



ŠOLSKI CENTER CELJE
SREDNJA ŠOLA ZA ELEKTROTEHNIKO IN KEMIJO

RAZISKOVALNA NALOGA

VPLIV KATALIZATORJA NA
OKSIDACIJO LUMINOLA PRI
KEMOLUMINESCENCI

AVTOR: Marko Jeran

LETNIK: 4.

ŠOL. LETO: 2008/2009

MENTORJA: Irena Drogenik, univ. dipl. kem.
mag. Tomaž Ogrin, univ. dipl. inž. kem. teh.

Raziskovalno nalogo sem opravil na Inštitutu Jožefa Štefana, Odseku za anorgansko kemijo in tehnologijo in šolskem laboratoriju, pod mentorstvom Irene Drogenik in mag. Tomaža Ogrina.

Vsem bi se rad še enkrat iskreno zahvalil za pomoč in strokovno vodstvo pri izdelavi raziskovalne naloge.

Ireni Drogenik se zahvaljujem za številne dolge ure, ki jih je z mano prebila v laboratoriju.

Mag. Tomažu Ogrinu hvala za ponujeno pomoč, delo v njegovem laboratoriju in koristne nasvete.

Veliko zahvalo namenjam prof. dr. Borisu Pihlerju za njegove nasvete in pomoč v času dela.

Hvala dr. Kenu Gaddu in 4science (Velika Britanija) za koristne nasvete in materialno pomoč.

Hvala vsem na Inštitutu Jožefa Štefana za njihovo prijaznost in prijetno vzdušje v času dela.

Zahvala gre tudi dr. Božidarju Ogorevcu, Andreju Ščavničarju, direktorju Šolskega centra Celje g. Igorju Dosedli, ravnatelju Srednje šole za elektrotehniko in kemijo g. Mojmirju Klovarju, g. Marinki Žbogar, prof. dr. Mileni Horvat, doc. dr. Ljudmili Benedik, Janji Smrke, Marku Štroku, Maticu Lozinšekcu in vsem ostalim, ki so pripomogli k realizaciji naloge in pomoči pri nabavi kemikalij.

Za podporo se zahvaljujem Šolskemu Centru Celje in Inštitutu Jožef Štefan.

KAZALO

1. POVZETEK	4
2. UVOD	5
2.1. METODE DELA.....	5
3. TEORETIČNI DEL.....	6
3.1. KEMOLUMINESCENCA.....	7
3.4. DETEKCIJA KEMOLUMINESCENCE.....	12
3.5. LUMINOL	13
3.6. KATALIZATORJI ZA KEMOLUMINESCENCO LUMINOLA.....	18
4. EKSPERIMENTALNI DEL	19
4.1. APARATURE.....	20
4.2. REAGENTI.....	21
5. REZULTATI IN DISKUSIJA	23
5.1. POGOJI ZA DELOVANJE KATALIZATORJA.....	24
5.1.2. USPEŠNOST DELOVANJA KATALIAZATORJA	24
5.2. MERITVE IN VREDNOST INTEZITET	25
6. ZAKLJUČEK.....	27

1. POVZETEK

Kemoluminescenca je področje kemije, ki se v današnjem času veliko uporablja v analizni kemiji. Tu lahko uporabimo njeno selektivnost, občutljivost in široko linearno območje. Ta raziskovalna naloga sodi v skupino raziskav na področju kataliziranja kemoluminescence. Raziskan je bil vpliv katalizatorja na potek oksidacije luminola. Katalizator je učinkovit, če je dobro topen v topilu, z jim ne tvori oborine in je dodan v primernih količinah. Prevelika masa zavira njegovo delovanje, premajhna pa ga sploh ne aktivira. Glavna parametra, ki vplivata na delovanje kemoluminescence, sta torej topnost v topilu in količina katalizatorja. Najbolj uspešni katalizatorji so $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ in $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$.

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 kemoluminescenco.

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 kemoluminescenco, pojav, za katerega pravijo, da je biser kemije.

V tej nalogi je razložen vpliv katalizatorja na potek oksidacije luminola z vodikovim peroksidom. Katalizatorji za kemoluminescenco luminola morajo delovati uspešno in se morajo dobro raztapljati v topilnih sistemih, kjer poteka reakcija.

2.1. METODE DELA

Poskusi so bili opravljeni na Inštitutu Jožefa Štefana v Ljubljani, večino analiz pa smo opravili v šolskem laboratoriju Srednje šole za elektrotehniko in kemijo Šolskega centra Celje.

Večina uporabljenih kemikalij je bila strupenih in zdravju škodljivih, celo radioaktivnih (uran), zato smo z njimi ravnali v skladu s predpisi o kemikalijah. V laboratoriju smo imeli na voljo predpise za delo in vsa varnostna sredstva. Vse odpadne kemikalije smo zbirali v posebnih posodah in jih po potrebi ustrezno nevtralizirali.

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, sprostito fotone (energijo v obliki svetlobe). To se največkrat dogaja v tekočem in trdnem agregatnem stanju. 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 prekinutvi 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:

$$E = hc/\lambda$$

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

λ 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.

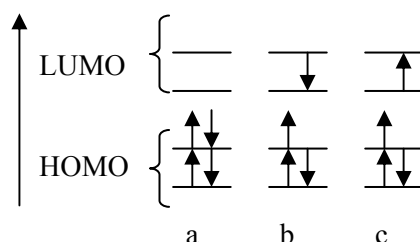
Tabela 1: Povzetek energij, ki ustrezajo dometu valovne dolžine v vidni svetlobi.

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

Po MO teoriji je lahko energija elektronov v molekuli opisana po izrazu za molekulske orbitale (MO), ki je kombinacija atomskih orbital atomov v določeni molekuli. Molekulske orbitale, ki določajo lastnosti snovi, so višje energijsko zasedene molekulske orbitale (HOMO) in nižje energijsko nezasedene molekulske orbitale (LUMO). Energiji LUMO in

HOMO sta zaporedno predstavljeni z molekularno orbitalnim diagramom, kot je prikazan na sliki 1.



Slika 1: Elektronska stanja za LUMO in HOMO.

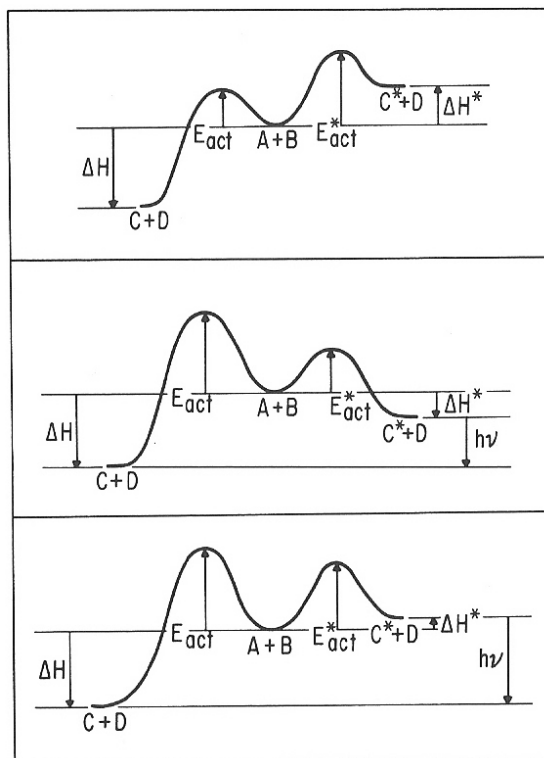
Na sliki 1.a je predstavljeno osnovno stanje za večina molekul (organske luminescenčne molekule), kjer je HOMO z elektroni v paru, medtem ko je LUMO nezaseden. V večini molekul je osnovno stanje s popolnoma zasedenimi orbitalami, tako da so vsi elektronski spini v paru. Takšno stanje se imenuje singlet stanje. Ko pa je molekula v vzbujenem stanju, je vsaj eden izmed elektronov v višji energijski orbitali, zato za sabo pušča polprazno orbitalo, ki je v osnovnem stanju polna. Ker je en elektron v višje - energijski orbitali, drugi pa v nižje - energijski orbitali, imata oba α ali β 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.

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

Da lahko kemijska reakcija proizvaja 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 1) lahko povzročijo kemoluminescenco le kemijske reakcije, ki sproščajo višjo energijo.



Slika 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 2). Ti diagrami prikazujejo glavne reakcije, pri katerih reaktanta 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 endotermna. To se zgodi, če C nima elektronsko vzbujenega stanja pod energijo cele reakcije - ΔH . 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 produkta v vzbujenem stanju. Spodnja krivulja predstavlja tvorbo vzbujenega stanja, ki je rahlo endotermen. V tem primeru bi lahko potekala kemoluminescenca, če bi bila aktivacijska energija za tvorbo

* pomeni, da je reaktant oziroma produkt v vzbujenem stanju

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:

kemijska reakcija: $A^* \rightarrow A + \text{toplota}$

Pri kemijskih reakcijah je elektronsko vzbujen produkt preprost, nestabilen in posreden v reakcijskem mehanizmu.

neradioaktivna zamenjava: $A^* + B \rightarrow A + B^*$

V drugem procesu neradioaktivne zamenjave se eno elektronsko stanje spremeni v drugo brez emisije (oziroma absorpcije) elektromagnetskega valovanja.

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} do 10 sekund. Vendar 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 proizvajati razmerje, primerljivo s svojim razmerjem propada.

Da lahko vzbujeno stanje sploh začne proizvajati svetlobo, 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 2).

Posledica 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 (Φ_c) reakcije. Ta je definiran kot razmerje med številom emitiranih fotonov s številom zreagiranih molekul:

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

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

$$\Phi_c = \Phi_p \times \Phi_e \times \Phi_r$$

Prva dva člena 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 temelji na osnovi primerjanj 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 celotni 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.

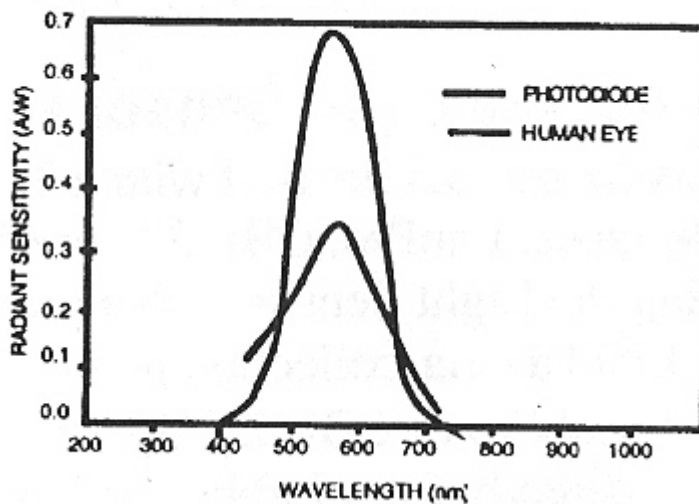
Za popolno razumevanje vplivov topil, koncentracij, dušilcev itd. na kemoluminescenčne reakcije moramo določiti celotni reakcijski mehanizem. Ko je mehanizem enkrat spoznan, je mogoče izbirati možnosti, ki povečajo izkoristek kemoluminescenčne reakcije ali pa spremenijo spekter.

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

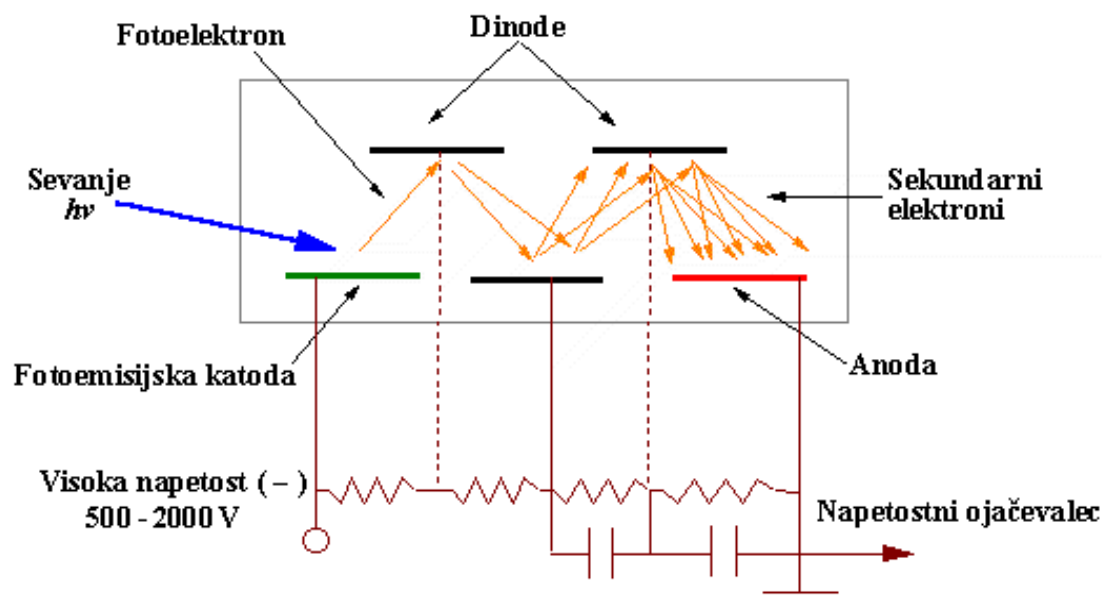
Intenzivnost svetlobe pri kemoluminescenčni reakciji lahko merimo s fotografskimi in fotoelektričnimi metodami. Za to nalogo je bila najboljša fotoelektrična metoda s svetlobnim senzorjem. V temi svetlobni senzor potopimo v vzorec in poskrbimo, da odstranimo vse vire svetlobne. Uporaba sensorja ni namenjena le merjenju 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 Humanmtsu S 1133 silikonske fotodiode in proizvaja napetost s proporcionalno svetlobno intenziteto. Primerjavo človekovih oči in fotocelice predstavlja naslednji graf (slika 3).



Slika 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 lahko torej merimo tudi s fotoelektričnimi elementi. Poznamo več vrst detektorjev, od fotodiode do najboljčutljivejše 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 ojačan signal se zbere na anodi, ki je brez napetosti, od koder ga lahko razberemo.

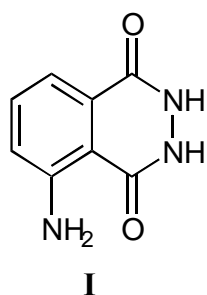


Slika 4: Shematska predstavitev delovanja fotopomoževalke.

3.5. LUMINOL

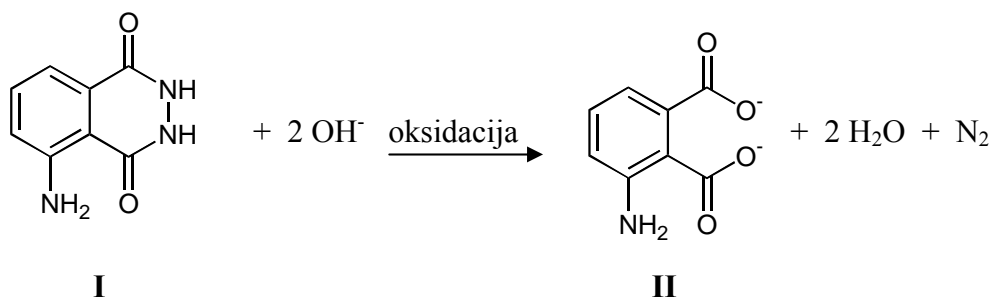
Pri analizi smo uporabljali luminol. Ta je za razliko od drugih kemiluminescenčnih reagentov dokaj topen v vodi.

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

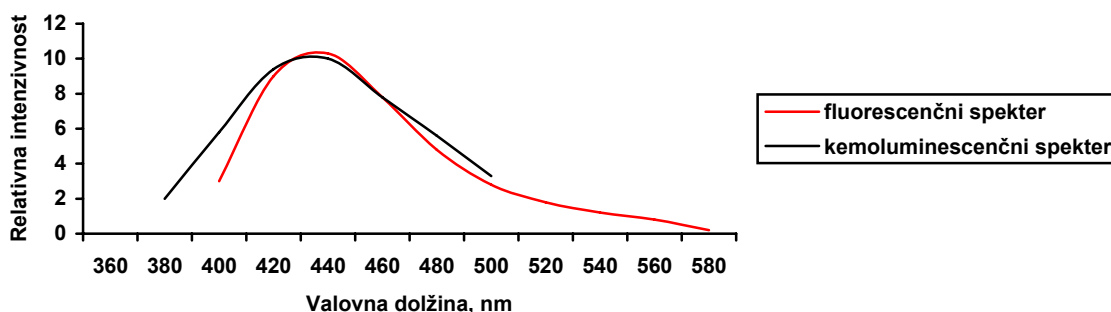


Svetlo modra kemiluminescenca luminola je dobro vidna v zatemnjenih prostorih. Prvo poročilo kemiluminescence luminola je podal kemik Albrecht leta 1928. Takrat so se začele reakcije luminola podrobneje raziskovati.

Vse luminolove reakcije so oksidacije, kot jih predstavlja naslednja 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 nekoliko 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 hipokloridni, 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.

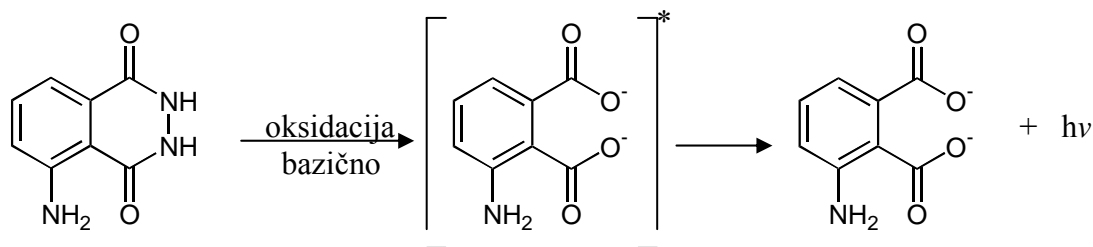


Slika 5: Primerjava kemiluminescenčnega in fluorescenčnega spektra aminoftalatnega iona.

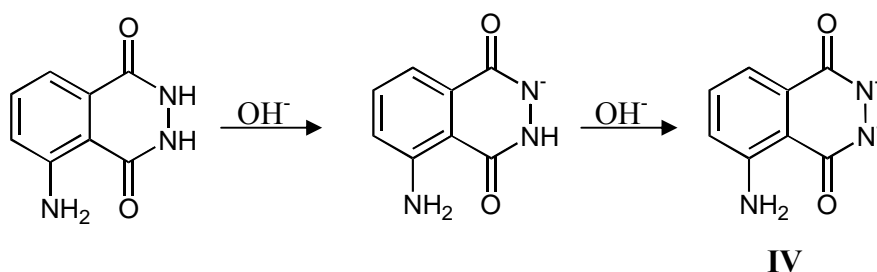
Ta ugotovitev temelji na osnovi ustreznosti med kemiluminescenčnim spektrom luminola in fluorescenčnim spektrom aminoftalatnega iona (III).



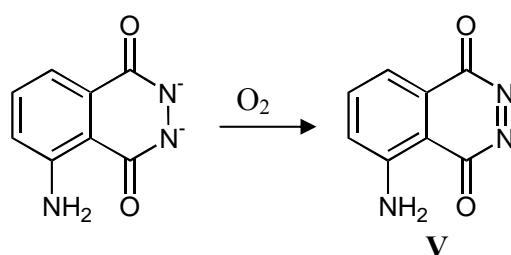
Kemoluminescenčno reakcijo luminola lahko prikažemo z osnovnimi pogoji po enačbi, ki prikazuje, da svetlobna emisija prihaja od aminoftalatnega iona:



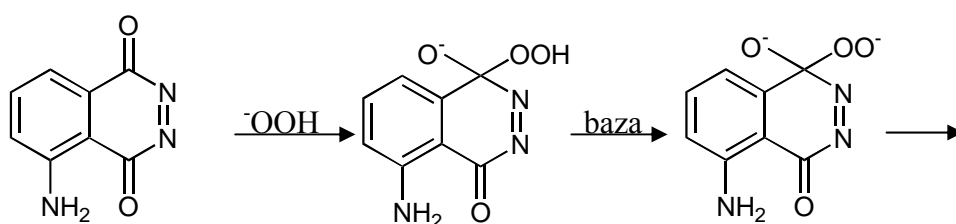
O mehanizmu oksidacije luminola v protičnem in aprotičnem topilu obstaja precej podatkov. Razlika med protičnim in aprotičnim topilom je verjetno samo v začetnih korakih, kjer protični sistem potrebuje prosti radikal, aprotični sistem pa luminol dianion. Ne poznamo še določenih mehanizmov luminola, ampak imamo le informacije o posrednih spojinih oksidacije. Pomemben posrednik v reakciji je luminolov dianion (**IV**), ki nastaja pri postopni reakciji luminola z bazami.

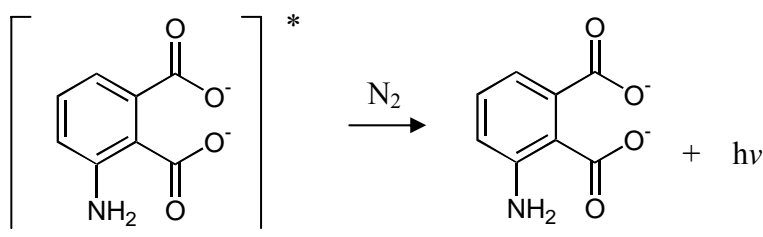


Najnovejši mehanizmi so bili skonstruirani okoli dianiona, ki se lahko podvrže različnim reakcijam. Ena izmed teh reakcij je tudi tvorba azokinona (**V**).

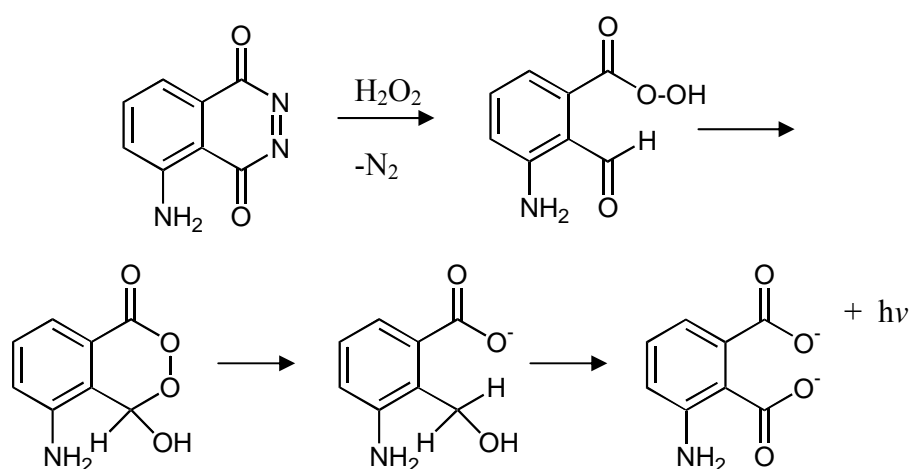


Azokineton je verjetno posrednik v svetlobno - proizvodni poti pri oksidaciji luminola. Ena izmed možnih poti je predstavljena spodaj.

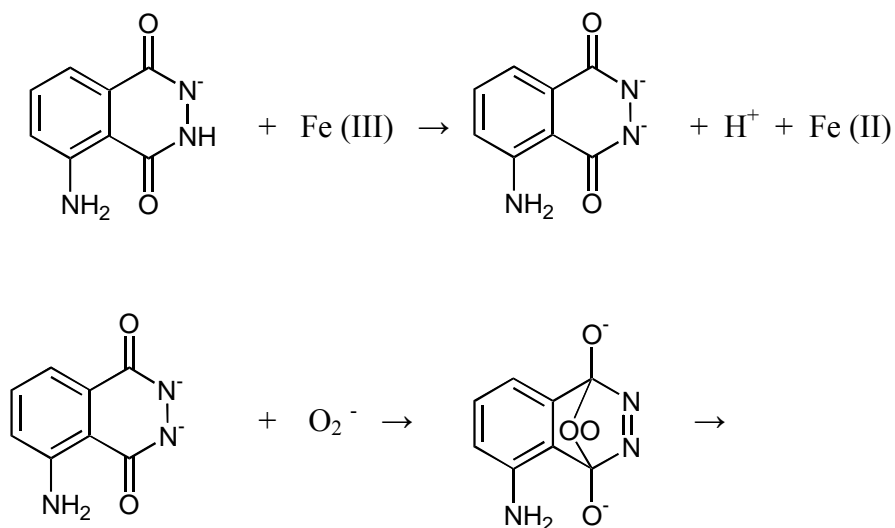


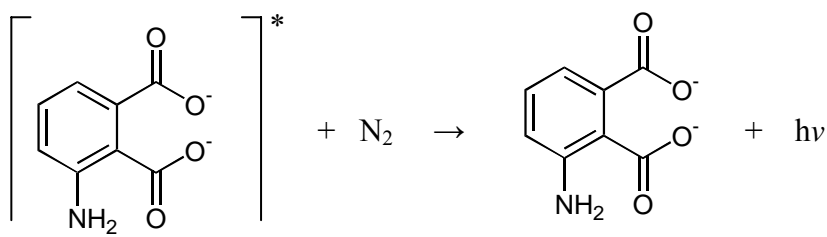


Drugi mehanizem temelji na elektronskem prenosu in povzroča izgubo plinastega dušika mnogo prej kot pri prejšnjem mehanizmu.



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 kemoluminescenčno oksidacijo luminola zelo bazičen.





Snov, ki je potrebna za začetek oksidacije luminola v vodnih raztopinah, je superoksidni radikalni anion O_2^- . Tvori se 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 na prejšnji strani (ta enačba velja samo za vodne oksidacije luminola).

Vsak sistem, ki ga sprožijo prehodno - kovinski ioni, ima svojo reakcijsko zaporednost. Na žalost je bilo pri teh različnih reakcijskih mehanizmi narejenih zelo malo raziskav; namesto tega je večina pozornosti usmerjena na analitsko uveljavljanje kemoluminescence luminola.



Slika 6: Kemoluminescenca luminola.

3.6. KATALIZATORJI ZA KEMOLUMINESCENCO LUMINOLA

Da lahko opazimo kemoluminescenco luminola, je potrebno reakcijo aktivirati s katalizatorjem, kot so Cu^{2+} ioni, ki so najbolj znani. Poleg bakrovih ionov je možno kemoluminescenco luminola katalizirati še s pomočjo kobaltovih ionov Co^{2+} in heksacianoferatnih (III) ionov $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$. V literaturi so ti katalizatorji večkrat omenjeni in najpogosteje uporabljeni. V tej raziskovalni nalogi smo želeli raziskati, kateri ioni uspešno katalizirajo kemoluminescenco luminola, najbolj uspešnim pa smo tudi izmerili intenziteto sevanja pri različnih koncentracijah vodikovega peroksida.

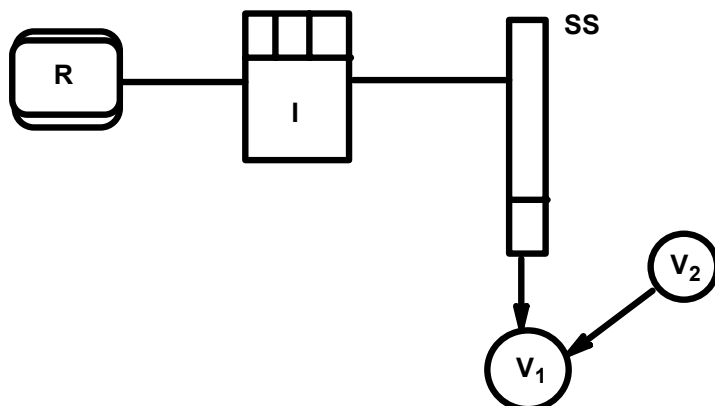
3.7. HIPOTEZA

Ta naloga ima samo en cilj oz. hipotezo. Ta se glasi, da je mogoče oksidacijo luminola katalizirati z različnimi katalizatorji, ki so komercialno dostopni.

4. EKSPERIMENTALNI DEL

4.1. APARATURE

Za določanje intenzitete oksidacije luminola z različnimi katalizatorji smo sestavili sistem, ki je prikazan na sliki 7.



Slika 7: Shema sistema za merjenje intenzitete emitirane svetlobe.

R - računalniški sistem

I - (računalniški) vmesnik

SS - svetlobni senzor

V₁ - vzorec osnovne kemoluminescenčne raztopine s katalizatorjem

V₂ - prožilec reakcije (vodikov peroksid)

V čašo, v kateri je bila osnovna kemoluminescenčna raztopina s katalizatorjem, smo potopili svetlobni senzor tipa Vernier LS - BTA. Povezali smo ga na računalniški vmesnik enakega tipa, zadnjo povezavo pa smo naredili na računalniški sistem, ki je obdeloval podatke in izrisoval grafe s pomočjo programa Logger Pro 3. Reagente smo tehtali z analitsko tehtnico OHAUS tipa AS 120. Za pripravo in shranjevanje reagentov smo uporabljali ustrezno laboratorijsko steklovino.

Svetlobni senzor smo prilagodili meritvam. Če napetost iz senzorja doseže maksimalno vrednost 2.8 V - ne izbiramo prehoda k drugi barvi na ohišju in manj občutljivem nizu. Za ostale vrednosti izberemo naslednje nize:

- 0 - 600 lux: niz, ko je prehod k dolgi barvi srednje pozicije. To je največja občutljivost niza in se uporablja za nizko raven svetlobe. Prikazana napetost je 1 V/200 lux.
- 0 - 6000 lux: niz, 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, ko je prehod k drugi barvi v spodnji poziciji. Ta se uporablja v glavnem za merjenje sončne svetlobe. Izbrana napetost znaša 1 V/50.000 lux.

Zaradi majhne intenzitete svetlobe smo izbrali prvi niz.

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

Delo s sistemom mora potekati v zatemnjenem prostoru, saj drugače motimo meritve. Pred izvajanjem meritev nastavimo pogoje dela: čas merjenja 2 minuti, hitrost analiziranja je 500 vzorcev/min. Senzor potopimo v čašo, v kateri je raztopina V_1 , aktiviramo računalniški sistem za izris grafov in hkrati v raztopino V_1 zlijemo raztopino V_2 . Raztopini se pomešata in tvorita kemoluminescenco.



Slika 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. REAGENTI

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

- Priprava reagenta s katalizatorjem

V 1000 mL merilni bučki, kjer imamo 500 mL destilirane vode, raztopimo 4 g natrijevega karbonata. Dodamo 0.2 g luminola in mešamo, da se kemikaliji raztopita. Nato dodamo 24 g natrijevega hidrogenkarbonata, 0.5 g amonijevega karbonata monohidrata in določeno maso katalizatorja. Mešamo tako dolgo, dokler se kemikalije ne raztopijo. Raztopino dopolnimo do 1000 mL z destilirano vodo.

- Priprava katalizatorja

Kot katalizatorje uporabimo soli (kristalohidrate ali brezvodne).

Tabela 2 predstavlja uporabljene katalizatorje, njihovo maso, ki smo jo zatehatali, in končno koncentracijo ionov v pripravljene kemoluminescenčni raztopini.

KATALIZATOR	MASA [g]	KONCENTRACIJA [mol L^{-1}]
$\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$	0.4	1.60×10^{-3}
$\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ **	0.76	/
$\text{CoCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$	0.1	4.20×10^{-4}
$\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$	0.4	1.37×10^{-3}
$\text{Hg}(\text{NO}_3)_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$	0.4	1.11×10^{-3}
$\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$	0.4	1.37×10^{-3}
$\text{NiSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	0.4	1.42×10^{-3}
$\text{CrCl}_3 \times 6\text{H}_2\text{O}$	0.4	1.50×10^{-3}
$\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \times 18\text{H}_2\text{O}$	0.4	6.00×10^{-3}

Tabela 2: Uporabljeni katalizatorji in njihova količina.

- *Priprava aktivatorja (vodikovega peroksida)*

Kot aktivator vzamemo zelo nizke koncentracije raztopin vodikovega peroksida. Za osnovno raztopino smo uporabljali 30 % vodikov peroksid (PA, Merck), ki smo ga v nadaljevanju razredčevali, in s tem pripravili naslednje vrste razredčenih raztopin: 1.25×10^{-2} %, 1.0×10^{-2} %, 7.5×10^{-3} %, 5.0×10^{-3} %, 2.5×10^{-3} %.

Za pripravo takih raztopin najprej pripravimo v 100 mL bučkah 5 %, 10 %, 15 %, 20 % in 25 % raztopine vodikovega peroksida, nato pa iz vsake vzamemo 50.00 mL raztopine in jo do 1000 mL razredčimo z destilirano vodo.

Vse ostale raztopine so bile pripravljene iz PA reagentov.

** $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ - maso kalijevega heksacianoferata smo dodali v 50 mL raztopine vodikovega peroksida.

5. REZULTATI IN DISKUSIJA

5.1. POGOJI ZA DELOVANJE KATALIZATORJA

Reakcije smo izvajali v temnem prostoru, da okoliška svetloba ni motila merilnega sistema. Količino katalizatorja, ki smo ga dodali osnovni kemoluminescenčni raztopini, je bila takšna da je pri njej ravno prav deloval. S predhodnim poskušanjem v manjših količinah smo ugotovili, ali je katalizator sploh aktiven ali ne. Takšen preizkus napravimo tako, da damo v 150 mL čašo damo 50 mL osnovne kemoluminescenčne raztopine, za noževo konico katalizatorja (nekaj mg) in dobro mešamo. Za prikaz kemoluminescence prej pripravljene raztopini dodamo 50 mL raztopine vodikovega peroksida s srednjim deležem ($7.5 \times 10^{-3} \%$).

Katalizatorje, ki so dali dovolj velike intenzitete svetlobe, smo uporabili za analizo.

5.1.2. USPEŠNOST DELOVANJA KATALIAZATORJA

Med delom smo ugotovili, da katalizator uspešno deluje, če se dobro raztopi v osnovni kemoluminescenčni raztopini (ali v vodikovem peroksidu) in ne tvori oborine.

Tabela 3 prikazuje katalizatorje, ki smo jih uporabili. Ugotovili smo, kateri izmed njih so aktivni in katalizirajo oksidacijo luminola.

Katalizator	Ion, ki katalizira	A(aktiven) / N(neaktiven)
$\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$	Cu^{2+}	A
$\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$	$[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$	A
$\text{CoCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$	Co^{2+}	A
$\text{MnSO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$	Mn^{2+}	N
$\text{CdCl}_2 \times \text{H}_2\text{O}$	Cd^{2+}	N
$\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$	Ni^{2+}	A
$\text{SnCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$	Sn^{2+}	N
$\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$	Hg^{2+}	A
$\text{Hg}_2(\text{NO}_3)_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$	Hg_2^{2+}	N
$\text{CrCl}_3 \times 6\text{H}_2\text{O}$	Cr^{3+}	A
$\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \times 18\text{H}_2\text{O}$	Al^{3+}	A
$\text{BaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$	Ba^{2+}	N
$\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$	Co^{2+}	A
$\text{CdSO}_4 \times 8/3\text{H}_2\text{O}$	Cd^{2+}	N
$\text{NiSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	Ni^{2+}	A
$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \times 5\text{H}_2\text{O}$	Na^+	N
$(\text{H}_2\text{SiO}_4)_x$, silikagel	Si^{4+}	A
KMnO_4	Mn^{7+}	A
$\text{NaC}_2\text{H}_3\text{O}_2 \times 3\text{H}_2\text{O}$	Na^+	A
$\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$	Cd^{2+}	A

$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\times 4\text{H}_2\text{O}$	Mo^{6+}	A
V_2O_5	V^{5+}	A
$\text{CuSO}_4\times\text{Cu}(\text{OH})_2$	Cu^{2+}	A
$\text{Na}_3[\text{Co}(\text{NO}_2)_6]$	$[\text{Co}(\text{NO}_2)_6]^{3-}$	A
$\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$	Cr^{6+}	A
naftalen	/	A
ninhidrin	/	A

Tabela 3: Uspešnost delovanja uporabljenih katalizatorjev.

5.2. MERITVE IN VREDNOST INTEZITET

Ko smo določili vse pogoje in pripravili raztopine, smo pričeli z merjenjem.

Spodnji tabeli prikazujeta maksimalne vrednosti intenzitet svetlobe [lux] ob dodatku različnih koncentracij raztopin vodikovega peroksida pri različnih katalizatorjih. Katalizatorji so dosegali maksimalne intenzitete pri različnih koncentracijah vodikovega peroksida.

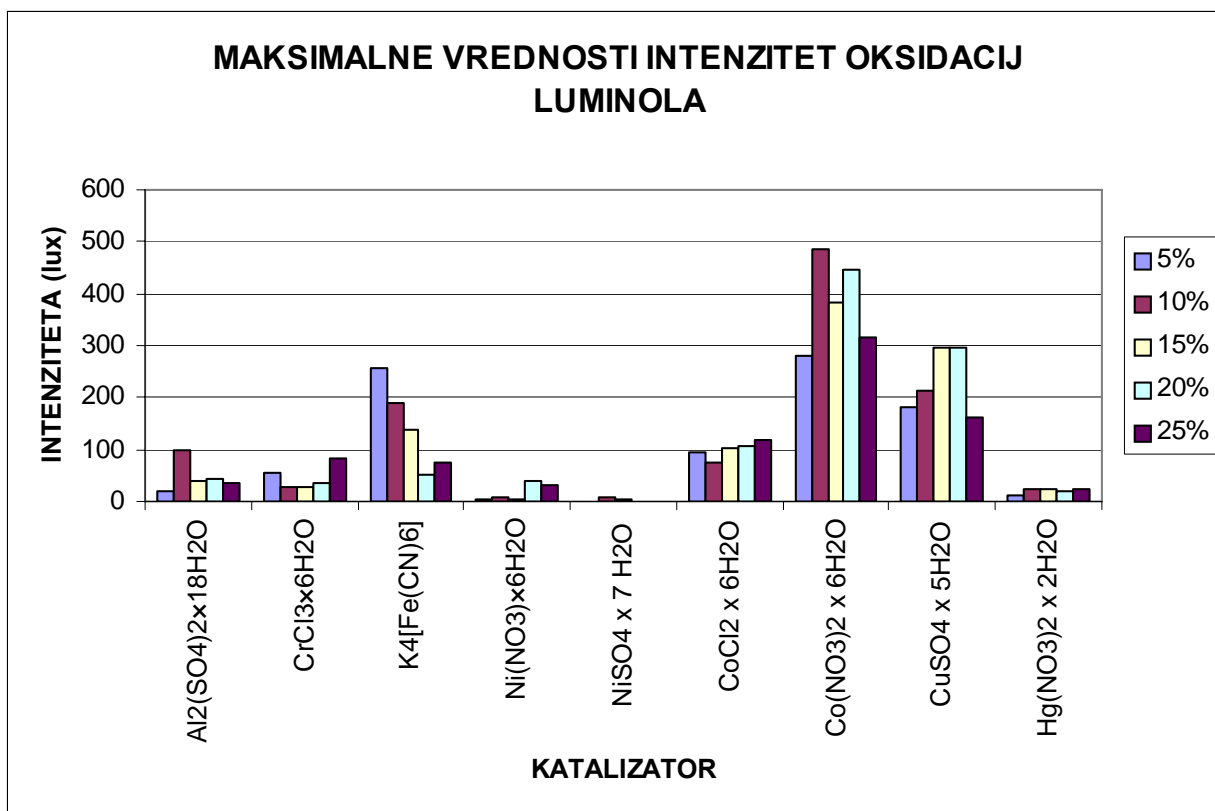
Najvišje intenzitete so po pričakovanjih dosegli $\text{Co}(\text{NO}_3)_2\times 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{CuSO}_4\times 5\text{H}_2\text{O}$ in $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$.

w (H_2O_2)	$\text{Al}_2(\text{SO}_4)_2\times 18\text{H}_2\text{O}$	$\text{CrCl}_3\times 6\text{H}_2\text{O}$	$\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$	$\text{Ni}(\text{NO}_3)_2\times 6\text{H}_2\text{O}$	$\text{NiSO}_4\times 7\text{H}_2\text{O}$
5%	20,5	53,4	255,3	4,9	1,7
10%	97,4	25,9	188,8	6	7
15%	40,6	27,3	137,5	4,7	2,1
20%	44,2	36,1	53	39,7	1,3
25%	36,9	84,8	74,3	32,5	0,8

Tabela 4: Vrednost intenzitet svetlobe pri uporabljenih katalizatorjih.

w (H_2O_2)	$\text{CoCl}_2\times 6\text{H}_2\text{O}$	$\text{Co}(\text{NO}_3)_2\times 6\text{H}_2\text{O}$	$\text{CuSO}_4\times 5\text{H}_2\text{O}$	$\text{Hg}(\text{NO}_3)_2\times 2\text{H}_2\text{O}$
5%	96,3	279,8	182,2	11,5
10%	75,6	486,3	212,5	24,8
15%	103,8	381,1	296,5	22,6
20%	107,2	447	295,8	20,7
25%	119,2	316,8	161,7	22,9

Tabela 5: Vrednost intenzitet svetlobe pri uporabljenih katalizatorjih.



Slika 9: Graf maksimalnih vrednosti intenzitet z uporabo različnih katalizatorjev. Stolpci predstavljajo maksimalne vrednosti intenzitet z uporabo od 5 % do 25 % razredčenih raztopin vodikovega na 1 L.

Iz grafa je jasno razvidno, da je kobaltov nitrat heksahidrat dal najboljše in najvišje vrednosti intenzitet pri vseh raztopinah vodikovega peroksida. V primerjavi z ostalimi katalizatorji ima reakcija z njim kratek čas delovanja. Pri kobaltovem kloridu heksahidratu smo dobili pri meritvah skoraj linearno odvisnost. Bakrov sulfat pentahidrat in kalijev heksacianoferrat sta dosegla srednje vrednosti intenzitet; te so najprimernejše za prikaz kemoluminescence z daljšim časom trajanja. Z nikljevima spojinama, kalijevim sulfatom in živosrebromim nitratom (seveda v kristalni obliki) pa smo dobili nizko intenziteto svetlobe, zato so ti v primerjavi z ostalimi katalizatorji najslabši.

6. ZAKLJUČEK

Hipoteza je potrjena. Katalizatorjev za kemoluminescenco luminola je mnogo, presenetila sta nas predvsem vanadijev (V) oksid, ki je običajno katalizator za plinske reakcije in natrijeve soli, o katerih ni bilo nikjer zaslediti, da katalizirajo kemoluminescenco luminola.

Ugotovili smo, da so tudi organske spojine lahko katalizatorji kemoluminescence luminola (naftalen, ninhidrin), tu so verjetno vzrok za oddajanje svetlobe π elektroni v sami zgradbi molekule. Te vzorce smo izbrali naključno in izkazali so se kot zelo primerni. Izmed vseh naključno izbranih vzorcev bi omenili še natrijev heksanitrokobaltat(III) - $\text{Na}_3[\text{Co}(\text{NO}_2)_6]$, s katerim dobimo ob intenzivnem mešanju izredno močno zeleno - rumeno emisijo svetlobe.

Pri analizah različnih katalizatorjev smo ugotovili, da delujejo namreč ob primerni količini: če je mase preveč, njegovo delovanje zadušimo, če pa jo je premalo, sploh ne deluje. Vpliva tudi njegova topnost v topilu (voda). Če se katalizator v vodi dobro topi in ne izloča oborine (po določenem času, npr. enem dnevu ali celo takoj po pripravi), je primeren in bomo z jim dosegli veliko mero intenzivnosti, če tvori oborino, pa je intenzivnost emitirane svetlobe majhna, ali praktično nevidna.

Aluminijevi, srebrovi in nikljevi ioni niso primerni za kemoluminescenco luminola, ker tvorijo oborino oz. se ne topijo dobro. Raztopina s srebrovimi ioni je motno rumene barve, kar tudi ni uspešno za potek reakcije.

Vsak ion, ki katalizira reakcijo, ima pri določeni koncentraciji vodikovega peroksida svoj maksimum. Maksimalne vrednosti se razlikujejo od enega do drugega iona. Kot zelo dobri katalizatorji so se izkazali prehodno kovinski ioni, elementi ostalih skupin periodnega sistema pa dosegajo manjše vrednosti intenzitet, saj so po večini slabo topni ali pa tvorijo oborine. Velik vpliv igra tudi sestava spojine, saj je od nje odvisna topnost. Tudi koordinacijske spojine z enim prehodno kovinskim ionom so se izkazale za izredno uporabne katalizatorje, saj oddajajo močno svetlobo in hkrati spremenijo barvo.

Okrog nas je polno katalizatorjev, ki katalizirajo kemoluminescenco luminola, a se ne zavedamo, da so ravno ti pravi. Velikokrat je vzrok za to, da katerega katalizatorja nismo zaznali, v prenizki intenziteti svetlobe, ki je mi enostavno ne vidimo. Na tem področju bo potrebno pripraviti še kakšno raziskavo, ki bi odprla vrata večjemu zanimanju za to prekrasno področje kemije, žal pa sedaj ostaja na tem mestu le trdo delo, ki nas kasneje lahko pripelje do lepih rezultatov.

7. LITERATURA

1. G. Horvai, K. Toth, E. Pungor, *Anal. Chim. Acta*, 82 (stran 45), 1976.
4. M.J. Cormier, D.M.Hercules, J. Lee, *Chemiluminescence and bioluminescenc*, 1973.
5. B.Z. Shakhashiri, L.G. Williams, Dirreen, G.E. Francis, *Chemical Demonstrations*, Vol., 1990.
6. L. F. Fieser, *Experiments in Organic Chemistry*. (stran 199), 1957.
7. Alvarez, F. J.; Parekh, N. J.; Matuszewski, B.; Givens, R. S.; Higuchi, T.; Schowen, R. L. *J. Am. Chem. Soc.* (stran 108, 6435-6437), 1986.
8. Chokshi, H. P.; Barbush, M.; Carlson, R. G.; Givens, R. S.; Kuwana, T.; Schowen, R. L. *Biomed. Chrom.*, 4(3), (stran 96-99), 1990
9. J.E. Wampler, *Instrumentation: Seeing the Light and Measuring It*, in *Chemi- and Bioluminescence*, J.G. Burr, ed., Marcel Dekker, New York, , (stran 1-44), 1985.
10. F. Berthold, *Instrumentation for Chemiluminescence Immunoassays*, in *Luminescence Immunoassay and Molecular Applications*, K. Van Dyke and R. Van Dyke, eds., CRC Press, Boca Raton, (stran 1-25), 1990.
11. T. Nieman, *Chemiluminescence: Theory and Instrumentation, Overview*, in *Encyclopedia of Analytical Science*, Academic Press, Orlando, (stran 608-613), 1995.
12. Mohan, A.G.; Turro, N.J. *Chem. Educ.* (51, 528), 1974.
13. Shakhashiri, B.Z.; Williams, L.G.; Dirreen, G.E.; Francis, A. *Chem. Educ.* (stran 58, 70), 1981.
14. Bowen, E.J. *Luminescence in Chemistry*. Van Nostrand: New York, 1968.
15. McKapra, F. *Prog. Org. Chem.* (stran 8, 231), 1971.
16. Haas, J.W. *J. Chem. Educ.* (stran 44, 396), 1967.
17. Alvarez, F. J.; Parekh, N. J.; Matuszewski, B.; Givens, R. S.; Higuchi, T.; Schowen, R. L. *J. Am. Chem. Soc.* 1986, 108, 6435-6437.
18. Lippman R. D. *Anal. Chim. Acta* 1980, 116, 181-184.

19. Sano, A.; Nakamura, H. *Anal. Sci.* 1998, 14, 731-735.

20. D. Šarlah, *Kemiluminescenca I. del*, (stran 16), 2000.

21. M. Jeran, *Študija pogojev kemoluminescenčne reakcije* (stran 17), 2007.