

Elektrochemické metody se zaměřením na potenciometrii

Představení kapitoly

Tato kapitola se věnuje elektrochemickým metodám, které jsou klíčovými nástroji klinické biochemie. Tyto metody propojují chemické reakce s elektrickými jevy a umožňují velmi přesné stanovení koncentrací iontů a dalších analytů v biologických tekutinách. Největší důraz bude kladen na potenciometrii, která je dnes základní součástí biochemických analyzátorů.

Obsah

Elektrochemické metody se zaměřením na potenciometrii	1
1 Úvod do elektroanalytických (elektrochemických) metod	2
1.1 Proč jsou elektrochemické metody důležité v medicíně?	2
1.2 Základní princip: elektrody a elektrické veličiny	2
1.3 Elektrochemické metody – obecný přehled	3
2 Potenciometrie	4
2.1 Co je to elektrický potenciál?	4
2.2 Potenciál v elektrochemii	4
2.3 Princip potenciometrie	4
2.4 Elektrody používané v potenciometrii	5
2.4.1 Referenční elektroda	5
2.4.2 Indikační elektroda	6
2.4.3 Automatizace a biochemické analyzátory	7
2.5 Využití potenciometrie v medicíně	7
2.6 Elektrodiagnostika – další využití elektroanalytických principů	8
3 Amperometrie	9
4 Voltametrie a polarografie	10
5 Coulometrie	10
6 Konduktometrie	11
7 Elektrochemická metoda v praxi (Potenciometrická titrace)	11
7.1 Co je to titrace?	11
7.2 Spojení potenciometrie a titrace	11
7.3 Potenciometrická titrace – podmínky měření a možné zdroje chyb	13
7.3.1 Kalibrace elektrod	13
7.3.2 Čistota prostředí a nástrojů:	13
7.3.3 Vliv teploty:	13
7.3.4 Možné Interference a chyby vzorku:	13

1 Úvod do elektroanalytických (elektrochemických) metod

Představte si, že bychom chtěli zjistit, jaká je koncentrace určité látky v roztoku – například sodíku v krevní plazmě, nebo pH moči. Jedna možnost je použít optické metody (měřit absorbanci nebo fluorescenci), ale někdy látky žádné optické vlastnosti nemají, nebo potřebujeme přesnější a přímější způsob měření. V těchto případech přicházejí na řadu **elektrochemické metody**.

Tyto metody využívají skutečnosti, že některé **chemické reakce jsou neoddělitelně spojené s pohybem elektronů**, a tedy i s elektrickými jevy. Pokud do roztoku ponoříme elektrody a uzavřeme elektrický obvod, můžeme sledovat, jak se chemické složení roztoku odráží v elektrických veličinách – například v **potenciálu (napětí)**, **proudu** nebo **vodivosti**. Jinými slovy: elektrochemické metody umějí „přeložit“ chemickou informaci (kolik a jakých iontů je ve vzorku) do podoby elektrického signálu, který lze snadno a přesně změřit.

1.1 Proč jsou elektrochemické metody důležité v medicíně?

V klinické laboratoři se elektrochemie uplatňuje na každém kroku. Například:

- **měření pH krve** je zásadní pro posouzení acidobazické rovnováhy,
- **stanovení koncentrace iontů** (Na^+ , K^+ , Cl^-) je klíčové při diagnostice poruch vnitřního prostředí,
- **měření glykémie** pomocí malého přístroje (glukometru) je typickým příkladem elektrochemické metody v praxi,
- a i složitější parametry, jako je **osmolalita plazmy**, se stanovují elektrochemicky.

Velkou výhodou těchto metod je jejich **rychlost, citlivost a možnost automatizace**, což je v laboratorní diagnostice nepostradatelné.

1.2 Základní princip: elektrody a elektrické veličiny

Každé elektrochemické měření probíhá mezi dvěma nebo více elektrodami ponořenými do elektrolytu (roztoku obsahujícího ionty). Elektrody jsou jakýmsi „prostředníkem“ mezi roztokem a elektrickým obvodem.

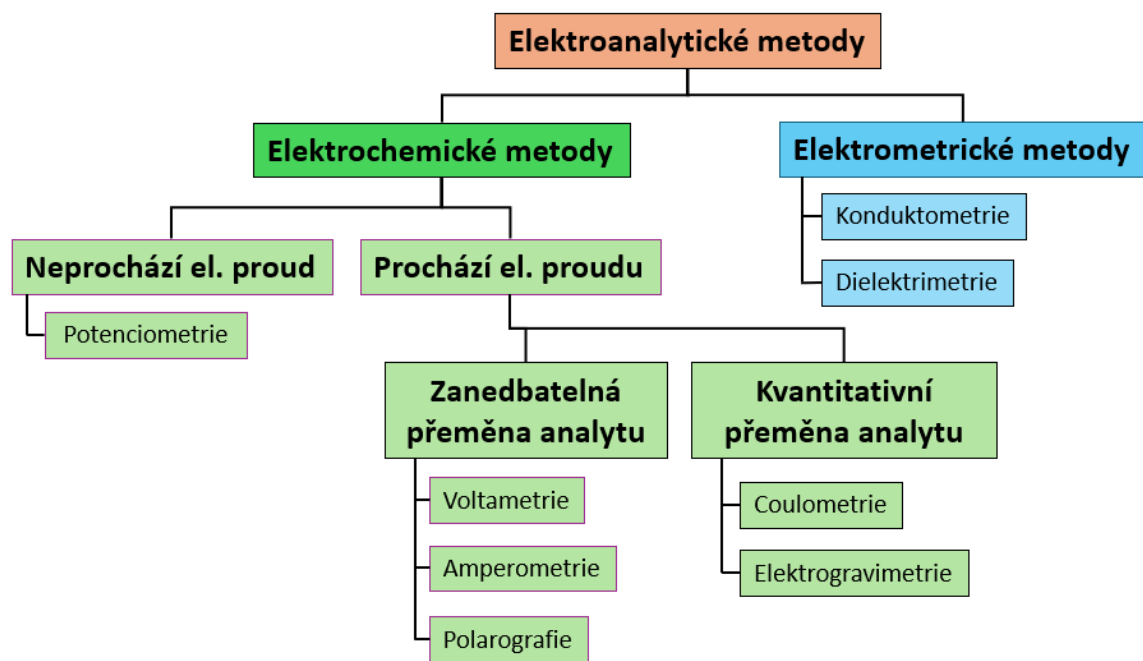
- **Indikační elektroda** je „senzorem“ pro konkrétní látku – její povrch je navržen tak, aby reagoval právě na určitý ion nebo analyt. Například skleněná elektroda je citlivá na protony (H^+) a používá se k měření pH, iontově selektivní elektrody zase dokáží měřit Na^+ , K^+ nebo Ca^{2+} .
- **Referenční elektroda** poskytuje stabilní, neměnný potenciál, aby bylo možné indikační signál s něčím porovnat. Bez ní by měření nebylo spolehlivé. Často se používá **Ag/AgCl elektroda** nebo **kalomelová elektroda**.

- V některých metodách se používá také **pomocná elektroda**, která umožňuje průchod proudu systémem a zabraňuje, aby se referenční elektroda „opotřebovávala“.

Samotné měření pak může sledovat různé elektrické veličiny:

- **Potenciál (napětí)** – rozdíl elektrických potenciálů mezi elektrodami. Typickým příkladem je měření pH.
- **Proud** – velikost toku elektronů při probíhající reakci. Uplatňuje se například v amperometrii (např. glukometry).
- **Vodivost** – schopnost roztoku vést elektrický proud. Ta závisí na celkovém množství iontů v roztoku a využívá se třeba při měření osmolality.

1.3 Elektrochemické metody – obecný přehled



2 Potenciometrie

Potenciometrie patří mezi základní elektrochemické metody, jejichž podstatou je měření napětí mezi dvěma elektrodami ponořenými do roztoku. Abychom však princip potenciometrie skutečně pochopili, musíme si nejprve vysvětlit, co vlastně znamená pojem **elektrický potenciál** a proč může rozdíl potenciálů mezi elektrodami nést informaci o chemickém složení vzorku.

2.1 Co je to elektrický potenciál?

Elektrický potenciál si můžeme představit jako **energetickou hladinu pro elektrony**. Je to podobné, jako když stojí voda v nádrži – čím výše je hladina, tím větší má potenciál téct dolů. Elektrony se chovají podobně: pokud mají možnost pohybu, „potečou“ z místa s vyšším potenciálem do místa s nižším, stejně jako voda teče z kopce do údolí.

Když porovnáme dva body v elektrickém poli, jejich **rozdíl potenciálů** vnímáme jako **napětí**. To je veličina, kterou umíme změřit voltmetrem.

2.2 Potenciál v elektrochemii

V elektrochemii vzniká tento potenciál na **rozhraní mezi elektrodou a roztokem**. Na povrchu elektrody totiž probíhají:

- **redoxní reakce** (přenos elektronů), nebo
- **iontové výměny** (ionty v roztoku interagují s povrchem elektrody).

Tyto děje vedou k uspořádání nábojů na rozhraní a tím se vytvoří elektrické napětí.

2.3 Princip potenciometrie

Princip potenciometrie spočívá v tom, že **chemická informace o koncentraci iontů ve vzorku se promítá do elektrického napětí**, které lze snadno změřit. Když ponoříme do roztoku dvojici elektrod – měrnou a referenční – vznikne mezi nimi **elektromotorické napětí**. Měrná elektroda mění svůj potenciál podle koncentrace určitého iontu, zatímco referenční elektroda drží stabilní hodnotu. Rozdíl jejich potenciálů je tedy přímým ukazatelem složení roztoku.

Abychom tento jev kvantitativně popsali, využíváme **Nernstovu rovnici**, která vyjadřuje závislost potenciálu elektrody na aktivitě (efektivní koncentraci) iontu:

$$E = E^0 + \frac{RT}{zF} \ln a$$

kde:

- **E** – měřený potenciál,
- **E⁰** – standardní potenciál elektrody,
- **R** – plynová konstanta,
- **T** – absolutní teplota,
- **z** – náboj iontu,
- **F** – Faradayova konstanta,
- **a** – aktivita (efektivní koncentrace) iontu.

Z rovnice je patrné, že změna koncentrace iontu vede k logaritmické změně potenciálu. V laboratorní praxi to znamená, že z naměřeného napětí lze po kalibraci elektrod **přímo spočítat koncentraci** sledované látky ve vzorku.

2.4 Elektrody používané v potenciometrii

Každé potenciometrické měření je založeno na systému **dvou elektrod** – **měrné** a **referenční**. Tyto elektrody fungují jako most mezi chemickým prostředím roztoku a elektrickým obvodem. Aby byla měření spolehlivá, musí jedna elektroda reagovat na změny ve vzorku, zatímco druhá poskytuje stabilní základ pro srovnání. V moderních přístrojích se často používají **kombinované elektrody**, které v jednom těle spojují měrnou i referenční elektrodu. Tyto elektrody usnadňují práci, zmenšují objem vzorku potřebný k měření a zvyšují spolehlivost analýzy.

2.4.1 Referenční elektroda

Úlohou referenční elektrody je vytvářet **stálý a dobře definovaný potenciál**, který se během měření nemění bez ohledu na složení roztoku. Díky tomu lze naměřený rozdíl potenciálů připsat výhradně změnám na měrné elektrodě.

Nejčastěji používané typy jsou:

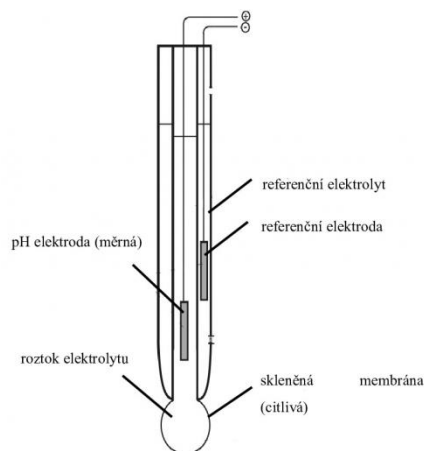
- **Ag/AgCl elektroda (stříbro/chlorid stříbrný)** – jednoduchá a stabilní, široce využívaná v klinické praxi.
- **Kalomelová elektroda (Hg/Hg₂Cl₂)** – historicky významná, dnes méně používaná kvůli obsahu rtuti.

- **Standardní vodíková elektroda (SVE)** – má definovaný potenciál 0 V a slouží jako mezinárodní referenční bod, avšak pro rutinní měření je konstrukčně příliš složitá, a proto se prakticky nepoužívá.

2.4.2 Indikační elektroda

Indikační elektroda je část systému, která je **citlivá na konkrétní analyt**. Její potenciál se mění v závislosti na koncentraci určitého iontu nebo látky v roztoku.

- **Skleněná elektroda** – Skleněná elektroda je nejčastějším typem iontově selektivní elektrody. Její skleněná membrána je specificky citlivá na koncentraci vodíkových iontů (H^+), což umožňuje přesné měření pH. Princip spočívá v registraci napětí mezi skleněnou elektrodou a stabilní referenční elektrodou. Vzorkem může být krev, moč, mozkomíšní mok nebo žaludeční šťáva, přičemž k vlastnímu měření se používají pH-metry nebo moderní analyzátoři krevních plynů. V klinické praxi má stanovení pH zásadní význam – je nezbytné pro hodnocení acidobazické rovnováhy organismu, v gastroenterologii pro posouzení acidity žaludeční šťávy a také pro 24hodinové monitorování jícnového refluxu.



(Zdroj: <http://www.prirodoveda.cz/didakticke-materialy/chemie/vapnik-a-horcik/funkce-tlumiciho-roztoku.html>)

- **Iontově selektivní elektrody (ISE)** – Ion-selektivní membránové elektrody jsou založeny na membránách obsahujících ionofory, které specificky vážou vybraný ion. Díky tomu umožňují selektivní měření koncentrace konkrétních iontů, jako je sodík (Na^+), draslík (K^+), chlorid (Cl^-) nebo vápník (Ca^{2+}). Tyto elektrody jsou velmi rozšířené v moderních automatických analyzátořích elektrolytů, kde tvoří nedílnou součást rutinní diagnostiky poruch vnitřního prostředí, hydratace a acidobazické rovnováhy.



(Zdroj: https://ach.upol.cz/ucebnice2/memb_eldy.htm)

- **Enzymatické biosenzory** – Enzymatické biosenzory jsou speciální elektrody, které kombinují elektrochemický senzor s enzymem. Díky tomu umožňují nepřímě měřit koncentraci metabolitů prostřednictvím produktů enzymové reakce. Typickým příkladem je **glukózová elektroda**, v níž je na povrchu senzoru navázána glukózooxidáza; ta katalyzuje oxidaci glukózy a vzniklý produkt je elektrochemicky detekován. Tento princip je základem běžně používaných **glukometrů**.

2.4.3 Automatizace a biochemické analyzátory

Iontově selektivní elektrody jsou v dnešní době běžnou součástí **biochemických analyzátorů** používaných v laboratořích klinické biochemie. Tyto analyzátory kombinují potenciometrii (ISE) s dalšími biochemickými metodami, jako je fotometrie, enzymatické analýzy nebo imunoanalýzy, pro komplexní kvantifikaci a monitorování široké škály analytů v biologických vzorcích. Biochemické analyzátory s ISE jsou schopny provádět řadu testů, kde mohou být tyto elektrody v podobě biosenzorů použity nejen pro stanovení iontů a složek ABR, ale také například glukózy/laktátu, kreatininu nebo močoviny.

Názorná ukázka velikosti elektrod využívaných v biochemických analyzátoch:



(Zdroj: https://is.muni.cz/el/med/podzim2019/KBOMII/um/Iontove_selektivni_elektrody_-ISE.pdf)

2.5 Využití potenciometrie v medicíně

Potenciometrie je jednou ze základních elektrochemických metod s širokým využitím v klinické praxi. Nejčastěji se uplatňuje při měření pH a při stanovení hladin iontů (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Cl^-) v krvi, plazmě, séru či moči. Tyto parametry jsou klíčové pro hodnocení acidobazické rovnováhy (ABR) a pro diagnostiku poruch, jako je acidóza či alkalóza. Využívají se přitom různé elektrody: skleněná elektroda pro pH, Severinghausova elektroda pro pCO_2 a Clarkova elektroda pro pO_2 . Moderní analyzátory pak kombinují více metod a měří i elektrolyty pomocí iontově selektivních elektrod (ISE).

Měření pH

pH krve patří mezi základní ukazatele v intenzivní medicíně – jeho odchylky upozorňují na metabolické nebo respirační poruchy. pH moči se sleduje v nefrologii a urologii, například při infekcích, urolitiáze nebo při terapii cílené alkalizace.

Stanovení elektrolytů

Vyšetření koncentrací sodíku, draslíku či chloridů v plazmě je součástí rutinních laboratorních testů. Sodík odráží hydrataci, draslík je nezbytný pro činnost srdce a nervů a chloridy spolu s bikarbonátem hrají klíčovou roli v udržování ABR.

Biosenzory a přístroje

Praktickým využitím potenciometrie jsou biosenzory, například glukometry s enzymatickou elektrodou pro stanovení glukózy. Velký význam mají i analyzátory krevních plynů a elektrolytů, které měří pH, pCO₂, ionty a další parametry. Moderní POCT (Point-of-care testing) přístroje umožňují rychlou diagnostiku **přímo u lůžka pacienta**, což je zásadní pro urgentní medicínu.

2.6 Elektrodiagnostika – další využití elektroanalytických principů

Kromě laboratorní potenciometrie nachází měření elektrických potenciálů významné uplatnění i v klinické praxi při registraci bioelektrické aktivity tkání. Elektrody zde fungují na stejném principu jako v potenciometrických systémech – měří rozdíl elektrických potenciálů mezi dvěma body – ale zachycují přirozeně vznikající signály živých buněk a tkání.

Elektrokardiografie (EKG)

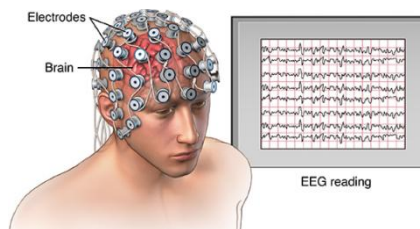
EKG zaznamenává elektrickou aktivitu srdce prostřednictvím elektrod přiložených na povrch těla. Elektrody registrují rozdíly potenciálů vznikající při depolarizaci a repolarizaci srdeční svaloviny během srdečního cyklu. Výsledná EKG křivka poskytuje informace o srdeční frekvenci, rytmu i patologických stavech, jako jsou ischemie myokardu nebo poruchy převodního systému.



(Zdroj: <https://www.szo.cz/cs/lekarske-pristroje/?ekg-pristroj-edan-se-601c-ekgedan601>)

Elektroencefalografie (EEG)

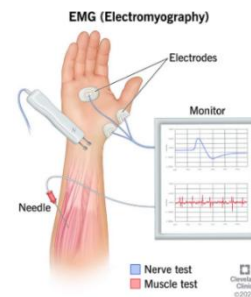
EEG je metoda snímání elektrické aktivity mozkové kůry pomocí povrchových elektrod umístěných na hlavě. Zaznamenává sumaci postsynaptických potenciálů neuronů a vytváří charakteristické rytmy a vlnové vzorce. V klinické praxi se používá k diagnostice epilepsie, poruch spánku, encefalopatií nebo k monitorování mozkové aktivity při anestezii.



(Zdroj: <https://somatosphere.com/2019/staging-seizure-the-chronic-contingency-of-epilepsy-diagnosis.html/>)

Elektromyografie (EMG)

EMG hodnotí elektrickou aktivitu kosterních svalů pomocí povrchových nebo jehlových elektrod. Tyto elektrody zachycují akční potenciály svalových vláken při klidu i kontrakci. Metoda je zásadní pro diagnostiku neuromuskulárních onemocnění, periferních neuropatií či myopatií a umožňuje posoudit funkčnost nervosvalového přenosu.



(Zdroj: <https://my.clevelandclinic.org/health/diagnostics/4825-emg-electromyography>)

Další příbuzné metody

Elektrookulografie (EOG): měří potenciálový rozdíl mezi rohovkou a sítnicí, využívá se k analýze pohybů očí.

Elektroretinografie (ERG): zaznamenává elektrickou odpověď sítnice na světelný podnět, uplatňuje se v oftalmologii.

Evokované potenciály (EP): hodnotí elektrickou aktivitu mozku vyvolanou smyslovým podnětem (zrakovým, sluchovým, somatosenzorickým).

Galvanická kožní odpověď (GSR): sleduje změny elektrické vodivosti kůže při aktivaci potních žláz, využívá se v psychofyzologii.

3 Amperometrie

Amperometrie je elektrochemická metoda, při níž se sleduje **elektrický proud** protékající mezi elektrodami při **konstantním napětí**. Na pracovní elektrodě probíhá oxidační nebo redukční reakce cílové látky a množství přenesených elektronů je přímo úměrné její koncentraci. Intenzita proudu tak poskytuje přímou informaci o množství analyzované látky ve vzorku.

Díky své vysoké **citlivosti a rychlosti** je amperometrie vhodná pro analýzu biologických tekutin, jako je krev, plazma či moč. V klinické praxi se uplatňuje zejména v podobě biosenzorů:

- **Glukometry** využívají enzym glukózooxidázu, který katalyzuje oxidaci glukózy. Vznikající proud je úměrný koncentraci glukózy v krvi a umožňuje rychlé a spolehlivé měření v domácí i nemocniční péči.
- **Analyzátory krevních plynů** pracují s tzv. **Clarkovou elektrodou**, která stanovuje parciální tlak kyslíku (pO_2) na základě jeho redukce na pracovní elektrodě.

Schopnost miniaturizace a integrace do moderních přístrojů činí z amperometrie jednu z **nejrozšířenějších elektrochemických metod v klinické diagnostice**.



Zajímavost: V intenzivní péči se acidobazická rovnováha sleduje několikrát denně. Např. u pacienta na ventilátoru může i drobná změna pCO_2 znamenat nutnost úpravy ventilace. Potenciometrie (pH , pCO_2) a amperometrie (pO_2) se tu používají doslova život zachraňujícím způsobem.

4 Voltametrie a polarografie

Voltametrie je elektrochemická metoda, při níž se sleduje **proud protékající mezi elektrodami v závislosti na přiloženém napětí**. Pokud na pracovní elektrodu postupně zvyšujeme nebo snižujeme napětí, začnou se na jejím povrchu uskutečňovat oxidační či redukční reakce látek rozpuštěných v roztoku. Jakmile napětí dosáhne hodnoty potřebné pro danou reakci, zaznameneáme charakteristickou změnu proudu. Výsledkem je **voltamogram** – graf závislosti proudu na napětí, který poskytuje informace o tom, jaká látka je ve vzorku přítomna (kvalitativní analýza) i v jakém množství (kvantitativní analýza).

Klasickou podobou voltametrie je **polarografie**, která využívala kapkovou rtuťovou elektrodu. Její velkou výhodou byl neustále se obnovující povrch rtuti, což zajišťovalo vysokou citlivost a dobrou reprodukovatelnost výsledků. V moderní praxi se rtuť z bezpečnostních důvodů již téměř nepoužívá a nahrazuje ji uhlík, platina nebo zlato, často v podobě speciálních elektrochemických analyzátorů.

V biologii a medicíně mají voltametrické metody spíše **výzkumný charakter** než rutinní využití. Uplatňují se například při:

- stanovení **stopových kovů** (olovo, kadmium) v biologických tekutinách,
- měření **vitaminů** (např. kyseliny askorbové),
- studiu **oxidačně-redukčních procesů v buňkách a tkáních**, které poskytují cenné poznatky o metabolismu a účinku léčiv.

5 Coulometrie

Coulometrie je elektrochemická metoda, která nesleduje okamžitý proud jako amperometrie nebo voltametrie, ale **celkový elektrický náboj**, který projde článkem během úplné reakce analytu. Reakce probíhá tak dlouho, dokud ve vzorku nezreaguje veškeré množství stanovované látky. Podle **Faradayova zákona elektrolýzy** je celkový náboj přímo úměrný množství látky, která se elektrochemicky přeměnila. Díky tomu lze koncentraci analytu určit s vysokou přesností.

V medicíně se coulometrie využívá především pro **stanovení chloridů v potu**, což je klíčový test při diagnostice **cystické fibrózy**. U pacientů s touto genetickou chorobou je koncentrace chloridů v potu výrazně zvýšená, a právě coulometrie umožňuje její spolehlivé stanovení.

K měření se používají specializované coulometry, často integrované do analyzátorů. Metoda je ceněna pro svou **přesnost a reprodukovatelnost**, i když její použití je v klinické praxi spíše **cílené na specifické testy** než na rutinní vyšetření.



Zajímavost: Diagnostika cystické fibrózy se provádí coulometricky měřením chloridů v potu. Pokud koncentrace Cl^- přesáhne 60 mmol/l, diagnóza je téměř jistá. Tento jednoduchý elektrochemický test je stále „zlatým standardem“, ačkoli jde o genetické onemocnění.

6 Konduktometrie

Konduktometrie je elektrochemická metoda založená na měření **elektrické vodivosti roztoku**, která závisí na koncentraci a pohyblivosti rozpuštěných iontů. Do roztoku se vkládají dvě elektrody, mezi nimiž prochází **střídavý proud**. Použití střídavého napětí zabraňuje vzniku produktů elektrolýzy na povrchu elektrod, které by jinak zkreslily výsledky. Platí, že čím více iontů je v roztoku přítomno, tím snáze proud prochází a tím vyšší je vodivost. Naměřená hodnota tak poskytuje informaci o **celkovém obsahu iontů**.

V klinické praxi se konduktometrie uplatňuje především při:

- **měření osmolality** moči a séra, které je důležité pro posouzení hydratace organismu, funkce ledvin nebo při sledování některých metabolických poruch,
- **kontrole iontové rovnováhy**, kde změny vodivosti mohou upozornit na patologické stavy.

Díky své jednoduchosti a univerzálnosti patří konduktometrie k metodám, které lze aplikovat na většinu vodných biologických tekutin.

7 Elektrochemická metoda v praxi (Potenciometrická titrace)

V rámci praktických cvičení se seznámíte s elektrochemickou metodou – potenciometrií, a to ve formě potenciometrické titrace. Následující kapitoly se budou zabývat tímto tématem.

7.1 Co je to titrace?

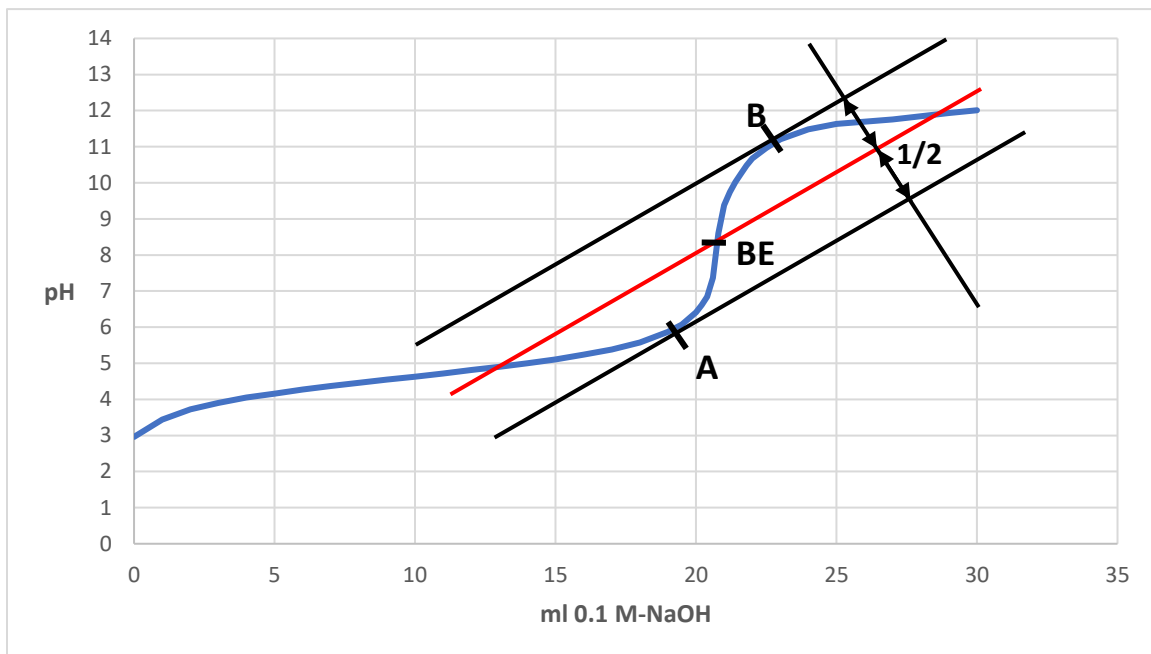
Titrace je klasická kvantitativní analytická metoda, při níž se stanovuje koncentrace analytu (stanovované látky) pomocí přesně známého objemu standardního roztoku titračního činidla (tzv. titračního roztoku). Principem je postupné přidávání titračního činidla do roztoku vzorku až do dosažení ekvivalenčního bodu, tedy okamžiku, kdy je látka ve vzorku chemicky přesně stechiometricky spotřebována. Tento bod se nejčastěji detekuje pomocí vhodného indikátoru (změna barvy) nebo instrumentálně (např. potenciometricky, konduktometricky).

7.2 Spojení potenciometrie a titrace

Potenciometrická titrace je nejběžnějším způsobem objektivního zjišťování **bodu ekvivalence**, tedy bodu, kdy je látkové množství titračního činidla ekvivalentní látkovému množství stanovované látky. Při titraci se spolu s objemem titračního činidla zaznamenává elektromotorické napětí článku tvořeného indikační a referenční elektrodou. Předností je vysoká přesnost, možnost titrace roztoků zabarvených, zakalených a možnost současného stanovení více iontů přítomných v roztoku. Potenciometrické titrace umožňují hlouběji prozkoumat reakční mechanismy a stanovit některé konstanty (např. disociační konstanty kyselin, bazí a konstanty stability komplexů). Významná je také možnost plné automatizace těchto titrací (automatické titrátoři).

Potenciometrická titrace se provádí podobně jako titrace vizuální. Nezbytné intenzivní promíchávání titrovaného roztoku se zajišťuje elektromagnetickou míchačkou. Odměrný roztok se přidává po malých podílech a po každém přidavku a ustálení potenciálu se zaznamená údaj o spotřebě odměrného roztoku titračního činidla a odpovídající elektromotorické napětí nebo pH. U automatických titrátorů zapisovač přímo zakreslí titrační křivku, resp. provede výpočet koncentrace titrované látky.

Křivky mají esovitý průběh, buď klesající nebo rostoucí, s více nebo méně strmou střední částí označovanou jako **potenciálový skok** (největší změna potenciálu). Inflexní bod titrační křivky na její strmé části určuje bod ekvivalence (BE, viz Obr. 1).



Jak bylo zmíněno výše, bod ekvivalence odpovídá inflexnímu bodu na strmé části titrační křivky. Bod ekvivalence můžeme stanovit přesnými matematickými metodami, nebo jednoduše, ale zároveň méně přesně, graficky. Při **grafickém stanovení** se ve středu dolní zakřivené části (bod A) vede ke křivce tečna a s ní rovnoběžná druhá tečna dotýkající se horní zakřivené části křivky (bod B). Středem vzdálenosti mezi tečnami/rovnoběžkami se vede třetí rovnoběžka, která protne titrační křivku v bodě ekvivalence (Obrázek 1).



Poznámka: V inflexním bodě se mění trend tečny (tangenty) k titrační křivce z rostoucího na klesající, tedy v inflexním bodu je tečna titrační křivky nejstrmější. To matematicky znamená, že první derivace titrační křivky má zde nejvyšší hodnotu a druhá derivace se rovná nule.

7.3 Potenciometrická titrace – podmínky měření a možné zdroje chyb

7.3.1 Kalibrace elektrod

Kalibrace elektrod je nezbytným krokem před každým měřením, protože zajišťuje správnou a spolehlivou odezvu elektrody podle Nernstovy rovnice. Kalibrace se provádí pomocí standardních roztoků o známé koncentraci, jejichž hodnoty jsou přesně definovány. U pH elektrod se obvykle používají pufrы s hodnotami pH 4, 7 a 10, které pokrývají celý běžný pracovní rozsah měření. Správná kalibrace umožňuje převést naměřený potenciál na odpovídající koncentraci sledovaného iontu a minimalizuje systematické chyby, které by jinak vedly k nesprávné interpretaci výsledků.

7.3.2 Čistota prostředí a nástrojů:

Každá nečistota na povrchu elektrody představuje riziko chybného výsledku. Zbytky vzorku, bílkoviny nebo soli mohou pokrývat membránu elektrody a bránit správnému kontaktu s roztokem. To vede k pomalé odezvě nebo nestabilnímu potenciálu.

Proto se elektrody po každém měření oplachují destilovanou vodou a pravidelně se čistí speciálními roztoky dle doporučení výrobce. Důležité je i jejich skladování – například pH elektrody musejí být uchovávány v roztoku KCl, který brání vysychání membrány a udržuje vhodné iontové prostředí. Pokud elektroda vyschne, její funkce je často nenávratně poškozena.

7.3.3 Vliv teploty:

Vliv teploty představuje významný faktor ovlivňující potenciometrická měření. Teplota totiž mění elektrochemické rovnováhy a zároveň přímo vstupuje do Nernstovy rovnice, v níž vystupuje jako veličina T (absolutní teplota). Kolísání teploty proto může vést k posunům v naměřených hodnotách a k chybné interpretaci výsledků.

7.3.4 Možné Interference a chyby vzorku:

Možné interference a chyby vzorku patří mezi časté příčiny nepřesností v potenciometrických měřeních. Tyto chyby mohou mít různý původ a lze je rozdělit do několika skupin:

- **Biologické interference** – vznikají změnami v samotném vzorku. Typickým příkladem je **hemolýza**, kdy uvolnění intracelulárního draslíku z erytrocytů vede k falešně zvýšeným koncentracím K^+ .
- **Chemické interference** – jsou způsobeny cizorodými látkami ve vzorku. Například **kontaminace moči dezinfekcí** může zkreslit naměřené pH, nebo přítomnost léčiv a jejich metabolitů může ovlivnit odezvu elektrody.
- **Fyzikální interference** – souvisí s vlastnostmi prostředí. **Změny iontové síly roztoku** ovlivňují potenciál na rozhraní elektrody a roztoku, zatímco **vzduchové bubliny** mohou mechanicky bránit kontaktu elektrody se vzorkem a způsobovat nestabilní hodnoty

Shrnutí

Elektrochemické metody umožňují propojit chemické reakce s elektrickými signály a tím stanovit koncentrace iontů či dalších analytů v biologických tekutinách. Nejvýznamnější metodou je potenciometrie, založená na měření napětí mezi indikační a referenční elektrodou. Speciálním případem je pH metrie, která je klíčová pro hodnocení acidobazické rovnováhy. Potenciometrie se v praxi využívá zejména pro stanovení elektrolytů (Na^+ , K^+ , Cl^- , Ca^{2+}) a pH, v kombinaci s dalšími metodami pak k měření krevních plynů (pO_2 , pCO_2). Coulometrie se uplatňuje v diagnostice cystické fibrózy, amperometrie u glukometrů. Potenciometrická titrace umožňuje přesné stanovení bodu ekvivalence. Správná interpretace výsledků vyžaduje znalost možných zdrojů chyb (hemolýza, teplota, kontaminace vzorku, nevhodná kalibrace). Tyto metody tvoří základ rutinní laboratorní diagnostiky a jsou nezastupitelné zejména v intenzivní péči.

Kontrolní otázky

1. Jaký je rozdíl mezi indikační a referenční elektrodou?
2. Jak funguje skleněná elektroda při měření pH?
3. Jaký je rozdíl mezi potenciometrií a amperometrií?
4. Jaké elektrochemické metody se využívají při měření pH, pCO_2 a pO_2 v krvi?
5. Proč je důležité měřit koncentrace Na^+ a K^+ v plazmě?
6. Jaké výhody má potenciometrická titrace oproti klasické titraci s indikátorem?
7. Jaké jsou nejčastější chyby a interference při potenciometrickém měření?