

УДК 544.51

## ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЕ РЕАКЦИИ ЛЮМИНОЛА И N-ОКТИЛЛЮМИНОЛА С ГИПОХЛОРИТОМ В АНИОННЫХ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВАХ

Т.В. Янькова<sup>1\*</sup>, П.В. Мельников<sup>2</sup>, Н.К. Зайцев<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, химический факультет, кафедра химической кинетики; <sup>2</sup>Российский технологический университет (МИРЭА); \*e-mail: yankovatatyana@yandex.ru)

Проведено сравнительное исследование кинетики хемилюминесцентной реакции люминола, локализующегося в водной фазе, и его гидрофобного аналога – N-октиллюминола, локализующегося в мицеллярной фазе, с гипохлорит-ионом в анионных мицеллах додецилсульфата натрия при разных концентрациях ПАВ. Определена зависимость константы скорости накопления и гибели промежуточного продукта от наличия и концентрации ПАВ в реакционной смеси.

**Ключевые слова:** хемилюминесценция, люминол, ПАВ, мицеллы, константа скорости.

Хемилюминесцентная реакция люминола широко используется в аналитических целях [1–5]. Многие реальные объекты биохимических анализов зачастую содержат поверхностно-активные компоненты биологических мембран [6], однако их влияние на хемилюминесцентную реакцию люминола систематически не изучалось. В связи с этим возникает необходимость исследовать хемилюминесцентную реакцию в мицеллярных, везикулярных и других организованных молекулярных системах, моделирующих биологические мембраны. Мицеллярная среда может дать дополнительную возможность управления хемилюминесцентными реакциями, прежде всего, для повышения их эффективности.

Литературные сведения о хемилюминесцентных реакциях в организованных молекулярных системах носят отрывочный характер, отмечено, например, влияние на них микрогетерогенности. Так, в работе [7] при исследовании окисления люцигина в ламеллярных и везикулярных агрегатах обнаружено повышение квантового выхода хемилюминесценции по сравнению с гомогенным раствором. В отдельных случаях переход к микрогетерогенной системе оказывает влияние на механизм хемилюминесцентной реакции. В частности, при проведении реакции 10,10'-диметил-9,9'-биакридиния нитрата со щелочью и пероксидом водорода в мицеллярной среде не только происходит повышение квантовой эффективности процесса, но появляется также излучение от первичного эмиттера [8], что можно объяснить эффектом компартиментализации и его влиянием на процес-

сы передачи энергии в системе. Использование поверхностно-активных веществ (ПАВ) позволяет совмещать гидрофобные и гидрофильные реагенты. Например, использование цетилтриметиламмоний бромида позволило реализовать хемилюминесцентную реакцию в системе люминол – перманганат – L-тироксин [9].

В работах [10–12] проведены исследования химических выходов продуктов реакции для хемилюминесцентных систем, основанных на люминоле [10], лопине [11] и производных люцигина [12] в присутствии поверхностно-активных веществ.

Использование ПАВ в хемилюминесцентных реакциях люцигина позволило улучшить методики определения витаминов С и Р [13], никотина [14], эстрогена [15], холестерина [16] и фактора активации тромбоцитов [17] за счет увеличения интенсивности хемилюминесценции. В работе [18] для повышения квантового выхода хемилюминесцентной реакции окисления люминола использовали флуоресцеин в качестве акцептора энергии. Перенос энергии к флуоресцеину приводит к десятикратному повышению интенсивности люминесценции в мицеллярных системах (по сравнению с системами без флуоресцеина) за счет концентрирования донора и акцептора энергии в катионных мицеллах. Для повышения эффективности переноса энергии между донором и акцептором энергии в мицеллах авторы [19] модифицировали изолюминол и флуоресцеин нонильным фрагментом, способствующим их концентрированию в мицеллах, и добились

увеличения квантового выхода хемилюминесценции в 12 раз. В работе [20] установлено, что при добавлении ПАВ к хемилюминесцентной системе люминол – пероксид водорода при критической концентрации мицеллообразования (ККМ) наблюдается аномальное повышение интенсивности хемилюминесценции. При подборе буферных растворов (отдельно для каждого ПАВ) авторы смогли определить ККМ для ЦТАБ, бромид цетилпиридиния, додецилсульфата натрия и эфира додецилового спирта с полиоксиэтиленом.

К сожалению, в литературе нет детального исследования влияния перехода к мицеллярным и другим организованным молекулярным системам на кинетику хемилюминесцентных реакций. В связи с этим мы провели сравнительное исследование кинетики хемилюминесцентной реакции люминола, локализуемого в водной фазе [21], и его гидрофобного аналога N-октиллюминола, локализуемого в мицеллярной фазе, с гипохлорит-ионом в анионных мицеллах додецилсульфата натрия при разных концентрациях ПАВ. В результате было установлено влияние локализации реагентов в мицеллах на кинетику хемилюминесцентных реакций.

### Экспериментальная часть

**Реагенты.** В работе использовали люминол  $C_8H_7N_3O_2$  (98,8%, «Applichem», США) без дополнительной очистки.

N-октиллюминол  $C_{16}H_{23}N_3O_2$  синтезировали по следующей методике. К суспензии люминола (0,500 г; 2,82 ммоль) в диметилформамиде (20 мл) при перемешивании добавляли октил бромистый (13,615 г; 70,50 ммоль). Реакционную массу кипятили в течение 10 ч. Через 30 мин после начала кипения образовался раствор. В реакционную массу выливали 50 мл петролейного эфира и 50 мл воды, охлаждали до 4 °С, отфильтровывали, промывали петролевым и диэтиловым эфиром, а затем высушивали в вакуумном эксикаторе над  $P_2O_5$ . Получали твердый продукт желтого цвета, представляющий собой смесь исходного субстрата и продукта моноалкилирования, который экстрагировали кипящим толуолом. Суспензию отфильтровывали, маточный раствор охлаждали до –10 °С в течение 12 ч, осадок отфильтровывали, промывали охлажденным толуолом и высушивали в вакуумном эксикаторе над  $P_2O_5$ . Выход N-октиллюминола составил 31%. Спектр  $^1H$  ЯМР,  $\delta$ , м.д.: 11.21 (2H, уш. с, NH–NH), 9.02 (1H, т, 3 J = 5,1 Гц, NH–CH<sub>2</sub>), 7.55 (1H, т, 3 J = 8.1 Гц, ArH, HA в ABC), 6.95 (1H, д., 3 J = 8.0 Гц, ArH), 6.80 (1H, д, 3 J = 8.3 Гц, ArH), 3.15

(2H, к, NH–CH<sub>2</sub>–CH<sub>2</sub>), 1.62 (2H, п, CH<sub>2</sub>–CH<sub>2</sub>–CH<sub>2</sub>), 1.30 (10H, м.), 0.85 (3H, т, CH<sub>2</sub>–CH<sub>3</sub>).

Натрия гидроксид (NaOH, «х.ч.», «ЛенРеактив», Россия), 3,25%-й гипохлоран-3 (NaClO, «Omega dent», Россия), 98,5%-й додецилсульфат натрия ( $C_{12}H_{25}NaO_4S$ , «Sigma-Aldrich», Япония) использовали без дополнительной очистки. Деионизированную воду получали, пропуская дистиллированную воду через стеклянную хроматографическую колонку, содержащую катионит КУ-2-8чС в водородной ( $H^+$ ) форме и анионит АВ-17-8чС в гидроксильной ( $OH^-$ ) форме в соотношении соответственно 1:1,3. Качество воды контролировали с помощью кондуктометра «Эксперт-002» («Эконикс-Эксперт», Россия) с датчиком наливного типа. Удельное сопротивление использованной деионизированной воды составляло не менее 18 МОм·см.

**Методика измерения.** Для измерения хемилюминесценции использовали экспериментальный образец хемилюминометра («Эконикс-Эксперт», Россия), снабженный четырьмя датчиками (показания которых суммируются), расположенными в разных положениях относительно ячейки.

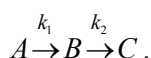
В ячейку, представляющую собою прозрачную стеклянную пробирку в фотоприемной камере хемилюминометра, помещали 0,25 мл гипохлорита (0,0004 М для раствора N-октиллюминола и 0,0005 М для раствора люминола) и в режиме счета числа квантов вносили щелочной раствор субстрата путем прокалывания резиновой мембраны шприцевой иглой. Раствор субстрата состоял из 0,001 М люминола и 0,1 М гидроксида натрия (для люминола) и 0,001 М N-октиллюминола и 0,1 М гидроксида натрия (для N-октиллюминола).

При проведении экспериментов в мицеллярных растворах навеску ПАВ вносили в растворы люминола и N-октиллюминола. Результат исследования регистрировали в виде кинетической кривой хемилюминесценции в координатах «Максимальная интенсивность (усл. ед.) – время» с разрешением 0,2 с. Максимальное значение интенсивности определяли по высоте пика на кинетической кривой хемилюминесценции, интегральную интенсивность – путем интегрирования полученной кинетической зависимости. Величина ККМ для додецилсульфата натрия в присутствии 0,1 М NaOH, определенная нами методом отрыва кольца на тензомере К9 (США), составила  $5,0 \cdot 10^{-4}$  моль/л, в то время как в нейтральном водном растворе этот показатель составляет  $8,3 \cdot 10^{-3}$  моль/л.

### Результаты и их обсуждение

Типичная экспериментальная кинетическая зависимость для хемилюминесцентной реакции люминола с гипохлоритом и ее полулогарифмическая анаморфоза приведены на рис. 1. Для N-октиллюминола регистрируемые зависимости имеют аналогичный вид. До введения реагентов в ячейку устанавливают фоновую интенсивность света, не превышающую 100 квант/с. После введения в реакционную ячейку реагента наблюдается возрастание интенсивности хемилюминесценции, регистрируемое всеми датчиками. По истечении первых 5 с зависимости интенсивности хемилюминесценции, измеренной на всех четырех датчиках, от времени становятся подобными, что свидетельствует о завершении процесса смешения реагентов.

Форма кинетических кривых соответствует появлению и гибели промежуточного продукта в последовательной реакции типа



Из литературы [5] известно, что окисление люминола в щелочной среде гипохлорит-ионом протекает по нижеприведенной схеме. В работе [20] показано, что процесс окисления люминола – процесс одноэлектронный, протекающий до аминокеталевой кислоты. Из электрохимических данных [20] определены следующие показатели:

стандартный потенциал окисления люминола

$$E^0 = 0,55 \text{ В (относительно НВЭ)},$$

стандартный потенциал восстановления гипохлорита

$$E^0 = 0,88 \text{ В (относительно НВЭ)}.$$

Это обуславливает окисление люминола гипохлоритом с образованием возбужденной молекулы аминокеталевой кислоты, которая, в свою очередь, высвечивает квант света, поэтому продукт *B* соответствует, скорее всего, окисленной форме люминола (схема).

Константу скорости  $k_2$  определяли по тангенсу угла наклона кинетической зависимости, спрямленной в полулогарифмических координатах (рис. 1, б). Константу скорости  $k_1$  рассчитывали по формуле для последовательных реакций:

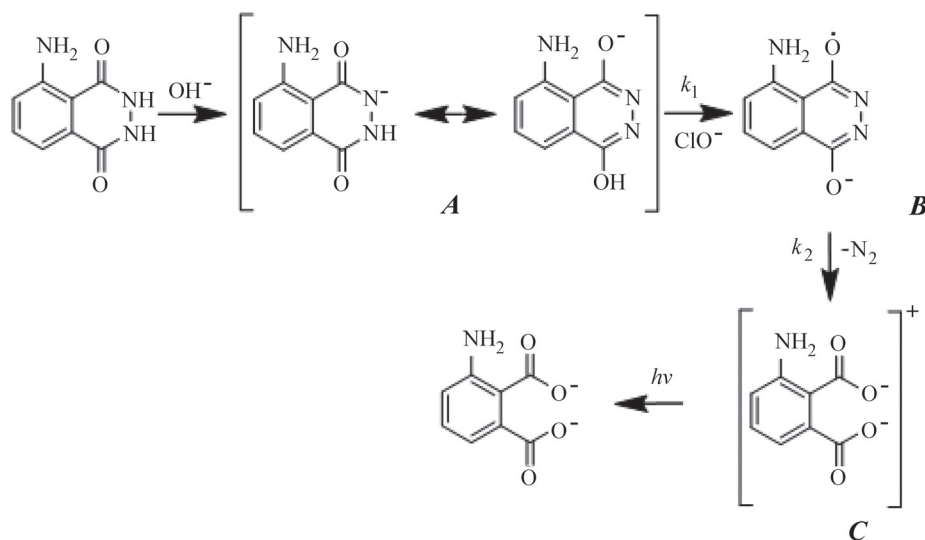
$$t_{\max} = \frac{\ln\left(\frac{k_2}{k_1}\right)}{k_2 - k_1},$$

где  $k_1$  – константа скорости накопления промежуточного продукта,  $k_2$  – константа скорости гибели промежуточного продукта,  $t_{\max}$  – время выхода кривой на максимум.

Определенные таким образом значения  $k_1$  и  $k_2$  для реакций люминола и N-октиллюминола с гипохлоритом в гомогенном водном растворе в присутствии додецилсульфата натрия приведены в табл. 1 и табл. 2 соответственно. Константы скорости  $k_1$  и  $k_2$  определяли на участках кинетических кривых после завершения процесса смешения реагентов. С помощью полученных констант проводили моделирование кинетических зависимостей. Моделированные кинетические зависимости совпадают с экспериментальными, следовательно, кинетические зависимости удовлетворительно описываются двухэкспоненциальной зависимостью.

Из данных, приведенных в табл. 1, видно, что зависимость максимальной интенсивности

С х е м а



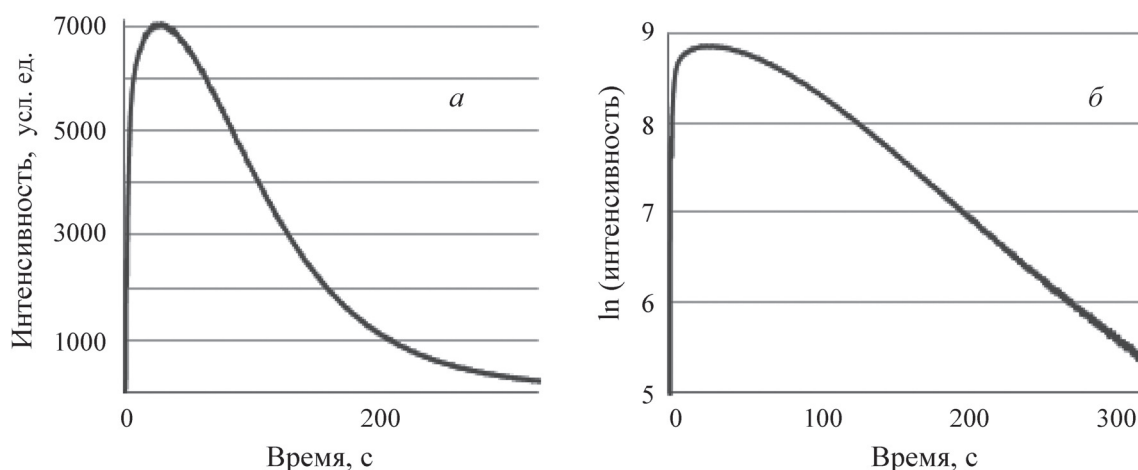


Рис. 1. Типичная кинетика хемилюминесценции в реакции люминола с гипохлоритом (а) и ее полулогарифмическая анаморфоза (б)

Т а б л и ц а 1

**Кинетические параметры хемилюминесцентной реакции люминола и N-октиллюминола в водном растворе**

Люминол				N-октиллюминол			
[ClO <sup>-</sup> ], М	k <sub>1</sub> , 1/с	k <sub>2</sub> , 1/с	максимальная интенсивность хемилюминесценции	[ClO <sup>-</sup> ], М	k <sub>1</sub> , 1/с	k <sub>2</sub> , 1/с	максимальная интенсивность хемилюминесценции
0,0002	0,058	0,0107	6800	0,00007		0,0063	900
0,0004	0,064	0,0133	21200	0,00010	0,007	0,0036	2300
0,0006	0,116	0,0156	39700	0,00020	0,020	0,0049	11800
0,0008	0,230	0,0178	53800	0,00040	0,067	0,0061	16900

Т а б л и ц а 2

**Кинетические параметры хемилюминесцентной реакции люминола и N-октиллюминола в присутствии различных концентраций додецилсульфата натрия**

C <sub>АПДВ</sub>	Люминол			N-октиллюминол		
	k <sub>1</sub> , 1/с	k <sub>2</sub> , 1/с	максимальная интенсивность хемилюминесценции	k <sub>1</sub> , 1/с	k <sub>2</sub> , 1/с	максимальная интенсивность хемилюминесценции
0	0,090	0,0145	30400	0,067	0,0060	16900
0,0001	0,082	0,0107	17500	0,343	0,0113	25200
0,0002	0,056	0,0101	16800	0,383	0,0116	28900
0,0004	0,045	0,0098	19200	0,628	0,0120	31100
0,0005	0,064	0,0104	21800	0,473	0,0122	32800
0,0006	0,053	0,0106	16700	0,560	0,0125	33500
0,0008	0,069	0,0113	29700	0,540	0,0127	31200
0,0010	0,080	0,0128	29700	0,435	0,0125	28500
0,0015	0,054	0,0126	22400	0,470	0,0128	30300
0,0020	0,060	0,0120	27000	0,483	0,0122	28300

хемилюминесценции люминола от концентрации гипохлорита в гомогенном водном растворе линейна.

Зависимость константы скорости накопления промежуточного продукта  $k_1$  для люминола и N-октиллюминола в водном растворе в пределах точности эксперимента прямо пропорциональна концентрации гипохлорита, что свидетельствует о псевдомономолекулярном характере этой величины и позволяет определить бимолекулярную константу скорости реакции гипохлорита с люминолом и N-октиллюминолом. Этот показатель оказался равным  $2,6 \cdot 10^2$  и  $2,1 \cdot 10^2$  л/моль·с соответственно.

В отсутствие АПАВ (рис. 2) величина  $k_1$  для люминола значительно меньше соответствующего значения для N-октиллюминола. При увеличении концентрации АПАВ величина  $k_1$  люминола проходит через два максимума при  $5 \cdot 10^{-4}$  М (соответствует ККМ) и  $1 \cdot 10^{-3}$  М. Для N-октиллюминола аналогичная зависимость также имеет два максимума, однако они находятся в областях концентрации АПАВ, меньших  $5 \cdot 10^{-4}$  и  $1 \cdot 10^{-3}$  М. Такое различие может быть обусловлено тем, что присутствие N-октиллюминола оказывает влияние на текущее значение ККМ за счет встраивания N-октиллюминола в мицеллу додецилсульфата натрия, так как N-октиллюминол сам является поверхностно-активным веществом. Причина возрастания константы скорости окислительно-восстановительной реакции между люминолами и

гипохлорит-ионом остается пока неясной, однако можно утверждать, что возрастание интегральной интенсивности хемилюминесценции, наблюдавшееся ранее [10, 20], связано с ростом скорости образования промежуточного продукта вблизи ККМ, который в дальнейшем проявляет себя как источник электронно-возбужденных молекул.

В хемилюминесцентных системах люминол – гипохлорит и N-октиллюминол – гипохлорит зависимости величин  $k_2$  от концентрации АПАВ носят разный характер. В случае люминола величина  $k_2$  вначале падает, но при дальнейшем повышении концентрации АПАВ наблюдается ее рост, и при достижении концентрации  $1 \cdot 10^{-3}$  М она выходит на плато (рис. 3). Для N-октиллюминола величина  $k_2$  изначально существенно меньше, с ростом концентрации АПАВ ее значение возрастает и выходит на плато при  $[АПАВ] \approx 1 \cdot 10^{-3}$  М. Такой характер зависимостей можно объяснить тем, что при  $[АПАВ] < 1 \cdot 10^{-3}$  М промежуточный продукт образуется в разных условиях (внутри и вне мицелл), однако при достижении концентрации  $1 \cdot 10^{-3}$  М процесс его образования практически полностью осуществляется в мицеллах, где микроокружение промежуточного продукта для изучаемых люминофоров становится схожим, определяя близкие величины констант скорости гибели промежуточного продукта.

Таким образом, показано, что процессы нарастания и затухания хемилюминесценции люминола и N-октиллюминола удовлетворительно

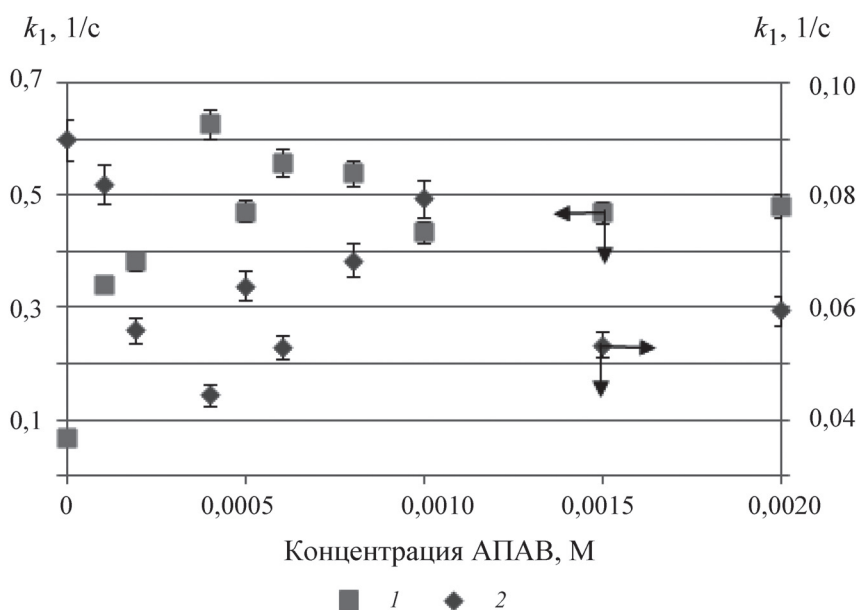


Рис. 2. Зависимость величины  $k_1$  от концентрации АПАВ для N-октиллюминола (1) и люминола (2)

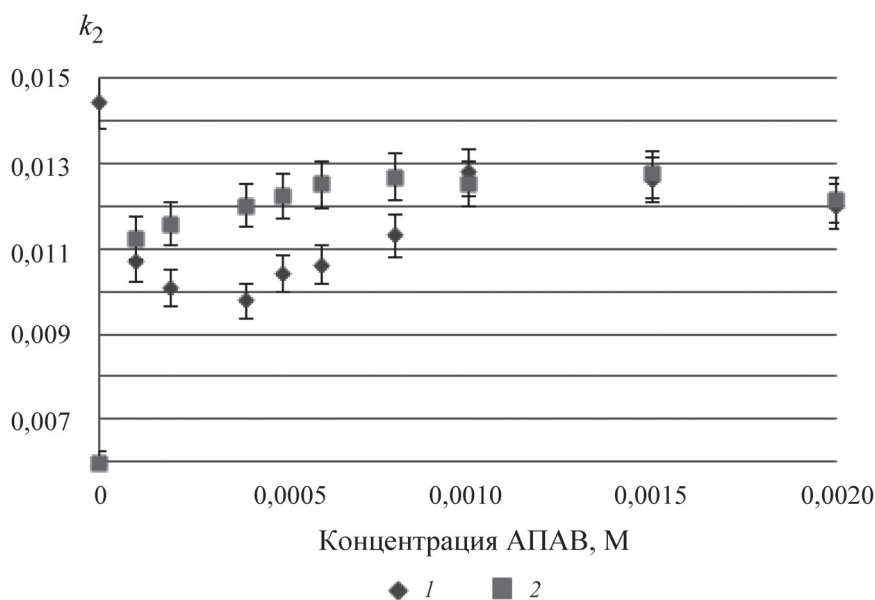


Рис. 3. Зависимость  $k_2$  от концентрации АПАВ для люминола (1) и N-октиллюминола (2)

описывается двухэкспоненциальной зависимостью, причем эффективная константа скорости нарастания интенсивности хемилюминесценции прямо пропорциональна концентрации гипохлорит-иона. Константа скорости  $k_1$  зависит от концентрации АПАВ. В случае люминола константа скорости  $k_1$  проходит через два локальных максимума при концентрациях АПАВ, равных  $5 \cdot 10^{-4}$  и  $1,0 \cdot 10^{-3}$  М. Вероятно, это связано со специфической ассоциацией молекул и ионов в области ККМ, увеличивающей эффективную локальную концентрацию реагентов. При хемилюминесценции N-октиллюминола константа скорости  $k_1$  также проходит два локальных максимума, но они сдвигаются в область меньших концентраций АПАВ за счет встраивания N-октиллюминола в мицеллы додецилсульфата натрия с соответствующим уменьшением эффективного значения ККМ.

Константа скорости  $k_2$  для люминола уменьшается, а для N-октиллюминола возрастает при

увеличении концентрации АПАВ, причем при  $[АПАВ] \approx 1 \cdot 10^{-3}$  М они принимают практически одно и то же значение. Вероятно, при  $[АПАВ] < 1 \cdot 10^{-3}$  М промежуточный продукт в случае люминола образуется в водной фазе, а в случае N-октиллюминола – внутри глобул собственных мицелл N-октиллюминола. Однако при достижении  $[АПАВ] = 1 \cdot 10^{-3}$  М промежуточные продукты реакции окисления как люминола, так и N-октиллюминола сольбилизируются в одни и те же мицеллы додецилсульфата натрия, в результате чего их микроокружение становится сходным и константы скорости гибели промежуточного продукта реакции становятся приблизительно равными для обоих субстратов.

Авторы выражают глубокую благодарность Михаилу Яковлевичу Мельникову за ценные советы и рекомендации по оформлению статьи.

Работа выполнена при поддержке гранта Российского фонда фундаментальных исследований «Хемилюминесцентные реакции в организованных молекулярных системах» (проект № 16-03-00722).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Marquette Ch.A., Blum L.J. // Anal. Bioanal. Chem. 2006. Vol. 385. P. 546.
2. García-Campaña A.M., Baeyens W.R.G., Cuadros-Rodríguez L., Alés Barrero F., Bosque-Sendra J.M., Gámiz-Gracial L. // Curr. Org. Chem. 2002. Vol. 6. P. 1.
3. Tsaplev Yu.B. // J. Anal. Chem. 2012. Vol. 67. N 6. P. 506.
4. Iranifam M. // J. Lumin. 2013. Vol. 28. N 23. P. 798.
5. Yamaguchi M., Yoshida H., Nohta H. // J. Chromatogr. A. 2002. Vol. 950. P. 1.
6. Meng L., Zi-Yue W., Chun-Yang Z. // Chin. J. Anal. Chem. 2016. Vol. 44. N 12. P. 1934.
7. Varveri F.S., Mantaka-Marketou A.E., Vassilopoulos G., Nikokavouras J. // Monatsh. Chem. 1988. Vol. 119. P. 703.
8. Paleos C.M., Vassilopoulos G., Nikokavouras J. // J. Photochem. 1982. Vol. 18. P. 327.

9. Cao J., Wang H., Liu Y. // Spectrochim. Acta A. 2015. Vol. 140. P. 162.
10. Hadjianestis J., Nikokavouras J. // J. Photochem. Photobiol. A.: Chem. 1992. Vol. 67. P. 237.
11. Boyatzis S., Nikokavouras J. // J. Photochem. Photobiol. A.: Chem. 1993. Vol. 74. P. 65.
12. Papadopoulos K., Spartalis S., Nikokavouras J. // Anal. Chim. Acta. 1994. Vol. 290. P. 179.
13. Nikokavouras J., Vassilopoulos G. // Monatsh. Chem. 1983. Vol. 114. P. 255.
14. Nikokavouras J., Vassilopoulos G. // Monatsh. Chem. 1984. Vol. 115. P. 437.
15. Mantaka-Marketou A.E., Vassilopoulos G., Nikokavouras J. // Monatsh. Chem. 1985. Vol. 116. P. 973.
16. Varveri F.S., Mantaka-Marketou A.E., Nikokavouras J. // Mol. Cryst. Liq. Cryst. 1990. Vol. 187. P. 315.
17. Varveri F.S., Mantaka-Marketou A.E., Papadopoulos K., Nikokavouras J. // J. Photochem. Photobiol. A.: Chem. 1992. Vol. 66. P. 113.
18. Nikokavouras J. // J. Photochem. Photobiol. A.: Chem. 1993. Vol. 69. P. 337.
19. Papadopoulos K., Chantron A., Nikokavouras J., Hrbac J., Lasovsky J. // J. Photochem. Photobiol. A.: Chem. 1998. Vol. 116. P. 153.
20. Yildiz G., Tasdoven U., Menek N. // Anal. Methods. 2014. Vol. 6. P. 7809.
21. Янькова Т.В. // Мат-лы Междунар. молодежного научного форума «Ломоносов-2018». Секция «Инновации в химии». М., 2018. С. 904.

Поступила в редакцию 12.11.2018  
 Получена после доработки 20.11.2018  
 Принята к публикации 15.12.2018

## CHEMILUMINESCENT REACTIONS OF LUMINOL AND N-OCTYL LUMINOL WITH HYPOCHLORITE IN ANIONIC SURFACTANTS

T.V. Yankova<sup>1\*</sup>, P.V. Melnikov<sup>2</sup>, N.K. Zaytsev<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>Lomonosov Moscow State University, Faculty of Chemistry, Department of Chemical Kinetics; <sup>2</sup>Russian Technological University: \*e-mail: yankovatyana@yandex.ru)

**A comparative study of the chemiluminescent reaction kinetics of luminol, which is localized in the aqueous phase, and its hydrophobic analogue, N-octylluminol, which is localized in the micellar phase, was carried out with the hypochlorite ion at various concentrations of sodium dodecyl sulfate anionic micelles. The dependence of the intermediate product concentration increase and decrease rates on the presence and concentration of surfactant in the reaction mixture was determined.**

**Key words:** chemiluminescence, luminol, surfactant, micelles, rate constant.

**Сведения об авторах:** Янькова Татьяна Вячеславовна – аспирант кафедры химической кинетики химического факультета МГУ (yankovatyana@yandex.ru); Мельников Павел Валентинович – доцент кафедры физической химии института тонких химических технологий РТУ МИРЭА, канд. физ.-матем. наук (melnikovsoft@mail.ru); Зайцев Николай Конкордиевич – зав. кафедры энергетических технологий, систем и установок института тонких химических технологий РТУ МИРЭА, докт. хим. наук (nk\_zaytsev@mail.ru).