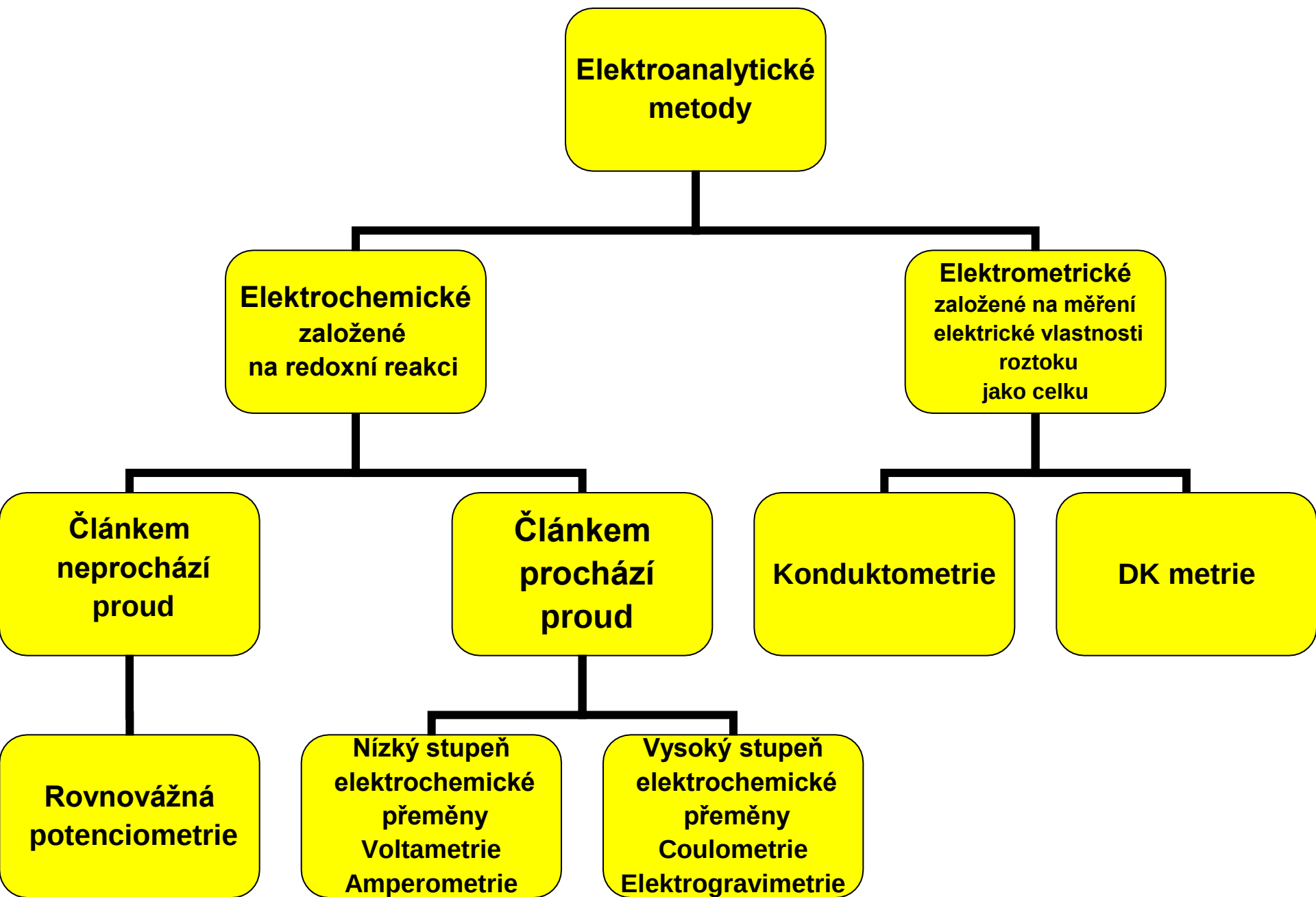




# **Ampérométrie**

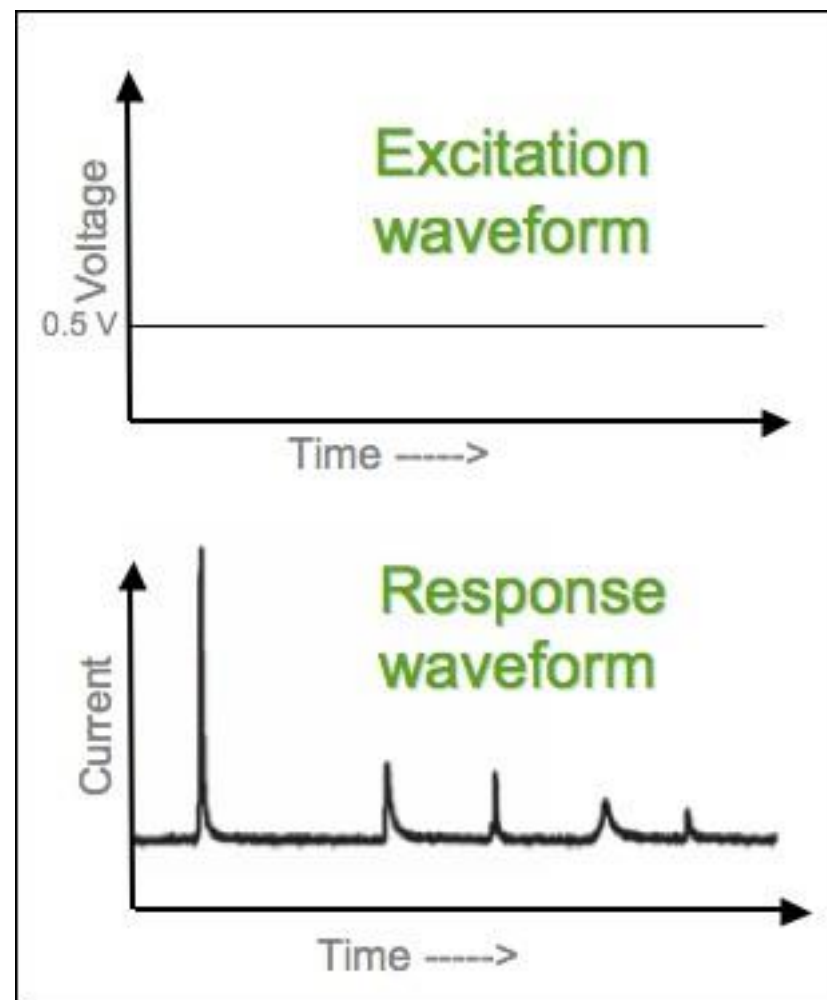


# Ampérometrie

- Metoda, při níž je na pracovní elektrodu vložen **konstantní potenciál** (na rozdíl od voltametrie) a měří se proud jí tekoucí v závislosti na čase.
- Velikost tohoto proudu v přítomnosti analytu (depolarizátoru) je mírou jeho koncentrace.
- Konstantní potenciál je zpravidla zvolen takový, při němž elektrodou teče limitní proud analytu.
- Jde o metodu odvozenou od metod voltametrických a polarografických, lze při ní použít stejné instrumentace.

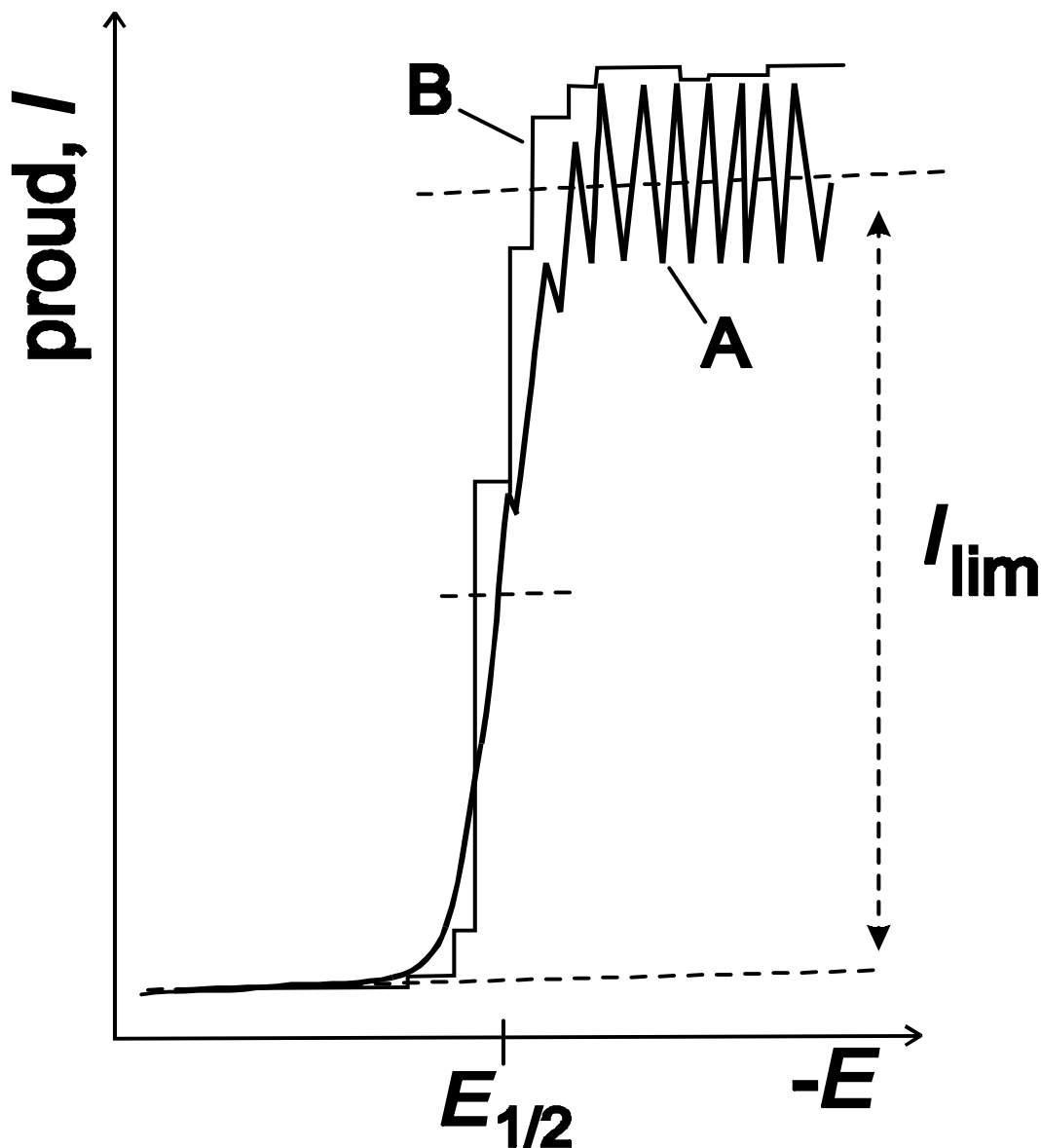
# Ampérometrie

- Metoda, při níž je na pracovní elektrodu vložen **konstantní potenciál** (na rozdíl od voltametrie) a měří se proud jí tekoucí v závislosti na čase.
- Velikost tohoto proudu v přítomnosti analytu (depolarizátoru) je mírou jeho koncentrace.



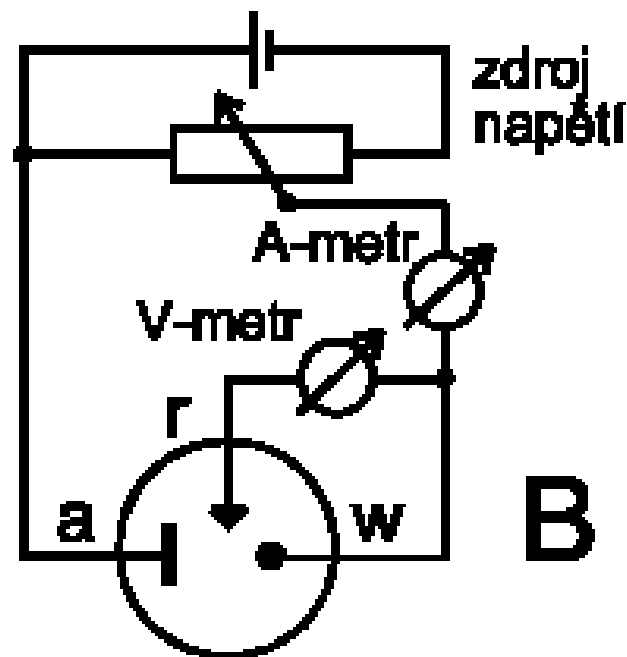
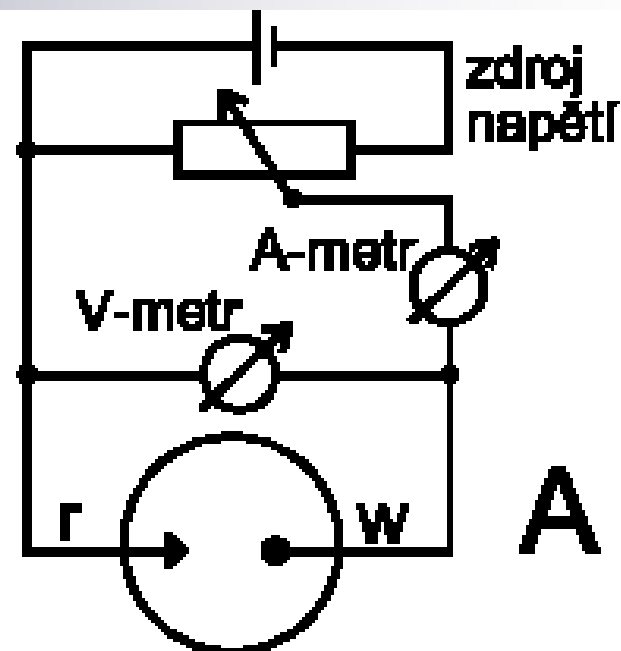
# Ampérometrie

- Konstantní potenciál je zpravidla zvolen takový, při němž elektrodou teče limitní proud analytu.



# Ampérometrie

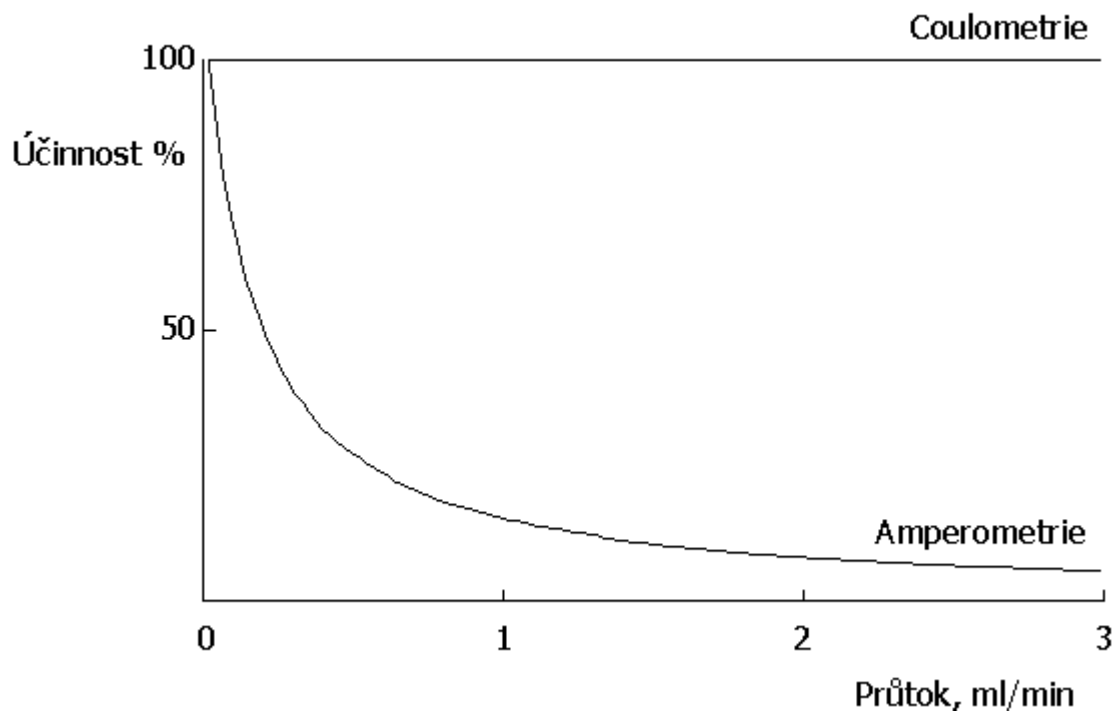
- Jde o metodu odvozenou od metod voltametrických a polarografických, lze při ní použít stejné instrumentace.



# Transport hmoty k elektrodě

## ➤ Účinnost elektrochemické reakce

- difúze elektroaktivní komponenty k povrchu pracovní elektrody
- průtoková rychlost mobilní fáze



# Ampérometrie v průtokových metodách

## ➤ Typy uspořádání

- tenkovrstvé (thin-layer)
- wall-jet
- wall-tube
- tubulární

## ➤ Elektrodové materiály

- různé formy uhlíku (uhlíková pasta, skelný uhlík, bórem dopovaný diamant)
- vzácné kovy (Pt, Cu, Au)
- amalgámy



# Ampérometrie v praxi

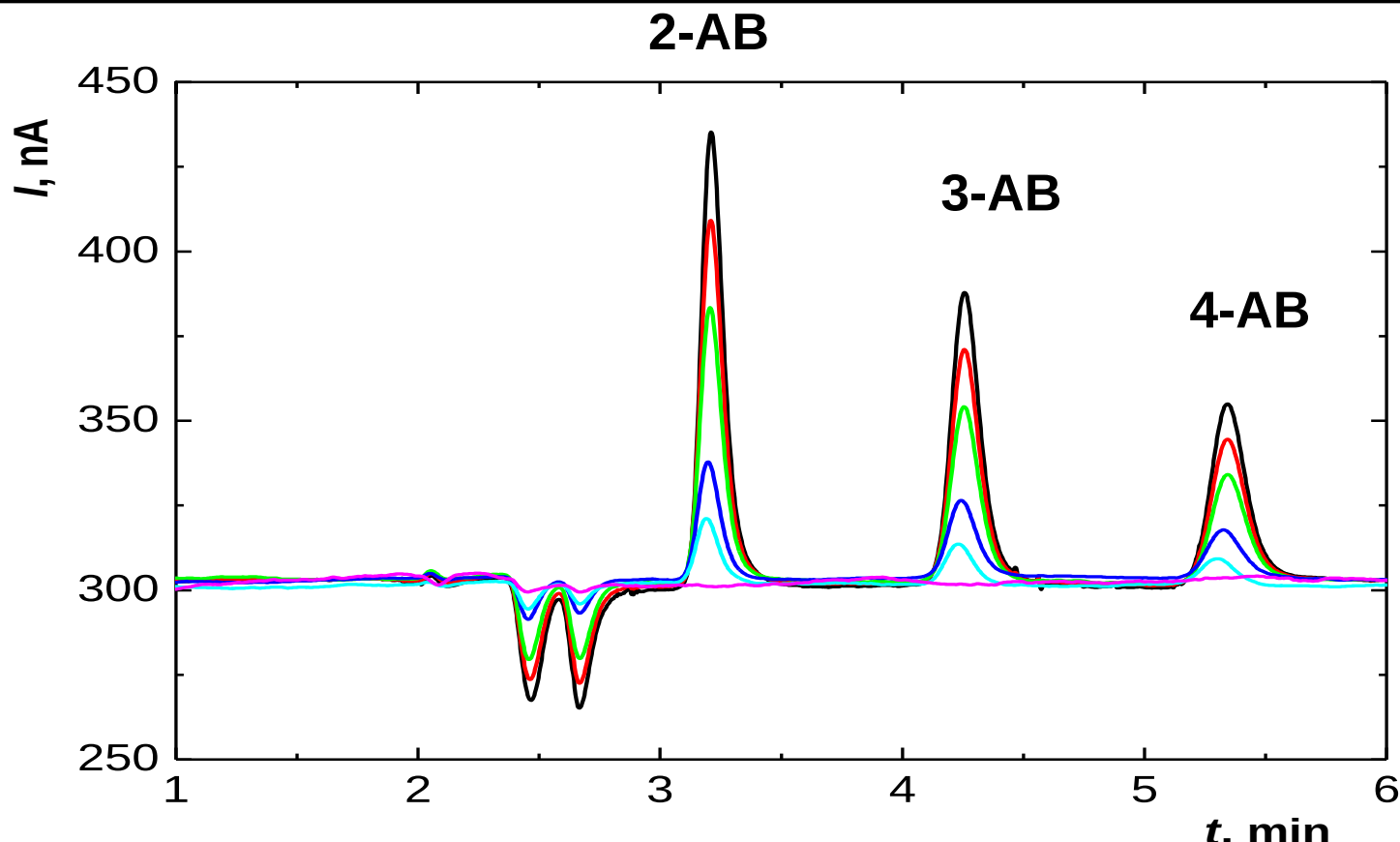
- Ampérometrické detektory pro průtokové metody
  - FIA
  - HPLC
  - elektroforetické metody
- Ampérometrické senzory

# HPLC separace aminobifenylů

Chromatogramy směsi **2-AB, 3-AB a 4-AB** v koncentračním rozmezí  $(2-10) \cdot 10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$  na koloně ChiraDex

**MF: acetátový pufr o pH 5,0/acetonitril/methanol (40/30/30)**

$F_M = 1 \text{ ml.min}^{-1}$ ;  $E_{det} = +1,2 \text{ V}$ , **tenkovrstvé uspořádání**



# Pracovní parametry ampérometrických detektorů

- citlivost  $S = \Delta R / \Delta c$
- šum (konstantní složka – pozadí, vysokofrekvenční šum, nízkofrekvenční šum, posun – drift, spiky)
- mez detekce / stanovitelnosti
- spolehlivost měření – přesnost / správnost – stabilita a reprodukovatelnost signálu
- charakter závislosti signálu na koncentraci – dynamický rozsah, lineární dynamický rozsah
- selektivita
- dynamické charakteristiky – přechodová charakteristika

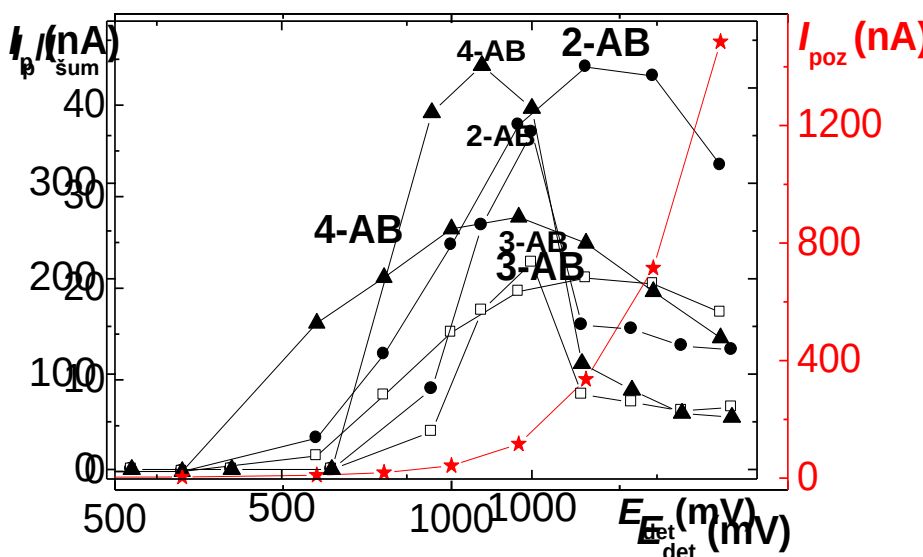
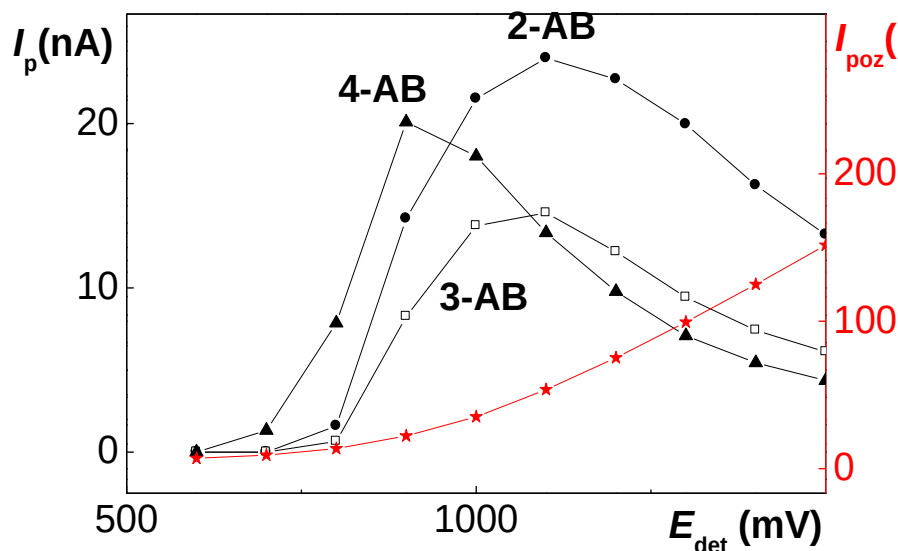
# Hydrodynamické voltamogramy

**Tenkovrstvé uspořádání**

**Wall-jet**

**$E_{\text{det}} = +1,2 \text{ V}$  vs. Ag/AgCl/ 3M KCl**

**$E_{\text{det}} = +1,0 \text{ V}$  vs. SCE**



**Závislost výšky píku  $I_p$  2-AB, 3-AB a 4-AB ( $c = 1 \cdot 10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$ ) a proudu pozadí na vloženém potenciálu detekce  $E_{\text{det}}$ . Mobilní fáze acetátový pufr o pH 5,0/acetonitril/methanol (40/30/30), dávkováno 20  $\mu\text{l}$ ; průtoková rychlost 1  $\text{ml min}^{-1}$ .**

# Transport hmoty k elektrodě

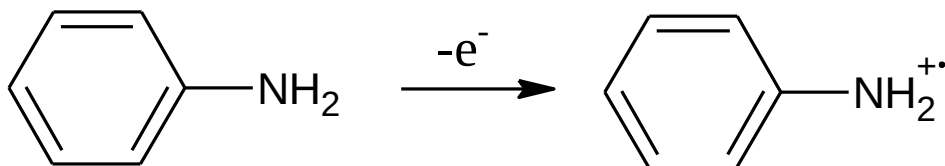
## ➤ Účinnost pracovní elektrody

- je závislá na elektroaktivní ploše elektrody:
- elektrodopozice meziproduktů a produktů elektrochemické reakce (aromatické aminy a fenoly)
- adsorpce

## ➤ Regenerace povrchu pracovní elektrody

- elektrochemická
- mechanická (broušení, leštění  $\text{Al}_2\text{O}_3$ )
- tepelná
- chemická

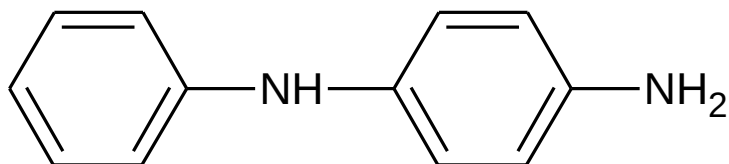
# Mechanismus oxidace aromatických aminů



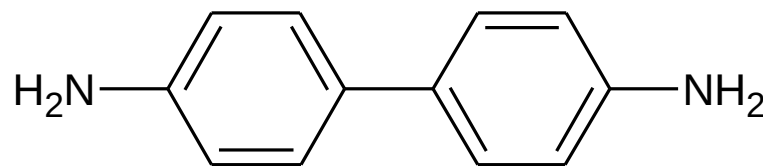
**anilin**

**anilin radikál kationt**

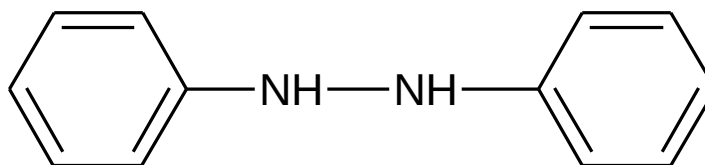
**p-aminodifenylamin**



**benzidin**



**hydrazobenzen**



# Shrnutí hydrodynamických principů

a) Látkový tok  $J_i$  složky  $i$  v roztoku

$$\vec{J}_i = \vec{J}_{i,dif} + \vec{J}_{i,mig} + \vec{J}_{i,kon}$$

$$\vec{J}_i = -D_i \text{grad } c_i - z_i F u_i c_i \text{grad } \phi + c_i \vec{v}$$

Proudová hustota  $j_i$  složky  $i$  v roztoku

$$\vec{j}_i = \sum_i z_i F (\vec{J}_{i,dif} + \vec{J}_{i,mig} + \vec{J}_{i,kon})$$

$$= - \sum_i z_i F D_i \text{grad } c_i + \kappa \text{grad } \phi$$

$$\kappa = \sum_i z_i^2 F^2 u_i c_i \quad \text{specifická vodivost}$$

15

b) bilance změny koncentrace složek nesoucích náboj v čase

$$\frac{\partial n_i}{\partial t} = -[J_i(x + \Delta x) - J_i(x)]A$$

$$\frac{\partial c_i}{\partial t} = -\frac{\partial J_i}{\partial x}$$

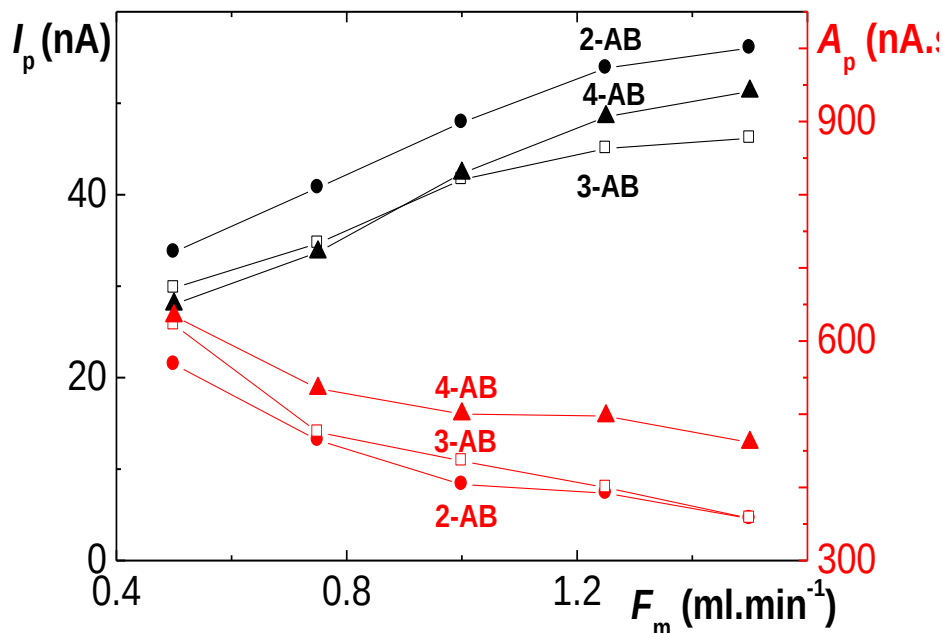
$$\frac{\partial c_i}{\partial t} = -D \left( \frac{\partial^2 c_i}{\partial x^2} \right)_{x,t=0} \quad \text{2. Fickův zákon}$$

Celková bilance

$$\frac{\partial c_i}{\partial t} = -D \left( \frac{\partial^2 c_i}{\partial x^2} \right)_{x,t=0} - v \text{grad } c + z_i F u_i \text{grad } \varphi \text{grad } c_i + \left( \frac{\partial c_i}{\partial t} \right)$$



# Limitní proud – vliv průtokové rychlosti



**Závislost výšky  $I_p$  a plochy  $A_p$  píku 2-AB, 3-AB a 4-AB ( $c = 1 \cdot 10^{-5}$  mol l<sup>-1</sup>) na průtokové rychlosti  $F_m$ . Mobilní fáze acetátový pufr o pH 5,0/acetonitril/methanol (40/30/30), dávkováno 20  $\mu$ l,  $E_{det} = +1,0$  V.**

$$i_L = knFCD^{2/3}F_m^x$$

x dle typu uspořádání

$$\log i_L = \log K + x \log F_m$$

$$K = knFD^{2/3}C$$

| analyt | x (teorie) | x (exp.) |
|--------|------------|----------|
| 2-AB   | 0,75       | 1,67     |
| 3-AB   |            | 1,60     |
| 4-AB   |            | 1,62     |

# Limitní proud

**TABLE 3.4 Limiting-Current Response of Various Flow-Through Electrodes<sup>a</sup>**

| Electrode Geometry     | Limiting-Current Equation                              |
|------------------------|--------------------------------------------------------|
| Tubular                | $i = 1.61nFC(DA/r)^{2/3}U^{1/3}$                       |
| Planar (parallel flow) | $i = 0.68nFCD^{2/3}\nu^{-1/6}(A/b)^{1/2}U^{1/2}$       |
| Thin-layer cell        | $i = 1.47nFC(DA/b)^{2/3}U^{1/3}$                       |
| Planar (perpendicular) | $i = 0.903nFCD^{2/3}\nu^{-1/6}A^{3/4}u^{1/2}$          |
| Wall-jet detector      | $i = 0.898nFCD^{2/3}\nu^{-5/12}a^{-1/2}A^{3/8}U^{3/4}$ |

<sup>a</sup> *Definition of terms:*  $a$  = diameter of inlet,  $A$  = electrode area,  $b$  = channel height,  $C$  = concentration (mM),  $F$  = Faraday constant,  $D$  = diffusion coefficient,  $\nu$  = kinematic viscosity,  $r$  = radius of tubular electrode,  $U$  = average volume flow rate,  $u$  = velocity (cm/s),  $n$  = number of electrons.  
*Source:* Adapted from Ref. 84.

# Příklad

**Example 3.6** Flow analysis of a urine sample at a thin-layer amperometric detector, with a flow-rate of 1.25 mL/min, yielded a limiting current value of 1.6  $\mu$ A for its unknown uric acid content. A larger current of 2.4  $\mu$ A was observed for a sample containing  $1 \times 10^{-4}$  M uric acid and flowing at a rate of 0.9 mL/min. Calculate the original concentration of uric acid in the sample.

$$i_l = KCU^{1/3}$$

$$2.4 = K(1 \times 10^{-4})0.9^{1/3}$$

$$K = 2.49 \times 10^4$$

$$1.6 = 2.49 \times 10^4 (C)1.25^{1/3}$$

$$C = 6 \times 10^{-5} \text{ M}$$

# Ampérometrie v průtokových metodách

## ➤ Typy uspořádání

- tenkovrstvé (thin-layer)
- wall-jet
- wall-tube
- tubulární

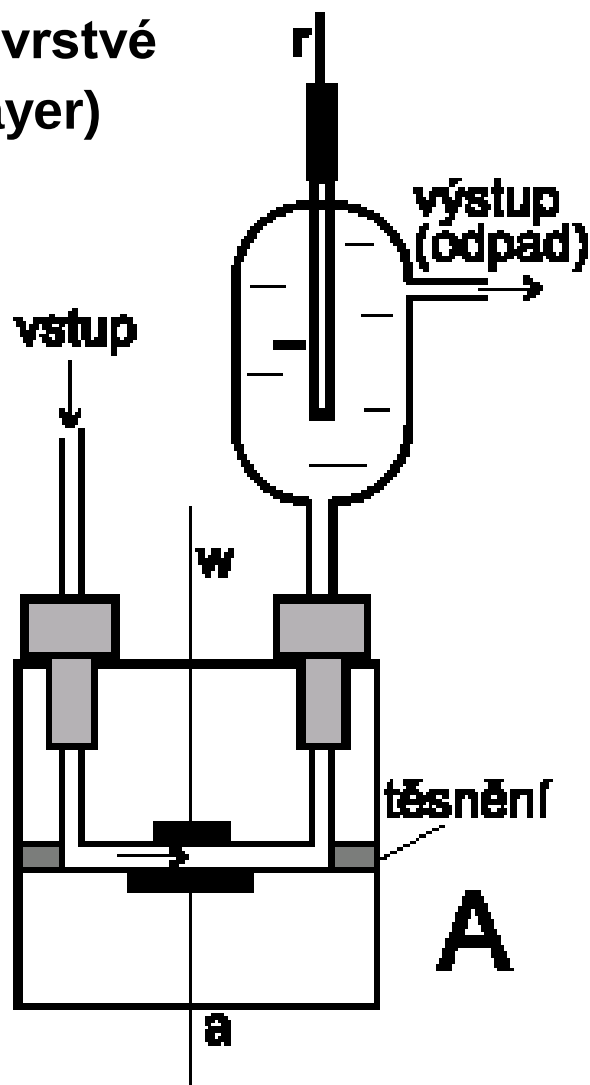
## ➤ Elektrodové materiály

- různé formy uhlíku (uhlíková pasta, skelný uhlík, bórem dopovaný diamant)
- vzácné kovy (Pt, Cu, Au)
- amalgámy

# Ampérometrie v průtokových metodách

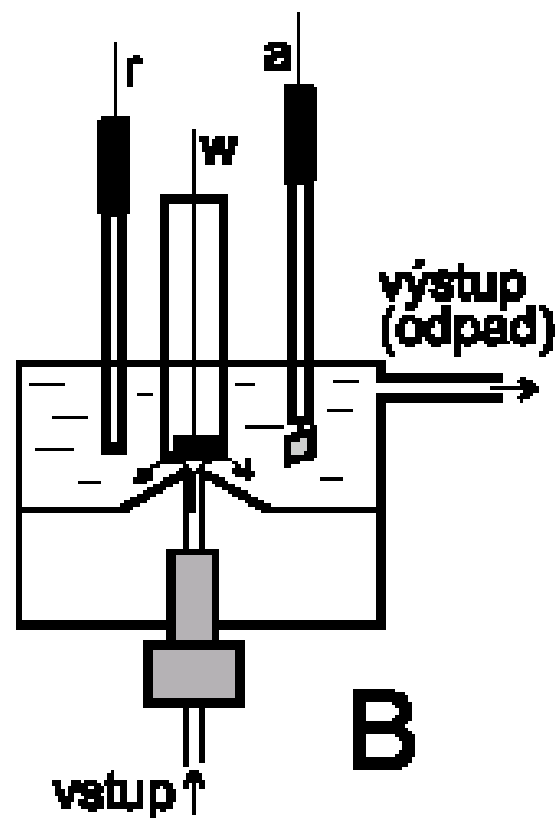
## ➤ Typy uspořádání

- tenkovrstvé  
(thin-layer)



WJ

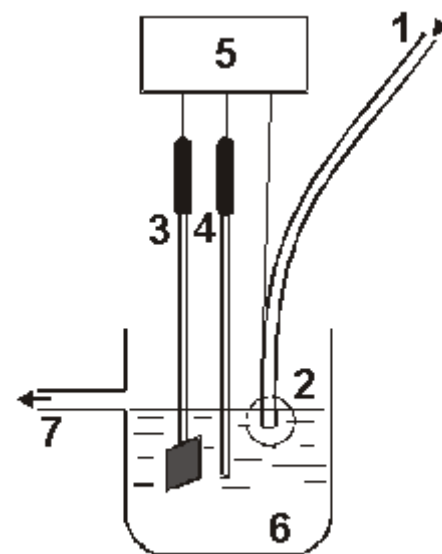
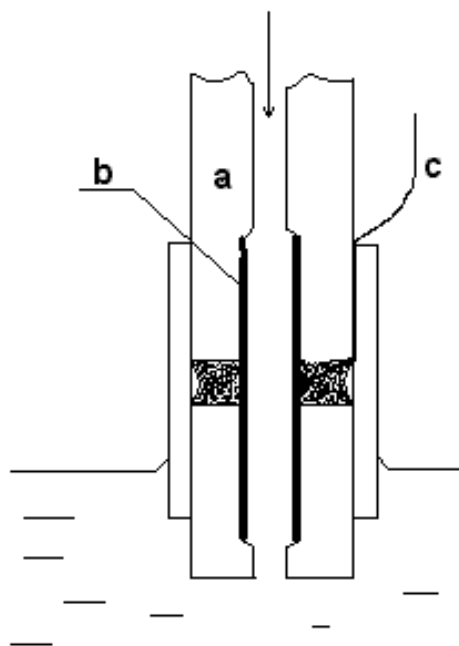
- wall-jet



# Ampérometrie v průtokových metodách

➤ Typy uspořádání

## Tubulární



# Typy analytů

➤ **Oxidovatelné**

➤ **Redukovatelné**

# Oxidovatelné analyty

➤  $\text{Ar-NH}_2$        $\text{Ar-OH}$        $\text{Ar-SH}$

- oxidovatelné na pevných elektrodách

- biologicky aktivní látky: neurotransmitery

hormony

aminokyseliny

léčiva

environmentální polutanty

pesticidy



# Oxidovateľné analyty

➤ Oxidovateľné na pevných a rtuťových elektrodách

- R-NH-NH-R      R-N=N-R      Ar-NO



# Redukovatelné analyty

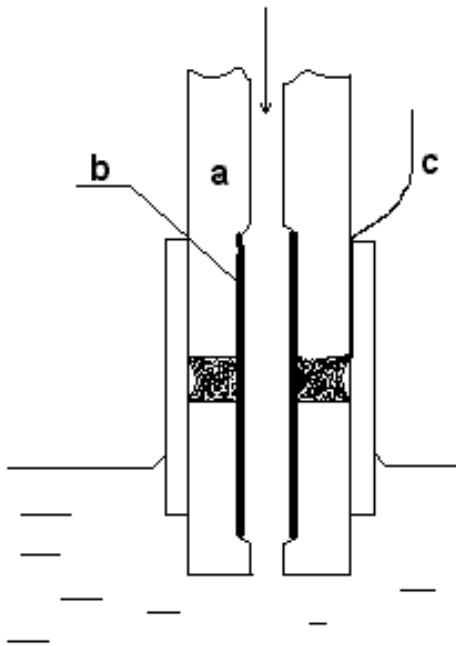
|                                                |         |                                                                                       |                                                                                         |
|------------------------------------------------|---------|---------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------|
| $\text{H}-\text{C}=\text{O}$                   | $m=2$   | <sup>KIN</sup><br>-1.6 (FA) -1.7 (AA) -1.8 (PA+HIGHER)<br>-2.3 (ACETONE)              | <sup>FRESH</sup><br>0.18 KOH<br>(LiOH)                                                  |
| $\text{C}_6\text{H}_5-\text{C}=\text{O}$       | $m=1$   | <sup>DIN</sup><br>-1.0 (pH <sub>2</sub> ) -1.5 (pH <sub>11</sub> )<br>$m=2$           | -CHOH-CHOH-<br>-CH <sub>2</sub> OH<br><sup>-n(φ)</sup><br>BR-PhOH(1:1)                  |
| $\text{C}_6\text{H}_5-\text{C}=\text{C}-$      | $m=2$   | -2.4 (STYRENE) -2.1 (STILBENE)                                                        | <sup>-n(φ)</sup><br>-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -<br>Bu <sub>4</sub> NI<br>75% DO |
| $\text{C}=\text{N}-$                           | $m=2$   | -0.5 -1.5 $E_{112} = f(\text{pH})$<br><sup>IMIDES<br/>OXIMES<br/>HYDRAZONES</sup>     | (CH-NH-<br><sup>NH<sub>3</sub></sup><br>NH <sub>2</sub> Cl                              |
| $\text{C}_6\text{H}_5-\text{C}\equiv\text{C}-$ | $m=4$   | <-2.5 (A) -2.4 (PA) -2.2 (DPA)                                                        | 75% DO                                                                                  |
| $-\text{C}\equiv\text{N}$                      | $m=4$   | <-2.5 (KCN) -1.9 (φ-CN) -n(φ)                                                         |                                                                                         |
| $-\text{C}=\text{C}-\text{C}=\text{C}-$        |         | -2.5 (BUTADIEN) -1.5 (C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> )<br><sup>KAROTEN</sup>           |                                                                                         |
| $-\text{N}=\text{N}-$                          | $m=2,4$ | +0.1 -1.5 $E_{112} = f(\text{pH}, R_1, R_2)$<br>$I_2 = f(\text{pH})$<br>1-BUTEN-3-ONE | -NH-NH-<br>-NH <sub>2</sub> +N <sub>2</sub> N-<br>BR-PhOH                               |
| $\text{C}=\text{C}-\text{C}=\text{O}$          |         | -0.9 -1.3                                                                             |                                                                                         |
| $-\text{O}-\text{O}-$                          | $m=2$   | -0.1 -1.0 $E_{112} = f(\text{pH}, R_1, R_2)$                                          |                                                                                         |
| $-\text{S}-\text{S}-$                          | $m=2$   | -0.1 -1.0                                                                             | -II-                                                                                    |
| $\text{O}=\text{C}-\text{C}=\text{O}$          | $m=4$   | -0.3 -0.6 2,3BUTANDIONE $E_{112} = f(\text{pH})$                                      |                                                                                         |

# Redukovatelné analyty

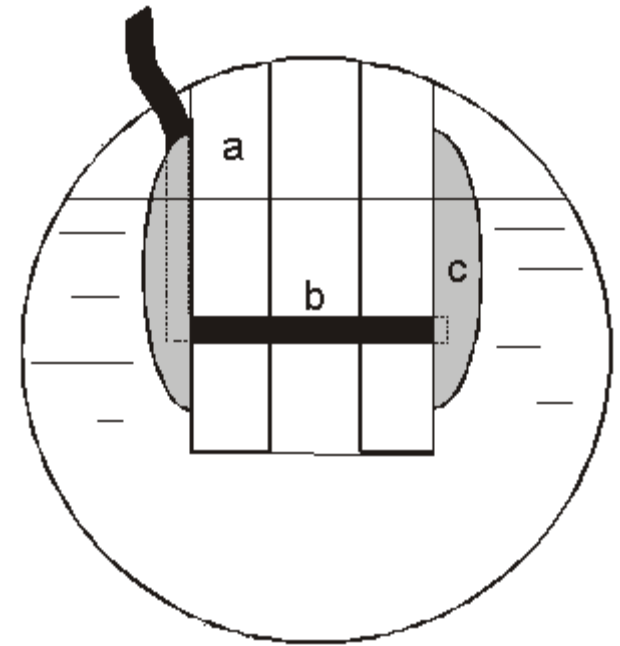
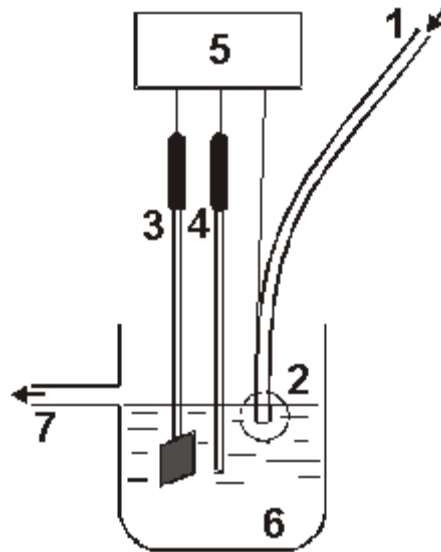
|                                                                   |             |                                              |                                         |
|-------------------------------------------------------------------|-------------|----------------------------------------------|-----------------------------------------|
| $-O-O-$                                                           | $n=2$       | $-0.1 - 1.0$                                 | $E_{1/2} = f(pH, K_1, K_2)$             |
| $-S-S-$                                                           | $n=2$       | $-0.4 - 1.0$                                 | $-11-$                                  |
| $O=C-C=O$                                                         | $n=4$       | $-0.3 - 0.6$                                 | $2,3\text{BUTANDIONE } E_{1/2} = f(pH)$ |
| $\begin{array}{c}   \\ -C-X \\   \end{array}$                     | $n=2$       | $-2.2 (CH_3Cl) - 1.6 (CH_3Br) - 1.6 (CH_3I)$ | $E_{1/2} \neq f(pH)$                    |
|                                                                   |             | $-0.7 (C_2H_5Cl) - 1.5 (CH_2Br_2)$           |                                         |
|                                                                   |             | $n=2 - 0.6 - 1.5 (CHBr_3)$                   | $n=4$                                   |
| $\text{Benzene ring}-X$                                           |             | $-2.5 (Cl) - 2.4 (Br) - 1.6 (I)$             |                                         |
| $\text{Benzene ring}-\begin{array}{c}   \\ -C-X \\   \end{array}$ | $n=2$       | $-1.9 (Cl) - \pi(\phi)$                      |                                         |
| $O=C-\begin{array}{c}   \\ -C-X \\   \end{array}$                 | $n=4$       |                                              |                                         |
| $-NO_2$                                                           | $n=2, 7, 6$ | $0 - 1$                                      | $NO_2 \xrightarrow{2e^-} NO$            |
| $-NO$                                                             | $n=2, 4$    | $0 - 0.8$                                    | $NO \xrightarrow{2e^-} R$               |
| $-NHOH$                                                           | $n=2$       |                                              | $NHOH \xrightarrow{2e^-} NH_2$          |
|                                                                   |             |                                              | $E_p = f(pH, R)$                        |

# Tubulární a mikrocyklindrický detektor

## Tubulární



## Mikrocyklindrický

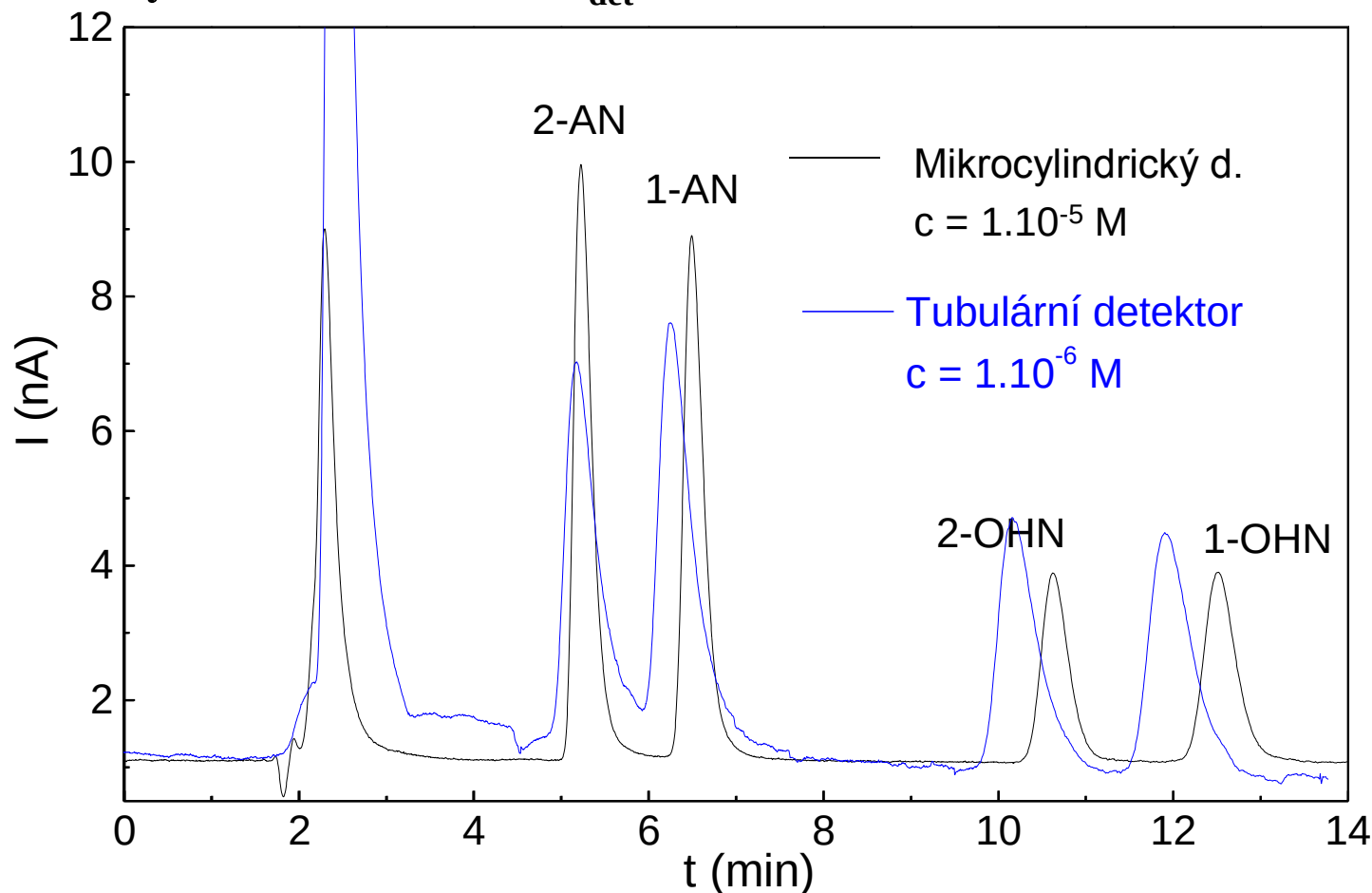


# Tubulární a mikrocyklindrický detektor

## Detekce směsi amino a hydroxy derivátů naftalenu

Mikrocyklindrický detektor

$E_{\text{det}} = +1,2 \text{ V}$

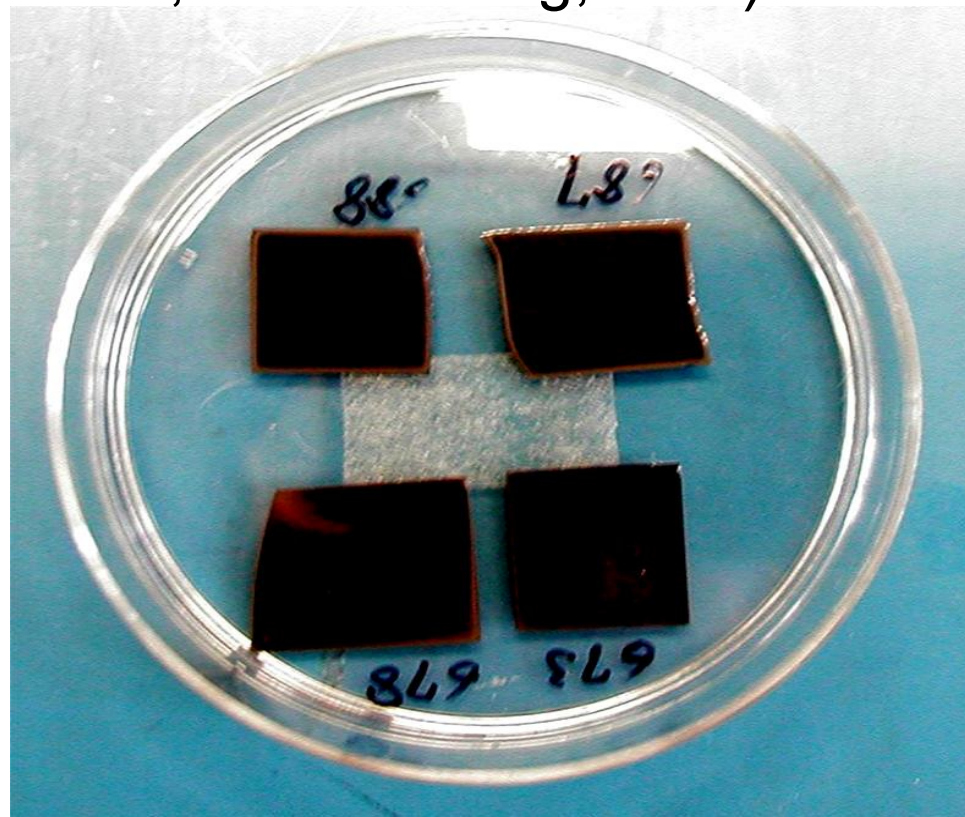




# Využití BDD elektrody ke stanovení aminobifenylů

**Mikrokrystalický Si/BDD:** Připraven v komerčně  
dodávaném reaktoru (1,5 kW, ASTeX Inc., Lowell, MA)  
na Michiganské státní univerzitě, East Lansing, USA)

- tloušťka filmu 5  $\mu\text{m}$
- velikost krystalků 1 – 3  $\mu\text{m}$
- hydrogenovaný povrch
- aktivace v 0,1 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,  
60 min,  $E = +2,4 \text{ V}$



- Ampérometrický detektor s bórem dopovanou diamantovou filmovou elektrodou v uspořádání

tenkovrstvé



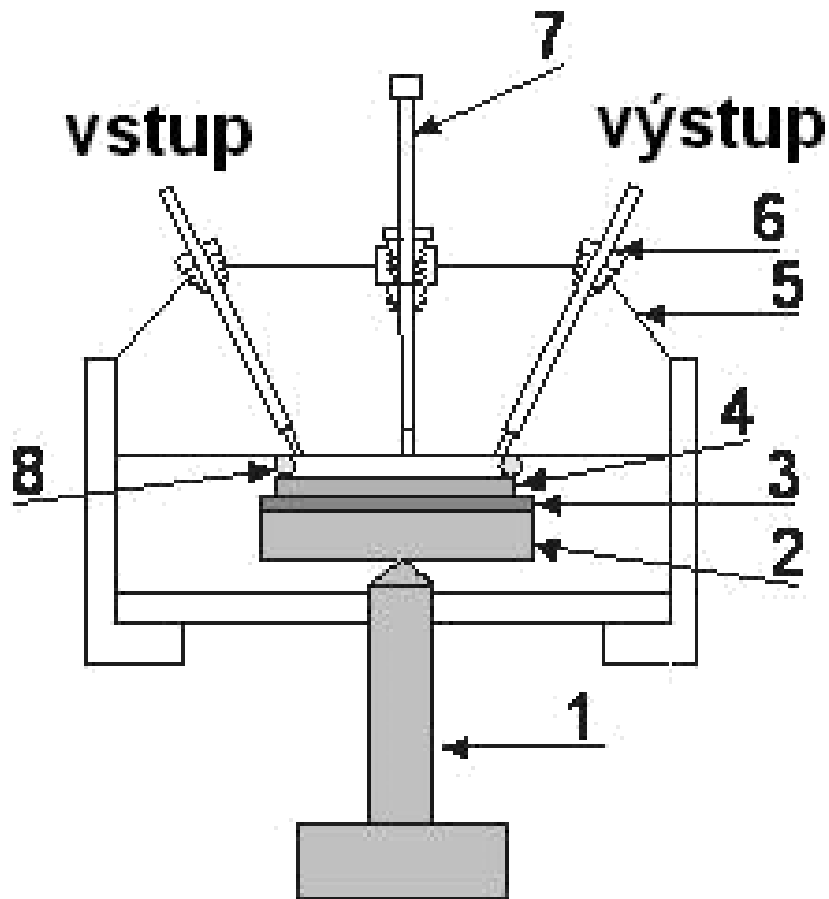
Ag/AgCl/3 M KCl,  $E = +0,242$  V

wall-jet



SCE,  $E = +0,204$  V vs. SHE

# Tenkovrstvé uspořádání



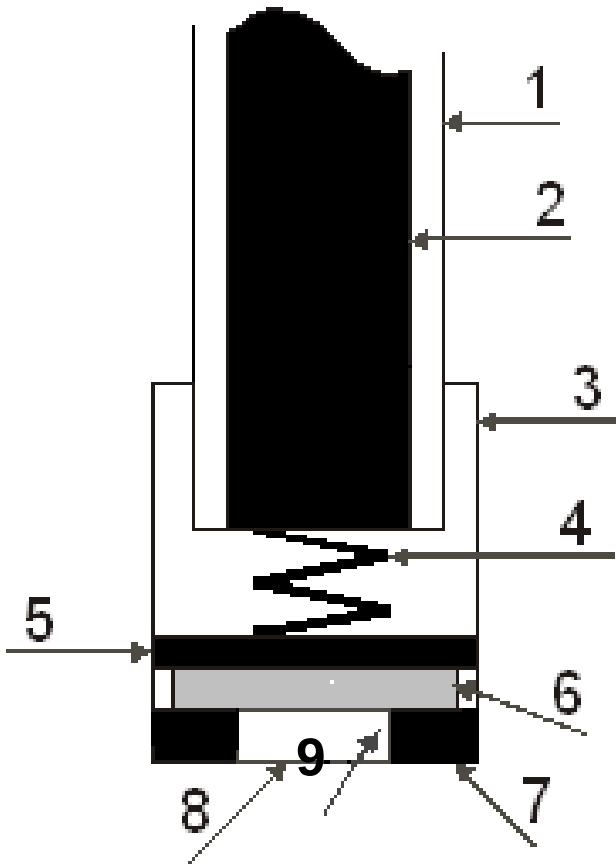
➤  $V = 10 \mu\text{l}$

1. utahovací šroub
2. spodní část těla cely
3. mosazná lamela
4. Si/BDD elektroda  
 $S = 4 \text{ mm}^2$
5. horní část těla cely
6. pomocná elektroda
7. referentní elektroda  
 $\text{Ag/AgCl/3 M KCl}$
8. těsnění z vitonu



# Uspořádání wall-jet

## BDD elektroda – disková varianta



1. teflonové tělo
2. elektrický kontakt
3. šroubovací nástavec
4. kovová pružina
5. mosazná lamela
6. BDDFE na křemíkové podložce  
 $S = 12,6 \text{ mm}^2$
7. těsnění z vitonu
8. ústí elektrody – kontakt s roztokem
9. dutina o výšce  $l_k = 1,5 \text{ mm}$

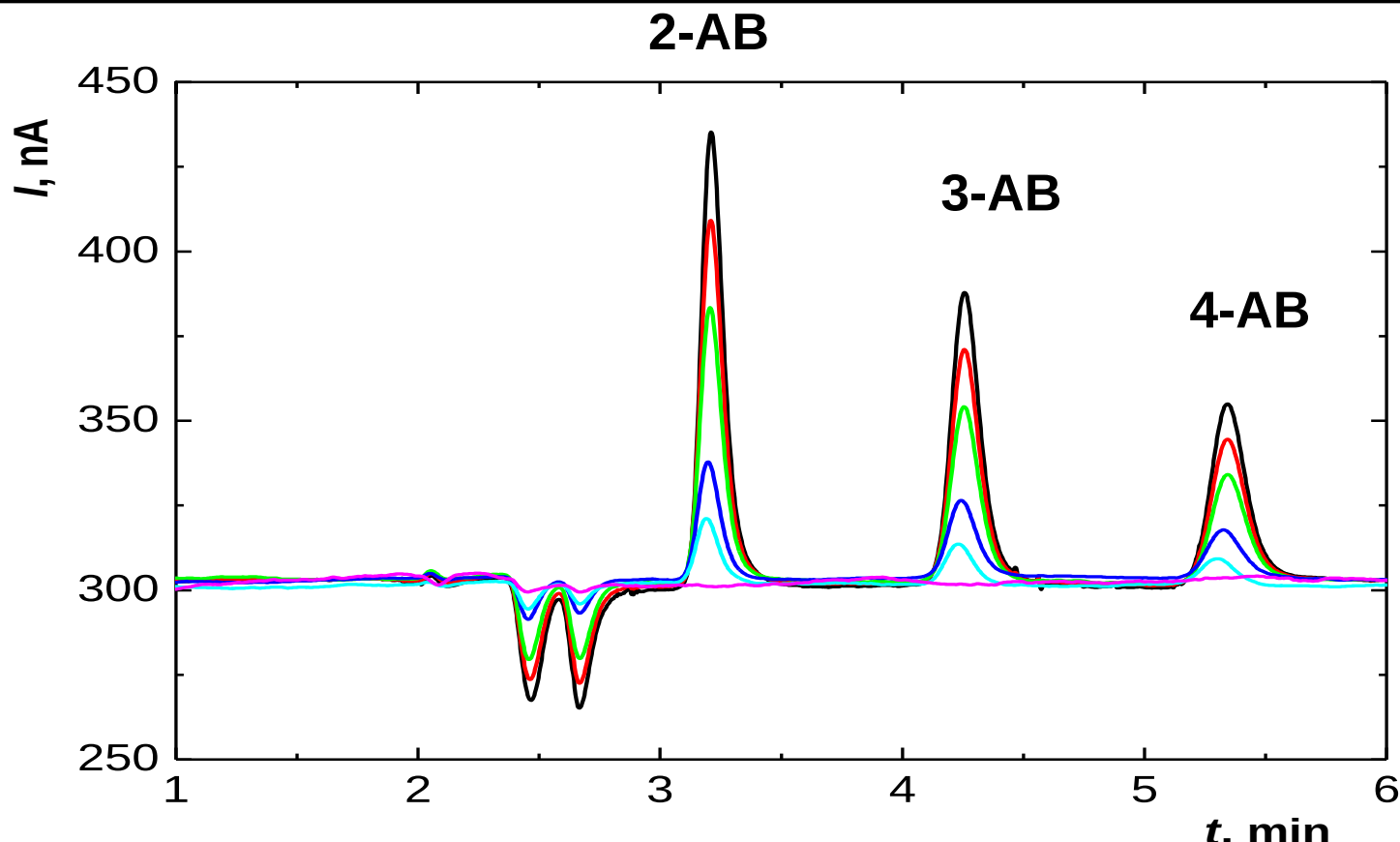
➤ Referentní nasycená kalomelová elektroda

# HPLC separace aminobifenylů

Chromatogramy směsi **2-AB, 3-AB a 4-AB** v koncentračním rozmezí  $(2-10) \cdot 10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$  na koloně ChiraDex

**MF: acetátový pufr o pH 5,0/acetonitril/methanol (40/30/30)**

$F_M = 1 \text{ ml.min}^{-1}$ ;  $E_{det} = +1,2 \text{ V}$ , **tenkovrstvé uspořádání**



# Využití elektrod na bázi BDD

**nízké hodnoty šumu a zbytkového elektrického proudu**

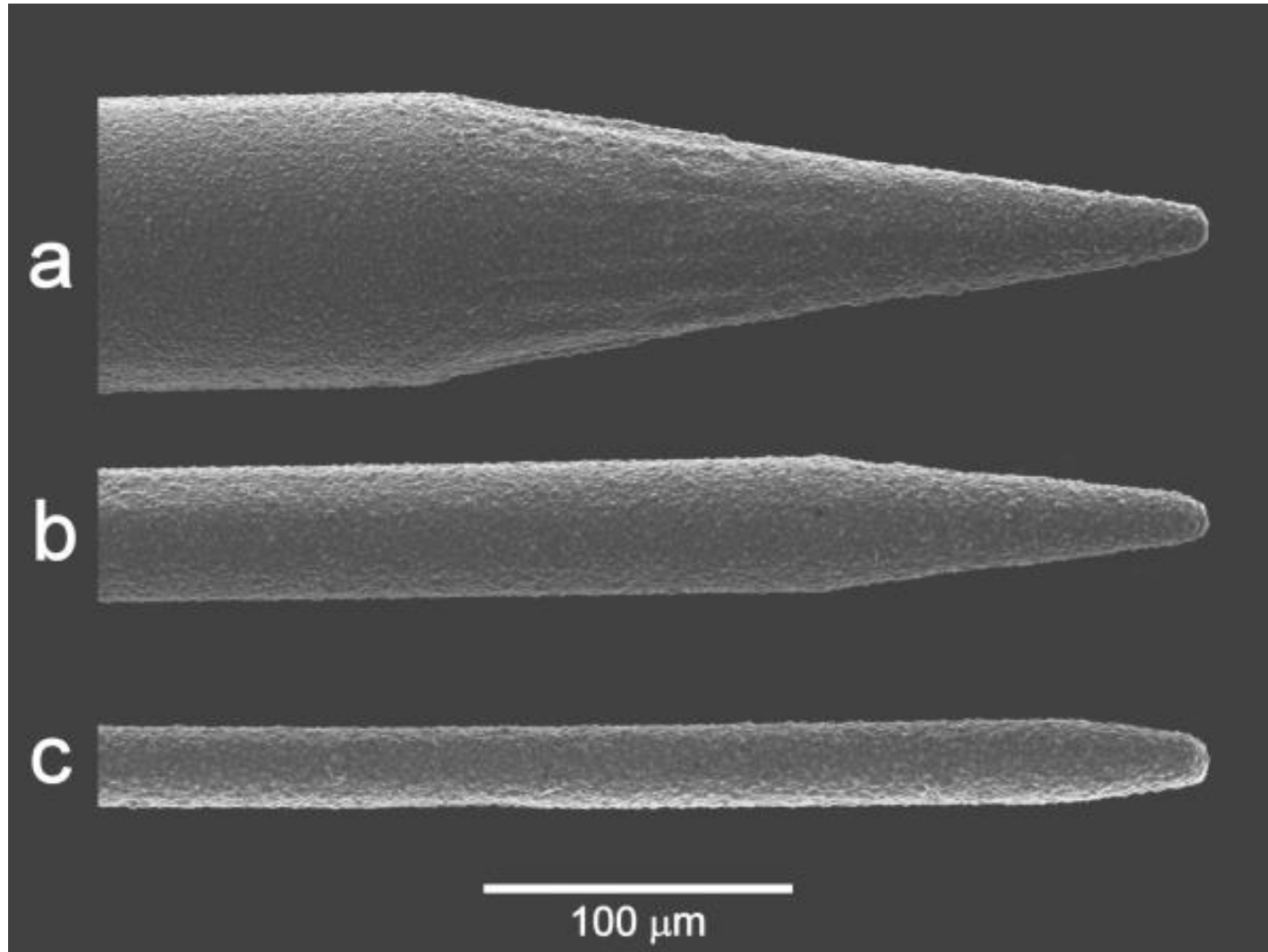


## **Analytické aplikace**

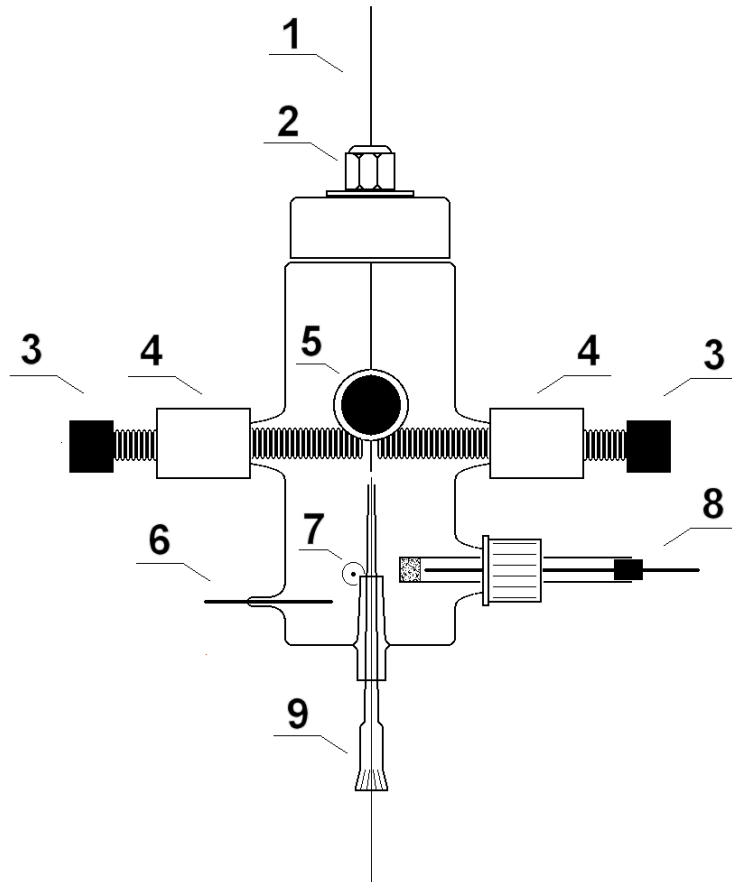
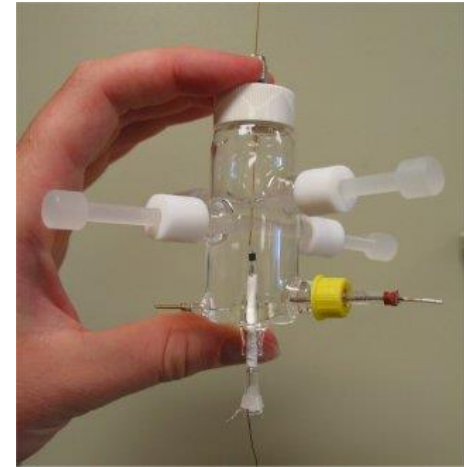
- Aminy: **Alifatické aminy a polyaminy**  
Aromatické aminy  
**Aminothioly**  
Katecholaminy
- Pesticidy (N-methylkarbamáty)
- Xanthin a jeho N-methyl deriváty (kofein, theofylin)
- Farmaceutika
- Thioly; **disulfidy**: homocystein, glutathion
- Chlorofenoly
- **Polycyklické aromatické uhlovodíky**
- Biomolekuly (NADH, DNA)

# MIKROELEKTRODY

Platinové, uhlíkové či diamantové

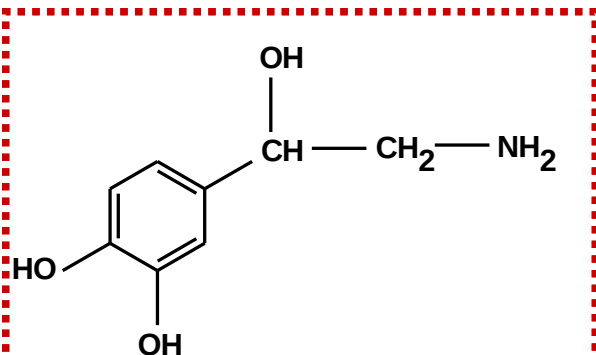


# Detekční cela pro mikroelektrody

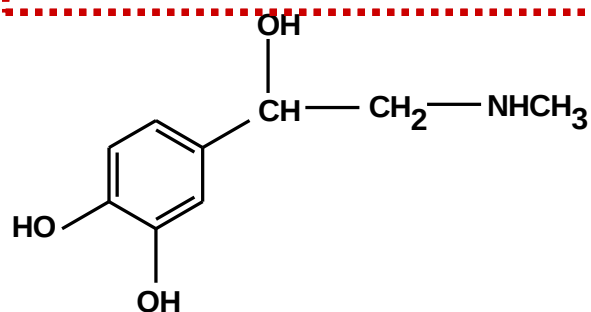


- 1) End of separation capillary
- 2) chromatographic screwed joint
- 3) Kel-F screws for exact positioning of capillary in x axis
- 4) Teflon nut
- 5) Kel-F screws for exact positioning of capillary in y axis
- 6) Platinum wire for connecting high voltage
- 7) Platinum wire as a counter electrode
- 8) Ag/AgCl referent electrode
- 9) Working diamond microelectrode

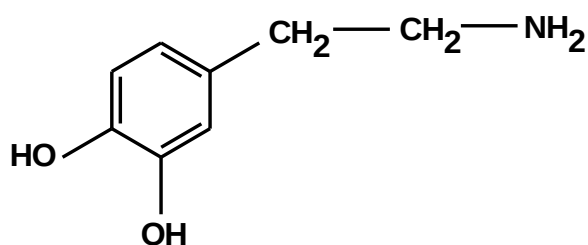
## Neurotransmitters



**Norepinephrine (Noradrenaline, NE)**

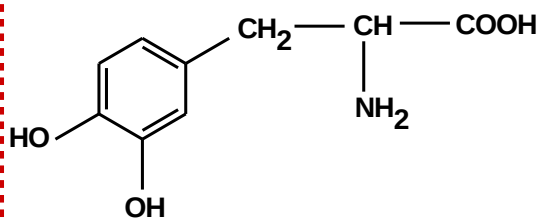


**Epinephrine (Adrenaline, E)**



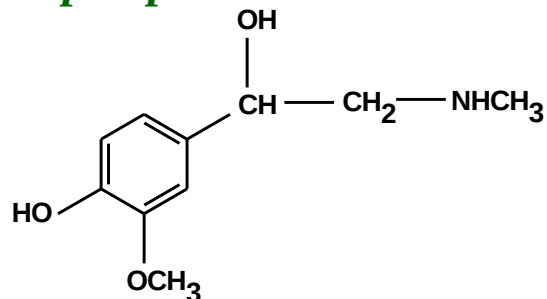
**Dopamine (D)**

## Neurotransmitter precursor



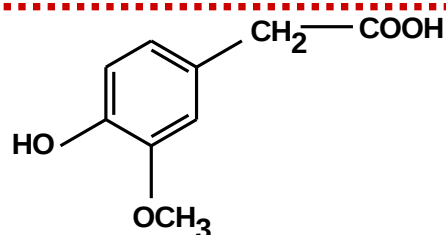
**3,4-dihydroxyphenylalanine (DOPA)**

## Epinephrine metabolite



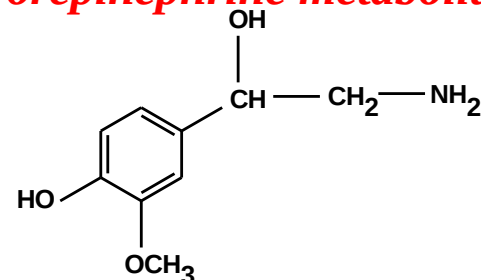
**Metanephrine (MN)**

## Dopamine metabolites

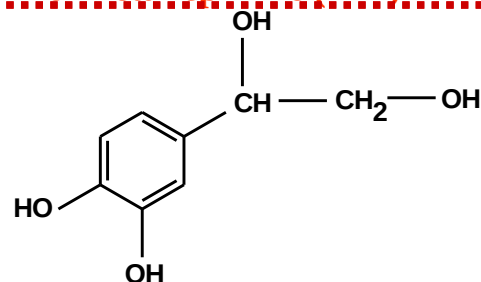


**4-Methoxy-3-hydroxyphenylacetic acid (homovanillic acid, HVA)**

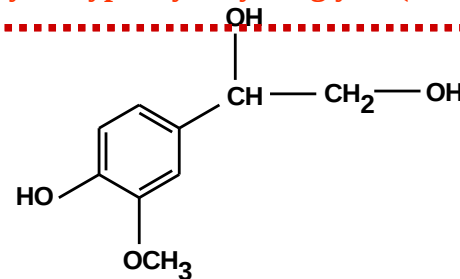
## Norepinephrine metabolites



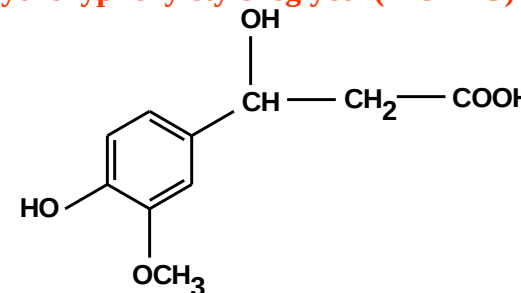
**Normetanephrine (NM)**



**3,4-dihydroxyphenylethyleneglycol (DOPEG)**



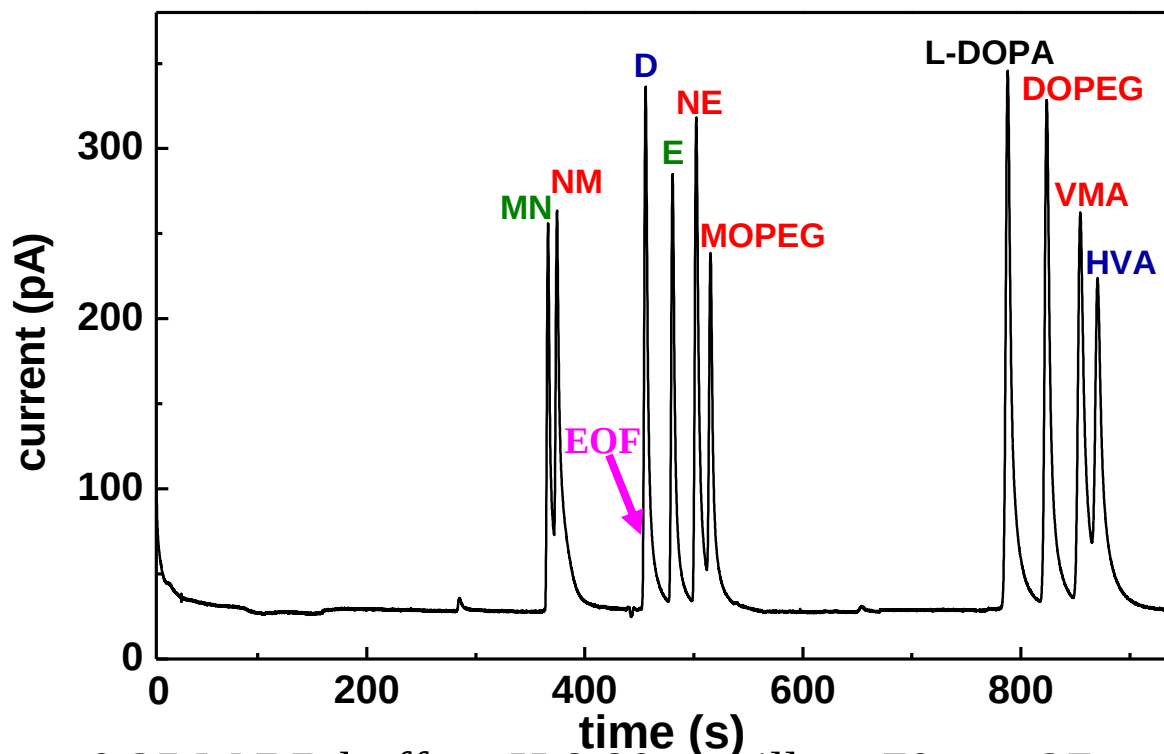
**3-Methoxy-4-hydroxyphenylethyleneglycol (MOPEG)**



**Vanillylmandelic acid (VMA)**

# CE-EC Separation of Neurotransmitters and Metabolites

- ✓ Borate complexation with *cis*-diol group of catecholamines

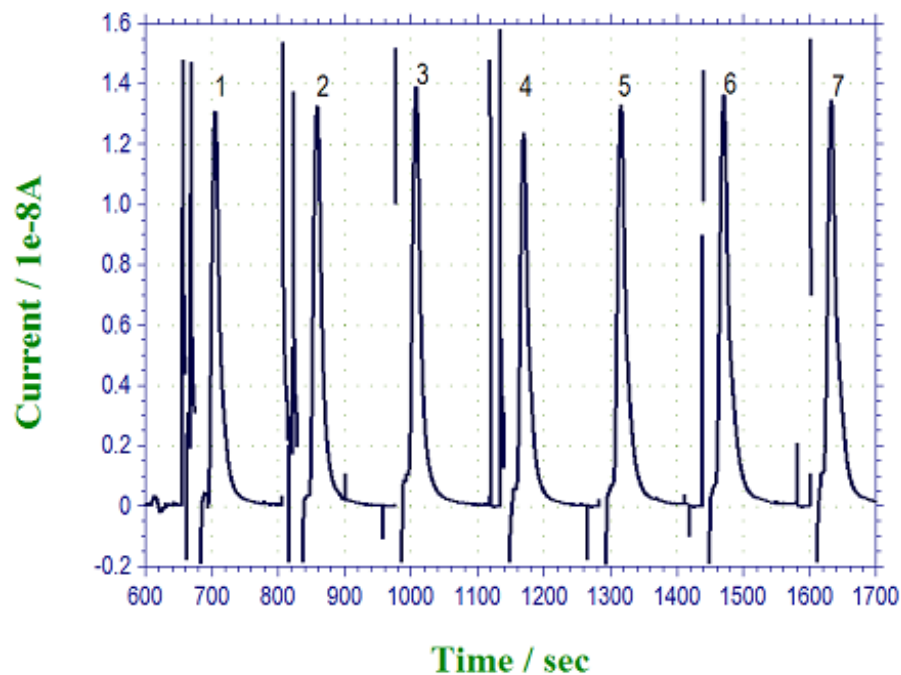
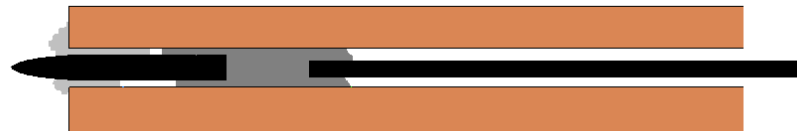
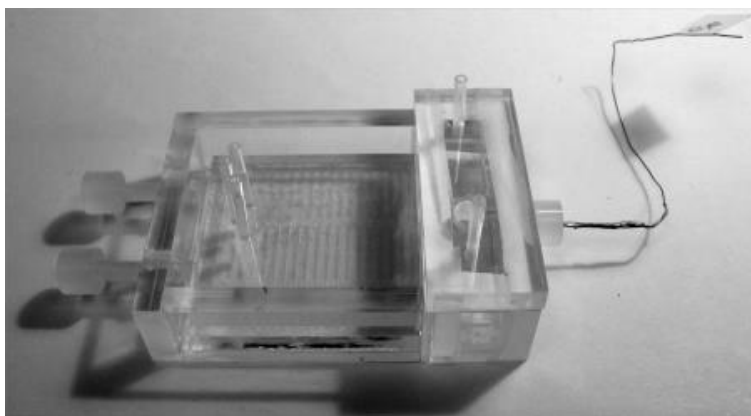
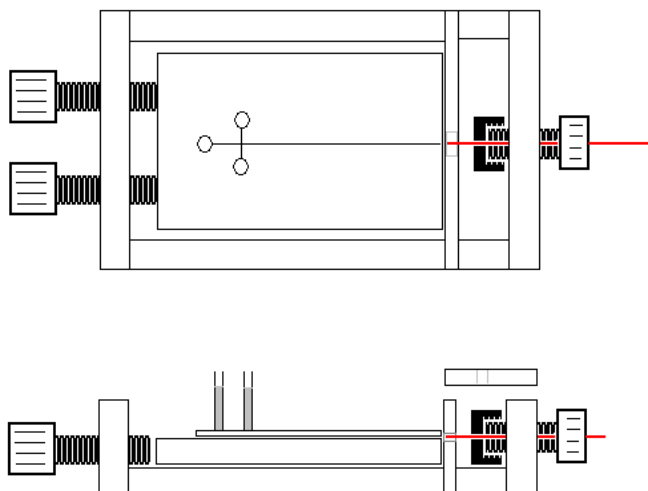


**Conditions:** 0.25 M BB buffer pH 8.80, capillary 70 cm, 27  $\mu$ m I.D., separation voltage 24 kV, electrokinetic injection 15 kV/4s., **BDD: detection potential +0.95 V** vs. Ag/AgCl,  $t_{\text{EOF}} = 443$  s (methanol)

**Concentrations:** 5  $\mu$ M MN, NM; 10  $\mu$ M D, E, NE, MOPEG; 30  $\mu$ M L-DOPA; 50  $\mu$ M DOPEG, VMA, HVA

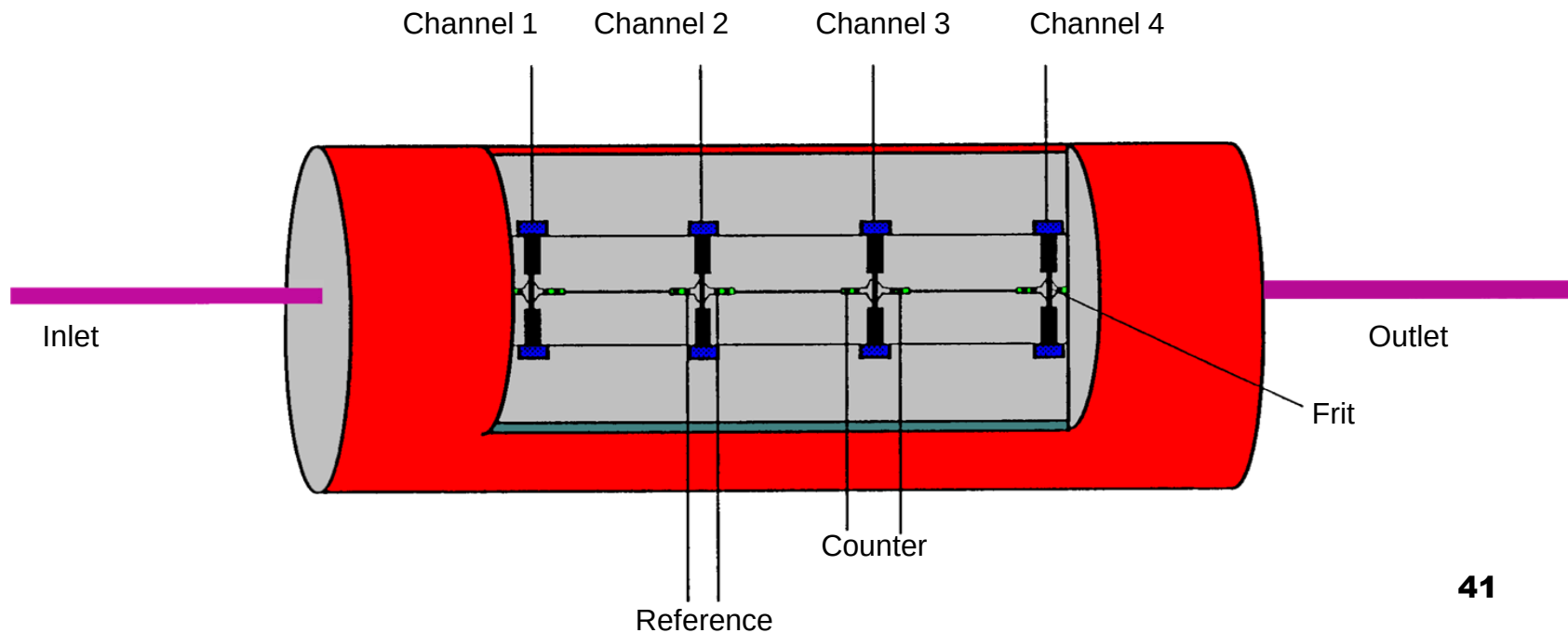
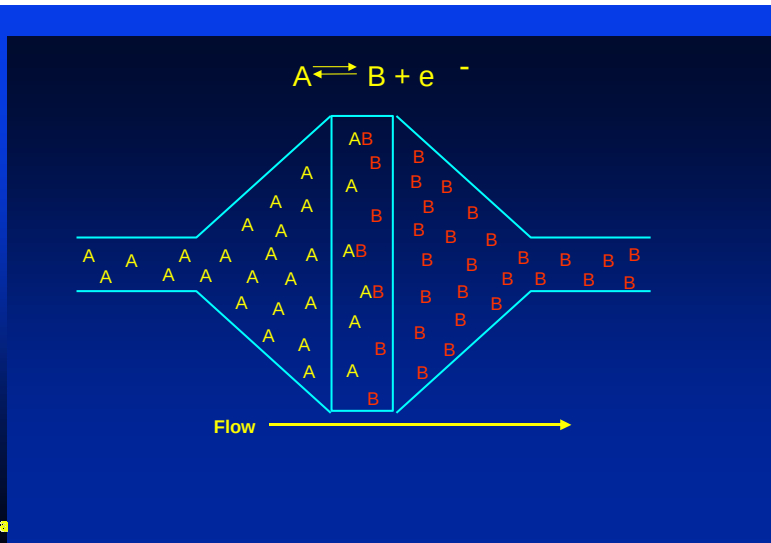
# ČIPOVÁ ELEKTROFORÉZA

## 1- a 2-Naftylamin

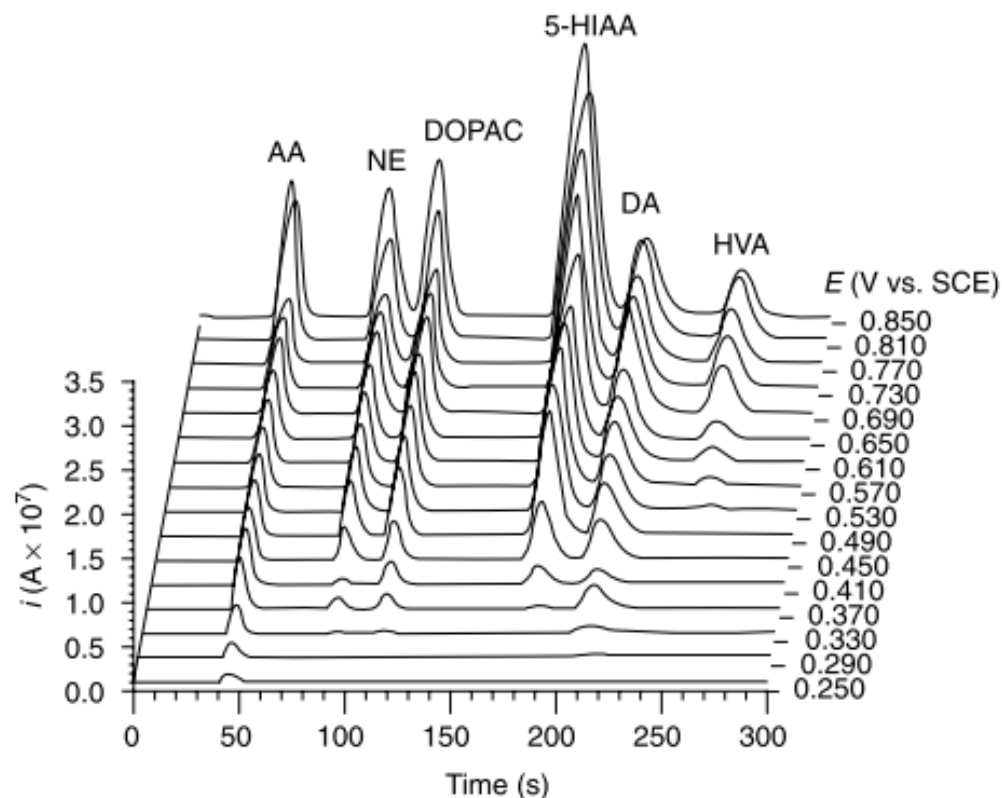




# Porézní coulometrický detektor

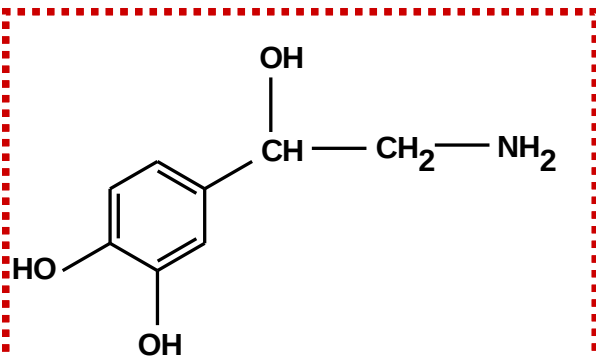


# Detekce na souborech elektrod (array)

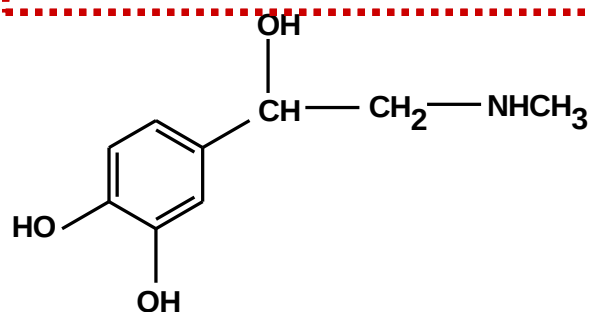


**Figure 3.31** Three-dimensional chromatogram for oxidizable biological compounds at a multichannel amperometric detection system, consisting of an array of 16 carbon paste electrodes poised at different potentials. (Reproduced with permission from Ref. 90.)

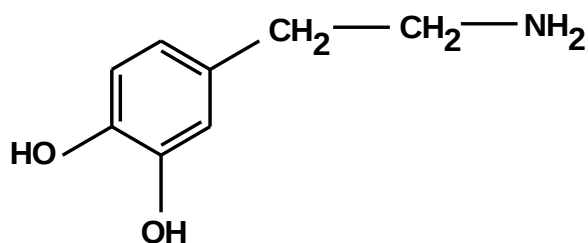
## Neurotransmitters



**Norepinephrine (Noradrenaline, NE)**

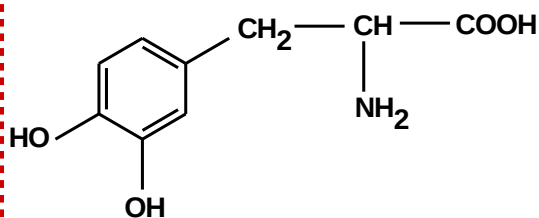


**Epinephrine (Adrenaline, E)**



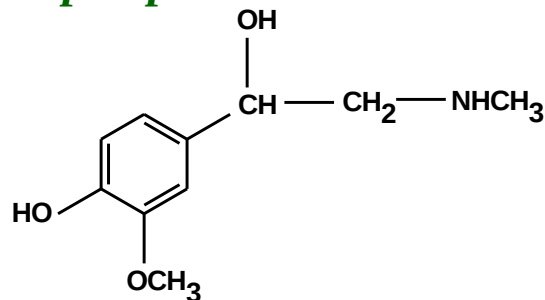
**Dopamine (D)**

## Neurotransmitter precursor



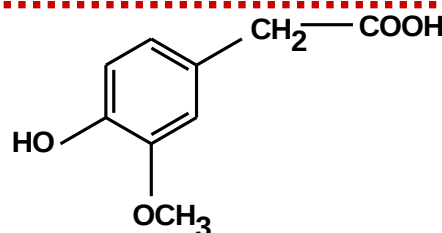
**3,4-dihydroxyphenylalanine (DOPA)**

## Epinephrine metabolite



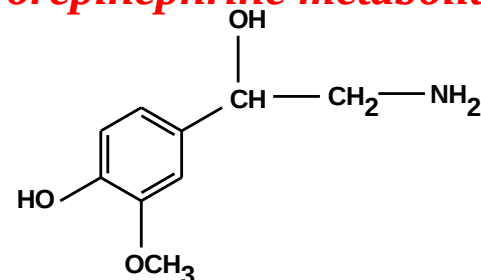
**Metanephrine (MN)**

## Dopamine metabolites

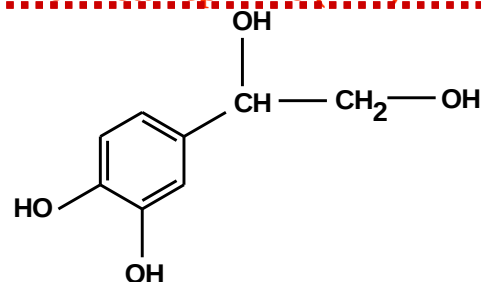


**4-Methoxy-3-hydroxyphenylacetic acid (homovanillic acid, HVA)**

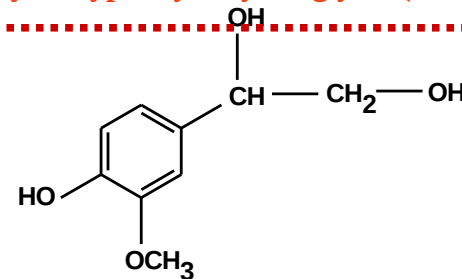
## Norepinephrine metabolites



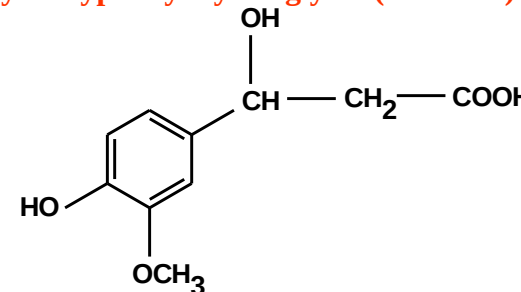
**Normetanephrine (NM)**



**3,4-dihydroxyphenylethyleneglycol (DOPEG)**



**3-Methoxy-4-hydroxyphenylethyleneglycol (MOPEG)**



**Vanillylmandelic acid (VMA)**

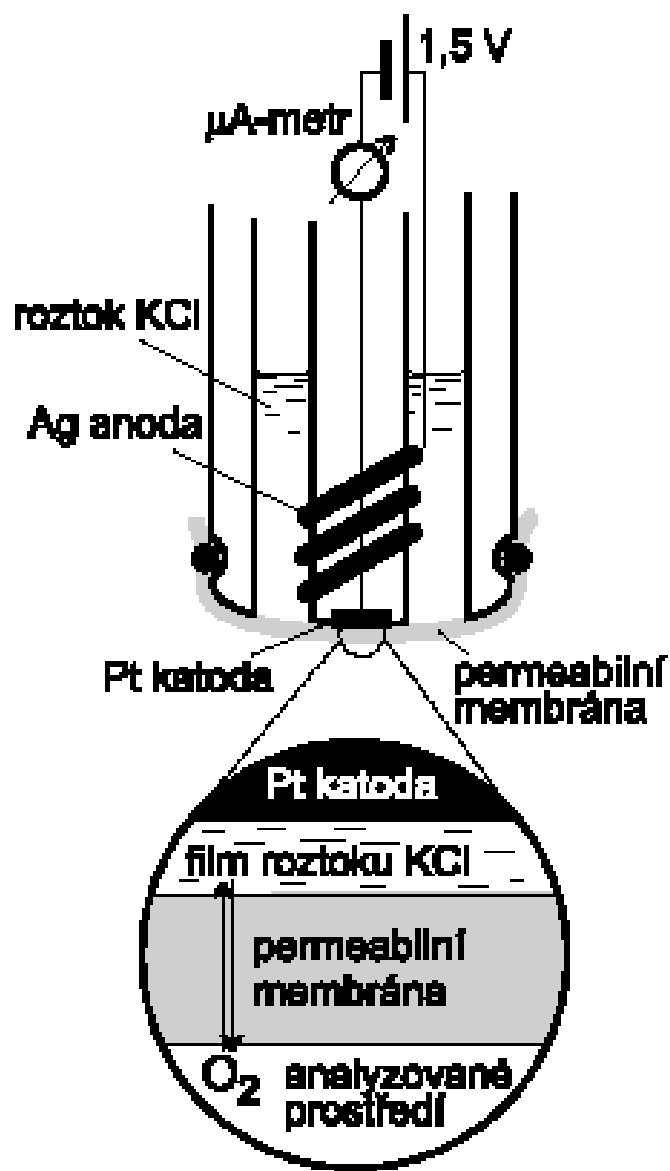
# Ampérometrické senzory

## Clarkovo čidlo

- Named after its generally recognized inventor (Leyland Clark, 1956), originally known as the "Oxygen Membrane Polarographic Detector"
- It remains one of the most commonly used devices for measuring oxygen in the gas phase or, more commonly, dissolved in solution
- The Clark oxygen sensor finds applications in wide areas:
  - Environmental Studies
  - Sewage Treatment
  - Fermentation Process
  - Medicine

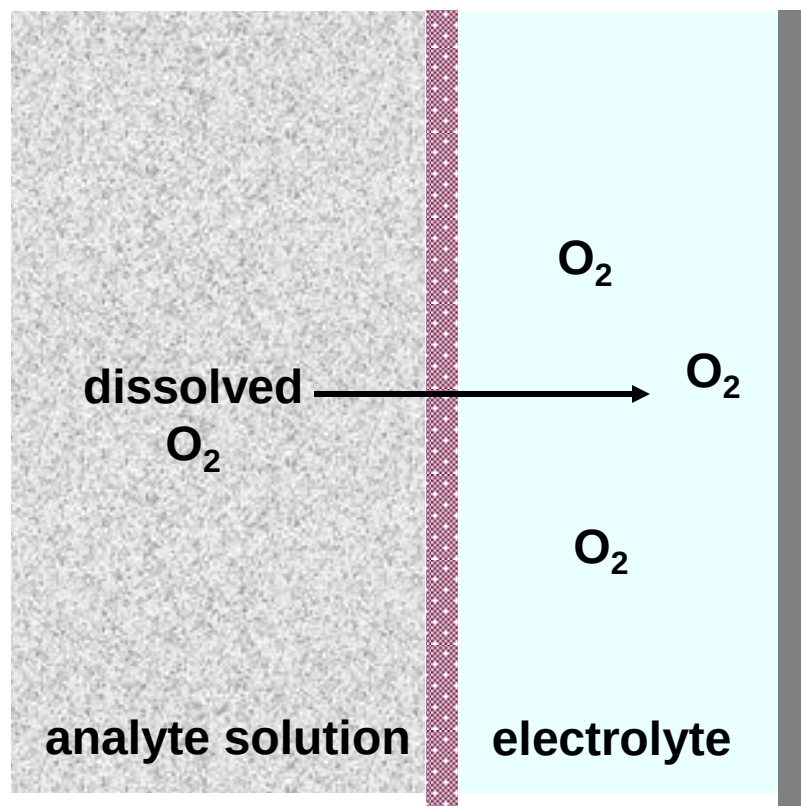
# Ampérometrické senzory

## Clarkovo čidlo



**Obr. 13.18.** Schema Clarkova detektoru kyslíku. Detailní struktura detektoru v místě, kde dochází k detekci, je znázorněna ve zvětšení. Tloušťka filmu elektrolytu bývá řádově 10  $\mu\text{m}$ , tloušťka permeabilní membrány (např. z poly-tetrafluoroethylénu) bývá asi 20  $\mu\text{m}$ .

# The Clark Voltammetric Oxygen Sensor



At the platinum cathode:



At the Ag/AgCl anode:



$$i_d = 4 F P_m A P(\text{O}_2)/b$$

$i_d$  - measured current

$F$  - Faraday's constant

$P_m$  - permeability of O<sub>2</sub>

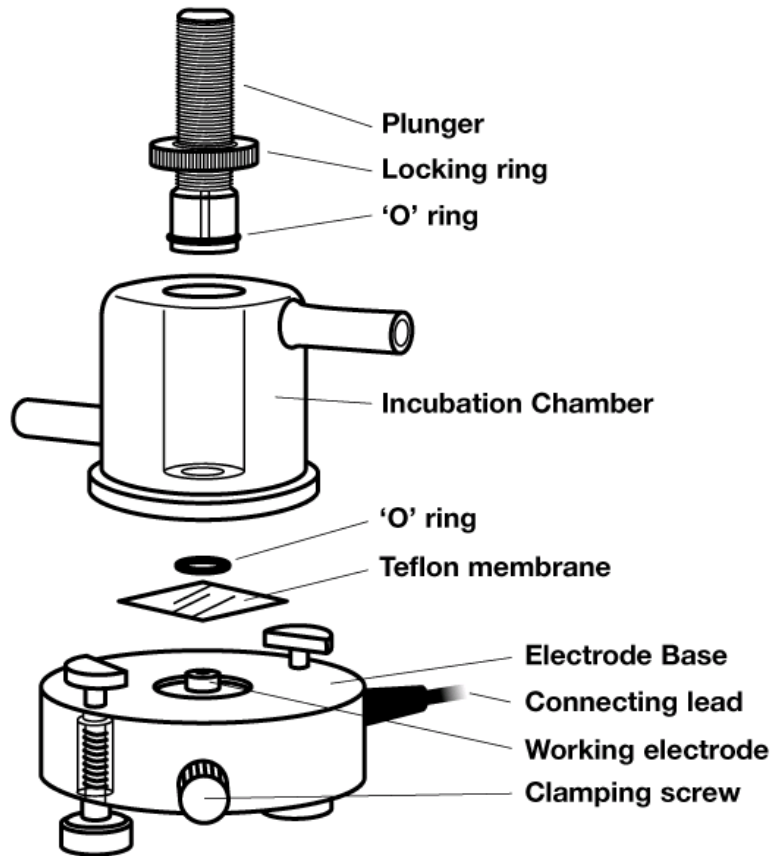
$A$  - electrode area

$P(\text{O}_2)$  - oxygen concentration

$b$  - thickness of the membrane

# The Clark Voltammetric Oxygen Sensor

## ■ General design and modern miniaturized versions:



**Clarkův detektor** je typickým příkladem ampérometrického detektoru pro stanovení plyných látek v plynné i kapalně fázi. V tomto detektoru jsou elektrody od analyzovaného prostředí odděleny permeabilní polymerní membránou, která dovoluje pouze plyným molekulám projít z analyzovaného prostředí k pracovní elektrodě. Plyny tak lze stanovit i v komplikovaných vzorcích, např. v biologických tekutinách (krev); a právě pro stanovení kyslíku v krvi byl tento detektor původně navržen.

Schema Clarkova detektoru pro stanovení kyslíku je na obr. 13.18. Kyslík permeuje membránou z analyzovaného prostředí do filmu elektrolytu a jím k platinové katodě, na níž je redukován,



redukční proud je mírou koncentrace kyslíku. Stříbrná anoda v prostředí KCl slouží jako referentní Ag/AgCl elektroda. Detektor pracuje jako elektrolyzátor, potřebné elektrony jsou dodávány z externího zdroje.

Vhodnou volbou materiálu anody lze sestavit detektor kyslíku pracující jako galvanický článek, tj. bez vnějšího vloženého napětí. Takovým materiálem je např. kadmium. Kyslík se redukuje na katodě dle rov. 13-16, potřebné elektrony jsou produkovány při oxidaci anody:



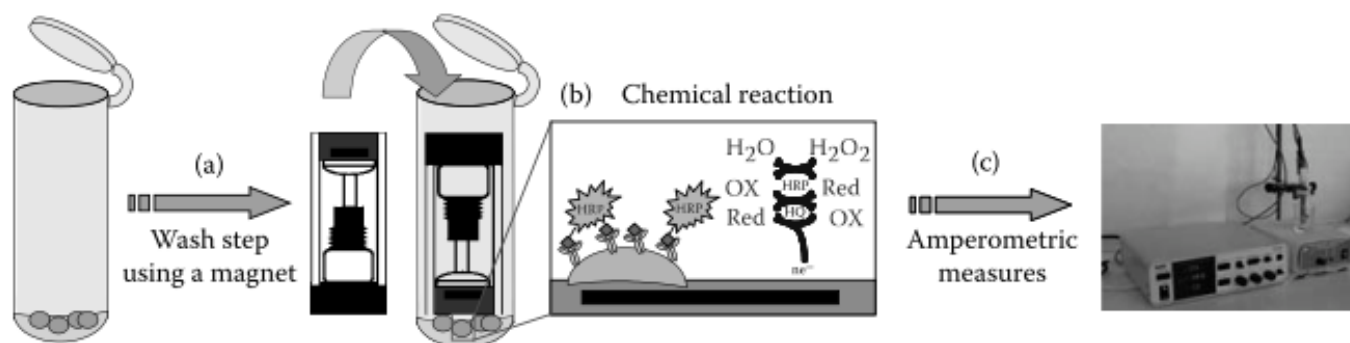
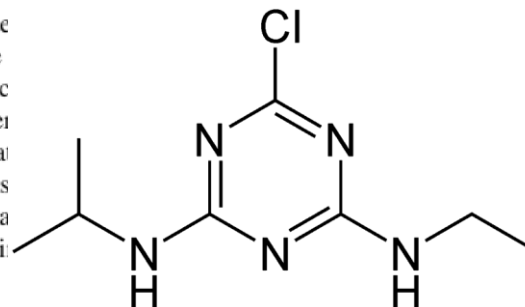


Typickou aplikací detektorů Clarkova typu je např. stanovení biologické spotřeby kyslíku ve vodách. Jsou však používány i k detekci mnoha jiných elektrochemicky aktivních plynů. Pro každý plyn je třeba zvolit vhodné složení elektrolytu, materiál elektrod a membrány a velikost vloženého napětí.

Detektory Clarkova typu jsou i důležitým prvkem biosensorů (kap. 1.3.2). Velký praktický význam mají biosensory pro stanovení glukózy v krvi. Toto stanovení je důležité především pro diabetiky, kteří si podle výsledků analýzy aplikují hormon inzulín. V biosensorech glukózy je na permeabilní membráně kyslíkového detektoru imobilizována vrstvička enzymu glukózoxidázy. Je-li tento biosensor exponován prostředí obsahující glukózu, dochází k její oxidaci, při níž se spotřebovává kyslík. Na úbytek kyslíku reaguje kyslíkový detektor poklesem proudu; pokles proudu je mírou koncentrace glukózy.

# Ampérometrické senzory

Wittmann and Hock<sup>238</sup> measured atrazine in drinking and groundwater samples, reaching detection limits close to  $1 \text{ ng L}^{-1}$  without using any preconcentration or cleanup step. The presence of atrazine has also been analyzed in estuarine and seawater samples using other immunological techniques like magneto ELISA and FIHA with very low detection limits—close to  $50 \text{ ng L}^{-1}$ .<sup>239</sup> Several electrochemical immunosensors have been described for atrazine detection in food and aquatic matrices, like the one presented by Zacco et al.,<sup>240</sup> who developed an amperometric immunosensor based on modified magnetic particles with antibodies that are captured by a graphite-epoxy matrix composite, also used as the transducer for the electrical immunosensing; the LOD for drinking water samples was  $6 \text{ ng L}^{-1}$ . Figure 8.5 shows a schematic representation of the biosensor.



**FIGURE 8.5** Schematic representation of an electrochemical magneto immunosensing strategy for the detection of low-molecular-weight compounds. After the immunoreaction, the antibody-modified magnetic beads are captured by the m-GEC electrode. Chemical reactions occurring at the m-GEC surface polarized at  $-0.150 \text{ V}$  (versus  $\text{Ag/AgCl}$ ) upon the addition of  $\text{H}_2\text{O}_2$  in the presence of mediator (hydroquinone) are recorded. (From Zacco, E. et al. 2006. *Anal. Chem.* 78: 1780–1788. With permission.)