

A POLAROGRAFIA ELVI ALAPJAI ÉS A KÍSÉRLETI BIOLÓGIÁBAN VALÓ FELHASZNÁLÁSÁNAK LEHETŐSÉGEI

SZÉKY PÁL

(Agrártudományi Egyetem Mezőgazdaságtudományi Kar Állattani Tanszéke Gödöllő)

A modern analitikus módszerek elengedhetetlen követelményei: az elemzés pontossága, reprodukálhatósága, objektivitása és gyorsasága. Biológiai kísérletek során gyakran kívánatos továbbá, hogy az analízishez minimális mennyiségű vizsgálati anyag legyen szükséges, amelyben az esetleg csak nyomokban meglévő alkotórészek minőségét és koncentrációját egyidejűleg pontosan és gyorsan meg tudjuk határozni. A polarográfia azon kevés vizsgálati módszerek egyike, amelyek a fenti követelményeknek a legtöbb esetben meg tudnak felelni.

A polarografikus analízis hazánkban csak az elmúlt évtizedben kezdett elterjedni, de ma már az iparban üzemszerűen is sokhelyen alkalmazzák, és egészségügyi, fizikai és kémiai elméleti jellegű kutatásokban is jelentős szerepet tölt be, ugyanakkor azonban biológiai kísérletek során előnyeinek kihasználása ma még kevésbé tapasztalható. Ez a felismerés indított arra, hogy szerény képességeimhez és ez irányú tapasztalataimhoz mérten a rendelkezésemre álló keretek között rövid áttekintést nyújtsak az ez iránt érdeklődő és a polarográfiában kevésbé járatos kísérleti biológusok számára a szóban forgó módszer elvi alapjairól és felhasználásának lehetőségeiről. Előljáróban meg kell említenem, hogy e módszer elméleti vonatkozásait csak annyiban fogom érinteni, amennyiben ez az analízis lényegének megértéséhez feltétlenül szükséges.

Régóta és általánosan ismert tény, hogy ha valamely elektrolitoldatot két elektróda között elektrolizálunk, akkor csak egy bizonyos feszültség elérésekor indul meg állandó áramintenzitással az elektrolízis, mert ahhoz, hogy egy fém pl. a katódról leváljon, az elektród és az oldat között bizonyos potenciálkülönbség szükséges. Ennek az ún. leválási potenciálnak a nagyságából a leváló ion minőségére tudunk következtetni. Az oldatban levő kationok és anionok leválási potenciáljának algebrai különbsége adja meg azt a feszültséget, amely az oldat folyamatos elektrolízisének megindításához szükséges, s amit bomlási feszültségnek nevezünk. Ha az oldatban többféle ion van, akkor ezek közül sorrendben az válik le előbb, amelynek legkevésbé negatív a leválási potenciálja. A leválás a bomlási feszültség elérésekor áramintenzitásnövekedést idéz elő. Ha a bomlási feszültség elérése után az áramfeszültséget tovább növeljük, akkor az áram intenzitása csak egy bizonyos ideig növekszik, azután

állandósul, amit emiatt határáramnak nevezünk. Ennek a határáramnak az intenzitása bizonyos körülmények között arányos a katódon leváló ionok koncentrációjával, ezért koncentráció-mérésre használható fel.

A leválási potenciálnak és a határáram intenzitásának a mérése elvileg tehát kvalitatív és kvantitatív analízisre nyújt lehetőséget, amit már a század elején FRESSENIUS (1906) is megkísérelt, de eredménytelenül. Tőle függetlenül közelebb jutott a helyes úthoz KUČERA (1903), aki elsőként csepegő higany-elektrodát használt, végül HEYROVSKY (1918) az elektrodán fellépő áramintenzitásnövekedést egy érzékeny galvanometer közbeiktatásával és a secundér folyamatok okainak tisztázásával megteremtette a polarográfia elvi alapjait, majd több éves kísérletezés után SHIKATA munkatársával együtt (1925) az intenzitásváltozásokat önműködően rögzíteni képes mérőkészüléket szerkesztett, s ezzel az analízis gyakorlati kiviteléhez és gyors elterjedéséhez is alapot nyújtott. A harmincas években már külföldön is ismertté vált és tökéletesedett a polarografikus analízis, egyre több irányú felhasználása vált lehetővé s ma már több ezer irodalmi közlemény bizonyítja értékét, Heyrovsky csehszlovák professort pedig ez irányú jelentős munkásságának elismerésül legutóbb kémiai Nobel-díjjal tüntették ki.

A polarográfia tehát olyan elektrokémiai módszer, amelynél a vizsgálandó oldaton áthaladó áram intenzitásának változását kísérjük figyelemmel csepegő higanyelektroda alkalmazása mellett, miközben az elektrodákra kapcsolt áram feszültségét egyenletesen növeljük. Ha az ilyen körülmények között végzett elektrolízis során fellépő áramintenzitásváltozásokat egy önműködő készülék segítségével a feszültség függvényében ábrázolva pontosan rögzítjük, akkor egy kvalitatív és kvantitatív analízisre egyaránt alkalmas lépcsős görbét nyerünk, amit HEYROVSKY polarogramnak nevezett el.

Minden polarografikus analízishez szükséges tehát:

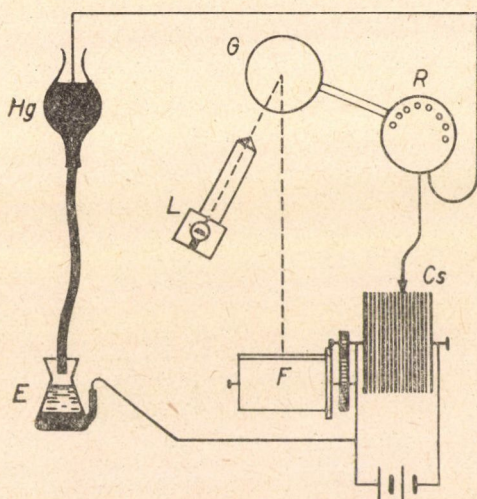
1. egy elektrolizáló edényke, amelyben egy csepegő és egy nyugvó higanyelektroda között levő vizsgálati oldatban az általunk megszabott kísérleti körülmények között zajlik le az elektrolízis;

2. egy egyenletesen forgó ellenállásdob (az ún. KOHLRAUSCH-dob) amelynek segítségével az elektrodák közötti feszültséget folyamatosan és egyenletesen növelni tudjuk;

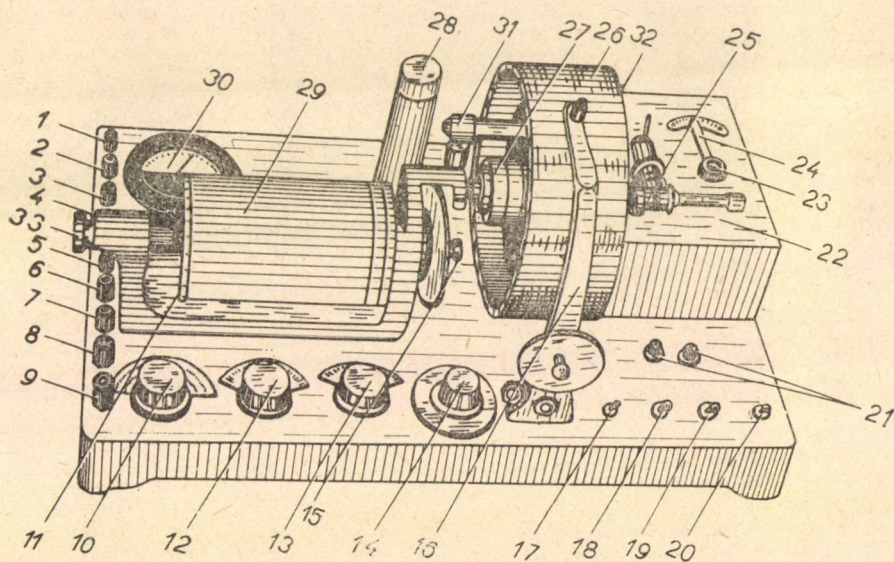
3. egy érzékeny (kb. 10^{-9} érzékenységgű) galvanométer, amely a csekély intenzitásváltozást is hűen érzékeli;

4. és végül egy hosszanti réssel ellátott, egyenletesen forgó fotódob, amely a galvanométer tükörjéről visszaverődött résfényt — mint az intenzitás-változás jelzőjét — a feszültség függvényében, polarogram formájában tárgyilagosan rögzíti.

Egy polarográf mérőberendezés összeállítását az alábbi vázlat szemlélteti (1. ábra) amit az alkatrészek birtokában laboratóriumunkban magunk is összeállíthatunk.



I. ábra. A polarográf alapkellékeinek összeállítása vázlatosan. Hg higanytartály, E elektrolyzáló edényke, L fényforrás, G galvanométer, R galvanométer érzékenységet csökkentő sönt, Cs az ellenállásdobon csúszó kontaktus, F fotódob

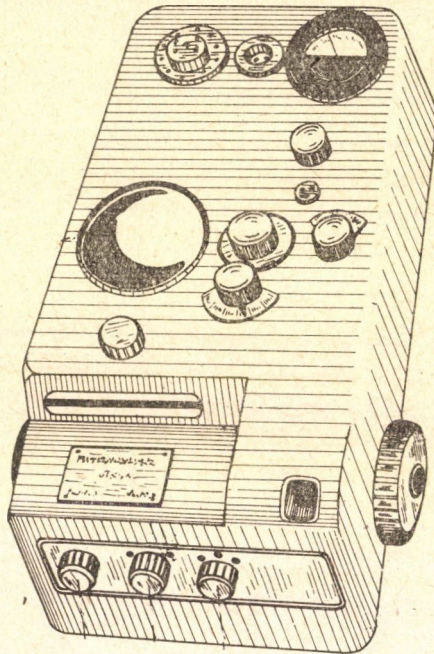


2. ábra. Az eredeti HEYROVSKY-féle polarográf képe

1 — Az akkumulátor negatív póluscsavarja; 2 — az akkumulátor pozitív póluscsavarja; 3 — a normálem pozitív póluscsavarja; 4 — a normálem negatív póluscsavarja; 5 — az anód póluscsavarja; 6 — a katód póluscsavarja; 7 — az érzékenységsökkenítő első póluscsavarja; 8 — az érzékenységsökkenítő második póluscsavarja; 9 — a földelés póluscsavarja; 10 — a polarizáció átkapcsolója; 11 — a fényképezőkamra ütközője; 12 — a mérődrót elé és után kapcsolt segédpotenciométer átkapcsolója; 13 — feszültség szabályozó potenciométer; 14 — a kapacitív áramok kompenzálója; 15 — a fényképezőkamra rögzítő csavarja; 16 — csúszókontaktus az érintkezővel; 17 — az akkumulátor kapcsolója; 18 — az abszcissa-lámpa kapcsolója; 19 — a vetítőlámpa kapcsolója; 20 — a motor kapcsolója; 21 — a Weston-elem billentyűs kapcsolói; 22 — 110–220 V-os elektromotor; 23 — rögzítő-anyja; 24 — a motorfék emeltyűje; 25 — fogaskerék-rendszer a forgásirányt szabályozó emeltyűvel; 26 — potenciométer-drót; 27 — súrlódó kontaktusok; 28 — abszcissa-élgő; 29 — regisztráló fényképezőkamra; 30 — ellenőrző voltméter; 31 — az abszcisszalámpa érintkező kapcsolója; 32 — a potenciométer-dob tengelyesatlakozója; 33 — az állványzat betolható tengelyének gombja

Analízis céljára azonban rendszerint gyárilag összeállított polarográfok használatosak. Az eredeti, HEYROVSKY-féle polarográfnál (2. ábra) a felsorolt alkotórészek szabadon, hozzáférhető módon nyertek elhelyezést. A hazánkban több helyen ma még használatban levő ilyen típusú polarográfok nagy előnye a könnyebb hibakeresés és javítás.

A modernebb polarográfok egyes alkatrészeinek zárt összeépítése megkönnyíti ezek kezelését, hordozhatóvá teszik azt, ugyanakkor megnehezítik a hibakeresést és javítást. Ilyen hálózati áramtól függetlenített, hordozható ún. mikropolarográf (szintén HEYROVSKY-féle) az utóbbi években hazánkban is eléggé ismertté vált (3. ábra).



3. ábra. A Heyrovsky-féle mikropolarográf képe

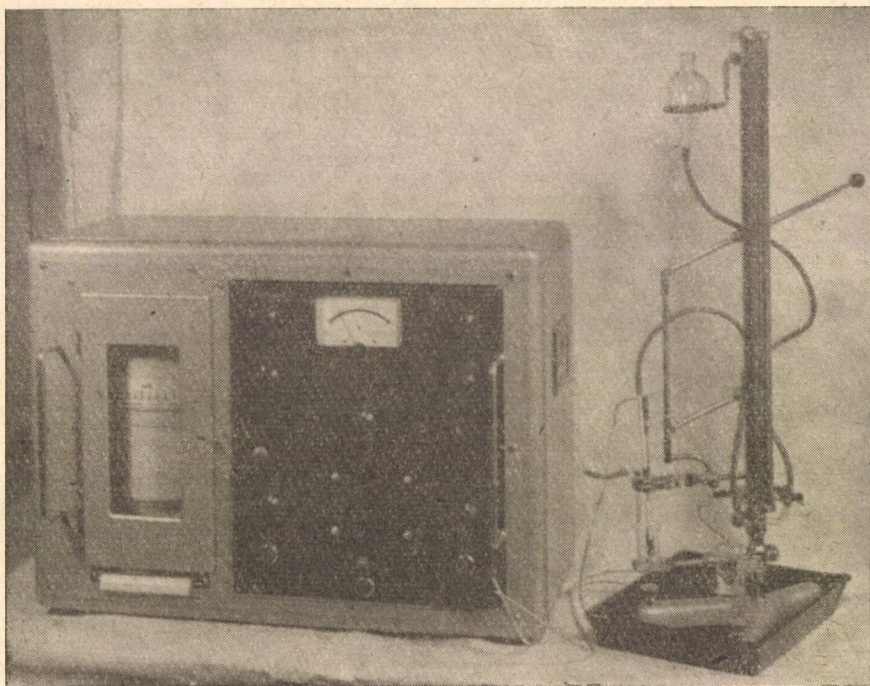
Végül ma már olyan modern polarográfokat készítenek, amelyek az áramintenzitás növekedését elektroncső vagy fotocella segítségével felerősítik és olyan egyenletesen forgó papírtekercsre rögzítik, amelyeken a megfelelő feszültségértékek már előre be vannak rajzolva (4. ábra). Ilyen modern polarográfot ma már hazánkban is gyártanak. Mivel a legtöbb galvanométeres polarográfban a beépített galvanométernek külön kikötése is van, az más kísérleti célokra is felhasználható, ami fiziológiai laboratóriumokban minden műszernek előnyére válik.

Amennyiben a készülék műszerei jók, és a kontaktus hibátlan, úgy a polarografikus analízis pontossága, helyes vagy helytelen végrehajtása az

elektrolizáló edénykében lejátszódó jelenségeken, illetve ezek beállításán múlik. A legnagyobb figyelmet tehát erre kell fordítani. Az itt lejátszódó elektrokémiai folyamatok képezik a polarográfia elvi alapját és kiindulópontját.

Alapvető követelmény, hogy az elektrolízis alatt az elektródáknak jól definiáltaknak, a lejátszódó folyamatoknak pedig egyértelműeknek kell lenniük.

A polarográfias berendezés legérzékenyebb, legkritikusabb helye a csepegő higanyelektróda, amely egy 0,05—0,08 mm belső átmérőjű finom



4. ábra. Egy modern gyártmányú elektroncsöves polarográf képe, elektródákkal és azok állványzatával együtt

üvegkapilláris. A vele műanyagcső segítségével összeköttetésben levő higanytartályból a kapillárison át egyenletesen (2—3 mp alatt 1—1 csepp) csepeg a gondosan megtisztított és kiszáritott higany a vizsgálandó oldatba. A csepegő Hg-elektróda előnyei:

1. az egyenletesen csepegő higanyelektróda felülete 2—3 mp-ként megújul, ezáltal mindig ideálisan tiszta marad, mentes lesz az előző csepp higanyjában amalgámként oldódott polarizációs termékek zavaró hatásától. Az új csepp mindig új oldattal érintkezik, úgy hogy azonos körülmények között a

lejátszódó elektrokémiai folyamatok minden csepp esetében azonosak maradnak. Az áramerősség nagysága tehát csak az elektródákra kapcsolt feszültségtől és az oldat összetételétől függ. Az így nyert eredmények jól reprodukálhatók;

2. mivel az analízis alatt az oldaton csak igen csekély áram halad keresztül, csak jelentéktelen mennyiségű ion válik ki abból, így a vizsgálandó oldat ion-koncentrációja gyakorlatilag nem változik, ami azt jelenti, hogy az analízist egyazon vizsgálati oldatban akárhányszor megismételhetjük és mindig ugyanazon eredményt kell kapnunk (természetszerűleg azonos feltételek biztosítása mellett!);

3. a friss Hg felületén nagy a H^+ túlfeszültsége, ezért a katódon nem fejlődik hidrogén, amely a vizsgálatokat zavarná. Ezért erősen negatív bomlás-feszültségű oldatokat is polarografálhatunk a víz egyidejű bomlása nélkül.

4. a Hg erősen pozitív normál potenciállal rendelkező nemesfém, amely a legtöbb oldattal szemben teljesen indifferens (a platinához hasonlóan) és ezért felületén zavartalanul játszódhatnak le redukciós és oxidációs folyamatok. Ez a tény a polarográfiát redoxrendszerek vizsgálatára is alkalmassá teszi.

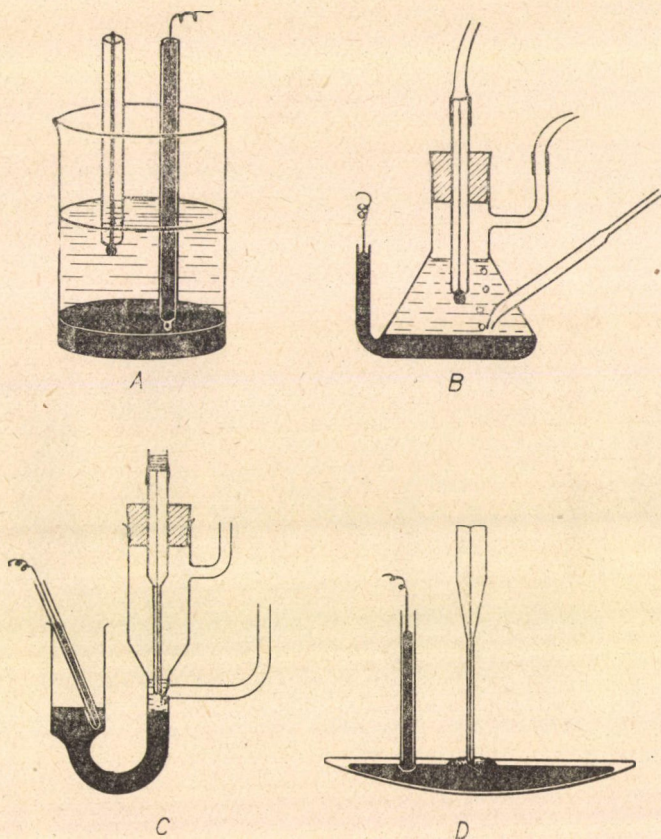
A csepegő Hg-elektroda felszínén az analízis során jelentős, bonyolult, sok vonatkozásban még ma sem teljesen tisztázott elektrokémiai változások zajlanak le, erős a polarizáció. Mivel a mérés során az itt lejátszódó változások által okozott intenzitásváltozást mérjük, a másik elektróda (rendszerint anód) befolyását ki kell kapcsolnunk. Ezért a Hg-katóddal szemben rendszerint nyugvó Hg-elektrodát alkalmazunk anódként, amelynek nagy felületén számbajöhető kémiai változás, polarizáció nem következik be, s így a nyugvó Hg-anód potenciálja nem függ a rákapcsolt feszültségtől. De viszont függ a vele kapcsolatban álló oldat minőségétől. Ha ettől függetleníteni akarjuk, akkor porózus diafragmával vagy agar-agar-hiddal a vizsgálandó oldattól elkülönített ún. vonatkozási elektródot alkalmazunk. Erre a célra rendszerint normál vagy telített kalomelelektrodát használunk.

Bár a polarográfiában rendszerint csepegő Hg-elektrodát használunk katódként, és nyugvó Hg-elektrodát vagy normál, ill. telített kalomelelektrodát anódként, különleges esetekben ezüstspirált, gyorsan forgó platinaszálat vagy esetleg egy másik csepegő Hg-elektrodát is alkalmazhatunk anódként (bizonyos esetekben ugyanis a csepegő Hg-elektroda anódként alkalmazva nem polarizálódik).

Az elektródák milyensége, nagysága, valamint a rendelkezésre álló vizsgálati oldat mennyisége szerint különböző alakú és elrendeződésű elektrolizáló edénykéket alkalmazhatunk. Néhány egyszerűbb és gyakrabban használatos edénytípus vázlatát az 5. ábra mutatja.

Ezek után vizsgáljuk meg, hogy egy egyszerű polarografikus analízis során az elektródákra kapcsolt és egyenletesen növelt feszültségű áram milyen változásokat idéz elő a vizsgálandó oldatban s hogyan lehet e változásokat analízis céljára egyértelművé, reprodukálhatóvá tenni?

Az analízis megkezdésekor eleinte csak igen kis mennyiségű áram halad át az oldaton. Amint azonban a csepegő Hg-elektroda potenciálja eléri a vizsgált oldatban levő legkevésbé negatív ión leválási potenciálját, a polarográf galvanométere rögtön áramintenzitásnövekedést jelez. Ilyenkor a csepp közvetlen közelében levő iónok redukálódnak, alacsonyabb értékű iónok alakjában



5. ábra. Gyakrabban használt egyszerűbb elektrolyzáló edénytípusok
a és b 10–20 ml vizsgálati oldathoz, c és d minimális mennyiségű vizsgálati oldathoz szükséges mikroedények

oldatban maradnak, vagy fém alakjában leválva a Hg-cseppekben amalgámként oldódnak. Ha a katód potenciálja elég magas, akkor a csepp körüli iónok redukciója gyorsan következik be, s így a szóban forgó iónok cseppkörüli koncentrációja közel 0-ra csökken. Így a csepp körüli réteg és az oldat többi része között koncentrációkülönbség jön létre, amely iondiffúziót idéz elő. Ennek eredményeként újabb iónok jutnak a csepp felületére, ezek azonnal redukálódnak s a csepp körüli mintegy 0,01 mm-es réteg újra 0-körüli koncentrációjú esz. Így ez a koncentrációkülönbség állandósul, az oldat belseje és a katód

higanycsepp körüli térség között fellépő diffúzió sebessége állandó lesz, ami az áramintenzitás további változását is megszünteti, kialakul a határáram.

Bár túlnyomórészt valóban diffúzió útján jutnak az ionok a Hg-csepp felületére, mégis az ionok mozgásában az elektrosztatikus vonzásnak és taszításnak is szerepe van. Az elektrosztatikus vonzás következtében több kation érkezik a katódhoz, mint amennyi koncentrációjuk alapján várható volna. Az elektrosztatikus taszítás miatt viszont kevesebb anion jut a katódhoz. Sőt a semleges molekulák (pl. aldehid-molekulák) esetében is fennáll ez a zavaró körülmény. A taszító illetve vonzó hatás a feszültség emelkedésével arányosan egyre nagyobb méreteket ölt s az analízis kiértékelését lehetetlenné teszi, ezért az elektrosztatikus hatást ki kell küszöbölnünk. Ez úgy érhető el, hogy a vizsgálandó oldathoz (a mérendő koncentrációnak kb. 100-szoros mennyiségében) olyan vezető elektrolitot adunk alapoldatként, amelynek redukciója a vizsgálandó iónnál jóval magasabb potenciál elérésekor következik csak be. Így az oldatban az áramvezetést maga a vezető elektrolit végzi s a redukálódó ionok vándorlása csupán diffúzió útján történik s ez pedig egyedül a koncentráció függvénye, tehát a határáram intenzitása arányos lesz a katódon levált ionok koncentrációjával. Vezető elektrolitként legmegfelelőbbek a Ca- vagy az alkálifémek kloridjai, szulfátjai, perklorátjai, lúgos közegben a K- vagy Na-karbonát, az alkálifémek hidroxidjai, különösen pedig a $\text{Ca}(\text{OH})_2$. Az alapoldat minőségének és koncentrációjának helyes megválasztása igen nagy elméleti és gyakorlati felkészültséget igényel. A már kidolgozott módszereknél alkalmazandó alapoldatokat a megfelelő közleményekben megtalálhatjuk, csupán azok pontos betartásához kell ragaszkodnunk.

Az elektrolizáló edénykében lezajló folyamatokat természetesen a külső tényezők is befolyásolják. Főleg a hőmérséklet és sok esetben a pH játszik fontos befolyásoló szerepet. Ezért a szükséghez mérten a hőmérsékletet ultratermosztáttal, a pH-t pedig pufferoldattal kell állandósítanunk, és csak az azonos hőmérséklet és pH-érték mellett felvett polarogramokat hasonlíthatjuk össze egymással.

Mivel a polarográfiában leginkább igen híg oldatokban, igen kis koncentrációk meghatározásáról van szó, természetesen fokozott mértékben zavarja a vizsgálatokat az alapoldatok vagy a használt edénykéek minimális szennyeződése is. Ezért a vegyszerek és edények tisztaságára fokozott gondot kell fordítanunk.

Az előbbieket szerint a polarografikus analízis során a csepegő Hg-elektrod felületére diffúzió útján jutó ionok által okozott áramintenzitásnövekedést mérjük. Az így létrejött diffúziós áramon kívül az analízis során az elektrolizáló edénykében más áramtípusok is létrejöhetnek, ilyenek: a kinetikus-, adszorpciós-, katalitikus- és a kondenzátor-áram.

Kinetikus áram akkor keletkezik, ha pl. a redukálódó ionok két tautomér alakban vannak jelen, ezek közül azonban csak az egyik redukálható a

csepegő Hg-elektrodán. Ha a tautomér átalakulás az elektrodafolyamatokhoz képest lassú, úgy a diffúziós áram erőssége a reakciósebességtől függ. Ezt az áramtípust pl. az aldózok és a formaldehid polarografálásánál használják fel.

Az adszorpciós áram olyan anyagok polarografálásánál lép fel, amelyek a csepegő Hg-elektrod felületén adszorbeálódnak. Ilyenek pl. a szteroid anyagok némelyike, a riboflavin stb. Bár az adszorpciós áram nem egyenesen arányos a koncentrációval, de egy bizonyos határérték felé tart, és így kis koncentráció esetén kalibrációs görbe készítése révén ez az áramtípus is felhasználható.

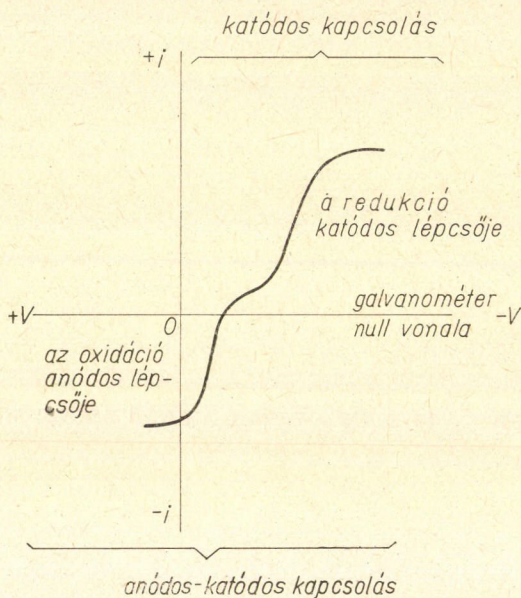
Katalitikus áram valószínűleg a H^+ túlfeszültségének csökkentése révén keletkezik katalitikus folyamatok polarografálásánál. Katalitikus H^+ -lépcsők keletkeznek pl. akkor, ha az SH-csoporttal rendelkező cisztint vagy fehérjét ammóniákos Co-oldatban polarografáljuk. E lépcsők magassága a katalizátor koncentrációjától függ. Acetát-pufferben pl. a B_{12} -vitamin csökkenti a H^+ túlfeszültséget, s így ez a B_{12} -vitamin polarografikus meghatározását is lehetővé teszi.

Igen híg koncentrációnál és magas galvanométerérzékenység mellett polarografálva minden egyes Hg-csepp árammal való feltöltődésekor egy csekély áram keletkezik, ez a kondenzátoráram, amelyet az eddig említett áramfélésekkel ellentétben analízis céljára felhasználni nem lehet, viszont az említett körülmények között a kiértékelést megnehezíti s ezért kiküszöböléséről a modernebb polarográfokba beépített kompenzáló berendezés segítségével gondoskodnunk kell.

Említést nyert már az előbbiekben, hogy a polarografikus analízisnél a csepegő Hg-elektrodát általában katódként használjuk. Előfordulhat azonban, hogy a szélső pozitív potenciáltól a szélső negatív potenciálig kell egyenesen polarografálnunk. Ilyen esetben a csepegő Hg-elektrodát kezdetben anódként, majd később katódként kell alkalmaznunk. Így a galvanométer nullvonala alatt egy anódos, annak nullvonala felett pedig egy katódos lépcsőt nyerünk (6. ábra). Így polarografálható pl. a II és III. értékű Fe megfelelő komplexképző vegyületek és adott pH-érték mellett (a III-értékű vas elektrolitikusan II-értékűre redukálódik, a II-értékű vas pedig oxidálódik; az előbbi katódikus, az utóbbi anódikus lépcsőt eredményez). Ezt a különleges anódos-katódos kapcsolást az újabb típusú polarográfokon külön kapcsolóberendezés teszi lehetővé.

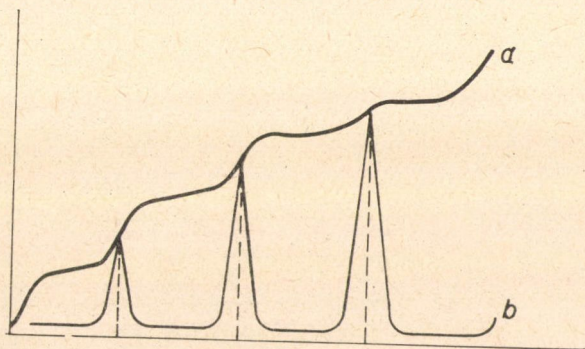
Sok esetben a vizsgálandó oldatban több olyan redukálható ión van, amelynek lépcsői egymáshoz közel esnek, s így a kiértékelést lehetetlenné teszik vagy legalábbis megnehezítik, pontatlanságot okoznak. A modernebb polarográfokon található ún. derivációs kapcsolat segítségével ez a nehézség is kiküszöbölhető, úgy hogy az egyes ionfélések kiválása után az áramintenzitás nyomban 0-ra csökken. Ennek segítségével többszűcsű derivált polarogramot kapunk, amely már könnyen kiértékelhető (7. ábra).

A polarografikus analízis során a mért polarografikus lépcső megjelenése előtt igen gyakran egy éles, csúcyszerű áramintenzitásnövekedést jelző maximumot észlelünk a polarogramon, amely különösen akkor magas, ha a vizsgált ion koncentrációja az alapoldathoz képest nagy (a 9. ábrán látható polarogram magas maximumát 0,001 n KCl alapoldatban elnyelt viszonylag nagy mennyiségű O_2 -okozta). A maximum kialakulásának ma még nem tudunk egyértelmű magyarázatot adni. Az adszorpciós elmélet (HEYROVSKÝ és ILKOVIČ) szerint a Hg-cseppek a redukálható anyagot felületükön adszorbeálják. A kinetikus elmélet (FRUNKIN, ANTWEILER, STACKELBERG)

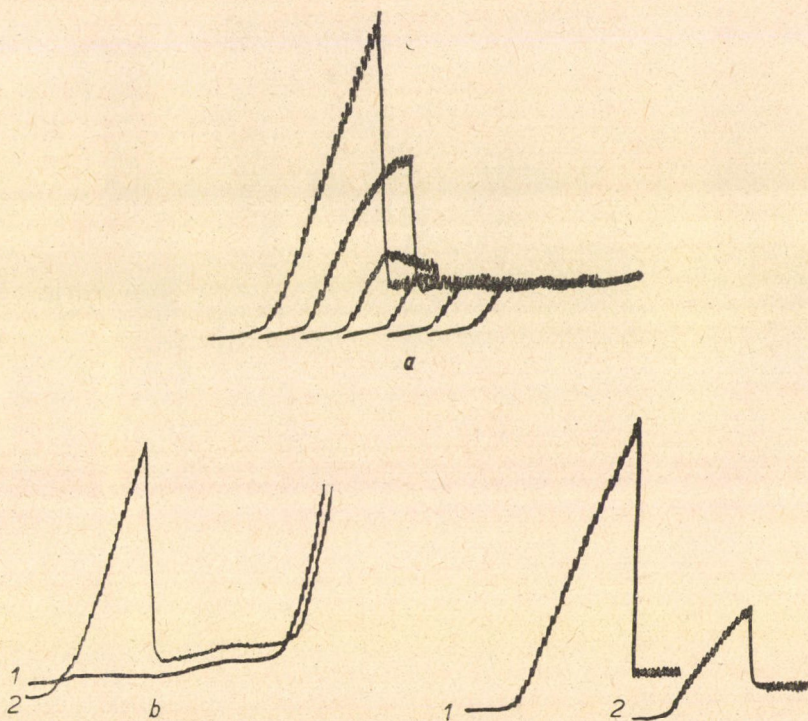


6. ábra. A polarografikus analízis kapcsolásmódjainak vázlata

szerint viszont a cseppek felületén létrejövő elektrolitáramlás okozza a maximumot. Mivel a maximumok a mérést és a kiértékelést zavarják, ezért a legtöbb esetben kiküszöbölésükre törekszünk, maximumelnyomók alkalmazása segítségével. Az alapoldat koncentrációjának növelése önmagában is maximumelnyomó hatást vált ki (8. ábra a). Ezen kívül hasonló hatású bármely felületaktív anyag, kolloidális szerves vegyület, továbbá savanyú oldatban a K- vagy a Na-karbonát, lúgos oldatban a Na-szulfid stb. Biológiai anyagok vizsgálatánál mindig van jelen annyi kolloidális szerves anyag, amely a nem kívánatos maximumot elnyomja. Ha szabad levegőn polarografálunk, akkor az oldatban elnyelt oxigént rendszerint indifferens gázok (egészen tiszta N vagy H) átbuborékolatásával távolítjuk el.



7. ábra. Összefolyó lépcsők a) szétválasztása derivációs kapcsolással. b) derivációs polarogram

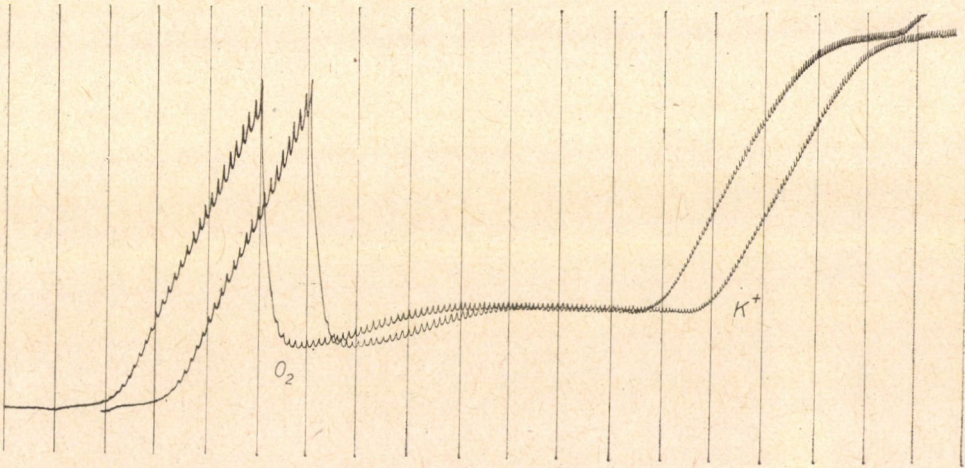


8. ábra. a) Maximum elnyomása a KCl -koncentráció emelésével. $0,001$ m KCl -oldathoz $0,1$ ml-ként telített KCl -oldatot cseppentve a maximum fokozatosan csökken. b) a szintetikus (1) és az erjesztett (2) ecet polarografikus görbéje. c) tiszta (1) és szervesanyaggal szennyezett víz (2) polarografikus görbéje

A maximumlépcső elnyomásának mértéke arányos a maximumelnyomó anyag koncentrációjával. Ezt a jelenséget közvetett uton a maximumelnyomó anyagok koncentrációjának mérésére is felhasználhatjuk (8. ábra *a*). De a maximumelnyomás jelensége minőségi ellenőrzést is lehetővé tesz. Polarografikusan meg lehet állapítani pl., hogy az ecet szintetikus-e vagy erjesztéssel készült, a méz természetes-e vagy műkeverék (8. ábra *b*), mivel az erjesztett ecet, illetve természetes méz a benne levő kolloidális maximumelnyomó tulajdonságú anyagok révén nagyobb maximumelnyomóképességű, mint a szintetikus ecet, illetve műkeverék méz. Ugyanezen elvi alapon használják a polarografikus analízist a víz tisztaságának ellenőrzésére (mert a maximumelnyomóképességű víz szerves szennyeződésre utal) (8. ábra *c*).

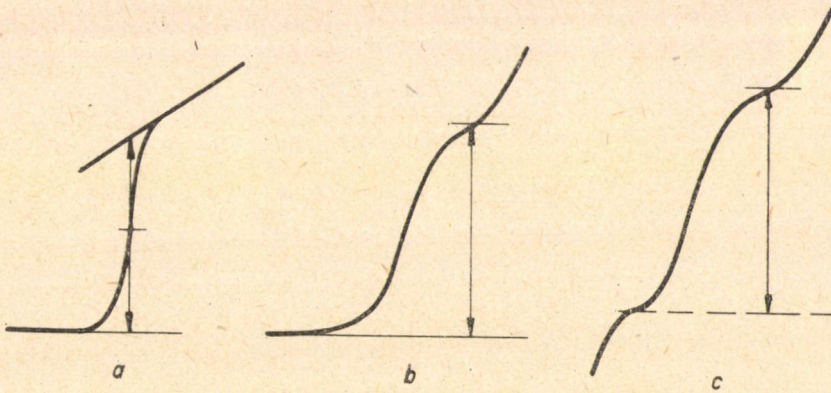
Ha mindezen ismeretek birtokában az elektrolizáló edénykébe mindent előkészítettünk, az elektródákat a polarográfal összekapcsoltuk, a készüléket az áramforráshoz kötöttük, a készülék motorját beindítva megtörténhetik a polarogram felvétele. Ennek megtörténte után a fotódobban elhelyezett fényérzékeny papírt sötétkamrában a szokásos módon előhívjuk, kimossuk, fixáljuk, ismét kimossuk, végül pedig megszáritjuk. Az így nyert polarogram képezi a vizsgálat kiértékelésének alapját (9. ábra). A nyert polarogramon a polarografikus lépcsőn kívül függőleges, egymással párhuzamos ún. abszcissavonalakat is találunk. Ezek a feszültségnövekedést jelzik, a minőségi kiértékelésben nyújtanak támpontot, és úgy jönnek létre, hogy amikor az ellenállásdob egyenletes forgásában a teljes körforgás minden 1/20 részét elérte, akkor egy abszcissaegő felvillan és a nyitott résfényen keresztül egy pillanatra megvilágítja a fényérzékeny fotopapírt. Ha tehát 0—4 Voltig növeljük egyenletesen a feszültséget, akkor minden abszcissavonal-köz 0,2 V feszültségemelkedést jelez. Így kiszámolható, hogy a mérendő polarografikus lépcső hány Volt feszültségnél alakult ki.

Ezek után vizsgáljunk meg közelebbről egy polarografikus görbét. A 9. ábra egy 0,001 n KCl-oldat polarogramját mutatja kétszer egymás után felvéve, 0—3,5 Volt között, 1 : 40 galvanométerérzékenység mellett. Jól látható az éles O₂-maximum, majd 2 Volt után mutatkozik a K⁺ diffúziós árama, majd a határárammal kiképződő K-lépcső. Bizonyára sokak számára feltűnő, hogy a polarogram vonala mindig többé-kevésbé csipkézett. Ennek okát a Hg csepegésében találjuk meg. Minden egyes higanycsepp lecsepegésekor ugyanis az elektróda áramintenzitása gyakorlatilag 0-ra csökken, az újabb csepp képződésével pedig újra egy felső határ felé emelkedik. Mivel azonban a csepegés elég gyors, a galvanométer pedig megfelelő módon csillapított (lengésideje kb. 3 mp) ezért az ingadozás csak csipkézettségben mutatkozik. Az áramintenzitás átlagos értékét az ingadozások, azaz a csipkézettség középértéke adja meg. Az egy abszcissavonallal eltolt módon felvett másik polarogram az elsőnek pontos reprodukciója, ami azt bizonyítja, hogy azonos felvételek mellett minden polarogram azonos eredményt mutat.



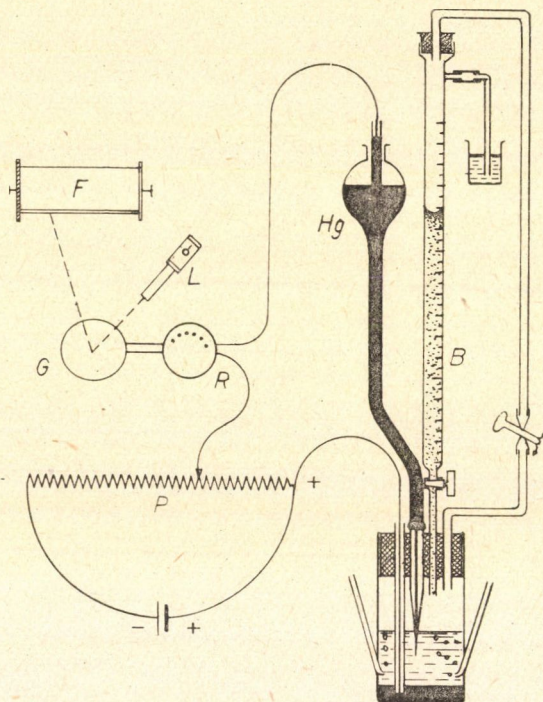
9. ábra. 0,001 m KCl-oldat polarografikus görbéje (eredeti felvétel) 20 C-on 0—4 Volt között 1 : 50 galvanométerérzékenység mellett felvéve

Amennyire fontos az analízis előírt körülményeinek pontos betartása, éppúgy fontos a helyes és pontos kiértékelés is, amely a módszer természetének megfelelően két részből áll: a kvalitatív és kvantitatív kiértékelésből. A minőségi analízis-kiértékeléskor az abszcissa-vonalak segítségével megállapítjuk, hogy a polarografikus lépcső hány Volt feszültségnél alakult ki. A lépcső helyzetének pontos kifejezésére a lépcső kezdete, illetve vége egyaránt alkalmatlan a fokozatos átmenet miatt. Erre csak a lépcső közepe lehet a legalkalmasabb. A lépcső ezen inflexió pontjának (10. ábra *a*) az eléréséhez szükséges feszültséget féllépcsőpotenciálnak ($E^{1/2}$) nevezzük, amely egy adott összetételű alapolddatra vonatkoztatva a redukálható anyag minőségi jellemzője. A fontosabb



10. ábra. A polarografikus lépcső kvantitatív kiértékelésének módjai aszerint, hogy az alap-, illetve határáram lineáris-e a galvanométer nullvonalával vagy sem

polarografálható anyagokra nézve ezek a féllépcsőpotenciál-értékek a legtöbb analitikai kézikönyvben, kémiai táblázatok sorában megtalálhatók, mégpedig normál kalomel-elektrodára vonatkoztatva. Ha tehát nem ilyen vonatkozási elektródával dolgozunk, akkor az általunk használt ellenelektroda potenciáljától függően ettől eltérő eredményeket várhatunk. A kvantitatív kiértékelés a lépcső magasságának megmérése útján történik. A le mérés módja szerint 3 lépcsőtípust ismerünk aszerint, hogy a lépcső előtt, illetve után a görbe a



11. ábra. A polarometrikus titrálás vázlatja.

F fotódob, *G* galvanométer, *L* fényforrás, *R* érzékenységszabályozó sönt, *P* ellenállásdob, *Hg* higanytartály, *B* titráló buretta

galvanométer nullvonalával párhuzamos-e vagy sem. Ennek megfelelően a kiértékelés módja is ehhez igazodik (10. ábra).

A polarográfia sajátos felhasználási területe a polarometrikus titrálás, amikor is a titráló poharat elektródákkal látjuk el s a titrálendő oldaton egy bizonyos állandó feszültségű áramot vezetünk át. A cseppenként történő titrálás során figyeljük és feljegyezzük a galvanométerkitérések csökkenését. A titrálás akkor tekinthető befejezettnek, ha további csepphozzáadás esetén további galvanométerkitérést már nem észlelünk. Az így végzett titrálásnál 0.1%-os pontosság érhető el (11. ábra).

Újabban a polarográfot más módszerek kiértékelésénél is felhasználják (pl. elektroforetikus vizsgálatoknál) ugyanakkor a polarogram kiértékeléséhez felhasználnak ma már tökéletesebb mérőeszközöket is. Így rohamosan terjed a polarogramok katód-oscilloskóp segítségével való gyors és pontos kiértékelése különösképpen sorozatvizsgálatoknál és elektródreakciók tanulmányozásánál.

Az eddig elmondottakból következik, hogy a polarográfia felhasználási területe igen nagy. Segítségével nemcsak kationok, hanem olyan anionok is elemezhetők, amelyek a Hg-al oldhatatlan sókat vagy komplexeket képeznek. A maximumnyomáson alapuló közvetett polarografálás is sok lehetőséget nyújt. Nem szabad azonban figyelmen kívül hagynunk, hogy a polarográfia alapját képező elektrokémiai törvényszerűségek zöme csak híg oldatokra vonatkozik, ezért általában a mérendő anyagra nézve 0,1 n-nál hígabb koncentrációk meghatározására ajánlhatók s közvetlen méréseknél a mérendő anyagnak valódi oldatban kell lennie.

A polarografikus analízis előnyei tehát a következőkben foglalhatók össze:

1. az analízishez kevés, szükség esetén egyetlen csepp vizsgálati anyag szükséges csupán;

2. igen híg oldatokban viszonylag nagy pontossággal méri a koncentrációt (pontosság kb. 1%, a kimutathatóság alsó határa 10^{-6} , katalitikus reakcióknál esetleg 10^{-8} mólos koncentráció);

3. ugyanabból a mintából a vizsgálatot számtalanszor elvégezhetjük, megismételhetjük; egyazon mérés kvalitatív és kvantitatív kiértékelésre egyaránt alkalmas, sőt, amennyiben nagyjából azonos koncentrációban vannak jelen, úgy ugyanazon vizsgálandó oldatban egyidejűleg több anyag is analizálható. Ezt az így nyert soklépcsős polarogramot polarografikus spektrumnak nevezzük; (14. ábra);

4. a mérés gyors és kényelmes, mindössze néhány percet vesz igénybe. Az előkészület és a kiértékelés viszont hosszadalmas;

5. a kész polarogram az elvégzett analízis és kiértékelés maradandó, okmányyszerű bizonyítéka;

6. igen sokoldalú módszer, amely más módszerek kiegészítőjeként is használatos.

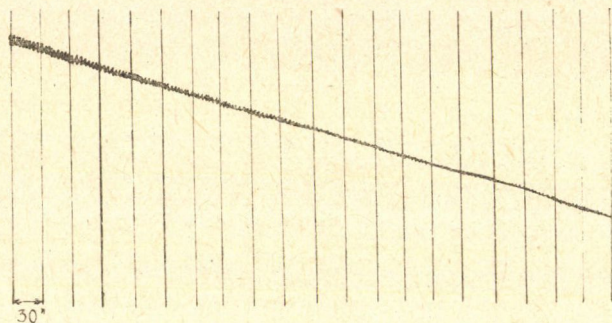
Természetesen hiba lenne hátrányait elhallgatni. Így:

1. a polarografikus analízis igen érzékeny a beállításra, a kontaktuszavarokra, a szennyeződésre, a környezeti faktorokra (főleg a hőmérsékletre és a pH-ra) ezért az előkészületek és az analízis során nagyon körültekintőnek kell lenni;

2. a műszer kezelése és a polarogramok kiértékelése sok gyakorlatot és türelmet, komoly előzetes felkészültséget igényel.

3. a műszer ma még meglehetősen drága, bonyolult szerkezetű és javítása nehézkes.

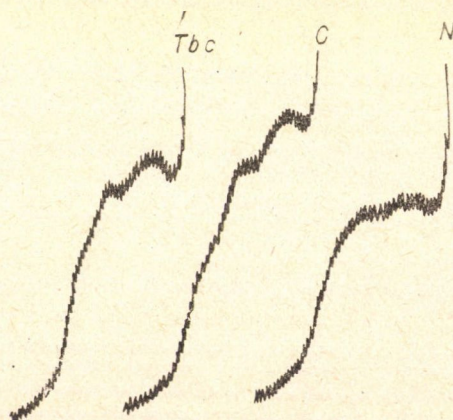
Nem ésszerű tehát polarografálni olyan anyagokat, amelyeket a kívánt pontosság mellett ennél egyszerűbb módszerekkel is elvégezhetünk, vagy ahol a pontosság nem szigorú követelmény. A polarográfiának akkor van igazán jelentősége, ha kevés vizsgálati anyagból alacsony koncentrációjú



12. ábra. Élesztőgomba oxigénfogyasztásának polarogramja. 6,8 pH foszfátpufferben 0,5 ml 10%-os élesztőszuszpenziót 0,6 V feszültségen polarografálva. A két abszcisszavonal közötti tér 30''-nek felel meg

anyagok koncentrációját híg oldatokban nagy pontossággal kell meghatározunk.

Végül nézzük, milyen felhasználási lehetőségei vannak a polarográfiának a kísérleti biológiában. Erre vonatkozóan a megszabott keretek között teljességre korántsem törekedhetem, csak utalhatok olyan irodalmi össze-



13. ábra. Theb-s, carcinómás (c) és egészséges (N) ember szérumpféréjéje polarografikus katalitikus kettőslépcsőjének összehasonlítása vázlatosan, Brdička-féle filtrátreakció segítségével ammóniás Co (III) oldatban

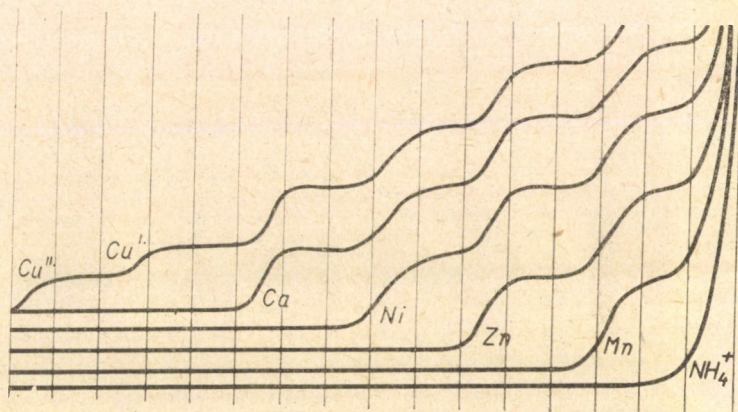
foglaló szakkönyvre, amely az 1956-ig megjelent fontosabb polarografikus közlemények alapján alapos áttekintést nyújt az érdeklődő biológusok számára (M. BREZINA-P. ZUMAN 1956). De hogy mégis pillanatképeket nyújtsak

a széles skálájú lehetőségekről, a már kidolgozott módszerek közül felsorolok néhányat.

Igen sok közlemény ad támpontot oldatok és testnedvek (vér, nyirok, vizelet) Ca-, K-, Mg-, Cu-, J-, Pb-, Zn-, valamint O_2 -tartalmának, továbbá piroszőlősav-, glutathion-, ketosav-, és progeszteron-tartalmának meghatározásához; a polarográfia alkalmas egyes albumin- és globulin-frakciók elemzésére, fehérjék SH és SS csoportjainak kimutatására stb.

Igen elterjedtek azok a vizsgálatok, amelyek segítségével különböző szervek, szövetek (bőr, agyvelő, mirigyek) sőt az egész élő szervezet (mikroorganizmusok és magasabbrendű szervezetek) O_2 -fogyasztását mérik.

Jelentős szerepet játszik az egészségügy és élelmiszeripar munkájában az egyes gyógyszerkészítmények, élelmiszerek, az egyes élő szervezetek szer-

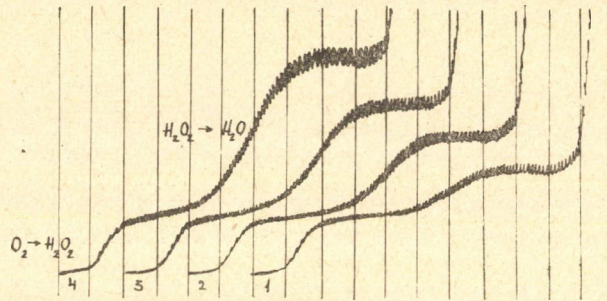


14. ábra. Polarografikus spektrum. Réz, kadmium, nikkell, cink és mangán polarografikus lépcsője ammóniás oldatban, az oldatban levő oxigén eltávolítása után

vek, szövetek vitamintartalmának polarografikus meghatározása (ma még csak a B_1 , B_2 , B_6 , B_{12} , C, E, és K vitaminok meghatározása nyert alaposabb kidolgozást).

A mikrobiológus a táptalajok összetételének, a mikroszervezetek O_2 -fogyasztásának meghatározására, a növényfiziológus különböző növényi részek összetételének elemzésére, légzésére, az orvosok diagnosztikai célra, a növényvédelmi szakemberek rovar- és gombaöltszerek hatóanyagának vizsgálatára használhatják kedvező eredménnyel a polarografikus analízist. Számptalan irodalmi közlemény utal arra, hogy a polarográfia a vízkémiai és hidrobiológiai vizsgálatoknál is hasznosítható. Viszonylag gyors mérésideje lehetővé teszi fiziológiás folyamatok (emésztés, légzés, kiválasztás, enzimaktivitás stb.) folyamatos regisztrálását is. A felhasználás sokrétűségéből szemelvényként a 12—15. ábrák mutatnak néhányat.

Befejezésül szabad legyen remélnem, hogy mindazoknak a biológusoknak a számára, akik eddig a polarográfiáról keveset hallottak, sikerült e rövid áttekintés útján bepillantást nyújtanom a módszer lényegébe és alkalmazásának lehetőségeibe. Biztos vagyok abban, hogy az a lendület, amelyet e téren hazánkban az elmúlt évek során örömmel észlelhettünk és amelynek jele az 1957 augusztusában Veszprémben megtartott nemzetközi polarografikus



15. ábra. A hidrogénperoxid-koncentráció polarografikus meghatározása, 10 ml 4,7 pH-jú acetátpufferhez (1) 0,1 ml (2), 0,2 ml (3), és 0,3 ml (4) 1%-os H_2O_2 -t adva

kongresszus is, töretlenül emelkedni fog és e finom analizáló módszernek a kísérleti biológia számos területén való felhasználásához is előbb-utóbb el fog vezetni.

IRODALOM*

- BREZINA—ZUMAN: Die Polarographia in der Medizin, Biochemie und Pharmazie. AVG. Leipzig 1956.
- ERDEY—MÁZOR: Analitikai zsebkönyv. Műszaki Kiadó Budapest. 1955.
- ERDEY—PROSZT: Fizikokémiai praktikum. Tankönyvkiadó Budapest 1955.
- HEYROVSKY: Polarographie. II. kiad. 1949. W. Böttger: Physikalische Methoden der analytischen Chemie c. könyv 2. részében. AVG Leipzig.
- HEYROVSKY—ZUMAN: Bevezetés a gyakorlati polarográfiába. Akadémiai Kiadó Budapest 1955.
- KOLTHOFF—LINGANE: Polarography, Polarographic Analysis and Voltametry, Amperometric titrations. II. kiad. Interscience New York 1941.
- SCHOLANDER: Introduction to practical polarography. Coppenhaga 1950.
- STACKELBERG: Polarographische Arbeitsmethoden. Berlin 1950.

* *Megjegyzés:* Az irodalmi felsorolás csak azokra a hazánkban is könnyen hozzáférhető összefoglaló alapvető munkákra szorítkozik, amelyek a polarográfiában tájékozódni kívánó biológus számára kiindulási alapként szolgálhatnak.