

# Elektrochemické analytické metody

Základy elektrochemie

Potenciometrie

Voltametrie a Polarografie

Amperometrie

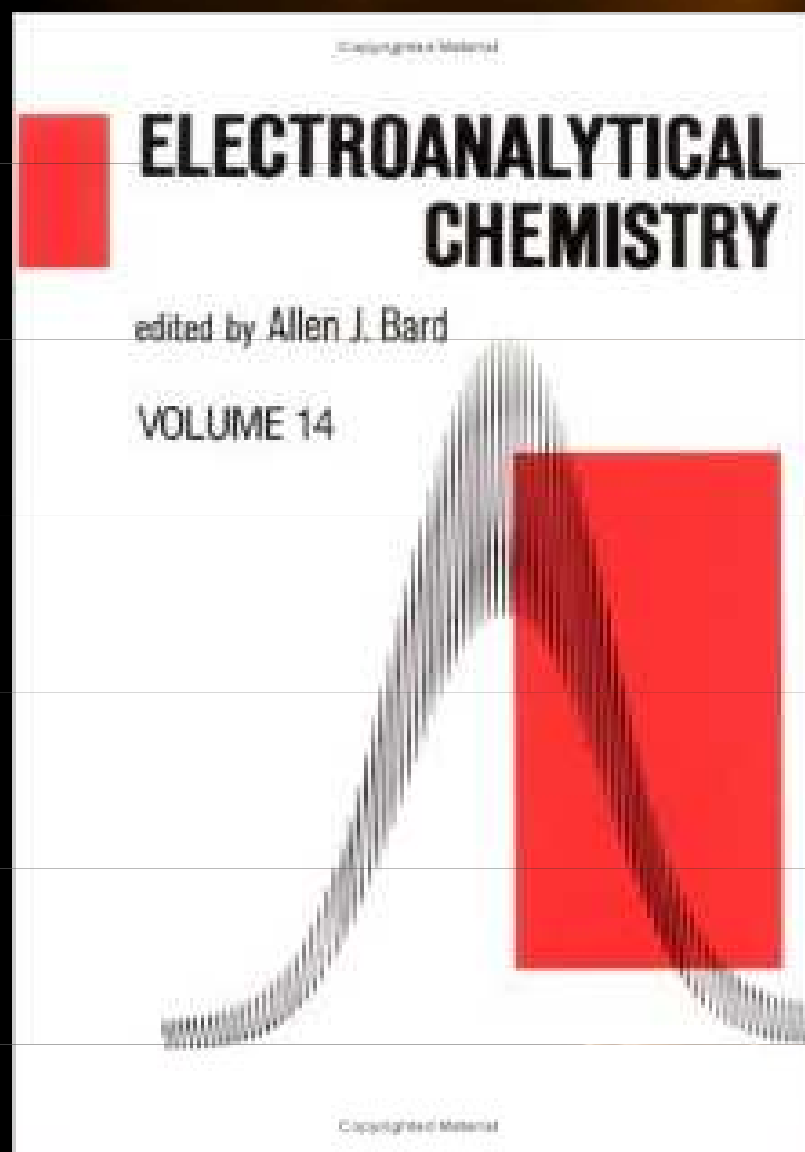
Coulometrie

Konduktometrie

Biosenzory

**Ondřej Wiewiorka**

# Co je to elektroanalýza?



# Elektrochemie

Obor zabývající se studiem chemických reakcí mezi elektrodami a elektrolytem

Základem je práce s elektrodami a elektrochemickými články.

**Elektroda** = homogenní či heterogenní vodivý materiál, který je v kontaktu s roztokem elektrolytu (zprostředkovávají přenos elektronů mezi poločlánky)

**Elektrolyt** = roztok schopný vést elektrický proud

**Elektrochemický článek se skládá ze dvou poločlánků, tvořených alespoň dvěma elektrodami**

**V každém poločlánku se nachází oxidovaná a redukováná složka, které spolu vytvářejí redoxní pár – při ponoření kovové elektrody do roztoku iontů stejného kovu dojde k ustanovení rovnováhy na jejím povrchu.**

vytěsňují vodík z kyselin

Li K Ca Na Mg Al Mn Zn Cr Fe Ni Sn Pb H<sub>2</sub> Cu Ag Hg Pt Au

neušlechtilé kovy

ušlechtilé kovy

# Oxidace a redukce

- **Oxidace** je děj, při kterém dochází ke zvyšování oxidačního čísla částice

**ANODA**



- **Redukce** je děj, při kterém dochází ke snižování oxidačního čísla částice

**KATODA**



# Obecná Nernstova-Petersova rovnice

$$E = E^0 - \frac{RT}{\nu F} \ln \frac{a_{red}}{a_{ox}}$$

**E** – elektrodový potenciál elektrody

**E<sup>0</sup>** - standardní elektrodový potenciál

**R** – universální plynová konstanta (8,314 J/K/mol)

**T** – absolutní teplota

**ν** - počet vyměněných elektronů

**F** – Faradayova konstanta (96485 C/mol)

**a** - aktivita oxidované nebo redukované formy

# Jednoduché elektrody (dle konstrukce)

I. Druhu – Kov ponořený do roztoku svých iontů (Ag elektroda detekuje  $\text{Ag}^+$ )

II. Druhu – Sraženina na povrchu kovu v roztoku aniontů sraženiny (argentchloridová el. detekuje  $\text{Cl}^-$ )

Redoxní – Inertní kov (Pt, Au) umožňující redoxní výměnu na svém povrchu

Iontově selektivní (membránové) – elchem. potenciál je ovlivňován jen skupinou iontů

# Kombinované elektrody (dle konstrukce)

Skládají se ze 2-3 jednoduchých elektrod a tvoří celý elektrochemický článek





# Elektrody (dle využití)

## Referenční elektrody (porovnávací, vztažné) konstantní potenciál

vodíková elektroda	( $E = 0 \text{ V}$ )	Pt/proud $\text{H}_2$
kalomelová elektroda	( $E = 0,242 \text{ V}$ )	Hg/kalomel
argentchloridová elektroda	( $E = 0,197 \text{ V}$ )	Ag/AgCl
merkurosulfátová	( $E = 0,653 \text{ V}$ )	Hg/ $\text{SO}_4$

## Indikační elektrody (měřící)

Nejčastěji ISE elektrody

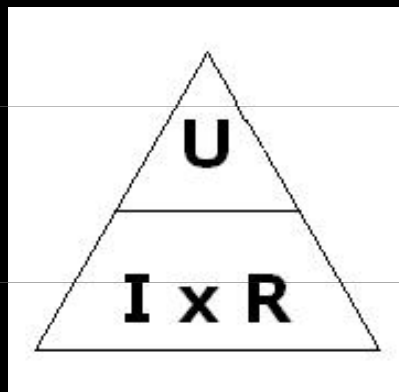
skleněná elektroda ( $\text{H}^+ = \text{pH}$ ,  $\text{Na}^+$ )

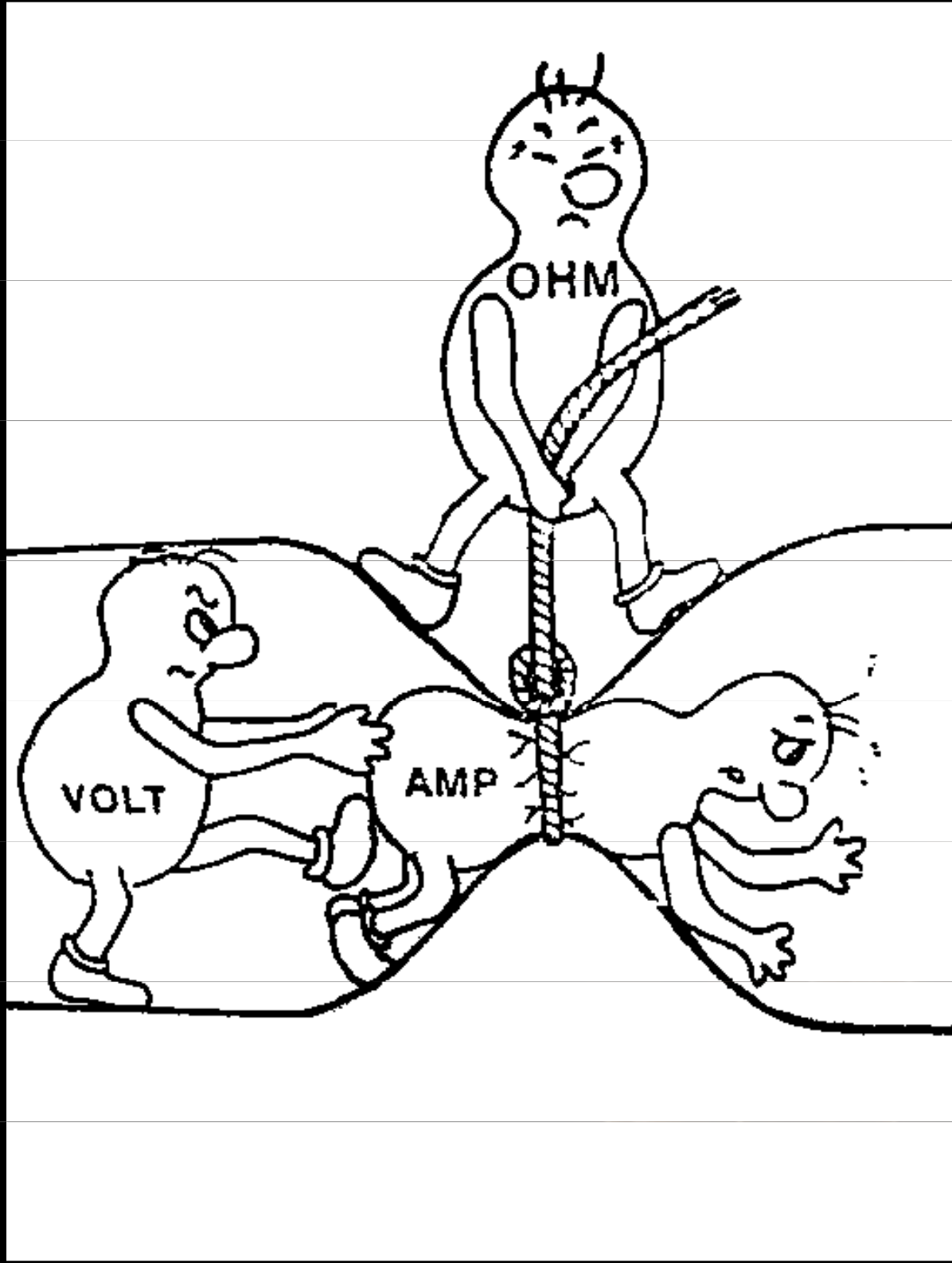
PVC membránové elektrody ( $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Li}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{CO}_2$ )

Redoxní elektroda (Pt plíšek)

# Měřené elektrické veličiny

- Napětí (potenciometrie)
- Proud (polarografie, voltametrie)
- Náboj (coulometrie)
- Vodivost (konduktometrie)





# Měřené analyty

- pH, pCO<sub>2</sub>, pO<sub>2</sub>
- K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup>, Li<sup>+</sup>, Ca<sup>+</sup>, Mg<sup>+</sup>
- Glukóza, laktát, močovina, kreatinin, ...
- Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Li<sup>+</sup>, ...
- Čistota vody
- Metanefríny, katecholaminy, ...

# Potenciometrie

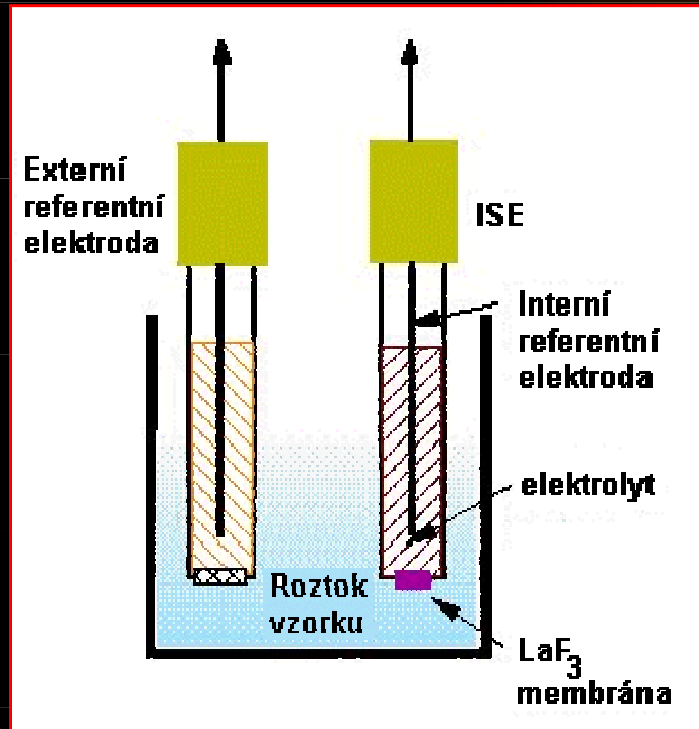
Potenciometrie je elektroanalytická metoda založená na měření rozdílu elektrického potenciálu (napětí) mezi dvěma elektrodami (oxidačně-redukční reakce) při nulovém elektrickém proudu.

# Iontově selektivní elektrody (ISE)

Membrány s iontově-výměnnými místy

- Skleněné ( $\text{H}^+$ ,  $\text{Na}^+$ )
- S polymerní membránou ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{NH}_3$ )
- Kapalné ( $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ )
- Krystalické

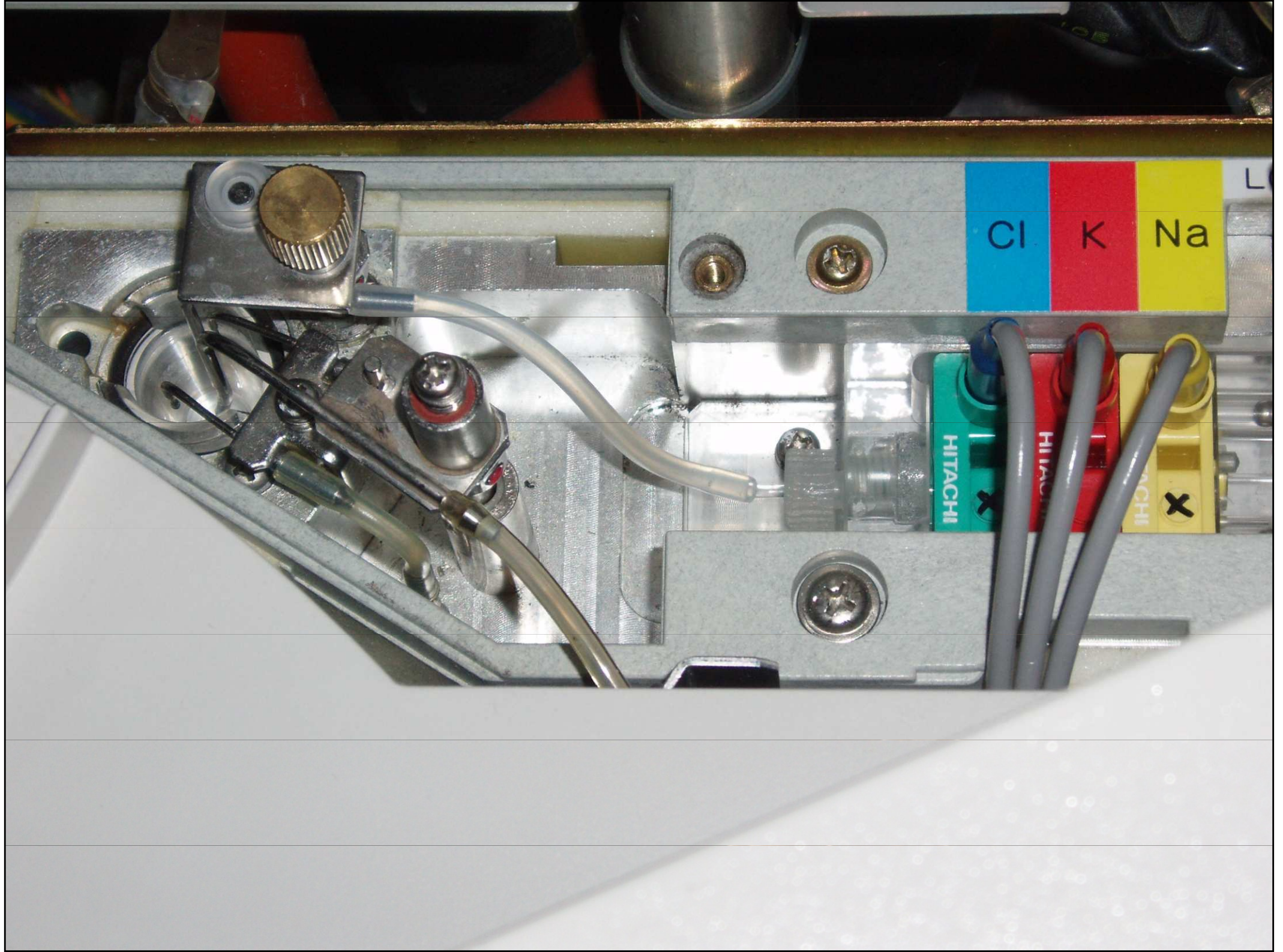
# Iontově selektivní elektrody



**Selektivitou** ISE se rozumí, že membránový potenciál není závislý jen na aktivitě jediné elektricky nabitě částice v proměřovaném roztoku, ale že na jeho hodnotě se mohou podílet i další ionty.

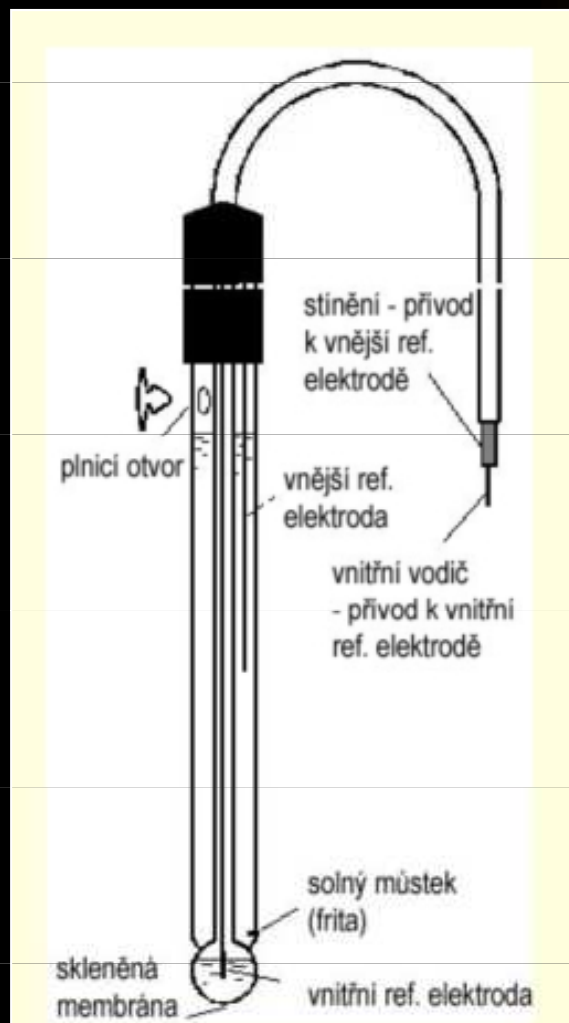
Měřicí systém (článek) tvoří:

- ❖ ISE (měřicí) elektroda
- ❖ Srovnávací (referenční) elektroda





# Měření pH, skleněná elektroda



**Skleněná elektroda** je tvořena tenkou skleněnou membránou, která z jedné strany obsahuje argentchloridovou elektrodu a pufr o konstantní hodnotě pH a z druhé strany je prostředí měřeného vzorku.

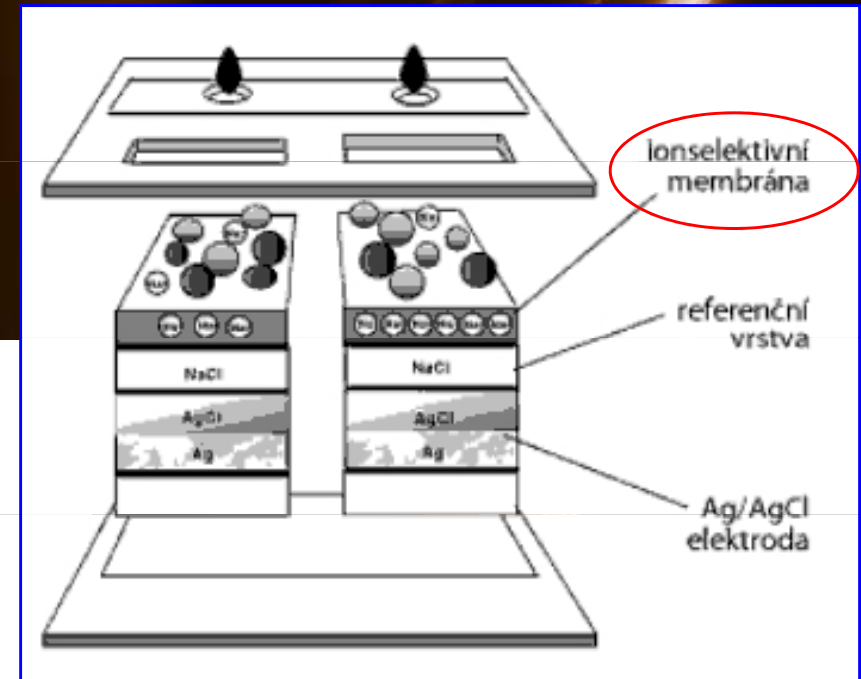
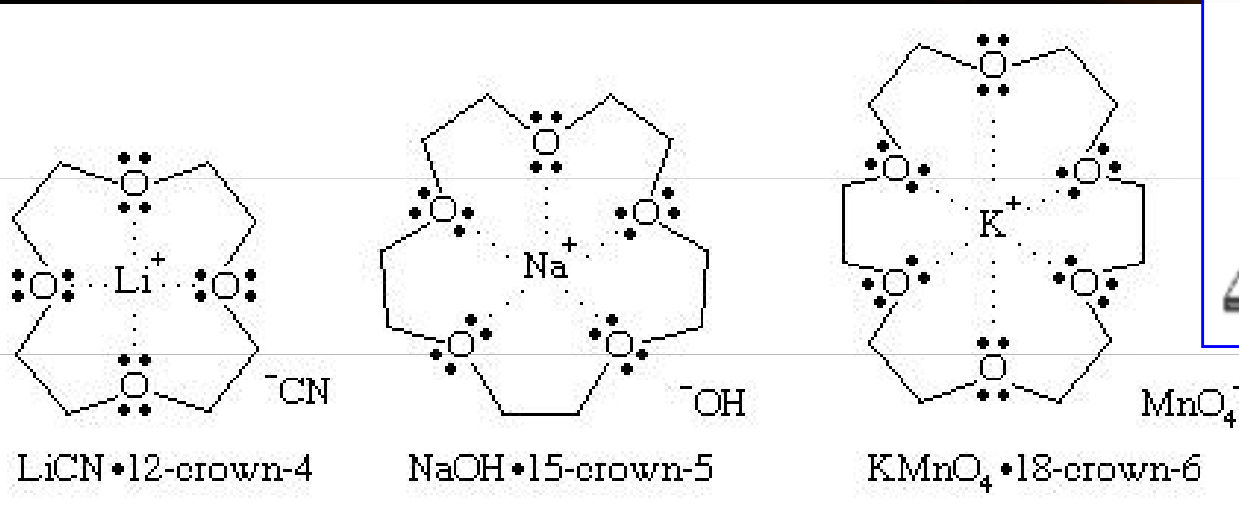
Na fázových rozhraních vzniknou potenciálové rozdíly, které se měří pomocí měrné elektrody a jsou srovnány s referenční elektrodou

**Potenciál vzniká výměnou iontů mezi roztokem a membránou** (iontově selektivní elektroda, ISE).



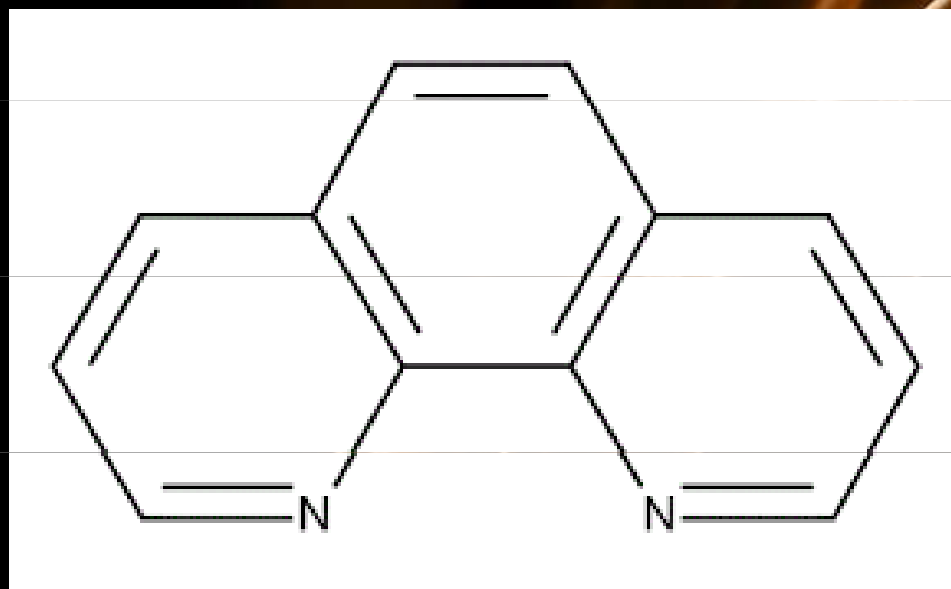
# ISE: stanovení $\text{Na}^+$

- ✓ Skleněná elektroda
- ✓ Dále se používají tzv. „crown“ étery integrované do plastové membrány
- ✓ Směs několika ionoforů („koktail“)



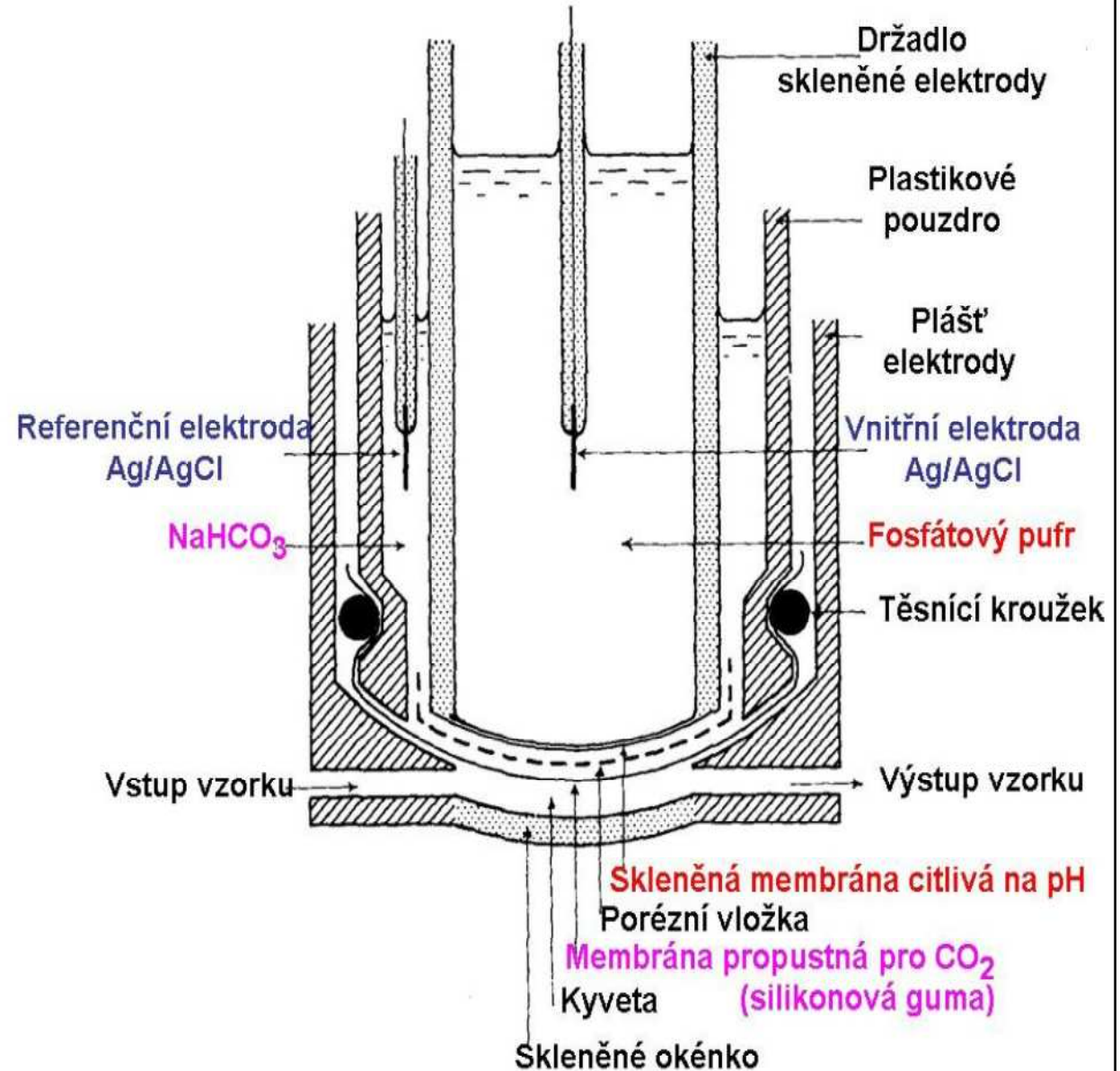
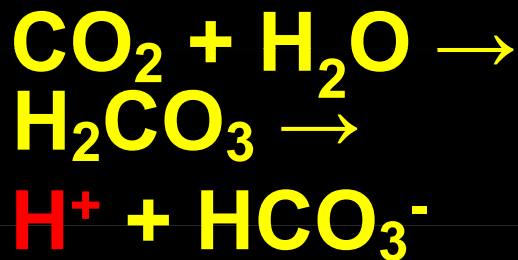
# ISE: stanovení Cl<sup>-</sup>

- ✓ Nejvíce používaná je iontově-výměnná membrána obsahující kvartérní amoniovou sůl jako anex, např. tri-n-oktylpropylamoniumchlorid v n-dekanolu.
- ✓ Kapalná membrána může obsahovat také *o*-fenantrolin.
- ✓ Méně časté jsou chloridové elektrody s pevnou membránou, obsahující AgCl zapuštěný v lůžku z epoxidové pryskyřice či silikonového kaučuku



# Elektroda na měření CO<sub>2</sub> (Severinghaus)

- Modifikovaná pH elektroda
- Skleněná elektroda oddělena od měřeného prostředí membránou propouštějící CO<sub>2</sub>



# Voltametrie a polarografie

Jsou to elektroanalytické metody založená na měření změn proudu při změně potenciálu indikačních elektrod.

$$\Delta I = \Delta U / R$$

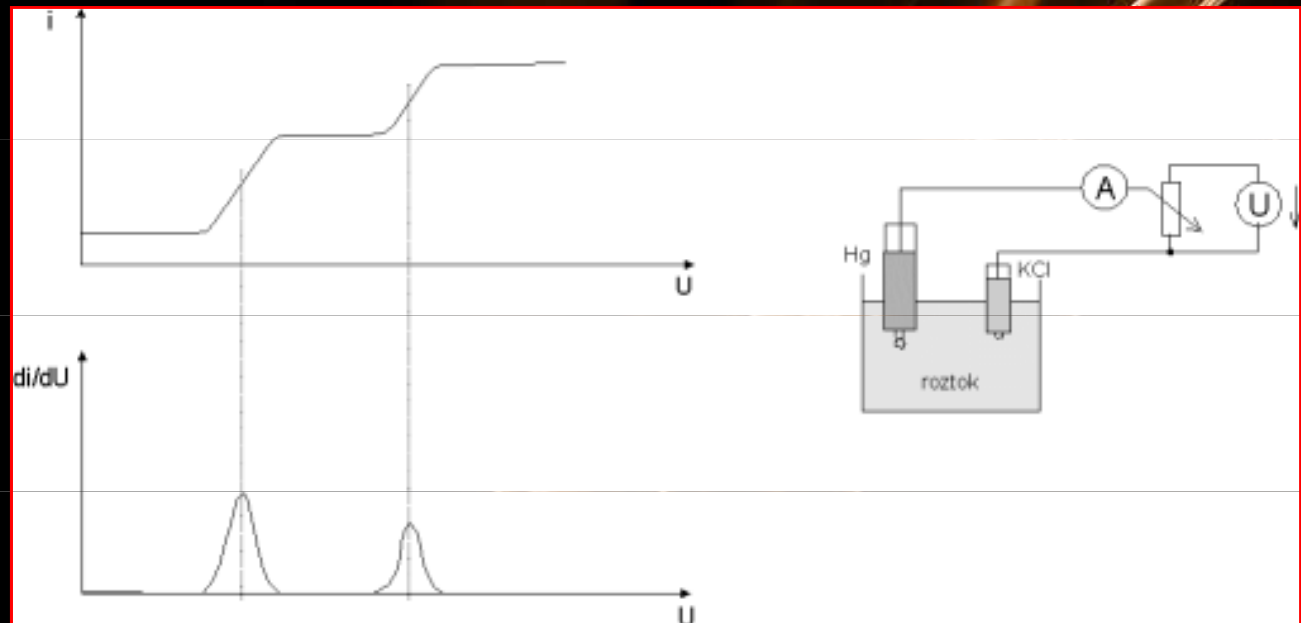
Využívá skutečnosti, že některé látky mohou být oxidovány nebo redukovány na inertní kovové elektrodě, na kterou je vložen elektrický potenciál, ten způsobí buď oxidaci nebo redukci, výsledkem je změna elektrického proud, který se měří.

Princip voltametrie je stejný jako u polarografie (liší se konstrukcí měřící cely a elektrod)

# Prof. Ing. Jaroslav Heyrovský

objevitel polarografie

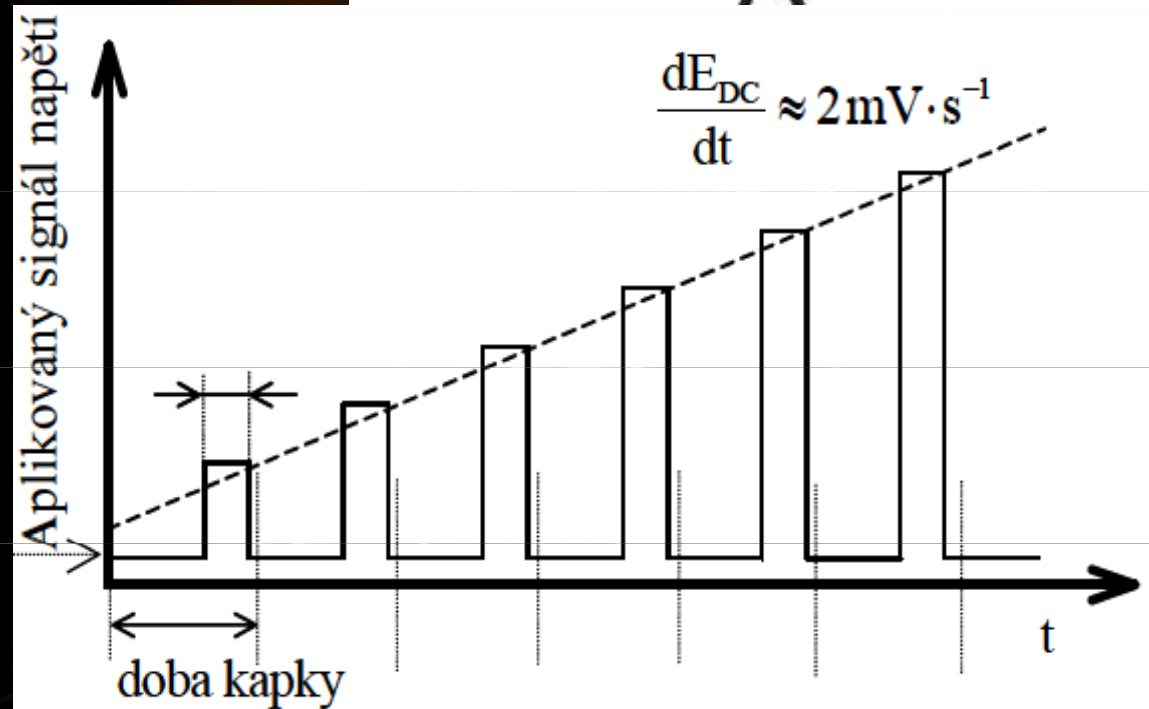
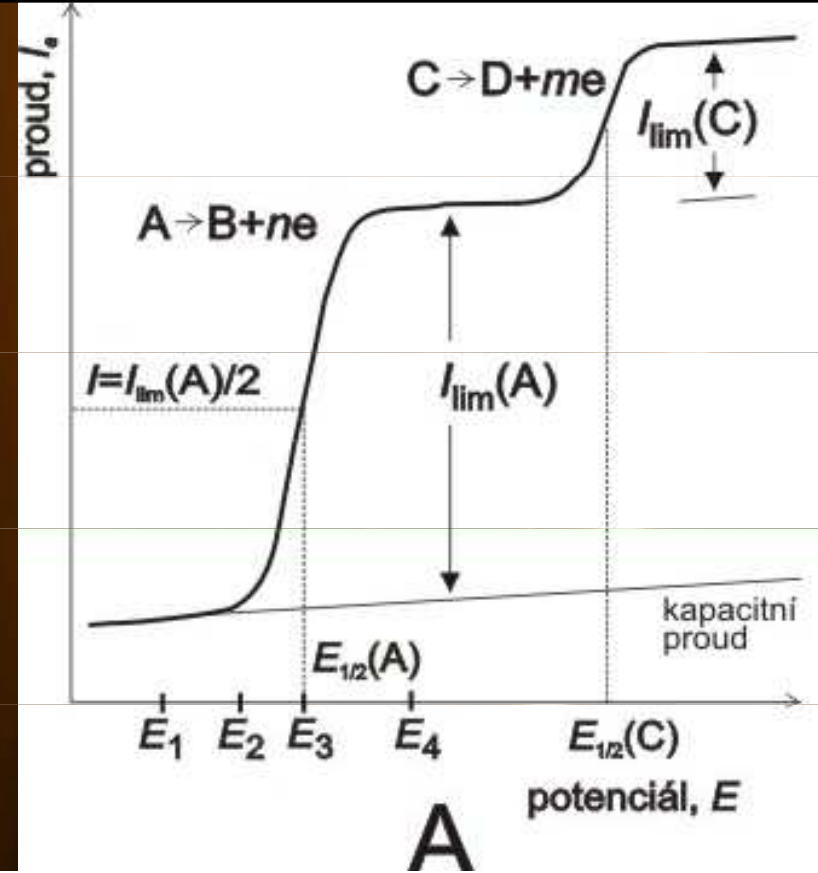
za svůj objev z roku 1922  
obdržel v roce 1959 Nobelovu cenu





K náhlému zvýšení proudu dochází při dosažení rozkladného napětí stanovovaného iontu v analyzovaném roztoku.

Napětí je zvyšováno postupně a lineárně, nebo pulzně

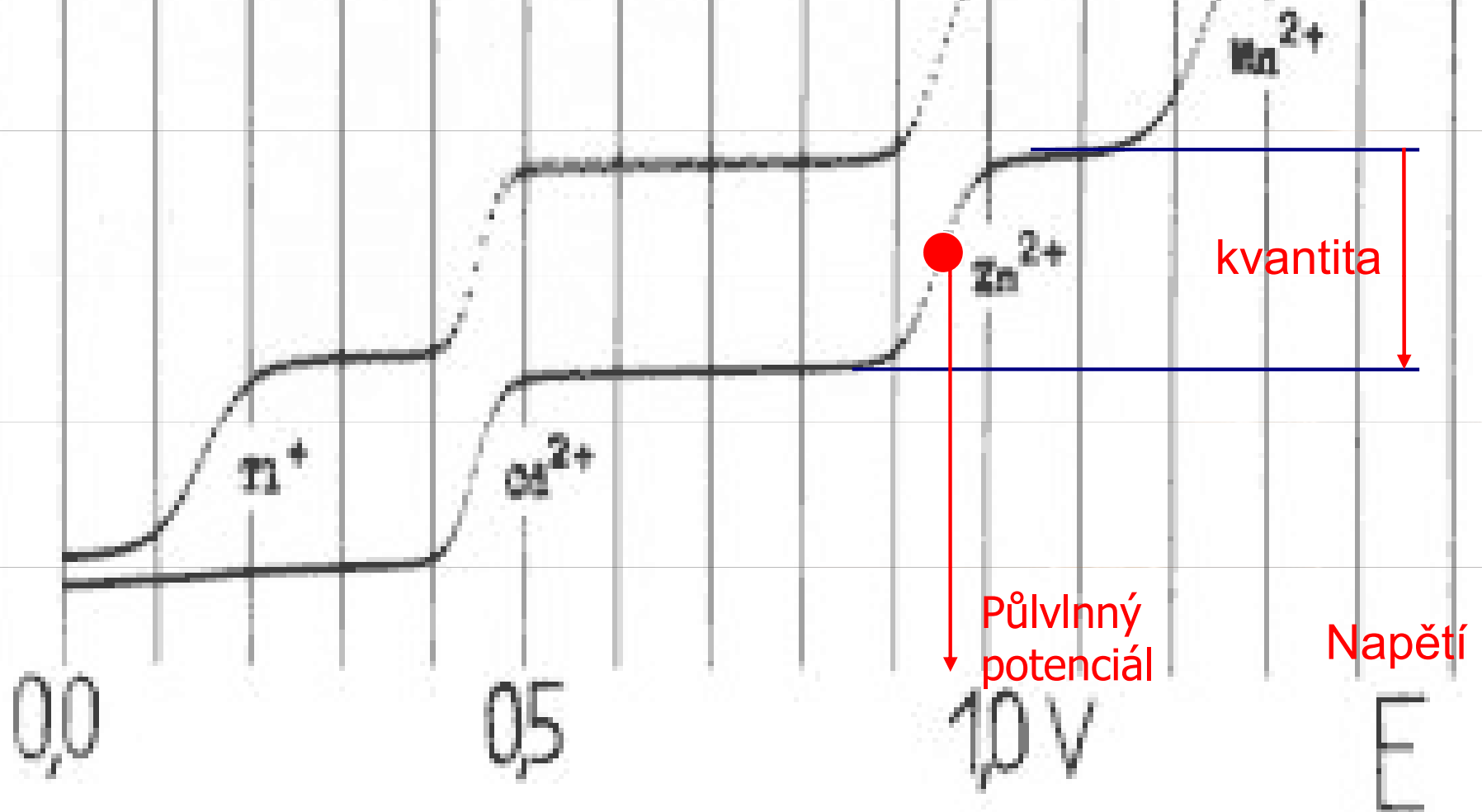


Proud

$i$

Polarografická křivka (polarogram)

kvalitativní i kvantitativní stanovení



## ***Klasická voltametrie***

*Identita analytu je rozlišena půlvlnným potenciálem a koncentrace výškou vlny nebo píku*

## ***Stripovací voltametrie***

analyt je na elektrodu nabalen elektrolýzou – (dochází k zakoncentrování a snížení limitu detekce) a analyt je následně stanoven klasickou voltametrií

## ***Diferenční pulzní voltametrie***

na elektrodu vkládáme časově krátké napěťové pulzy a měříme proud pouze v určitých časových úsecích, takže nedochází k nabíjení elektrod

**Cyklická voltametrie** – sleduje elektrochemické chování látek (oxidaci i redukci během jednoho běhu; spíše pro výzkumné účely)

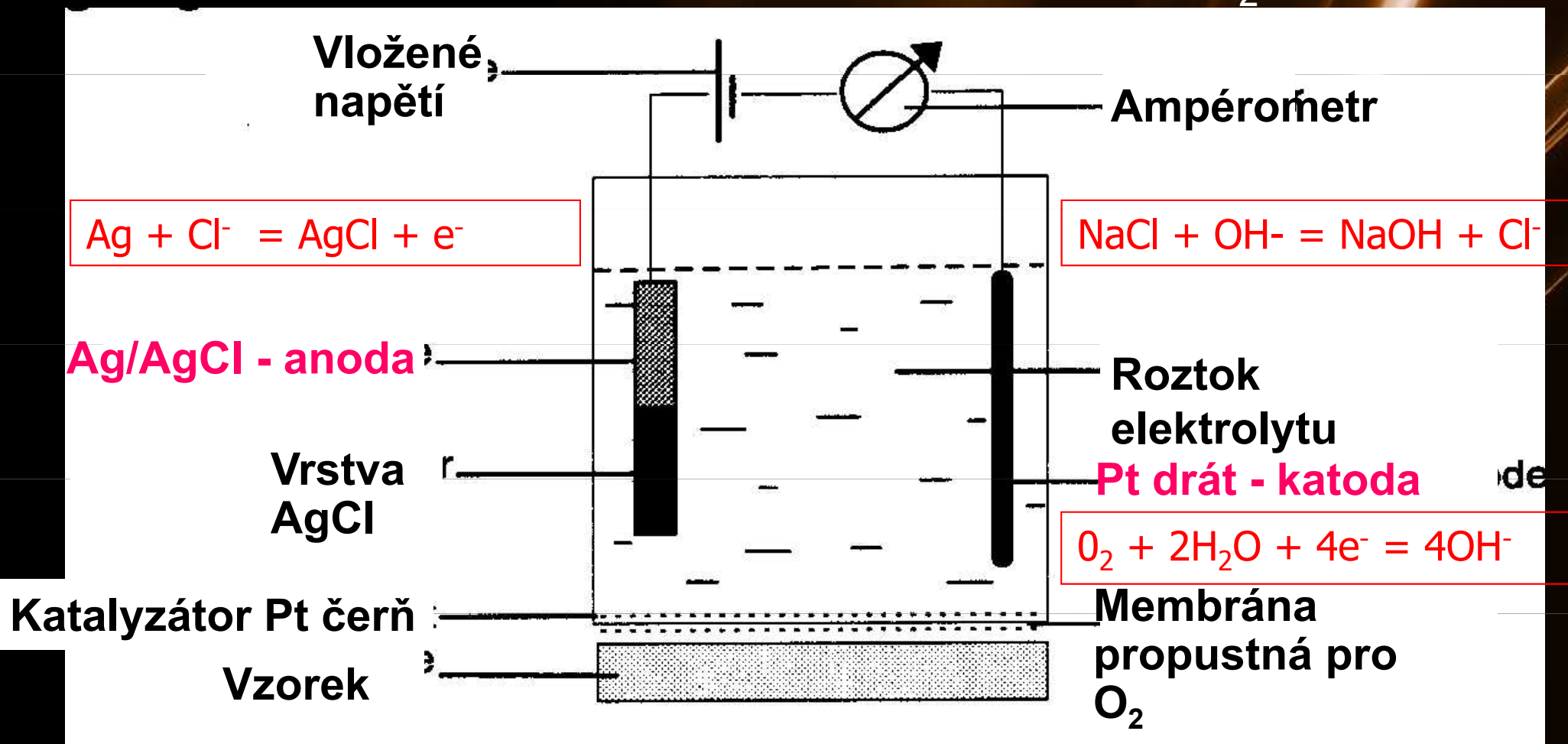
# Amperometrie

Amperometrie je elektroanalytická metoda založená na měření elektrického proudu při konstantním napětí.

Napětí je nastavené (+) pro oxidaci analytu nebo (-) pro jeho redukci a odpovídá rozkladnému napětí analytu ( $\sim$  půlvlnnému potenciálu u voltametrie)

# Kyslíková elektroda – měření O<sub>2</sub> (Clark)

- Měření proudu za konstantního potenciálu  
(-630mV = redukční potenciál O<sub>2</sub>)
- Proud je mírou koncentrace stanovovaného analytu  
(změna proudu je úměrná počtu molekul O<sub>2</sub>)



# Coulometrie

Coulometrie je elektroanalytická metoda, při které se **měří velikost elektrického náboje** (Q, coulomb) procházející mezi dvěma elektrodami.

Velikost elektrického náboje je přímo úměrná oxidaci nebo redukci stanovované látky na jedné z elektrod. Přenesený náboj je úměrný množství stanovované látky (vychází z 1. a 2. Faradayova zákona)

$$Q = z \cdot a \cdot F$$

Q (množství přeneseného elektrického náboje)  
z (počet přenesených elektronů při redox reakci)  
a (množství stanovované látky v molech)  
F (Faradayova konstanta, 96487 C/mol)

# Příklad: Stanovení chloridů (coulometricky)

**Anoda: Ag** (přeměna/oxidace Ag na  $\text{Ag}^+$ )

**Katoda: Pt** (redukce  $\text{H}^+$  na plynný vodík)

Mezi anodu a katodu je vložen konstantní proud ( $I$ ):  
potom  $Q = I \cdot t$

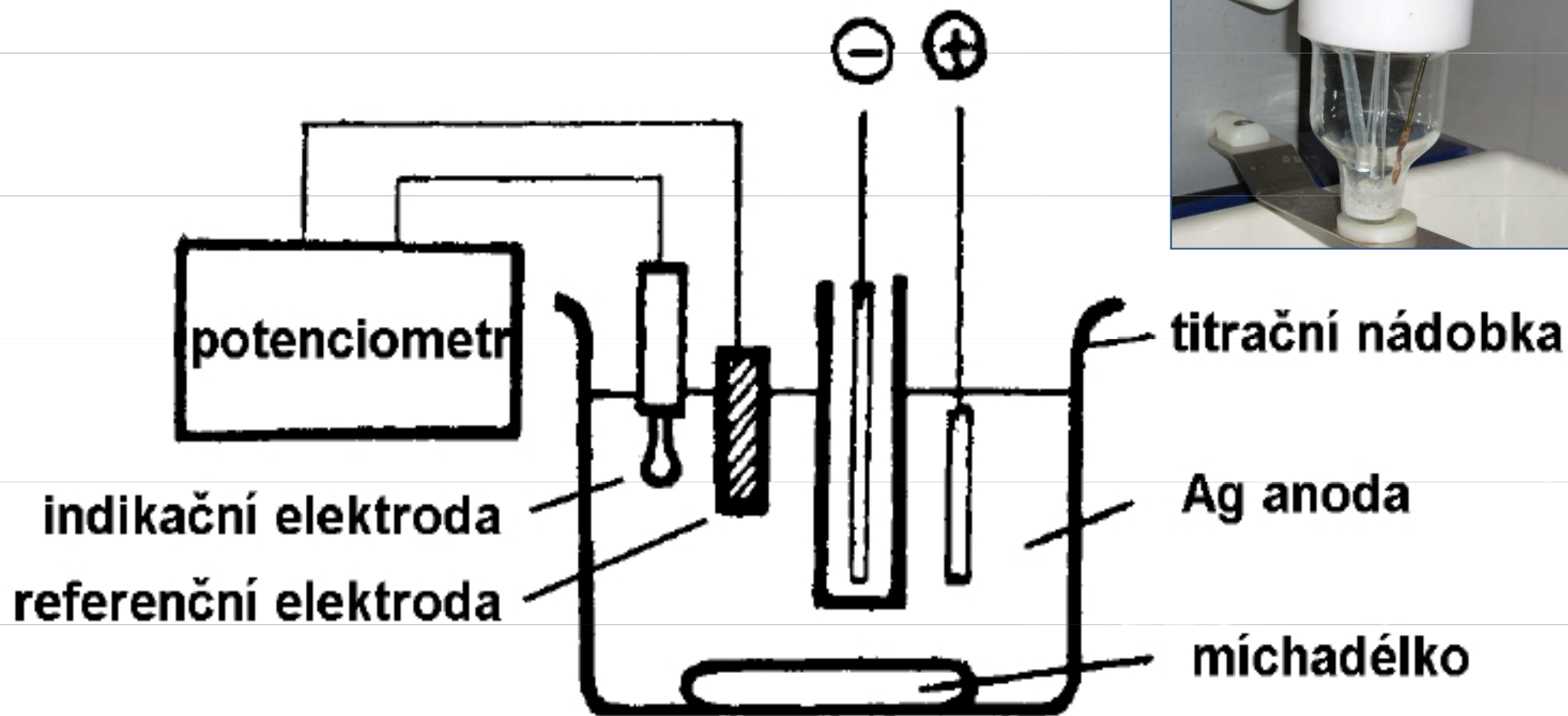
(coulomb = ampéry . čas)

Uvolněné  $\text{Ag}^+$  z anody reagují s  $\text{Cl}^-$  v analyzovaném vzorku  
za vzniku  $\text{AgCl}$  ( $\text{Ag}^+ + \text{Cl}^- \rightarrow \text{AgCl}$ )

V okamžiku, kdy jsou všechny  $\text{Cl}^-$  vázány v  $\text{AgCl}$ , dojde k  
prudkému nárůstu proudu způsobenému uvolněnými  $\text{Ag}^+$ ,  
titrace se zastaví.

Koncentrace  $\text{Cl}^-$  se vypočítá z doby titrace (času)

# Chloridový titrátor- schema měření





# Konduktometrie

Konduktometrie je elektroanalytická metoda, která umožňuje **měřením vodivosti** mezi dvěma elektrodami stanovovat koncentraci rozpuštěných látek.

Vodivost závisí na:

- koncentraci rozpuštěných látek v roztoku
- teplotě
- ploše a vzdálenosti elektrod

Vodivost ( $G$ ) je reciproká hodnota odporu ( $G = 1/R$ )

Jednotka: S (siemens)

Elektrický proud je úměrný vodivosti

Ohmův zákon

$$R = \frac{U}{I}$$

# Určení měrné vodivosti



- Dvě Pt-elektrody v konstantní vzdálenosti
- Vodivostní nádobka
- Aby při průchodu elektrického proudu roztokem nedocházelo současně k polarizaci elektrod (způsobuje zdánlivé zvýšení odporu) nebo k elektrolyze, vkládá se na elektrody **střídavé napětí**
- Ke kalibraci se obvykle používají roztoky KCl (0,01 mol/l KCl;  $t = +18^{\circ}\text{C}$ ;  $0,1211 \text{ S}\cdot\text{m}^{-1}$ )

# Měrná vodivost

Jednotka:  $S \cdot m^{-1}$  (siemens/metr )

Použití: kontrola čistoty vody

destilovaná  $H_2O$   $1 \mu S \cdot m^{-1}$

$H_2O$  pro HPLC  $0,1 \mu S \cdot m^{-1}$

počítání krevních buněk v průtokových cytometrech (hematologie)

Erytrocyty mají nižší vodivost  
oproti plazmě



# Biosenzory

**Biosenzor** je analytický přístroj, obsahující bioreceptor a fyzikálně-chemický převodník.

Biokatalytické (enzymatické)

Bioafinitní (imunosenzory)

**Převodník** (elektrochemický, optický, hmotnostní, kalorimetrický)



# Biosenzory: stanovení glukózy



*glukózaoxidáza (GOD)*



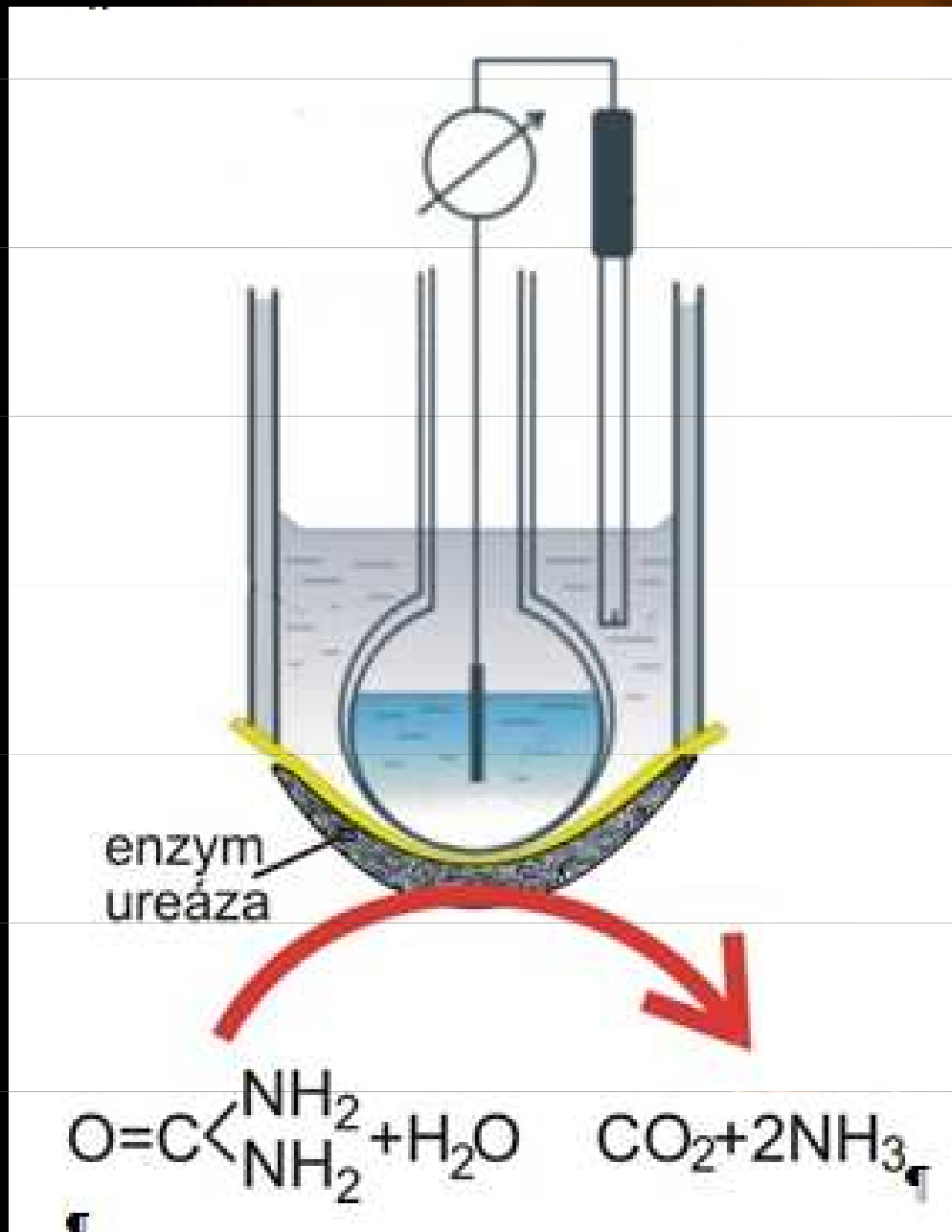
## 1. Stanovení $\text{H}_2\text{O}_2$

- přímá oxidace leukobází na barevné produkty
- oxidační kopulace mezi aromatickými aminy a fenoly katalyzovaná peroxidázou (POD)
- elektrooxidace  $\text{H}_2\text{O}_2$  - ampérometrická detekce signálu

## 2. Měření úbytku $\text{O}_2$ – ampérometrická detekce pomocí Clarkovy elektrody

Ampérometrické měření signálu s novými elektronovými akceptory elektronů místo kyslíku, tzv. mediátory (ferroceny, chinony)

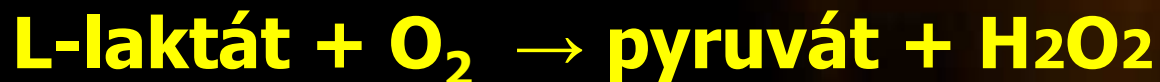
# Stanovení močoviny



# Stanovení laktátu

## a) Amperometrie

Měrná elektroda je potažena laktát oxidázou (odtud název „laktátová“ elektroda). Při konstantním potenciálu (přepětí) je vzniklý proud úměrný koncentraci peroxidu vodíku.



Elektroda je vlastně modifikací Clarkovy kyslíkové elektrody.

Laktátový senzor obsahuje většinou čtyři elektrody:

- platinovou měrnou elektrodu potaženou laktát oxidázou
- srovnávací argentchloridovou elektrodu
- platinovou elektrodu určenou ke stabilizaci konstantního potenciálu
- platinovou elektrodu bez enzymu sloužící ke stanovení interferujících látek

# Glukosový a laktátový analyzátor EBIO plus - Eppendorf

