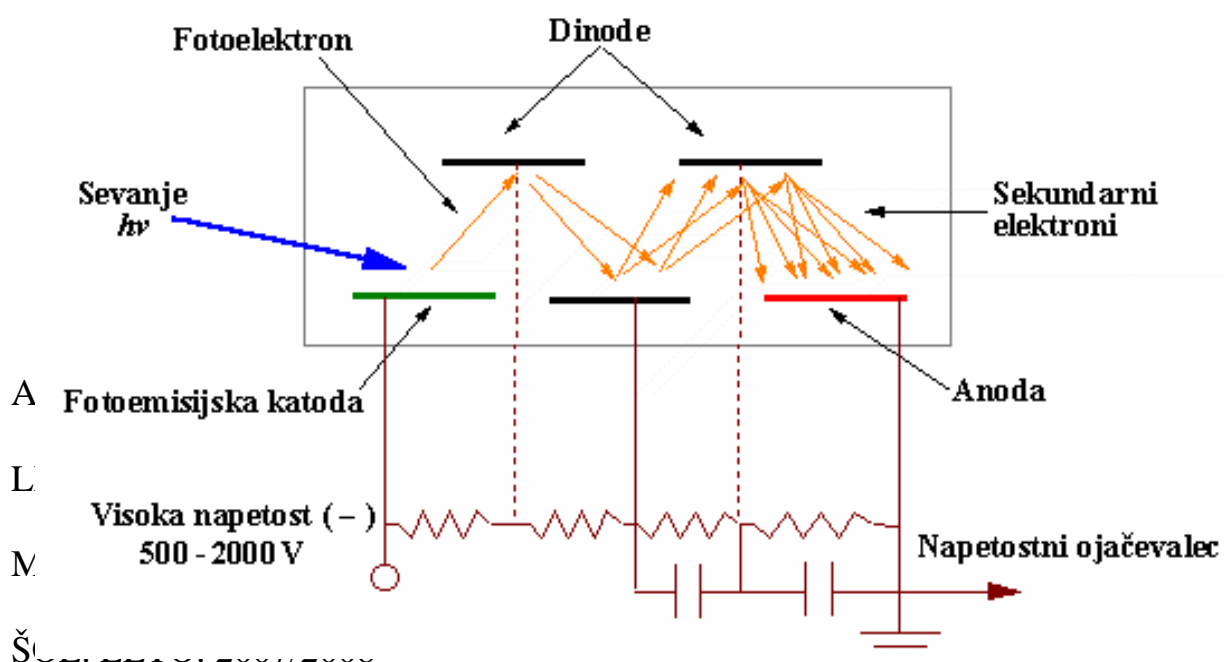




ŠOLSKI CENTER CELJE  
SREDNJA ŠOLA ZA ELEKTROTEHNIKO IN KEMIJO

$$\Phi_c = \frac{\text{št. molov nastalih fotonov}}{\text{št. molov zreagiranih molekul}}$$

RAZISKOVALNA NALOGA:  
**ŠTUDIJA POGOJEV**  
**KEMOLUMINESCENČNE REAKCIJE**



## ZAHVALA

Največjo zahvalo namenjam mentorici prof. **Ireni Drofenik**, ki je vedno pazila name pri poskusih, me pri njih usmerjala, mi dajala nasvete in bila pripravljena z mano delati med poukom in po njem, ter v laboratoriju do poznih nočnih ur.

Velika zahvala gre tudi prof. **Marinki Žbogar**, direktorju g. **Igorju Dosedli** in **Šolskemu centru Celje** za pomoč pri nabavi kemikalij.

Zahvala gre tudi mlademu raziskovalcu Instituta Jožef Štefan ter študentu Fakultete za kemijo in kemijsko tehnologijo v Ljubljani **Maticu Lozinšku**, ki je vedno dal kakšen dober nasvet in predlog za eksperimentalni del naloge.

Prav tako se zahvaljujem prof. **dr. Andreju Petriču** za predloge in nasvete pri teoretičnem delu naloge.

Zahvaljujem se vsem, ki ste mi kakor koli pomagali pri delu.

**KAZALO**

	Zahvala .....	1
	Kazalo.....	3
1.	Povzetek .....	4
2.	Uvod .....	5
2.1.	Pristop k delu - metode.....	5
3.	Teoretični del.....	6
3.1.	Kemoluminescenca .....	7
3.2.	Detekcija kemoluminescence .....	10
3.3.	Luminol .....	11
3.4.	Hipoteze.....	16
4.	Eksperimentalni del .....	17
4.1.	Aparature .....	18
4.2.	Uvod k eksperimentom.....	19
4.2.1.	Reagenti.....	19
4.3.	Oksidacija luminola z uporabo $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ .....	20
4.4.	Oksidacija luminola z uporabo $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ .....	20
4.5.	Oksidacija sintetiziranega luminola z uporabo $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ .....	21
4.6.	Nove barve oksidacije luminola .....	23
4.6.1.	Močna zelena barva.....	23
4.6.2.	Temno rožnata barva .....	25
5.	Rezultati in diskusija .....	26
5.1.	Meritve .....	27
5.1.1.	Oksidacija luminola z uporabo $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ .....	27
5.1.2.	Oksidacija luminola z uporabo $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ .....	29
5.1.3.	Oksidacija sintetiziranega luminola z uporabo $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ .....	32
5.2.	Skupinski graf z diskusijo .....	34
6.	Zaključek .....	37
6.	Dodatek .....	38
6.1.	Varnostna opozorila za kemikalije .....	39
6.2.	Računi.....	39
7.	Literatura .....	41

## **1. POVZETEK**

Kemoluminescenca je področje kemije, ki se vedno bolj razvija. Velik pomen tudi dobiva v analizi kemiji. V tej raziskovalni nalogi je opisana primerjava intenzitete kemoluminescenčne reakcije glede na spremembo koncentracije vodikovega peroksida. Vodikov peroksid ima pri kemoluminescenci pomembno vlogo, saj nastopa v vlogi sprožilca reakcije. Od deleža vodikovega peroksida je odvisna intenziteta svetlobe in trajanje kemoluminescence. V tej raziskovalni nalogi sem se odločil poglobiti v oksidacijo luminola z vodikovim peroksidom. Zanimalo me je, kakšne so intenzitete različnih raztopin vodikovega peroksida, pa tudi kakšen vpliv imajo na intenziteto ostali reagenti.

Svetloba, ki nastane pri reakciji, je modre barve. Za celotno izvedbo sem pripravil 5 %, 10 %, 15 %, 20 % in 25 % raztopine vodikovega peroksida in jih nato po 50 mL razredčil na 1 L. Intenziteto nastale svetlobe sem izmeril s svetlobnim senzorjem, ki je meril 2 minuti, nastavljena hitrost analiziranja pa je 500 vzorcev/minuto.

Med samo raziskavo sem se ukvarjal še z ostalimi kemoluminescenčnimi reakcijami in pripravil dve novi barvi, zeleno in temno rožnato, tako, da sem uporabil občutljivce, kot so florescin, hemoglobin in rodamin B.

## **2. UVOD**

Kemoluminescenca je področje kemije, ki je bilo odkrito že daljnega leta 1875, pa vendar so se intenzivne raziskave začele šele okoli 1965, ko so prvič začeli predstavljati in odkrivati fenomen kemijske »hladne svetlobe«. Od takrat dalje se je število kemoluminescenčnih snovi močno povečalo. Vse večja je tudi uporaba kemoluminescence pri kemiji in v vsakdanjem življenju. Uporabljajo jo skoraj pri vseh področjih analitske kemije (FIA, HPLC, LC, GC, elektroforeza, ...), v medicini (raziskave DNK, raka, tumorjev, kisikovih radikalov v organih ...), srečamo pa jo tudi v vsakdanjem življenju (svetlobne palice za zasilno svetlobo, pripomoček pri ribarjenju, golfu ...).

Kemoluminescenca je torej proizvodnja elektromagnetnega valovanja s pomočjo kemijske reakcije v obliki svetlobe. Emisija svetlobe je lahko ultravijolična, vidna ali pa v obliki infrardečega sevanja. Vsi poznamo to vrsto reakcij, izkorišča jih na primer žuželka z imenom kresnica, čeprav gre tu za bioluminescenco (saj sodelujejo poleg še encimi), ki proizvaja kemiluminescenco.

Oksidacija je eden izmed glavnih vzrokov kemoluminescence, saj ko reagent razpade (oksidira), nastane poleg produktov tudi svetlobna energija oziroma fotoni. Ti predstavljajo nekakšno emisijo svetlobe. Pridobivanje »hladne svetlobe« očara vse kemike in ostale, ki so že videli te reakcije. Zaradi tega sem se tudi jaz odločil raziskovati kemiluminescenco, pojav, za katerega pravijo, da je biser kemije. S tem dejstvom se strinja tudi raziskovalec David Šarlah.

Kemoluminescenca kot analitska metoda ima tri velike prednosti pred ostalimi:

- visoko občutljivost,
- selektivnost,
- široko linearno območje.

V tej nalogi je opisana in predstavljena primerjava intenzitete kemoluminescenčne reakcije glede na spremembo koncentracije vodikovega preoksida. Vodikov peroksid igra pomembno vlogo v številnih kemijskih procesih. Nastaja tudi pri encimski oksidaciji, v kemoluminescenci pa se uporablja kot sprožilec reakcije.

### **2.1. PRISTOP K DELU - METODE**

Poskuse sem izvajal v šolskem laboratoriju. Kemikalije mi je kupila šola. Večina kemikalij je bila strupenih, zato sem z njimi ravnal še posebej previdno in poskuse izvajal v digestoriju z zaščitno opremo. Vse uporabljene kemikalije in njihove nevarnosti so omenjene pri eksperimentalnem delu, opozorila (R, S stavki) pa so naštet v dodatku. Izrabljene kemikalije sem zbiral v posebnih posodah in jih na koncu ustrezno nevtraliziral, pretvoril ter oddal posebnim pristojnim službam (halogenirani organski odpadki).

### **3. TEORETIČNI DEL**

### 3.1. KEMOLUMINESCENCA

O kemoluminescenci lahko govorimo, kadar eksotermna reakcija proizvaja molekule v elektronsko vzbujenem stanju. Ko se te molekule vračajo v osnovno stanje, sprostijo fotone (energijo v obliki svetlobe). To se največkrat dogaja v tekočih in trdnih agregatnih stanjih. Proces je nekoliko drugačen od fotoluminescenčnih procesov, kot sta fluorescenca in fosforescenca. Fluorescenca je možna le ob stalnem dotoku energije (sevanje), fosforescenca pa traja še nekaj časa po prekinitvi energije (svetloba). Vendar pa kemoluminescenčne reakcije proizvajajo svetlobo brez kakršne koli prejšnje absorpcije svetlobe oziroma sevanja.

Valovna dolžina svetlobe, ki jo oddajajo molekule, je povezana z energijo v svojem vzbujenem stanju. To lahko izrazimo z enačbo:

$$E = hc/\lambda \quad (3.1.)$$

kjer je  $h$  Planckova konstanta ( $6,6 \times 10^{-34}$  Js),

$\lambda$  je valovna dolžina emitirane svetlobe v nm,

$c$  je hitrost svetlobe ( $3,0 \times 10^8$  m/s),

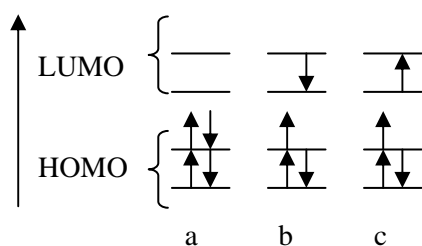
$E$  je energijska razlika v J med emisijo v vzbujenem stanju in osnovnem stanju molekule

**Tabela št. 1:** Povzetek energij, ki ustrezajo dometu valovne dolžine v vidni svetlobi.

valovne dolžine svetlobe in energije vidnega sevanja		
valovna dolžina (nm)	energija enega fotona ( $\times 10^{-19}$ J)	energija enega einsteinija (kJ)
400	5.0	300
450	4.4	260
500	4.0	240
550	3.6	220
600	3.3	200
650	3.0	180
700	2.8	170

Naravo molekularnih elektronskih stanj najbolje opiše kvantna teorija. Mnoge zelo dobre knjige opisujejo uporabo kvantne teorije, molekularno orbitalno (MO) teorijo, ki je zelo pomembna pri obravnavi luminescence.

Po MO teoriji je lahko energija elektronov v molekuli opisana po izrazu za molekularne orbitale (MO), ki je kombinacija atomskih orbital atomov v določeni molekuli. Molekularne orbitale, ki določajo lastnosti snovi, so višje energijsko zasedene molekularne orbitale (HOMO) in nižje energijsko nezasedene molekularne orbitale (LUMO). Energiji LUMO in HOMO sta zaporedno predstavljeni z molekularno orbitalnim diagramom, kot je prikazan na sliki št. 1.



**Slika št. 1:** Elektronska stanja za LUMO in HOMO.

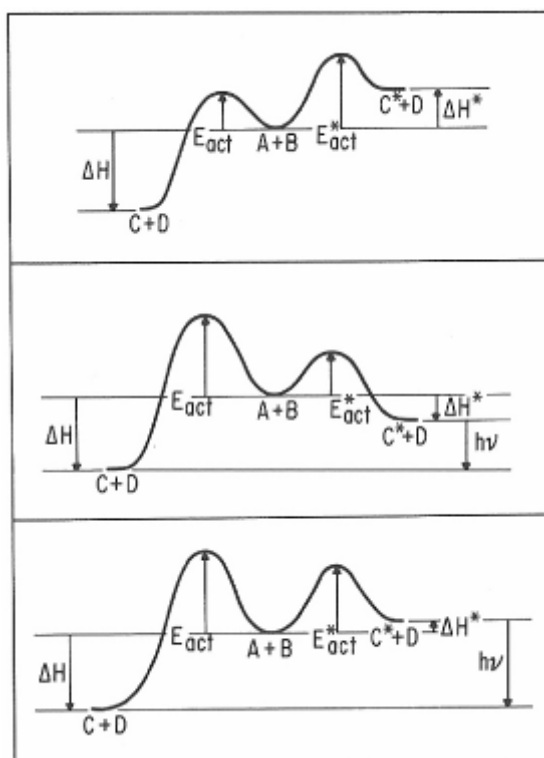
Na sliki 1.a je predstavljeno osnovno stanje za večina molekul (organske luminescenčne molekule), kjer je HOMO z elektroni v paru, medtem ko je LUMO seveda nezaseden. V večini molekul je osnovno stanje s popolnoma zasedenimi orbitalami, tako da so vsi elektronski spini v paru. Takšno stanje se imenuje singlet stanje. Ko pa je molekula v vzbujenem stanju, je vsaj eden izmed elektronov v višji-energijski orbitali, zato za sabo pušča pol prazno orbitalo, ki je v osnovnem stanju polna. Ker je en elektron v višje-energijski orbitali in drug v nižje-energijski orbitali, imata oba  $\alpha$  ali  $\beta$  spin (v nasprotni smeri in smeri urinega kazalca). Če sta spina teh dveh elektronov nasprotna, so vsi spini v molekuli parni in je zato molekula v singlet stanju (slika 1.b). Če pa sta spina teh dveh elektronov v različnih orbitalah enaka, ima molekula neparna spina. Tako stanje se imenuje triplet stanje (slika 1.c). Kljub razvrstitvi dveh elektronov v molekuli lahko pride do dveh stanj, singlet in triplet.

Delovanje kemoluminescence je odvisno od naslednjih faktorjev:

1. reakcija mora zagotavljati zadostno energijo za nastanek elektronskega vzbujenega stanja,
2. reakcija mora proizvesti intermedijate, ki so sposobni prenesti elektronsko vzbujeno stanje,
3. reakcija mora potekati po določenem mehanizmu, da pomaga proizvesti to vzbujeno stanje preko usmerjanja tvorbe osnovnega stanja.
4. reakcijska zmes mora vsebovati molekule, ki se vrnejo v osnovno stanje iz elektronsko vzbujenega stanja pri emisiji fotonov.

Sledeči graf (slika št.2) opisuje te faktorje v širšem pomenu.

Da lahko kemijska reakcija proizvede svetlobo, mora imeti zadostno energijo. Tako mora biti na primer pri reakciji, pri kateri nastaja modra svetloba z valovno dolžino 450 nm, energija vsaj 260 kJ/mol. Zaradi teh energijskih potreb (tabela št. 1) lahko povzročijo kemoluminescenco le kemijske reakcije, ki sproščajo višjo energijo.



Slika št. 2: Mehanična in energetska sorodnost.



Za snov, ki proizvaja vidno svetlobo, je nujno, da sprejme vzbujeno energijo, ki nastane pri reakciji. Edini način za kemijsko energijo, ki je spremenjena v elektronsko energijo, je postopek skozi natančno določene intermedijate, ki vsebujejo in usmerjajo reakcijski mehanizem. Ti intermedijati morajo biti ustvarjeni v vzbujenem stanju in v ta namen morajo imeti elektronsko vzbujeno stanje z energijo zelo blizu koraka, pri katerem ga tvorijo. Po tem koraku se kemična energija spremeni v elektronsko imenuje, pa se imenuje kemoelektronski korak.

Za kemijsko vzbujevalni proces je potreben tudi mehanični in energijski odnos, ki je naslikan pri reakcijskih koordinatnih diagramih (slika št. 2). Ti diagrami prikazujejo glavne reakcije, pri katerih A in B reagirata in tvorita produkta C in D, ki sta v osnovnem stanju, oziroma C\* in D, kjer je C\* produkt v vzbujenem stanju. V višjem diagramu lahko po krivulji odčitamo, da je proizvodnja C v vzbujenem stanju močno endotermno. Tak primer se zgodi, če C nima elektronsko vzbujenega stanja pod energijo cele reakcije –  $\Delta H$ . V tem primeru reakcija nima nobenih poti, ampak mora samo usmerjati tvorbo za osnovno stanje. V sredinski krivulji sta oba produkta eksotermna. Ta reakcija je lahko kemoluminescenca, če računamo na relativne aktivacijske energije za proizvodnjo osnovnega produkta in produkte v vzbujenem stanju. Spodnja krivulja predstavlja tvorbo vzbujenega stanja, ki je rahlo endotermno. V tem primeru bi lahko potekala kemoluminescenca, če bi bila aktivacijska energija za tvorbo vzbujenega stanja primerjalna z aktivacijsko energijo tvorbe osnovnega stanja produkta in če je slednji dovolj nizek za preskrbo pri sobni temperaturi.

Energija ima pri vrstah vzbujenega stanja ustvarjene kemoelektronske korake za reakcije, kjer nastopajo mehanizmi. Poznamo tri glavne procese (\* pomeni, da je reaktant oziroma produkt v vzbujenem stanju):

1. kemijska reakcija:  $A^* \rightarrow A + \text{toplota}$   
Pri kemijskih reakcijah je elektronsko vzbujen produkt preprost, nestabilen in posreden v reakcijskem mehanizmu.
2. neradioaktivna zamenjava:  $A^* + B \rightarrow A + B^*$   
V drugem procesu neradioaktivne zamenjave se spremeni eno elektronsko stanje v drugo stanje brez emisije (oziroma absorpcije) elektromagnetskega valovanja.
3. emisija svetlobe:  $A^* \rightarrow A + h\nu$   
Pri tem procesu gre za kemoluminescenco. Razmerje emisij svetlobe je odvisno od določenih faktorjev. Prehodi med stanji, ki imajo enak spin so kvantno-mehanično določeni, višje energijsko stanje ima zelo kratko dobo trajanja, od  $10^{-3}$  do  $10^{-6}$  sekunde. Medtem pa ima prehod med stanji, ki nimajo enakega spina in so tudi kvantno-mehanično določeni, relativno dolgo dobo trajanja, od  $10^{-3}$  pa do 10 sekund. Vendar pa se tekočinam in solem elektronska energija trati od vzbujenega stanja v razmerju, ki je primerljivo razmerju emisije. Kljub temu kratkemu času vzbujenega stanja pride do kemoluminescenčne reakcije, emisija pa traja malce dlje, ker je vzbujeno stanje začelo proizvodnjo razmerje, primerljivo s svojim razmerjem propada.

Da lahko vzbujeno stanje sploh začne proizvodnjo svetlobe, morajo biti poti za deaktivacijo vzbujenega stanja kinetično enake (ali boljše) z drugimi deaktivacijskimi smermi. Ta potreba se mora izpolniti pri molekulah z zelo prostornimi vibracijskimi energijskimi stopnjami. Takšne molekule nimajo svojega mehanizma za zamenjavo elektronske energije v vibracijsko energijo (toplota). Te molekule so ali zelo majhne s samo nekaj vibracijskimi stopnjami, ali pa imajo v svoji zgradbi aromatični obročni sistem. Ko je vzbujeno stanje molekule pridobljeno iz neposrednega reakcijskega mehanizma, imenujemo nastalo luminescenco neposredna luminescenca. Do luminescence lahko pride tudi preko akceptorske molekule, ki sprejme vzbujeno energijo neposredno od proizvedenega vzbujenega stanja (proces št. 2),

Posledica pa je sprostitvev fotonov oziroma svetlobe. Takšna luminescenca se imenuje občutljiva kemoluminescenca, akceptorska molekula pa se imenuje emisijski občutljivec.

Če želimo luminescenco sploh opaziti, mora biti kinetika reakcije zadostno učinkovita, da proizvede tok fotonov, ki jih lahko vidimo. Količina emitiranih fotonov je odvisna od več reakcijskih dejavnikov. Skupinski efekt teh faktorjev je izražen kot kemoluminescenčni kvantni izkoristek ( $\Phi_c$ ) reakcije. Ta je definiran kot razmerje med številom emitiranih fotonov s številom zreagiranih molekul.

$$(3.2.)$$

Kemoluminescenčni kvantni izkoristek je produkt treh različnih kvantnih izkoristkov: prvi je za nastanek emitirane vrste, drugi za nastanek vzbujenega stanja in tretji za sevanje iz vzbujenega stanja. Ti produkti so izraženi v naslednji enačbi:

$$\Phi_c = \Phi_p \times \Phi_e \times \Phi_r \quad (3.3.)$$

Prva dva člena tega produkta sta označena z reakcijskim mehanizmom, medtem ko je zadnji enak normalnemu emisijskemu kvantnem izkoristku.

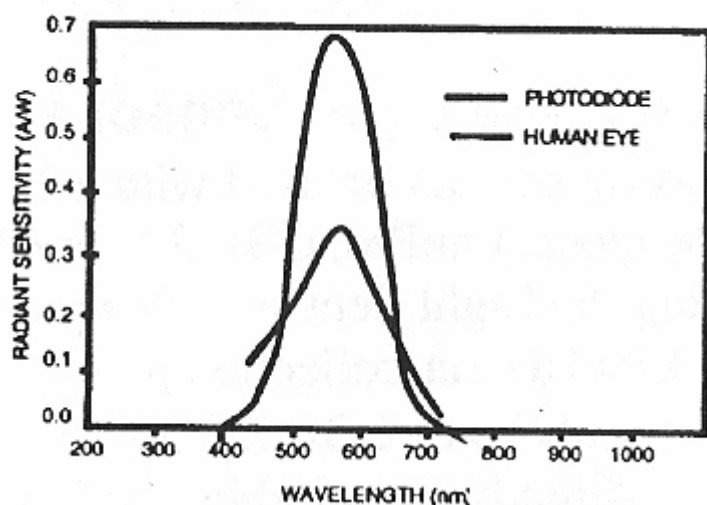
V študiranju mehanizmov kemoluminescenčnih reakcij poskušajo raziskovalci odkriti čim več značilnosti. Prvotni namen je odkrivanje luminescenčnih molekul, ki emitirajo vidno radiacijo. To odkrivanje je v glavnem na osnovi primerjanja kemoluminescenčnega in fotoluminescenčnega spektra snovi, ki je lahko prisotna pri reakcijski zmesi. Ko je kemoluminescenčni spekter skoraj čisto podoben fluorescentnemu ali fosforescentnemu spektru neke snovi, ki je prisotna v reakcijskem sistemu, potem je ta snov zagotovo molekula, ki emitira. Ta postopek je zelo natančen.

Zelo zanimivo poglavje kemoluminescenčnih reakcij je narava kemoelektronskih korakov, ki spremenijo kemijsko energijo v elektronsko vzbujeno energijo. Identifikacija kemoelektronskih korakov je zasnovana na različnosti kinetičnih podatkov, pri kateri je pojasnjen celoten mehanizem. Kemoelektronski korak lahko proizvede emisijsko-vzbujeno stanje molekule neposredno ali posredno. Pri posrednem koraku deluje molekula, ki emitira, kot dušilec začetno proizvedenega vzbujenega stanja. Učinek drugih dušilcev na kemoluminescenco lahko pomaga spoznati to prvotno vzbujeno molekulo z določitvijo energije. Če dušilec znane energije ustavi kemoluminescenco, potem je energija vzbujenega stanja podobna ali manjša od snovi, ki jo je zadušila.

Za popolno razumevanje vplivov topil, koncentracij, dušilcev itd. na kemoluminescenčne reakcije moramo določiti celotni reakcijski mehanizem. Ko je mehanizem enkrat spoznan, je mogoče izbirati možnosti, ki povečajo izkoristek kemoluminescenčne reakcije ali pa spremenijo spekter. Kemoluminescenco se da proizvesti tudi v tekočinski fazi s pomočjo elektrike. Takšna kemoluminescenca se pojavi pri različnih topilih, kjer so lahko različne snovi oksidirane ali reducirane v radikalne ione na elektrodah. Kemoluminescenca je lahko rezultat različnih mehanizmov, vključno z redoks reakcijami radikalov na površini elektrode in reakcijami električno proizvedenih kationov in anionov, ki tvorijo vzbujeno stanje.

### **3.4. DETEKCIJA KEMOLUMINESCENCE**

Intenzitete svetlobe pri kemoluminescenčni reakciji lahko merimo s fotografskimi in fotoelektričnimi metodami. Za to nalogo je bila najboljša fotoelektrična metoda s svetlobnim senzorjem. V temi svetlobni senzor potopimo v vzorec in poskrbimo, da odstranimo vse svetlobne izvire. Uporaba senzorja ni namenjena le za merjenje intenzitete svetlobe pri kemoluminescenčni reakciji, ampak tudi za študije, kot so polarizacijski filtri, solarno-energijske študije, merjenje svetlobe v prostorih itn. Senzor je narejen iz Humanmatsu S 1133 silikonske fotodiode in proizvaja napetost s proporcionalno svetlobno intenziteto. Primerjavo človekovih oči in fotocelice predstavlja naslednji graf (slika št. 7).



**Slika št. 3:** Primerjava zaznavanja intenzitete svetlobe med fotocelico in človeškim očesom. Na osi x je valovna dolžina svetlobe v nm, na osi y pa svetlobna občutljivost v A/W.

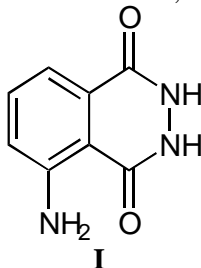
Kemoluminescenco pa lahko merimo torej tudi s fotoelektričnimi elementi. Poznamo več vrst detektorjev, od fotodiode do najboljčutiljivejše fotopomnoževalke (PMT). Fotopomnoževalka je sestavljena iz fotokatode in serije dinod v vakuumski stekleni tubi. Ko foton zadostne energije udari v fotokatodo, ji zaradi fotoelektričnega efekta izbije fotoelektron. Material za fotokatode je ponavadi zmes alkalijskih kovin, ki naredijo fotopomnoževalko občutljivo na fotone z valovno dolžino v območju vidne svetlobe. Fotokatoda ima visoko negativno napetost, ponavadi med 500 – 1500 V. Fotoelektron je pospešeno usmerjen proti seriji dodatnih elektrod, ki se imenujejo dinode. Tudi te elektrode so pod enako negativno napetostjo kot fotokatoda, njihova naloga pa je, da podvojijo fotoelektrone. Ta serijski efekt ustvari  $10^5 - 10^7$  elektronov iz enega fotoelektrona (sekundarna emisija), ki je izbit iz fotokatode. Ojačitev končne napetosti je odvisna od števila dinod in začetne napetosti. Električno ojačen signal se zbere na anodi, ki je brez napetosti, od koder ga lahko razberemo.

**Slika št. 4:** Shematska predstavitev delovanja fotopomoževalke.

### 3.5. LUMINOL

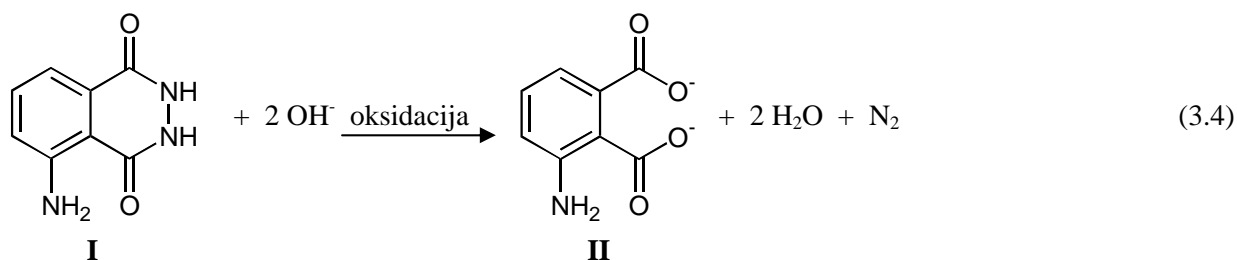
Pri svoji metodi sem uporabljal luminol. Ta je za razliko od drugih kemoluminescenčnih reagentov dokaj topen v vodi.

Eden izmed najbolj znanih primerov kemoluminescence je zagotovo luminolov (3-aminoftalhidrazid ali po IUPAC-ovi nomenklaturi 5-amino-2,3-dihidroftalazin-1,4-dion):

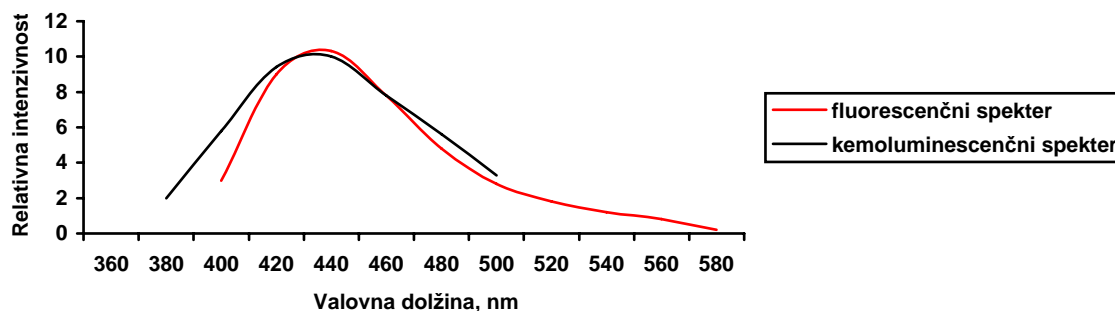


Svetlo modra kemoluminescenca luminola je dobro vidna v zatemnjenih prostorih. Prvo poročilo kemoluminescence luminola je podal kemik Albrecht leta 1928. Takrat so se začele reakcije luminola podrobneje raziskovati.

Vse luminolove reakcije so oksidacije, kot jih predstavlja enačba :

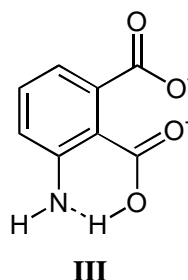


Reakcija lahko deluje v različnih medijih, vključno v protičnih (protolizna topila), kot sta voda in alkohol, in aprotičnih (ne-protolizna ali dipolarna topila), kot sta dimetilsulfoksid (DMSO) ali dimetilformamid (DMF). Reakcijski mehanizem je odvisen od topila. Pri vsakem mediju je potreben drug oksidant, kemoluminescenčni spekter pa je pri vsakem mediju malenkost drugačen. V aprotičnem mediju sta potrebna le atomaren kisik in močna baza, da pride do kemoluminescence luminola. Najvišja valovna dolžina najmočnejše emisije je okoli 485 nm. V protičnih topilih pa za reakcijo potrebujemo močno bazo, atomarni kisik ali vodikov peroksid in še pomožni oksidant, kot je hipokloritni, ferocianidni ali persulfatni ion. Maksimalna valovna dolžina luminola v protičnem mediju je približno 425 nm. V obeh topilih (protičnih in aprotičnih) je emisija nastajala zaradi aminoftalatnega iona.

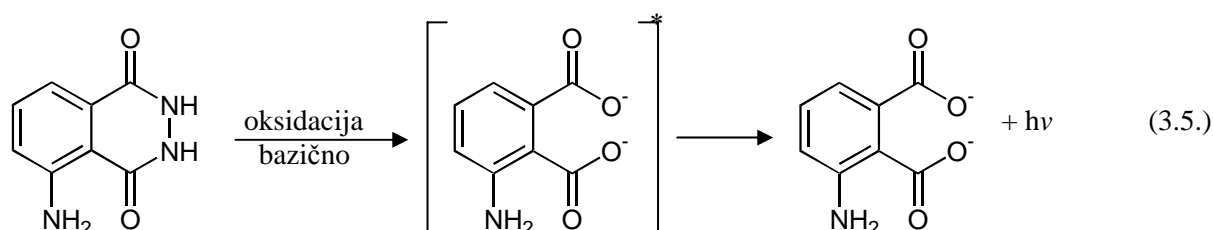


Slika št. 5: Primerjava kemoluminescenčnega in fluorescenčnega spektra aminoftalatnega iona.

Ta ugotovitev temelji na osnovi ustreznosti med kemoluminescenčnim spektrom luminola in fluorescenčnim spektrom aminoftalatnega iona (**III**).

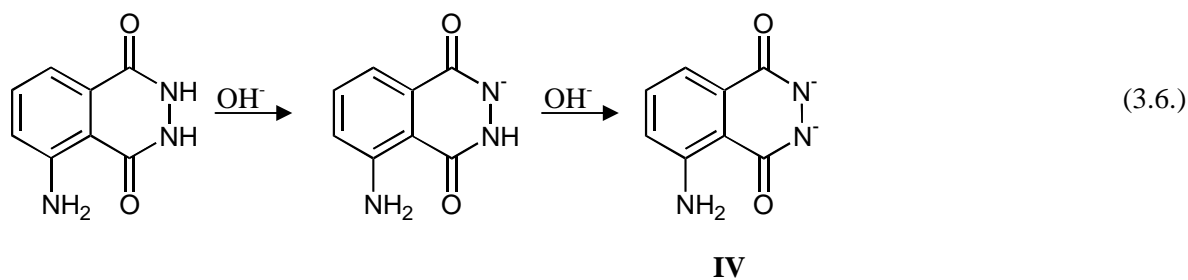


Kemoluminescenčno reakcijo luminola lahko prikažemo z osnovnimi pogoji po enačbi, ki prikazuje, da svetlobna emisija prihaja od aminoftalatnega iona:

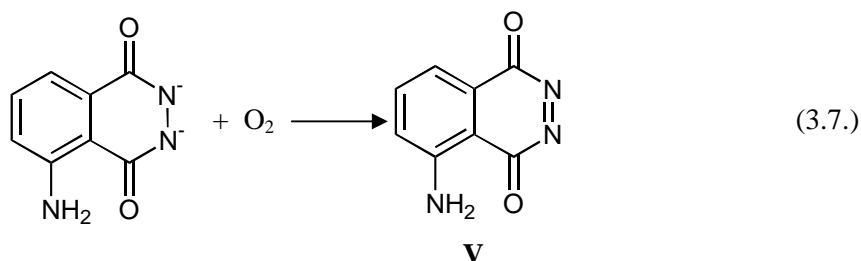


O mehanizmu oksidacije luminola v protičnem in aprotičnem topilu obstaja precej podatkov. Razlika med protičnim in aprotičnim topilom je verjetno samo v začetnih korakih, kjer protični sistem potrebuje prosti radikal, aprotični sistem pa luminol dianion.

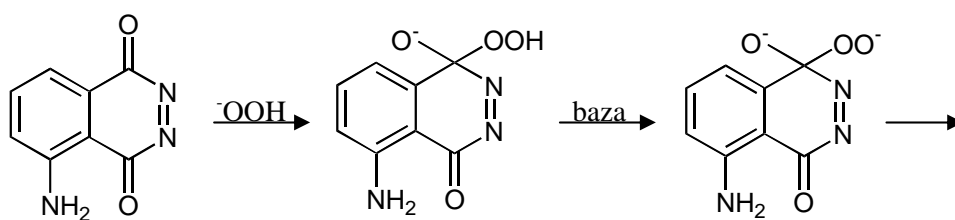
Ne poznamo še določenih mehanizmov luminola, ampak imamo le informacije o posrednih spojinah oksidacije. Pomemben posrednik v reakciji je luminolov dianion (**IV**), ki nastaja pri postopni reakciji luminola z bazami.



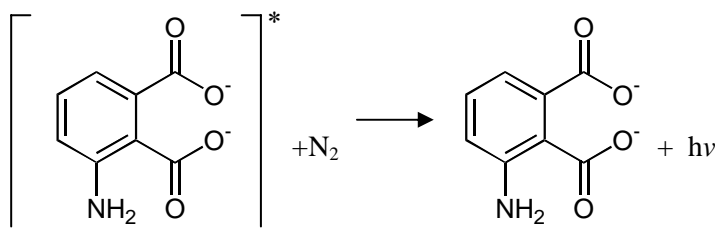
Najnovejši mehanizmi so bili skonstruirani okoli dianiona, ki se lahko podvrže različnim reakcijam. Ena izmed teh reakcij je tudi tvorba azokinona (**V**).



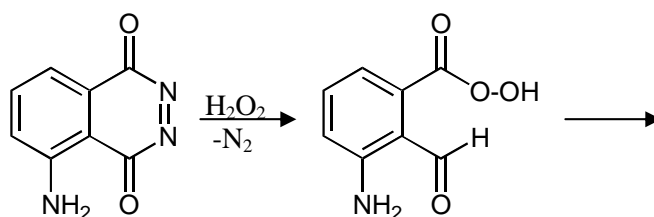
Azokinon je verjetno posrednik v svetlobno-proizvodni poti pri oksidaciji luminola. Ena izmed možnih poti je predstavljena spodaj.



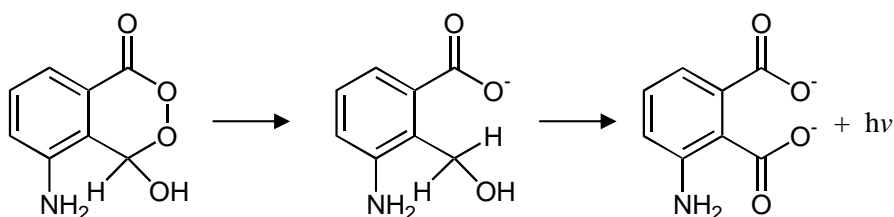
(3.8.)



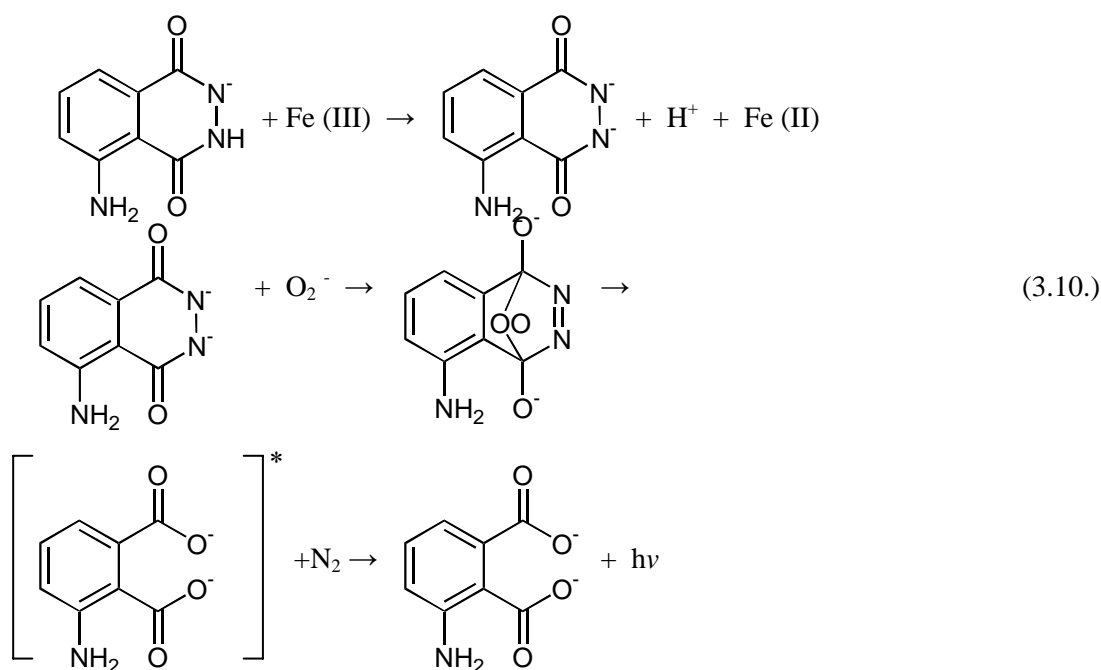
Drugi mehanizem temelji na elektronskem prenosu in povzroča izgubo plinastega dušika mnogo prej kot pri prejšnjem mehanizmu.



(3.9)



Oba mehanizma veljata za aprotičen medij. Reakcija za aprotičen medij je manj zapletena kot reakcija za protični medij, ker ni vpleten noben pomožni oksidant ali aktivator. V vodnih sistemih je aktivator vedno potreben. Ti aktivatorji so pogosto prehodno-kovinski kompleksni ioni in lahko reagirajo kot katalizatorji ali pa kot oksidanti. Prehodno-kovinski ioni morajo biti v kompleksu zato, da ne pride do obarjanja kovinskega hidroksida, saj je medij za kemiluminescenčno oksidacijo luminola zelo bazičen.



Snov, ki je potrebna za začetek oksidacije luminola v vodnih raztopinah, je superoksidni radikalni anion  $\text{O}_2^-$ . Ta snov se tvori v vodni raztopini z razpadom vodikovega peroksida. V zelo bazičnih vodnih sistemih pride do razpada s pomočjo katalize, ki jo povzročajo oksidacijski aktivatorji. Prehodno-kovinski kompleksi so lahko tudi vpleteni v elektronsko-prenosni korak pri oksidaciji luminola, kot je to napisano v enačbi št. 3.23. (ta enačba velja samo za vodne oksidacije luminola). Vsak sistem, ki ga sprožijo prehodno-kovinski ioni, ima svojo reakcijsko zaporednost. Na žalost je bilo zelo malo raziskav narejenih pri teh različnih reakcijskih mehanizmi; namesto tega je večina pozornosti usmerjena na analitsko uveljavljanje kemoluminescence luminola.



Slika št. 6: Kemoluminescenca luminola.

### **3.6. HIPOTEZE**

Glavni cilj te raziskovalne naloge je opazovanje dogajanja ob spreminjanju koncentracije sprožilca reakcije (vodikovem preoksidu) in merjenje intenzitete svetlobe. Posamezne ugotovitve so opisane v eksperimentalnem delu. Potrditi želim naslednja predvidevanja:

1. Če povečamo koncentracijo vodikovega peroksida, bo intenziteta svetlobe večja, čas trajanja kemoluminescence pa krajši, če pa koncentracijo zmanjšamo, bo intenziteta svetlobe manjša, čas trajanja kemoluminescence pa daljši.
2. Sintetiziran luminol ima mnogo manjšo intenziteto svetlobe kot kupljen, pa tudi čas trajanja svetlobe ima mnogo krajši.
3. V postopku izvedbe demonstracije sem v literaturi zasledil, da se v raztopino poleg lumola, natrijevega karbonata, hidrogen karbonata in amonijevega karbonata monohidrata doda še bakrov sulfat pentahidrat ali bakrov klorid dihidrat. Tu predvidevam, da se bo intenziteta razlikovala – če uporabimo bakrov sulfat pentahidrat, bo intenziteta svetlobe večja, kot če uporabimo bakrov klorid dihidrat. K tej hipotezi še dodajam, da predvidevam, da vsi uporabljeni reagenti vplivajo na intenziteto svetlobe.

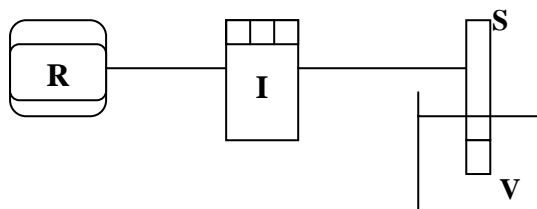


## **4. EKSPERIMENTALNI DEL**

## 4.1. APARATURE

Tehtamo z analitsko tehtnico OHAUS tipa AS 120. Za pripravo in shranjevanje reagentov uporabljamo ustrezno laboratorijsko steklovino.

Za merjenje intenzitete svetlobe pri kemoluminescenčni reakciji sestavimo sistem za merjenje, ki ga prikazuje slika 6.



**Slika št. 7:** Shema sistema za merjenje intenzitete svetlobe.

R – računalniški sistem  
 I – (računalniški) vmesnik  
 S – svetlobni senzor potopljen v vzorec  
 V – vzorec

Glavno vlogo v celotnem sistemu ima vmesnik. Ta je priključen na računalniški sistem in svetlobni senzor. Vmesnik, ki ga uporabljamo je znamke Verner, tipa LS-BTA. Svetlobni senzor prav tako znamke Vernier, tipa LS-BTA. Uporabljamo računalniški program za izris grafov Logger Pro 3. Svetlobni senzor prilagodimo meritvam. Ob spremembi barve na ohišju izberemo niz. Če napetost iz senzorja doseže vrednost 2.8 V – maksimalna vrednost - ne izbiramo prehoda k drugi barvi in manj občutljivem nizu. Za ostale vrednosti izberemo naslednje nize:

- 0 - 600 lux: niz je izbran, ko je prehod k dolgi barvi srednje pozicije. To je največja občutljivost niza in se uporablja za nizko raven svetlobe. Prikazana napetost bo 1 V/200 lux.
- 0 - 6000 lux: niz je izbran, ko je prehod k drugi barvi na zgornjem položaju. To je dober cilj, ko je večina niza v notranjosti uporabna za vse svetlobne ravnine. Izbrana napetost znaša 1 V/2219 lux.
- 0 - 150.000 lux: niz je izbran, ko je prehod k drugi barvi v spodnji poziciji. To se uporablja v glavnem za merjenje sončne svetlobe. Izbrana napetost znaša 1 V/50.000 lux.

Zaradi majhne intenzitete svetlobe izberemo za meritve prvi niz.

Delo s senzorjem je enostavno, poleg tega pa ne potrebuje kalibriranja.



**Slika št. 8:** Celoten merilni sistem (od leve proti desni): računalniški sistem za obdelavo podatkov, vmesnik in za njim elektroda za merjenje intenzitete, ki jo potopimo v raztopino.

## **4.2. UVOD K EKSPERIMENTOM**

Pri izvajanju eksperimentov je pomembno, da pazimo na čistost reagentov in inventarja ter vsega delovnega prostora. Posebej opozarjamo, da so mnogi reagenti zdravju škodljivi ali celo smrtno nevarni. Pri vsaki demonstraciji je vključeno priporočilo za varnost in postopek za odpadne kemikalije. Vse podrobnosti o kemikalijah si lahko ogledate še v dodatku.

Reakcije, ki jih izvajamo, so oksidacije luminola.

V zatemnjeni sobi zlijemo modro in brezbarvno tekočino skupaj. Zmešani tekočini povzročita modro kemoluminescenco, ki traja glede na koncentracijo vodikovega peroksida različno dolgo. Ko prižgemo luči, je tekočina črne barve.

Pri reagentih za demonstracijo (raztopina A-1) uporabljamo bakrov (II) sulfat (VI) pentahidrat in bakrov (II) klorid dihidrat; ugotavljali smo namreč, kateri od teh dveh reagentov ima večji vpliv na intenziteto svetlobe. Predvidevali smo, da ima raztopina, v kateri je bakrov sulfat pentahidrat, večjo intenziteto svetlobe, morda, zato ker ima več vod vezanih, pa tudi v literaturi, ki smo jo prebrali, je ta večkrat omenjen kot reagent, vmešan v kemoluminescenčno raztopino.

### **4.2.1. REAGENTI**

Vsi pripravljene reagenti so bili shranjeni v steklenih bučkah, te pa so bile v hladilniku. Na tak način zmanjšamo razpad raztopin (predvsem vodikovega peroksida in luminola).

Najpomembnejšo vlogo ima torej vodikov peroksid. Nekaj podatkov o pripravi raztopin vodikovega peroksida je v rubriki dodatek (6.2), kjer je ta priprava tudi računsko utemeljena.

#### *PRIPRAVA RAZTOPIN VODIKOVEGA PEROKSIDA*

Pripravimo si 5 %, 10 %, 15 %, 20 % in 25 % raztopine vodikovega peroksida v 100 mL bučkah. Za osnovno raztopino vzamemo 30 % vodikov peroksid (PA, Merck), ki ga razredčujemo.

##### *Priprava 5 % raztopine vodikovega peroksida*

Za pripravo 5 % raztopine odmerimo 16.7 mL 30 % vodikovega peroksida, ga kvantitativno prenesemo v 100 mL bučko in ga z destilirano vodo razredčimo do oznake.

##### *Priprava 10 % raztopine vodikovega peroksida*

Za pripravo 10 % raztopine odmerimo 33.3 mL 30 % vodikovega peroksida, ga kvantitativno prenesemo v 100 mL bučko in ga z destilirano vodo razredčimo do oznake.

##### *Priprava 15 % raztopine vodikovega peroksida*

Za pripravo 15 % raztopine odmerimo 50 mL 30 % vodikovega peroksida, ga kvantitativno prenesemo v 100 mL bučko in ga z destilirano vodo razredčimo do oznake.

##### *Priprava 20 % raztopine vodikovega peroksida*

Za pripravo 20 % raztopine odmerimo 66.7 mL 30 % vodikovega peroksida, ga kvantitativno prenesemo v 100 mL bučko in ga z destilirano vodo razredčimo do oznake.

##### *Priprava 25 % raztopine vodikovega peroksida*

Za pripravo 25 % raztopine odmerimo 83.3 mL 30 % vodikovega peroksida, ga kvantitativno prenesemo v 100 mL bučko in ga z destilirano vodo razredčimo do oznake.

Priprava osnovne raztopine za celotno izvedbo demonstracije je opisana v naslednji točki.

### **4.3. OKSIDACIJA LUMINOLA Z UPORABO $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$**

#### **MATERIALI ZA POSTOPEK**

4.0 g natrijevega karbonata (brezvodnega),  $\text{Na}_2\text{CO}_3$   
3 L destilirane vode  
0.2 g luminola (hidrazid aminorftalne kisline),  $\text{C}_8\text{H}_7\text{O}_2\text{N}_3$   
24.0 g natrijevega hidrogenkarbonata,  $\text{NaHCO}_3$   
0.5 g amonijevega karbonata monohidrata,  $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$   
0.4 g bakrovega (II) sulfata (VI) pentahidrata,  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$   
30% vodikov peroksid,  $\text{H}_2\text{O}_2$   
2 merilni bučki, 1 L  
laboratorijsko stojalo  
prižeme  
čaša, 150 mL  
2 merilna valja, 50 mL  
rokavice  
svetlobni senzor s priborom

#### **POSTOPEK IZVEDBE**

Pripraviti si moramo dve raztopini, in sicer A-1 in A-2.

*Raztopina A-1:* v 1 L merilni bučki, kjer imamo 500 mL destilirane vode, raztopimo 4.0 g natrijevega karbonata. Dodamo 0.2 g luminola in mešamo, da se kemikaliji raztopita. Nato dodamo 24.0 g natrijevega hidrogenkarbonata, 0.5 g amonijevega karbonata monohidrata in 0.4 g bakrovega (II) sulfata pentahidrata. Mešamo tako dolgo, dokler se kemikalije ne raztopijo. Raztopino dopolnimo do 1 L z destilirano vodo. pH raztopine mora biti približno 9.

*Raztopina A-2:* v drugi 1 L merilni bučki razredčimo po 50 mL 5 %, 10 %, 15 %, 20 % in 25 % vodikovega peroksida, ga kvantitativno prenesemo v 1 L bučko in razredčimo do oznake (na bučki).

Za izvedbo meritev potopimo elektrodo svetlobnega senzorja za merjenje intenzitete svetlobe v 50 mL raztopine A-1, nato pa v temi dodamo še 50 mL raztopine A-2. Na računalniku se nam izriše graf intenzitete v odvisnosti od časa (nastavljeno na 2 minuti merjenja).

Postopek ponovimo za vsako koncentracijo raztopine vodikovega peroksida.

### **4.4. OKSIDACIJA LUMINOLA Z UPORABO $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$**

Materiali in izvedba za to oksidacijo ostajajo isti kot za bakrov (II) sulfat (VI) pentahidrat (točka 4.3), le da za to demonstracijo vzamemo 0.25 g bakrovega (II) klorida dihidrata -  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (raztopina A-1).

## **4.5. OKSIDACIJA SINTETIZIRANEGA LUMINOLA Z UPORABO $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$**

### **SINTEZA LUMINOLA**

*Luminol (3-aminofthalhidrazid ali po IUPAC: 5-amino-2,3-dihidroftalazin-1,4-dion) spada v skupino organskih hidrazidov aromatskih karboksilnih kislin. Te vrste sintez spadajo med nukleofilne substitucije. Za te spojine je značilno, da jim ne moremo določiti tališča, saj imajo temperaturo taljenja preko 350 °C, prav tako pa pri njej razpadejo.*

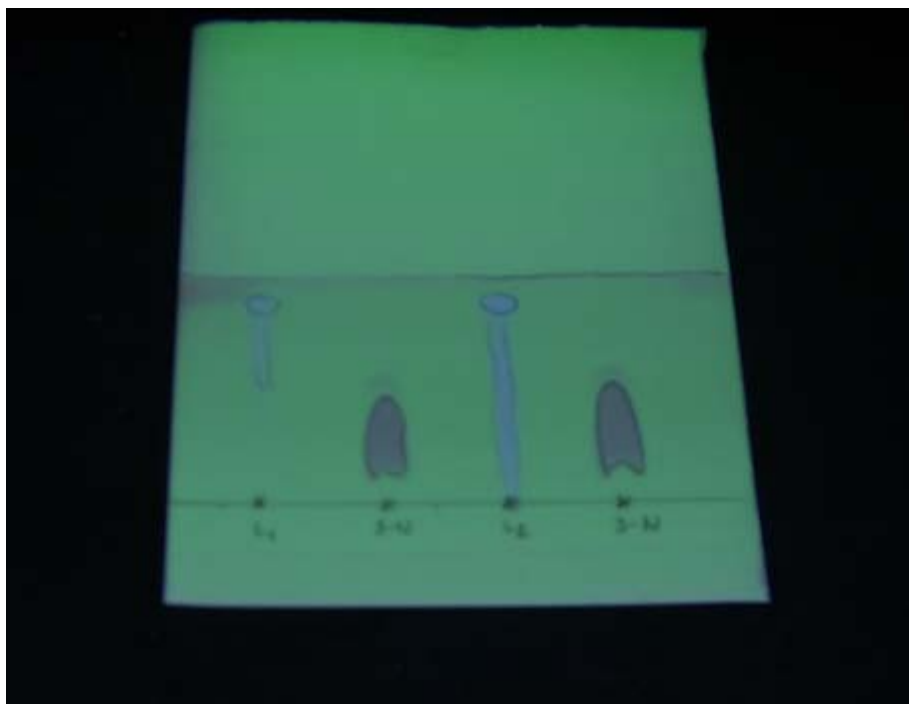
### **MATERIALI ZA SINTEZO**

2 mL (6 mM) 10 % raztopine hidrazina  
6.5 mL (18 mM) 10 % NaOH, natrijev hidroksid  
4.0 g (19 mM) natrijevega ditionita  
2.6 mL (45 mM) očetne kisline  
1.3 g (6.2 mM) 3-nitroftalne kisline  
3 mL trietilenglikola  
destilirana voda  
erlenmajerica, 150 mL  
epruveta (25×200 mm)  
merilna valja, 5 mL  
merilni valj, 10 mL  
steklena palčka  
čaša, 150 mL  
banjica z ledom  
nuča  
laboratorijsko stojalo  
zamaški za epruveto  
termometer in stekleno cevko, ki jo priključimo na vodno črpalko

### **POSTOPEK IZVEDBE**

V erlenmajerici zavremo 20 mL vode, ki jo bomo potrebovali kasneje. Nato v epruveti (25×200 mm) zmešamo 1.3 g (6.2 mM) 3-nitroftalne kisline in 2 mL (6 mM) 10 % raztopine hidrazina ter segrevamo z gorilnikom z malim plamenom, dokler se vsa trdna spojina ne raztopi. Nato dodamo 3 mL trietilenglikola, vpnemo epruveto v stojalo in jo zamašimo z zamaškom, ki ima termometer in stekleno cevko, ki jo priključimo na vodno črpalko. Z manjšim plamenom segrevamo do vrenja, nakar plamen povečamo in intenzivno segrevamo. Ko dosežemo temperaturo 215-220°C, prenehamo s segrevanjem in to temperaturo vzdržujemo 2 minuti. Zatem pustimo, da se epruveta zračno ohladi do 100°C, nakar zmesi dodamo 20 mL vrele vode, ki smo jo segreli na začetku. Ko se raztopina ohladi na sobno temperaturo, izpadli 3-nitroftalhidrazid odnučamo in oborino prenesemo v epruveto, v kateri smo izvedli reakcijo (čiščenje ni potrebno). V epruveto dodamo 6.5 mL (18 mM) 10 % NaOH in mešamo tako dolgo, dokler se spojina ne raztopi. Raztopini dodamo 4.0 g (19 mM) natrijevega ditionita in speremo trdne delčke s sten epruvete z malo vode. Raztopino segrejemo do vrenja in jo ob vrenju vzdržujemo 5 minut. Potem dodamo 2.6 mL (45 mM) očetne kisline, zmes dobro premešamo in epruveto postavimo v banjico z ledom. Ohlajeno oborino odnučamo. Dobimo luminol, ki ga lahko brez prečiščevanja uporabimo za kemoluminescenco. Masa luminola je 0.2 g, izkoristek pa 37 %.

Za sintetiziran luminol sem izvedel tankoplastno kromatografijo, da sem preveril čistost. Ugotovil sem, da je kljub 37 % izkoristku čist, in ne vsebuje izhodne spojine (3-nitroftalne kisline). Na kromatogramu se lise vzorca sintetiziranega luminola ujemajo z lisami vzorca kupljenega.



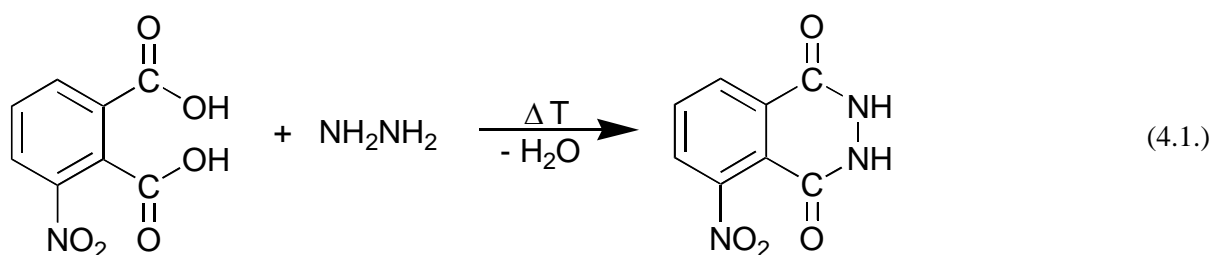
**Slika št. 9:** Tankoplastna kromatografija sintetiziranega luminola. Na startni liniji so vzorci (od leve proti desni): kupljen luminol, 3-nitroftalna kislina, sintetiziran luminol in še 3-nitroftalna kislina. Mobilno fazo sestavljajo butanol : etanol : konc. očetna kislina : voda v razmerju 10 : 1 : 1 : 4 : 1. Valovna dolžina svetilke je 366 nm.



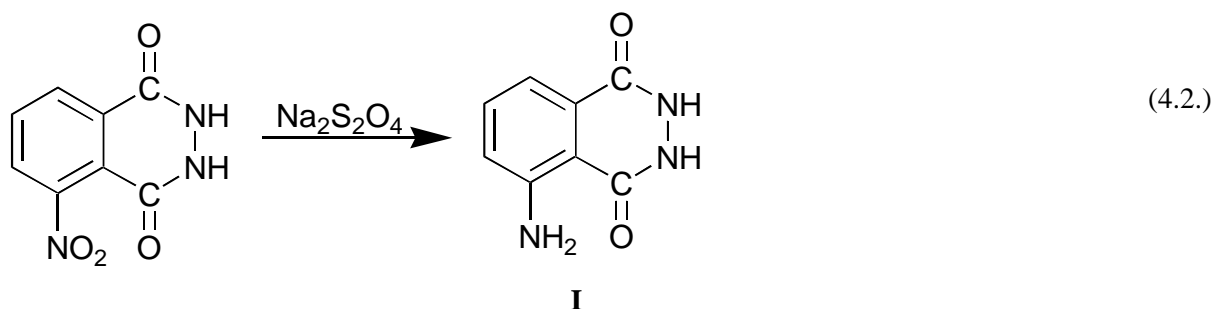
**Slika št. 10:** Sintetiziran luminol.

## DISKUSIJA

Kot je bilo omenjeno že na začetku gre, pri večini reakcij za nukleofilno substitucijo. Pri prvi stopnji gre za zamenjavo hidrazina z dvema molekulama vode. To je nukleofilna acilna substitucija na dikarboksilni kislini. Produkt je ciklični diamid.



Pri drugi reakciji pa gre za redukcijo nitro skupine na benzenovem obroču z uporabo natrijevega ditionita. Produkt je luminol (**I**).



## MATERIALI IN OPIS IZVEDBE MERITEV

Za te meritve uporabimo iste materiale kot v točki 4.3, le da v raztopino A-1 vmešamo 0.2 g sintetiziranega luminola.

Postopek izvedbe ostaja enak kot 4.3 .

## NEVARNOSTI

Bakrove spojine so škodljive, če jih pojemo, prah pa draži sluznico.

Vodikov peroksid se uporablja kot antiseptik in kot čistilno sredstvo, vendar burno razpada in oddaja kisik, kadar je izpostavljen svetlobi, toploti in nekaterim materialom.

Hidrazin je strupen in kancerogen.

Natrijev hidroksid je jedek.

3-nitroftalna kislina in natrijev ditionit sta zdravju škodljiva.

Nošenje rokavic je obvezno!

## 4.6. NOVE BARVE OKSIDACIJE LUMINOLA

Pri opravljanju meritev intenzitete svetlobe oksidacije luminola sem v laboratoriju izvajal še ostale kemoluminescenčne reakcije. Vprašal sem se, kakšno barvo dobim, če osnovni raztopini za kemoluminescenco (A-1) vmešam še občutljivce, kot so florescin, hemoglobin in rodamin B.

### 4.6.1 MOČNA ZELENA BARVA

#### MATERIALI ZA POSTOPEK

4.0 g natrijevega karbonata (brezvodnega),  $\text{Na}_2\text{CO}_3$

3 L destilirane vode

0.2 g luminola (hidrazid aminoftalne kisline),  $\text{C}_8\text{H}_7\text{O}_2\text{N}_3$

24.0 g natrijevega hidrogenkarbonata,  $\text{NaHCO}_3$

0.5 g amonijevega karbonata monohidrata,  $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$

0.4 g bakrovega (II) sulfata (VI) pentahidrata,  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$

0.2 g florescina,  $\text{Na}_2\text{C}_{20}\text{H}_{210}\text{O}_5$

0.2 g hemoglobina

5 % vodikov peroksid,  $\text{H}_2\text{O}_2$

2 merilni bučki, 1 L

čaša, 150 mL

2 merilna valja, 50 mL

erlenmajerica, 250 mL  
rokavice

### POSTOPEK IZVEDBE

Pripraviti si moramo dve raztopini, in sicer A-1 in A-2.

*Raztopina A-1:* v 1 L merilni bučki, kjer imamo 500 mL destilirane vode, raztopimo 4.0 g natrijevega karbonata. Dodamo 0.2 g luminola in mešamo, da se kemikaliji raztopita. Nato dodamo 24.0 g natrijevega hidrogenkarbonata, 0.5 g amonijevega karbonata monohidrata in 0.4 g bakrovega (II) sulfata pentahidrata. Mešamo tako dolgo, dokler se kemikalije ne raztopijo. Raztopino dopolnimo do 1 L z destilirano vodo.

*Raztopina A-2:* v drugi 1 L bučki pa pripravimo raztopino vodikovega peroksida. S 50 mL merilnim valjem odmerimo 50 mL 5 % vodikovega peroksida, ga kvantitativno prenesemo v 1 L bučko in razredčimo do oznake (na bučki).

V 250 mL erlenmajerico zatehtamo 0.2 g florescina in prav isto maso hemoglobina. Zmesi občutljivcev dodamo 50 mL raztopine A-1 in dobro premešamo (lahko uporabimo tudi magnetno mešalo). V 150 mL čaši pa si pripravimo 50 mL raztopne A-2.  
Za izvedbo demonstracije v temi zlijemo raztopino A-2 v erlenmajerico. Pojavi se močna zelena kemoluminescenca.



**Slika št. 11:** Kemoluminescenca luminola v raztopini A-1. Uporabljena občutljivca sta florescin in hemoglobin.



#### **4.6.2 TEMNO ROŽNATA BARVA**

Za ta poskus potrebujemo raztopino A-1 (glejte 4.6.1), 0.2 g hemoglobina in isto maso rodamina B. Za raztopino A-2 pa prav tako vzamemo 50 mL 5 % vodikovega peroksida, razredčenega na 1 L.

V 250 mL erlenmajerico (ali katerokoli drugo stekleno posodo) zatehtamo 0.2 g hemoglobina, in dodamo prav tako 0.2 g rodamina B. Zmesi občutljivcev dodamo 50 mL raztopine A-1 in dobro premešamo (lahko uporabimo tudi magnetno mešalo). V 150 mL čaši si pripravimo 50 mL raztopne A-2.

Za izvedbo demonstracije v temi zlijemo raztopino A-2 v erlenmajerico. Pojavi se temno rožnata kemoluminescenca, ki pa je fotoaparati ni zaznal najbolje.



**Slika št. 12:** Kemoluminescenca luminola v raztopini A-1. Uporabljeni občutljivci sta hemoglobin in rodamin B.

#### **NEVARNOSTI**

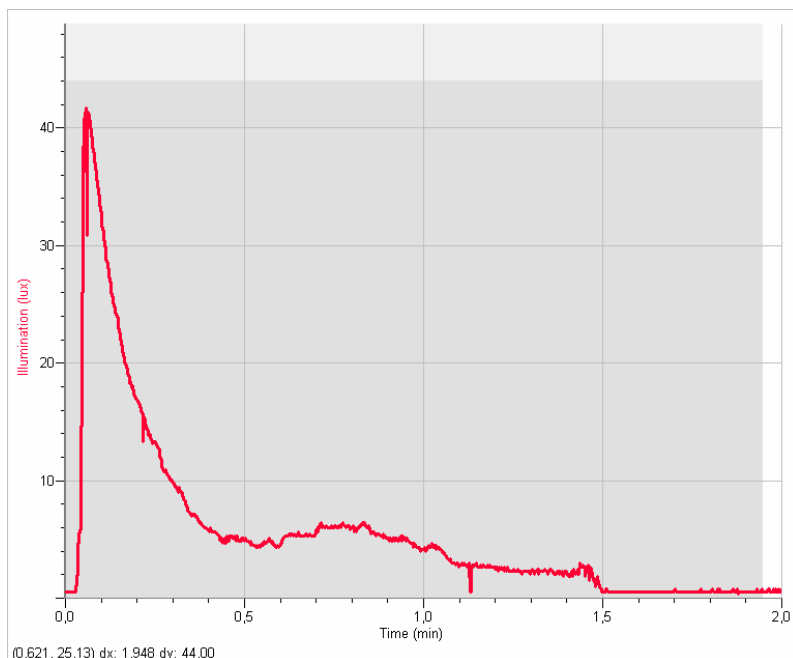
Za rodamin B je dokazano, da je kancerogen za živali. Toksičnost in rakotvornost za druge občutljivce še nista znana, zato z njimi delamo previdno.

5 % raztopina vodikovega peroksida razredčena na 1 L ni nevarna, vseeno pa z njo ravnamo previdno.

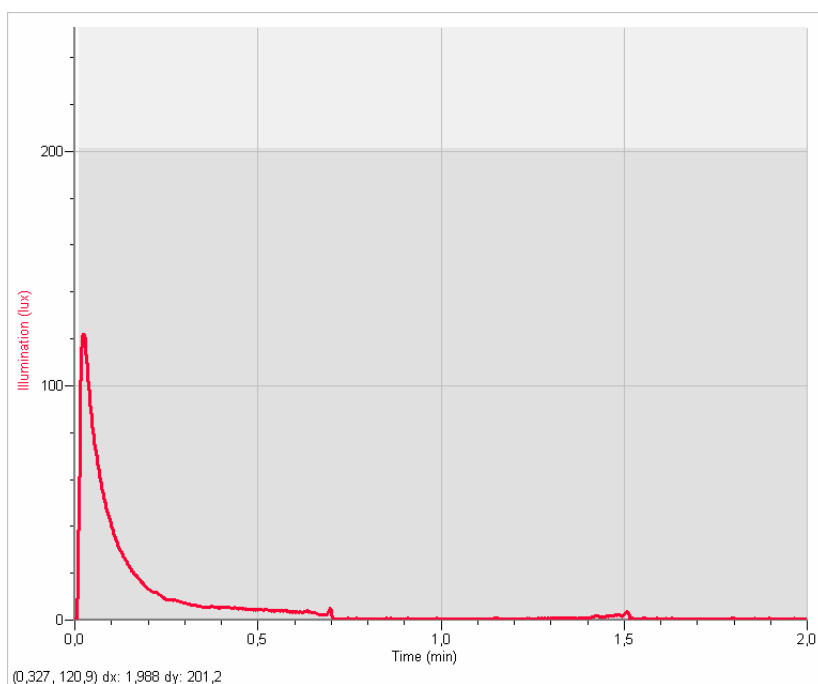
## **5. REZULTATI IN DISKUSIJA**

## 5.1. MERITVE

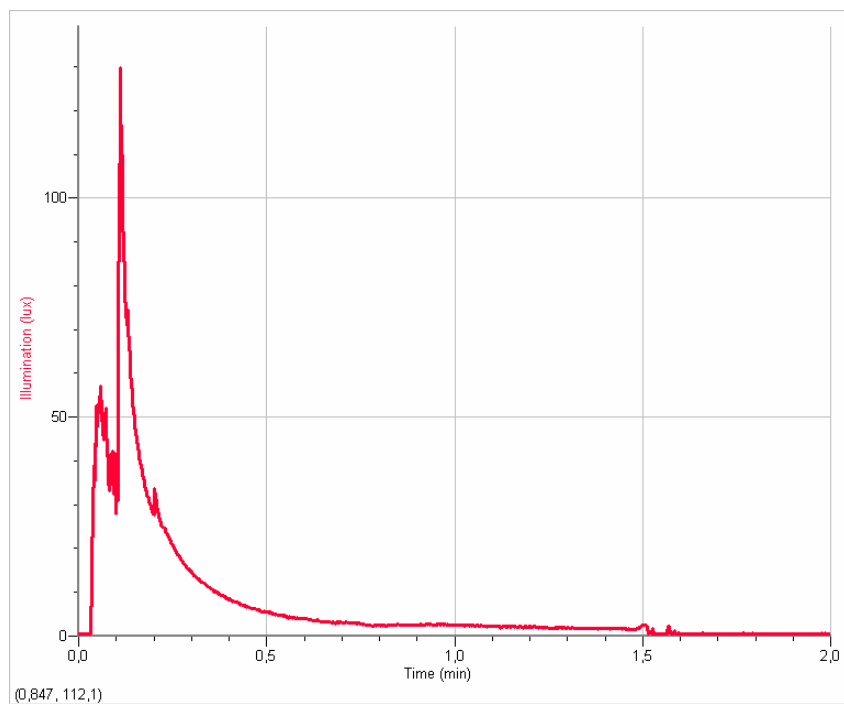
### 5.1.1. OKSIDACIJA LUMINOLA Z UPORABO $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$



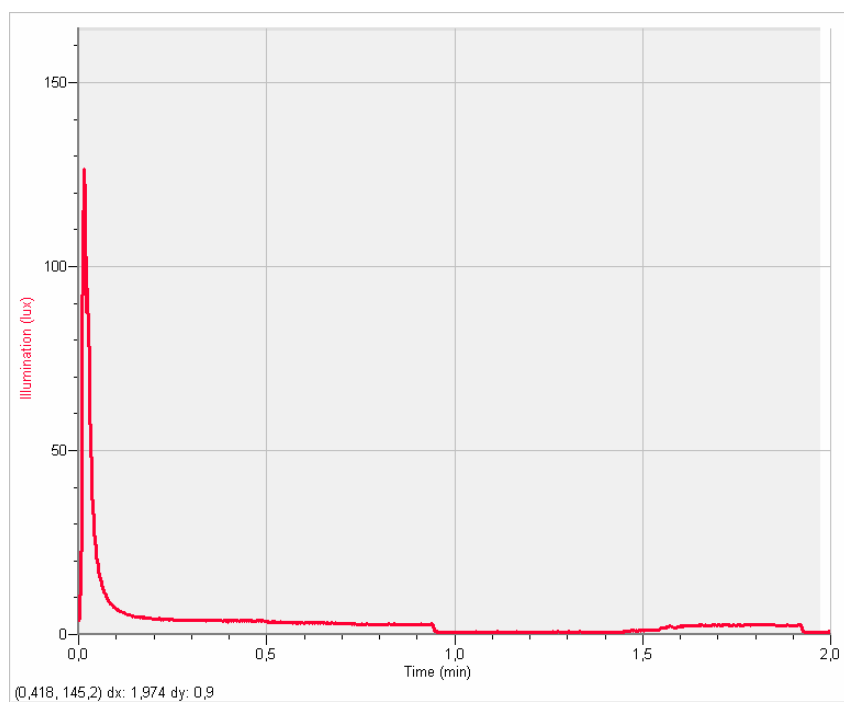
Slika št. 13: Krivulja intenzitete svetlobe; delež vodikovega peroksida je 5 %, razredčen na 1L.



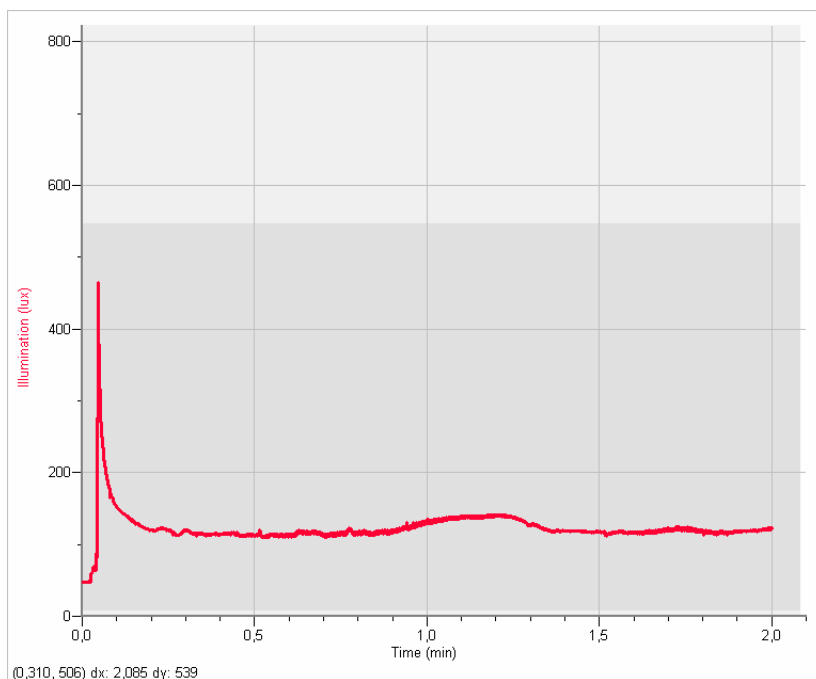
Slika št. 14: Krivulja intenzitete svetlobe; delež vodikovega peroksida je 10 %, razredčen na 1L.



Slika št. 15: Krivulja intenzitete svetlobe; delež vodikovega peroksida je 20 %, razredčen na 1L.

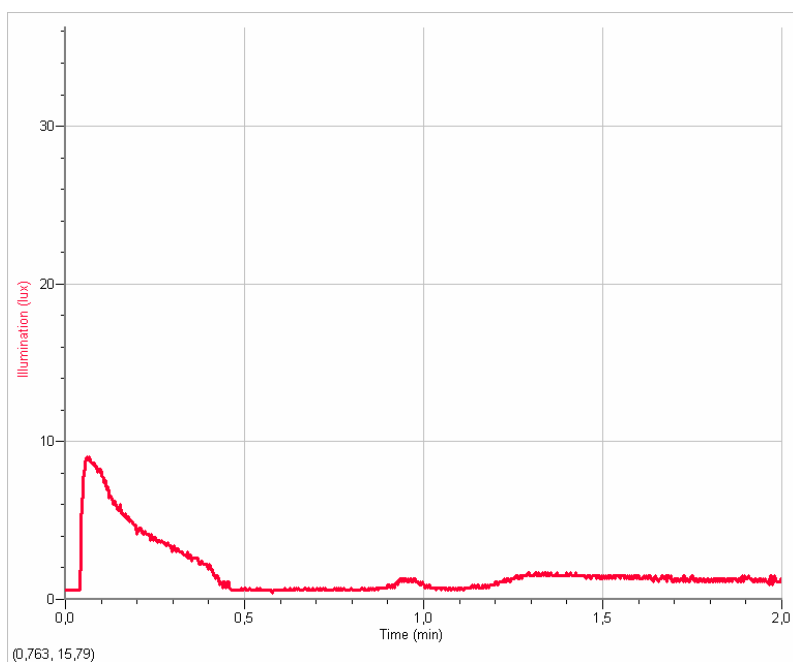


Slika št. 16: Krivulja intenzitete svetlobe; delež vodikovega peroksida je 15 %, razredčen na 1L.

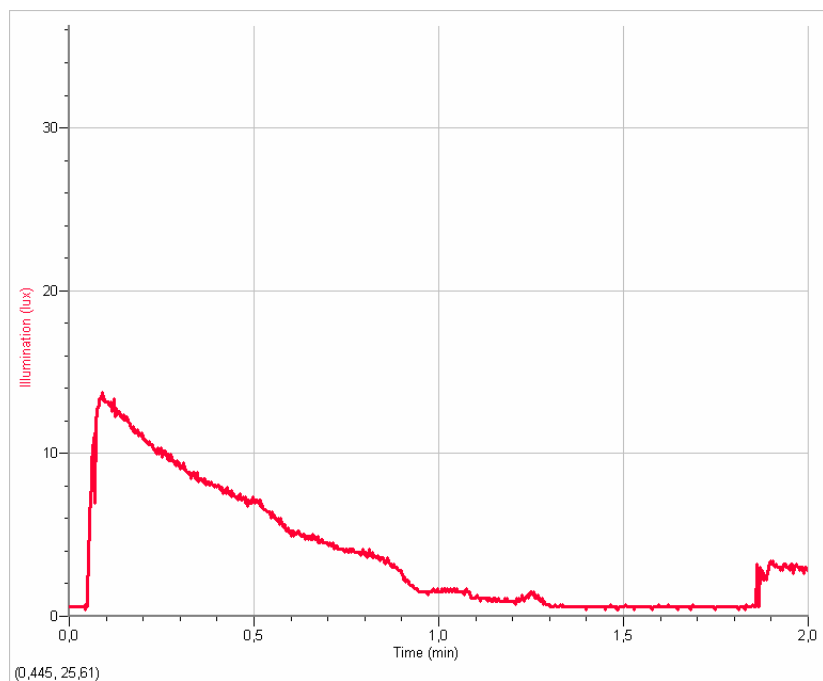


Slika št. 17: Krivulja intenzitete svetlobe; delež vodikovega peroksida je 25 %, razredčen na 1L.

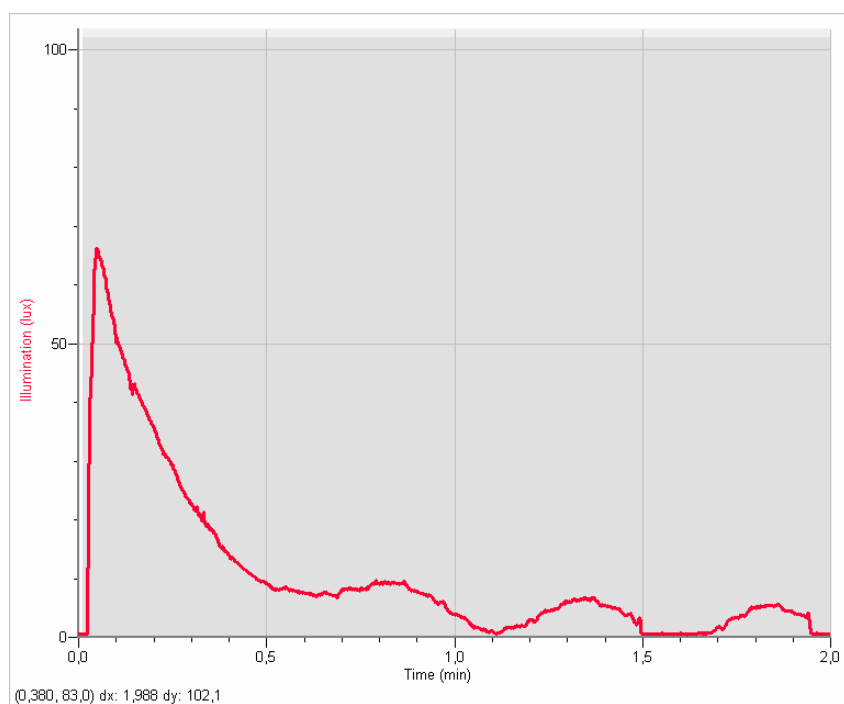
### 5.1.2. OKSIDACIJA LUMINOLA Z UPORABO $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$



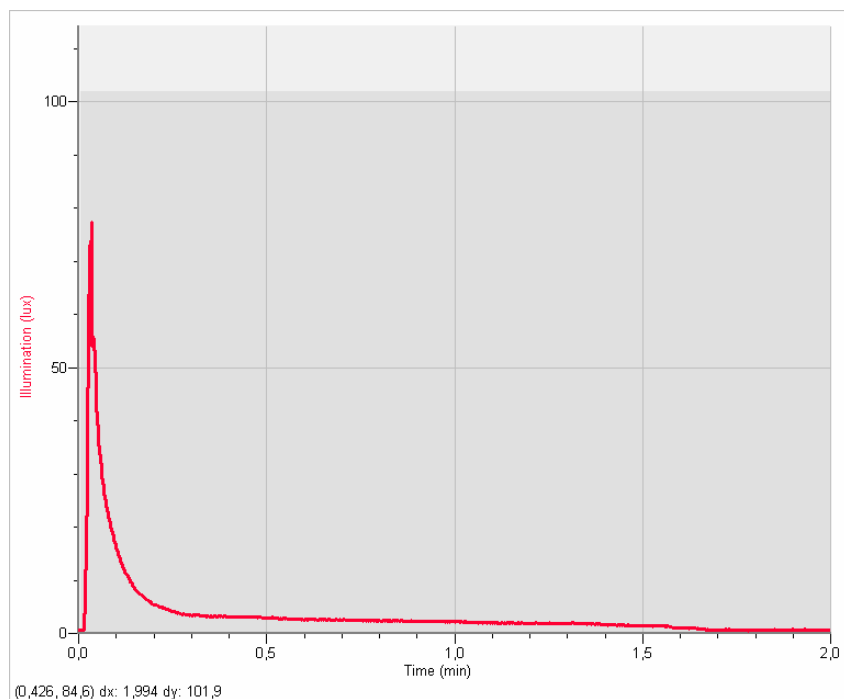
Slika št. 18: Krivulja intenzitete svetlobe; delež vodikovega peroksida je 5 %, razredčen na 1L.



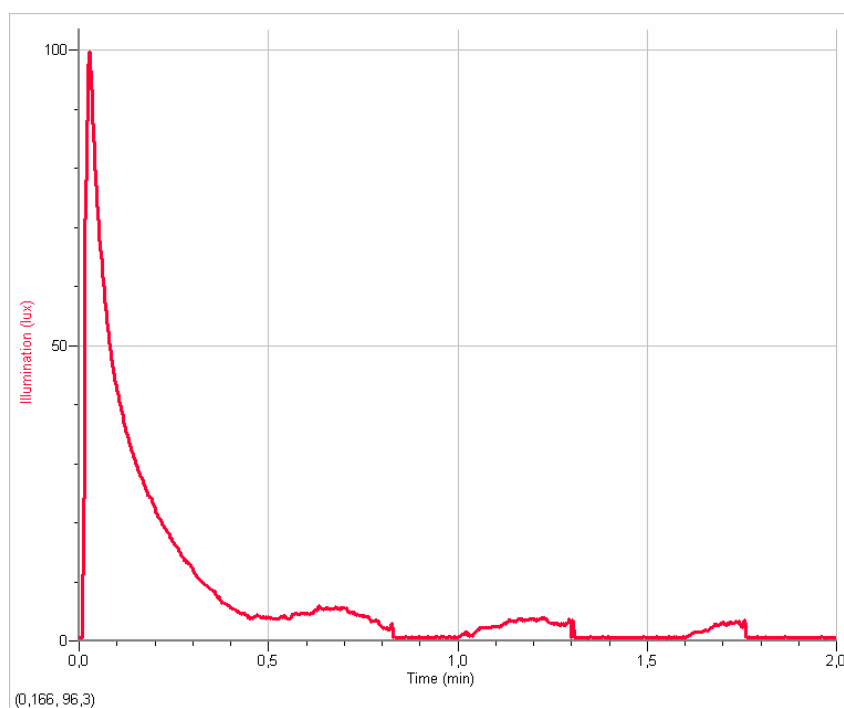
Slika št. 19: Krivulja intenzitete svetlobe, delež vodikovega peroksida je 10 %, razredčen na 1L.



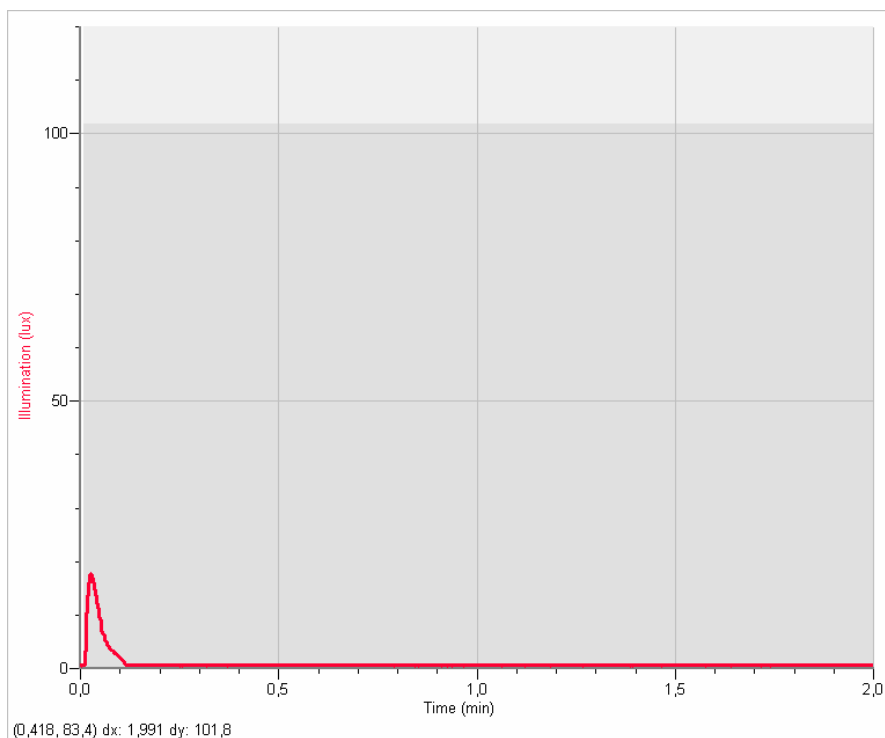
Slika št. 20: Krivulja intenzitete svetlobe; delež vodikovega peroksida je 15 %, razredčen na 1L.



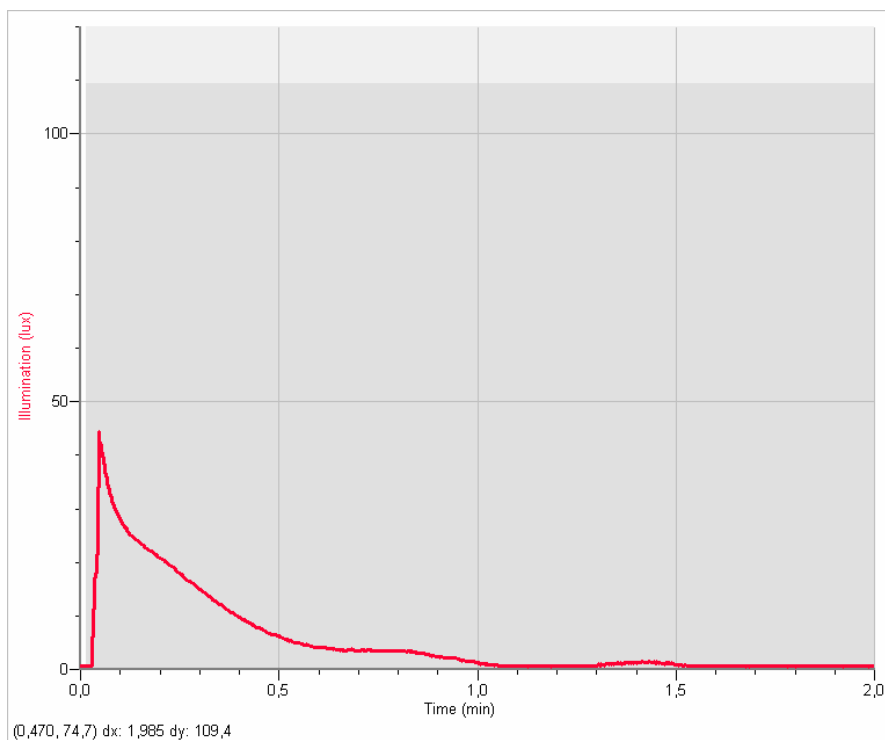
Slika št. 21: Krivulja intenzitete svetlobe; delež vodikovega peroksida je 20 %, razredčen na 1L.



Slika št. 22: Krivulja intenzitete svetlobe; delež vodikovega peroksida je 25 %, razredčen na 1L.

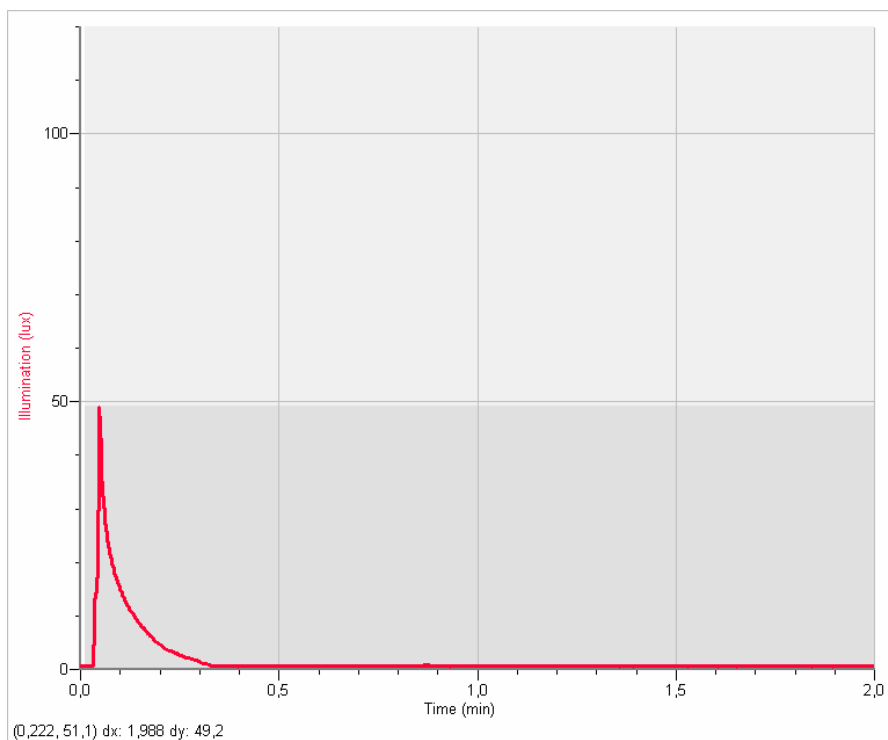
**5.1.3 OKSIDACIJA SINTETIZIRANEGA LUMINOLA Z UPORABO  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$** 

**Slika št. 23:** Krivulja intenzitete svetlobe; delež vodikovega peroksida je 5 %, razredčen na 1L.

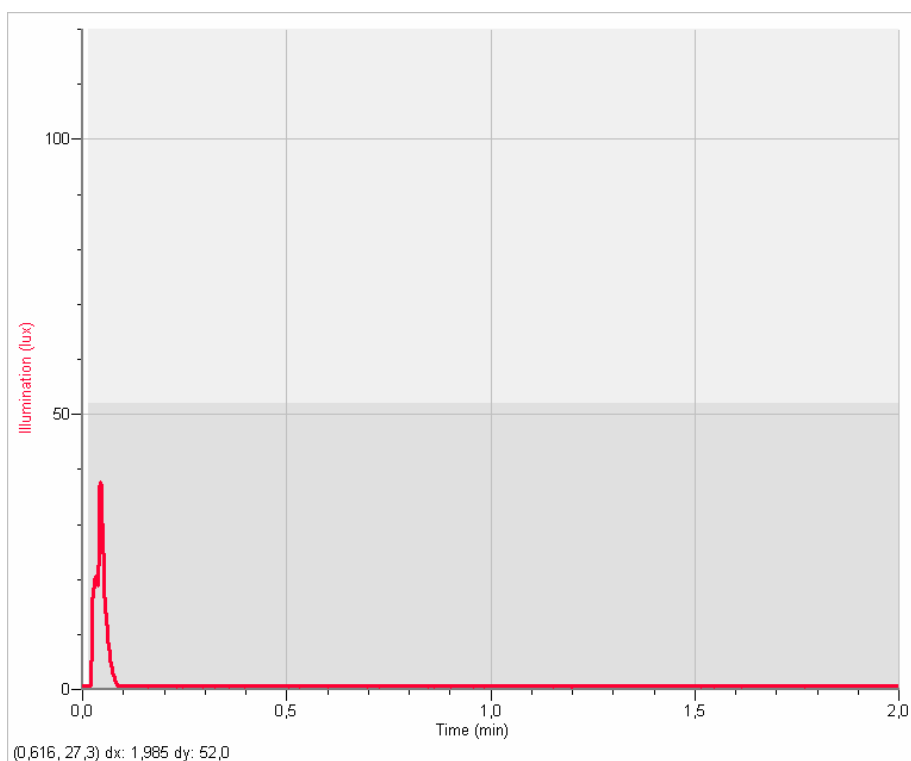


**Slika št. 24:** Krivulja intenzitete svetlobe; delež vodikovega peroksida je 10 %, razredčen na 1L.

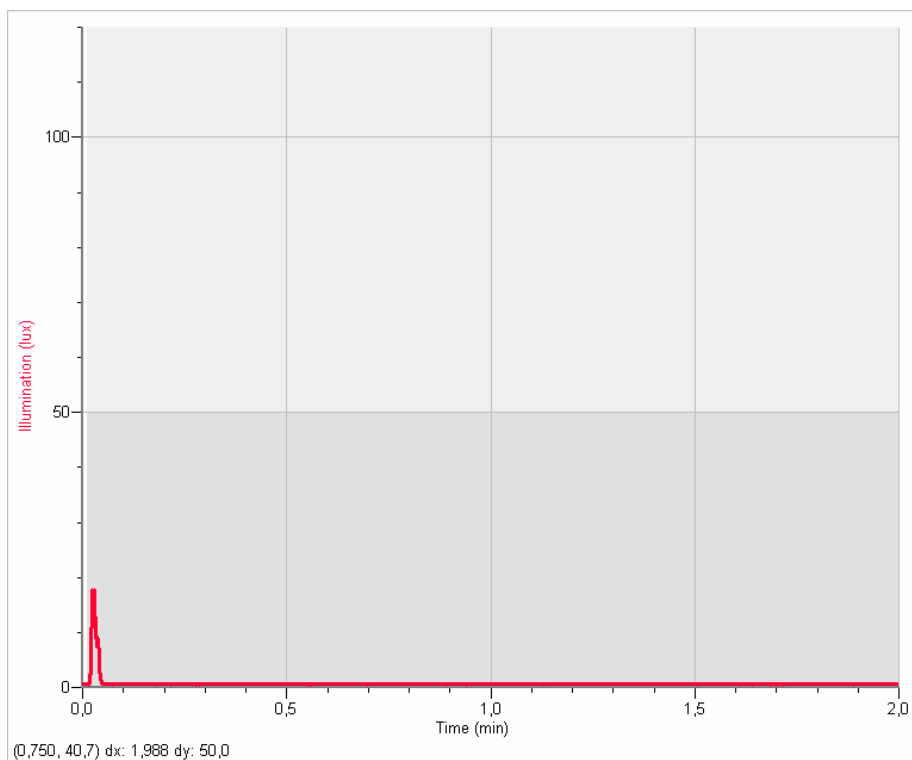




**Slika št. 25:** Krivulja intenzitete svetlobe; delež vodikovega peroksida je 15 %, razredčen na 1L .

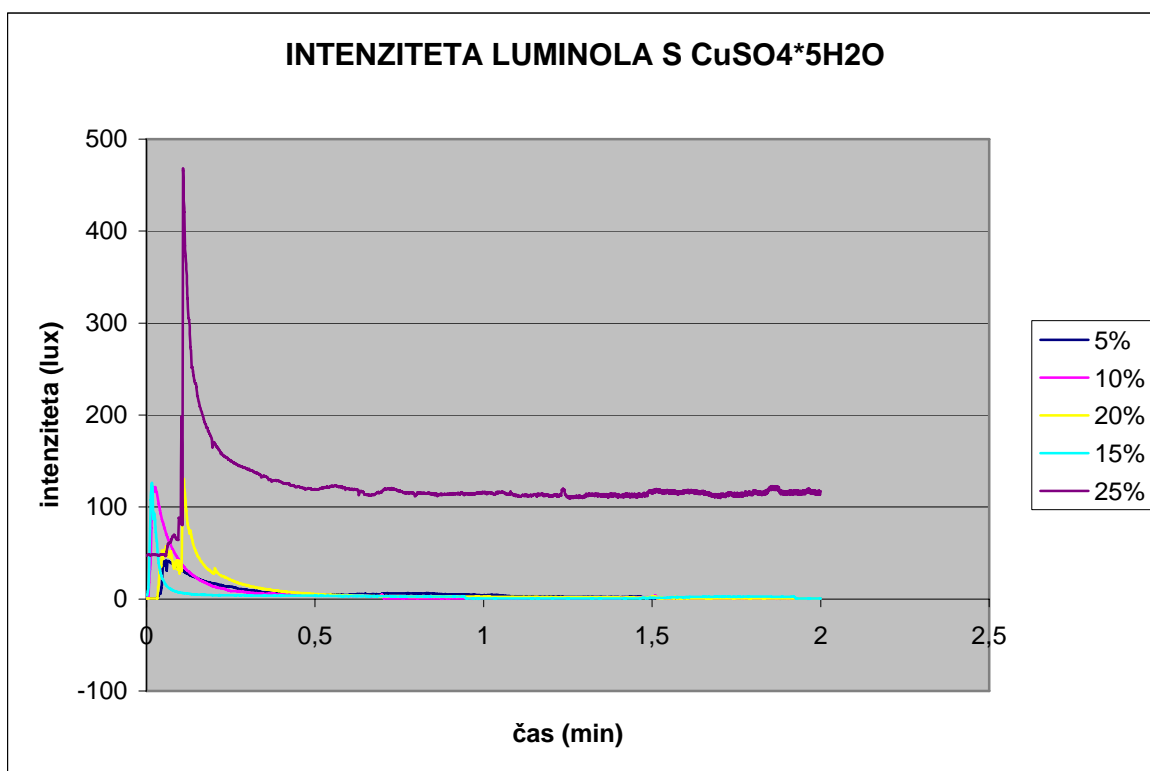


**Slika št. 26:** Krivulja intenzitete svetlobe; delež vodikovega peroksida je 20 %, razredčen na 1L .



Slika št. 27: Krivulja intenzitete svetlobe; delež vodikovega peroksida je 25 %, razredčen na 1L.

## 5.2. SKUPINSKI GRAF Z DISKUSIJO



Slika št. 28: Krivulje intenzitete svetlobe raztopin z uporabo  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ .

Največjo intenziteto je dosegla razredčena 25 % raztopina vodikovega peroksida; dvignila se na 465.573 lux, nato pa postopoma padala, ustalila se pri 130 lux. Po 2 minutah svetloba ni več intenzivna tako, kot je bila na začetku.

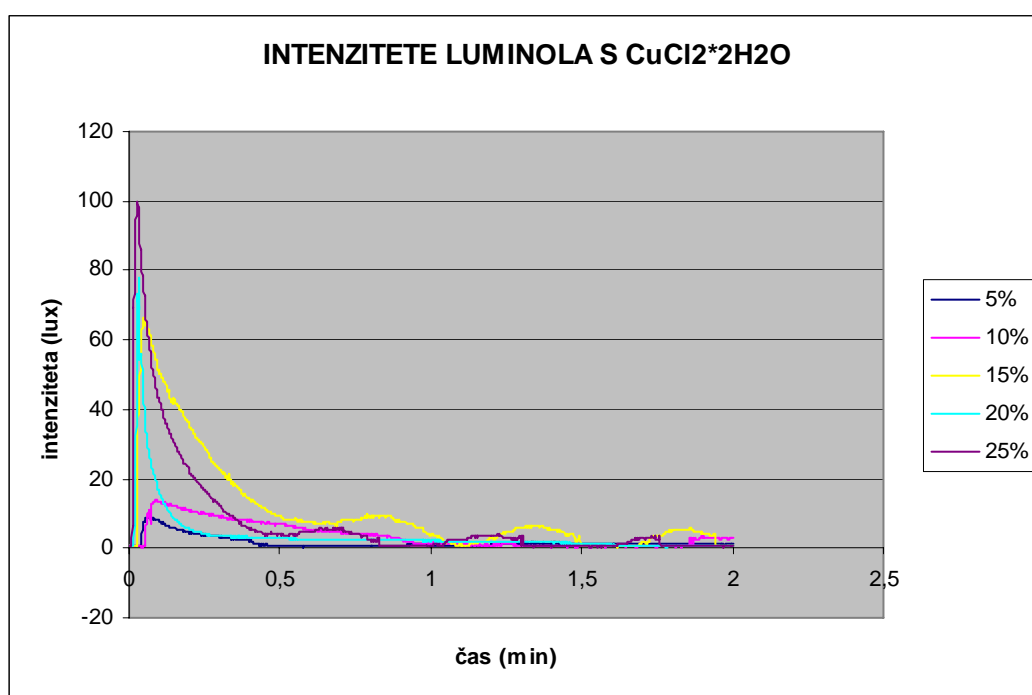
Razredčena 20 % raztopina vodikovega peroksida dvigne maksimum intenzitete na 129.744 lux, na koncu po 2 minutah pa se ustali pri vrednosti 0.6 lux.

Razredčena 15 % raztopina vodikovega peroksida je največjo intenziteto dosegala z vrednostjo 126.359 lux, proti koncu se intenziteta ustavi pri 0.6 lux.

Razredčena 10 % raztopina vodikovega peroksida je največjo intenziteto dosegla pri 121.846 lux, proti koncu je vrednost nihala med 0.5 in 0.6 lux.

Razredčena 5 % raztopina vodikovega peroksida ima maksimum intenzitete pri 40.9915 lux, na koncu merjenja pa je intenziteta nihala med 0.5 in 0.7 lux.

Iz grafa je razvidno, da je največja intenziteta svetlobe pri razredčeni 25 % raztopini vodikovega peroksida. Po padcu velike intenzitete reakcija enakomerno niha.



**Slika št. 29:** Krivulje intenzitete svetlobe raztopin z uporabo  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ .

Pri oksidaciji luminola z uporabo bakrovega klorida dihidrata, je bila intenziteta mnogo manjša. Največja vrednost je bila 99.6581 lux, pri razredčeni 25 % raztopini vodikovega peroksida. Ob koncu merjenja svetloba postopoma vpada na vrednost intenzitete 0.6 lux.

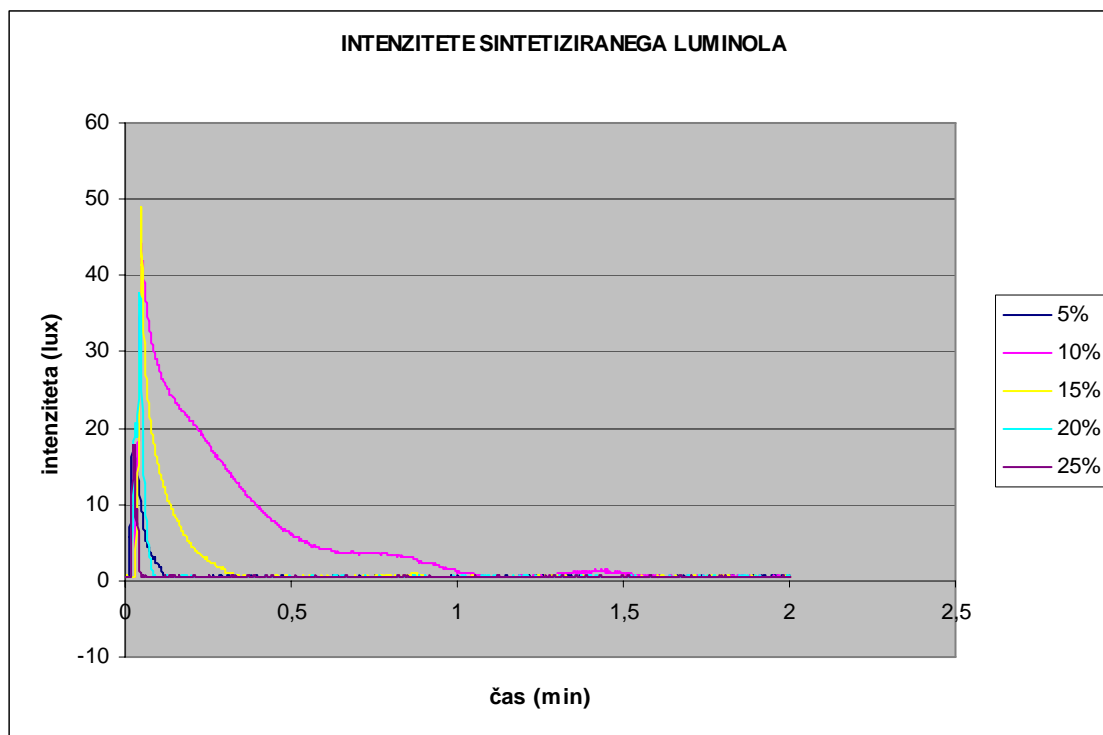
Razredčena 20 % raztopina vodikovega peroksida je dosegla maksimalno vrednost intenzitete 77.4701 lux, ob koncu merjenja pa 0.6 lux.

Razredčena 15 % raztopina vodikovega peroksida je največjo intenziteto merjenja dosegla pri 66.188 lux, konec merjenja je bila intenziteta 0.6 lux.

Razredčena 10 % raztopina vodikovega peroksida je največjo vrednost intenzitete dosegla pri 13.7265 lux, konec merjenja pa 0.6 lux.

Razredčena 5 % raztopina vodikovega peroksida je vrh intenzitete dosegla pri 13.7265 lux, ob koncu merjenja 2 minut pa 2.8 lux.

Kljub temu da intenziteta ni tako velika kot v prejšnjem primeru, se lepo vidi, da narašča s koncentracijo vodikovega peroksida. Tudi v tem primeru je lepo opazno nihanje reakcije.



**Slika št. 30:** Krivulje intenzitete svetlobe raztopin sintetiziranega luminola z uporabo  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ .

Pri oksidaciji sintetiziranega luminola smo dosegli najmanjšo intenziteto.

Največjo intenziteto merjenja je dosegla razredčena 10 % raztopina vodikovega peroksida, dvignila se je na 44.38 lux, nato pa postopoma pada, ustali se pri 0.6 lux. Po 2 minutah svetloba ni intenzivna tako, kot je bila na začetku.

Razredčena 20 % raztopina vodikovega peroksida dvigne maksimum intenzitete na 37.61 lux, po 2 minutah pa se ustali pri vrednosti 0.7 lux.

Razredčena 5 % raztopina vodikovega peroksida je največjo intenziteto dosegala z vrednostjo 17.68 lux, proti koncu se intenziteta ustavi pri 0.7 lux.

Razredčena 15 % raztopina vodikovega peroksida je največjo intenziteto dosegla pri 41.37 lux, proti koncu je vrednost dosegala 0.6 lux.

Razredčena 25 % raztopina vodikovega peroksida ima maksimum intenzitete pri 17.68 lux, na koncu merjenja se je intenziteta svetlobe ustavila pri 0.6 lux.

Intenziteta je bila v tem primeru majhna, predvidevamo, da sintetizirani luminol ni bil dovolj čist.

Največjo intenziteto smo v tem primeru dobili pri razredčeni 15% raztopini vodikovega peroksida.

Pričakovali smo, da bo največja intenziteta pri razredčeni 25 % raztopini vodikovega peroksida.

Za takšen rezultat je po vsej verjetnosti kriva napaka pri merjenju in pripravi raztopin.

## **6. ZAKLJUČEK**

Na začetku raziskovalne naloge so bile zastavljene tri hipoteze, med samim delom pa sem odkril dve novi barvi s pomočjo občutljivcev hemoglobina, florescina in rodamina B.

### **Ovrednotenje hipotez**

Prva hipoteza je potrjena. Če povečamo koncentracijo vodikovega peroksida, je intenziteta svetlobe večja, čas trajanja kemoluminescence pa krajši. Če pa koncentracijo zmanjšamo, bo intenziteta svetlobe manjša, čas trajanja kemoluminescence pa daljši. Čas trajanja smo opazovali, nismo pa ga merili. Za daljše trajanje kemoluminescence je potrebno uporabiti nizke koncentracije vodikovega peroksida.

Druga hipoteza je delno potrjena. Sintetiziran luminol ima mnogo manjšo intenziteto svetlobe, kot kupljeni.

Tretja hipoteza se je navezovala na vpliv ostalih reagentov na svetlobo in je potrjena. V literaturi je predvideno, da se pri postopku za izvedbo demonstracije v raztopino poleg lumola, natrijevega karbonata in hidrogen karbonata, ter amonijevega karbonata monohidrata doda še bakrov sulfat pentahidrat ali bakrov klorid dihidrat. Tu se je intenziteta močno razlikovala, večja je bila pri bakrovem (II) sulfatu (VI) pentahidratu, zato ga bolj priporočamo kot bakrov (II) klorid dihidrat.

Med opravljanjem meritev intenzitete sem se še »poigraval« z oksidacijami luminola, le da sem uporabljal različne kombinacije občutljivcev. Osnovni raztopini (A-1) sem dodal zmes hemoglobina in florescina in dobil prekrasno in intenzivno zeleno barvo.

K osnovni raztopini (A-1) sem dodal zmes hemoglobina in rodamina B. Dobil sem temno rožnato barvo, ki je na žalost fotoaparati ni zaznal povsem dobro. Intenzitete tukaj nisem izmeril, saj v to raziskovalno nalogo nisem vključil občutljivcev. Nove barve so predstavljene kot zanimivost. V prebrani literaturi teh barv nisem zasledil, zato upam, da sem ju pripravil prvi. Delo na tem področju bom še nadaljeval in poskušal pripraviti še kakšno barvo.

Na področju kemoluminescence je še veliko neodkritih poskusov, lepih barv in reagentov, ki so osnova zanje. Obstaja že tudi veliko sintetiziranih snovi, ki imajo možnost kemoluminesciranja, vendar tega še nismo opazili. V večini primerov so takšna odkritja povsem naključna ali pa posledica nesreč. Leta 1986 je prejel kemik John C. Polanyi nobelovo nagrado za dosežke na področju kemoluminescence. To je prva nagrada iz tega še do sedaj neraziskanega področja, vendar zagotovo ni zadnja.

## **6. DODATEK**

## 6.1. VARNOSTNA OPOZORILA ZA KEMIKALIJE

Ker se je v tej raziskovalni nalogi uporabljalo veliko kemikalij, je dobro, da vemo tudi za nevarnosti, ki se nam lahko zgodijo pri delu. Zato sem za uporabljene kemikalije navedel R in S stavke.

**Tabela št. 2:** Varnostna opozorila za kemikalije

Ime kemikalije	R stavki	S stavki
amonijev karbonat monohidrat	36/37/38	26-36
bakrov (II) klorid dihidrat	20/22-36/37/38-41	26-36
bakrov (II) sulfat (VI) pentahidrat	22-36/38-50/53	22-60-61
hidrazin	45-10-23/24/25-34-43-50	53-45-60-61
luminol	36/37/38	26-36
natrijev ditionit	7-22-31	7/8-26-28-43
natrijev hidroksid	35	26-37/39-45
natrijev hidrogenkarbonat	/	/
natrijeve karbonat	36	2-22-26
3-nitroftalna kislina	36/37/38	26-36
ocetna kislina	10-35	23-26-45
trietilenglikol	36/37/38	26-36
vodikov peroksid	34	3-28-36/39-45
rodamin B	22	22-24/25
hemoglobin	/	/
fluorescein dinatrijeva sol	/	22-24/25

## 6.2. RAČUNI

### *RAČUNI ZA PRIPRAVLJENE RAZTOPINE VODIKOVEGA PEROKSIDA*

Osnovna enačba priprave raztopin s sistemom razredčevanja:

$$\varphi_1 \cdot V_1 (AB) = \varphi_2 \cdot V_2 (AB)$$

#### **POMEN OZNAK:**

$\varphi_1$  – volumski delež osnovne raztopine (30 % vodikov peroksid)

$\varphi_2$  – volumski delež nove (razredčene) raztopine (5 %, 10 %, 15 %, 20 % in 25 % raztopina H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)

$V_1 (AB)$  – volumen osnovne raztopine, ki ga odmerimo nato razredčimo (volumen 30 % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)

$V_2 (AB)$  – želeni volumen pripravljene raztopine (100 mL)

$$\varphi_1 = 30 \% \quad V_2 (AB) = 100 \text{ mL}$$

$$\underline{V_1 (AB) = ?}$$

*Priprava 5 % raztopine vodikovega peroksida*

$$\begin{aligned} \varphi_2 = 5 \% \quad & V_1(AB) = \varphi_2 \cdot V_2 (AB) / \varphi_1 \\ & V_1(AB) = (0.05 \cdot 100 \text{ mL}) / 0.30 \\ & \underline{V_1 (AB) = 16.7 \text{ mL}} \end{aligned}$$

*Priprava 10 % raztopine vodikovega peroksida*

$$\begin{aligned}\varphi_2 = 10 \% \quad & V_1(\text{AB}) = \varphi_2 \cdot V_2(\text{AB}) / \varphi_1 \\ & V_1(\text{AB}) = (0.10 \cdot 100 \text{ mL}) / 0.30 \\ & \underline{V_1(\text{AB}) = 33.3 \text{ mL}}\end{aligned}$$

*Priprava 15 % raztopine vodikovega peroksida*

$$\begin{aligned}\varphi_2 = 15 \% \quad & V_1(\text{AB}) = \varphi_2 \cdot V_2(\text{AB}) / \varphi_1 \\ & V_1(\text{AB}) = (0.15 \cdot 100 \text{ mL}) / 0.30 \\ & \underline{V_1(\text{AB}) = 50 \text{ mL}}\end{aligned}$$

*Priprava 20 % raztopine vodikovega peroksida*

$$\begin{aligned}\varphi_2 = 20 \% \quad & V_1(\text{AB}) = \varphi_2 \cdot V_2(\text{AB}) / \varphi_1 \\ & V_1(\text{AB}) = (0.20 \cdot 100 \text{ mL}) / 0.30 \\ & \underline{V_1(\text{AB}) = 66.7 \text{ mL}}\end{aligned}$$

*Priprava 25 % raztopine vodikovega peroksida*

$$\begin{aligned}\varphi_2 = 25 \% \quad & V_1(\text{AB}) = \varphi_2 \cdot V_2(\text{AB}) / \varphi_1 \\ & V_1(\text{AB}) = (0.25 \cdot 100 \text{ mL}) / 0.30 \\ & \underline{V_1(\text{AB}) = 83.3 \text{ mL}}\end{aligned}$$



## 7. LITERATURA

Pri literaturi moram omeniti, da v slovenščini ne obstaja nobena knjiga, ki bi vsebovala kakšen mehanizem oziroma podrobno razlago o kemoluminescenci.

1. D. Šarlah, *Kemoluminescenca I. del*, **2000**.
2. M.J. Cormier, D.M.Hercules, J. Lee, *Chemiluminescence and bioluminescenc.* **1973**.
3. B.Z. Shakhshiri, L.G. Williams, Dirreen, G.E. Francis, *Chemical Demonstrations, Voll.* **1990**.
4. A. Ault, C. Kouba, *Journal of Chemical Education*.(stran 51, 395). **1974**.
5. E.J. Bowen, *Luminescence in Chemistry*. **1968**.
6. A. Blumn, J. Weinstein, J. Sousa, *Journal of Organic Chemistry*.(stran 28, 2989). **1963**.
7. J. Sousa, J. Weinstein, J. Sousa, *Journal of Organic Chemistry*.(stran 27, 3155). **1962**.
8. A. Nunn, K. Schofield, *Journal of the Chemical Society*. (stran 586). **1952**.
9. K. Schofield, *Journal of the Chemical Society*. (stran 2411). **1949**.
10. D. C. Eaton, *Laboratory investigations in Organic Chemistry*. (stran 408, 409, 411). **1989**.
11. D. A. Skoog, D.M.West, *Principles of Instrumental Analysis*. (stran 271, 273, 277). **1971**.
12. D. F. Rosewell, E. H. White, *Meth. Enzym.* (stran 86, 941). **1987**.
13. L. F. Fieser, *Experiments in Organic Chemistry*. (stran 199). **1957**.
14. Vernier (priložena knjižica ob aparatu).