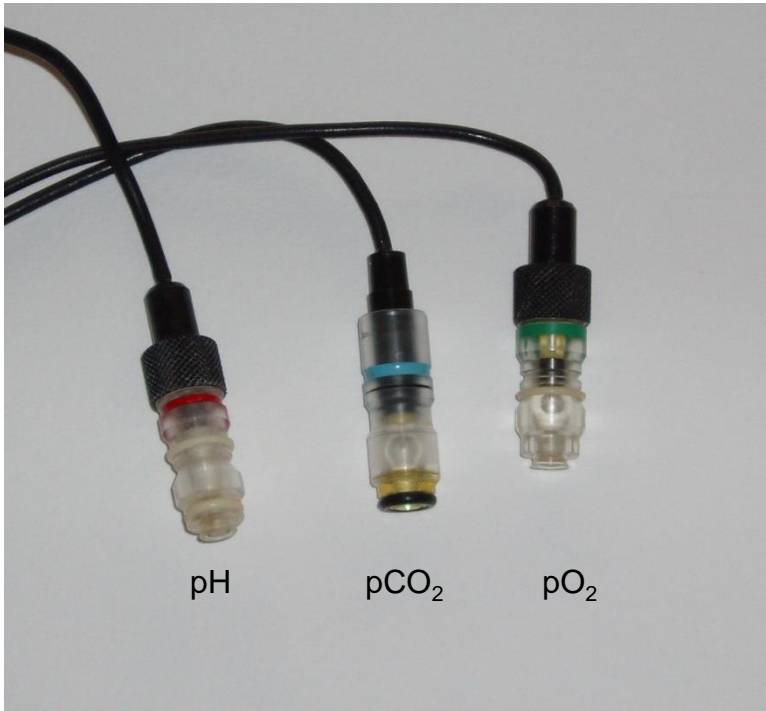


cca 1989

SCA
OBCHODNÍ ZA
Jiřkovice
tel. a fax



ABL300 88R87N03



cobas b 221, Roche Diagnostic



cobas b 221, Roche Diagnostic

- vhodný i na jednotky intenzivní péče, na operační sály, pooperační pokoje a dialýzu
- čtečka ČK
- stanovení bilirubinu - novorozenecká oddělení (malý objem)
- 2 nebo 3 multireagenční kontejnery
- kalibrace pouze pomocí kalibračních roztoků (kal. plyny se nepoužívají) – karbonáty, bikarbonáty, elektrolyty, pH pufr
- detekce hladiny reagensů a záznam výměny kontejneru
- **Měřené parametry:**
 - pO₂, pCO₂, pH
 - Na, K, Ca, Cl
 - Glu, Lac, Urea
 - O₂Hb, HHb, COHb, MetHb
 - Total Hemoglobin (tHb)
 - Saturace kyslíkem (SO₂)
 - Hematokrit Hct
 - Bilirubin

cobas b 221, Roche Diagnostic

další vybavení

- oxymetrický modul – hemoglobin celkový a deriváty – spektrofotometricky
- modul na celkový hemoglobin a měření saturace kyslíku – měření absorpce světla na základě světelného rozptylu na erytrocytech

Siemens Rapidlab 348

- **Měřené parametry:**
pH, pCO₂, pO₂,
Na⁺, K⁺, Ca²⁺ nebo
Cl⁻
- **Počítané
parametry:**
sO₂, HCO₃, O₂CT,
ctCO₂, BE/BD,
Anion gap, a další...
- **možnost měření**
Na⁺, K⁺, Ca²⁺, pO₂
a pH v dialyzátu



Siemens Rapidlab 1200

- **Měřené parametry:**
pH, pCO₂, pO₂,
Na⁺, K⁺, Ca²⁺, Cl⁻,
Glu, Lac, tHb, HHb,
O₂Hb, sO₂, COHb,
MetHb,
novorozenecký tBil



POCT analyzátory ABR

soustředěny v nemocniční síti + kontrolovány laboratoří –
např. software Aqure - Radiometer

- soustředěny v nemocniční síti
- kontrolovány laboratoří – často SW pro dálkovou správu/náhledy
- Snadné použití (obvykle kazetové systémy)
- Bezúdržbové
- Ideální pro point-of-care
- Parametry obvykle: pH; pCO₂; Na⁺; Cl⁻; Ca²⁺; K⁺ (potenciometrie), pO₂; glukóza; laktát (amperometrie), Hb; O₂Hb; COHb; MetHb; HHb; tBil (spektrofotometre), hematokrit, cCrea, cUrea

Radiometer:

- **Měřené parametry:**
pH, pCO₂, pO₂, sO₂,
ctHb, O₂Hb, COHb,
MetHB, HHb, HbF,
K⁺, Na⁺, Ca²⁺, Cl⁻,
Glu, Lac, tBil (verze
ABL90 Flex Plus
navíc Urea, Crea)
- ABL90 Flex má
zabudovaný systém
míchání *safePICO*
zkumavek

ABL90 Flex



ABL80 Flex CO-OX



Nova Biomedical

Stat Profile pHox Ultra

- **Měřené parametry:** pH, pCO₂, pO₂, Na⁺, K⁺, Ca²⁺, Cl⁻, **Mg²⁺**, Glu, Lac, Urea/BUN, Crea, tHb, HHb, O₂Hb, sO₂, COHb, MetHB, tBil



Stat Profile Prime

- **Měřené parametry:** pH, pCO₂, pO₂, (Na⁺, K⁺, Ca²⁺, Cl⁻, Glu, Lac – v závislosti na konfiguraci)



Siemens RapidPoint 500

- **Měření**
parametry: pH,
pCO₂, pO₂, Na⁺,
K⁺, Ca²⁺, Cl⁻, Glu,
Lac, tHb, HHb,
O₂Hb, sO₂, COHb,
MetHB,
novorozenecký
tBil
- **pH** ve výpotku



GEM Premier 5000 - Instrumentation Laboratory Laboratory (dodává Medista)

- pH, pO₂, pCO₂, elektrolyty, metabolity a CO-Oximetr.
- snadné použití
- bezúdržbový
- ideální pro point-of-care testování



Techno Medica Gastat 602i



Glukózové analyzátory

- **Stanovení kapilární glukózy**

POCT glukometry

Elektrochemické metody:

- **Clarkova kyslíková elektroda**
- **Biosenzory s membránou se zakotvenou GOD (nejčastěji enzymatický biosenzor s amperometrickým principem)**
- **Glukometry (POCT): přímé elektrochemické stanovení**

Biosenzory

- specifický druh chemického senzoru - z biologického indikačního prvku a chemického převaděče
- biologickým prvkem je nejčastěji specifický enzym - enzymové elektrochemické biosenzory
- enzym katalyzuje specifickou enzymovou reakci se specifickým substrátem
- výsledkem reakce je měřená tvorba produktu, nebo rozklad substrátu
- biosenzory pro glukosu, laktát, kreatinin a močovinu
- jsou součástí glukosových analyzátorů, ABR analyzátorů, ale také velkých automatických biochemických analyzátorů (Beckman)

Glukóza – metody stanovení

2. Doporučené rutinní metody – enzymové stanovení:

2.2 Metoda s glukózaoxidázou a peroxidázou (GOD/POD):



- ✓ **vzrůst absorbance barevného produktu je přímo úměrný koncentraci glukózy ve vzorku a měří se spektrofotometricky při 340 nm**
- ✓ **první reakce je specifická, reakce na stanovení peroxidu vodíku však může být více či méně ovlivněna interferujícími látkami**

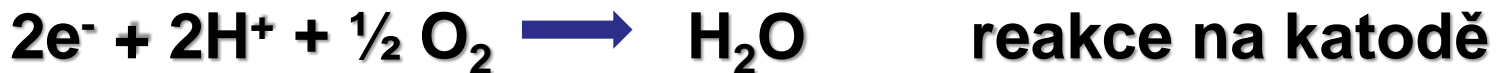
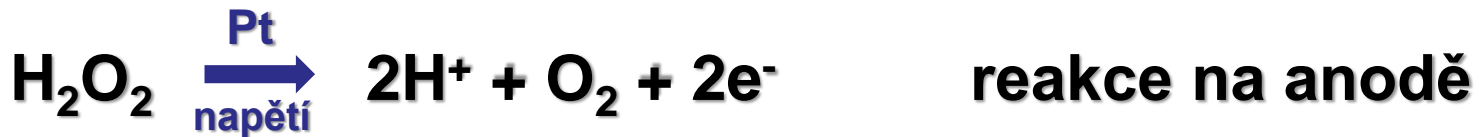
POCT stanovení - glukóza

□ Princip: přímé elektrochemické stanovení

1. glukóza + O₂ → glukonolakton + H₂O₂
(glukózaoxidáza)

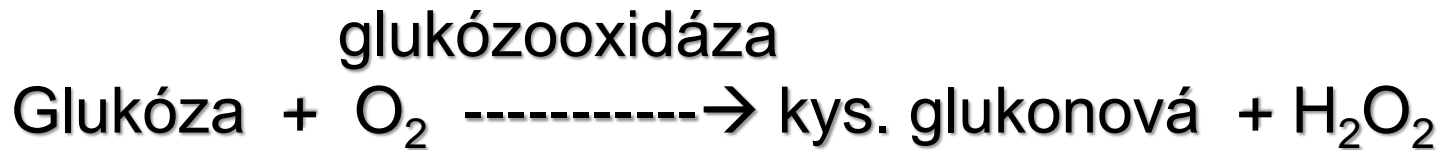
2. elektrochemická redukce H₂O₂ na H₂O

3. vzniklý elektrický proud nebo náboj je úměrný koncentraci glukózy (amperometrické nebo coulometrické stanovení)

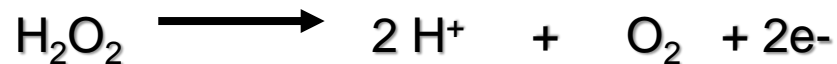


SensoStar G, firma DiaSys

- enzymatickoamperometrický princip
- enzymový amperometrický biosenzor (imobilizována glukózoxydasa) na stanovení glukózy využívá k měření vznikající peroxid vodíku:



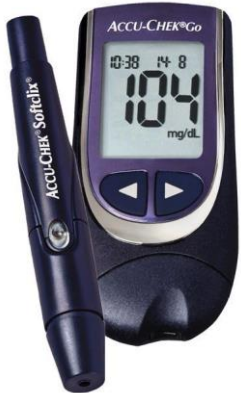
Vznikající peroxid je oxidován na platinové elektrodě při konstantním potenciálu podle rovnice:



Je měřená časová změna proudu, která je úměrná koncentraci glukózy ve vzorku.

POCT stanovení - glukóza

□ glukometry:



□ lanceta



□ automatický stolní analyzátor ke stanovení glukózy a laktátu (Biosen)

Laktát – metody stanovení

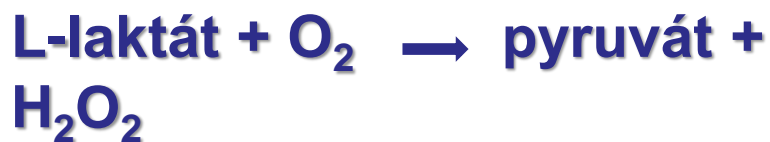
Elektrochemické metody:

□ Biosenzory s membránou se zakotvenou GOD

□ POCT

✓ Princip stanovení:

- v senzoru je zabudován enzym GOD, který katalyzuje vznik H_2O_2 :



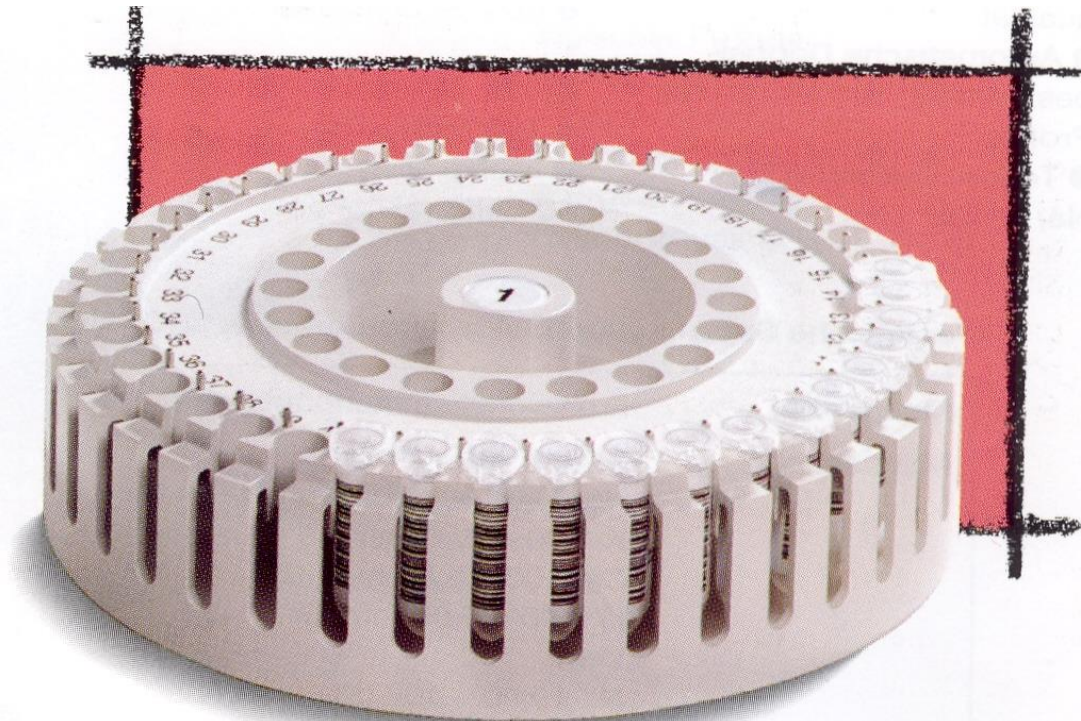
- v H_2O_2 se rozkládá na Pt elektrodě za uvolnění elektronů – generovaný proud se stanoví amperometricky



□ automatický stolní analyzátor ke stanovení glukózy a laktátu (Biosen)

Glukózový a laktátový analyzátor EBIO plus - Eppendorf





BIOSEN S-line Lab, EKF-diagnostic (dodává Medesa)

- automatický analyzátor pro stanovení glukózy nebo laktátu ze séra, krve a plazmy.
- využívá elektrochemický princip měření kombinovaný s čipovou technologií:

Enzymy imobilizované na čipu zajišťují oxidaci glukózy a laktátu ve vzorku za tvorby peroxidu vodíku, ten je redukován na měřících elektrodách.

- změna protékajícího proudu úměrná koncentraci
- rozsah měření 0,5 –50 mmol/l (glukóza), 0,5 – 40 mmol/l (laktát)
- objem vzorku : 20 μ l, ředí se 1 ml systémového roztoku



Ionty - doporučené metody

Analyt	Doporučené rutinní metody	Referenční metoda	Certifikovaný referenční materiál
Na⁺, K⁺, Cl⁻	<ul style="list-style-type: none">• ISE moduly (přímá a nepřímá potenciometrie)• FAES (s Li nebo Cs vnitřní standard)	<ul style="list-style-type: none">• ID-MS• FAES• IC (navržená)	<ul style="list-style-type: none">• SRM 909b NIST• SRM 956a• NIST/SRM 912a USA
Ca²⁺	<ul style="list-style-type: none">• spektrofotometrické metody• FAAS• FAES• ISE metoda bez ředění	<ul style="list-style-type: none">• ID-MS• FAAS• IC (navržená)	<ul style="list-style-type: none">• SRM 909b NIST• SRM 956a• NIST/SRM 915a USA (pouze sérum)• BCR/CRM 303, 304 (pouze sérum)• SRM 956b (pouze plná krev)
Mg²⁺	<ul style="list-style-type: none">• spektrofotometrické metody• FAAS	<ul style="list-style-type: none">• FAAS• IC (navržená)	<ul style="list-style-type: none">• SRM 909b NIST• SRM 956a• BCR/CRM 303, 304 (pouze sérum)• NIST/SRM 929 USA (pouze sérum)



Natrium, Kalium, Chloridy (S,P,U) – metody stanovení

1. Doporučená rutinní metoda – ISE modul:

- jedná se o **nepřímou potenciometrii s ředěním**
- používá průtočné **iontově selektivní elektrody (ISE) pro Na, K, Cl a referenční argentchloridovou elektrodu**
- **společné stanovení**
- měří se rozdíl potenciálu mezi IS elektrodou a referenční elektrodou
- IS elektroda měří aktivitu, přepočet na koncentraci pomocí aktivitního koeficientu
- stanovení: **nepřímá nebo přímá potenciometrie**
- u naředěných vzorků se po dosažení rovnovážného stavu měří **elektromotorická síla**
- míchání je zajištěno pomocí ultrazvuku
- výkon ISE modulu (2 měřící jednotky) je až **1 800 testů/h**



Natrium, Kalium, Chloridy (S,P,U) – metody stanovení

□ nepřímá potenciometrie:

- ✓ historicky starší je metoda nepřímá
- ✓ u této metody se analyzuje vzorek značně naředěný (např. 30x) diluentem o vysoké iontové síle
- ✓ generovaný elektrický potenciál je porovnáván a potenciálem standardních roztoků, čímž je zabráněno výkyvům vlivem teploty nebo elektrické nestability
- ✓ **koncentrace iontů se počítá podle Nerstovy rovnice**
- ✓ výsledky odpovídají měření plamenovou emisní spektrofotometrií
- ✓ chyba způsobená přítomností proteinů a lipidů v plazmě (7%)
- ✓ naměřené hodnoty se počítají na celkový objem plazmy
- ✓ např. koncentrace 145 mmol Na⁺/l bude ve vodné fázi (počítáme-li 93% vodné fáze) ve skutečnosti 156 mmol Na⁺/l
- ✓ negativní chyba známa po řadu let



Natrium, Kalium, Chloridy (S,P,U) – metody stanovení

ISE elektrody:

- ✓ jednotlivé ISE elektrody
- ✓ elektrody integrované do jednoho modulu - tzv. „**integrovaná chipová technologie**“
- ✓ většina elektrod je na bázi tenkovrstvé ionoforové technologie (ionofory = látky, které umožňují transport iontů přes membránu)
- ✓ **makrocyclické ionofory** - molekuly s dutinami, ve kterých jsou pevně vázány ionty př. „**crowne etery**“



Natrium (S,P,U) – metody stanovení

1. Doporučené rutinní metody:

1.1 Metoda ISE bez ředění

1.2. Metoda ISE s ředěním

1.3 Plamenová emisní fotometrie (FAES s Li n. Cs):

- excitované atomy Na^+ emitují spektrum s ostrou čarou při 768 nm
- tato metoda společně s K^+ byla v laboratořích velmi běžná, ale nyní se již **rutinně nepoužívá**

1.4 Spektrofotometrická metoda - enzymatická:

- je založena na aktivaci enzymu β -galaktosidázy ionty Na^+ a na hydrolýze chromogenního substrátu 2-nitro- β -D-galaktopyranosidu na galaktózu a 2-nitrofenol
- rychlost hydrolýzy se měří kineticky při 420 nm
- rutinně se ale již nepoužívá



Kalium (S,P,U) – metody stanovení

1. Doporučené rutinní metody:

1.1 Metoda ISE bez ředění

1.2. Metoda ISE s ředěním

1.3 Plamenová emisní fotometrie (FAES s Li spektrálním pufrem):

- excitované atomy K^+ emitují spektrum s ostrou čarou při 589 nm
- tato metoda společně s Na^+ byla v laboratořích velmi běžná, ale nyní se již **rutinně nepoužívá**

1.4 Spektrofotometrická metoda - enzymatická:

- je založena na aktivaci vhodného enzymu ionty K^+
- např. stanovení pomocí tryptofanpyrolázy se substrátem tryptofanem
- metoda není doporučena



Chloridy (S,P,U) – metody stanovení

1. Doporučené rutinní metody:

1.1 Metoda ISE bez ředění

1.2. Metoda ISE s ředěním

1.3 Coulometrie

- stanovení je založeno na generaci Ag^+ ze stříbrné anody konstantní rychlostí
- ionty Ag^+ reagují s Cl^- za vzniku nerozpustného AgCl
- při dosažení bodu ekvivalence se generace Ag^+ zastaví
- obsah Cl^- je přímo úměrný času, který se měří
- rutinně se nepoužívá

1.4 Spektrofotometrická metoda - enzymatická:

- je založena na reakci:
$$2 \text{Cl}^- + \text{Hg}(\text{SCN})_2 \rightarrow \text{HgCl}_2 + 2 \text{SCN}^-$$
$$3 \text{SCN}^- + \text{Fe}^{3+} \rightarrow \text{Fe}(\text{SCN})_3$$
- vzniklý produkt červeného thiokyanatanu železitého se pak měří fotometricky

Děkuji za pozornost.