

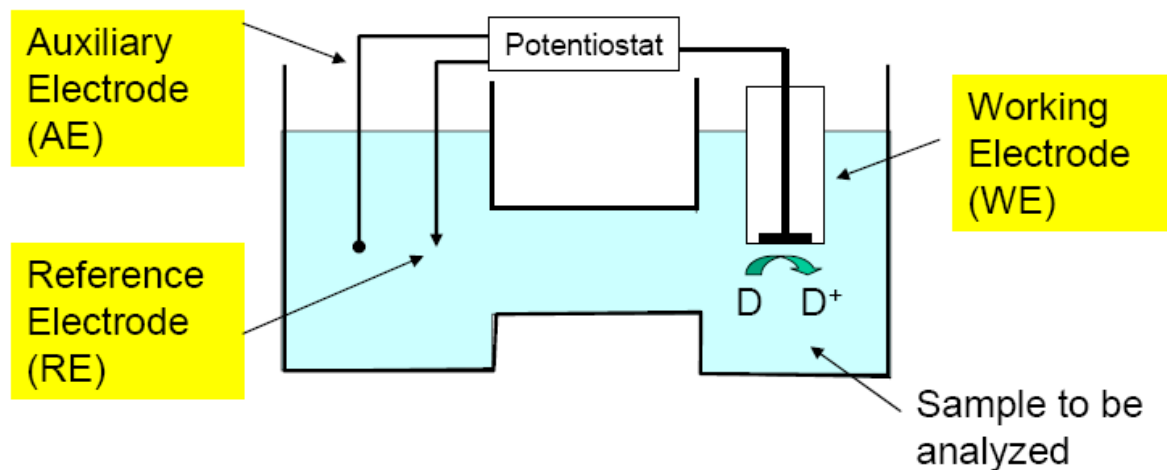
Amperometria

Profa. Adalgisa Rodrigues de
Andrade

DQ-FFCLRP/USP

Amperometria → medir corrente em E constante

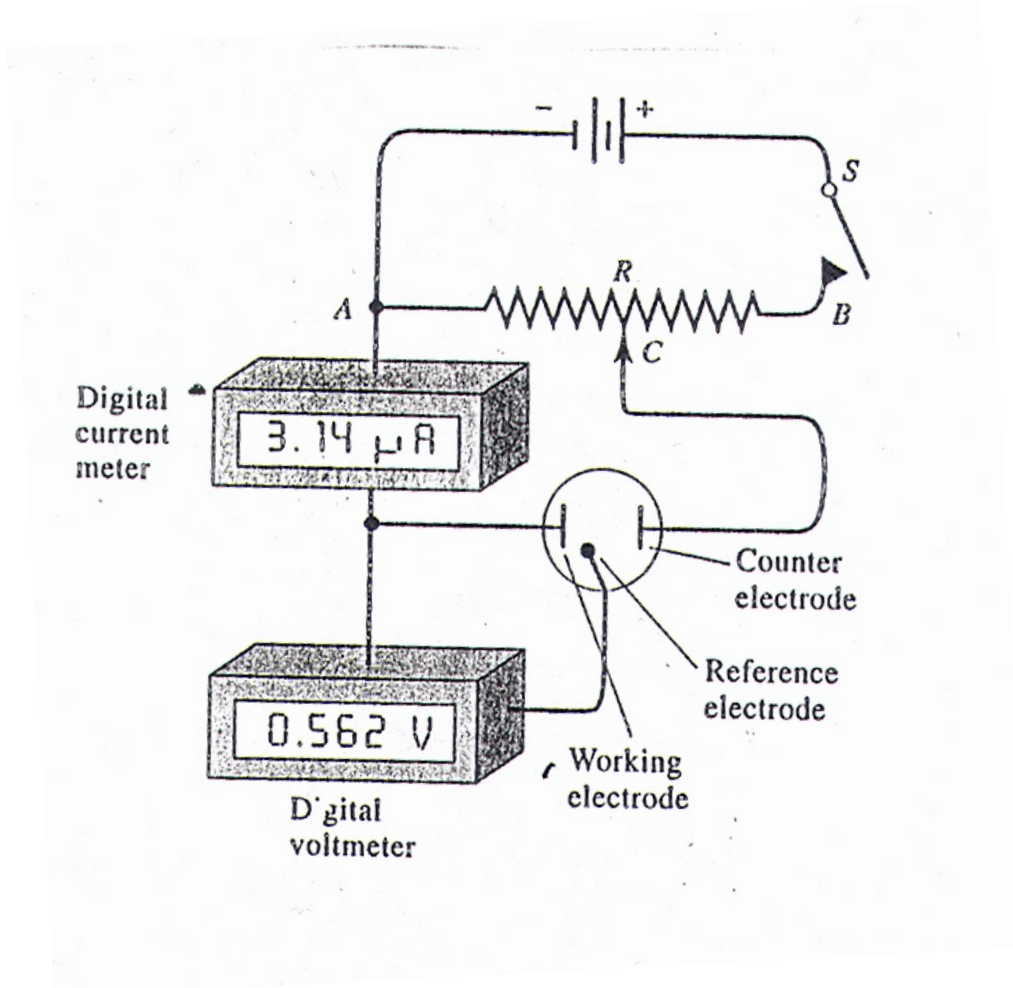
Amperometry



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

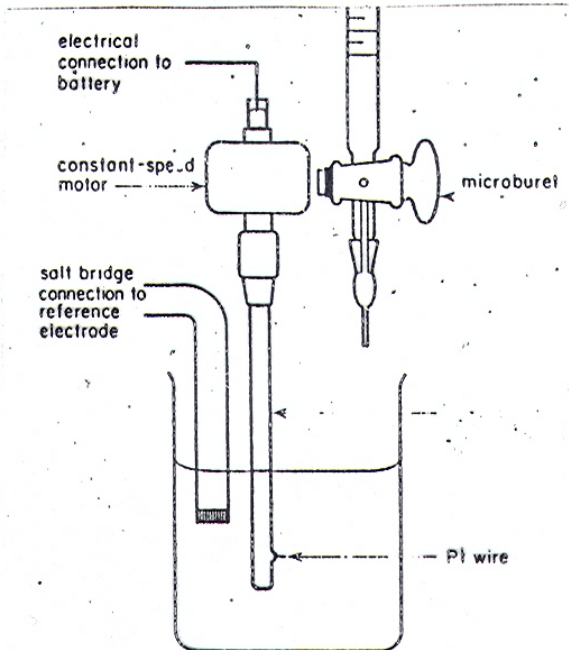
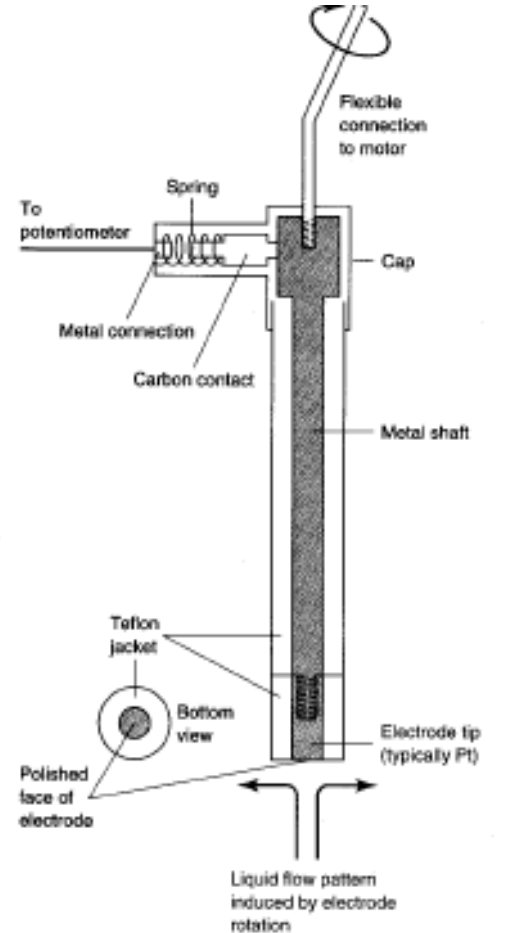


Fig. 27.11 Typical Cell for Amperometric Titrations Employing a Rotating Platinum Electrode.

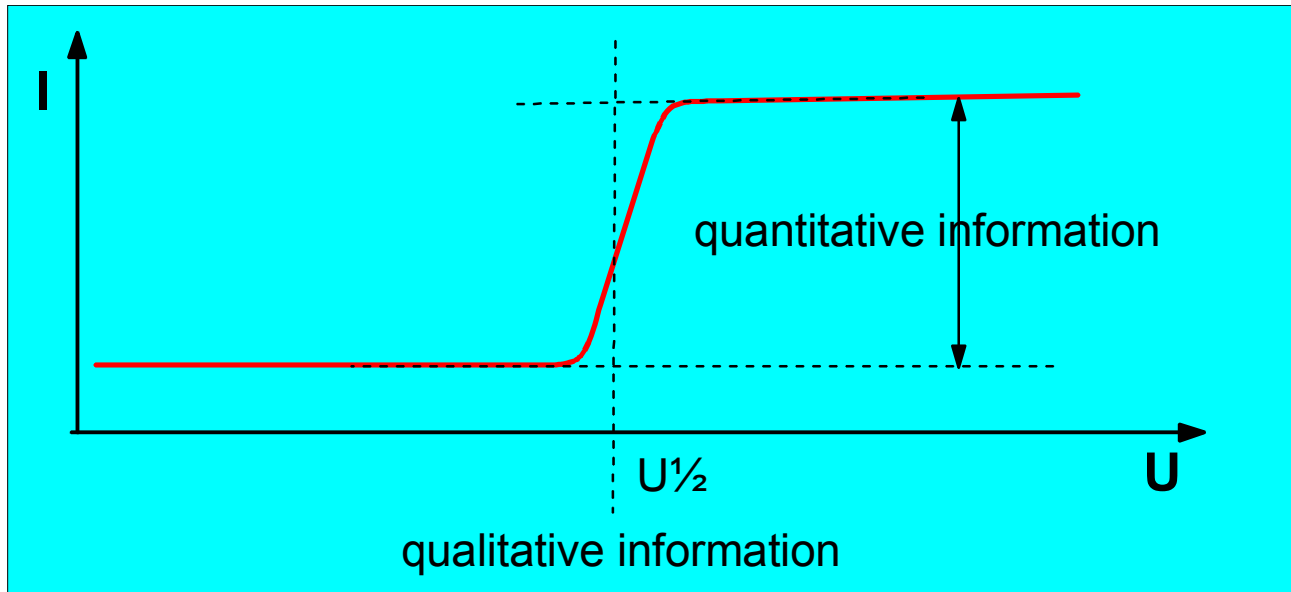


Metodologia para análise:

- **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

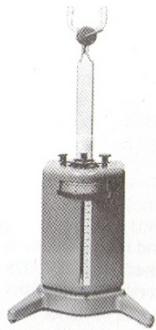
Titulação é uma técnica precisa com reprodutibilidade típica ~ 1 %.

- 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.

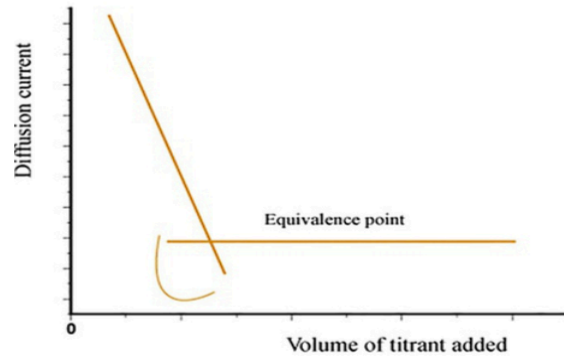


Titrimo
Complete automatic titrator. The buret is part of the titrator.

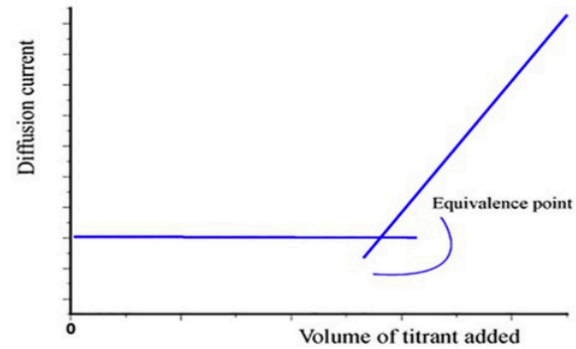


Tipos de curva

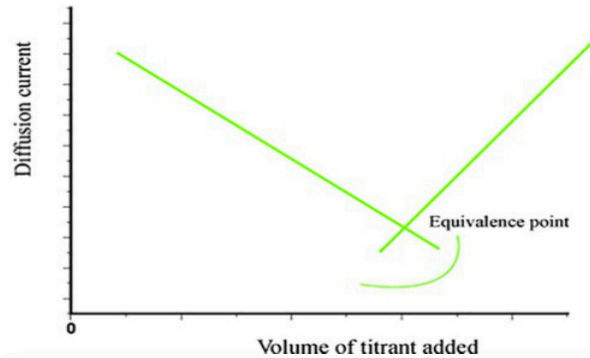
(A) *Titrand is reducible but titrant and product not*



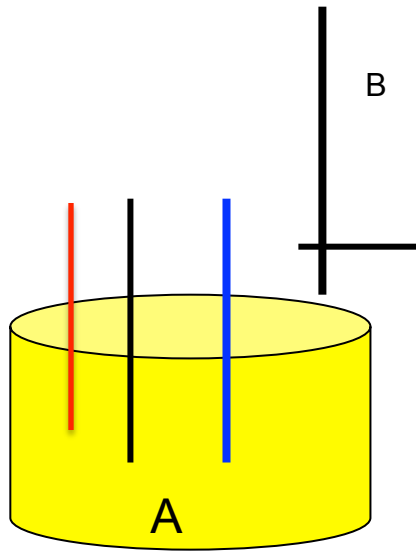
(B) *Titrant is reducible but titrand and product not*



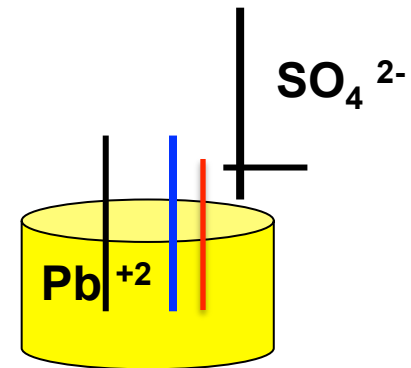
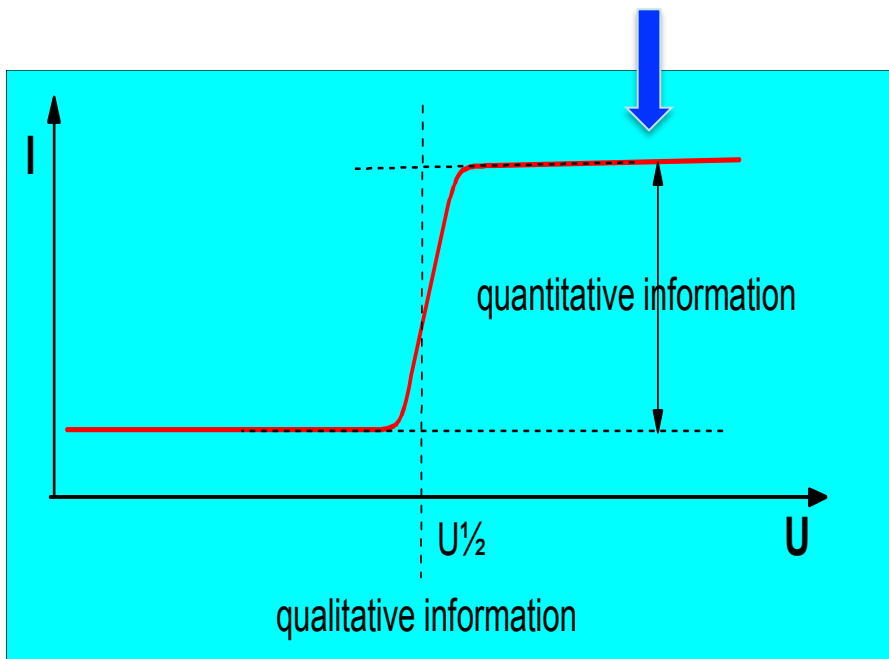
(C) *Titrant and titrand are reducible but product not*



Tipos de curvas amperométricas



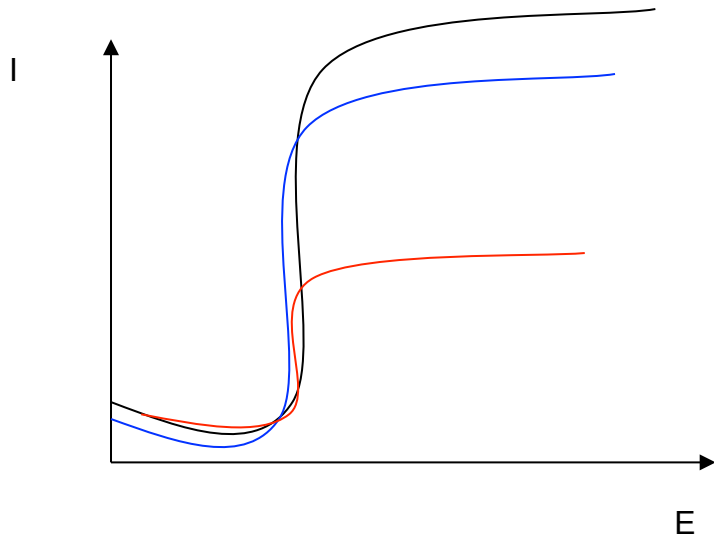
- Para um sistema do tipo :
$$A + B \rightarrow AB$$
- A (titulado) eletroativo
- B (titulante) eletro-inativo



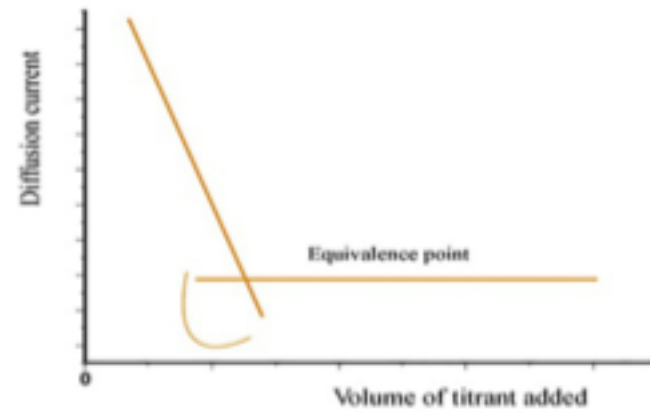
$\text{Pb}^{+2} \rightarrow$ reduz $E_{1/2} = -0,6 \text{ V}$ vs ECS em meio KCl (L. Meites, polarographic techniques, 1967, John Wiley & Sons)

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

$$E_{\text{fixo}} = -0,8 \text{ V vs ECS}$$



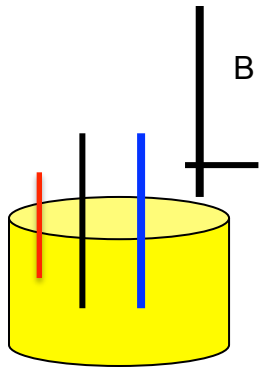
(A) *Titrand is reducible but titrant and product not*



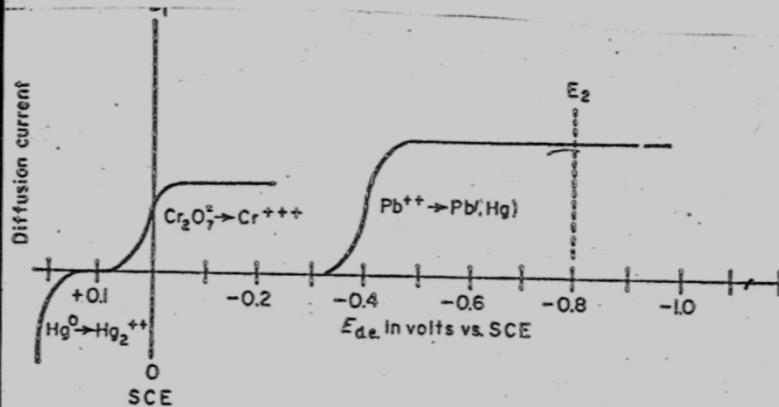
Explicando a curva de titulação

- 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

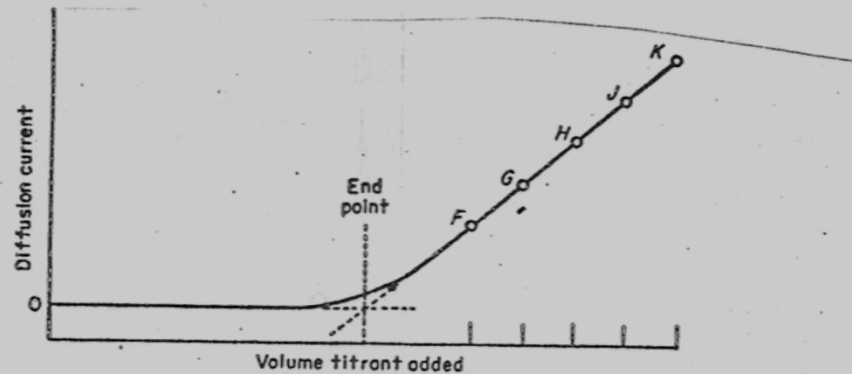
Caso 2:



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



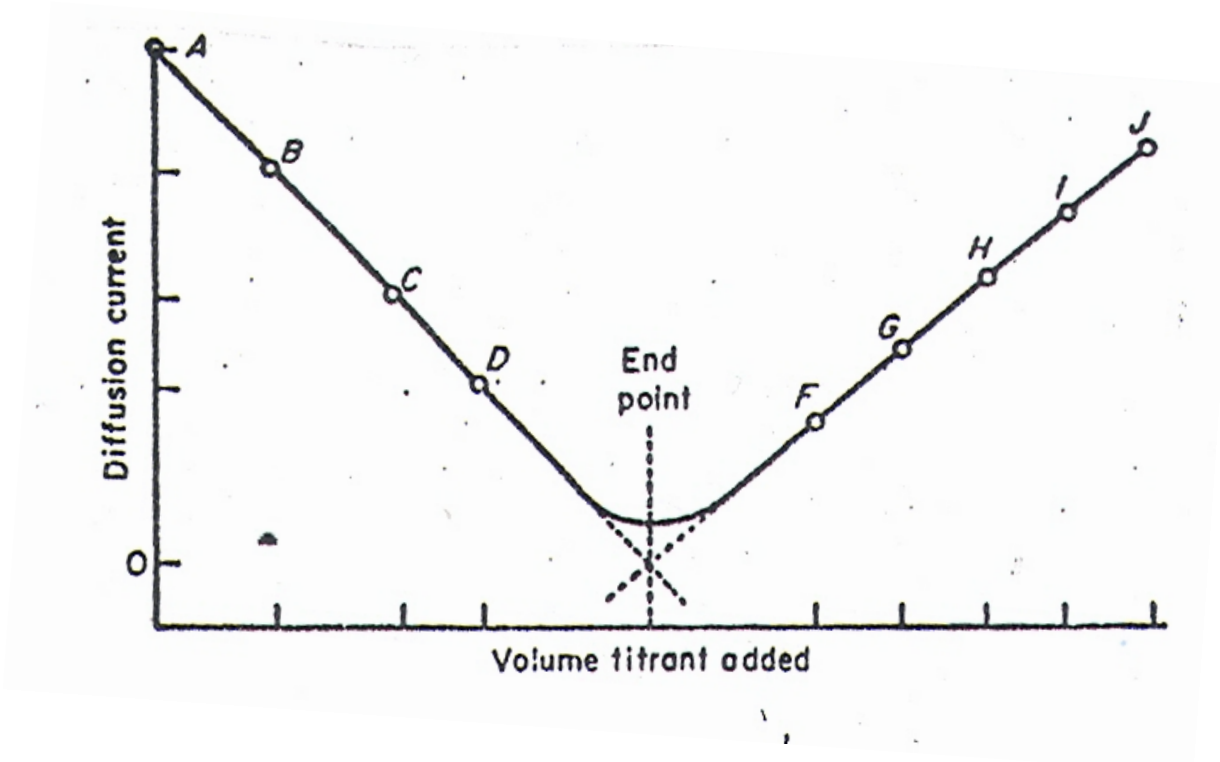
Current-voltage curves of dichromate and lead ions shown schematically.



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.



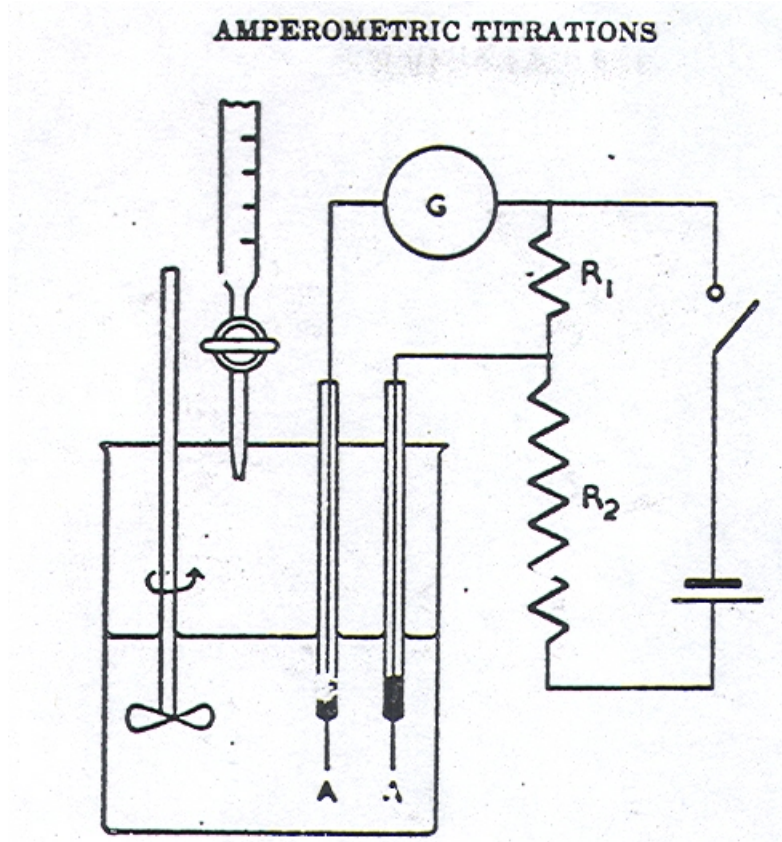
Exemplo chumbo com dicromato em $-1,0\text{ V vs. ECS}$.

BIAMPEROMETRIA

- dois eletrodos idênticos (ex. 2 fios de platina, 2 fios de Au, 2 fios de prata)

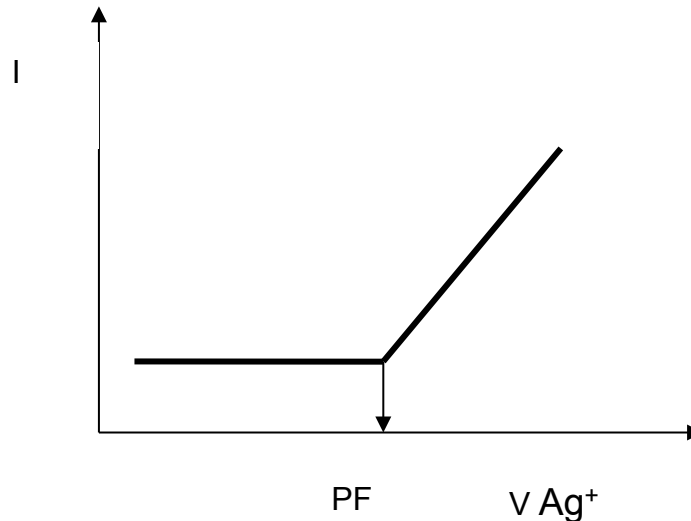
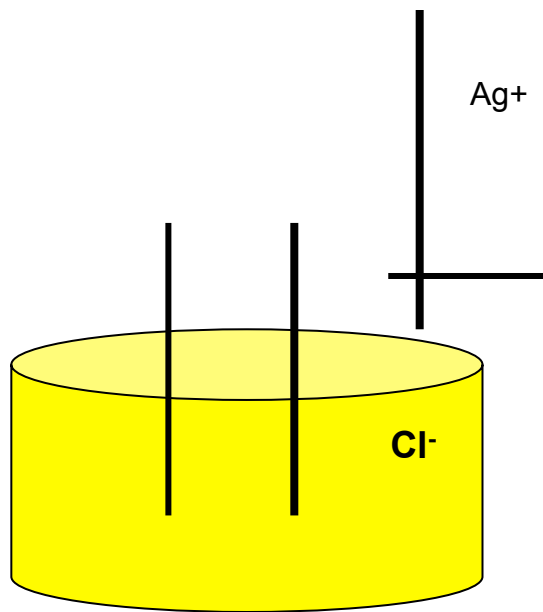
- **Procedimento de trabalho:**
- Aplica-se uma pequena diferença de potencial fixa entre estes dois eletrodo \rightarrow 50 a 100 mV
- Mede-se a corrente gerada durante a titulação
- Só é aplicável caso o reagente ou a produto formado forme uma dupla redox reversível (exemplos mais comuns : Fe(II)/Fe(III);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

Aparelhagem

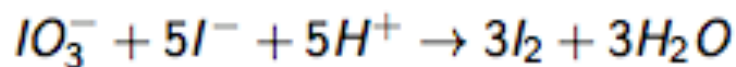
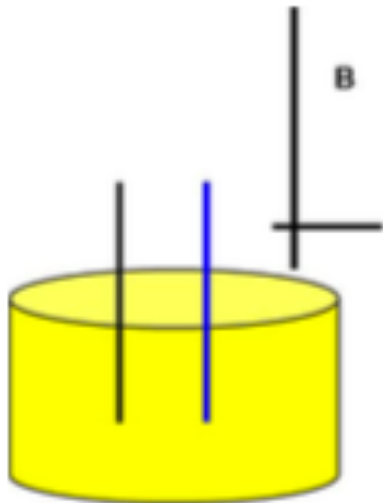


Titulação de uma solução de cloreto com nitrato de prata.

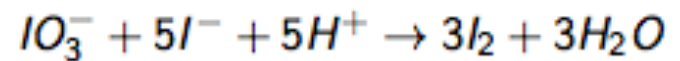
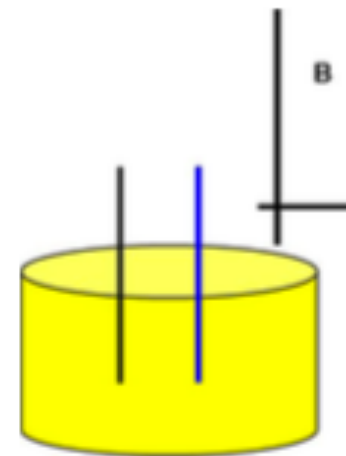
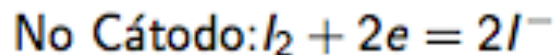
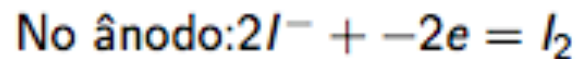
- Reação no ânodo : $\text{Ag}^0 = \text{Ag}^+ + e^-$
- Reação no cátodo : $\text{Ag}^+ + e^- = \text{Ag}^0$



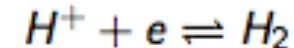
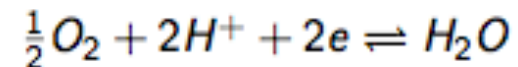
Titulação de iodato (A) com tiosulfato (B)



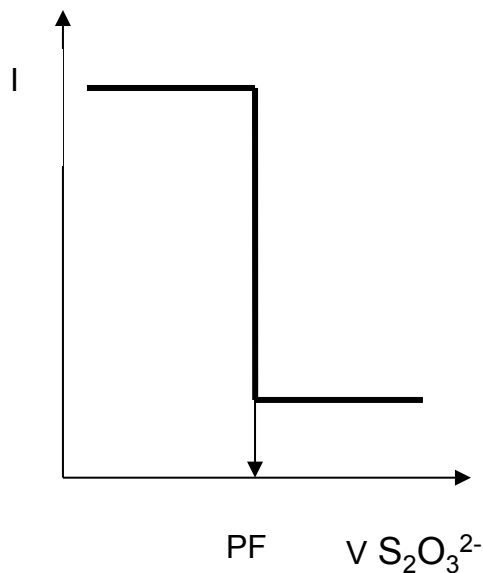
$$\Delta E = 100mV$$



$$\Delta E > 600mV$$



Forma da curva e PF

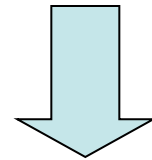


- $t = 0 \rightarrow$ tem a dupla redox I_2/I^- portanto flui uma corrente proporcional ao valor da concentração de iodo.
- $t > 0 \rightarrow$ iodo passa a ser consumido pelo $S_2O_3^{2-}$
- ponto final da curva $i \sim 0 \rightarrow$ todo o iodo é consumido e passa a não fluir corrente uma vez que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

Titulação da água de Karl Fischer

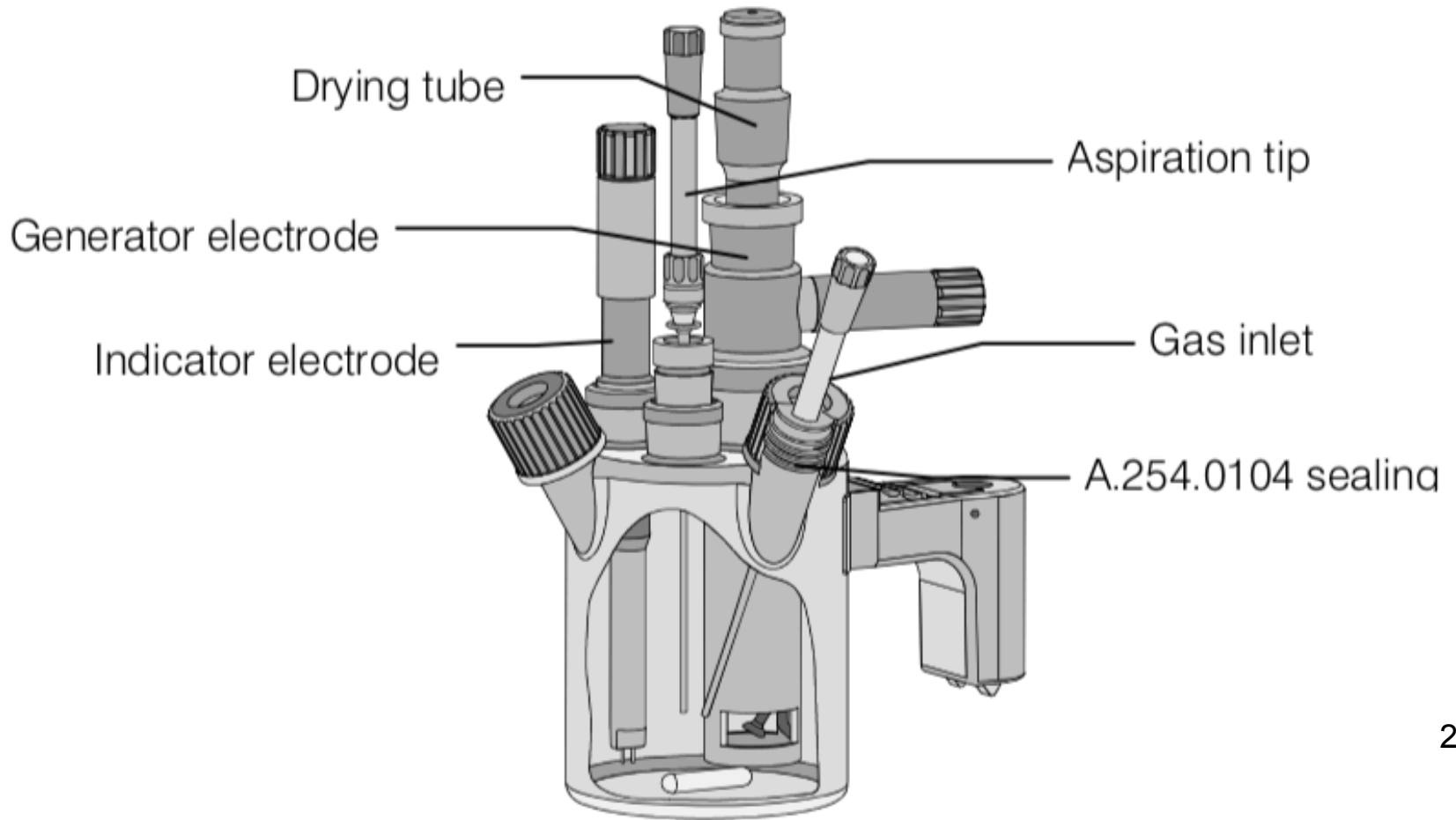


Equipamento junta 2 técnicas

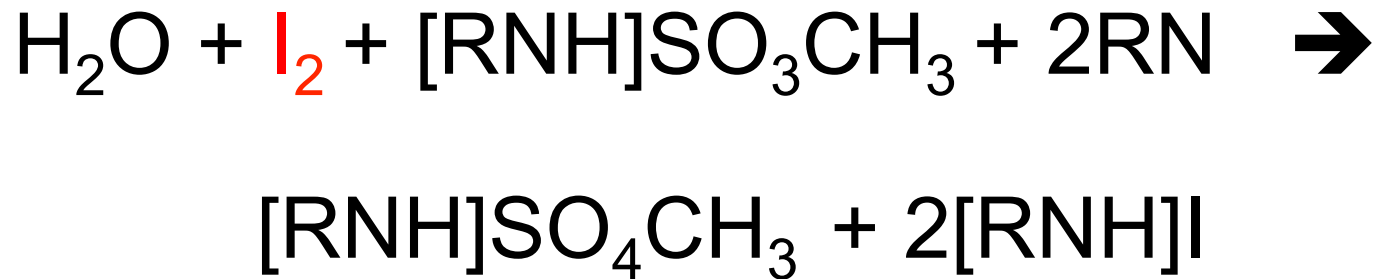


Polímeros, plásticos
Cosméticos e fármacos
Produtos alimentícios
Produtos petroquímicos
Amostras biológicas
Produtos petroquímicos
Polímeros, plásticos
Tintas, vernizes e solventes
Matérias-primas / produtos químicos de base

Método para determinar água residual



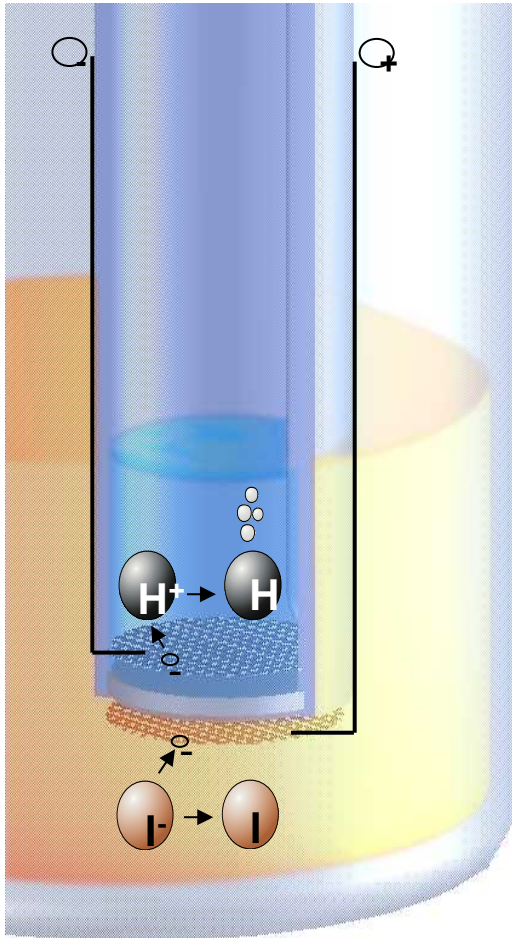
KF- reação



(RN = Base)

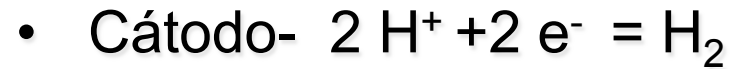
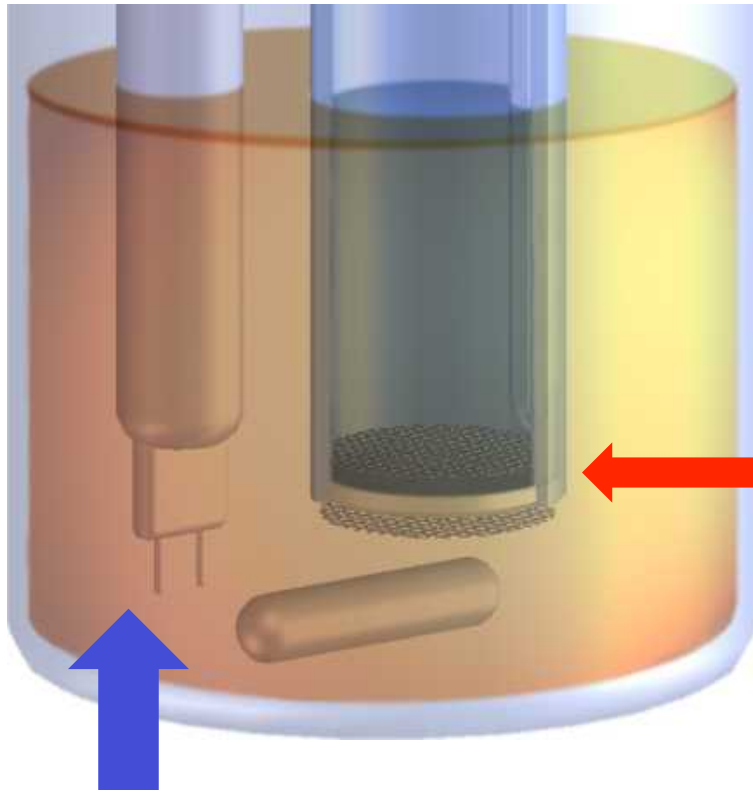


KF coulométrico passo a passo



- Corrente é a bureta
- Iodo é produzido aplicando corrente constante
- A corrente é desligada assim que apresenta excesso de iodo
- Iodo livre é determinado por par de eletrodo platina (biamperometria)

Célula KF



Coulômetro
(bureta)

indicador
amperométrico

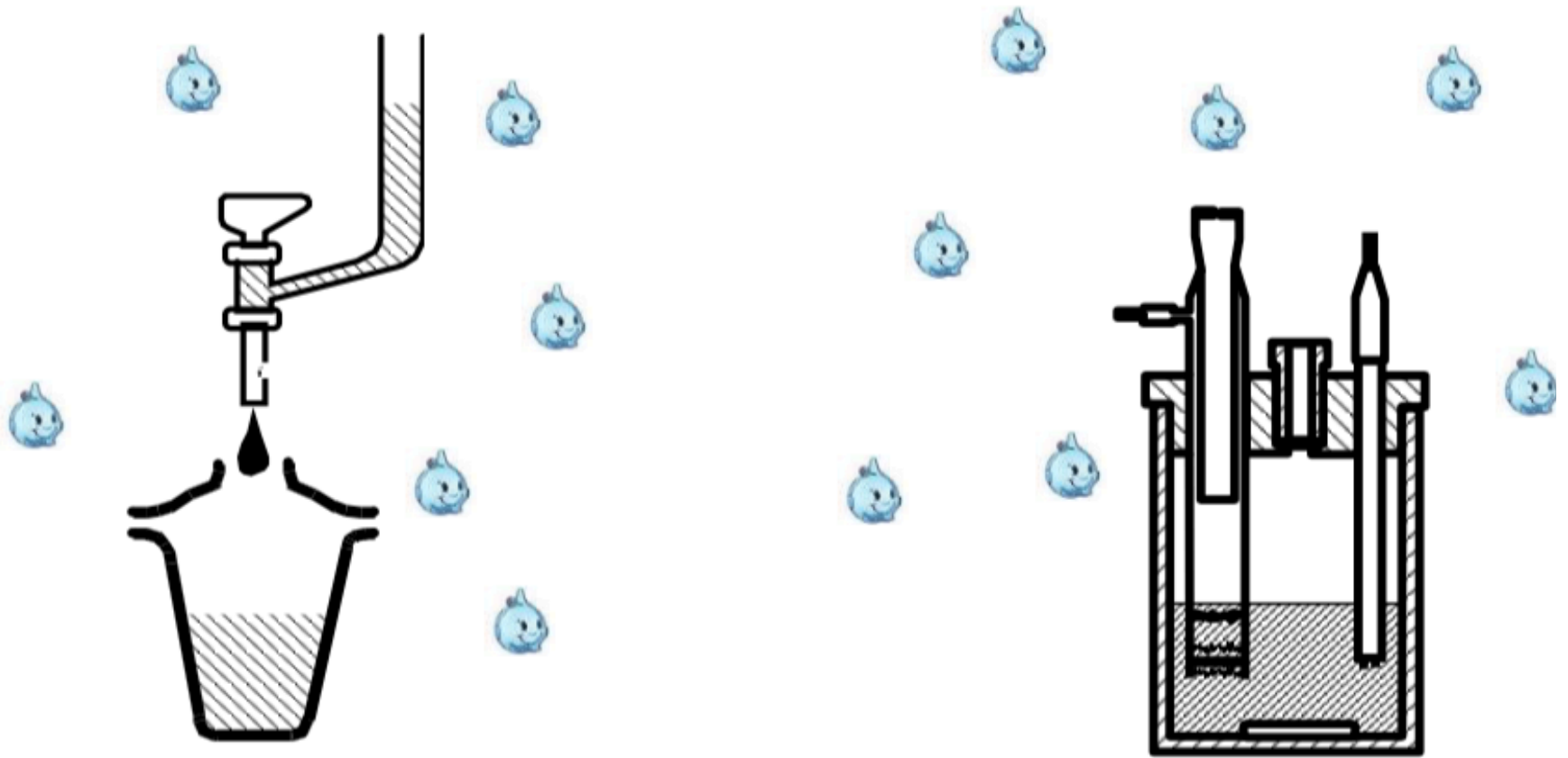
Detecção do ponto final: biamperometria (ΔE)

- Antes do PE todo I_2 gerado pelo eletrodo é consumido pela reação com a água residual $\rightarrow I = 0$
- após o PF $i > 0$

Após o PF começa a sobrar I_2 e o potencial muda

região do Coulômetro KF 831!



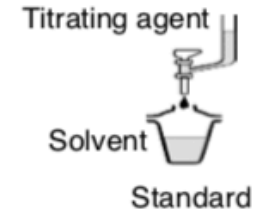


and a relative air humidity of 60%, 1 L of air contains 12 mg

Basic Forms of KF Titration

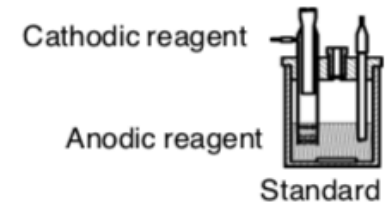
- **Volumetric titration:**

- with **one-** or **two-component reagents**
- water measured in: **mg**
- water content: 0.01% (100 ppm) – 100%



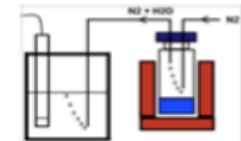
- **Coulometric titration:**

- with cell **with** or **without diaphragm**
- water measured in: **μg**
- water content: 0.001% (10 ppm) – ca. 5-10%



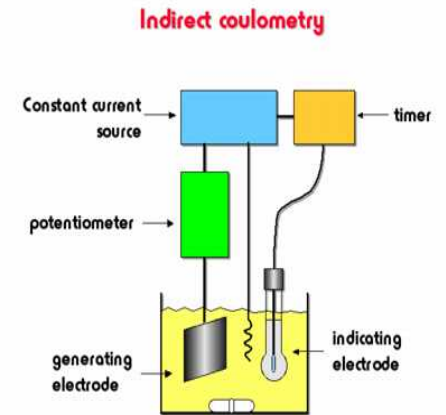
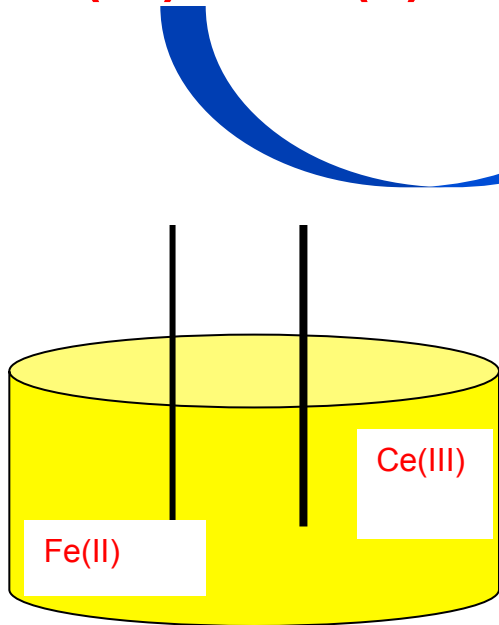
- **KF titration with an oven:**

- not a special titration technique
- indirect form of sample introduction
- used in combination with **volumetric** or **coulometric titration**



Consider sample properties for choosing the method, not just the water content!

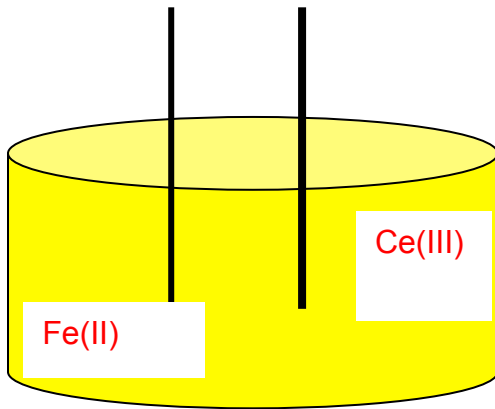
Caso 2- Titulação Fe (II)/Ce(IV) 1,0 mol L⁻¹ de HClO₄



Sistema indicador



Aplica I cte \rightarrow

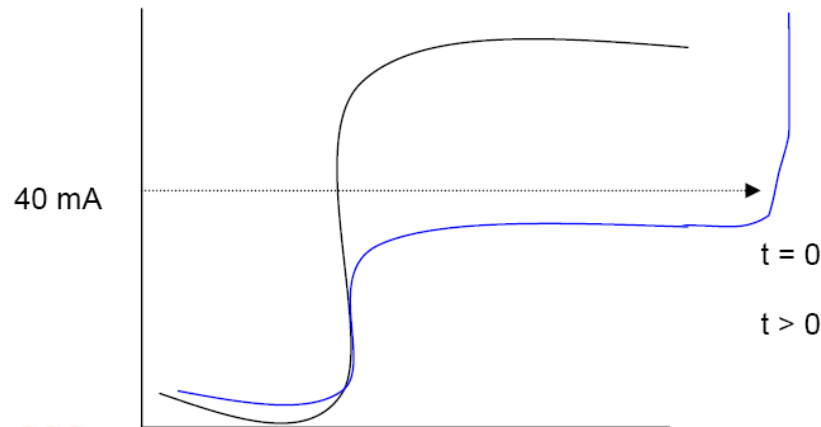


Para manter 100 % eficiência quantidade de precursor \rightarrow Ce(III) 100 vezes maior que o titulado -Fe (II)

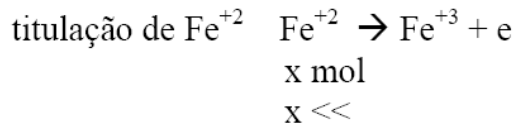
$\text{Ce (III)} - e \rightarrow \text{Ce(IV)}$ - reação eletroquímica-oxidação do Ce(III)

$\text{Ce(IV)} + \text{Fe (II)} \rightarrow \text{Ce(III)} + \text{Fe (III)}$ reação Química

Caso 2- Fe (II)/Ce (IV)



Exemplos de CCC:



$$i(t=0) = 40 \text{ mA}$$
$$i(t>0) = 40 \text{ mA}$$

[ferro II] \rightarrow não é suficiente para manter a $I = 40 \text{ mA}$.

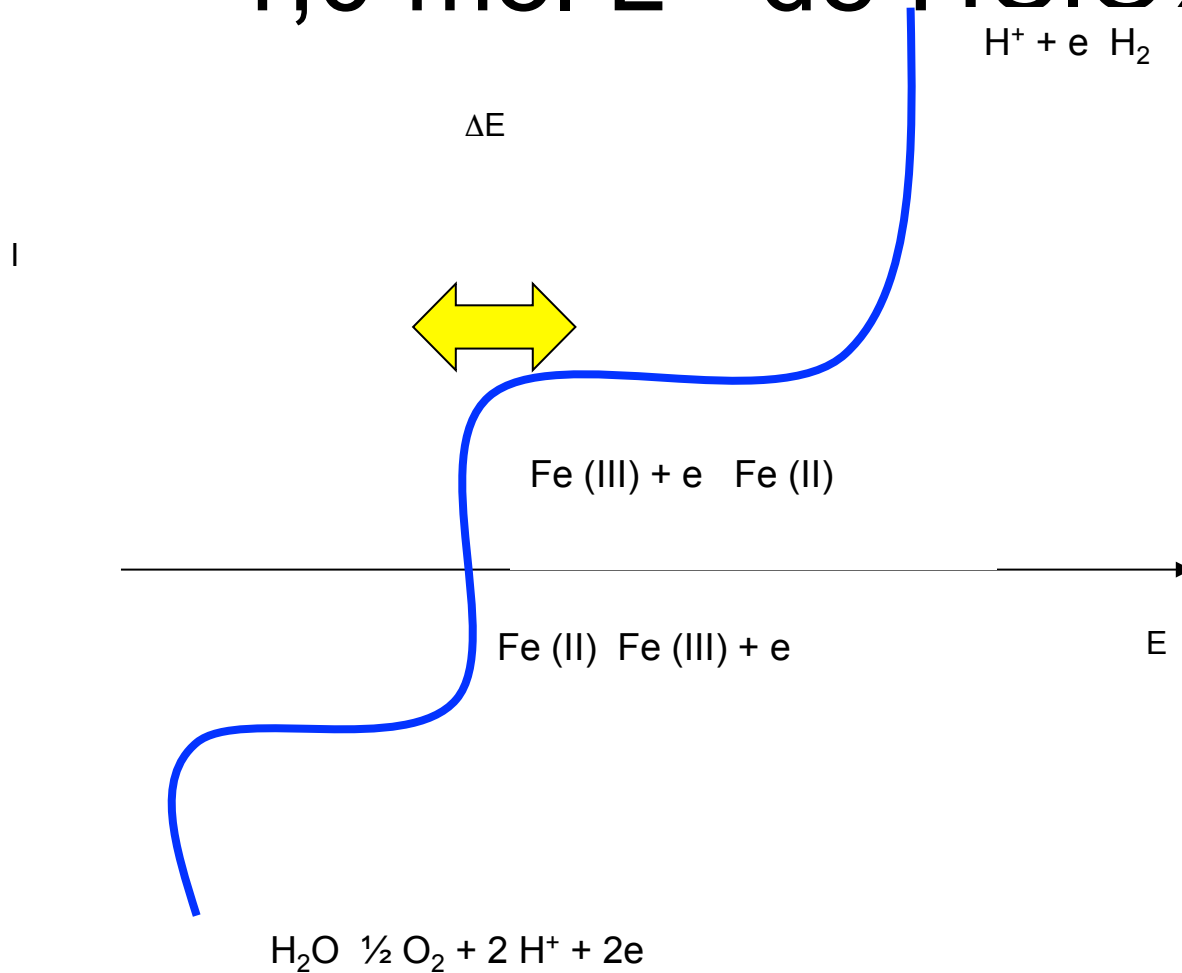
$E \rightarrow$ desloca-se para valores mais positivo e será oxidado a água do meio.



Caso a reação de oxidação da água comece a ocorrer haverá perda de eficiência de corrente.

$$I < 100 \%$$

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



PF = amperometry

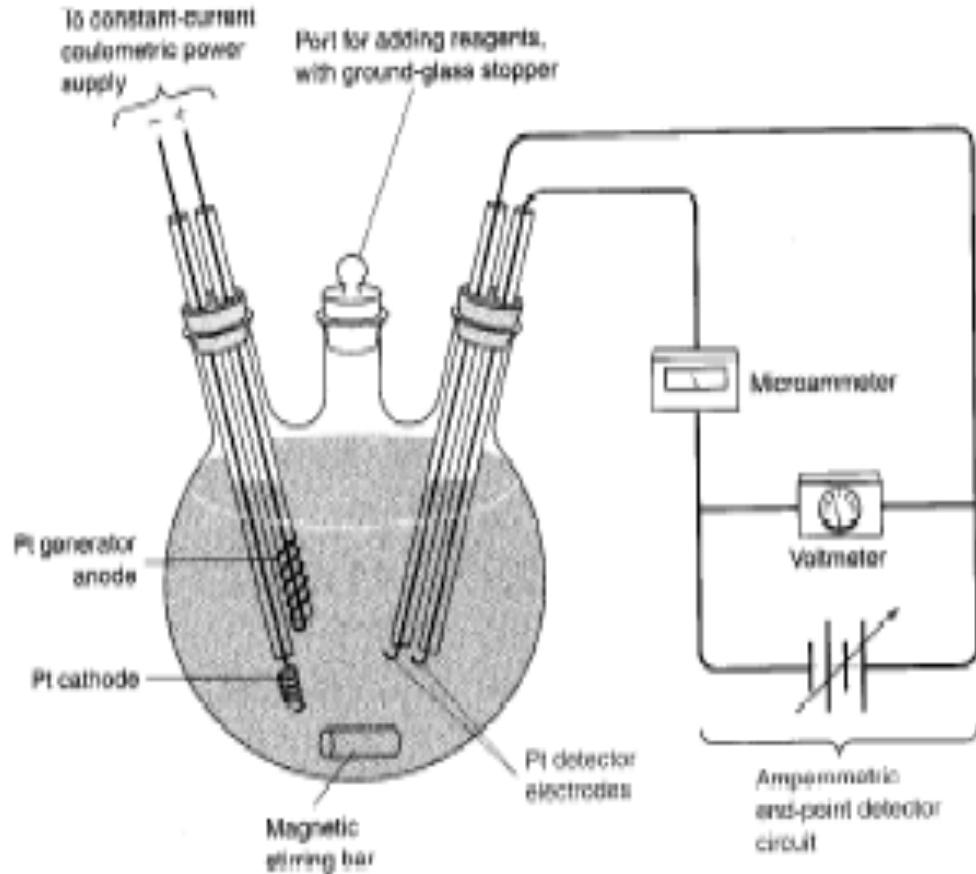
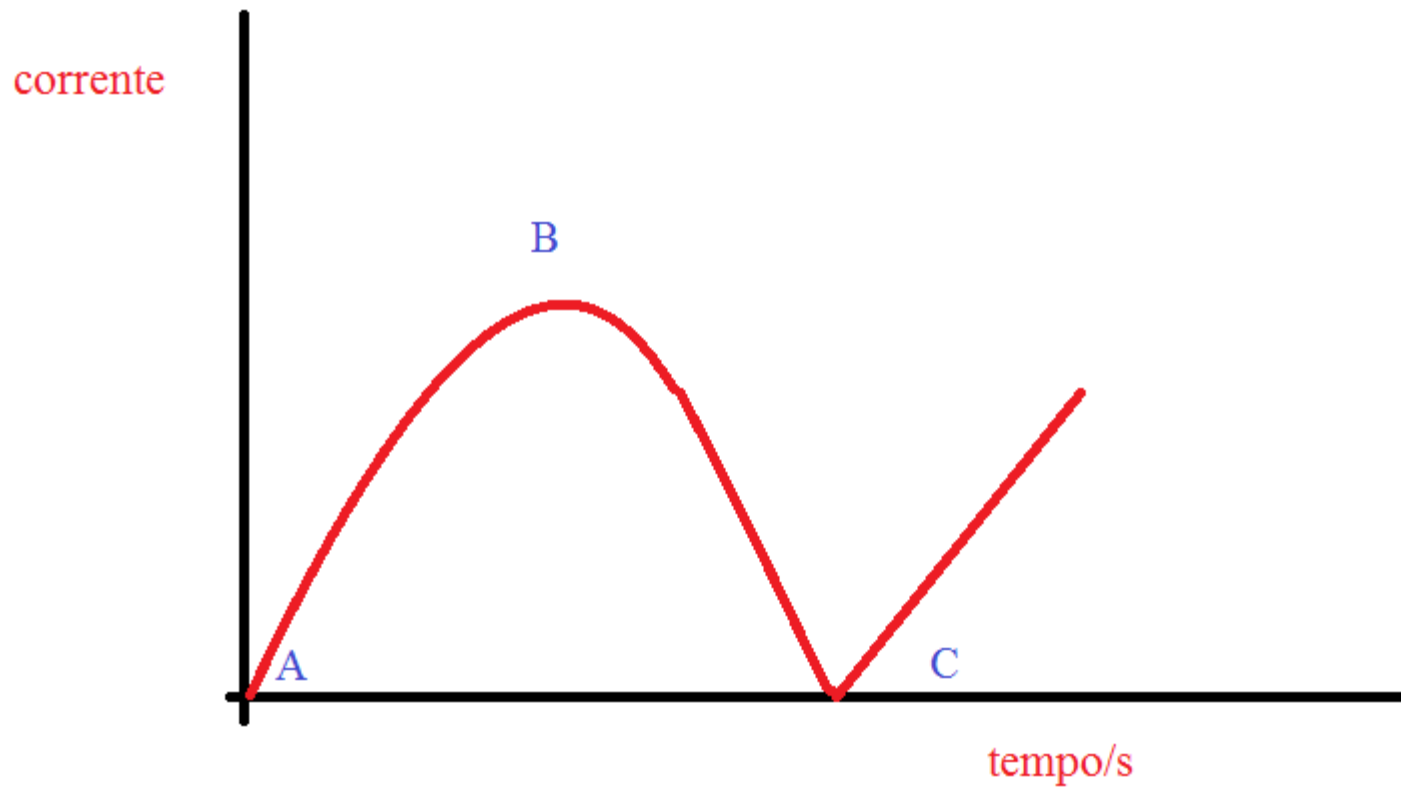


Figure 17-13 Apparatus for coulometric titration of cyclohexene with Br_2 . The solution contains cyclohexene, 0.15 M KBr, and 3 mM mercuric acetate in a mixed solvent of acetic acid, methanol, and water. Mercuric acetate catalyzes the addition of Br_2 to the olefin. [Adapted from D. H. Evans, *J. Chem. Ed.* 1968, 45, 88.]

$t=0 \rightarrow \text{Fe(II)} \text{ e } \text{Ce(III)} \text{ excesso}$

$I = \text{cte} \rightarrow t > 0 \rightarrow \text{????}$



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 → 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).**

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.

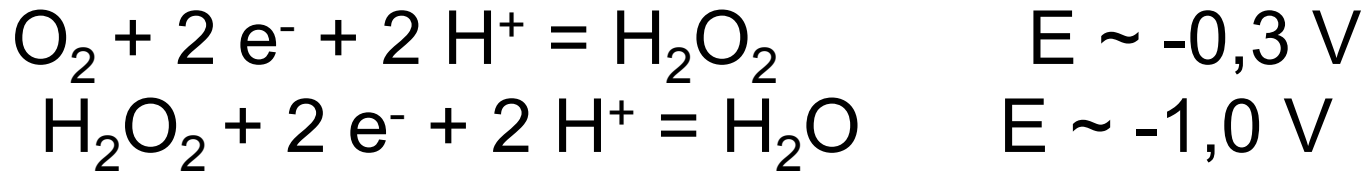
•6- Temperatura não é um problema sério desde que não mude acentuadamente durante a análise

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

LIMITAÇÕES da técnica:

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.**

sensores

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

sensores

Simple
↓
Complex

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

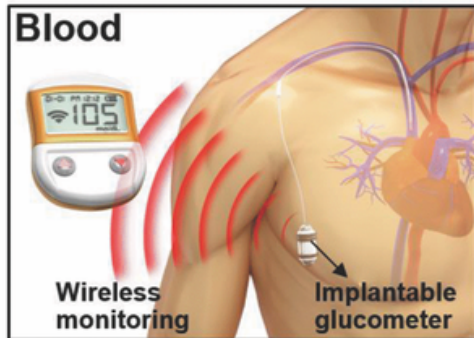
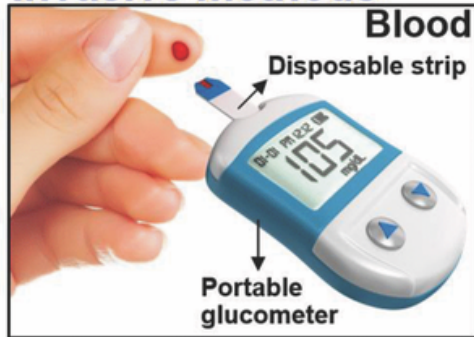




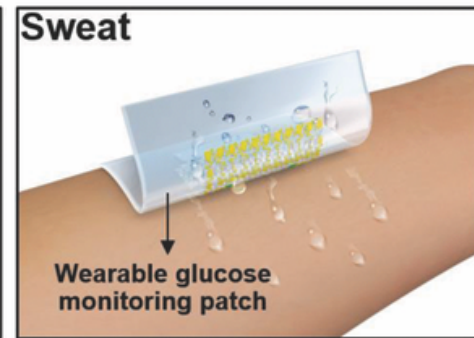
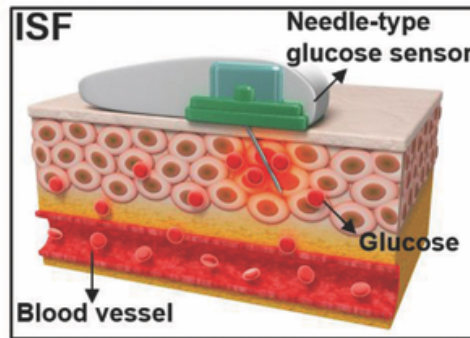
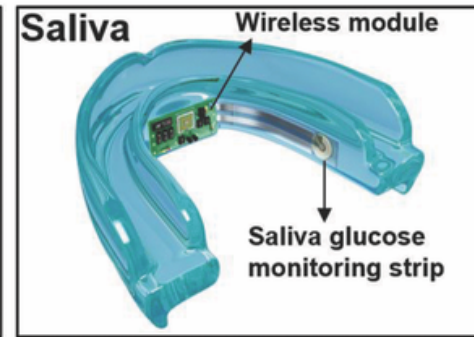
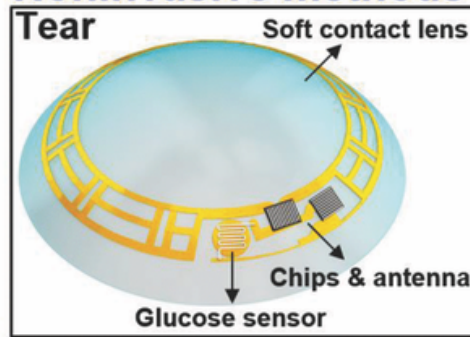
Medidores de Glicose



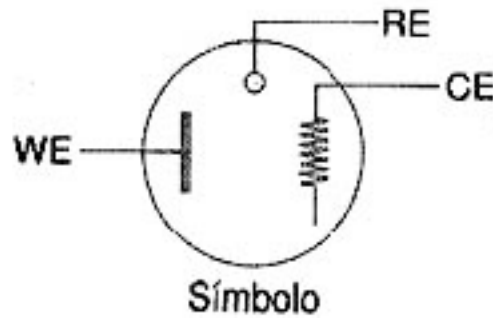
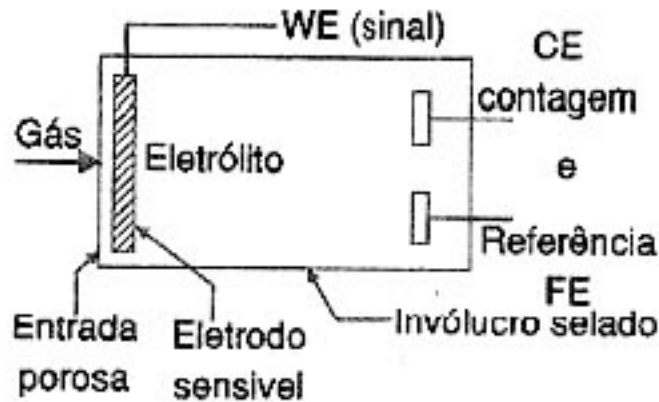
Invasive methods



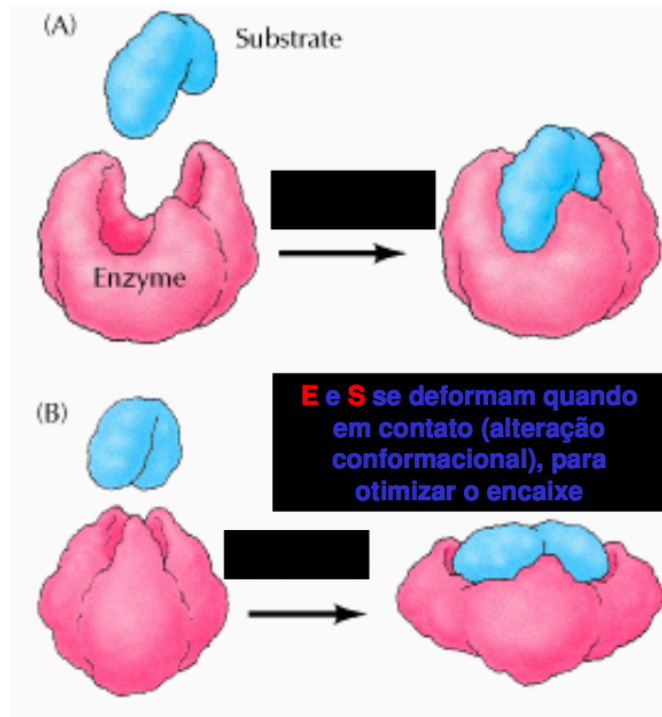
Noninvasive methods



Sensor amperométrico



biosensores



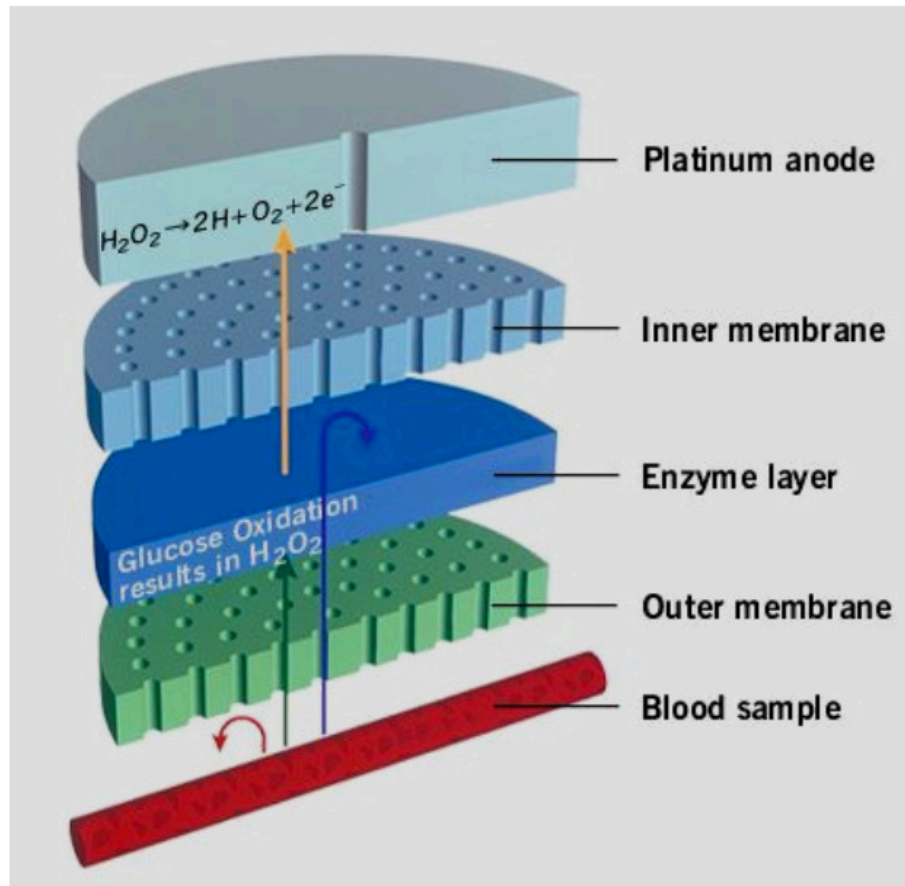
Emil Fisher, década 50

Modelo
chave-fechadura

Daniel Kosland, 1970

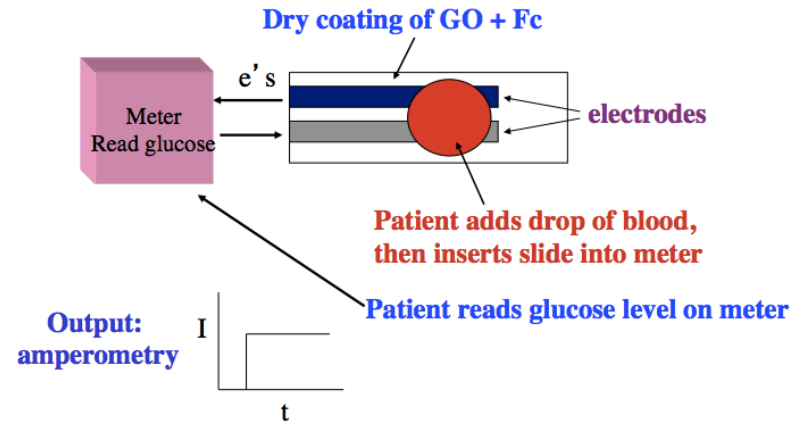
Modelo
Encaixe induzido

Biosensor para glicose - Radiometer®

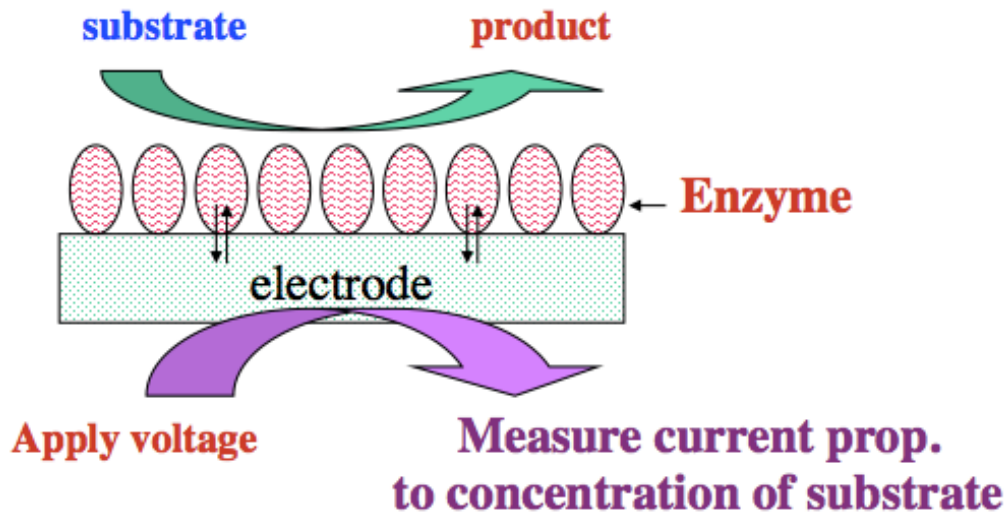


Sensor de glicose

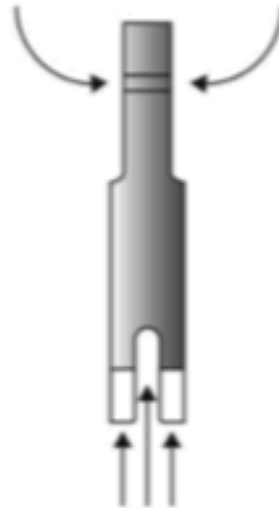
Glucose biosensor test strips (~\$0.40-0.80 ea.)



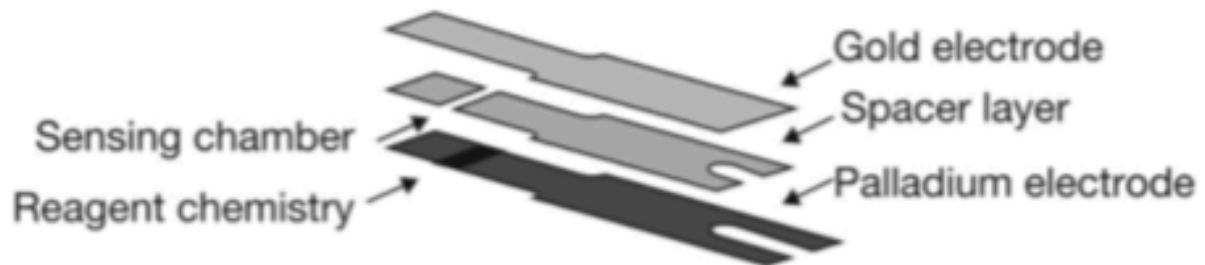
Principle of Electrochemical Biosensors



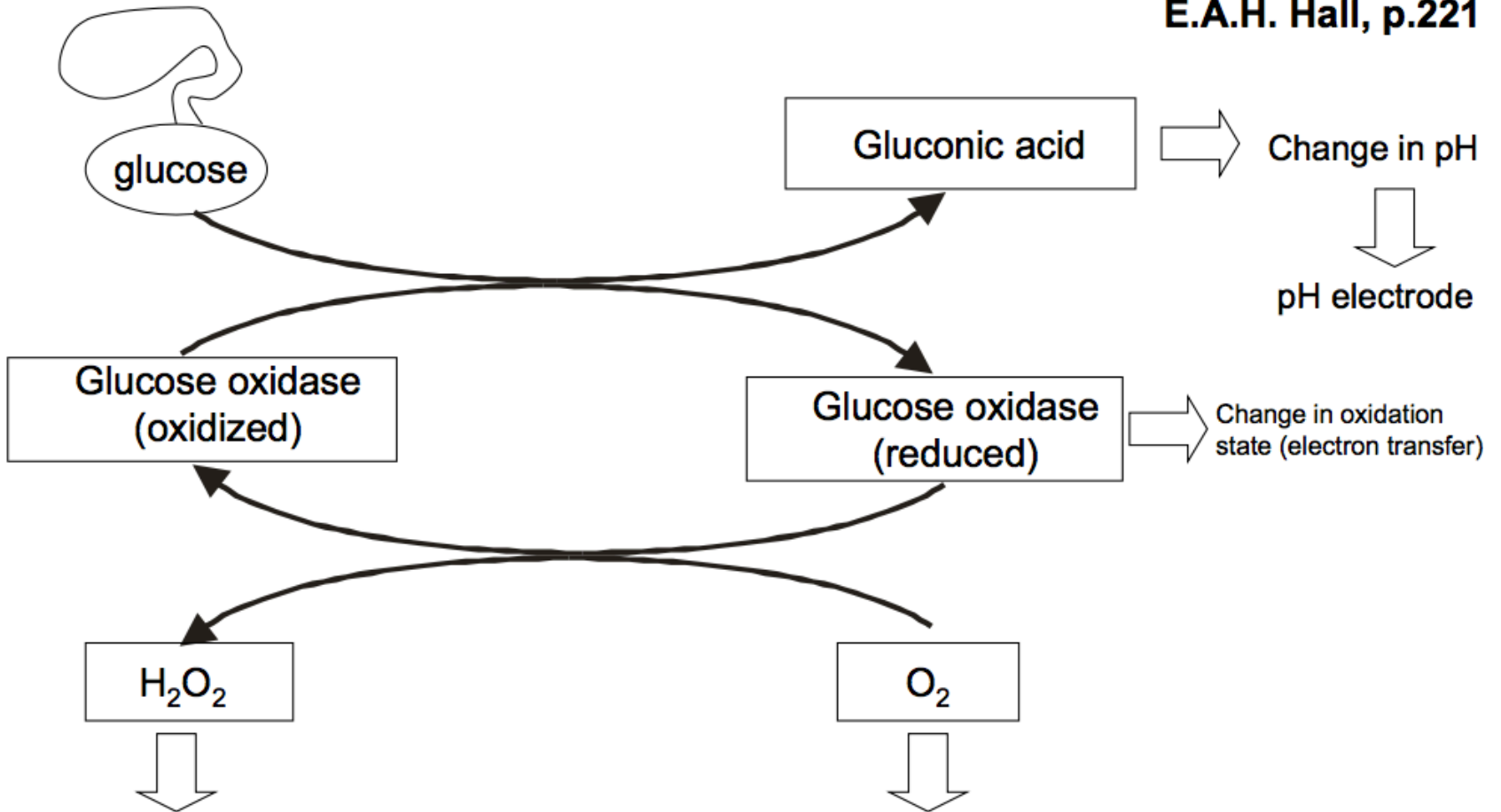
Sample application area



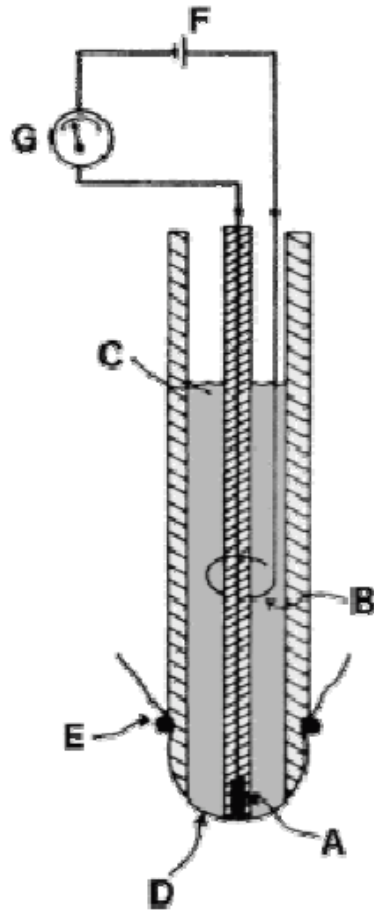
Meter connection points



E.A.H. Hall, p.221



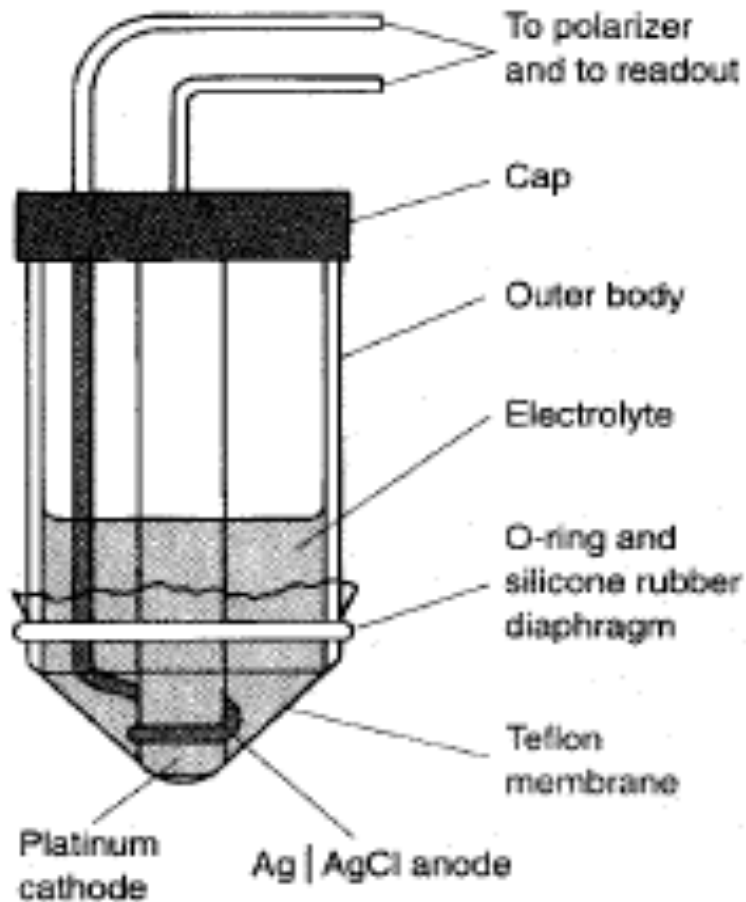
Determinar O₂



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

Adam Heller – sensor de glicose

Sensores de glicose

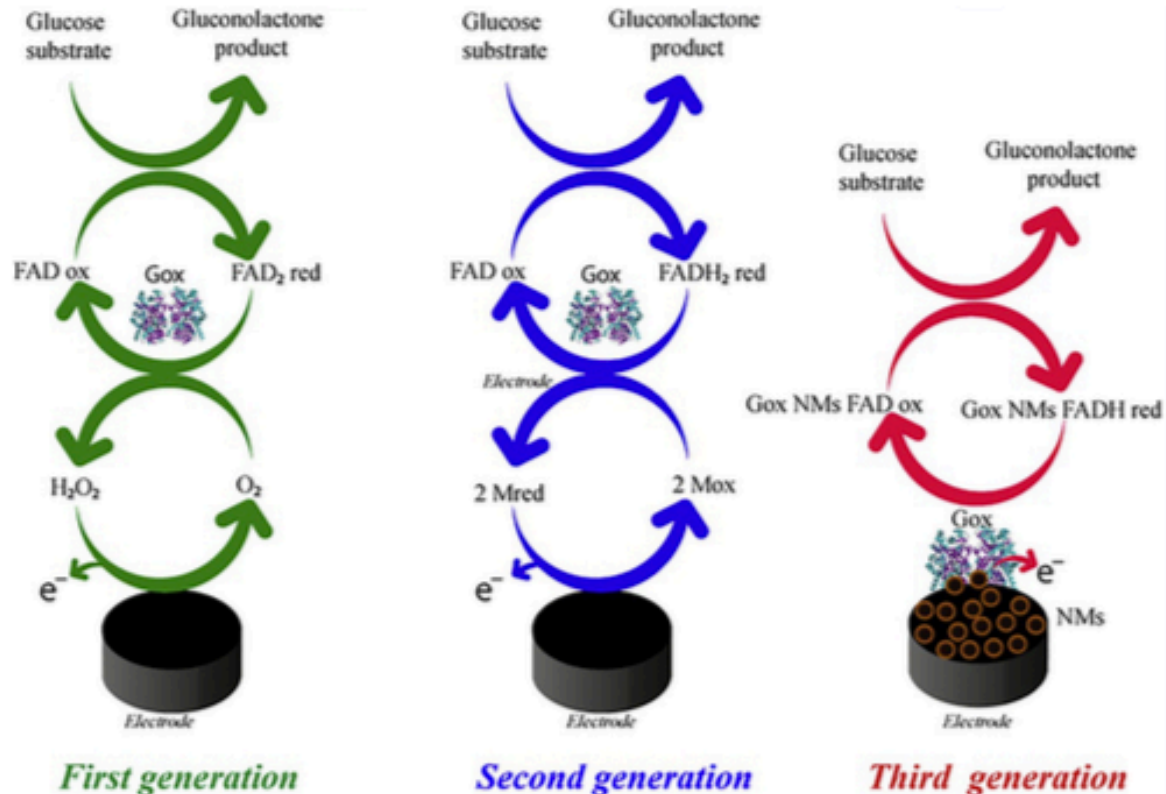
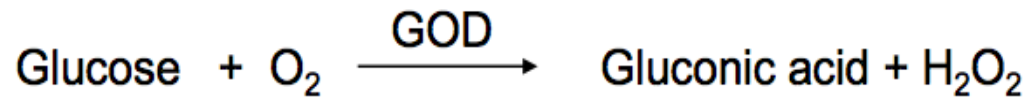


Fig. 3 The three generations of biosensors (glucose oxidase—GOx) used for the determination of glucose. First-generation is based on the measurement of hydrogen peroxide concentration produced or oxygen concentration consumed, second-generation is based on the use of redox mediators (M_{ox} and M_{RED}), and third-generation is based on the direct electron transfer between a GOx-FADH₂-nanomaterial conjugate and the electrode.



Glucose Sensor



O_2 consumed and measured
with Clark electrode

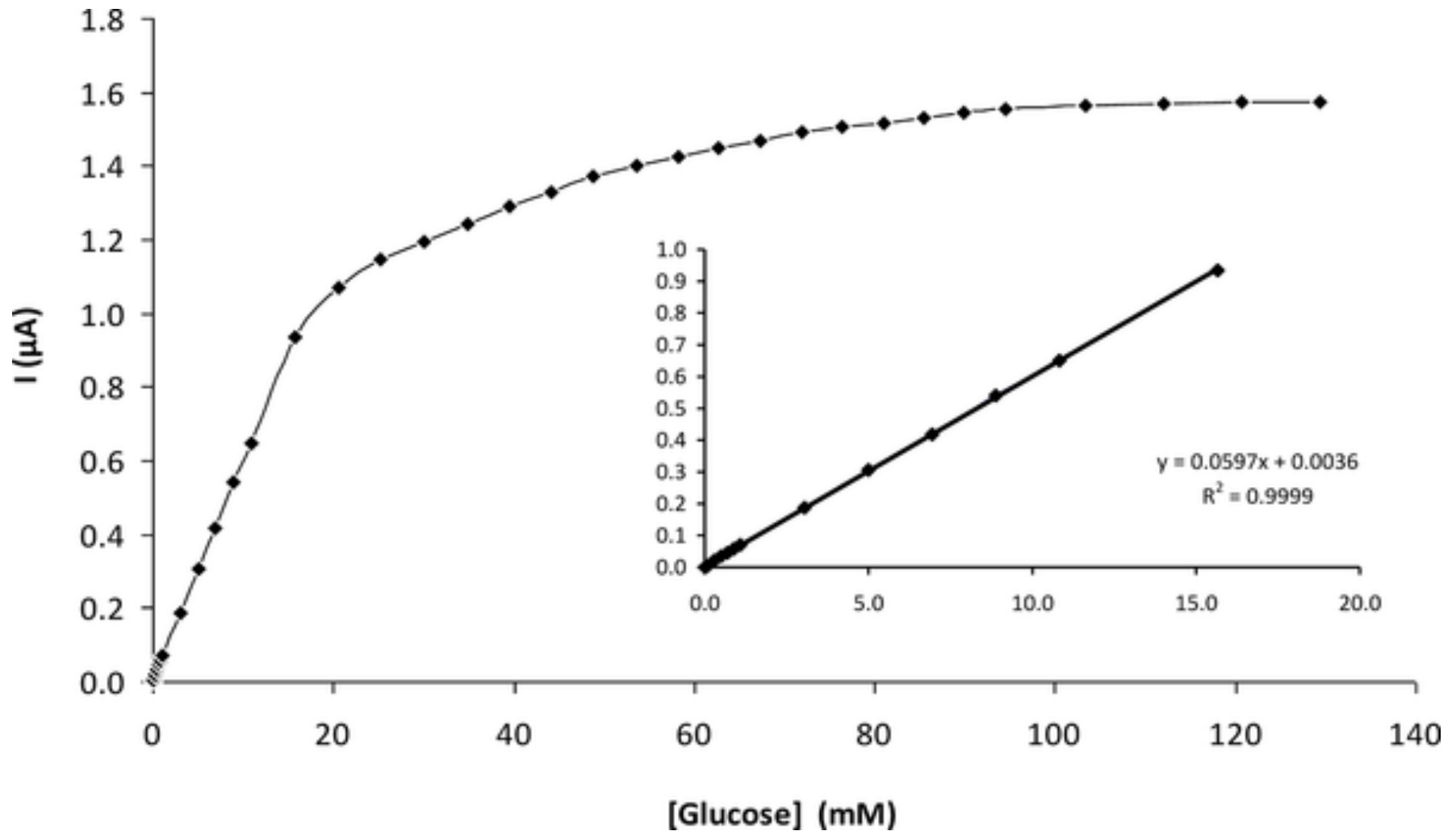
H_2O_2 produced and its anodic
decomposition measured

Dependence on dissolved O_2 concentration



How to control O_2 concentration?

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>