

Elektrochemické metody

Konduktometrie

Coulometrie

Potenciometrie, Iontově selektivní elektrody (ISE)

Voltametrie (Ampérometrie, Polarografie)

Biosenzory

Ondřej Wiewiorka



Elektrochemie

Elektrochemie se zabývá studiem závislosti elektrochemického chování roztoků na jejich složení.

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 podjednotkami elektrolytu)

Elektrochemický článek se skládá ze dvou poločlánků, tvořených např. kovovou elektrodou ponořenou do roztoku iontu elektrodového kovu.

Poločlánky jsou navzájem vodivě propojeny, např. solným můstkem.

V každém poločlánku se nachází oxidovaná a redukovaná složka, které spolu vytvářejí redox pár.

Měřené elektrické veličiny

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

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

Měřené analyty

- pH, pCO₂, pO₂
- Na⁺, K⁺, Cl⁻
- Glukóza, laktát, močovina, kreatinin,...
- Ca²⁺, Mg²⁺, Li⁺, ...
- Čistota vody
- Metanefríny, katecholaminy, ...

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 (AgCl elektroda detekuje Cl^-)

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

Iontově selektivní (membránové) – elchem.

Elektrody (dle využití)

Referenční elektrody (porovnávací, vztažné)
konstantní potenciál

vodíková elektroda ($E = 0 \text{ V}$) Pt/proud H_2

kalomelová elektroda ($E = 0,242 \text{ V}$) Hg/kalomel

argentchloridová elektroda Ag/AgCl

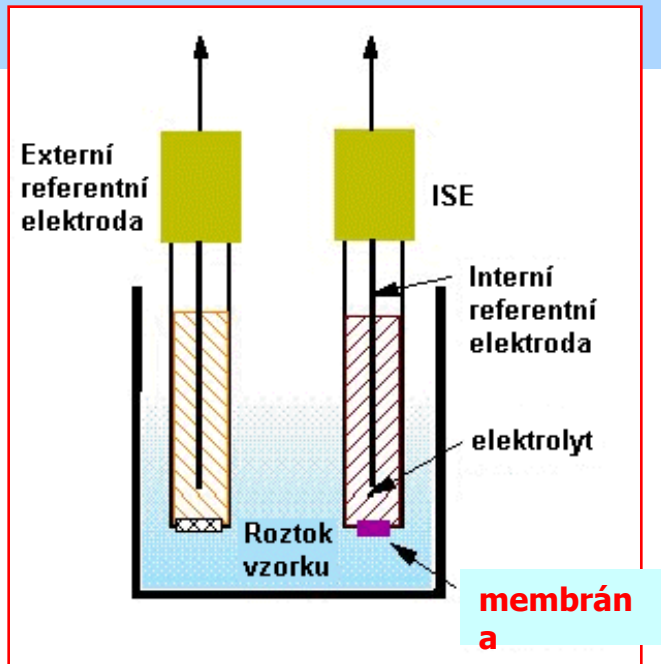
Indikační elektrody (měřící)

Nejčastěji ISE elektrody

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

PVC membránové elektrody (K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Li^+ , Cl^- , CO_2)

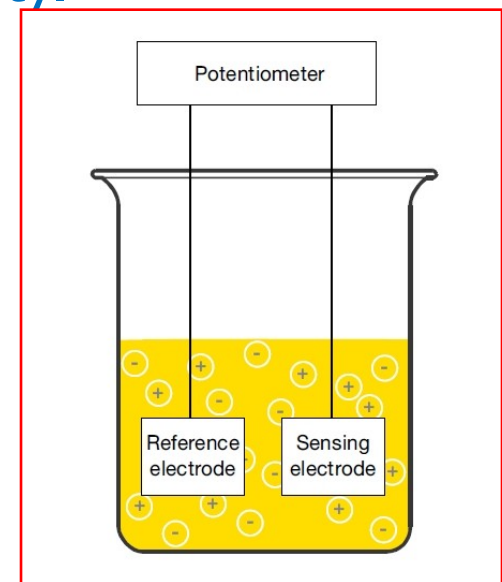
Iontově selektivní elektrody



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 tvoří:

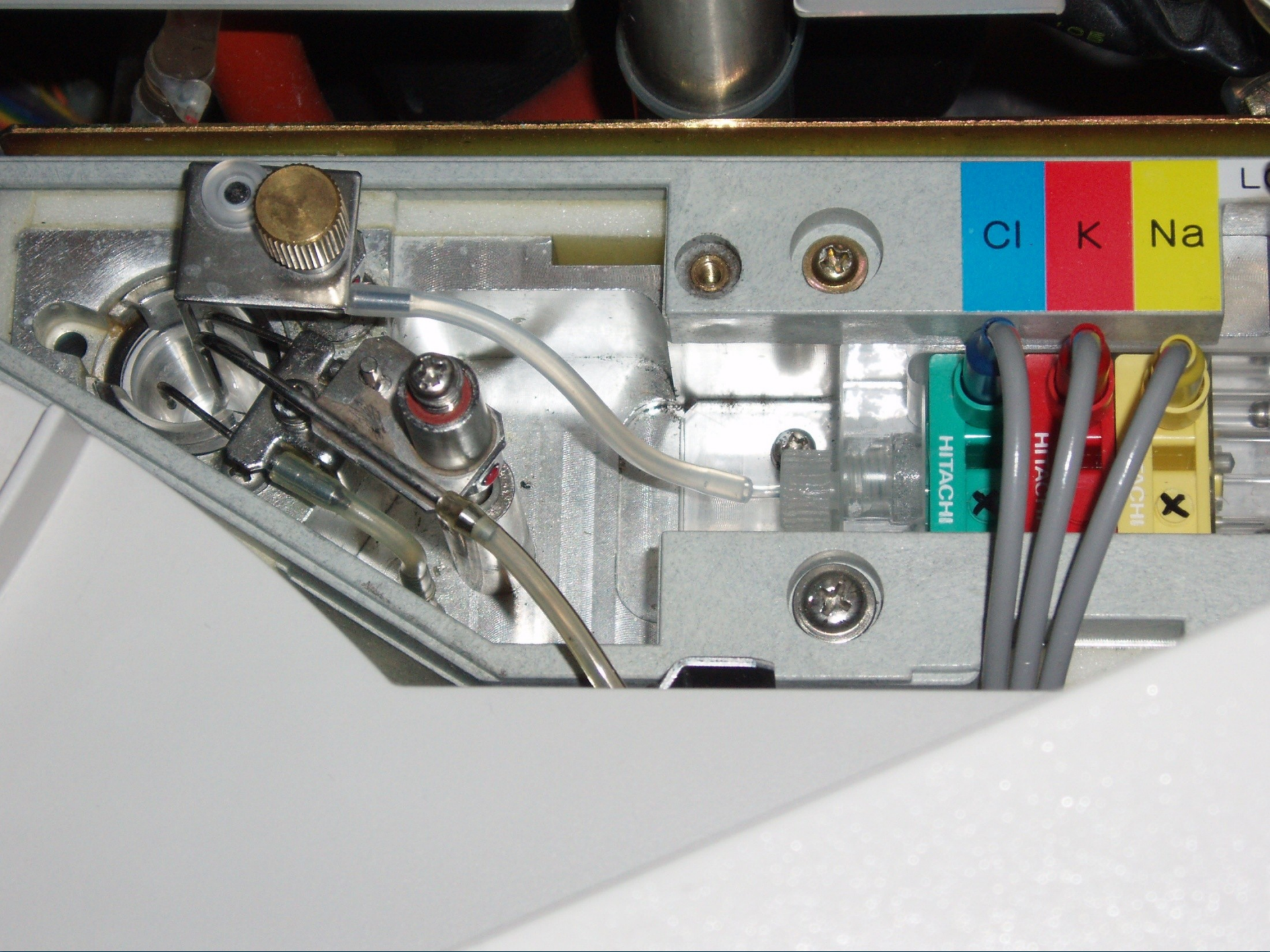
- ❖ ISE (měřící) elektroda
- ❖ Srovnávací (referenční) elektroda



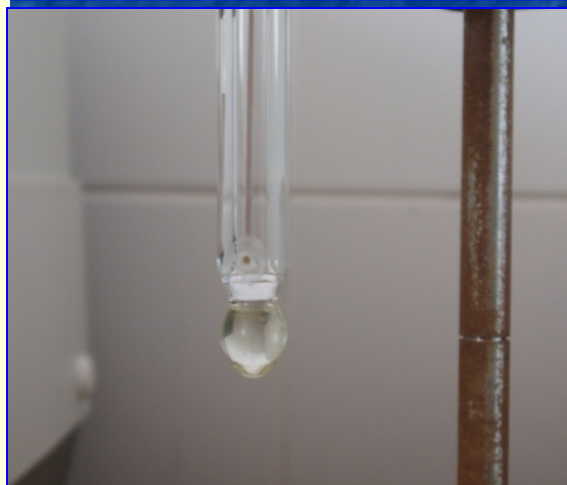
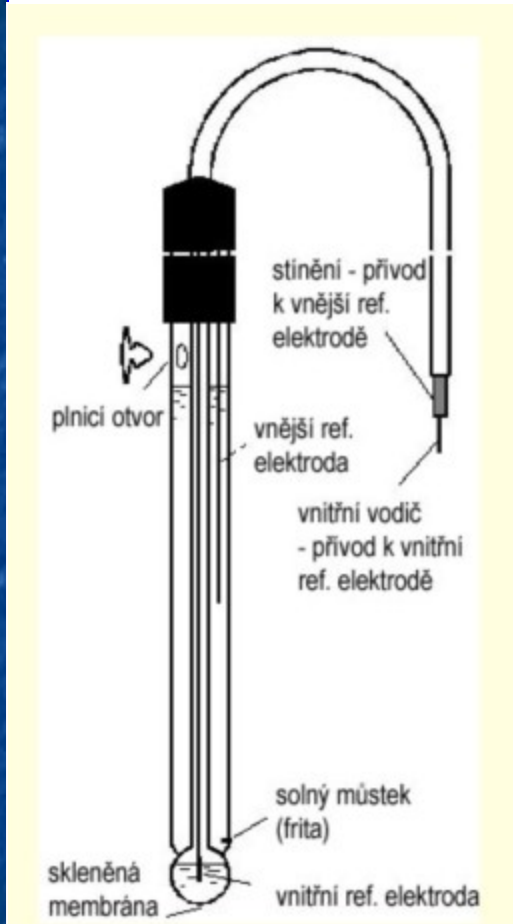
Iontově selektivní elektrody (ISE)

Membrány s iontově-výměnnými místy

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



Měření pH, skleněná elektroda



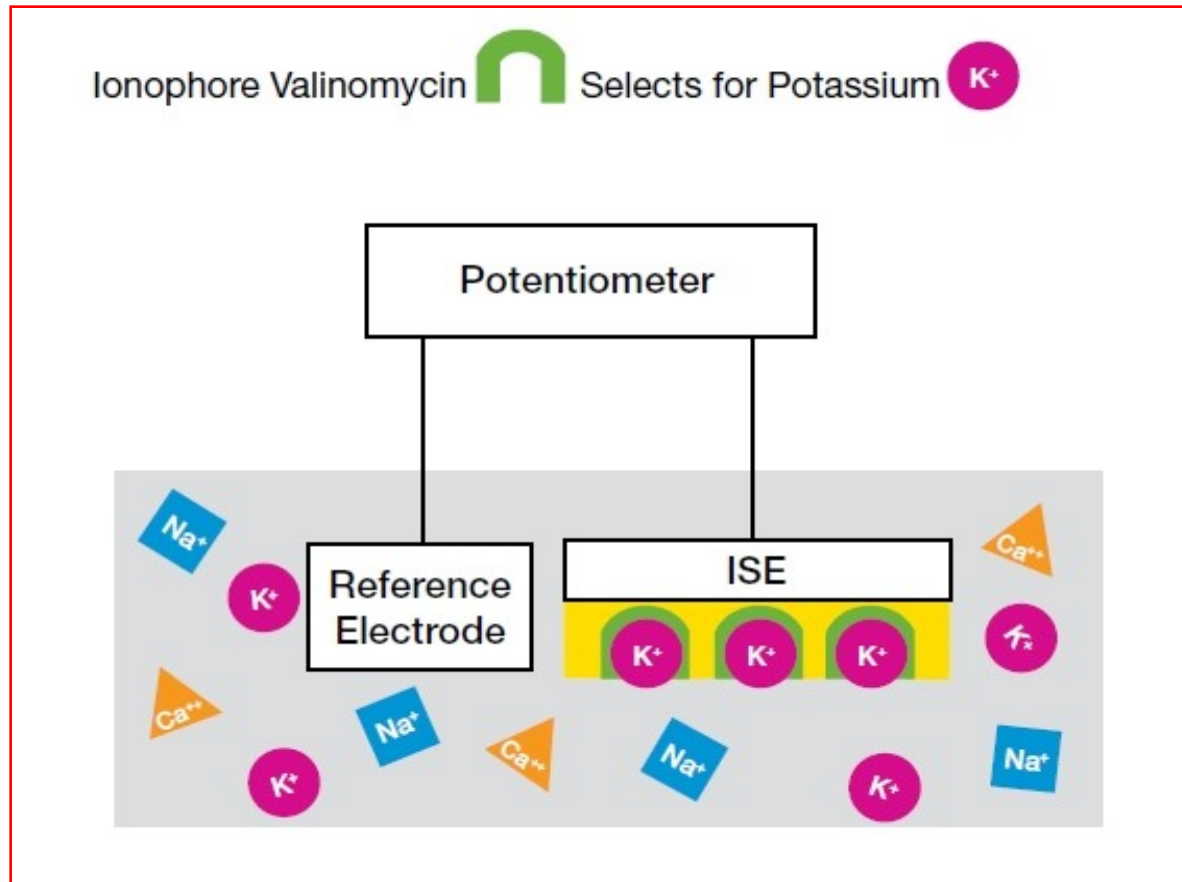
Skleněná elektroda je tvořena tenkou skleněnou membránou, která z jedné strany obsahuje argentchloridovou elektrodu a pufr o konstantní hodnotě pH a z druhé strany je prostředí měřeného vzorku.

Na fázových rozhraních vzniknou potenciálové rozdíly, které se měří pomocí referenční elektrody.

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

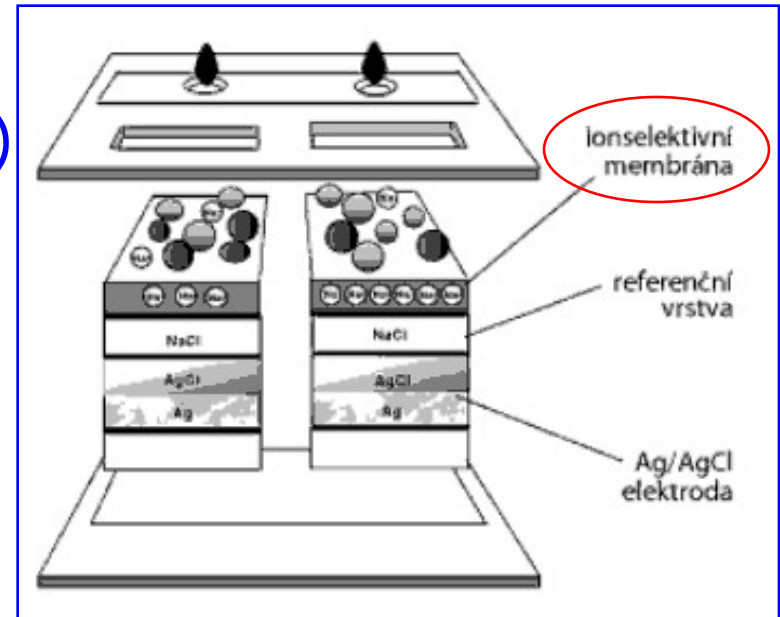
ISE: stanovení K^+

✓ Iontově selektivní membrána obsahuje specifický nosič draselných iontů, kterým je neionogenní makrocyclické **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“)
- ✓ Stanovení Na^+ v pevné fázi

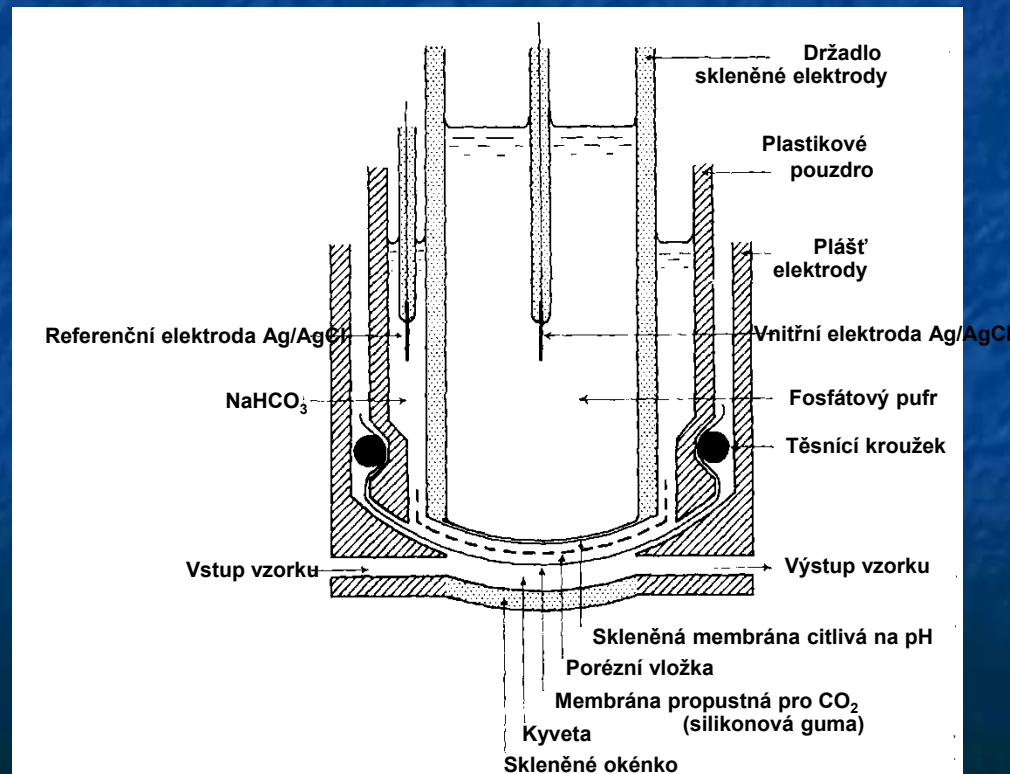


ISE: stanovení Cl⁻

- ✓ 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
- ✓ Stanovení Cl⁻ v pevné fázi

Elektroda na měření CO₂ (Severinghaus)

- Modifikovaná pH elektroda
- Skleněná elektroda oddělena od měřeného prostředí membránou propouštějící CO₂



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

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

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),....**



Měření 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; $t = +18^{\circ}\text{C}$; $0,1211 \text{ S}\cdot\text{m}^{-1}$)

Faradayovy zákony

- I. Hmotnost vyloučené látky při elektrolýze je přímo úměrná prošlému náboji
- II. Hmotnost různých látek vyloučené týmž nábojem jsou chemicky ekvivalentní

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 (Faradayův zákon)

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

Q (množství přeneseného elektrického náboje)

z (počet přenesených elektronů při redox reakci)

a (množství stanovované látky v molech)

F (Faradayova konstanta, 96487 coulomb/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 $Q = I \cdot t$

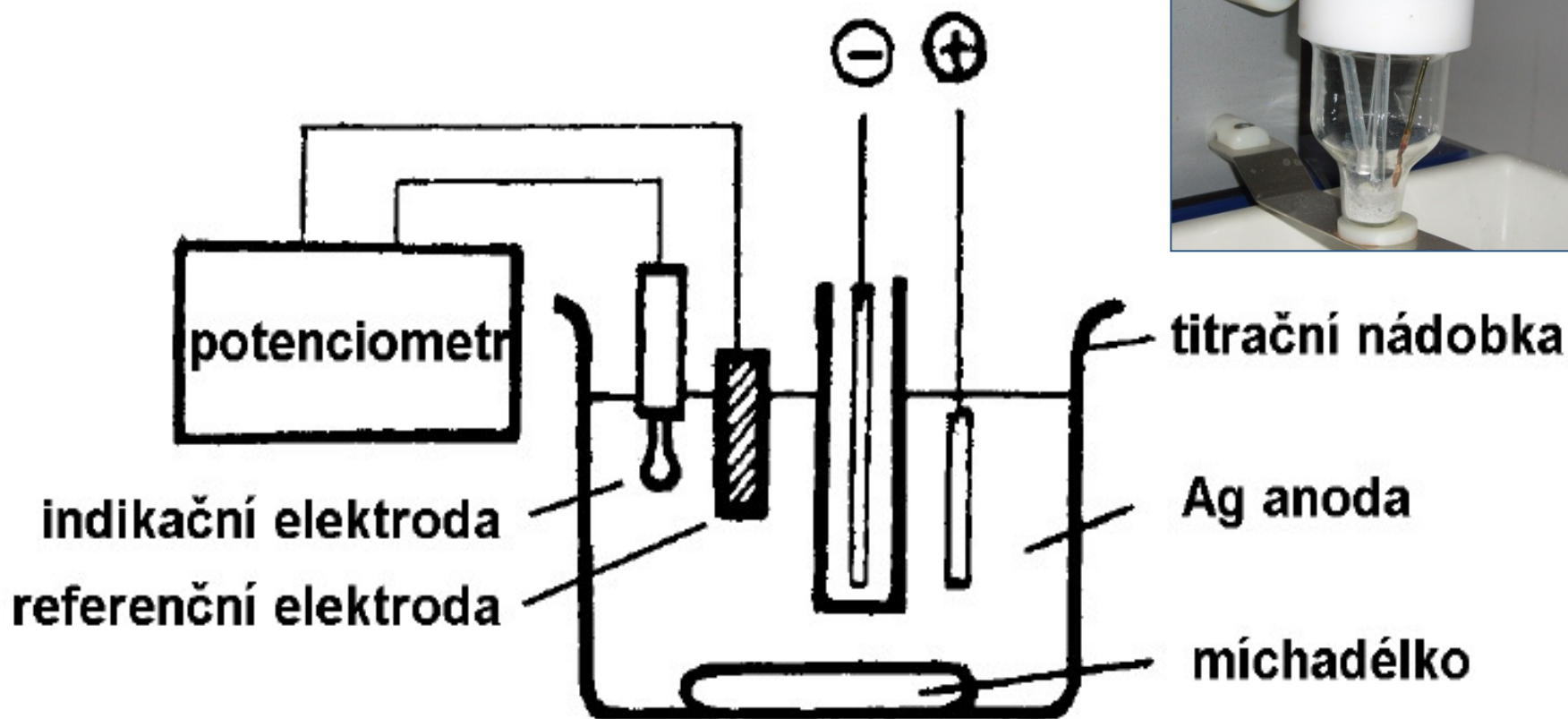
(coulomb = ampéry . čas)

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

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



Potenciometrie

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

Elektrodou rozumíme kontakt dvou nebo více navzájem nemísitelných fází, na jejichž rozhraní může docházet k redoxním reakcím nebo výměně elektricky nabitých částic. Výsledkem je potenciálový rozdíl mezi fázemi.

Voltametrie

Voltametrie je elektroanalytická metoda založená na měření změn mezi proudem a napětím při změně potenciálu indikačních elektrod.

Ampérometrie

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

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

Polarografie

Polarografie je elektrochemická analytická metoda založená na **měření změn elektrického proudu** (intenzity elektrického proudu) v roztoku s různými ionty **při plynule se zvyšujícím napětím** pomocí dvojice rtuťových elektrod

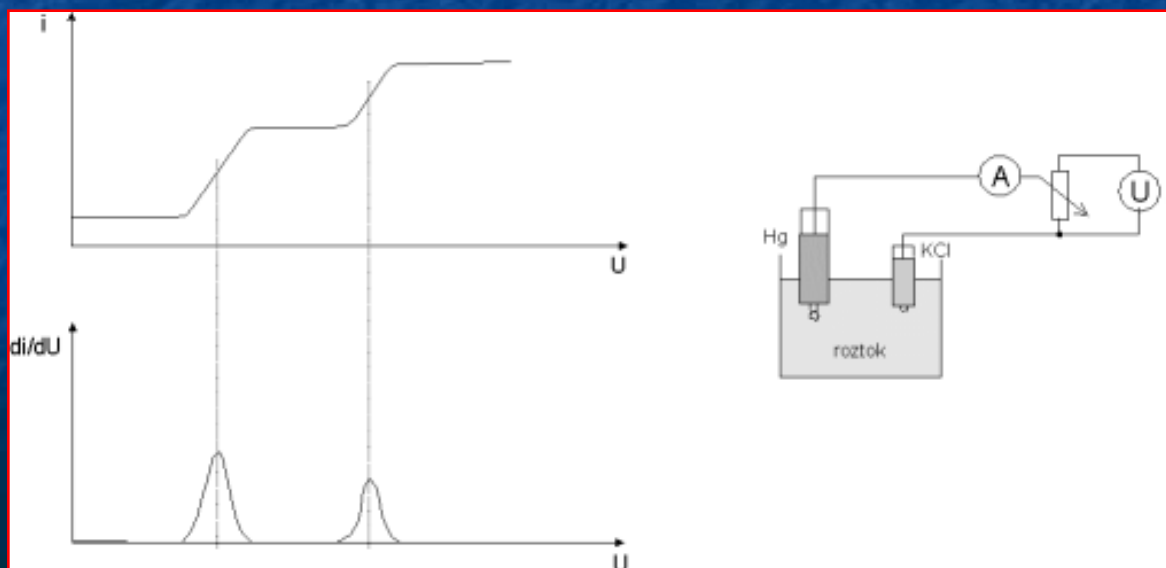
Indikační elektroda (**kapková Hg elektroda**, polarizovatelná = změna potenciálu vlivem proudu)

Hg - elektroda (vrstva Hg)

Prof. Ing. Jaroslav Heyrovský

objevitel polarografie

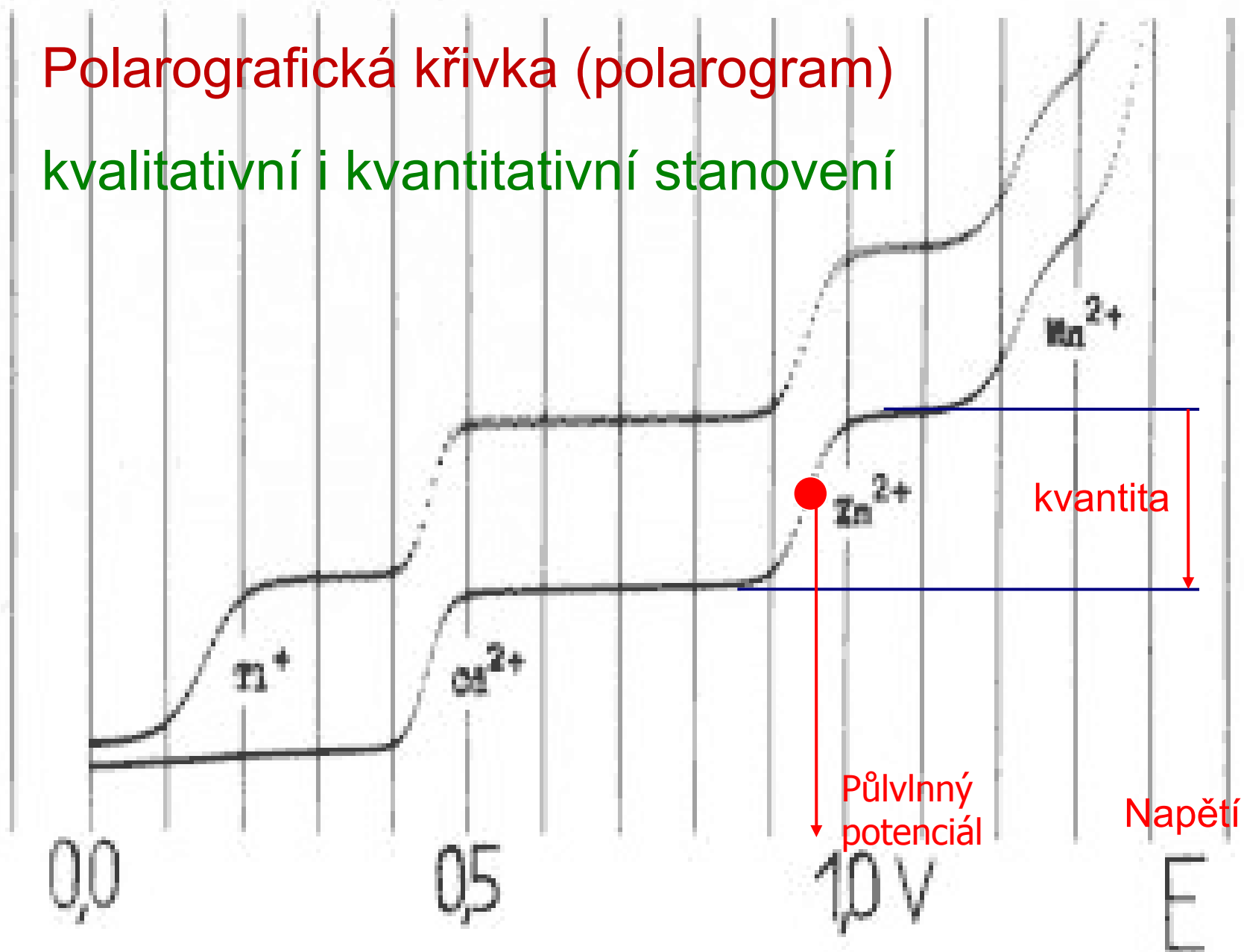
za svůj objev z roku 1922
obdržel v roce 1959 Nobelovu cenu



Proud

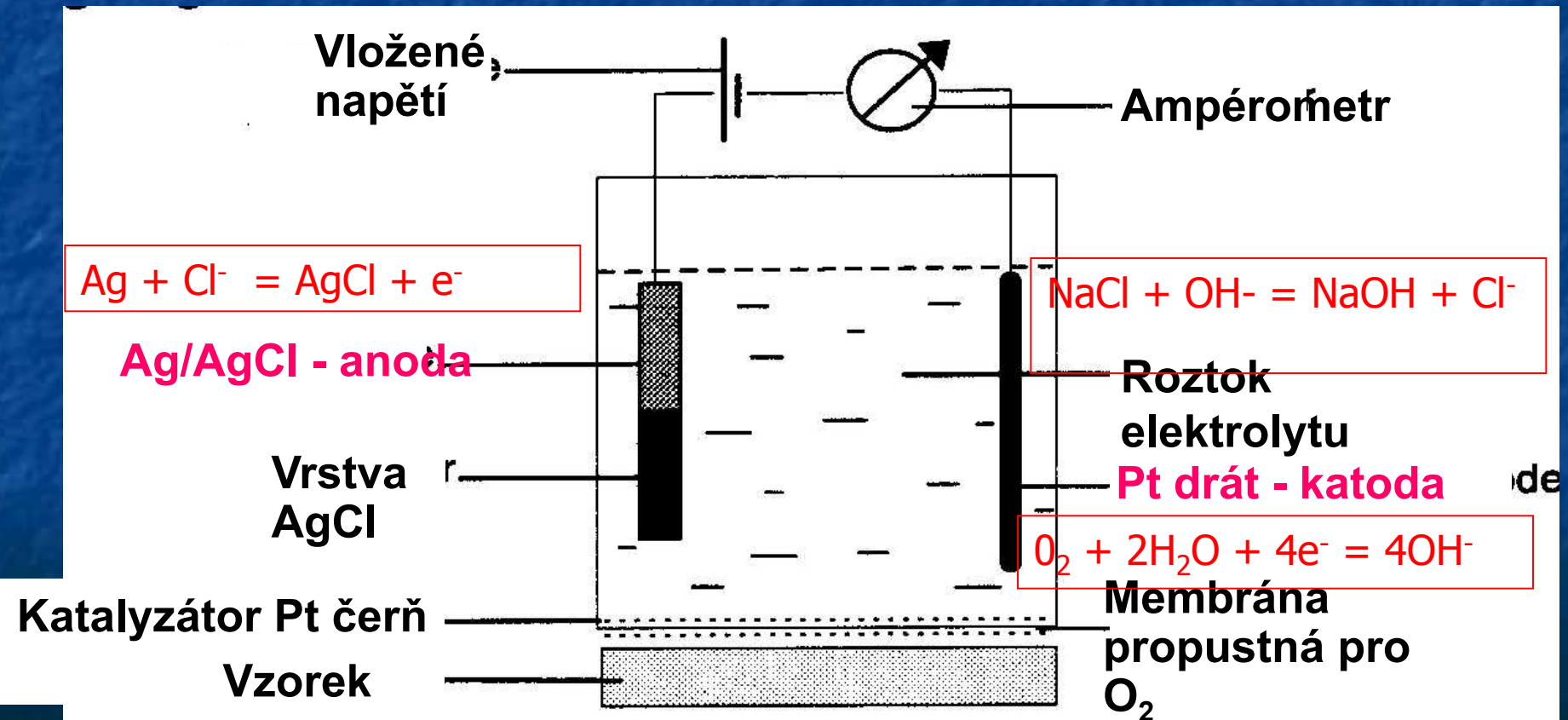
Polarografická křivka (polarogram)

kvalitativní i kvantitativní stanovení



Kyslíková elektroda – měření O₂ (Clark)

- Měření proudu za konstantního potenciálu
(-630mV = redukční potenciál O₂)
- Proud je mírou koncentrace stanovovaného analytu
(změna proudu je úměrná počtu molekul O₂)

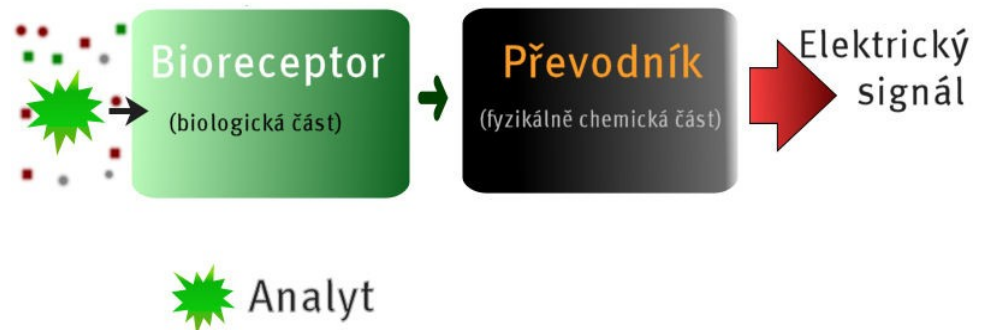


Biosenzory

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

- Biokatalytické
- Bioafinitní (imunosenzory)

Převodník (elektrochemický, optický, hmotnostní, kalorimetrický)



Biosenzory: stanovení glukózy



glukózaoxidáza (GOD)



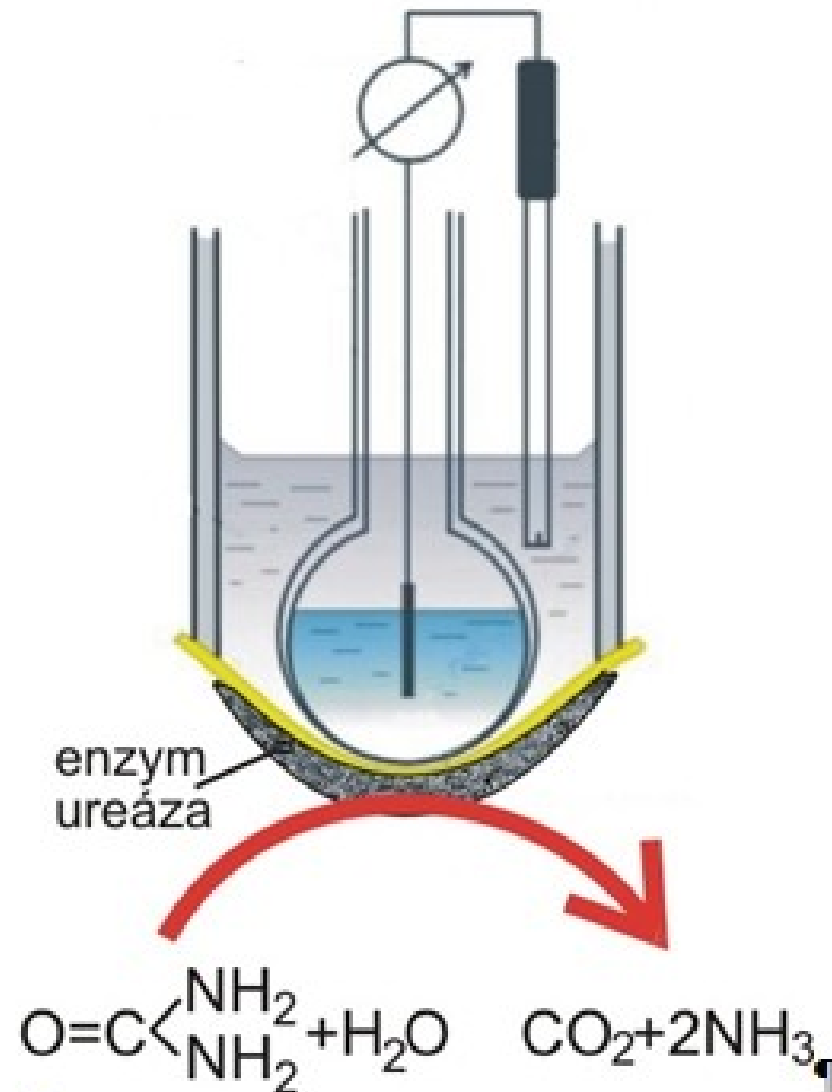
1. Stanovení H_2O_2

- 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

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

Stanovení močoviny (biosenzor)



Biosenzory: stanovení laktátu

a) Polarografie (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

