

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ «НОВОСИБИРСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ».

Физический факультет

Кафедра общей физики

Ульянова Мария Михайловна

КУРСОВАЯ РАБОТА

**Определение концентрации оксида азота с помощью электрода типа
Кларка**

Электромагнитный практикум, 2 курс, группа №18308

Научный руководитель:

к. х. н. Дранова Т. Ю.

Оценка научного руководителя

«_____» _____ 20__ г.

Преподаватель практикума

Оценка преподавателя практикума

к. ф.-м. н. Харламов А.Г.

«_____» _____ 20__ г.

Куратор практикума:

к. т. н. Астрелин В.Т.

Итоговая оценка

«_____» _____ 20__ г.

Новосибирск, 2019 г.

Аннотация

В данной работе приводятся определения понятий электрохимии и электрохимических методов исследования, описание ионоселективных электродов и принципа их работы, их разновидности. Описание электрода типа Кларка принцип его работы (на примере микроэлектрода ISO-NOP) чувствительного к оксиду азота, использованного в данной работе, исследована его чувствительность к другим соединениям, например таким как соль натрия $NaNO_2$, перекись водорода H_2O_2 .

Приведен анализ статистических и систематических ошибок.

Оглавление

АННОТАЦИЯ	2
ЦЕЛЬ РАБОТЫ:	4
ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР	4
УСТРОЙСТВО ДАТЧИКА ISO-NOR	5
ПРИНЦИП РАБОТЫ ЭЛЕКТРОДА КЛАРКА	6
ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ	9
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	11
ВРЕМЕННАЯ ЗАВИСИМОСТЬ ОБРАЗОВАНИЯ NO В ПРОЦЕССЕ РАСПАДА ДОНОРА В ВОДНОМ РАСТВОРЕ	14
АНАЛИЗ ПОГРЕШНОСТЕЙ	17
ВЫВОД	19
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	21

Цель работы:

Научиться определять концентрацию оксида азота в водных растворах с помощью электрода типа Кларка - микроэлектрода ISO – NOP.

Литературный обзор

Электрохимия – раздел химии, в котором рассматриваются системы и межфазные границы при протекании через них электрического тока, исследуются процессы в проводниках, на электродах и в ионных проводниках - электролитах.

Электрохимические методы анализа – это совокупность методов анализа, основанных на электрохимических явлениях, происходящих в исследуемой среде и связанных с изменением структуры, химического состава или концентрации анализируемого вещества. Одним из электрохимических методов анализа является амперометрия. Он основан на измерении тока, проходящего между двумя электродами при постоянном подаваемом напряжении.

Одним из методов амперометрии является ионометрия. На его основе создан датчик ионов - электрод Кларка. С помощью ионочувствительной мембраны этот прибор отделяет молекулы NO от основной среды. Внутри оболочки, созданной NO-селективной мембраной, находятся платиновый электрод – рабочий, на нем происходит окисление NO, и серебряный электрод - электрод сравнения.

NO играет важную роль в различных биологических процессах, где его пространственная и временная концентрация чрезвычайно важны. Однако измерение NO довольно сложно из-за его короткого времени жизни в физиологических условиях, которое обусловлено его высокой реакционной способностью с другими биологическими компонентами.

В качестве материалов для рабочего электрода чаще всего выбирают платину и ее сплавы, так как платина хороший катализатор и не участвует в реакциях. Изменяя состав и характеристики поверхности материала электрода (например увеличение неоднородностей поверхности увеличивает площадь, в результате скорость реакции возрастает), требуемые окислительно- восстановительные токи становятся в различной степени настраиваемыми.

Устройство датчика ISO-NOP

1. Газопроницаемая полимерная мембрана, закрывающая наконечник рукава из стали и отделяющая его от внешней среды.
2. Одноразовый защитный рукав из нержавеющей стали, в котором находится чувствительная пара электродов. Он содержит свежий электролит.
3. Рабочий электрод и электрод сравнения
4. Ручка датчика
5. Фиксирующий колпачок прикрепляет гильзу к рукоятке датчика.

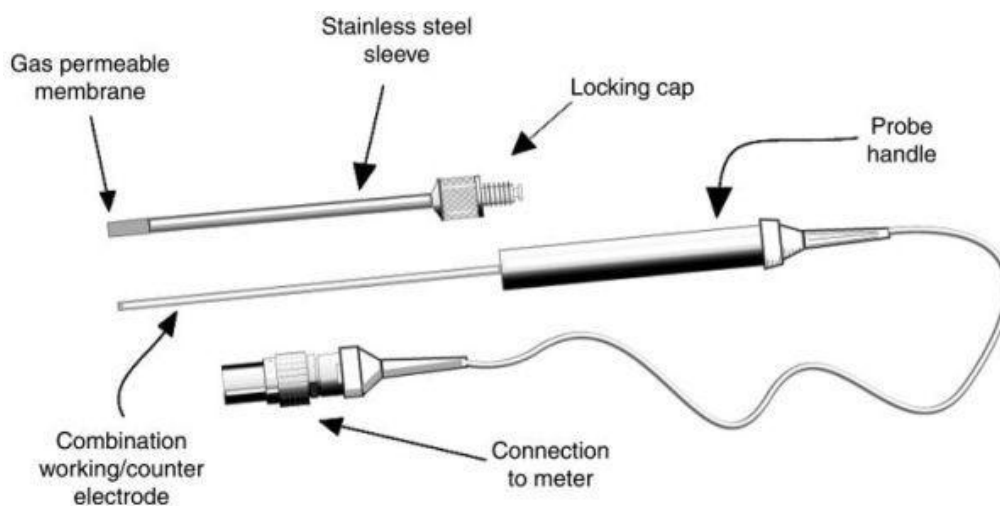


Рис. 1. Устройство датчика ISO-NOP

В этой работе используется датчик ионов ISO-NOP.

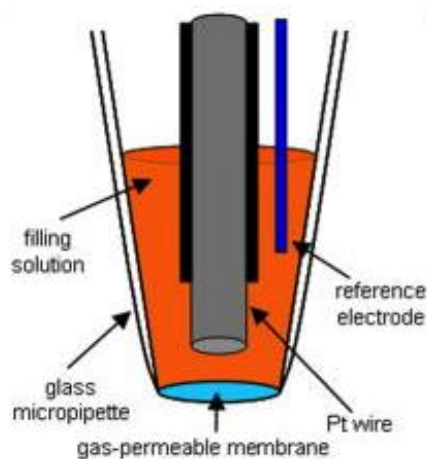


Рис. 2. Устройство мембраны и электродов датчика.

Датчик содержит заполненную электролитом микропипетку, в которую помещены как платиновый - рабочий, так и серебряный электроды, закрытые тонкой газопроницаемой мембраной. На этих электродах в рабочем состоянии поддерживается постоянная разность потенциалов, которая составляет примерно 860мВ. Мембрана датчика полимерная. Оксид азота NO легко диффундирует через мембрану на поверхность электрода, в то время как более крупные частицы исключаются. При подаче потенциала на платиновый электрод электроактивные частицы окисляются на его поверхности, в результате чего увеличивается величина тока, а она пропорциональна концентрации частиц.

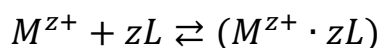
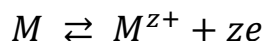
Принцип работы электрода Кларка

Селективность датчика ISO – NOP зависит как от материала мембраны, так и от разности потенциалов между электродами.

Здесь можно ввести понятие электродного потенциала – разности потенциалов на границе раствор – металл. По сольватационной теории электродного потенциала есть две причины, по которым возникает разность потенциалов (сольватация – электростатическое взаимодействие между ионами растворителя и раствора):

1. Происходит ионизация атомов металла на ионы и электроны внутри металла.
2. Происходит сольватация ионов металла на его поверхности при соприкосновении с раствором.

Обозначая молекулы металла M , а молекулы растворителя – L запишем уравнения этих двух реакций:



Обе эти реакции имеют собственный энергетический параметр. В первом случае это работа выхода катиона с поверхности металла U_m . Во втором случае это энергия взаимодействия ионов $U_{\text{взаим.}}$. Соотношения между этими энергиями определяет скачок потенциала на границе раздела раствора и металла – электродный потенциал.

Электроды датчика ISO-NOP располагаются в электрохимической ячейке. В такой ячейке электроды, погруженные в электролиты разделены перегородкой, которая предотвращает перемешивание электролитов, но не препятствует движению ионов.

Если к такой ячейке во внешней цепи подключить источник постоянного напряжения, то можно будет контролировать направление реакций в этой ячейке и глубину их протекания. Отрицательный полюс этого источника подключается к катоду, а положительный к аноду. В датчике ISO – NOP анод сделан из платины, а потому нерастворим.

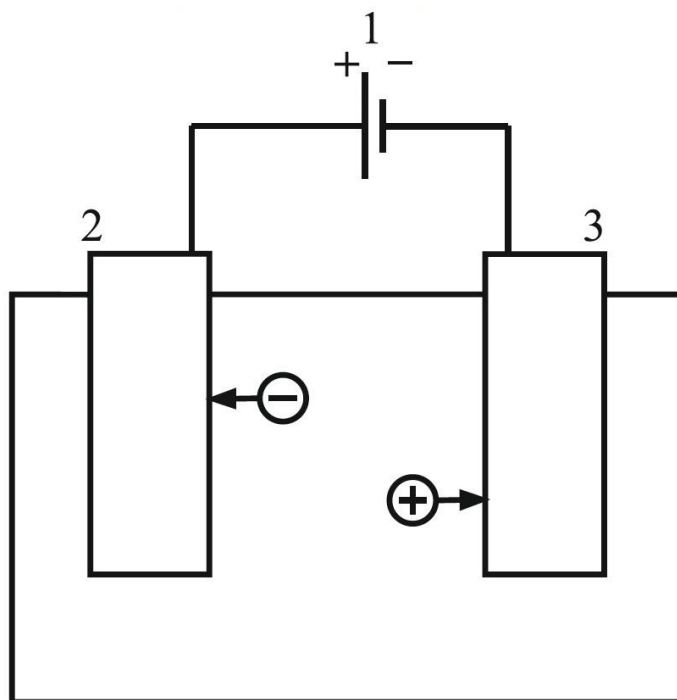


Рис. 3. Электрохимическая ячейка.

1 – источник постоянного напряжения, 2 – анод, 3 – катод.

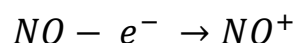
При подключении внешнего источника напряжения образуется поток электронов на анод и отток их с анода, на аноде и катоде возникает разность потенциалов. Когда потенциалы электродов достигают определенных значений, становится возможным протекание окислительно – восстановительных реакций. На катоде – восстановление катионов, на аноде – окисление анионов. При таких реакциях значение действия окислительно – восстановительного тока во много раз сильнее, чем действие химических окислителей и восстановителей.

Скорость окислительных и восстановительных процессов тем больше, чем сильнее смещен потенциал анода в область положительных значений, а катода в область отрицательных.

Как уже стало ясно в электрохимических процессах одним из реагентов и продуктов реакции являются свободные электроны. Скорость протекания реакции пропорциональна количеству электронов в единицу времени.

Можно сделать вывод, что величина окислительно-восстановительного тока пропорциональная концентрации донора оксида азота.

Электрод Кларка работает следующим образом. Датчик погружают в раствор, содержащий NO, и прикладывают положительный потенциал ~ 860 мВ (по сравнению с электродом сравнения). NO диффундирует через NO-селективную мембрану и окисляется на поверхности рабочего электрода, создавая окислительно-восстановительный ток. Это окисление происходит посредством электрохимической реакции, за которой следует химическая реакция. Электрохимическая реакция представляет собой перенос электрона от молекулы NO к электроду, приводящий к образованию катиона нитрозония:



Затем NO^+ превращается в нитрит NO_2^- :



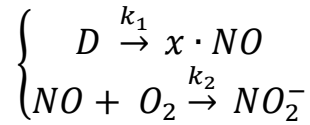
Количество окисленного NO, таким образом, пропорционально току, протекающему между рабочим и контрольным электродами.

Величина этого тока чрезвычайно мала, обычно порядка 1–10 пА (в нашем случае порядка наноампер). Следовательно, для определения концентрации NO с помощью амперометрии требуется очень чувствительная электроника и схема усиления с очень низким уровнем шума.

Теоретическая часть

Как уже было сказано, в ходе эксперимента, при добавлении в буфер известного количества донора D, он разлагается на некоторое количество оксида азота NO. После чего в результате окислительно - восстановительных

реакций получается некоторое количество отрицательно заряженных ионов диоксида азота (нитрит – ионов) NO_2^- .



По описанной модели можно составить систему дифференциальных уравнений и определить зависимость количества NO от времени при определенных начальных условиях:

$$\begin{cases} \frac{dn_{NO}}{dt} = xk_1D - k_2(n_{NO}) \\ \frac{dD}{dt} = -k_1D \\ D(t=0) = D_0 \\ n_{NO}(t=0) = 0 \end{cases}$$

Решая эту систему, получаем:

$$D(t) = D_0 e^{-k_1 t},$$

$$n_{NO}(t) = \frac{D_0 e^{-(k_1+k_2)t} (-e^{-k_1 t} + e^{k_2 t}) k_1 x}{k_2 - k_1}$$

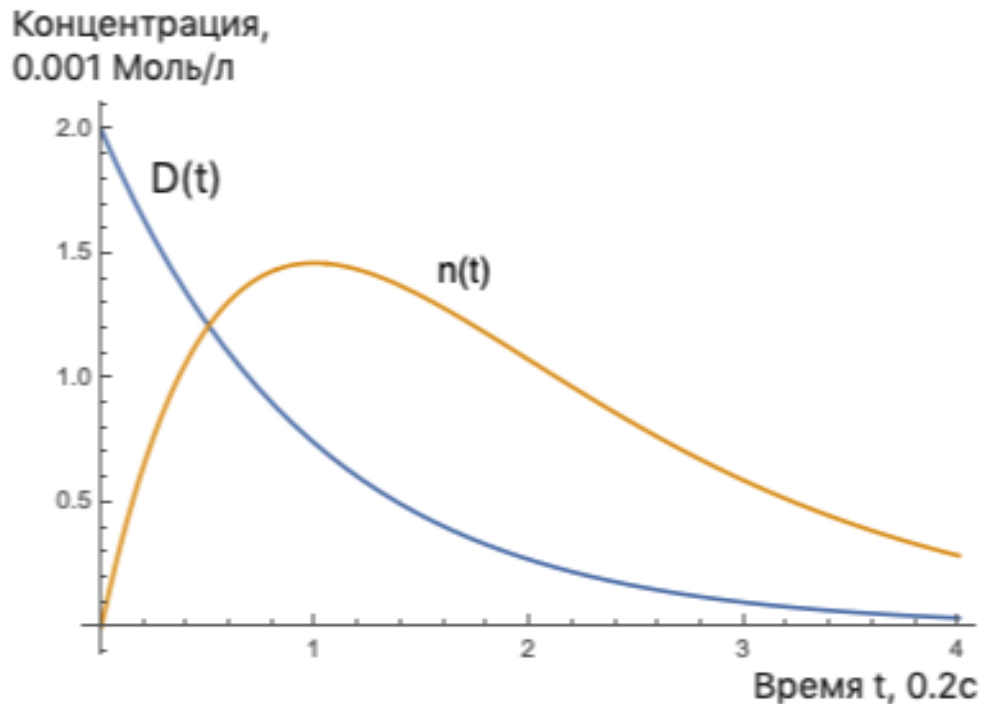


Рис. 4. Зависимость концентраций донора оксида азота и оксида азота от времени.

В ходе эксперимента были получены данные, соответствующие этим зависимостям, следующей задачей является определить коэффициенты k_1 и k_2 .

Экспериментальная часть

Цель работы: установить зависимость концентрации оксида азота, разлагающегося в буфере, от времени, построить калибровочную кривую для датчика ISO-NOP

Донор оксида азота, используемый в работе – DEA NONOate – diethyl amine NONOate. Обозначается далее, как D.

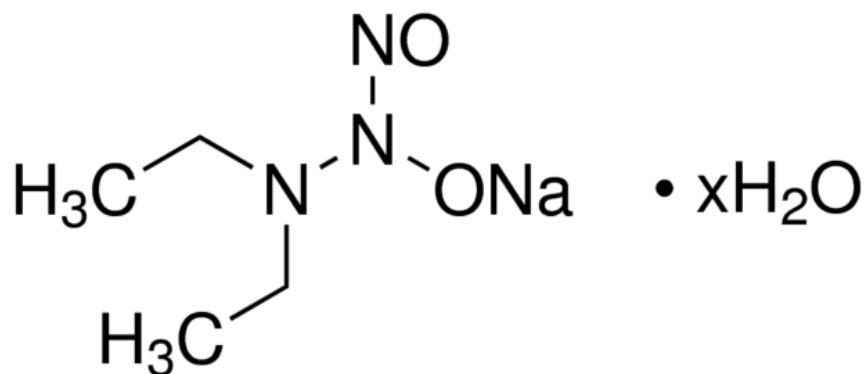


Рис. 5. Молекула донора оксида азота.

В данной работе микроэлектрод ISO - NOP помещается в буферный раствор. Увеличивая концентрацию донора D в буфере, с помощью анализатора свободных радикалов TBR1025 и ISO-NOP измеряется величина тока. После каждого измерения, буферный раствор заменяется на новый, того же объема. Величина тока изменяется в результате разложения донора NO в буфере.

Для того, чтобы донор был равномерно распределен по объему, использовалась магнитная мешалка. Легкий продолговатый магнит помещался в сосуд с буфер и электродом, сам сосуд ставился на источник переменного магнитного поля. В результате чего магнит вращался в сосуде, перемешивая раствор.

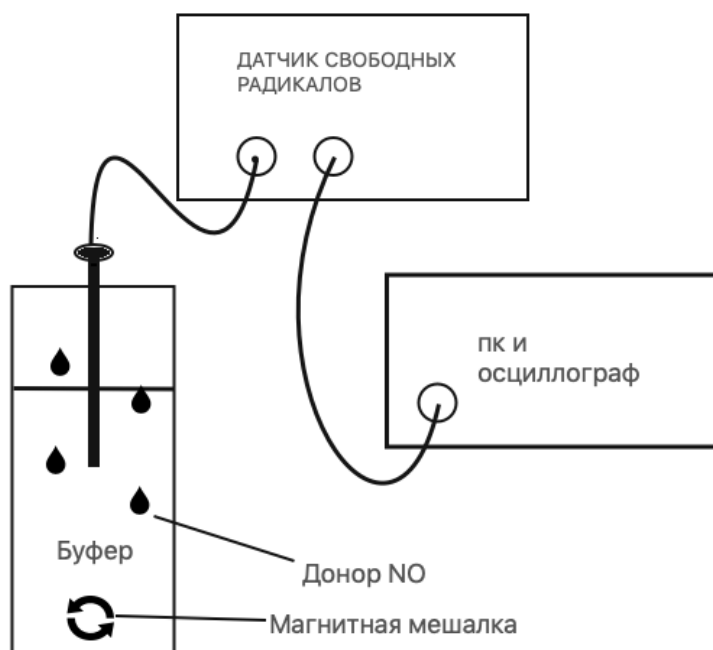


Рис. 6. Схема установки.

Используемый в работе буферный раствор или PBS - Phosphate buffered saline - водный раствор солей хлорида натрия, гидрофосфата натрия, хлорида калия и дигидрофосфата калия. Буферный раствор – это физиологический раствор, необходимый для поддержания постоянного уровня pH.

Как уже было сказано, зависимость величины тока от концентрации NO линейная, для определения коэффициента пропорциональности была построена калибровочная кривая. Для этого были приготовлены буферные растворы с разными концентрациями NO. Чтобы приготовить раствор, в стоковый раствор добавлялся донор D. Стоковые растворы хранились при температуре - 20°C. Буферные растворы готовились непосредственно перед проведением эксперимента из – за короткого времени жизни донора.

Из – за того что донор очень быстро разлагается при комнатной температуре, его необходимо хранить при температуре ниже нуля, так как это замедляет ход реакции. Из места хранения стоковый раствор извлекался непосредственно перед его добавлением, чтобы реакция разложения не успела произойти до добавления его в буфер.

Для построения калибровочной кривой был приготовлен стоковый раствор с концентрацией донора $C_{st} = 8,1 \cdot 10^{-3}$ Моль/л, она определяется как

отношение массы навески - донора к молярной массе донора D и к объему растворителя:

$$C_{st} = \frac{m_D}{M_D \cdot V} \left[\frac{\text{Моль}}{\text{л}} \right],$$

где $M_D = 173,15 \frac{\text{г}}{\text{Моль}}$ – молярная масса донора, $m_D = 0,7 \cdot 10^{-3} \text{ г}$ – масса донора D , $V = 0,5 \cdot 10^{-3} \text{ л}$.

Концентрация NO определяется следующей формулой:

$$C_{NO} = \frac{C_{st} V_{al}}{V_{al} + V_0} \cdot x \text{ [Моль]},$$

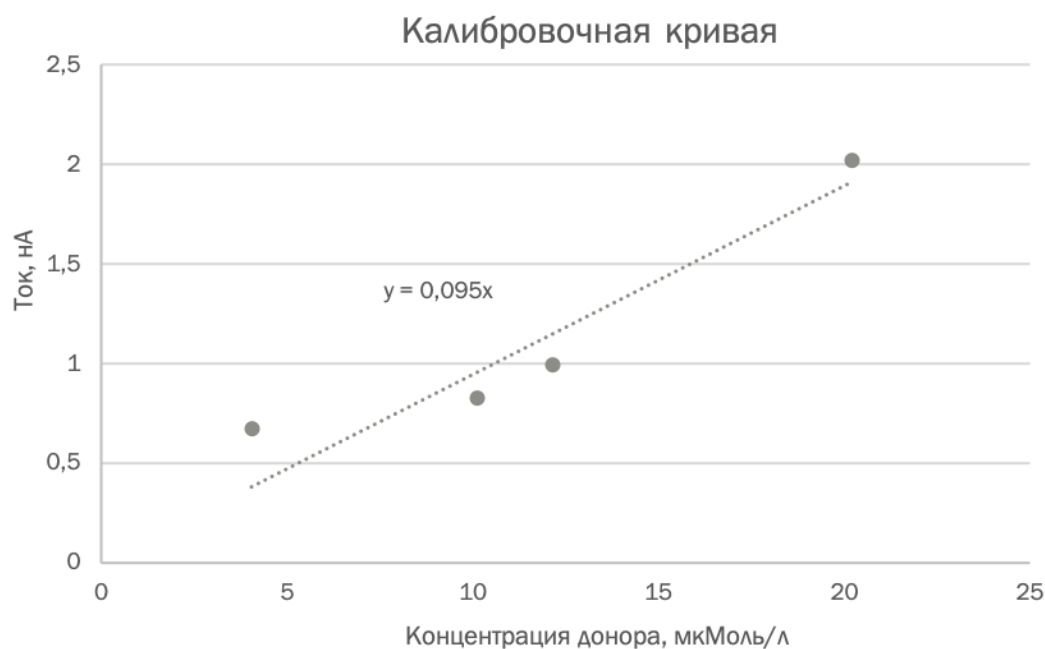
где V_{al} – объем раствора донора (эта величина в ходе эксперимента меняется), $V_0 = 6 \cdot 10^{-3} \text{ л}$ – объем буфера, $x = 1,5$ – коэффициент, указывающий на количество образовавшихся молекул NO на одну молекулу донора D .

Изначально, то есть до добавления донора D в буфер, на амперметре (TBR1025) устанавливается постоянный ток - I_{base} , после добавления в буфер концентрированной аликвоты донора D ток начинает экспоненциально расти, увеличиваясь до тех пор, пока не достигнет тока плато - I_{plato} , после этого он начинает уменьшаться, тоже экспоненциально.

Калибровочная кривая была построена как функция, где по оси Y - изменение тока после каждого измерения $\Delta I = I_{plato} - I_{base}$, а по оси X - значение концентрации донора NO.

Из данной кривой по углу ее наклона была установлена зависимость величины тока от концентрации донора оксида азота.

$V_{al}, 10^{-6} \text{ л}$	$V_{\Sigma}, 10^{-6} \text{ л}$	$C_{NO}, 10^{-6} \text{ Моль/л}$	$I_{base}, 10^{-9} \text{ А}$	$I_{plato}, 10^{-9} \text{ А}$	$\Delta I, 10^{-9} \text{ А}$
2	6002	4,04865045	4,4	5,072	0,672
5	6005	10,11656953	4,5	5,328	0,828
6	6006	12,13786214	4,5	5,497	0,997
10	6010	20,21630616	4,7	6,72	2,02
15	6015	30,29925187	4,61	5,84	1,23



По полученной калибровочной кривой определяем коэффициент пропорциональности $\alpha = 0,095 \pm 0,008 \cdot \frac{\text{нА} \cdot \text{л}}{\text{мкМоль}}$.

Временная зависимость образования NO в процессе распада донора в водном растворе.

Экспоненциальный закон, по которому изменяется ток рассмотрен на примере одного из сделанных измерений. В буфер объемом $V_0 = 6 \cdot 10^{-3} \text{ л}$ был добавлен объем донора $V_{al} = 5 \cdot 10^{-6} \text{ л}$.

При таких параметрах эксперимента были получены измерения в виде графика:

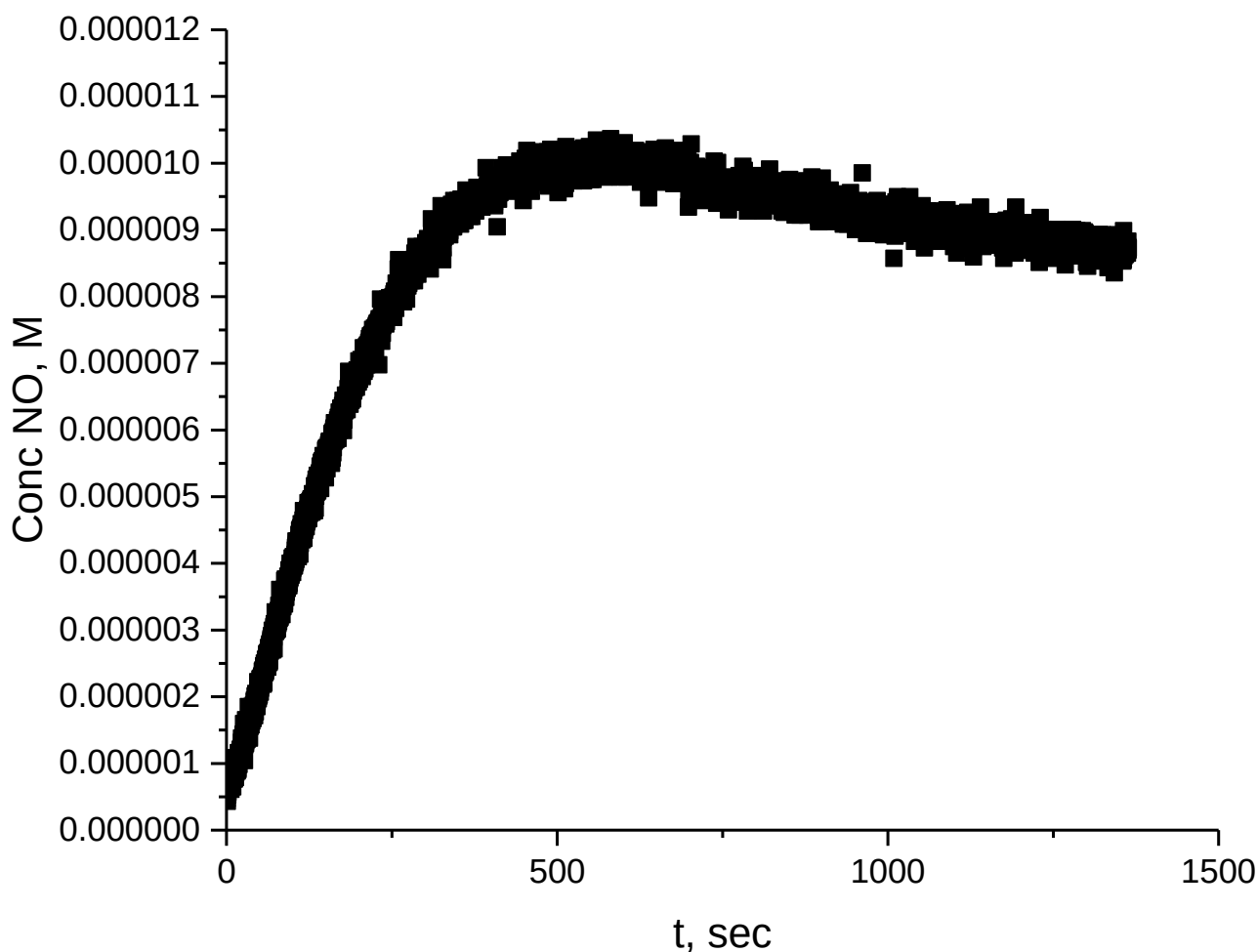


Рис. 7. Временная зависимость концентрации оксида азота в растворе после добавления 5 мкл донора (итоговая концентрация донора в растворе 6,7 мкМоль/л).

Здесь по горизонтальной оси время в секундах, а по вертикальной величина концентрации NO в молях на литр.

Необходимо подобрать коэффициенты, удовлетворяющие уравнению:

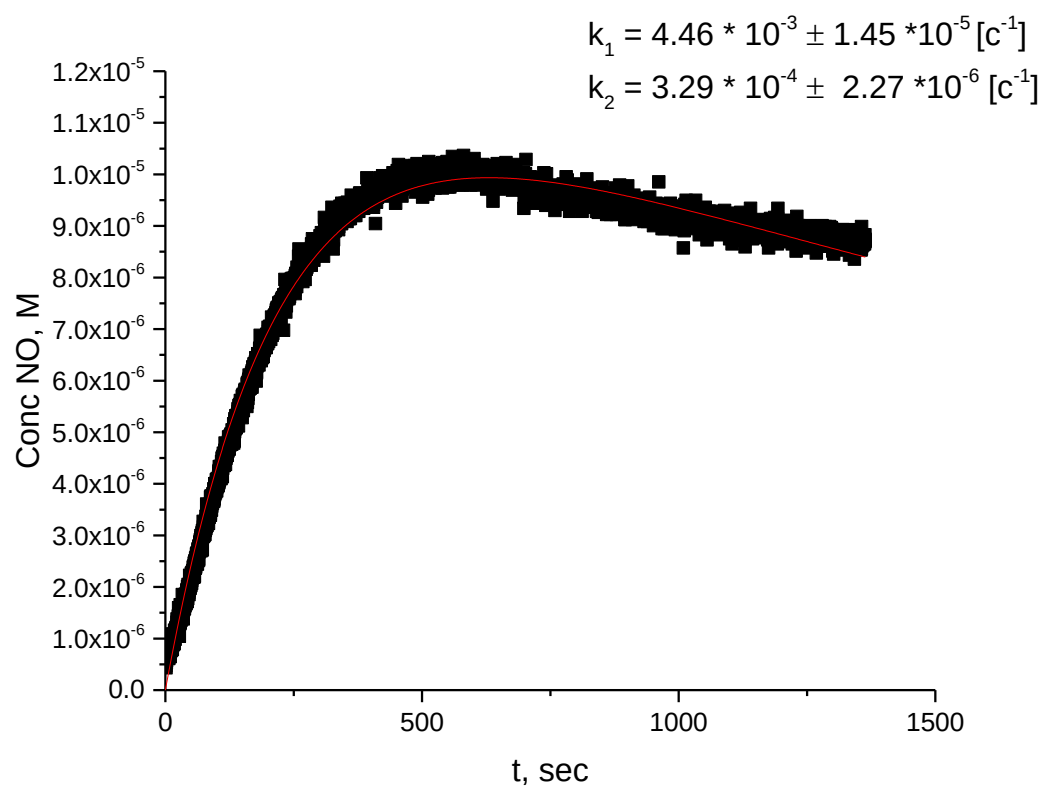
$$n_{NO}(t) = \frac{D_0 e^{-(k_1+k_2)t} (-e^{-k_1 t} + e^{k_2 t}) k_1 x}{k_2 - k_1},$$

где $x = 1,5$ – стехиометрический коэффициент, $D_0 = 6,7 \frac{\text{мкМоль}}{\text{л}}$ –

концентрация донора D оксида азота NO,

n_{NO} – концентрация оксида азота NO.

Методом наименьших квадратов подбираем в программе OriginPro коэффициенты k_1 и k_2 , получаем:



Анализ погрешностей

При проведении эксперимента была построена калибровочная кривая микроэлектрода IS0-NOP при добавлении донора оксида азота diethyl amine NONOate. Был получен коэффициент пропорциональности между током на датчике и концентрацией оксида азота: $\alpha = 0,095 \pm 0,008 \cdot \frac{\text{нА} \cdot \text{л}}{\text{мкМоль}}$.

Получена зависимость концентрации оксида азота от времени, она накладывается на теоретическую при коэффициентах:

$$k_1 = 4,46 \cdot 10^{-3} \pm 1,45 \cdot 10^{-5} [\text{с}^{-1}] \quad \text{и} \quad k_2 = 3,29 \cdot 10^{-4} \pm 2,27 \cdot 10^{-6} [\text{с}^{-1}]$$

В ходе эксперимента было замечено, что при некоторых действиях экспериментатора на осциллограмме – «ток – концентрация» появлялись шумы. Из-за отсутствия экранирования рабочей установки на результаты эксперимента влияли внешние факторы, такие как: перемещение заряда в среде (ходьба человека, открывание дверей, перемещение стаканов).

Открывание дверей:



На графике видно, что величина тока колеблется относительно постоянной величины, в данном случае 4,2 нА. При измерении возникают помехи и ошибка измерения возрастает. Например для величины помеченной

стрелочкой она составляет 2 %, в то время как среднее отклонение почти в 10 раз меньше этой величины.

Ходьба людей:



Перестановка стаканов:



Статистическая ошибка измерения усредненная для измерений выше $\sigma = \pm 0,25$ нА или в процентах от среднего значения примерно 5,8 % .

Вывод

В данной работе исследована зависимость величины тока от концентрации оксида азота в растворе с использованием датчика ISO-NOP. Известно, что окислительно-восстановительный ток прямо пропорционален концентрации оксида азота NO. Ток величиной в $0,095 \pm 0,008$ нА протекает в растворе концентрацией $1 \frac{\text{мкМоль}}{\text{л}}$.

Была построена упрощённая модель, описывающая процессы в растворе. Она включает в себя процесс образования оксида азота (в процессе разложения донора оксида азота) и его гибель. Для данной модели была составлена система дифференциальных уравнений. Зависимость концентрации оксида азота в буфере от времени определяется следующей формулой:

$$n_{NO}(t) = \frac{D_0 e^{-(k_1+k_2)t} (-e^{-k_1 t} + e^{k_2 t}) k_1 x}{k_2 - k_1},$$

где $x = 1,5$ – стехиометрический коэффициент, $D_0 = 10^{-6} \frac{\text{Моль}}{\text{л}}$ –

концентрация донора D оксида азота NO, задается начальными условиями,

n_{NO} – концентрация оксида азота NO, $k_1 = 4,46 \cdot 10^{-3} \pm 1,45 \cdot 10^{-5} [\text{с}^{-1}]$ и $k_2 = 3,29 \cdot 10^{-4} \pm 2,27 \cdot 10^{-6} [\text{с}^{-1}]$ – константы реакции.

Экспериментальный график хорошо описывается этой зависимостью, так как коэффициент детерминации для него $R^2 = 0,99057$ (так же посчитан в OriginPro). Методом наименьших квадратов (с инструментальным весом) определены коэффициенты k_1 и k_2 – константы в построенной нами модели, описывающей реакции в растворе. Однако величина хи-квадрат $\chi^2 = 33$, это говорит о том, что модель, выбранная для описания явления, упрощенная.

Были выявлены источники шума и установлено, что для уменьшения погрешности измерения требуется исключить внешние факторы, такие как:

- Перемещение экспериментатора;

- Передвижения предметов, вызывающие колебания среды раствора буфера;
- Движение заряженных тел непосредственно вблизи датчика.

Список литературы

- Michael J. Serpe and Xueji Zhang «The Principles, Development and Application of Microelectrodes for the In Vivo Determination of Nitric Oxide»
- <http://files.school-collection.edu.ru/dlrstore/feaa87ad-ff43-858f-30f7-c576ee29a7f0/1004609A.htm?redirected=true>
- «Справочник химика 21. Химическая и кинетическая технология.»
- Benjamin J. Privett, Jae Ho Shin, Mark H. Schoenfisch «Tutorial Review: Electrochemical Nitric Oxide Sensors for Physiological Measurements»
- «Основы электрохимических методов анализа» 1, 2 части. И.И. Жерин, Г.Н. Амелина, А.Н. Страшко, Ф.А. Ворошилов.
- «Ионоселективные электроды», Н.В. Шведене.