

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE  
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

Katedra analytické chemie

**RIGORÓZNÍ PRÁCE**

Vliv Quantum Dots částic na průběh  
chemiluminiscence založené na oxidaci  
manganistanem

Vedoucí rigorózní práce: Doc. PharmDr. Hana Sklenářová, Ph.D.

# ABSTRAKT

Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové  
Katedra analytické chemie

**Kandidát:** Mgr. Martina Kořínková

**Školitel:** Doc. PharmDr. Hana Sklenářová, Ph.D.

**Název rigorózní práce:** Vliv Quantum Dots částic na průběh chemiluminiscence založené na oxidaci manganistanem

Quantum Dots (QD) částice jsou polovodivé nanokrystaly, které přilákaly pozornost mnoha vědeckých pracovišť svými unikátními optickými a fyzikálními vlastnostmi. V této práci bylo zjišťováno, zda QD částice nějakým způsobem ovlivňují intenzitu chemiluminiscence (CL) v systému s manganistanem draselným a kyselinou sírovou. K dispozici byly QD částice s emisními maximy 520, 575, 603 a 636 nm, které byly postupně přidávány do chemiluminiscenčního systému, kde oxidovanými analyty byly organické látky jako kyselina gallová, hydrochinon, pyrokatechin, resorcinol a floroglucinol. Dosažené výsledky pak byly porovnány s měřením bez přidání QD částic do chemiluminiscenčního systému. Výzkum byl proveden pomocí průtokové metody sekvenční injekční analýzy (SIA). Z naměřených dat vyplynulo, že nejvyšší nárůst intenzity chemiluminiscence byl zaznamenán u QD částic s emisním maximem 520 nm, procentuální nárůst intenzity CL se pohyboval do 26,73 %. Pouze v několika případech přesahují hodnoty relativní směrodatné odchylky (RSD) 3 %, vliv QD částic na opakovatelnost měření je tedy zanedbatelný, v průtokovém systému se nikde neusazují a manipuluje se s nimi bez potíží.

# ABSTRACT

Charles University in Prague, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové  
Department of Analytical Chemistry

**Candidate:** Mgr. Martina Kořínková

**Supervisor:** Doc. PharmDr. Hana Sklenářová, Ph.D.

**Title of Rigorosis Thesis:** The influence of Quantum Dots particles to chemiluminescence based on oxidation by permanganate

Quantum Dots (QDs) particles are semiconductor nanocrystals, which have become attractive for many scientific institutions for its unique optical and physical properties. In this thesis it was found out, whether QDs have any effect on the intensity of chemiluminescence at the reaction with potassium permanganate in sulfuric acid medium. QDs with emission maxima at 520, 575, 603 a 636 nm were tested, QDs solutions were added subsequently to the chemiluminescent system, where the oxidized analytes were organic compounds such as gallic acid, hydroquinone, pyrocatechol, resorcinol and phloroglucinol. Achieved results were then compared with the measurement without addition of QDs to the chemiluminescent system. The experiment was performed by the flow method sequential injection analysis (SIA). Obtained results showed, that the highest growth of intensity of chemiluminescence was recorded using QDs with emission maximum at 520 nm, the procentual growth of the intensity of CL ranged to 26,73 %. The values exceeded the relative standard deviation (RSD) 3% only in a few cases, the influence of QDs on repeatability of measurement is negligible. There are not any sediments of QDs in the flow system and the manipulation with them was carried out without problems.

## ***Prohlášení***

*Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány. Tato rigorózní práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.*

*Práce byla vypracována v souladu se Studijním a zkušebním řádem Univerzity Karlovy v Praze a v souladu s Pravidly pro organizaci studia na Farmaceutické fakultě v Hradci Králové.*

*V Hradci Králové*

.....  
*Martina Kořínková*

## ***Poděkování***

*Tímto bych chtěla poděkovat své vedoucí rigorózní práce Doc. PharmDr. Haně Sklenářové, Ph.D., za odborné rady, korekce a čas, který mi věnovala při vzniku této práce. Mé poděkování patří i ostatním pracovníkům Katedry analytické chemie za vytvoření vhodných podmínek pro realizaci experimentální části.*

## ZKRATKY

CL – chemiluminiscence

NP – nanočástice (Nanoparticles)

QD – Quantum Dots částice

LOD – limit detekce (Limit of Detection)

RSD – relativní směrodatná odchylka (Relative Standard Deviation)

ss DNA – jednovláknová deoxyribonukleová kyselina (single stranded DNA)

CLHA – chemiluminiscenčně-hybridizační imunoanalýza (Chemiluminescence-Hybridization Assay)

CLIA – chemiluminiscenční imunoanalýza (Chemiluminescence Imunoassay)

SIA – sekvenční injekční analýza (Sequential Injection Analysis)

AuNP – zlaté nanočástice

AgNP – stříbrné nanočástice

PtNP – platinové nanočástice

IgG – imunoglobulin G

# OBSAH

<b>ABSTRAKT</b> .....	2
<b>ABSTRACT</b> .....	3
<b>ZKRATKY</b> .....	5
<b>OBSAH</b> .....	6
<b>1 ÚVOD</b> .....	8
1.1 Cíl a popis zadání práce.....	9
<b>2 TEORETICKÁ ČÁST</b> .....	10
2.1. Princip chemiluminiscence.....	10
2.2. Charakteristika vybraných analytů.....	11
2.3. Quantum Dots částice a jejich využití v bioanalytických metodách.....	12
2.3.1. <i>Chemiluminiscenční imunoanalýza (CLIAs)</i> .....	12
2.3.2. <i>CL-hybridizační analýza (CLHAs)</i> .....	13
<b>3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST</b> .....	15
3.1. Laboratorní přístroje.....	14
3.2. Použité chemikálie.....	15
3.3. Příprava roztoků.....	16
3.4. Popis chemiluminiscenčního systému s manganistanem draselným v kyselém prostředí.....	17
3.5. Detekce.....	17
3.5.1. <i>Úprava fluorimetru pro chemiluminiscenční detekci</i> .....	18
3.5.2. <i>Struktura měřícího cyklu</i> .....	18
3.5.3. <i>Vyhodnocení změřeného signálu</i> .....	19
3.6. Optimalizace podmínek chemiluminiscenční detekce s využitím metody sekvenční injekční analýzy.....	20
3.6.1. <i>Studium vlivu koncentrace manganistanu na intenzitu chemiluminiscence</i> .....	20
3.6.2. <i>Výběr analytů s ohledem na intenzitu chemiluminiscence a opakovatelnost měření</i> .....	21
3.6.3. <i>Studium vlivu Quantum Dots částic na chemiluminiscenční systém s manganistanem v kyselém prostředí</i> .....	21
<b>4 VÝSLEDKY MĚŘENÍ DISKUSE</b> .....	22
4.1. Studium vlivu koncentrace manganistanu na intenzitu chemiluminiscence.....	22
4.2. Vliv přídatku Quantum Dots částic na intenzitu chemiluminiscence vybraných analytů a opakovatelnost CL měření.....	23
4.2.1. <i>Vliv Quantum Dots částic na intenzitu chemiluminiscence při stanovení kyseliny gallové</i> .....	23
4.2.2. <i>Vliv Quantum Dots částic na intenzitu chemiluminiscence při stanovení hydrochinonu</i> .....	26
4.2.3. <i>Vliv Quantum Dots částic na intenzitu chemiluminiscence při stanovení pyrokatechinu</i> .....	29
4.2.4. <i>Vliv Quantum Dots částic na intenzitu chemiluminiscence při stanovení resorcinolu</i> .....	32
4.2.5. <i>Vliv Quantum Dots částic na intenzitu chemiluminiscence při stanovení floroglucinolu</i> .....	35

4.2.6. Vliv analytů na opakovatelnost měření.....	38
4.3. Studium vlivu Quantum Dots částic na chemiluminiscenční systém s manganistanem v kyselém prostředí z pohledu přípravy jejich roztoků.....	40
4.3.1. Vliv Quantum Dots částic s emisním maximem při 520 nm na intenzitu chemiluminiscence.....	40
4.3.1.1. Vliv QD částic s emisním maximem 520 nm při koncentraci manganistanu 0,5 mmol/l.....	40
4.3.1.2. Vliv QD částic s emisním maximem 520 nm při koncentraci manganistanu 1 mmol/l.....	42
4.3.1.3. Vliv QD částic s emisním maximem 520 nm při koncentraci manganistanu 5 mmol/l.....	43
4.3.2. Vliv Quantum Dots částic s emisním maximem při 575 nm na intenzitu chemiluminiscence.....	45
4.3.2.1. Vliv QD částic s emisním maximem 575 nm při koncentraci manganistanu 0,5 mmol/l.....	45
4.3.2.2. Vliv QD částic s emisním maximem 575 nm při koncentraci manganistanu 1 mmol/l.....	47
4.3.2.3. Vliv QD částic s emisním maximem 575 nm při koncentraci manganistanu 5 mmol/l.....	49
4.3.3. Vliv Quantum Dots částic s emisním maximem při 603 nm na intenzitu chemiluminiscence.....	51
4.3.3.1. Vliv QD částic s emisním maximem 603 nm při koncentraci manganistanu 0,5 mmol/l.....	51
4.3.3.2. Vliv QD částic s emisním maximem 603 nm při koncentraci manganistanu 1 mmol/l.....	52
4.3.3.3. Vliv QD částic s emisním maximem 603 nm při koncentraci manganistanu 5 mmol/l.....	54
4.3.4. Vliv Quantum Dots částice s emisním maximem při 636 nm na intenzitu chemiluminiscence.....	56
4.3.4.1. Vliv QD částic s emisním maximem 636 nm při koncentraci manganistanu 0,5 mmol/l.....	56
4.3.4.2. Vliv QD částic s emisním maximem 636 nm při koncentraci manganistanu 1 mmol/l.....	57
4.3.4.3. Vliv QD částic s emisním maximem 636 nm při koncentraci manganistanu 5 mmol/l.....	59
4.4. Porovnání vlivu Quantum Dots částic s různým emisním maximem na vybrané analyty.....	61
<b>5 SOUHRN.....</b>	<b>63</b>
<b>6 ZÁVĚR.....</b>	<b>64</b>
<b>7 LITERATURA.....</b>	<b>65</b>

# 1 ÚVOD

Quantum Dots (QD) částice jsou nanokrystaly obvykle obsahující polovodičové jádro, jehož obal je tvořen tenkou vrstvou jiného polovodiče. Obal QD částic může být následně pokryt vrstvou polymeru pro usnadnění konjugace s cílovými biomolekulami. QD částice vynikají svými optickými vlastnostmi a mohou být proto potenciálně využity například v zobrazovací technice jako fluorescenční značky pro hybridizační metody v molekulární biologii nebo by mohly fungovat podobně jako konvenční organická fluorescenční barviva. Výhoda QD částic oproti klasickým značkám spočívá v jejich nesrovnatelně menší velikosti, silnější luminiscenci a delší životnosti. Výzkum QD částic v biomedicínské oblasti se poslední dobou soustřeďuje především na transport diagnostických a terapeutických látek na přesně definované místo v organismu, což by mohlo napomoci rozvoji nových strategií při léčbě nádorových onemocnění <sup>1</sup>. QD částice v některých případech působí také jako zesilovače chemiluminiscenčního signálu a mohly by tak zlepšovat citlivost detekce některých analytů. Komerční dostupnost QD částic je zatím poměrně omezená vzhledem k souběžně probíhajícím studiím týkajících se dopadu na životní prostředí a toxicity pro živé organismy <sup>2</sup>.



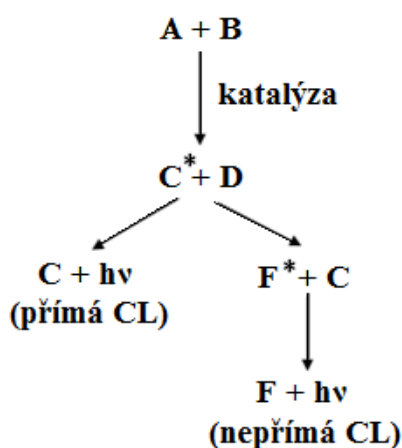
## ***1.1. Cíl a popis zadání práce***

Cílem této práce bylo prozkoumat vliv Quantum Dots (QD) částic na manganistanem indukovanou chemiluminiscenci v kyselém prostředí v kombinaci s metodou sekvenční injekční analýzy (SIA). Experimentální část je zaměřena na vyhodnocení naměřených dat a zjištění, zda QD částice zvyšují nebo snižují intenzitu chemiluminiscence vzniklých oxidačních produktů použitých analytů. V teoretické části jsou prezentovány poznatky o chování QD částic v chemiluminiscenčních systémech v kombinaci s jinými analytickými metodami.

## 2 TEORETICKÁ ČÁST

### 2.1. Princip chemiluminiscence

Více než 30 let je chemiluminiscence atraktivním tématem intenzivního výzkumu s ohledem na její rozmanité využití v praktických aplikacích. Chemiluminiscence je založena na produkci elektromagnetického záření, které je emitováno následkem chemické reakce. Při tomto ději se jeden z produktů dostane do excitovaného stavu a při přechodu na základní energetický stav se přebytečná energie ihned vyzáří ve formě fotonů (přímá chemiluminiscence) nebo produkt v excitovaném stavu předá nadbytek energie jiné molekule, která je pak zodpovědná za emisi světla (nepřímá chemiluminiscence) <sup>3</sup>.



Obr. č. 1: Hlavní mechanismus vedoucí k chemiluminiscenční reakci – A (analyt), B (oxidant), C, D (produkt), F (fluorofor), \* (excitovaný stav),  $h\nu$  (emise fotonů) <sup>3</sup>.

V porovnání s ostatními optickými technikami (spektrofotometrie a fluorescence) její výhody spočívají v absenci rušivého světla na pozadí, v nepatrném šumu analytického signálu, lepší citlivosti a v širokém lineárním dynamickém rozsahu. Chemiluminiscenční (CL) metoda také nevyžaduje žádný excitační zdroj, ani optické filtry, proto je přístroj velmi jednoduchý, robustní, nákladově efektivní a tím i vhodný pro automatizaci. CL detekce je proto široce aplikována v mnoha analytických oborech (monitorování kvality životního prostředí, farmaceutická a potravinářská analýza). V posledních letech byla chemiluminiscence rozšířena o nanočásticové systémy (NP), které by měly zlepšovat citlivost a stabilitu detekce, což vyplývá z jejich velké plochy

povrchu a speciální struktury. Příkladem mohou být kovové nanočástice (AuNP, AgNP, PtNP) které se účastní CL reakce jako katalyzátory, redukční činidla, luminofory nebo akceptory energie <sup>3</sup>.

## 2.2. Charakteristika vybraných analytů

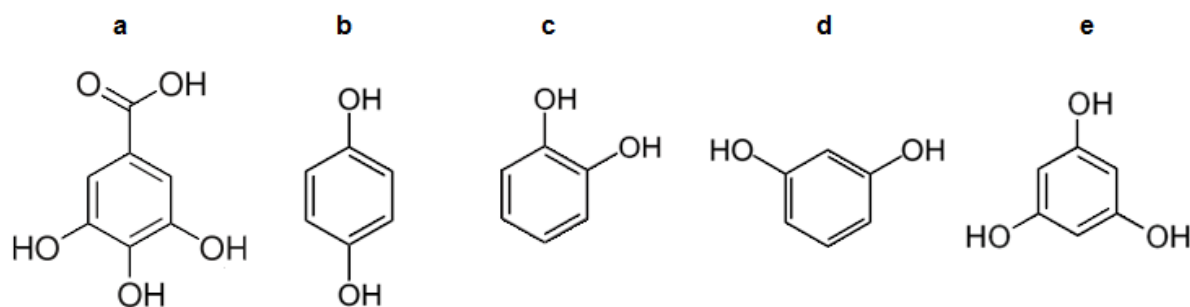
Kyselina gallová (3,4,5-trihydroxybenzoová kyselina), na obr. č. 2a, je nejrozšířenější organickou kyselinou, je součástí tříslovin, kde se nachází ve formě esterů a glykosidů. V přírodě ji nalezneme v duběnkách na listech dubu hálkového (*Quercus infectoria*), v dubové kůře, v čajových listech a v mnoha dalších rostlinách. Tato fenolická sloučenina je dobře rozpustná ve vodě, tvoří bezbarvé krystalky a má silné redukční vlastnosti. Kyselina gallová se využívá ve farmaceutickém průmyslu pro své adstringentní účinky, v koželužství na vyčiňování kůží, také v kosmetickém nebo potravinářském průmyslu jako antioxidant a jako přísada do inkoustů a barev <sup>4,5</sup>.

Hydrochinon (benzen-1,4-diol), obr. č. 2b, je aromatická bezbarvá krystalická látka rozpustná ve vodě, jejímž prekurzorem je glykosid arbutin, který se nachází v listech volně rostoucí medvědice lékařské (*Arctostaphylos uva-ursi*). Droga je součástí urologického čaje, působí jako desinficiens močových cest. Využívá se také jako antioxidant, inhibitor polymerace a stabilizátor etheru <sup>4,5,6</sup>.

Pyrokatechin (benzen-1,2-diol), obr. č. 2c je fenolická sloučenina využívaná k organickým syntézám, tvoří bezbarvé krystalky rozpustné ve vodě. Je obsažen v hnědouhelném dehtu, je součástí pryskyřic (např. *Galbanum*) <sup>4,6</sup>. Hydrochinon a pyrokatechol nejsou na vzduchu příliš stálé, velmi lehce se oxidují a vynikají svými redukčními účinky, používají se proto jako fotografické vývojky, pro výrobu barviv, oba mají antiseptické účinky <sup>4,7</sup>.

Resorcinol (benzen-1,3-diol), obr. č. 2d, je bezbarvý nebo slabě růžovošedý krystalický prášek snadno rozpustný ve vodě, je součástí rostlinných pryskyřic. Používá se v kožním lékařství pro své antiseptické účinky, při organických syntézách, pro výrobu barviv a v kosmetickém průmyslu <sup>4,8</sup>.

Floroglucinol (benzen-1,3,5-triol), obr. č. 2e, je bílá krystalická látka rozpustná ve vodě. Vyskytuje se v hnědých řasách (*Chromophyta*), ale i v mnoha dalších rostlinách. Využívá se jako analytické činidlo, barvivo histologických řezů v botanice a ve farmaceutickém průmyslu <sup>4,9,10</sup>.



Obr. č. 2: Struktura vybraných analytů (a – kyselina gallová, b – hydrochinon, c – pyrokatechin, d – resorcinol, e – floroglucinol)

### 2.3. Quantum Dots částice a jejich využití v bioanalytických metodách

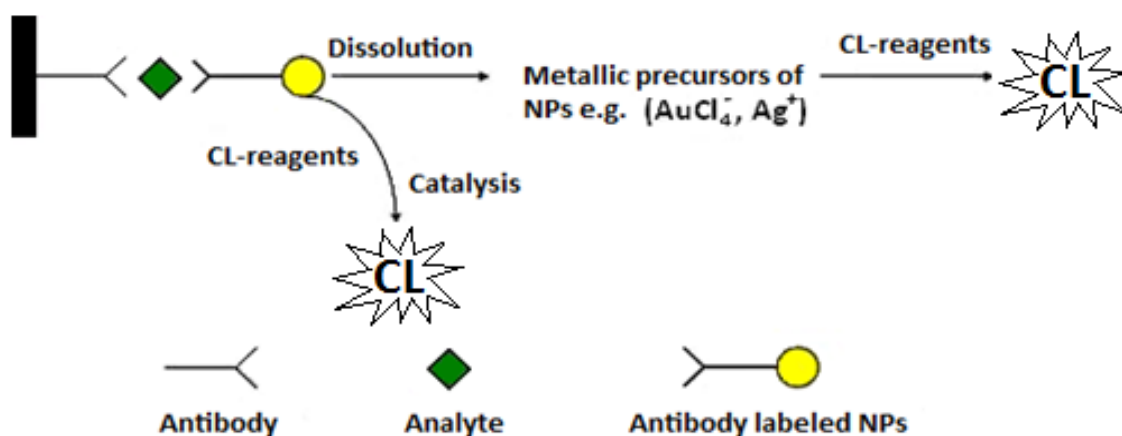
Polovodičové nanočástice, běžně nazývané Quantum Dots (QD), se skládají z polovodičových krystalů o velikosti několika nanometrů, existují samostatně nebo mohou být uspořádány do klastrů. Nejintenzivněji jsou studovány koloidní roztoky těchto nanočástic. QD částice jsou zajímavé pro své unikátní optické vlastnosti např. úzká emisní spektra, široká excitační spektra, jejich emise je přitom přímo závislá na jejich velikosti. Vynikají také neobyčejnou fotostabilitou a vysokými kvantovými výtěžky. Dají se proto využít pro různé bioanalytické aplikace, k zesílení chemiluminiscenčního signálu, k fluorescenčnímu značení biomolekul (podobně jako organické fluorofory), pro detekci iontů, bakterií, virů, nukleotidových sekvencí, proteinů a dalších analytů. V porovnání s klasickými organickými fluorescenčními značkami mají silnější fluorescenci a delší životnost. V analytické chemii je zesílení CL signálu důležité zejména pro stopovou analýzu<sup>3</sup>.

V následujících kapitolách budou krátce popsány konkrétní metody využívající spojení chemiluminiscence s QD částicemi.

#### 2.3.1. Chemiluminiscenční imunoanalýza (CLIAs)

Chemiluminiscenční imunoanalýza je imunoanalytická metoda, při které je využito chemiluminiscenčního záření spolu s mimořádnými katalytickými vlastnostmi kovových nanočástic (AuNP), které by mohly potenciálně konkurovat osvědčenému značení protilátek (organickým fluoroforům nebo enzymům). Kovové nanočástice nemají sami o sobě schopnost rozpoznávání cílů pro selektivní navázání na analyt. Aby

mohly rozpoznávat cíle, musí se povrch nanočástic upravit – funkcionalizovat. K úpravě povrchu nanočástic se mohou použít protilátky, proteiny, organické kyseliny s krátkým řetězcem, aminiolioly nebo DNA. Uvedené agens, jsou konjugovány k povrchu nanočástic pomocí elektrostatických sil nebo kovalentních vazeb. Technika využívající elektrostatických sil je jednodušší, avšak vazba někdy není dost silná, na rozdíl od techniky kovalentních vazeb. AuNP nabízí lepší selektivitu a detekční systém je méně náchylný k interferencím, než při využití protilátek značených enzymem. Touto metodou byla stanovena např. protilátka proti lidskému IgG, kalibrační křivka se pohybovala v lineárním rozsahu 5,0–10 ng/ml, limit detekce (LOD) činil 1,5 ng/ml a relativní směrodatná odchylka (RSD) byla v rozmezí od 4,2–4,6% <sup>11</sup>. Dále byl stejnou metodou stanoven  $\alpha$ -fetoprotein ze vzorku chemicky vyrobeného séra (výtěžnost 96,2–103,0 %) s lineárním rozsahem 0,008–0,3 ng/ml a limitem detekce 5 pg/ml <sup>11</sup>.

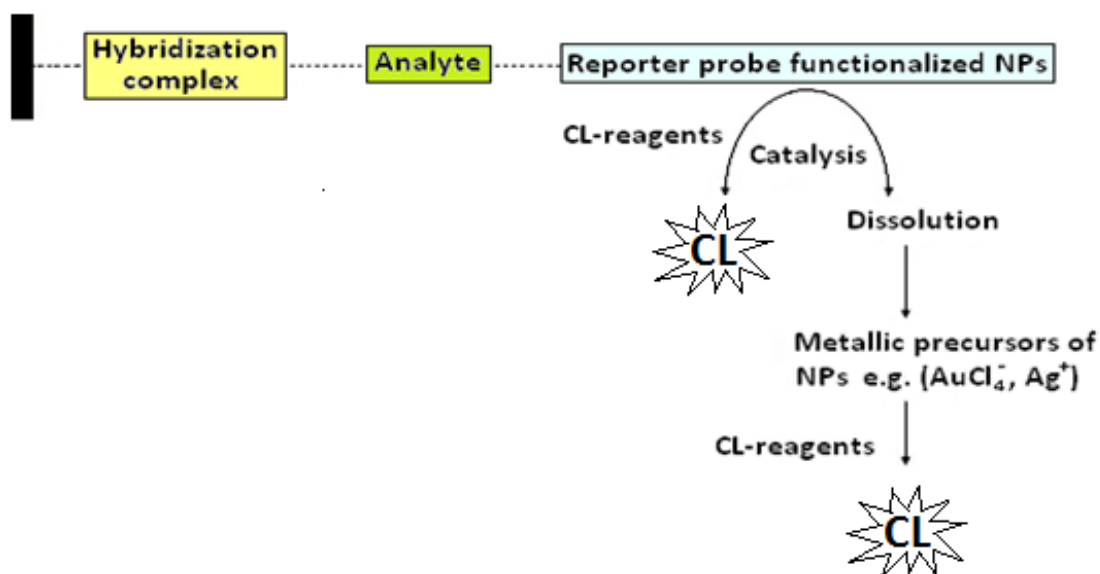


Obr. č. 3: Nekompetitivní sendvičová reakce se zesílenou detekcí užívaná v chemiluminiscenční imunoanalýze (dissolution – rozklad, metallic precursors of NPs – kovové prekurzory NP, CL reagents – CL činidlo, catalysis – katalýza, antibody – protilátka, analyte – analyt, antibody labeled NPs – protilátka značená NP) <sup>10</sup>.

### 2.3.2. CL-hybridizační analýza (CLHAs)

Obdobně je popsána také metoda chemiluminiscenčně-hybridizační imunoanalýzy (CLHAs), která využívá zlatých kovových nanočástic (AuNP) k zesílení chemiluminiscenčního signálu při stanovení cílové DNA. Jedná se o hybridizační reakci, při které se formují biokomplexy mezi imobilizovanou molekulou na pevném podkladě (capture DNA) a cílovou ssDNA (analyt) a DNA sondou značenou

nanočásticemi s funkcionalizovaným povrchem. Zesílení chemiluminiscence je uskutečněno při kombinaci rozkladu kovových nanočástic v kyselém prostředí (kdy je produkováno mnoho kovových iontů) a katalýzy kovem během oxidace CL činidla v chemiluminiscenčním systému. Aptamery a DNA enzymy obsahující jednoduché řetězce ssDNA nebo RNA jsou používány k přípravě biokonjugátů s AuNP a tím získávají schopnost specificky rozpoznat proteiny a malé molekuly. Lineární rozsah této metody dosahuje hodnot  $2,0 \cdot 10^{-14}$  –  $2,0 \cdot 10^{-12}$  M, limit detekce činil  $4,8 \cdot 10^{-15}$  M při hodnotě RSD 3,4 %, což svědčí pro velmi dobrou opakovatelnost měření<sup>11</sup>.



Obr. č. 4: Nekompetitivní sendvičová reakce se zesílenou detekcí užívaná v CL-hybridizační imunoanalýze (dissolution – rozklad, metallic precursors of NPs – kovové prekurzory NP, CL reagents – CL činidlo, catalysis – katalýza, hybridization komplex – hybridizační komplex, analyte – analyt, reporter probe functionalized NPs – sonda nesoucí NP s funkcionalizovaným povrchem)<sup>10</sup>.

## **2 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST**

### ***3.1. Laboratorní přístroje***

Analytické váhy Sartorius 2004 MP, Německo

Ultrazvuková lázeň Sonorex RK 100, Bandelin Electronic, Německo

Počítač platformy PC AT (IBM kompatibilní) s konfigurací Pentium 75 MHz, 24 MB RAM se standardním vybavením Windows 98 CZ, nainstalovány speciální karty - PCIe 6251 karta pro zpracování dat (National Instruments Corporation, USA) a PCI 232:2 (Netmos) karta pro komunikační rozhraní SIA systému s počítačem

Pístové čerpadlo Cavro XL-3000 s objemem 2,5 ml

Mísící cívka z teflonové hadičky o objemu 1,2 ml a vnitřním průměru 0,75 mm

Deseticestný selekční ventil, VICI VALCO

Průtokový fluorimetrický detektor pro chemiluminiscenční stanovení SPECTRA PHYSICS FS 970 L.C. (Schoeffel Instrument Corporation, San Jose, CA, USA)

Spojovací materiál – hadičky z teflonu o vnitřním průměru 0,50 a 0,75 mm, Watrex, Praha, Česká republika

### ***3.2. Použité chemikálie***

Floroglucinol 99%, Anala R, Velká Británie

Hydrochinon 99%, Lachema, Česká republika

Kyselina gallová 99%, Sigma, Německo

Pyrokatechin 99%, Lachema, Česká republika

Resorcinol 99%, Penta, Česká republika

Kyselina sírová 96%, Lachema, Česká republika

Manganistan draselný 99,5%, Balex, Česká republika

Quantum Dots částice s emisními maximy 520 nm, 575 nm, 603 nm a 636 nm, roztoky byly připraveny na Oddělení bioanalytické instrumentace, Ústavu analytické chemie, Akademie věd České republiky

### **3.3. Příprava roztoků**

Pro přípravu vodných roztoků byla použita demineralizovaná voda připravená na Katedře analytické chemie FaF UK v HK systémem Millipore Milli-QRG.

Zásobní roztok manganistanu draselného o koncentraci 5 mmol/l byl připraven z navážky 0,1969 g rozpuštěním ve vodě a doplněním do 250 ml.

Ředěním vodou pak byly připraveny pracovní roztoky manganistanu draselného o koncentraci 1 mmol/l a 0,5 mmol/l.

Zásobní roztok kyseliny sírové o koncentraci 2,5 mol/l byl připraven naředěním 34,7 ml 96% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> vodou a doplněním do 250 ml.

Pracovní roztok kyseliny sírové o koncentraci 0,25 mol/l byl připraven naředěním 25 ml 2,5 mol/l roztoku H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> vodou a doplněním do 250 ml.

Pracovní roztok floroglucinolu o koncentraci 2,5 mmol/l byl připraven z navážky 0,0202 g rozpuštěním ve vodě a doplněním do 50 ml.

Pracovní roztok hydrochinonu o koncentraci 2,5 mmol/l byl připraven z navážky 0,0225 g rozpuštěním ve vodě a doplněním do 100 ml.

Pracovní roztok kyseliny gallové o koncentraci 2,5 mmol/l byl připraven z navážky 0,0426 g rozpuštěním ve vodě a doplněním do 100 ml.

Pracovní roztok pyrokatechinu o koncentraci 2,5 mmol/l byl připraven z navážky 0,0222 g rozpuštěním ve vodě a doplněním do 100 ml.

Pracovní roztok resorcinolu o koncentraci 2,5 mmol/l byl připraven z navážky 0,0135 g rozpuštěním ve vodě a doplněním do 100 ml.

Pracovní roztoky I Quantum Dots částic s emisními maximy při 520 nm, 575 nm, 603 nm a 636 nm byly připraveny naředěním 200 µl/10 ml vodou.

Pracovní roztoky II Quantum Dots částic s emisními maximy při 520 nm, 575 nm, 603 nm a 636 nm byly připraveny naředěním 10 µl/10 ml vodou.

Pracovní roztoky III Quantum Dots částic s emisními maximy při 520 nm, 575 nm, 603 nm a 636 nm byly připraveny naředěním 5 µl/10 ml vodou.

Pracovní roztoky IV Quantum Dots částic s emisními maximy při 520 nm, 575 nm, 603 nm a 636 nm byly připraveny naředěním 2 µl/10 ml vodou.

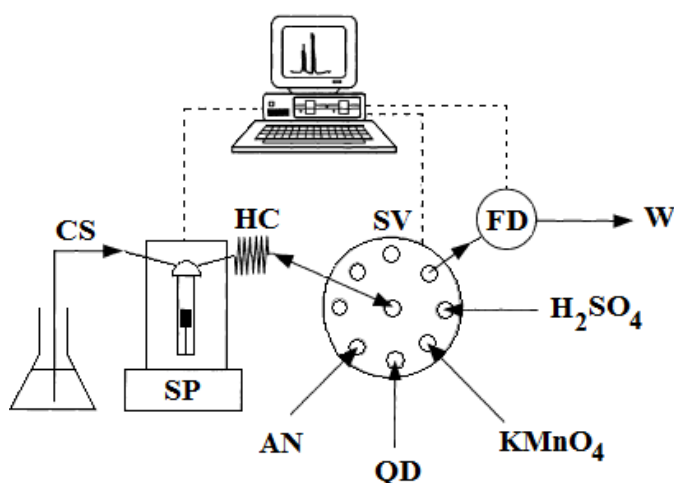


### 3.4. Popis chemiluminiscenčního systému s manganistanem draselným v kyselém prostředí

Chemiluminiscenční (CL) signál byl vyzářen během oxidace analytu manganistanem draselným v prostředí kyseliny sírové. Přídavek kyseliny sírové poskytuje lepší CL detekci, než při přidavku jiné kyseliny (např. HCl, HClO<sub>4</sub>, H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>)<sup>12</sup>. Předpokládaným klíčovým krokem mechanismu chemiluminiscence v tomto systému je vznik meziprojektu s Mn (3+) a jeho následná redukce na excitovaný produkt obsahující Mn (2+) iont, který pak při návratu do základního stavu vyzáří viditelné světlo o vlnové délce 610 nebo 670 nm<sup>13</sup>.

### 3.5. Detekce

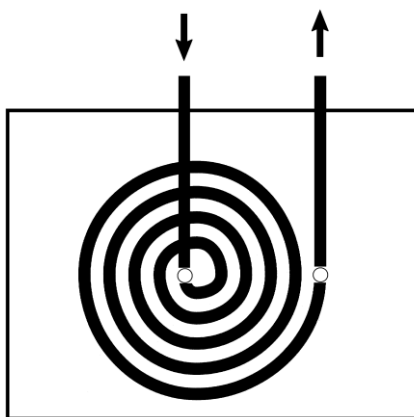
Měření bylo provedeno s užitím fluorimetrického detektoru FS 970 Schoeffel Instrument Corp. (USA), který byl vybaven chemiluminiscenčním modulem. Rozsah stupnice detektoru byl 1,0 – 0,01  $\mu\text{A}$ <sup>14</sup>. Krátkodobý CL signál byl zaznamenán ve formě pík, jejichž výšky byly automaticky vyhodnoceny pomocí programovacího prostředí LabVIEW<sup>®</sup> (ovládací program FaFSIA verze 1.0). Detektor byl součástí SIA (Sekvenční injekční analýza) systému, který dále zahrnoval obousměrnou pístovou pumpu, 10-cestný selekční ventil a mísící cívku. Metoda sekvenční injekční analýzy (SIA) je založena na přesném dávkování předem definovaných objemů standardního roztoku, testovaných roztoků analytů a reakčních činidel do toku nosného proudu, poté pomocí zpětného toku dochází k mísení jednotlivých zón<sup>13</sup>.



Obr. č. 5: Schéma SIA systému s chemiluminiscenční detekcí: CS – nosný proud, SP – pístová pumpa, HC – mísící cívka, SV – selekční ventil, FD – fluorescenční detektor, AN – analyt, QD – Quantum Dots částice, W – odpad<sup>13</sup>.

### 3.5.1. Úprava fluorimetru pro chemiluminiscenční detekci

Fluorimetrický detektor byl pro chemiluminiscenční stanovení upraven následujícím způsobem – nebylo použito primární záření, lampa fluorimetru tedy zůstala vypnutá. V místě sekundárního filtru byl vložen spirální chemiluminiscenční modul z plexiskla kopírující tvar sekundárního filtru. Jeho součástí je spirála z průhledné teflonové hadičky o vnitřním průměru 0,5 mm, stočené pětkrát. Průměr spirály odpovídá velikosti okénka fotonásobiče, který je umístěn v těsné blízkosti spirály a snímá tak maximum CL signálu. Zóna měřeného produktu CL reakce je převáděna do středu spirály a odvedena z periferní části spirály do odpadu <sup>15</sup>.



Obr. č. 6: Chemiluminiscenční modul – spirála <sup>15</sup>.

### 3.5.2. Struktura měřícího cyklu

Jako nosný proud byla použita deionizovaná voda. Aspirace nosného proudu, analytu, kyseliny sírové a oxidačního činidla probíhala podle předem naprogramovaného měřícího cyklu. Aspirace roztoků probíhala při průtokové rychlosti 100  $\mu\text{l/s}$ , dávkovaný objem studovaných analytů, kyseliny sírové, manganistanu draselného a QD částic byl 50  $\mu\text{l}$ . Intenzita chemiluminiscence byla měřena při laboratorní teplotě. Struktura měřícího cyklu a výchozí hodnoty parametrů (rychlost pohybu pístové pumpy, objem aspirovaného roztoku) byly převzaty z odborné literatury <sup>16</sup>. Byly provedeny celkem 3 cykly měření při stejných reakčních podmínkách. Na ukázkou byl vybrán měřící program, který byl vytvořen pro měření intenzity CL signálu za použití různých koncentrací Quantum Dots částic. Bylo potřeba vytvořit také

program pro promytí SIA systému, protože po skončení měření bylo nutné pročistit systém nosným proudem.

Tab. č. 1: Ukázka struktury měřicího cyklu

syringe pump	initialize	0	
syringe pump	valve position IN		
syringe pump	set flow rate [ $\mu\text{l/s}$ ]	100	
syringe pump	aspirate [ $\mu\text{l}$ ]	500	
syringe pump	valve position OUT		
multi-port valve	set valve position	4	
syringe pump	aspirate [ $\mu\text{l}$ ]	50	{aspirace QDs}
multi-port valve	set valve position	1	
syringe pump	aspirate [ $\mu\text{l}$ ]	50	{aspirace vzorku}
multi-port valve	set valve position	2	
syringe pump	aspirate [ $\mu\text{l}$ ]	50	{aspirace $\text{H}_2\text{SO}_4$ }
multi-port valve	set valve position	3	
syringe pump	aspirate [ $\mu\text{l}$ ]	50	{aspirace $\text{KMnO}_4$ }
multi-port valve	set valve position	5	
syringe pump	aspirate [ $\mu\text{l}$ ]	100	
multi-port valve	set valve position	8	
syringe pump	dispense [ $\mu\text{l}$ ]	70	{mísení zón}
syringe pump	aspirate [ $\mu\text{l}$ ]	70	
syringe pump	empty syringe		{detekce}

### 3.5.3. Vyhodnocení změřeného signálu

Při vlastním měření bylo třeba měnit rozsah stupnice, resp. citlivosti měření a podle výšky píku a nastaveného rozsahu stupnice vypočítat intenzitu chemiluminiscence, která je přímo úměrná výšce píku. Například je-li rozsah stupnice  $0,1 \mu\text{A}$  a hodnota výšky píku  $0,82$ , pak je výpočet následující:  $(0,1 \cdot 1000 \cdot 0,82)/2,5 = 32,80 \text{ nA}^{15}$ .

Posouzení opakovatelnosti výsledků měření bylo provedeno podle vzorců:

$$S = \sqrt{\frac{1}{N(N-1)} \sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2} \quad S = \frac{100 \cdot s}{\bar{X}}$$

kde  $s$  (SD) je směrodatná odchylka,  $N$  je počet měření,  $x_i - \bar{x}$  je absolutní odchylka jednotlivých výsledků od aritmetického průměru,  $s_r$  (RSD) je relativní směrodatná odchylka vyjádřená v procentech <sup>14</sup>.

### **3.6. Optimalizace podmínek chemiluminiscenční detekce s využitím metody sekvenční injekční analýzy**

Pro měření v systému SIA bylo nutné zjistit, při jaké koncentraci činidel a ostatních používaných látek bude intenzita CL nejvyšší. K největšímu nárůstu intenzity chemiluminiscence docházelo při koncentraci roztoku  $H_2SO_4$  0,25 mol/l. Optimální koncentrace byla převzata z diplomové práce Ivety Vilímové (2005) <sup>14</sup>. Při zvyšování koncentrace roztoku  $H_2SO_4$  by se vlivem silné kyseliny mohl poškodit průtokový systém SIA. Hodnoty koncentrace roztoků studovaných analytů byly 2,5 mmol/l a neměnily se. Pracovní napětí detektoru bylo nastaveno na 400 V.

#### **3.6.1. Studium vlivu koncentrace manganistanu na intenzitu chemiluminiscence**

Pro měření bylo postupně použito pět různých analytů. Byly připraveny 2,5 mM roztoky kyseliny gallové, hydrochinonu, pyrokatechinu, resorcinolu a floroglucinolu, dále pak 0,25 M roztok kyseliny sírové a roztok manganistanu draselného, jehož koncentrace se měnila. Byl testován vliv různých koncentrací  $KMnO_4$  na intenzitu chemiluminiscence. Do SIA systému bylo aspirováno 50  $\mu$ l vzorku, 50  $\mu$ l  $H_2SO_4$  a 50  $\mu$ l  $KMnO_4$  rychlostí 100  $\mu$ l/s. Pracovní napětí na detektoru bylo nastaveno na 400 V. Při měření s různými koncentracemi manganistanu draselného bylo potřeba měnit rozsah stupnice, tak aby bylo vyhodnocení chemiluminiscenčního signálu co nejpřesnější. Pro 0,5 mM roztok  $KMnO_4$  byl zvolen rozsah 0,02  $\mu$ A, pro 1 mM roztok  $KMnO_4$  byl použit rozsah 0,1  $\mu$ A a pro 5 mM roztok  $KMnO_4$  byl použit rozsah 0,5  $\mu$ A.

### **3.6.2. Výběr analytů s ohledem na intenzitu chemiluminiscence a opakovatelnost měření**

Pro měření byl použit 2,5 mmol/l roztok kyseliny gallové, 2,5 mmol/l roztok hydrochinonu, 2,5 mmol/l roztok pyrokatechinu, 2,5 mmol/l roztok resorcinolu a 2,5 mmol/l roztok floroglucinolu. Ostatní parametry měřicího cyklu zůstaly konstantní. Uvedené látky byly oxidovány manganistanem draselným v kyselém prostředí za vzniku CL signálu, poté byla posuzována intenzita chemiluminiscence jednotlivých analytů.

### **3.6.3. Studium vlivu Quantum Dots částic na chemiluminiscenční systém s manganistanem v kyselém prostředí**

Měření bylo provedeno s roztoky Quantum Dots částic o různých koncentracích a emisních maximech. K dispozici byly QD částice s emisními maximy 520 nm, 575 nm, 603 nm a 636 nm. Měření bylo provedeno s pracovními roztoky I, které byly připraveny naředěním 200  $\mu$ l/10 ml vodou, dále s pracovními roztoky II, které byly připraveny naředěním 10  $\mu$ l/10 ml vodou, s pracovními roztoky III, které byly připraveny naředěním 5  $\mu$ l/10 ml vodou a s pracovními roztoky IV, které byly připraveny naředěním 2  $\mu$ l/10 ml vodou.

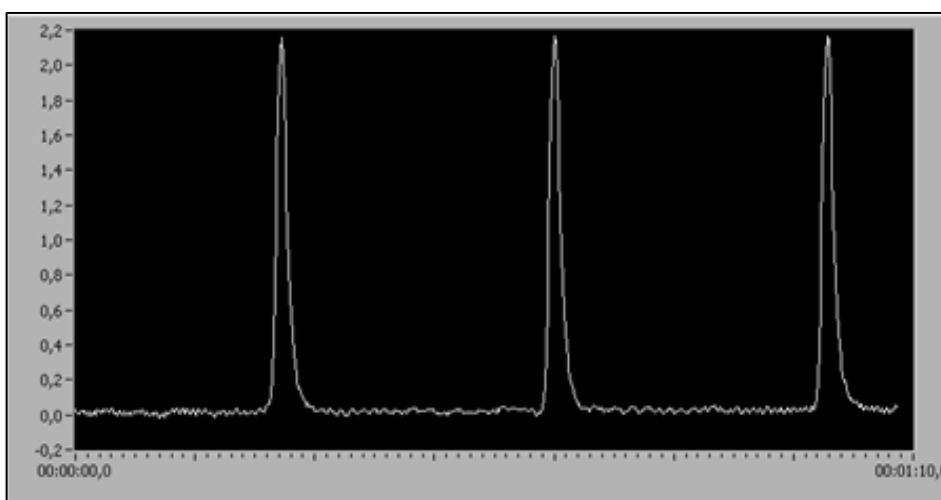
Bylo testováno chování QD částic v chemiluminiscenčním systému s manganistanem draselným v kyselém prostředí. Byl zkoumán vliv QD částic na hodnotu intenzity chemiluminiscence při oxidaci analytů a na opakovatelnost měření. Pro měření byl připraven 5, 1 a 0,5 mmol/l roztok  $\text{KMnO}_4$ , dále pak 0,25 mol/l  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , koncentrace studovaných analytů byla 2,5 mmol/l. Nastavené parametry v měřicím cyklu zůstaly nezměněny. Test vlivu Quantum Dots částic na růst nebo pokles intenzity chemiluminiscence byl proveden s roztoky, které byly připraveny na Oddělení bioanalytické instrumentace - Ústav analytické chemie, AV ČR.

## 4 VÝSLEDKY MĚŘENÍ A DISKUSE

### 4.1. Studium vlivu koncentrace manganistanu na intenzitu chemiluminiscence

Tab. č. 2: Chemiluminiscence s 0,5 mM manganistanem bez QD částic (2,5 mM analyt, 0,5 mM  $\text{KMnO}_4$ , 0,25 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$ )

analyt	výška píku			$\phi$	SD	RSD [%]	intenzita CL [nA]
	1	2	3				
kyselina gallová	2,05	2,04	2,05	2,05	0,00	0,23	16,37
hydrochinon	2,30	2,24	2,25	2,26	0,03	1,16	18,11
pyrokatechin	2,37	2,34	2,35	2,35	0,01	0,53	18,83
resorcinol	2,36	2,35	2,37	2,36	0,01	0,35	18,88
floroglucinol	2,30	2,27	2,28	2,28	0,01	0,55	18,27



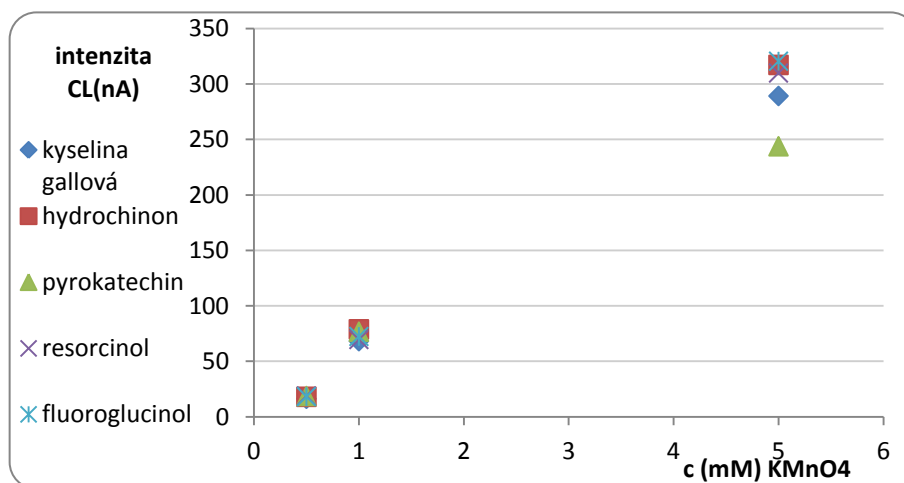
Obr. č 7: Ukázka záznamu měření s kyselinou gallovou (2,5 mM roztok kyseliny gallové, 0,25M roztok  $\text{H}_2\text{SO}_4$  a 0,5 mM roztok  $\text{KMnO}_4$ , pracovní napětí 400 V, rozsah stupnice 0,02 $\mu\text{A}$ )

Tab. č. 3: Chemiluminiscence s 1 mM manganistanem bez QD částic (2,5 mM analyt, 1 mM  $\text{KMnO}_4$ , 0,25 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$ )

analyt	výška píku			$\phi$	s	RSD [%]	intenzita CL [nA]
	1	2	3				
kyselina gallová	1,76	1,71	1,65	1,71	0,04	2,63	68,27
hydrochinon	1,95	1,96	2,01	1,97	0,03	1,33	78,93
pyrokatechin	1,92	1,93	1,91	1,92	0,01	0,43	76,80
resorcinol	1,76	1,75	1,72	1,74	0,02	0,97	69,73
floroglucinol	1,79	1,81	1,84	1,81	0,02	1,13	72,53

Tab. č. 4: Chemiluminiscence s 5 mM manganistanem bez QD částic (2,5 mM analyt, 5 mM KMnO<sub>4</sub>, 0,25 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)

analyt	výška píku			ø	s	RSD [%]	intenzita CL [nA]
	1	2	3				
kyselina gallová	1,43	1,45	1,46	1,45	0,01	0,86	289,33
hydrochinon	1,58	1,6	1,58	1,59	0,01	0,59	317,33
pyrokatechin	1,20	1,24	1,22	1,22	0,02	1,34	244,00
resorcinol	1,56	1,55	1,54	1,55	0,01	0,53	310,00
floroglucinol	1,63	1,6	1,58	1,60	0,02	1,28	320,67



Obr. č. 8: Závislost intenzity chemiluminiscence na koncentraci manganistanu draselného

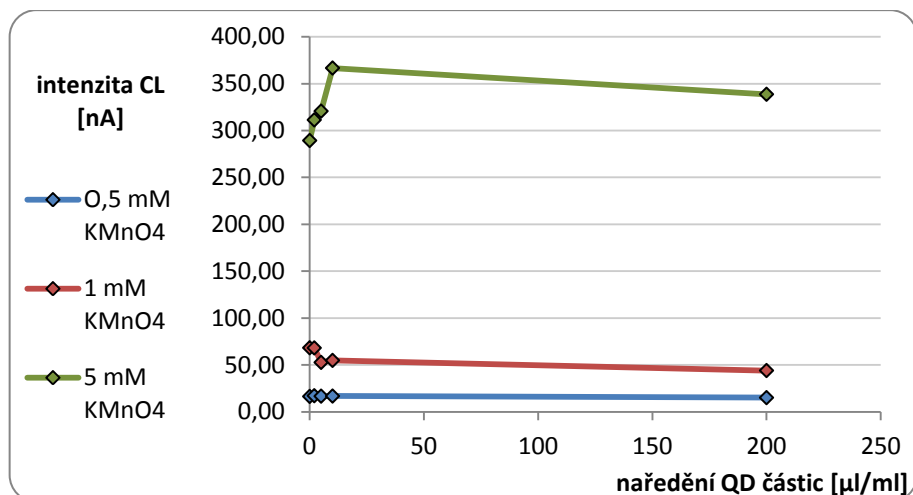
Podle výsledků v tabulkách č. 1 až 3 je patrné, že nejvyšší intenzita CL byla dosažena při koncentraci 5 mM KMnO<sub>4</sub> a při této koncentraci jsou také nejlépe rozlišitelné rozdíly mezi jednotlivými analyty.

## 4.2. Vliv přidavku Quantum Dots částic na intenzitu chemiluminiscence vybraných analytů a opakovatelnost CL měření

### 4.2.1. Vliv Quantum Dots částic na intenzitu chemiluminiscence při stanovení kyseliny gallové

Tab. č. 5: Vliv přidavku Quantum Dots částic s emisním maximem 520 nm na intenzitu chemiluminiscence kyseliny gallové

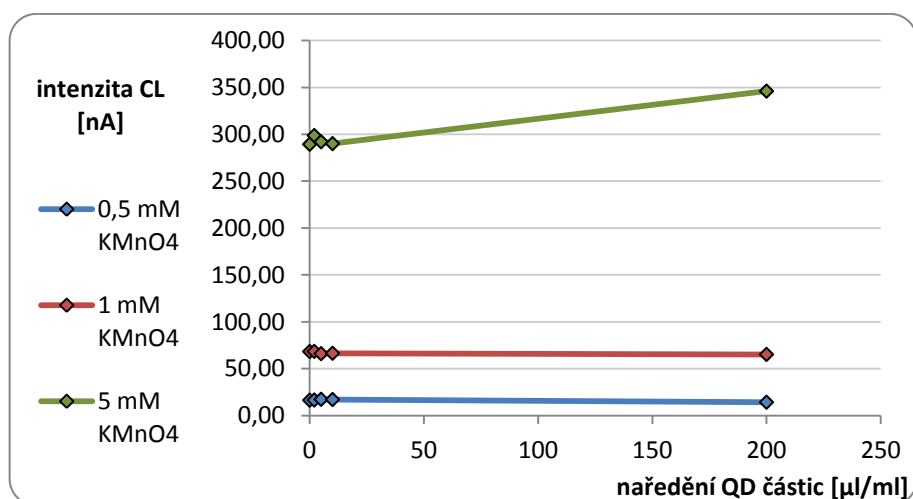
0,5 mM KMnO <sub>4</sub>					
koncentrace QD částic [μl/ml]	0	2	5	10	200
intenzita CL [nA]	16,37	17,12	16,67	16,77	15,09
1 mM KMnO <sub>4</sub>					
koncentrace QD částic [μl/ml]	0	2	5	10	200
intenzita CL [nA]	68,27	68,13	52,67	54,80	44,00
5 mM KMnO <sub>4</sub>					
koncentrace QD částic [μl/ml]	0	2	5	10	200
intenzita CL [nA]	289,33	311,33	320,67	366,67	338,67



Obr. č. 9: Závislost intenzity CL na přidavku Quantum Dots částic s emisním maximem 520 nm v chemiluminiscenčním systému s manganistanem při oxidaci kyseliny gallové

Tab. č. 6: Vliv přidavku Quantum Dots částic s emisním maximem 575 nm na intenzitu chemiluminiscence kyseliny gallové

0,5 mM KMnO <sub>4</sub>					
koncentrace QD částic [μl/ml]	0	2	5	10	200
intenzita CL [nA]	16,37	16,53	17,31	17,07	14,19
1 mM KMnO <sub>4</sub>					
koncentrace QD částic [μl/ml]	0	2	5	10	200
intenzita CL [nA]	68,27	68,40	66,00	66,40	65,20
5 mM KMnO <sub>4</sub>					
koncentrace QD částic [μl/ml]	0	2	5	10	200
intenzita CL [nA]	289,33	298,67	292,00	290,00	346,00

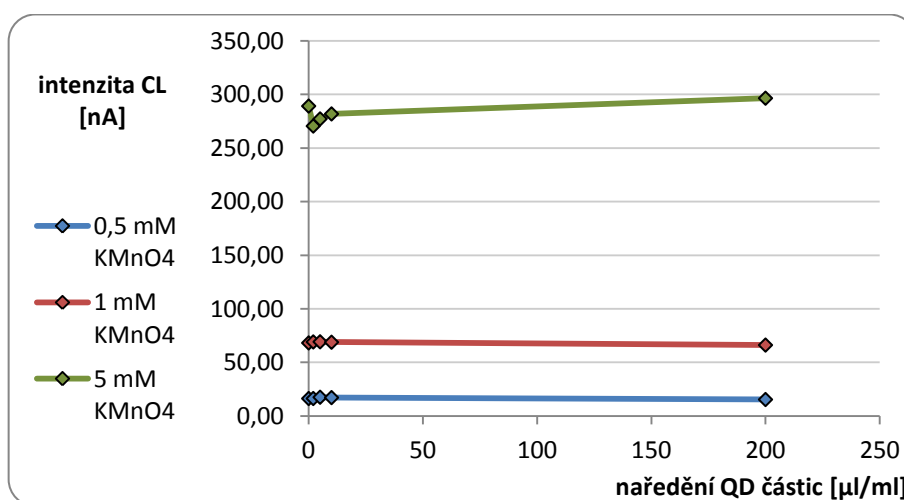


Obr. č. 10: Závislost intenzity CL na přidavku Quantum Dots částic s emisním maximem 575 nm v chemiluminiscenčním systému s manganistanem při oxidaci kyseliny gallové



Tab. č. 7: Vliv přidavku Quantum Dots částic s emisním maximem 603 nm na intenzitu chemiluminiscence kyseliny gallové

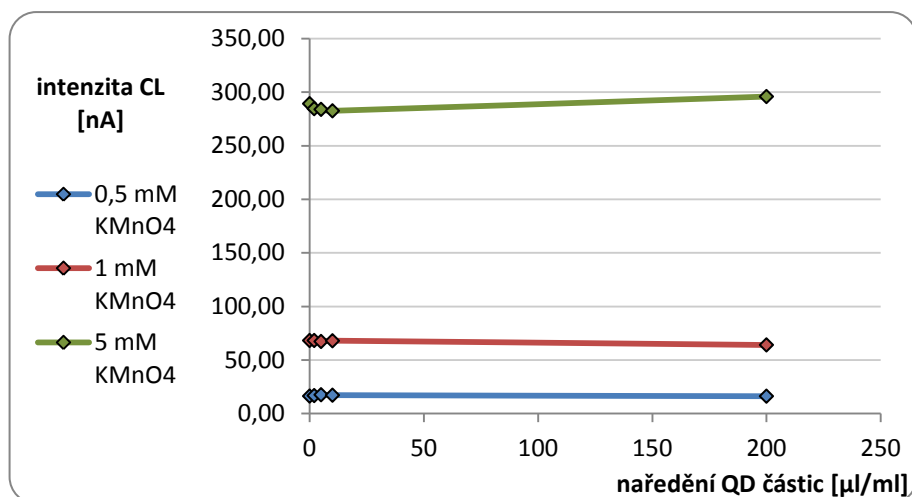
0,5 mM KMnO <sub>4</sub>					
koncentrace QD částic [μl/ml]	0	2	5	10	200
intenzita CL [nA]	16,37	16,40	17,60	17,25	15,44
1 mM KMnO <sub>4</sub>					
koncentrace QD částic [μl/ml]	0	2	5	10	200
intenzita CL [nA]	68,27	69,20	69,33	68,93	66,27
5 mM KMnO <sub>4</sub>					
koncentrace QD částic [μl/ml]	0	2	5	10	200
intenzita CL [nA]	289,33	270,67	277,33	282,00	296,67



Obr. č. 11: Závislost intenzity CL na přidavku Quantum Dots částic s emisním maximem 603 nm v chemiluminiscenčním systému s manganistanem při oxidaci kyseliny gallové

Tab. č. 8: Vliv přidavku Quantum Dots částic s emisním maximem 636 nm na intenzitu chemiluminiscence kyseliny gallové

0,5 mM KMnO <sub>4</sub>					
koncentrace QD částic [μl/ml]	0	2	5	10	200
intenzita CL [nA]	16,37	16,83	17,6	17,17	16,27
1 mM KMnO <sub>4</sub>					
koncentrace QD částic [μl/ml]	0	2	5	10	200
intenzita CL [nA]	68,27	68,27	67,33	68,00	64,13
5 mM KMnO <sub>4</sub>					
koncentrace QD částic [μl/ml]	0	2	5	10	200
intenzita CL [nA]	289,33	284,67	284	282,67	296,00



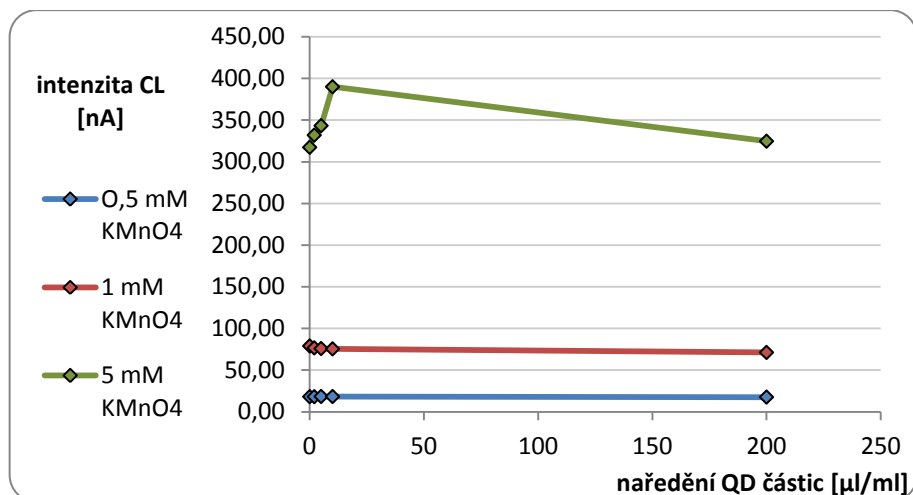
Obr. č. 12: Závislost intenzity CL na přídatku Quantum Dots částic s emisním maximem 636 nm v chemiluminiscenčním systému s manganistanem při oxidaci kyseliny gallové

Při měření s kyselinou gallovou a 5 mM manganistanem bylo pozorováno, že nejvyšší hodnoty intenzity chemiluminiscence byly dosaženy při přídatku Quantum Dots částic s emisními maximy 520 a 575 nm naředěných postupem III a IV. Při emisních maximech 603 a 636 nm se intenzita CL pohybovala jen lehce nad hodnotu naměřenou za stejných reakčních podmínek jako bez přídatku QD částic, nárůst intenzity CL nebyl tak výrazný.

#### 4.2.2. Vliv Quantum Dots částic na intenzitu chemiluminiscence při stanovení hydrochinonu

Tab. č. 9: Vliv přídatku Quantum Dots částic s emisním maximem 520 nm na intenzitu chemiluminiscence hydrochinonu

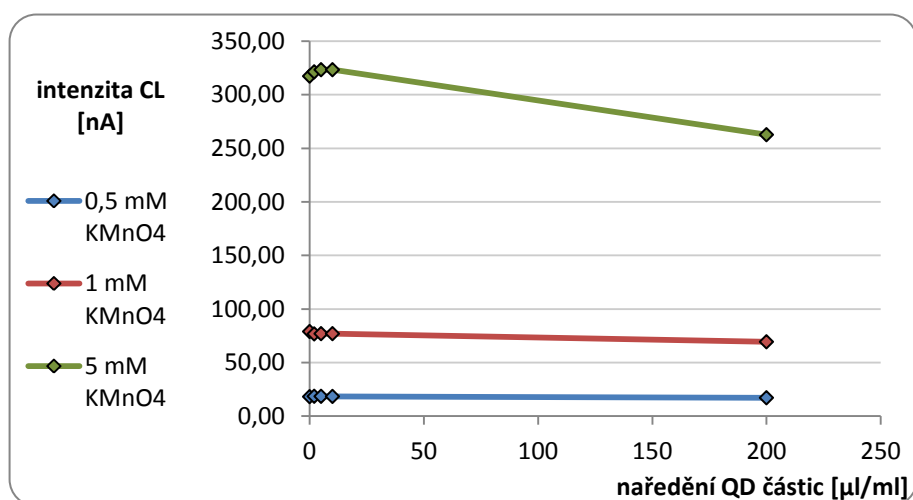
0,5 mM KMnO <sub>4</sub>					
koncentrace QD částic [μl/ml]	0	2	5	10	200
intenzita CL [nA]	18,11	18,13	18,37	18,29	17,63
1 mM KMnO <sub>4</sub>					
koncentrace QD částic [μl/ml]	0	2	5	10	200
intenzita CL [nA]	78,93	76,67	75,87	75,47	71,20
5 mM KMnO <sub>4</sub>					
koncentrace QD částic [μl/ml]	0	2	5	10	200
intenzita CL [nA]	317,33	332,00	343,33	390,00	324,67



Obr. č. 13: Závislost intenzity CL na přidavku Quantum Dots částic s emisním maximem 520 nm v chemiluminiscenčním systému s manganistanem při oxidaci hydrochinonu

Tab. č. 10: Vliv přidavku Quantum Dots částic s emisním maximem 575 nm na intenzitu chemiluminiscence hydrochinonu

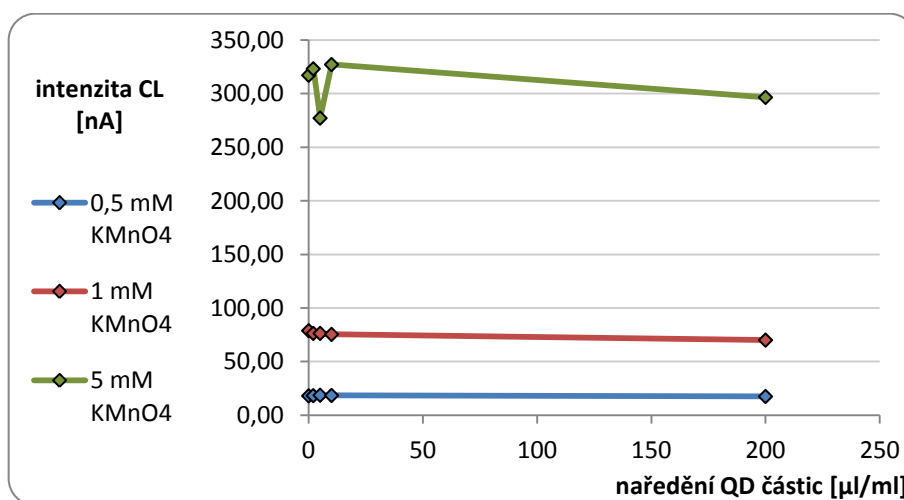
0,5 mM KMnO <sub>4</sub>					
koncentrace QD částic [µl/ml]	0	2	5	10	200
intenzita CL [nA]	18,11	18,48	18,43	18,32	17,09
1 mM KMnO <sub>4</sub>					
koncentrace QD částic [µl/ml]	0	2	5	10	200
intenzita CL [nA]	78,93	76,67	75,73	76,93	69,33
5 mM KMnO <sub>4</sub>					
koncentrace QD částic [µl/ml]	0	2	5	10	200
intenzita CL [nA]	317,33	321,33	323,33	323,33	262,67



Obr. č. 14: Závislost intenzity CL na přidavku Quantum Dots částic s emisním maximem 575 nm v chemiluminiscenčním systému s manganistanem při oxidaci hydrochinonu

Tab. č. 11: Vliv přidavku Quantum Dots částic s emisním maximem 603 nm na intenzitu chemiluminiscence hydrochinonu

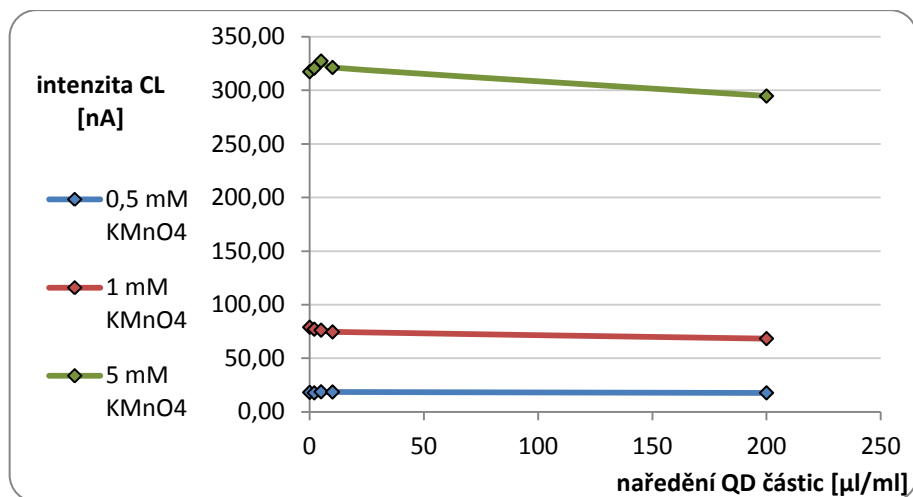
0,5 mM KMnO <sub>4</sub>					
koncentrace QD částic [μl/ml]	0	2	5	10	200
intenzita CL [nA]	18,11	18,29	18,69	18,48	17,52
1 mM KMnO <sub>4</sub>					
koncentrace QD částic [μl/ml]	0	2	5	10	200
intenzita CL [nA]	78,93	76,40	76,40	75,47	70,13
5 mM KMnO <sub>4</sub>					
koncentrace QD částic [μl/ml]	0	2	5	10	200
intenzita CL [nA]	317,33	323,33	277,33	327,33	296,67



Obr. č. 15: Závislost intenzity CL na přidavku Quantum Dots částic s emisním maximem 603 nm v chemiluminiscenčním systému s manganistanem při oxidaci hydrochinonu

Tab. č. 12: Vliv přidavku Quantum Dots částic s emisním maximem 636 nm na intenzitu chemiluminiscence hydrochinonu

0,5 mM KMnO <sub>4</sub>					
koncentrace QD částic [μl/ml]	0	2	5	10	200
intenzita CL [nA]	18,11	17,65	18,64	18,48	17,65
1 mM KMnO <sub>4</sub>					
koncentrace QD částic [μl/ml]	0	2	5	10	200
intenzita CL [nA]	78,93	77,07	76,13	74,53	68,27
5 mM KMnO <sub>4</sub>					
koncentrace QD částic [μl/ml]	0	2	5	10	200
intenzita CL [nA]	317,33	320,67	327,33	321,33	294,67



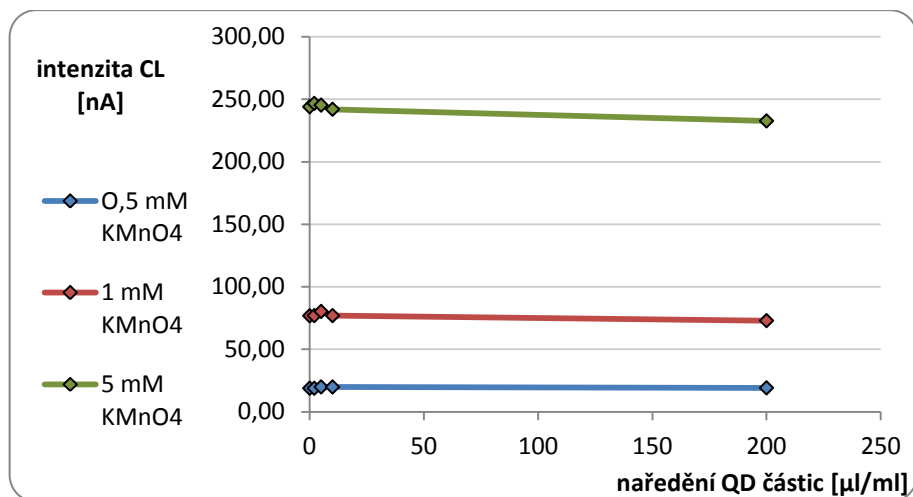
Obr. č. 16: Závislost intenzity CL na přidavku Quantum Dots částic s emisním maximem 636 nm v chemiluminiscenčním systému s manganistanem při oxidaci hydrochinonu

Při měření s hydrochinonem a 5 mM manganistanem byla nejvyšší hodnota intenzity chemiluminiscence dosažena při přidavku QD částic s emisním maximem 520 nm, které byly naředěny postupem III. U QD částic s vyššími emisními maximy se intenzita CL pohybovala lehce nad hodnotou naměřenou bez přidání QD částic do systému.

#### 4.2.3. Vliv Quantum Dots částic na intenzitu chemiluminiscence při stanovení pyrokatechinu

Tab. č. 13: Vliv přidavku Quantum Dots částic s emisním maximem 520 nm na intenzitu chemiluminiscence pyrokatechinu

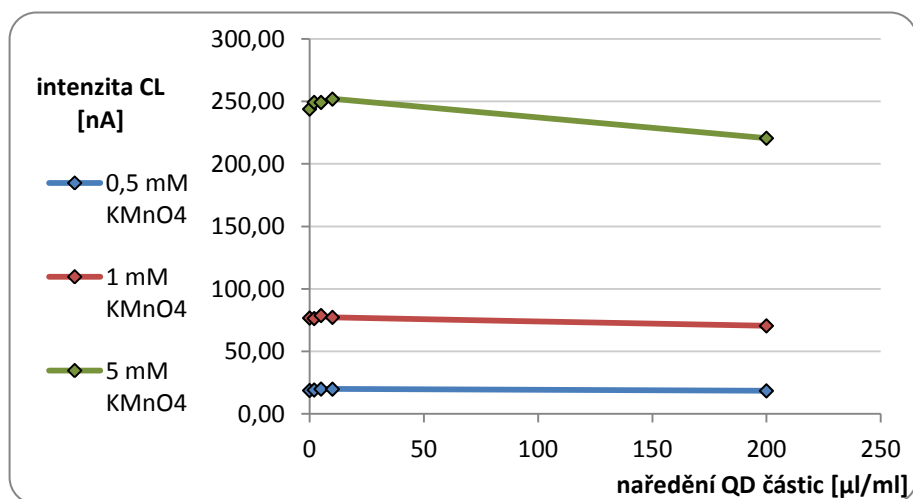
0,5 mM KMnO <sub>4</sub>					
koncentrace QD částic [μl/ml]	0	2	5	10	200
intenzita CL [nA]	18,83	18,80	19,89	19,84	19,15
1 mM KMnO <sub>4</sub>					
koncentrace QD částic [μl/ml]	0	2	5	10	200
intenzita CL [nA]	76,80	76,93	80,27	76,93	72,93
5 mM KMnO <sub>4</sub>					
koncentrace QD částic [μl/ml]	0	2	5	10	200
intenzita CL [nA]	244,00	246,67	245,33	242,00	232,67



Obr. č. 17: Závislost intenzity CL na přidavku Quantum Dots částic s emisním maximem 520 nm v chemiluminiscenčním systému s manganistanem při oxidaci pyrokatechinu

Tab. č. 14: Vliv přidavku Quantum Dots částic s emisním maximem 575 nm na intenzitu chemiluminiscence pyrokatechinu

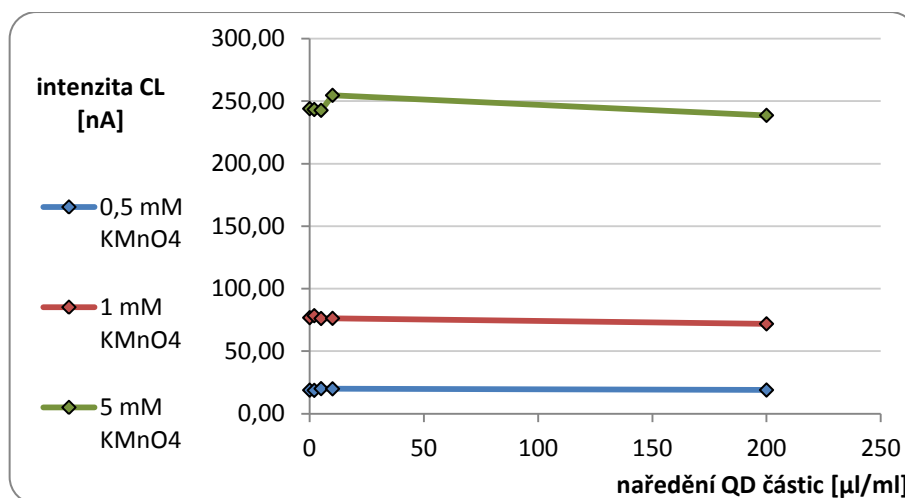
0,5 mM KMnO <sub>4</sub>					
koncentrace QD částic [μl/ml]	0	2	5	10	200
intenzita CL [nA]	18,83	19,20	19,25	19,89	18,53
1 mM KMnO <sub>4</sub>					
koncentrace QD částic [μl/ml]	0	2	5	10	200
intenzita CL [nA]	76,80	76,40	78,80	77,33	70,53
5 mM KMnO <sub>4</sub>					
koncentrace QD částic [μl/ml]	0	2	5	10	200
intenzita CL [nA]	244,00	249,33	249,33	252,00	220,67



Obr. č. 18: Závislost intenzity CL na přidavku Quantum Dots částic s emisním maximem 575 nm v chemiluminiscenčním systému s manganistanem při oxidaci pyrokatechinu

Tab. č. 15: Vliv přidavku Quantum Dots částic s emisním maximem 603 nm na intenzitu chemiluminiscence pyrokatechinu

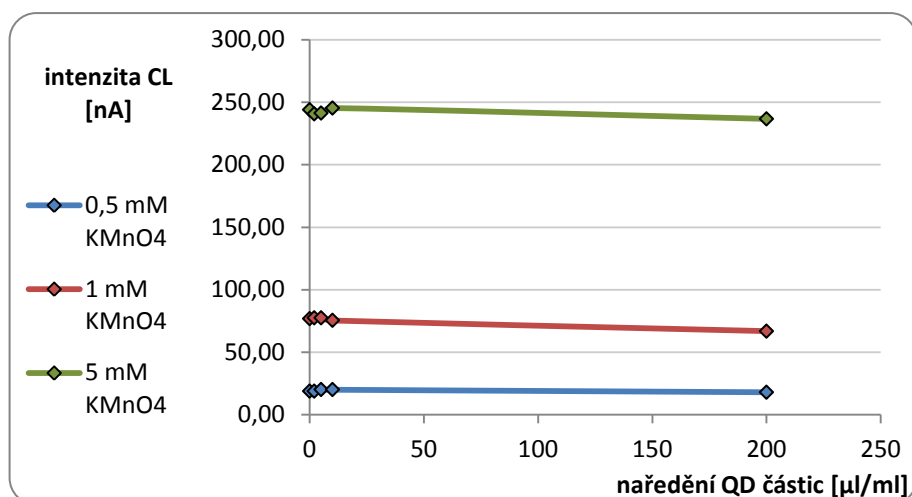
0,5 mM KMnO <sub>4</sub>					
koncentrace QD částic [μl/ml]	0	2	5	10	200
intenzita CL [nA]	18,83	18,67	20,03	19,89	18,91
1 mM KMnO <sub>4</sub>					
koncentrace QD částic [μl/ml]	0	2	5	10	200
intenzita CL [nA]	76,80	78,40	76,13	76,27	71,87
5 mM KMnO <sub>4</sub>					
koncentrace QD částic [μl/ml]	0	2	5	10	200
intenzita CL [nA]	244,00	243,33	242,67	254,67	238,67



Obr. č. 19: Závislost intenzity CL na přidavku Quantum Dots částic s emisním maximem 603 nm v chemiluminiscenčním systému s manganistanem při oxidaci pyrokatechinu

Tab. č. 16: Vliv přidavku Quantum Dots částic s emisním maximem 636 nm na intenzitu chemiluminiscence pyrokatechinu

0,5 mM KMnO <sub>4</sub>					
koncentrace QD částic [μl/ml]	0	2	5	10	200
intenzita CL [nA]	18,83	18,80	20,11	20,08	17,92
1 mM KMnO <sub>4</sub>					
koncentrace QD částic [μl/ml]	0	2	5	10	200
intenzita CL [nA]	76,80	77,47	77,47	75,47	66,80
5 mM KMnO <sub>4</sub>					
koncentrace QD částic [μl/ml]	0	2	5	10	200
intenzita CL [nA]	244,00	240,67	241,33	245,33	236,67



Obr. č. 20: Závislost intenzity CL na přidavku Quantum Dots částic s emisním maximem 636 nm v chemiluminiscenčním systému s manganistanem při oxidaci pyrokatechinu

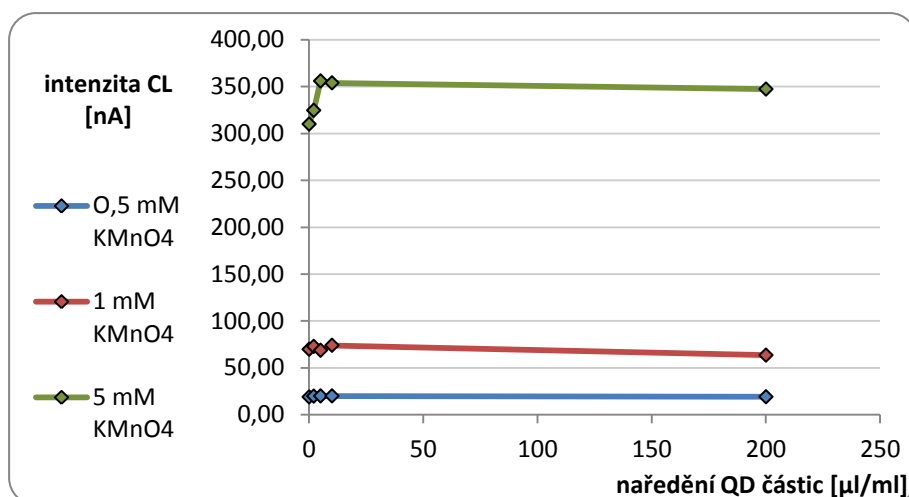
U pyrokatechinu byl pozorován méně výrazný nárůst intenzity CL při použití všech QD částic oproti měření bez jejich přidavku. V chemiluminiscenčním systému s 5 mM manganistanem byl pozorován nejvyšší nárůst intenzity CL ze všech zkoušených analytů.

#### 4.2.4. Vliv Quantum Dots částic na intenzitu chemiluminiscence při stanovení resorcinolu

Tab. č. 17: Vliv přidavku Quantum Dots částic s emisním maximem 520 nm na intenzitu chemiluminiscence resorcinolu

0,5 mM KMnO <sub>4</sub>					
koncentrace QD částic [μl/ml]	0	2	5	10	200
intenzita CL [nA]	18,88	19,71	19,95	19,97	19,07
1 mM KMnO <sub>4</sub>					
koncentrace QD částic [μl/ml]	0	2	5	10	200
intenzita CL [nA]	69,73	72,80	68,67	74,00	63,47
5 mM KMnO <sub>4</sub>					
koncentrace QD částic [μl/ml]	0	2	5	10	200
intenzita CL [nA]	310,00	324,67	356,00	354,00	347,33

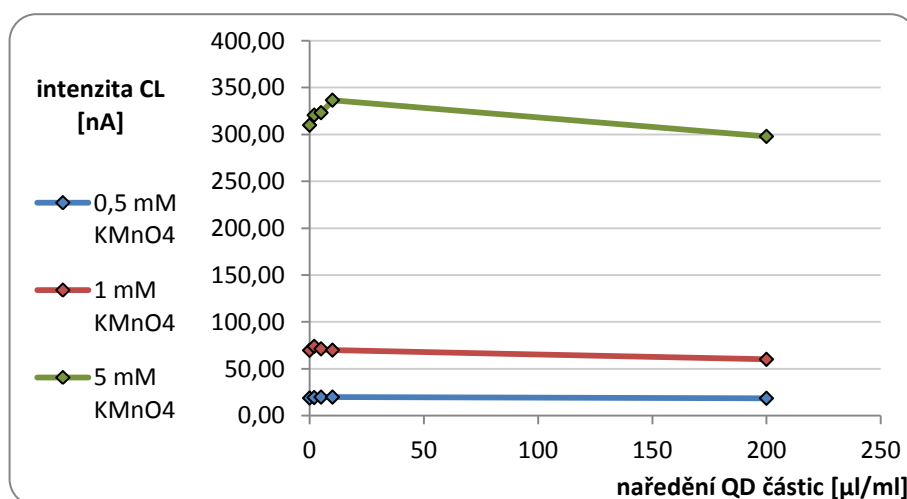




Obr. č. 21: Závislost intenzity CL na přidavku Quantum Dots částic s emisním maximem 520 nm v chemiluminiscenčním systému s manganistanem při oxidaci resorcinolu

Tab. č. 18: Vliv přidavku Quantum Dots částic s emisním maximem 575 nm na intenzitu chemiluminiscence resorcinolu

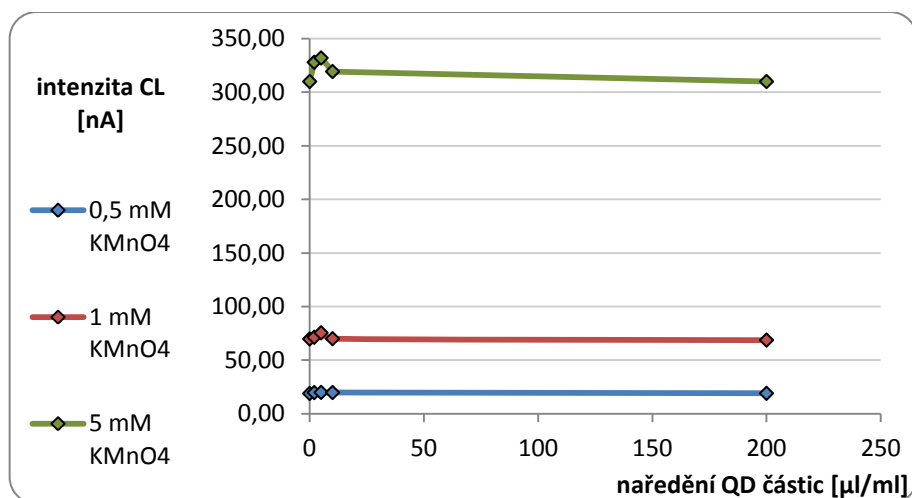
0,5 mM KMnO <sub>4</sub>					
koncentrace QD částic [μl/ml]	0	2	5	10	200
intenzita CL [nA]	18,88	19,39	19,87	19,89	18,61
1 mM KMnO <sub>4</sub>					
koncentrace QD částic [μl/ml]	0	2	5	10	200
intenzita CL [nA]	69,73	74,00	71,33	70,00	60,13
5 mM KMnO <sub>4</sub>					
koncentrace QD částic [μl/ml]	0	2	5	10	200
intenzita CL [nA]	310,00	320,67	323,33	336,67	298,00



Obr. č. 22: Závislost intenzity CL na přidavku Quantum Dots částic s emisním maximem 575 nm v chemiluminiscenčním systému s manganistanem při oxidaci resorcinolu

Tab. č. 19: Vliv přidavku Quantum Dots částic s emisním maximem 603 nm na intenzitu chemiluminiscence resorcinolu

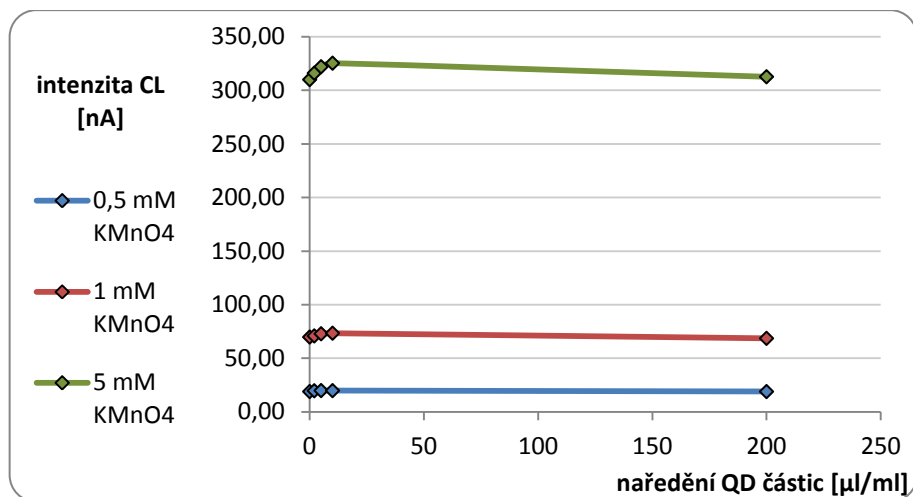
0,5 mM KMnO <sub>4</sub>					
koncentrace QD částic [μl/ml]	0	2	5	10	200
intenzita CL [nA]	18,88	19,68	19,87	19,73	18,99
1 mM KMnO <sub>4</sub>					
koncentrace QD částic [μl/ml]	0	2	5	10	200
intenzita CL [nA]	69,73	71,33	75,47	70,00	68,67
5 mM KMnO <sub>4</sub>					
koncentrace QD částic [μl/ml]	0	2	5	10	200
intenzita CL [nA]	310,00	328,00	332,00	319,33	310,00



Obr. č. 23: Závislost intenzity CL na přidavku Quantum Dots částic s emisním maximem 603 nm v chemiluminiscenčním systému s manganistanem při oxidaci resorcinolu

Tab. č. 20: Vliv přidavku Quantum Dots částic s emisním maximem 636 nm na intenzitu chemiluminiscence resorcinolu

0,5 mM KMnO <sub>4</sub>					
koncentrace QD částic [μl/ml]	0	2	5	10	200
intenzita CL [nA]	18,80	19,60	19,79	19,73	18,85
1 mM KMnO <sub>4</sub>					
koncentrace QD částic [μl/ml]	0	2	5	10	200
intenzita CL [nA]	69,73	70,80	72,80	73,33	68,53
5 mM KMnO <sub>4</sub>					
koncentrace QD částic [μl/ml]	0	2	5	10	200
intenzita CL [nA]	310,00	316,00	322,00	325,33	312,67



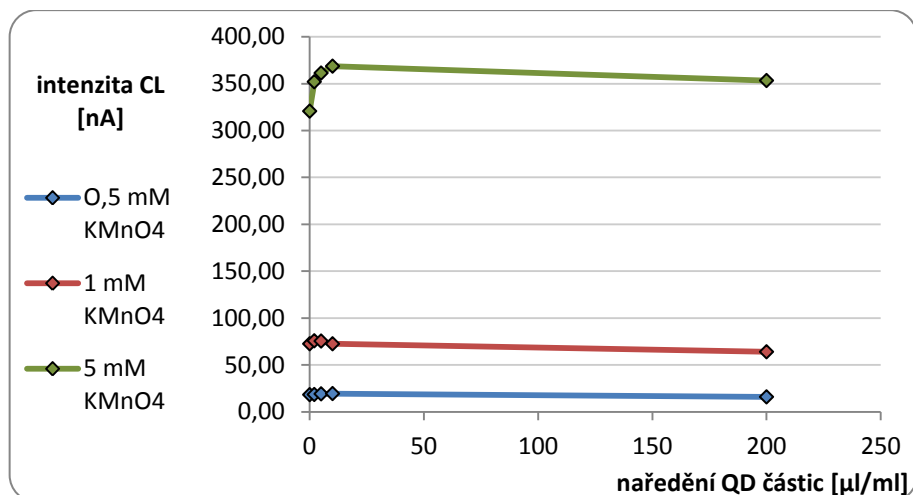
Obr. č. 24: Závislost intenzity CL na přidavku Quantum Dots částic s emisním maximem 636 nm v chemiluminiscenčním systému s manganistanem při oxidaci resorcinolu

Při měření s resorcinolem při koncentraci manganistanu 5 mmol/l byly zaznamenány nejvyšší hodnoty intenzity CL u QD částic s emisním maximem 520 nm s naředěním postupem II a III. V porovnání s ostatními analyty bylo výraznějšího nárůstu intenzity CL dosaženo i za použití QD částic s emisním maximem 603 nm a mírný nárůst intenzity CL byl pozorován také při 636 nm.

#### 4.2.5. Vliv Quantum Dots částic na intenzitu chemiluminiscence při stanovení floroglucinolu

Tab. č. 21: Vliv přidavku Quantum Dots částic s emisním maximem 520 nm na intenzitu chemiluminiscence floroglucinolu

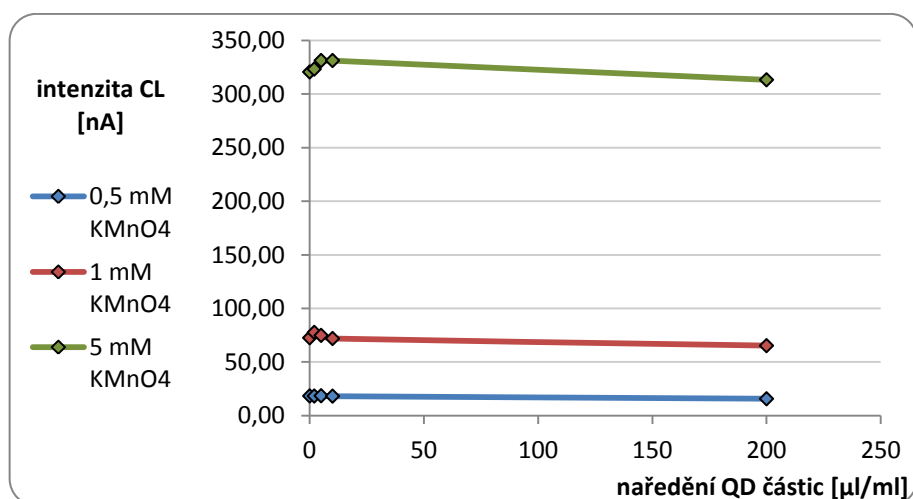
0,5 mM KMnO <sub>4</sub>					
koncentrace QD částic [μl/ml]	0	2	5	10	200
intenzita CL [nA]	18,27	18,43	19,12	19,44	15,92
1 mM KMnO <sub>4</sub>					
koncentrace QD částic [μl/ml]	0	2	5	10	200
intenzita CL [nA]	72,53	75,73	75,47	72,53	64,00
5 mM KMnO <sub>4</sub>					
koncentrace QD částic [μl/ml]	0	2	5	10	200
intenzita CL [nA]	320,67	352,00	361,33	368,67	353,33



Obr. č. 25: Závislost intenzity CL na přidavku Quantum Dots částic s emisním maximem 520 nm v chemiluminiscenčním systému s manganistanem při oxidaci floroglucinolu

Tab. č. 22: Vliv přidavku Quantum Dots částic s emisním maximem 575 nm na intenzitu chemiluminiscence floroglucinolu

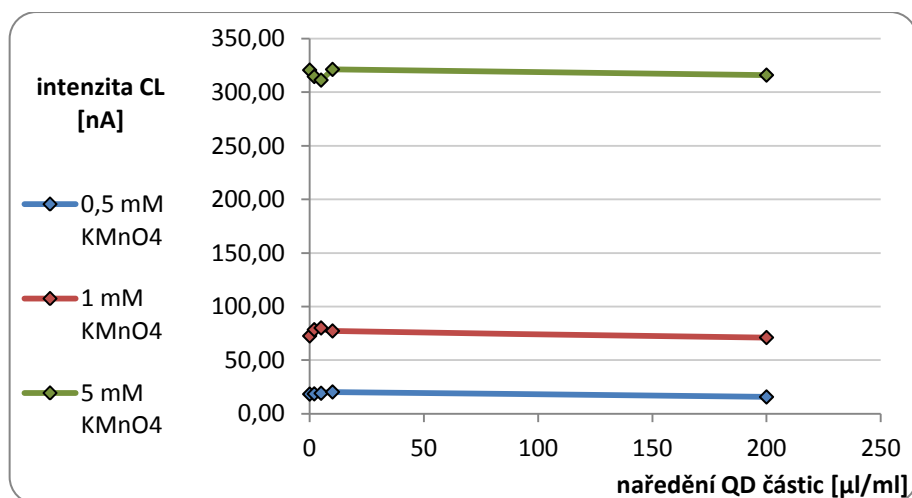
0,5 mM KMnO <sub>4</sub>					
koncentrace QD částic [μl/ml]	0	2	5	10	200
intenzita CL [nA]	18,27	18,21	18,48	18,11	15,63
1 mM KMnO <sub>4</sub>					
koncentrace QD částic [μl/ml]	0	2	5	10	200
intenzita CL [nA]	72,53	76,60	74,80	71,87	65,20
5 mM KMnO <sub>4</sub>					
koncentrace QD částic [μl/ml]	0	2	5	10	200
intenzita CL [nA]	320,67	323,33	331,33	331,33	313,33



Obr. č. 26: Závislost intenzity CL na přidavku Quantum Dots částic s emisním maximem 575 nm v chemiluminiscenčním systému s manganistanem při oxidaci floroglucinolu

Tab. č. 23: Vliv přidavku Quantum Dots částic s emisním maximem 603 nm na intenzitu chemiluminiscence floroglucinolu

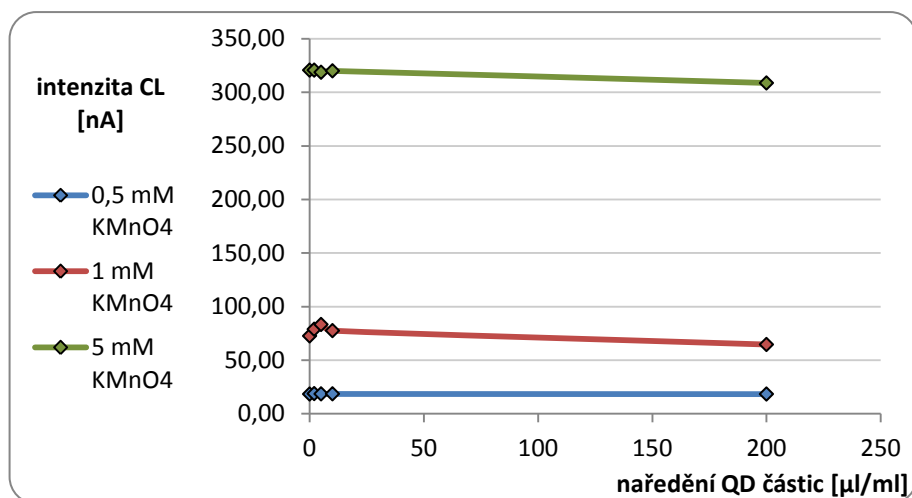
0,5 mM KMnO <sub>4</sub>					
koncentrace QD částic [μl/ml]	0	2	5	10	200
intenzita CL [nA]	18,27	18,48	19,07	20,29	15,60
1 mM KMnO <sub>4</sub>					
koncentrace QD částic [μl/ml]	0	2	5	10	200
intenzita CL [nA]	72,53	78,40	80,00	77,20	71,07
5 mM KMnO <sub>4</sub>					
koncentrace QD částic [μl/ml]	0	2	5	10	200
intenzita CL [nA]	320,67	314,67	311,33	321,33	316,00



Obr. č. 27: Závislost intenzity CL na přidavku Quantum Dots částic s emisním maximem 603 nm v chemiluminiscenčním systému s manganistanem při oxidaci floroglucinolu

Tab. č. 24: Vliv přidavku Quantum Dots částic s emisním maximem 636 nm na intenzitu chemiluminiscence floroglucinolu

0,5 mM KMnO <sub>4</sub>					
naředění QD částic [μl/ml]	0	2	5	10	200
intenzita CL [nA]	18,27	18,67	18,43	18,48	18,27
1 mM KMnO <sub>4</sub>					
naředění QD částic [μl/ml]	0	2	5	10	200
intenzita CL [nA]	72,53	78,80	83,20	77,47	64,53
5 mM KMnO <sub>4</sub>					
naředění QD částic [μl/ml]	0	2	5	10	200
intenzita CL [nA]	320,67	320,67	318,67	320,00	308,67



Obr. č. 28: Závislost intenzity CL na přidavku Quantum Dots částic s emisním maximem 636 nm v chemiluminiscenčním systému s manganistanem při oxidaci floroglucinelu

Floroglucinol se chováním nejvíce podobal kyselině gallové, ale byl zde zřetelný nižší nárůst intenzity CL oproti Cl systému bez přidání Quantum Dots částic.

U nižších koncentrací manganistanu 0,5 a 1 mmol/l nebyl zaznamenán výrazně vyšší nebo nižší vliv QD částic na intenzitu chemiluminiscence oxidačních produktů všech uvedených analytů.

#### 4.2.6. Vliv analytů na opakovatelnost měření

V chemiluminiscenčním systému s 0,5 mM KMnO<sub>4</sub> se při hodnocení výšky píku pohybovaly hodnoty relativní směrodatné odchylky pro kyselinu gallovou v rozmezí od 0,22 do 6,10 %, pro hydrochinon od 0,21 do 2,17 %, pro pyrokatechin od 0,19 do 1,25%, pro resorcinol od 0,19 do 6,57 % a pro floroglucinol od 0,35 do 2,21 %. V chemiluminiscenčním systému s 1 mM KMnO<sub>4</sub> se v průběhu měření pohybovaly hodnoty RSD pro kyselinu gallovou v rozmezí od 0,28 do 2,65 %, pro hydrochinon od 0,25 do 1,39 %, pro pyrokatechin od 0,26 do 1,76 %, pro resorcinol od 0,47 do 3,53 % a pro floroglucinol od 0,42 do 3,80 %.

V chemiluminiscenčním systému s 0,5 mM KMnO<sub>4</sub> se v průběhu měření pohybovaly hodnoty RSD pro kyselinu gallovou v rozmezí od 0,26 do 2,94 %, pro hydrochinon od 0,29 do 4,83 %, pro pyrokatechin od 0,41 do 2,20 %, pro resorcinol od 0,29 do 6,46 % a pro floroglucinol od 0,29 do 1,56 %.

Tab. č. 25: Souhrnná tabulka pro vyhodnocení opakovatelnosti měření

	0,5 mM KMnO <sub>4</sub>				1 mM KMnO <sub>4</sub>				5 mM KMnO <sub>4</sub>			
EM [nm]	520	575	603	636	520	575	603	636	520	575	603	636
koncentrace QD	RSD [%]				RSD [%]				RSD [%]			
<b>kyselina gallová</b>												
2 µl/10 ml	2,75	1,39	1,05	1,36	0,28	0,48	1,25	1,00	0,30	1,14	0,92	1,32
5 µl/10 ml	1,48	0,22	0,98	0,37	0,95	2,16	0,72	0,28	2,94	1,48	0,90	1,72
10 µl/10 ml	3,51	2,18	0,44	0,58	2,60	2,14	0,55	1,27	0,26	0,56	1,00	1,20
200 µl/10 ml	0,50	0,70	6,10	4,48	0,74	2,65	0,57	1,06	1,39	1,25	1,15	1,66
<b>hydrochinon</b>												
2 µl/10 ml	0,55	0,35	0,55	0,57	0,89	0,89	1,13	0,88	1,48	0,29	0,58	0,59
5 µl/10 ml	1,14	0,54	0,20	0,61	0,25	0,25	1,13	0,89	2,62	1,05	0,90	0,76
10 µl/10 ml	0,82	0,36	0,61	0,35	0,90	1,23	1,39	0,91	1,11	1,05	0,29	1,63
200 µl/10 ml	1,07	2,17	0,37	0,21	0,79	0,72	0,54	0,28	0,29	4,83	2,29	1,39
<b>pyrokatechin</b>												
2 µl/10 ml	0,35	0,59	0,53	1,25	1,07	0,85	0,72	0,49	1,53	1,36	1,03	1,04
5 µl/10 ml	0,19	0,19	0,50	0,19	1,64	0,83	0,50	0,88	1,02	0,38	1,69	1,03
10 µl/10 ml	0,33	1,00	0,38	0,33	0,65	0,65	1,38	0,66	0,67	0,65	1,33	1,92
200 µl/10 ml	0,39	0,20	0,20	0,36	0,26	0,71	1,46	1,76	0,41	1,54	2,20	1,44
<b>resorcinol</b>												
2 µl/10 ml	0,38	6,57	1,00	0,58	2,24	3,53	2,60	2,81	1,27	1,64	3,26	1,86
5 µl/10 ml	0,19	0,19	0,19	0,19	2,35	1,15	1,09	1,19	1,21	1,17	3,84	1,34
10 µl/10 ml	0,19	1,87	0,83	0,51	1,59	0,47	2,03	1,43	6,46	0,74	0,59	0,29
200 µl/10 ml	0,20	0,73	0,87	0,53	2,59	1,91	0,55	0,73	5,35	0,55	0,53	1,21
<b>floroglucinol</b>												
2 µl/10 ml	0,54	0,41	2,21	0,53	1,74	2,63	2,73	1,81	0,93	1,27	0,30	1,56
5 µl/10 ml	1,37	0,61	1,10	0,54	2,38	1,31	1,08	0,79	1,38	1,51	1,32	0,30
10 µl/10 ml	1,78	1,16	2,60	0,35	0,69	2,05	0,42	1,29	0,68	1,51	0,29	1,02
200 µl/10 ml	3,10	1,93	1,35	0,90	0,51	2,18	2,07	3,80	1,07	1,31	0,52	0,61

\* (RSD – relativní směrodatná odchylka, EM – emisní maximum)

Vliv přídavku QD částic na opakovatelnost je v přijatelných mezích porovnatelných s měřením bez jejich přídavku, jen v několika případech přesahuje 3 %, ale většinou jsou hodnoty nižší. Proto můžeme prokázat, že se s částicemi v průtokovém systému manipuluje bez problémů a jejich dávkování je dostatečně opakovatelné.

### 4.3. Studium vlivu Quantum Dots částic na chemiluminiscenční systém s manganistanem v kyselém prostředí z pohledu přípravy jejich roztoků

Pro měření byly použity Quantum Dots částice s emisním maximem 520, 575, 603 a 636 nm, které byly připraveny pracovními postupy I-IV. Pracovní roztoky I QD částic byly připraveny naředěním 200  $\mu\text{l}$ /10 ml vodou, pracovní roztoky II QD částic byly připraveny naředěním 10  $\mu\text{l}$ /10 ml vodou, pracovní roztoky III QD částic byly připraveny naředěním 5  $\mu\text{l}$ /10 ml vodou, pracovní roztoky IV QD částic byly připraveny naředěním 2  $\mu\text{l}$ /10 ml vodou.

#### 4.3.1. Vliv Quantum Dots částic s emisním maximem při 520 nm na intenzitu chemiluminiscence

##### 4.3.1.1. Vliv QD částic s emisním maximem 520 nm při koncentraci manganistanu 0,5 mmol/l

Tab. č. 26: Vliv Quantum Dots částic (520 nm) připravených pracovním postupem I

analyt	výška píku			$\phi$	SD	RSD [%]	intenzita CL [nA]
	1	2	3				
kyselina gallová	2,22	2,08	2,12	2,14	0,06	2,75	17,12
hydrochinon	2,25	2,27	2,28	2,27	0,01	0,55	18,13
pyrokatechin	2,34	2,35	2,36	2,35	0,01	0,35	18,80
resorcinol	2,47	2,45	2,47	2,46	0,01	0,38	19,71
floroglucinol	2,29	2,30	2,32	2,30	0,01	0,54	18,43

Tab. č. 27: Vliv Quantum Dots částic (520 nm) připravených pracovním postupem II

analyt	výška píku			$\phi$	SD	RSD [%]	intenzita CL [nA]
	1	2	3				
kyselina gallová	2,11	2,04	2,1	2,08	0,03	1,48	16,67
hydrochinon	2,31	2,32	2,26	2,3	0,03	1,14	18,37
pyrokatechin	2,48	2,49	2,49	2,49	0,00	0,19	19,89
resorcinol	2,49	2,50	2,49	2,49	0,00	0,19	19,95
floroglucinol	2,43	2,35	2,39	2,39	0,03	1,37	19,12

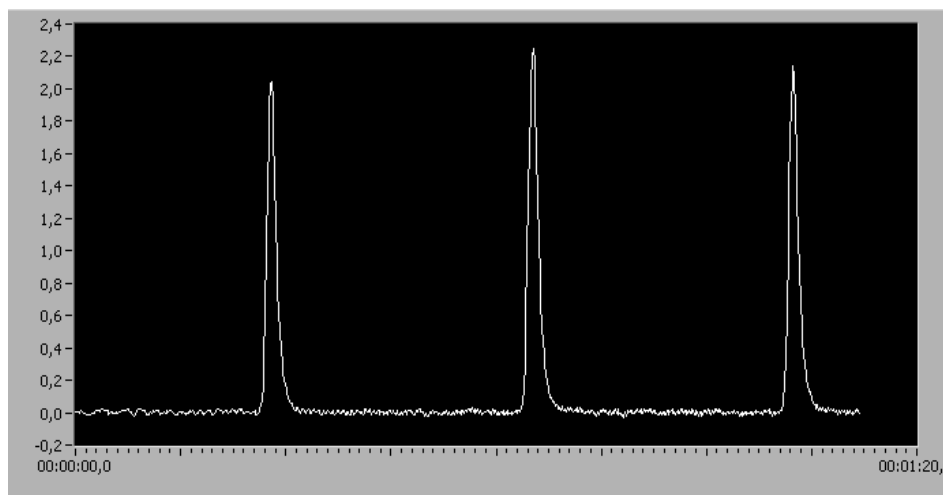
Tab. č. 28: Vliv Quantum Dots částic (520 nm) připravených pracovním postupem III

analyt	výška píku			$\phi$	SD	RSD [%]	intenzita CL [nA]
	1	2	3				
kyselina gallová	2,01	2,19	2,09	2,10	0,07	3,51	16,77
hydrochinon	2,30	2,30	2,26	2,29	0,02	0,82	18,29
pyrokatechin	2,47	2,48	2,49	2,48	0,01	0,33	19,84
resorcinol	2,49	2,50	2,50	2,50	0,00	0,19	19,97
floroglucinol	2,37	2,45	2,47	2,43	0,04	1,78	19,44

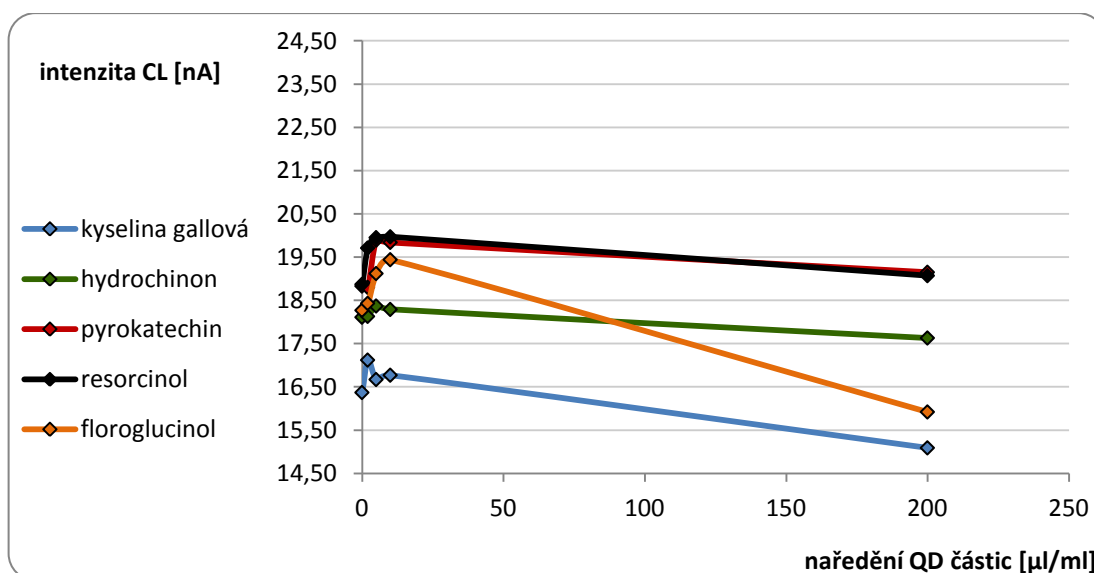


Tab. č. 29: Vliv Quantum Dots částic (520 nm) připravených pracovním postupem IV

analyt	výška píku			$\phi$	SD	RSD [%]	intenzita CL [nA]
	1	2	3				
kyselina gallová	1,90	1,88	1,88	1,89	0,01	0,50	15,09
hydrochinon	2,22	2,22	2,17	2,20	0,02	1,07	17,63
pyrokatechin	2,40	2,40	2,38	2,39	0,01	0,39	19,15
resorcinol	2,38	2,38	2,39	2,38	0,00	0,20	19,07
floroglucinol	1,92	1,98	2,07	1,99	0,06	3,10	15,92



Obr. č. 29: Ukázka záznamu měření s kyselinou gallovou a QD částicemi s emisním maximem 520 nm připravených postupem III (2,5 mM roztok kyseliny gallové, 0,25M roztok  $H_2SO_4$  a 0,5 mM roztok  $KMnO_4$ , pracovní napětí 400 V, rozsah stupnice 0,02  $\mu A$ )



Obr. č. 30: Závislost intenzity chemiluminiscence oxidačních produktů použitých analytů na koncentraci QD částic s emisním maximem 520 nm v systému s 0,5 mM manganistanem

#### 4.3.1.2. Vliv QD částic s emisním maximem 520 nm při koncentraci manganistanu 1 mmol/l

Tab. č. 30: Vliv Quantum Dots částic (520 nm) připravených pracovním postupem I

analyt	výška píku			$\phi$	SD	RSD [%]	intenzita CL [nA]
	1	2	3				
kyselina gallová	1,70	1,71	1,70	1,70	0,00	0,28	68,13
hydrochinon	1,90	1,91	1,94	1,92	0,02	0,89	76,67
pyrokatechin	1,90	1,95	1,92	1,92	0,02	1,07	76,93
resorcinol	1,87	1,77	1,82	1,82	0,04	2,24	72,80
floroglucinol	1,94	1,87	1,87	1,89	0,03	1,74	75,73

Tab. č. 31: Vliv Quantum Dots částic (520 nm) připravených pracovním postupem II

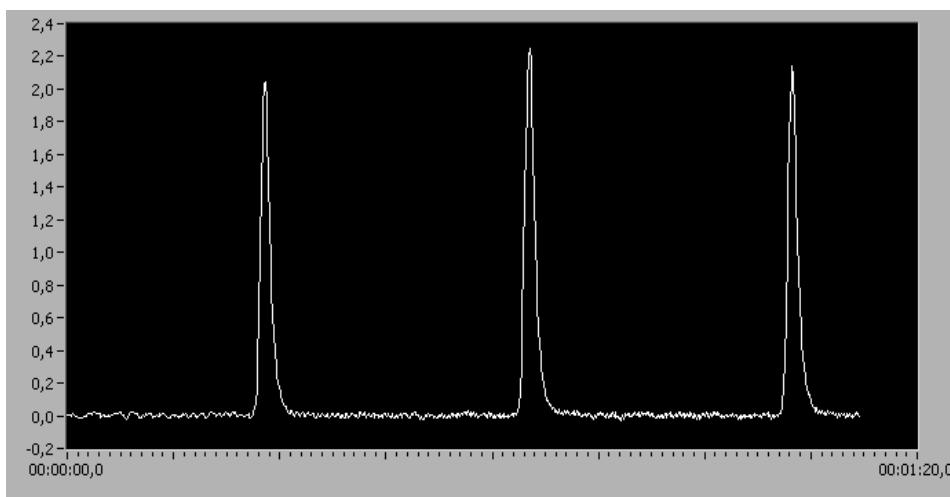
analyt	výška píku			$\phi$	SD	RSD [%]	intenzita CL [nA]
	1	2	3				
kyselina gallová	1,33	1,32	1,30	1,32	0,01	0,95	52,67
hydrochinon	1,90	1,89	1,90	1,90	0,00	0,25	75,87
pyrokatechin	2,00	1,97	2,05	2,01	0,03	1,64	80,27
resorcinol	1,75	1,74	1,66	1,72	0,04	2,35	68,67
floroglucinol	1,85	1,86	1,95	1,89	0,04	2,38	75,47

Tab. č. 32: Vliv Quantum Dots částic (520 nm) připravených pracovním postupem III

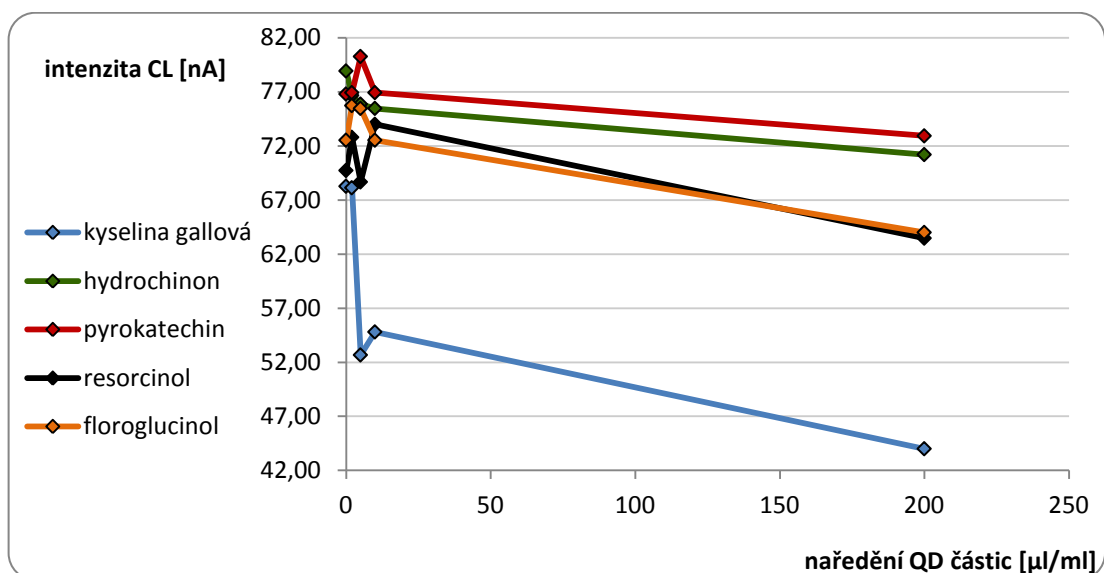
analyt	výška píku			$\phi$	SD	RSD [%]	intenzita CL [nA]
	1	2	3				
kyselina gallová	1,42	1,35	1,34	1,37	0,04	2,60	54,80
hydrochinon	1,87	1,88	1,91	1,89	0,02	0,90	75,47
pyrokatechin	1,94	1,91	1,92	1,92	0,01	0,65	76,93
resorcinol	1,86	1,88	1,81	1,85	0,03	1,59	74,00
floroglucinol	1,80	1,81	1,83	1,81	0,01	0,69	72,53

Tab. č. 33: Vliv Quantum Dots částic (520 nm) připravených pracovním postupem IV

analyt	výška píku			$\phi$	SD	RSD [%]	intenzita CL [nA]
	1	2	3				
kyselina gallová	1,09	1,10	1,11	1,10	0,01	0,74	44,00
hydrochinon	1,77	1,80	1,77	1,78	0,01	0,79	71,20
pyrokatechin	1,82	1,83	1,82	1,82	0,00	0,26	72,93
resorcinol	1,54	1,58	1,64	1,59	0,04	2,59	63,47
floroglucinol	1,59	1,60	1,61	1,60	0,01	0,51	64,00



Obr. č. 31: Ukázka záznamu měření s kyselinou gallovou a QD částicemi s emisním maximem 520 nm připravených postupem III (2,5 mM roztok kyseliny gallové, 0,25M roztok  $H_2SO_4$  a 1 mM roztok  $KMnO_4$ , pracovní napětí 400 V, rozsah stupnice 0,1  $\mu A$ )



Obr. č. 32: Závislost intenzity chemiluminiscence oxidačních produktů použitých analytů na koncentraci QD částic s emisním maximem 520 nm v systému s 1 mM manganistanem

#### 4.3.1.3. Vliv QD částic s emisním maximem 520 nm při koncentraci manganistanu 5 mmol/l

Tab. č. 34: Vliv Quantum Dots částic (520 nm) připravených pracovním postupem I

analyt	výška píku			$\phi$	SD	RSD[%]	intenzita CL [nA]
	1	2	3				
kyselina gallová	1,56	1,56	1,55	1,56	0,00	0,30	311,33
hydrochinon	1,69	1,66	1,63	1,66	0,02	1,48	332,00
pyrokatechin	1,22	1,26	1,22	1,23	0,02	1,53	246,67
resorcinol	1,60	1,62	1,65	1,62	0,02	1,27	324,67
floroglucinol	1,78	1,76	1,74	1,76	0,02	0,93	352,00

Tab. č. 35: Vliv Quantum Dots částic (520 nm) připravených pracovním postupem II

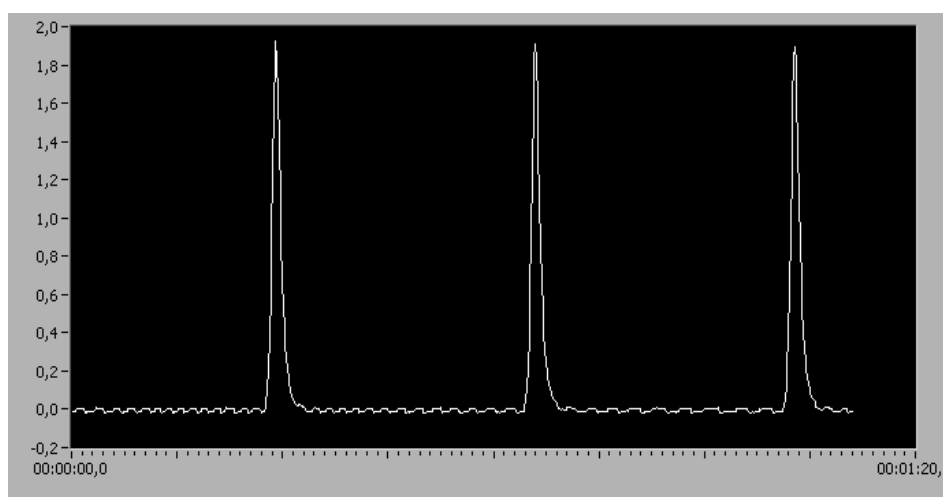
analyt	výška píku			$\phi$	SD	RSD [%]	intenzita CL [nA]
	1	2	3				
kyselina gallová	1,67	1,57	1,57	1,60	0,05	2,94	320,67
hydrochinon	1,77	1,66	1,72	1,72	0,04	2,62	343,33
pyrokatechin	1,24	1,21	1,23	1,23	0,01	1,02	245,33
resorcinol	1,79	1,80	1,75	1,78	0,02	1,21	356,00
floroglucinol	1,84	1,80	1,78	1,81	0,02	1,38	361,33

Tab. č. 36: Vliv Quantum Dots částic (520 nm) připravených pracovním postupem III

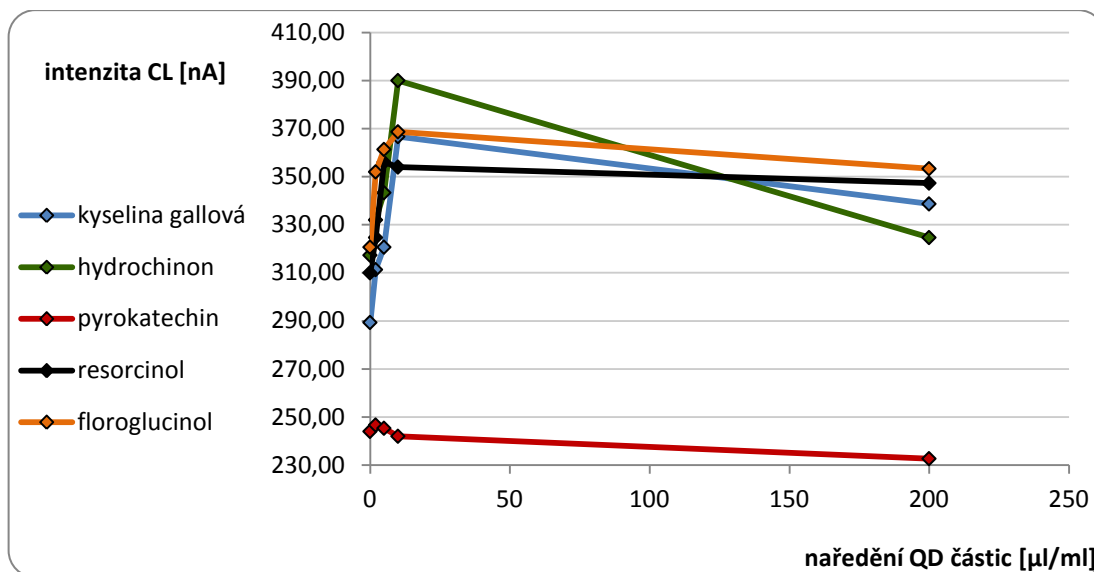
analyt	výška píku			$\phi$	SD	RSD [%]	intenzita CL [nA]
	1	2	3				
kyselina gallová	1,84	1,83	1,83	1,83	0,00	0,26	366,67
hydrochinon	1,93	1,98	1,94	1,95	0,02	1,11	390,00
pyrokatechin	1,20	1,22	1,21	1,21	0,01	0,67	242,00
resorcinol	1,61	1,87	1,83	1,77	0,11	6,46	354,00
floroglucinol	1,84	1,80	1,78	1,81	0,02	1,38	361,33

Tab. č. 37: Vliv Quantum Dots částic (520 nm) připravených pracovním postupem IV

analyt	výška píku			$\phi$	SD	RSD [%]	intenzita CL [nA]
	1	2	3				
kyselina gallová	1,66	1,71	1,71	1,69	0,02	1,39	338,67
hydrochinon	1,63	1,62	1,62	1,62	0,00	0,29	324,67
pyrokatechin	1,17	1,16	1,16	1,16	0,00	0,67	232,67
resorcinol	1,61	1,83	1,77	1,74	0,09	5,35	347,33
floroglucinol	1,78	1,78	1,74	1,77	0,02	1,07	353,33



Obr. č. 33: Ukázka záznamu měření s kyselinou gallovou a QD částicemi s emisním maximem 520 nm připravených postupem III (2,5 mM roztok kyseliny gallové, 0,25M roztok  $H_2SO_4$  a 5 mM roztok  $KMnO_4$ , pracovní napětí 400 V, rozsah stupnice 0,5  $\mu A$ )



Obr. č. 34: Závislost intenzity chemiluminiscence oxidačních produktů použitých analytů na koncentraci QD částic s emisním maximem 520 nm v systému s 5 mM manganistanem

Hodnoty v tabulce č. 36 ukazují, že při přidání QD částic s emisním maximem 520 nm byla nejvyšší hodnota intenzity chemiluminiscence naměřena u hydrochinonu, při koncentraci  $\text{KMnO}_4$  5 mmol/l. Chemiluminiscenční signál byl oproti měření bez QD částic nejvíce zesílen přidávkem QD částic, které byly připraveny pracovním postupem III.

#### 4.3.2. Vliv Quantum Dots částic s emisním maximem při 575 nm na intenzitu chemiluminiscence

##### 4.3.2.1. Vliv QD částic s emisním maximem 575 nm při koncentraci manganistanu 0,5 mmol/l

Tab. č. 38: Vliv Quantum Dots částic (575 nm) připravených pracovním postupem I

analyt	výška píku			$\phi$	SD	RSD [%]	intenzita CL [nA]
	1	2	3				
kyselina gallová	2,03	2,07	2,10	2,07	0,03	1,39	16,53
hydrochinon	2,32	2,31	2,30	2,31	0,01	0,35	18,48
pyrokatechin	2,41	2,38	2,41	2,40	0,01	0,59	19,20
resorcinol	2,51	2,20	2,56	2,42	0,16	6,57	19,39
floroglucinol	2,29	2,27	2,27	2,28	0,01	0,41	18,21

Tab. č. 39: Vliv Quantum Dots částic (575 nm) připravených pracovním postupem II

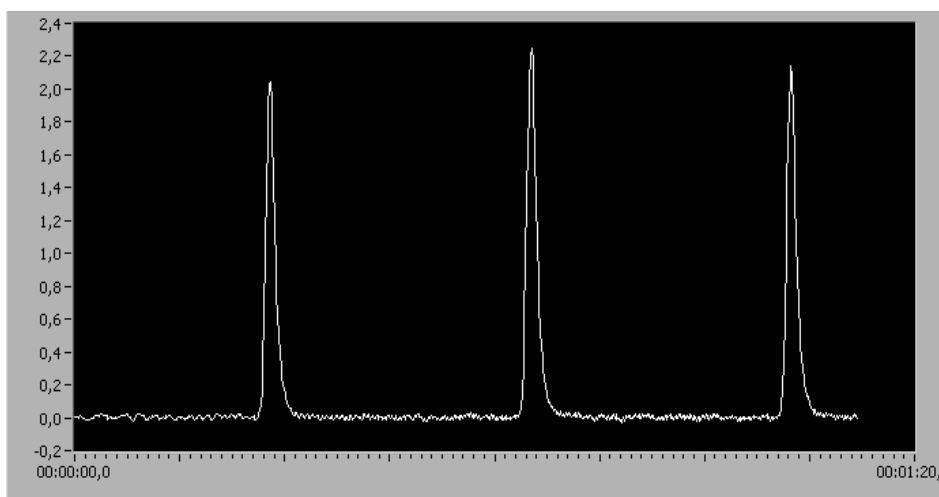
analyt	výška píku			∅	SD	RSD [%]	intenzita CL [nA]
	1	2	3				
kyselina gallová	2,17	2,16	2,16	2,16	0,00	0,22	17,31
hydrochinon	2,29	2,3	2,32	2,30	0,01	0,54	18,43
pyrokatechin	2,49	2,49	2,50	2,49	0,00	0,19	19,95
resorcinol	2,49	2,48	2,48	2,48	0,19	6,57	19,87
floroglucinol	2,30	2,30	2,33	2,31	0,01	0,61	18,48

Tab. č. 40: Vliv Quantum Dots částic (575 nm) připravených pracovním postupem III

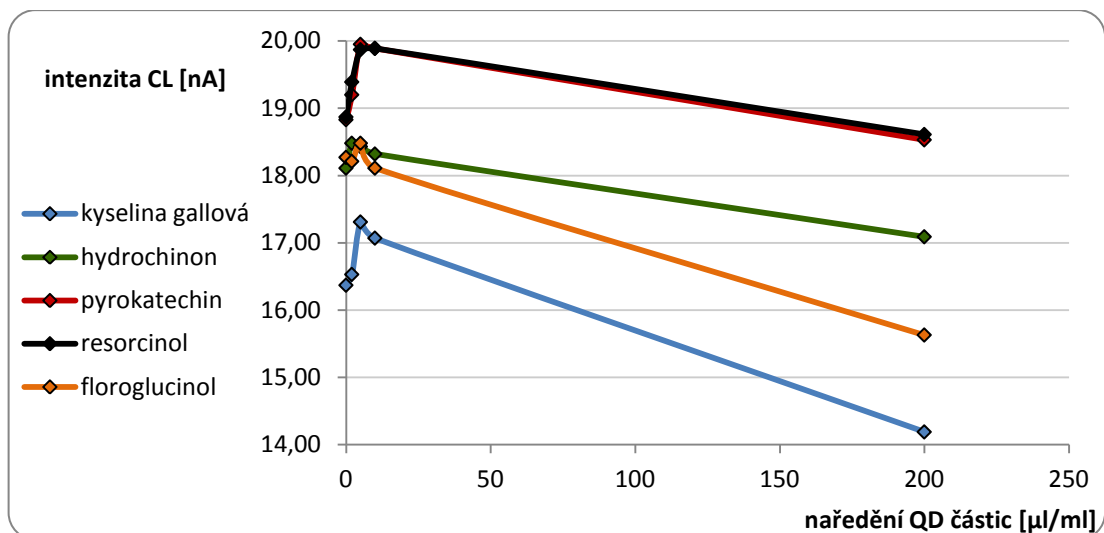
analyt	výška píku			∅	SD	RSD [%]	intenzita CL [nA]
	1	2	3				
kyselina gallová	2,07	2,18	2,15	2,13	0,05	2,18	17,07
hydrochinon	2,28	2,30	2,29	2,29	0,01	0,36	18,32
pyrokatechin	2,48	2,52	2,46	2,49	0,02	1,00	19,89
resorcinol	2,47	2,44	2,55	2,49	0,05	1,87	19,89
floroglucinol	2,24	2,25	2,30	2,26	0,03	1,16	18,11

Tab. č. 41: Vliv Quantum Dots částic (575 nm) připravených pracovním postupem IV

analyt	výška píku			∅	SD	RSD [%]	intenzita CL [nA]
	1	2	3				
kyselina gallová	1,79	1,77	1,76	1,77	0,01	0,70	14,19
hydrochinon	2,20	2,09	2,12	2,14	0,05	2,17	17,09
pyrokatechin	2,32	2,32	2,31	2,32	0,00	0,20	18,53
resorcinol	2,32	2,31	2,35	2,33	0,02	0,73	18,61
floroglucinol	1,98	1,98	1,90	1,95	0,04	1,93	15,63



Obr. č. 35: Ukázka záznamu měření s kyselinou gallovou a QD částicemi s emisním maximem 575 nm připravených postupem III (2,5 mM roztok kyseliny gallové, 0,25M roztok  $H_2SO_4$  a 0,5 mM roztok  $KMnO_4$ , pracovní napětí 400 V, rozsah stupnice 0,02  $\mu A$ )



Obr. č. 36: Závislost intenzity chemiluminiscence oxidačních produktů použitých analytů na naředění QD částic s emisním maximem 575 nm v systému s 0,5 mM manganistanem

#### 4.3.2.2. Vliv QD částic s emisním maximem 575 nm při koncentraci manganistanu 1 mmol/l

Tab. č. 42: Vliv Quantum Dots částic (575 nm) připravených pracovním postupem I

analyt	výška píku			ø	SD	RSD [%]	intenzita CL [nA]
	1	2	3				
kyselina gallová	1,70	1,71	1,72	1,71	0,01	0,48	68,40
hydrochinon	1,90	1,91	1,94	1,92	0,02	0,89	76,67
pyrokatechin	1,91	1,93	1,89	1,91	0,02	0,85	76,40
resorcinol	1,93	1,85	1,77	1,85	0,07	3,53	74,00
floroglucinol	1,92	1,89	2,01	1,94	0,05	2,63	77,60

Tab. č. 43: Vliv Quantum Dots částic (575 nm) připravených pracovním postupem II

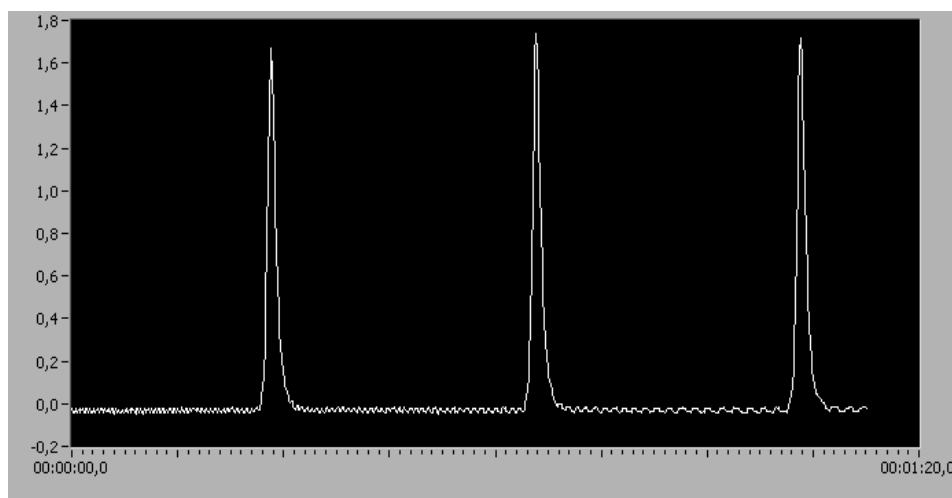
analyt	výška píku			ø	SD	RSD [%]	intenzita CL [nA]
	1	2	3				
kyselina gallová	1,62	1,70	1,63	1,65	0,04	2,16	66,00
hydrochinon	1,89	1,90	1,89	1,89	0,00	0,25	75,73
pyrokatechin	1,99	1,97	1,95	1,97	0,02	0,83	78,80
resorcinol	1,78	1,76	1,81	1,78	0,02	1,15	71,33
floroglucinol	1,84	1,87	1,90	1,87	0,02	1,31	74,80

Tab. č. 44: Vliv Quantum Dots částic (575 nm) připravených pracovním postupem III

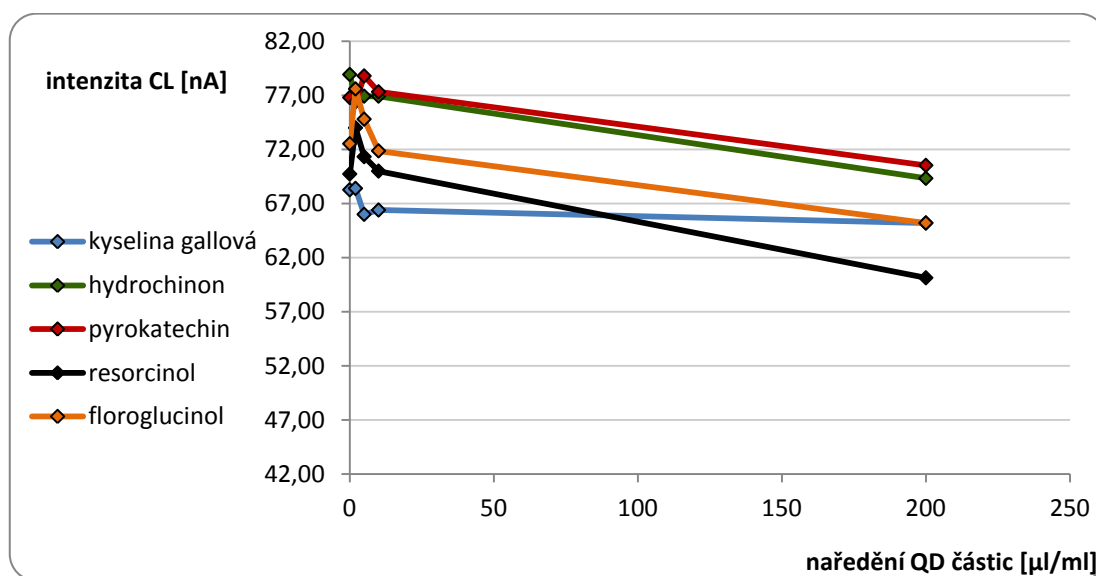
analyt	Výška píku			ø	SD	RSD [%]	intenzita CL [nA]
	1	2	3				
kyselina gallová	1,61	1,68	1,69	1,66	0,04	2,14	66,4
hydrochinon	1,94	1,94	1,89	1,92	0,02	1,23	76,93
pyrokatechin	1,95	1,92	1,93	1,93	0,01	0,65	77,33
resorcinol	1,76	1,75	1,74	1,75	0,01	0,47	70,00
floroglucinol	1,75	1,80	1,84	1,80	0,04	2,05	71,87

Tab. č. 45: Vliv Quantum Dots částic (575 nm) připravených pracovním postupem IV

analyt	výška píku			ø	SD	RSD [%]	intenzita CL [nA]
	1	2	3				
kyselina gallová	1,67	1,57	1,65	1,63	0,04	2,65	65,20
hydrochinon	1,75	1,73	1,72	1,73	0,01	0,72	69,33
pyrokatechin	1,78	1,76	1,75	1,76	0,01	0,71	70,53
resorcinol	1,50	1,47	1,54	1,50	0,03	1,91	60,13
floroglucinol	1,68	1,60	1,61	1,63	0,04	2,18	65,20



Obr. č. 37: Ukázka záznamu měření s kyselinou gallovou a QD částicemi s emisním maximem 575 nm připravených postupem III (2,5 mM roztok kyseliny gallové, 0,25M roztok  $H_2SO_4$  a 1 mM roztok  $KMnO_4$ , pracovní napětí 400 V, rozsah stupnice 0,1  $\mu A$ )



Obr. č. 38: Závislost intenzity chemiluminiscence oxidačních produktů použitých analytů na koncentraci QD částic s emisním maximem 575 nm v systému s 1 mM manganistanem



### 4.3.2.3. Vliv QD částic s emisním maximem 575 nm při koncentraci manganistanu 5 mmol/l

Tab. č. 46: Vliv Quantum Dots částic (575 nm) připravených pracovním postupem I

analyt	výška píku			∅	SD	RSD [%]	intenzita CL [nA]
	1	2	3				
kyselina gallová	1,47	1,50	1,51	1,49	0,02	1,14	298,67
hydrochinon	1,61	1,60	1,61	1,61	0,00	0,29	321,33
pyrokatechin	1,23	1,27	1,24	1,25	0,02	1,36	249,33
resorcinol	1,59	1,58	1,64	1,60	0,03	1,64	320,67
floroglucinol	1,64	1,62	1,59	1,62	0,02	1,27	323,33

Tab. č. 47: Vliv Quantum Dots částic (575 nm) připravených pracovním postupem II

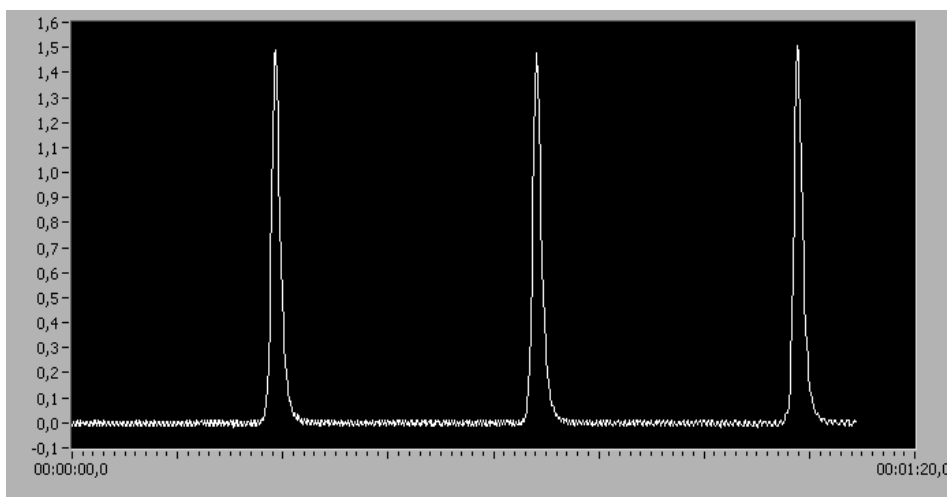
analyt	výška píku			∅	SD	RSD [%]	intenzita CL [nA]
	1	2	3				
kyselina gallová	1,48	1,43	1,47	1,46	0,02	1,48	292,00
hydrochinon	1,61	1,64	1,60	1,62	0,02	1,05	323,33
pyrokatechin	1,24	1,25	1,25	1,25	0,00	0,38	249,33
resorcinol	1,59	1,63	1,63	1,62	0,02	1,17	323,33
floroglucinol	1,63	1,69	1,65	1,66	0,02	1,51	331,33

Tab. č. 48: Vliv Quantum Dots částic (575 nm) připravených pracovním postupem III

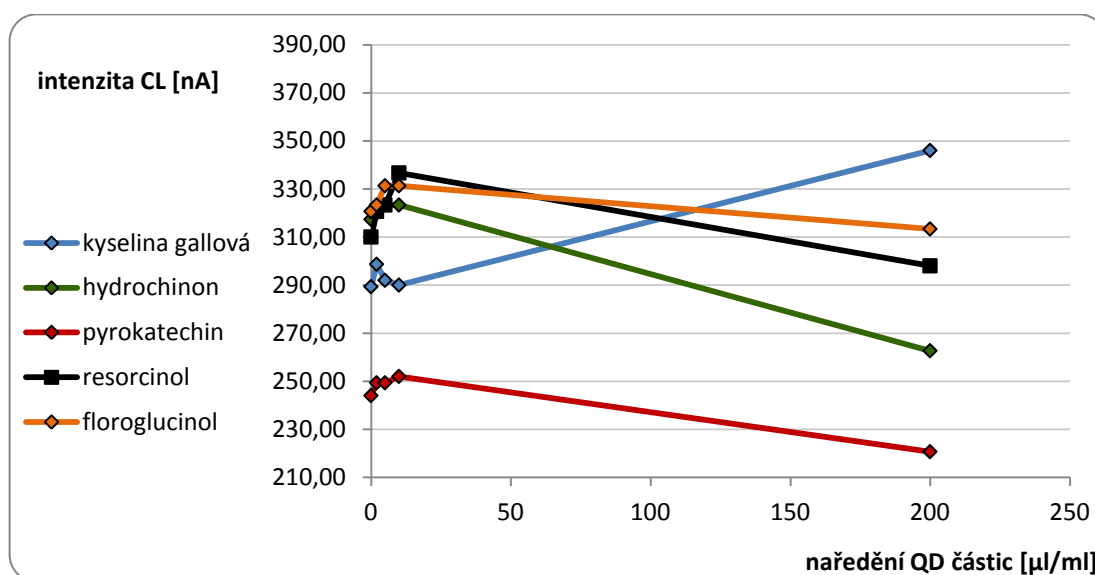
analyt	výška píku			∅	SD	RSD [%]	intenzita CL [nA]
	1	2	3				
kyselina gallová	1,45	1,44	1,46	1,45	0,01	0,56	290,00
hydrochinon	1,61	1,64	1,60	1,62	0,02	1,05	323,33
pyrokatechin	1,27	1,26	1,25	1,26	0,01	0,65	252,00
resorcinol	1,68	1,70	1,67	1,68	0,01	0,74	336,67
floroglucinol	1,63	1,69	1,65	1,66	0,02	1,51	331,33

Tab. č. 49: Vliv Quantum Dots částic (575 nm) připravených pracovním postupem IV

analyt	výška píku			∅	SD	RSD [%]	intenzita CL [nA]
	1	2	3				
kyselina gallová	1,74	1,75	1,70	1,73	0,02	1,25	346,00
hydrochinon	1,25	1,40	1,29	1,31	0,06	4,83	262,67
pyrokatechin	1,11	1,12	1,08	1,10	0,02	1,54	220,67
resorcinol	1,49	1,50	1,48	1,49	0,01	0,55	298,00
floroglucinol	1,59	1,57	1,54	1,57	0,02	1,31	313,33



Obr. č. 39: Ukázka záznamu měření s kyselinou gallovou a QD částicemi s emisním maximem 575 nm připravených postupem III (2,5 mM roztok kyseliny gallové, 0,25M roztok  $H_2SO_4$  a 5 mM roztok  $KMnO_4$ , pracovní napětí 400 V, rozsah stupnice 0,5  $\mu A$ )



Obr. č. 40: Závislost intenzity chemiluminiscence oxidačních produktů použitých analytů na koncentraci QD částic s emisním maximem 575 nm v systému s 5 mM manganistanem

Hodnoty uvedené v tabulce č. 49 ukazují, že při přidavku QD částic s emisním maximem 575 nm bylo nejvyšší intenzity chemiluminiscence dosaženo při vzniku oxidačního produktu kyseliny gallové, a to s přidavkem Quantum Dots částic naředěných postupem IV, oproti intenzitě CL naměřené bez použití QD částic v chemiluminiscenčním systému s manganistanem.

### 4.3.3. Vliv Quantum Dots částic s emisním maximem při 603 nm na intenzitu chemiluminiscence

#### 4.3.3.1. Vliv QD částic s emisním maximem 603 nm při koncentraci manganistanu 0,5 mmol/l

Tab. č. 50: Vliv Quantum Dots částic (603 nm) připravených pracovním postupem I

analyt	výška píku			∅	SD	RSD [%]	intenzita CL [nA]
	1	2	3				
kyselina gallová	2,04	2,03	2,08	2,05	0,02	1,05	16,40
hydrochinon	2,30	2,27	2,29	2,29	0,01	0,55	18,29
pyrokatechin	2,32	2,33	2,35	2,33	0,01	0,53	18,67
resorcinol	2,49	2,43	2,46	2,46	0,02	1,00	19,68
floroglucinol	2,29	2,26	2,38	2,31	0,05	2,21	18,48

Tab. č. 51: Vliv Quantum Dots částic (603 nm) připravených pracovním postupem II

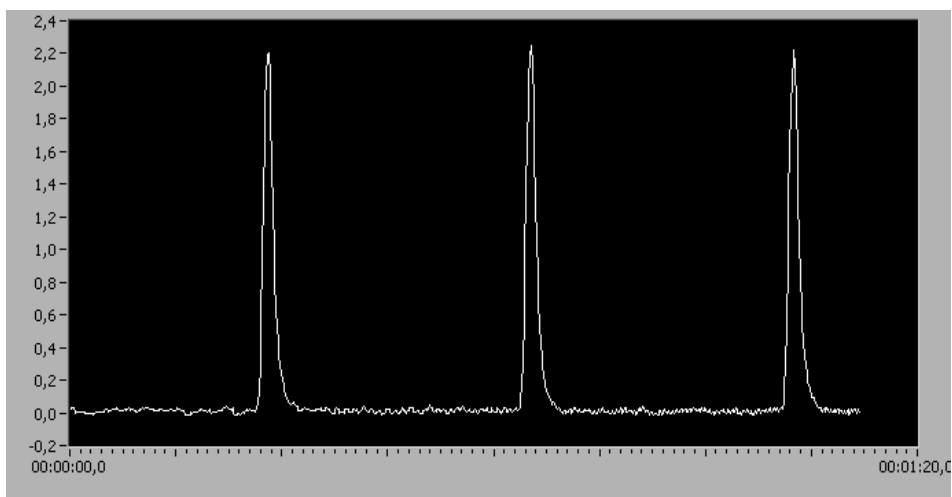
analyt	výška píku			∅	SD	RSD [%]	intenzita CL [nA]
	1	2	3				
kyselina gallová	2,17	2,21	2,22	2,20	0,02	0,98	17,60
hydrochinon	2,34	2,34	2,33	2,34	0,00	0,20	18,69
pyrokatechin	2,50	2,49	2,52	2,50	0,01	0,50	20,03
resorcinol	2,48	2,48	2,49	2,48	0,00	0,19	19,87
floroglucinol	2,36	2,37	2,42	2,38	0,03	1,10	19,07

Tab. č. 52: Vliv Quantum Dots částic (603 nm) připravených pracovním postupem III

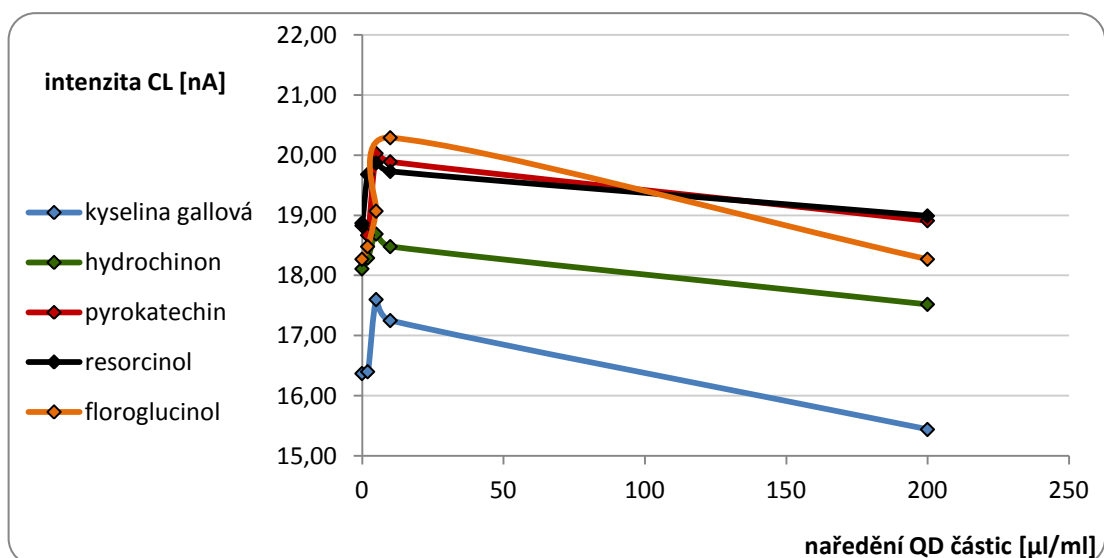
analyt	výška píku			∅	SD	RSD [%]	intenzita CL [nA]
	1	2	3				
kyselina gallová	2,15	2,17	2,15	2,16	0,01	0,44	17,25
hydrochinon	2,29	2,32	2,32	2,31	0,01	0,61	18,48
pyrokatechin	2,48	2,48	2,50	2,49	0,01	0,38	19,89
resorcinol	2,49	2,47	2,44	2,47	0,02	0,83	19,73
floroglucinol	2,55	2,45	2,61	2,54	0,07	2,60	20,29

Tab. č. 53: Vliv Quantum Dots částic (603 nm) připravených pracovním postupem IV

analyt	výška píku			∅	SD	RSD [%]	intenzita CL [nA]
	1	2	3				
kyselina gallová	2,09	1,81	1,89	1,93	0,12	6,10	15,44
hydrochinon	2,18	2,19	2,20	2,19	0,01	0,37	17,52
pyrokatechin	2,36	2,37	2,36	2,36	0,00	0,20	18,91
resorcinol	2,40	2,35	2,37	2,37	0,02	0,87	19,87
floroglucinol	2,24	2,30	2,31	1,95	0,45	1,35	18,27



Obr. č. 41: Ukázka záznamu měření s kyselinou gallovou a QD částicemi s emisním maximem 603 nm připravených postupem III (2,5 mM roztok kyseliny gallové, 0,25M roztok  $H_2SO_4$  a 0,5 mM roztok  $KMnO_4$ , pracovní napětí 400 V, rozsah stupnice 0,02  $\mu A$ )



Obr. č. 42: Závislost intenzity chemiluminiscence oxidačních produktů použitých analytů na koncentraci QD částic s emisním maximem 603 nm v systému s 0,5 mM manganistanem

#### 4.3.3.2. Vliv QD částic s emisním maximem 603 nm při koncentraci manganistanu 1 mmol/l

Tab. č. 54: Vliv Quantum Dots částic (603 nm) připravených pracovním postupem I

analyt	výška píku			$\bar{\phi}$	SD	RSD [%]	intenzita CL [nA]
	1	2	3				
kyselina gallová	1,70	1,75	1,74	1,73	0,02	1,25	69,20
hydrochinon	1,93	1,92	1,88	1,91	0,02	1,13	76,40
pyrokatechin	1,94	1,97	1,97	1,96	0,01	0,72	78,40
resorcinol	1,72	1,83	1,80	1,78	0,05	2,60	71,33
floroglucinol	1,90	1,95	2,03	1,96	0,05	2,73	78,40

Tab. č. 55: Vliv Quantum Dots částic (603 nm) připravených pracovním postupem II

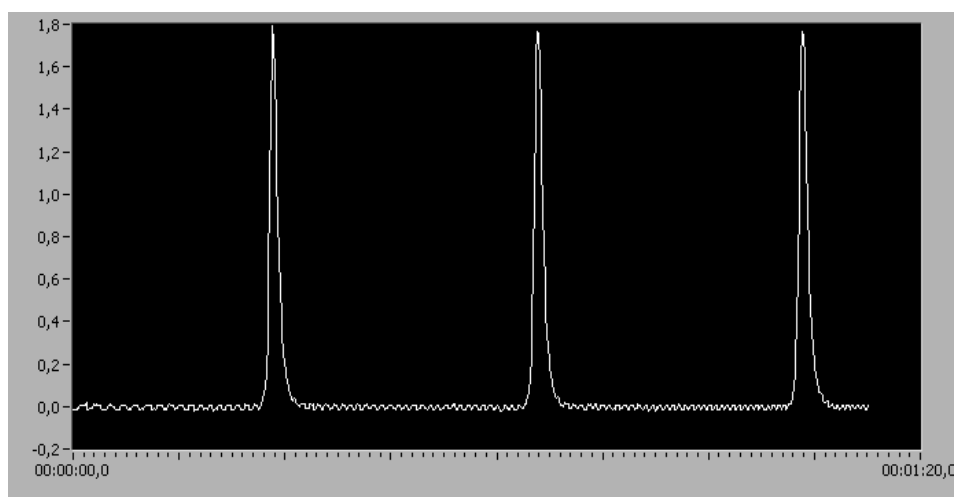
analyt	výška píku			∅	SD	RSD [%]	intenzita CL [nA]
	1	2	3				
kyselina gallová	1,72	1,75	1,73	1,73	0,01	0,72	69,33
hydrochinon	1,92	1,93	1,88	1,91	0,02	1,13	76,40
pyrokatechin	1,91	1,91	1,89	1,90	0,01	0,50	76,13
resorcinol	1,86	1,91	1,89	1,89	0,02	1,09	75,47
floroglucinol	1,97	2,02	2,01	2,00	0,02	1,08	80,00

Tab. č. 56: Vliv Quantum Dots částic (603 nm) připravených pracovním postupem III

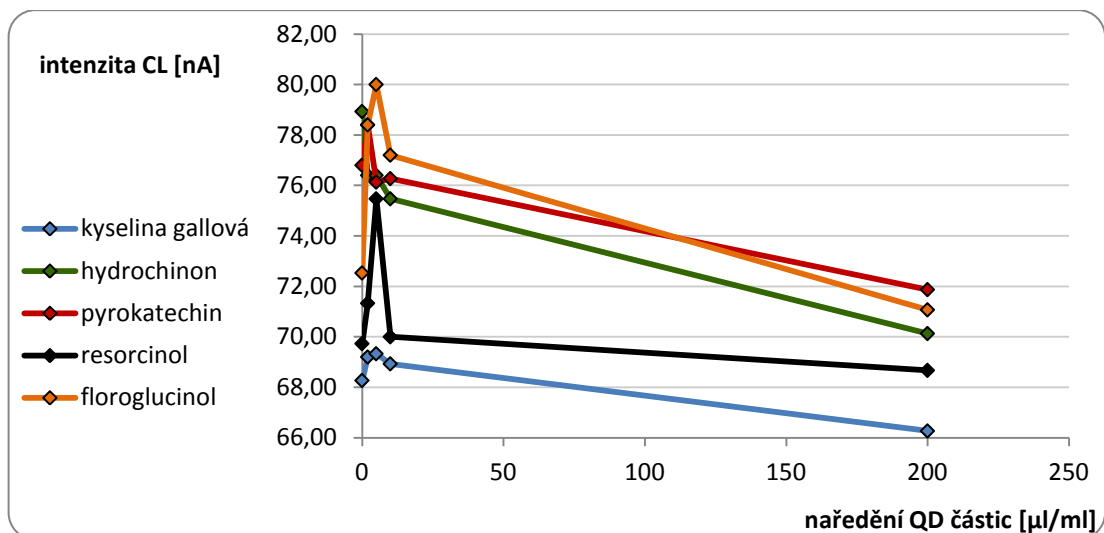
analyt	výška píku			∅	SD	RSD [%]	intenzita CL [nA]
	1	2	3				
kyselina gallová	1,71	1,73	1,73	1,72	0,01	0,55	68,93
hydrochinon	1,90	1,91	1,85	1,89	0,03	1,39	75,47
pyrokatechin	1,92	1,87	1,93	1,91	0,03	1,38	76,27
resorcinol	1,73	1,72	1,80	1,75	0,04	2,03	70,00
floroglucinol	1,92	1,94	1,93	1,93	0,01	0,42	77,20

Tab. č. 57: Vliv Quantum Dots částic (603 nm) připravených pracovním postupem IV

analyt	výška píku			∅	SD	RSD [%]	intenzita CL [nA]
	1	2	3				
kyselina gallová	1,65	1,67	1,65	1,66	0,01	0,57	66,27
hydrochinon	1,76	1,76	1,74	1,75	0,01	0,54	70,13
pyrokatechin	1,76	1,81	1,82	1,80	0,03	1,46	71,87
resorcinol	1,71	1,71	1,73	1,72	0,01	0,55	68,67
floroglucinol	1,82	1,73	1,78	1,78	0,04	2,07	71,07



Obr. č. 43: Ukázka záznamu měření s kyselinou gallovou a QD částicemi s emisním maximem 603 nm připravených postupem III (2,5 mM roztok kyseliny gallové, 0,25M roztok H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a 1 mM roztok KMnO<sub>4</sub>, pracovní napětí 400 V, rozsah stupnice 0,1 μA)



Obr. č. 44: Závislost intenzity chemiluminiscence oxidačních produktů použitých analytů na koncentraci QD částic s emisním maximem 603 nm v systému s 1 mM manganistanem

#### 4.3.3.3. Vliv QD částic s emisním maximem 603 nm při koncentraci manganistanu 5 mmol/l

Tab. č. 58: Vliv Quantum Dots částic (603 nm) připravených pracovním postupem I

analyt	výška píku			ø	SD	RSD [%]	intenzita CL [nA]
	1	2	3				
kyselina gallová	1,35	1,34	1,37	1,35	0,01	0,92	270,67
hydrochinon	1,61	1,61	1,63	1,62	0,01	0,58	323,33
pyrokatechin	1,20	1,22	1,23	1,22	0,01	1,03	243,33
resorcinol	1,58	1,63	1,71	1,64	0,05	3,26	328,00
floroglucinol	1,57	1,57	1,58	1,57	0,00	0,30	314,67

Tab. č. 59: Vliv Quantum Dots částic (603 nm) připravených pracovním postupem II

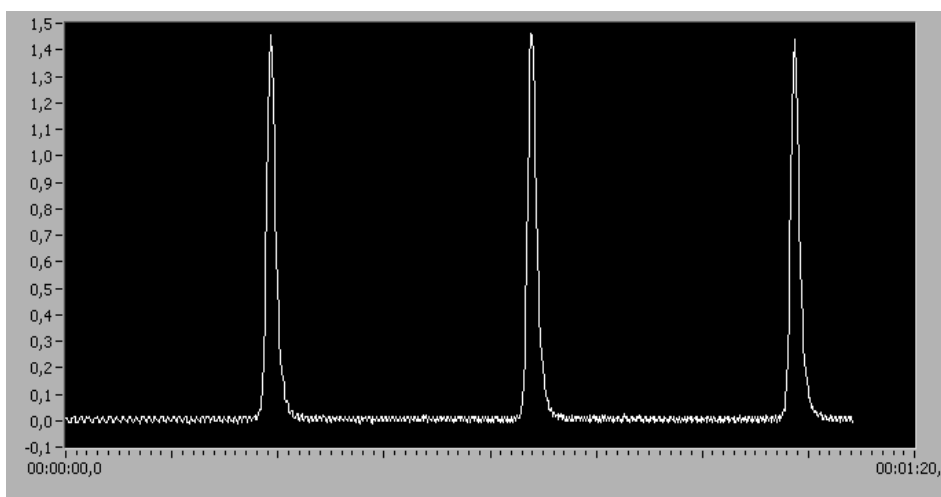
analyt	výška píku			ø	SD	RSD [%]	intenzita CL [nA]
	1	2	3				
kyselina gallová	1,40	1,39	1,37	1,39	0,01	0,90	277,33
hydrochinon	1,40	1,39	1,37	1,39	0,01	0,90	277,33
pyrokatechin	1,21	1,24	1,19	1,21	0,02	1,69	242,67
resorcinol	1,61	1,62	1,75	1,66	0,06	3,84	332,00
floroglucinol	1,58	1,53	1,56	1,56	0,02	1,32	311,33

Tab. č. 60: Vliv Quantum Dots částic (603 nm) připravených pracovním postupem III

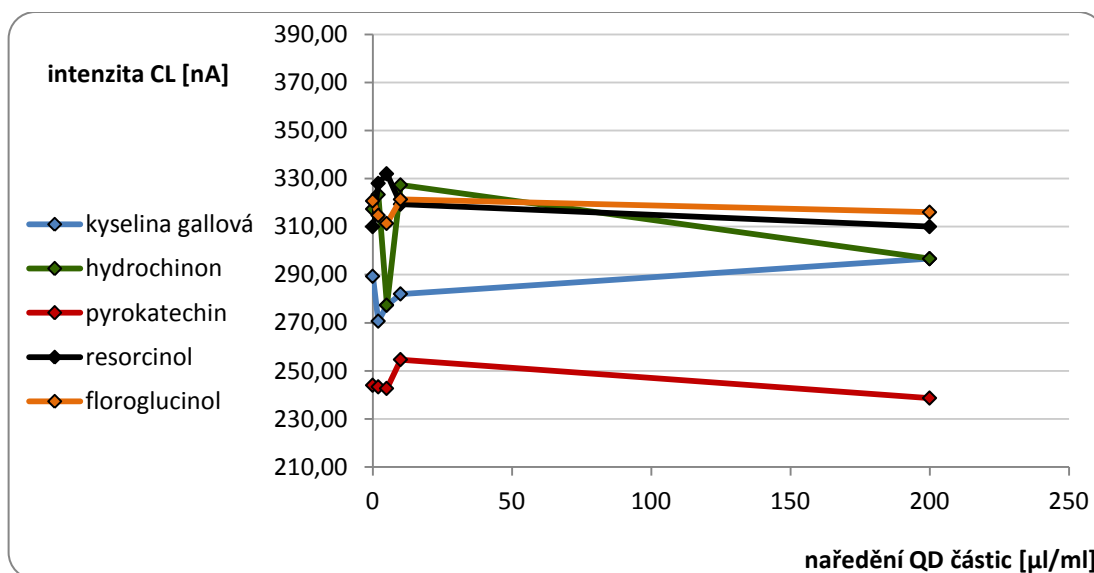
analyt	výška píku			ø	SD	RSD [%]	intenzita CL [nA]
	1	2	3				
kyselina gallová	1,42	1,42	1,39	1,41	0,01	1,00	282,00
hydrochinon	1,63	1,64	1,64	1,64	0,00	0,29	327,33
pyrokatechin	1,25	1,29	1,28	1,27	0,02	1,33	254,67
resorcinol	1,59	1,59	1,61	1,60	0,01	0,59	319,33
floroglucinol	1,61	1,60	1,61	1,61	0,00	0,29	321,33

Tab. č. 61: Vliv Quantum Dots částic (603 nm) připravených pracovním postupem IV

analyt	výška píku			$\phi$	SD	RSD [%]	intenzita CL [nA]
	1	2	3				
kyselina gallová	1,50	1,46	1,49	1,48	0,02	1,15	296,67
hydrochinon	1,47	1,45	1,53	1,48	0,03	2,29	296,67
pyrokatechin	1,17	1,18	1,23	1,19	0,03	2,20	238,67
resorcinol	1,56	1,55	1,54	1,55	0,01	0,53	310,00
floroglucinol	1,58	1,59	1,57	1,58	0,01	0,52	316,00



Obr. č. 45: Ukázka záznamu měření s kyselinou gallovou a QD částicemi s emisním maximem 603 nm připravených postupem III (2,5 mM roztok kyseliny gallové, 0,25M roztok  $H_2SO_4$  a 5 mM roztok  $KMnO_4$ , pracovní napětí 400 V, rozsah stupnice 0,5  $\mu A$ )



Obr. č. 46: Závislost intenzity chemiluminiscence oxidačních produktů použitých analytů na koncentraci QD částic s emisním maximem 603 nm v systému s 5 mM manganistanem

Při použití QD částic s emisním maximem 603 nm naředěných postupem II bylo dosaženo nejvyšší intenzity chemiluminiscence podle tabulky č. 59 u resorcinolu, která byla vyšší oproti CL systému s manganistanem bez použití QD částic.

#### 4.3.4. Vliv Quantum Dots částic s emisním maximem při 636 nm na intenzitu chemiluminiscence

##### 4.3.4.1. Vliv QD částic s emisním maximem 636 nm při koncentraci manganistanu 0,5 mmol/l

Tab. č. 62: Vliv Quantum Dots částic (636 nm) připravených pracovním postupem I

analyt	výška píku			∅	SD	RSD [%]	intenzita CL [nA]
	1	2	3				
kyselina gallová	2,14	2,07	2,10	2,10	0,03	1,36	16,83
hydrochinon	2,22	2,21	2,19	2,21	0,01	0,57	17,65
pyrokatechin	2,31	2,36	2,38	2,35	0,03	1,25	18,80
resorcinol	2,43	2,46	2,46	2,45	0,01	0,58	19,60
floroglucinol	2,33	2,35	2,32	2,33	0,01	0,53	18,67

Tab. č. 63: Vliv Quantum Dots částic (636 nm) připravených pracovním postupem II

analyt	výška píku			∅	SD	RSD [%]	intenzita CL [nA]
	1	2	3				
kyselina gallová	2,19	2,21	2,20	2,20	0,01	0,37	17,60
hydrochinon	2,32	2,35	2,32	2,33	0,01	0,61	18,64
pyrokatechin	2,52	2,51	2,51	2,51	0,00	0,19	20,11
resorcinol	2,47	2,48	2,47	2,47	0,00	0,19	19,79
floroglucinol	2,30	2,29	2,32	2,30	0,01	0,54	18,43

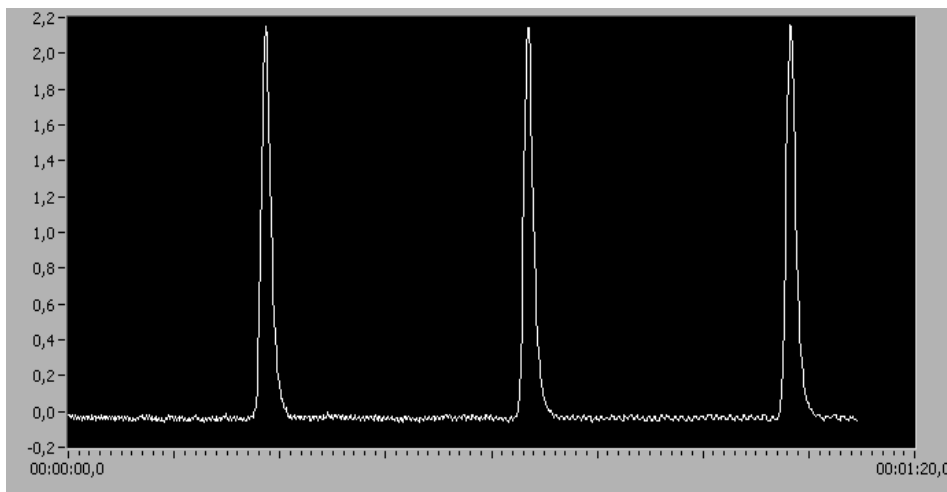
Tab. č. 64: Vliv Quantum Dots částic (636 nm) připravených pracovním postupem III

analyt	výška píku			∅	SD	RSD [%]	intenzita CL [nA]
	1	2	3				
kyselina gallová	2,13	2,15	2,16	2,15	0,01	0,58	17,17
hydrochinon	2,32	2,30	2,31	2,31	0,01	0,35	18,48
pyrokatechin	2,51	2,50	2,52	2,51	0,01	0,33	20,08
resorcinol	2,45	2,48	2,47	2,47	0,01	0,51	19,73
floroglucinol	2,31	2,30	2,32	2,31	0,01	0,35	18,48

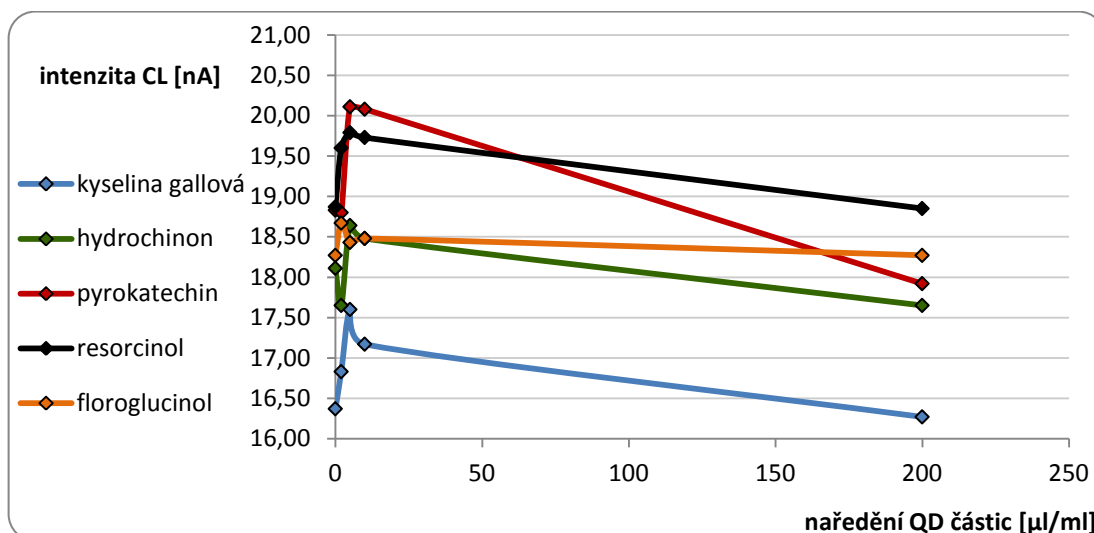
Tab. č. 65: Vliv Quantum Dots částic (636 nm) připravených pracovním postupem IV

analyt	výška píku			∅	SD	RSD [%]	intenzita CL [nA]
	1	2	3				
kyselina gallová	1,95	1,99	2,16	2,03	0,09	4,48	16,27
hydrochinon	2,21	2,20	2,21	2,21	0,00	0,21	17,65
pyrokatechin	2,24	2,25	2,23	2,24	0,01	0,36	17,92
resorcinol	2,34	2,37	2,36	2,36	0,01	0,53	18,85
floroglucinol	2,28	2,31	2,26	2,28	0,02	0,90	18,27





Obr. č. 47: Ukázka záznamu měření s kyselinou gallovou a QD částicemi s emisním maximem 636 nm připravených postupem III (2,5 mM roztok kyseliny gallové, 0,25M roztok  $H_2SO_4$  a 0,5 mM roztok  $KMnO_4$ , pracovní napětí 400 V, rozsah stupnice 0,02  $\mu A$ )



Obr. č. 48: Závislost intenzity chemiluminiscence oxidačních produktů použitých analytů na koncentraci QD částic s emisním maximem 636 nm v systému s 0,5 mM manganistanem

#### 4.3.4.2. Vliv QD částic s emisním maximem 636 nm při koncentraci manganistanu 1 mmol/l

Tab. č. 66: Vliv Quantum Dots částic (636 nm) připravených pracovním postupem I

analyt	výška píku			$\bar{\phi}$	SD	RSD [%]	intenzita CL [nA]
	1	2	3				
kyselina gallová	1,73	1,70	1,69	1,71	0,02	1,00	68,27
hydrochinon	1,92	1,95	1,91	1,93	0,02	0,88	77,07
pyrokatechin	1,93	1,95	1,93	1,94	0,01	0,49	77,47
resorcinol	1,73	1,84	1,74	1,77	0,05	2,81	70,80
floroglucinol	1,99	1,92	2,00	1,97	0,04	1,81	78,00

Tab. č. 67: Vliv Quantum Dots částic (636 nm) připravených pracovním postupem II

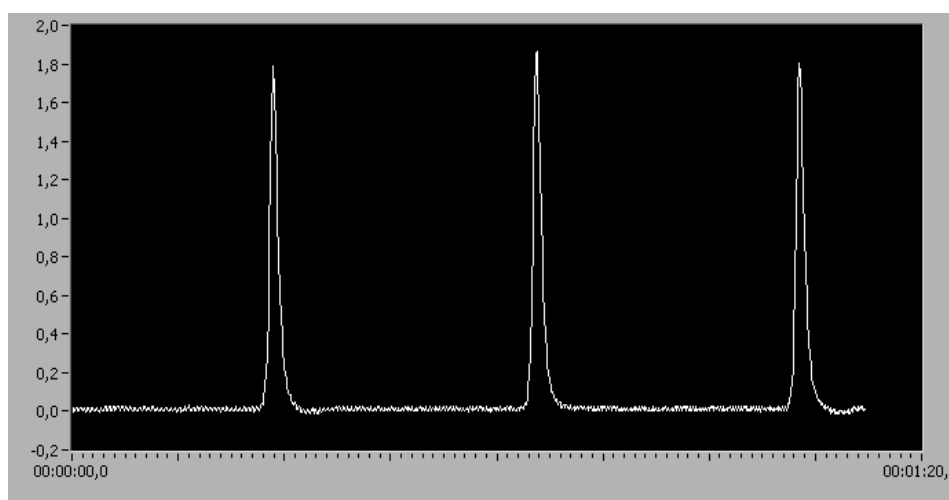
analyt	výška píku			∅	SD	RSD [%]	intenzita CL [nA]
	1	2	3				
kyselina gallová	1,68	1,69	1,68	1,68	0,00	0,28	67,33
hydrochinon	1,88	1,92	1,91	1,90	0,02	0,89	76,13
pyrokatechin	1,93	1,96	1,92	1,94	0,02	0,88	77,47
resorcinol	1,85	1,80	1,81	1,82	0,02	1,19	72,80
floroglucinol	2,08	2,10	2,06	2,08	0,02	0,79	83,20

Tab. č. 68: Vliv Quantum Dots částic (636 nm) připravených pracovním postupem III

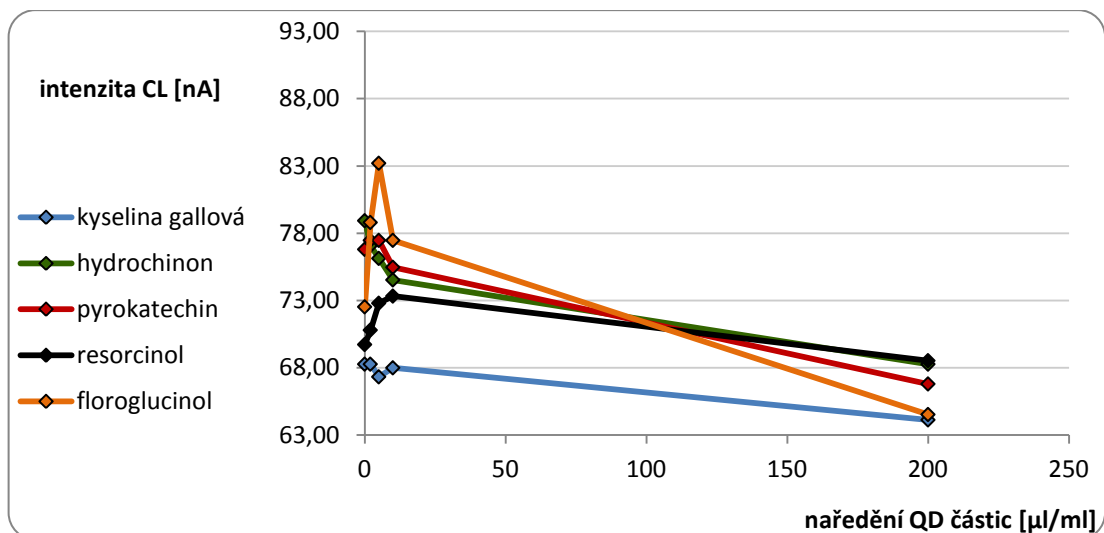
analyt	výška píku			∅	SD	RSD [%]	intenzita CL [nA]
	1	2	3				
kyselina gallová	1,69	1,68	1,73	1,70	0,02	1,27	68,00
hydrochinon	1,87	1,84	1,88	1,86	0,02	0,91	74,53
pyrokatechin	1,90	1,87	1,89	1,89	0,01	0,66	75,47
resorcinol	1,82	1,87	1,81	1,83	0,03	1,43	73,33
floroglucinol	1,91	1,93	1,97	1,94	0,02	1,29	77,47

Tab. č. 69: Vliv Quantum Dots částic (636 nm) připravených pracovním postupem IV

analyt	výška píku			∅	SD	RSD [%]	intenzita CL [nA]
	1	2	3				
kyselina gallová	1,58	1,62	1,61	1,60	0,02	1,06	64,13
hydrochinon	1,71	1,71	1,70	1,71	0,00	0,28	68,27
pyrokatechin	1,71	1,66	1,64	1,67	0,03	1,76	66,80
resorcinol	1,70	1,71	1,73	1,71	0,01	0,73	68,53
floroglucinol	1,54	1,61	1,69	1,61	0,06	3,80	64,53



Obr. č. 49: Ukázka záznamu měření s kyselinou gallovou a QD částicemi s emisním maximem 636 nm připravených postupem III (2,5 mM roztok kyseliny gallové, 0,25M roztok  $H_2SO_4$  a 1 mM roztok  $KMnO_4$ , pracovní napětí 400 V, rozsah stupnice 0,1  $\mu A$ )



Obr. č. 50: Závislost intenzity chemiluminiscence oxidačních produktů použitých analytů na koncentraci QD částic s emisním maximem 636 nm v systému s 1 mM manganistenem

#### 4.3.4.3. Vliv QD částic s emisním maximem 636 nm při koncentraci manganistanu 5 mmol/l

Tab. č. 70: Vliv Quantum Dots částic (636 nm) připravených pracovním postupem I

analyt	výška píku			ø	SD	RSD [%]	intenzita CL [nA]
	1	2	3				
kyselina gallová	1,45	1,41	1,41	1,42	0,02	1,32	284,67
hydrochinon	1,59	1,61	1,61	1,60	0,01	0,59	320,67
pyrokatechin	1,20	1,19	1,22	1,20	0,01	1,04	240,67
resorcinol	1,61	1,59	1,54	1,58	0,03	1,86	316,00
floroglucinol	1,57	1,63	1,61	1,60	0,02	1,56	320,67

Tab. č. 71: Vliv Quantum Dots částic (636 nm) připravených pracovním postupem II

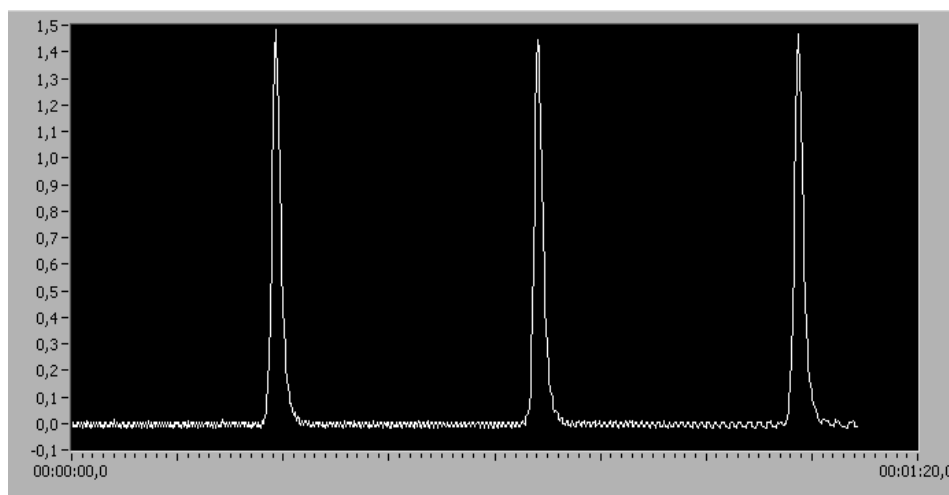
analyt	výška píku			ø	SD	RSD [%]	intenzita CL [nA]
	1	2	3				
kyselina gallová	1,39	1,42	1,45	1,42	0,02	1,72	284,00
hydrochinon	1,64	1,62	1,65	1,64	0,01	0,76	327,33
pyrokatechin	1,19	1,22	1,21	1,21	0,01	1,03	241,33
resorcinol	1,63	1,58	1,62	1,61	0,02	1,34	322,00
floroglucinol	1,59	1,59	1,60	1,59	0,00	0,30	318,67

Tab. č. 72: Vliv Quantum Dots částic (636 nm) připravených pracovním postupem III

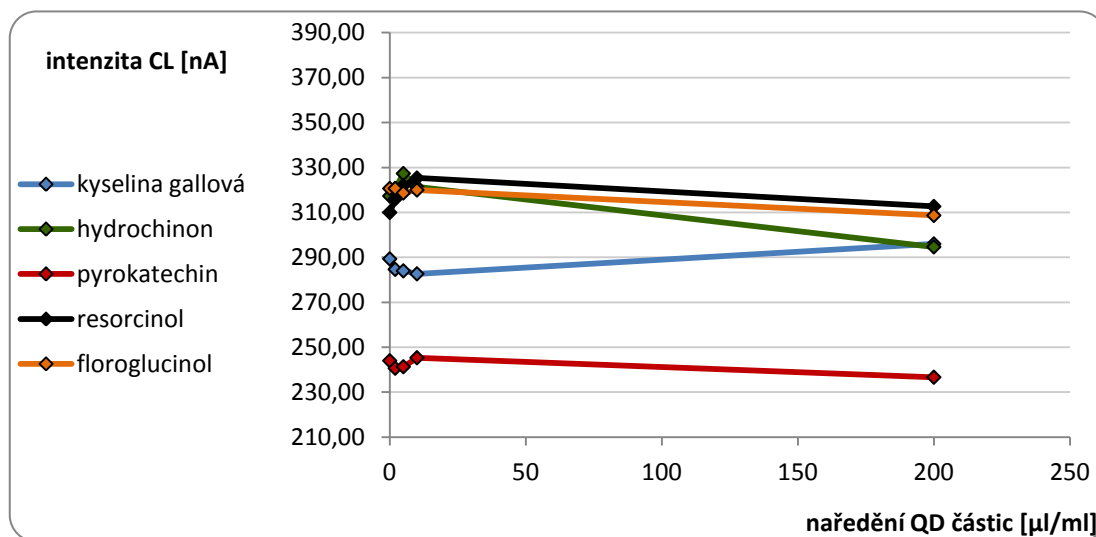
analyt	výška píku			ø	SD	RSD [%]	intenzita CL [nA]
	1	2	3				
kyselina gallová	1,43	1,39	1,42	1,41	0,02	1,20	282,67
hydrochinon	1,63	1,62	1,57	1,61	0,03	1,63	321,33
pyrokatechin	1,21	1,21	1,26	1,23	0,02	1,92	245,33
resorcinol	1,63	1,62	1,63	1,63	0,00	0,29	325,33
floroglucinol	1,60	1,58	1,62	1,60	0,02	1,02	320,00

Tab. č. 73: Vliv Quantum Dots částic (636 nm) připravených pracovním postupem IV

analyt	výška píku			ø	SD	RSD [%]	intenzita CL [nA]
	1	2	3				
kyselina gallová	1,48	1,51	1,45	1,48	0,02	1,66	296,00
hydrochinon	1,50	1,47	1,45	1,47	0,02	1,39	294,67
pyrokatechin	1,16	1,20	1,19	1,18	0,02	1,44	236,67
resorcinol	1,59	1,55	1,55	1,56	0,02	1,21	312,67
floroglucinol	1,55	1,55	1,53	1,54	0,01	0,61	308,67



Obr. č. 51: Ukázka záznamu měření s kyselinou gallovou a QD částicemi s emisním maximem 636 nm připravených postupem III (2,5 mM roztok kyseliny gallové, 0,25M roztok  $H_2SO_4$  a 5 mM roztok  $KMnO_4$ , pracovní napětí 400 V, rozsah stupnice 0,5  $\mu A$ )



Obr. č. 52: Závislost intenzity chemiluminiscence oxidačních produktů použitých analytů na koncentraci QD částic s emisním maximem 636 nm v systému s 5 mM manganistanem

Podle tabulky č. 71 je patrné, že nejvyšší hodnota intenzity chemiluminiscence byla naměřena u hydrochinonu, při přidání Quantum Dots částic s emisním maximem 636 nm, které byly naředěny postupem II. Naměřená data v této práci byla v kapitolách 4.2. a 4.3. zpracována ze dvou pohledů, proto se tabulky a grafy prolínají, avšak vyjadřují rozdílné závěry.

#### **4.4. Porovnání vlivu Quantum Dots částic s různým emisním maximem na vybrané analyty**

Byl porovnán vliv Quantum Dots částic s emisními maximy 520, 575, 603 a 636 nm na chemiluminiscenční stanovení kyseliny gallové, hydrochinonu, pyrokatechinu, resorcinolu a floroglucinolu pomocí výpočtu procentuálního nárůstu/poklesu intenzity chemiluminiscence.

Tab. č. 74: Procentuální nárůst/pokles intenzity CL při měření s kyselinou gallovou, 5 mM KMnO<sub>4</sub> a QD částicemi připravenými naředěním postupem I-IV oproti měření s manganistanem bez přídavku QD částic

	ředění	emisní maximum QD částic [nm]			
		520	575	603	636
nárůst/ pokles intenzity CL[%]	I	7,60	3,23	-6,45	-1,61
	II	10,84	0,93	-4,15	-1,84
	III	<b>26,73</b>	0,23	-2,53	-2,30
	IV	17,05	<b>17,59</b>	-2,54	2,31

Tab. č. 75: Procentuální nárůst/pokles intenzity CL při měření s hydrochinonem, 5 mM KMnO<sub>4</sub> a QD částicemi připravenými naředěním postupem I-IV oproti měření s manganistanem bez přídavku QD částic

	ředění	emisní maximum QD částic [nm]			
		520	575	603	636
nárůst/ pokles intenzity CL[%]	I	4,62	1,26	1,89	1,05
	II	8,19	1,89	-12,61	3,15
	III	22,9	1,89	3,15	1,26
	IV	2,31	-17,22	-6,51	-7,14

Tab. č. 76: Procentuální nárůst/pokles intenzity CL při měření s pyrokatechinem, 5 mM KMnO<sub>4</sub> a QD částicemi připravenými naředěním postupem I-IV oproti měření s manganistanem bez přídavku QD částic

	ředění	emisní maximum QD částic [nm]			
		520	575	603	636
nárůst/ pokles intenzity CL[%]	I	1,09	2,18	-0,27	-1,36
	II	0,55	2,18	0,55	-1,09
	III	-0,82	3,28	4,37	0,55
	IV	-4,64	-0,56	-2,18	-3,00

Tab. č. 77: Procentuální nárůst/pokles intenzity CL při měření s resorcinolem, 5 mM KMnO<sub>4</sub> a QD částicemi připravenými naředěním postupem I-IV oproti měření s manganistanem bez přídavku QD částic

	ředění	emisní maximum QD částic [nm]			
		520	575	603	636
nárůst/ pokles intenzity CL[%]	I	4,73	3,44	5,81	1,94
	II	14,84	4,30	<b>7,10</b>	3,87
	III	14,19	8,60	3,01	<b>4,95</b>
	IV	12,04	-3,87	0,00	0,86

Tab. č. 78: Procentuální nárůst/pokles intenzity CL při měření s floroglucinolem, 5 mM KMnO<sub>4</sub> a QD částicemi připravenými naředěním postupem I-IV oproti měření s manganistanem bez přídavku QD částic

	ředění	emisní maximum QD částic [nm]			
		520	575	603	636
nárůst/ pokles intenzity CL[%]	I	9,77	0,83	-1,87	0,00
	II	12,68	3,32	-2,81	-0,62
	III	14,97	3,32	0,21	-0,21
	IV	10,18	-2,29	-1,46	-3,74

Byl shledán různý vliv Quantum Dots částic na stanovení vybraných analytů v závislosti na jejich emisních maximech. Podle výsledků z tabulek č. 74-78 byl nejvyšší a nejčastější nárůst intenzity chemiluminiscence zaznamenán u QD částic s emisním maximem 520 nm, zvýšení hodnoty nárůstu intenzity chemiluminiscence se pohybovalo do 26,73%. U QD částic s emisním maximem 575 nm se procentuální nárůst intenzity CL pohyboval do 17,59%, u QD částic s emisním maximem 603 nm se nárůst CL pohyboval do 7,10%. Pro QD částice s emisním maximem 636 nm byly hodnoty nárůstu intenzity CL nejnižší, pohybovaly se do 4,95%.

## 5 SOUHRN

Tato práce vznikla na podkladě několika zahraničních publikací, které byly vyhledány pomocí vědecké databáze ScienceDirect. Vědecké články se zabývaly využitím chemiluminiscenčních metod ve farmaceutické analýze při stanovení různých léčiv nebo v molekulární biologii pro stanovení cílové DNA. Pro studium chování Quantum Dots (QD) částic v chemiluminiscenčním systému s manganistanem draselným v kyselém prostředí byla využita analytická metoda sekvenční injekční analýza (SIA). Nejprve byly optimalizovány podmínky pro měření intenzity chemiluminiscence oxidačních produktů vybraných analytů (kyseliny gallové, hydrochinonu, pyrokatechinu, resorcinolu, floroglucinolu). Struktura měřicího cyklu a výchozí hodnoty parametrů jako rychlost pohybu pístové pumpy a objemy aspirovaného roztoku oxidačního činidla a analytů byly převzaty z odborné literatury. V dalším kroku byly proměřeny vybrané analyty v chemiluminiscenčním systému s manganistanem bez přidání QD částic. Poté byly do CL systému přidávány Quantum Dots částice o emisních maximech 520, 575, 603 a 636 nm v podobě vodných roztoků o různých koncentracích a bylo sledováno, zda zvyšují nebo snižují intenzitu chemiluminiscence produktů oxidovaných látek. Pro grafické znázornění analytického signálu byl využit software FaFSIA. Dále byl hodnocen také vliv QD částic na opakovatelnost měření pomocí výpočtu a porovnání relativních směrodatných odchylek. Z naměřených dat byly vytvořeny tabulky a grafy, pomocí kterých bylo možno získat představu o působení QD částic na chemiluminiscenční systém s manganistanem. Nejvyšší nárůst chemiluminiscenčního signálu byl zaznamenán u QD částic s emisním maximem 520 nm připravených postupem III. Při měření s kyselinou gallovou bylo v tomto případě dosaženo nárůstu intenzity CL o 26,73 %, s hydrochinonem o 22,9 %, s resorcinolem o 14,19 %, s floroglucinolem o 14,97 %, avšak u pyrokatechinu došlo k poklesu intenzity CL o 0,82 %. Hodnoty relativní směrodatné odchylky se pohybovaly v rozmezí od 0,22 do 6,10 %. Aspirace QD částic v průtokovém systému SIA probíhala velmi dobře, nanočástice se v průtokovém systému nikde neusazovaly.

## 6 ZÁVĚR

Byla využita automatizovaná průtoková technika (SIA) pro rychlé testování vlastností QD částic, vliv byl testován na 5 různých analytech obsahujících hydroxylové skupiny, které vykazují CL signál po oxidaci manganistanem v kyselém prostředí. Byl sledován vliv QD částic se čtyřmi různými emisními vlnovými délkami připravených ve čtyřech různých ředěních. Výsledky byly získány porovnáním s CL systémem bez QD částic a zhodnoceny z hlediska jednotlivých analytů i emisních vlnových délek připravených nanočástic. Praktické využití QD částic by mohlo být efektivní také v souvislosti s dobrou opakovatelností výsledků měření.



## 7 LITERATURA

1. Hlaváček, A.; Skládal, P. Kvantové tečky: příprava, konjugace a využití v bioanalytické chemii a biologii. *Chem. Listy* **2011**, 105, 611-615.
2. Rzigalinsky, B. A.; Strobl, J. S. Cadmium-Containing Nanoparticles: Perspectives on Pharmacology & Toxicology of Quantum Dots. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **2009**, 238 (3), 280-288.
3. Qisnqian, L.; Lijuan Z.; Jinge L.; Chao L. Nanomaterial-amplified chemiluminescence systems and their applications in bioassays. *Trends Anal. Chem.* **2011**, 30 (2), 401-413.
4. Buchar, E.; Doubrava, J.; Liphay, T. *Organická chemie pro pedagogické fakulty*, 2. vydání; SPN: Praha, ČR, 1973.
5. Moravcová, J. *Biologicky aktivní přírodní látky*, PDF [Online] 2006; <http://www.vscht.cz/lam/new/bapl2003-01.pdf> (accessed Nov 11, 2012).
6. <http://www.lach-ner.com/hydrochinon-pro-foto-500-gr/d-70961/> (accessed Nov 11, 2012).
7. <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?sid=841730> (accessed Nov 11, 2012).
8. <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?cid=5054> (accessed Nov 11, 2012).
9. <http://www.toxicology.cz/modules.php?name=News&file=print&sid=175> (accessed Nov 11, 2012).
10. <http://www.priroda21.upol.cz/docs/mikrotechnika.pdf> (accessed Nov 11, 2012).
11. Giokas, D. L.; Vlessidis, A. G.; Tsogas, G. Z.; Evmiridis, N. P. Nanoparticle-assisted chemiluminescence and its applications in analytical chemistry. *Trends Anal. Chem.* **2010**, 29 (10), 1113-1125.
12. Campiglio, A. Chemiluminescence determination of naltrexone based on potassium permanganate oxidation. *Analyst* **1998**, 123, 1053-1056.
13. Paseková, H.; Polášek, M. Determination of procain, benzocain and tetracaine by sequential injection analysis with permanganate-induced chemiluminescence detection. *Talanta* **2000**, 52, 67-75.

14. Vilímová, I. Stanovení kyseliny gallové metodou průtokové injekční analýzy s chemiluminiscenční detekcí. M. A. Thesis, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové UK v Praze, Hradec Králové, CZ, 2005.
15. Homolová, Z. Stanovení verapamilu metodou sekvenční injekční analýzy s chemiluminiscenční detekcí. M.S. Thesis, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové UK v Praze, Hradec Králové, CZ, 2008.
16. Paseková, H.; Polášek, M.; Cigaro, J. F.; Dolejšová, J. Determination of some sulphonamides by sequential injection analysis with chemiluminescence detection. *Anal. Chim. Acta* **2001**, 438, 165-173.