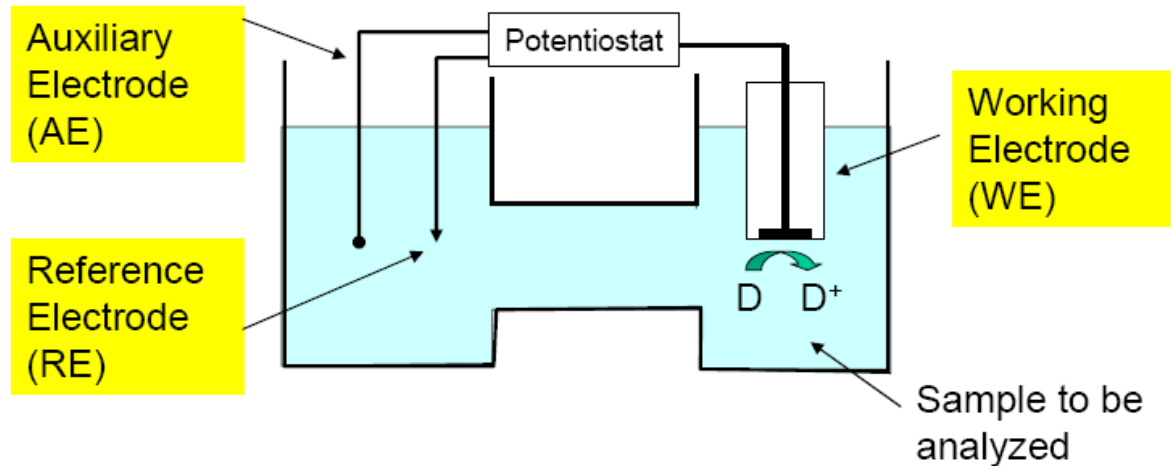


Amperometria

2018

Amperometria → medir corrente em E constante

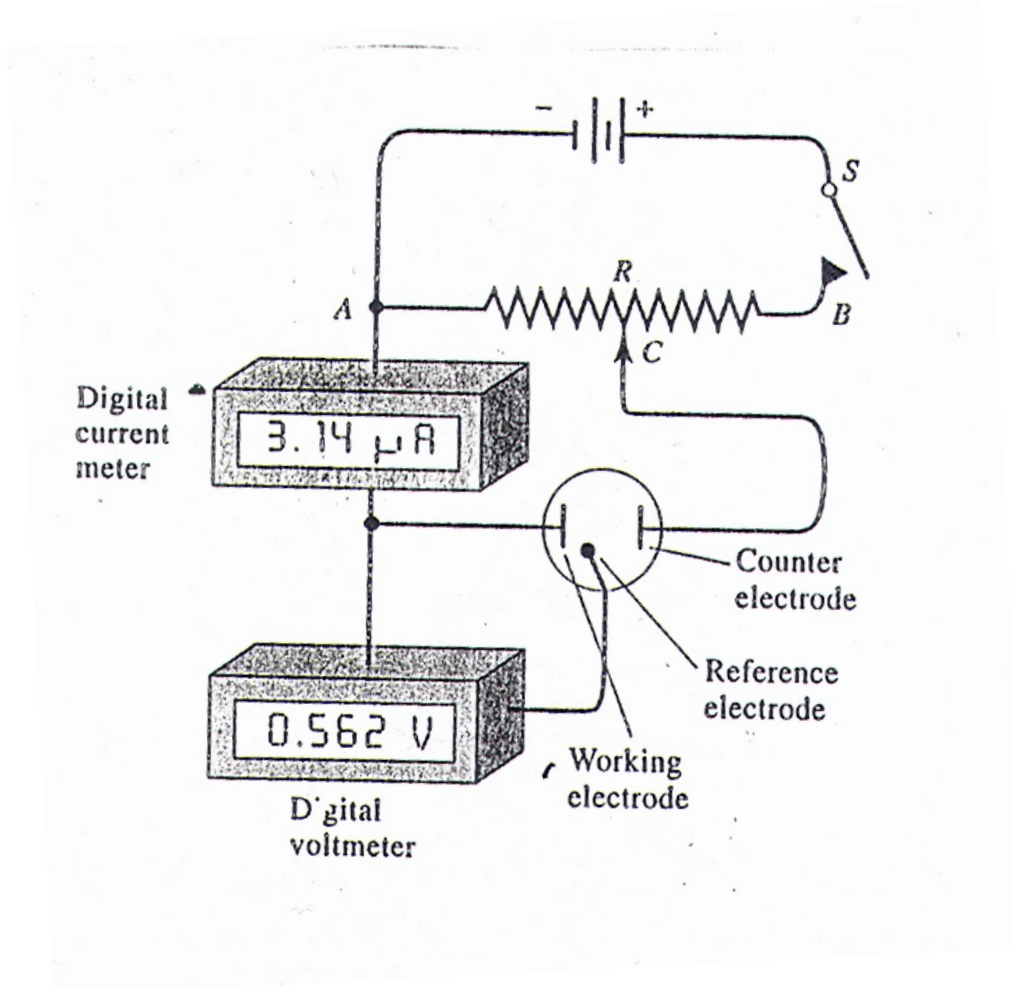
Amperometry



Procedure for simple amperometry

1. Apply potential to WE relative to RE
2. Measure current at WE (i.e., between WE and RE)

Equipamento básico



Princípios básicos de uma análise por titulação.

1. A estequiometria da reação deve ser conhecida
2. A reação deve ser virtualmente quantitativa, a constante de equilíbrio da reação deve ser grande.
3. O equilíbrio deve ser estabelecido rapidamente
4. Nenhuma reação interferente ou paralela deve ocorrer
5. Erros na detecção do ponto final devem ser mantidos no patamar mínimo através da escolha de um método adequado indicador.
6. Automação → diminui o custo da análise; mais rápida; maior precisão; possibilidade de realizar análise sem interferência ou supervisão de operador (análises de rotina).

Titulação amperométrica

- medida da corrente (ampéres) em um potencial fixo durante a variação da concentração da espécie eletroativa.
- **Uma das espécies envolvidas na reação deve ser eletroativa** (isto é apresentar reação de ox-redox no potencial escolhido). Aplica-se um potencial constante (corrente) entre o eletrodo de trabalho e o eletrodo de referência e mede-se a corrente (voltagem) em função do volume do titulante aplicado.

Tipos de célula de análise

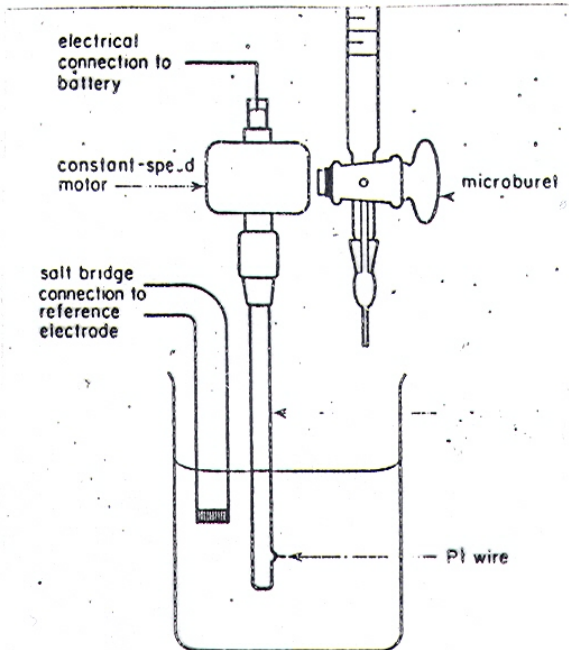
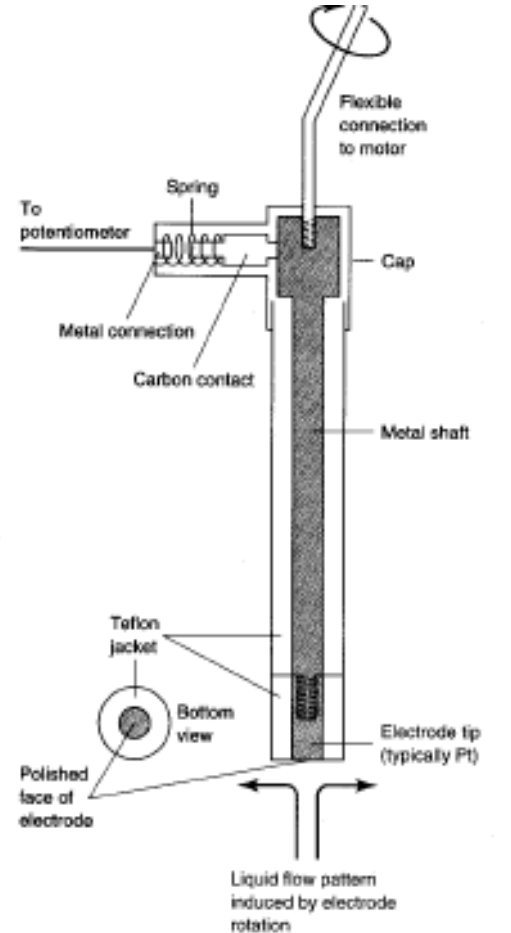


Fig. 27.11 Typical Cell for Amperometric Titrations Employing a Rotating Platinum Electrode.

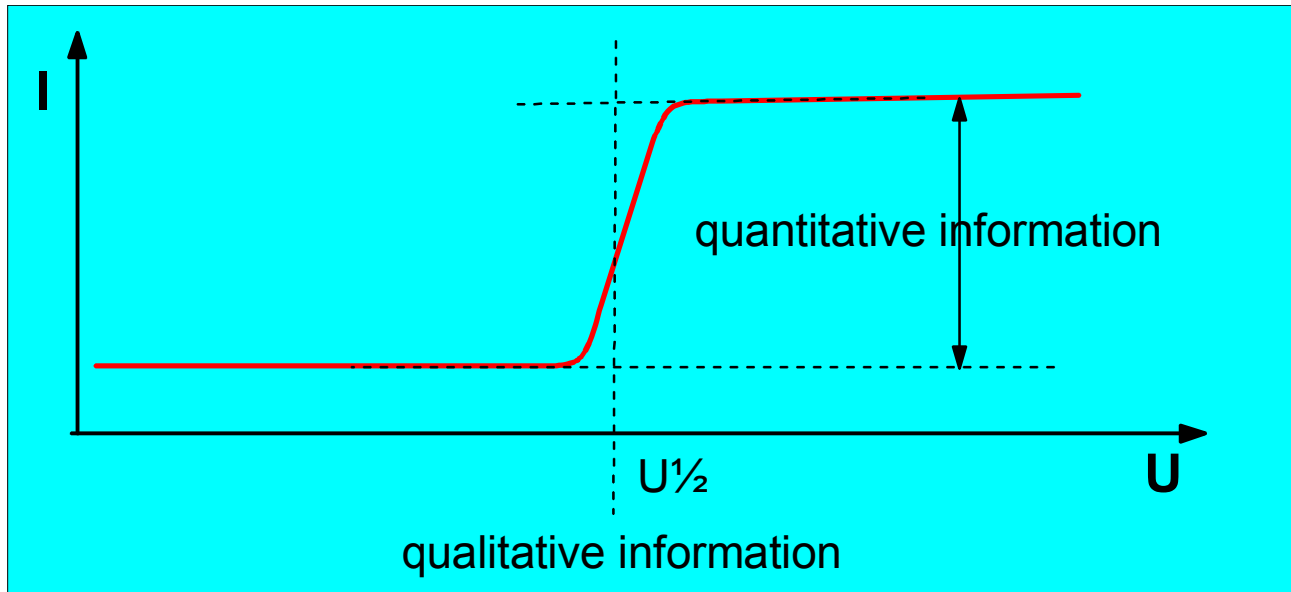


Metodologia para análise:

- **1- Determinar o potencial a ser aplicado**
- **→ antes da titulação procura-se saber a espécie a ser analisada e o valor do potencial tabelado para esta espécie**

- **1- análise da literatura Handbooks**
- **2- registra-se uma curva de corrente versus potencial para localizar com precisão o valor da análise.**

A escolha do potencial



**A corrente de difusão é
proporcional à concentração
da espécie $I_d = K[A]$**

Titulações amperométricas

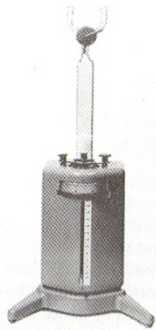
Titulação é uma técnica precisa com reprodutibilidade típica ~ 1 %.

- Análises de alta precisão → valores < 0,1 %.

3- Registro da curva de titulação

- Adição do titulante → medir a corrente(ou potencial no caso de titulação voltamétrica)
- Traçar o gráfico de I versus volume de titulante. A corrente medida deve ser corrigida para o efeito da diluição pelo fator: $(V + v)/V$
- V = volume inicial da solução v = volume de titulante adicionado
- Fator de diluição é desprezível quando o titulante é 20 vezes mais concentrado que o titulado.

Aparelhagem comercial



First piston buret (Mettrohm 1955)
PTFE piston in a calibrated glass tube. Highly accurate volume resolution according to the micrometer principle.



Microprocessor-controlled piston buret
Used for automatic titrators and as buret with multiple dosing programs.



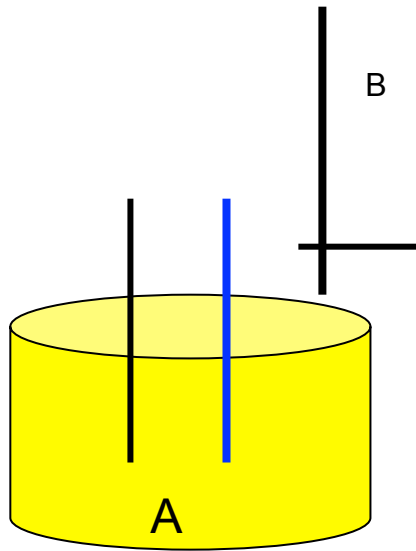
Dosino
The buret motor is directly placed onto the reagent bottle. Used for automatic titrators.



Titrimo
Complete automatic titrator. The buret is part of the titrator.

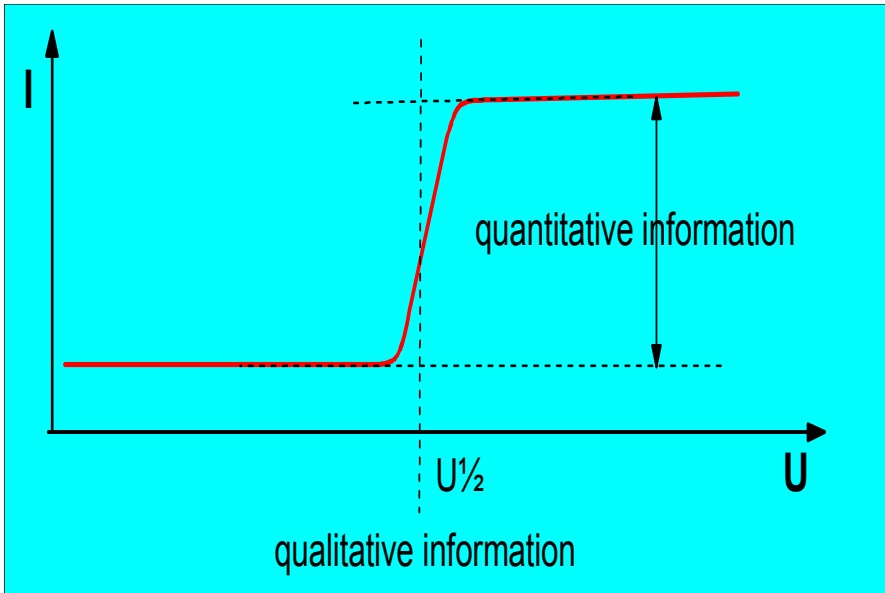


Tipos de curvas amperométricas



- Para um sistema do tipo :
$$A + B \rightarrow AB$$
- A (titulado) eletroativo
- B (titulante) eletro-inativo

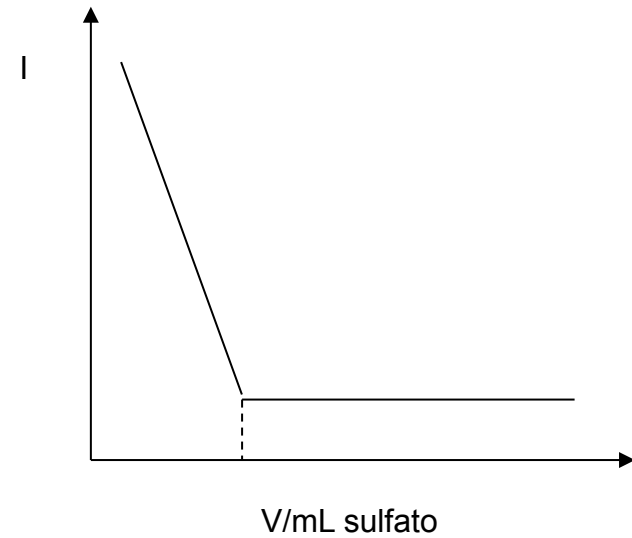
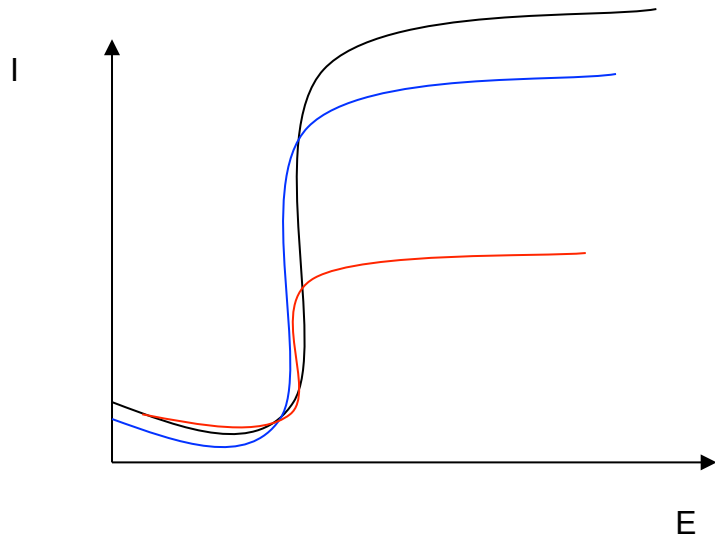
Titulação Pb^{+2} com SO_4^{2-}



$\text{Pb}^{+2} \rightarrow$ reduz $E_{1/2} = -0,6 \text{ V}$ vs ECS em meio KCl (L. Meites, polarographic techniques, 1967, John Wiley & Sons)

$\text{SO}_4^{2-} \rightarrow$ redução $E \gg -2,0 \text{ V}$ vs ECS (água reduz primeiro)

Aplicando $E = -0,8 \text{ V vs ECS}$

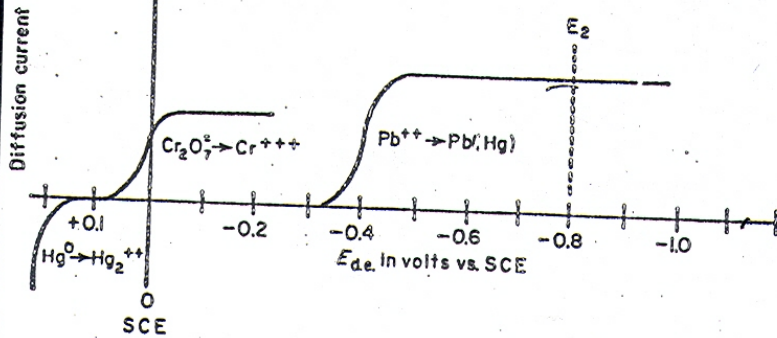
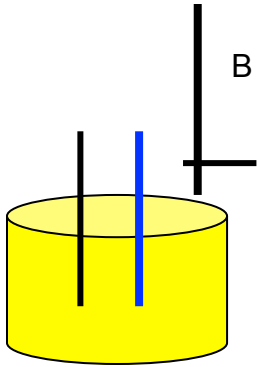


Explicando a curva de titulação

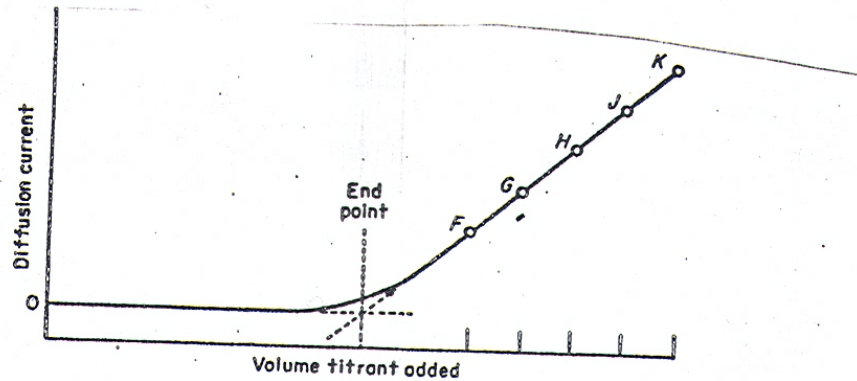
- Conforme chumbo vai reagindo com o sulfato a concentração de chumbo no meio da solução diminui e a corrente diminui.
- $I_d = K [Pb^{++}]$
- Após o PE todo o chumbo da solução foi consumido e a corrente cai para níveis da corrente residual e fica constante porque o titulante não é eletroativo.
- A curva experimental apresenta um arredondamento da curva nas vizinhanças do PE que surge devido à solubilidade do sulfato de chumbo. Quanto maior o K_{ps} mais arredondada é a curva, portanto recomenda-se fazer as medidas

Caso 2:

A (titulado) eletro-inativo
 B (titulante) eletroativo



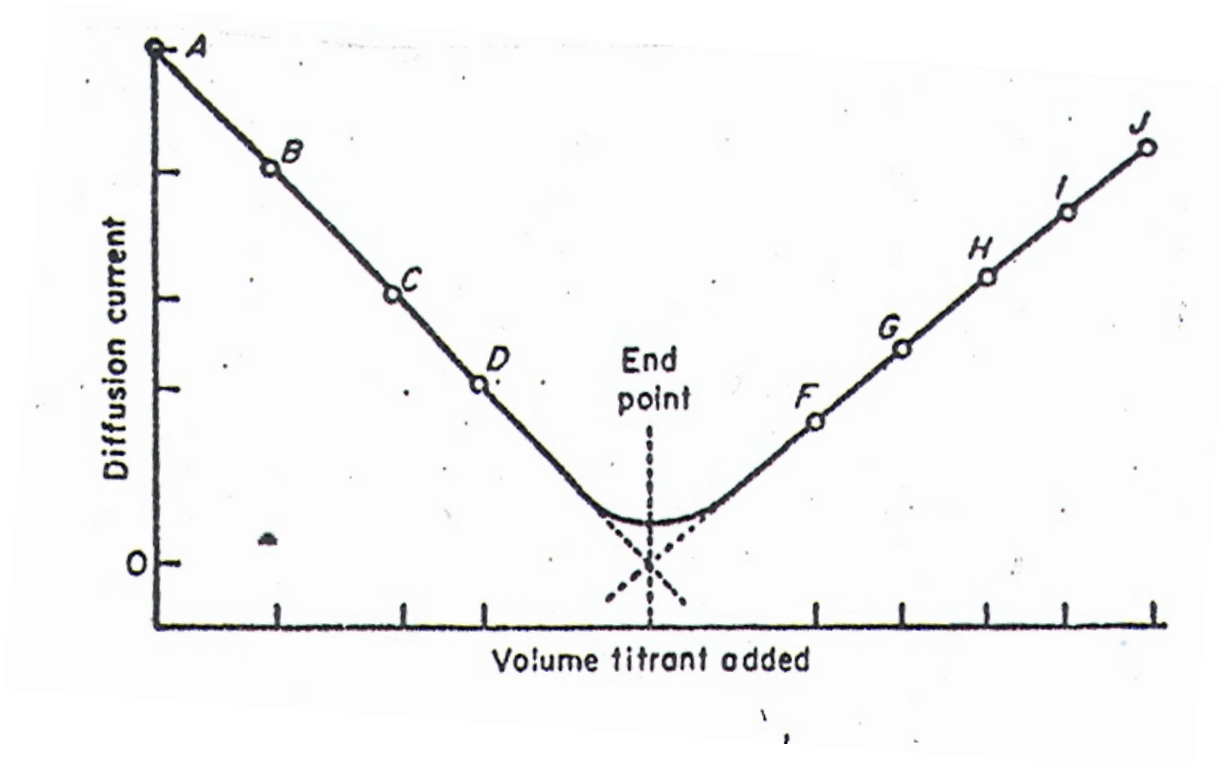
Current-voltage curves of dichromate and lead ions shown schematically.



Type of amperometric titration curve when only titrant gives a diffusion current; e.g., the titration of lead ions with dichromate ion performed at $E = 0.0$ vs SCE, in an acetate buffer of $pH = 4.2$. See also Fig. 26-5.

- A figura acima apresenta os polarogramas registrados para o chumbo e o dicromato e a curva amperométrica obtida quando o potencial é fixo em 0,0 V vs ECS.
- No início da titulação até o PE a corrente fica constante e muito pequena ($i = iR$) uma vez que no potencial aplicado ($E = 0,0 \text{ V vs ECS}$) o chumbo é eletroinativo. À medida que B é adicionado reage com A e não contribui para o aumento da corrente. Após o PE ocorre excesso de B (dicromato/ eletroativo no potencial de 0,0 V vs ecs) portanto, com aumento da concentração de dicromato ocorre um aumento da corrente.

Caso 3- Titulante e titulado são eletro-ativos.



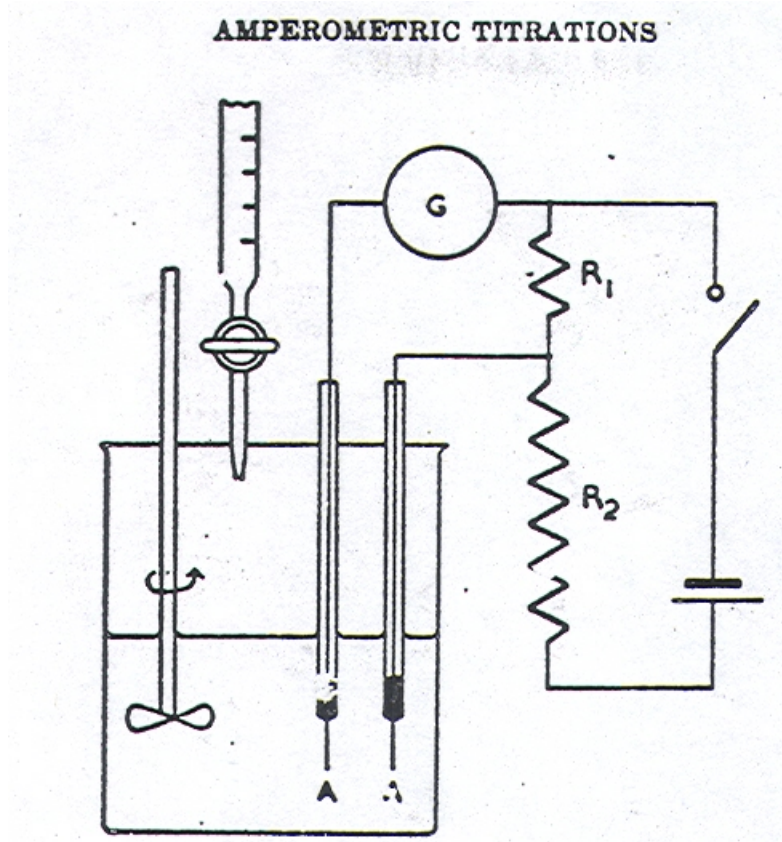
Exemplo chumbo com dicromato em $-1,0\text{ V vs. ECS}$.

BIAMPEROMETRIA

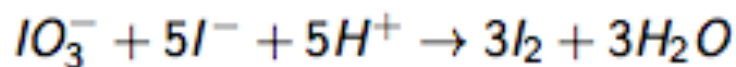
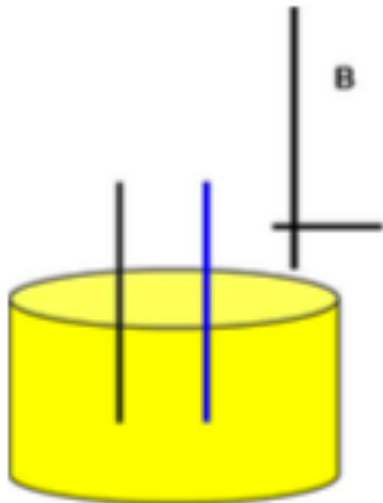
•Esta técnica utiliza dois eletrodos idênticos (ex. 2 fios de platina, 2 fios de Au, 2 fios de prata)

- **Procedimento de trabalho:**
- Aplica-se uma pequena diferença de potencial fixa entre estes dois eletrodo \rightarrow 50 a 100 mV
- Mede-se a corrente gerada durante a titulação
- Só é aplicável caso o reagente ou a produto formado forme uma dupla redox reversível (exemplos mais comuns : Fe(II)/Fe(III); Ce(III)/Ce(IV); Ag^0/Ag^+ ; I_2/I^-).

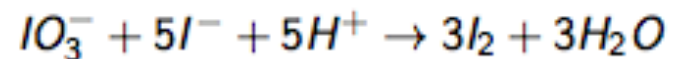
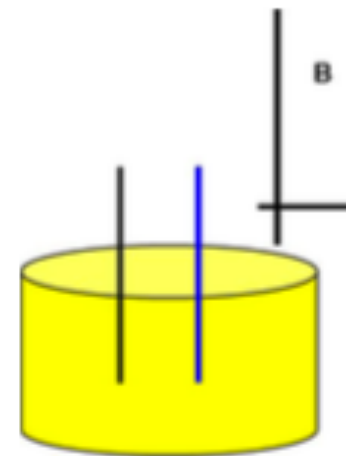
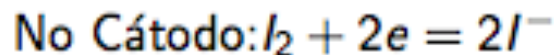
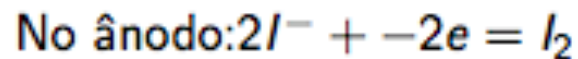
Aparelhagem



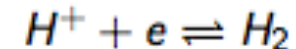
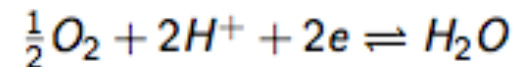
Titulação de iodato (A) com tiosulfato (B)



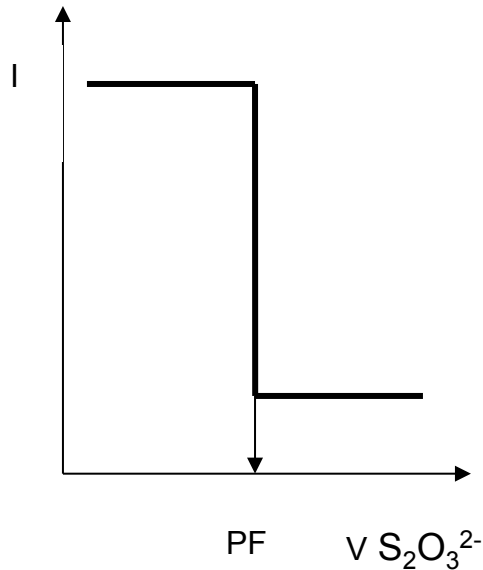
$$\Delta E = 100mV$$



$$\Delta E > 600mV$$



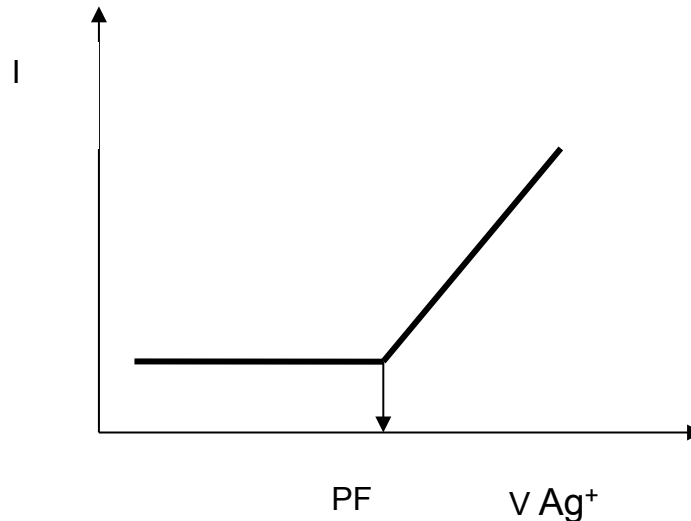
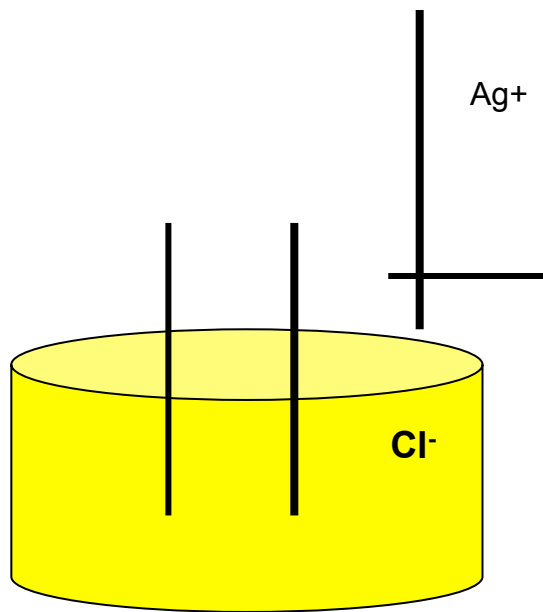
Forma da curva e PF



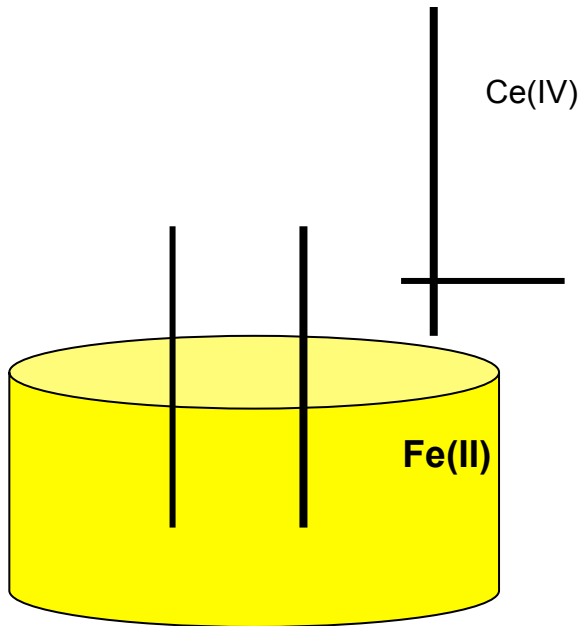
- $t = 0 \rightarrow$ tem a dupla redox I_2/I^- portanto flui uma corrente proporcional ao valor da concentração de iodo.
- $t > 0 \rightarrow$ iodo passa a ser consumido pelo $S_2O_3^{2-}$
- ponto final da curva $i \sim 0 \rightarrow$ todo o iodo é consumido e passa a não fluir corrente uma vez que $S_2O_3^{2-} / S_4O_6^{2-}$ não é reversível

Titulação de uma solução de cloreto com nitrato de prata.

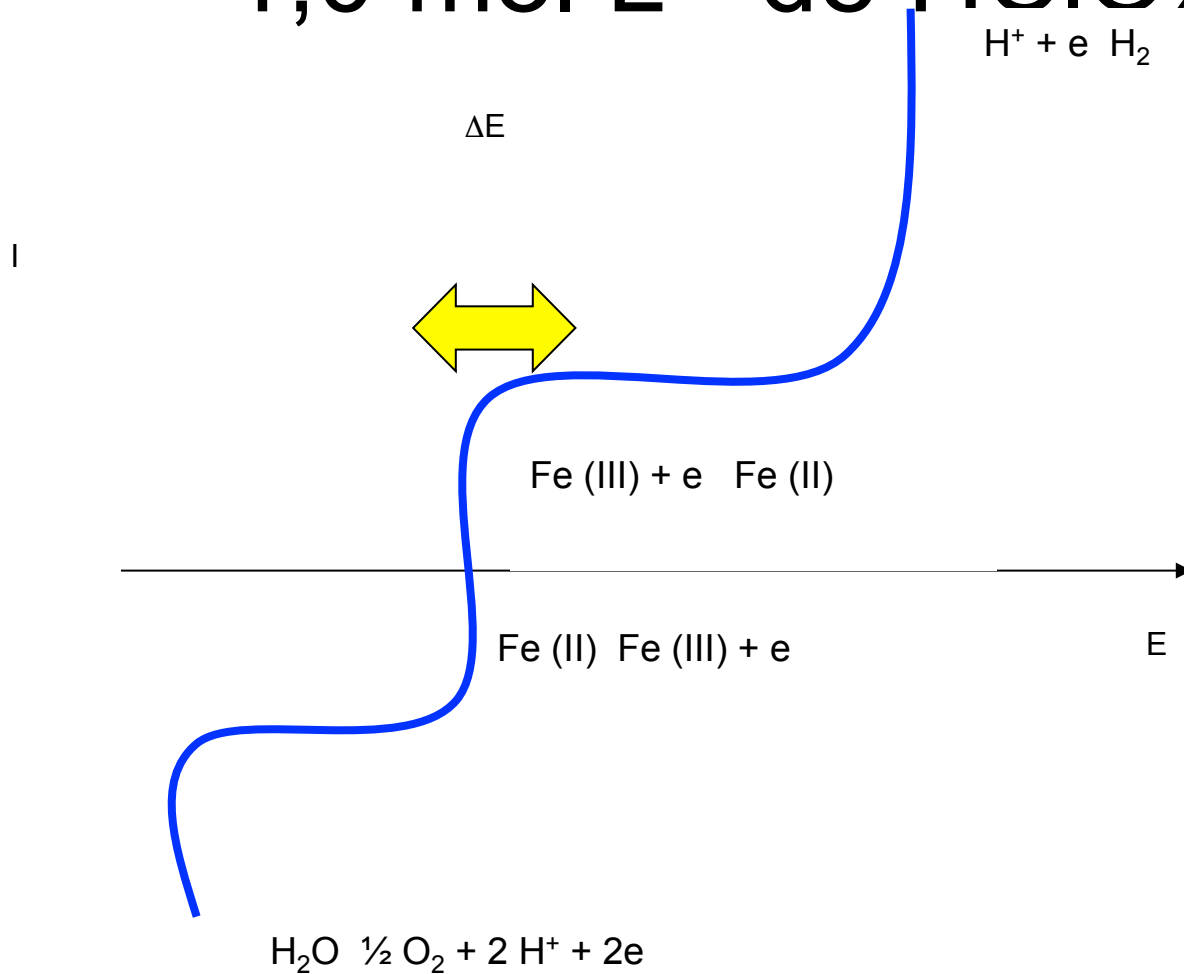
- Reação no ânodo : $\text{Ag}^0 = \text{Ag}^+ + \text{e}^-$
- Reação no cátodo : $\text{Ag}^+ + \text{e}^- = \text{Ag}^0$

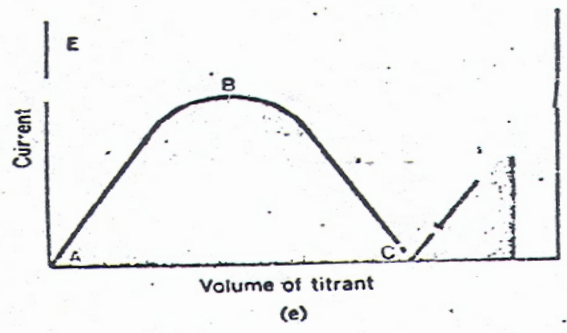
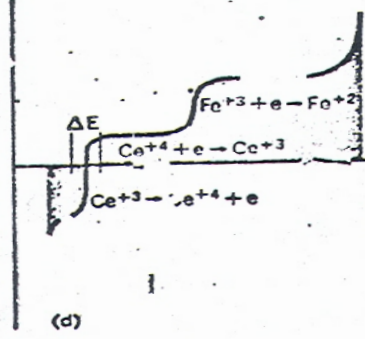
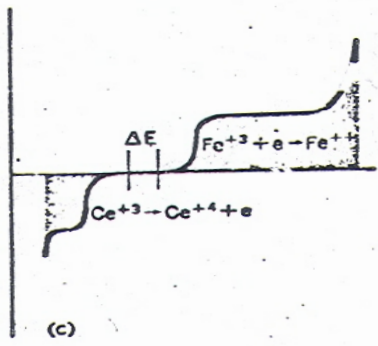
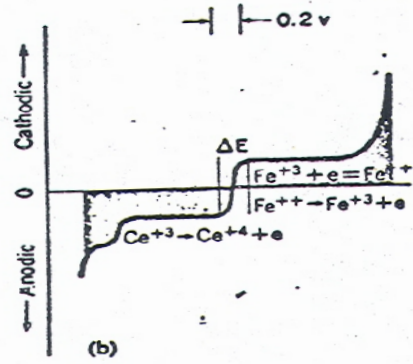
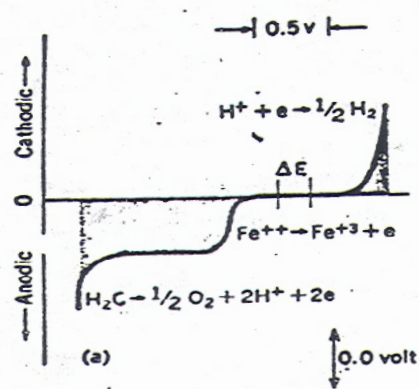


Titulação



Titulação de Fe (II) com Ce(IV) em 1,0 mol L⁻¹ de HClO₄





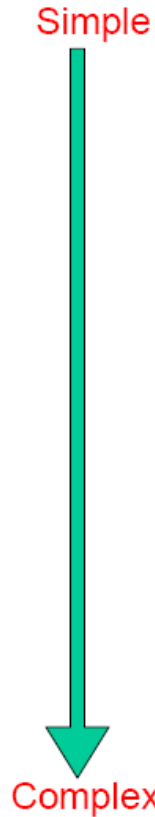
Explicando a curva

- **Começa a fluir corrente entre os dois eletrodos da célula e aumentando-se a concentração de Fe(III) aumenta a corrente. Esta etapa é definida pela região AB da curva de titulação.**
- **No ponto B \rightarrow valor máximo da corrente, equivale a 50 % da concentração do titulado. Após este valor a corrente começa a cair visto que a corrente que irá fluir no ânodo será menor porque a concentração de Fe (II) será menor pois este está sendo consumido durante a titulação.**
- **No ponto C a corrente é zero, pois o Fe (II) = 0**
- **Acima deste ponto a corrente aumenta, pois surge uma nova dupla redox neste potencial (ver polarograma).**

sensores

- Tradução elétrica do sinal → converter reação química em sinal elétrico → sinal gerado proporcional à concentração

sensores



Ions / small molecules

- O₂, CO₂, NH₃, H⁺, Na⁺, K⁺, Ca²⁺, metal ions, others...

Bio-molecules

- Alcohols (e.g. ethanol)
- Acids (e.g. acetate, lactate, glutamate, pyruvate)
- Sugars / carbohydrates (e.g. glucose)
- Amino acids / peptides (“protein”)
- Lipids, hormones, neurotransmitters, cholesterol, urea, creatine / creatinine, choline / acetylcholine, others...

Non-biogenic bioactive molecules (e.g. drugs, pesticides)

Bio-macromolecules

- Proteins, polysaccharides, antibodies, nucleic acids

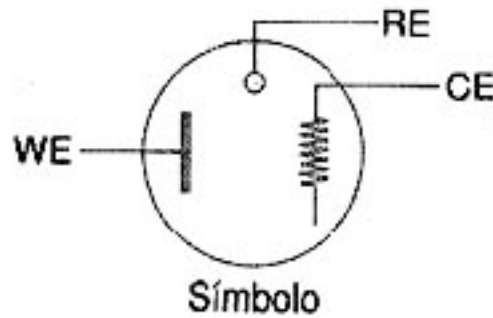
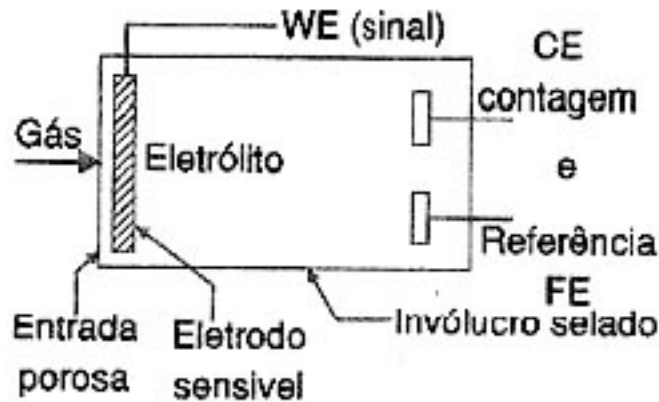
Microorganisms (e.g. viruses, bacteria, biological warfare agents)

Physiological state (e.g. disease state (biomarkers), pregnancy, metabolic activity (biological oxygen demand), etc.)

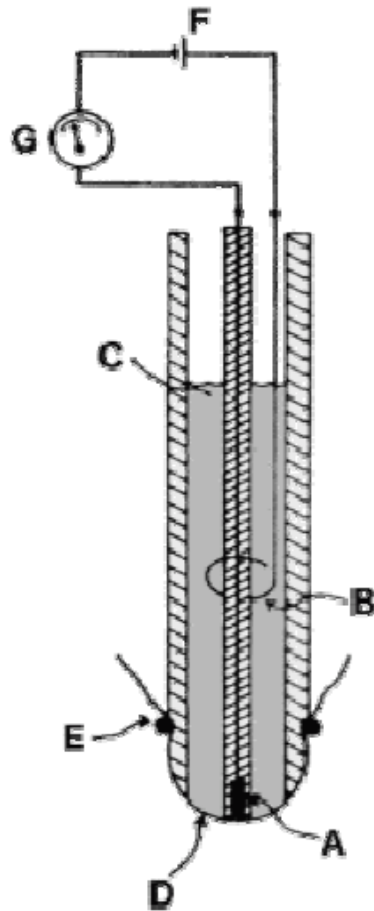
Genes / gene expression / gene damage



Sensor amperométrico



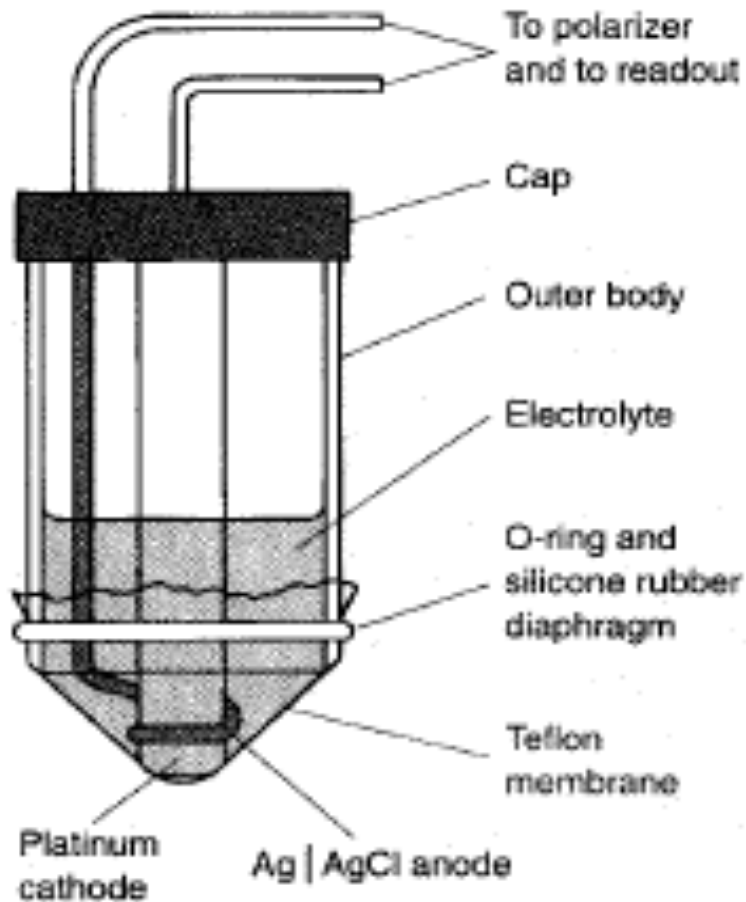
Determinar O₂



Leland C. Clark Jr., recipient of the 2005 Fritz J. and Dolores H. Russ Prize in Engineering, for "bioengineering membrane-based sensors in medical, food, and environmental applications."

The Clark-type electrode consists of a Pt- (A) and a reference Ag/AgCl-electrode (B) covered by a film of half-saturated KCl electrolyte (C) enclosed within a Teflon membrane (D) which is held in place by a rubber ring (E). The voltage supply (F) and the electronic instrument for the measurements of the current output is shown (G).

Eletrodo de Clark



Cátodo:



Ânodo:



Sensor de O₂

- O eletrodo de Clark é utilizado para medidas de oxigênio em soluções
- • Possui uma membrana semipermeável de Teflon, que permite a
- difusão do oxigênio em poucos segundos
- • Este eletrodo é de tamanho variável, existindo eletrodos menores que 1.5 mm
- Diâmetros inferiores utilizados em aplicações clínicas

Vantagens tit. amperométrica:

- 1- solução diluídas podem ser tituladas com elevado grau de precisão(medidas de corrente são feitas com precisão na ordem de μA , nA)**
- 2- titulações de precipitação podem ser realizadas nas condições onde potenciometria e outros métodos falham. (K_{ps} muito baixo levam a erros elevados pelo uso de indicadores visuais e/ou potenciometria).**
- 3- eletrólitos estranhos podem ser eliminados a sua interferência escolhendo-se o potencial adequado. Técnica é bastante seletiva.**

•4- aplicada a um elevado número de substâncias. Por exemplo, substâncias não eletroativas podem ser tituladas com reagente eletroativo e medir-se a variação do titulante.

•5-titulação rápida. a curva obtida é a intersecção de duas partes lineares, portanto poucos pontos antes do PE e após são necessários para definir o ponto final.

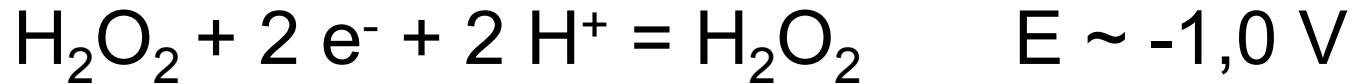
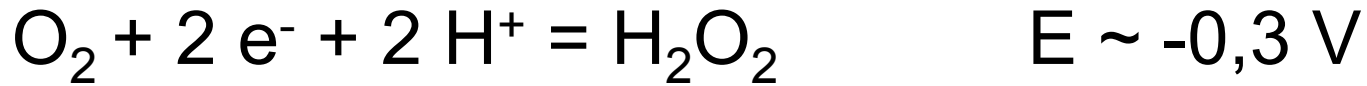
•6- Temperatura não é um problema sério desde que não mude acentuadamente durante a análise

• 7- quando se usa o eletrodo gotejador de mercúrio a superfície é renovável e o eletrodo é constantemente limpo.

LIMITAÇÕES da técnica:

FLUTUAÇÃO DA CORRENTE → ERRO NA MEDIDA DE CORRENTE

- 1- Para análises de sais pouco solúveis o K_{ps} deve ser atingido rapidamente caso contrario o erro é acentuado.
- 2- Medida de corrente utilizando o EGM deve ser realizado com o eletrodo estacionário.
- 3- A presença de interferentes eletroativos deve ser eliminada.



- **→ toda análise onde o potencial aplicado é maior que -0,3 V vs ECS. titulação deve ser feita sob atmosfera de N₂.** Em cada adição de titulante deve ser eliminado o O₂ isso aumenta o tempo de análise.
- **O oxigênio interfere pois sofre redução nestes potenciais. O procedimento utilizado para eliminar o oxigênio é a passagem de gás inerte (nitrogênio ou argônio) na solução por aproximadamente 15-20 minutos antes de iniciar a adição do titulante. Durante a análise deve-se continuar com o fluxo do gás e esperar aproximadamente 1 minuto entre cada adição de novo volume do titulante.**

Questão 3

- No e-disciplinas- estudar e pesquisar sobre eletrodo de glicose.

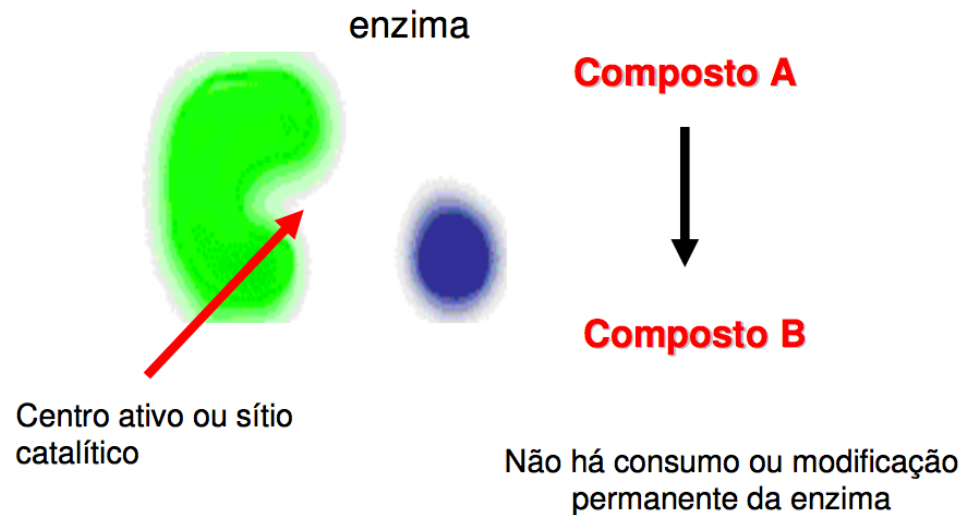


Medidores de Glicose

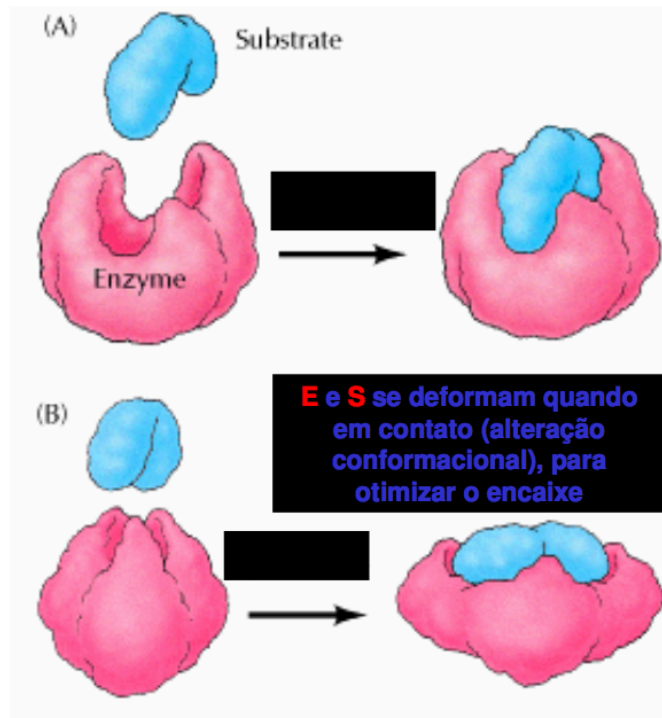


Enzimas

São proteínas que agem como catalisadores biológicos:



biosensores



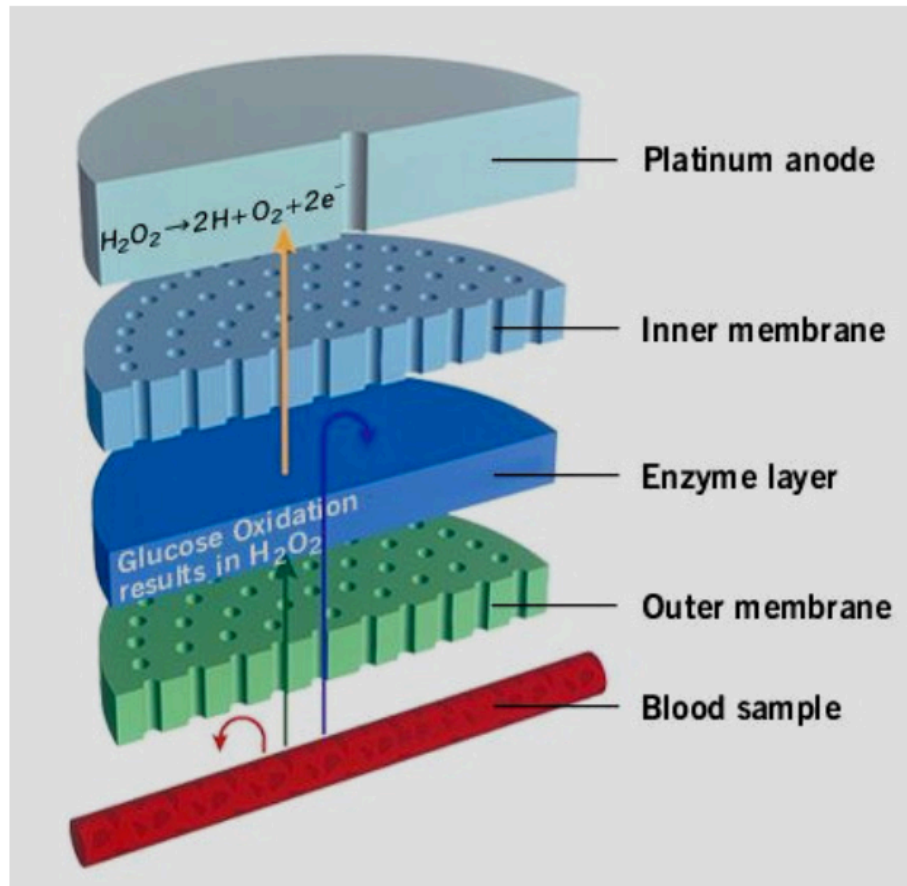
Emil Fisher, década 50

Modelo
chave-fechadura

Daniel Kosland, 1970

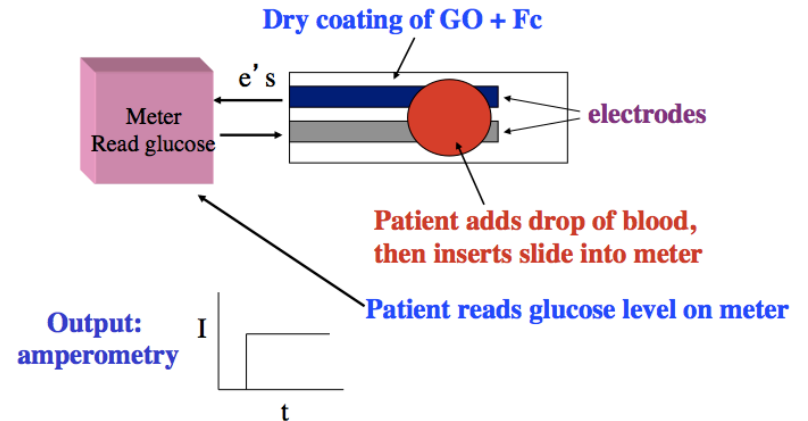
Modelo
Encaixe induzido

Biosensor para glicose - Radiometer®

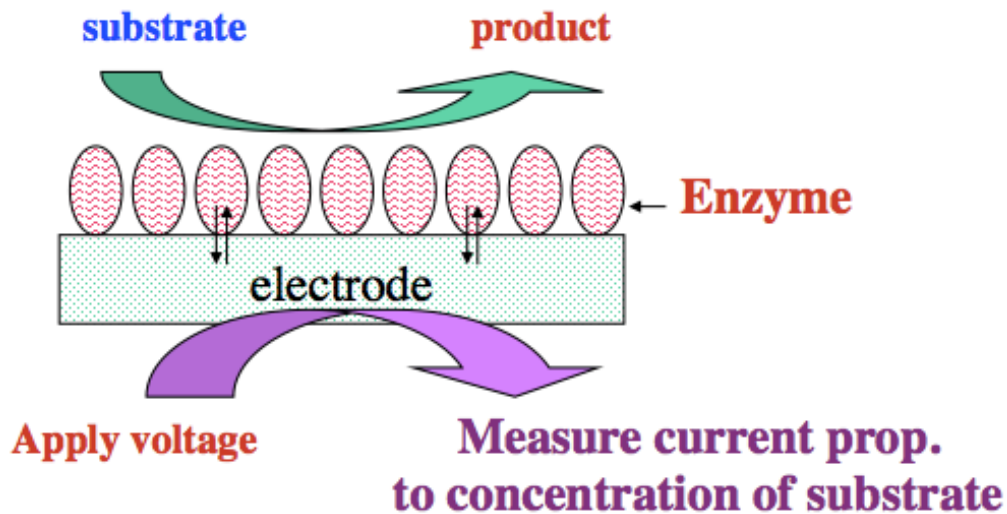


Sensor de glicose

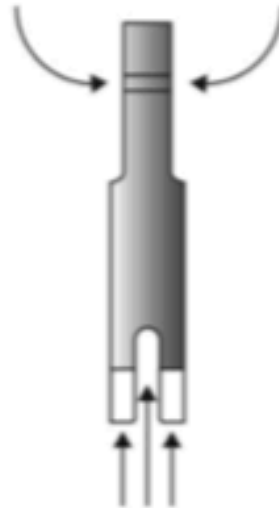
Glucose biosensor test strips (~\$0.40-0.80 ea.)



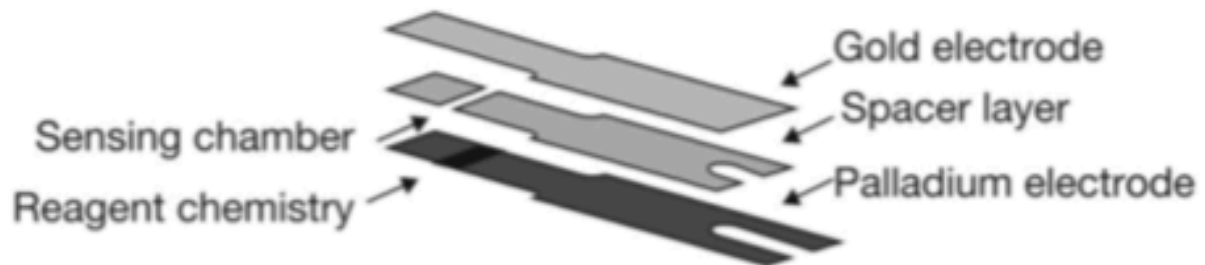
Principle of Electrochemical Biosensors



Sample application area

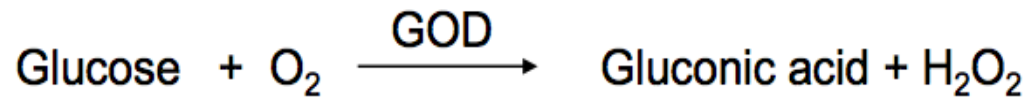


Meter connection points





Glucose Sensor



O_2 consumed and measured
with Clark electrode

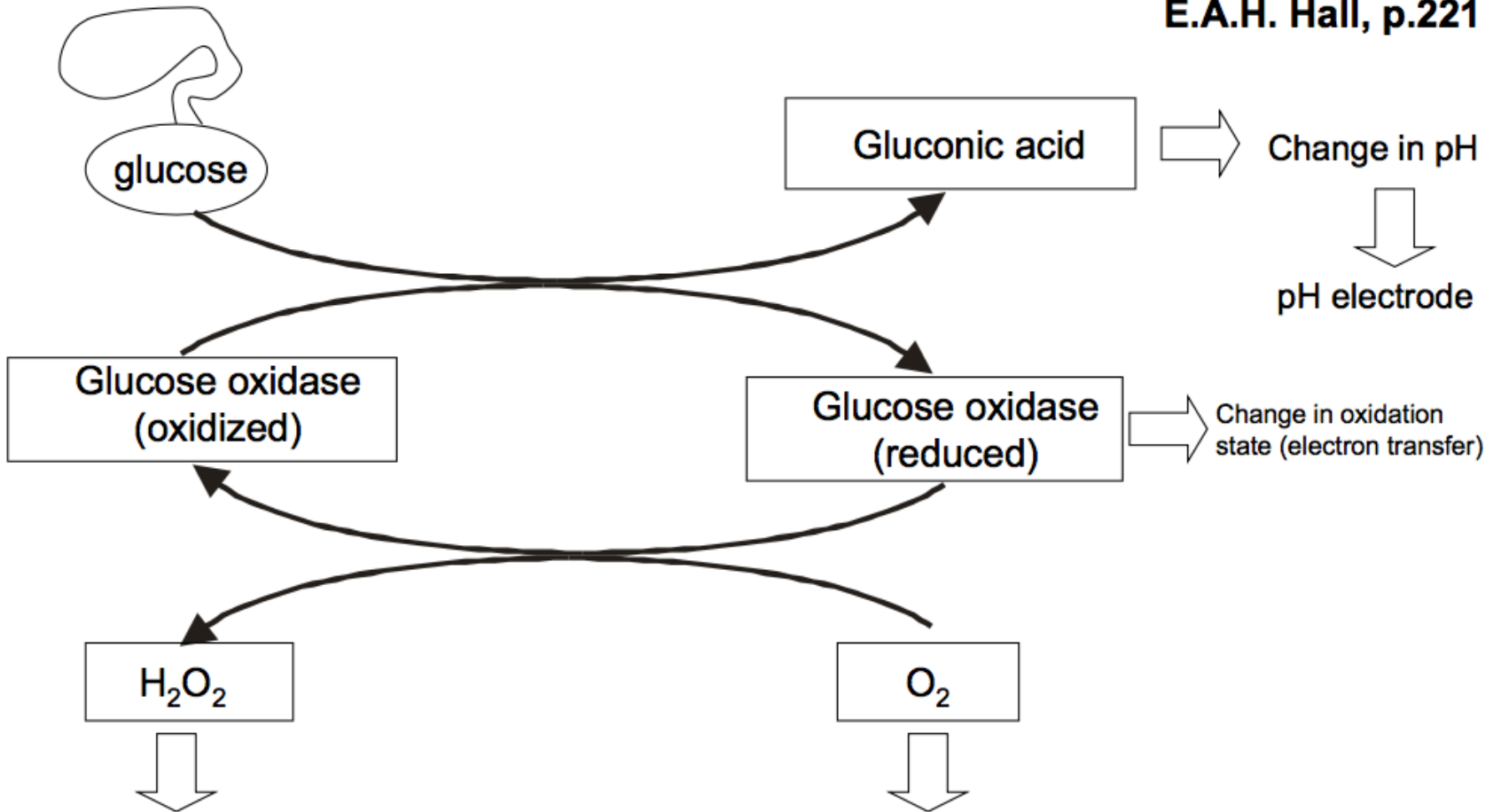
H_2O_2 produced and its anodic
decomposition measured

Dependence on dissolved O_2 concentration



How to control O_2 concentration?

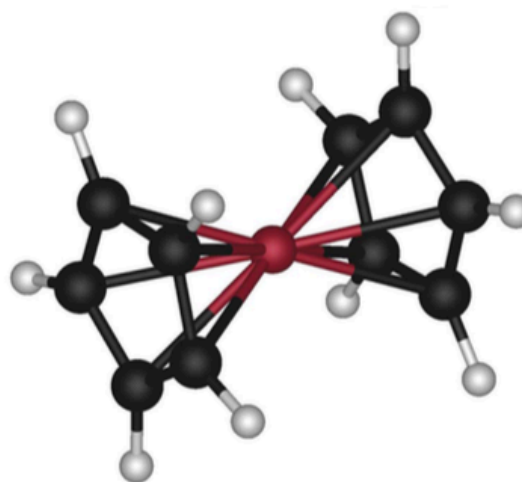
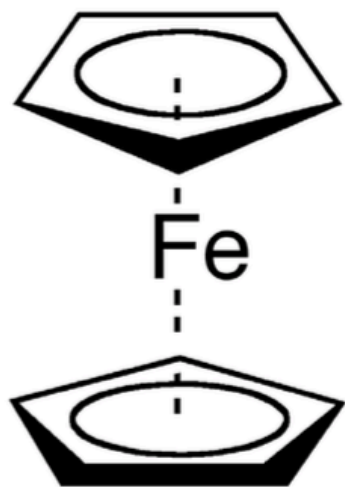
E.A.H. Hall, p.221



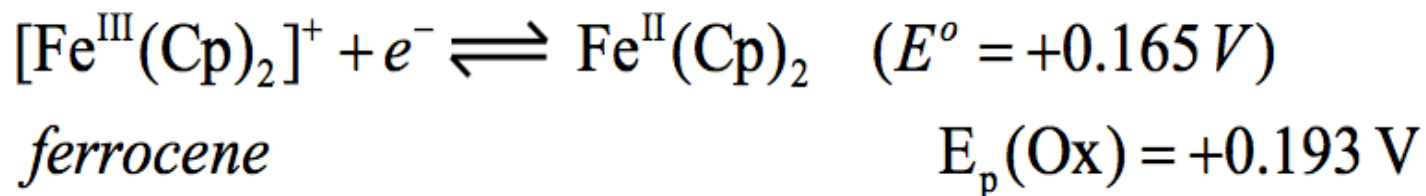
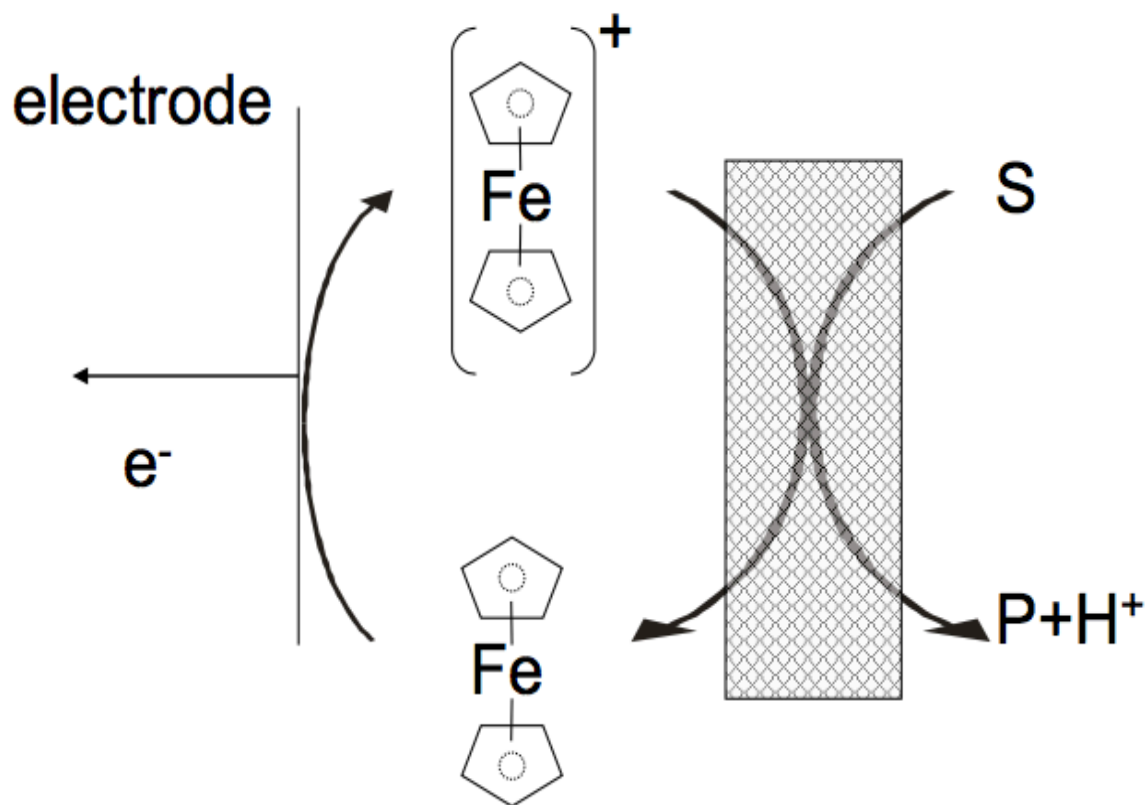


Ferrocene

- Rapid reaction with the reduced form of the enzyme
- Sufficiently soluble (Ox, Red) → rapid diffusion
- Small overpotential for the Ox and independent of pH
- The Red does not react with O_2
- Non toxic



22





Glucose

anode

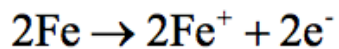
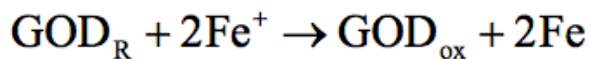
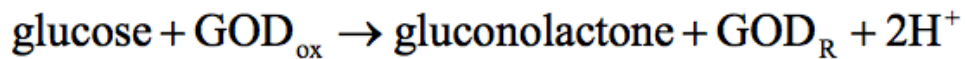
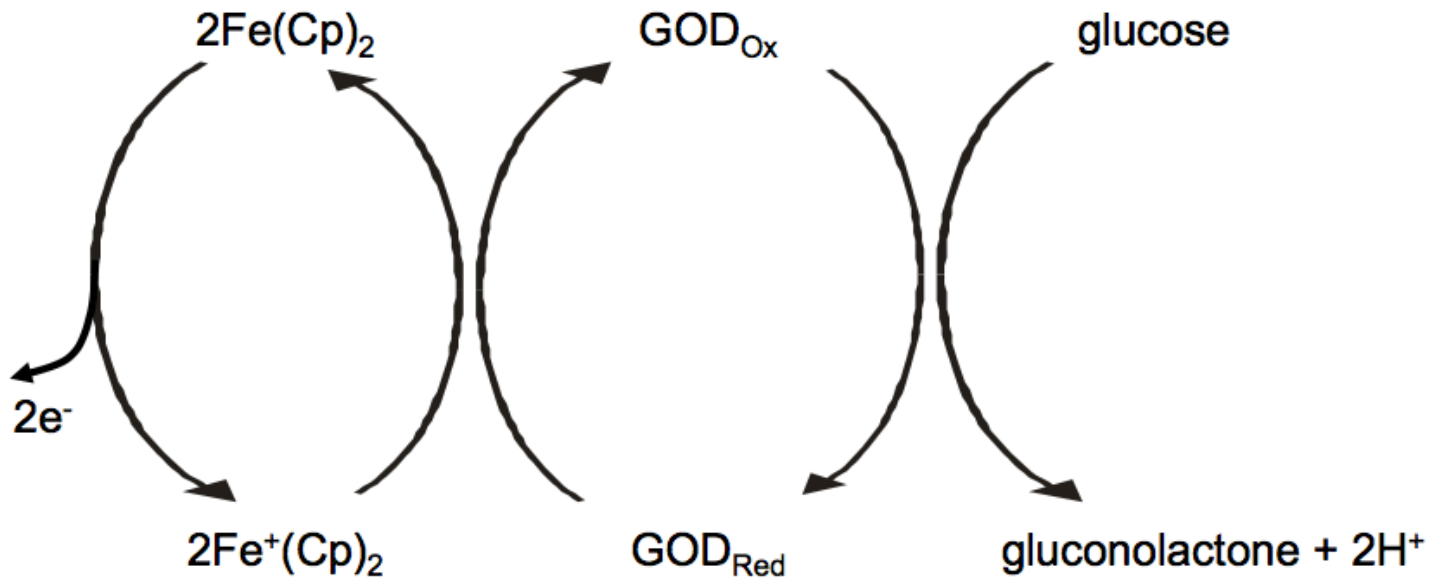
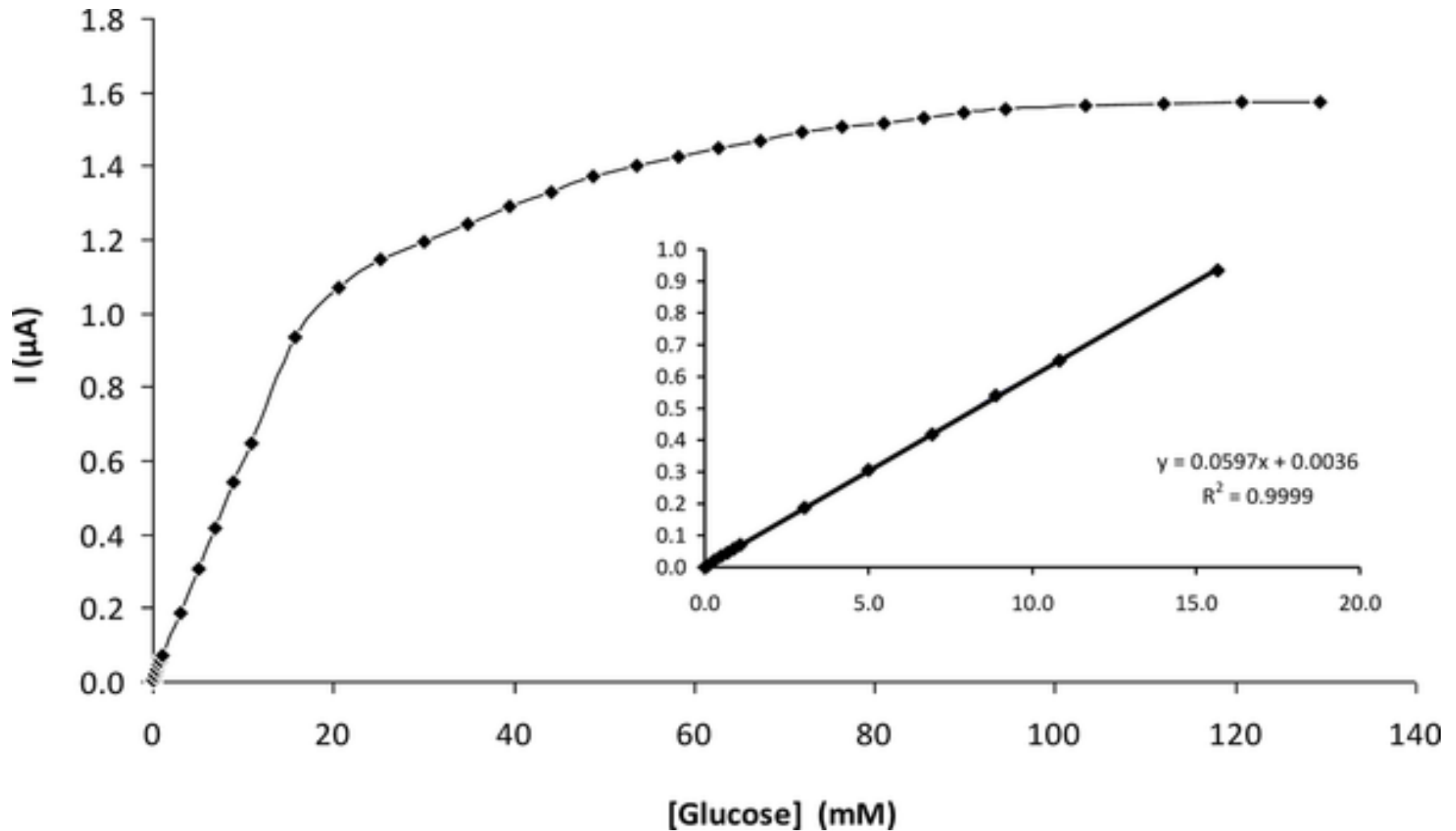
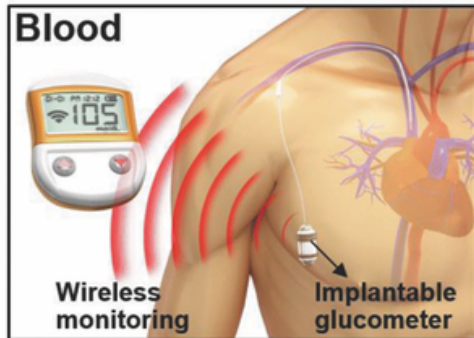
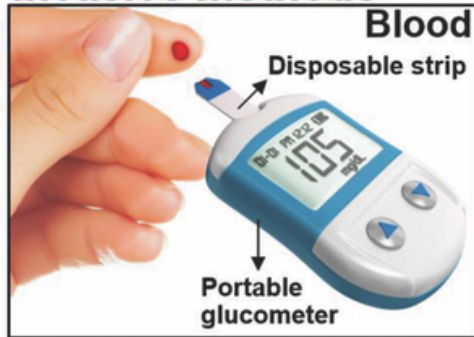


Fig 8. Calibration curve of the GOD-CHIT/PT under optimal experimental conditions.

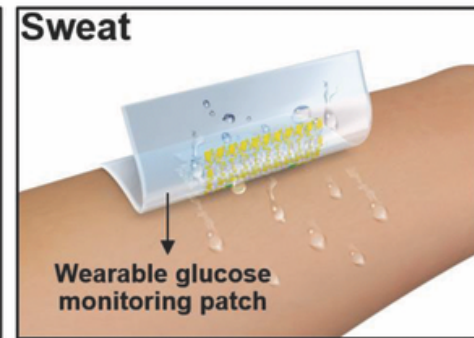
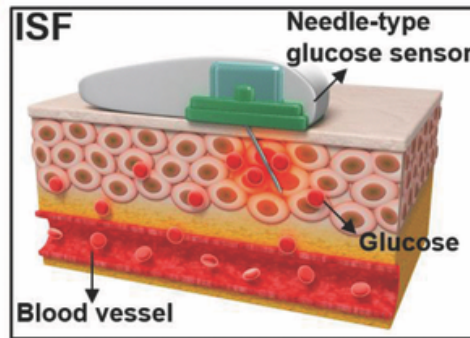
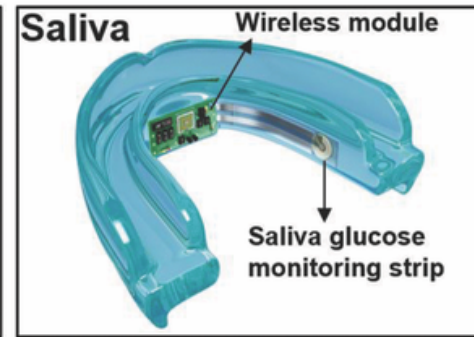
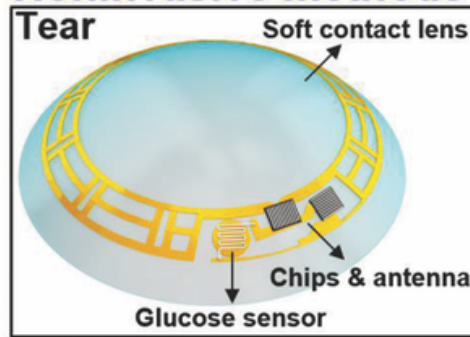


Ang LF, Por LY, Yam MF (2015) Development of an Amperometric-Based Glucose Biosensor to Measure the Glucose Content of Fruit. PLOS ONE 10(3): e0111859. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0111859>
<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0111859>

Invasive methods



Noninvasive methods



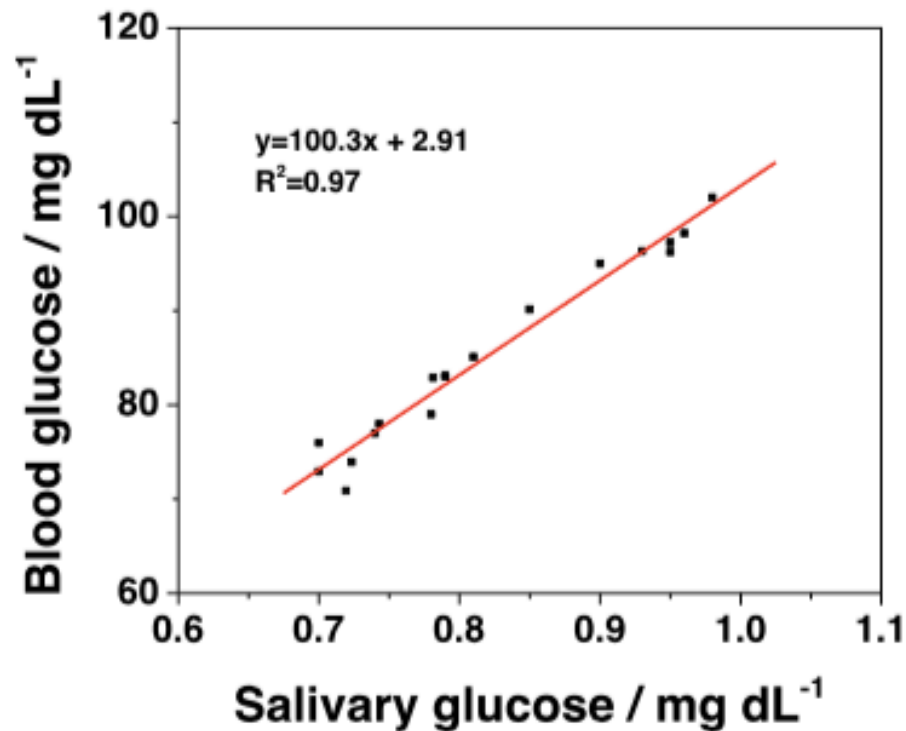


Figure 5. Correlation between glucose blood and saliva glucose concentration in 6 healthy patients at fasting state. Salivary glucose was detected with the *CtCDH C291Y/GA/4-APh,4-MBA/AuNPs/GC* biosensor, blood glucose was detected with the commercial GlucoContour XT.