

C6200–Biochemické metody

13B_AMPEROMETRIE

Petr Zbořil

Charakteristika amperometrických metod

- Probíhá elektrodový děj trvale
- Měří se protékající proud (důsledek elektrolýzy aj. pochodů na elektrodě)
- Děje katodické (e^- do roztoku, Me^+ na elektrodu, katodické větve, obvyklejší
- Děje anodické, opak, Me^+ do roztoku – rozpouštění, anodické větve

Vedlejší vlivy

- Elektrodový děj \Rightarrow změny na elektrodě a okolí
 - Vyčerpání aktivní látky v okolí
 - Polarizace elektrod, redukováný kov apod.
- Adsorpce na elektrodu \Rightarrow změna dvojvrstvy
 - Nabíjecí, kapacitní proudy
- Eliminace x využití

Vedlejší vlivy

- Eliminace
 - Kapající elektroda – obnovení povrchu, míchání
 - Míchání nucené – pohyb kapaliny, rotace (vibrace) elektrody
 - Odlišení proudů
- Využití
 - Změna kapacitního proudu – charakter adsorbované vrstvy jako dielektrika

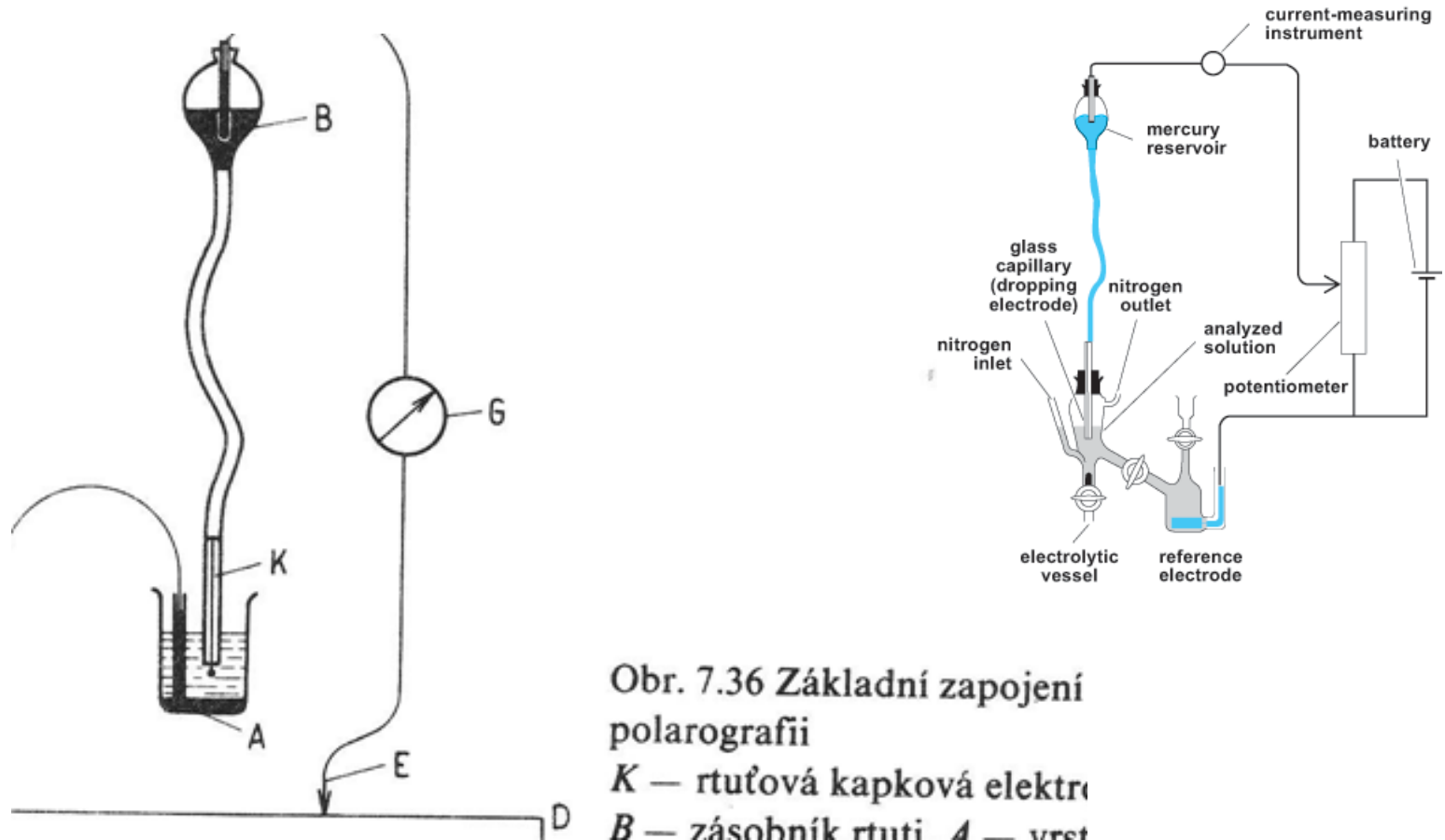
Způsoby provedení

- **Kontrolovaný parametr**
 - Potenciál, měří se proud – potenciostatické m.
 - Proud, měří se potenciál – galvanostatické m.
- **Stálost podmínek – změna proudu s časem (při stejném potenciálu) – podle elektrod**
 - Stacionární – tuhé elektrody, visící kapka – voltametrie
 - Nestacionární – kapající elektroda - polarografie

Polarografie

- Kapající rtuťová katoda, anoda o velké ploše
- Vkládá se rostoucí potenciál (záporně – tj. fakticky klesající)
- Měří se proud (většinou katodický, střední hodnota, celkový či složky – dle modifikace)
- Vyvinuta J. Heyrovským a spol. (M. Shikata, D. Ilkovič), NC 1959

Klasická DCP

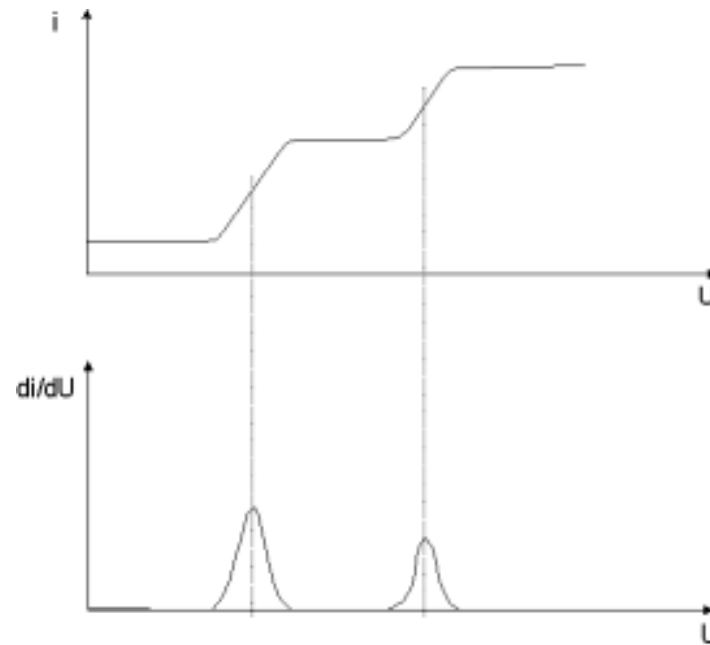
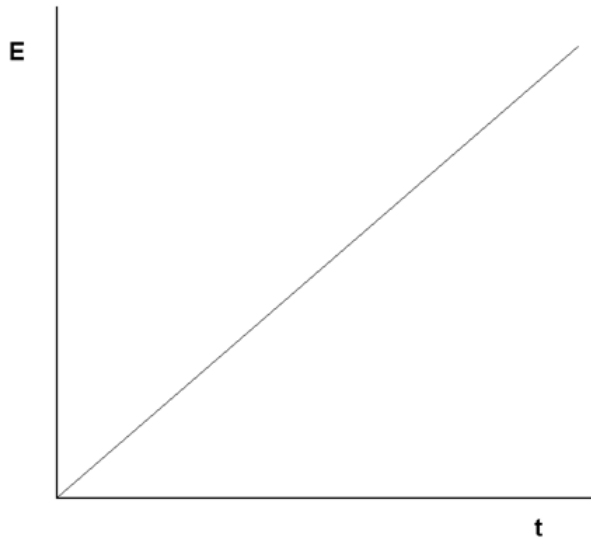


- Schéma DCP

Klasická DCP

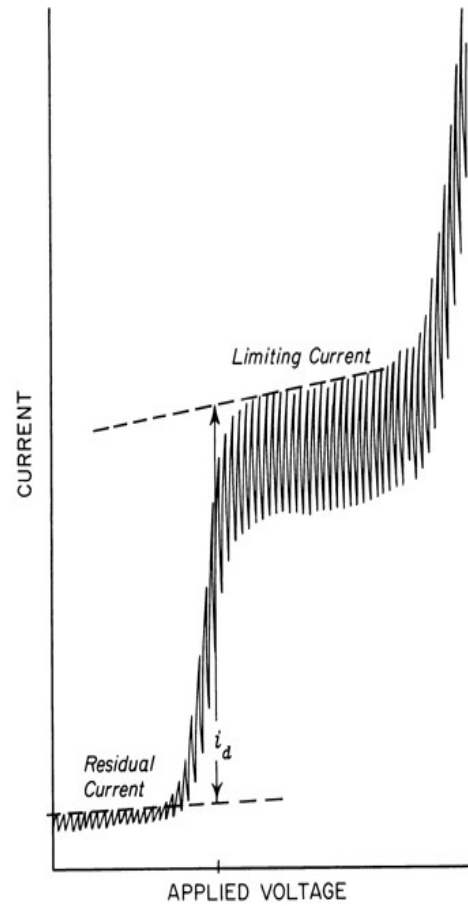
- $I = f(E)$
- Vzrůst I po dosažení rozkladného potenciálu – probíhá elektrodový děj
- Ohmický a faradaický proud
- Vliv elektrolytu – vodivosti
 - $E = E_p - E_n - I.R$
- Difusní proud – Ilkovič
 - $I_d = 0,627 \text{ cm}^2 \text{ g}^{-2/3} \cdot n \cdot F \cdot D^{1/2} m_h^{2/3} \cdot t_1^{1/6} \cdot c$

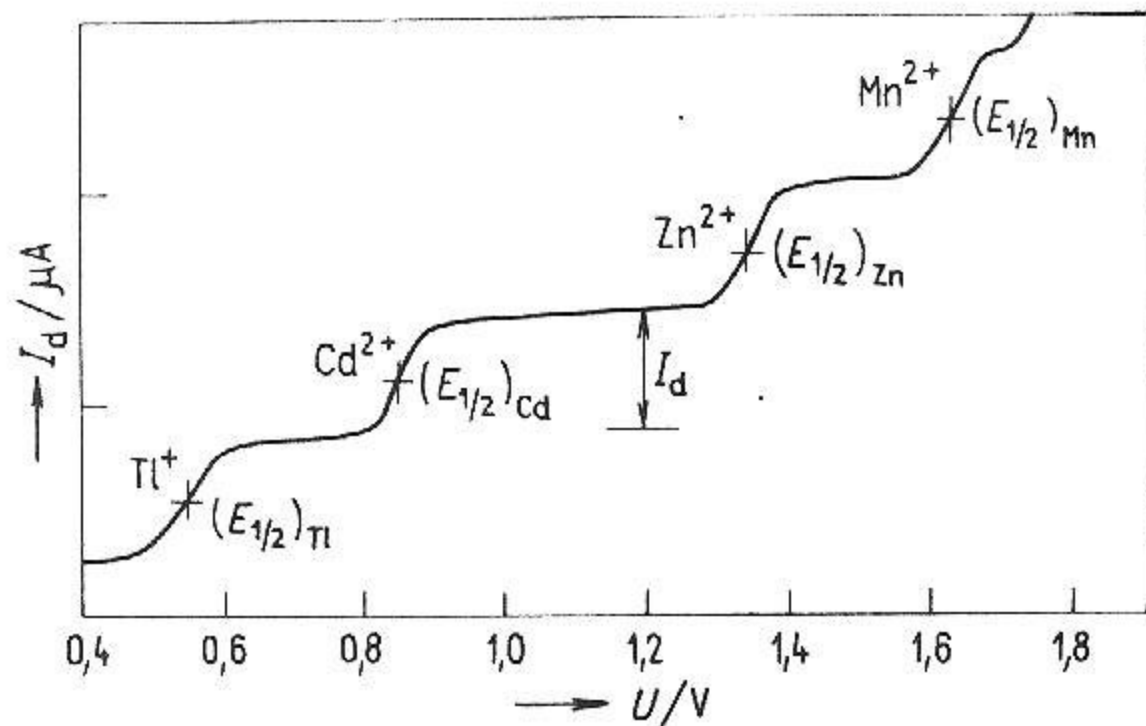
Klasická DCP



- Časový průběh potenciálu, proudová odezva

Polarografická vlna





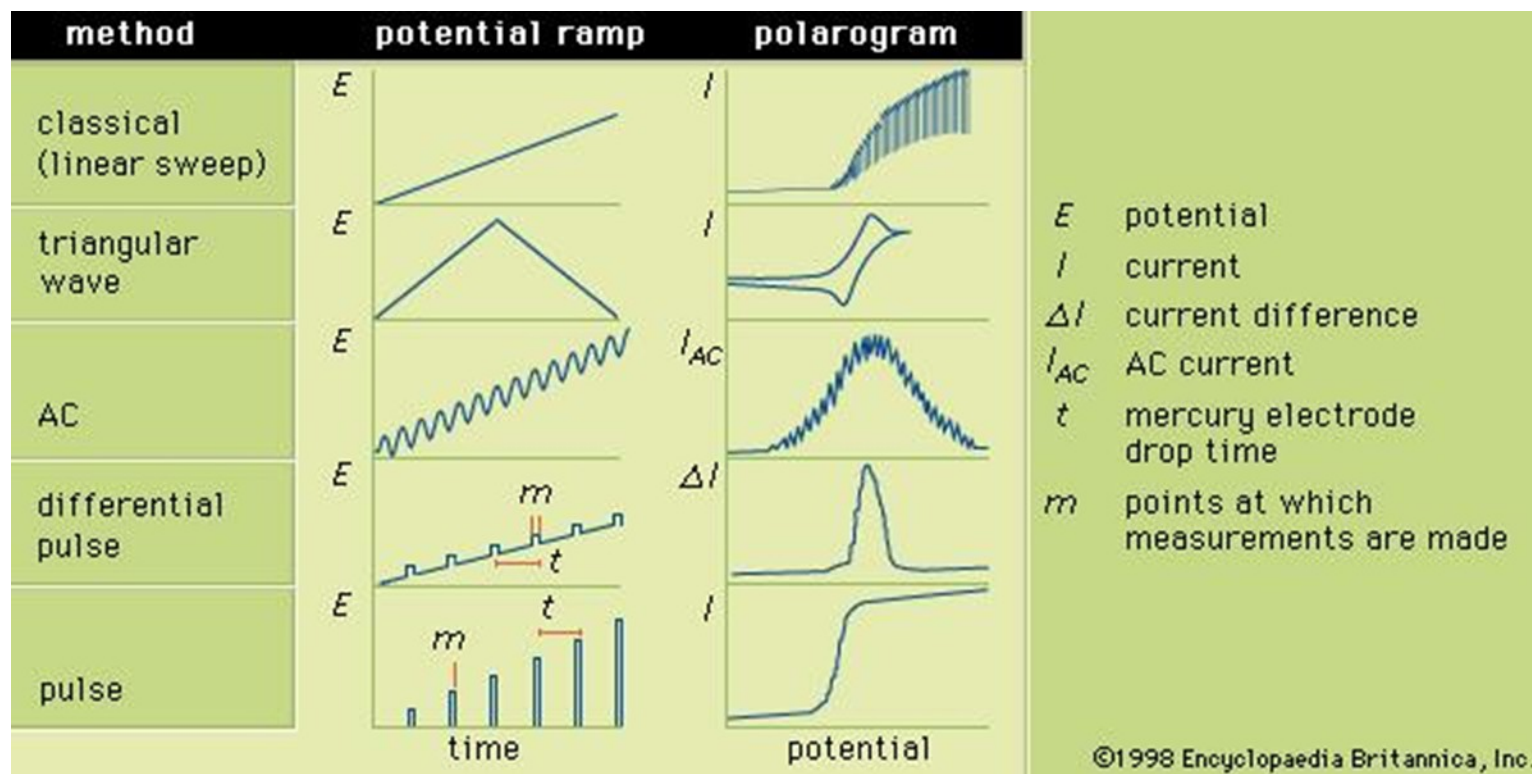
Obr. 7.38 Polarografické křivky s vlnami iontů Tl^+ , Cd^{2+} , Zn^{2+} a Mn^{2+} s vyznačením půlvnových potenciálů $E_{1/2}$ a výškou vlny (I_d)

Užití

- Analytika kovů
- Další redoxaktivní sloučeniny
- Organické látky (P. Zuman)
- Modifikace metody

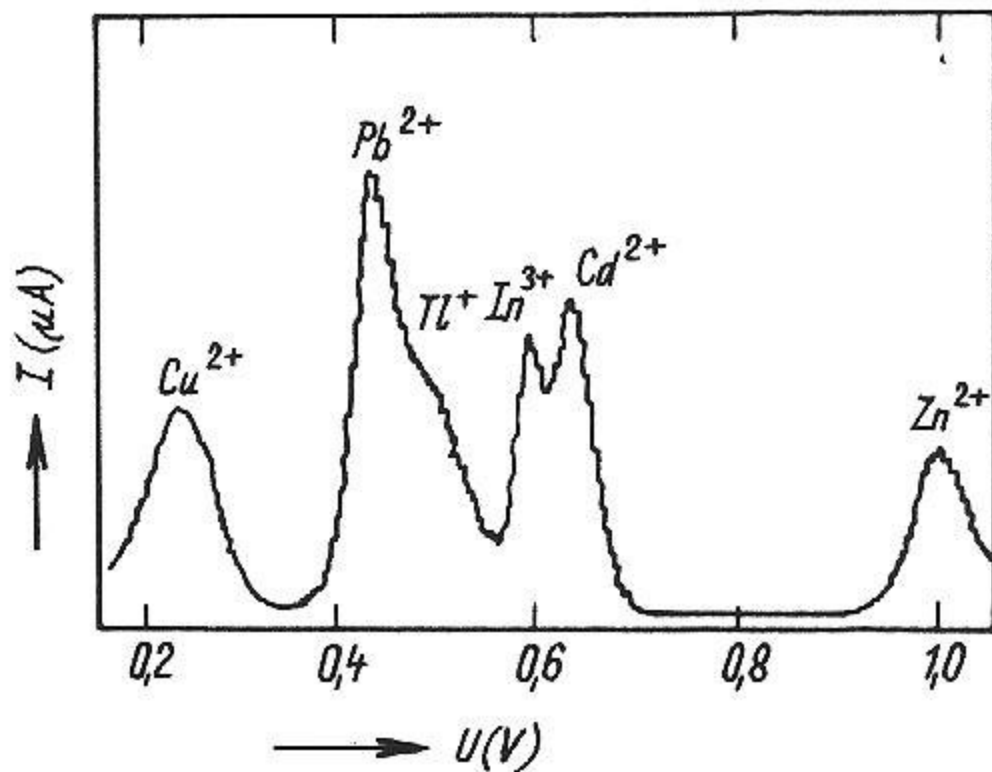
Modifikace polarografie

- Způsoby vkládání E a měření I



ACP, SWP

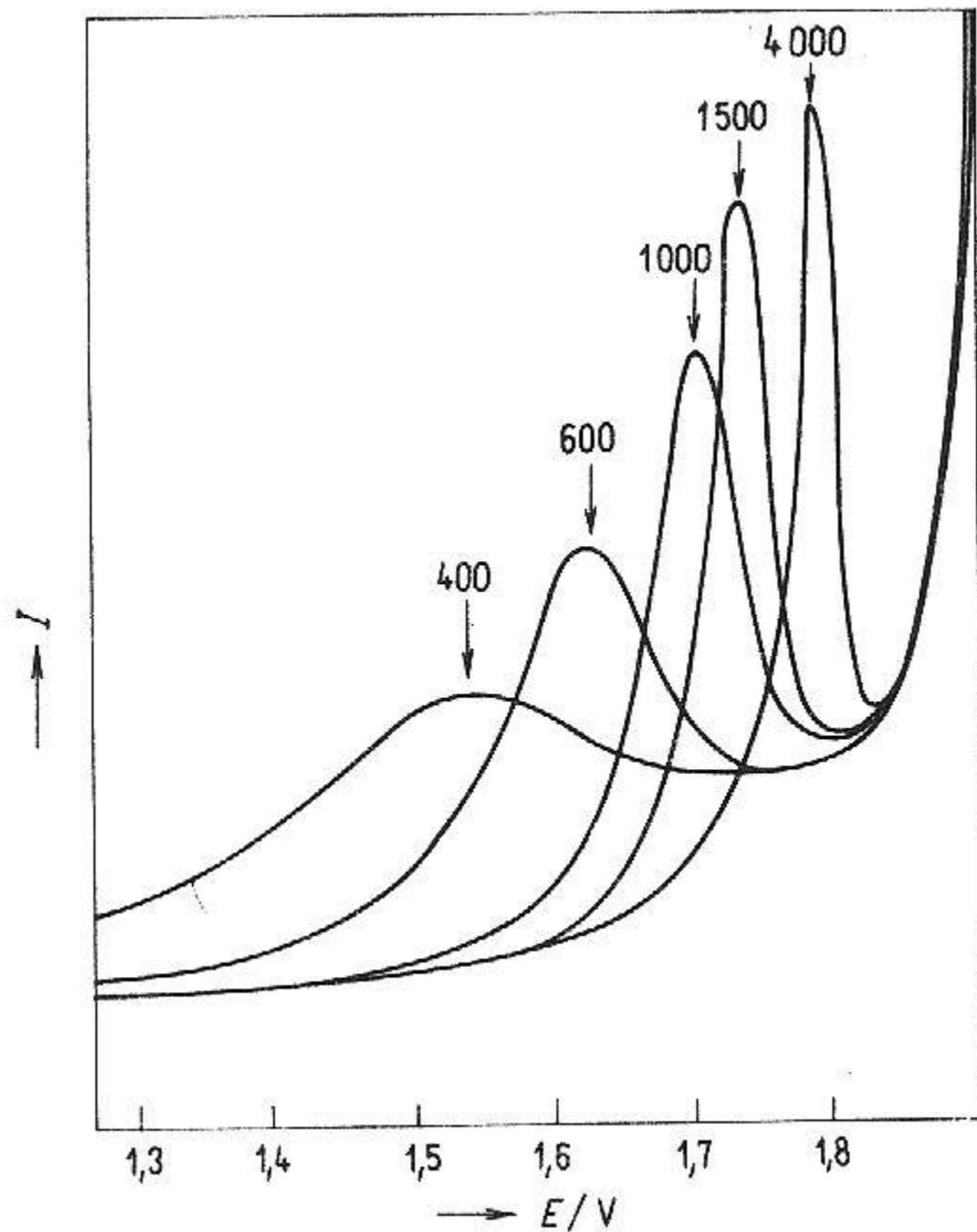
- Polarografie se střídavou složkou
 - Superpozice přes základní „rampu“
 - Sinusoidní nebo čtvercový průběh přidané složky
 - 50 – 100 Hz, 10 – 20 mV resp. 200 Hz, 1 – 50 mV
 - Měření střídavé složky I – záznam má tvar derivace
- Rozlišení reverzibilních a ireverzibilních dějů
 - Reverzibilní výrazné, ireverzibilní malé (O₂ – není nutno odstranit)
- Zvýšení citlivosti díky eliminaci nabíjecího proudu
 - Limit 10⁻⁶ M i 10⁻⁷ M proti 10⁻⁵ M u DCP



Obr. 7.42 Polarogram s pravoúhlým střídavým napětím (square wave) pro šest kationtů

Adsorpční pochody

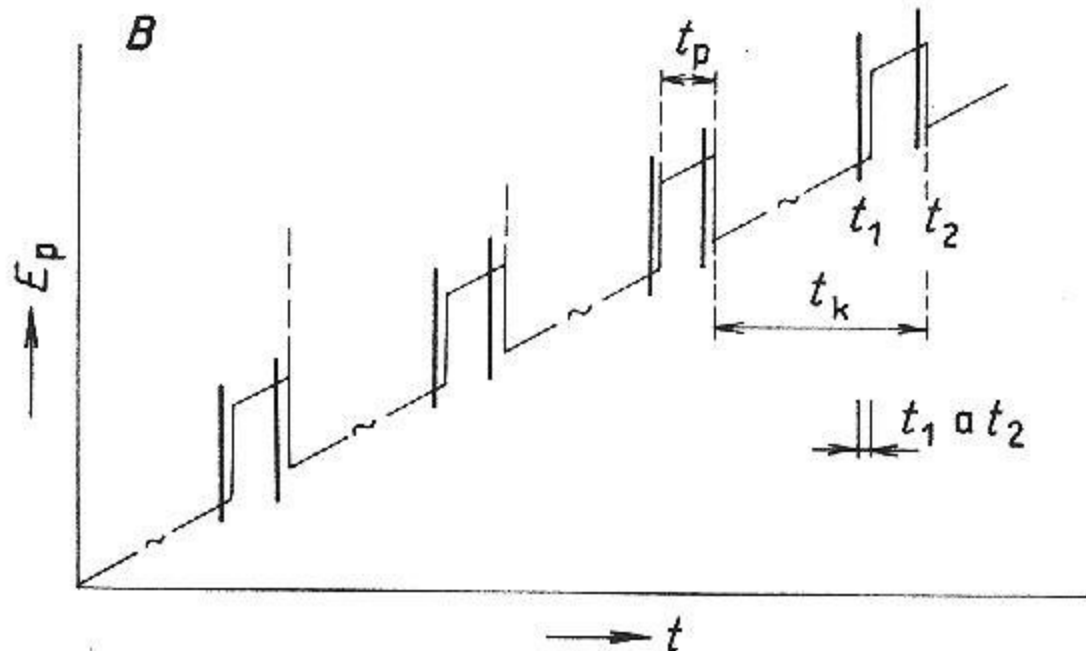
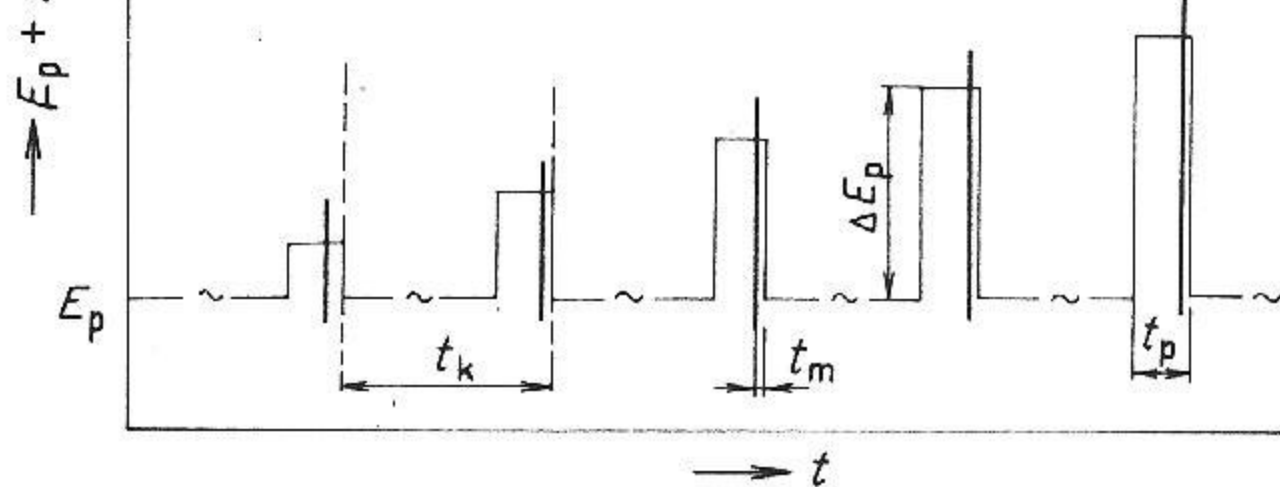
- Tenzametrie – zejména SWP
 - Změna kapacity – vliv adsorpce na rozhraní
 - Konkurence s dipoly vody
 - Změna permitivity
 - Měří se střídavá složka – f (C)



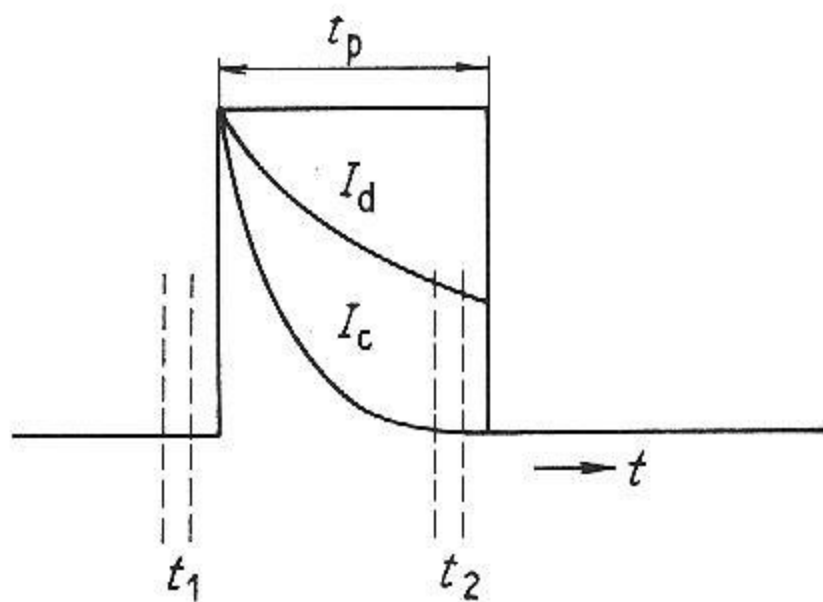
Obr. 7.41 Křivky získané při polarografii AC polyethylenglykolů o různé relativní molekulové hmotnosti (čísla u křivek)

Pulzní polarografie

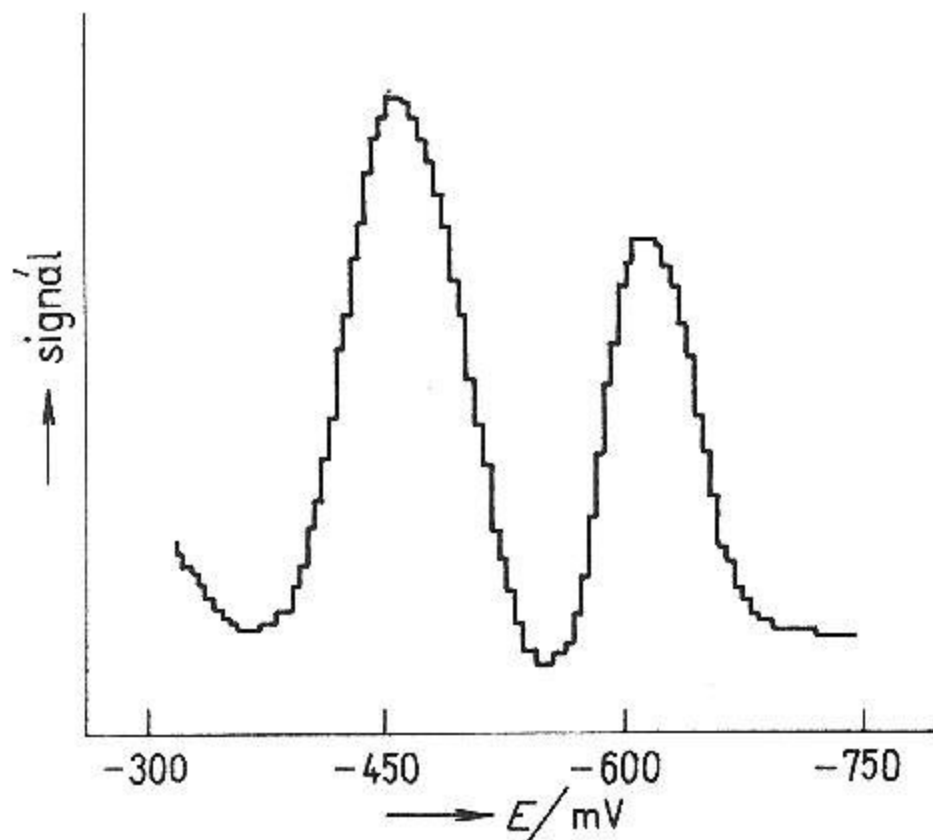
- NPP
 - Měření jedné hodnoty před koncem pulzu
 - Pulz se vkládá ke konci kapky – stálejší podmínky
- DPP
 - Měření 2 hodnot – diference, eliminace kapacitní složky
 - Velká rozlišovací schopnost
 - Metabolity, léčiva, bílkoviny



Obr. 7.43 Schematické znázornění časového průběhu polarizačního napětí v normální pulsní polarografii (NPP) (A) a v diferenční pulsní polarografii (DPP) (B) t_k — doba kapky RKE, t_p — doba (šířka) pulsu, t_r — interval, během kterého se



Obr. 7.44 Časový průběh elektrolytického (I_d) a kapacitního (I_c) proudu
 t_p — doba pulsu, t_1 a t_2 — intervaly, ve kterých se měří proud



Obr. 7.45 DPP-polarogram
 $5 \cdot 10^{-7} \text{M-Tl}^+$ a $5 \cdot 10^{-7} \text{M-Pb}^{2+}$
v $0,1 \text{M-NaOH}$

Voltametrie

- Stacionární elektrody

- Visící Hg kapka
- Pt disky, drátky, plíšky
- Jiné kovy
- Uhlík – slinutý, práškový (pojidlo)

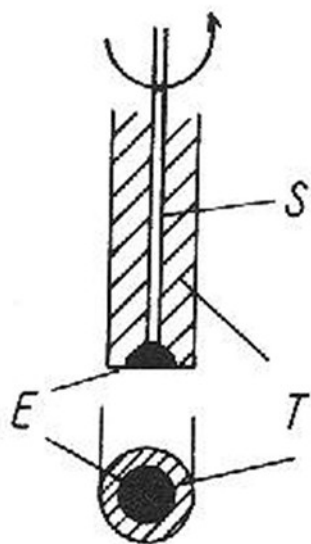
- Nucené míchání

- Míchadla, turbinky – proud kapaliny
- Rotace, vibrace

- Proud

- $I_d = 0,620 \text{ cm}^2 \text{ g}^{-2/3} \cdot n \cdot F \cdot \Pi \cdot r^2 \cdot D^{2/3} \cdot \nu^{-1/6} \cdot \omega^{1/2} \cdot c$

Voltametrie



Obr. 7.48 Disková rotační platinová elektroda
E — platina, *T* — PTFE, *S* — vodivý hřídel

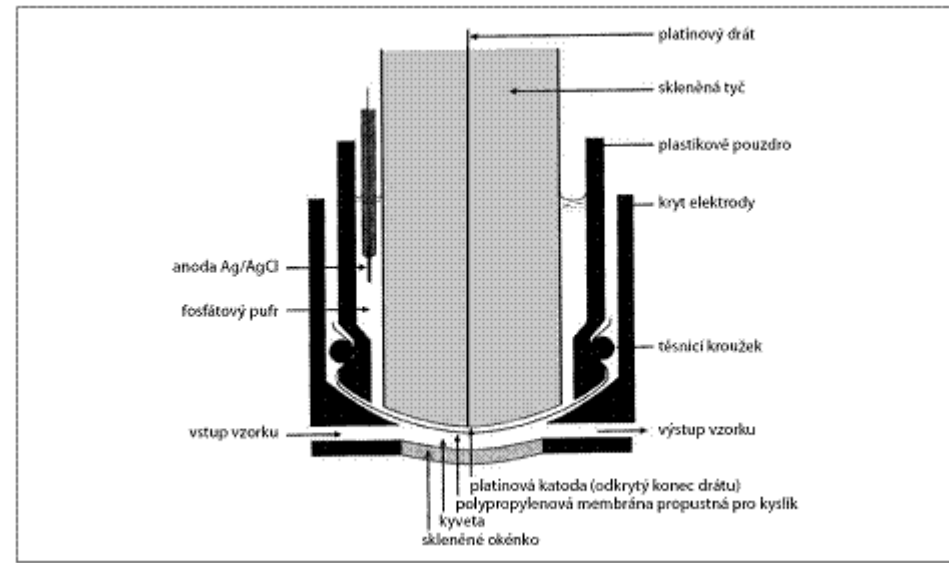
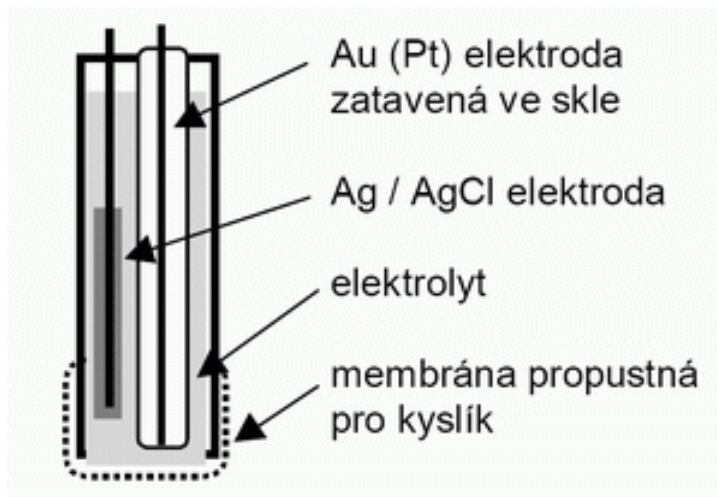
- Rotační disková elektroda

Aplikace

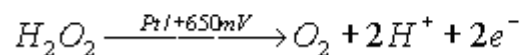
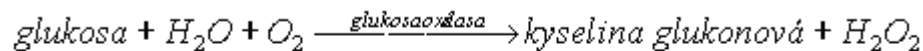
- Analytika
 - metabolity (O_2), kovy, určení D, kinetika
- Studium redoxaktivních center (Fe, Zn, FAD, -SH aj.)
- Změny konformace (dostupnost)
- Modifikace povrchu
 - Au, – vazba -SH, C – oxidace – -COOH
- Modifikace smísením s dalšími redoxaktivními látkami – ferocen, enzymy, cyt c

Kyslíková elektroda

- Měření koncentrace O_2 , H_2O_2 i NO_3^-



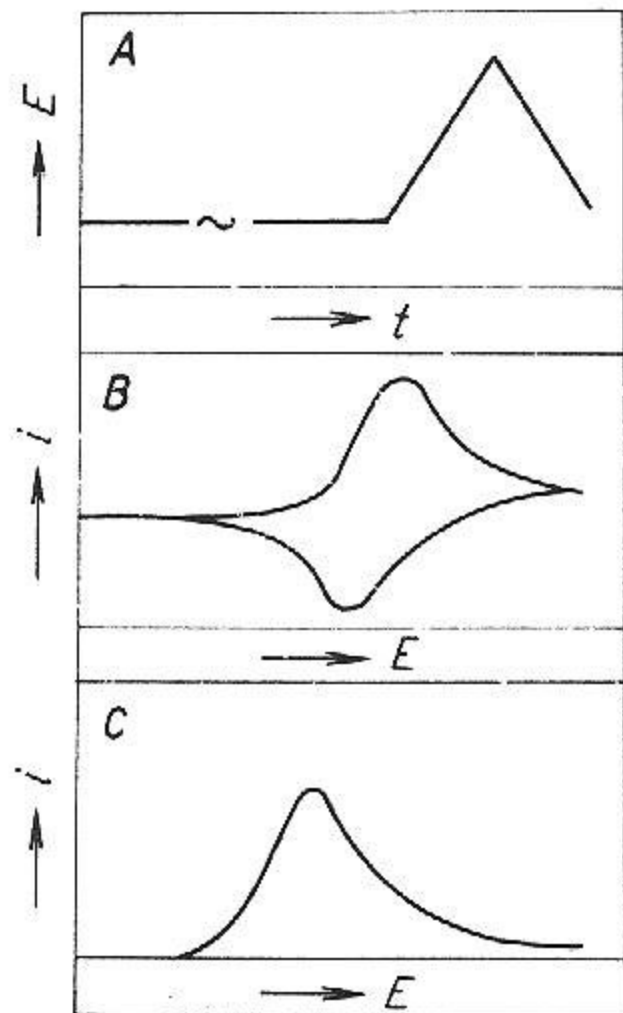
Schema Clarkova článku



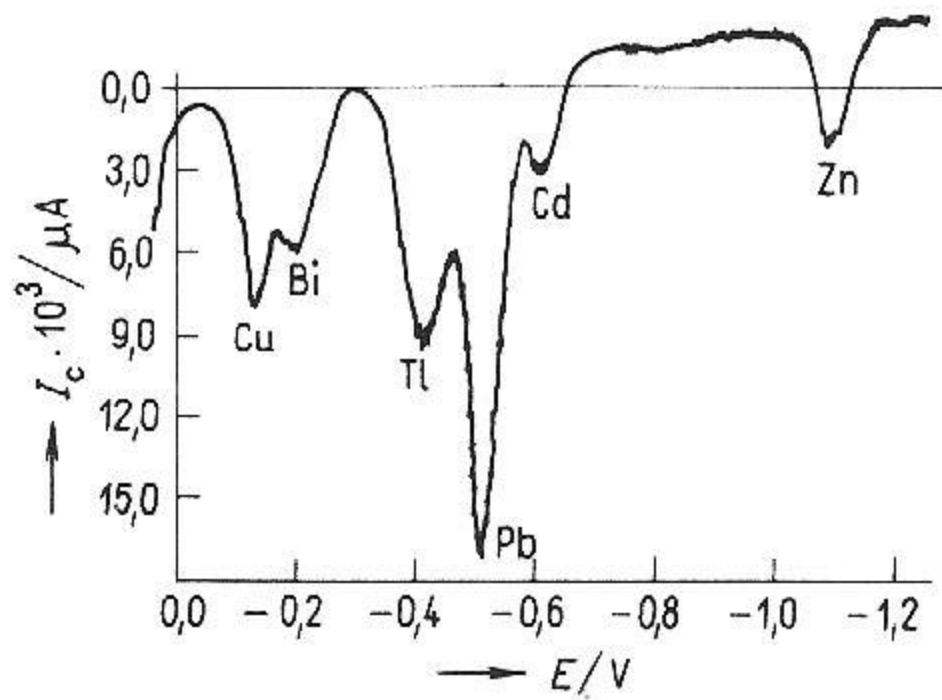
Uhlíková elektroda



- Sledování enzymů, substrátů, biosensory



Obr. 7.49 Cyklická voltametrie
A — časový průběh napětí
 (trojúhelníkový puls) *B* — křivky pro
 katodickou redukci a anodickou oxidaci
 (reverzibilní systém), *C* — stanovení
 organické látky



Obr. 7.46 Voltametrická křivka anodického rozpouštění na stacionární rtuťové elektrodě (metoda ERA)
 Elektrolýza 3 min při $-1,4$ V (vs SKE)

DĚKUJI ZA POZORNOST