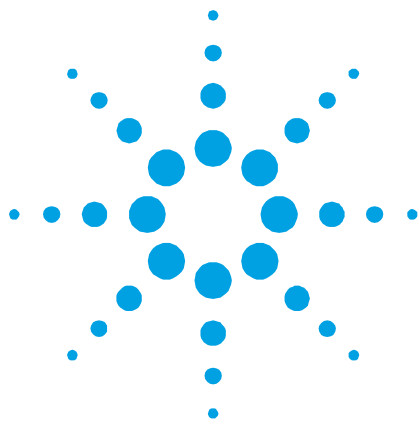




Agilent Cary Eclipse を用いた ルテニウム錯体の化学発光の測定

アプリケーションノート

著者

Mr. Stuart Purcell and Assoc.
Professor Neil Barnett

School of Biological and
Chemical Sciences

Deakin University
Geelong, 3217, Australia

はじめに

光の吸収から生じる発光に起因する蛍光あるいは燐光に対して、化学発光は化学反応に起因する発光です。発光は光のないところで生成されるため、信号を測定するときには光源は不要です。従来型の蛍光分光光度計の場合、信号を測定する際に干渉しないようにするため、測定の段階では光源をオフにしておかなければなりません。ほとんどの場合、化学発光の信号は弱くなります。良好なシグナル/ノイズ比および低い検出下限を得るには、サンプルを室内光から保護する必要があります。装置が優れた遮光能力を有していることがもっとも重要です。これらの要件に対応する Agilent Cary Eclipse 蛍光分光光度計は、化学あるいはバイオ発光のアプリケーションに最適な分析装置です。標準で組み込まれている赤感性検出器と可視領域でのグレーティングの優れた感度を備えた Eclipse により、赤色領域での発光を測定することができます。この領域の測定に必要な部品を購入する必要はありません。

このアプリケーションノートでは、コデインと反応する際のルテニウム錯体からの発光を測定することによって、Cary Eclipse の化学発光性能を実証します。図 1 には、化学発光物質を生成するために 2 つの発光しないサンプルを混合したときの写真を示しています。



Agilent Technologies

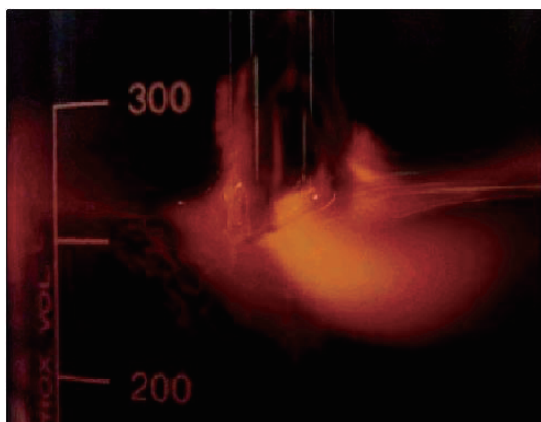


図 1. コデインと反応した tris (2,2'-ビピリジル) ルテニウム (II) 化学発光の写真

メソッド

ルテニウム錯体 (H_2SO_4 (0.05 M) 中の tris(2,2'-ビピリジル)ルテニウム(II) (1 mM)) を固体の二酸化鉛を用いて 3+ 酸化状態に酸化します。この後、二酸化鉛はろ過により除去されます。ルテニウム 3+ 種をルテニウムによって酸化したコデイン (1 mM) の流路の中で混合します。続いて、ルテニウムを 2+ 酸化状態に還元し、励起状態の中間体にします。この中間体は、610 nm 付近に中心がある光子の発光によって基底状態に戻ります。

図 2 に、反応の過程図を示します。

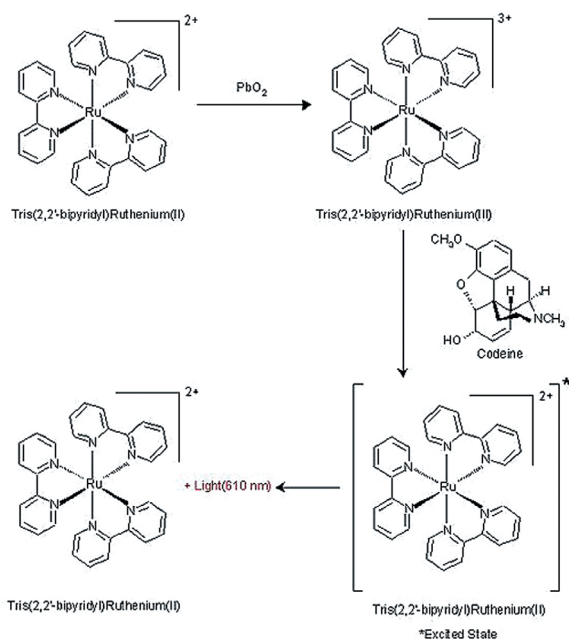


図 2. 610 nm 付近で化学発光を生成するためのルテニウムとコデイン間の反応図

考察

Ru (III) 種とコデインを特別に設計された螺旋形状のフローセルに通し、ルテニウム錯体の化学発光を生成しました。このセルをサンプルコンパートメントの内側の発光ウィンドウに面するように設置しました。2 種類の試薬を混合して生じた発光を Cary Eclipse の Scan アプリケーションを用いて波長の関数として測定しました。装置には R928 赤感性検出器が標準として組み込まれているので、図 3 に示されているように発光を 800 nm までの優れた S/N 比で測定できます。

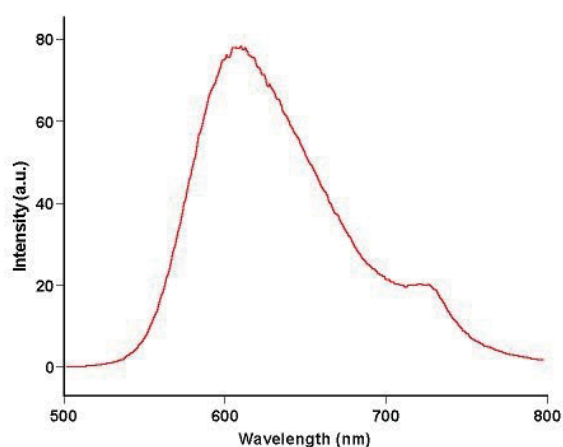


図 3. Tris (2,2'-ビピリジル) ルテニウム (II) 錯体の化学発光

ルテニウム (II) 種からの発光は、光で錯体を励起することによって生成することもできます。この場合、発光は燐光に起因しています⁽¹⁾。発光は同じ励起状態から起きるため、この発光は化学発光で生成された発光と同じスペクトル特性になります。化学発光の場合には、この励起状態が化学反応から生成されることが異なります。一方、燐光の発光では、光を生じている間のエネルギー吸収が励起状態を引き起こします。図 4 は、2 つのスペクトルを重ね合わせて示しています。

注： 燐光スペクトルは、 H_2SO_4 (0.05 M) 中に溶解している tris (2,2'-ビピリジル) ルテニウム (II) 塩化物の 1mM 溶液から測定しました。

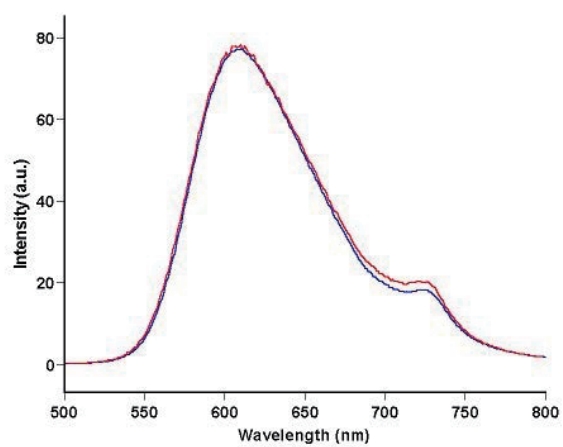


図 4. Tris (2,2'-ピリリジル) ルテニウム (ii) 錯体の化学発光 (赤色) および燐光 (青色) スペクトル

参考文献

1. Gerardi, R. D., Barnett, N.W. Lewis, S.W., Anal. Chim. Acta, 378, 1999, pg 1-41

www.agilent.com/chem/jp

アジレント・テクノロジー株式会社
© Agilent Technologies, Inc., 2001, 2012
Published December 3, 2012
Publication Number SI-A-1829JAJP



Agilent Technologies