

Speciális célra szolgáló mikroelektrodok kifejlesztése és alkalmazása

NAGY Livia,¹ GYETVAI Gergely,² KISS András,² SOUTO Ricardo,³ ISQUERDO Javier³ és
NAGY Géza^{1,2,*}

1-Pécsi Tudományegyetem, Szentágotthai János Kutatóközpont, 7624 Pécs, Ifjúság u. 20.

2-Pécsi Tudományegyetem, Általános és Fizikai Kémia Tanszék, 7624 Pécs, Ifjúság u. 6.

3- LaLaguna University, Department of Physical Chemistry, E-38200 La Laguna, Tenerife, Canary Islands, Spain

1. Bevezetés

Az elektrokémiai mérőérzékelők a szelektív kémiai szenzorok egyik fontos családját képezik. Annak ellenére, hogy az első jól használható szelektív elektród kifejlesztésének kezdeti lépései több mint száz éve történtek,¹ a szelektív elektródok fejlesztése napjainkban is az érdeklődés középpontjában lévő, sokak által művelt terület. A korábbiakban több hazai kutatócsoport ért el kimagasló eredményeket a területen. A teljesség igénye nélkül szükséges megemlítenünk ezzel kapcsolatban Lengyel Béla,² majd Csákvári és Boksay³ üvegelektrodok fejlesztésére irányuló munkáját. A nem üveg alapú ionszelektív elektródok fejlesztésében Pungor és munkatársai végeztek úttörő munkát. Az iskola ionszelektív elektródokról szóló első közleménye⁴ másokat messze megelőzve 1961-ben jelent meg.

A szelektív kémiai szenzorok fejlesztésével és azok alkalmazásával kapcsolatos munkát folytatva, az elért eredményekről több közleményben számoltunk be részletesen. E helyen rövid összefoglalást kívánunk adni néhány különböző területen végzett munkánkról. Így újszerű mikropipetta elektródok kifejlesztéséről, azok alkalmazásáról, pásztázó elektrokémiai mikroszkópiás mérési módszerek fejlesztéséről, nagyérzékenységű amperometriás méréstechnika kifejlesztéséről.

A pásztázó elektrokémiai mikroszkópia (PEKM) – mint az ismeretes – az úgynevezett mérőcsúcs mikroszkópia egyik újabb változata. A méréstechnika kidolgozásában Bard⁵ és Engström⁶ kutatócsoportja végzett úttörő munkát. Az elektrokémiai mikroszkóp alkalmas precíziós pozicionáló szerkezet, mikroméretű elektrokémiai mérőcsúcs és speciális számítógépes adatgyűjtési és imázs formálási program segítségével képes kémiai információt hordozó nagyfelbontású képet készíteni különböző határfelületekről, céltárgyokról. A módszer elméletéről, alkalmazásairól könyv⁷ és számos összefoglaló tanulmány például,⁸⁻¹² jelent meg.

Rövid idővel a pásztázó elektrokémiai mikroszkópos méréstechnika kialakulásának kezdete után bekapcsolódtunk a területen folyó munkába. A munka végzéséhez szükséges elektrokémiai mikroszkópiás készülékek összeállítását, mérőprogramjának megírását laboratóriumunkban végeztük. A műszerépítésről, a területen elért kezdeti eredményeinkről több közleményben számoltunk be, ezek közül több a Magyar Kémiai Folyóiratban jelent meg.^{13,14}

A pásztázó elektrokémiai mikroszkópokkal történő mérések túlnyomó többségében mérőcsúcsként amperometriásan működő mikrokorong elektródot használnak. A legtöbb esetben a mérőcsúcsok aktív felülete platinából vagy szénből készül és mikrokorong alakú. Az elektród mérőfelülete kihegyezett szigetelő anyagból, gyakran üvegből készített hengeres elektródttestbe ágyazott. Az elektród test végét kúposan kihegyezik. A kúpos végen lévő kör alakú véglemez és a centrumában lévő aktív felület sugarainak hányadosát RG aránynak nevezzük. Ennek értéke 10, vagy lehetőleg annál kisebb. Az ilyen amperometriás mérőcsúcs az elektródttest méretétől, anyagától, a kihegyezési kúpszögétől függő szilárdságú. Rendszerint kedvezően robusztus. Az amperometriás mikroszkópiás kép a pásztázás során mért amperometriás áram lokális értékei alapján készül. Az amperometriás mérőcsúcson mért áram értéke a visszacsatolási jelenségeknek köszönhetően függ a mérőcsúcs – minta felület távolságtól. Így az illető távolság becsülhető. A potenciometriás mérések esetében nem jelentkezik a visszacsatolási jelenség. Az elektródpotenciál jel nem jelzi a vizsgált felület mérőcsúcsától való távolságát. Így egyrészt a kapott imázs kevésbé használható a minta jellemzésére, másrészt a pásztázás során a mérőcsúcs a minta egyes részeinek ütközve sérülést szenvedhet.

Munkánkban a pásztázó elektrokémiai mikroszkópiás mérések potenciometriás változatának fejlesztésével értünk el eredményeket. Egyrészt sikerült a minta – mérőcsúcs távolság mérésre alkalmas egyszerű megoldásokat találnunk. Másrészt sikerült kedvezően hosszú élettartamú, viszonylag nagy pásztázási sebességet lehetővé tevő ionszelektív mikropipetta elektródformát kifejlesztenünk mikroszkópiás mérésekhez.

2. Kísérleti eredmények

2.1. Módszerek a mintafelület és a mérőcsúcs közötti távolság mérésére

Észrevéve, hogy az kémiai mikroszkóp működéséhez nem feltétlenül szükséges széles potenciálablak alkalmazását lehetővé tevő amperometriás mérőcsúcsot használni, kísérletezni kezdtünk antimonból, illetőleg galliumból készített amperometriás mikroelektrodokkal. A kísérletek igazolták, hogy ezekből a fémekből készült elektródok egyes elektroaktív mediátor anyagok alkalmazása esetében

* Tel: 36-72-503600/24681; Fax: 69-72-503635; e-mail: g-nagy@gamma.ttk.pte.hu

megfelelő amperometriás jelet képesek produkálni. Esetükben működik a visszacsatolási jelenség. A jelenséget használva lehetséges a csúcs – mintafelület közötti távolság becslése.

Jól ismert, hogy az antimonelektrod viszonylag széles tartományban használható pH mérésre. Kézenfekvő volt mikrométerű antimonelektrod készítési technikáját kidolgozni és azt kettős funkciójú mérőcsúcsként alkalmazni a pásztázó elektrokémiai mikroszkópia gyakorlatában. A munkánkban kidolgozott elektrod és módszer alkalmazásával könnyen készíthető üveg kapilláris elektrodtestbe ágyazott mikrométerű antimon korongelektrod. Ez amperometriás üzemmódban a visszacsatolási jelenség alapján használható a mintafelületi topológiát mutató mikroszkópiás kép készítésére, és alkalmas a felület és a mérőcsúcs közötti távolság mérésére is. Potenciometriás elektrodként működve, a lokális pH viszonyokat mutató mikroszkópiás kép készíthető segítségével. A távolság mérésre az oxigén redukciós áramának detektálásával van kézenfekvő lehetőség. A felülettől távol mért amperometriás áram csökkenni kezd, amint az elektrod a felület közelébe kerül. A felület közelsége ugyanis árnyékolja az oxigén elektrodra irányuló diffúziós áramát. Az ily módon jelentkező negatív visszacsatolás mértékét az elektrod RG értékének figyelembe vételével illesztve a jelenségre vonatkozó egyenlethez nyerhető az illető távolság. Nagyszámú kémiai, biokémiai folyamat jár lokális pH változással. Így a kettős funkciójú antimon mikroelektrod mérőcsúcs sikeres pásztázó elektrokémiai mikroszkópiás alkalmazásáról számos közlemény ad számot.

Az élettani mérésekben gyakran alkalmaznak multicsoves elektrod konfigurációt. Kézenfekvőnek látszott megvizsgálni, hogy a potenciometriás mikroelektrodok alkalmazása esetében a mérőcsúcs – mintatávolság mérésére alkalmazható-e a dupla mérőcsúcs konfiguráció. Munkánkban olyan mérőcsúcsokat készítettünk, amelyek egy ionszelektív mikropipetta elektrod mellett egy távolság mérő érzékelőt is tartalmaztak. Kétféle távolságmérő érzékelőt alkalmaztunk. Az egyik esetben kettős kapillárisból készült mikropipetta-együttes egyik pipettáját az alacsony hőmérsékleten olvadó gallium fémmelegítővel töltöttük meg, míg a másik pipetta előzetesen hidrofóbizált hegyébe ionszelektív kóktélt, belsejébe pedig belső töltetet és belső vonatkozási elektrodot vittünk. A távolság mérésre a gallium elektrodot amperometriás üzemmódban használva a jelentkező negatív visszacsatolás mértékét használtuk. Az ionszelektív mikropipetta jele szolgált a kémiai imázs készítésre.

Megvizsgáltuk annak a lehetőségét is, hogy vajon az ionszelektív mikropipettához kapcsolt ikerpipetta konduktometriás üzemben alkalmazható-e az illető távolság becslésére. Ez esetben a pipettába, a mérőcellában alkalmazott pufferoldatot juttattunk nyitva hagyva annak szűkülő nyílását. A mintaoldatba és a távolságmérő pipetta belsejébe helyezett ezüst huzalok közé alkalmas feszültséget kapcsolva nyomonkövettük az áramot. Nyilvánvalóan, ha a pipetta nyílása kicsiny, akkor a pipetta hegyén átjutó ionáram döntően befolyásolja a mért áramintenzitást. Egy felületnek a pipetta hegyéhez való közelítése gátolhatja az ionáramot, azaz növelheti a fellépő ellenállást. Írhatjuk, hogy $R_{sol,\infty} / R_{sol}(L) = i_T(L) / i_{T,\infty}$ ahol R_{sol} az ellenállás,

i_T az áram. L a dimenzió mentes távolság, $L = d/a$, ahol d a pipettahegy – mintafelület távolság, a a pipettanyílás sugara, ∞ pedig, a nagy d távolságra utal. Az ellenállás változása a távolság változásakor $\Delta R(L) = R_{sol}(L) - R_{sol,\infty}$. A megfontolások alapján kapott¹⁵ alábbi összefüggés felhasználásával van lehetőség a nyitott pipettával mért áramerősség változás alapján történő távolságbecslésre.

$$\frac{\Delta R(L)}{R_{sol,\infty}} = -0.708 + \frac{1.5151}{L} + 0.6553 \cdot e^{-\frac{2.435}{L}} \quad (1)$$

2.2. Szilárd kontaktusú mikropipetta elektrod pásztázó elektrokémiai mikroszkópiás mérésekhez

Az ionszelektív mikroelektrodok közül a mikropipetta elektrodok igen előnyösnek bizonyultak élettani mérésekben. Kedvező tulajdonságuk, hogy rendkívül kis mérőcsúcs mérettel készíthetők. Így igen kis objektumok, akár élő sejtek belsejébe vezetve is alkalmasak adatokat szolgáltatni mikrokörnyezeti ionaktivitásról. Kevésbé zavarják a vizsgált mintában kialakuló viszonyokat. További előnye a mikropipetta elektrodformának, hogy azonos eljárást követve különböző ionok szelektív mérését lehetővé tevő mikropipetták készíthetők. Csak a pipetta hegyében alkalmazott hidrofób oldatdugó, azaz az ionszelektív kóktél összetételét kell alkalmasan megválasztani. Abban a szükséges segédanyagok mellett olyan ionofor anyagot kell oldani, amely a mérendő ionnal szelektív szupramolekuláris kölcsönhatást képez.

Az élettani vizsgálatokban történő alkalmazásokra kifejlesztett ionszelektív mikropipetták a pásztázó elektrokémiai mikroszkópia gyakorlatában nem bizonyultak előnyösnek. A mikropipetták rövid, sokszor csak egy-két napos élettartama, elektromos-, illetőleg mechanikus hatásokkal szembeni sérülékenysége nehézkessé teszi mikroszkópiás használatukat. A mikroszkópia területén történő alkalmazásuk során jelentkező másik komoly hátrányukat nagy elektromos ellenállásuk okozza. A mikrométer tartományban levő mérőfelületek esetében a potenciometriás mérőkör válasz ideje nagymértékben függ a körben lévő ellenállás és kapacitás szorzatától az úgynevezett RC tagtól. A pásztázás során a mérőcsúcs különböző környezetbe jutván az ottani ionaktivitási viszonyokat kell jelezze. A cella potenciál t időpillanatban mutatkozó értékét, $(E_{cell}(t))$ az alábbi egyenlet mutatja, ahol $E_{cell}(0)$ a nulla időpontban és $E_{cell}(\infty)$ pedig az egyensúly beállta utáni időpontban jelentkező elektrodpotenciált jelenti.

$$E_{cell}(t) = E_{cell}(\infty) \pm [E_{cell}(\infty) - E_{cell}(0)]e^{-t/RC} \quad (2)$$

Látható tehát, hogy ha RC értéke nagy, akkor viszonylag hosszú idő szükséges az $E_{cell}(t) \approx E_{cell}(\infty)$ eléréséhez. Ez azt jelenti, hogy nagy pásztázási sebesség mellett a mérő kör kicsiny válaszsebessége miatt torzított képet kapunk.

A kis elektrod méret nagy térbeli felbontást tesz lehetővé, de a jelentkező nagy ellenállás miatt csak kicsiny pásztázási sebességek alkalmazását teszi lehetővé. Kézenfekvő volt megkísérlni olyan mikropipetta elektrodok kifejlesztését, amelyek ellenállása jelentősen kisebb, mint az azonos mérőcsúcs átmérőjű hagyományos mikropipettáké.

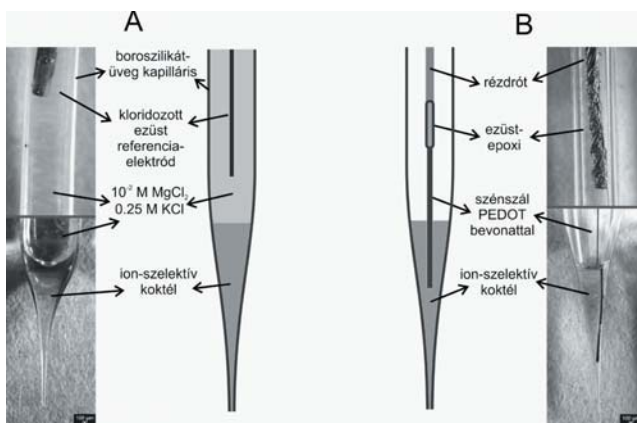
Az elektrodok ellenállásának csökkentére irányuló kísérleteinkben sikerült egy jelentősen kisebb belső

ellenállású mikropipetta elektródformát kifejlesztünk. Az elektród két részből áll. A külső rész a hagyományos mikropipetta elektródokkal megegyező méretű pipetta. Mérőcsúcának belsejébe kis térfogatú ionszelektív koktél oldatot viszünk, amely a hagyományos pipetta elektródok esetében szokásos magasságú (100-2000 μm). Az elektród belső töltetét és belső vonatkozási elektródját azonban szilárd kontaktussal helyettesítjük. A szilárd kontaktust 33 μm átmérőjű szénszál biztosítja. A szénszál a kapilláris belsejében csaknem a pipetta nyílásáig ér le. Így kicsi a szénszál és a külső mintaoldat közötti távolság, kicsi a kettő közötti nagyellenállású koktél réteg vastagsága. A szénszál felületét elektropolimerizációval poli-(3,4-etiléndioxi)-tiofén (PEDOT) vezető polimer réteggel vonjuk be. Ez a szénszál és a koktél között stabil határfázis potenciált biztosít. Az elektropolimerizációt 1-butil-3-metilimidazolium-hexafluoro-foszfát (BMIM⁺ PF₆⁻) ionfolyadék oldószerben oldott 3,4-etilén-dioxi-tiofén (EDOT) oldatban végeztük munkánkban kidolgozott elektródpotencial - idő program alkalmazásával.

A szilárdkontaktusú mikropipetta elektródok ellenállását a feszültségosztó (voltage divider) módszerrel tanulmányoztuk. Lényegében azonos készítési eljárást követve készítettünk ammónium-, kálium-, cink-, magnézium ion szelektív mikropipettákat. Az elektródok készítéséről alkalmazásáról több közlemény szól.¹⁶⁻¹⁹

A mint az előzőekben említettük, a „hagyományos felépítésű” ionszelektív mikropipetták élettartama ritkán haladja meg az egy- két napot. A munkánk nyomán kifejlesztett szilárd kontaktusú mikroelektródok, készítési időpontjuk után több hónappal is jól működtek.

A hagyományos és a szilárdkontaktusú mikropipetta elektródok felépítését mutatja az 1. ábra.

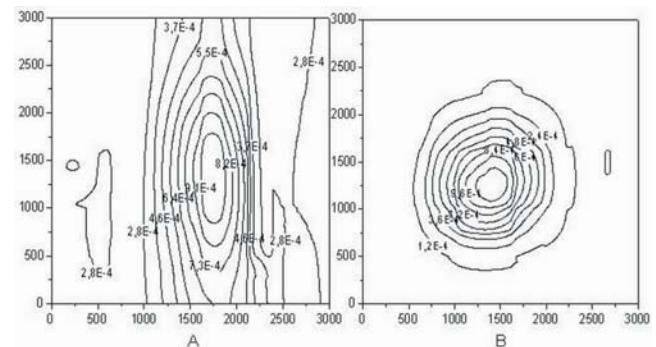


1. Ábra. Hagományos (A) és szilárdkontaktusú (B) mikropipetta elektródok képe és felépítése.

A két elektródtípus működésének összehasonlítására kb. 25 μm csúcsátmérőjű mikropipetta hegyébe ureáz enzimet tartalmazó agar kocsonyát juttattunk. Ezt a céltárgyat függőlegesen, a hegyével felfelé fordítva a mérőcellába rögzítettük. 0,1 mól/dm^3 koncentrációjú karbamid oldat alkalmazásával, a pipettahegy felett 70 μm magasságban a vízszintes XY síkban 10 $\mu\text{m/s}$ pásztázási sebességgel készítettünk kémiai mikroszkópiás képet. Az A kép, 3 μm átmérőjű hagyományos ammónium ionokat mérő

mikropipetta elektróddal készül, míg a B kép ugyancsak 3 μm átmérőjű szilárd kontaktusú ammónium elektróddal.

Az ureáz enzim által katalizált karbamid hidrolízisben keletkező ammónium ionok a kör keresztmetszetű gél felületről az oldat belseje felé diffundálnak. Az ábrán az XY skálák beosztása μm egységben készültek, míg a kontúr vonalak az azonos lokális $-\log a_{\text{NH}_4^+}$ értékeket mutatják. Jól látható, hogy a kisebb ellenállású elektróddal készített képen a kontúr vonalak körkörös megjelenésűek, míg a nagy ellenállású belső oldatos elektróddal készített képen elliptikus kontúrvonalakat kaptunk. Az elliptikus torzulást mérőkörben jelentkező nagy RC tag okozza.



2. Ábra. Ureáz enzimet tartalmazó pipettahegy felett 70 μm magasságban vízszintes síkban 10 $\mu\text{m/s}$ pásztázási sebességgel készítettünk kémiai mikroszkópiás képek. Az oldat 0,1 mól/dm^3 koncentrációjú karbamid oldatot tartalmazott. Az A kép 3 μm átmérőjű hagyományos ammónium ionokat mérő mikropipetta elektróddal készül, míg a B kép ugyancsak 3 μm átmérőjű szilárdkontaktusú ammónium elektróddal.

2.3. Repülésiidőn alapuló diffúziós koefficiens mérése pásztázó elektrokémiai mikroszkóppal

Számos elektrokémiai módszerek alkalmas különböző anyagok diffúziós koefficiensének mérésére. A módszerek azonban csak bizonyos feltételek mellett alkalmazhatók.

Az elektrokémiai mikroszkóp megjelenésével a diffúziós együttható mérés úgynevezett repülésiidő módszere egyszerűbbé és megbízhatóbbá vált. Munkánkban vizsgáltuk a módszer pásztázó elektrokémiai mikroszkópiás változatát, és azt alkalmaztuk különböző közegekben történő mérésekhez. Az eredményekről több közleményünk szól.²⁰⁻²²

A repülésiidő módszer alkalmazásához szükséges egy mikrométerű forrás és egy attól d távolságra elhelyezett detektor. Tegyük fel, hogy egy adott $t = 0$ időpillanatban pontszerű forrásból egy mikrométerű anyag dózis a diffúziós közegbe jutván a homogén térben a gömbi diffúzió sajátosságai szerint tovaterjed. Ez esetben az illető anyag koncentrációja $C_{d,t}$ a forrástól adott távolságra (d) adott időben (t) az alábbi egyenlettel számolható.

$$C_{d,t} = \frac{d^2}{8(\pi Dt)^{\frac{3}{2}}} \exp\left(-\frac{d^2}{4Dt}\right) \quad (3)$$

Ahol D a diffúziós együttható, M a bejuttatott anyag mennyiség. Ismerve d , t és M értékét, mérve $C_{d,t}$ -t, D értéke kiszámítható. Az illető modell viszonyaihoz igazodó kísérleti feltételeket nem könnyű teremteni. Különösen

nehéz pontszerű forrásból ismert M anyagmennyiség bejuttatása.

Technikailag egyszerűbb, ha adott d távolságban jelentkező koncentráció maximum megjelenési ideje Δt_{\max} és a diffúziós együttható közötti függvénykapcsolatot használjuk a mérésre.

$$D = \frac{d^2}{6\Delta t_{\max}} \quad (4)$$

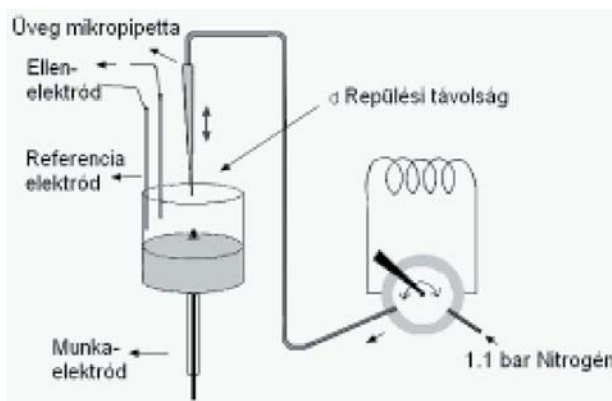
Látható, hogy ez esetben nem szükséges M ismerete. d és Δt_{\max} mérésével a diffúziós együttható kiszámítható. Természetesen a módszer úgy működik jól, ha a repülési távolsághoz képest az anyagdózis pontszerűnek tekinthető.

Korábbi méréseinknél²³ nehézséget jelentett a forrás és a detektor közötti, a néhány száz mikrométer távolság pontos mérése.

A pásztázó elektrokémiai mikroszkóp nagy pontossággal tudja változtatni a detektor pozícióját. Így különböző távolságok mellett tudunk $d+n\Delta x - \Delta t_{\max}$ adatpárokat gyűjteni a mikroszkóp segítségével, amelyekből a számított diffúziós együttható értékek átlaga megbízható adatnak bizonyult.

$$D = \frac{(d + n_1\Delta x)^2}{6\Delta t_{1,\max}} = \frac{(d + n_2\Delta x)^2}{6\Delta t_{2,\max}} \quad (5)$$

A 3. Ábra, különböző repülési távolságok melletti mérés végzéséhez használt készülék összeállítási rajzát mutatja. Az oldatdózis beadásra hurok injektorral előállított nyomás hullámot és mikropipettát használtunk.

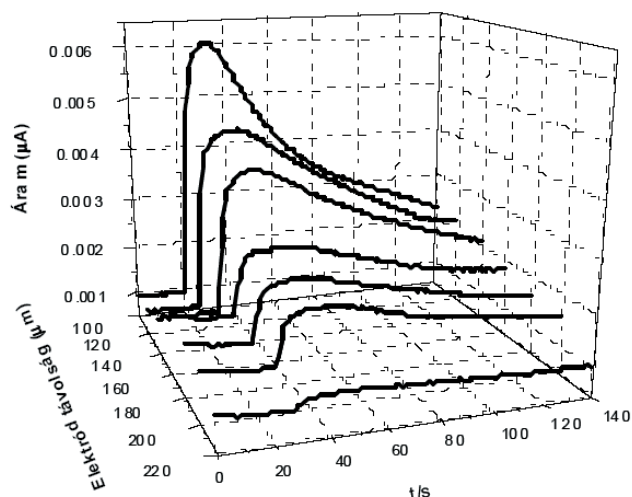


3. Ábra. a repülési időn alapuló diffúziós együttható méréshez használt mérőcella és injektor felépítése.

Példaképpen mutatunk különböző repülési távolságok mellett beadott glükóz dózisok esetében kapott áram – idő transzienseket. A mérés 0,1 mol/dm³ nátrium hidroxid oldatban készült. Detektorként amperometriásan működő 25 μm átmérőjű réz mikroelektrodot használtunk.

2.4. Periodikusan megszakított amperometriás módszer az amperometriás bioszenzorok érzékenységének növelésére

Az amperometriás detektálást alkalmazó bioszenzorok működésekor az adott elektródpotenciál mellett regisztrált



3. Ábra. Elektrokatalitikus sajátságú réz mikroelektroddal, különböző, repülési távolságok mellett mért áram – idő transziensek. Az áram a glükóz elektróddal érintkező oldatfilmben jelentkező pillanatnyi koncentrációját jelzi.

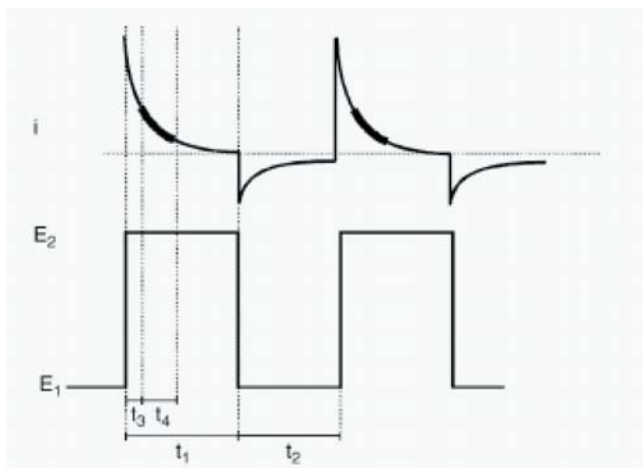
áram jelenti az analitikai jelet. A mérendő anyag jelenlétében, annak koncentrációjától függő változás következik be az elektród felületén lévő reakció réteg koncentráció viszonyában. A változást a felületen végbemenő katalitikus kémiai reakció idézi elő. A reakcióban az elektród által detektált anyag keletkezik. Az elektród folyamatban a detektált anyag átalakul, koncentrációja csökken. Kis mérendő anyagkoncentrációk esetében kismennyiségű anyag keletkezik. A detektált anyag lokális koncentrációját az elektród folyamat is csökkenti, így a hagyományos amperometriás detektálás esetében kicsiny amperometriás áram jelentkezik, a bioszenzor érzékenysége kicsinynek mutatkozik.

Kézenfekvő volt megvizsgálni, hogy vajon az elektrolízis folyamatát periodikusan megszakítva növelhető-e az amperometriás enzimszenzorok érzékenysége. Kísérleteinkben amperometriás alapérzékelő felületén alkalmas enzim tartalmú reakció réteget kialakítva glükóz, putreszcin és dopamin mérő elektródokkal végeztünk méréseket. A kísérleti eredményekről több közlemény szól^{24,25}.

Munkánkban a hagyományos amperometriás detektálás melletti mérési érzékenységet összehasonlítottuk olyan mérési programok esetében kapott érzékenységgel, amelyet különböző periodikusan megszakított amperometriával tapasztaltunk. Az 5. ábra periodikusan megszakított amperometriás mérési programot mutat.

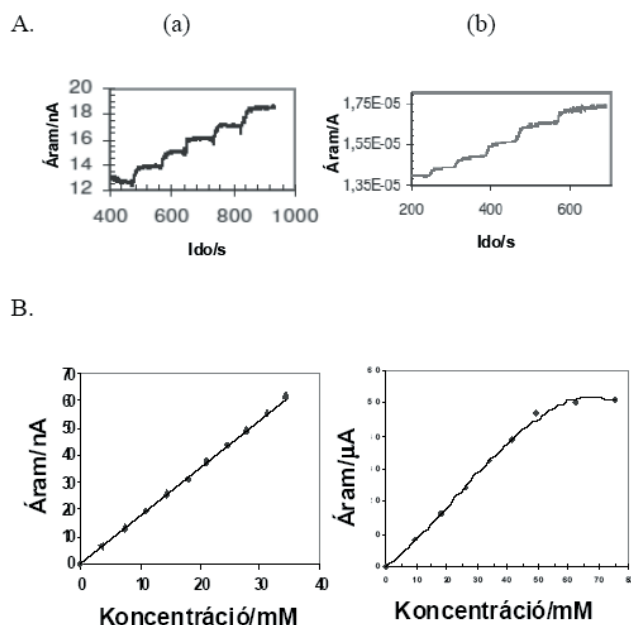
Látható, hogy az elektródpotenciál – idő program két részből áll. t_1 ideig az elektródra E_1 potenciált, t_2 ideig pedig E_2 potenciált kapcsolunk. Ezt periodikusan ismétljük. E_2 potenciálon megy végbe a meghatározás alapját képező elektród folyamat, míg E_1 potenciált úgy választjuk meg, hogy azon ne történjen számottevő elektród reakció. A potenciál program hatására kialakuló áram – idő transzienseken jelöltük a detektálási időt (t_d). Látható, hogy az áram reakció réteggel bevont elektród felületen a E_2 elektródpotenciál impulzus jelentkezése pillanatában nagy. A kondenzátor áram „lecsengése” után történik a detektálás.

Ekkor még mindig a hosszú polarizációs idő alatt mérhetőnél lényegesen nagyobb az áramintenzitás. A periodikusan megszakított amperometriás mérési program időt ad az elektróddal érintkező oldatfilmnek a detektálandó anyaggal való „feltöltődésre”. Így, nagyobb érzékenységet, azaz a nagyobb $\Delta i/\Delta C$ meredekségű kalibrációs görbét kapunk. Ez kis koncentráció vagy kis aktivitású biokatalizátort tartalmazó reakció rétegek esetében különösen előnyössé teszi a módszert.



5. Ábra. periodikusan megszakított amperometriás mérés E vs. T programja.

A 6. ábra összehasonlítja periodikusan megszakított amperometriás programmal készült és hagyományos amperometriás módszerrel azonos elektródok esetében készített regisztrátumokat és kalibrációs görbéket.



6. Ábra. Hagományos amperometriás (a) és periodikusan megszakított amperometriás (b) módszerrel készült mérőgörbék (A) és kalibrációs (B) összehasonlítása.

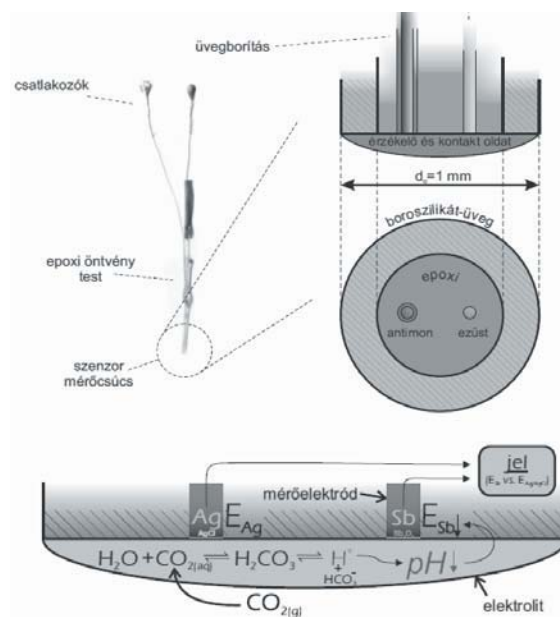
Meg kell jegyezzük, hogy a kromatográfiai detektálás céljaira kidolgozott pulzáló amperometriás detektálási programok az elektród felület elektrokémiai tisztítására, regenerálására szolgálnak. A HPLC mérésekben a pulzáló

amperometriás detektálás során az elektród az áramló eluens oldattal érintkezik. A periodikusan megszakított amperometriás mérésekben az elektród felületet egy kisebb nagyobb vastagságú réteg vonja be. Az érzékenység növelést a rétegek az elektrolízis szünetében történő feltöltődése eredményezi.

2.5. Severinghaus típusú mikrocella légrése keresztüli pásztázó elektrokémiai mikroszkópiás mérésekhez

Az elektrokémiai mikroszkópiás mérésekben a mérőcsúcs folyadék vagy gélfázisban végezi a pásztázást. Ugyanakkor sok esetben célszerű a gázfázissal érintkező mintáról kémiai mikroszkópiás képet készíteni. Ilyen eset például folyadék vagy szilárd felületen megtelepedett biofilm sajátosságainak tanulmányozása. Kísérleteinkben a Severinghaus típusú potenciometriás gázelektrod mikroméretű változatát készítettük el. Az elektród tulajdonképpen légrése széndioxid mérő mikrocella. Mérő felülete antimon mikrokorong elektródot, ezüst/ezüst-klorid vonatkozásie lektrodot tartalmaz. A mérő felületet hidrogén karbonátot és konyhasót tartalmazó kistérfogató oldatfilm borítja.

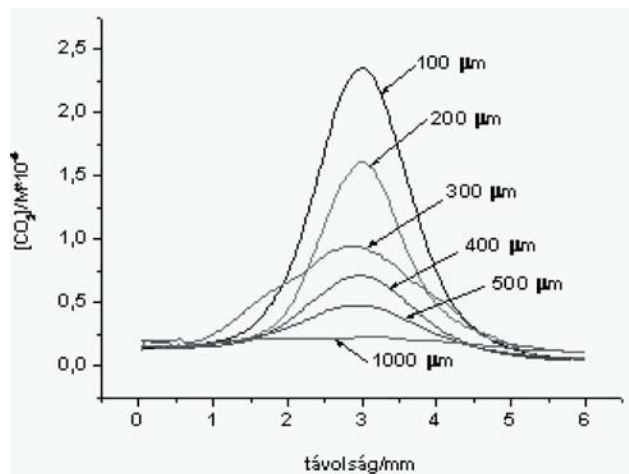
Amint az jól ismert, a cella működése azon alapul, hogy az oldatfilmmel érintkező gáz összetétele befolyást gyakorol a film pH-jára. Ezt jelzi az antimon mikroelektrod potenciálja. A légrése megoldás előnye a viszonylag gyors válasz. A cella jól alkalmazhatónak bizonyult élesztő telep



7. Ábra. A Severinghaus típusú légrése mikrocella felépítése, működése.

felett a légtérben pásztázva a kibocsátott széndioxid légtérben lévő lokális koncentrációját mutató kép, illetve vonal menti profil megjelenítésére. A cella készítéséről, működésének vizsgálatáról, alkalmazásáról közlemény jelent meg²⁶. A 7. ábra, a cella felépítését, működését mutatja. Élesztő kultúra felett, különböző magasságban történt vonal menti pásztázás során kapott széndioxid koncentráció-távolság képek.

A 8. Ábra b 1mm szélességű, egyenes vonalszerű élesztő kultúra felett, mérőlegesen, különböző magasságokban történő pásztázás eredménye.



8. Ábra. Élesztő kultúra felett merőlegesen pásztázott PEKM felvétel.

Köszönetnyilvánítás

A szerzők köszönetüket fejezik ki a TÁMOP-4.2.1.B-10/2/KONV-2010-0002 jelű, „A Dél-dunántúli régió egyetemi versenyképességének fejlesztése” című, Pécsi Tudományegyetem elnyert projektjének, a munka anyagi támogatásáért. Megköszönik a szerzők Varga Ágnesnek és Kiss Lászlónak gondos munkájukat, amellyel a kísérleteket segítették.

Hivatkozások

1. Cremer, M. *Z Biol.* **1906**, *47*, 562–569.
2. Lengyel B.; Blum, E. *Trans. Faraday Soc.* **1934**, *50*, 46.
3. Boksay, Z. B.; Csákvári, B.; Lengyel, Z. *Zeitschrift für physikalische Chemie* **1957**, *207*, 223–226.
4. Pungor, E.; Hollos-Rokosinyi, E. *Acta Chim. Acad. Sci. Hung.* **1961**, *27*, 63–67.

Development and application of microelectrodes serving for special purposes

The paper on one hand shortly summarizes the results of our recent works achieved in developing microelectrodes applicable for solving special problems and the results obtained using them. On the other one it gives a short illustration about our method of periodically interrupted amperometry (PIA) that successfully could be used for enhancing sensitivity of amperometric measurements when working electrodes coated with stationary layer were employed.

Using potentiometric measuring tip in practice is scanning electrochemical microscopy (SECM) the determination of sample – tip distance is a challenging task. In our work a double function micro antimony tip was developed. Using it in amperometric mode distance estimation could be done taking advantage on the feed back effect. In potentiometric mode the local pH could be mapped with it. When local activity of different ions had to be investigated, double barrel electrodes were prepared.

5. Liu, H.Y.; Fan, F.R.F.; Lin, C.W.; Bard, A.J. *J Am Chem Soc* **1986**, *108*, 3838–3839.
6. Engstrom, R.C.; Weber, M.; Wunder, D.J.; Burgess R.; Winquist, S. *Anal Chem* **1986**, 58844–848.
7. Bard, A.J.; Mirkin, M.V. Eds, Scanning Electrochemical microscopy, **2001**, Marcel Dekker, Inc.
8. Nagy, G.; Nagy, L.; Fresenius *J Anal Chem* **2000**, *366*, 735–744.
9. Gyurcsányi, R.E.; Jágerszegi, G.; Kiss, G.; Tóth, K. *Bioelectrochemistry* **2004**, *63*, 207–215.
10. Edwards, M.A.; Martin, S.; Witworth, A. L.; Macpherson, J.V.; Unwin, P.R. *Physiol Meas* **2006**, *27*, R63–R108.
11. Schuhmann, W.; Schulte, A. *Angew Chem Int Ed* **2007**, *46*, 8760–8777.
12. Wittstock, G.; Burchardt, M.; Pust, S.E.; Shen, Y.; Zhao, C. *Angew Chem Int Ed* **2007**, *46*, 1584–1617.
13. Kapui, I.; Nagy, G.; Csány, B.; Tóth, K. *Magy. Kém. Foly.* **1998**, *104*, 195–207.
14. Csóka, B.; Kovács, B.; Nagy G. *Magy. Kém. Foly* **2002**, *108*, 185–194.
15. Wei, C.; Bard, A. J.; Nagy, G.; Tóth, K. *Anal Chem* **1995**, *67*, 1346–1356.
16. Gyetvai, G.; Sundblom, S.; Nagy, L.; Ivaska, A.; Nagy, G. *Electroanalysis* **2007**, *18*, 116–1122.
17. Gyetvai, G.; Nagy, L.; Ivaska, A.; Hernadi, I.; Nagy, G. *Electroanalysis*, **2009**, *21*, 1970–1976.
18. Varga, A.; Nagy, L.; Izquierdo, J.; Bitter, I.; Souto, R.; Nagy, G. *Anal. Letters*, **2011**, *44*, 2876–2886.
19. Izquierdo, J.; Nagy, L.; Varga, A.; Bitter, I.; Nagy, G.; Souto, R. M. *Electrochim. Acta* **2012**, *59*, 398–403.
20. Csóka, B.; Nagy, G. *J. Biochem. Biophys. Methods* **2004**, *61*, 57–67.
21. Nagy, L.; Gyetvai, G.; Nagy, G. *Electroanalysis*, **2009**, *21*, 542–549.
22. Varga, Á.; Gyetvai, G.; Nagy, L.; Nagy, G. *Anal. and Bioanal. Chem.* **2009**, *394*, 1955–1963.
23. Rice, M.E.; Gehardt, G.A.; Hierl, P.M.; Nagy, G.; Adams, R.N. *Neurosci.* **1985**, *15*, 891–902.
24. Takátsy, A.; Csóka, B.; Nagy, L.; Nagy, G. *Talanta*, **2006**, *69*, 281–285.
25. Nagy, L.; Kálmán, N.; Nagy, G. *J. Biochem. Biophys. Methods* **2006**, *69*, 133–141.
26. Kiss, A.; Kiss, L.; Kovács, B.; Nagy, G. *Electroanalysis* **2011**, *23*, 2257–2497.

One barrel served for housing ion selective micro electrode while the other barrel served for distance measurements.

In potentiometric SECM fast responding measuring circuitry is needed to be able to use relatively high scanning rate. Slow response results in distorted image.

Potentiometric measuring tip with reduced resistance provides faster response. In our work solid contact ion selective micropipettes were developed for SECM. Their reduced resistance and very much increased life time made them very useful tip in high resolution potentiometric SECM studies.

Time of flight methods provide simple and fast ways for determination of diffusion coefficients of different species in different media, in solutions or in gels. The reliability of these measurements could be considerable improved by using SECM apparatus capable accurately changing the flight distance.

An air gap Severinghaus type carbon dioxide measuring micro cell has been fabricated. In the first time we used it for scanning in gas phase. In those experiments successful mapping of carbon dioxide out flux over living yeast culture were carried out.