

И.Е. Калининко

## ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЙ АНАЛИЗ НА ОСНОВЕ РЕАКЦИЙ ОКИСЛЕНИЯ ЛЮМИНОЛА В СПЕЦИФИЧЕСКИХ РЕЖИМАХ

Предложены методики определения нитрита в водах, органических загрязнителей в воздухе и примесей кислорода в газах с использованием соответственно хемилюминесцентных реакций люминола с продуктами фотолитического разложения нитрита, с продуктами самопроизвольного разложения пероксидисульфата и 3-оксифталевого гидразида с кислородом в сильнощелочной среде.

Люминол является важнейшим хемилюминесцентным реагентом. На основе реакций с его участием определяют малые количества многих металлов, неметаллов и органических соединений [1—3]. Определяемое вещество при этом либо непосредственно окисляет люминол в водных растворах при pH 7–14, вызывая его хемилюминесценцию, либо оказывает влияние на скорость и выход света в индикаторной реакции люминола с  $H_2O_2$  или другими окислителями.

Изучение хемилюминесцентных реакций с участием люминола продолжается и в настоящее время. Оно связано с установлением довольно сложного их механизма, созданием новых методик проведения анализа и улучшением основных характеристик известных методик, особенно их чувствительности и селективности при определении неметаллов и органических соединений. Продолжаются разработки методик, в которых хемилюминесцентное детектирование сочетается с предварительным выделением определяемого вещества или селективным генерированием его аналитической формы [2]. С другой стороны, изучается возможность анализа разных объектов с помощью предельно простых одностадийных методик, в которых их необходимые характеристики обеспечиваются подбором нетрадиционных окислителей, катализаторов и ингибиторов для используемой индикаторной реакции, применением фотохимических, электрохимических и звукохимических процессов, а также специфических реакционных сред, заменой люминола на другой замещенный фталевый гидразид [3].

Нами обнаружен ряд таких реакций, протекающих в специфических режимах, в том числе окисление люминола продуктами фотохимического восстановления нитрата [4] и самопроизвольного разложения пероксидисульфата [5], окисление в сильнощелочной среде аналога люминола — 3-оксифталевого гидразида [6]. Целью настоящего исследования была разработка методик фотохемилюминесцентного определения нитри-

та в воде, органических антиоксидантов в воздухе и кислорода в газах на основе полученных ранее данных [4—6] по кинетике и механизму соответствующих реакций. В тех же статьях описаны применяемые реактивы, хемилюминесцентный фотометр и приборы для измерений спектров поглощения и величины pH растворов.

**Определение нитрита.** В разработанной нами методике определения нитрата [4] анализируемый раствор после облучения ртутной лампой при pH 5 вручную смешивали с щелочным раствором люминола. Эта же методика реализована другими авторами [7] в проточно-инжекционном режиме. В обоих случаях предел обнаружения нитрата составил  $5 \cdot 10^{-8}$  М. На основе полученных данных по кинетике реакции нами сделан вывод о том, что люминол окисляется пероксинитритом ( $HOONO$ ) — промежуточным соединением, которое образуется при фотовосстановлении нитрата до нитрита, с временем жизни  $\sim 30$  с.

Фотохемилюминесцентную реакцию нитрата с люминолом изучали методом непрерывной струи. Три раствора компонентов реакции (анализируемая проба,  $2 \cdot 10^{-5}$  М люминол, 0,1 М NaOH) подавались на смешивание многоканальным перистальтическим насосом РР 2-15 с помощью тефлоновых трубок диаметром 0,7 мм со скоростью 2 мл/мин. Перед смешиванием анализируемая проба проходила через кварцевый микрореактор размерами  $8 \times 2 \times 15$  мм, закрепленный в вертикальном положении на расстоянии 20 см от ртутной лампы СВД-120А, установленной в осветителе ОИ-18 вместе с отражателем и фокусирующей линзой. Разборная смесительная кювета изготовлена в виде тефлоновой трубки высотой 15 и внутренним диаметром 5 мм со стеклянным дном и тефлоновой крышкой. Растворы поступали через тангенциальные отверстия диаметром 0,3 мм в нижней части кюветы и удалялись через отверстие в крышке.

Опыты показали, что в условиях определения нитрата [4] при добавлении к облучаемой пробе воды некоторых органических соединений интен-

сивность хемилюминесценции, вызванной нитратом, сильно снижается, а вызванной нитритом — сильно возрастает. Максимальное дифференцирующее действие наблюдается для уротропина. Оптимальное значение pH облучаемого раствора составляет ~5 при концентрации уротропина  $1 \cdot 10^{-3}$  М. При pH 5, как и при определении нитрата [4], интенсивность хемилюминесценции снижается (таблица).

**Зависимость интенсивности хемилюминесценции от концентрации уротропина и величины pH облучаемого раствора**

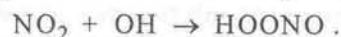
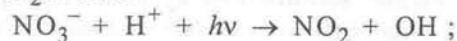
pH	$C_{ур} \cdot 10^4$ , М	$I \cdot 10^{-7}$ , квант/с *		
		I	II	III
4.2	10	9.2	15.0	395
4.6	10	9.0	13.5	418
5.0	10	8.6	12.0	440
5.4	10	7.5	10.8	360
5.8	10	4.2	7.0	220
6.3	10	3.2	4.4	120
5.0	2	6.0	10.6	125
5.0	5	6.8	11.5	332
5.0	20	15.5	19.2	400
5.0	30	15.0	27.0	365

\* I — в присутствии одного уротропина, II — при добавлении  $5 \cdot 10^{-7}$  М  $KNO_3$ , III —  $5 \cdot 10^{-7}$  М  $NaNO_2$ .

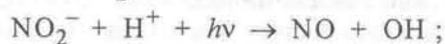
Опытами с использованием светофильтров, которые помещали между ртутной лампой и микрореактором, установлено, что активной частью выделяемого лампой излучения является, как и при определении нитрата [4], коротковолновой ультрафиолет с  $\lambda \leq 230$  нм. В этой части спектра поглощают свет все компоненты фотохимической реакции, что сопровождается их частичным разложением. Нитрат восстанавливается до нитрита, а нитрит окисляется до нитрата. Разложение уротропина обнаружено при измерении спектров поглощения его растворов, облученных в течение 5—10 мин. В отдельных опытах увеличивали длину и диаметр трубки, соединяющей микрореактор со смесительной камерой и по результатам измерений интенсивности хемилюминесценции рассчитывали время жизни окислителя, реагирующего с люминолом, которое составило  $20 \pm 5$  с.

Полученные данные свидетельствуют о том, что при фотохимическом разложении нитрита

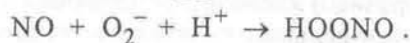
окислителем люминола также является пероксинитрит, однако он образуется иным путем, чем при фотовосстановлении нитрата. Согласно существующим представлениям о механизме этих фотохимических реакций [8], в случае нитрата образование пероксинитрита может происходить в результате рекомбинации свободных радикалов  $NO_2$  и  $OH$ :



При фотовозбуждении нитрита в первичных реакциях образуются свободные радикалы  $NO$ ,  $OH$  и  $NO_2$ :



В то же время известно [9], что при фотохимическом окислении растворенным кислородом таких соединений, как уротропин, одним из продуктов первичных реакций являются ион-радикалы  $O_2^-$ . Эти частицы легко восстанавливают диоксид азота до нитрита и при фотовосстановлении нитрата должны препятствовать образованию пероксинитрита. А при фотоокислении нитрита выход пероксинитрита должен возрастать за счет известной реакции ион-радикалов  $O_2^-$  с оксидом азота [8]:



Разработана следующая методика определения нитрита в питьевой воде. К пробе воды добавляли растворы 0.1 М уротропина до концентрации  $1 \cdot 10^{-3}$  М и ~1 М  $HCl$  для подкисления до  $pH 5.0 \pm 0.1$ . На установке, описанной выше, измеряли интенсивность фотохемилюминесценции (I) и по градуировочному графику рассчитывали молярную концентрацию нитрита (C). Уравнение градуировочного графика имеет вид:

$$I(\text{квант/с}) = (8.6 \pm 0.4) \cdot 10^7 + (8.8 \pm 0.2) \cdot 10^{15} C.$$

Предел обнаружения нитрита составляет  $2 \cdot 10^{-9}$  М, верхняя граница определяемых концентраций —  $1 \cdot 10^{-6}$  М. Не мешают определению ионы  $Al$ ,  $Zn$ ,  $K$ ,  $Na$ ,  $Ca$ ,  $Mg$ , хлориды, сульфаты и бикарбонаты на уровне предельно допустимых концентраций для питьевой воды, а также нитраты при 10-кратном молярном избытке по отношению к нитритам. Мешают примеси  $Fe$ ,  $Cu$ ,  $Co$ ,  $Ni$ ,  $Mn$ . Предварительные опыты показали, что мешающее влияние этих металлов можно устранить пропусканием пробы анализируемой воды через микроколону с катионитом [7], а нитраты при слишком высоких концентрациях — уда-

лить с помощью микроколонки с активированным углем.

Предлагаемая методика по чувствительности сопоставима с известными методиками хемилюминесцентного определения нитритов. В одной из них [10], с пределом обнаружения  $1 \cdot 10^{-8}$  М, к подкисленной пробе воды добавляют иодид, образовавшийся иод выдувают инертным газом и определяют в потоке газа, который проходит через щелочной раствор люминола. Методика проточно-инжекционного определения нитрита [11] основана на переводе его в пероксинитрит в реакции с  $\text{H}_2\text{O}_2$  в кислой среде и регистрировании хемилюминесценции после добавления щелочного раствора люминола. Предел обнаружения составляет  $1 \cdot 10^{-9}$  М. Достоинством предлагаемой методики может быть ее применение в совместном определении нитрата и нитрита с помощью одной и той же установки.

**Определение антиоксидантов.** Изучение механизма известной реакции люминола с пероксидисульфатом показало, что при низких концентрациях компонентов она осуществляется с высоким выходом света в характерном кинетическом режиме. Люминол окисляется в этих условиях почти исключительно озонидом, который образуется при взаимодействии с гидроксильными ионами и растворенным кислородом первичного продукта самопроизвольного разложения пероксидисульфата — ион-радикалов  $\text{SO}_4^-$ . Возникающую при этом хемилюминесценцию гасят многие органические соединения, известные в качестве акцепторов свободных радикалов. Предел обнаружения изменяется от  $10^{-5}$  до  $10^{-10}$  М, причем заметный эффект проявляют даже такие малоактивные соединения, как алифатические спирты и кетоны. На основе изученной реакции была разработана методика определения антиоксидантов в белково-углеводных концентратах [5], а также описанная ниже методика контроля загрязнения воздуха.

В стеклянный бюкс высотой 45 и диаметром 30 мм помещали 5 мл смеси растворов, содержащей  $1 \cdot 10^{-3}$  М  $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ ,  $2 \cdot 10^{-7}$  М люминол,  $2 \cdot 10^{-5}$  М ЭДТА и  $1 \cdot 10^{-2}$  М  $\text{NaOH}$  и пригодной для использования в течение рабочего дня. В выбранном месте контроля качества воздуха бюкс кратковременно открывали, в лаборатории интенсивно перемешивали содержимое, термостатировали при  $25^\circ\text{C}$  и измеряли интенсивность хемилюминесценции ( $I_0$ ). К тому же раствору добавляли 0.03 мл 1 М водного раствора этанола и после осторожного перемешивания снова измеряли

интенсивность хемилюминесценции ( $I$ ). Рассчитывали величину ( $I_0/I$ ), которая, как показали результаты испытаний, для относительно чистого воздуха составляет  $\sim 10$ , а для загрязненного воздуха некоторых жилых и производственных помещений понижается до  $\sim 2$ .

Обнаруженные в воздухе антиоксиданты нами не идентифицированы. Впервые на существование подобных загрязнителей воздуха — очень сильных акцепторов свободных радикалов — обратили внимание при изучении хемилюминесцентных реакций некоторых углеводородов с кислородом в среде органических растворителей [12]. Антиоксидантами оказались стабильные свободные радикалы, образующиеся при разложении полимерных материалов.

**Определение кислорода.** Авторами работы [13] разработана методика определения малых количеств кислорода в связи с изучением процессов фотосинтеза. Кислород выдувается из воды аргонном и поступает на хемилюминесцентный датчик, в котором газ проходит над поверхностью смеси растворов люминола и *K-мет*-бутоксиды в диметилсульфоксиде. Недостатком этой чувствительной методики с пределом обнаружения  $\sim 10^{-11}$  М является необходимость предохранять датчик от контакта с воздухом и удалять следы влаги из реактивов и газа-носителя. Нами разработана методика хемилюминесцентного определения кислорода в газах на основе изученной ранее его реакции с 3-оксифталевым гидразидом в сильнощелочной среде [6]. Люминол в этих условиях также окисляется, но с очень низким выходом света.

Как показали результаты изучения кинетики реакции [6], при постоянной концентрации  $\text{KOH}$  ее скорость пропорциональна концентрациям гидразида и кислорода, а при постоянных концентрациях последних и увеличении концентрации  $\text{KOH}$  от 4 до 12 М возрастает приблизительно на три порядка. Для определения кислорода выбраны такие концентрации  $\text{KOH}$  (7 М) и гидразида ( $1 \cdot 10^{-3}$  М), при которых гидразид еще заметно не расходует даже при контакте индикаторного раствора с воздухом в течение нескольких часов, а интенсивность возникающей хемилюминесценции еще можно надежно измерить даже при предельно низких концентрациях кислорода в исследуемом газе.

Индикаторный раствор (3 мл) помещали в стеклянную кювету конической формы диаметром у основания 30 мм и высотой 40 мм с пришлифованной тефлоновой пробкой диаметром

10 мм с двумя отверстиями для ввода и вывода газа через стальные трубки диаметром 0.5 мм. Для увеличения чувствительности хемилюминесцентного фотометра до величины  $1 \cdot 10^{-3}$  квант/с-деление боковые стенки кюветы покрывали серебром. Для дозирования кислорода применяли баллоны с азотом, содержащие  $0.65$  и  $3.2 \cdot 10^{-3} \% \text{O}_2$ , и баллон с аргоном, содержащий  $4.0 \cdot 10^{-4} \% \text{O}_2$ . Анализ газов проводили стандартным фотометрическим методом по окислению кислородом Си (I). Кроме того, использовали аргон, очищенный от кислорода до его содержания  $< 1 \cdot 10^{-6} \%$  с помощью известной "медной колонки" [14]. Газы подавались в кювету хемилюминесцентного фотометра со скоростью от 20 до 200 мл/мин. При создании газовых смесей с содержанием кислорода, отличающимся от приведенных выше значений, скорость потоков двух выбранных газов тщательно регулировали с использованием микровентилей и ротаметров.

Измеряли интенсивность хемилюминесценции, обусловленной растворенным кислородом воздуха ( $I_0$ ). Потом в течение 5—10 мин пропускали через кювету исследуемый газ при энергичном перемешивании находящегося в ней индикаторного раствора и снова измеряли интенсивность хемилюминесценции ( $I$ ). Концентрацию кислорода в газе рассчитывали по уравнению:  $C = C_0 I / I_0$ , где  $C_0$  — концентрация кислорода в воздухе.

Предел обнаружения кислорода составляет  $1 \cdot 10^{-6} \%$ . При определении кислорода в газовых смесях в интервале концентраций от 21 до  $3 \cdot 10^{-5} \%$  относительная погрешность не превышала  $\pm 10 \%$  при относительном стандартном отклонении результатов измерений 0.02—0.05. Индикаторный раствор пригоден для применения в течение рабочего дня. Анализ газа можно осуществить в труднодоступном месте — провести насыщение индикаторного раствора в кювете, а потом измерить интенсивность хемилюминесценции в лаборатории.

Институт коллоидной химии и химии воды им. А.В. Думанского  
НАН Украины, Киев

**РЕЗЮМЕ.** Запропоновано методики визначення нітриту в водах, органічних забруднювачів у повітрі та домішок кисню в газах з використанням хемілюмінесцентних реакцій люмінолу відповідно з продуктами самочинного розкладу пероксидисульфату і реакції 3-оксифталевого гідразиду з киснем в сильнолужному середовищі.

**SUMMARY.** The methodics are proposed for the determination of nitrite in water, organic pollutants in air, and the oxygen admixtures in gases using the luminol chemiluminescence reactions with the products of photodestruction of nitrite, with the products of spontaneous destruction of pyroxydisulphate and with the products of reaction of 3-oxophthalic hydrazide with oxygen in strongly alkaline medium, respectively.

1. Бабко А.К., Дубовенко Л.И., Луковская Л.М. Хемилюминесцентный анализ. -Киев: Техніка, 1966.
2. *Chemiluminescence in Analytical Chemistry* / Ed. by A.M. Garcia-Campaña, W.R.G. Baeyens. -New York: Marcel Dekker, 2001.
3. Kalinichenko I.E. // *Biological Luminescence* / Ed. by B. Jeżowska-Trzebiatowska, B. Kochel, J. Siawinski, W. Strek. -Singapore: World Scientific, 1990. -P. 532—549.
4. Калиниченко И.Е., Куцевская Н.Ф., Пилипенко А.Т. // Журн. аналит. химии. -1987. -43, № 6. -С. 1051—1054.
5. Калиниченко И.Е., Шевченко И.Н. // Укр. хим. журн. -1996. -62, № 3. -С. 40—43.
6. Калиниченко И.Е., Баровский В.А. // Там же. -1979. -45, № 1. -С. 58—62.
7. Liu R., Liu D., Sun A., Liu G. // *Talanta*. -1995. -42, № 3. -P. 437—440.
8. Mack J., Bolton J.R. // *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* -1999. -128. -P. 1—13.
9. Калверт Дж., Питтс Дж. Фотохимия. -М.: Мир, 1968.
10. Пилипенко А.Т., Зуй О.В., Терлецкая А.В. // Химия и технол. воды. -1991. -13, № 9. -С. 847—850.
11. Mikuška P., Večeřa Z., Zdráhal Z. // *Anal. Chim. Acta*. -1995. -316. -P. 261—268.
12. Беляков В.А., Васильев Р.Ф., Федорова Г.Ф. // Кинетика и катализ. -1993. -34, № 2. -С. 237—244.
13. Burr A., Mauzerall D. // *Biochim. Biophys. Acta*. -1968. -153, № 3. -P. 614—624.
14. Мюллер Г., Гнаук Г. Газы высокой чистоты. -М.: Мир, 1968.

Поступила 06.06.2005