

ИССЛЕДОВАНИЕ ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНТНОЙ РЕАКЦИИ
ЛЮЦИГЕНИНА С ПЕРЕКИСЬЮ ВОДОРОДА
В ПРИСУТСТВИИ МАРГАНЦА(II)

Л. И. ДУБОВЕНКО и А. П. ТОВМАСЯН

Киевский ордена Ленина государственный университет им. Т. Г. Шевченко

Поступило 10 VII 1969

В зависимости от условий проведения хемилюминесцентной реакции люцигенина с перекисью водорода марганец может проявлять каталитическое или ингибиторное действие. Высказано предположение, что промежуточным каталитически активным продуктом реакции является ион $Mn(III)$. Сопоставление данных о скорости разложения H_2O_2 с кинетикой и продолжительностью свечения позволило выяснить причины гашения свечения в системе $L_c - Mn(II) - H_2O_2$.

Предложена методика определения марганца по его ингибиторному эффекту. Оптимальные условия реакции: $[L_c] = (3-4) \cdot 10^{-4}$; $[H_2O_2] = (4-8) \cdot 10^{-3}$ моль/л; pH 11,5. Чувствительность реакции составляет 0,01—0,02 мкг Mn в 1 мл раствора.

Рис. 5, табл. 2, библиограф. ссылки 10.

Хемилюминесцентную реакцию люцигенина (N,N' -диметилбиакридилнитрата— L_c) с перекисью водорода в щелочной среде катализируют ионы многих металлов. Одним из них является ион $Mn(II)$ [1]. Одновременно марганец известен как хороший катализатор разложения перекиси водорода в этих условиях [2]. В связи с этим представляет интерес подробное исследование роли марганца в хемилюминесцентной реакции и сопоставление полученных результатов с данными по разложению перекиси водорода в присутствии $Mn(II)$ при различных значениях pH.

Максимальную интенсивность свечения измеряли на установке с фотоумножителем и самописцем, а суммарное свечение—фотографическим методом [3].

Влияние pH раствора на свечение. В литературе отмечалось [1,3—6], что с увеличением концентрации металлов-катализаторов максимальная интенсивность свечения увеличивается, а продолжительность свечения уменьшается, вследствие чего уменьшается и суммарное свечение. Такое же явление наблюдалось нами при использовании в качестве катализатора раствора сернокислого марганца. На рисунке 1 представлены кинетические кривые хемилюминесценции при разных концентрациях марганца. Эти данные показывают, что при очень малой экспозиции (1—2 минуты) с увеличением концентрации марганца суммарное свечение увеличивается за счет усиления интенсивности свечения. Если

же измерять суммарное свечение за 20—30 минут, то наблюдается обратная картина: с увеличением концентрации марганца суммарное свечение соответственно уменьшается за счет уменьшения продолжительности свечения (в пробах с концентрацией марганца $> 10^{-4}$ моль/л наблюдается яркая вспышка, но свечение гаснет уже через 2—3 минуты). В этом случае ион марганца действует как ингибитор.

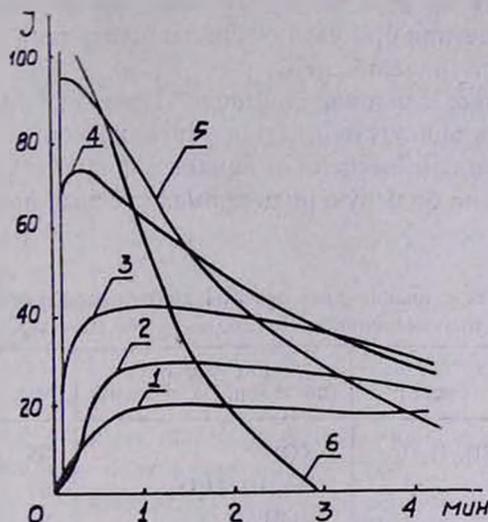


Рис. 1. Кинетические кривые хемиллюминесценции в системе $L_c - Mn(II) - H_2O_2$ при разных концентрациях Mn^{2+} : 1—0; 2— $2 \cdot 10^{-5}$; 3— $3 \cdot 10^{-5}$; 4— $5 \cdot 10^{-5}$; 5— $7 \cdot 10^{-5}$; 6— 10^{-4} моль/л, рН 12,6.

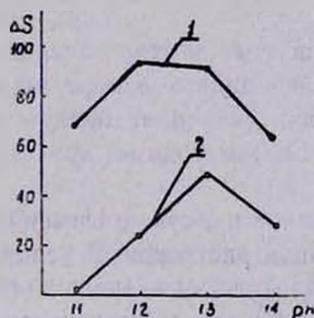


Рис. 2. Влияние рН на свечение в системах 1— $L_c - H_2O_2$, 2— $L_c - Mn(II) - H_2O_2$. Общие концентрации компонентов. $[L_c] = 2 \cdot 10^{-4}$; $[H_2O_2] = 4 \cdot 10^{-3}$; $[Mn^{2+}] = 1,6 \cdot 10^{-6}$ моль/л; экспозиция — 30 минут.

Ранее нами [4] была изучена зависимость суммарного свечения (ΔS) в системах $L_c - H_2O_2$ и $L_c - Mn(II) - H_2O_2$ от рН при экспозиции 1—2 минуты, т. е. в тех условиях, когда в присутствии марганца суммарное свечение значительно больше. Максимальный каталитический эффект в присутствии марганца наблюдался при рН 13.

На рисунке 2 приведено влияние рН на суммарное свечение в указанных системах, измеренное фотографическим методом при экспозиции 30 минут. Видно, что в этих условиях ион марганца выступает как ингибитор. Максимальный ингибиторный эффект наблюдается при рН 11—11,5; в этих условиях уже незначительные добавки $Mn(II)$ гасят свечение.

Мы попытались прежде всего выяснить, чем обусловлено уменьшение суммарного свечения при увеличении концентрации марганца в растворе и уменьшении значения рН.

Влияние порядка сливания раствора. Предварительные опыты показали, что, как и в присутствии других катализаторов ($Ag(I)$, $Pb(II)$) [7, 8], на выход хемилюминесценции влияет порядок сливания компонентов. Это указывает на большую роль промежуточных продуктов реакции.

Таблица 1

Влияние порядка сливания растворов на максимальную интенсивность и сумму свечения в системе $L_c - Mn(II) - H_2O_2$

Порядок сливания	Раствор А (исходная смесь)	Раствор Б (последний компонент)	J_{max}	Σ	ΔS
1	L_c ; $Mn(II)$, H_2O_2	КОН	35	1,21	62
2	L_c ; КОН	$Mn(II)$; H_2O_2	30	1,15	51
3	L_c ; $Mn(II)$	КОН; H_2O_2	24	1,05	42
4	L_c ; H_2O_2 , КОН	$Mn(II)$	11	0,46	33
5	L_c	$Mn(II)$, H_2O_2 ; КОН	11	0,40	20
6	$L_c - Mn(II)$; КОН	H_2O_2	4	0,08	5
7	L_c ; H_2O_2	$Mn(II)$; КОН	0	0	5

Методика выполнения этих опытов описана в предыдущих работах [7, 8]. В таблице 1 приведены данные измерения максимальной интенсивности (J_{max}) и суммарного свечения, найденного фотоэлектрическим (Σ) и фотографическим (ΔS) методами, при разном порядке сливания растворов.

Наибольшая интенсивность и сумма свечения наблюдаются при первых трех порядках сливания растворов. В условиях этих опытов, по-видимому, образуются каталитически активные промежуточные продукты. Это может быть ион $Mn(III)$ или его соединения с компонентами реакции. В литературе [9] есть данные о том, что при окислении $Mn(II)$ перекисью водорода в щелочной среде в качестве промежуточных продуктов образуются $Mn(III)$ и радикал OH . Конечным продуктом окисления является гидратированная форма двуокиси марганца. Известно также [10], что в присутствии органических молекул ион $Mn(III)$, присоединяя электрон, может инициировать появление радикалов. Таким образом, появление в реакционной смеси ионов $Mn(III)$, безусловно, будет способствовать усилению свечения.

Выше отмечалось, что наибольший каталитический эффект в присутствии марганца наблюдается при рН 13 [4, 6]. Очевидно, эти условия наиболее благоприятны для образования каталитически активных промежуточных продуктов (Mn(III) или его соединения).

Несколько меньший хемилюминесцентный эффект наблюдается при порядке сливания 4. Это может быть объяснено частичным окислением люцигенина перекисью водорода в щелочной среде еще до приливания раствора Б.

Наименьший эффект свечения имеет место при порядках сливания 5, 6 и 7. Это обусловлено тем, что уже в одном из растворов (А или Б) перед их смешиванием образуется твердая фаза (гидратированная двуокись марганца) в виде мути, препятствующая свечению. В этих случаях процесс окисления Mn(II) частично уже миновал стадию образования активного иона Mn(III) еще до сливания растворов А и Б.

Если растворам А и Б перед сливанием дать постоять 20—30 минут, то лишь при порядках сливания 1 и 3 свечение остается таким же, как показано в таблице 1. При порядках сливания 2 и 4 оно значительно меньше или совсем не возникает (порядки 5, 6, 7). Это подтверждает данное выше объяснение.

В исследуемой системе наблюдается некоторый индукционный период: после смешивания всех компонентов вначале свечение очень слабое и лишь через 10—15 секунд достигает максимума, как бы разгораясь, после чего начинает медленно гаснуть. Наличие индукционного периода находится в соответствии с представлением о том, что каталитически активным является ион Mn(III). Действительно, в первоначальных растворах (А или Б) при порядках сливания 1—3 марганец находится в виде (Mn(II)); никаких промежуточных продуктов, препятствующих дальнейшей реакции, нет. При сливании этих растворов свечение вначале очень слабое, по мере же накопления Mn(III) оно усиливается, достигая через несколько секунд максимума. При порядках сливания 5—7 Mn(III) в достаточном количестве образуется уже в одном из растворов (А или Б) и поэтому индукционный период исчезает.

Связь между скоростью разложения перекиси водорода и хемилюминесцентной реакцией. Выше отмечалось, что в присутствии марганца продолжительность свечения в системе люцигенин—перекись водорода уменьшается. Мы попытались выяснить причину ускоренного гашения свечения.

Прежде всего интересно было проследить, имеется ли связь между каталитическим действием марганца на хемилюминесценцию и способностью его разлагать перекись водорода в тех же условиях. Для этого изучено влияние Mn(II) на скорость разложения H_2O_2 в присутствии люцигенина при различных значениях рН и 15°. Концентрацию неразложившейся перекиси в отдельных пробах определяли путем титрования перманганатом калия после остановки реакции подкислением серной кислотой. Отдельными опытами установлено, что имеющийся люцигенин не мешает титрованию.

На рисунке 3 представлены кинетические кривые хемилюминесценции, измеренные в этих же условиях реакции. В конце каждой кривой отмечена продолжительность свечения (по визуальным наблюдениям).

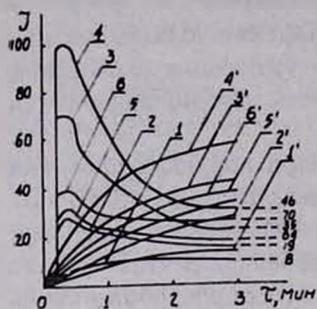
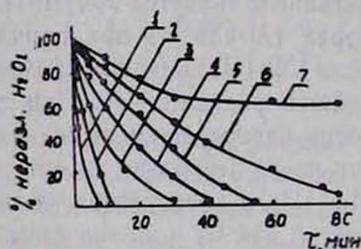


Рис. 3. Кинетические кривые хемилюминесценции в системах: 1'—6' — $L_c - H_2O_2$; 1—6 — $L_c - Mn(II) - H_2O_2$. Концентрации компонентов: $[L_c] = 10^{-5}$; $[Mn^{2+}] = 8 \cdot 10^{-5}$; $[H_2O_2] = 10^{-2}$ моль/л. Значения pH; 1, 1' — 11,5; 2, 2' — 12,0; 3, 3' — 12,5; 4, 4' — 13,0; 5, 5' — 13,5; 6, 6' — 13,8.

Из рисунка 4 видно, что с уменьшением pH от 13 до 11 скорость разложения H_2O_2 увеличивается и достигает максимума при pH 11. В этих концентрационных условиях и pH 11 свечения в присутствии марганца не наблюдается. Следовательно, pH 11 является оптимальным как для скорости каталитического разложения перекиси водорода, так и для максимального ингибиторного эффекта, вызываемого присутствием $Mn(II)$. При pH 11,5 уже наблюдается слабое кратковременное свечение (кр. 1, рис. 3); при дальнейшем повышении pH скорость разложения перекиси водорода уменьшается, в соответствии с этим интенсивность и продолжительность свечения увеличиваются.

Рис. 4. Скорость разложения 0,01 моль/л H_2O_2 в присутствии 10^{-5} моль/л люцигенина и $8 \cdot 10^{-5}$ моль/л $MnSO_4$ при различных pH, $t = 15^\circ$.



Эти опыты и сравнение скорости разложения H_2O_2 с продолжительностью свечения позволяют заключить, что гашение хемилюминесценции при $pH < 13$ обусловлено, главным образом, расходом перекиси водорода. Подтверждением является то, что при добавлении к уже погасшему раствору в оптимальных условиях концентрации компонентов новой порции перекиси водорода появляется новая вспышка, в то время как добавление к таким же растворам соответственно соли $Mn(II)$ или люцигенина не вызывает новой вспышки.

Таким образом, при $pH < 13$ в условиях наших опытов в первую очередь расходуется H_2O_2 , что и приводит к гашению свечения. Этим объясняется максимальный ингибиторный эффект в присутствии марганца при pH 11, когда перекись водорода мгновенно разлагается.

Сравнение скорости разложения H_2O_2 при рН 13 с продолжительностью свечения в этих же условиях показывает, что здесь гашение происходит не только по причине расходования H_2O_2 . Действительно, при рН 13,5 свечение продолжается 64 минуты, а к этому времени в растворе есть еще около 20% неразложившейся перекиси; при рН 13,8 количество неразложившейся перекиси после прекращения свечения составляет около 60%.

Таким образом, при рН > 13 гашение свечения частично обусловлено также разложением H_2O_2 , но здесь, по-видимому, преобладает другая причина—образование неактивного в отношении хемилюминесценции соединения. Это соединение не является ингибитором. Дополнительные опыты показали, что если к свежеприготовленной светящейся смеси компонентов прибавить немного погасшего раствора, в котором предполагалось накопление ингибитора, то уменьшения интенсивности свечения не наблюдается.

Таким неактивным соединением может быть, по-видимому, двуокись марганца, являющаяся конечным продуктом окисления Мп (II) перекисью водорода. Известно [2], что двуокись марганца является одним из самых активных катализаторов разложения перекиси водорода. Тем не менее, в условиях хемилюминесцентной реакции гасящее действие ее может проявляться и по другим причинам. Прежде всего, дополнительные опыты показали, что двуокись марганца, выпадающая в осадок при больших концентрациях марганца в растворе, может адсорбировать люцигенин, переводя его в неактивную форму. Нами были приготовлены смеси растворов: $L_c - Mn(II) - KOH$; $L_c - Mn(II) - H_2O_2 - KOH$; $Mn(II) - H_2O_2 - KOH$ при рН 13 и концентрациях компонентов, в 10 раз превышающих концентрации, при которых измеряется хемилюминесценция. Во всех случаях выпадали осадки коричневого цвета. Качественный анализ показал наличие в них марганца, а в первых двух и люцигенина.

В условиях очень разведенных растворов, необходимых для проведения хемилюминесцентных реакций, когда образования осадков не наблюдается (растворы совершенно прозрачны), образующаяся гидратированная форма двуокиси марганца может находиться в виде коллоида, препятствуя протеканию радикально-цепной реакции. О том, что процесс окисления люцигенина перекисью в присутствии марганца является радикальным процессом, свидетельствуют наши опыты с метилметакрилатом, который гасит свечение в системе $L_c - Mn(II) - H_2O_2$, тогда как на хемилюминесценцию люцигенина с H_2O_2 он не оказывает влияния.

Выбор оптимальных условий и определение марганца в растворе.

В предыдущей работе [4] показана возможность определения марганца по каталитическому эффекту в реакции люцигенина с H_2O_2 при рН 13 и экспозиции 1—2 минуты. Предварительные опыты показали, что при измерении суммарного свечения при рН 11,5 и экспозиции 20—30 минут, т. е. в условиях, когда с увеличением концентрации марганца сумма свечения уменьшается, чувствительность реакции на марганец значительно выше.

Для нахождения оптимальных условий реакции изучено влияние концентрации отдельных компонентов—люцигенина и перекиси водорода при рН 11,5 и $[Mn^{2+}] = 1,4 \cdot 10^{-6}$ моль/л. Найдено, что оптимальная концентрация люцигенина равна $3 \cdot 10^{-4} - 5 \cdot 10^{-4}$ моль/л, а перекиси водорода — $4 \cdot 10^{-3} - 8 \cdot 10^{-3}$ моль/л.

Исследование влияния концентрации раствора Mn(II) проводили при общих концентрациях $[L_c] = 3 \cdot 10^{-4}$ и $[H_2O_2] = 4 \cdot 10^{-3}$ моль/л, рН 11,5. Экспозиция — 30 минут. Общий конечный объем — 5 мл. Результаты приведены на рисунке 5.

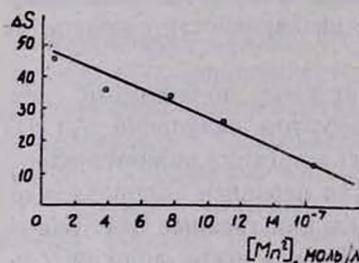


Рис. 5. Влияние концентрации марганца на свечение люцигенина с H_2O_2 при рН 11,5. $[L_c] = 3 \cdot 10^{-4}$; $[H_2O_2] = 4 \cdot 10^{-3}$ моль/л.

Таблица 2

Результаты определения марганца в растворах. Общие концентрации компонентов, моль/л: $[L_c] = 3 \cdot 10^{-4}$; $[H_2O_2] = 4 \cdot 10^{-3}$; рН 11,5

Взято марганца, мкг/5 мл	ΔS	Найдено марганца, мкг/5 мл	Относит. ошибка, %
0,15	42,5	0,16	+ 6,6
0,38	41,0	0,42	+10,5
	39,0	0,34	-10,5
0,92	28,5	0,88	- 4,3
	31,0	0,75	-18,5
1,15	27,5	0,94	-18,3
	26,0	0,98	-14,8
1,38	20,0	1,30	- 5,8
	22,5	1,18	-14,5

Из полученных данных видно, что с увеличением концентрации марганца в условиях опыта суммарное свечение соответственно уменьшается. Таким образом, ионы марганца катализируют хемилюминесценцию люцигенина с перекисью водорода при рН 11,5 весьма своеобразно: добавки Mn(II) усиливают первоначальную вспышку, причем чем больше в растворе марганца, тем ярче вспышка. Продолжительность же свечения в присутствии марганца соответственно уменьшается, т. е. ионы марганца проявляют ингибиторное действие из-за ускоренного разложения H_2O_2 . Прямолинейная зависимость, имеющаяся между суммой свечения и концентрацией марганца, позволяет заключить о возможности количественного определения марганца фотографическим хемилюминесцентным методом по гашению свечения. Чувствительность реакции составляет 0,01—0,02 мкг Mn в 1 мл раствора. Предельной чувствительностью мы считаем концентрацию марганца, при которой сумма свечения за определенное время на 10% меньше значения ΔS в растворе без марганца.

Точность и воспроизводимость метода проверены методом добавок в интервале 0,1—1,5 мкг Mn в 5 мл в отсутствии посторонних

ионов (табл. 2). Анализ производится очень просто и быстро, результаты хорошо воспроизводимы. Точность характеризуется стандартным отклонением, равным 0,2 мкг для указанного интервала концентраций. Средняя относительная ошибка метода составляет $\pm 13\%$.

ԼՅՈՒՑԻԳԵՆԻՆԻ ԵՎ ՋՐԱՕՆԻ ՊԵՐՕՔՍԻԴԻ ԽԵՄԻԼՅՈՒՄԻՆԵՍԵՆՏ ՌԵԱԿՑԻԱՅԻ ԶԵՏԱԶՈՏՈՒՄԸ ՄԱՆԳԱՆԻ(II) ՆԵՐԿԱՅՈՒԹՅԱՄԲ

Լ. Ի. ԴՈՒՐՈՎԵՆԿՈ և Զ. Պ. ԹՈՎՄԱՍՅԱՆ

Ա մ փ ո փ ու մ

Ցույց է տրված, որ մանգանի կոնցենտրացիայի աճման հետ մեծանում է լույսի ինտենսիվությունը, սակայն լույսի տևողությունը և հետևապես լույսի գումարը փոքրանում է: Այդ պատճառով էլ մանգանը կարելի է դիտել որպես ինդիկատոր: Մաքսիմալ ինդիկատորային էֆեկտ դիտվում է pH 11—11,5-ի դեպքում:

Ենթադրվում է, որ խեմիլյումինեսցենտ ռեակցիան արագանում է շնորհիվ կատալիտիկ ակտիվ Mn^{3+} միջանկյալ իոնի գոյացման:

Ուսումնասիրված է H_2O_2 քայքայման արագությունը մանգանի և լուցիգենինի ներկայությամբ տարբեր pH-ների պայմաններում և ստացված տվյալները նույն պայմաններում համեմատվել են լուսարձակման կինետիկայի և տևողության հետ: Գտնված է, որ pH < 13 դեպքում դիտվում է մանգանի ազդեցության լրիվ համընկնում ինչպես H_2O_2 -ի քայքայման, այնպես էլ խեմիլյումինեսցենտ ռեակցիայի վրա: Լույսի մարման պատճառը այդ պայմաններում, պայմանավորված է H_2O_2 -ի ծախսով: pH ≥ 13 դեպքում տեղի է ունենում կոլորիդ վիճակում հիդրատացված մանգանի երկօքսիդի առաջացում, որը կտրում է ռադիկալային շղթան և պատճառ հանդիսանում լույսի մարմանը:

Առաջարկված է մանգանի միկրոքանակների որոշման խեմիլյումինեսցենտ ֆոտոդրաֆիկ մեթոդ: Օպտիմալ պայմաններն են $[L_c] = (3-4) \cdot 10^{-4}$ մոլ/լ. $[H_2O_2] = (4-8) \cdot 10^{-3}$ մոլ/լ. pH = 11,5 էքսպոզիցիա 20—30 ռոպե: Ռեակցիայի զգայնությունն է 0,01—0,02 մկգ Mn 1 մլ լուծույթում:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. J. Vognar, L. Sipos, Mikrochim. Acta, № 3, 442 (1963).
2. У. Шамб, Ч. Сеттерфильд, Р. Вентворс, Перекась водорода, Москва, ИЛ, 1958.
3. А. К. Бабко, Л. И. Дубовенко, Н. М. Луковская, Хемилюминесцентный анализ, Изд-во «Техніка», Кієв, 1966.
4. Л. И. Дубовенко, А. П. Товмасын, ЖАХ, 25, 942 (1970).
5. J. Vognar, L. Sipos, Mikrochim. Acta, № 5—6, 1066 (1963).
6. А. К. Бабко, Л. И. Дубовенко, А. В. Терлецкая, Укр. хим. ж., 32, 728 (1966).
7. А. К. Бабко, Л. И. Дубовенко, А. В. Терлецкая, Укр. хим. ж., 35, 194 (1969).
8. Л. И. Дубовенко, Л. Д. Гузь, Укр. хим. ж. (в печати).
9. В. А. Луненко-Бурмакина, А. П. Потемская, А. Н. Герасенкова, Химия перекисных соединений, Изд. АН СССР, 1963, стр. 105.
10. Л. А. Николаев, Биокатализаторы и их модели, Изд-во «Высшая школа», Москва, 1968.