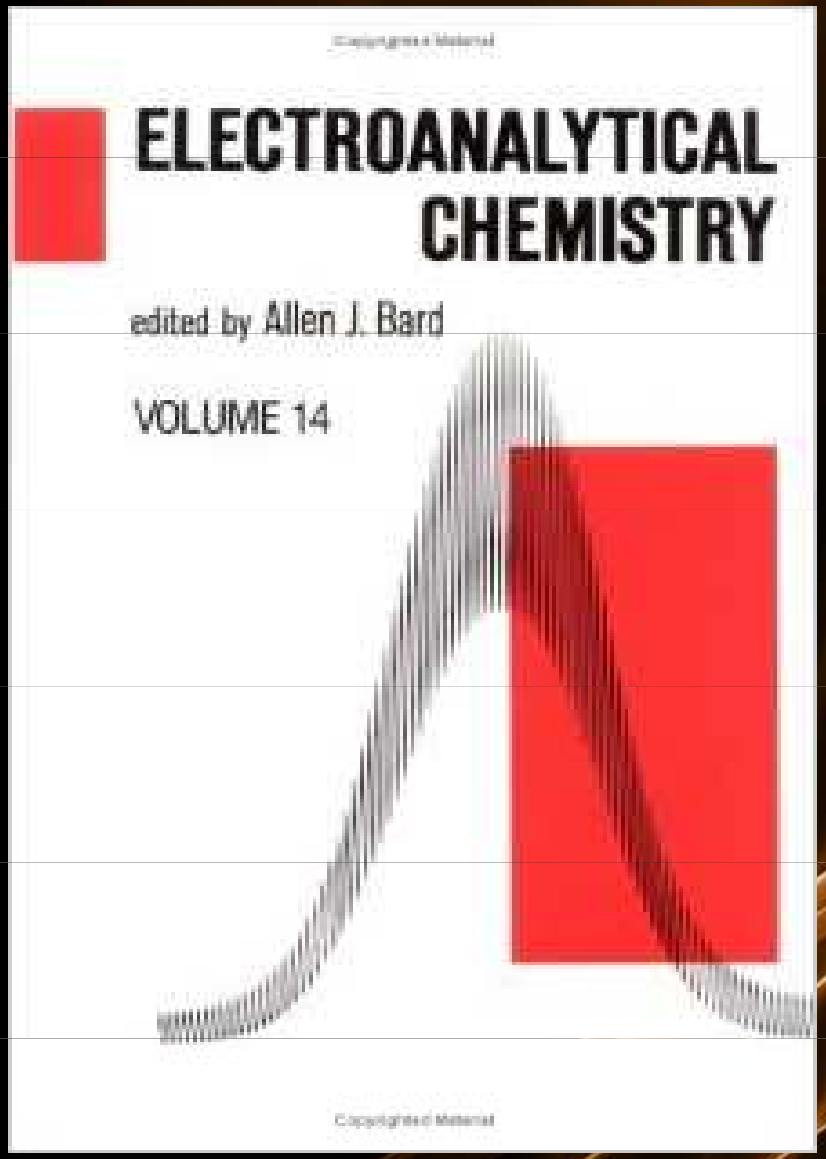
Elektrochemické analytické metody

Základy elektrochemie
Potenciometrie
Voltametrie a Polarografie
Amperometrie
Coulometrie
Konduktometrie
Biosenzory

Co je to elektroanalýza?



Elektrochemie

Obor zabývající se studiem chemických reakcí mezi elektrodami a elektrolytem

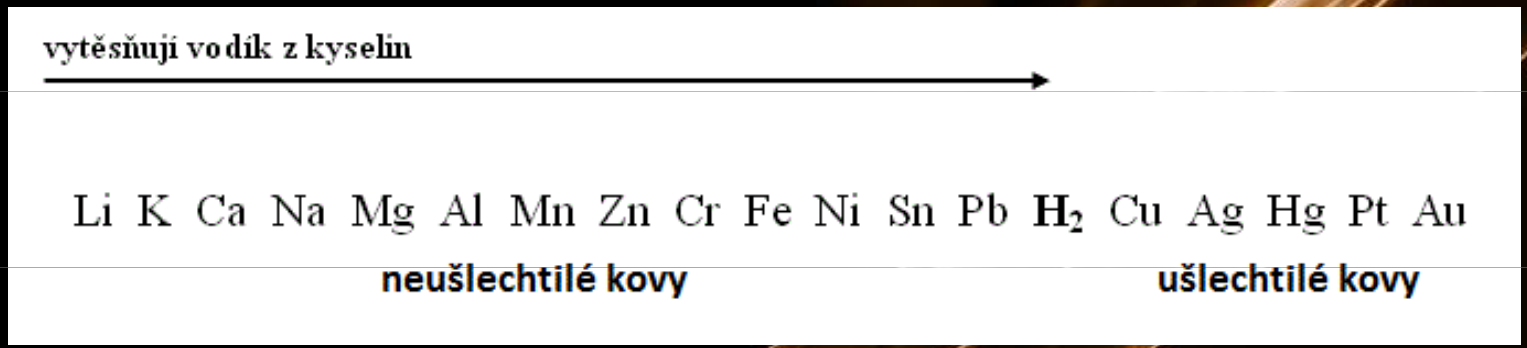
Základem je práce s elektrodami a elektrochemickými články.

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 redukovaná složka, které spolu vytvářejí redoxní pár – při ponoření kovové elektrody do roztoku iontů stejného kovu dojde k ustanovení rovnováhy na jejím povrchu.



Oxidace a redukce

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

ANODA např. $Fe^{2+} \rightarrow Fe^{3+} + e^-$

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

KATODA např. $Fe^{3+} + e^- \rightarrow Fe^{2+}$

Obecná Nernstova-Petersova rovnice

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

E – elektrodový potenciál elektrody
E^0 - 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 Ag^+)

II. Druhu – Sraženina na povrchu kovu v roztoku aniontů sraženiny (argentchloridová el. detekuje 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 V)	Pt/proud H_2
kalomelová elektroda	(E = 0,242 V)	Hg/kalomel
argentchloridová elektroda	(E = 0,197 V)	Ag/AgCl
merkurosulfátová	(E = 0,653 V)	Hg/SO4

Indikační elektrody (měřící)

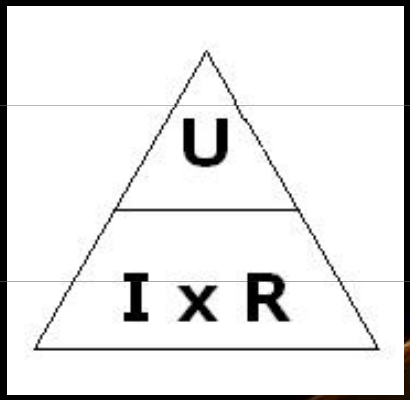
Nejčastěji ISE elektrody

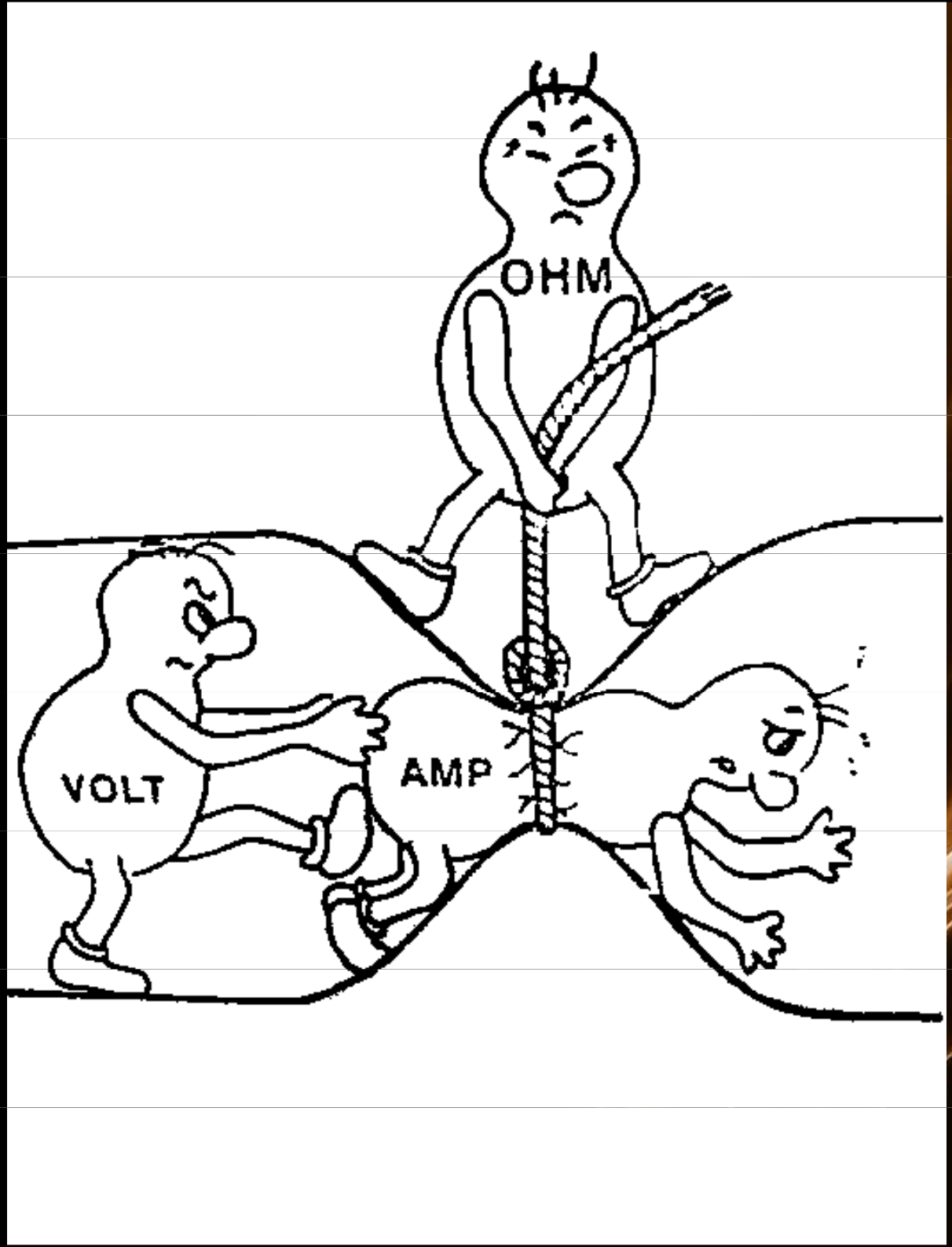
- skleněná elektroda (H^+ = pH, Na^+)
- PVC membránové elektrody (K^+,Na^+,Ca^{2+},Mg^{2+},Li^+,Cl^-, CO_2)

Redoxní elektroda (Pt plíšek)

Měřené elektrické veličiny

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




OHM
VOLT
AMP

Měřené analyty

- pH, pCO_2, pO_2
- K+, Na+, Cl-,
- Glukóza, laktát, močovina, kreatinin,…
- Ca^{2+}, Mg^{2+}, Li^{+}, …
- Čistota vody
- Metanefríny, katecholaminy, …

Potenciometrie

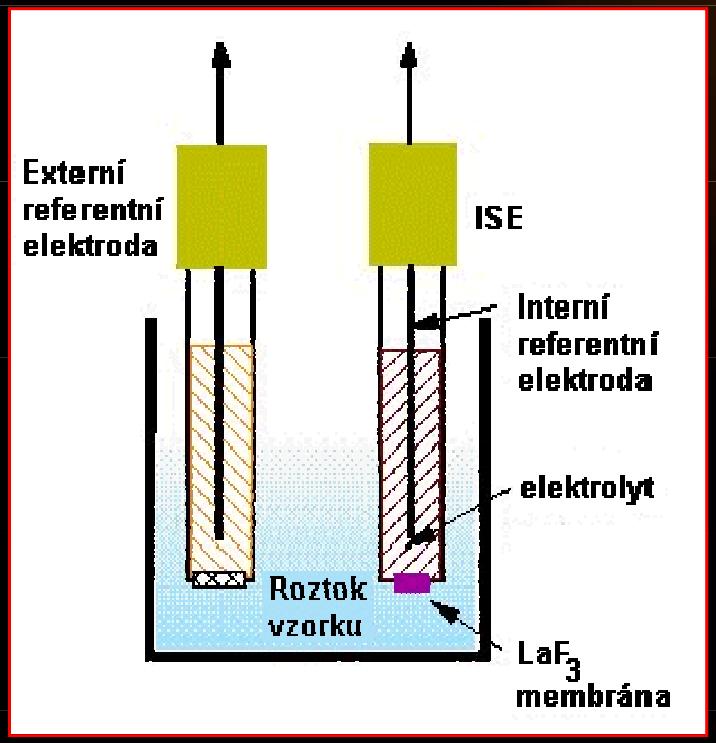
Potenciometrie je elektroanalytická metoda založená na měření rozdílu elektrického potenciálu (napětí) mezi dvěma elektrodami (oxidačně-redukční reakce) při nulovém elektrickém proudu.

Iontově selektivní elektrody (**ISE**)

Membrány s iontově-výměnnými místy

- Skleněné (H^+, Na^+)
- S polymerní membránou (CO_2, O_2, NH_3)
- Kapalné (K^+, Ca^{2+})
- Krystalické

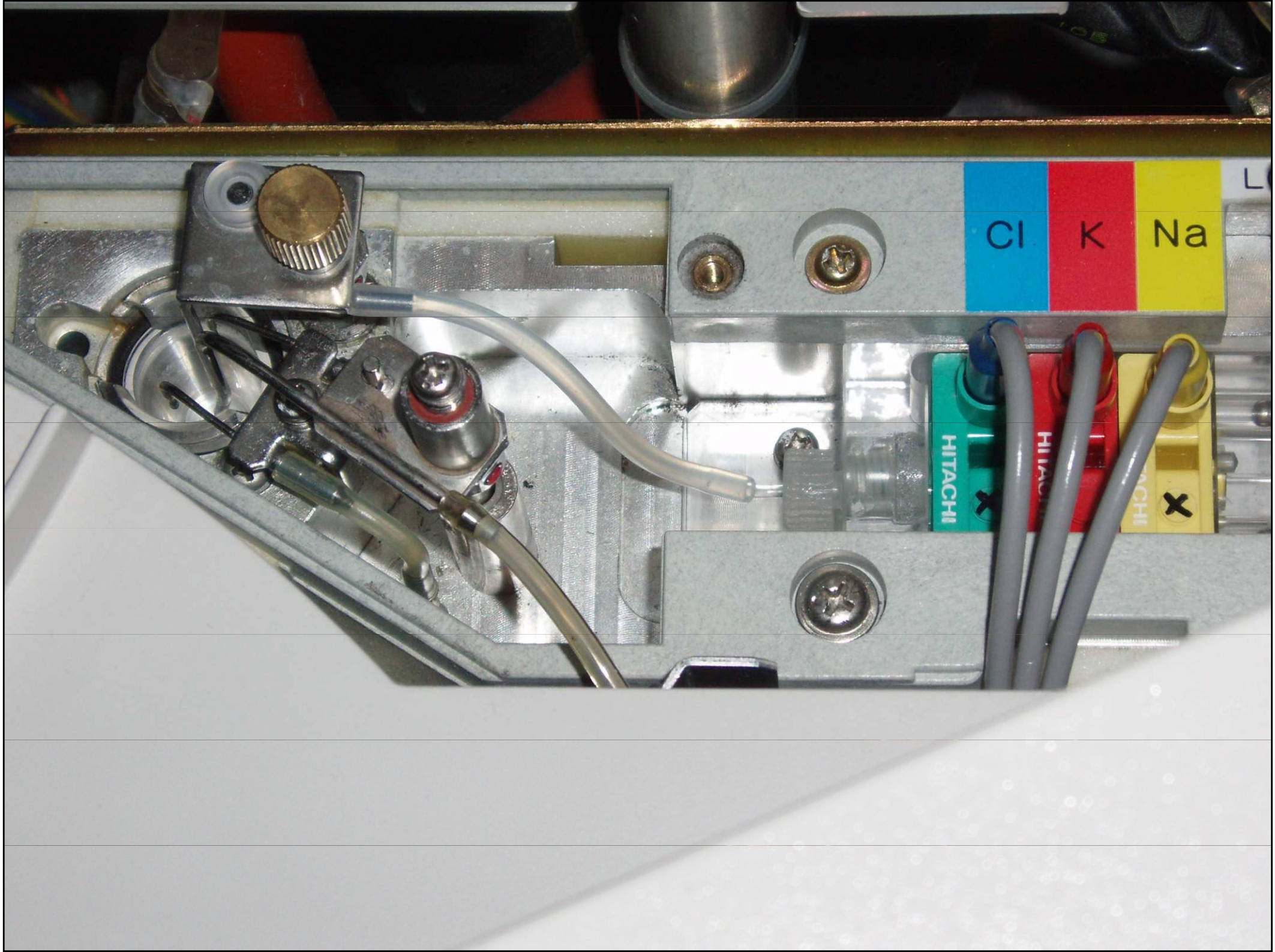
Iontově selektivní elektrody



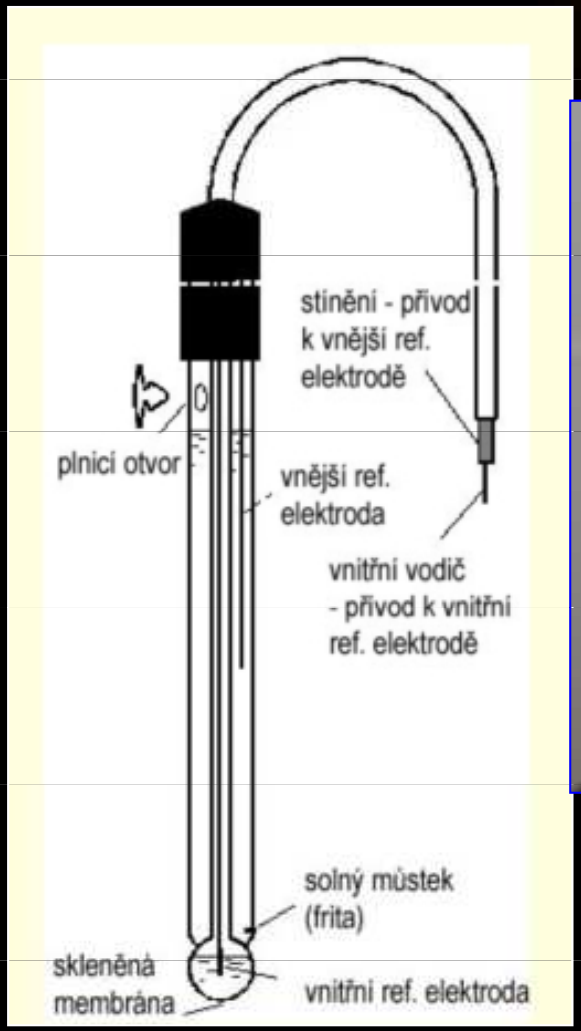
Selektivitou ISE se rozumí, že membránový potenciál není závislý jen na aktivitě jediné elektricky nabité částice v proměřovaném roztoku, ale že na jeho hodnotě se mohou podílet i další ionty.

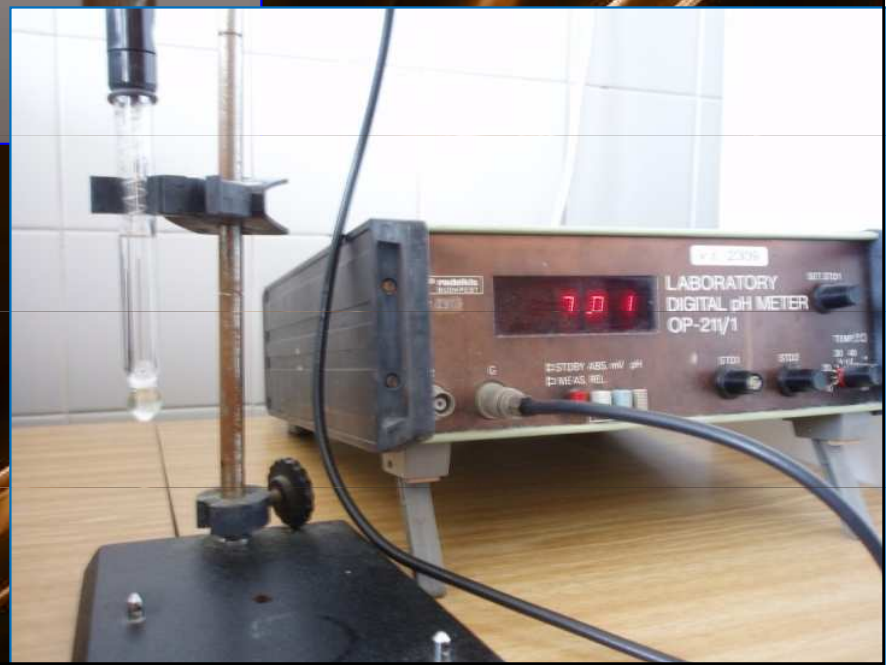
Měřící systém (článek) tvoří:

- ISE (měřící) elektroda
- Srovnávací (referentní) elektroda


Cl
K
Na
HITACHI

Měření pH, skleněná elektroda





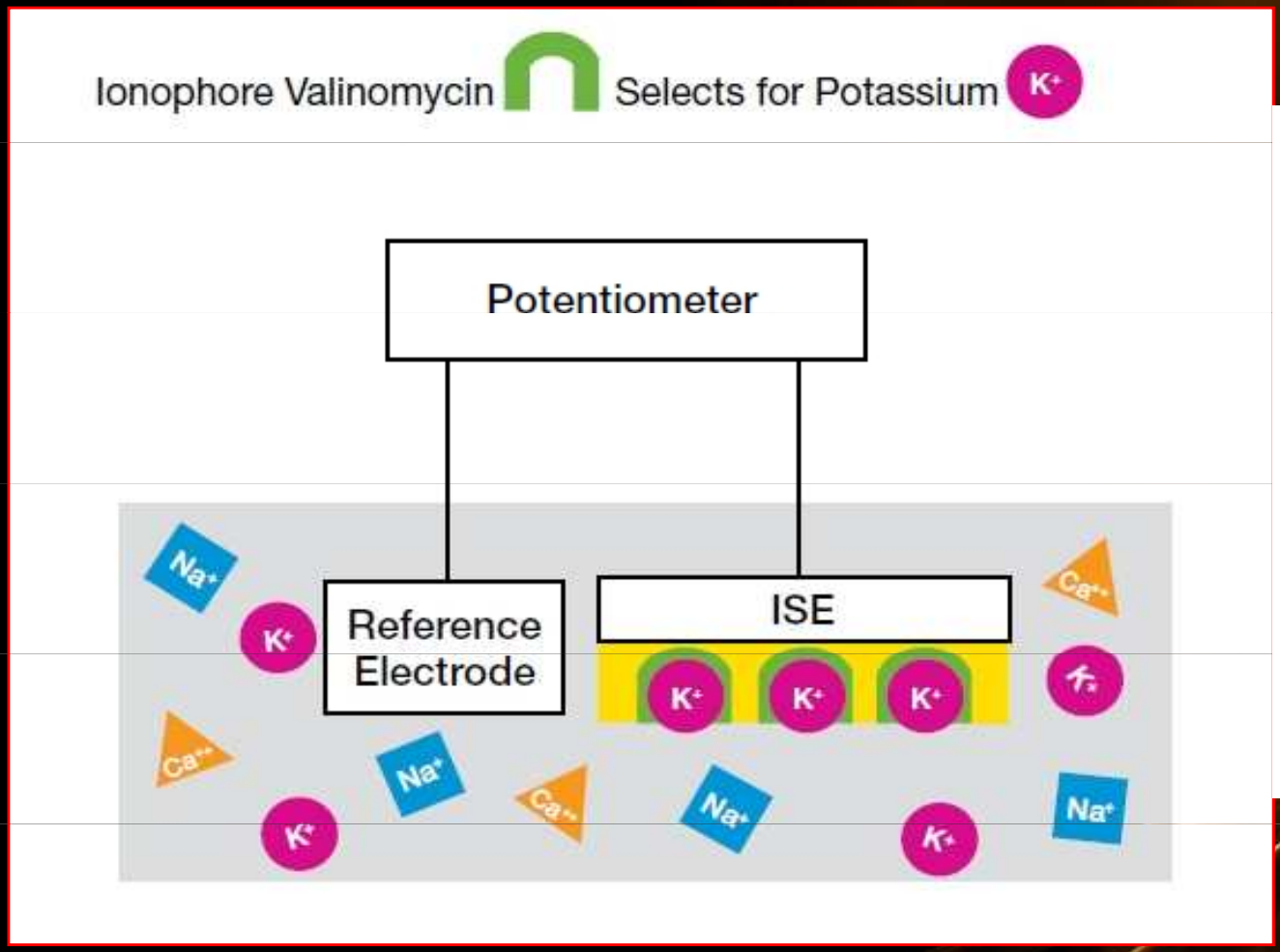
Skleněná elektroda je tvořena tenkou skleněnou membránou, která z jedné strany obsahuje argentchloridovou elektrodu a pufr o konstantní hodnotě pH a z druhé strany je prostředí měřeného vzorku.

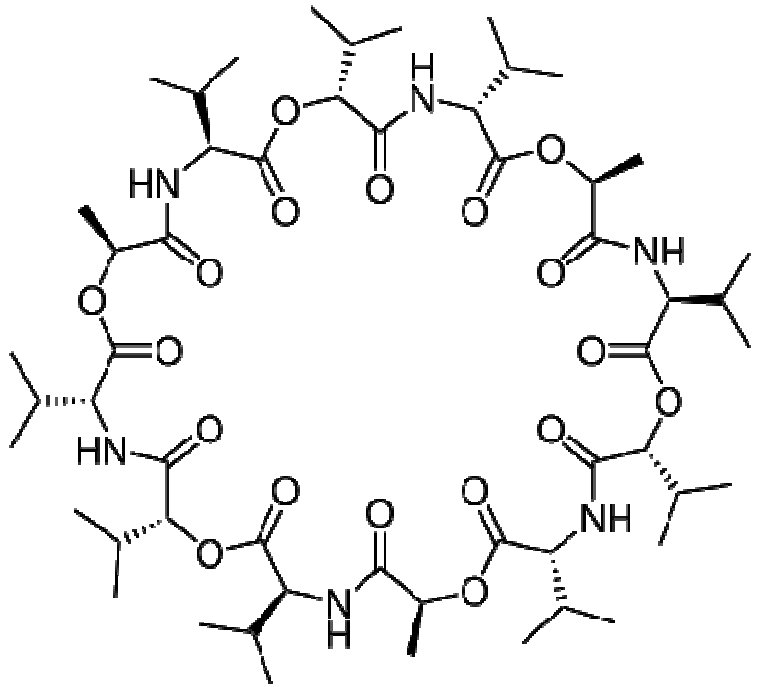
Na fázových rozhraních vzniknou potenciálové rozdíly, které se měří pomocí měrné elektrody a jsou srovnány s referenční elektrodou

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

ISE: stanovení K^+

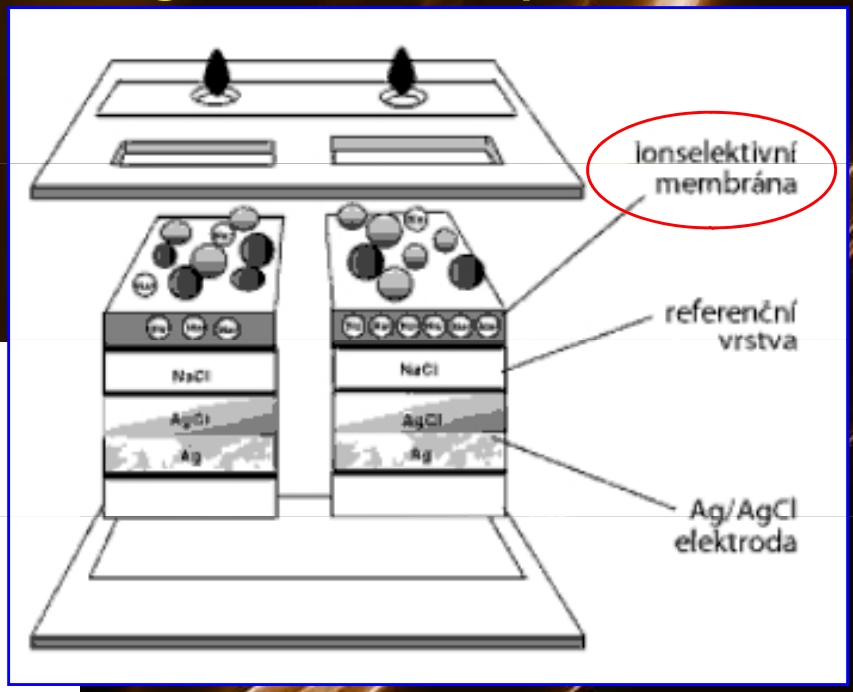
- Iontově selektivní membrána obsahuje specifický nosič draselných iontů, kterým je neionogenní makrocyklické **antibiotikum valinomycin** rozpuštěné v dioktyladipátu na porézním PVC nosiči. Jako nosič může sloužit také teflon

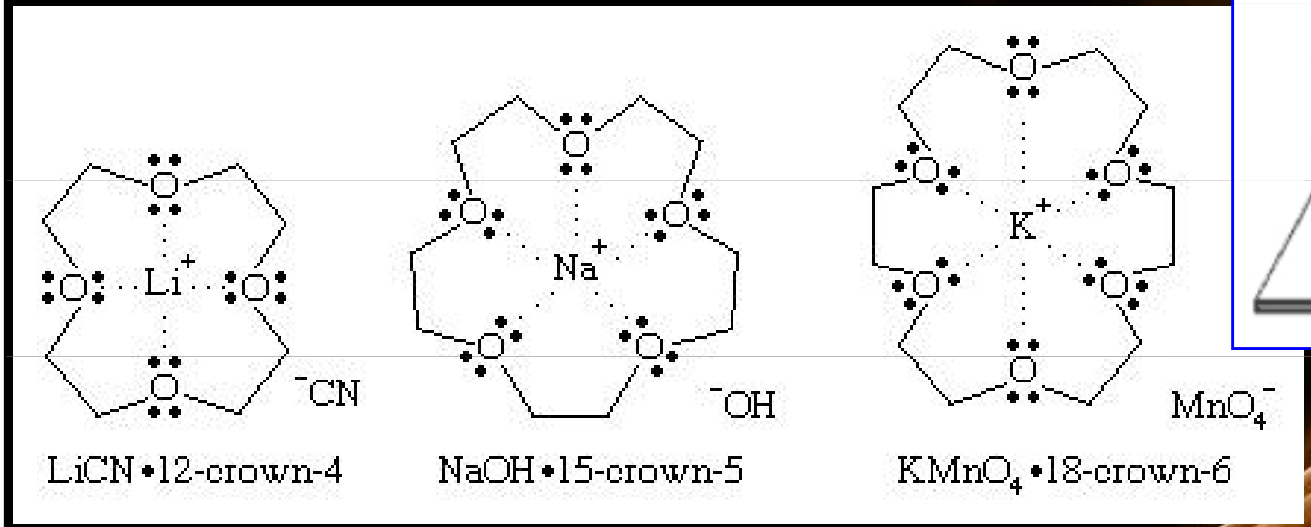




ISE: stanovení Na^+

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





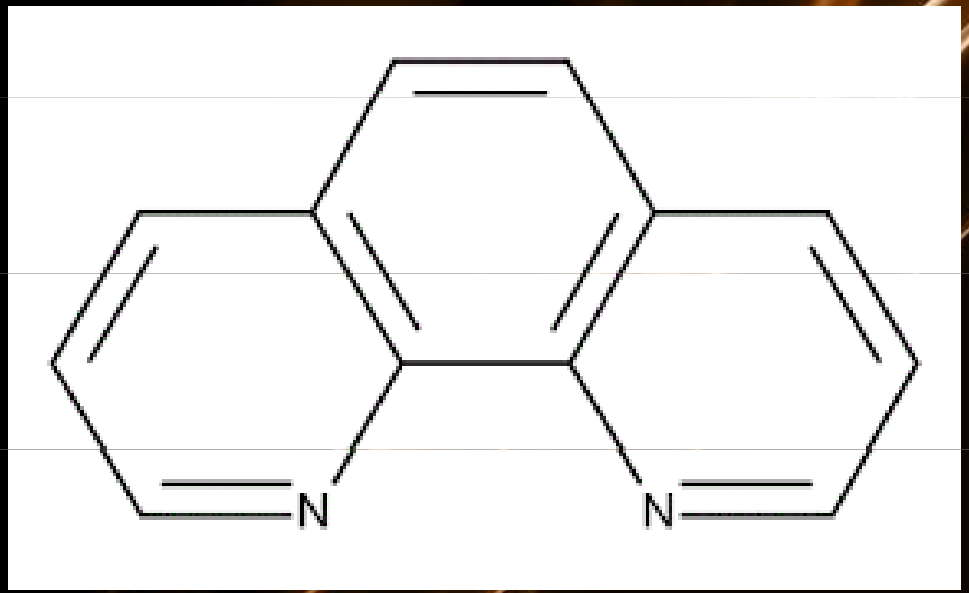
LiCN•12-crown-4 NaOH•15-crown-5 $KMnO_4$•18-crown-6

ISE: stanovení Cl^-

✓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.

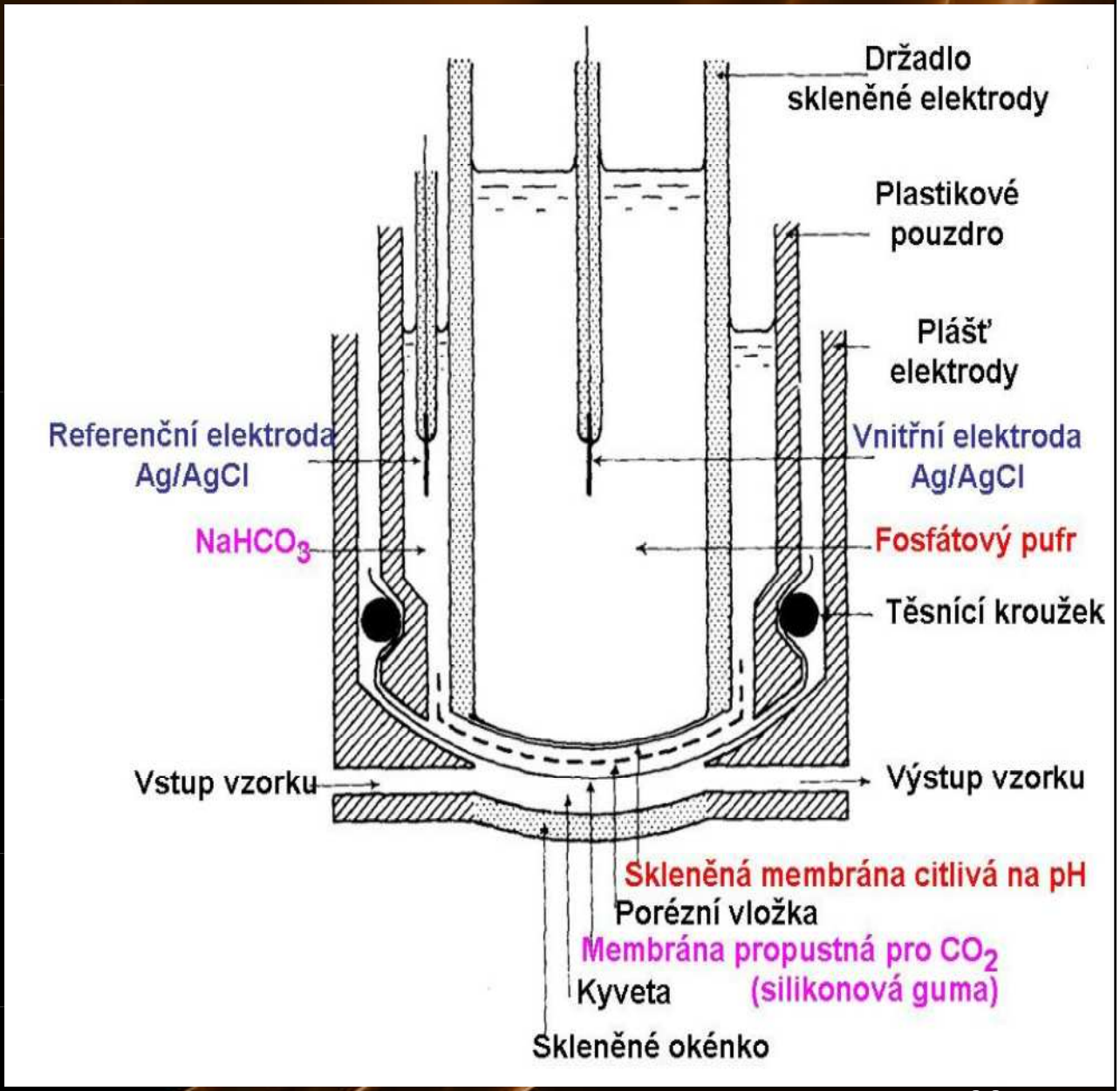
✓ Méně časté jsou chloridové elektrody s pevnou membránou, obsahující AgCl zapuštěný v lůžku z epoxidové pryskyřice či silikonového kaučuku



Elektroda na měření CO_2 (Severinghaus)

- Modifikovaná pH elektroda
- Skleněná elektroda oddělena od měřeného prostředí membránou propouštějící CO_2

$$CO_2 + H_2O \rightarrow H_2CO_3 \rightarrow H^+ + HCO_3^-$$



Voltametrie a polarografie

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

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

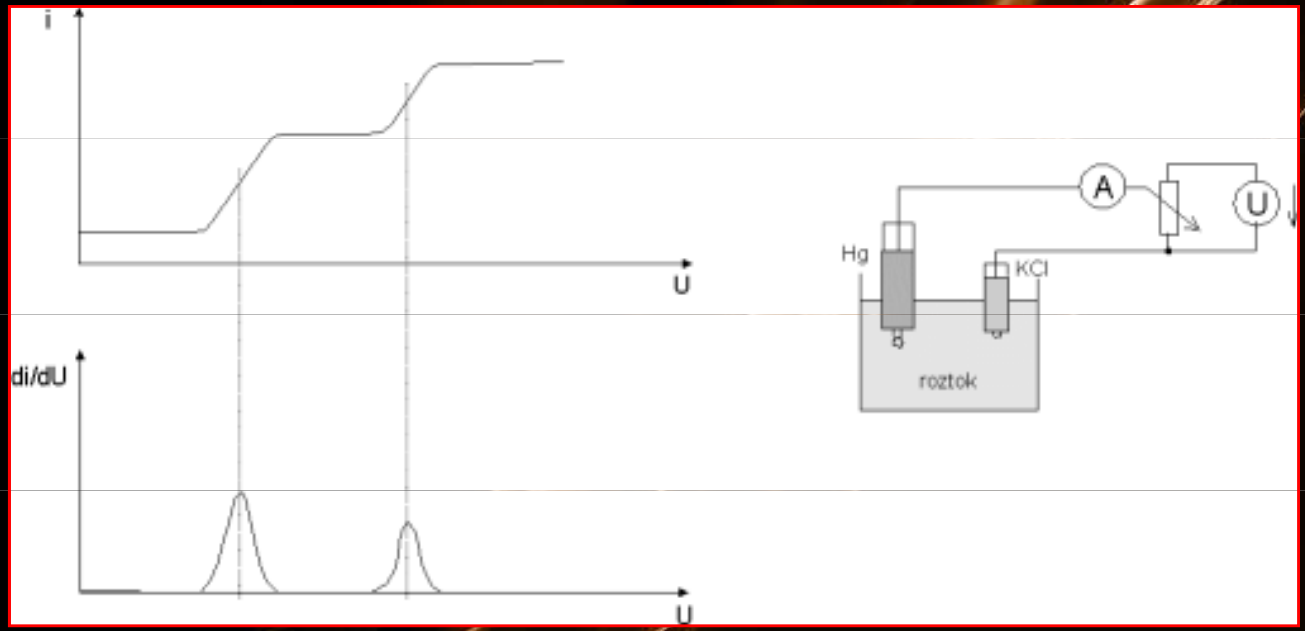
Využívá skutečnosti, že některé látky mohou být oxidovány nebo redukovány na inertní kovové elektrodě, na kterou je vložen elektrický potenciál, ten způsobí buď oxidaci nebo redukci, výsledkem je změna elektrického proud, který se měří.

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

Prof.Ing.Jaroslav Heyrovský

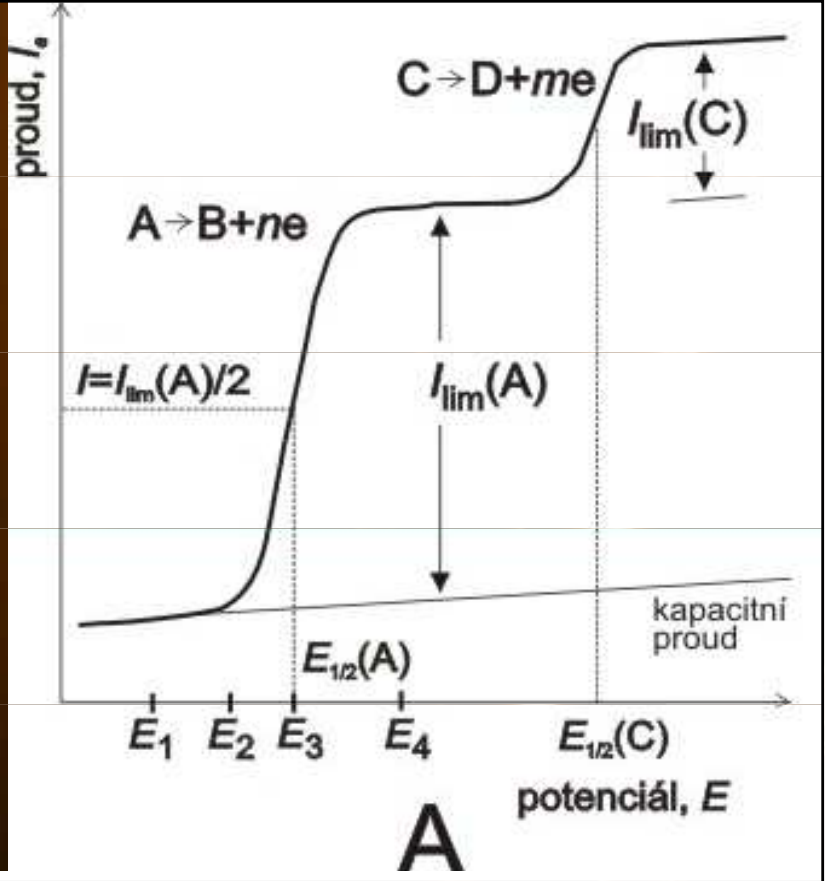
objevitel polarografie

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

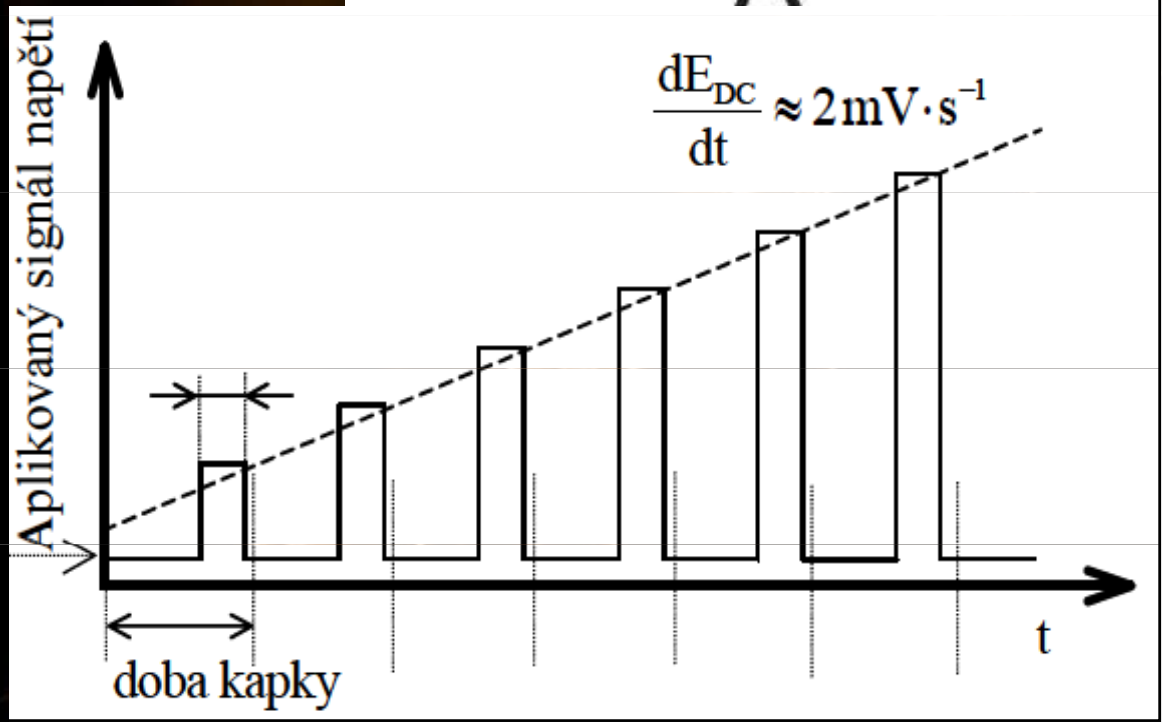


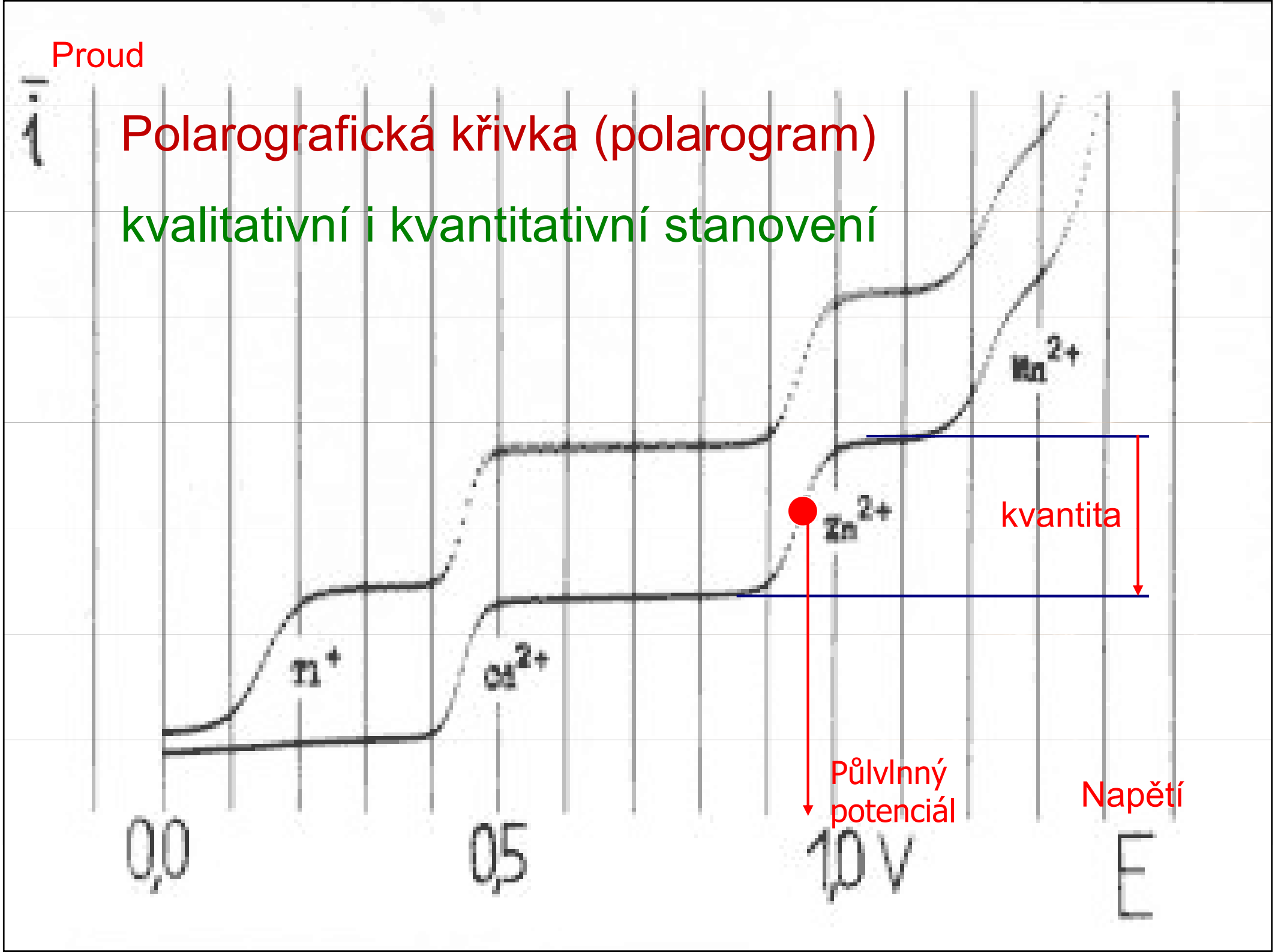
K náhlému zvýšení proudu dochází při dosáhnutí rozkladného napětí stanovovaného iontu v analyzovaném roztoku.

Napětí je zvyšováno postupně a lineárně, nebo pulzně



A




Proud
i
Polarografická křivka (polarogram)
kvalitativní i kvantitativní stanovení
Mn2+
Zn2+
kvantita
Půlvlnný potenciál
Napětí
0,0
0,5
1,0 V
E

Klasická voltametrie

Identita analytu je rozlišena půlvlným 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 voltamerie – sleduje elektrochemické chování látek (oxidaci i redukci během jednoho běhu; spíše pro výzkumné účely)

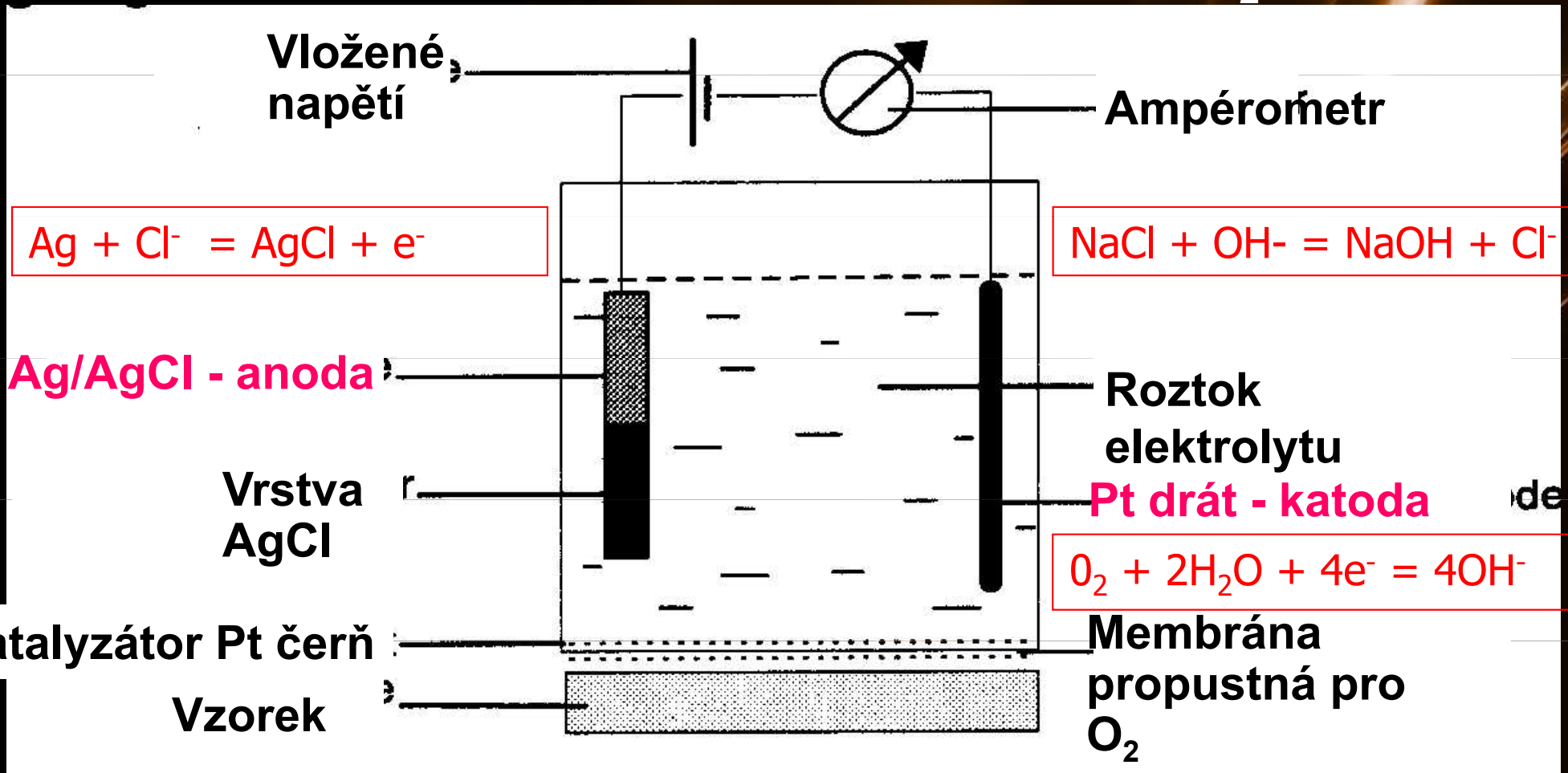
Amperometrie

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 (~ půlvlnnému potenciálu u voltametrie)

Kyslíková elektroda – měření O_2 (Clark)

- Měření proudu za konstantního potenciálu
  (-630mV = redukční potenciál O_2)
- Proud je mírou koncentrace stanovovaného analytu
  (změna proudu je úměrná počtu molekul O_2)



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)

$$Q = z \cdot n \cdot F$$

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

.

Příklad: **Stanovení chloridů** (coulometricky)

Anoda: Ag (přeměna/oxidace Ag na Ag^+)

Katoda: Pt (redukce H^+ na plynný vodík)

Mezi anodu a katodu je vložen konstantní proud (I):
potom **Q = I . t**

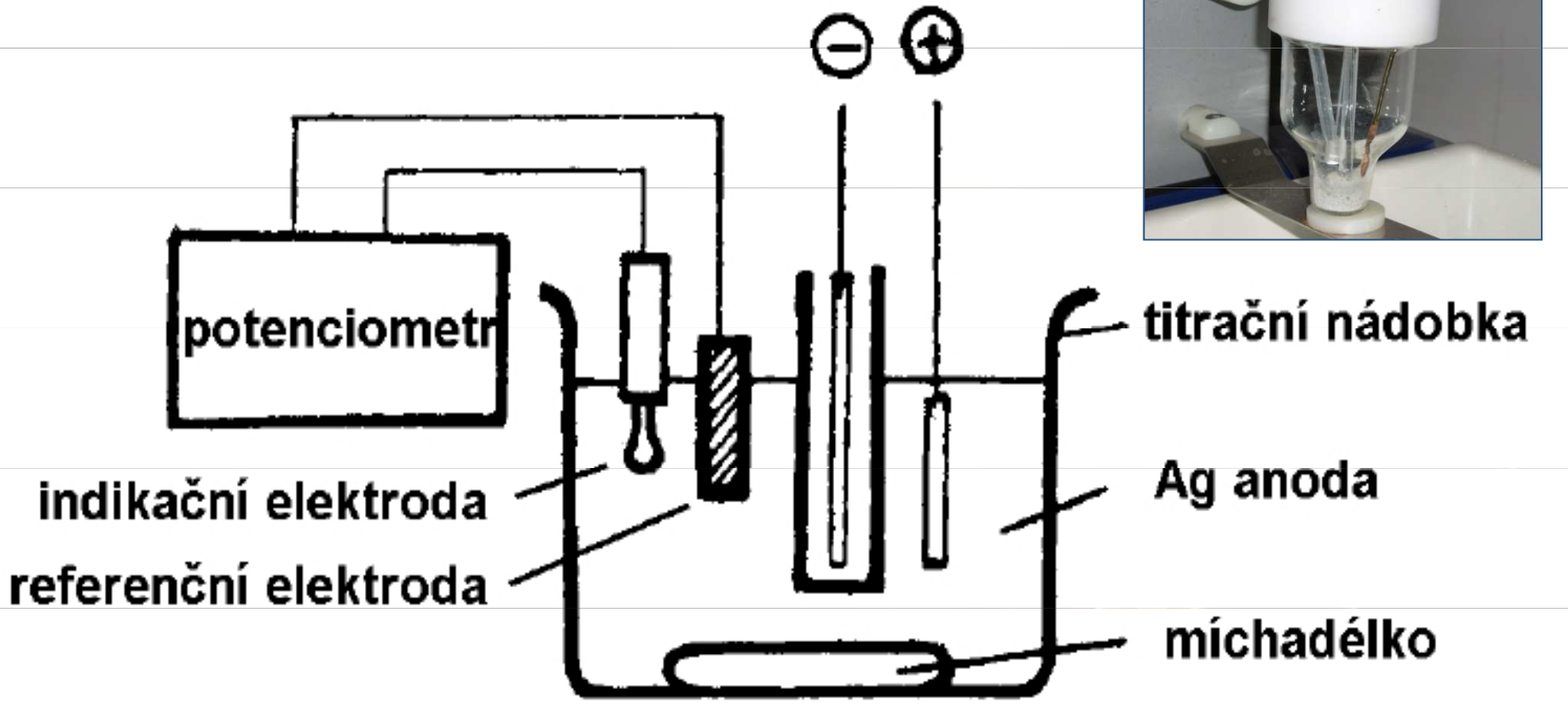
(coulomb = ampéry . čas)

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

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

Koncentrace 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 elektrolýze, vkládá se na elektrody střídavé napětí
- Ke kalibraci se obvykle používají roztoky KCl (0,01 mol/l KCl; t = +18^{o}C; 0,1211 S.m^{-1})

Měrná vodivost

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

Použití: kontrola čistoty vody

destilovaná H_2O 1 $\mu S.m^{-1}$

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

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

β-D-glukóza + **O_2** + H_2O → D-glukonolakton + **H_2O_2**

glukózaoxidáza (GOD)

$H_2O_2 \rightarrow 2H+ + O_2 + 2e-$

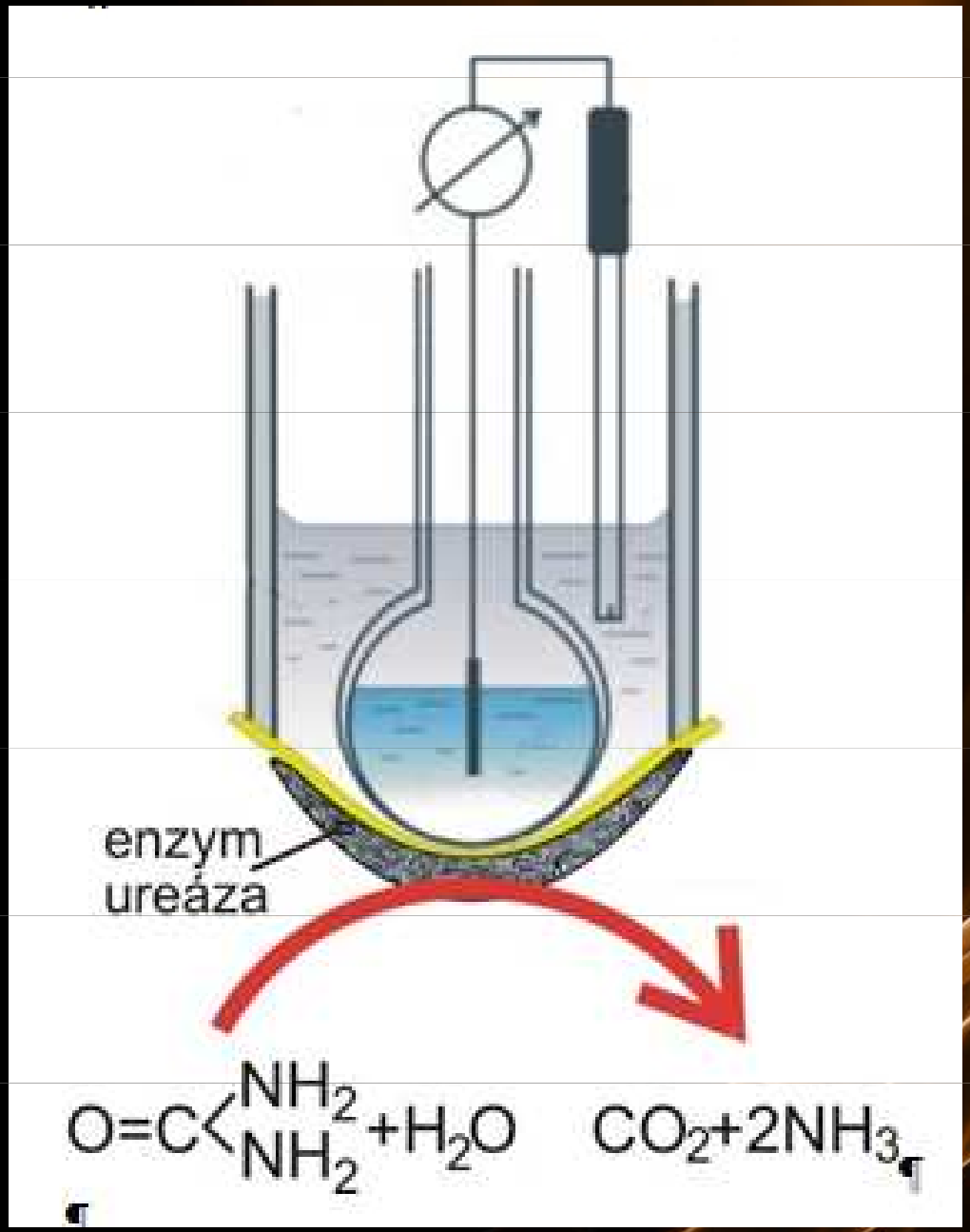
1.Stanovení H_2O_2

- přímá oxidace leukobází na barevné produkty
- oxidační kopulace mezi aromatickými aminy a fenoly katalyzovaná peroxidázou (POD)
- elektrooxidace H_2O_2 - ampérometrická detekce signálu

2.Měření úbytku 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 laktátoxidázou (odtud název „laktátová" elektroda). Při konstantním potenciálu (přepětí) je vzniklý proud úměrný koncentraci peroxidu vodíku.

L-laktát + O_2 → pyruvát + H_2O_2

H_2O_2 → $2H^+ + O_2 + 2e^-$

Elektroda je vlastně modifikací Clarkovy kyslíkové elektrody.

Laktátový senzor obsahuje většinou čtyři elektrody:

- platinovou měrnou elektrodu potaženou laktátoxidázou
- 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

Děkuji za pozornost