



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

201713
(11) (B1)

(51) Int. Cl.³
G 01 N 21/00 ✓

(22) Přihlášeno 16 06 78
(21) (PV 3990-78)

(40) Zveřejněno 31 03 80

(45) Vydáno 15 08 82

(75)
Autor vynálezu

LASOVSKÝ JAN RNDr. CSc., PROSTĚJOV a GRAMBAL FRANTIŠEK
ing., OLOMOUC

(54) Přípravek ke zvýšení intenzity chemiluminiscenčního záření

Vynález se týká přípravku ke zvýšení chemiluminiscenčního záření v roztocích chemiluminiscenčních látek, zejména v alkalickém roztoku luminolu a peroxidu vodíku, za přítomnosti katalyzátoru reakce.

Mnohé reakce produkují registrovatelné záření, které je v reprodukovatelném vztahu ke koncentracím složek reakce, popřípadě katalyzátorů. Chemiluminiscenční reakce dovo-lují poměrně snadné a často extrémně citlivé stanovení například stop kovových iontů, organických sloučenin fosforu, hexos, peroxidu vodíku, chloru, chlornanů, fenolů, aromatických aminů, cholesterolu a podobně. Obvykle se chemiluminiscenční reakce projeví zářením ve viditelné, nebo ultrafialové části spektra, které během krátké doby dosáhne maxima intenzity záření I_m a poměrně rychle odeznívá. Vyhodnocení obsahu stanovené látky se provádí pomocí kalibračních grafů, ve kterých se nejčastěji používá hodnot I_{max} , nebo celkové intenzity měřené během několika minut (viz Babko A. K., Dubověnko L. I., Lukovskaja N. M.: Chemiluminescentnyj analiz, Ki-jev 1966). Někdy se původní záření produkované reakcí převádí přidávkou fluorescenční látky na její záření fluorescenční (viz Erdey L., Pickering W. F., Wilson C. L.: Talanta 9, 371 (1962) resp. Kloskow D., Teckentrug J.: Talanta 23, 889 (1976).

Fluorescenční látka působí v roztoku jako akceptor energie. V případě, že by všechny excitované molekuly donoru předaly svoji energii akceptorům, bylo by zvýšení intenzity emitovaného záření významné. Nedostatkem je, že v kapalně fázi závisí přenos energie mezi donorem a akceptorem na mnoha faktorech, které snižují účinnost přenosu a celkový efekt není příliš výrazný.

Uvedené nedostatky odstraňuje vynález, jehož předmětem je přípravek ke zvýšení intenzity chemiluminiscenčního záření při reakcích v roztocích chemiluminiscenčních látek, zejména v alkalickém roztoku a peroxidu vodíku za přítomnosti katalyzátoru reakce.

Podstatou vynálezu je, že přípravek obsahuje kationoidní tensid, výhodně cetyltrimethylamoniumbromid v koncentraci od $3,6 \cdot 10^{-3}M$ do $10^{-2}M$ a fluoreskující látku, výhodně fluorescein v koncentraci od $7 \cdot 10^{-5}M$ do $1,8 \cdot 10^{-4}M$.

Roztoky kationoidních tensidů při koncentracích větších než je kritická micelární koncentrace poskytují tzv. micelární útvary, micelly. Velmi zjednodušeně je možné tento útvar chápat jako kulově symetrický shluk mnoha molekul tensidu, které jsou ve vodných roztocích orientovány hydrofobní částí do nitra klubka a iontovou, polární, částí na-

povrch. Díky hydrofobní a iontové interakci se donory a akceptory energie v micellárním prostředí mohou dostat do bezprostřední blízkosti. V takovém uspořádanějším systému je přenos energie mnohem účinnější, s větším ziskem emitovaného záření.

Například maximální intenzita záření oxidace luminolu v koncentraci $7,28 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ v alkalickém prostředí při pH 12,76 peroxidem vodíku v koncentraci $7,65 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ za katalýzy měďnatými ionty v koncentraci $1,8 \cdot 10^{-5} \text{ M}$ je v prostředí cetyltrimethylamoniumbromidu o koncentraci $5,8 \cdot 10^{-3} \text{ M}$ a fluoresceinu o koncentraci $7,28 \cdot 10^{-5} \text{ M}$ 21krát vyšší, než maximální intenzita záření poskytovaná stejnou reakcí za stejných podmínek, ale bez přídavku cetyltrimethylamoniumbromidu a fluoresceinu. Celková intenzita záření během 1 minuty je po přídavku cetyltrimethylamoniumbromidu a fluoresceinu vyšší 15 krát. Přítomnost jen tenzidu, nebo pouze fluoresceinu nemá prakticky žádný vliv na intenzitu záření.

Vynález je blíže objasněn v následujících příkladech.

Příklad 1

10^{-2} M roztok luminolu v 1 M hydroxidu sodném, čerstvý roztok

10^{-3} M roztok fluoresceinu

10^{-2} M roztok cetyltrimethylamoniumbromidu

0,03 % roztok peroxidu vodíku, čerstvý roztok

10^{-4} M roztok síranu měďnatého, standardní roztok

4 ml zásobního roztoku, který se připraví smícháním 10 ml 10^{-2} M luminolu v 1 M hydroxidu sodného, 10 ml 10^{-3} M fluoresceinu a 80 ml 10^{-2} M cetyltrimethylamoniumbromidu se umístí v kyvetě spektrálního fotometru. Přidá se vzorek s obsahem 0,33 až 6,6 μg mědi a objem se v kyvetě doplní do 5 ml. Po nástřiku 0,5 ml 0,03 % peroxidu vodíku se odečte maximální výchylka galvanoměru. Pomocí kalibračního grafu je možné spolehlivě stanovit 0,06 až

1,2 ppm Cu. Relativní šíře intervalu spolehlivosti $T = 2 \cdot K_n \cdot R \cdot 100/x^+$ má pro 6 paralelních stanovení (95ti % pravděpodobnostní úroveň, obsah mědi 0,58 $\mu\text{g/ml}$) hodnotu 17 %. Maximální výchylky galvanoměru I_{max} jsou 5 až 24 krát větší než výchylky měřené za stejných podmínek bez použití cetyltrimethylamoniumbromidu a fluoresceinu.

Příklad 2

10^{-2} M roztok luminolu v 1 M hydroxidu sodném, čerstvý roztok

10^{-3} M roztok fluoresceinu

10^{-2} M roztok cetyltrimethylamoniumbromidu

0,03 % roztok peroxidu vodíku, čerstvý roztok

10^{-6} M roztok chloridu kobaltnatého

4 ml zásobního roztoku se umístí v kyvetě upraveného spektrálního fotometru. Přidá se vzorek, který obsahuje 0,0033 až 0,066 μg kobaltu a objem se doplní do 5 ml. Po nástřiku 0,5 ml 0,03 % H_2O_2 se odečte maximální výchylka galvanoměru. Obsah kobaltu se zjistí z kalibračního grafu. Popsaný postup dovoluje spolehlivě stanovit 0,6 až 12 ppb kobaltu. Relativní šíře intervalu spolehlivosti T má pro 6 paralelních stanovení 95ti % pravděpodobnostní úroveň, obsah Co 0,0054 $\mu\text{g/ml}$ hodnotu 7 %. Přítomnost kationoidního tenzidu a fluoresceinu zvýší hodnotu I_{max} 5,5 krát.

Záření oxidační reakce, zesílené přídavkem cetyltrimethylamoniumbromidu a fluoresceinu, je nejen intenzivnější, ale i déle přetrvává, což je výhodné pro použití tohoto systému — luminol peroxid vodíku, cetyltrimethylamoniumbromid, fluorescein, kobaltnaté ionty, respektive měďnaté ionty jako acidobazického indikátoru. Optimální koncentrace cetyltrimethylamoniumbromidu a fluoresceinu jsou $4 \cdot 10^{-3} \text{ M}$, respektive 10^{-4} M . Namísto fluoresceinu je možné použít i jiných látek s význačnou fluorescencí. Jejich účinek je však podstatně menší například 2-naftol-3,6-disulfonan dvojsodný a podobně.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

Přípravek ke zvýšení intenzity chemiluminiscenčního záření při reakcích chemiluminiscenčních látek, zejména v alkalickém roztoku luminolu a peroxidu vodíku, za přítomnosti katalyzátoru reakce, v y z n á e n ý

t í m, že obsahuje kationoidní tenzid, výhodně cetyltrimethylamoniumbromid v koncentraci od $3,6 \cdot 10^{-3} \text{ M}$ do 10^{-2} M a fluoreskující látku, výhodně fluorescein v koncentraci od $7 \cdot 10^{-5} \text{ M}$ do $1,8 \cdot 10^{-4} \text{ M}$.