

Tóth Klára
az MTA levelező tagja

Szelektív érzékelők jelentősége a kémiai analízisben

Elhangzott 1996. június 18-án

Mint minden tudományterületnek, az analitikai kémiának a fejlődését is egyfelől a társadalmi igények, elvárások, másfelől pedig a tudományos, technológiai háttéredmények határozzák meg. A társadalom elvárásai húzóerőként jelentkeznek, míg az új technológiai eredmények mint „tolóerők” a fejlődés lehetőségét biztosítják. Napjainkban a környezetünk és egészségünk védelme, az új energiaforrások keresése, az új ipari technológiai folyamatok bevezetése és nyomon követése számos olyan analitikai problémát vet fel, amely komoly kihívást jelent az analitikai kémia számára. Az e területeken jelentkező elvárások, valamint a számítástechnika, az elektronika és az anyagtudomány eredményei serkentőleg hatnak a kémiai analízis különböző területeinek a fejlődésére, és fokozatosan formálják, gazdagítják eszköztárát. Így a különböző fizikai, kémiai és élettani folyamatok nyomon követése iránt megnövekedett igények, valamint a mikroelektronika és a számítástechnika eredményei biztosította lehetőségek – egymás hatását erősítve – azt eredményezték, hogy a szenzor kutatás a modern analitikai kémia egyik legdinamikusabban fejlődő területévé nőtte ki magát. A mikroelektronikában bekövetkezett fejlődés két irányból is hozzájárult az érzékelők fejlesztéséhez. Egyrészt a kidolgozott, új félvezető-technológiák lehetővé tették új típusú, miniatürizált szenzorok kialakítását, másrészt az elektronika és a számítás-

technika fejlődésével terjedt a technológiai folyamatok automatizáltsága, növelve ezzel az érzékelők alkalmazásának a feltételeit és lehetőségeit. A legtöbb, gyakorlatban használt érzékelő fizikai sajátosság (hőmérséklet, nyomás, helyzet stb.) jelzésére szolgál, de jelentős az igény környezetünk kémiai összetételéről információt adó kémiai és bioszenzorokra is.

A kémiai érzékelők (szenzorok) integrált analitikai eszközök, amelyek alkalmasak egy adott, bonyolult összetételű rendszerben az ionok vagy molekulák kvalitatív felismerésére és mennyiségi meghatározására. A kémiai szenzorok esetében a mennyiségi meghatározás alapját képező, az adott anyagféleség koncentrációjától függő analitikai jel képzése általában felbontható egy molekuláris szintű kémiai felismerési és egy – a felismeréssel együtt járó – a kémiai információt átalakító jelátvivő folyamatra. A jelképzés bizonyos mértékű jelerősítéssel jár együtt, nagysága a jelátvitelre választott analitikai módszertől függ. A jelenleg használt kémiai érzékelők jelentős része elektrokémiai jel mérése alapján működik. Ismerünk potenciometriás, voltammetriás, konduktometriás és félvezető típusú kémiai érzékelőket. Emellett fontosak az optikai jel mérésén, illetve tömegmérésen alapuló szenzorok is.

A kémiai érzékelők analitikai jellemzői közül fontos kiemelni a szelektivitást, a szenzor azon tulajdonságát, amellyel különbséget tud tenni a kémiaiilag hasonló ionok és molekulák között. Ez a tulajdonság összhangban van a szenzor működését megszabó felismerő anyag, illetve a felismerési folyamat jellegével, és jellemzésére a szelektivitási tényező szolgál. A jelenleg használt különböző típusú felismerő anyagokról az 1. táblázat ad áttekintést. (A kémiai érzékelők azon alcsoportját, amelyeknél a felismerő anyag biológiai eredetű és/vagy a szelektív jelzés biológiai jellegű felismerési folyamatra épül, *bioszenzoroknak* nevezzük.) A szelektivitás mellett a kémiai szenzorok jellemzésére olyan paraméterek szolgálnak, mint a koncentrációérzékenység, válaszidő, stabilitás és reprodukálhatóság. Végül fontos megemlíteni, hogy a szenzorok működését megszabó kémiai folyamatok általában reverzibilisek, ami biztosítja az ismételt felhasználhatóságot.

A kémiai érzékelők fő alkalmazási területei a klinikai kémia, a fiziológia, a környezetvédelem, az élelmiszer-kémia és a gyógyszer-analitika. Kémiai szenzorok segítségével történik például az altatógázok (N_2O), a toxikus gázok (CO , H_2S , Cl_2 , NH_3) és a léghézagban részt vevő gázok monitorálása. Fontosak a neonatológiában használatos oxigénmérő elektródok, az emberi szervezet elektrolit-háztartását jellemző ionok meghatározására alkalmas ionszenzorok és a különböző élettani szempontból fontos molekulákat, metabolitokat (glükóz, karbamid) mérő molekulaszzelektív érzékelők. A kör-

Különböző típusú szenzorfelismerő anyagok

Felismerő anyag	Biokatalizátorok	Receptor típusú anyagok
Biológiai eredetű	Izolált enzimek Mikrobák Élő szövetek Sejtszervek	Fehérjék Antitestek DNS-szegmensek
Nem biológiai eredetű	Szintetikus enzimek	Szervetlen sók Szerves komplexképzők Kontrollált kötőhelyeket tartalmazó polimerek

nyezetanalitikában többek között a nehézfémionok, légszennyező gázok, toxikus szerves gőzök és növényvédőszer-maradványok koncentrációjának a nyomon követése valósítható meg szelektív kémiai szenzorokkal.

Előadásomban a kémiai érzékelők közül részleteiben a szerves komplexképző ligandum (ionofór) alapú ionszelektív elektródok és optikai szenzorok csoportját szeretném bemutatni, kiemelve analitikai jelentőségüket, fejlesztésük főbb irányvonalait és speciális alkalmazásukat.

Az ionszelektív elektródok (szenzorok) fejlesztésének főbb állomásai

Az ionszelektív elektródok kutatása a hidrogénion-szelektív üvegelektrod felfedezésével indult el a 20. század elején [1, 2], és a potenciometriás elektródok és méréstechnikák ugrásszerű fejlődését eredményezte.

A potenciometriás ionszelektív elektródok történetében a hazai kutatások többször is iránymutató, meghatározó szerepet játszottak. Az alkáliion-szelektív üvegmembránok fejlesztése Lengyel és Blum munkássága nyomán indult el (1934), akik az üvegmembrán szerkezetének Al_2O_3 - és/vagy B_2O_3 -dal való módosításával jelentős nátriumion-szelektivitást értek el [3]. A hazai üvegelektrod-kutatásokat Lengyel, Boksay és Csákvári vitték tovább, nemzetközileg elismert eredményeket érve el [4–6].

Az üvegelektrodok terén nyert eredmények indították el a nem üvegmembrán alapú elektródok fejlesztésére irányuló vizsgálatokat. Számos egyéb anyagból, elsősorban zeolitokból, szervetlen csapadékokból, ioncserélő

tulajdonságú porózus membránokból alakítottak ki heterogén és homogén felépítésű membránokat, és vizsgálták szelektív ionfelismerő tulajdonságukat az 1930-as évektől kezdődően [pl. 7–11]. A nem üvegmembrán alapú ionszelektív elektródok fejlesztése területén Pungor Ernő és munkatársai végeztek nemzetközileg elismert, úttörő munkát (1961–1970). Az első áttűtő sikert a heterogén felépítésű jodidion-szelektív elektród kialakítása jelentette [12], amelyet a szilikongumi hordozófázisú elektródok egész sora követett [13–20]. Alapkutatói munkáik kiterjedtek a szervesen csapadék alapú elektródok potenciometriás tulajdonságainak (szelektivitás, válaszütem) tanulmányozására is [21–24]. A szervesen csapadék, illetve egykristály alapú elektródok közül a kémiai analízisben a fluorid-, klorid-, szulfid-, cianid-, ólom-, kadmium- és réz(II)elektródok terjedtek el.

Az első szerves komplexképző (ionofór) alapú elektródról szóló közlemény bemutatta (1967), hogy a biológiai membránokon keresztül szelektív iontranszportot biztosító makrociklusos vegyületek – antibiotikumok, mint a nonactin, monactin vagy valinomycin – mesterséges hidrofób membránokban is kitüntetett ionszelektivitást mutatnak [25–28]. Ezzel a felismeréssel indult el a természetes és szintetikus ionofórok ionszelektív elektródok felismerő anyagaként történő alkalmazására irányuló, Wilhelm Simon és munkatársai végezte úttörő munka. Több mint ezer vegyületet szintetizáltak ionszelektív elektródok kialakítása céljából, és számos, elsősorban alkáli- és alkáliföldfém-ion mérésére fejlesztettek ki szelektív érzékelőket ionofórok felhasználásával [29–32].

Az ionszelektív elektródok kutatásának főbb állomásait, beleértve a potenciometriás gázérezékelőket és bioszenzorokat is, összefoglalóan a 2. táblázat tartalmazza.

2. táblázat

Az ionszelektív elektródok kutatásának rövid története

1906	H ⁺ -szelektív üvegelektrod	Cremer, Haber & Klemensiewicz
1934	Na ⁺ -szelektív üvegelektrod	Lengyel & Blum
1958	Potenciometriás CO ₂ -gázszenzor	Severinghaus
1961–65	Szerveetlen csapadék alapú szilikongumi (SR) elektród (Cl ⁻ , Br ⁻ , I ⁻ , Ag ⁺)	Pungor
1966	LaF ₃ alapú F ⁻ -szelektív elektród	Ross & Frant
1966	Valinomycin alapú K ⁺ -szelektív elektród	Simon
1967	Folyékony ioncserélő alapú Ca ²⁺ -szelektív érzékelő	Ross
1969	Potenciometriás bioszenzor	Guilbault
1970	Ionszelektív térvezérlő tranzisztor (ISFET)	Bergveld
1980	Potenciometriás immunérezékelő	Umezawa

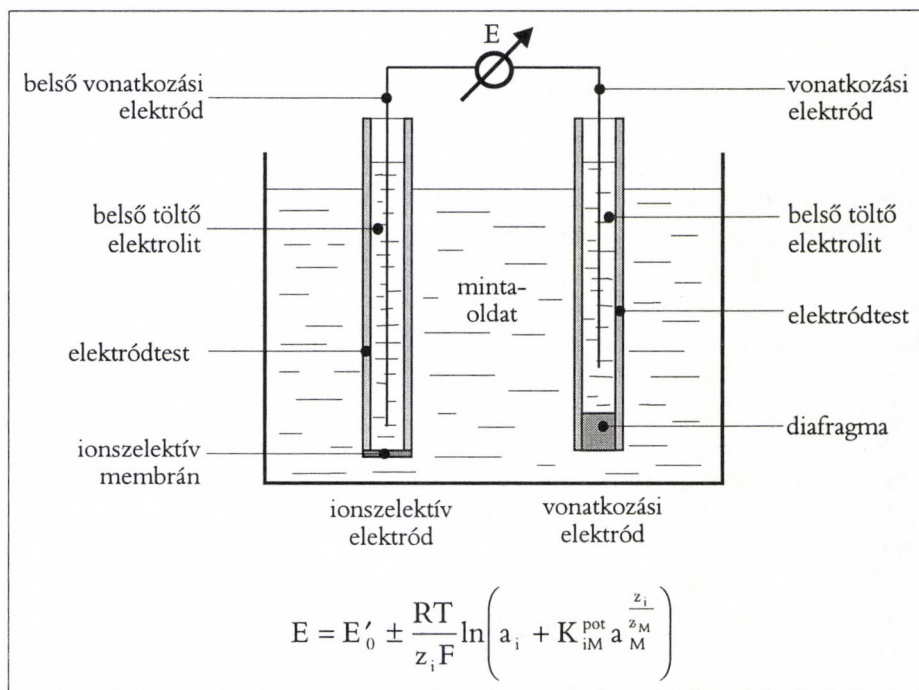
Szerves ligandum (ionofór) alapú ionszelektív elektródok

Az elektródok felépítése és jelentősége

Az ionszelektív elektródok membrán alapú érzékelők, melyek a szelektív felismerő anyagot membránban immobilizálva tartalmazzák. A biológiai minták analízisére különösen elterjedt ionszelektív érzékelők felismerő anyaga természetes vagy szintetikus, vízben rosszul oldódó, elektromosan semleges szerves ligandum (ionofór, receptor). Az ionofór-tartalmú membránokat korábban oly módon állították elő, hogy a szerves ligandumot egy vízzel nem elegyedő oldószerben feloldották, majd az oldatot alkalmas hordozóra, például egy porózus membránra vitték fel. Ez a membrán képezte az elektródok érzékelőrészét. Napjainkban a porózus membránokat szinte teljesen kiszorították a lágy poli(vinil-klorid) (PVC) membránok (folyadékmembránok) [33], amelyek tipikus összetétele: 1% ionofór (felismerő anyag), 33% PVC, 66% PVC-lágyító [pl. bis(2-etilhexil)szecacát, DOS vagy 2-nitrofenil-oktil-éter, oNPOE], valamint néhány tízedszázalék ioncserélő tulajdonságú lipofil só, ún. adalékanyag [pl. kálium-tetrakis(4-klorofenil)borát, KTpCIPB]. A PVC-membránok mellett kifejlesztettek még szilikongumi [34–37] és poliuretán hordozófázisú membránokat is, elsősorban biológiai célokra [38–40].

Az ionszelektív elektródok általában szimmetrikus felépítésűek; az ionszelektív membrán és az elektrokémiai műszer közötti kapcsolatot egy adott összetételű elektrolit és egy állandó potenciálú vonatkozási elektród (referenciaelektród) biztosítja. A potenciometriás jelképzés felismerési lépése a vízzel nem elegyedő membrán/oldat határfelületen lejátszódó szelektív komplexképzési reakció. A konvencionális felépítésű (makroméretű) ionszelektív elektródot tartalmazó potenciometriás mérőcella felépítését és az elektródpotenciál (cellafeszültség) ionaktivitás-függését az 1. ábra szemlélteti.

Az ionofór alapú ionszelektív elektródok analitikai szempontból fontos jellemzőit az ionofór tulajdonságai és az ionszelektív membrán sajátosságai együttesen határozzák meg. Az elektródok élettartama a membránösszetevők lipofilitásától függ. Az analitikai jellemzők közül elsőrendűen fontos a szelektivitási tényező (K_{iM}^{pot}), amely különböző potenciometriás módszerekkel határozható meg [41]. Az elektródok szelektivitási sajátossága általában kedvező, működési koncentrációtartományuk több nagyságrendet fog át, és a dinamikus viselkedésükre jellemző válaszidő néhány 100 ms-os tartományban van. Ezek az analitikai tulajdonságok különösen vonzóvá teszik ezen szenzorokat ionaktivitások *in situ* nyomon követésére.



1. ábra. Potenciometriás mérőcella felépítése

a_i : a mérendő ion aktivitása, a_M : a zavaró ion aktivitása, K_{iM}^{pot} : szelektivitási tényező, E : cellafeszültség, E'_0 : a mérendő ion aktivitásától független állandó

A klinikai kémiai és neurofiziológiai jelentőséggel bíró ionok potenciometriás vizsgálati lehetőségeiről a 3. táblázat ad eligazítást [42]. A jelenleg ismert lítium- és magnéziumérzékelők szelektivitása nátrium- és kalciumionok jelenlétében gyakran nem éri el a biológiai minták által megkívánt értékeket, ezért ezen ionok zavaró hatása csak megfelelő matematikai módszerek (kemometria) segítségével szűrhető ki. Számos, biológiai szempontból fontos anion mérésére még nem áll rendelkezésre ionszelektív elektród, illetve az elektródfejlesztés jelenleg még kísérleti stádiumban van. Látható viszont, hogy a kálium-, nátrium- és a kalciumszelektív elektródok a klinikai kémia és fiziológia mindennapi vizsgálóeszközeivé váltak. A teljes vérben, vérszérumban és vizeletmintákban az ionaktivitások, ionkoncentrációk mérését a nagyszámú minta analízisigényét kielégítő, átáramlásos analizátorokkal végzik átfolyó mérőcellába épített ionszelektív elektródokkal, amelyek az esetek többségében ionofór alapúak. Kivételt a pH és a kloridion mérése jelent,

amelyre a klinikai gyakorlatban gyakran üvegelektrodot, illetve folyékony anioncserélő alapú elektrodot használnak. Az ionszelektív elektrodokra épülő, átáramlásos analizátorok óránként több száz minta analízisét végzik el rutinszerűen, esetenként egy mintából több összetevőt is meghatároznak. Az analízis mintaigénye néhány száz μl .

3. táblázat

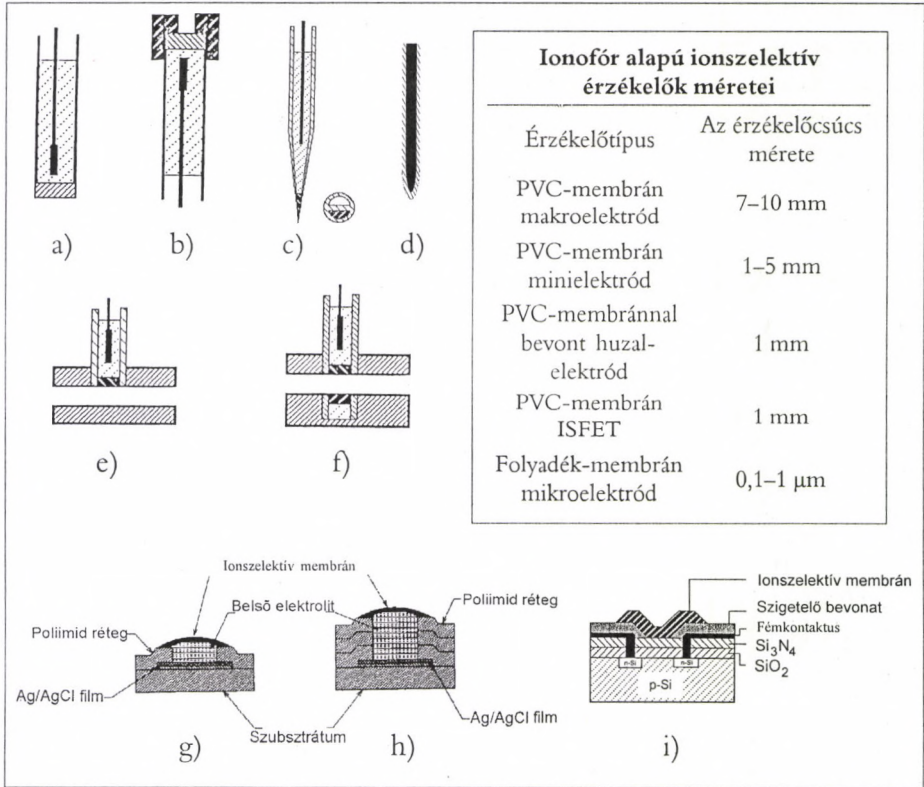
Az ionszelektív elektrodok klinikai, neurofiziológiai alkalmazásai

Mérendő ion	Intracelluláris	Extracelluláris
H_3O^+	igen	igen
Li^+	*	kemometria
Na^+, K^+	igen	igen
Mg^{2+}	igen	kemometria
Ca^{2+}	igen	igen
HCO_3^-	*	igen
CO_3^{2-}	*	igen
Cl^-	*	igen
Br^-	—	—
$\text{HPO}_4^{2-}, \text{H}_2\text{PO}_4^-$	—	—
$\text{SCN}^-, \text{SO}_4^{2-}$	—	—

* fejlesztés alatt

Az ionszelektív mérőérzékelők fiziológiai vizsgálatokhoz történő adaptálása megköveteli a szenzor méreteinek μm tartományig történő csökkentését, miniatürizálását, geometriájának gondos megválasztását. A lágy PVC-membránok biztosította előnyök felhasználásával rendkívül sokféle geometriájú, ionofór alapú elektrodot sikerült kidolgozni, amelyek skáláját, felépítését a 2. ábrán mutatom be, feltüntetve a mérőcsúcsadatokat is. A sejtfelszíni, a sejt közötti térben és a sejten belüli mérésekre a mikropipetta típusú mikroelektrodok, a szilárd belső elvezetésű bevont huzal-elektrodok és a planáris felépítésű mikroelektrod-konstrukciók bizonyultak előnyösnek. A $0,1 \mu\text{m}$ mérőcsúcs-átmérőjű, mikropipetta típusú kalciumion-szelektív szenzort például sikeresen használták sejtek (mintatérfogat: 10^{-12} l) kalciumion-koncentrációjának mérésére [43]. Az érzékelő alsó mérési határa a legjobb esetben, kalciumionra nem puffertolt oldatokban 10^{-7} mol/l, míg kalciumion puffertben 10^{-9} mol/l.

Az elmúlt húsz évben a térvezérlésű (ISFET) szenzorok iránti érdeklődés folyamatosan nőtt. Sajnálatos módon azonban ezen mikroelektronikai egységek nem terjedtek el az orvosi biológiai gyakorlatban – sokkal inkább a planáris felépítésű, ionszelektív lapok. Hidrogénion-szelektív planáris szenzorok



2. ábra. Ionofór alapú folyadékmembrán érzékelők geometriája és mérete
 a, b: makroméretű ionszelektív elektród; c: mikropipetta típusú elektród;
 d: bevont huzal-elektród;
 e, f: átáramlásos elektród; g, h: planáris felépítésű elektród; i: ISFET

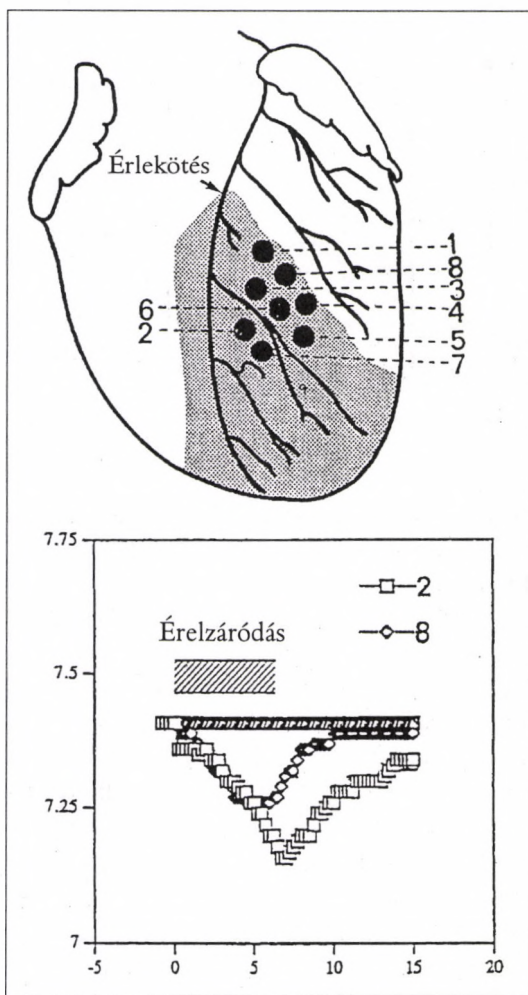
érdekes alkalmazása látható a 3. ábrán bemutatott *in vivo* kísérletben [44]. A szenzoregyüttessel az O₂-hiány következtében kialakuló pH-változásokat mind térben, mind időben sikerült nyomon követni.

A folyadékmembrán szerkezete; a membránkomponensek szerepe a potenciometriás jel kialakításában

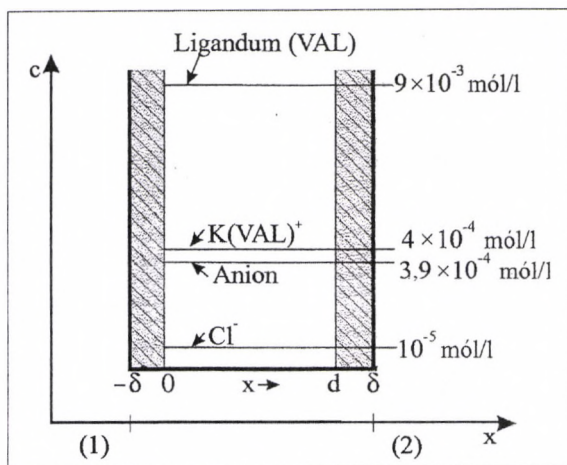
Az ionofór alapú lágú PVC-membránelektrodok működési mechanizmusának felderítésére irányuló, impedancia-spektroszkópiái, atomabszorpciós, radioaktív nyomjelzéses és reflexiós infravörös spektroszkópiái (FTIR-ATR)

vizsgálatok alapján ismertté vált, hogy a PVC-membránok olyan kis ioncsere-kapacitású (kb. 0,5 mmól/kg) kationcserélők, amelyekben a kötött, negatív ioncserélő helyek koncentrációja állandó. Az ioncserélő jelleg a PVC-mátrix tulajdonsága [45, 46]. A negatív ioncserélő centrumok ellenionjai ionofórt nem tartalmazó, ún. vakmembránban leggyakrabban nátrium-, kalcium- és hidrogénionok. A membrán negatív kötőhelyeihez kapcsolódó ellenionok a vizes oldatban való kondicionálás során kicserélődhetnek a membránnal érintkező elektrolit ionjaira. A semleges természetű ionofór-tartalmú, lágy PVC-membrán tömbfázisában viszont a negatív kötőhelyek ellenionjai ionofór-kation komplexek. A negatív töltésű kötőhelyek koncentrációja a membránban növelhető lipofil sók beépítésével. A membránhoz hozzáadott lipofil só befolyásolja a membrán ioncsere-szelektivitását, csökkenti a membrán ellenállását és a válaszdíőt.

A PVC-membránban lévő negatív ioncserélő, illetve kötőhelyek biztosítják a membrán permszelektivitását. Az ellenionok és a kötőhelyek koncentrációja a membrán tömbfázisában jó közelítéssel megegyezik. A valóságban az ellenionok membránon belüli koncentrációja kis mértékben meghaladhatja a kötőhelyek koncentrációját, mivel nem zárható



3. ábra. Az oxigénhiány következtében megváltozott vér-pH in situ tanulmányozása sertésszívre helyezett planáris szerzők segítségével koronária-ligáció után. Az elektródok elhelyezkedését a felső, a megfigyelt pH-csökkenést az alsó ábra mutatja [44]



4. ábra. Káliumszelektív lágy PVC-membrán szerkezete és a membránalkotók eloszlása

Membránösszetétel: 1% valinomycin (VAL), 66% DOS, 33% PVC, ▨ határfelületi réteg

(moláris koncentráció) a membránban meghaladja a kötött és/vagy az elmozdulásra képes ioncserélő helyek koncentrációját. Abban az esetben, ha az ionofór koncentráció kisebb, mint az aktív kötőhelyek koncentrációja, a membrán elveszti az ionofór által biztosított, előnyös ionszelektivitást, és a klasszikus ioncserélőkre jellemző szerényebb szelektívítási tulajdonságokat mutat. A potenciáljel az ionofór tulajdonsága által meghatározott, a membrán/oldat határfelületen lejátszódó, szelektív komplexképzési „ioncsere-folyamat” eredménye. Az ioncsere-folyamat kinetikáját nagymértékben befolyásolja a membrán oldattal érintkező határfelületi rétegének a szerkezete. Az ionszelektív folyadékmembránokkal végzett impedancia-spektroszkópiai vizsgálatok és a transziens potenciáljelek analízisének eredményei több esetben a membrán tömbfázisától eltérő tulajdonságú határfelületi réteg jelenlétére utaltak [48, 49]. Egy tipikus összetételű valinomycin- (VAL) ligandumot tartalmazó káliumion-szelektív PVC-folyadékmembrán szerkezetét és a membránalkotók eloszlását a membrán tömbfázisában a 4. ábra szemlélteti [47].

A membrán-határfelületi rétegek szerkezetének, a membránkomponensek eloszlásának *in situ* tanulmányozására a molekulaszzelektív FTIR-ATR spektroszkópiai módszer különleges lehetőségeket kínál [50, 51, 52]. E módszerrel a PVC-membrán határfelületi rétegének általában 0,1–3,1 μm -es

ki az ioncserélő helyekkel azonos töltésű, ún. *co-ionok* sóformában történő extrakciója [47].

A lágy PVC-membránok ioncsere-szelektivitásának a növelése, illetve nagy szelektívítási ion-szenzorok kialakítása céljából elektromosan semleges ligandumot építenek a membránba. Az ionszelektív ligandumok általában nagy lipofilitásúak, és jól oldódnak a hidrofób folyadékmembránban. A megfelelő szelektívítási szempontjából kívánalom, hogy az ionofór koncentrációja

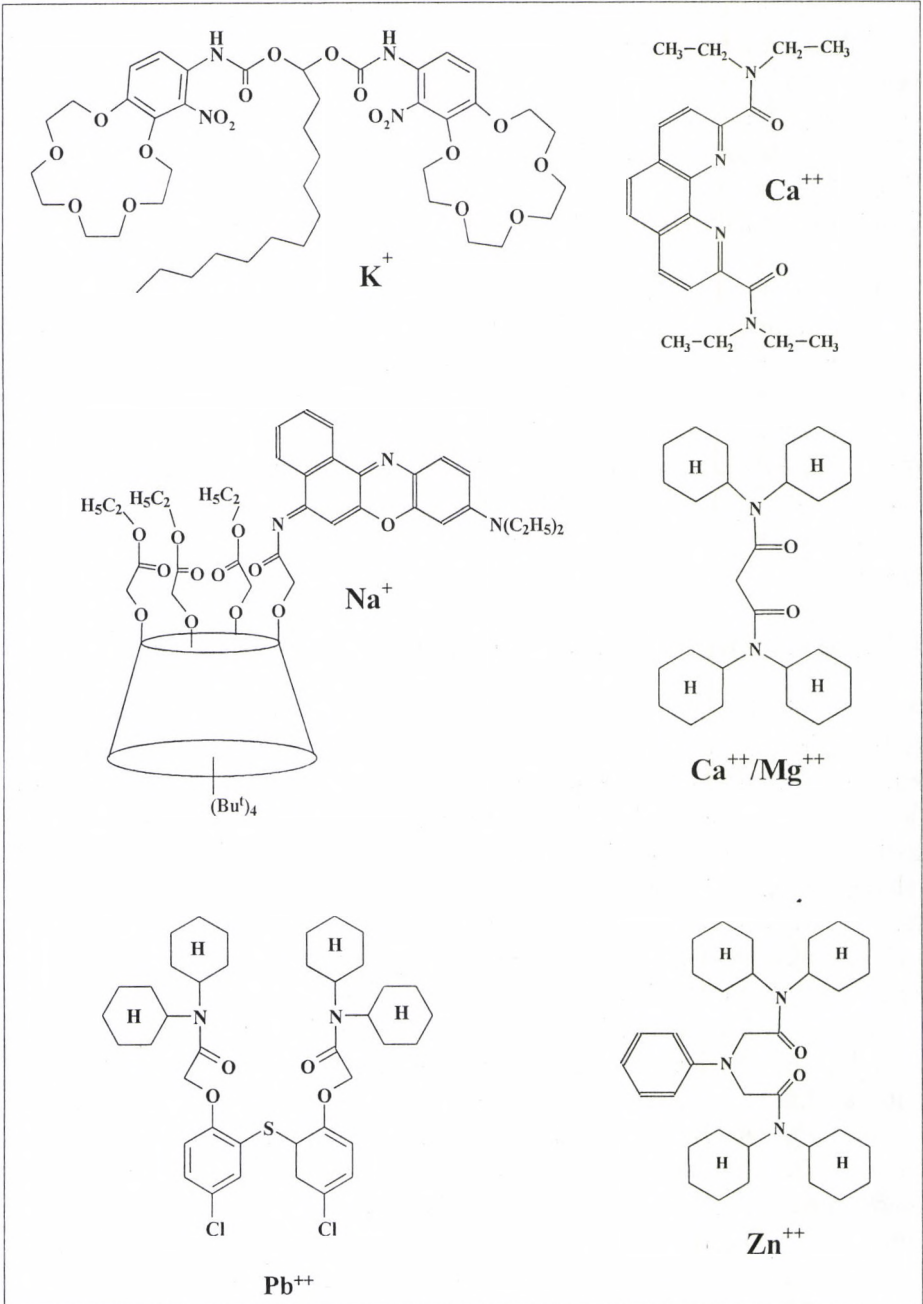
tartománya vizsgálható, lehetőséget adva a membránalkotók mélységi eloszlásának kvantitatív tanulmányozására és a határfelületi rétegek szerkezetének vizsgálatára. Az infravörös sugárzás behatolási mélysége egy adott membrán esetében a reflektáló elem anyagától és a hullámhossztól függ. A FTIR-ATR-vizsgálatok egyértelműen alátámasztották azt a feltételezést, amely szerint a PVC-membrán felületi rétegében a membránlágyító dúsult, ami eltérő elektromos tulajdonságokat (válaszidő- és membránellenállás-növekedést) kölcsönöz a membránnak.

Az *in situ* FTIR-ATR módszerrel meghatározott, a membránon belüli diffúziós folyamatok sebességére vonatkozó eredményeket a néhány 100 ms-os válaszidő mérések tükrében vizsgálva, egyértelművé vált, hogy az ionofór alapú elektródok potenciálválaszát (átmeneti függvényeit) alapvetően a fázishatáron lejátszódó, rendkívül gyors és reverzibilis töltés-szétválasztódást eredményező szelektív komplexképzési reakció, tágabb értelemben vett „ioncsere-folyamat” határozza meg [53, 54]. Ezek a vizsgálatok rendkívül fontosak voltak az ionofór alapú elektródok működésére vonatkozó elméletek (határfelületi jelenségek kontra membrántranszport) körüli dilemma tisztázásában.

Új típusú komplexképző ligandum (ionofór) alapú elektródok

Az élettani folyamatok során bekövetkező ionaktivitás-változások időben és térben történő nyomon követése iránti igények és a különböző fiziológiai kutatások során az elektródok tulajdonságaival kapcsolatosan megfogalmazódott elvárások az ionszelektív elektródok kutatásának új irányait indították el. Ez egyfelől az érzékelők élettartamát befolyásoló tényezők tanulmányozását jelentette, másfelől pedig igényként vetődött fel élettani szempontból fontos újabb ionok (pl. Zn^{2+} , Mg^{2+} , Al^{3+}) biológiai közegekben való meghatározása [55]. Szöveteket vizsgálva az intra- és extracelluláris térben való mérések során, a biokompatibilitás kérdése is előtérbe került.

Az ionszelektív folyadékmembrán-elektrodok fejlesztésének vitathatatlanul a leglényegesebb lépése a szelektív ligandumok (ionofórok) feladatorientált előállítására és kiválasztására. Emellett rendkívül fontosak az optimális membránösszetétel (membránmátrix, membránlágyító, adalékanyag) meghatározására irányuló membrántechnológiai vizsgálatok is. Annak ellenére, hogy a természetes ionofórok közül a valinomycin vált be leginkább a potenciometriás gyakorlatban, az igazi áttörést azok a szintetikus úton előállított aciklusos molekulák jelentették, amelyek segítségével számos, a periódusos rendszer 1A és 2A csoportjába tartozó kation szelektív potenciometriás meghatározása vált lehetővé. Az elmúlt években új típusú ligandumok – makro-



5. ábra. A vizsgált, új típusú ionszelektív ligandumok szerkezete

ciklusos poliéterek (koronaéter-származékok) és újabban kalixarén-származékok – új lehetőségeket kínálva kerültek be a szenzor kutatásba. Kutatócsoportunkban a BME Szerves Kémia Tanszék munkatársaival együttműködve számos új típusú, szerves ligandum alapú ionszelektív érzékelőt fejlesztettünk ki. A ligandumok kémiai szerkezetét, megjelölve kitüntetett ionszelektivitásukat is, az 5. ábrán mutatom be.

Bisz-koronaéter alapú káliumion-szelektív elektródok

A különböző makrociklusos poliéterek (koronaéterek) megjelenését követően számos kísérlet történt ezen vegyületek ionszelektív ligandumként történő felhasználására. A különböző gyűrűátmérőjű koronaéter-származékok potenciometriás szelektivitási adatai arra utaltak, hogy a bisz-koronaéter-származékok alkalmazása különösen előnyös lehet mindazokban az esetekben, amikor a megfelelő mono-koronaéter 2:1 sztöchiometriájú komplexet képez a mérendő ionnal [56]. Továbbá feltételezni lehetett, hogy a két koronaéter-gyűrű összekapcsolása növelni fogja a molekula lipofilitását, valamint kedvező irányban befolyásolja a komplexképzés kinetikáját, azaz hosszabb élettartamú és rövidebb válaszidővel rendelkező elektródokat eredményez.

Biológiai minták direkt potenciometriás meghatározására alkalmas káliumszenzor kialakítása céljából különböző összekötő láncot és különböző szubsztituenseket tartalmazó bisz(benzo-15-korona-5) származékokat vizsgálva, a várakozásnak megfelelően azt találtuk, hogy több, szerkezetében csak alig eltérő bisz(benzo-15-korona-5) származék mutat a valinomycin alapú érzékelővel összemérhető káliumion-szelektivitást. Koronaéter-gyűrűt nem tartalmazó modellmolekulák segítségével igazolható volt, hogy ezeknél a vegyületeknél a komplexképzésben kizárólag csak a koronaéter-gyűrűk vesznek részt [57]. Ugyanakkor különbségek adódtak az egyes vegyületek felhasználásával készült elektródok szelektivitási sajátságai között a szubsztituensek fajtájának és helyzetének, valamint a benzo-koronaéter egységet összekötő lánc kémiai szerkezetének függvényében. Azt tapasztaltuk, hogy a bisz-koronaéter-származékok közül csak azok rendelkeznek a biológiai káliumelemzések megkövetelte szelektivitási adatokkal, amelyeknél a benzo-koronaéter egységek uretánkötéssel vannak összekapcsolva, továbbá NO₂ szubsztituens tartalmaznak mindkét benzolgyűrűn, és megfelelő lipofilitási sajátságokkal rendelkeznek. A fentiekben vázolt szerkezeti elemeket tartalmazó, de eltérő lipofilitású (logP_{TLC}) bisz-nitrobenzo-15-korona-5-uretánok felhasználásával készült elektródok analitikai szempontból legfontosabb jellemzőit, így a nátriumion-szelektivitást (log K_{K,Na}^{pot}) és a koncentrációérzékenységet (S) a 4. táblázat mutatja. Az összehasonlíthatóság kedvéért feltün-

tettem a valinomycin alapú elektród megfelelő adatait is. Megállapítható, hogy a bemutatott molekulák közül a BME-44 és a BME-02-85 jelzésű vegyületeket tartalmazó elektródok nátriumionok jelenlétében kitüntetett káliumion-szelektivitással rendelkeznek, ami rendkívül fontos a fiziológiásan magas nátriumion, illetve alacsony káliumion-koncentrációjú biológiai minták analízise szempontjából (vérszérum). A BME-15 molekula szerényebb analitikai jellemzői a ligandumnak a membránból való fokozatos kioldódásával magyarázható ($\log P_{TLC} = 2,6$). A szelektivitási adatok azt mutatják, hogy a BME-44 alapú elektród mintegy 1600-szor méri jobban a káliumionokat, mint a nátriumionokat, és hasonlóan jól diszkriminálja a klinikai szempontból releváns ionokat is.

4. táblázat

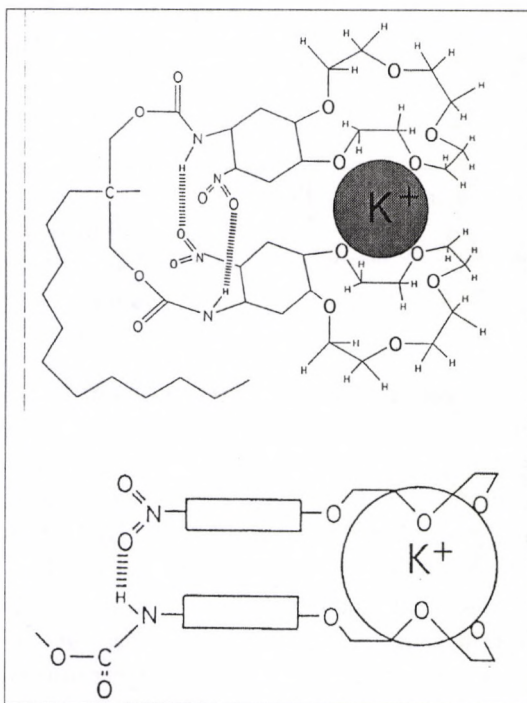
*Eltérő lipofilitású ligandumok potenciometriás jellemzői**

Ligandum	X	S [mV/dekád]	$\log K_{K,Na}^{pot}$	$\log P_{TLC}$
BME-15		55-51	-2,6	2,6
BME-171		57	-3,0	8,9
BME-44		58,6	-3,3	10,7
BME-02-85		58,6	-3,3	11,2
Valinomycin	-	58,6	-3,5	8,3

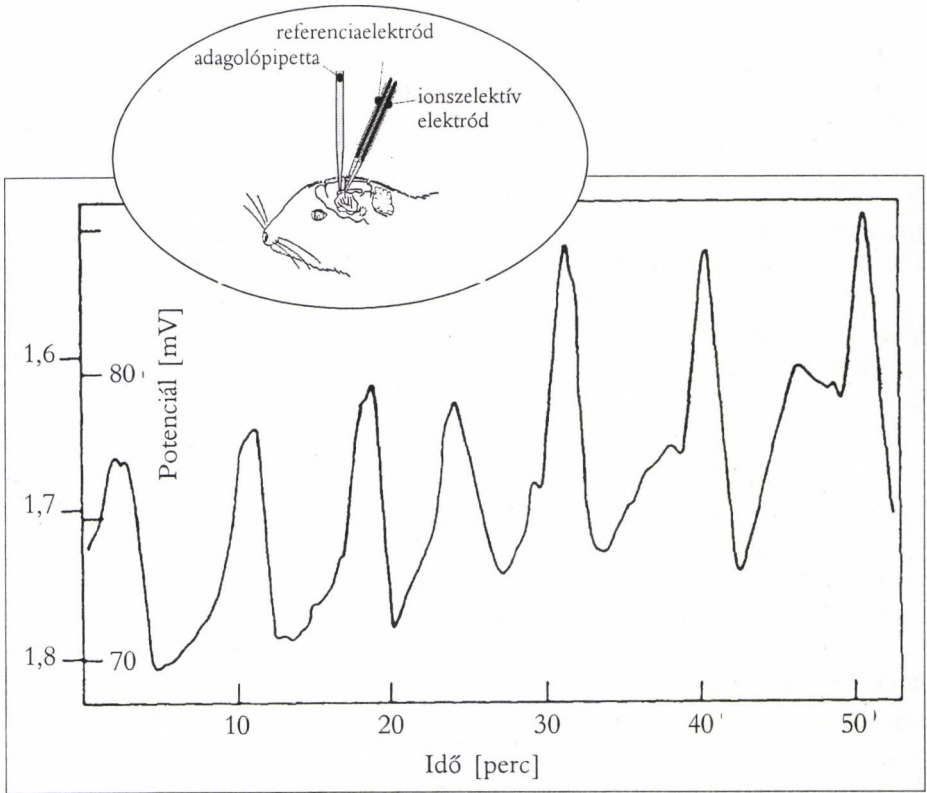
* Káliumion-szelektív bisz-benzokoronaéter-származékok koncentrációérzékenysége (S), nátriumszelektivitása ($\log K_{K,Na}^{pot}$) és fordított fázisú vékonyréteg-kromatográfiás módszerrel meghatározott lipofilitása ($\log P_{TLC}$)

A bisz-nitrobenzo-15-korona-5-uretánok kedvező szelektivitási sajátságai többféleképpen magyarázhatók. Az egyik feltételezés szerint a NO_2 szubsztituens elektronszívó sajátsága következtében csökken az aromás gyűrűkhöz kapcsolódó két-két oxigénatom koordinálóképessége. Ez azt jelentené, hogy a két 15-korona-5 egység koordináció szempontjából egy 18-korona-6 molekulának megfelelően viselkedik, amely a káliumionokkal 1:1 sztöchiometriájú komplexet képez. Ezen elképzelés ellen szól a 18-korona-6 származékok szerényebb káliumion-szelektivitása. Valószínűbb, hogy a NO_2 és az uretán NH -csoportok közötti hidrogénhíd stabilizálja a két koronaéter-egységből kialakult, komplexálás szempontjából kedvező ioncsapdát. A K^+ -bisz-koronaéter komplex feltételezett, indirekt módon bizonyított szerkezete a 6. ábrán látható [57].

Az új típusú, BME-44 alapú káliumszenzor teljesítőképességét teljes vér-, vészsérum-, plazma- és vizeletminták analízise kapcsán igazoltuk. A biológiai minták összetevőinek nagy pontosságú meghatározása szigorú követelményeket támaszt az elektródparaméterekkel szemben. A megfelelő szelektivitási adatok és elméleti koncentrációérzékenység mellett hangsúlyt kapnak az elektródok jellemzésére használt egyéb paraméterek is, mint a stabilitás, a válaszidő, a potenciálmérések reprodukálhatósága és az elektródok élettartama. A klinikai gyakorlatban megkövetelt összes elvárásnak csak a megfelelő lipofilitású ligandumot és membránalkotókat tartalmazó elektródok felelnek meg. Követelmény például, hogy a ligandum lipofilitására jellemző fordított fázisú vékonyréteg-kromatográfián meghatározott $\log P_{TLC} > 8,3$ legyen, ami a BME-44 ligandum esetén kiválóan teljesül [55].



6. ábra. Bisz(benzo-15-korona-5)-molekula (BME-44) káliumion komplexének feltételezett szerkezete



7. ábra. Káliumionkoncentráció-változás in situ monitorálása patkányagyan

Összetett biológiai rendszerekben az apoláros lágyítóval és kálium-tetrakis(4-klorfenil)borát adalékkal készített, megfelelő lipofilitású ($\log P_{TLC} = 10,4$), BME-44. alapú PVC-membránok használatát találtuk a legkedvezőbbnek. Ilyen összetételű membránt tartalmazó elektródokat építettük be automata klinikai elemzőbe (HORIBA SERA-210 Na^+/K^+ Ionanalyzer, Horiba, Kiotó, Japán). Az automata klinikai elemzővel teljes vér-, vérszérum- és vizeletminták kálium- és nátriumion-tartalma határozható meg párhuzamosan $150 \mu\text{l}$ mintából 50 minta/óra (70 másodperc/minta) analízisebességgel rutinszerűen. A kontroll lángfotometriás mérési eredmények tükrében megállapítható volt, hogy a BME-44 alapú, optimalizált összetételű membránnal készült elektródok sajátosságai nem maradnak el a potenciometriás gyakorlatban inkább elterjedt, valinomycin alapú elektród sajátosságai mellett, sőt azt meghaladják, például az elektródok élettartamát illetően [58, 59, 60].

A BME-44 alapú kálium-mikroelektrod alkalmazása kiterjeszhető lokális ionkoncentrációk nyomon követésére is. A mikroelektrod többek között sikeresen használható bioaktív anyagok, mint az erősen depolarizáló veratrin alkaloida hatására patkányagy extracelluláris terében bekövetkező káliumion-koncentrációváltozás *in vivo* monitorálására [61]. A vizsgálatokhoz $5\ \mu\text{m}$ átmérőjű mérőfelülettel rendelkező, mikropipetta típusú elektrodot használtunk. Az agy felszínére, a mérőelektrod közelébe injektált veratrin alkaloida által előidézett periodikus káliumionszint-változás periódusideje 4–8 perc, míg a maximális káliumionkoncentráció-változás (növekedés) 30 mM volt (7. ábra). Voltammetriás és ionszelektív mikroelektrodok együttes alkalmazásával lehetőség nyílt az extracelluláris ionkoncentráció-változás és a neurotransmitter-felszabadulás párhuzamos vizsgálatára [62].

Bisz-karboxamid típusú, ligandum alapú érzékelők

A szabad kalcium-, magnézium- és cinkionok meghatározása különös jelentőséggel bír biológiai mintákban, ahol az összes ionmennyiség jelentős része proteinekhez kötött. Általánosan elfogadott, hogy kalcium- és magnéziumionok komplexálásához a nagy elektronsűrűségű, karboxamid-csoportok előnyösek. A két ion közötti különbségtétel részben a karboxamid-csoportok számától, részben pedig a kötőhelyek molekulán belüli távolságától függ. A koordinációban résztvevő karboxamid-csoportok számának 2-ről 6-ra történő növelése egy nagyságrendbeli javulást eredményez a magnéziumion-szelektivitásban [63]. Az ionszelektivitás szempontjából legkedvezőbb komplex-sztöchiometria kialakulása a PVC-membránba adagolt lipofil só mennyiségével is befolyásolható.

A kalcium-, magnézium- és cinkionok potenciometriás meghatározását szem előtt tartva indítottunk el vizsgálatokat a különböző szerkezetű, nyílt szénláncú biszamidok (malonsav, borostyánkősav, iminodiacetsav-diamid), illetve az 1,10 fenantrolin-2,9-szubsztituált származékok (5. ábra) kémiai szerkezete és potenciometriás szelektivitása közötti összefüggések tanulmányozására. A különböző összetételű lágy PVC-membránok vizsgálata során a várakozástól eltérően azt tapasztaltuk, hogy a bemutatott biszamidok közül a malonsav diamid-származék alapú elektrodok közel azonos szelektivitással mérik a kalcium- és a magnéziumionokat. Az ionofór a fémionokkal 2:1 sztöchiometriájú komplexet képez. A membránok lipofil sótartalmának változtatásával sem lehetett a szenzor magnéziumion-szelektivitását a kalciumionnal szemben növelni, és így nem nyílt lehetőség a malonsav diamid alapú szenzor biológiai alkalmazására. Ugyanakkor a szenzort alkalmasnak találtuk a kalcium- és magnézium-ionaktivitás összegének (vízkeménység) mérésére.

Az elektród nagy előnye, hogy sokkal jobban diszkriminálja a nátriumionokat, mint a kereskedelmi forgalomból beszerezhető folyékony ioncserélő alapú (ORION divalent cation electrode 93-32) vízkeménységmérő elektród, így nemcsak felszíni vizek keménységének a meghatározására, hanem ioncserélt „lágy” vizek vizsgálatára is ígéretes. A vízkeménységmérő elektród felhasználásával számos potenciometriás (direkt, standard addíciós és titrimetriás) módszert dolgoztunk ki különböző vízminták meghatározására. Konkrét vízminták esetében a potenciometriás úton meghatározott eredmények jó egyezést mutattak a független módszerrel meghatározott elemzési adatokkal. A szenzor a vízkeménység-változás folyamatos nyomon követése és a vízlágyítás folyamatának a szabályozása szempontjából is figyelemre méltó. Az 5. ábrán bemutatott fenantrolin-származék pedig perspektivikus kalciumszelektív ionofór [64].

A cinkionok mérésére nincs ionszelektív elektród a kereskedelmi forgalomban, noha biológiai minták cinktartalmának a mérése rendkívül fontos és érdekes. A cink ugyanis létfontosságú nyomelem, amely különböző formákban fordul elő az élő szervezetben. Az emberi testben számos enzim kofaktora. Bizonyos regulátor, illetve receptor fehérjékben cinkionok segítségével alakulnak ki olyan térbeli szerkezetek (Zn-ujjak), amelyek lehetővé teszik a DNS-hez való kötődést. A biológiai minták szabad cinkion-koncentrációhányadának a meghatározása és makromolekulák cinkion komplexeinek a tanulmányozása szempontjából is hiánypótló egy nagy szelektivitású cinkionszelektív elektród.

A különböző szerkezetű iminodiacetsav-diamid származékok potenciometriás ionszelektivitási adatai azt mutatták, hogy a 8. ábrán bemutatott vegyületek (T3033 és T2274 jelzésű) poláris lágyítóval és lipofil só adalékkal készült PVC-membránokba építve kitüntetett cinkion-szelektivitást mutatnak, és a biológiai mintákban előforduló ionok (Na^+ , K^+ , Ca^{2+}) jelenlétében is megtartják e kedvező szelektivitási sajátosságukat. A lipofil só adalékot nem tartalmazó membránok ugyanakkor nem mutatnak analitikai szempontból számottevő szelektivitást. Ez a jelenség feltehetően azzal magyarázható, hogy adalékanyag távollétében az ionátlépés kinetikája gátolt a membrán/oldat határfelületen [65]. Feltehetően a lipofil sók az ionátlépést segítő fázistranszfer katalizátoraként működnek. Az adalékanyag ionofórhoz viszonyított nagy feleslegben való jelenléte viszont rontja a cinkion-szelektivitást, mivel a klasszikus ioncserélőkre jellemző szelektivitási tulajdonságot kölcsönöz a membránnak. Vizsgálataink szerint az optimális adalékanyag-koncentráció 70 mól%-nak adódott, ami 2:1 sztöchiometriájú cinkionkomplexnek felel meg. A 8. ábrán bemutatott két ionofór szelektivitási tulajdonságát összehasonlítva, megállapítható, hogy a T3033-as molekula cinkion-szelektivitása

alkáli- és alkáliföldfém-ionok jelenlétében jobb, mint a T2274-es molekuláé. Így a T3033 jelű, ligandum alapú elektród javasolható biológiai minták analízisére [66].

Az új típusú cinkelektrodok mindegyike jelentős hidrogénion-zavarást mutat, ami a molekulában lévő tercier amin- és karboxamid-csoportok protonkötő képességének tulajdonítható. A protonzavarás megszüntetésére irányuló szintetikus munkák nem vezettek eredményre. A cinkionszelektív ionofórok pH-érzékenysége azonban nem jelent gondot azoknál az analitikai feladatoknál, ahol a minta pufferolása egyébként is indokolt, vagy ahol a minta önmagában is pufferolt, mint a biológiai minták esetében.

Kutatócsoportunkban évek óta foglalkozunk környezetanalitikai szempontból fontos ólomionok mérésére alkalmas ionofórok kutatásával is [67]. Az ólom és egyéb nehézfémek meghatározásának analitikai fontossága a növekvő környezeti problémák következtében az utóbbi időben egyre nőtt. A megengedett szabad ólomionok mennyisége ivóvízben például nem haladhatja meg az 50 ppb (2×10^{-7} mól/l) értéket. Noha az ólom meghatározására számos érzékeny analitikai módszer ismert, mint például a különböző elektrokémiai dúsítással kombinált eljárások (potenciometriás és voltammetriás stripping-technikák), ennek ellenére igény van ólomionmérő kémiai szenzorra is, elsősorban az ólomion-koncentráció folyamatos nyomon követése céljából. A környezeti minták elemzésére alkalmas ólomszenzorral szemben az analitikai elvárások rendkívül magasak. Kívánatos az alacsony mérési alsó határ és a nagy szelektivitás, különösen alkáli- és alkáliföldfém-ionok jelenlétében, mivel természetes vizekben ezen ionok koncentrációja relatíve magas, mmól/l tartományban van.

Az ionofórok kémiai szerkezete és ionszelektivitása közötti kapcsolat feltárását célzó kutatómunkánk során vizsgált aciklusos vegyületek (difenilmetán, illetve difenilszulfid vázhoz kapcsolt biszkarboxamid- és bisztiokarboxamid-csoportot tartalmazó aciklusos molekulák) kémiai szerkezetét a 9. ábra szemlélteti. Az előállított vegyületek két csoportba sorolhatók:

4 donor atomos ligandumok: (O_4) és (O_2S_2) ;

5 donor atomos ligandumok: (O_4S) és (O_2S_3) .

A megfelelő ligandumokat tartalmazó, optimális összetételű lágy PVC-membránok potenciometriás szelektivitása az 5. táblázatban van feltüntetve. A különböző fémionok ólomionra vonatkoztatott szelektivitási tényezőit ($K_{Pb,M}^{pot}$) ún. különoldatos potenciometriás módszerrel határoztuk meg [41]. Mint látható, a T3806 ligandum alapú elektród kiváló szelektivitási sajátosságokkal rendelkezik, az ólomionokat tízezerszer jobban méri, mint a nátrium- és a kalciumionokat. Szelektivitási adatai alapján a szakirodalomban ismert legjobb ólemelektrodok közé sorolható.

Különböző szerkezetű Pb^{2+} -ligandumok potenciometriás szelektivitása

Zavaróion M^{z+}	$\log K_{Pb,M}^{pot}$			
	T2740	T3831	T3806	T3806S ₂
Na ⁺	-3,9	-4,2	-3,9	-4,6
K ⁺	-2,7	-2,6	-3,2	-3,7
Li ⁺	-3,3	-4,5	-4,4	-5,4
NH ₄ ⁺	-2,6	-2,9	-3,1	-3,8
Ca ²⁺	-2,5	-4,9	-4,5	-5,8
Mg ²⁺	-5,9	-3,9	-6,6	-6,3
Cd ²⁺	-3,5	-2,2	-5,2	-5,2
Ba ²⁺	-2,3	-5	-3,3	-5,2
Cu ²⁺	-2,9	0,3	-5,7	-1,5
Zn ²⁺	-3,8	-4	-6,4	-5,8
Mn ²⁺	-4,8	-3,9	-6,6	-5,1
Co ²⁺	-4,5	-4,5	-6,9	-6,3
H ⁺	-1,6	-1,5	-2,9	-2,1

Membránösszetétel: 1% ionofór / 70% mól% KTpClPB / PVC / oNPOE

A vizsgált ligandumok az ólomionokat kétértékű kationokként koordinálják. Optimális PVC-membrán-összetétel mellett az elektródok lineáris koncentrációtartománya: 10^{-1} – 10^{-6} mól/l, mérési alsó határa pedig 2×10^{-7} mól/l. A ligandum analitikai paramétereit alapján potenciálisan alkalmas vízminták ólomion-tartalmának mérésére [68].

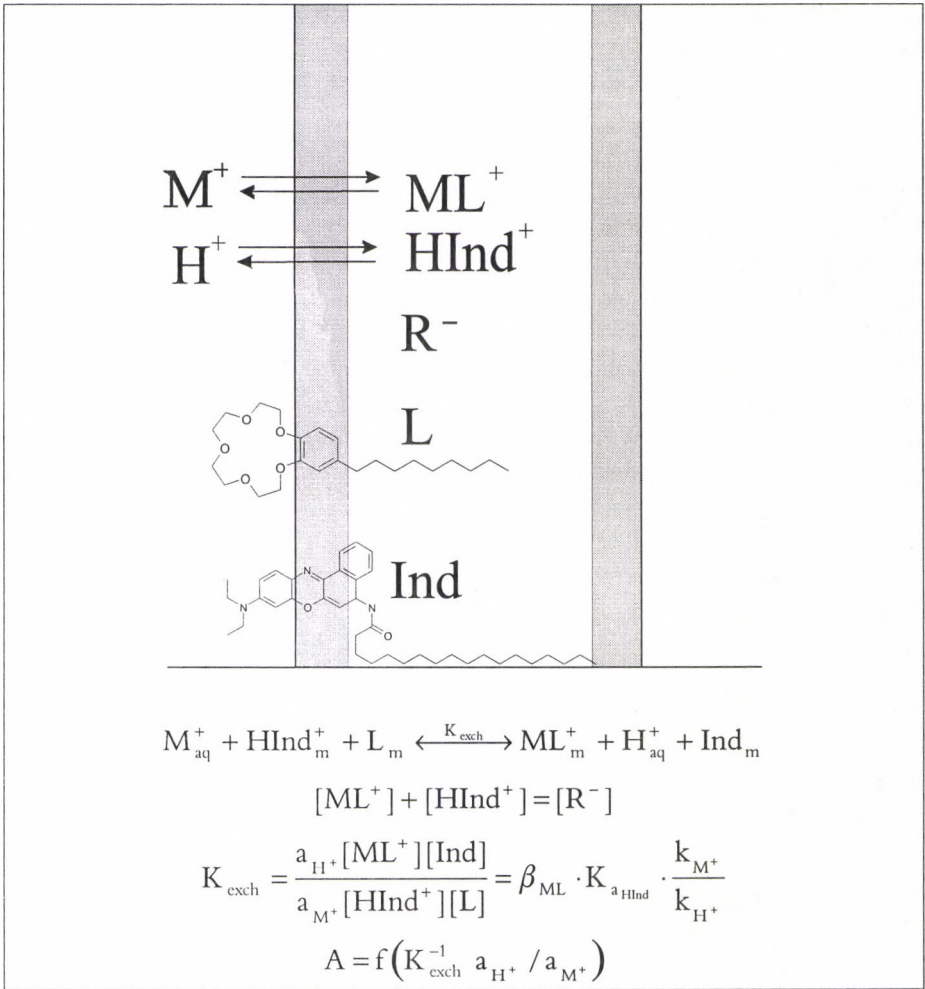
Új irányok az ionszelektív érzékelők fejlesztésében és alkalmazásában

Szelektív komplexképző alapú optikai érzékelők

Az elmúlt években jelentős előrelépések történtek optikai elven működő érzékelők (optódok, opródok) fejlesztésének területén, bízva az optikai jel-mérésnek az elektrokémiai detektáláshoz viszonyított előnyeiben. Optikai szenzorok esetében az ionkoncentrációtól függő kölcsönhatások nyomon követésére az optikai jelenségek széles skálája (fény-abszorpció, fluoreszcencia, lumineszcencia, fényreflexió, fénypolarizáció) használható. Az optikai szenzorok előnyeként szokták megemlíteni, hogy az optikai jelmérés – az elektrokémiai mérésekkel ellentétben – nem igényel külön vonatkoztatási rendszert, és kevésbé érzékeny az elektromos zavarásokra. Optikai szálakkal

viszonylag egyszerűen készíthetők mikroméretű érzékelők és érzékelő-együttesek, és az analitikai jel egyszerűen továbbítható. Ezek a tulajdonságok rendkívül vonzóak az optódok *in vivo* biológiai és klinikai alkalmazása szempontjából.

Az optikai szenzorok egy csoportját, az ún. *indirekt* optódokat a közelmúltban írták le a szakirodalomban (W. Simon, 1989), demonstrálva azt az elképzelést, hogy reverzibilis tömbfázisú optódmembránok készíthetők az ionszelektív elektródok gyakorlatában jól bevált, nagy szelektivitású ionofórok felhasználásával. Megadták a membrántechnológiai útmutatásokat, és kidolgozták az optódok működésére vonatkozó elméleti alapokat [69, 70]. Az ilyen típusú optikai érzékelők felismerőegysége, az optódmembrán, két komplexképző ligandumot és egy kationcserélő tulajdonságú lipofil sót tartalmaz, többnyire lágy PVC-membránban immobilizálva. Az egyik ligandum egy elektromosan semleges, szintelen ionofór, mint pl. a valinomycin, míg a másik egy lipofil protonszelektív sav-bázis indikátor (kromioionofór, indikátor molekula). Az indikátor molekula (jeladó molekula) biztosítja a szintelen ionofór ionkoncentrációtól függő komplexképzési folyamatának jelzését. A membránban az indikátor molekula koncentrációja közel azonos, mint a lipofil só koncentrációja, amelyhez viszonyítva a szintelen ligandum feleslegben van a ionszelektivitás biztosítása céljából. Kromioionofórként az esetek többségében hidrogénion-szelektív fenoxazin-származékokat, lipofilizált níluskék sav-bázis indikátorokat használnak, amelynek protonált és deprotonált formája eltérő abszorpciós tulajdonságokat mutat az UV/Vis tartományban. Az ionofór-kation komplexek koncentrációját a membrán tömbfázisában a negatív kötőhelyek – azaz a lipofil só koncentrációja – határozzák meg. Az optódmembrán-válasz a kation/ionofór ioncsere-egyensúly alapján értelmezhető, amelyet vázlatosan a 10. ábra szemléltet, 1:1 sztöchiometriájú komplexek képződését és egy vegyértékű kationok mérését feltételezve. Az optódválasz, azaz a protonált kromioionofór, illetve a deprotonált kromioionofór koncentrációja az ioncsere-folyamatban részt vevő kationok aktivitásának arányától függ. Az ionszelektív optikai mérés alapja tehát az, hogy a mérés során rögzített pH-n a protonszelektív kromioionofór UV/Vis abszorpciós tulajdonsága a mérendő ion komplexáltságának mértékétől függően megváltozik, így abszorbanciaméréssel az ionaktivitás optikai úton történő *indirekt* meghatározására nyílik lehetőség. Az egyensúlyi folyamat állandójának, a K_{exch} értékének, illetve a sav-bázis indikátor pK-jának és/vagy a ligandum-fémion komplex stabilitási állandójának megfelelő megválasztásával az optódmembrán mérési koncentrációtartománya hangolható, előnyösen befolyásolható.



10. ábra. Indirekt optódmembrán jelképzésének vázlatja

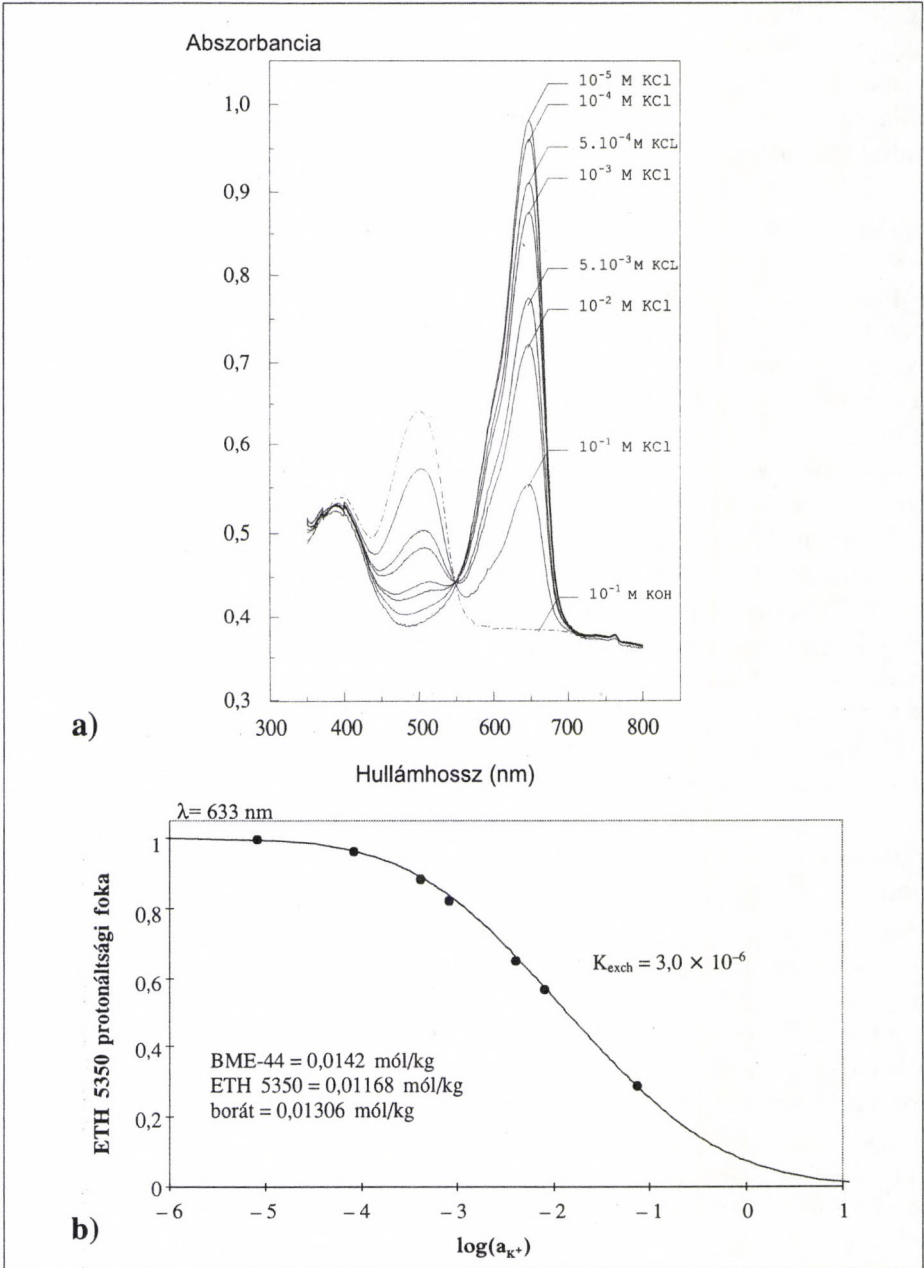
L: fémionszelektív ligandum, Ind: protonszelektív ligandum,
 R^- : lipofil anion, β_{ML} : komplexstabilitási állandó, $K_{d_{HInd}}$: disszociációs állandó,
 k : ionmegoszlási hányados

Az optikai szenzorok fejlesztésének vitathatatlanul az egyik legkritikusabb lépése a kémiai felismerési folyamat tervezése, az optódmembrán kialakítása. Az e területen folyó vizsgálataink két útvonalon haladva elsősorban az ionfelismerő optódmembrán fejlesztésére, optimalizálására terjedtek ki. Egyfelől a potenciometriás munkáink során kifejlesztett új típusú ionofórok

felhasználásával kálium-, cink- és ólomionok meghatározására alkalmas, „klasszikus” indirekt optódokat alakítottunk ki klinikai és környezetanalitikai célokra, és ezzel párhuzamosan egy új eljárást valósítottunk meg gyors válaszú, ionszelektív optódszenzor kialakítására. Másfelől kromogén kalix[4]arének felhasználásával direkt optódmembránokat, optikai érzékelőket fejlesztettünk ki.

A klinikai minták káliummérésére kialakított optódmembrán a nagy szelektivitású BME-44 ligandum mellett megfelelő pK_a-jú sav-bázis indikátort (lipofil fenoxazin származékot; pK_a=13,5 DOS/PVC 2:1 arányú membránban mérve) és lipofil só-t tartalmaz lágy PVC-membránban immobilizálva. Az optódmembránok optimalizálására irányuló vizsgálatokat és az analitikai jellemzők meghatározását átfolyó spektrofotometriás mérőcellában üvegkorongra felvitt membránokkal végeztük. Az optódmembrán káliumion-koncentrációtól függő spektrumsorozatát a 11.a ábrán mutatom be. Az abszorpciós spektrumon két maximum figyelhető meg a látható hullámhossztartományban; az 500 nm-hez tartozó maximum a kromoionofór deprotonált formájának az elnyeléséhez, míg a 645 nm-hez tartozó csúcs a protonált forma elnyeléséhez tartozik. Továbbmenve az is jól látszik, hogy az optódmembrán abszorbananciája viszonylag széles hullámhossztartományban függ a káliumion-koncentrációtól. A spektrumsorozat alapján felvett analitikai kalibrációs összefüggést a 11.b ábra tartalmazza, a kihúzott vonal az ioncsere-egyensúly alapján levezetett elméleti görbe [69]. A mérési pontok jó illeszkedése az elméleti függvényhez igazolja az ioncsere-elmélet érvényességét. Az optódmembránok szelektivitási tulajdonságai gyakorlatilag megegyeznek a potenciometriás BME-44 alapú szenzor megfelelő adataival. Az optikai érzékelő alkalmasnak bizonyult vérszérum káliumtartalmának a mérésére [71].

A tömbfázisú optikai érzékelők válaszidejét a membránon belüli diffúziós folyamatok határozzák meg, és értéke még rendkívül vékony (4 μm vastagságú) membrán esetében is jelentősen hosszabb (általában néhány perc), mint a határfelületi jelképzés alapján működő ionszelektív elektródoké. Ez akadályozza ezen szenzorok alkalmazását gyors ionaktivitás-változással járó folyamatok nyomon követésére, illetve a tranziens mérés technikákban mint az áramló oldatos, injektálásos mérésben. A válaszidő jelentős csökkenése érhető el optikai hullámvezető szenzorok kialakításával. Az optikai hullámvezetők olyan áttetsző vékonyrétegek, amelyek törésmutatója nagyobb, mint a környezetüké, és alkalmasak a fényhullám sokszoros visszaverődésén alapuló vezetésére. A hullámvezetés során a fény minden egyes visszaverődéskor behatol a hullámvezetővel érintkező közegbe, és annak abszorpciós tulajdon-



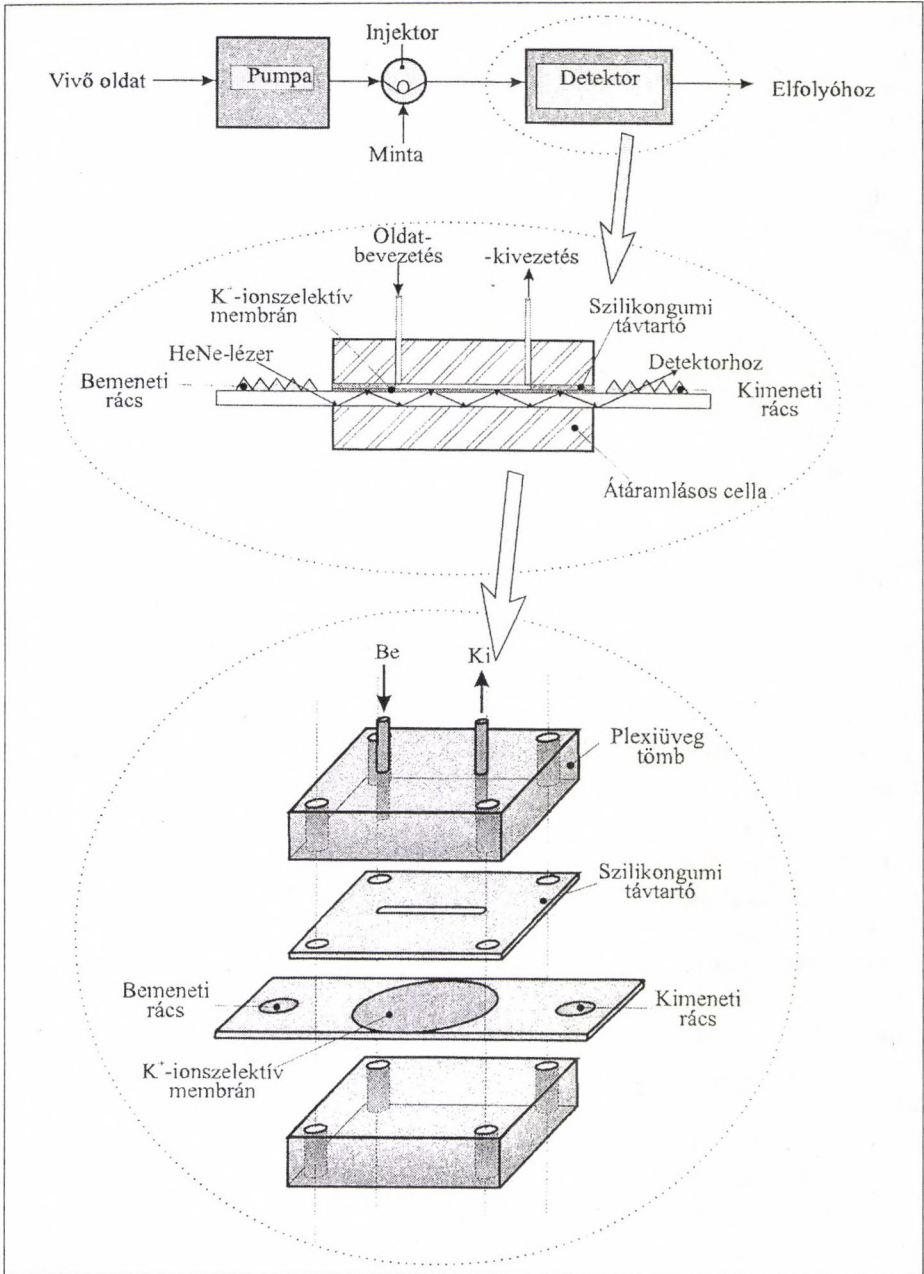
11. ábra. BME-44 alapú optódmembrán abszorpciós spektrumsorozata $\text{pH} = 6,5$ KCl oldatokban felvéve (a) és a megfelelő kalibrációs diagram (b)

sága befolyásolja a fényintenzitás-csökkenés mértékét. A hullámvezető természetű rétegek ionszelektív optódmembránnal történő érzékenyítésével (optikai hullámvezető ionszenzor kialakításával) lehetőség nyílik az ionaktivitástól függő kölcsönhatások fényintenzitás-csökkenés alapján történő mérésére. Az optikai hullámvezető ionszenzor kedvezőbb válaszüzeje annak tulajdonítható, hogy a fény sugar intenzitáscsökkenésének mérése – a tömbfázisú optódmembránokkal ellentétben – a felület síkjában, nem pedig arra merőleges irányban történik. Így ezzel a szenzorkonstrukcióval megoldható a tömbfázisú optódmembránok esetében gyakran vitatott mérésérzékenység kontra optimális válaszüzeje probléma, mivel vékonyabb, kémiaiilag szelektív membránokkal is megfelelő abszorbancia-úthossz biztosítható, ami feltétlenül kedvezőbb válaszüzeje eredményez. A hullámvezető szenzorkonstrukció azzal az előnnyel is jár, hogy ebben az esetben elkerülhetők a biológiai alkalmazások során az ionszelektív membrán/oldat határfelületen esetleg fellépő adszorpció (pl. fehérje) zavaró hatásai.

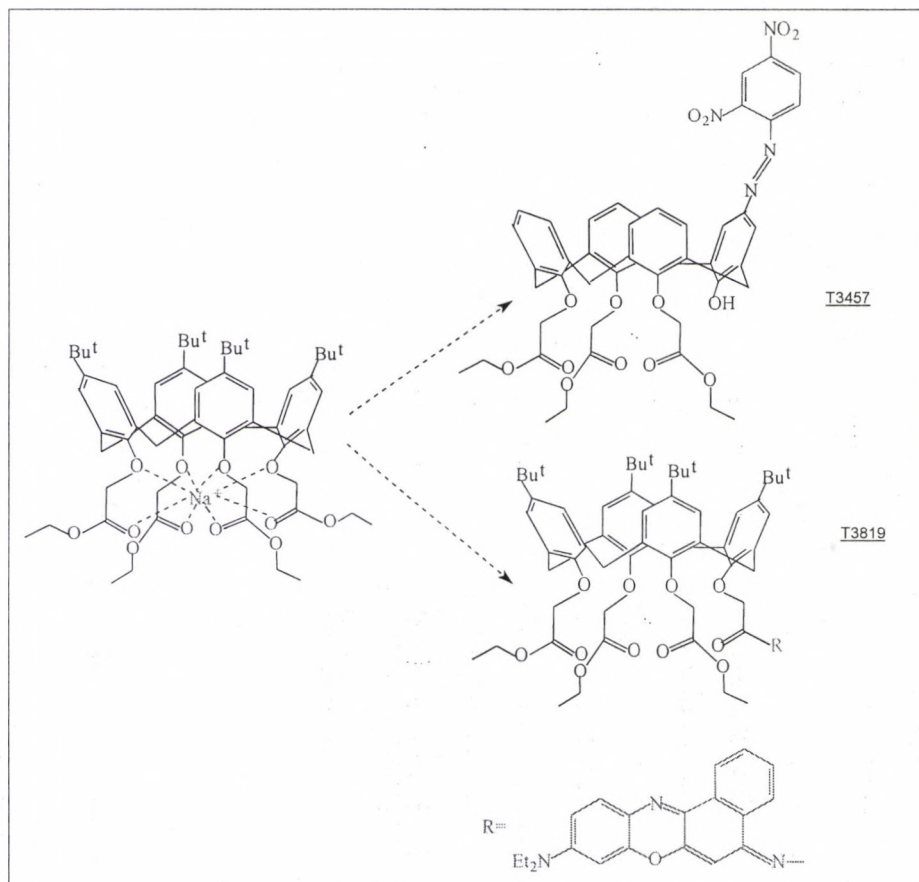
Munkánk során az ionszelektív optikai érzékelőknek egy új változatát valósítottuk meg a BME-44 ligandum alapú optódmembránnal érzékenyített, sík felületű optikai hullámvezető szenzor kialakításával. Az új típusú szenzor felépítését a 12. ábra szemlélteti áramló oldatos injektálásos mérőrendszerbe építve. A HeNe-lézer emissziós hullámhossza 632,8 nm, ami jól megfelel a kromioionofór protonált formájához tartozó adszorpció maximumnak. A szenzor válaszüzeje megengedte a szenzor áramló oldatos injektálásos rendszerbe való alkalmazását, lehetőséget kínálva kis térfogatú biológiai minták káliumion-tartalmának gyors, áramló oldatos injektálásos mérésére. A szenzor mérési alsó határa 0,05 mmól/l, míg válaszüzeje kb. 20 másodperc. Az áramló oldatos injektálásos rendszer óránként 180 minta analízisét teszi lehetővé [72].

Az optódmembránok az analitikai jellegű alkalmazások mellett lehetőséget kínálnak az ioncsere-folyamat egyensúlyi állandójának, a K_{exch} értékének a meghatározása alapján az ionofór-kation komplex sztöchiometriájának és stabilitási állandójának a meghatározására, sőt membrántranszport-vizsgálatokra is [73].

Az optódmembránok kialakításának egy másik lehetősége (ún. *direkt* optód) valósítható meg olyan, nagy szelektivitású, szerves ligandumok felhasználásával, amelyekben a koordináló szféra közelében optikai jelzést biztosító kromofór vagy fluorofór csoportok vannak beépítve. Az ilyen típusú kromioionofórok használata leegyszerűsíti a membránoptimalizálási eljárást, valamint alkalmazásukkal egyszerűen teljesül a stabil szenzor működéséhez megkívánt optimális ionofór/kromioionofór arány (l. *indirekt optódok*). Az opti-



12. ábra. Áramló oldatos injektálásos mérőrendszerhez illesztett K^+ -szelektív planáris hullámvezető szenzor felépítése



13. ábra Kromogén kalixarén-származékok szerkezete

kai membránok az ionofórokot ez esetben is általában lágy PVC-membránban immobilizálva tartalmazzák. Membránmátrixként használhatók még poliuretán és sol-gél technológiával előállított anyagok is. A polimereket a polimer típusától függően különböző mértékben lágyítják.

Nátriumszelektív direkt optódok fejlesztése céljából egy új vegyületcsalád, a kromogén kalix[4]arének vizsgálatával foglalkoztunk. A kónikus konformációjú p-terc-butil-kalix[4]arén származékok különböző pK_j-jú kromofór-csoportot (2,4-dinitro-fenilazo-csoportot, T3457 ligandum-, illetve fenoxazin-csoportot; T3819 ligandum) tartalmazznak (13. ábra). Ezen molekulák mindegyike potenciometriás ionszelektív membránokban kiváló nátrium-ion-szelektivitást mutat. A dinitrofenilazo kromofór-csoportot tartalmazó

molekula (T3457) felhasználásával és a jól bevált PVC-membrán-technológia alkalmazásával kialakított optódmembránok abszorpciós tulajdonságait vizsgálva azt találtuk, hogy a kromoionofór abszorpciós sávjának maximuma 440 nm-nél jelentkezik [74]. Erős bázis, illetve erős bázis és fémkationok jelenlétében a kromoionofór abszorpciós spektrumában új sáv jelentkezik, amelynek intenzitása rögzített pH-n nátriumionkoncentráció-függő, és maximuma 630 nm-nél van (14.a ábra).

Az optódmembrán működése az indirekt optódmembránokra levezetett ioncsere-mechanizmushoz hasonlóan értelmezhető. A ligandum extrahálja a nátriumionokat a vizes oldatból a membránfázisba, és a szelektív komplexképződéssel párhuzamosan a molekula fémmion indukálta deprotonálódása következik be:



ahol HL a kromoionofórt (T3457) jelzi;

NaL a kromoionofór (T3457) nátrium komplexét jelöli;

aq és m indexek a vizes- és a membránfázisra utalnak.

Az ioncsere-folyamat egyensúlyi állandója (K_{exch}) függ a komplexstabilitási állandótól (β), a protonálódási állandótól (K_{a}) és az ioncserében részt vevő ionok két fázis közötti megoszlási hányadosától (k):

$$K_{\text{exch}} = \frac{[\text{NaL}]_{\text{m}} a_{\text{H}^+}}{[\text{HL}]_{\text{m}} a_{\text{Na}^+}} = \beta_{\text{NaL,m}} (K_{\text{a,HL,m}}) \frac{k_{\text{Na}^+}}{k_{\text{H}^+}}. \quad (2)$$

Mivel az analitikai jel (abszorbancia) kritikusan függ a bemért ionofór koncentrációjától és az optódmembrán vastagságától, indokolt az α (protonáltsági fok), illetve az $1-\alpha$ (deprotonáltsági fok) faktor bevezetése [69]:

$$\alpha = \frac{[\text{HL}]}{[\text{L}_{\text{T}}]}, \text{ illetve } 1-\alpha = \frac{[\text{NaL}]}{[\text{L}_{\text{T}}]}, \quad (3)$$

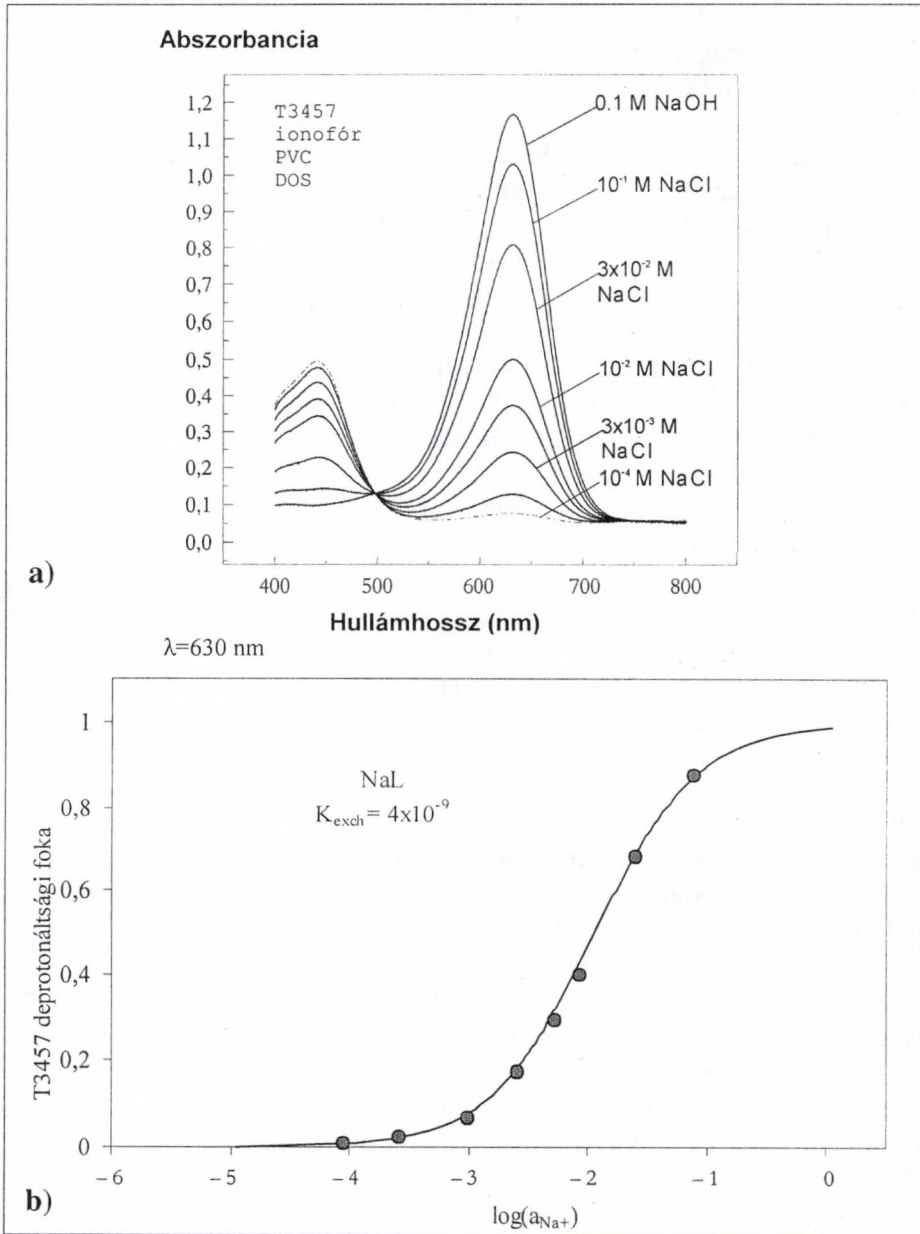
ahol $[\text{L}_{\text{T}}]$ a teljes kromoionofór-koncentráció a membránban.

Az ioncsere-folyamat egyensúlyi állandója, K_{exch} az α faktor alapján:

$$K_{\text{exch}} = \frac{(1-\alpha)L_{\text{T}}a_{\text{H}^+}}{\alpha L_{\text{T}}a_{\text{Na}^+}}, \quad (4)$$

illetve az analitikai függvény:

$$\frac{a_{\text{Na}^+}}{a_{\text{H}^+}} = \frac{(1-\alpha)}{\alpha K_{\text{exch}}}. \quad (5)$$



14. ábra. Direkt optódmembrán abszorpciós spektrumsorozata $\text{pH} = 10,5$ NaCl oldatokban felvéve (a) és a megfelelő kalibrációs diagram (b). A NaCl-oldatok pH -ját NH_4Cl - NH_4OH pufferral állítottuk be

Mivel az optikai jelképzés a ligandum protonálódási-deprotonálódási folyamatán alapul, a ligandum protonálódási állandója nagymértékben befolyásolja az optódmembrán mérési koncentrációtartományát és működési pH-ját. A T3457 kromoionofór igen gyenge savas karaktere ($pK_a=12,4$ metanolban mérve) következtében az optódmembrán működési pH-ja ≥ 10 , ami hátrány a biológiai minták nátriumion-tartalmának a mérése szempontjából. A 14.a ábrán bemutatott spektrumsorozatot pH 10,4 NaCl-oldatokban regisztráltuk. Az ioncsere-mechanizmus alapján levezetett elméleti függvény (5-ös egyenlet) jól illeszkedik a spektrumsorozat alapján felvett mérési pontokra, amely bizonyítja az ioncsere-elmélet helyességét (14.b ábra). Eszerint a kromoionofór- Na^+ komplex 1:1 sztöchiometriájúnak bizonyult. Az ioncsere-elmélet érvényességét független, iontranszport-vizsgálatokkal is bizonyítottuk. A kalibrációs adatok alapján megállapítható, hogy pH 10,4-nél az optódmembrán mérési tartománya 9×10^{-4} és 9×10^{-2} mól/l között van.

A nátrium optódmembrán működési pH-jának csökkentésére számos kísérletet tettünk a membránmátrix megváltoztatásával, lipofil erős bázis membránba való beépítésével, valamint a dinitro-fenilazo kromofór-csoport savasabb karakterű kromofór-csoporttal való helyettesítésével. A leglátványosabb eredményt az alap kalix[4]arén molekula fenoxazin kromofór-csoporttal való módosítása eredményezte (13. ábra, T3819 molekula), amely két szempontból is jelentős. A fenoxazin típusú kromoionofórral módosított molekula erősebb savas karaktere következtében az optódmembrán alacsonyabb működési pH-t és – mivel a molekula a fenoxazin-csoport beépítése után is rendelkezik a nátriumionok szelektív koordinálásához szükséges 8 oxigénatommal – jobb Na^+ -szelektivitást mutatott [75]. A kromoionofórt lágy PVC-membránban rögzített pH-n (pH 7,4 TRIS-HCl pufferban) vizsgálva, meghatároztuk a molekula nátriumionválaszt és -szelektivitását. Eszerint a működési koncentrációtartomány: $7,6 \times 10^{-6}$ – $2,5 \times 10^{-3}$ mól/l között van, szelektivitása pedig valóban kedvezőbb, mint a T3457 molekula alapú optódmembráné, és gyakorlatilag megegyezik a potenciometriásan meghatározott kiváló szelektivitási adatokkal.

Összefoglalóan elmondható az optódmembránok analitikai jellemzésével kapcsolatban, hogy az analitikai jel az ioncsere-folyamatban részt vevő ionok aktivitásarányától függ, ellentétben a potenciometriás elektródokkal. Az optódok lineáris koncentrációtartománya általában 2 nagyságrendet fog át, tehát szűkebb, mint a potenciometriás elektródoknál megszokott 5–6 nagyságrend. Viszont előny, hogy az optódmembránok mérési koncentrációtartománya a működési pH-val, illetve különböző pK -jú kromoionofórok vagy kromofórcsoportok alkalmazásával, valamint a membránmátrix megváltoztatásával, az analitikai feladatnak megfelelően hangolható.

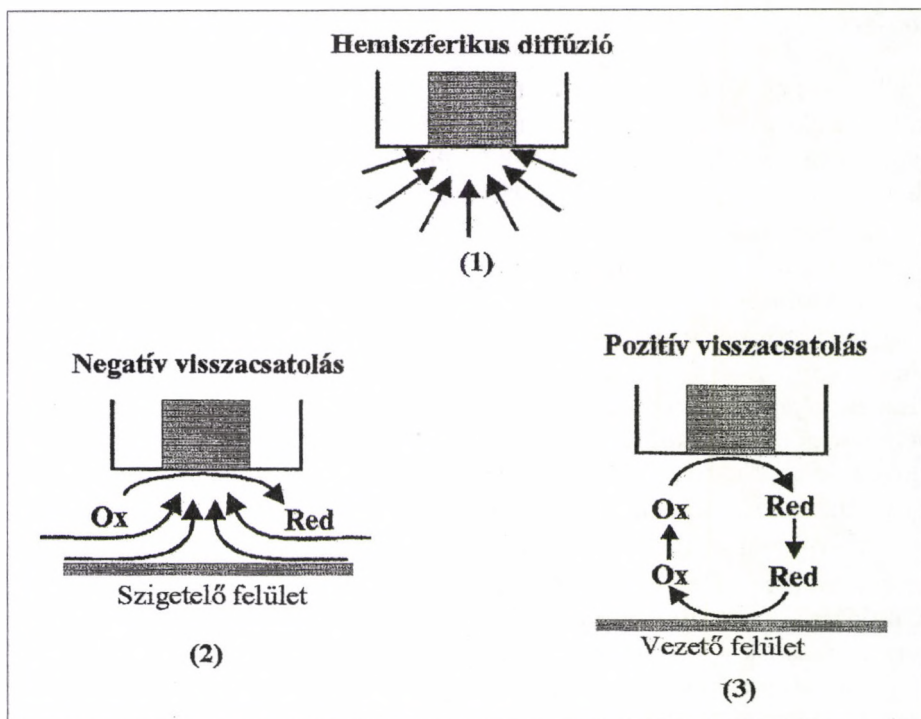
Ionszelektív mikroelektródok speciális alkalmazása

Az 1980-as évek végén kidolgozott, új mérési elvre épülő, pásztázó elektrokémiai mikroszkóp (Scanning Electrochemical Microscope, SECM) a mérőszonda-mikroszkópok csoportjába tartozik, és segítségével kémiai információt hordozó topográfiai kép készíthető különböző anyagok, így polimerek, ásványok és biológiai eredetű minták felületéről. Az elektrokémiai mikroszkópiás módszer kidolgozásában és alkalmazási körének feltárásában R. C. Engstrom és A. J. Bard (1989) végzett úttörő munkát [76, 77, 78].

A pásztázó mérőszonda-mikroszkópok a hagyományos mikroszkópoktól eltérően működésük során egy mikrométerű mérőszondát (mérőcsúcsot) visznek végig a vizsgálandó anyag (cél tárgy) felülete közelében egy nagy pontosságú, a tér mindhárom irányában elmozdulást biztosító pozicionáló egység (piezoelektomos mozgatószerkezet) segítségével. A mikroszkópiás háromdimenziós kép, amely a mérőszonda és a vizsgálandó anyag (cél tárgy) közötti kölcsönhatás, illetve az ezt tükröző jelintenzitás- adatok alapján szerkeszthető meg, a vizsgált felület tulajdonságától és topográfiájától függ. A módszerek felbontóképességét a mérőcsúcs mérete és a mozgatóegység elmozdulásának a finomsága határozza meg, és ideális esetben az alagút-, illetve az atomerő-mikroszkóppal atomi felbontású kép nyerhető.

A mérőszonda-mikroszkópiás módszerek elektrokémiai változatánál, a pásztázó elektrokémiai mikroszkóp esetében a mérőcsúcs egy mikroelektród, leggyakrabban egy voltammetriás ultramikroelektród, és a vizsgált minta (cél tárgy) az elektrokémiai cella része. A voltammetriás mikroelektróddal a cél tárgytól adott távolságban (Z), adott haladási pályát követve, a cél tárgy felületével párhuzamos XY síkon pásztázva lokális áramerősség- adatok gyűjthetők. Az áramjel a mérőcsúcs és a vizsgált határfelület közötti kölcsönhatás eredményeként jön létre, és függ az anyagtranszport és a mérőszonda, illetve a minta felületén lejátszódó kémiai reakció sebességétől. Ilyen értelemben a voltammetriás mérőcsúcs aktív mérőcsúcsnak tekinthető. Az elektrokémiai jelből a helykoordináták ismeretében a cél tárgyról kémiai információt hordozó és topográfiai kép nyerhető.

Az elektrokémiai mikroszkópiás módszer működésének alapját, vázlatosan Bard munkájára utalva, a 15. ábrán mutatom be [78]. A voltammetriás ultramikroelektród (mérőcsúcs pl. $0,1-2,5 \mu\text{m}$ platina korongelektród) esetén a működés feltétele az, hogy a mérőcella tartalmazzon egy reverzibilis oxidálható vagy redukálható anyagot és egy megfelelő alapelektrolitot. Alkalmasság, állandó munkaelektrod-potenciál beállítása után (amperometriás üzemmód), amikor az elektród távol van a vizsgálni kívánt cél tárgytól [15.a (1)



15.a ábra. Pásztázó elektrokémiai mikroszkópia működésének alapja; visszacsatolós üzemmód

A diffúziós viszonyok alakulása a mérőcsúc körül: (1) – a céltárgytól távol; (2) – szigetelő anyag közelében; (3) – vezető céltárgy közelében. Az Ox és Red jelölések a reverzibilis redoxirendszer oxidált és redukált formáját jelölik.

ábra], az elektroaktív anyag elektrokémiai redukciója vagy oxidációja következtében a mérőcellán stacionárius áram halad át. Az elektródot elektromosan szigetelő céltárgyhoz közelítve [15.a (2) ábra] az áramerősség csökken, mivel a vizsgált felület árnyékoló hatása gátolja az elektroaktív anyagnak az elektród felületére történő diffúzióját. Ezt a hatást nevezik *negatív visszacsatolás*nak. Az ultramikroelektrodot vezető felülethez közelítve az ellenkező hatás tapasztalható; az áram értéke nő, mivel a vezető felület visszaalakítja a mérőcsúcson lejátszódó elektrokémiai reakció termékét, amely ismételtlen reagálva az elektródon, növeli az elektródon átfolyt áram intenzitását (*pozitív visszacsatolás*) [15.a (3) ábra]. A pozitív és negatív visszacsatolás jelenségének a monitorálása alapján a pásztázó elektrokémiai mikroszkópia alkalmas vezető

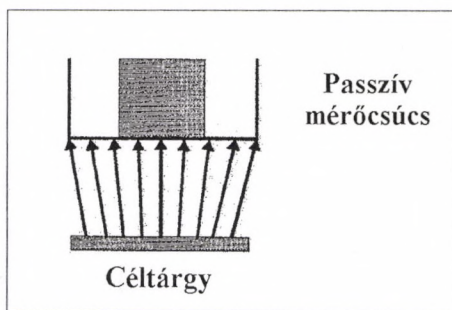
és szigetelő felületek megkülönböztetésére, kémiai információ szerzésére. Az áramerősségek mérése alapján azonban nemcsak a felületek reaktivitására lehet következtetni, hanem a vezető, illetve a szigetelő felületekre érvényes, a jelintenzitás–mérőcsúcs távolságra vonatkozó elméleti összefüggések ismeretében a mérőcsúcs céltárgytól való távolsága is meghatározható.

Az elektrokémiai mikroszkópia alkalmazási körének bővítése szempontjából jelentős előrelépést jelentett az ionszelektív mikroelektrodok mérőcsúcsként való alkalmazásának

bevezetése. Ionszelektív elektródokkal számos biológiai szempontból fontos ion, mint pl. az alkáli- és alkáliföldfém-ionok mérése valósítható meg, amelyek vizes közegben voltammetriás (amperometriás) technikával nem vizsgálhatók. Hasonlóan problematikus a biológiai és elektrokémiai szempontból fontos cinkionok amperometriás mérése az oxigénredukció és a hidrogénfejlődés miatt, ami viszont ionszelektív elektródokkal egyszerűen megvalósítható. Végül fontos szempont az ionszelektív érzékelők kiemelt szelektivitása.

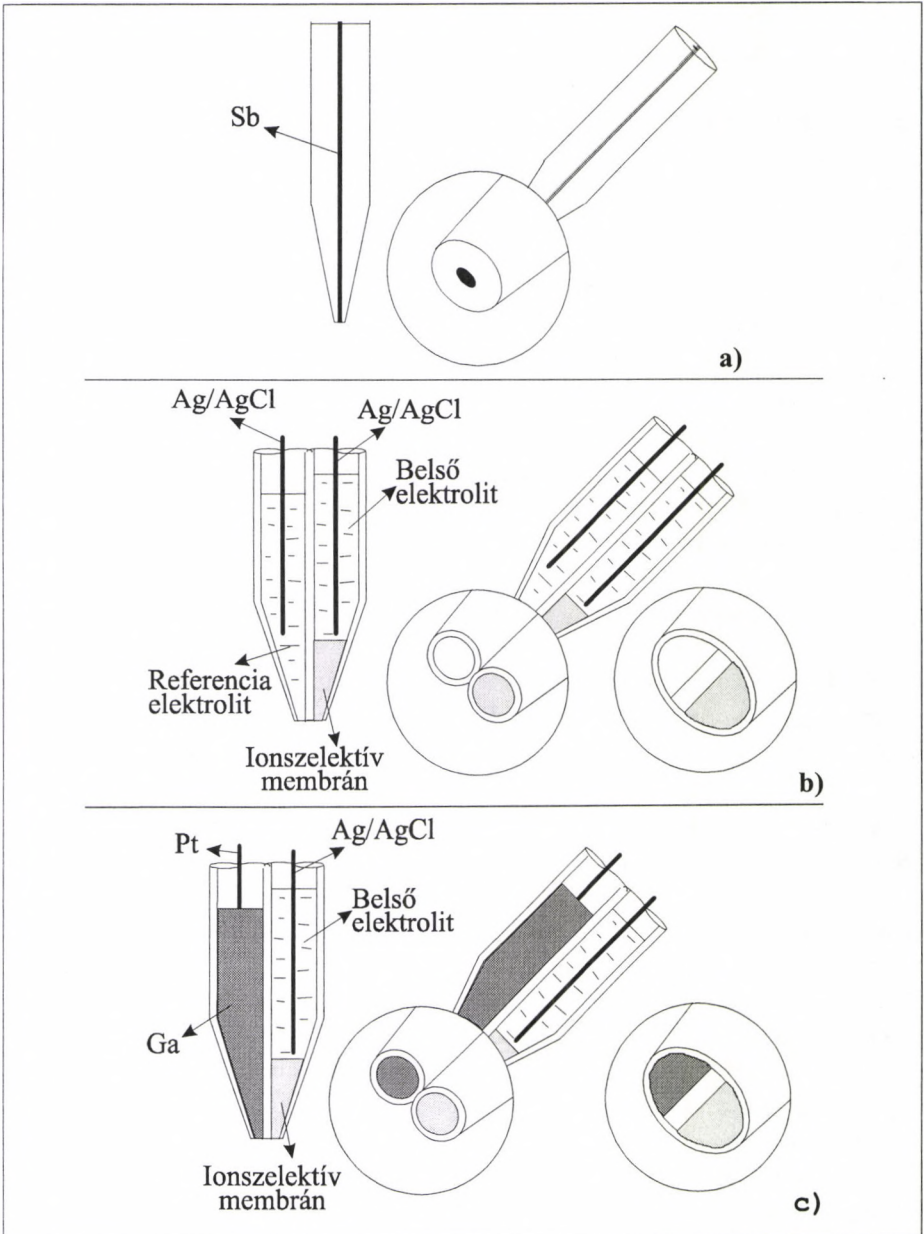
A potenciometriás mérőcsúcs a voltammetriás mérőcsúccsal ellentétben passzív mérőcsúcsnak tekinthető. A passzív mérőcsúcs nem alakítja át a mérendő anyagot a mérés során, ezért különösen alkalmas lokális ionkoncentrációk nyomon követésére és a kalibrációs adatok alapján az ionkoncentrációk pontos meghatározására. Másfelől az ilyen típusú mérőcsúcs csak akkor alkalmazható előnyösen, ha a vizsgálandó céltárgy ionforrásként működik, és egy stacionárius ionkoncentráció-profil alakul ki a céltárgy felületközeli rétegében. A passzív mérőcsúcsot alkalmazó elektrokémiai mikroszkópelrendezést szokás generátor/kollektor üzemmódnak nevezni (15.b ábra). Fontos megjegyezni, hogy a potenciáljel, szemben a voltammetriás áramjellel, nem függ a céltárgy és a mérőcsúcs közötti távolságtól, ezért a potenciometriás mérőcsúcs pozíciójának meghatározására más megközelítést kell alkalmazni.

Kutatócsoportunk a potenciometriás mikroszkópiás technika fejlesztéséhez a nagy szelektivitású mérőcsúcsok kialakításával és a mérőcsúcs és céltárgy közötti távolság meghatározására szolgáló módszerek kidolgozásával járult hozzá [79, 80, 81, 82]. Többféle ultramikroelektód-konstrukciót alakí-



15.b ábra. Pásztázó elektrokémiai mikroszkópia működésének alapja; Generátor-kollektor üzemmód

A nyilak a céltárgy által termelt vagy átalakított anyag diffúziós profilját jelzik.



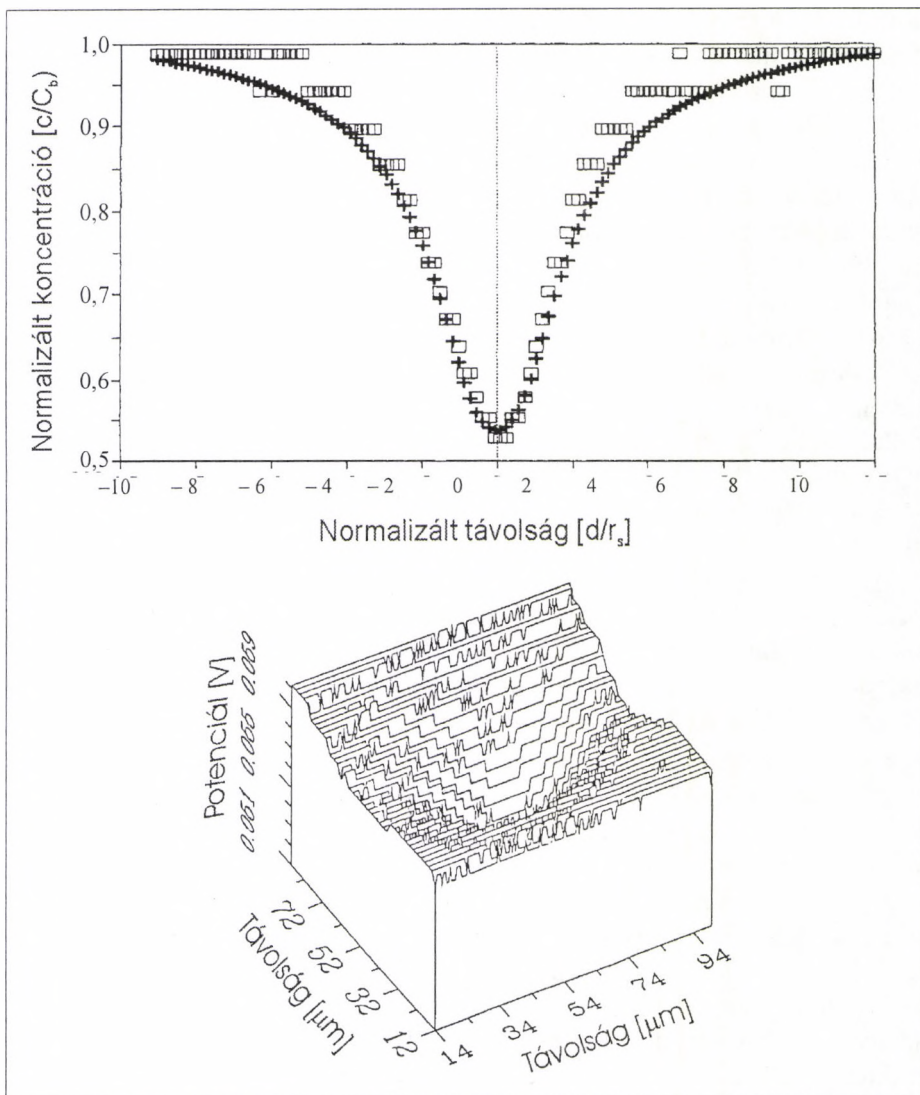
16. ábra Potenciometriás mérőcsúcsok

- a) antimón mikroelektród; b) mikropipetta típusú ionszelektív elektród;
c) kombinált ionszelektív és voltammetriás elektród

tottunk ki mikroszkópiás célokra, amelyek közül néhányat a 16. ábrán mutatok be. Fontos ezek közül kiemelni a kis ohmikus ellenállású hidrogénion-mérő antimon mikroelektrodot, mely mind potenciometriás, mind pedig amperometriás üzemmódban működtethető. Az elektród az oxigén redukciós áramának a monitorálása alapján a mérőcsúcs-céltárgy távolság meghatározására és a céltárgy topográfiai vizsgálatára is alkalmas. Az élettani kutatásokban bevált, mikropipetta típusú mikroelektrod-konstrukció mikroszkópiás bevezetése azzal az előnnyel jár, hogy alkalmas összetételű, ionofór-tartalmú oldatokkal, „koktélokkal” különböző ionok mérésére érzékenyíthető, és segítségükkel különböző ionkoncentráció-profilok „leképzése” valósítható meg. Az amperometriás és potenciometriás mérőcsúcs együttes alkalmazása a voltametriás és potenciometriás mérések párhuzamos mérési lehetőségét csillantja fel. A voltametriás mérések alapján a céltárgy-mérőcsúcs távolság meghatározására is lehetőség nyílik. A mérőcsúcsok átmérője általában néhány μm , de a mikropipetta-elektrodoknál elérheti a 0,1 μm -t is.

A pásztázó potenciometriás mikroszkópia előnyösen használható különböző típusú elektródok felületén lejátszódó elektrokémiai reakciók tanulmányozására. Így például a hidrogénion-szelektív antimon mikroelektrod mérőcsúcsot alkalmazó pásztázó elektrokémiai mikroszkópia segítségével az ezüst-jodid elektród cianidkorrózióját sikerült tanulmányozni. Kis pufferkapacitású oldatokban vizsgálva a korróziós folyamatot, megállapítottuk, hogy az ezüst-jodid elektród működésének az alapját képező korróziós reakció ilyen körülmények között jelentős pH-változást idéz elő a mérőmembrán környezetében. Ezzel kísérleti alátámasztást adtunk az ezüst-jodid elektród potenciálja és az oldat pH-ja közötti kis pufferkapacitású oldatokban mutatkozó anomális viselkedés magyarázatához [83].

A potenciometriás mikroszkópos technika voltametriás ultramikroelektrodok rendkívül vékony diffúziós rétegében kialakuló koncentrációviszonyok vizsgálatára is sikerrel alkalmazható. Erre példaként a cinkionok mikroméretű aranyamalgám elektródon lejátszódó diffúziókontrollált redukciója során, a diffúziós rétegben kialakuló koncentrációváltozás cinkion-szelektív elektróddal történő vizsgálatát szeretném bemutatni. A vizsgálatokhoz a munkánk során kidolgozott, iminodiecetsav-amid ionofór alapú cinkion-szelektív mikropipetta elektródot használtuk. A 17.a ábra a céltárgy feletti Z irányú koncentrációprofil, míg az ábra b része a céltárgyotl 11 μm magasságban mért sugárirányú koncentrációváltozást mutatja. Mindkét mikroszkópiás kép szépen mutatja az elektród feletti ionkoncentráció-csökkenést [82].

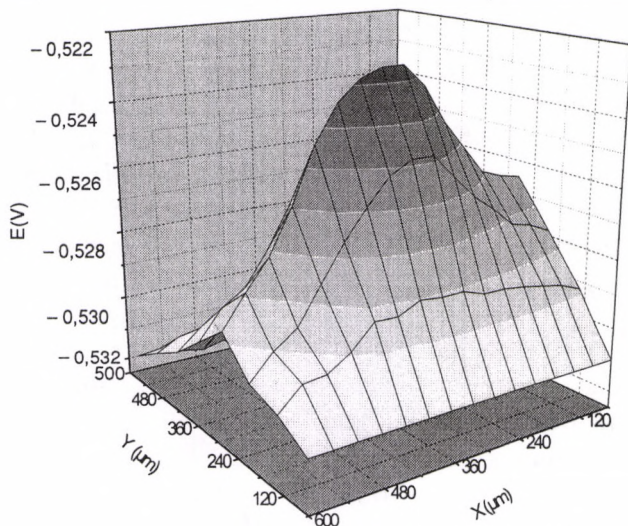


17. ábra Zn^{2+} -koncentráció profil egy $25 \mu m$ átmérőjű, higanyal bevont Au-elektrod felett, cinkredukció közben

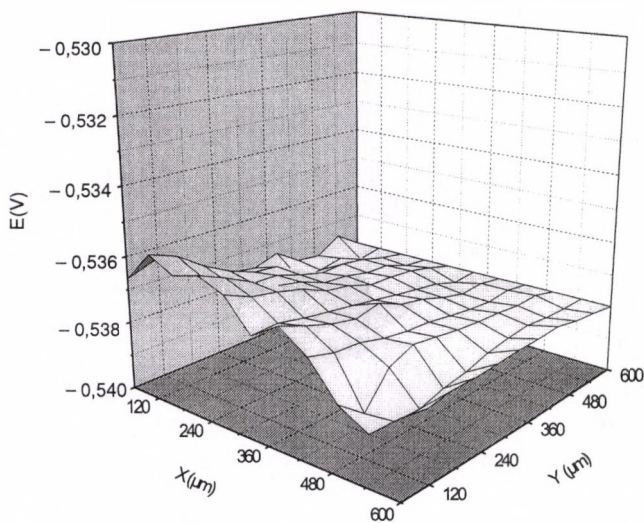
- a) az elektrod fölött $11 \mu m$ magasságban, sugárirányban;
 b) a megfelelő topográfiai kép

Mérőcsúc: potenciometriás cink mikroelektrod
 Pásztázási sebesség: $2 \mu m/s$

□ □ □ kísérleti adat; + + + elméleti görbe



a) Agaróban rögzített pékélesztő feletti oldatrész pH-profilja. A felvétel $15\ \mu\text{m}$ átmérőjű antimon mikroelektróddal készült $5\cdot 10^{-3}$ mól/l glükóz és 10^{-3} mól/l foszfátpuffer jelenlétében



b) Agaróban rögzített pékélesztő feletti oldatrész pH-profilja NaHSO_3 -os kezelés után. A felvétel $15\ \mu\text{m}$ átmérőjű Sb mikroelektróddal készült $5\cdot 10^{-3}$ mól/l glükóz és 10^{-3} mól/l foszfátpuffer jelenlétében

18. ábra. Antimon mérőcsúccsal felvett pH-profilok

Érdekes elektrokémiai mikroszkópiás alkalmazásnak tűnik az élő szervezetek metabolikus aktivitásának nyomon követése. E célra modellrendszernek a nagy metabolikus aktivitású élesztőgombát választottuk. Az agarózban immobilizált élesztősejtek a glukózt savas metabolitokká alakították. A felettük lévő oldatrész pH-jának antimon mikroelektróddal történő monitorálásával lehetőség nyílt az anyagcsere-aktivitás követésére. Nátriumszulfit hatására az élettevékenység megszűnik (18. ábra) [79].

Redox enzimeket tartalmazó biokatalitikus rétegek esetében az amperometriás mikroszkópiás módszer kiválóan alkalmas lokális enzimaktivitások feltérképezésére, míg potenciometriás mérőcsúccsal a mikroszkópiás vizsgálatok a hidroláz enzimek irányába is kiterjeszthetők. Munkánk során az ureáz enzim által katalizált hidrolitikus reakciót vizsgáltuk ammónium-ion-szelektív mérőcsúcs alkalmazásával karbamidmérő enzimelektrodok biokatalitikus rétegeinek az optimalizálása céljából.

Napjainkban az elektrokémiai mikroszkóp alkalmazási köre fokozatosan bővül biológiai, korróziós, membránvizsgálatok és elektród folyamatok tanulmányozása irányába. Az ionszelektív mikroszenzorok az új mikroszkópiás technika fejlődése révén új dimenziót nyitva kerülhetnek be a biológiai és a korróziós kutatásokba.

Befejező gondolatok

Előadásomban a szelektív érzékelők egy olyan csoportját mutattam be, amelynek fejlődését hosszú éveken át követhettem, és művelésében részt vehettem. Próbáltam kiemelni a klinikai és biológiai vizsgálatok szempontjából fontos ionszenzorok jelentőségét, utalva fejlesztésük és alkalmazásuk új irányaira is. Rámutattam a potenciometriás gyakorlatban bevált nagy szelektivitású ionofórok optikai szenzorok felismerő anyagaként való alkalmazási lehetőségeire, valamint a potenciometriás ultramikro-elektrodok jelentőségére a pásztázó elektrokémiai mikroszkópiában.

Szeretném hálásan megköszönni Pungor Ernő akadémikusnak, tanáromnak, hogy a kutatói pályára elhívott. Köszönöm a kutatói példát, a bizalmat és a támogatást. Kivételes örömmel tölt el, hogy oly sok éven át együtt dolgozhattunk.

Őszintén köszönöm munkatársaim, doktoráns és diplomázó hallgatóim áldozatos munkáját, témájuk értő továbbvitelét és támogatásukat. Érdemi hozzájárulásuk segített a mai naphoz vezető úton. Köszönöm a sokéves közös kutatómunkát Fehér Zsófia, Lindner Ernő, Nagy Géza és Horvai György egyetemi tanároknak.

Szeretnék külön köszönetet mondani az együttműködő hazai és külföldi intézetek munkatársainak, mindenekelőtt a BME Szerves Kémiai Technológia Tanszék tanárainak, Ágai Béla egyetemi docensnek, Bitter István egyetemi tanárnak és Tőke László akadémikusnak. Hálásan köszönöm a kutatási lehetőséget és az együttműködést R. P. Buck, A. J. Bard, R. Belcher és R. Kellner professzoroknak.

Tisztelettel megköszönöm a Magyar Tudományos Akadémia Kémiai Tudományok Osztályának megtisztelő bizalmát.

Irodalom

1. Cremer, M.: *Z. Biol.*, 47, 562 (1906).
2. Haber, F., Klemensiewicz, Z.: *Z. Physik. Chem.*, 67, 385 (1909).
3. Lengyel, B., Blum, E.: *Trans. Faraday Soc.*, 30, 461 (1934).
4. Lengyel, B., Csákvári, B., Boksay, Z.: *Acta Chim. Hung.*, 25, 225 (1960).
5. Boksay, Z., Csákvári, B., Lengyel, B.: *Z. Physik. Chem.*, 207, 223 (1957).
6. Boksay, Z., Rohonczy-Boksay, E., Havas, J.: In *Ion-selective Electrodes*, 5. Ed. E. Pungor. Akadémiai Kiadó, Budapest, 1989, 335 p.
7. Tendeloo, H. J. C.: *J. Biol. Chem.*, 113, 333 (1936).
8. Marschall, C. E.: *J. Phys. Chem.*, 43, 1155 (1939).
9. Sollner, K.: *Z. Electrochem.*, 36, 36 (1930).
10. Kolthoff, I. M., Sanders, H. L.: *J. Am. Chem. Soc.*, 59, 416 (1937).
11. Fischer, R., Babcock, R.: *Anal. Chem.*, 30, 1782 (1958).
12. Pungor, E., Hollós-Rokosinyi, E.: *Acta Chim. Hung.*, 27, 63 (1961).
13. Pungor, E., Havas, J., Tóth, K.: *Acta Chim. Hung.*, 41, 239 (1964).
14. Pungor, E., Havas, J., Tóth, K.: *Z. Chem.*, 5, 9 (1965).
15. Pungor, E., Havas, J., Tóth, K.: *Acta Chim. Hung.*, 48, 17 (1966).
16. Havas, J., Papp, E., Pungor, E.: *Anal. Chim. Acta*, 58, 9 (1968).
17. Pungor, E., Schmidt, E., Tóth, K.: *Proc. of Intern. Measurement Confederation Symposium on Electrochemical Sensors, Veszprém, Hungary*. 1968, 121 p.
18. MacDonald, A. M. G., Tóth, K.: *Anal. Chim. Acta*, 41, 99 (1968).
19. Tóth, K., Pungor, E.: *Anal. Chim. Acta*, 51, 221 (1970).
20. Pick, J., Tóth, K., Pungor, E.: *Anal. Chim. Acta*, 61, 169 (1972).
21. Pungor, E.: *Anal. Chem.*, 39, 28A (1967).
22. Pungor, E., Havas, J., Tóth, K.: *Anal. Chim. Acta*, 47, 291 (1969).
23. Pungor, E., Tóth, K.: *Analyst*, 95, 625 (1970).
24. Tóth, K., Gavallér, I., Pungor, E.: *Anal. Chim. Acta*, 57, 131 (1971).
25. Stefanac, Z., Simon, W.: *Chimia*, 20, 436 (1966).
26. Stefanac, Z., Simon, W.: *Mikrochem. J.*, 12, 125 (1967).
27. Pioda, L. A. R., Simon, W.: *Chimia*, 23, 72 (1969).
28. Pioda, L. A. R., Simon, W., Bosshard, H.-R., Curtius, H. C.: *Clin. Chim. Acta*, 29, 289 (1970).

29. Simon, W., Morf, W. E. Meier, P. C.: In *Structure and Bonding, Vol. 16*. Eds. Dunitz J. D., Hemmerich, P., Ibers, J. A., Jorgensen, C. K., Nielsands, J. B., Reinen, D., Williams, R. J. P. Springer, Berlin, 1973, 113 p.
30. Ammann, D., Pretsch, E., Simon, W.: *Tetrahedron Lett.*, 2473 (1972).
31. Ammann, D., Pretsch, E., Simon, W.: *Anal. Lett.*, 5, 843 (1972).
32. Ammann, D., Pretsch, E., Simon, W.: *Helv. Chim. Acta*, 56, 1780 (1973).
33. Craggs, A., Moody, G. J., Thomas, J. D. R.: *J. Chem. Educ.*, 51, 541 (1974).
34. Piçk, J., Tóth, K., Pungor, E., Vasak, M., Simon, W.: *Anal. Chim. Acta*, 64, 447 (1973).
35. Jenny, H.-B., Reiss, C., Ammann, D., Magyar, B., Asper, R., Simon, W.: *Mikrochimica Acta*, II., 309 (1980).
36. Mostert, I. A., Anker, P., Jenny, H.-B., Oesch, U., Morf, W. E., Ammann, D., Simon, W.: *Mikrochimica Acta*, I., 33 (1985).
37. Jenny, H.-B., Ammann, D., Dörig, R., Magyar, B., Asper, R., Simon, W.: *Mikrochimica Acta*, II., 125 (1980).
38. Kambic, H. E., Kiraly, R. J., Nose, Y.: *J. Biomed. Mat. Res.*, 10, 561 (1976).
39. Cha, S. G., Liu, D., Meyerhoff, M. E., Cantor, A. C., Midgley, A. R., Goldberg, H. D., Brow, R. B.: *Anal. Chem.*, 63, 1666 (1966).
40. Lindner, E., Cosofret, V. V., Ufer, S., Buck, R. P., Kao, W. J., Neuman, M. R., Anderson, J. M.: *J. Biomed. Mat. Res.*, 28, 591 (1994).
41. Umezawa, Y., Umezawa, K., Sato, H.: *Pure and Appl. Chem.*, 67, 507 (1995).
42. Morf, W. E., Seiler, K., Lehmann, B., Behringer, C. H., Tan, S., Hartman, K., Sorensen, R. P., Simon, W.: In *Ion-selective Electrodes*, 5. Ed. E. Pungor. Akadémiai Kiadó, Budapest, 1989, 115 p.
43. Kelepouris, E., Agus, Z. S., Civan, M. M.: *J. Membr. Biol.*, 88, 113 (1985).
44. Cosofret, V. V., Lindner, E., Johnson, T. A., Neuman, M. R.: *Talanta*, 41, 931 (1994).
45. Horvai, G., Graf, E., Tóth, K., Pungor, E., Buck, R. P.: *Anal. Chem.*, 58, 2735 (1986).
46. Lindner, E., Graf, E., Niegreis, Zs., Tóth, K., Buck, R. P., Pungor, E.: *Anal. Chem.*, 60, 295 (1988).
47. Buck, R. P., Tóth, K., Graf, E., Horvai, G., Pungor, E.: *J. Electroanal. Chem.*, 223, 51 (1987).
48. Tóth, K., Graf, E., Horvai, G., Pungor, E., Buck, R. P.: *Anal. Chem.*, 58, 2741 (1986).
49. Huser, M., Gehrig, P. M., Morf, W. E., Simon, W., Lindner, E., Jeney, J., Tóth, K., Pungor, E.: *Anal. Chem.*, 63, 1380 (1991).
50. Kellner, R., Götzinger, G., Pungor, E., Tóth, K., Pólos, L.: *Fresenius Z. Anal. Chem.*, 319, 839 (1984).
51. Kellner, R., Fischböck, G., Götzinger, G., Pungor, E., Tóth, K., Pólos, L., Lindner, E.: *Fresenius Z. Anal. Chem.*, 322, 151 (1985).
52. Kellner, R., Jippel, E., Pungor, E., Tóth, K., Lindner, E.: *Fresenius Z. Anal. Chem.*, 328, 464 (1987).
53. Tóth, K., Lindner, E., Pungor, E., Kellner, R.: *Fresenius Z. Anal. Chem.*, 331, 448 (1988).
54. Tóth, K., Lindner, E., Jeney, J., Graf, E., Horváth, M., Pungor, E., Bitter, I., Meisel, Jr. T., Ágai, B., Tőke, L., Buck, R. P., Kellner, R.: In *Ion-selective Electrodes*, 5. Ed. E. Pungor. Akadémiai Kiadó, Budapest, 1989. 181 p.
55. Oesch, U., Anker, P., Ammann, D., Simon, W.: In *Ion-Selective Electrodes*, 4. Ed. E. Pungor. Akadémiai Kiadó, Budapest, 1985, 81 p.
56. Kolthoff, I. M.: *Anal. Chem.*, 51, 1R (1979).

57. Lindner, E., Tóth K., Horváth, M., Pungor, E., Ágai, B., Bitter, I., Tőke, L., Hell, Z.: *Fresenius Z. Anal. Chem.*, 322, 157 (1985).
58. Tóth, K., Lindner, E., Horváth, M., Jeney, J., Bitter, I., Ágai, B., Meisel, T., Tőke, L.: *Anal. Letters*, 22(5), 1185 (1989)
59. Lindner E., Tóth K., Jeney J., Horváth, M., Pungor, E., Bitter, I., Ágai, B., Tőke, L.: *Mikrochimica Acta*, I, 157 (1990).
60. Jeney, J., Tóth, K., Lindner, E., Pungor, E.: *Microchemical J.*, 45, 232 (1992).
61. Tarcali, J., Nagy, G., Tóth, K., Juhász, G., Kukorelli, T., Pungor, E.: *Anal. Chim. Acta*, 178, 231 (1985).
62. Nagy, G., Tarcali, J., Tóth, K., Adams, R. N., Pungor, E.: In *Ion-Selective Electrodes*, 4. Ed. E. Pungor. Akadémiai Kiadó, Budapest, 1985, 567 p.
63. Spichiger, U. E., Eugster, R., Haase, E., Pumpf, G., Gehrig, P. M., Schmid, A., Rusterholtz, B., Simon, W.: *Fresenius Z. Anal. Chem.*, 341, 727 (1991).
64. Tóth, K., Lindner, E., Horváth, M., Jeney, J., Pungor, E., Bitter, I., Ágai, B., Tőke, L.: *Electroanalysis*, 5, 781 (1993).
65. Gehrig, P. M., Morf, W. E., Welti, M., Pretsch, E., Simon, W.: *Helv. Chim. Acta*, 73, 203 (1990).
66. Lindner, E., Horváth, M., Tóth, K., Pungor, E., Bitter, I., Ágai, B., Tőke, L.: *Anal. Letters*, 25(3), 453 (1992).
67. Lindner, E., Tóth, K., Pungor, E., Behm, F., Oggenfuss, P., Welti, D. H., Ammann, D., Morf, W. E., Pretsch, E., Simon, W.: *Anal. Chem.*, 56, 1127 (1984).
68. Tóth, K., Lan, B. T. T., Horváth, M., Bitter, I.: *Anal. Chim. Acta* (közlésre előkészítve)
69. Morf, W. E., Seiler, K., Sorensen, P. R., Simon, W.: In *Ion-Selective Electrodes*, 5. Ed. E. Pungor. Akadémiai Kiadó, Budapest, 1989, 141 p.
70. Morf, W. E., Seiler, K., Lehmann, B., Behringer, C., Hartman, K., Simon, W.: *Pure and Appl. Chem.*, 61, 1613 (1989).
71. Wang, K., Seiler, K., Morf, W. E., Spichiger, U. E., Simon, W., Lindner, E., Pungor, E.: *Anal. Sciences*, 6, 7151 (1990).
72. Tóth, K., Nagy, G., Lan, B. T. T., Jeney, J., Choquette, S. J.: *Anal. Chim. Acta* (közlésre elfogadva)
73. Lindner, E., Zwickl, T., Bakker, E., Lan, B. T. T., Tóth, K., Pretsch, E.: *Anal. Chem.* (közlésre elfogadva)
74. Tóth, K., Lan, B. T. T., Jeney, J., Horváth, M., Bitter, I., Grün, A., Ágai, B., Tőke, L.: *Talanta*, 41, 1041 (1994).
75. Yamada, A., Murase, T., Kikukawa, K., Arimura, T., Shinkai, S.: *Chem. Soc. Perkin Trans.*, 2, 793 (1991).
76. Engstrom, R. C., Pharr, C. M.: *Anal. Chem.*, 61, 1099A (1989).
77. Bard, A. J., Fan, F.-R. F., Kwak, J., Lev, O.: *Anal. Chem.*, 61, 132 (1989).
78. Bard, A. J., Fan, F.-R. F., Pierce, D. T., Unwin, P. R., Wipf, D. O., Zhou, F.: *Science*, 245, 68 (1991).
79. Horrocks, B. R., Mirkin, M. V., Pierce, D. T., Bard, A. J., Nagy, G., Tóth, K.: *Anal. Chem.*, 65, 1213 (1993).
80. Wei, Ch., Bard, A. J., Nagy, G., Tóth, K.: *Anal. Chem.*, 34, 1346 (1995).
81. Tóth, K., Nagy, G., Wei, Ch., Bard, A. J.: *Electroanalysis*, 7, 801 (1995).
82. Wei, Ch., Bard, A. J., Kapui, I., Nagy, G., Tóth, K.: *Anal. Chem.*, 68, 2651 (1996).
83. Tóth, K., Nagy, G., Horrocks, B. R., Bard, A. J.: *Anal. Chim. Acta*, 282, 239 (1993).