

RZECZPOSPOLITA  
POLSKA



Urząd Patentowy  
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY** (19) **PL** (11) **236580**

(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **415437**

(51) Int.Cl.  
**G01N 21/75 (2006.01)**  
**G01N 21/76 (2006.01)**

(22) Data zgłoszenia: **21.12.2015**

(54)

**Przepływowy detektor chemiluminescencyjny**

(43) Zgłoszenie ogłoszono:

**03.07.2017 BUP 14/17**

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:

**25.01.2021 WUP 02/21**

(73) Uprawniony z patentu:

**UNIwersytet WARMIŃSKO-MAZURSKI  
W OLSZTYNIE, Olsztyn, PL**

(72) Twórca(y) wynalazku:

**SŁAWOMIR KALINOWSKI, Olsztyn, PL**  
**STANISŁAWA KORONKIEWICZ, Bukwałd, PL**

(74) Pełnomocnik:

**rzecz. pat. Izabella Raniszewska**

**PL 236580 B1**

## Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest przepływowy detektor chemiluminescencyjny z bezpośrednim wstrzykiem, przeznaczony do analiz chemicznych w przepływie z wykorzystaniem mikropomp pulsowych.

Metodom analitycznym wykorzystywanym we współczesnych laboratoriach stawia się coraz wyższe wymagania. Dąży się do pełnej automatyzacji pomiarów, skrócenia czasu trwania analiz oraz zmniejszenia zużycia odczynników, przy zachowaniu wysokiej precyzji i dokładności oznaczeń. Wymaganiom tym są w stanie sprostać różnego typu metody przepływowe. Najbardziej popularną i zarazem najstarszą z nich jest analiza przepływowo-wstrzykowa (ang. flow injection analysis, FIA). Przepływ cieczy w układzie odbywa się w sposób ciągły i wymuszony jest za pomocą jednej lub wielu pomp perystaltycznych. Wprowadzanie roztworu próbki i reagentów do strumienia nośnego, odbywa się za pomocą zaworu wstrzykowego, który obsługiwany jest w sposób manualny przez analityka. Nie są to w związku z tym układy w pełni zautomatyzowane, a także występuje dość duże zużycie odczynników. Jako roztwór nośny najczęściej wykorzystywany jest najtańszy reagent lub woda.

Zmniejszenie ilości zużywanych odczynników i większą automatyzację analizy uzyskuje się stosując w układach przepływowych elementy elektrycznie sterowane i komputerowo programowane. Są to np. zawory elektromagnetyczne, które są stosowane w multikomutacyjnej analizie przepływowej (ang. multicommutation flow analysis, MCFA). W metodzie tej jednak w dalszym ciągu wymagane jest stosowanie pompy perystaltycznej, która jest najdroższym, największym i najbardziej energochłonnym elementem całego systemu przepływowego. Pompa perystaltyczna może być zastąpiona przez elektromagnetyczne mikropompy pulsowe. Charakteryzują się one wysoką precyzją i dokładnością dozowania, jak również mniejszymi rozmiarami, co umożliwia miniaturyzację systemów przepływowych. Istotne jest też niewielkie zużycie energii elektrycznej. Układy przepływowe bazujące na zastosowaniu mikropomp pulsowych nazywa się w skrócie MPFS (ang. multi pumping flow system). Pracę zarówno pomp pulsowych, jak zaworów elektromagnetycznych można dowolnie zaprogramować. Można ograniczyć ilość wprowadzanych do systemu odczynników, gdyż nie jest konieczny stały przepływ cieczy. Zużycie odczynników w tego typu układach zmniejsza się najczęściej do kilkudziesięciu mikrolitrów.

Metody przepływowe łączy się z odpowiednimi metodami detekcji. Dużym zainteresowaniem cieszy się metoda wykorzystująca zjawisko chemiluminescencji. Zjawisko to polega na emisji światła towarzyszącej reakcjom pewnych związków chemicznych. Zaletą detekcji chemiluminescencyjnej jest bardzo niska granica wykrywalności i szeroki zakres liniowości wykresów kalibracyjnych. Adaptacja detekcji chemiluminescencyjnej do układów przepływowych jest stosunkowo prosta technicznie, nie wymaga skomplikowanej aparatury. Typowe detektory chemiluminescencyjne stosowane w analizie przepływowej zbudowane są z komory przepływowej w postaci spiralnie zwiniętej rurki teflonowej, kwarcowej lub szklanej, umieszczonej przed okienkiem fotopowielacza. Zamiast teflonowej rurki stosuje się też krążki z tworzywa sztucznego, w których wydrążone są kanały o odpowiedniej geometrii. Najczęściej reagenty biorące udział w reakcji chemiluminescencyjnej spotykają się i mieszają w pewnym oddalonym od detektora punkcie. Do komory przepływowej detektora trafiają z opóźnieniem. Jest to niekorzystne, szczególnie w przypadku reakcji chemiluminescencyjnych o szybkiej kinetyce.

Zarówno próbka jak i odczynniki wprowadzane mogą być bezpośrednio do komory przepływowej detektora, która pełni wówczas rolę komory reakcyjno-detekcyjnej. Konstrukcja detektora chemiluminescencyjnego z bezpośrednim wstrzykiem przedstawiona została w patencie nr 214073. Układ ma detektor, w którego korpusie umieszczona jest komora reakcyjna zamknięta od strony fotopowielacza ścianką przepuszczającą światło, przy czym komora reakcyjna ma kształt lejka a jej objętość jest większa od łącznej objętości wstrzykiwanej próbki i reagentów a do detektora doprowadzone są naprzeciwko siebie kanały wstrzyknięcia próbki i reagenta oraz kanały roztworu nośnego i kanał odprowadzający ciecz, umieszczone w osi detektora. Kanały wprowadzające ciecze połączone są poprzez pompy pulsowe z naczyniami z próbką i odczynnikami a kanał odprowadzający połączony jest z naczyniem do ścieków.

Według wynalazku przepływowy detektor chemiluminescencyjny przeznaczony jest do współpracy z pompami pulsowymi charakteryzuje się tym, że w korpusie detektora znajduje się komora reakcyjno-detekcyjna zamknięta okienkiem przepuszczającym światło do fotopowielacza, a w jednym końcu komory detekcyjno-reakcyjnej znajduje się wlot roztworu nośnego z pompy pulsowej oraz co najmniej dwa wloty z pomp pulsowych analizowanej próbki i reagentów, a na drugim końcu komory detekcyjno-reakcyjnej znajduje się wylot cieczy. Objętość komory detekcyjno-reakcyjnej jest większa niż łączna objętość wstrzykiwanej próbki i reagentów w jednym cyklu pomiarowym.

W przedstawionym rozwiązaniu mieszanie próbki z reagentami następuje w ciągu ułamka sekundy, bezpośrednio w komorze detektora. Możliwe jest dzięki temu rejestrowanie sygnałów pochodzących od bardzo szybkich reakcji chemiluminescencyjnych, których emisja zanika w bardzo krótkim czasie. Daje to możliwość kilkudziesięciokrotnego skrócenia czasu wykonania analizy w porównaniu z innymi metodami przepływowymi z detekcją chemiluminescencyjną.

Zastosowanie detektora według wynalazku powoduje znaczne zmniejszenie ilości zużytych odczynników, rzędu ułamka mililitra na jedną próbkę. W metodach wcześniej opisanych są ilości rzędu mililitrów roztworów odczynników na jedną próbkę.

Detektor według wynalazku jest znacznie tańszy w porównaniu z wcześniej stosowanymi, gdzie wykorzystywane są pompy perystaltyczne czy strzykawkowe. Znacznie mniejsza liczba elementów wymagających obsługi operatora sprawia, że urządzenie to jest bardziej niezawodne i tańsze w eksploatacji.

Przedmiot wynalazku zostanie przedstawiony w przykładzie wykonania na rysunku gdzie na Fig. 1 pokazane jest urządzenie w schemacie ogólnym a na Fig.2 przykładowy zestaw do oznaczania jonów kobaltu(II).

#### Przykład 1

Detektor chemiluminescencyjny ma w korpusie 1 detektora komorę 2 reakcyjno-detekcyjną, zamkniętą okienkiem 3 przepuszczającym światło do fotopowielacza 4, w jednym końcu komory reakcyjno-detekcyjnej znajduje się wlot 5 roztworu nośnego z pompy pulsowej 6 oraz co najmniej dwa wloty 7 i 8 z pomp pulsowych 9 i 10 dla analizowanej próbki i reagentów, a na drugim końcu komory reakcyjno-detekcyjnej znajduje się wylot 11 cieczy. Korzystne jest umieszczenie na końcu komory 2 lustro 12, które zwiększa ilość światła kierowanego w stronę fotopowielacza 4.

W komorze 2 reakcyjno-detekcyjnej zachodzi mieszanie reagentów z próbką, a światło generowane w wyniku reakcji chemicznej przedostaje się przez okienko 3 do fotopowielacza 4. Na jednym końcu komory znajduje się wlot 5 roztworu nośnego, a na drugim końcu wylot 11 mieszaniny poreakcyjnej. W pobliżu wlotu 5 roztworu nośnego znajdują się też wloty 7 i 8 próbki i reagentów, tak ustawione, aby wprowadzane ciecze mieszały się w przeciwnym kierunku. Roztwór nośny, reagenty i próbka wstrzykiwane są do detektora za pomocą pomp pulsowych 9 i 10. Łączna ilość wstrzykiwanych reagentów i próbki podczas pojedynczej analizy powinna być mniejsza od objętości komory reakcyjno-detekcyjnej tak, aby świecące produkty reakcji w całości pozostawały w komorze.

#### Przykład 2

Zestaw pokazany na Fig. 2 przeznaczony jest do oznaczania kobaltu (II). Wykorzystywana jest reakcja katalitycznego utleniania luminolu, w wyniku której generowane jest światło. Katalizatorem w tej reakcji są jony kobaltu (II), a ilość generowanego światła zależna jest od stężenia katalizatora.

Korpus detektora 1 wykonany jest z teflonu, w którym wywiercona jest komora 2 reakcyjno-detekcyjna o średnicy 2 mm i długości 25 mm. Na jednym końcu komory znajduje się szklane okienko 3, przez które światło doprowadzone jest do fotopowielacza 4, a na drugim znajduje się aluminiowe lustro 12. W odległości 3 mm od końca komory 2 znajdują się trzy wloty, którymi wstrzykiwana jest próbka 13 za pomocą pompy 8 i dwa reagenty 14 i 15 za pomocą pomp 10 i 16. Objętość komory wynosi około 80  $\mu\text{l}$ . Umożliwia to wstrzyknięcie do komory próbki i dwóch reagentów o objętości po 20  $\mu\text{l}$ . Roztwory po wstrzyknięciu w całości pozostają w komorze 2 podczas rejestracji sygnału analitycznego, do chwili, gdy mieszanina reakcyjna jest usuwana z komory poprzez wstrzykiwanie kilku porcji roztworu nośnego 17 po 50  $\mu\text{l}$ .

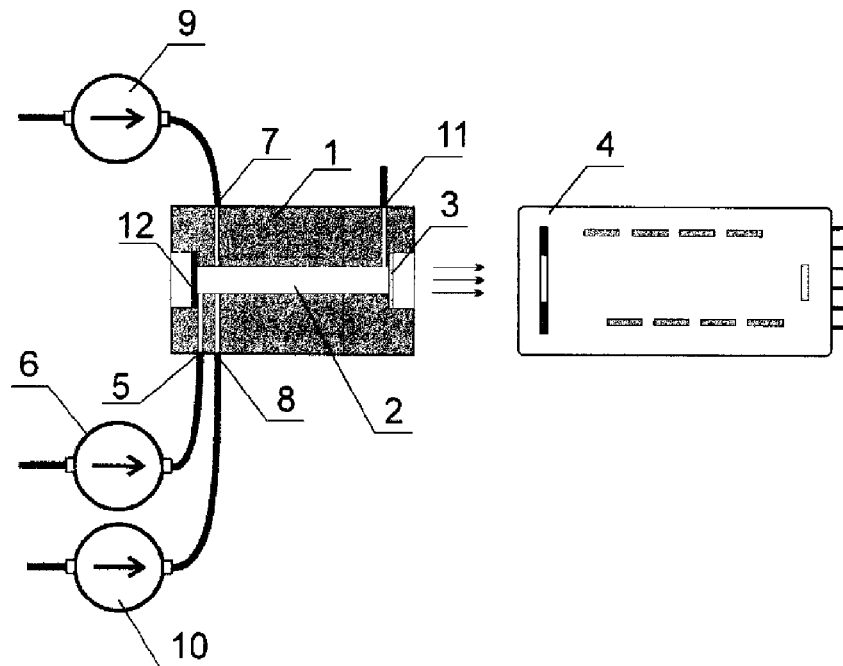
W podanym przykładzie jako roztwór nośny 17 jest stosowany bufor węglanowy pH = 10, roztwór reagenta pierwszego 14  $\text{H}_2\text{O}_2$  o stężeniu  $10^{-2} \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ , roztwór reagenta drugiego 15 luminol  $10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  w buforze węglanowym, pH = 10. Roztwór po reakcji usuwany jest wylotem 11 do ścieków 18.

## Zastrzeżenia patentowe

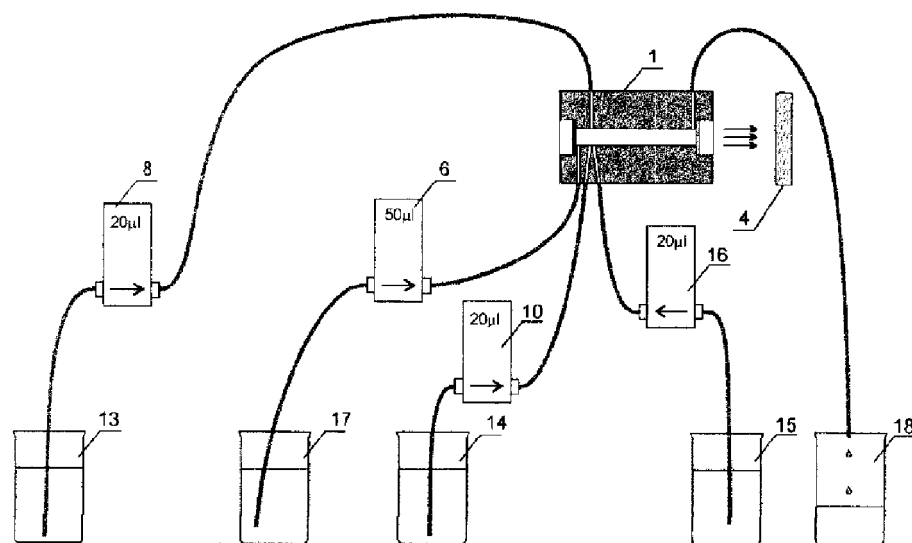
1. Detektor chemiluminescencyjny, **znamienny tym**, że w korpusie detektora (1) znajduje się komora (2) detekcyjno-reakcyjna zamknięta okienkiem (3) przepuszczającym światło do fotopowielacza (4), a w jednym końcu komory (2) detekcyjno-reakcyjnej znajduje się wlot (5) roztworu nośnego z pompy pulsowej (6) oraz co najmniej dwa wloty (7) i (8) z pomp pulsowych (9) i (10) dla analizowanej próbki i reagentów, a na drugim końcu komory (2) detekcyjno-reakcyjnej znajduje się wylot (11) cieczy.

2. Detektor chemiluminescencyjny, **znamienny tym**, że na końcu komory (2) umieszczone jest lustro (12).
3. Detektor chemiluminescencyjny według zastrz. 1, **znamienny tym**, że objętość komory reakcyjno-detekcyjnej (2) jest większa niż łączna objętość wstrzykiwanej próbki i reagentów w jednym cyklu pomiarowym.

### Rysunki



**Fig.1**



**Fig.2**