

## NETRADIČNÍ POUŽITÍ POLAROGRAFIE/VOLTAMETRIE

ROBERT KALVODA

UNESCO Laboratoř elektrochemie životního prostředí, Ustav fyzikální chemie J. Heyrovského, Akademie věd České republiky, Dolejškova 3, 182 23 Praha 8

Došlo dne 6 V 1999

---

 Klíčová slova polarografie, voltametrie, aplikace
 

---

## Obsah

1. Úvod
2. Biologické aplikace
  - 2.1. Měření *in vivo*
    - 1.1. DNA v toxikologické analýze a lékařské diagnostice
    - 2.3. Imunologická měření
    - 2.4. Sledování karcinogenity chemických látek
3. Analýza pevné fáze
  - 3.1. Polarografie nerozpustných látek
  - 3.2. Abrasivní stripping voltametrie
4. Voltametrie v plynné fázi
5. Tribodiagnostika
6. Závěr

## 1. Úvod

Cílem tohoto sdělení není zhodnocení stavajícího stavu a možností využití polarografie/voltametrie v chemické laboratoři - zejména v chemické analýze, což bylo předmětem různých článků věnovaných pětasedmdesátiletému jubileu polarografie, - ale spíše diskuse některých „speciálních možností“, které polarografie/voltametrie skýtá, případně vytyčení řady „netradičních“ použití této metody. A těch je vsuktu tolik, že životnost této elektrochemické metody je zajištěna ať již z důvodu určité nezastupitelnosti, originality měření a v neposlední řadě i ekonomické výhodnosti.

Na prvním místě budou uvedeny některé speciální aplikace v problematice týkající se lidského zdraví, což v podstatě zahrnuje oblast biologickou či biochemickou. Dále budou diskutovány aplikace voltametrie při analýze pevné fáze (zejména tzv. abrasivní stripping voltametrie), měření ve fázi plynné a konečně použití v tribodiagnostice. Všechny tyto aplikace se vymykají z rámce běžného, tedy tradičního použití polarografie a voltametrie v analytických laboratořích.

## 2. Biologické aplikace

Pomineme stanovení biologicky aktivních látek ať již endogenních nebo exogenních, různých léčiv či jejich metabolitů v tělních tekutinách a vůbec v biologickém materiálu, spočívá-

jící na standardních analytických postupech, tzn. předběžné úpravě vzorku, hlavně za použití extrakce sledované látky ze vzorku. Rovněž pomineme rozsáhlou plejádu biosenzorů pracujících na ampérometrickém principu - tyto tvoří dnes již v podstatě samostatný obor těšící se všeobecnému zájmu biochemiků.

2.1 Měření *in vivo*

Samostatnou disciplínu biologických aplikací tvoří tzv. „voltametrie *in vivo*“, sloužící k sledování fyziologicky účinných látek endogenního původu, tzn. produkovaných v živém organismu, hlavně jejich koncentračních změn v důsledku různých fyziologických pochodů, případně externího působení chemických látek na sledovaný organismus. Řadu biologicky významných látek lze tak sledovat prostřednictvím jejich signálů přímo v místech jejich působení, tzn. v živém organismu, neboli *in vivo*<sup>1</sup>. Při tomto invazivním měření je čidlo vpraveno přímo do měřené tkáně, cévy nebo orgánu. Jedná se tedy o analytickou metodu použitelnou či používanou na malém povrchu vzorku řádu čtverečních mikrometrů. Jiné analytické metody skýtají víceméně celkový obraz toho co se v tkáni děje, měření s mikroelektrodami naopak dávají obraz o lokálních dějích a to při kontinuálním monitorování různých metabolitů a drog v neuronových tkáních nebo artériích. K usnadnění takových voltametrických měření byly některými firmami vyrobeny speciální typy polarografů (např. přístroj Biopulse fy Tacussel (Francie), voltametrický analyzátor CV 37 fy BAS (Bioanalytical Systems (USA)), pracující se semiderivací. Nejhojněji jsou tato měření používána v mozkovém systému, podrobné informace přináší<sup>2</sup>

Na prvním místě lze uvést aplikaci, kdy se v mozku pomocí implantovaných voltametrických mikroelektrod sleduje chování různých neurotransmiterů - přenašečů informací jako dopa, dopamin, serotonin, epinefrin, apod. - což jsou sloučeniny na elektrodě snadno oxidovatelné, jak poznal Adams<sup>3</sup>, který je v podstatě zakladatelem celého oboru elektrochemických měření *in vivo*. Tímto způsobem lze studovat pochody probíhající v mozku při aplikaci chemických sloučenin nebo různých léčiv. Předmětem výzkumu jsou též otázky spojené s drogovou závislostí, zřejmě s cílem nalezení optimálních látek k jejímu léčení. Lze zde zmínit, že po injekci amfetaminu narůstá v mozku koncentrace kyseliny askorbové.

Aplikace mikroelektrod umožňuje rovněž studium chemických procesů v cytoplazmě jednotlivých buněk. Stručný přehled podává<sup>4</sup> Lákavou možností v tomto směru je sledování alergických reakcí na izolovaných buňkách vlivem různých chemikálií<sup>5</sup>. Jako alergen fungující antigen vede sensibilizaci k vytvoření protilátek. Při reakci antigenu s protilátkou se uvolní z mastocytu tzv. mediatory, což jsou sloučeniny jako histamin, prostaglandin apod., vázané zde v biologicky aktivní formě na heparin nebo bílkoviny. A právě tyto látky, uvolněné zmíněnou alergickou reakcí lze voltametricky sledovat.

Elektrochemie *in vivo* tedy může skýtat nové informace týkající se znalosti biochemických procesů na buněčné úrovni,

zejména jejich farmakologických aspektů a vůbec chemie fyziologických funkcí, což též přispívá k rozpoznání podstaty různých chorob, eventuálně jejich diagnostice a vůbec kontrole zdraví lidí

## 2 2 DNA v toxikologické analýze a lékařské diagnostice

Věnujme se nyní sledování vlivů na nositele genetických informací, zodpovědného v živém organismu za proteosyntézu, tj. deoxyribonukleovou kyselinu (DNA) pro účely toxikologické, případně sledování specifických sekvencí nukleotidů (což jsou fosforečné estery nukleosidů na bázi purinové nebo pyrimidinové jako adenosin, guanosin, cytidin a thymidin) v DNA k lékařské diagnostice některých chorob

Elektrochemickým studiem nukleových kyselin se koncem padesátých let jako první začal zabývat E. Paleček, který objevil možnost rozlišení denaturované formy, tj. jednovláčkové, od formy nativní s dvojitou šroubovicí při teplotní denaturaci. Takovým otevřením šroubovice se stanou na rtuťové elektrodě adeninové a cytosinové zbytky nukleotidů dostupné redukci. Tato redukce je provazena vznikem píků na polarografické či voltametrické křivce, jejichž výška se tedy zvyšuje s množstvím adeninu a cytosinu dostupného elektrodové reakci na elektrodě a se stupněm porušení původní šroubovice nebo narušením vazby s cukernou a fosforečnanovou složkou. Tento významný efekt byl v průběhu let hlavně Palečkovou školou rozpracován do různých variant využitelných až již k základnímu výzkumu nebo - a to hlavně ke sledování toxických látek (případně i různých druhů záření) působících na DNA zhoubným způsobem. Takové poškození DNA může totiž vést k poruchám života buňky - mutacím, maligním přeměnám, apod. což v konečné fázi vede k narušení lidského zdraví. Z toho tedy vyplývá důležitost detekce rušivých látek a efektů na DNA.

Lze tak uvést vázání protirakovinného antibiotika na DNA (cit.<sup>6</sup>), studie změn nativní DNA v důsledku ozáření nízkými dávkami gama záření<sup>7</sup> jakož i studia interakci nukleových kyselin s genotoxickými látkami<sup>8</sup>

DNA, zejména scDNA (supercoiled - scDNA) může být použita při zjišťování účinku škodlivých látek tím způsobem, že je imobilizovaná na elektrodě - rtuťové nebo uhlíkové<sup>9</sup>. Taková modifikovaná elektroda velmi citlivě reaguje na poškození DNA a předčí citlivosti jiné analytické metody jako gelovou elektroforézu apod. Tak např. rtuťová elektroda modifikovaná scDNA byla využita k sledování hydroxylových radikálů v roztoku, případně jiných škodlivin v průmyslových vodách. Zejména lze zmínit silné narušení imobilizované DNA vodami ze zatopených uranových dolů<sup>10</sup>

Ke studiu možnosti sledování některých virů a bakterií k účelům diagnostickým bylo využito hybridizačních postupů. Hned úvodem ale musí být zdůrazněno, že se jedná o předběžné laboratorní pokusy. V této souvislosti budtež uvedeny snahy o konstrukci senzorů specifických na sekvenci DNA a na detekci bakterií (např. *Mycobacterium tuberculosis*)<sup>11</sup> a virů (např. HIV<sup>12</sup>). Detekce je založena na znalosti struktury tj. posloupnosti bází v DNA detegovaných patogenů a to tím způsobem, že na elektrodě je imobilizováno vlákno DNA (single stranded - ssDNA) mající takový sled bází, aby mohlo dojít hybridizaci ke spojení s bakteriální či virovou DNA přítomnou ve vzorku roztoku na základě komplementarity.

Deponované vlákno DNA (nebo vlákno peptidické nukleové kyseliny tzv. PNA, což je strukturální analog) je tedy jakýmsi selektivním cílem pro komplementární DNA přítomnou v roztoku. Spojení obou vláken hybridizací je doprovázeno změnou efektivní velikosti povrchu modifikované elektrody, což lze indikovat elektrochemicky. K indikaci lze rovněž použít interkalační reakce, kdy se elektrochemicky aktivní látka váže k dvoušroubovicové DNA vzniklé hybridizací<sup>13</sup>

Již v předchozím zmíněné mterkalace vhodných sloučenin do dvojité šroubovice DNA bylo dále využito k stanovení toxických aromatických aminů pomocí modifikované elektrody tvořené grafitovou pastou s adsorpcí nahromaděné komerčně dostupné nativní DNA z telecího brzlíku (cit.<sup>14</sup>). Elektrochemické signály odpovídaly oxidaci aromatického aminu naakumulovaného adsorpcí na elektrodě na kationtový radikál, výška píku pak byla úměrná koncentraci aminu. Metoda byla vyzkoušena na stanovení aromatických aminů ve vodách. Přehledně jsou zmíněné techniky popsány také v publikacích<sup>15,16</sup>. Závěrem této kapitoly nutno opět zdůraznit, že se dosud často jedná o výzkumné práce na modelových látkách. Nicméně řada předběžných pokusů nasvědčuje možností praktických aplikací. Úsilí v tomto směru intenzivně pokračuje.

## 2 3. Imunologická měření

Ke zjišťování reakce antigenu s protilátkou byly vypracovány také četné elektrochemické metody včetně polarografických, jak o tom pojednává spis<sup>17</sup> a také souhrnný článek v tomto časopise věnovaný imunosenzorům<sup>18</sup>.

První práci o polarografickém zkoumání reakce antigenu s protilátkou publikoval B. Breyer<sup>19</sup>, autor AC polarografie. Nejprve byl připraven polarograficky aktivní azo-protein. Imunizací králíka byla pak získána protilátka - antisérum. Po přidání tohoto specifického antiséra do roztoku antigenu, tedy azo-proteinu, došlo k silnému potlačení jeho polarografické vlny. Jestliže bylo do roztoku azo-proteinu přidáno nespecifické antisérum v stejných koncentračních podmínkách, došlo pouze k snížení vlny azo-proteinu úměrně zředění roztoku. Kvalitativní změnu do těchto měření přinesla adsorptivní stripping voltametrie (AdSV), při níž jsou antigen a protilátka, které se voltametricky často chovají zcela obdobně, nahromaděny adsorpcí na elektrodě a na výsledné křivce sledována jejich interakce. Jako jeden z příkladů lze uvést práci<sup>20</sup>, popisující využití AdSV při sledování reakce myšního imunoglobulinu s myším anti-imunoglobulinem. obě tyto látky skýtají na voltametrické křivce dva píky (zřejmě tensametrického původu - poznámka autora). Přidává-li se do roztoku myšního IgG myši anti-IgG, dochází ke snižování píků IgG. Jestliže by se do původního roztoku přidávala nespecifická protilátka, došlo by naopak ke zvýšení píků jako u prostého zvýšení koncentrace povrchově aktivní látky. Obdobné práce budtež zde jen citovány<sup>21</sup>

Metody AdSV bylo využito i ke sledování reakce lymfocytických leukemických buněk s vypěstovanou monoklonální protilátkou<sup>22</sup>

Zda polarografická metoda nalezne uplatnění v praxi, kde jsou již pro tato měření zavedeny standardní metody je otázkou. Nicméně měření pomocí AdSV jsou velmi citlivá a celkový vzhled voltametrické křivky může jistě poskytnout informace jinými metodami obtížně dostupné, případně i nedostupné.

## 2.4 Sledování karcinogenity chemických látek

Pracovníci Onkologického ústavu Slovenské akademie věd se již po dlouhou dobu pokoušejí o využití polarografie k ohodnocení chemických sloučenin na potenciální karcinogenitu. Z jejich posledních metod<sup>23</sup> lze uvést následující postup. Ke vzorku zkoumané látky, rozpuštěné v dimethylformamidu za přítomnosti  $N(C_4H_9)_4ClO_4$  jako základního elektrolytu a při použití kapající rtuťové elektrody se postupně přidává fl//a-lipoová kyselina, která lineárně s její koncentrací v roztoku zvyšuje difúzní proud zkoumané látky. Směrnice lineární závislosti  $i_d = f(C_{LA})$  (kde  $i_d$  je difúzní proud v mikroampérech a  $C_{LA}$  koncentrace lipoové kyseliny LA v mikromolech na l) může dle autorů sloužit jako index potenciální karcinogenity látky: Hodnoty tohoto indexu nad 0,4 mohou již indikovat potenciální nebezpečí. Autoři proměřili rozsáhlou řadu látek a svoje výsledky korelovali s údaji karcinogenity udávané WHO a dosahovali většinou shody, též dosahovaly výsledky shody s testem dle Ames. Přesto dovozují, že jejich metoda v žádném případě nemá nahrazovat metody odsouhlasené WHO, ale že má být příspěvkem k určitému rychlému prescreeningu potenciálně nebezpečných látek. Metoda zatím postrádá teoretický podklad, což je její určitou nevýhodou a zdrojem možných pochybností. Podle mínění autora tohoto referátu by snad tento efekt byl vysvětlitelný tím, že při redukcí autory zkoušených látek vznikají radikálové meziproducty způsobující v systému s lipoovou kyselinou katalytické zvýšení měřeného signálu.

## 3. Analýza pevné fáze

### 3.1. Polarografie nerozpustných sloučenin

V současné době se objevují stále častěji práce z oboru abrasivní stripping voltametrie (AbrSV), kde dochází k přímému přenosu elektronu z elektrody na pevnou fázi či opačně. V podstatě se jedná o oxidaci či redukcí látky (slitiny, rudy, organické sloučeniny), jejíž stopové množství je mechanicky nanášené přímo na povrch elektrody (např. otěrem). Než ale bude tato metoda AbrSV blíže diskutována, je nutné připomenout pionýrské práce K. Micky, jež popsal přímou polarografickou redukcí suspenzí nerozpustných látek na rtuťové kapající elektrodě, kdy se rovněž jedná o přechod elektronu z jedné pevné fáze do druhé. Zjistil, že řada ve vodě nerozpustných látek – zejména oxidů a siřníků těžkých kovů – poskytuje na rtuťové kapající elektrodě redukční proud, jehož maximální hodnoty se dosahuje při potenciálu charakteristickém pro tu kterou sloučeninu. Nutnou podmínkou redukce a získání dobře vyvinutých signálů na polarografické křivce (ve tvaru píky) je míchání základního elektrolytu s rozptýlenou suspenzí látky tak, aby byl zajištěn její dobrý styk s elektrodou. Při této redukcí např. nerozpustné siřníky na elektrodě skýtají příslušný kov a sulfanovy anion. Zatímco při redukcí oxidů a sulfidů těžkých kovů dochází k rozpouštění vydukovaného kovu do rtuti, u siřníků železa, niklu a kobaltu dochází na částici suspenze při jejím dotyku s elektrodou ke katalytickému vylučování vodíku. Směsi látek mají většinou tendenci redukovat se při jediném potenciálu, nicméně byly zazname-

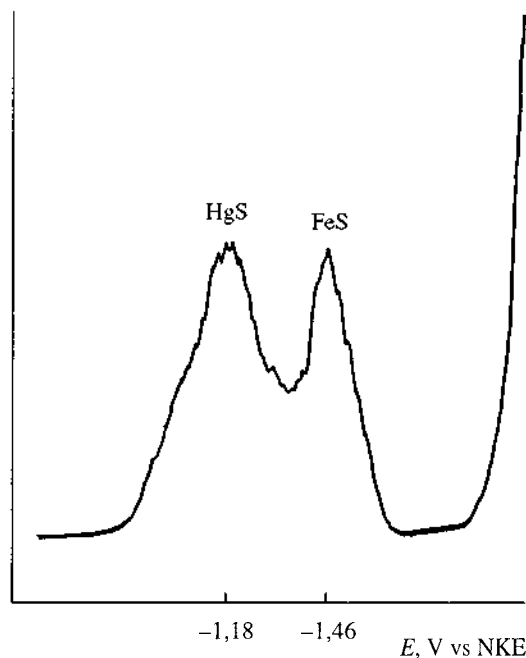
nány i křivky s dvěma „píky“, jak tomu je u směsi sulfidu rtuťnatého a olovnatého, sulfidu rtuťnatého a sulfidu železnatého (viz obr. 1)<sup>24</sup>. Mezi neredukovatelné látky patří mezi jinými např. síran olovnatý, síran barnatý, sulfid kademnatý. Pozoruhodným zjištěním byl fakt, že sloučeniny stejného chemického složení ale rozdílné krystalografické struktury, se svým polarografickým chováním navzájem liší (např. různé modifikace  $MnO_2$ ). Souhrnný přehled o redukcí suspenzí nerozpustných látek s obsahem tabulky redukčních potenciálů těchto látek, je uveden v práci<sup>25</sup>. Obdobné suspenze nerozpustných látek byly také zkoumány metodou oscilografické polarografie střídavým proudem<sup>26</sup>.

O elektrochemickém chování nerozpustných depolarizátorů pojednává zevrubný přehledný referát<sup>27</sup>.

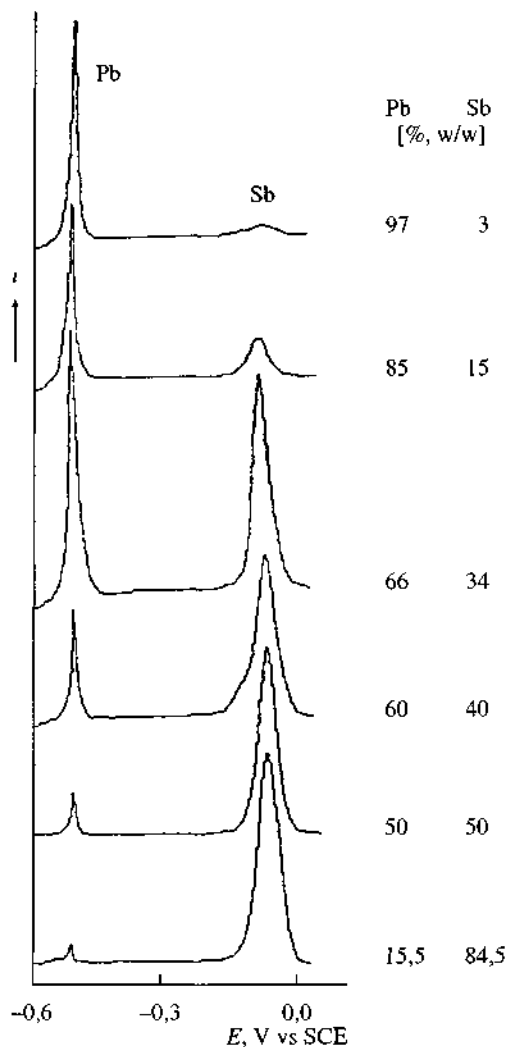
### 3.2. Abrasivní stripping voltametrie

Jak v předchozím zmíněná polarografie nerozpustných sloučenin, tak abrasivní stripping voltametrie (AbrSV) zapadá do širokého kontextu metod sloužících ke studiu elektrochemického chování pevných látek chemického charakteru a to až již z hlediska preparativního, korozního, teoretického nebo analytického. V dalším si budeme všimnout hlavně hlediska analytického. Při těchto měřeních může zkoumaná pevná fáze (za předpokladu její vodivosti) tvořit přímo materiál elektrody, čehož se např. využívá při analýze vměstků v kovových materiálech tvořících elektrodu, nebo může být pevná látka ve formě prášku smíšená s pojidem uhlíkové pastové elektrody, což je přístup Braninové<sup>28</sup>, sloužící k analýze složitých materiálů voltametrickou cestou.

Další možnost spočívá v studiu chování elektrody na jejímž povrchu je imobilizována zkoumaná látka. tomu se blíží přístup Scholze a spolupracovníků, kteří jak uvádějí, in-



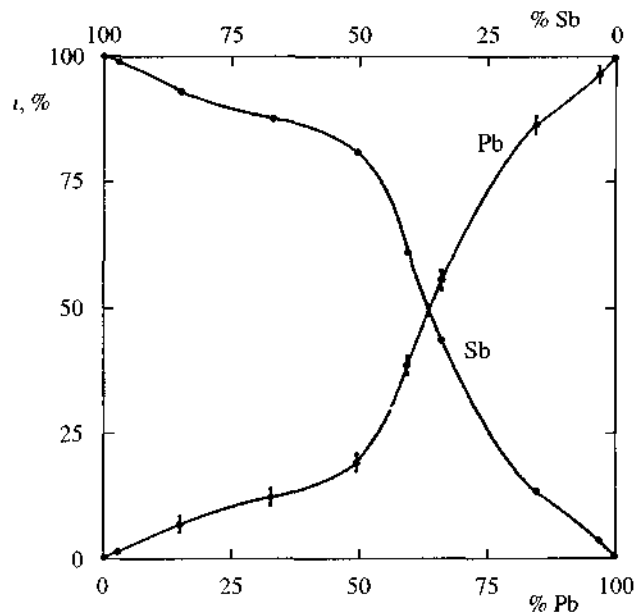
Obr. 1 Redukce směsi sulfidu rtuťnatého a železnatého na rtuťové kapající elektrodě v roztoku  $0,5\text{ M-NH}_4\text{Cl}$ ,  $2 \cdot 10^{-1}\text{ M-HgS}$  a  $1 \cdot 10^{-4}\text{ M-FeS}$  Upraveno z publikace<sup>24</sup>



Obr 2 Voltamogramy AbrSV po nanesení slitiny Pb-Sb proměnného složení na parafinem impregnovanou grafitovou elektrodu. Základní elektrolyt 0,1 M kyselina šťavelová. Reprodukce z publikace<sup>29</sup> se souhlasem vydavatele (Springer Verlag)

spirování zkouškami zlatých předmětů na prubířském kameni, vyvinuli svoji variantu analýzy pevné fáze a to mechanickým nanášením stop zkoumaného materiálu na povrch např. uhlíkové pastové elektrody impregnované parafinem. Množství nanášené látky na elektrodě, jak uvádějí autoři, obnáší  $10^6$  až  $10^{10}$  molu, čímž tuto metodu zařazují mezi mikroanalytické metody. Způsob nanášení analyzované látky na elektrodu má řadu variant, závislých hlavně na charakteru vzorku.

Tak lze např. analyzovat různé slitiny prostě tím způsobem, že se elektrodou otírá povrch plátku slitiny a posléze se provede anodické rozpuštění depozitu anodickým záznamem<sup>29</sup>. Takový voltamogram poskytuje do jisté míry jakýsi „otisk prstu“ zkoumané látky, což platí zejména pro rudy. Příklad záznamu křivky AbrSV anodického rozpouštění slitiny o měnícím se obsahu Sb a Pb je na obr. 2 a 3. Analyzovat lze i směsi práškových sloučenin<sup>30</sup>. Příkladem je obr. 4 a 5, znázorňující křivku AbrSV redukce směsi HgS a HgO jakož



Obr 3 Výška voltametrických pík slitiny podle obr. 2. v závislosti na koncentraci jednotlivých komponent. Reprodukce z publikace<sup>29</sup> se souhlasem vydavatele (Springer Verlag)

i PbO a HgO. Pík HgO na obr. 4 je zhruba o 150 mV pozitivněji položený nežli pík HgS, podobnějak tomu je u polarografické redukce suspenze těchto látek dle Micky.

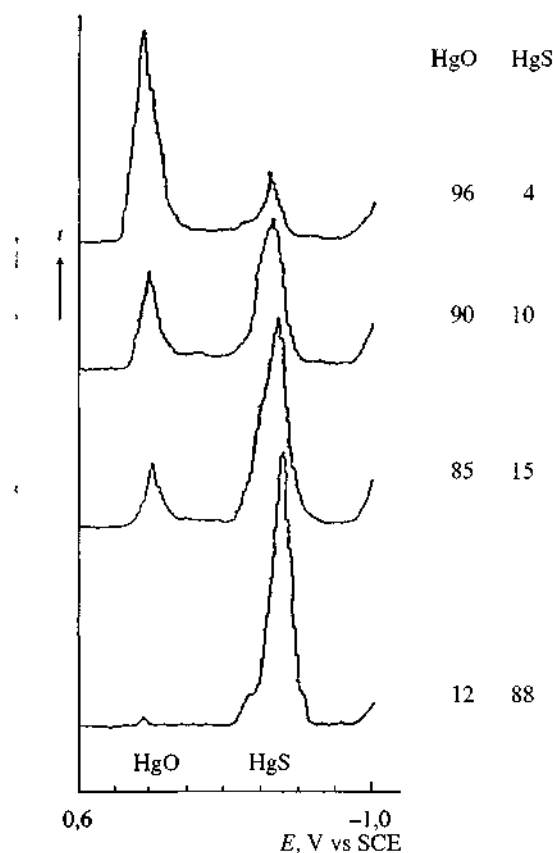
Metody AbrSV bylo např. také použito ke studiu vysokoteplotních supravodičů<sup>31</sup> typu YBaCu, kdy bylo zjištěno, že u ortorhombické fáze může měď měnit svoje oxidační stavy mezi +1, +2 a +3. Studium oxidů železa a synteticky připravených hydroxy-oxidů železa - goethitů - používaných pro přípravu magnetických nosičů informace, je popsáno v práci<sup>32</sup> a využití AbrSV při výpočtu termodynamických konstant málo rozpustných sloučenin uvádí práce<sup>33</sup>.

Zajímavým příkladem použití AbrSV z oblasti analýzy organických sloučenin je jednoduchý a rychlý screening pesticidů<sup>34</sup> (zejména chlorothionu) přímo na rostlinném materiálu - v tomto případě na okurkách a hlávkovém salátu. Rostlinný materiál byl oťen grafitovou elektrodou impregnovanou parafinem a voltamogram zaznamenan v prostředí 0,1 M kyseliny chlorovodíkové. Touto technikou, při níž bylo možno vzorek zkoušet přímo na místě jeho výskytu, bylo dokázáno i minimální množství chlorothionu, až 0,1 ng na jednom cm<sup>2</sup> plochy zeleniny. V citované práci je podán i postup pro kvantitativní vyhodnocení.

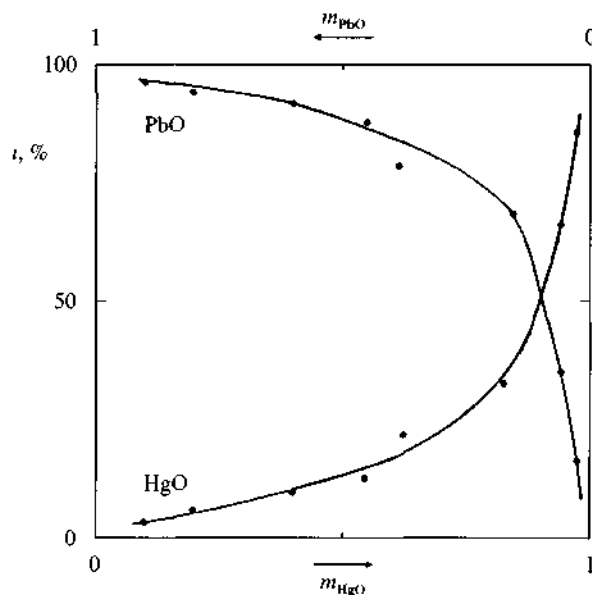
Souhrnné informace o metodě AbrSV lze nalézt např. v<sup>35</sup>.

#### 4. Voltametrie v plynné fázi

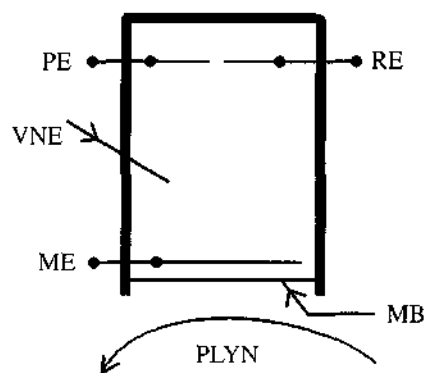
Polarografická či voltametrická analýza plynů se provádí hlavně tím způsobem, že se měřený plyn nebo vzduch obsahující sledovanou plynnou složku probublává v elektrolytické nádobce základním elektrolytem, v kterém se plyn buď rozpouští nebo reaguje s některou složkou elektrolytu a vytváří elektroaktivní sloučeninu. Měřený proud je pak funkcí koncentrace plynu v roztoku. Nejčastěji se však měření koncentrace plynu v ovzduší provádí pomocí amperometrických či-



Obr 4 Voltamogramy AbrSV po nanesení směsi HgS a HgO na parafinem impregnovanou grafitovou elektrodu. Základní elektrolyt 1 M kyselina šťavelová. Reprodukce 7 publikace<sup>30</sup> se souhlasem vydavatele (Springer Verlag)

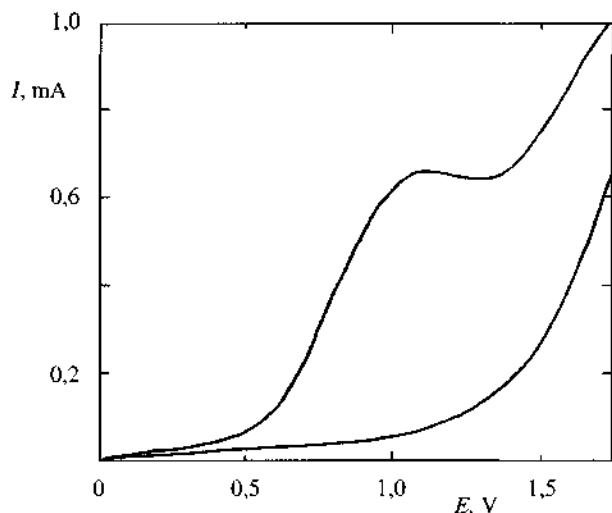


Obr 5 Výška voltametrických pík směsi prášků PbO a HgO v závislosti na koncentraci jednotlivých komponent. Reprodukce z publikace<sup>30</sup> se souhlasem vydavatele (Springer Verlag)



Obr 6 Schematické znázornění kompaktního plynového senzoru, MB - membrana, elektrody ME - pracovní, PE - pomocná, RE - referenční, VNE - vnitřní elektrolyt

del, která jsou součástí většiny typů monitorů plynů dodávaných komerčně (např. fy Sensidyne a Teledyne v USA, v NSR fy Draeger, aj.). Tyto senzory tvoří kompaktní uzavřený celek ve formě válečku s okénkem přikrytým membránou, kolem které proudí zkoumaný vzduch a difunduje membránou do kapalného elektrolytu vyplňující vnitřní část senzoru. V elektrolytu se nachází elektroda měrná, pomocná a referenční. Externí potenciostatický systém zabezpečuje konstantní napětí mezi měrnou a referenční elektrodou. Schematické znázornění je na obr. 6. Napětí vložené na elektrody, jakož i složení elektrolytu, v neposlední řadě i typ membrány zajišťují selektivitu čidla. Uvnitř čidel posléze dochází k elektrochemické reakci (redukci nebo oxidaci) sledovaného plynu, přičemž probíhající proud je úměrný parciálnímu tlaku plynu. Takové elektrochemické převodníky či detektory bývají nejčastěji používány pro stanovení  $\text{SO}_2$ ,  $\text{NO}$  a  $\text{NO}_2$ , jsou však dodávána také čidla pro desítky jiných nejrůznějších plynů. Jsou nejčastěji řešena takovým způsobem, aby je bylo možno v monitorech snadno vyměnit, jestliže již došla jejich životnost. V monitorech také periodicky dochází k jejich kalibraci a kompenzaci různých rušivých vlivů, jako kolísání teploty, pokles aktivity čidla apod. Bližší informace o těchto čidlech lze čerpat z firemní literatury nebo z přehledných referátů o elektrochemických plynových čidlech, např. ... K monitorování elektroaktivních analytů dispergovaných v plynné fázi (ale také rozpuštěných v nevodivých rozpustidlech) byla navržena<sup>39</sup> také čidla s porézní pracovní elektrodou (Pt, Au, Hg nebo C), nanášenou na iontoměničovou membránu (Nafion 417), která je ve styku s roztokem elektrolytu ve speciální cele s pomocnou a referenční elektrodou, obdobně jak tomu bylo u čidel popsaných v předchozím odstavci. Tyto porézní elektrody nanášené na Nafionu mohou sloužit jak pro redukci, tak i oxidace. Jejich pomocí byly zaznamenány voltamogramy vodíku, kyslíku, amoniaku, bromu a triethylaminu, dispergovaných v dusíku jakožto nosném plynu. Voltametrické chování většiny látek analyzovaných v plynném a kapalném prostředí je obdobné voltamogram triethylaminu dispergovaných v dusíkové atmosféře (obr. 7) skýtá při použití kompozitního čidla grafit/Nafion s náplní 0,1 M kyseliny chlonsté obdobnou voltametrickou křivku jako triethylamin rozpuštěný ve stejném elektrolytu při použití uhlíkové elektrody (Triethylamin sloužil autorům jako testovací látka pro čidla tohoto typu, určených pro detekci v plynové chro-



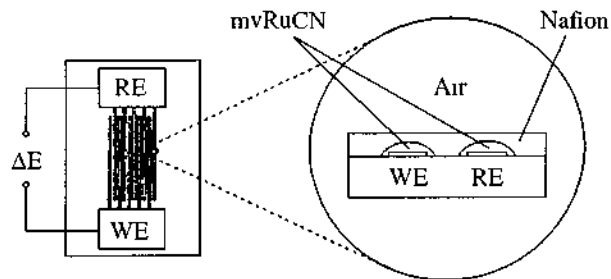
Obr 7 Voltamogram  $2.10^{-3}$  M triethylaminu v dusíkové atmosféře. Kompaktní čidlo s porézní pracovní elektrodou grafit/Nafion s vnitřním elektrolytem  $0,1$  M- $\text{HClO}_4$ . Rychlost změny potenciálu  $0,1$  V/s. Spodní křivka v čistém dusíku. Upraveno z publikace<sup>10</sup> se souhlasem vydavatele (Elsevier Science)

matografii, kdy bylo pracováno při  $1,2$  V v.  $\text{Ag}/\text{AgCl}$ ). Navržená čidla jsou vhodná i pro kontinuální ampérometrický monitoring. Na obdobném principu pracují čidla navržená v práci<sup>40</sup>.

Pro přímou voltametričnou analýzu plyných sloučenin v atmosféře se jeví lákavé použití kompaktního zařízení obsahujícího na nevodivém nosiči vrstvu iontově vodivého polymeru se zabudovaným elektrodovým systémem, na který se nanaší buď přímo roztok vzorku, nebo v kterém se plynná látka z ovzduší absorbuje. Takový systém může navíc skýtat proudové signály úměrné době, jakou byl systém vystaven měřené atmosféře - jde tedy o určitý druh, řekněme absorpční stápníping voltametrie (AbsSV). Na takovou možnost práce bez roztoku elektrolytu (jak tomu bylo v předchozích případech) upozorňují např.<sup>41</sup>, kteří litografickou technikou vyrobili tříelektrodový systém z mikroelektrod v mikronadobě na společném čipu přikrytém filmem polyethylenoxidu obsahujícím jako elektrolyt  $\text{LiCF}_3\text{SO}_3$  pracuje se buď s kapkou roztoku naneseného na čip (tedy roztoková voltametrie), nebo je systém vystaven plynné fázi. Analytické aplikace čipu s mikroelektrodovým systémem pokrytým Nafionem (obr. 8), jsou popsány v práci<sup>42</sup>. Ke sledování organických sloučenin obtížně oxidovatelných, jako jsou např. N-nitrosaminy, aminofenylethan, cystein-glycin aj., byly do Nafionu, kterým byl přikryt elektrodový systém, přidány ruthemové soli  $\text{RuCl}_3$  a  $\text{K}_4\text{Ru}(\text{CN})_6$  jako katalytický systém. Bylo tak vytvořeno zařízení, umožňující provádět prekoncentrace organických sloučenin přímo z ovzduší.

V podrobnostech je znovu odkazováno na obšírný referát Opekara<sup>38</sup>, věnovaný zejména ampérometrickým detektorům s tuhým polymerním elektrolytem.

Významnou, stále populárnější kategorií plyných čidel tvoří v současnosti čidla odporová na bázi vodivých polymerů, nalézající uplatnění zejména v analyzátoch směsí plynů, par a vůbec vůně - proto jsou často nazývána „elektronickým nosem“. Tento obor chemické analýzy, v současné době bouř-



Obr 8 Mikroelektrodový voltametričnou systém s integrovanou pracovní (WE) a referentní (RE) elektrodou pokrytou a směsí katalyzátorů  $\text{RuCl}_3$  a  $\text{K}_4\text{Ru}(\text{CN})_6$ . Nafionový film pokrývá obě elektrody. Reprodukce z publikace<sup>42</sup> se souhlasem vydavatele (American Chemical Society)

livě se rozvíjející v samostatnou disciplínu, slouží zejména pro rychlou kontrolu kvality výrobků, hlavně nápojů a potravin, ale také pro posouzení čistoty chemikálií. Ústřední část těchto zařízení se skládá z arraye - tedy skupiny sdružených čidel z vodivých polymerů o různé citlivosti a selektivitě. Elektrické signály jednotlivých čidel se pak vyhodnocují chemometricky, např. metodou pattern recognition (srovnávání obrazů). Získaný výsledek se porovnává se vzorkem o známém složení nebo vzorkem požadované kvality. Přístroje pro tento druh analýzy vyrábí např. firma Neotromcs Technology (Hertfordshire, UK), AlphaMos (Toulouse, Francie), AromaScan (Manchester, UK), aj.

Podrobnější informace o „elektronickém nose“ lze nalézt např. ve spisech<sup>43, 46</sup>, o elektronickém „nosu a jazyku“ je připravován i článek do tohoto časopisu<sup>47</sup>.

## 5. Tribodiagnostika

Z tradičního pole působnosti polarografie se vymyká také její použití pro tribodiagnostiku. Uživatelé těžké dopravní techniky, ať již civilní nebo vojenské, požadují totiž často možnost provádění rychlé diagnostiky opotřebených jejich strojů a to bez předchozí demontáže přímo v terenu nebo jen v provizorně vybavených laboratořích. Jedním z parametrů indikujících zmíněné opotřebení motorů a podobných zařízení je totiž rozsah otěru kovových částí jejich třecích mechanismů v podobě množství kovů uvolňovaných do maziv. Ze zvýšené koncentrace jednotlivých kovů či skupin kovů v mazivech nebo její časové změny lze vyvozovat diagnostické závěry o stavu stroje nebo jeho jednotlivých součástí a odhadnout termín nutné údržby či zevrubné opravy.

Pro tuto diagnostiku se běžně používají spektrální metody jako AAS, AES a ICP (např.<sup>48, 49</sup>) v centralizovaných laboratořích, zřizovaných speciálně pro tyto účely.

K zjišťování obsahu kovů v mazivech byla navržena též řada polarografických postupů, spočívajících v jejich stanovení po zpopelnění vzorku oleje<sup>50</sup>, nebo po extrakci kovů z olejové fáze poměrně komplikovaným a časově náročným způsobem<sup>51</sup>. Z požadavku praxe mít k dispozici jednoduchou, snadno proveditelnou a v neposlední řadě finančně nenáročnou metodu, vyplynul způsob tribopolarografické analýzy<sup>52</sup> pracující s extrakcí do prostředí kyseliny chlorovodíkové za přítomnosti trichlorethylenu (pomocí extraktoru fy Polaro

Sensors, Praha) Vodní fáze, hromadící se v průběhu extrakce ve sběrné nádobce extraktorů se podrobí polarografickému stanovení (Např. stanovení stop Cu, Pb a Zn se provede metodou anodické rozpouštěcí voltametrie) Ze zjištěných obsahů kovů v olejích se posléze provede diagnóza opotřebení Data mohou také sloužit ke konstrukci diagramů znázorňujících menící se obsah kovů v oleji v závislosti na ujetých kilometrech vozidla Rovněž jsou uvedeny výsledky polarografických analýz olejů z různých typů vozidel a provedeno porovnání s výsledky dosaženými metodou AAS

Když tribodiagnostiku provádějí specializované centrály zvané a přístrojově dokonale vybavené laboratoře, dovede polarografie docílit obdobných výsledků přímo v terenu nebo ve spore vybavených laboratořích

## 6. Závěr

Vybrané příklady víceméně netypického použití polarografie mimo rámec běžné analytiky snad dostatečně demonstrují jistou všestrannost metody při aplikacích dosti nečtyřlých, nicméně ale zcela reálných

A co říci závěrem snad jen to, že žádná metoda není univerzální a když v prvním období po jejím objevení či zavedení do praxe často panuje jista optimistická euforie Časem se ale většinou ukáže jakési „těžiště využití“ metody, které jí pak přisoudí místo mezi metodami klasickými Tak tomu bylo se všemi metodami analytické chemie, z nichž snad žádná úplně nezapadla do zapomnění, nybrž našla uplatnění při řešení - řekneme - „speciálních problémů“ A tak tomu asi bude i s polarografií, jejíž doménou zřejmě zůstane oblast stanovení stopových koncentrací toxických kovů, sledování organických sloučenin vyznačujících se fyziologickou účinností a řešení problematiky oxidoredukčních reakcí vůbec Její univerzálnost setrva v tom, že při nedostatečném vybavení laboratoře jinými aparaturami, umožní polarograf - byt někdy i složitě - uspokojit co nejširší požadavky na chemickou analýzu Tím se přece jen může pochlubit málo analytických metod

*Nazvoslovná poznámka k terminům polarografie a voltametrie* Podle návrhu elektroanalytické komise IUPAC je název polarografie omezen pro metodu pracující s elektrodou s obnovovaným povrchem Při použití tuhých elektrod jde o voltametrii Polarografie je tedy voltametrická metoda pracující s elektrodami s obnovovaným povrchem Avšak i tato definice by měla být upravena ve smyslu návrhu pracovníků Ústavu fyzikální chemie J Heyrovského ČSAV, který podali organizaci IUPAC v roce 1981 Podle této nové definice je polarografie metoda, která používá potenciostatickou kontrolu polarizace pracovní elektrody za podmínek konvektivní difuze Přitom se měří proudová odezva ( $I$ ) elektrodového systému v závislosti na polanačném napětí ( $E$ ), jehož časová změna ( $dE/dt$ ) je zanedbatelná s ohledem na časovou konstantu přisunu depolarizátoru k elektrodě To znamená, že veličina  $I$  nezávisí na rychlosti změny polarizačního napětí

## LITERATURA

- 1 Wightman R M , v knize *Electrochemistry in Research and Development* (Kalvoda R , Parsons R , ed ) , str 189 Plenum Press, New York 1985

- 2 Boulton A A , Baker G B , Adams R N *Voltammetric Methods in Brain Systems* Humana Press, Totowa 1995
- 3 Adams R N *Anal Chem* 48, 1126A (1976)
- 4 O'Neil R D *Analyst* 119,767 (1994)
- 5 Pihel K , Heleh S , Jorgenson J W , Wightman R N *Anal Chem* 67 4514(1995)
- 6 Plambeck J H Lown J W J *Electrochem Soc* 131, 2256 (1986)
- 7 Sequans J M , Valenta P , Nurnberg H W *Int Z Radiat Biol* 42,407(1982)
- 8 Sequaris J M , v knize *Electrochemistry Sensors and Analysis* (Smyth M R , Vos J G , ed ) , str 191 Elsevier, Amsterdam 1986
- 9 Fojta M , Paleček E *Anal Chim Acta* 342, 1 (1987)
- 10 Fojta M , Stankova V , Paleček E , Koscielniak P , Mitaš J *Talanta* 46, 155(1998)
- 11 Wang J , Rivas G , Cai X , Dontha N , Shiraishi H , Luo D , Valera F S *Anal Chim Acta* 337, 41 (1997)
- 12 Wang J , Cai X , Rivas G , Shiraishi H , Farias P A M , Dontha N *Anal Chem* 68, 2629 (1996)
- 13 Liu S , Le J , He P , Fang Y *Anal Chim Acta* 335, 239 (1996)
- 14 Wang J , Rivas G , Luo D , Cai X , Valera F S , Dontha N *Anal Chem* 68, 4365 (1996)
- 15 Paleček E *Electroanalysis* 8, 1 (1996)
- 16 Wang J , Paleček E , Nielsen P E , Rivas G X , Cai X , Shiraishi H , Dontha N , Luo D , Farias P A M *J Am Chem Soc* 118,1661 (1996)
- 17 Ngo T T (Ed ) *Electrochemical Sensor in Immunological Analysis* Plenum Press, New York 1987
- 18 Kalab T *Chem Listy* 89,363 (1995)
- 19 Breyer B Redcliff F J *Nature* 767, 79 (1951)
- 20 Smyth M R , Buckley E , Flores J R , O'Kennedy R *Analyst* 113, 31 (1988)
- 21 Flores J R , Smyth M R *J Electroanal Chem* 233, 317 (1987)
- 22 Lannon B , O'Kennedy R , Flores J R , Fennelly J J , Smyth M R *Electroanalysis* 1, 431 (1989)
- 23 Novotný L , Vachalkova A , Piskala A *Collect Czech Chem Commun* 59, 1691 (1994) a 60, 1469 (1995)
- 24 Micka K *Collect Czech Chem Commun* 22, 1400 (1957)
- 25 Micka K , v knize *Advances in Polarography* (Longmuir I S , ed ) , str 1182 Pergamon Press, Oxford 1960
- 26 Kalvoda R , v knize *Advances in Polarography* (Longmuir I S , ed ) str 1172 Pergamon Press, Oxford 1960
- 27 Micka K *Chem Listy* 55, 852 (1961)
- 28 Branina Kh Z *Stripping Voltammetry in Chemical Analysis* Wiley, New York 1974
- 29 Scholz F , Nitschke L , Hennon G *Naturwissenschaften* 76, 71 (1989)
- 30 Scholz F , Lange B , Jaworski A , Pelzer J Fresemus' J *Anal Chem* 340, 140(1991)
- 31 Scheurell S , Scholz F , Olesch T , Kemnitz E *Supercond Sci Technol* 5, 303 (1992)
- 32 Grygar T , Šubrt J , Boháček J *Collect Czech Chem Commun* 60, 950 (1995)
- 33 Bond A M , Scholz F *J Phys Chem* 95, 7460 (1991)
- 34 Reddy J , Hermes M , Scholz F *Electroanalysis* 8, 955 (1996)
- 35 Scholz F , Lange B *Trends Anal Chem* 11, 359 (1992)

- 36 Tenygl J , v knize *Elektroanalyticka chemie životního prostředí* (Kalvoda R , ed ), str 109 SNTL, Praha 1985
- 37 Opekar F , v knize *Electrochemistry for Environmental Protection* (Štulík K, Kalvoda R, ed ), str 123 UNESCO Venice Office, Venice 1996
- 38 Opekar F Chem Listy 90, 916 (1996)
- 39 Schiavon G , Zotti G , Bontempelli G Anal Chim Acta 227,27(1989)
- 40 Kaaret T W , Evans D H Anal Chem 60, 657 (1988)
- 41 Monta M , Longmire M L , Murray R W Anal Chem (56,2770(1988)
- 42 Cox J A , Alber K S , Brockway C A , Tess M A , Gorski W Anal Chem 67, 993 (1995)
- 43 Breer H , v knize *Handbook of Biosensors and Electronic Noses* (Kress Rogers E , ed ), str 521 CRC Press New York 1997
- 44 Mills G, Walsh F, Whyte I Chem Technol Europe, (July/August) str 26, 1996
- 45 Slater J M , Paynter J , Watt E J Analyst 118, 379 (1993)
- 46 Pearce T C , Gardner J W , Friel S , Bartlett P N , Blair N Analyst 118, 371(1993)
- 47 Kalvoda R Chem Listy, připraveno k publikaci
- 48 Mckenzie T Mc *AAS Spectrometry for the Analysis of Wear Metals in Oil Samples* (Publication No AA-10) Varian Techtron Pty, Mulgrave 1981
- 49 Lippay J Ropa Uhlie 31, 454 (1989)
- 50 Krotky J , Kozakova V Zpravodaj Vyzkumneho a zkušebního leteckého ústavu 1960, 39
- 51 Valdman V L Zavod Lab 11, 651 (1945)
- 52 Novak V , Šestakova I , Novotny L , Kalvoda R , Jakubetzova A Ropa Uhlie 33, 559 (1991)

**R. Kalvoda** (*UNESCO Laboratory of Environmental Electrochemistry, J Heyrovsky Institute of Physical Chemistry Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague*)  
**Non-traditional Use of Polarography and Voltammetry**

The paper discusses some rather non traditional uses of polarography and voltammetry which are beyond common polarographic routine in analytical laboratories. Some potentials of polarography in the biological and biochemical fields are treated spanning from *in vivo* measurements to sensors for diagnostic purposes in medicine and toxicology. Examples are given of analyses in the solid and gas phases as well as the use in tribodiagnostics in determination of machine wear.