Методы и объекты химического анализа, 2010, т.5, №2, с.95-100

До механізму взаємодії ванадомолібдофосфатної гетерополікислоти з люмінолом

О. Зуй[1*], В. Зайцев[2], Н. Кривохижа[3], О. Манойленко[4]

1 – Інститут колоїдної хімії та хімії води ім. А.В. Думанського НАН України, бульвар Вернадського 42, Київ 03680; e-mail: olegzuy@hotmail.com
2 – Київський національний університет імені Тараса Шевченка, вул. Володимирська 64, Київ 01033;
3 – ТОВ УкрОргСинтез, вул. Червоноткацька, 67, корп. 45, Київ 03022;
4 – Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Науково-виробничий хіміко-біологічний центр, вул. Червоноткацька, 61, Київ 03022

Надійшла: 17 березня 2010 р./ Затверджена до друку: 20 березня 2010 р

Досліджено перетворення люмінолу при його взаємодії з гетерополікислотами на прикладі ванадомолібдофосфатної кислоти з метою уточнення механізму перебігу хемілюмінесцентних реакцій у даній системі. Для ідентифікації продуктів реакції застосовано метод високоефективної рідинної хроматографії. Оцінено відносний вклад темнових процесів та процесів, що ведуть до хемілюмінесценції.

O.V. Zui, V.N. Zaitsev, N. Krivokhizha, O. Manoylenko. On the mechanism of interaction of vanadomolybdophosphoric heteropoly acid with luminol – Transformations of luminol were examined during its interaction with heteropoly acids taking vanadomolybdophosphoric acid as an example in order to clarify the mechanism of chemiluminescence reactions in the given system. HPLC was used for identification of the reaction products. Relative input of “dark” processes and processes leading to chemiluminescence was estimated.

Ключові слова: хемілюмінесценція, ·люмінол, ·гетерополікислоти, ·механізм реакцій, · оберненофазова високоефективна рідинна хроматографія

Keywords: chemiluminescence, · luminol, · heteropoly acids, · reaction mechanism, · reverse-phase HPLC

Гетерополікислоти (ГПК) – відомий клас комплексних сполук, що широко застосовуються в аналітичній хімії [1] та як каталізатори в органічному синтезі [2]. Відомо, що вони здатні до оберненого окиснення-відновлення [3]. Високою чутливістю відзначаються хемілюмінесцентні (ХЛ) методи визначення гетерополіутворюючих елементів (P, Si, As, Ge) із застосуванням ГПК [4]. Нещодавно [5] був запропонований механізм хемілюмінесцентного окиснення люмінолу у присутності ГПК, який полягає в каталізі гетерополікислотами окиснення люмінолу розчиненим киснем, утворенні амінофталату у збудженому стані, який далі переходить в основний стан з виділенням світла. Однак прямі докази утворення амінофталату шляхом його безпосереднього детектування в системі люмінол–ГПК–кисень в літературі відсутні.

На теперішній час у літературі відомо лише кілька прикладів застосування високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) для розділення, ідентифікації та визначення люмінолу і амінофталату. Так, в роботі [6], присвяченій питанням механізму хемілюмінесценції циклічних гідразидів типу люмінолу у водних розчинах, відзначається, що аналіз методом ВЕРХ може проводитися на оберненофазовій колонці С18 з використанням водного фосфатного буферу з pH 6,7 з домішкою метанолу (3-20%) у якості елюента. Хроматограм, часу утримування компонентів не наведено, не вказано тип детектора та довжину хвилі, при якій здійснюється детектування. В іншій роботі [7] досліджено фотоокиснення люмінолу у присутності сенсибілізаторів (сенсибілізатор – барвник бенгальський рожевий). Застосуванням методу оберненофазової ВЕРХ доведено, що в ході фотоокиснення утворюється амінофталат. Як елюент застосовували фосфатний буфер з pH 7,4, детектор – діодна матриця при λ = 351 нм. Час утримування люмінолу – 1,8 хв, амінофталату – 2,6 хв. Ступінь розділення піків речовин R_s дещо нижче одиниці, і, отже, інтегрування та кількісна обробка результатів є ускладненими. Нарешті, в роботі [8], присвяченій каталізу процесів окиснення води, наведені такі умови ВЕРХ-аналізу суміші люмінолу та амінофталату: колонка С18 (оберненофазова), УФ-детектор (λ = 254 нм), рухома фаза ацетонітрил-вода (з домішкою 0,1% трифторацетату) 18:82, швидкість току рухомої фази 1 мл/хв. Час утримування люмінолу в умовах [8] – 7,4 хв, амінофталату – 3,5 хв, ступінь розділення R_s переви-

щує 1,5, що відповідає умовам аналітичного дослідження.

Метою даної роботи було з'ясування складу продуктів реакції люмінол – кисень – ГПК для уточнення механізму взаємодії компонентів цієї реакції. Для цього був застосований метод ВЕРХ.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

ВЕРХ-дослідження проводилися на напівпрепаративному рідинному хроматографі Varian 940-LC, що використовується як для препаративної хроматографії, так і для аналітичних досліджень, обладнаному стандартною системою подачі бінарного градієнту, стандартним діодно-матричним детектором та стандартним автосемплером. Дані були зібрані та оброблені з використанням програмного забезпечення Galaxie Chromatography Data System, версія 1.9.302.952, розробник Varian Inc. Характеристики хроматографічної системи, застосованої для розділення компонентів сумішей, наведено в таблиці. Стандартне відхилення результатів аналізу не перевищує 12%.

Ванадомолібдофосфатну гетерополікислоту $H_4PVMo_{11}O_{40}$ (PVMo ГПК) синтезували ефіратним методом [9]. Використовували люмінол 97% (Aldrich), 3-амінофталеву кислоту 90% (Aldrich), ацетонітрил HPLC Grade (Promochem), трифтороцтову кислоту 99% (Aldrich), гідроксид калію ос.ч., сірчану кислоту х.ч. Всі розчини готували на фоні деіонованої води, одержаної з апарату Milli-Q (США). Готували 1 М розчин КОН, розчин 1×10^{-3} М PVMo ГПК, розчини 9 М та 0,9 М H_2SO_4, 1×10^{-3} М розчин люмінолу на фоні 1 М КОН.

Стандартний розчин 5×10^{-4} М амінофталевої кислоти було приготовлено з наявного препарату на фоні 0,01 М КОН (pH 12,0). Кислотність середовища доводили до pH 2,4 за допомогою 1% водного розчину трифтороцтової кислоти (добавка 150 мкл 1% розчину трифтороцтової кислоти на 1000 мкл наявного лужного розчину амінофталевої кислоти).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Для розчинів всіх ключових сполук (гетерополікислоти, 3-амінофталевої кислоти, люмінолу та піка, атрибутованого як амінофталат у реакційній суміші) знято спектри поглинання. Вони наведені на рис. 1. З рисунка видно, що всі ключові сполуки поглинають світло при 350 нм, тому нами обрана ця довжина хвилі для детектування. Детектування при 220 нм менш придатне через недостатню стабільність нульової лінії, що видно далі, з порівняння рис. 5а і 5б. Для цього pH наявного лужного розчину люмінолу доводили до значення 2,4 за допомогою 0,9 М H_2SO_4 (додавали 250 мкл розчину сірчаної кислоти до 500 мкл розчину 1×10^{-3} М люмінолу в 1М КОН).

Хроматограму підкисленого до pH 2,4 розчину люмінолу наведено на рис. 3.

Для перевірки розчинників, рухомої фази та води на наявність піків, що можуть перекриватися з хроматографічними піками досліджуваних речовин та заважати їх визначенню, був проаналізований реагентний бланк (деіонована вода з добавкою 0,2% водного розчину трифтороцтової кислоти, pH=2,8). На отриманій хроматограмі відсутні піки вище 13 mAU, а в області знаходження ключових піків – люмінолу та амінофталату – вище 1 mAU.

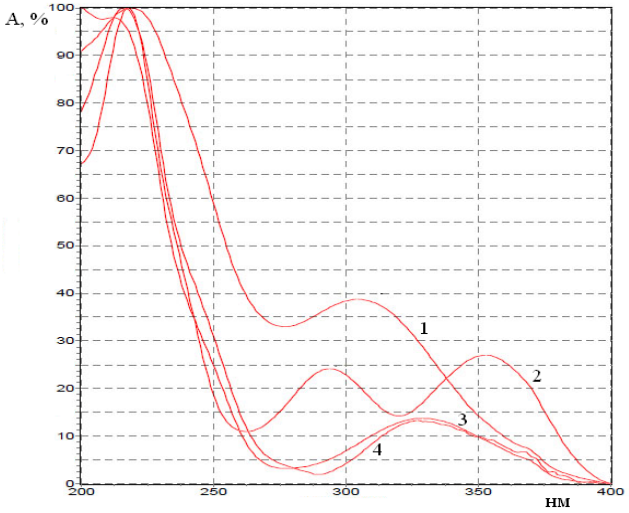

Рис. 1. Спектри поглинання ключових речовин: 1 – ванадомолібдофосфатна гетерополікислота, 2 – люмінол, 3 – 3-амінофталева кислота, 4 – речовина, атрибутована як амінофталат у реакційній суміші.

Домішка до H_2SO_4 могла з'явитися з тари. На хроматограмах стандартних розчинів люмінолу та амінофталату, підкислених не H_2SO_4, а трифтороцтовою кислотою, пік цієї домішки відсутній. У якості позитивних контрольних проб були проаналізовані окремо розчини досліджуваної гетерополікислоти, 3-амінофталевої кислоти та люмінолу.

Вихідний розчин 1×10^{-3} М PVMo ГПК з доданою H_2SO_4 мав pH 2,6, і його аналіз проводився без доведення рівня pH до pH рухомої фази. Хроматограму даного розчину наведено на рис. 2.

На ній чітко видно пік ГПК (пік 1) та пік домішки до сірчаної кислоти (пік 2), що частково накладається на пік ГПК. Слід зазначити, що він не заважає детектуванню піків ключових сполук – 3-амінофталату та люмінолу. Час утримування PVMo ГПК становить 0,95 хв, час утримування домішки до H_2SO_4 – 1,11 хв. Розчин люмінолу для хемілюмінесцентної реакції готували на фоні 1 М КОН, отже, його вихідний pH суттєво відрізнявся від pH рухомої фази і потребував корегування.

© О. Зуй, В. Зайцев, Н. Кривохижа, О. Манойленко

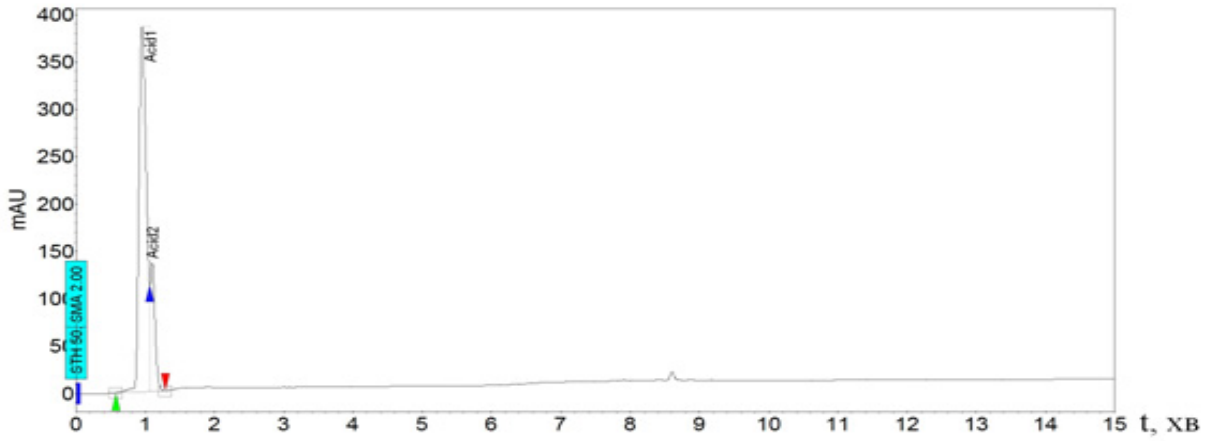

Рис. 2. Хроматограма розчину ванадомолібдофосфатної кислоти (пік 1) у присутності сірчаної кислоти (домішка до сірчаної кислоти – пік 2). Умови хроматографування: колонка Waters Nova–Pak C18 3,9x150 мм, діодно-матричний детектор при ?=350 нм, рухома фаза ацетонітрил-вода (з додаванням 0,01% трифтороцтової кислоти), швидкість потоку 1 мл/хв.

Піки домішки до сірчаної кислоти та люмінолу добре розділені (ступінь розділення Rs > 10), час утримування люмінолу становить 6,5 хв. Хроматограма стандартного розчину люмінолу, підкисленого не H_2SO_4, а трифтороцтовою кислотою, містила лише пік люмінолу з часом утримування 6,5 хв.

Хроматограма розчину 5×10^{-4} М амінофталевої кислоти, підкисленої трифтороцтовою кислотою, представлена на рис. 4.

З рисунка видно, що з'являється чіткий пік 3-амінофталевої кислоти з часом утримування 2,9 хв, і чотири значно менші за інтенсивністю неідентифіковані піки, які розташовані далі за піком 3-амінофталевої кислоти, – це домішки у препараті. Ширина піку така, що розрахована ступінь розділення 3-амінофталевої кислоти та люмінолу перевищує 5 і є цілком достатньою для аналітичних досліджень. Слід відмітити, що висота піка стандартного розчину 3-амінофталевої кислоти приблизно в 7 разів нижча, ніж висота піка стандартного розчину люмінолу.

Отже, у знайдених і застосованих нами умовах хроматографування спостерігається чітке розділення піків PVMo ГПК ($t_{утр}$ = 0,95 хв), 3-амінофталевої кислоти ($t_{утр}$ = 2,9 хв) і люмінолу ($t_{утр}$ = 6,5 хв), що дає можливість досліджувати продукти реакції в системі PVMo ГПК–розчинений кисень–люмінол. Пік домішки до сірчаної кислоти накладається на пік гетерополікислоти, однак це не є критичним, оскільки остання виступає лише як каталізатор і, таким чином, аналіз її концентрації в даній реакції не розглядається.

Оскільки хемілюмінесцентна реакція у системі люмінол– гетерополікислота (її тривалість – до 30 с) відбувається лише у лужному середовищі (оптимальне pH 12,0), а продукти можна реєструвати лише в слабкокислому середовищі (pH 2,0–2,8), то з метою ідентифікації продуктів методом ВЕРХ застосували такий прийом: розчини ГПК (0,5 мл 1×10^{-3} М PVMo) та люмінолу (0,66 мл 1×10^{-3} М у 1 М КОН) змішували (pH суміші 12,0), через 5 хв після цього і безпосередньо перед введенням суміші в хроматограф її pH доводили до 2,5 додаванням 0,32 мл 0,9 М H_2SO_4.

Хроматографування проводилось в умовах, аналогічних дослідженню стандартних розчинів. Хроматограму досліджуваної реакційної суміші наведено на рис. 5а – детектування при 350 нм, рис. 5б – детектування при 220 нм. З порівняння цих рисунків видно, що детектування в даній системі краще проводити при 350 нм, при такій довжині хвилі нульова лінія більш стабільна, ніж при 220 нм. На рисунках 5а і 5б чітко видно появу но-

вого піка, якого не було на хроматограмах стандартних розчинів ГПК (рис. 2) та люмінолу (рис. 3).

Час утримування цього піку становить 2,9 хв, а спектр поглинання ідентичний 3-амінофталату (див. рис. 1), тому він ідентифікований як пік 3-амінофталевої кислоти. Відповідність спектрів поглинання кривих 3 і 4 (рис. 1) вказує на правильність такої ідентифікації. Розрахунки, що базуються на порівнянні площ піків на рис. 4 і рис. 5а, показують, що концентрація утвореної 3-амінофталевої кислоти становить ~$7{,}9\times10^{-6}$ М, а з порівняння рис. 3 і рис. 5а видно, що пік люмінолу у проаналізованій реакційній суміші приблизно на 20,8% менший у порівнянні з вихідним розчином (із врахуванням розведення люмінолу компонентами реакційної суміші). Тобто, в реакції витратилося ~$9{,}3\times10^{-5}$ М люмінолу, і утворилося ~$0{,}79\times10^{-5}$ М амінофталату.

Це означає, що основна маса люмінолу зазнала перетворень у темнових процесах (без хемілюмінесценції), разом з тим доведено утворення в ХЛ реакції 3-амінофталат-іону у помітній кількості, чим підтверджено правильність механізму ХЛ реакції, запропонованого в [5]. Те, що в реакції витратилося лише ~20,8% люмінолу, пояснюється відносно швидким розкладом PVMo ГПК у лужному середовищі.

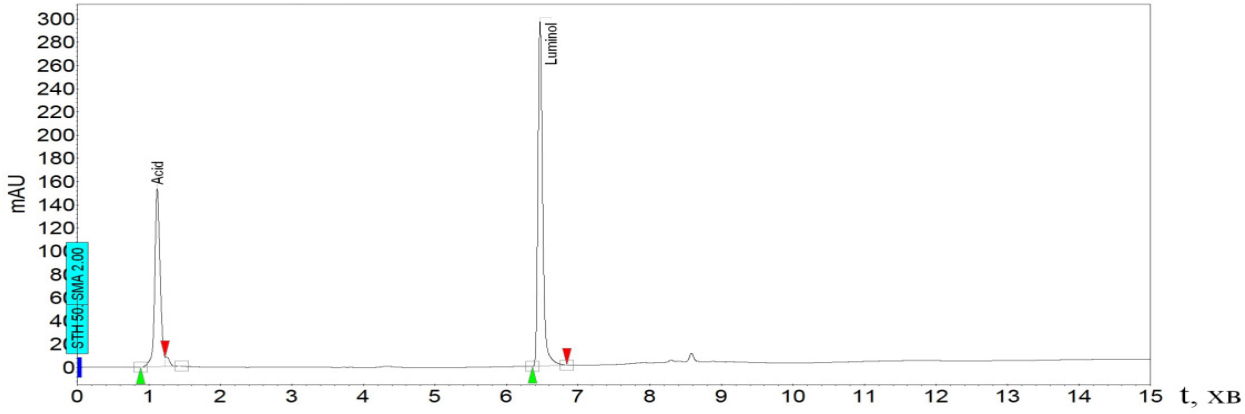

Рис. 3. Хроматограма стандартного розчину люмінолу (пік 2) у присутності сірчаної кислоти (домішка до H2SO4 – пік 1). Умови хроматографування – як на рис.2.

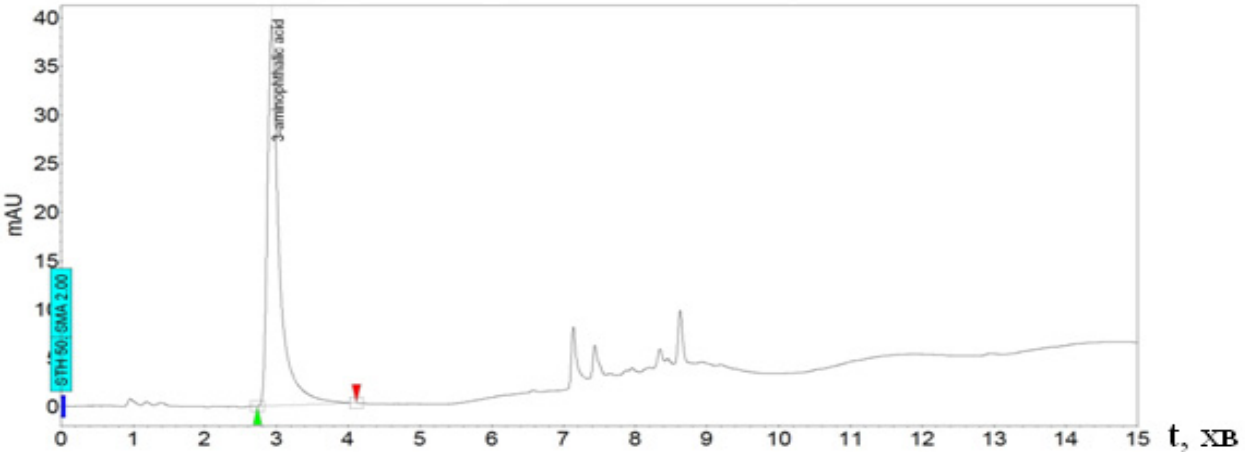

Рис 4. Хроматограма стандартного розчину препарату 3-амінофталевої кислоти, підкисленої трифторооцтовою кислотою. Умови хроматографування – як на попередніх хроматограмах

© О. Зуй, В. Зайцев, Н. Кривохижа, О. Манойленко

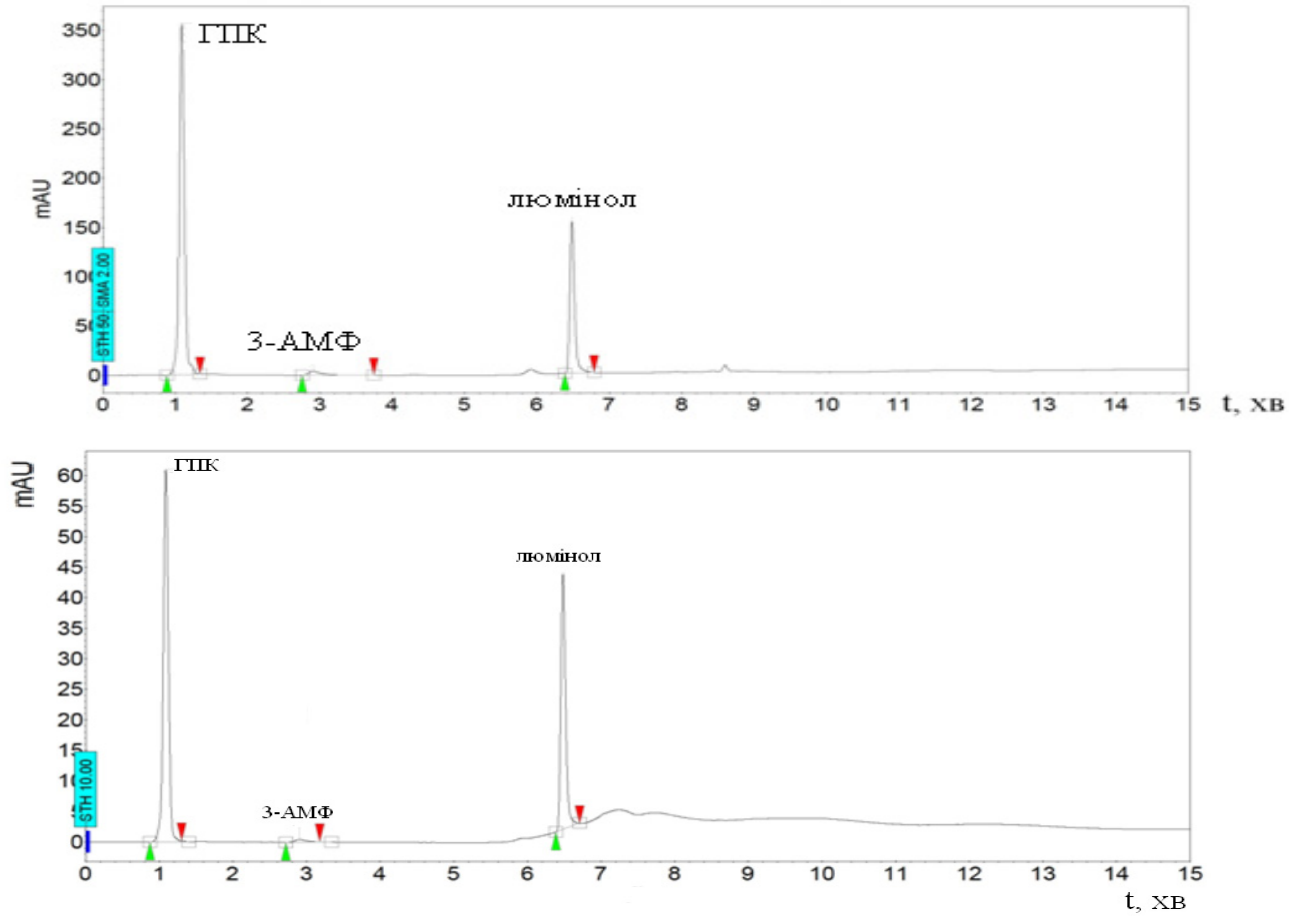

Рис 5. Хроматограма реакційної суміші PVMo ГПК та лужного розчину люмінолу, записана через 5 хв після початку реакції безпосередньо після подальшого підкислення сірчаною кислотою: а (вгорі) – детектування при 350 нм, б (внизу) – детектування при 220 нм.
Концентраційні умови вказано в тексті. Інші умови хроматографування – як на попередніх рисунках.

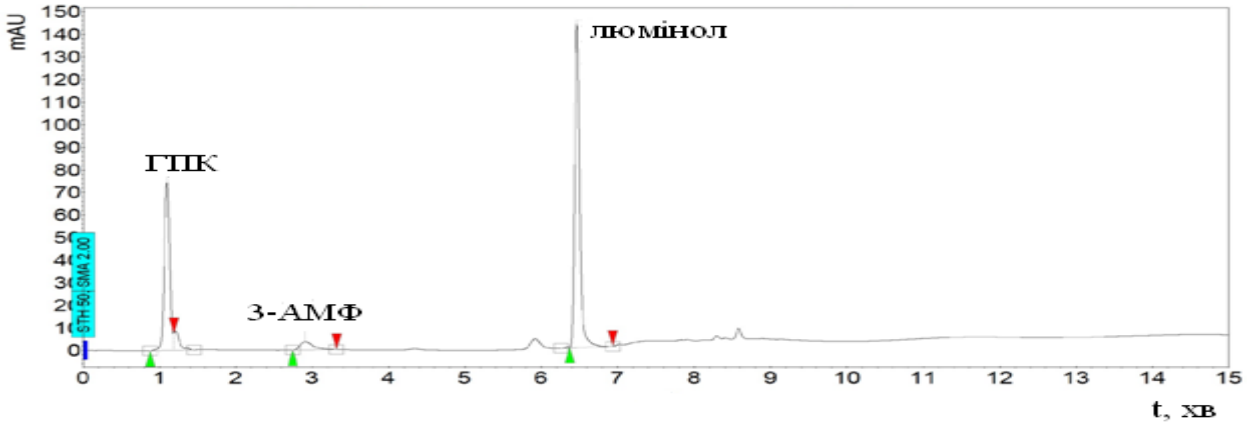

Рис 6. Хроматограма реакційної суміші PVMo ГПК та лужного розчину люмінолу, записана через 30 хв після початку реакції безпосередньо після подальшого підкислення сірчаною кислотою. Детектування при 350 нм. Концентраційні умови – як на рис. 5. Умови хроматографування – як на попередніх рисунках.

Таблиця 1. ***Характеристики хроматографічної системи***

Колонка	Waters Nova-Pak C18 3,9×150 мм	
Рухома фаза А	Вода з додаванням трифтороцтової кислоти (0,01% за об'ємом, pH_a ~ 3)	
Рухома фаза Б	Ацетонітрил з додаванням трифто-роцтової кислоти (0,01% за об'ємом)	
Програма градієнту	Час, хв	% Б
	0	5
	3	5
	10	100
	15	100
Час урівноважування колонки, хв.	15	
Швидкість потоку	1 мл/хв.	
Довжина хвилі детектування, нм	350	
Мертвий об'єм системи, мл	1,2	

На відносну стійкість 3-амінофталату до окиснення у лужному середовищі вказує хроматограма, наведена на рис. 6. Це хроматограма реакційної суміші, приготовленої в умовах, що відносяться до рис. 5, але витриманої до нейтралізації не 5 хв, а 30 хв. Площа піку 3-амінофталату через 5 хв витримки в лужному середовищі – 0,9 відн. од. (рис. 5а), а через 30 хвилин витримки в лужному середовищі – 0,7 відн. од. (рис. 6), тобто, незначно менше. Ці дані свідчать, що витримування протягом 5 хв не може спричинити помітного окиснення 3-амінофталату.

В роботі [5] вперше було знято спектри хемілюмінесценції в системі люмінол–ГПК і показано, що максимум спектра хемілюмінесценції люмінол–ГПК співпадає зі спектром флуоресценції 3-амінофталату, який вважається еміттером хемілюмінесценції, як і в реакціях люмінолу з йодом, бромом і рядом інших окисників. В даній роботі методом ВЕРХ беззаперечно доведено, що одним із продуктів реакції в системі люмінол – PVMo ГПК – кисень є 3-амінофталат. Метод ВЕРХ може бути корисним для вивчення також інших хемілюмінесцентних реакцій.

ЛІТЕРАТУРА

1. Pope M.T., Müller A. Polyoxometalate chemistry: an old field with new dimensions in several disciplines // Angew. Chem. Int. Ed. Engl. – 1991. – Vol.30, №1. – P.34-48.

2. Hill C.L., Delannoy L., Duncan C., Weinstock I.A., Renneke R.F., Reiner R.S., Atalla R.H., Han J.W., Hillesheim D.A., Cao R., Anderson T.M., Okun N.M., Musaev D.G., Geletii Yu.V. Complex catalysts from self-repairing ensembles to highly reactive air-based oxidation systems // C. R. Chimie. – 2007. – Vol.10, №4-5. – P.305-312.

3. Melsheimer J., Mahmoud S.S., Mestl G., Schlögl R. In situ UV-VIS diffuse reflectance spectroscopy of reduction-reoxidation of heteropoly compounds by methanol and ethanol: a correlation between spectroscopic and catalytic data // Catalysis Letters. – 1999. – Vol.60, №3. – P.103-111.

4. Зуй О.В. Нові аналітичні форми для хемілюмінесцентного визначення мікро- та ультрамікрокількостей ряду біологічно активних аніонів // Укр. хім. журн. – 2005. – Т.71, №9. – С.5-12.

5. Zui O., Takahashi H., Hori T., Hinoue T. Luminol chemiluminescence under interaction with heteropoly acids // Talanta. – 2009. – Vol.78, №3. – P.1185-1189.

6. Lind J., Merenyi G., Eriksen T.E. Chemiluminescence mechanism of cyclic hydrazides such as luminol in aqueous solutions // J. Amer. Chem. Soc. – 1983. – Vol.105, №26. – P.7655-7661.

7. Wierrani F., Kubin A., Loew H.G., Henry M., Spängler B., Bodner K., Grünberger W., Ebermann R., Alth G. Photodynamic action of some sensitizers by photooxidation of luminol // Naturwissenschaften. – 2002. – Vol.89, №10. – P.466-469.

8. Wentworth P., Jones L.H., Wentworth A.D., Zhu X., Larsen N.A., Wilson I.A., Xu X., Goddard III W.A., Janda K.D., Eschenmoser A., Lerner R.A. Antibody catalysis of the oxidation of water (supplementary material) // Science. – 2001. – Vol.293, №5536. – P.1806-1811.

9. *Tsigdinos G.A., Hallada C.J. Molybdovanadophosphoric acids and their salts. I. Investigation of methods of preparation and characterization // Inorg. Chem. – 1968. – Vol.7, №3. – P.437-441*

© О. Зуй, В. Зайцев, Н. Кривохижа, О. Манойленко