

# Elektrochemické analytické metody

Základy elektrochemie

Potenciometrie

Voltametrie a Polarografie

Amperometrie

Coulometrie

Konduktometrie

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 poločlánky)

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

**Poločlánky jsou navzájem vodivě propojeny**, např. solným můstkem

**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. Ušlechtilé (+); neušlechtilé (–) potenciál.

# 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 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

# 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)

# Elektrody (dle konstrukce)

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

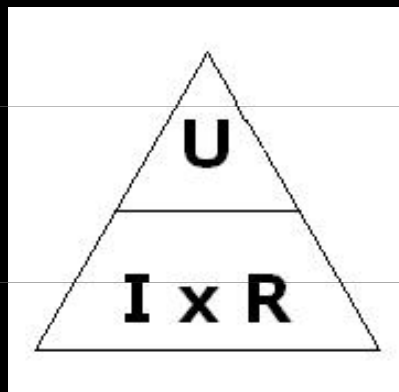
II. Druhu – Sraženina na povrchu kovu v roztoku aniontů sraženiny (argentchloridová el. detekuje  $\text{Cl}^-$ )

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

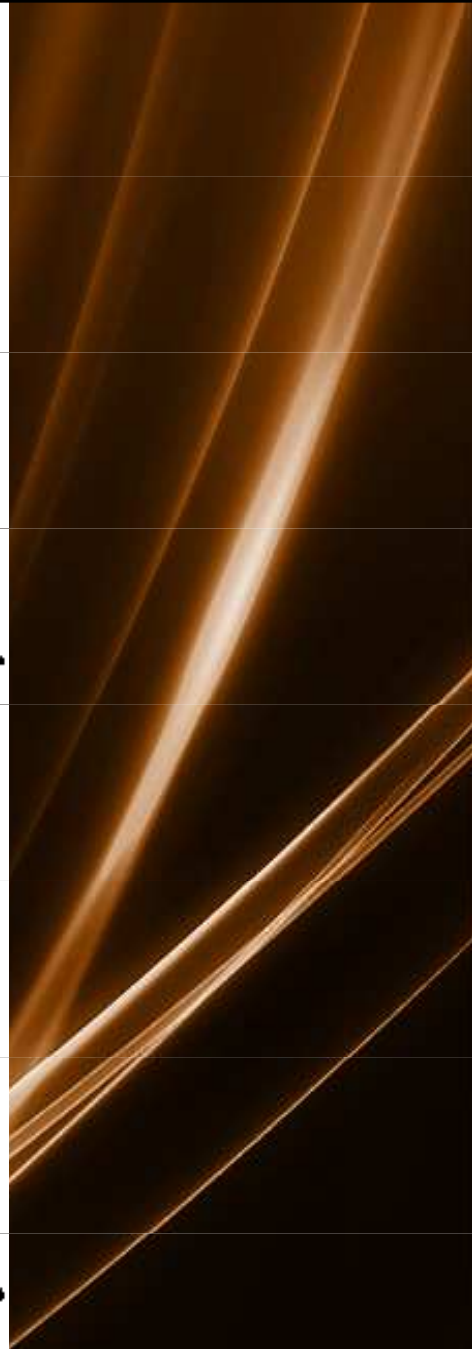
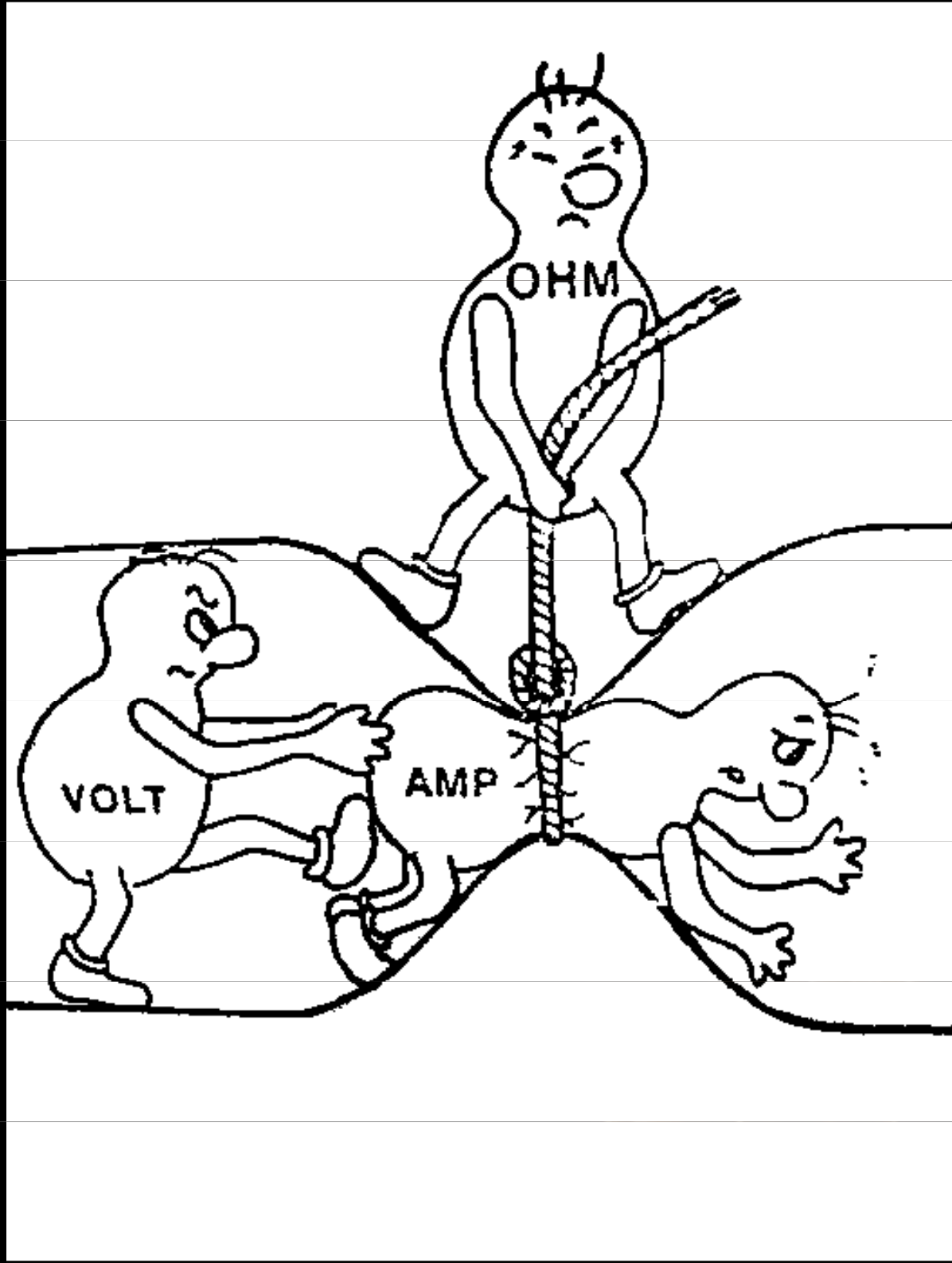
Iontově selektivní (membránové) – elchem. potenciál je ovlivňován jen skupinou iontů

# 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.

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.

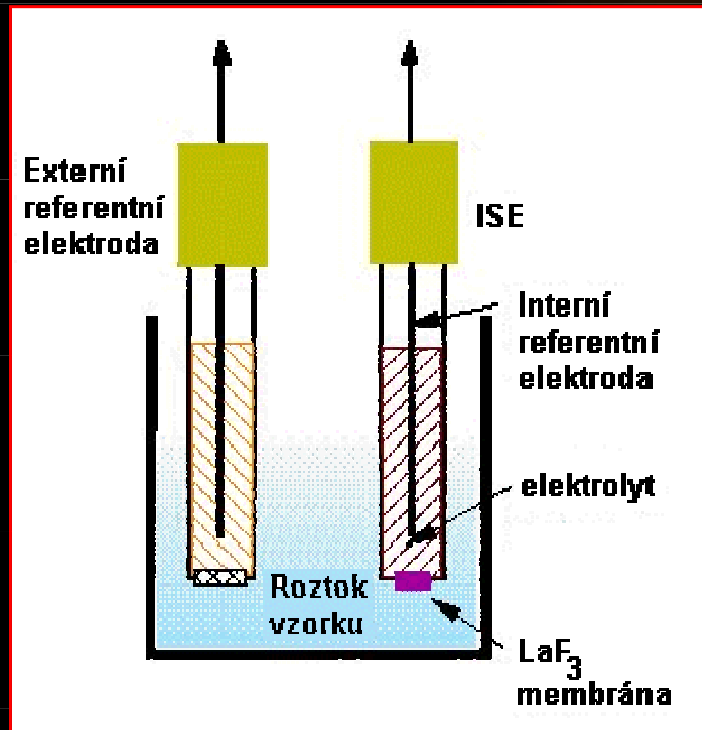
# Iontově selektivní elektrody (ISE)

Membrány s iontově-výměnnými místy

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



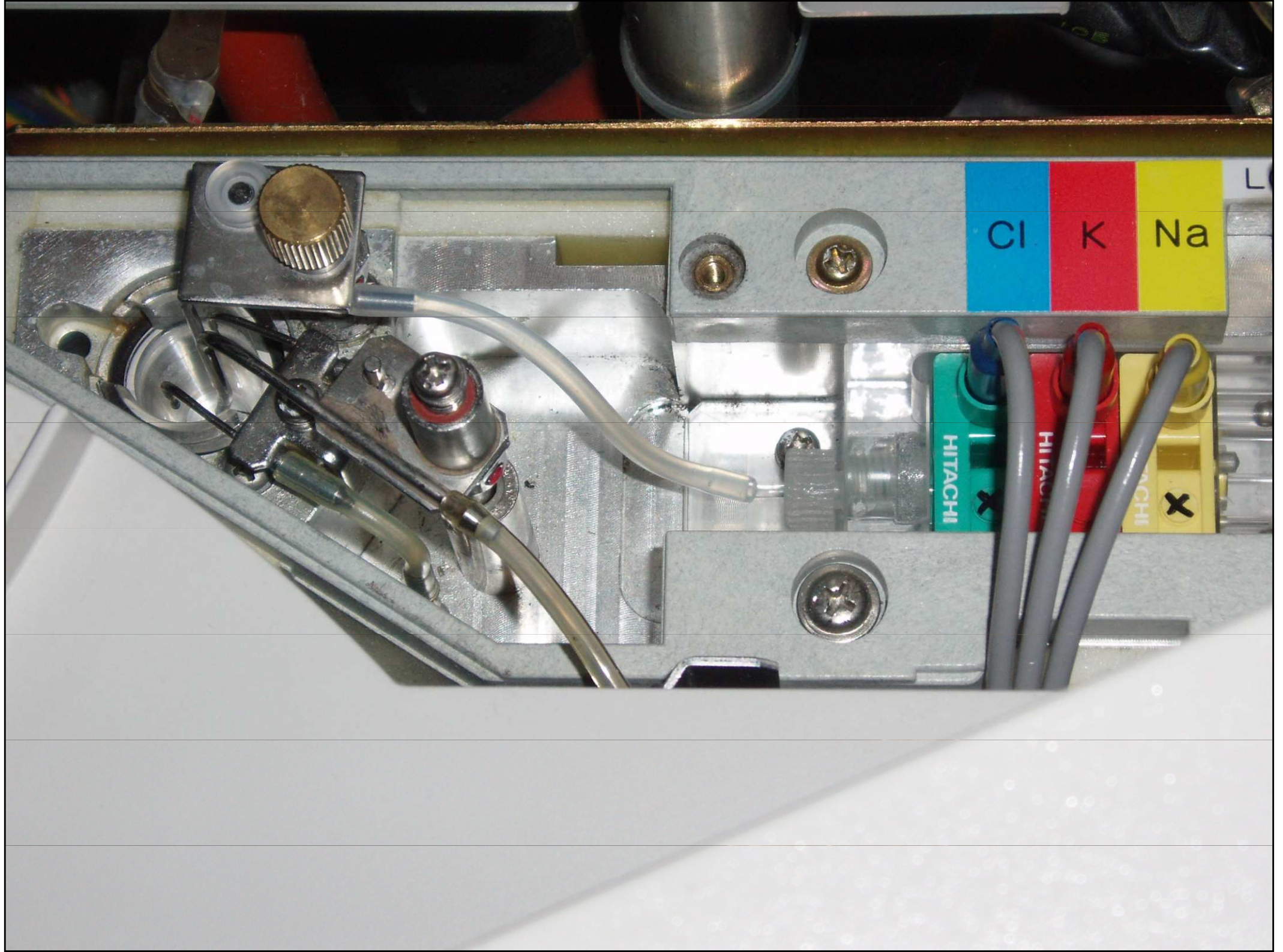
# Iontově selektivní elektrody



**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

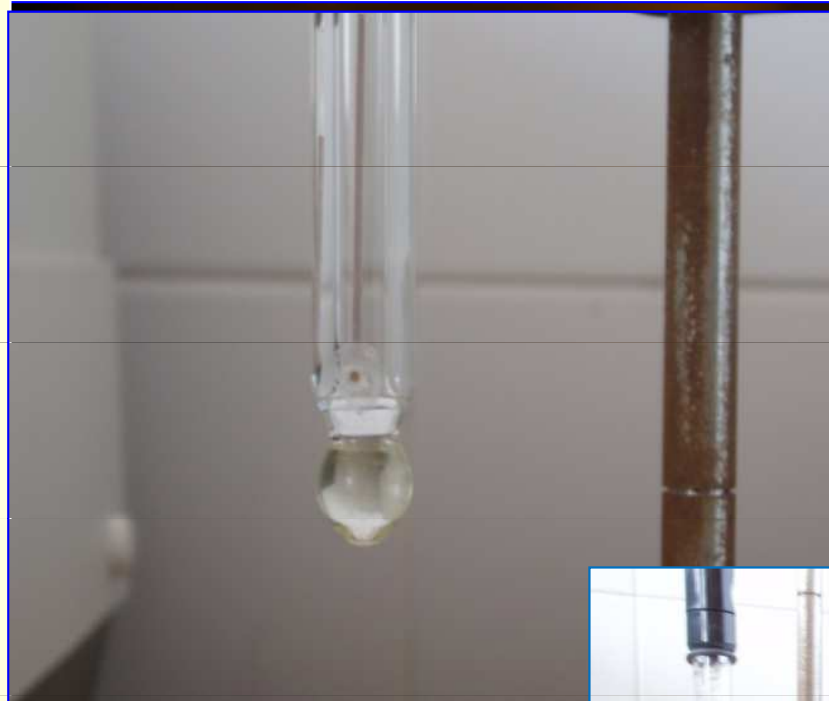
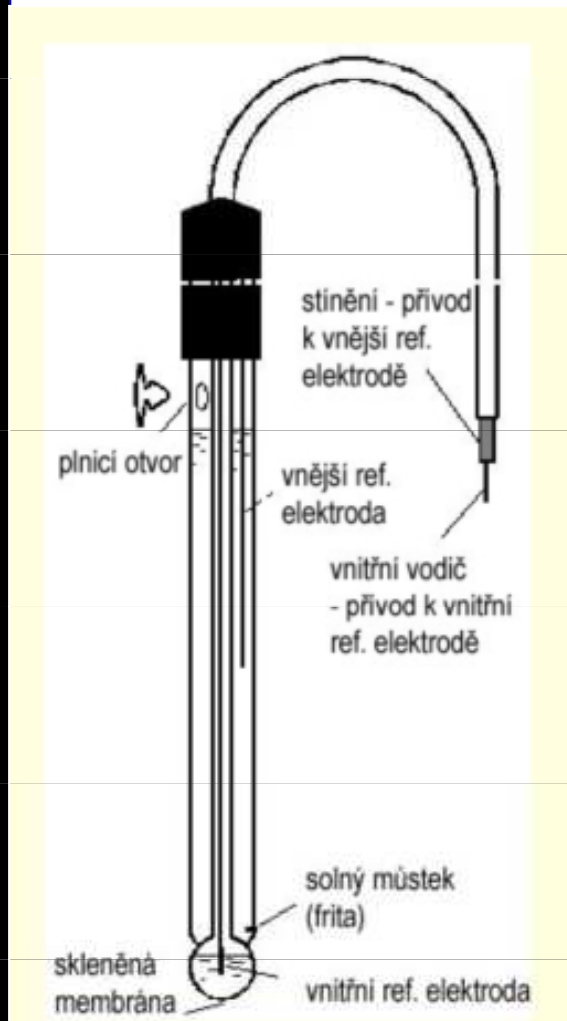


Cl K Na

HITACHI X  
HITACHI X  
HITACHI X



# 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.

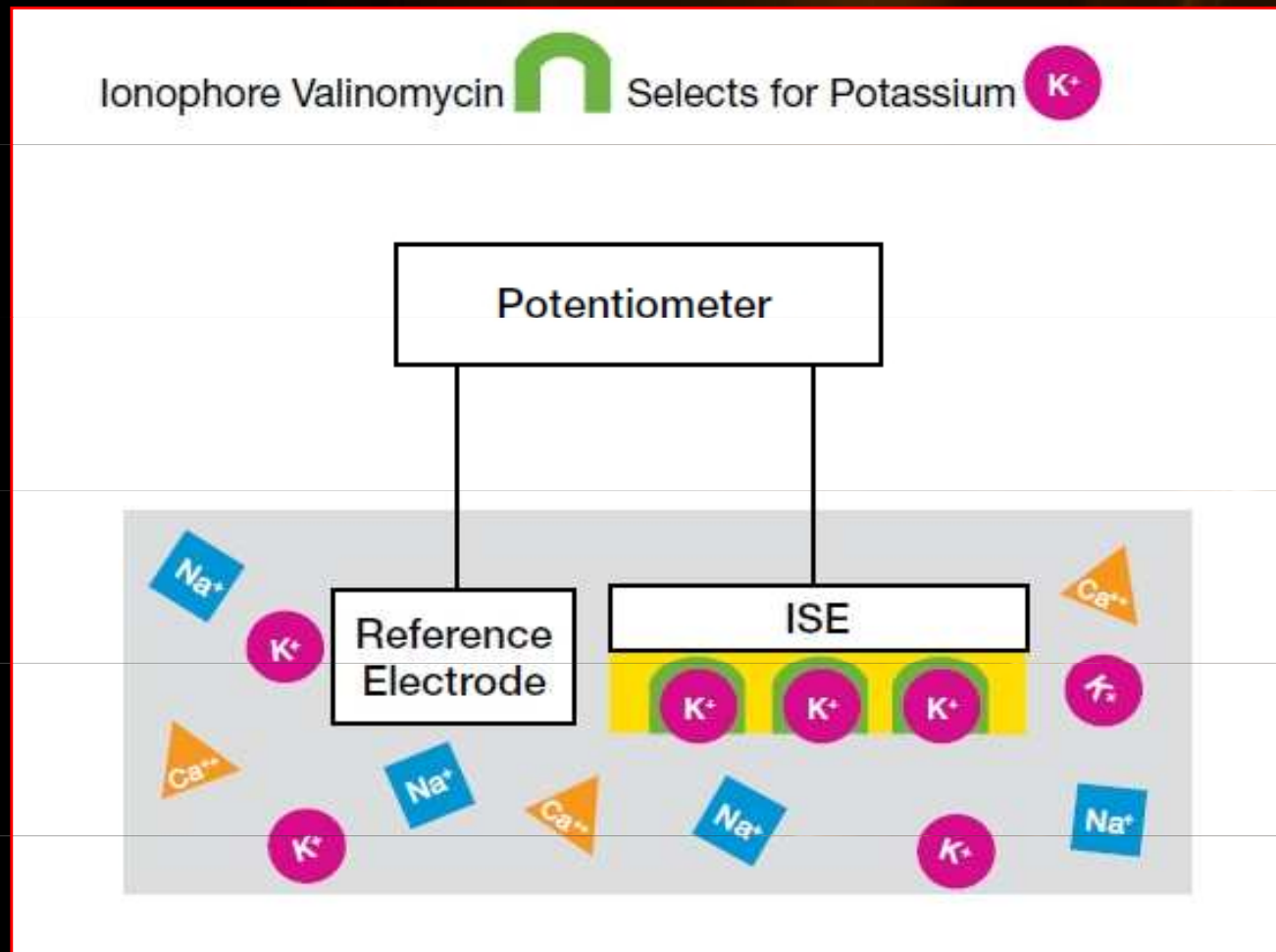
Na fázových rozhraních vzniknou potenciálové rozdíly, které se měří pomocí měrné elektrody a jsou srovnány s referenční elektrodou

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



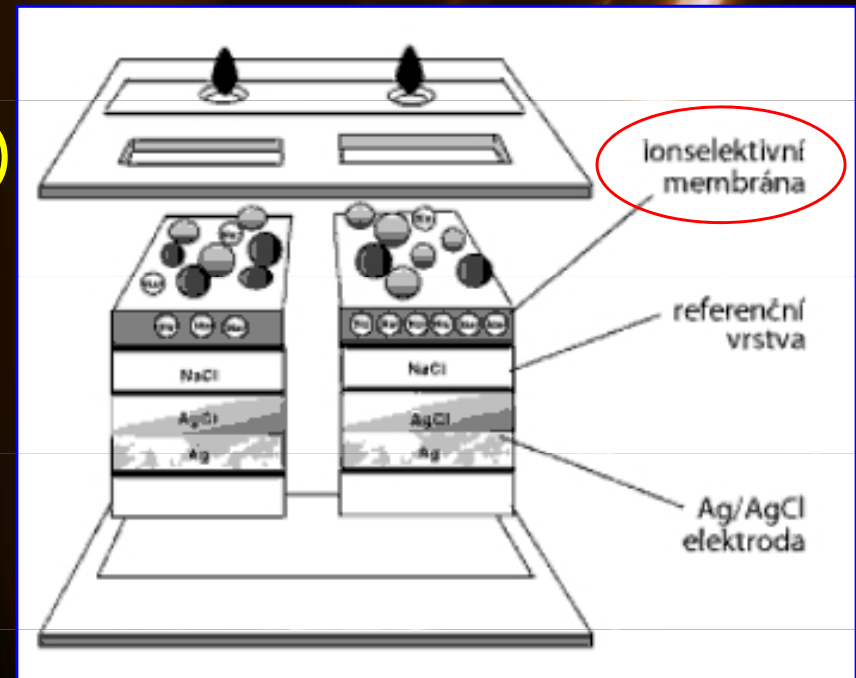
# ISE: stanovení $K^+$

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



# ISE: stanovení $\text{Na}^+$

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

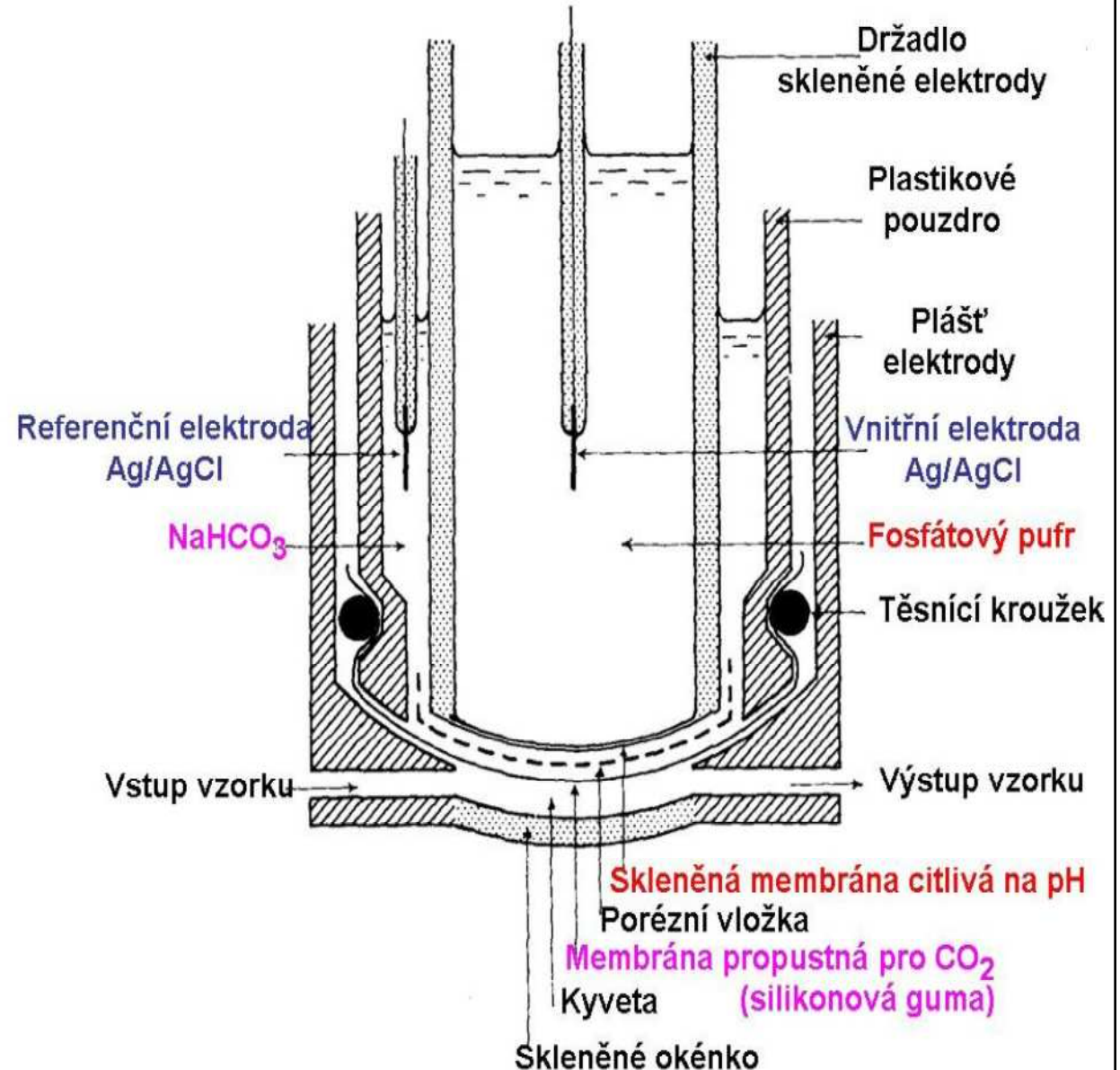
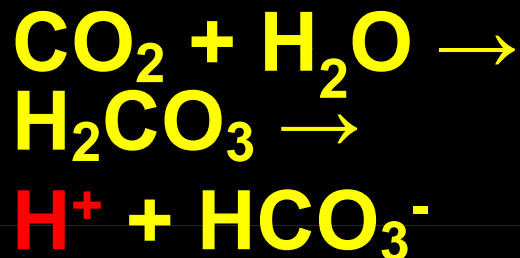


# ISE: stanovení Cl<sup>-</sup>

- ✓ 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.

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

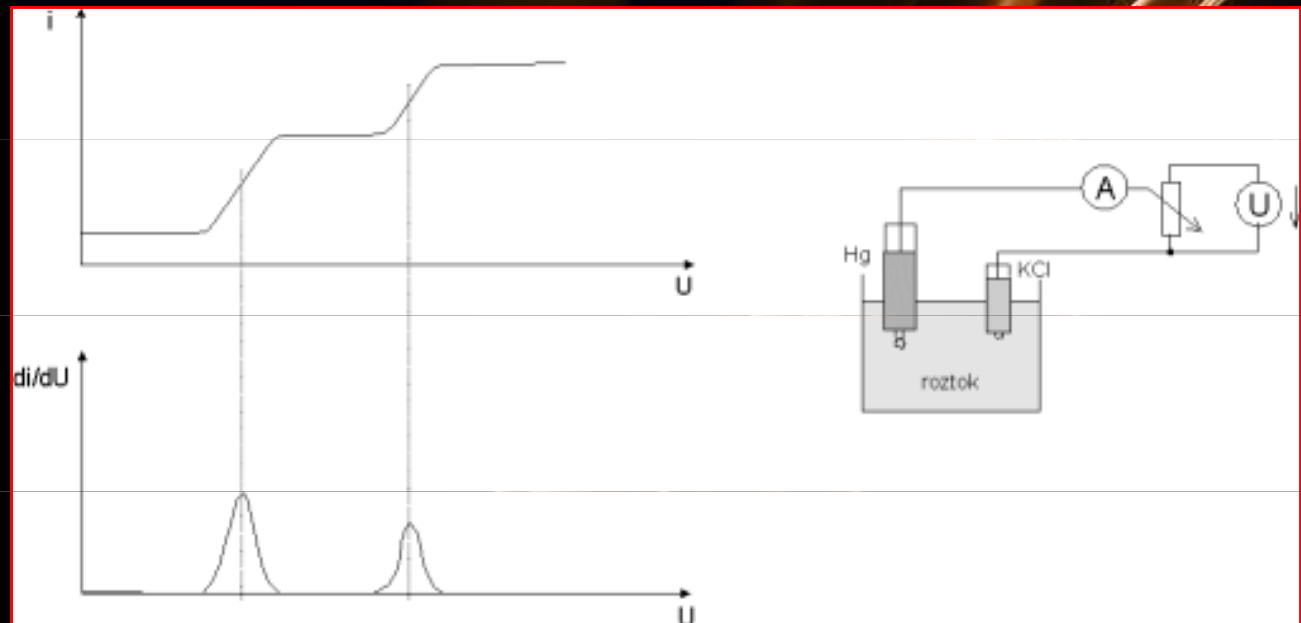
Využívá skutečnosti, že některé látky mohou být oxidovány nebo redukovány na inertní kovové elektrodě, na kterou je vložen elektrický potenciál, ten způsobí buď oxidaci nebo redukci, výsledkem změna elektrického proud, který se měří.

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

# Prof. Ing. Jaroslav Heyrovský

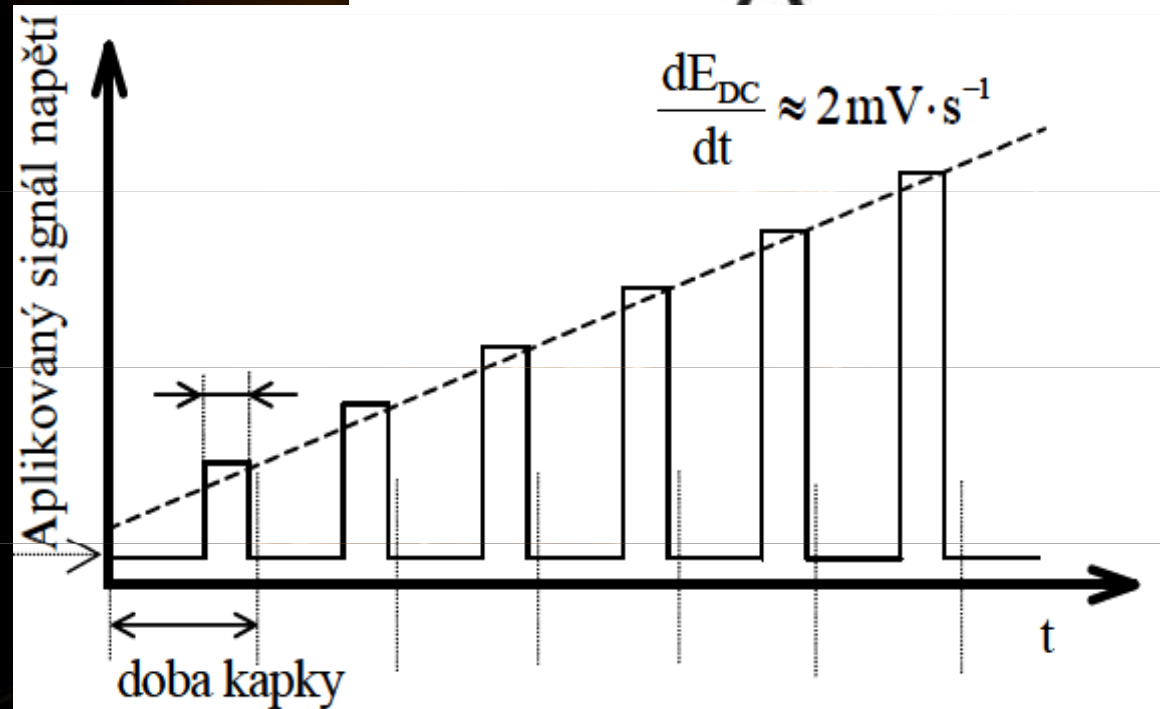
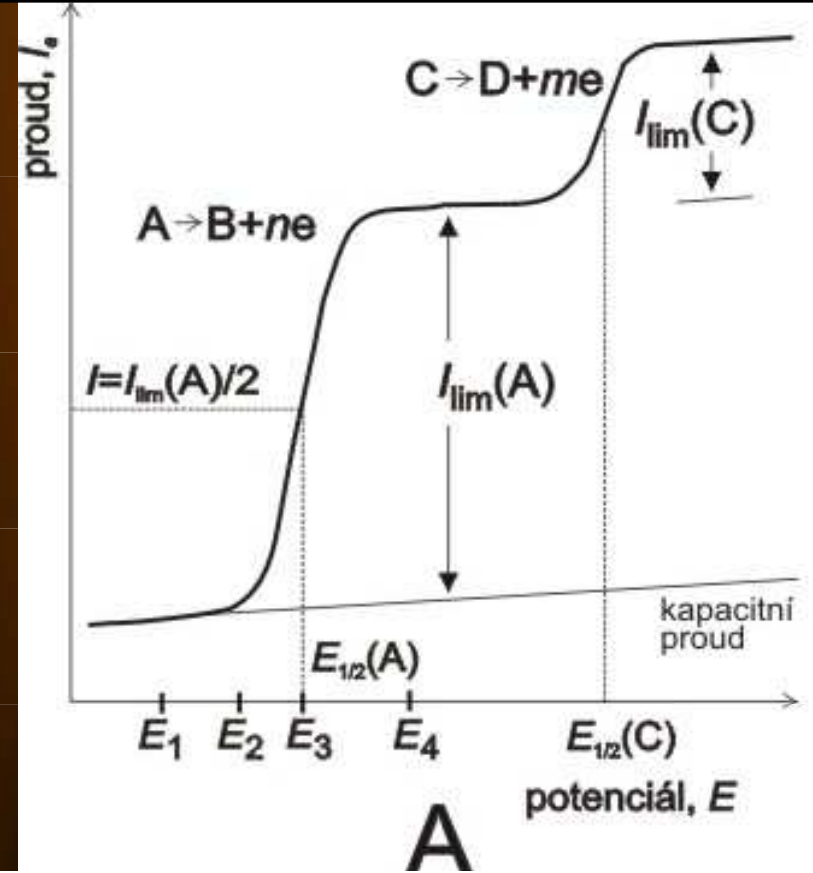
objevitel polarografie

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

0,0

0,5

1,0 V

E

$\text{H}^+$

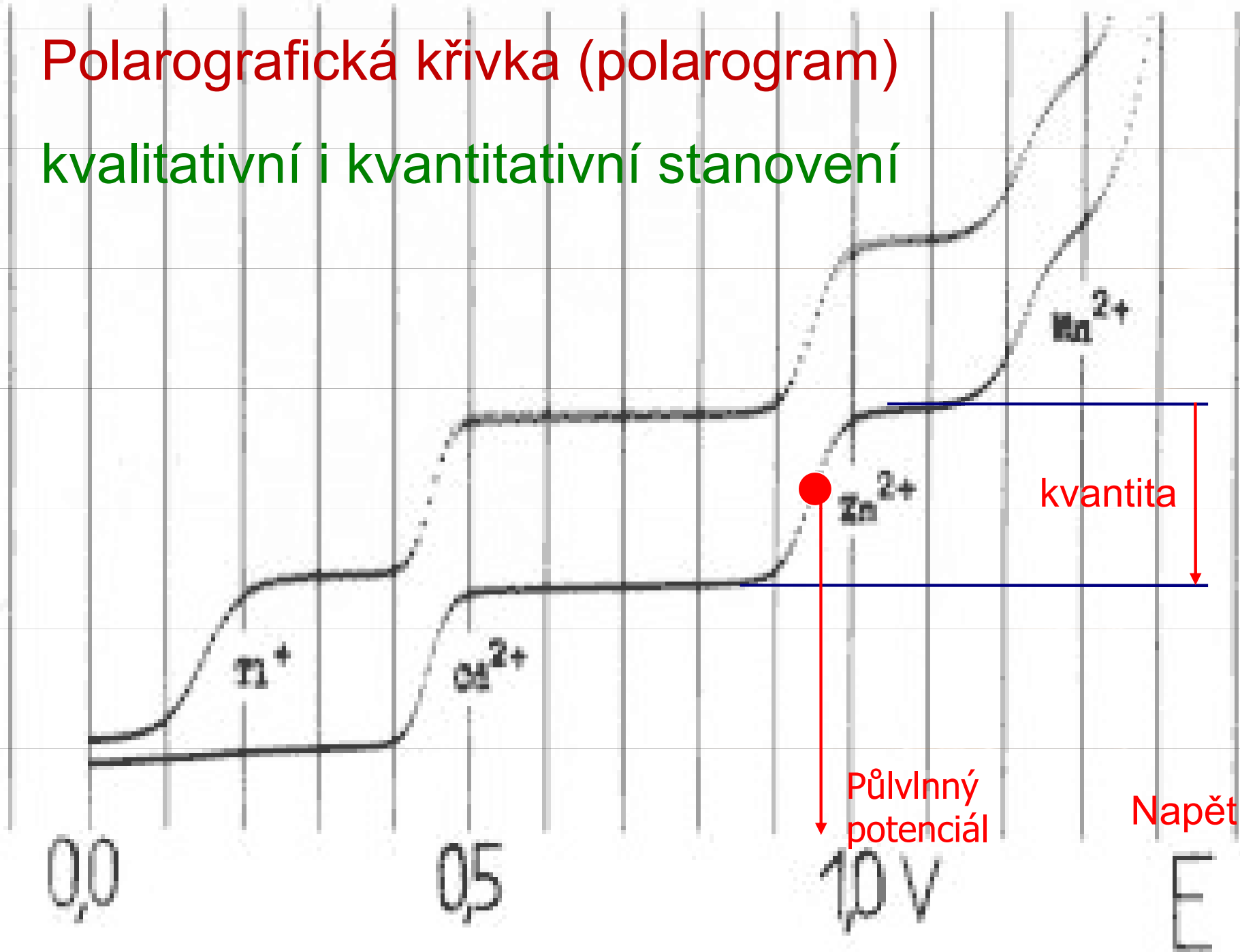
$\text{Ca}^{2+}$

$\text{Zn}^{2+}$

kvantita

Půlvlnný  
potenciál

Napětí





## ***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)

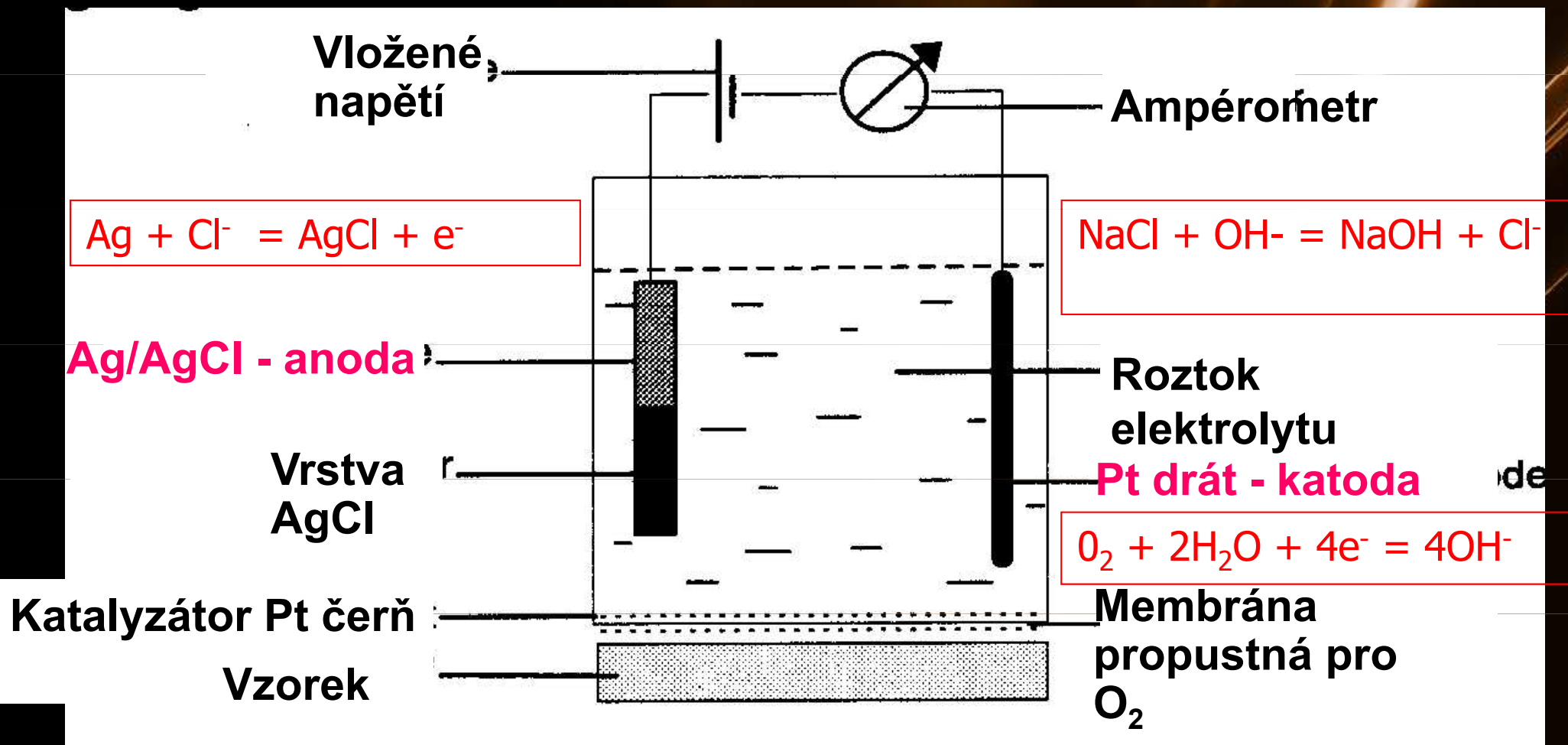
# Amperometrie

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 coulomb/mol)



# 1. Faradayův zákon

Hmotnost látky vyloučené na elektrodě závisí přímo úměrně na elektrickém proudu, procházejícím elektrolytem, a na čase, po který elektrický proud procházel.

$$m = A \cdot I \cdot t$$

$m$  ..... hmotnost vyloučené látky

$A$  ..... elektrochemický ekvivalent látky

$I$  ..... elektrický proud

$t$  ..... čas

nebo též  $m = A \cdot Q,$

$Q$  ..... elektrický náboj prošlý elektrolytem

## 2. Faradayův zákon

Látková množství vyloučená *stejným* nábojem jsou pro všechny látky *chemicky ekvivalentní*, neboli elektrochemický ekvivalent a úměrně závisí na molární hmotnosti látky.

$$A = \frac{M_m}{F \cdot z}$$

$M_m$  ..... Molární hmotnost iontu

$F$  ..... Faradayova konstanta  $F = 9,6481 \times 10^4 \text{ C} \cdot \text{mol}^{-1}$

$z$  ..... počet elektronů, které jsou potřeba při vyloučení jedné molekuly (např. pro  $\text{Cu}^{2+} \rightarrow \text{Cu}$  je  $z = 2$ , pro  $\text{Ag}^+ \rightarrow \text{Ag}$  je  $z = 1$ ).

# 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  $Q = I \cdot t$

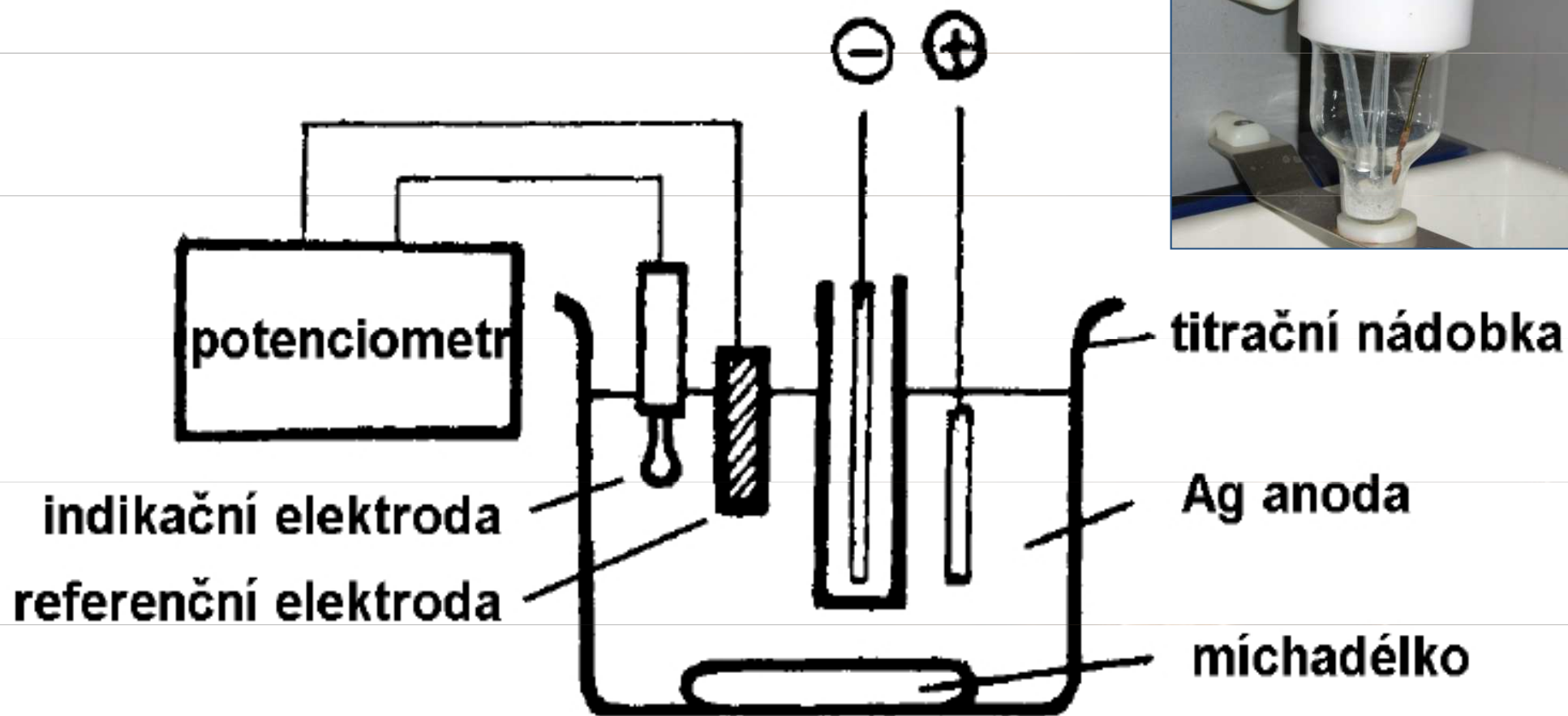
(coulomb = ampéry . čas)

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)*



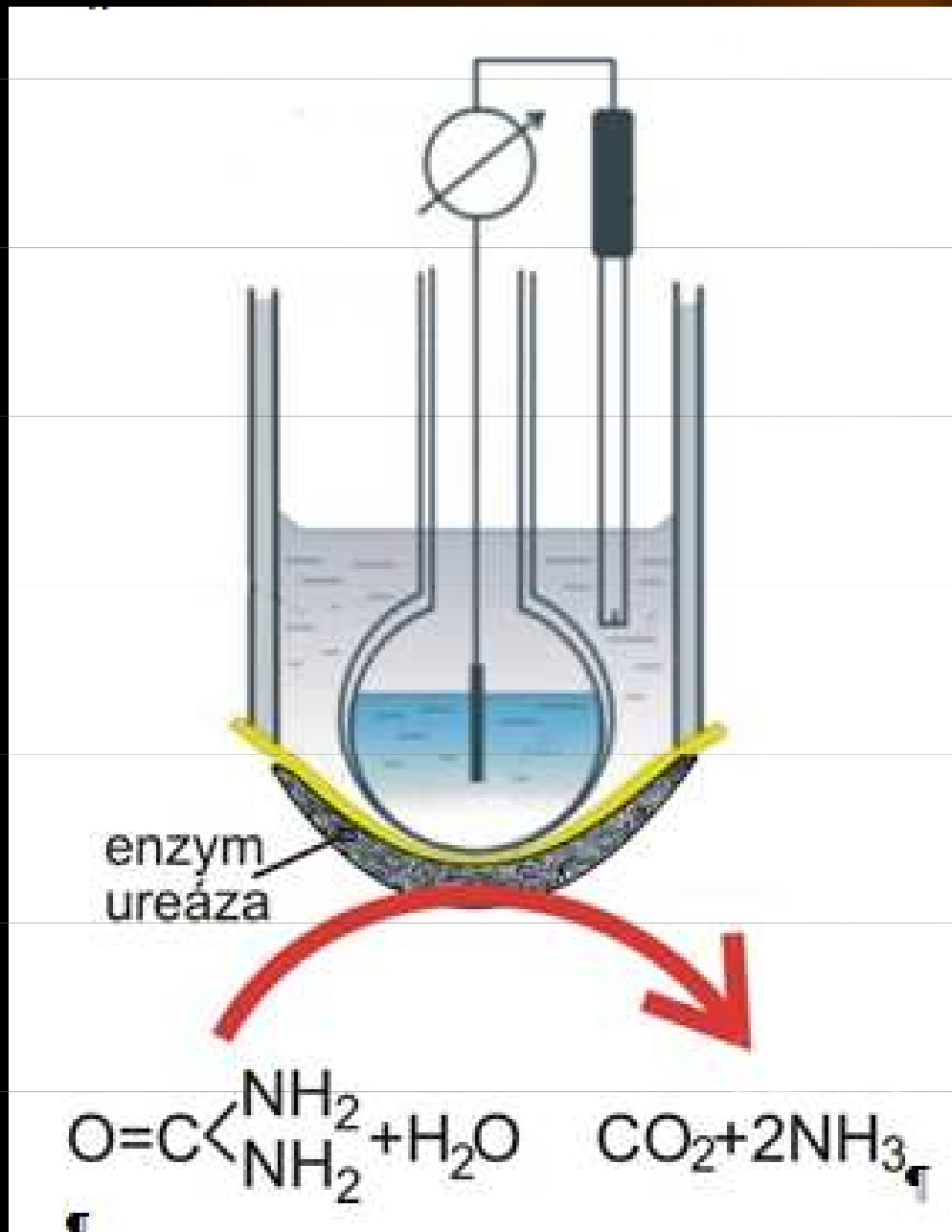
## 1. Stanovení $\text{H}_2\text{O}_2$

- 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)

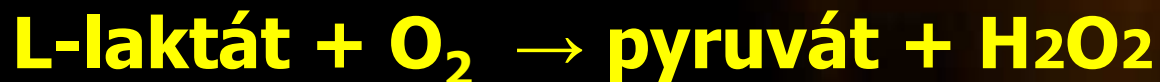
# Stanovení močoviny



# 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

