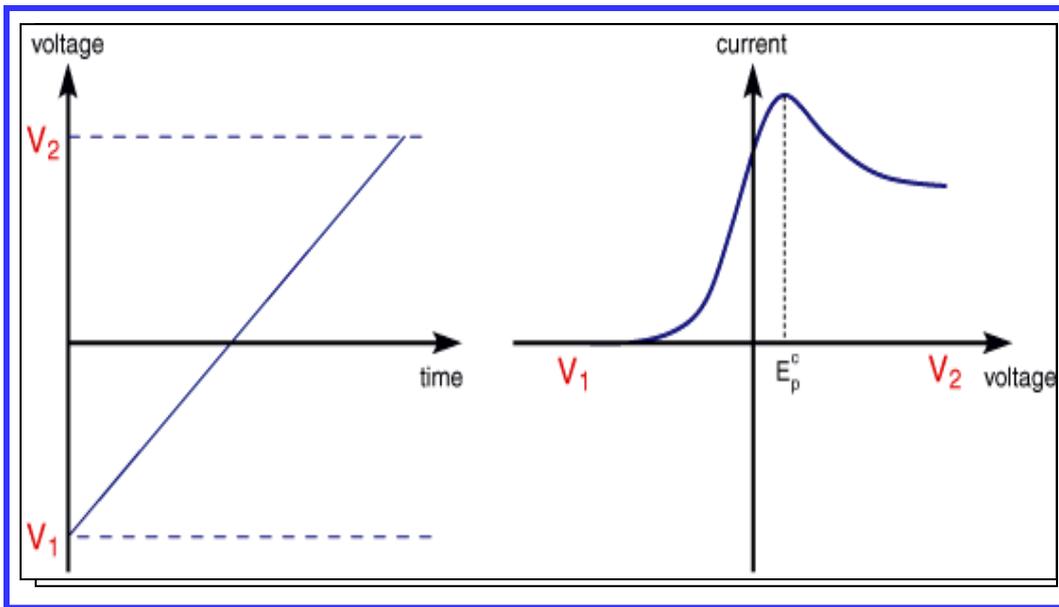


Voltammetria a scansione lineare (LSV)

La **voltammetria a scansione lineare** è tecnicamente simile alle tecniche polarografiche/voltammetriche descritte finora ma presenta due **differenze sostanziali**: la **natura stazionaria della superficie elettrodica** (tipicamente un elettrodo solido) e la **maggiore velocità di scansione del potenziale**, solitamente pari ad **almeno una decina di mV/s**.



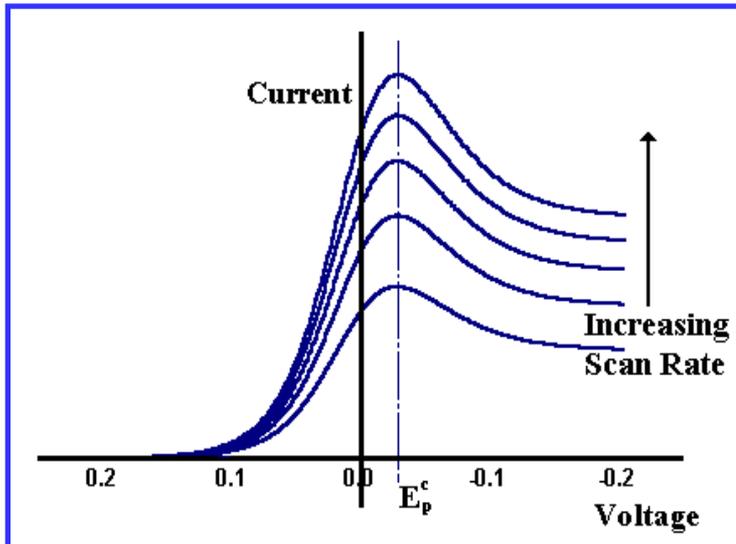
Nel caso in cui si consideri una **riduzione** (quindi $V_2 < V_1$), la corrente dovuta al processo redox aumenta inizialmente, come in un'onda polarografica, al diminuire del potenziale (e quindi della concentrazione di analita all'elettrodo), in base all'**Equazione di Cottrell**:

$$I = n F A D (C_{\text{bulk}} - C_{\text{elet}}) / (\pi D t)^{1/2}$$

Nonostante lo strato di diffusione tenda ad aumentare nel tempo, infatti, l'incremento del numeratore presente nell'espressione dell'intensità di corrente è maggiore rispetto ad esso, portando ad un aumento della corrente stessa.

Tuttavia, quando $C_{\text{elet}} = 0$, ossia in condizioni di corrente limite, il numeratore non può più aumentare e quindi I raggiunge il valore massimo; successivamente, l'ulteriore aumento dello strato di diffusione determina una diminuzione della corrente secondo $t^{-1/2}$.

Si ottiene dunque un **voltammogramma di picco**, che viene fortemente influenzato dalla velocità di scansione del potenziale:



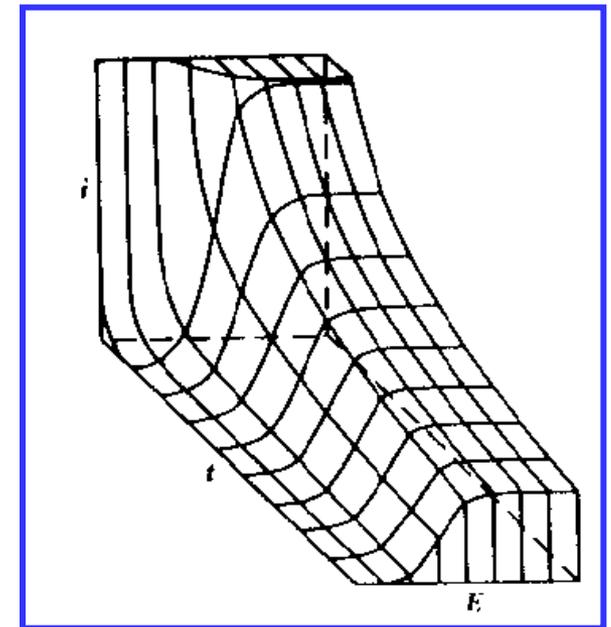
L'aumento della velocità di scansione fa sì che lo stesso potenziale elettrodico venga raggiunto in tempi sempre più brevi.

Essendo man mano minore lo strato di diffusione, I aumenta con la velocità di scansione (in particolare, con la sua radice quadrata).

Il potenziale del picco voltammetrico, E_p , non è però influenzato da essa.

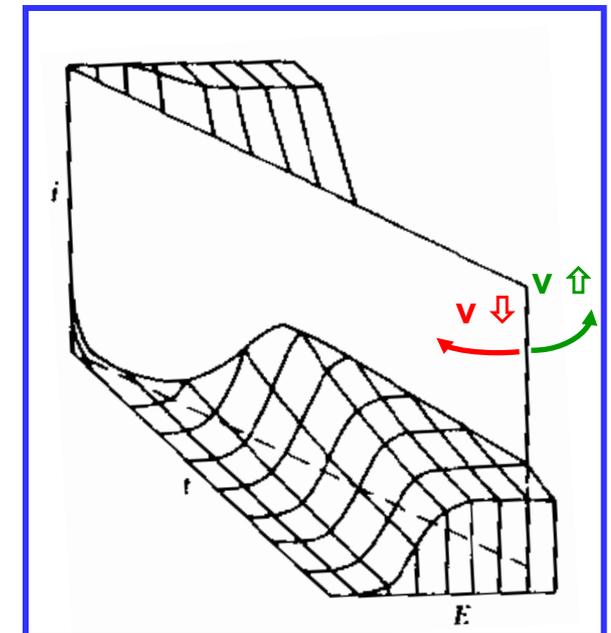
Si può visualizzare la curva di corrente di un esperimento LSV partendo da un grafico tridimensionale, in cui l'intensità di corrente i viene rappresentata in funzione del tempo t e del potenziale elettrodico E :

Si noti che le sezioni del grafico per E costante sono delle curve di Cottrell, mentre le sezioni per t costante sono delle onde polarografiche.

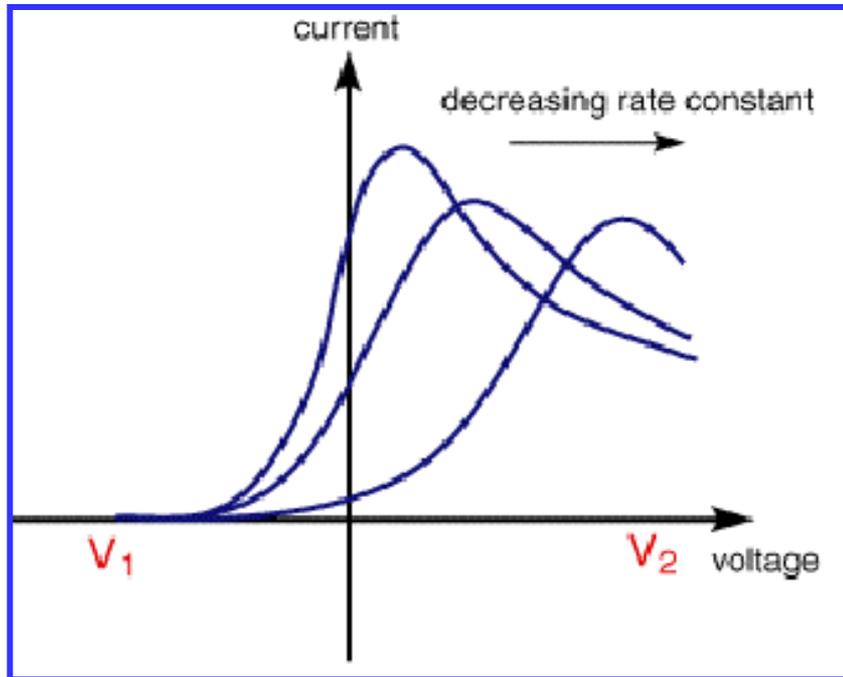


Sezionando il grafico con un piano perpendicolare al piano (t, E) e che lo interseca lungo una retta di equazione $E = v t$ si ottiene un voltammogramma a scansione lineare:

A seconda dell'inclinazione del piano che seziona (legata alla velocità di scansione v) l'incremento di i nella curva LSV cambia.



La forma del picco voltammetrico può essere influenzata dalla **velocità del trasferimento di elettroni fra analita e superficie elettrodica**, quando si innesca anche una **polarizzazione per trasferimento di carica**.



In questo caso le concentrazioni elettrodiche delle specie ossidata e ridotta non soddisfano l'Equazione di Nerst ed **il processo viene definito non reversibile**.

Minore è la velocità del trasferimento elettronico maggiore è il tempo (e il potenziale, in valore assoluto) necessario per raggiungere il picco voltammetrico.

In condizioni di non reversibilità anche il potenziale di picco sarà influenzato dalla velocità di scansione.

Tale dipendenza può essere quindi sfruttata per valutare se un processo elettrodico sia reversibile o meno.

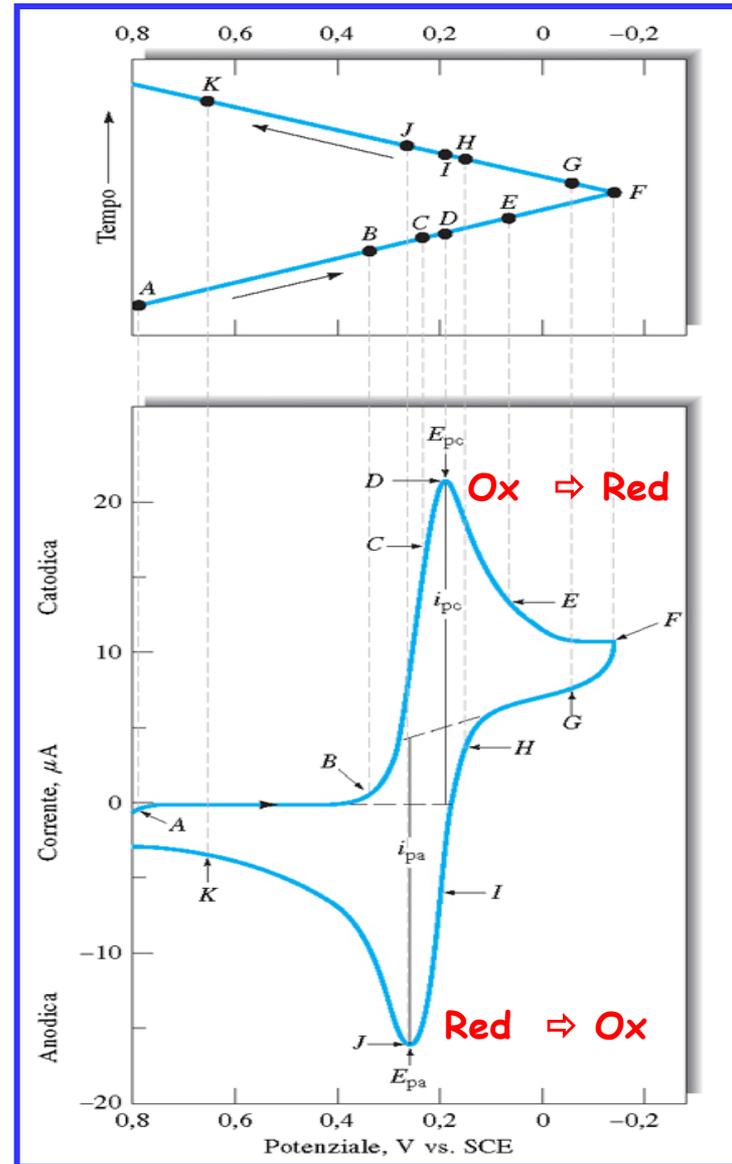
Voltammetria ciclica (CV)

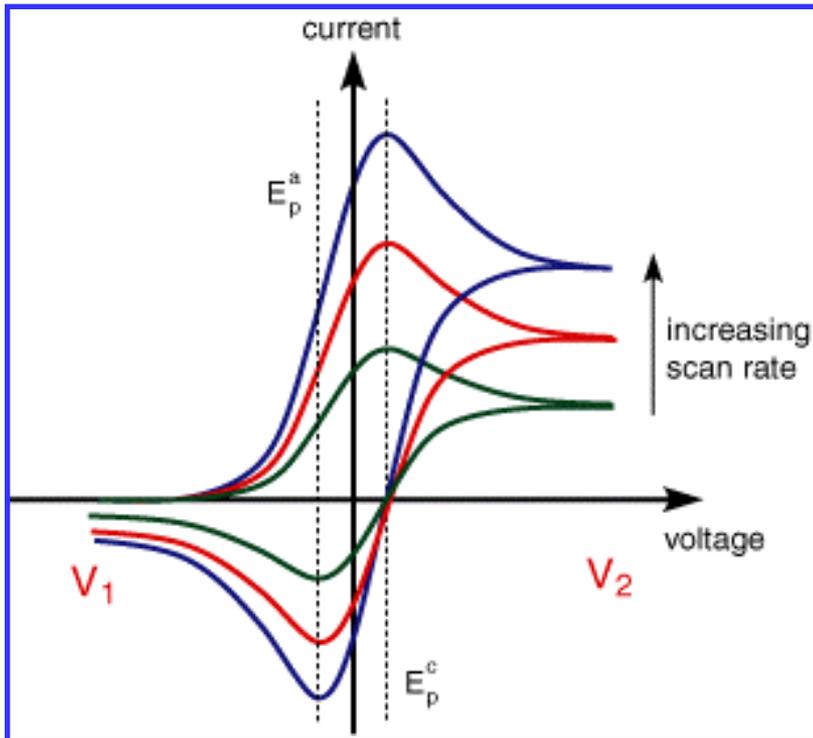
La **voltammetria ciclica** è un'evoluzione di quella a scansione lineare, realizzata imponendo all'elettrodo una **scansione di potenziale triangolare**:

In questo caso il primo tratto del voltammogramma (A-F) è identico ad un tracciato LSV per una riduzione.

Quando la scansione del potenziale viene invertita la specie ridotta generata durante la scansione catodica viene ri-ossidata all'elettrodo, dando origine ad una curva analoga ma rivolta verso il basso.

La combinazione dà origine ad un **tracciato I vs V** detto **voltammogramma ciclico**.





In condizioni di reversibilità:

- ✓ la variazione della velocità di scansione non influenza la posizione dei picchi della scansione catodica e anodica, la cui separazione è data da:

$$\Delta E = E_p^a - E_p^c = \frac{59}{n} \text{mV}$$

con n = numero di elettroni coinvolti nella reazione redox all'elettrodo.

- ✓ il potenziale formale della coppia redox (E_0) è dato dalla semisomma dei due potenziali di picco
- ✓ il rapporto fra le correnti di picco catodica e anodica è unitario;
- ✓ l'intensità delle due correnti di picco aumenta con la radice quadrata della velocità di scansione

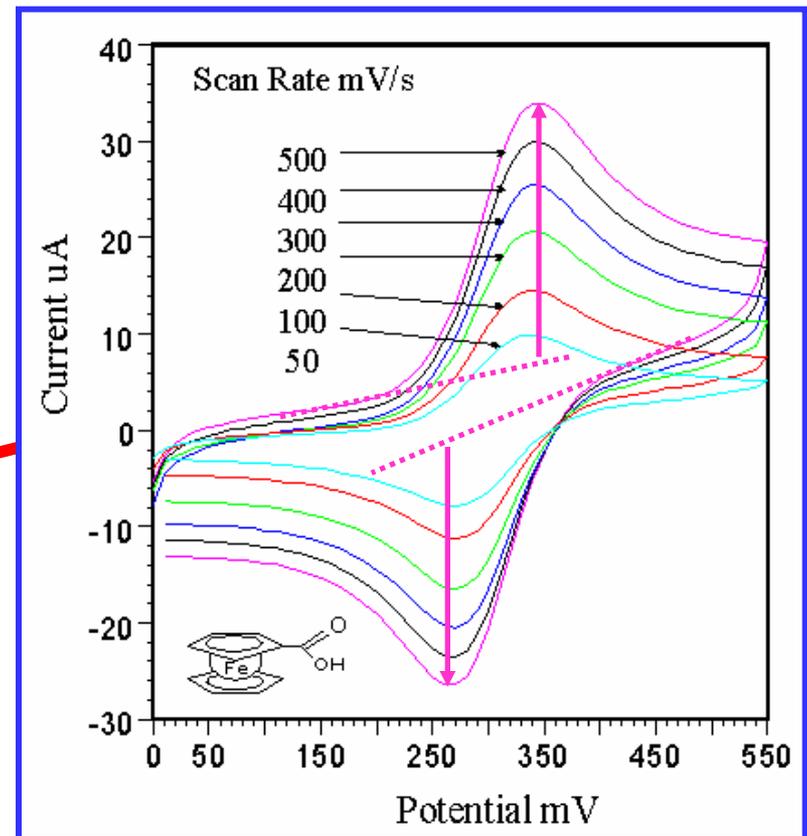
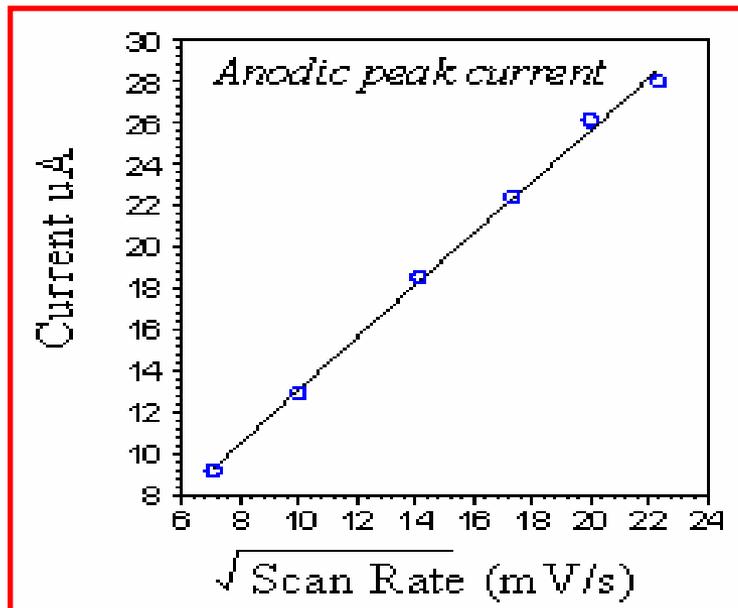
Equazione di Randles-Sevcik

Per processi reversibili esiste una **relazione che lega l'intensità della corrente di picco alla concentrazione**, attraverso una serie di parametri strumentali o caratteristici dell'analita, ossia l'**Equazione di Randles-Sevcik**:

$$i_p = 0.4463 n F A C (n F v D / R T)^{1/2}$$

dove:

v = **velocità di scansione (in V/s)**

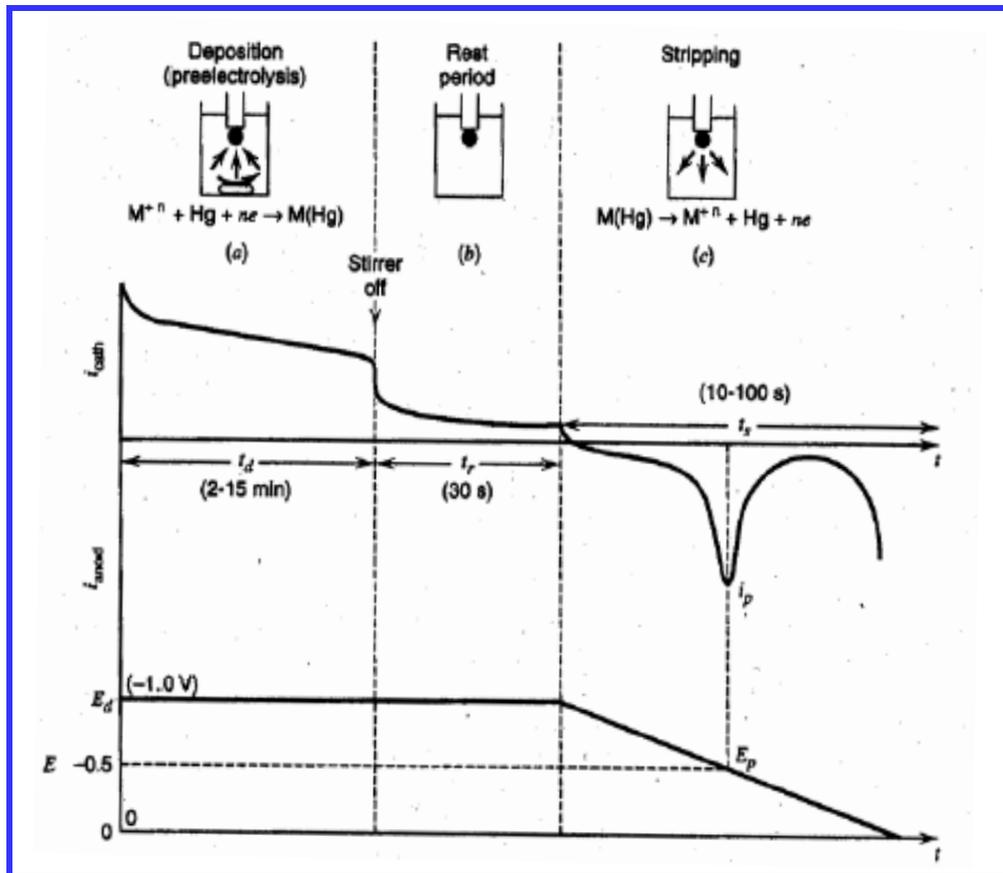


La voltammetria ciclica su sistemi reversibili consente di ottenere una serie di importanti informazioni quali-quantitative:

- ✓ potenziale formale di una coppia redox E_0 , dai potenziali dei picchi catodico e anodico;
- ✓ numero di elettroni coinvolti nella reazione redox, dalla differenza dei potenziali dei picchi anodico e catodico;
- ✓ coefficiente di diffusione, dalla pendenza della retta di interpolazione delle correnti di picco (catodico o anodico) in funzione della radice quadrata della velocità di scansione del potenziale, noti n , A , C e T (in base all'Equazione di Randles-Sevcik)
- ✓ concentrazione, da rette di taratura basate sulla corrente di picco anodico o catodico. Il valore tipico del LOD in questo caso è simile a quello della polarografia (circa 10^{-5} M).

Voltammetria di stripping

La voltammetria di stripping differisce dalle altre tecniche voltammetriche per il fatto che l'analita d'interesse viene inizialmente preconcentrato elettrochimicamente su un elettrodo immerso nella soluzione.



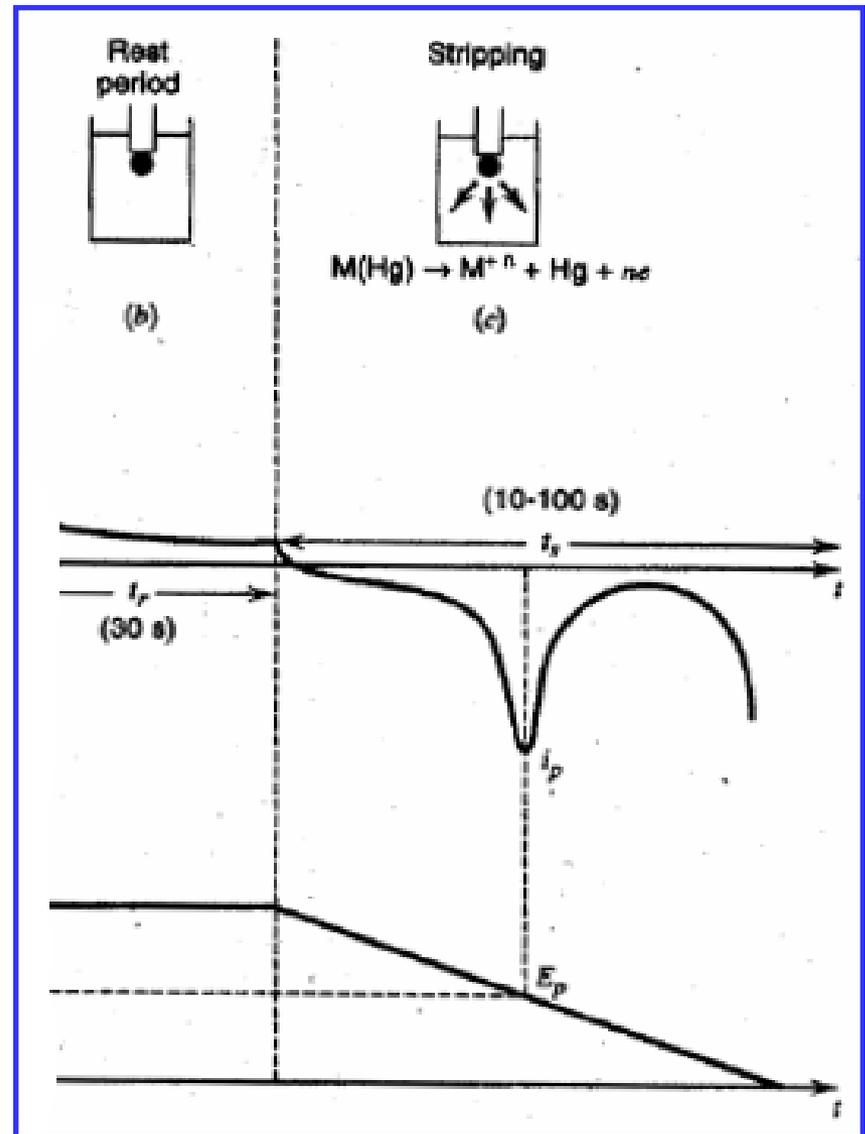
La **deposizione** può avvenire per riduzione (ossidazione) dell'analita sulla superficie di un elettrodo mantenuto a potenziale catodico (anodico) per un certo tempo (alcuni minuti) mentre la soluzione è sotto agitazione.

Segue un **periodo di riposo**, in cui il potenziale resta applicato ma la soluzione è quiescente. Questa fase permette alla concentrazione di analita sull'elettrodo (spesso rappresentato da una goccia stazionaria o da un film di Hg) di diventare uniforme.

Nella fase di stripping l'analita precedentemente depositato viene riportato in soluzione facendo avvenire la reazione redox opposta con un'opportuna scansione di potenziale.

Ad esempio se la preconcentrazione è stata effettuata mediante una riduzione lo stripping avverrà con una scansione anodica di potenziale.

Il tipo di scansione determina il responso di corrente ottenuto durante lo stripping (un picco, un'onda polarografica, ecc.), che sarà correlato alla quantità di analita preconcentrato e quindi, a parità di altre condizioni, alla concentrazione iniziale in soluzione.

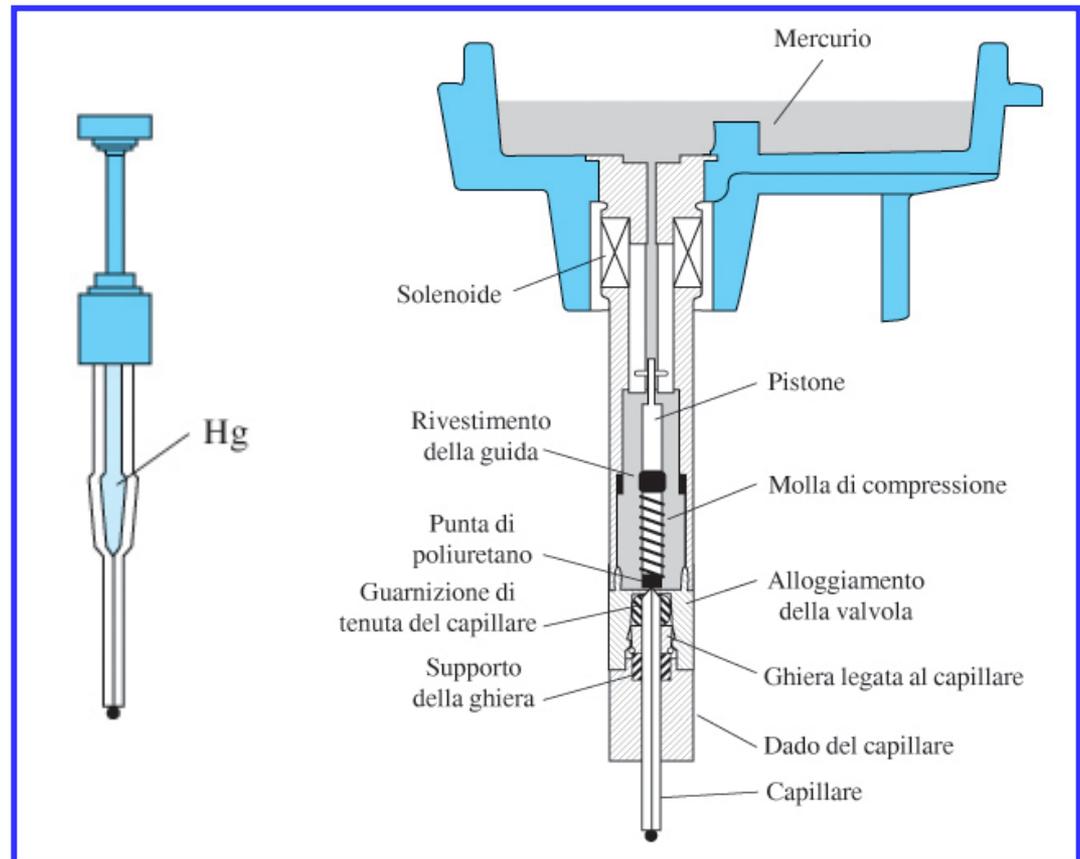


Stadio di elettrodeposizione

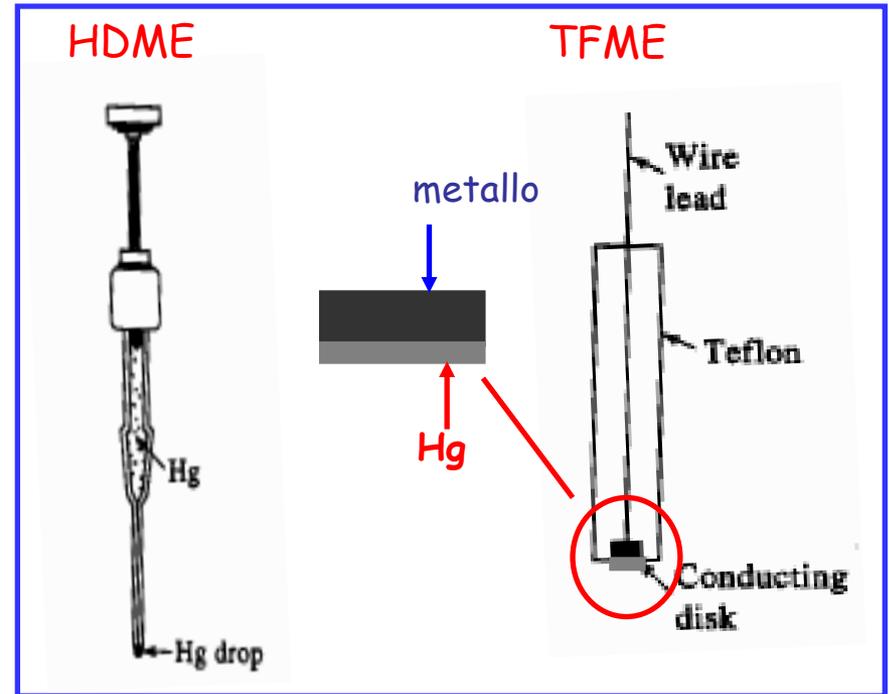
L'elettrodeposizione (detta anche pre-elettrolisi) può avvenire su un elettrodo di **oro, platino, grafite**.

Nel caso di **elettrodeposizioni per riduzione** è tuttavia più opportuno impiegare **elettrodi di mercurio**.

In questo caso si possono adottare **elettrodi a goccia pendente (Hanging Drop Mercury Electrode, HDME)** o a funzionamento misto (**DME/HDME**):

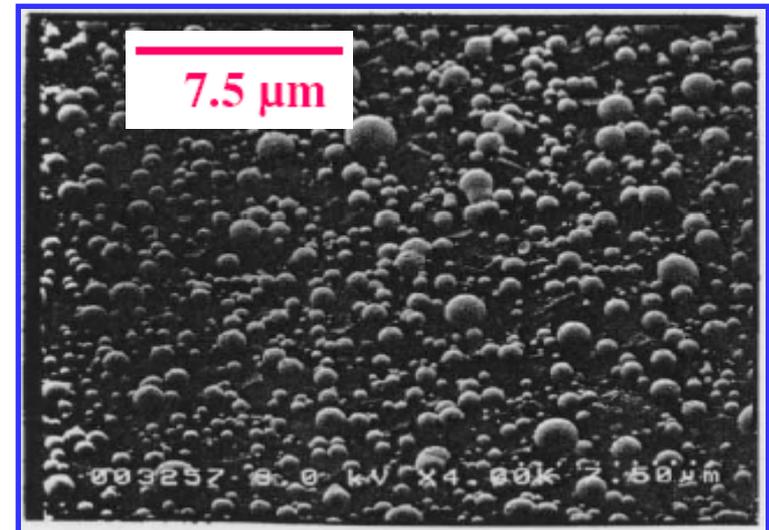


In alternativa si possono impiegare elettrodi a disco ricoperti da un film sottile di mercurio (Thin Film Mercury Electrode, TFME).

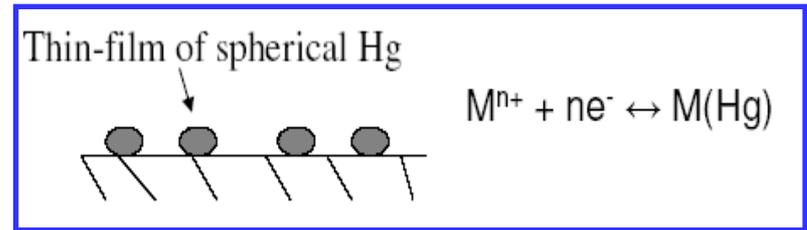


Il film sottile di mercurio viene anch'esso generato elettrochimicamente per riduzione di Hg^{2+} su un elettrodo metallico.

Di fatto la superficie dell'elettrodo si ricopre di goccioline di mercurio di dimensioni micrometriche:



Nel caso di elettrodi di Hg la preconcentrazione di uno ione metallico avviene per formazione di un **amalgama**:



La concentrazione di metallo nel mercurio è calcolabile dalla relazione:

$$C_M = i_L t_d / nF V_{Hg}$$

in cui:

i_L = corrente limite di riduzione dello ione metallico

t_d = tempo di deposizione

V_{Hg} = volume di mercurio.

Se l'intensità di corrente di deposizione non è costante, al posto del prodotto $i_L t_d$ occorre considerare l'integrale di $i(t)$ da 0 a t_d .

Nel caso di **elettrodi solidi** si può invece calcolare la quantità di metallo depositata sulla superficie:

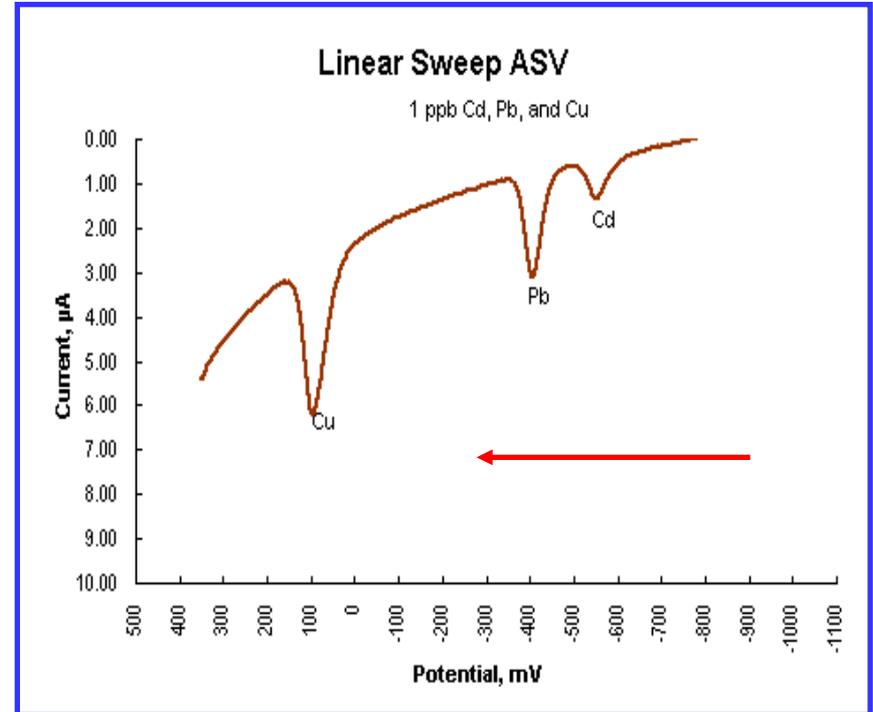
$$M = i_L t_d / nF$$

In entrambi i casi la quantità di analita depositata è proporzionale al tempo di deposizione e alla concentrazione in soluzione (che è contenuta nell'espressione di i_L).

Stadio di ridissoluzione

La ridissoluzione avviene tipicamente effettuando una scansione lineare di potenziale (*linear sweep*) analoga a quella usata in polarografia.

La scansione avviene in direzione anodica (*ASV, Anodic Stripping Voltammetry*) se la deposizione dell'analita è avvenuta per riduzione, in direzione catodica (*CSV, Cathodic Stripping Voltammetry*) nell'altro caso.

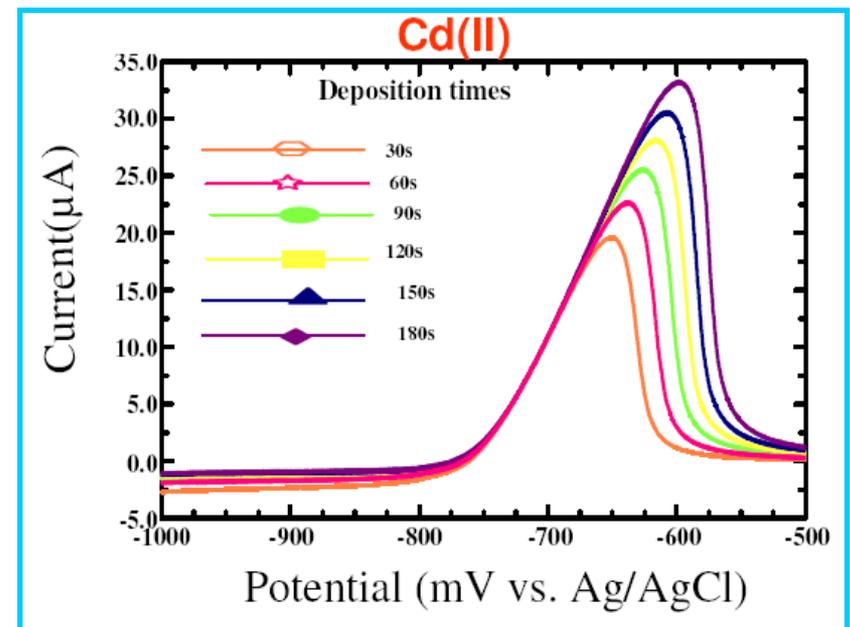
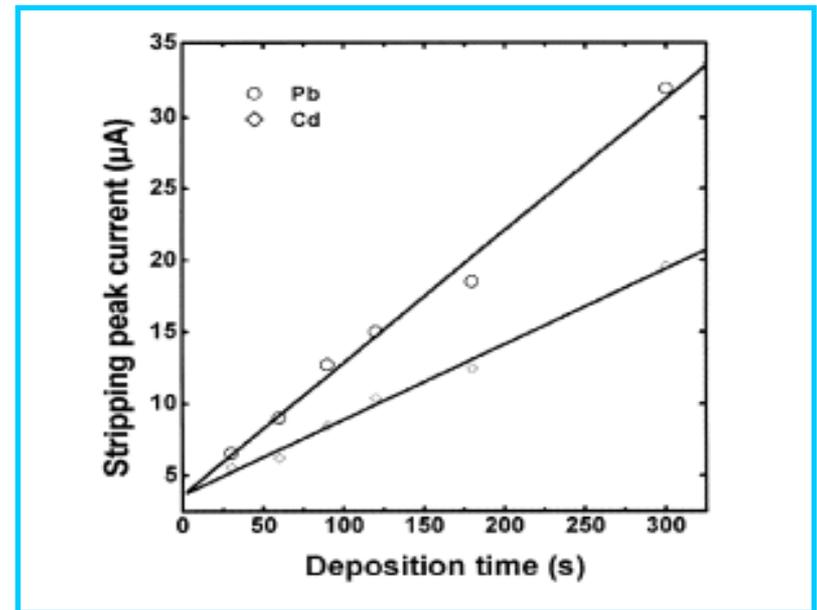


In questo caso, se la velocità della scansione anodica è sufficientemente elevata, l'intensità di corrente si presenta sotto forma di picco, come avviene tipicamente con la tecnica LSV; l'altezza del picco (corretta rispetto alla linea di base) o l'area sottesa al picco possono essere usate come misure del responso, proporzionale alla concentrazione dell'analita, mentre il potenziale di picco dipende dalla specie analizzata.

A parità di concentrazione l'intensità di picco può essere incrementata aumentando il **tempo di deposizione**:

Il **tempo di deposizione** può indirettamente influenzare anche il potenziale a cui si osserva il picco ASV (o CSV) nella fase di stripping, nel caso si usino elettrodi di Hg.

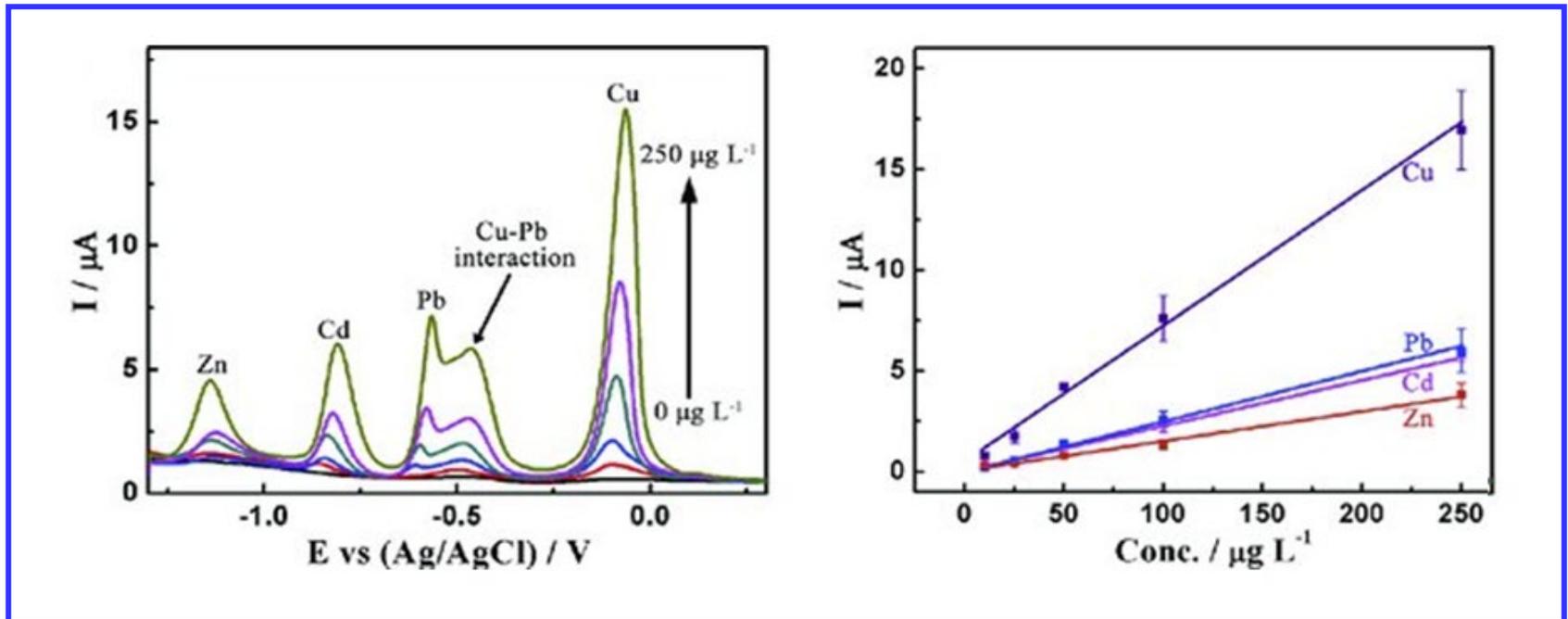
Tempi maggiori possono infatti provocare la presenza di analita in strati più interni del film o della goccia di Hg e una maggiore difficoltà nel provocarne il passaggio in soluzione dopo l'ossidazione (o riduzione).

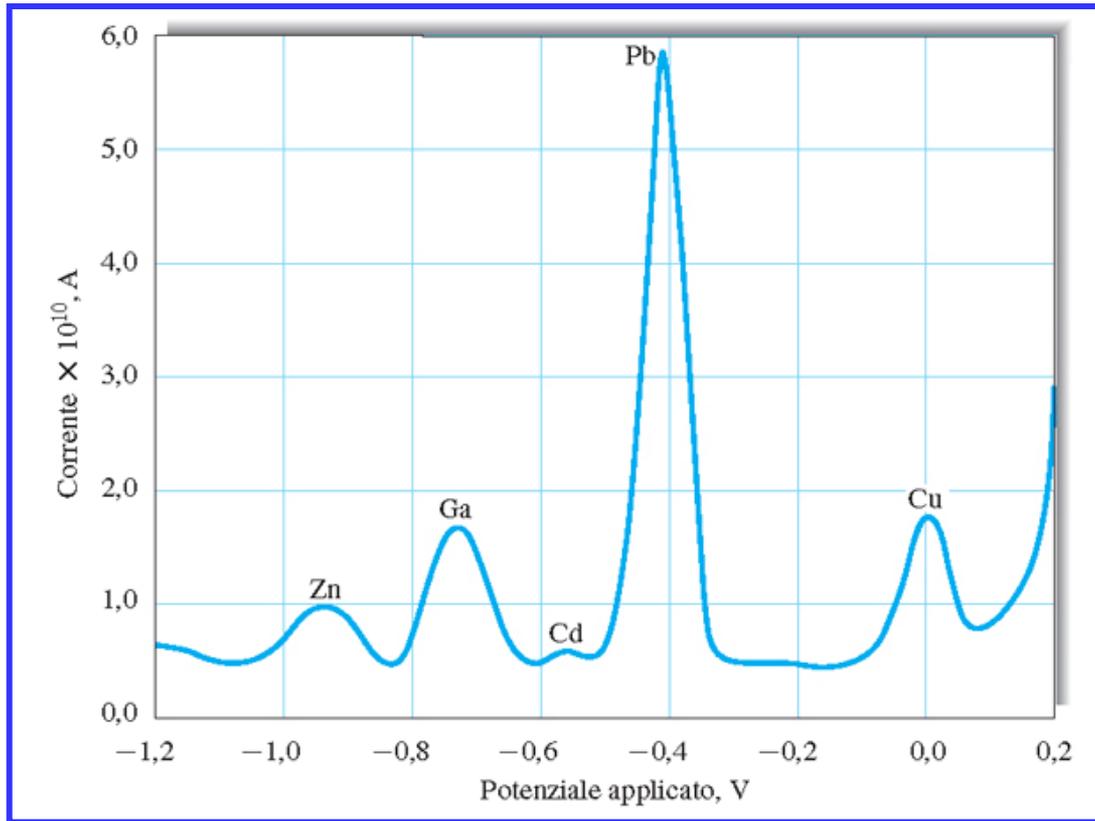


La preconcentrazione all'elettrodo determina in ogni caso **un forte aumento della sensibilità** rispetto alle tecniche voltammetriche convenzionali.

Essa può essere ulteriormente aumentata se si adotta una **scansione di tipo DPP** nella fase di stripping (tecniche **DPASV** e **DPCSV**).

In generale con i metodi ASV/CSV possono essere rivelate **concentrazioni da 10^{-6} a 10^{-9} M**, ma si può arrivare fino a **$10^{-11}/10^{-12}$ M** (ossia parti per **trilione, ppt**) se si adottano tempi di pre-concentrazione dell'ordine di 1 ora o si implementano scansioni pulsate:





La figura mostra il responso di una **scansione DPV** (velocità di scansione 5 mV/s, ampiezza dell'impulso 50 mV) condotta dopo elettrodeposizione (-1.2 V vs SCE, tempo di deposizione 1200 s in soluzione quiescente) di un **campione di miele mineralizzato e addizionato con GaCl₃ 10⁻⁵ M.**

Voltammetria di stripping dopo adsorbimento

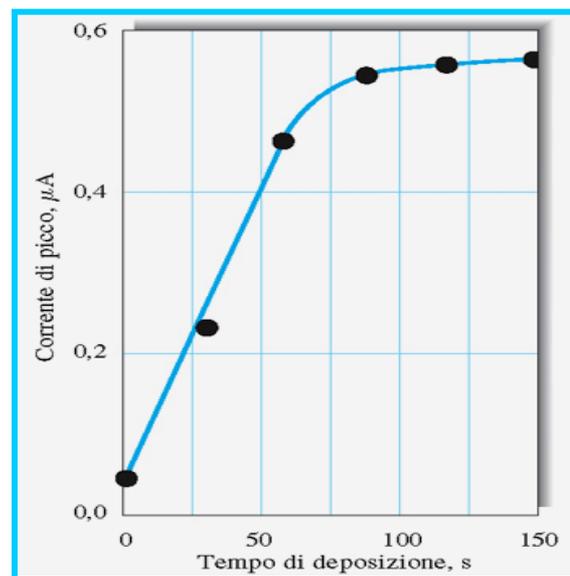
In molti casi le tecniche di stripping possono essere impiegate **sostituendo all'elettrodeposizione uno stadio di adsorbimento dell'analita sulla superficie elettrodica** (*Adsorptive Stripping Voltammetry, AdSV*).

Per la tecnica AdSV si adottano di solito **elettrodi di mercurio o carbone**, spesso mantenuti a potenziali a cui la carica netta sulla superficie è nulla ($E = E_z$).

L'elettrodo viene prima immerso per un tempo prefissato nella soluzione di analita, poi si procede con una scansione LSV o DPV, a seconda delle esigenze analitiche.

Il metodo si presta all'analisi di molte **molecole organiche a bassissima concentrazione** ($< 10^{-7}$ M).

Il limite principale alla sensibilità raggiungibile è la **saturazione dei siti di adsorbimento sulla superficie elettrodica**, che si evince dalla curva della corrente di picco in funzione del tempo di deposizione.



Vantaggi/svantaggi delle tecniche di stripping

- 👍 Elevata sensibilità (ppb-ppt) e ampio intervallo di linearità (fino a 4-5 ordini di grandezza);
- 👍 Elevata precisione del responso (RSD < 2-3%)
- 👍 Possibilità di distinguere fra stati di ossidazione diversi (dal potenziale di picco)
- 👍 Costi relativamente bassi per la strumentazione e per il funzionamento dell'apparecchiatura (< 20000 euro).
- 👎 Numero limitato di analiti analizzabili;
- 👎 Possibilità di interferenza fra picchi in matrici complesse;
- 👎 Possibilità di adsorbimento di componenti di matrice sulla superficie elettrodica, in grado di compromettere la deposizione.

Campi di applicazione delle tecniche di stripping

Le tecniche di stripping trovano la loro applicazione principale nella **determinazione di metalli in tracce in matrici di interesse ambientale (acqua, suolo), clinico (sangue, urine), alimentare, petrolchimico, farmaceutico.**

Metal	Sample Matrix	Stripping Mode	Working Electrode
Antimony	Gunshot residue	ASV	MFE
Cadmium	Lake water	ASV	MFE
Chromium	Soil	AdSV	HMDE
Cobalt	Seawater	AdSV	HMDE
Copper	Steel	ASV	HMDE
Iodide	Seawater	CSV	
Iron	Wine	AdSV	HMDE
Lead	Blood	PSA	MFE
Lead	Paint	ASV	
Mercury	Fish	ASV	Au
Nickel	Plant leaves	AdSV	HMDE
Selenium	Soil	CSV	HMDE
Thallium	Urine	ASV	HMDE
Titanium	Seawater	AdSV	HMDE
Uranium	Ground water	AdSV	HMDE
Zinc	Eye tissue	ASV	HMDE

Titolazioni amperometriche

Una titolazione nella quale si usi, per la rivelazione del punto equivalente, la misura della corrente che passa attraverso un elettrodo voltammetrico prende il nome di **amperometrica**.

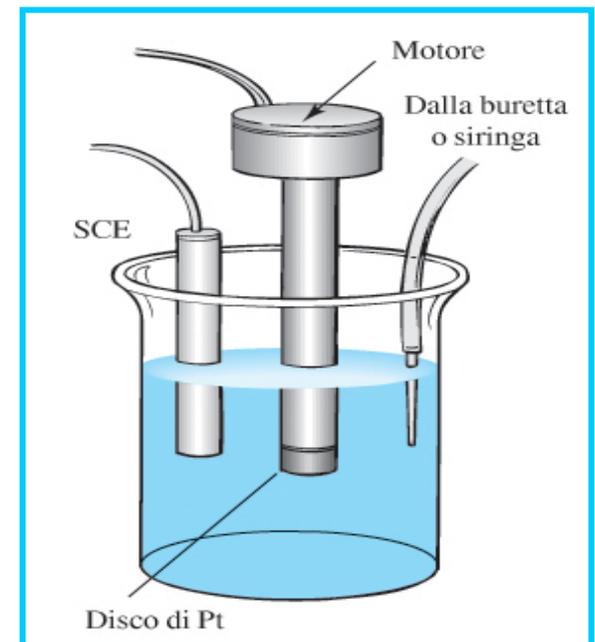
La tecnica prevede l'impiego di un **potenziale costante per l'elettrodo di lavoro**, tipicamente tale che uno dei reagenti o prodotti della titolazione si trovi al plateau della sua onda polarografica.

Le titolazioni amperometriche possono essere condotte **con uno o due elettrodi polarizzabili (elettrodi indicatori)**.

Nel **primo caso (titolazioni mono-amperometriche)** l'elettrodo polarizzabile può essere un **elettrodo a disco rotante (RDE) con disco in Pt**:

In alternativa si può usare anche un **elettrodo stazionario, ma in soluzione agitata, o un DME**.

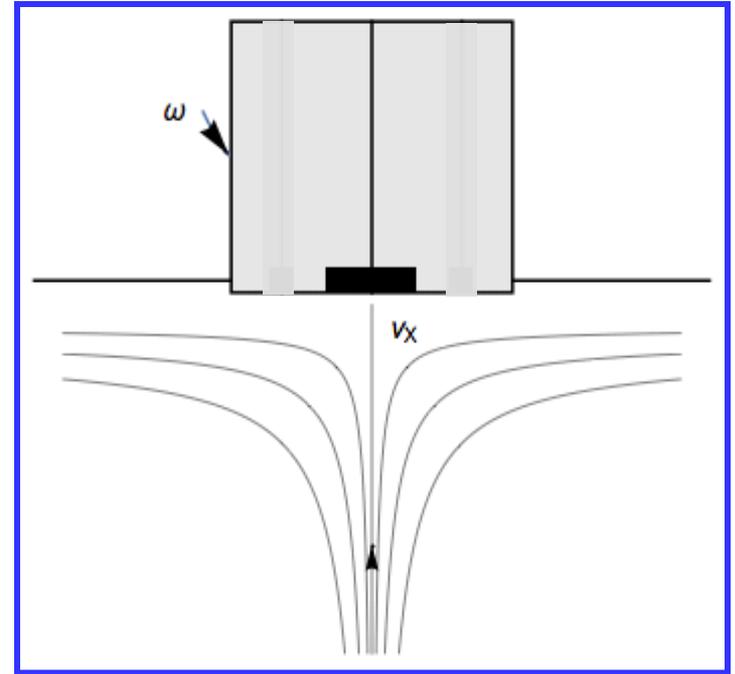
Il loro **potenziale viene sempre accuratamente controllato rispetto ad un elettrodo di riferimento (SCE)**.



L'impiego di un elettrodo a disco rotante determina una particolare condizione idrodinamica.

Per effetto della rotazione la soluzione viene infatti trasferita verso la superficie dell'elettrodo secondo le traiettorie indicate nella figura a lato.

In prossimità della superficie elettrodica si determina un sottile strato di liquido che ruota insieme all'elettrodo e dunque appare stagnante in un sistema di riferimento con esso solidale.

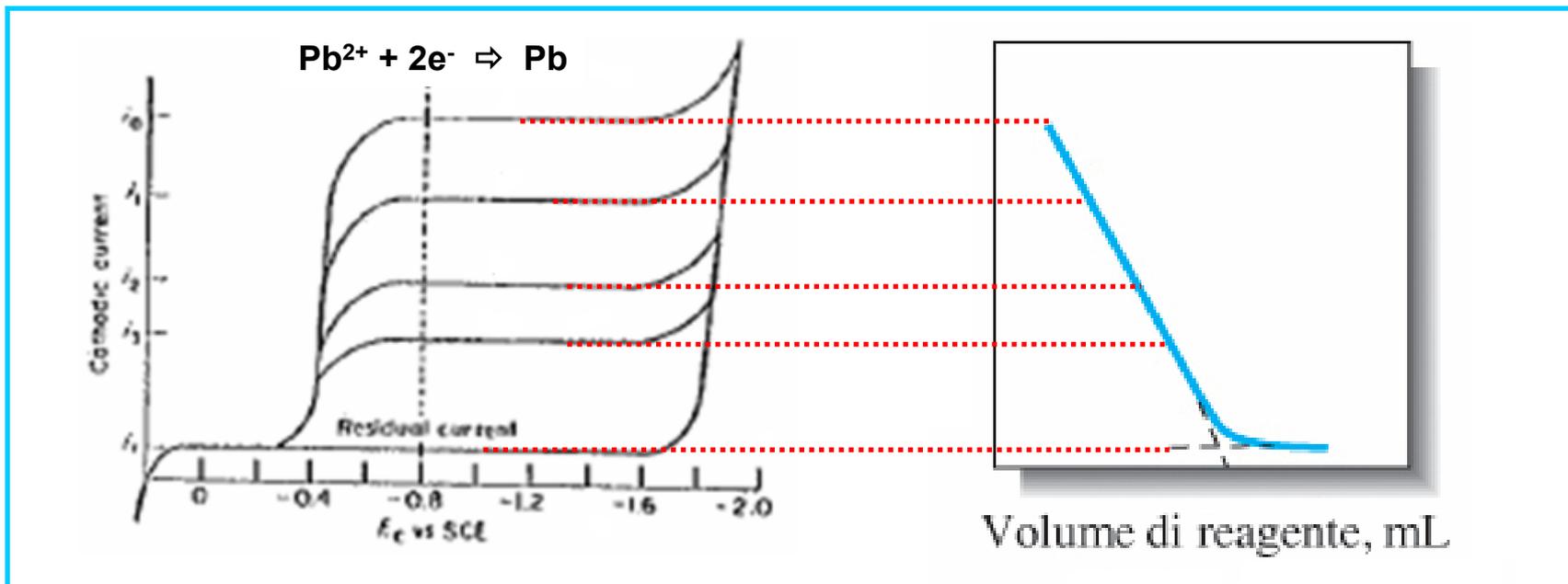


Tale strato, noto come strato limite idrodinamico (o strato di Prandtl), ha uno spessore inversamente proporzionale alla radice quadrata della velocità angolare di rotazione (in soluzione acquosa, per una velocità di rotazione pari a 3000 giri/minuto, lo strato è spesso 300-400 μm).

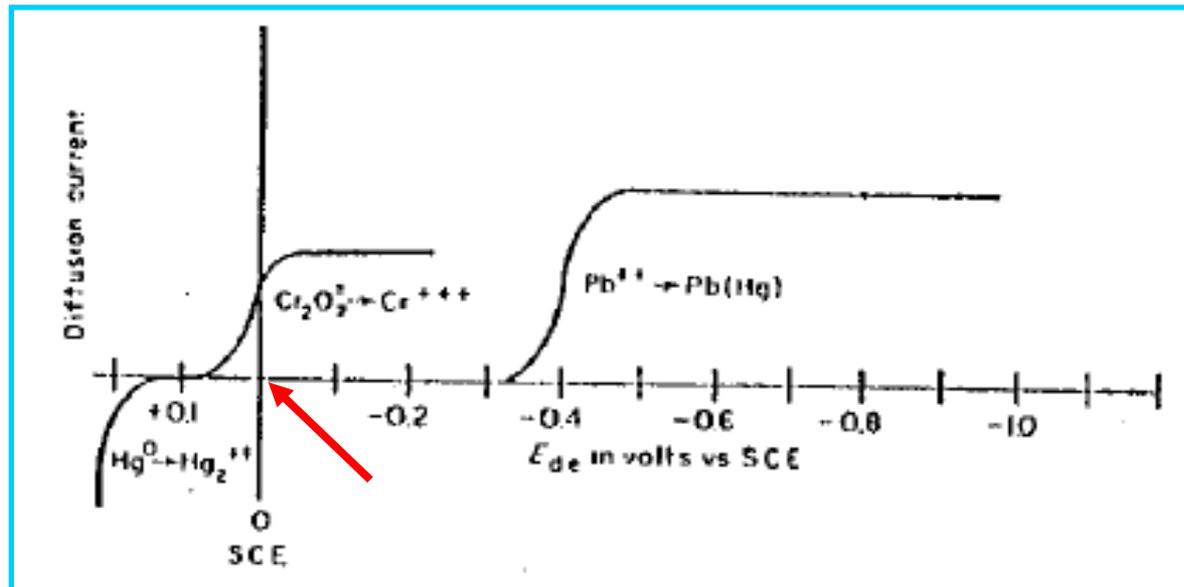
Quando l'analita entra all'interno di tale strato la convezione diventa via via meno rilevante man mano che esso si avvicina all'elettrodo e alla fine la diffusione diventa predominante. Lo spessore dello strato di diffusione, durante la scarica redox dell'analita, non dipende dal tempo, dunque l'intensità di corrente è costante se la velocità di rotazione è costante.

Nel caso delle titolazioni a singolo elettrodo indicatore l'**andamento dell'intensità di corrente con il volume di titolante aggiunto** può essere di vari tipi, a seconda della specie coinvolta nel processo redox (che dipenderà anche dal potenziale):

Ad esempio nel caso della **titolazione di precipitazione del Pb^{2+} con SO_4^{2-} seguita amperometricamente su Hg ad un potenziale di -0.8 V vs SCE**, posto sul plateau dell'onda di riduzione del Pb^{2+} a Pb, la corrente andrà via via diminuendo prima del punto equivalente (p.e.) e resterà costante dopo (titolazione *dead-stop*) perché lo ione SO_4^{2-} non è elettroattivo a tale potenziale:

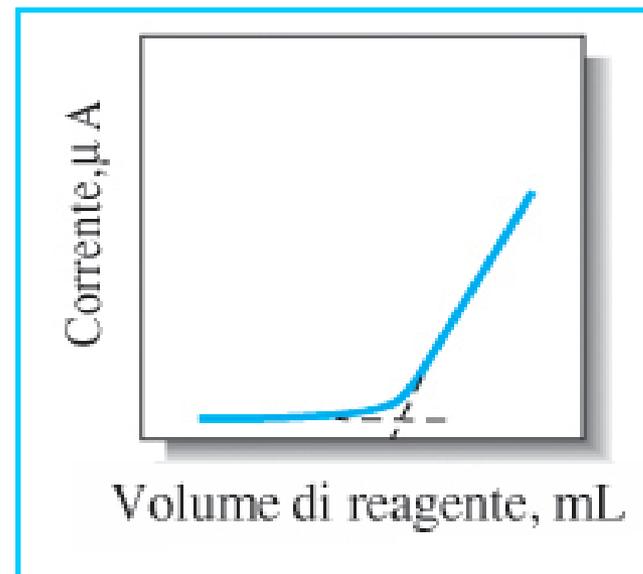


Se il Pb^{2+} viene invece titolato per precipitazione con lo ione $Cr_2O_7^{2-}$ ed il potenziale applicato all'elettrodo di Hg è 0 V vs SCE si osserverà soltanto la corrente di riduzione del $Cr_2O_7^{2-}$ a Cr^{3+} :

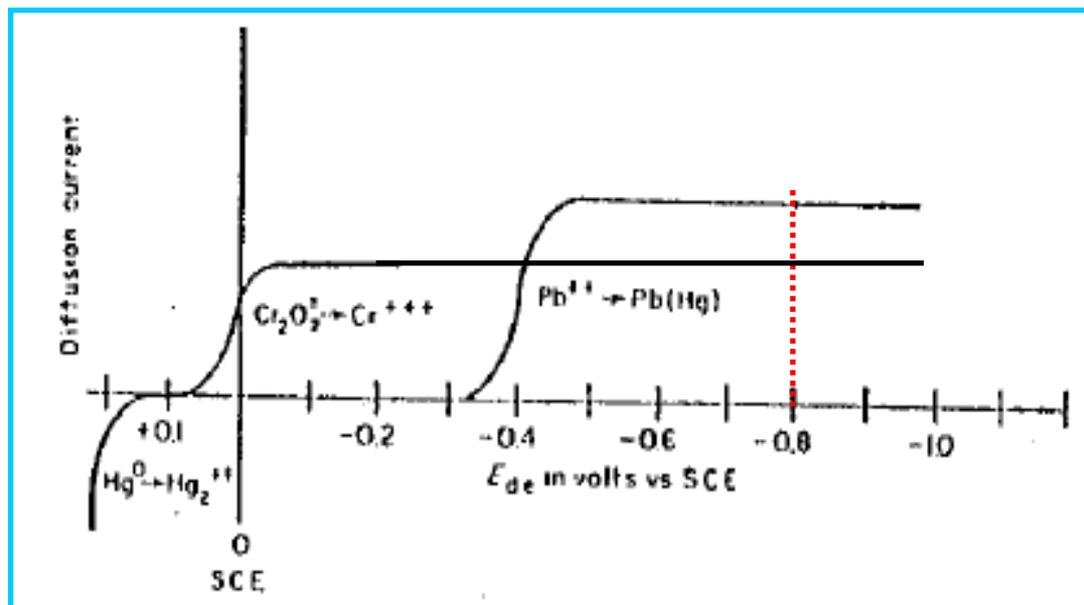


In questo caso la corrente sarà nulla prima del punto equivalente e subirà un incremento dopo esso, dovuto alla **riduzione del $Cr_2O_7^{2-}$ in eccesso**.

Si ottiene una **titolazione kick-off**:

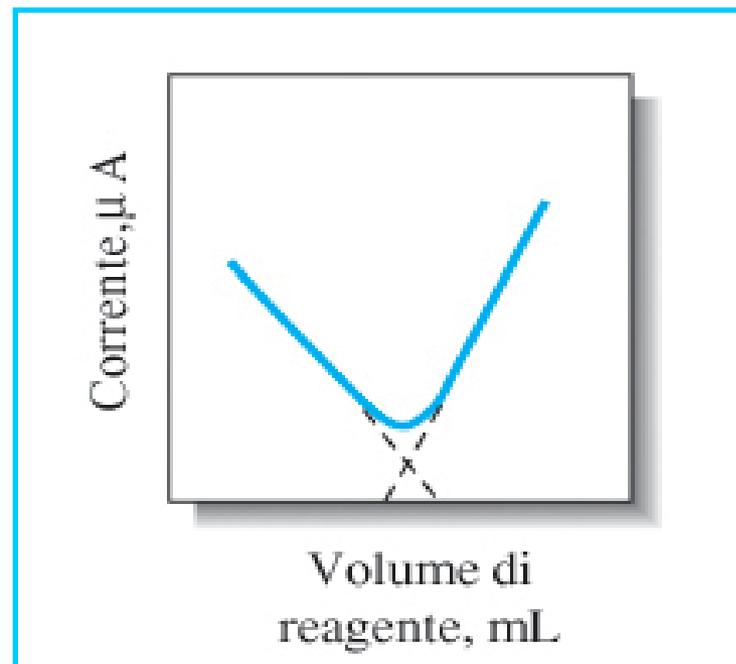


Se la stessa titolazione viene seguita applicando un potenziale di -0.8 V vs SCE sia il Pb^{2+} che il $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ saranno rivelabili per riduzione:



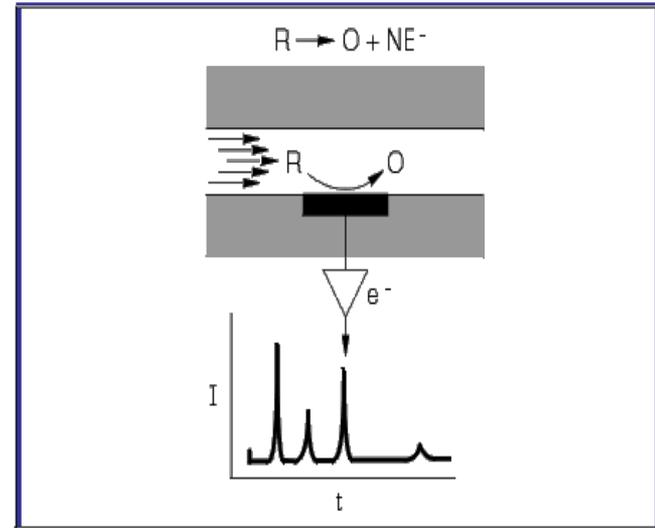
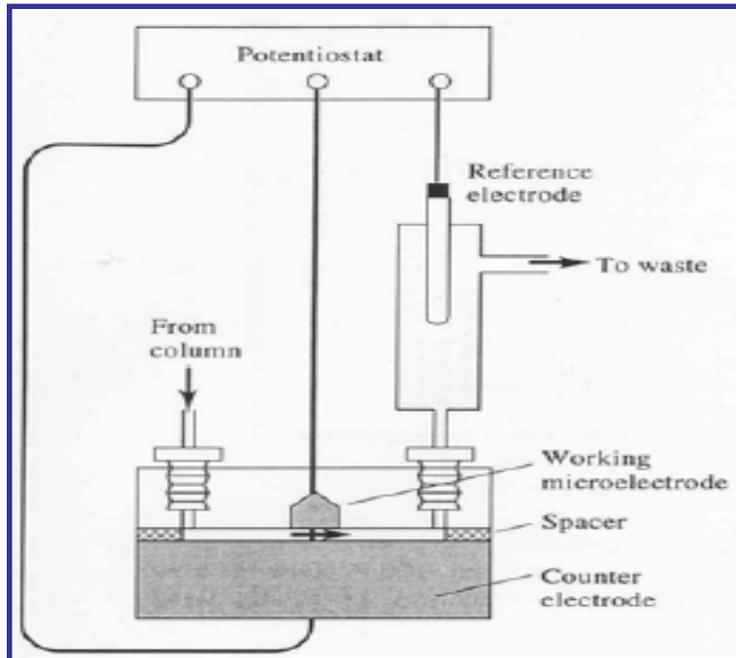
In questo caso la curva di titolazione avrà la forma di una V, perché i tratti iniziale e finale avranno entrambi una pendenza non nulla:

In tutti i casi il punto equivalente si ricava dall'incontro dei tratti rettilinei estrapolati, poiché al punto equivalente il responso effettivo si incurva:



Rivelatori elettrochimici in HPLC

La rivelazione di analiti separati mediante HPLC può avvenire tramite il monitoraggio della corrente di riduzione/ossidazione su una superficie elettrodica posta all'interno di una cella in flusso collegata alla colonna cromatografica.



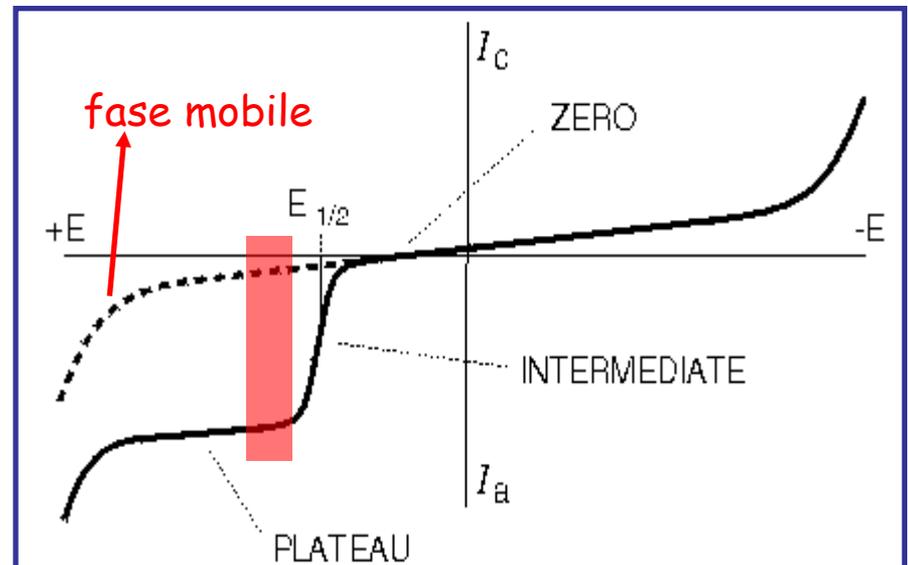
La necessità di mantenere molto piccoli i volumi interni della cella (per evitare allargamenti di banda) richiede configurazioni di cella a strato sottile, in cui gli elettrodi di lavoro e di riferimento e il controelettrodo si affacciano su un piccolo volume ricavato mediante uno spaziatore.

La rivelazione elettrochimica impone la presenza di un elettrolita di supporto, a concentrazioni comprese fra 0.01 e 0.1 M, nella fase mobile. In questo caso i solventi devono consentire la dissoluzione dell'elettrolita e non devono interferire con il processo redox.

Le fasi mobili tipicamente impiegate in HPLC per ripartizione in fase inversa o a scambio ionico sono compatibili con tali condizioni.

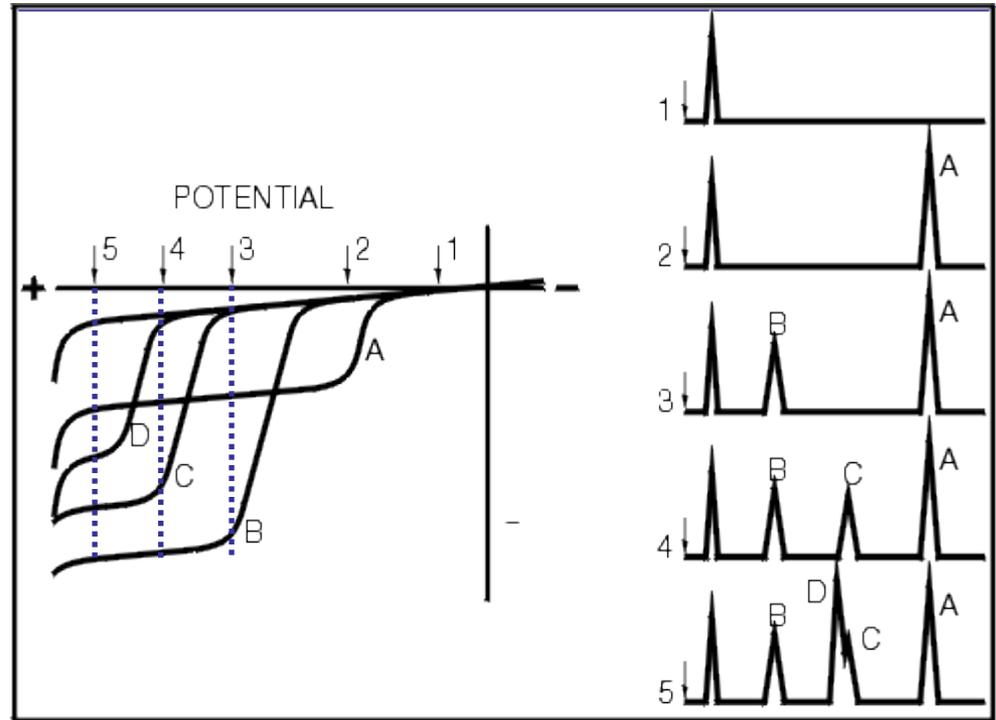
Uno stadio critico è inoltre rappresentato dalla scelta della tecnica voltammetrica, del potenziale di lavoro e della superficie elettrodica.

Di solito il tempo a disposizione per la rivelazione dell'analita non è sufficiente ad effettuare scansioni di potenziale, pertanto si preferisce rivelare l'analita ad un potenziale costante posto sul plateau della relativa onda polarografica:



Il potenziale applicato consente una certa specificità di rivelazione in presenza di analiti co-eluenti:

Nel caso 4 il potenziale è sufficiente a rivelare gli analiti A, B e C, ma non D che, pur co-eluendo parzialmente con C, non influenza il responso.

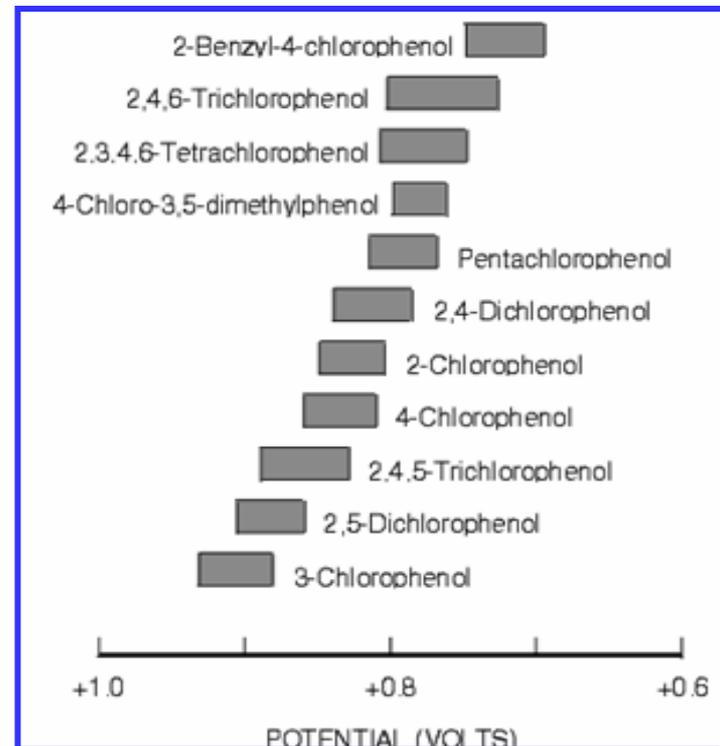
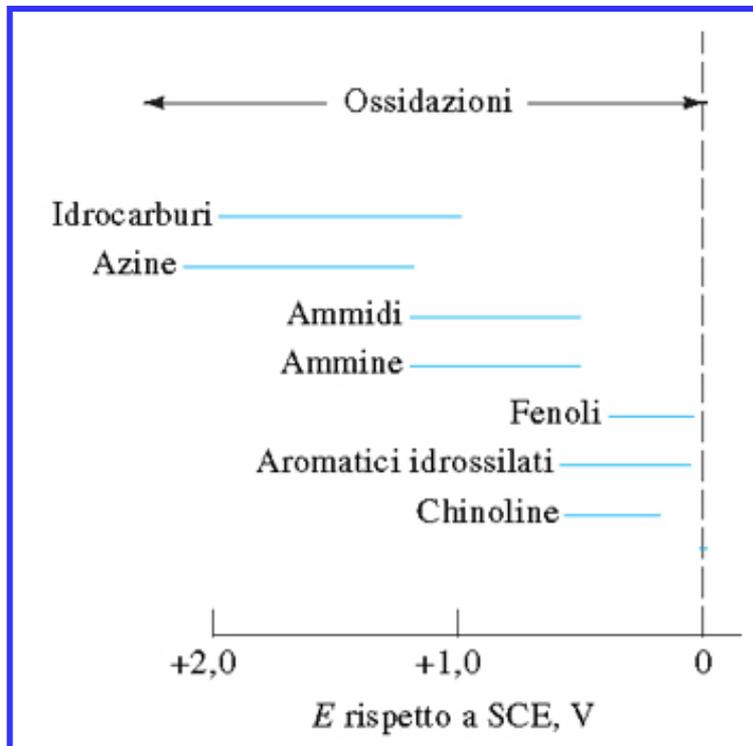


Tipicamente si impiegano elettrodi di lavoro in **carbone vetroso, oro, platino** e, specialmente per le riduzioni, **film di mercurio**.

Intervalli di potenziale impiegati nei rivelatori elettrochimici per HPLC

Nella maggior parte dei casi il processo redox sfruttato per la rivelazione di un composto separato mediante HPLC è un'ossidazione, che non richiede particolari precauzioni circa la presenza di ossigeno disciolto nella fase mobile.

Esempi di analiti facilmente rivelabili in ossidazione sono i seguenti:

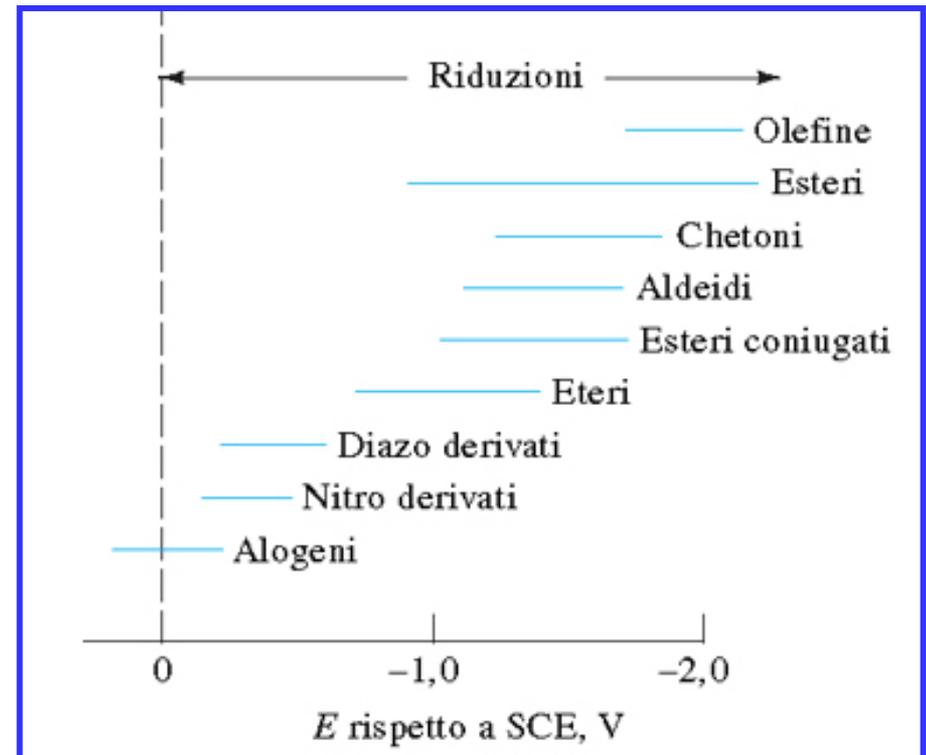


I processi di riduzione implicano l'uso di procedure molto scrupolose per eliminare dalla fase mobile, dal campione, e perfino dalla fase stazionaria nella colonna (su cui esso può essere adsorbito), l'ossigeno, che interferirebbe riducendosi anch'esso all'elettrodo.

Gli elettrodi di lavoro comunemente adottati per processi di riduzione sono il carbone vetroso e film di mercurio su substrati di oro.

I primi sono molto più stabili e durevoli, tuttavia possono essere impiegati fino a potenziali di circa -0.9 V (contro Ag/AgCl). Per valori inferiori la scarica di idrogeno diventa predominante e quindi occorre passare al mercurio.

Esempi di analiti separati mediante HPLC e rivelabili per riduzione.



Limiti di rivelabilità per i rivelatori elettrochimici

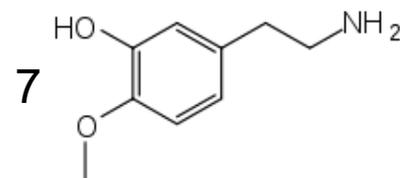
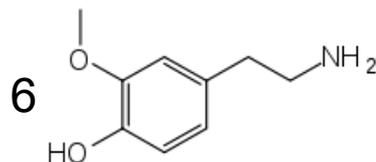
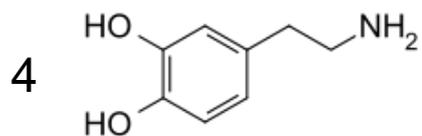
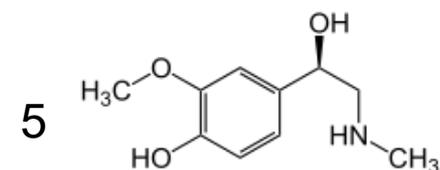
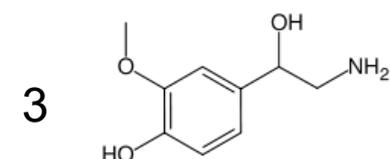
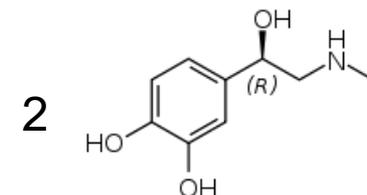
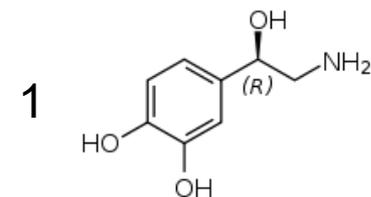
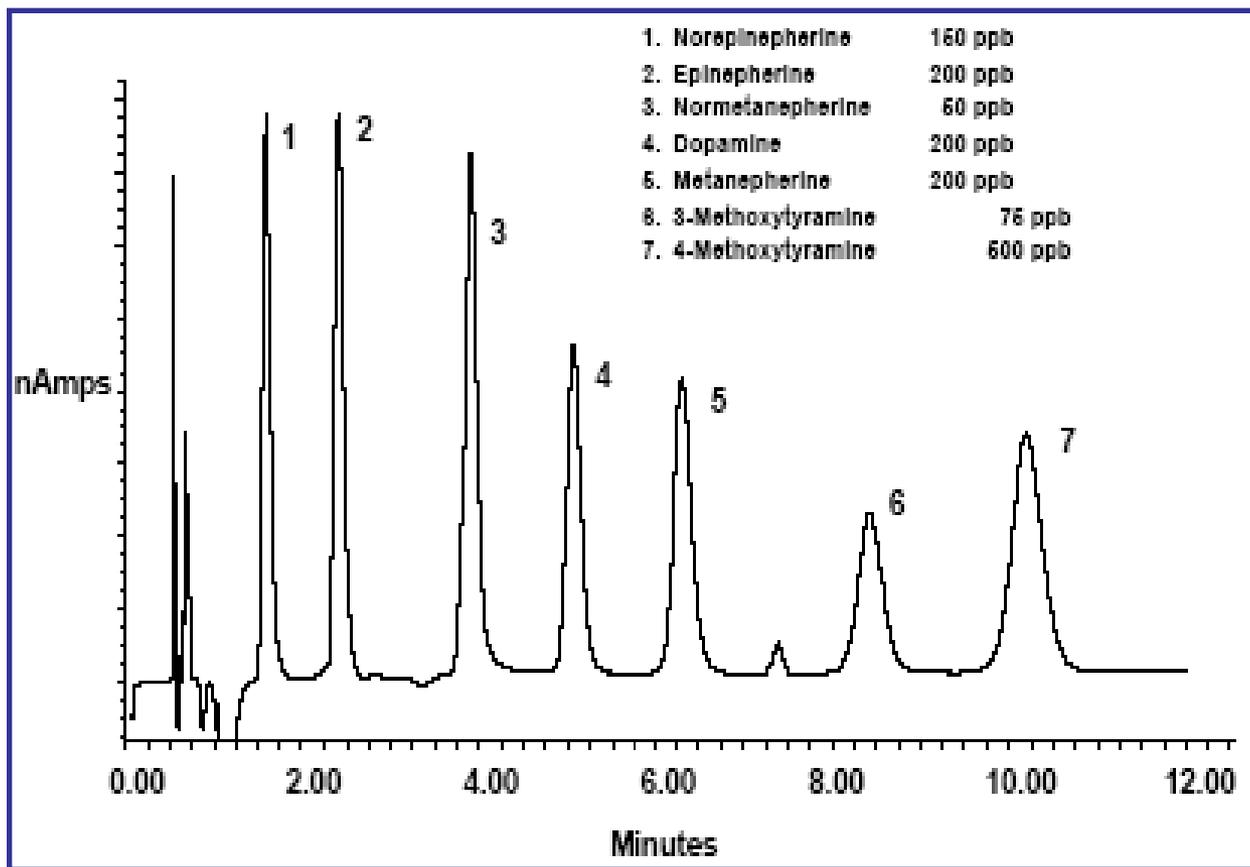
Rivelatori	LOD, g/mL	Minima quantità rivelabile
Indice di rifrazione	10^{-8}	100 ng-1 μ g
Assorbimento UV	10^{-11}	100 pg - 1 ng
Fluorescenza	10^{-13}	1-10 pg

Spettr. di massa	10^{-11}	100 pg - 1 ng
Conducibilità elettr.	10^{-10}	500 pg - 1 ng
Elettrochimici	$10^{-12} - 10^{-10}$	10 pg - 1 ng
Assorbimento IR	10^{-7}	1 μ g

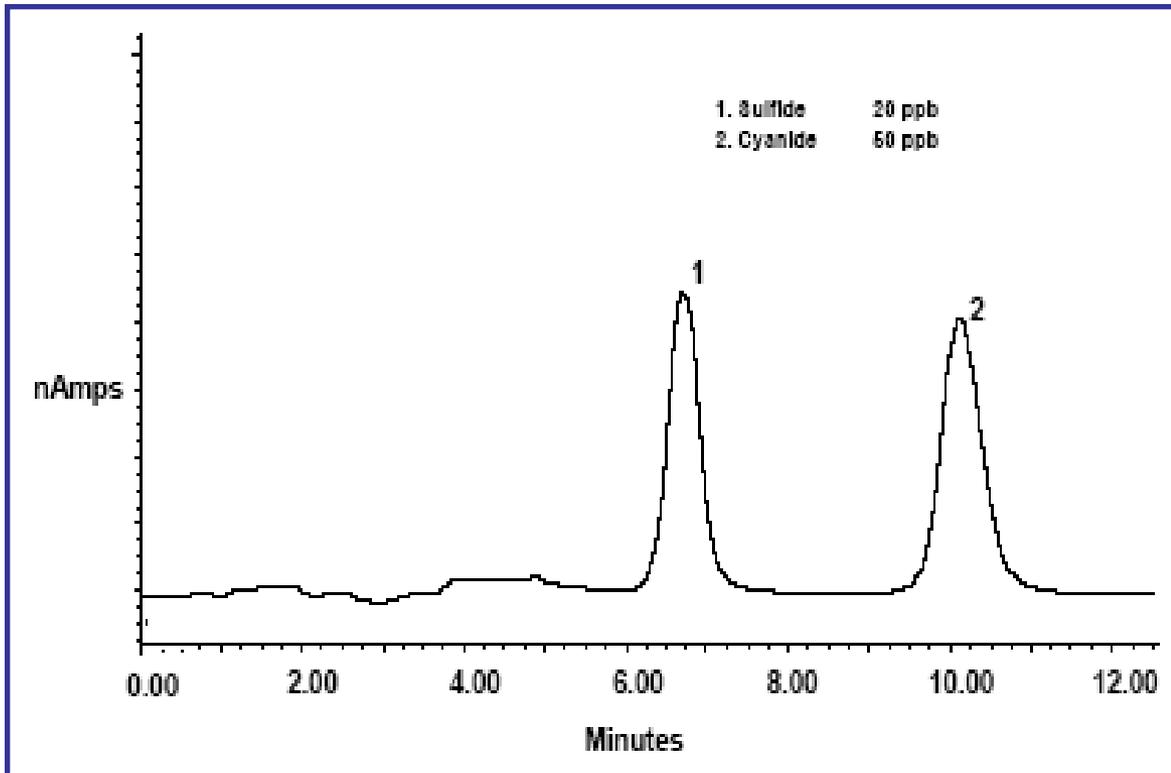
I rivelatori elettrochimici consentono di raggiungere sensibilità elevatissime, confrontabili con quelle della rivelazione per fluorescenza ma con il vantaggio, rispetto a questa, di una maggiore quantità di informazioni sull'identità dell'analita.

Esempi di applicazione

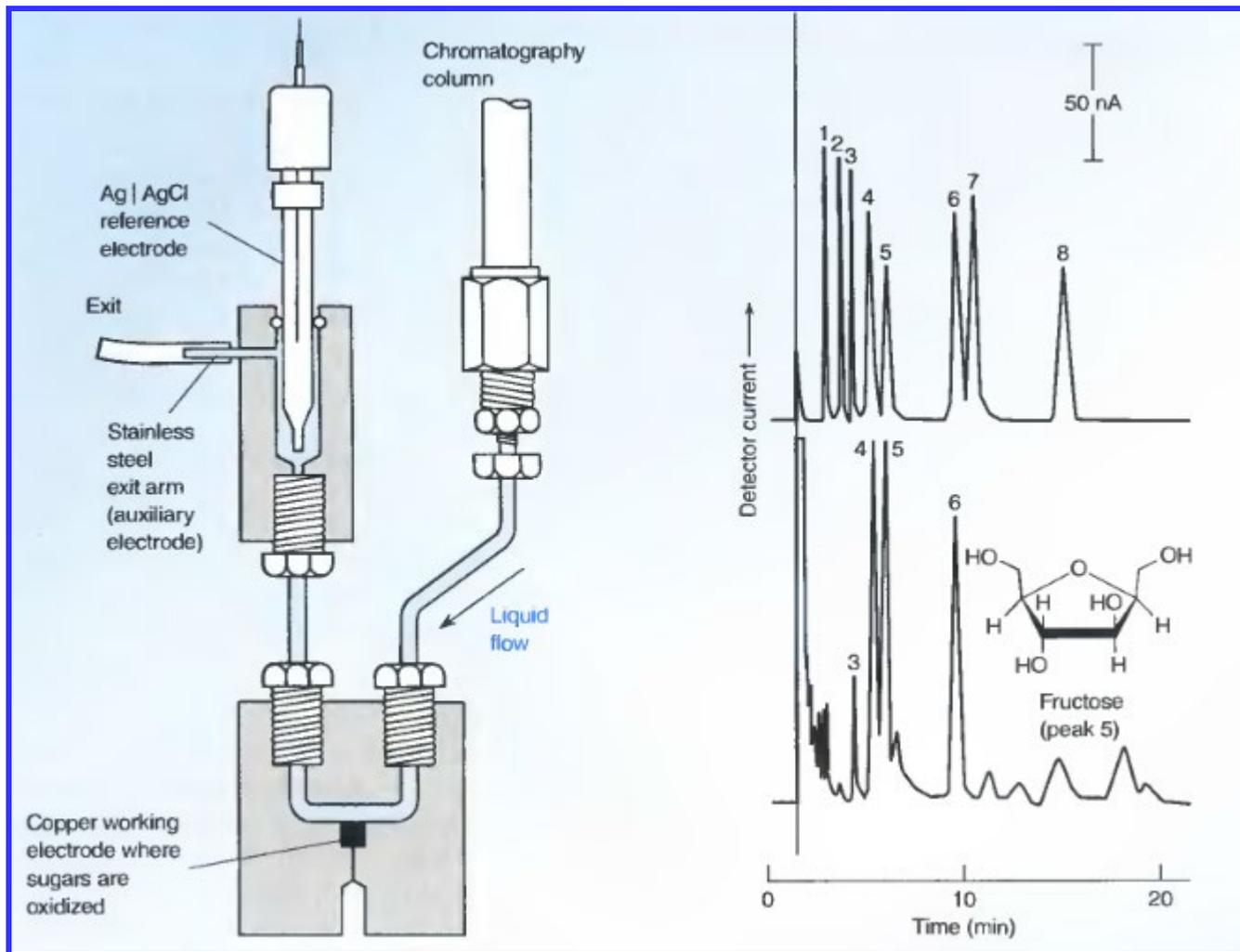
Rivelazione di una serie di ammine di interesse biomedico



Rivelazione di anioni
inorganici elettroattivi



Rivelazione amperometrica su elettrodo di rame di zuccheri separati mediante cromatografia a scambio anionico in fase mobile basica.



Standard

1. Fucosio
2. Metil-glucosio
3. Arabinosio
4. Glucosio
5. Fruttosio
6. Lattosio
7. Saccarosio
8. Cellobiosio

Campione

Birra diluita 1:100
con acqua e
filtrata su filtri
da 0.45 μm