

Moderne Potentiometrie

Eric Bakker* und Ernö Pretsch*

Stichwörter:

Bioanalytik · Ionenselektive Elektroden · Sensoren ·

Spurenanalytik · Wirt-Gast-Systeme

Die meisten Chemiker verbinden Potentiometrie mithilfe ionenselektiver Elektroden (ISEs) in erster Linie mit pH-Messungen mit einer Glaselektrode. Wer sich für die klinische Analytik interessiert, weiß außerdem, dass ISEs routinemäßig zur Bestimmung von Elektrolyten im Blut eingesetzt werden und einen Marktumfang erzielen, der dem von Glaselektroden nahekommt. Weniger bekannt ist, dass die Potentiometrie im Laufe des letzten Jahrzehnts eine stille Revolution durchlaufen hat. Die untere Nachweigrenze und die Diskriminierung von Störionen (die Selektivitätskoeffizienten) wurden in vielen Fällen um Faktoren von bis zu 10^6 bzw. 10^{10} verbessert, sodass heute Anwendungen z. B. in der Umweltspurenanalyse und der potentiometrischen Biosensorik möglich sind. Eine weitere wichtige Anwendung, die ebenfalls Thema dieses Kurzaufsatzes ist, ist die Bestimmung von Komplexbildungskonstanten von Komplexen aus lipophilen Wirt- und ionischen Gastkomponenten.

1. Eine neue Welle in der Potentiometrie

Potentiometrische Sensoren mit Flüssig- oder Polymermembranen sind eine etablierte Technologie, die den Durchbruch für die Anwendung von Sensorelementen im klinischen Bereich zur automatisierten Untersuchung physiologischer Proben auf Schlüsselelektrolyte wie Kalium, Natrium, Calcium und Chlorid sowie zur pH-Messung geschaffen hat.^[1] Diese wichtige Erfolgsgeschichte im Bereich der elektrochemischen Sensorik fand ihren Schauplatz in den 70er und 80er Jahren,^[2–5] und nach dieser Zeit galt die Technologie als ausgereift. Man war der Meinung, dass keine entscheidenden Fortschritte mehr möglich sind.

Einer der Wendepunkte in der potentiometrischen Sensorik kam Anfang der 90er Jahre mit der Einführung der heparinselektiven Elektrode durch die Arbeitsgruppen von

Meyerhoff und Yang.^[6] Angetrieben wurde die Entwicklung dieser Elektrode von dem großen Nutzen, den man sich von einem Sensor für den verbreitet eingesetzten Gerinnungshemmer Heparin und dessen Antidot Protamin versprach. Der zugrundeliegende Sensormechanismus war in den frühen Phasen der Forschungen zunächst nicht verstanden, wurde später aber erfolgreich aufgeklärt: als ein Nichtgleichgewichtsprozess aus Ionenaustausch und Gegendiffusion.^[7,8] Diese Untersuchungen trugen maßgeblich zum Aufkommen des neuen Forschungsgebiets der nichtklassischen Potentiometrie bei.^[9]

Im gleichen Zeitraum waren große Erfolge in der optischen Sensorik zu verzeichnen, die zu Nachweigrenzen bis in den subnanomolaren Bereich führten.^[10] Infolge dieser Entwicklungen stellte sich die Frage, weshalb die entsprechenden ionenselektiven Elektroden (ISEs), die aus den genau gleichen Materialien gefertigt waren, nur recht unbefriedigende Nachweigrenzen oberhalb des mikromolaren Bereichs erzielten.^[11,12] Die Nachweigrenze potentiometrischer Sensoren, so stellte sich heraus, wurde auch von Nichtgleichgewichtsdiffusionsprozessen innerhalb der Membran bestimmt,^[13,14] die analog wie bei den oben erwähnten Polyionensensoren beschrieben werden können.^[15,16] Nachdem die Ursachen und Mechanismen der unerwünschten stromlosen Ionenflüsse aus der Membran in die Probelösung erkannt waren, gelang es, diese Prozesse gezielt zu unterdrücken, wodurch die Nachweigrenzen der ISEs in den Ultraspurenbereich verschoben wurden.^[14,17,18] Weitere Forschungen gingen in Richtung der Miniaturisierung und Vereinfachung des Fertigungsprozesses durch Verwendung von festen anstelle von wässrigen Innenkontakteen.^[19] Mit diesen Ver-

[*] Prof. E. Bakker

Department of Chemistry, Purdue University
West Lafayette, IN 47907 (USA)
Fax: (+1) 765-494-0239
E-Mail: bakkere@purdue.edu

Prof. E. Pretsch
Laboratorium für Organische Chemie
ETH Zürich, 8093 Zürich (Schweiz)
Fax: (+41) 44-632-1164
E-Mail: pretzsche@ethz.ch

besserungen gelang es, die Potentiometrie als eine sehr nützliche Technik zur Bestimmung von ultraniedrigen Gesamtionenmengen in kleinen Probenvolumina zu etablieren.^[20,21] Eine Miniaturisierung ist insbesondere dann sinnvoll, wenn eine Ionendetektion mit bioanalytischen Testsystemen, z.B. auflösbaren Nanopartikelmarkern, gekoppelt werden soll.^[22] Weitere Trends betreffen die aktive Steuerung des Ionentransports durch Potential- oder Stromregelung, wodurch das Gebiet der ISEs näher an das der klassischen voltammetrischen Sensoren heranrückt.^[23]

Die Bemühungen um verbesserte Nachweisgrenzen hat auch die Suche nach besseren molekularen Rezeptoren und die Charakterisierung ihres Bindungsverhaltens in ISE-Membranen neu belebt. Neue Methoden zur Bestimmung der Ionenaustauschselektivität solcher Membranen wurden entwickelt,^[24,25] die zu Ionenselektivitäten führten, die manchmal zehn Größenordnungen besser waren als die ursprünglichen, mithilfe klassischer Protokolle ermittelten Werte. Es wurden auch mehrere Methoden eingeführt, um die Komplexbildungskonstanten lipophiler Rezeptoren direkt in der organischen Sensorphase zu bestimmen.^[26-29] Diese Fortschritte, zusammen mit adäquaten theoretischen Behandlungen des Ionenaustausch- und Diffusionsverhaltens solcher Membransysteme,^[30,31] haben eine starke Grundlage für weitere Entwicklungen in diesem interessanten Forschungsfeld geschaffen.

2. Ionenselektivitäten

Die Selektivität einer Polymermembran-ISE kann entweder von einer empirischen oder einer mechanistischen Perspektive aus verstanden werden, und es gab einige Diskussionen um die Bedeutung beider Sichtweisen. Unter den Aspekten einer gezielten Entwicklung und Charakterisierung der molekularen Wirkkomponenten und Membranmaterialien sowie der Optimierung der Nachweisgrenzen ist die mechanistische Perspektive die bei weitem wichtigere und nützlichere.^[25,31] In diesem Fall ist die Selektivität definiert als die thermodynamische Ionenaustauschselektivität der Membran und wird durch den potentiometrischen Selektivitätskoeffizienten K_{IJ}^{pot} beschrieben (die Indizes I und J bezeichnen das Primärion (Analytion) bzw. das Störion). Kleinere Werte des Selektivitätskoeffizienten bedeuten bessere Selektivitä-

ten für I. Der Selektivitätskoeffizient kann direkt mit der Ionenaustauschkonstante, den Bildungskonstanten der betreffenden Ion-Ionophor-Komplexe und in manchen Fällen auch mit den Membrankonzentrationen in Beziehung gesetzt werden. Für Ionen I und J, die die gleiche Ladung z haben und stabile Komplexe gleicher Zusammensetzung mit einem ungeladenen Rezeptor L eingehen, wird der Selektivitätskoeffizient durch Gleichung (1) beschrieben.^[2]

$$K_{IJ}^{\text{pot}} = K_{IJ} \frac{\beta_{JL}}{\beta_{IL}} \quad (1)$$

K_{IJ} ist die Ionenaustauschkonstante des unkomplexierten Ions für den Austausch zwischen der wässrigen Phase (aq) und der Membranphase (m) [Gl. (2)], und β_{IL} und β_{JL} sind die



Gesamtbildungskonstanten der IL- bzw. JL-Komplexe in der Membranphase. Der Einfluss der freien Solvatationsenthalpie wird durch K_{IJ} beschrieben, wobei lipophile Primärionen I^{z+} kleinere Selektivitätskoeffizienten ergeben. Die Wirtmoleküle (Ionophore) müssen sehr viel stärker an die Primärionen binden als an die Störionen, um so ein Selektivitätsmuster zu erzielen, das deutlich von dem einer einfachen Ionenaustauschmembran abweicht, deren Selektivität durch K_{IJ} allein bestimmt wird.

Der Selektivitätskoeffizient kann experimentell bestimmt werden, indem man für jedes der zu untersuchenden Ionen einzelne Kalibrierkurven aufnimmt und die Nernst-Steigungen misst. Für Messungen des Primärions wird die in Gleichung (3) gezeigte Beziehung zwischen der elektromotorischen Kraft (emf) und der Ionenaktivität (a_I) angenommen.

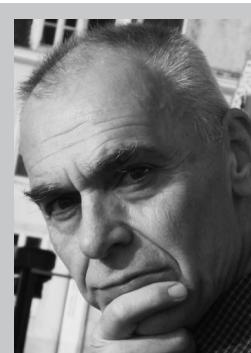
$$\text{emf} = E_I^0 + \frac{2.303 RT}{zF} \lg a_I \quad (3)$$

R , T und F sind die allgemeine Gaskonstante, die absolute Temperatur bzw. die Faraday-Konstante. Die Achsenabschnitte, E_I^0 und E_J^0 (der auf analoge Weise für ein Störion bestimmt wird), werden zur Bestimmung des Selektivitätskoeffizienten genutzt [Gl. (4)].

$$\lg K_{IJ}^{\text{pot}} = \frac{zF}{2.303 RT} (E_J^0 - E_I^0) \quad (4)$$



Eric Bakker ist Professor für Chemie an der Purdue University in West Lafayette, Indiana. Nach seiner Promotion an der ETH Zürich verbrachte er zwei Jahre als Postdoc an der University of Michigan in Ann Arbor. Seine Laufbahn als eigenständiger Forscher begann an der Auburn University in Alabama, wo er zehn Jahre bis zu seinem Wechsel in seine derzeitige Position verbrachte. Seine Forschungsinteressen gelten der Entwicklung von chemischen Sensoren und Sensorskonzepten auf der Grundlage der molekularen Erkennung sowie Extraktionsprinzipien.



Ernö Pretsch studierte Chemie an der Technischen Universität Budapest und der ETH Zürich, an der er 1968 promovierte. Nach mehrjähriger Forschungstätigkeit wurde er 1991 zum Titularprofessor an der ETH ernannt. Er ist gewähltes externes Mitglied der Ungarischen Akademie der Wissenschaften. Seine derzeitigen Forschungsinteressen betreffen potentiometrische Sensoren mit Schwerpunkt auf der Optimierung der unteren Nachweisgrenzen und des Selektivitätsverhaltens sowie die computergestützte Interpretation von Molekülspektren, einschließlich der Vorhersage von NMR-Spektren.

Sofern Ionenflüsse keine Rolle spielen und die beiden Ionen I und J die gleiche Ladung haben, kann die emf einer Lösung der beiden Ionen I und J durch die Nicolsky-Gleichung [Gl. (5)] beschrieben werden.

$$\text{emf} = E_i^0 + \frac{2.303 RT}{z F} \lg(a_i + K_{ij}^{\text{pot}} a_j) \quad (5)$$

Der Selektivitätskoeffizient lässt sich hier leicht als ein Wichtungsfaktor für das Störion erkennen. In Fällen, in denen die beiden Ionen unterschiedliche Ladungen haben oder Ionenflüsse nicht vernachlässigbar sind, muss die Ansprechfunktion durch eine komplexere Gleichung beschrieben werden.^[32,33]

Die im Rückblick größte Herausforderung bestand darin, Selektivitätskoeffizienten so zu erhalten, dass sie die zugrundeliegenden Ionenaustauschselektivitäten [Gl. (1)] auch wirklich genau widerspiegeln. Das Problem liegt darin, dass der Ionenaustausch unvollständig bleibt, wenn die ISE-Membran Störionen ausgesetzt wird. Besonders problematisch ist die Situation mit stark diskriminierten Störionen. Die Lösung für dieses Problem bestand darin, dass die verwendeten Membranen vor der Messung keinerlei Primärionen ausgesetzt werden durften (Abbildung 1).^[24] Andere Mög-

Tabelle 1: Fehlerfreie Selektivitätskoeffizienten und untere Nachweisgrenzen ausgewählter ionenselektiver Elektroden.

| Ion I | Nachweis-grenze [M] | Selektivitätskoeffizienten $\lg K_{ij}^{\text{pot}}$ | Lit. |
|------------------|---------------------|--|----------|
| Na^+ | 3×10^{-8} | $\text{H}^+/-4.8, \text{K}^+/-2.7, \text{Ca}^{2+}/-6.0$ | [39] |
| K^+ | 5×10^{-9} | $\text{Na}^+/-4.2, \text{Mg}^{2+}/-7.6, \text{Ca}^{2+}/-6.9$ | [40] |
| NH_4^+ | 2×10^{-8} | | [40] |
| Cs^+ | 8×10^{-9} | $\text{Na}^+/-4.7, \text{Mg}^{2+}/-8.7, \text{Ca}^{2+}/-8.5$ | [41] |
| Ca^{2+} | ca. 10^{-10} | $\text{H}^+/-4.9, \text{Na}^+/-4.8, \text{Mg}^{2+}/-5.3$ | [42] |
| Ag^+ | 3×10^{-11} | $\text{H}^+/-10.2, \text{Na}^+/-10.3, \text{Ca}^{2+}/-11.3$ | [43] |
| Pb^{2+} | 6×10^{-11} | $\text{H}^+/-5.6, \text{Na}^+/-5.6, \text{Mg}^{2+}/-13.8$ | [36, 44] |
| Cd^{2+} | 1×10^{-10} | $\text{H}^+/-6.7, \text{Na}^+/-8.4, \text{Mg}^{2+}/-13.4$ | [45, 46] |
| Cu^{2+} | 2×10^{-9} | $\text{H}^+/-0.7, \text{Na}^+/<-5.7, \text{Mg}^{2+}/<-6.9$ | [47] |
| ClO_4^- | 2×10^{-8} | $\text{OH}^-/-5.0, \text{Cl}^-/-4.9, \text{NO}_3^-/-3.1$ | [48] |
| I^- | 2×10^{-9} | $\text{OH}^-/-1.7$ | [48] |

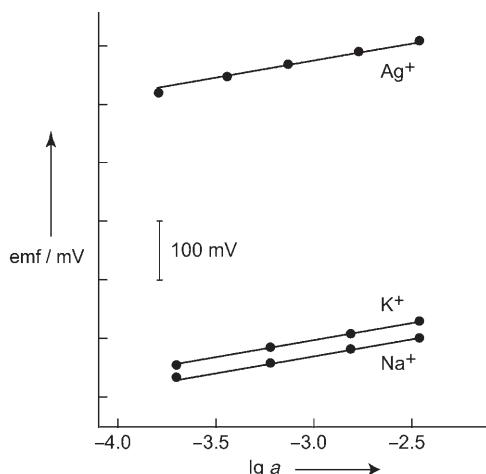


Abbildung 1. Bestimmung fehlerfreier Selektivitätskoeffizienten für eine Ag^+ -selektive Polymermembranelektrode.^[24] Nach Gleichung (4) ergibt sich aus der großen Potentialdifferenz zwischen den Ag^+ - und Na^+ -Kalibrierkurven ein Selektivitätskoeffizient von $\lg K_{\text{AgNa}}^{\text{pot}} = -8.7$. Die Daten wurden mit einer Membran erhalten, die vor der Aufnahme der Kalibrierkurven für Na^+ und K^+ keinerlei Ag^+ -Ionen ausgesetzt war.^[24]

lichkeiten bestehen darin, dass der wässrigen Phase ein mit dem Primärion reagierender Komplexbildner zugesetzt wird,^[34,35] oder man verwendet Membranen, die einen starken Ionenfluss in Richtung der Innenlösung zeigen und so ein Auswaschen der Primärionen aus der Membran in die Probelösung verhindern.^[14,36]

Mittlerweile wurden zahlreiche ISEs auf ihre Ionenaustauschselektivität hin charakterisiert. Wie in Tabelle 1, die eine Reihe von neu bestimmten Systemen zusammenfasst, gezeigt wird, erreichen die Selektivitätskoeffizienten in manchen Fällen Werte von 10^{-10} bis 10^{-15} , was um Größen-

ordnungen unter denjenigen Werten liegt, die mit herkömmlichen, von der IUPAC empfohlenen Methoden bestimmt wurden.^[37,38] Diese ausgezeichneten Selektivitäten haben die chemische Grundlage für das Erreichen verbesserter unterer Nachweisgrenzen geschaffen; darauf wird im folgenden Abschnitt eingegangen.

3. Untere Nachweisgrenzen

Im Idealfall wird die untere Nachweisgrenze einer ISE von Störionen verursacht, sodass ihr Wert durch die Konzentration anderer Ionen in der Probe und die entsprechenden Selektivitätskoeffizienten K_{ij}^{pot} der Membran bestimmt wird. Für ein Primärion I mit der Ladung z_I und ein vorherrschendes Störion J mit der Ladung z_J ist die untere Nachweisgrenze definiert als: $a_i(\text{DL}) = K_{ij}^{\text{pot}} a_J^{z_I/z_J}$. Man beachte, dass diese IUPAC-Definition^[37,38] nicht der Definition entspricht, die für alle anderen analytischen Methoden festgelegt wurde (ebenfalls von der IUPAC).^[49] In letzterem Fall ist die untere Nachweisgrenze als diejenige Analytkonzentration definiert, die ein rund dreifach stärkeres Signal wie das Hintergrundrauschen erzeugt. Diese Definition würde zu Nachweisgrenzen in der Potentiometrie führen, die um etwa zwei Größenordnungen niedriger liegen als die nach der obigen Definition erhaltenen Werte.^[18]

Leider werden bei Konzentrationen des Analytions im submikromolaren Bereich die durch den obigen Ausdruck gegebenen Nachweisgrenzen nicht vollständig erreicht. Sie sind zwar weiterhin mit der Selektivität und der Konzentration der Störionen verknüpft, die Beziehung ist nun aber sehr viel komplizierter,^[30] da die Probe durch die Sensormembran kontaminiert ist. In ISE-Membranen liegen Ionenkonzentrationen in der Größenordnung 10^{-2} – 10^{-3} mol kg⁻¹ vor. Ein Ausbluten bereits kleiner Mengen in die Probe sowie auch ein langsamer Transport von Primärionen von der Innenlösung in die Probe können bewirken, dass das Ansprechverhalten von ISE-Membranen bei submikromolaren Konzentrationen verfälscht wird. Typischerweise wird durch diese Prozesse eine etwa mikromolare Konzentration von Primärionen direkt an der Membran (der Sensorschicht) aufrechterhalten, selbst wenn die Volumenphase der Probe keinerlei Primär-

ionen enthält.^[50] Lange Zeit nahm deshalb an, dass die untere Nachweisgrenze solcher Sensoren nicht besser als ungefähr 10^{-6} M sein kann. Aus dem selben Grund hat man die Bedeutung der Störionen stark überschätzt. Was man für Störungen durch Störionen hielt, war in Wirklichkeit der Effekt der oben diskutierten mikromolaren Konzentrationen der Primärionen. Nachdem die wahre Ursache entdeckt worden war,^[13,14] gelang es rasch, eine Reihe von Methoden zu entwickeln, um diese Störung zu beseitigen.^[51] Mittlerweile ist klar, dass solche störenden Effekte nicht gänzlich ausgeschaltet werden können und dass die untere Nachweisgrenze bei submikromolaren Konzentrationen stets schlechter ist als man aufgrund der Störionen allein erwarten würde.^[30] Da sich andererseits herausstellte, dass viele Selektivitätskoeffizienten sehr klein sind (bis ca. 10^{-15}), wurden Nachweisgrenzen um 10^{-8} – 10^{-10} M für bereits mehr als zehn Ionen gefunden (siehe Tabelle 1 und Abbildung 2).

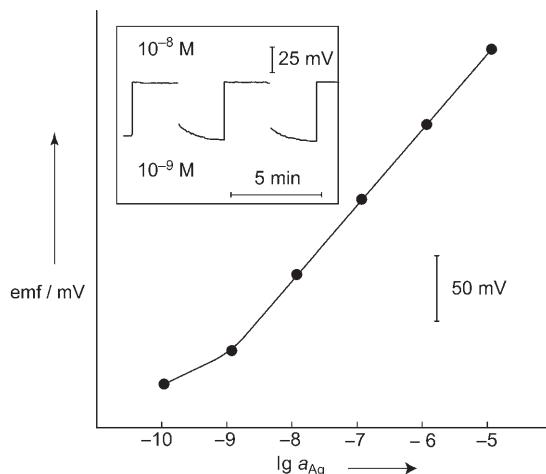


Abbildung 2. Kalibrierkurve einer Ag^+ -selektiven Polymermembranenelektrode, die eine subnanomolare Nachweisgrenze ergibt.^[21] Einschub: Ansprechverhalten bei wiederholter Detektion von 1 und 10 nm Silbernitrat.

4. Miniaturisierung

Konventionelle ISEs bestehen aus einer Polymermembran (in den meisten Fällen plastifiziertes Poly(vinylchlorid), PVC) mit einem Durchmesser zwischen 5 und 10 mm, die sich mit ihrer Innenseite in Kontakt mit einer das Primärion enthaltenden Lösung befindet, in die eine innere Referenzelektrode (z. B. Ag/AgCl) eintaucht. Diese Abmessungen haben vor allem historische Gründe und sind keineswegs zwingend erforderlich. Tatsächlich sind potentiometrische Elektroden mit Durchmessern im μm -Bereich seit über 30 Jahren bekannt. Solche Mikroelektroden wurden für In-vivo-Messungen in lebenden Zellen eingesetzt,^[52] waren aber zerbrechlich, aufwendig zu präparieren und hatten kurze Lebensdauern von nur Stunden oder Tagen. Obwohl mittlerweile sogar noch kleinere Elektroden mit Durchmessern in der Größenordnung von 100 nm hergestellt worden sind,^[53] geht die derzeitige Entwicklung hauptsächlich hin zu Membranabmessungen im Bereich 0.1–1 mm. Dies ist die typische Größe der für die Analyse von Blutelektrolyten eingesetzten ISE-Membranen. In einer typischen Einzelprobenanalyse werden etwa 100 μL Blut, Serum oder Plasma für etwa zehn parallele Messungen verwendet.^[1]

Neuere Arbeiten führten zur Entwicklung von ISEs dieser Größe mit verbesserten Nachweisgrenzen, die denjenigen der besten makroskopischen Membranen entsprechen (siehe Abschnitt 3). Dass solche guten Nachweisgrenzen in kleinvolumigen Proben erzielt werden, ist mit dem Vorteil verbunden, dass sehr niedrige Gesamtmengen des Analyten bestimmt werden können. Die Potentiometrie scheint hierfür besonders gut geeignet, weil der Analyt, im Unterschied zu den meisten anderen Techniken, bei der Messung nicht verbraucht wird. Da konventionelle Referenzelektroden in derart kleinen Proben nicht verwendet werden können, nutzt man als Referenz stattdessen eine zweite miniaturisierte ISE-Membran, die auf eine Ionensorte anspricht, deren Aktivität konstant gehalten wird. In einem jüngsten Beispiel wurden plastifizierte PVC-Membranen, die in Mikropipettenspitzen präpariert wurden, für Messungen in Probevolumina von 3 μL eingesetzt.^[20] Eine Gesamtmenge von 300 amol unterschiedlicher Kationen erzeugte ein Signal, das bis zu 300-mal stärker war als die Standardabweichung des Hintergrundrausches (Abbildungen 3 und 4).^[20] In einem anderen Fall wurden monolithische Kapillaren als Halter für (PVC-freie) ISE-Membranen verwendet.^[39] In diesen Fällen ist der Ionenfluss durch die Membran weitgehend unterdrückt, sodass

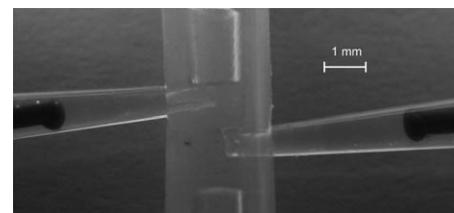


Abbildung 3. 3- μL -Messzelle. Eine Ca^{2+} -ISE als Indikatorelektrode (links) und eine Na^+ -ISE als Referenzelektrode (rechts) werden in ein Siliconrohr von 1 mm Innendurchmesser eingestochen und mit dem die Probe enthaltenden Wasserpropfen in Kontakt gebracht.^[20]

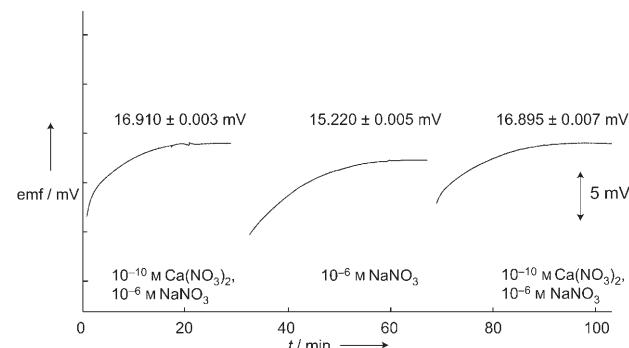


Abbildung 4. Potentiometrische Detektion von 300 amol Ca^{2+} (10^{-10} M in 3 μL) gegen einen konstanten Hintergrund von 10^{-6} M NaNO_3 . Eine miniaturisierte Na^+ -ISE wurde als Referenzelektrode verwendet.^[20]

das Ansprechverhalten der ISE praktisch unabhängig von der Zusammensetzung der Innenlösung ist.^[39]

Miniaturierte ISEs mit einem festen anstelle eines wässrigen Innenkontakte sind einfacher herzustellen und werden zurzeit intensiv erforscht. ISEs mit internem Festkontakt sind seit 30 Jahren bekannt,^[54] wiesen bis vor kurzem aber nur unzureichende Potentialstabilitäten auf. Grund hierfür war das Fehlen eines definierten Redoxpaars zwischen der Membran und der Innenelektrode^[55,56] sowie die Bildung eines dünnen Wasserfilms zwischen den beiden Komponenten.^[57] Darüber hinaus kann der Transport des Ions durch die Sensormembran die Zusammensetzung dieses sehr kleinervolumigen Wasserfilms merklich beeinflussen und damit das Grenzflächenpotential zwischen dem Film und den Kontaktphasen verändern.^[57] Beide Instabilitätsquellen lassen sich durch Verwendung von lipophilen redoxaktiven selbstorganisierten Monoschichten ausschalten (Abbildung 5). Eine andere Möglichkeit besteht in der Ver-

zen erzielt werden, die denen von Flüssigkontaktelektroden gleichkommen oder diese sogar unterbieten.^[67] In den meisten Fällen ersetzt man die PVC-Matrix durch Acrylat- oder Methacrylat-Copolymere, die ohne Zusatz eines Weichmachers auskommen.^[68,69] Die Diffusionskoeffizienten in solchen Polymermatrizen sind um Größenordnungen niedriger als in PVC,^[70] was zu besseren Ansprechzeiten führt und die Bildung des oben erwähnten Wasserfilms besser unterdrückt, andererseits aber einen größeren Zeitaufwand für die Konditionierung der Elektrode erfordert. Obwohl viele technische Details und eine Optimierung der Präparationsverfahren noch ausstehen, scheint es, dass sich solche miniaturisierten ionenselektiven Festkontaktelektroden in der nächsten ISE-Generation durchsetzen werden.

5. Anwendungen

Die seit jeher wichtigsten Anwendungen ionenselektiver Elektroden finden sich – neben der pH-Bestimmung – in der klinischen Analytik. Da physiologische Ionen in einem relativ schmalen Konzentrationsfenster vorliegen, muss die Präzision und Richtigkeit der Messung besser als 2–3 % sein, was wegen der kleinen Probemengen und komplexen Beschaffenheit von Körperflüssigkeiten eine anspruchsvolle Bedingung ist.^[1] Eine relativ neue klinische Anwendung ist die Bestimmung von Heparin und dessen Antidot Protamin.^[8] Wegen der hohen Ladungen der Analyte (Heparin –70, Protamin +30) wäre die Empfindlichkeit (d.h. die Steigung der Ansprechfunktion des Sensors; $59.2/z$ [mV dec⁻¹] bei 25 °C) normalerweise vernachlässigbar klein, weshalb man auf nichtklassische potentiometrische Methoden zurückgreifen muss, um diese klinisch wichtigen Polyionen zu erfassen (siehe Abschnitt 6).^[7]

Verschiedene praktische Anwendungen von ISEs mit verbesserten unteren Nachweisgrenzen befinden sich zurzeit in der Entwicklung. Ihre Eignung für die Spurenmetallanalyse im Trinkwasser wurde durch Abgleich der Ergebnisse mit ICPMS-Analysen (Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma) bestätigt.^[47,71] Da eine ISE auf die Aktivität freier Ionen anspricht und ICPMS nicht zwischen unterschiedlichen Formen des Analyten unterscheidet, ist ein direkter Vergleich nur möglich, wenn der Analyt während der potentiometrischen Messung in freier Form vorliegt. Die pH-Abhängigkeit des Ansprechverhaltens einer Pb²⁺-ISE auf 10 ppb Pb²⁺ verdeutlicht diesen Sachverhalt (Abbildung 6).^[71] Bei pH > 4.0 vermindert die zunehmende Carbonatmenge die Aktivität an freiem Pb²⁺ (die gestrichelte Kurve stellt das berechnete Ansprechverhalten dar). Bei pH 4.0 wurde eine ausgezeichnete Korrelation mit den ICPMS-Daten erhalten (Abbildung 7).^[71] ISEs mit verbesserten unteren Nachweisgrenzen wurden auch zur Untersuchung der biologischen Aufnahme von Pb²⁺ und Cd²⁺ genutzt.^[46,72]

Eine vielversprechende Anwendung von miniaturisierten ISEs liegt in der potentiometrischen Biosensorik mit Nanopartikelmarkern. Diese Technik wurde am Beispiel eines Sandwich-Immunassays demonstriert, der auf der selektiven Anbindung von Gold-Nanopartikeln und der Abscheidung und nachfolgenden Auflösung von Silber, das mit einer Ag⁺-

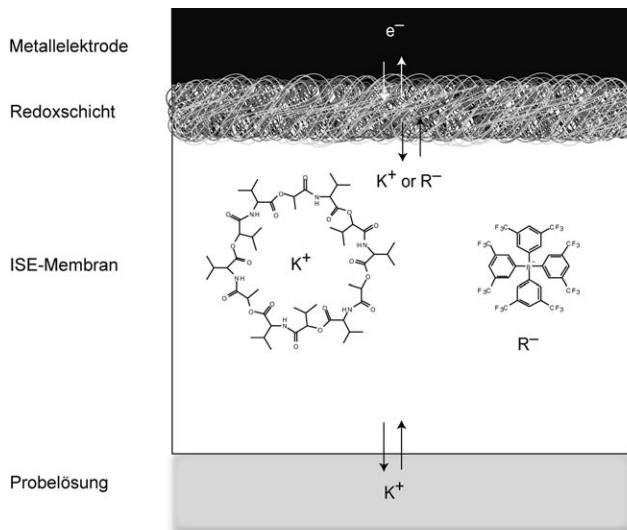


Abbildung 5. Eine Festkontakt-ISE. Der Messstrom (in der Größenordnung fA) wird in den Lösungen und der ISE-Membran von Ionen und im Metall von Elektronen transportiert. Die beiden Prozesse sind in der Redoxschicht (einem leitfähigen Polymer oder einer redoxaktiven selbstorganisierten Monoschicht) gekoppelt. Bei fehlender oder nicht ausreichend lipphiler Redoxschicht kann sich an der Innenoberfläche der Membran ein Wasserfilm bilden, der zu Potentialinstabilitäten und einer Verschlechterung der unteren Nachweisgrenze führt.

wendung von leitfähigen Polymeren, die einen breiteren Anwendungsspielraum bieten und intensiv erforscht werden sind.^[61] Vor mehr als zehn Jahren schon konnte gezeigt werden, dass leitfähige Polymere als ausgezeichnete Ion-Elektron-Wandler in Feststoffelektroden dienen,^[19] ihre Anwendung in ISEs mit submikromolaren Nachweisgrenzen wurde allerdings erst kürzlich beschrieben.^[62,63] Insbesondere wurde die Bildung eines Wasserfilms zwischen der ISE-Membran und dem leitfähigen Polymer, die in diesem niedrigen Konzentrationsbereich besonders kritisch ist, erst in jüngster Zeit erforscht.^[64–66] Vermeidet man diesen Wasserfilm, so können mit miniaturisierten Festkontakt-ISEs untere Nachweisgren-

Potentiometrie

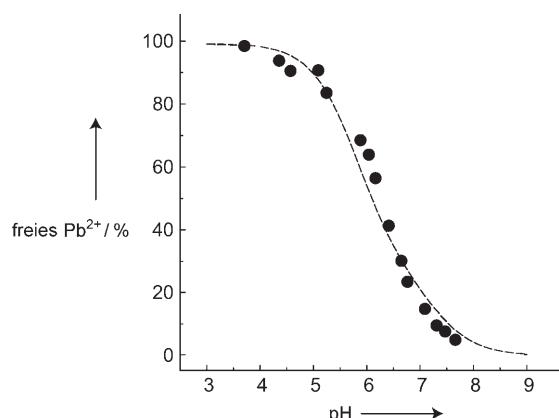


Abbildung 6. Potentiometrische Bestimmung des Anteils an unkomplexiertem Pb^{2+} als Funktion des pH-Werts in einer mit 10 ppb Pb^{2+} versetzten Trinkwasserprobe. Gestrichelte Kurve: berechnete Aktivität von freiem Pb^{2+} bei einer Gesamtcarbonatkonzentration von 4.14 mM.^[71]

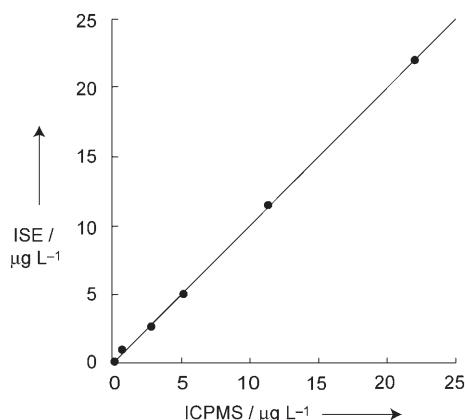


Abbildung 7. Pb^{2+} -Aktivität von Umweltproben; Vergleich von potentiometrischen Messungen bei pH 4.0 und ICPMS-Daten.^[71]

ISE detektiert wurde, beruht (Abbildung 8).^[22] Der Assay zeigte gute Selektivitäten und eine Nachweisgrenze von ca. 12.5 pmol IgG in einer 50- μL -Probe (Abbildung 8).^[22] Eine andere mögliche Anwendung von miniaturisierten ISEs, die auf einem neuartigen markierungsfreien Biosensorikprinzip beruht, ist die Detektion von bioerkennungsmodulierten Ionenflüssen durch funktionalisierte Gold-Nanoröhren.^[73]

Die Messung von Komplexbildungskonstanten in lipophilen Phasen ist ebenfalls eine neuere Anwendung von ISEs. Die Methode könnte auch von einem breiteren Interesse für die Untersuchung von Wirt-Gast-Wechselwirkungen sein. Die Potentialdifferenz an der Grenzfläche zwischen Membran und Lösungssphase ist eine direkte Funktion der Ionenaktivität ($a_{i(\text{aq})}/a_{i(\text{m})}$) in beiden Phasen. Für konventionelle Anwendungen wird die Aktivität in der Membran konstant gehalten. In einem etwas veränderten Ansatz können ISE-Membranen auch genutzt werden, um die Aktivität freier Ionen in der Membran und damit die Komplexbildungskonstanten zu ermitteln. Da eine Komplexbildung auch das Grenzflächenpotential an der Innenseite der Membran beeinflusst und das Ansprechverhalten der ISE ebenso von der

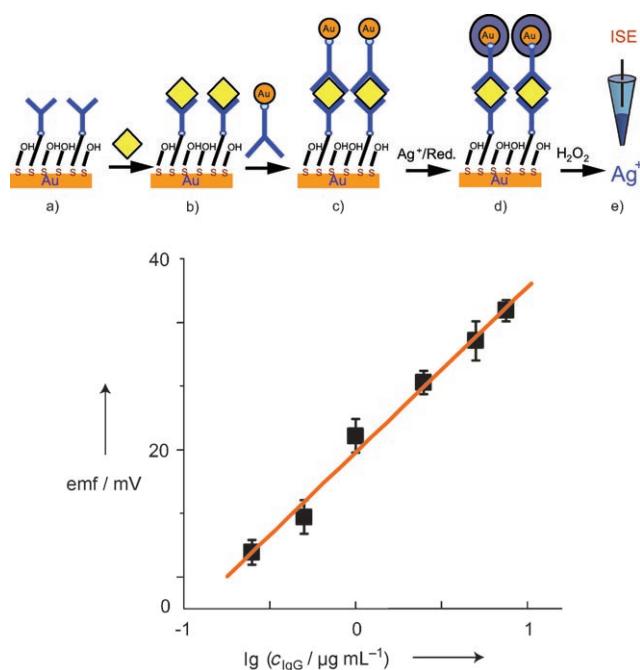


Abbildung 8. Oben: Sandwich-Immunassay mit potentiometrischer Detektion: a) Ein Antikörper wird auf einer Goldoberfläche durch Selbstorganisation immobilisiert; b) das IgG-Antigen der Maus wird an den Antikörper gebunden; c) ein zweiter Antikörper, der mit Gold-Nanopartikeln markiert ist, wird an das Antigen gebunden; d) Ag wird auf den Au-Nanopartikeln abgeschieden; e) aufgelöstes Ag^+ wird mit einer Ag^{+} -ISE detektiert. Unten: Kalibrierkurve der Ag^+ -ISE für das Ansprechverhalten auf IgG.

relativen Lipophilie der Ionen abhängt [Gl. (1)], benötigt man eine Referenz, um die relevante Information über die Aktivitäten freier Ionen in der Membran zu erhalten. Eine Möglichkeit besteht in der Verwendung eines zweiten Ionophors, das nicht mit den zu untersuchenden Ionen wechselwirkt. Geeignete Referenzionophore sind organische Basen, die mit H^+ starke, mit anderen Ionen dagegen vernachlässigbare Wechselwirkungen eingehen.^[26] Ein anderer Ansatz beruht auf der Verwendung von Referenzkationen wie Tetraalkylammonium, die vernachlässigbar geringe Wechselwirkungen mit den zu untersuchenden Ionophoren eingehen.^[27] Schließlich gibt es noch den Ansatz, eine Referenzmembran ohne den Ionophor, aber mit der ansonsten gleichen Zusammensetzung wie die zu untersuchende Membran zu präparieren. Die beiden Membranen werden dann zu einer Doppelmembran kombiniert, wobei das anfängliche Potential in einer symmetrischen Zelle das Verhältnis der Ionenaktivitäten in den beiden Teilzellen widerspiegelt.^[28,29] Da die Ionenpaarbildung auch die Aktivitäten der freien Ionen beeinflusst, erhält man genau genommen formale Komplexbildungskonstanten, die das Verhältnis der Ionenpaarbildungskonstanten der freien und komplexierten Ionen beinhalten. Diese Methode kann auch genutzt werden, um Ionenpaarbildung in solchen Membranen zu untersuchen.^[74] Die Komplexbildung von knapp 100 Ionophoren wurde bislang mit diesem Ansatz untersucht (siehe Tabelle 2 für eine Auswahl). Im Gegensatz zu den meisten der derzeit angewendeten Techniken für die Untersuchung von Wirt-Gast-Wechselwir-

Tabelle 2: Effektive Bildungskonstanten $\lg \beta_{\text{IL}}$ für Komplexe aus lipophilen Wirten und ionischen Gästen in Polymermembranen.^[a]

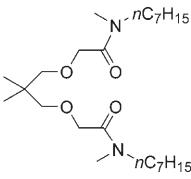
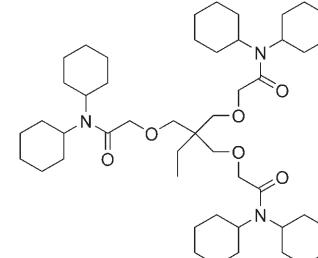
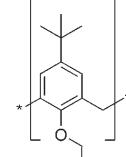
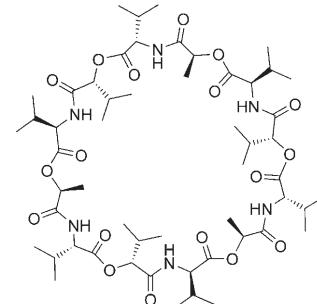
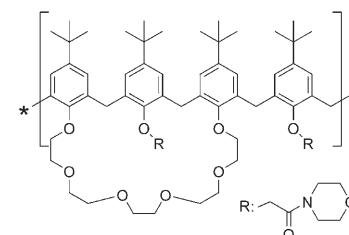
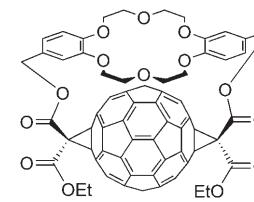
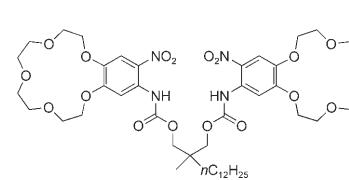
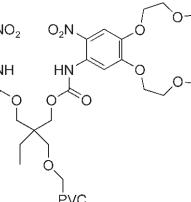
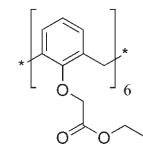
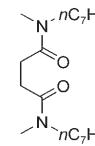
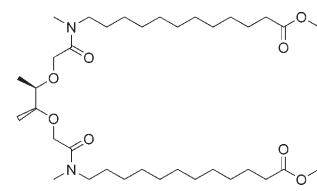
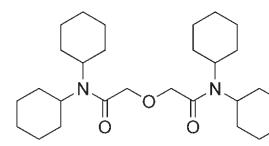
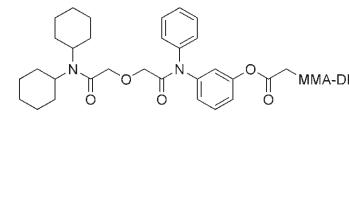
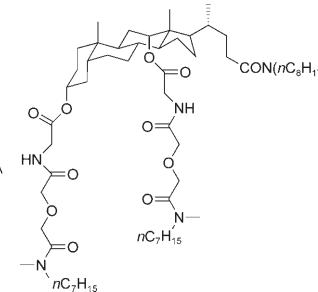
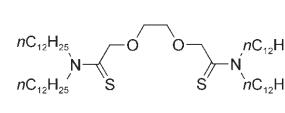
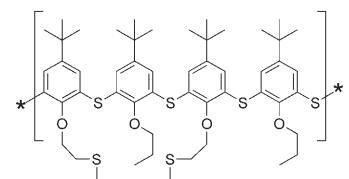
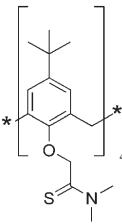
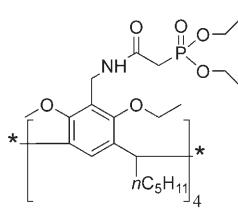
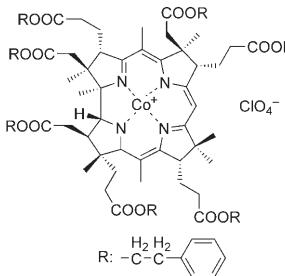
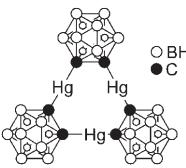
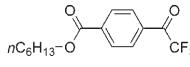
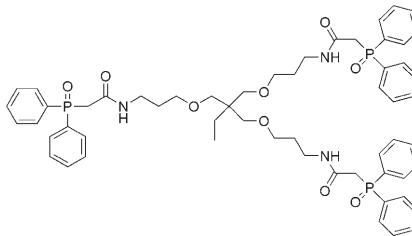
| | | | |
|---|---|---|--|
|  |  |  |  |
| $\text{Li}^+ [2:1] 7.90^{[84]} (\text{DOS})$ $10.71^{[84]} (\text{NPOE})$ | $\text{Li}^+ [1:1] 6.7^{[85]} 7.4^{[85]}, 8.24^{[84]} (\text{DOS})$ $7.40^{[86]} (\text{BBPA})$ $\text{Na}^+ [1:1] 4.5^{[85]} 5.1^{[85]} (\text{DOS})$ $5.75^{[86]} (\text{BBPA})$ $\text{K}^+ [1:1] 3.2^{[85]} 2.8^{[85]} (\text{DOS})$ $4.62^{[86]} (\text{BBPA})$ | $\text{Na}^+ [1:1] 7.69^{[84]} 7.60^{[28]} (\text{DOS})$ $10.27^{[84]} (\text{NPOE})$ | $\text{K}^+ [1:1] 10.10^{[84]} (\text{DOS})$ $11.63^{[84]} (\text{NPOE})$ $\text{Na}^+ [1:1] 4.4^{[29]} (\text{DBP})$ $\text{NH}_4^+ [1:1] 5.7^{[29]} (\text{DBP})$ |
|  |  |  |  |
| $\text{K}^+ [1:1] 8.0^{[87]} (\text{NPOE})$ $\text{Na}^+ [1:1] 7.5^{[87]} (\text{NPOE})$ $\text{Rb}^+ [1:1] 7.3^{[87]} (\text{NPOE})$ | $\text{K}^+ [1:1] 5.4^{[88,89]} (\text{DOS})$ $\text{Li}^+ [1:1] 2.9^{[88,89]} (\text{DOS})$ $\text{Na}^+ [1:1] 4.0^{[88,89]} (\text{DOS})$ $\text{Cs}^+ [1:1] 3.3^{[88,89]} (\text{DOS})$ | $\text{K}^+ [1:1] 7.84^{[84]} 7.75^{[90]} (\text{DOS})$ $10.04^{[84]} (\text{NPOE})$ $\text{Li}^+ [1:1] 4.22^{[28]} (\text{DOS})$ $\text{Na}^+ [1:1] 6.00^{[28]} (\text{DOS})$ | $\text{K}^+ [1:1] 6.50^{[90]} (\text{DOS})$ $\text{Na}^+ [1:1] 4.63^{[90]} (\text{DOS})$ |
|  |  |  |  |
| $\text{Cs}^+ [1:1] 8.74^{[41]} (\text{DOS})$ | $\text{Mg}^{2+} [3:1] 9.72^{[84]} (\text{DOS})$ $13.84^{[84]} (\text{NPOE})$ | $\text{Ca}^{2+} [2:1] 19.70^{[84]} (\text{DOS})$ $24.54^{[84]} 14.0^{[91]} (\text{NPOE})$ | $\text{Ca}^{2+} [3:1] 25.5^{[84]} (\text{DOS})$ $29.2^{[84]} 15.2^{[91]} (\text{NPOE})$ |
|  |  |  |  |
| $\text{Ca}^{2+} [3:1] 16.85^{[92]}$ (in MMA-DMA-Matrix) ^[b] | $\text{Ca}^{2+} [1:1] 8.6^{[91]} (\text{NPOE})$ | $\text{Cd}^{2+} [2:1] 16.4^{[27]} (\text{DOS})$ $\text{K}^+ [1:1] < 3^{[27]} (\text{DOS})$ $\text{Ag}^+ [2:1] 19.0^{[27]} (\text{DOS})$ $\text{Ca}^{2+} [1:1] < 3^{[27]} (\text{DOS})$ $\text{Pb}^{2+} [2:1] 14.7^{[27]} (\text{DOS})$ $\text{Cu}^{2+} [2:1] 14.8^{[27]} (\text{DOS})$ | $\text{Ag}^+ [1:1] 10.85^{[43]} 11.31^{[43]} (\text{NPOE})$ |

Tabelle 2 (Fortsetzung)

| | | |
|---|---|---|
|  |  |  |
| Pb ²⁺ [1:1] 15.9, ^[27] 15.8 ^[93] (DOS); 21.3, ^[93] 18.4 ^[94] (NPOE) | Eu ³⁺ [1:1] 31.0 ^[96] (NPOE) Na ⁺ [1:1] 12.0 ^[96] (NPOE) Ca ²⁺ [1:1] 16.9 ^[96] (NPOE) Sr ²⁺ [1:1] 21.4 ^[96] (NPOE) Cu ²⁺ [1:1] 12.1 ^[27] (DOS) Cd ²⁺ [1:1] 10.0 ^[27] (DOS) | NO ₂ ⁻ [1:1] 10.58 ^[97] (DOS); 10.59 ^[97] (NPOE) |
|  |  |  |
| Cl ⁻ [2:1] 13.4 ^[98] (DOS) (lg K ₁ =9.9, lg K ₂ =3.5) | CO ₃ ²⁻ [4:1] 12.8 ^[29] (DBP) CH ₃ COO ⁻ [2:1] 5.9 ^[29] (DBP) Benzoaat [2:1] 5.3 ^[29] (DBP) Cl ⁻ [2:1] 3.3 ^[29] (DBP) | Eu ³⁺ [1:1] 28.3 ^[95] (NPOE) Na ⁺ [1:1] 8.4 ^[95] (NPOE) Cu ²⁺ [1:1] 19.8 ^[95] (NPOE) Cd ²⁺ [1:1] 19.1 ^[95] (NPOE) Pb ²⁺ [1:1] 17.4 ^[95] (NPOE) UO ₂ ²⁺ [1:1] 21.5 ^[95] (NPOE) |

[a] Die Stöchiometrie der Wirt-Gast-Komplexe ist in eckigen Klammern angegeben. Die PVC-Membranen wurden mit folgenden Weichmachern präpariert: Bis(butylpentyl)adipat (BBPA), Bis(2-ethylhexyl)sebacat (DOS), Dibutylphthalat (DBP), Diethylphthalat (DOP), 2-Nitrophenyloctylether (NPOE). [b] MMA–DMA: Poly(methylmethacrylat)-co-(decylmethacrylat).

kungen eignen sich die potentiometrischen Methoden extrem gut zur Charakterisierung von starken Komplexen. Da sie zudem recht einfach anzuwenden und weniger anspruchsvoll sind als andere Techniken, kann künftig ein breiter, routinemäßiger Einsatz solcher Methoden erwartet werden.

6. Nichtklassische Potentiometrie

Wie oben beschrieben wurde, ist die stromlose Konzentrationspolarisation an der ISE-Membran ein unerwünschter Effekt, der die richtige Charakterisierung der zugrunde liegenden Ionenaustauschselektivitäten stört und für Nachweisgrenzen im Ultraspurenbereich hinderlich ist. Andererseits kann man sich diese stromlosen Ionenflüsse für ein ganze Reihe von Anwendungen nutzbar machen. Die wohl bekanntesten Beispiele sind die auf Polyionen wie Heparin, Protamin und andere hochgeladene Spezies ansprechenden ISEs.^[8] In diesen Fällen kann wegen der hohen ionischen Ladung keine analytisch brauchbare Empfindlichkeit der ISE erhalten werden, da die Steigung der Kalibrierkurve mit der Ladung des Ions linear abnimmt. Brauchbare Polyionensensoren wurden auf der Grundlage des Gegendiffusionspro-

zesses entworfen, bei dem das zu untersuchende Polyion während des Akkumulationsvorgangs an der Membranoberfläche lokal abgereichert wird. Dadurch wird erreicht, dass das Ansprechverhalten der ISE vom Massentransport des Polyions an die Membranoberfläche abhängt, sodass Kurvenanstiege erhalten werden, die deutlich steiler sind als durch die Nernst-Gleichung [Gl. (3)] vorgegeben wird.^[7] Polyionensensoren dieser Art wurden für den klinischen Nachweis von Heparin in unverdünnten Ganzblutproben eingeführt, was die Praxistauglichkeit dieser nichtklassischen Methoden belegt.^[8]

Nichtklassische potentiometrische Methoden können auch in anderen Situationen von Vorteil sein, da die Konzentrationspolarisation auf der Probenseite der Membran mehr Informationen über die Probe liefern kann als die Ionenaktivitäten nach der Nernst-Gleichung. Interessante Beispiele umfassen chemische Alarmsysteme mit einer ungewöhnlich hohen Empfindlichkeit, die zudem ohne Referenzelektrode auskommen,^[75,76] sowie die Aufzeichnung chemischer Titrationen mit starker ausgeprägten Endpunkten als aufgrund der Gleichgewichte zu erwarten wäre.^[77] Kürzlich wurde gezeigt, dass dünne Polymermembranen genutzt werden können, um ISEs von der Rückseite her zu kalibrieren,

ohne die Probe in irgendeiner Weise zu verändern.^[78,79] In diesem Beispiel werden stromlose Ionenflüsse in jede Richtung fast augenblicklich ausgeschaltet, wenn der Konzentrationsgradient zwischen Membran und Innenlösung durch sorgfältige Wahl der Zusammensetzung der Innenlösung auf null gesenkt wird.

In den letzten Jahren hat diese Richtung der ISE-Forschung durch die Einführung der Methode des gesteuerten Stroms, die die instrumentelle Induktion eines Ionenflusses durch die Membran bewirkt, weiter an Bedeutung gewonnen. In einem der ersten Beispiele dieser Technik wurde ein extern angelegter Strom zur Senkung der Nachweisgrenze genutzt.^[80–82] Noch aktuellere Forschungen betreffen die Anwendung größerer Stromdichten in einer Mehrfachpulssequenz; auf diese Weise lassen sich viele der oben erwähnten Sensorsmechanismen vollständig reversibel gestalten, was noch weiter verbesserte Anwendungsmöglichkeiten in der Analytik bietet.^[23,76,83]

7. Zusammenfassung und Ausblick

Das Leistungsvermögen potentiometrischer Sensoren ist in den letzten zehn Jahren drastisch gesteigert worden. Neue Anwendungen schließen die Untersuchung von Wirt-Gast-Gleichgewichten in lipophilen organischen Phasen und die Spurenanalytik in Umweltproben ein. Ein neu entstehendes Gebiet ist die potentiometrische Bioanalyse mit Nanopartikelmarkern oder Nanoporen, die zu einer billigen und hoch empfindlichen Technik führen könnte. Ein weiteres, gerade erst in der Entwicklung befindliches Feld ist das der nichtklassischen Potentiometrie, einschließlich Messungen mit Stromsteuerung.

Die Autoren danken den National Institutes of Health (EB002189 und GM07178), der National Science Foundation und dem Schweizerischen Nationalfonds für finanzielle Unterstützung ihrer Forschungen zu elektrochemischen Sensoren sowie Dr. D. Wegmann für sorgfältiges Lesen des Manuskripts.

Eingegangen am 15. Dezember 2006
Online veröffentlicht am 24. April 2007

- [1] C. C. Young, *J. Chem. Educ.* **1997**, *74*, 177–182.
- [2] W. E. Morf, *The Principles of Ion-Selective Electrodes and of Membrane Transport*, Elsevier, New York, **1981**.
- [3] J. Koryta, K. Stulik, *Ion-Selective Electrodes*, Cambridge University Press, Cambridge, **1983**.
- [4] R. P. Buck, E. Lindner, *Anal. Chem.* **2001**, *73*, 88A–97A.
- [5] E. Bakker, P. Bühlmann, E. Pretsch, *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 3083–3132.
- [6] S. C. Ma, M. E. Meyerhoff, V. C. Yang, *Anal. Chem.* **1992**, *64*, 694–697.
- [7] B. Fu, E. Bakker, J. H. Yun, V. C. Yang, M. E. Meyerhoff, *Anal. Chem.* **1994**, *66*, 2250–2259.
- [8] M. E. Meyerhoff, B. Fu, E. Bakker, J. H. Yun, V. C. Yang, *Anal. Chem.* **1996**, *68*, 168A–175A.
- [9] E. Bakker, M. E. Meyerhoff, *Anal. Chim. Acta* **2000**, *416*, 121–137.
- [10] W. E. Morf, K. Seiler, B. Rusterholz, W. Simon, *Anal. Chem.* **1990**, *62*, 738–742.
- [11] M. Lerchi, E. Bakker, B. Rusterholz, W. Simon, *Anal. Chem.* **1992**, *64*, 1534–1540.
- [12] P. Bühlmann, E. Pretsch, E. Bakker, *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 1593–1687.
- [13] S. Mathison, E. Bakker, *Anal. Chem.* **1998**, *70*, 303–309.
- [14] T. Sokalski, A. Ceresa, T. Zwickl, E. Pretsch, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 11347–11348.
- [15] T. Sokalski, T. Zwickl, E. Bakker, E. Pretsch, *Anal. Chem.* **1999**, *71*, 1204–1209.
- [16] W. E. Morf, M. Badertscher, T. Zwickl, N. F. de Rooij, E. Pretsch, *J. Phys. Chem. B* **1999**, *103*, 11346–11356.
- [17] E. Bakker, E. Pretsch, *Anal. Chem.* **2002**, *74*, 420A–426A.
- [18] E. Bakker, E. Pretsch, *TrAC Trends Anal. Chem.* **2005**, *24*, 199–207.
- [19] A. Cadogan, Z. Gao, A. Lewenstam, A. Ivaska, D. Diamond, *Anal. Chem.* **1992**, *64*, 2496–2501.
- [20] A. Malon, T. Vigassy, E. Bakker, E. Pretsch, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 8154–8155.
- [21] N. Rubinova, K. Chumbimuni-Torres, E. Bakker, *Sens. Actuators B*, im Druck.
- [22] K. Y. Chumbimuni-Torres, D. Zong, N. Rubinova, Y. Xiang, E. Pretsch, J. Wang, E. Bakker, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 13676–13677.
- [23] A. Shvarev, E. Bakker, *Anal. Chem.* **2003**, *75*, 4541–4550.
- [24] E. Bakker, *Anal. Chem.* **1997**, *69*, 1061–1069.
- [25] E. Bakker, E. Pretsch, P. Bühlmann, *Anal. Chem.* **2000**, *72*, 1127–1133.
- [26] E. Bakker, E. Pretsch, *Anal. Chem.* **1998**, *70*, 295–302.
- [27] A. Ceresa, E. Pretsch, *Anal. Chim. Acta* **1999**, *395*, 41–52.
- [28] Y. Mi, E. Bakker, *Anal. Chem.* **1999**, *71*, 5279–5287.
- [29] M. M. Shultz, O. K. Stefanova, S. B. Mokrov, K. N. Mikhelson, *Anal. Chem.* **2002**, *74*, 510–517.
- [30] A. Ceresa, A. Radu, S. Peper, E. Bakker, E. Pretsch, *Anal. Chem.* **2002**, *74*, 4027–4036.
- [31] E. Bakker, P. Bühlmann, E. Pretsch, *Talanta* **2004**, *63*, 3–20.
- [32] E. Bakker, R. K. Meruva, E. Pretsch, M. E. Meyerhoff, *Anal. Chem.* **1994**, *66*, 3021–3030.
- [33] M. Nägele, E. Bakker, E. Pretsch, *Anal. Chem.* **1999**, *71*, 1041–1048.
- [34] U. Schefer, D. Ammann, E. Pretsch, U. Oesch, W. Simon, *Anal. Chem.* **1986**, *58*, 2282–2285.
- [35] T. Sokalski, M. Maj-Zurawska, A. Hulanicki, *Mikrochim. Acta* **1991**, *103*, 285–291.
- [36] T. Sokalski, A. Ceresa, M. Fibbioli, T. Zwickl, E. Bakker, E. Pretsch, *Anal. Chem.* **1999**, *71*, 1210–1214.
- [37] G. G. Guilbault, R. A. Durst, M. S. Frant, H. Freiser, E. H. Hansen, T. S. Light, E. Pungor, G. Rechnitz, N. M. Rice, T. J. Rohm, W. Simon, J. D. R. Thomas, *Pure Appl. Chem.* **1976**, *48*, 127–132.
- [38] R. P. Buck, E. Lindner, *Pure Appl. Chem.* **1993**, *66*, 2527–2536.
- [39] T. Vigassy, C. G. Huber, R. Wintringer, E. Pretsch, *Anal. Chem.* **2005**, *77*, 3966–3970.
- [40] W. Qin, T. Zwickl, E. Pretsch, *Anal. Chem.* **2000**, *72*, 3236–3240.
- [41] A. Radu, S. Peper, C. Gonczy, W. Runde, D. Diamond, *Electroanalysis* **2006**, *18*, 1379–1388.
- [42] I. Bedlechowicz, M. Maj-Zurawska, T. Sokalski, A. Hulanicki, *J. Electroanal. Chem.* **2002**, *537*, 111–118.
- [43] Z. Szigeti, A. Malon, T. Vigassy, V. Csokai, A. Grün, K. Wygladacz, N. Ye, C. Xu, V. J. Chebny, I. Bitter, R. Rathore, E. Bakker, E. Pretsch, *Anal. Chim. Acta* **2006**, *572*, 1–10.
- [44] T. Vigassy, R. E. Gyurcsányi, E. Pretsch, *Electroanalysis* **2003**, *15*, 1270–1275.
- [45] A. C. Ion, E. Bakker, E. Pretsch, *Anal. Chim. Acta* **2001**, *440*, 71–79; A. C. Ion, E. Bakker, E. Pretsch, *Anal. Chim. Acta* **2002**, *452*, 329.

- [46] S. Plaza, Z. Szigeti, M. Geisler, E. Martinoia, E. Pretsch, *Anal. Biochem.* **2005**, *347*, 10–16.
- [47] Z. Szigeti, I. Bitter, K. Tóth, C. Latkoczy, D. J. Fliegel, D. Günther, E. Pretsch, *Anal. Chim. Acta* **2005**, *532*, 129–136.
- [48] A. Malon, A. Radu, W. Qin, Y. Qin, A. Ceresa, M. Maj-Zurawska, E. Bakker, E. Pretsch, *Anal. Chem.* **2003**, *75*, 3865–3871.
- [49] L. A. Currie, *Pure Appl. Chem.* **1995**, *67*, 1699–1723.
- [50] R. E. Gyurcsányi, E. Pergel, R. Nagy, I. Kapui, B. T. T. Lan, K. Tóth, I. Bitter, E. Lindner, *Anal. Chem.* **2001**, *73*, 2104–2111.
- [51] Z. Szigeti, T. Vigassy, E. Bakker, E. Pretsch, *Electroanalysis* **2006**, *18*, 1254–1265.
- [52] R. C. Thomas, W. Simon, M. Oehme, *Nature* **1975**, *258*, 754–756.
- [53] J. H. Shim, J. Kim, G. S. Cha, H. Nam, R. J. White, H. S. White, R. B. Brown, *Anal. Chem.*, im Druck.
- [54] R. W. Cattrall, H. Freiser, *Anal. Chem.* **1971**, *43*, 1905–1906.
- [55] D. Liu, R. K. Meruva, R. B. Brown, M. E. Meyerhoff, *Anal. Chim. Acta* **1996**, *321*, 173–183.
- [56] P. C. Hauser, D. W. L. Chiang, G. A. Wright, *Anal. Chim. Acta* **1995**, *302*, 241–248.
- [57] M. Fibbioli, W. E. Morf, M. Badertscher, N. F. de Rooij, E. Pretsch, *Electroanalysis* **2000**, *12*, 1286–1292.
- [58] M. Fibbioli, K. Bandyopadhyay, S.-G. Liu, L. Echegoyen, O. Enger, F. Diederich, P. Bühlmann, E. Pretsch, *Chem. Commun.* **2000**, 339–340.
- [59] M. Fibbioli, K. Bandyopadhyay, S.-G. Liu, L. Echegoyen, O. Enger, F. Diederich, D. Gingery, P. Bühlmann, H. Persson, U. W. Suter, E. Pretsch, *Chem. Mater.* **2002**, *14*, 1721–1729.
- [60] E. Grygolowicz-Pawlak, K. Wygladacz, S. Sek, R. Bilewicz, Z. Brzozka, E. Malinowska, *Sens. Actuators B* **2005**, *111–112*, 310–316.
- [61] J. Bobacka, *Electroanalysis* **2006**, *18*, 7–18.
- [62] A. Michalska, A. Konopka, M. Maj-Zurawska, *Anal. Chem.* **2003**, *75*, 141–144.
- [63] A. Michalska, C. Appaih-Kusi, L. Y. Heng, S. Walkiewicz, E. A. H. Hall, *Anal. Chem.* **2004**, *76*, 2031–2039.
- [64] J. Sutter, E. Lindner, R. E. Gyurcsányi, E. Pretsch, *Anal. Bioanal. Chem.* **2004**, *380*, 7–14.
- [65] J. Sutter, A. Radu, S. Peper, E. Bakker, E. Pretsch, *Anal. Chim. Acta* **2004**, *523*, 53–59.
- [66] L. Sundfors, R. Bereczki, J. Bobacka, K. Tóth, A. Ivaska, R. E. Gyurcsányi, *Electroanalysis* **2006**, *18*, 1372–1378.
- [67] K. Y. Chumbimuni-Torres, N. Rubinova, A. Radu, L. T. Kubota, E. Bakker, *Anal. Chem.* **2006**, *78*, 1318–1322.
- [68] L. Y. Heng, E. A. H. Hall, *Anal. Chem.* **2000**, *72*, 42–51.
- [69] S. Peper, I. Tsagkatakis, E. Bakker, *Anal. Chim. Acta* **2001**, *442*, 25–33.
- [70] L. Y. Heng, K. Tóth, E. A. H. Hall, *Talanta* **2004**, *63*, 73–87.
- [71] A. Ceresa, E. Bakker, B. Hattendorf, D. Günther, E. Pretsch, *Anal. Chem.* **2001**, *73*, 343–351.
- [72] V. I. Slaveykova, K. J. Wilkinson, A. Ceresa, E. Pretsch, *Environ. Sci. Technol.* **2003**, *37*, 1114–1121.
- [73] R. E. Gyurcsányi, T. Vigassy, E. Pretsch, *Chem. Commun.* **2003**, 2560–2561.
- [74] Y. Qin, E. Bakker, *Anal. Chem.* **2001**, *73*, 4262–4267.
- [75] T. Vigassy, W. E. Morf, M. Badertscher, A. Ceresa, N. F. de Rooij, E. Pretsch, *Sens. Actuators B* **2001**, *76*, 477–482.
- [76] S. Makarychev-Mikhailov, A. Shvarev, E. Bakker, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 10548–10549.
- [77] S. Peper, A. Ceresa, E. Bakker, E. Pretsch, *Anal. Chem.* **2001**, *73*, 3768–3775.
- [78] K. Tompa, K. Birbaum, A. Malon, T. Vigassy, E. Bakker, E. Pretsch, *Anal. Chem.* **2005**, *77*, 7801–7809.
- [79] A. Malon, E. Bakker, E. Pretsch, *Anal. Chem.* **2007**, *79*, 632–638.
- [80] E. Pergel, R. E. Gyurcsányi, K. Tóth, E. Lindner, *Anal. Chem.* **2001**, *73*, 4249–4253.
- [81] E. Lindner, R. E. Gyurcsányi, R. P. Buck, *Electroanalysis* **1999**, *11*, 695–702.
- [82] W. E. Morf, M. Badertscher, T. Zwickl, N. F. de Rooij, E. Pretsch, *J. Electroanal. Chem.* **2002**, *526*, 19–28.
- [83] A. Shvarev, E. Bakker, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 11192–11193.
- [84] Y. Qin, Y. Mi, E. Bakker, *Anal. Chim. Acta* **2000**, *421*, 207–220.
- [85] M. Bochencka, I. Korczagin, *Polish J. Chem.* **2002**, *76*, 601–606.
- [86] K. N. Mikhelson, J. Bobacka, A. Ivaska, A. Lewenstein, M. Bochencka, *Anal. Chem.* **2002**, *74*, 518–527.
- [87] M. Bochencka, A. Zielinska, R. Pomecko, V. Hubscher-Bruder, F. Arnaud-Neu, *J. Inclusion Phenom. Macrocyclic Chem.* **2005**, *52*, 129–134.
- [88] J.-P. Bourgeois, L. Echegoyen, M. Fibbioli, E. Pretsch, F. Diederich, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 2203–2207; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 2118–2121.
- [89] J.-P. Bourgeois, P. Seiler, M. Fibbioli, E. Pretsch, F. Diederich, L. Echegoyen, *Helv. Chim. Acta* **1999**, *82*, 1572–1595.
- [90] R. Bereczki, R. E. Gyurcsányi, B. Agai, K. Tóth, *Analyst* **2005**, *130*, 63–70.
- [91] M. H. Lee, C. L. Yoo, J. S. Lee, I.-S. Cho, B. H. Kim, G. S. Cha, H. Nam, *Anal. Chem.* **2002**, *74*, 2603–2607.
- [92] Y. Qin, S. Peper, A. Radu, A. Ceresa, E. Bakker, *Anal. Chem.* **2003**, *75*, 3038–3045.
- [93] M. Telting-Diaz, E. Bakker, *Anal. Chem.* **2001**, *73*, 5582–5589.
- [94] M. Püntener, T. Vigassy, E. Baier, A. Ceresa, E. Pretsch, *Anal. Chim. Acta* **2004**, *503*, 187–194.
- [95] M. M. Reinoso-Garcia, D. Janczewski, D. N. Reinhoudt, W. Verboom, E. Malinowska, M. Pietrzak, C. Hill, J. Báca, B. Grüner, P. Selucky, C. Grütter, *New J. Chem.* **2006**, *30*, 1480–1492.
- [96] E. Malinowska, L. Górska, D. Wojciechowska, M. M. Reinoso-Garcia, W. Verboom, D. N. Reinhoudt, *New J. Chem.* **2003**, *27*, 1440–1445.
- [97] Y. Qin, E. Bakker, *Talanta* **2002**, *58*, 909–918.
- [98] A. Ceresa, Y. Qin, S. Peper, E. Bakker, *Anal. Chem.* **2003**, *75*, 133–140.