

JANUSZ SŁAWIŃSKI

ZASTOSOWANIE CHEMILUMINESCENCJI W FAZIE CIEKŁEJ  
DO ANALIZY GLEB. CZĘŚĆ I. WPŁYW WYCIĄGÓW Z GLEB NA  
CHEMILUMINESCENCJĘ WSKAŹNIKÓW ALKACYMETRYCZNYCH

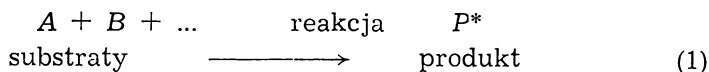
Katedra Chemii Ogólnej WSR Szczecin

Chemiluminiscencja (*ChL*) w fazie ciekłej znajduje w ostatnich latach coraz szersze zastosowanie analityczne [1—5]. Dotychczas jednak nie podjęto badań mających na celu wykorzystanie jej do analizy gleb, chociaż można się spodziewać, że możliwości w tym zakresie są duże. Praca niniejsza stanowi pierwszą próbę wykorzystania *ChL* do analizy gleb i dlatego wydaje się wskazane podanie elementarnych wiadomości na temat wskaźników chemiluminescencyjnych.

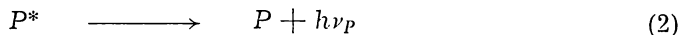
*ChL* nazywamy promieniowanie elektromagnetyczne towarzyszące reakcjom chemicznym. Zawarte może być ono w UV, widzialnym oraz podczerwonym zakresie widma. Do celów analitycznych wykorzystuje się najczęściej *ChL* widzialną, tj. o długości fal 400—7800 Å i dostatecznie dużym natężeniu.

Proces *ChL* podzielić można na dwa stadia:

— stadium wzbudzenia (chemiczne), w którym w wyniku reakcji substratów *A*, *B*... tworzy się wzbudzony produkt  $P^*$



— stadium luminescencji (fizyczne):

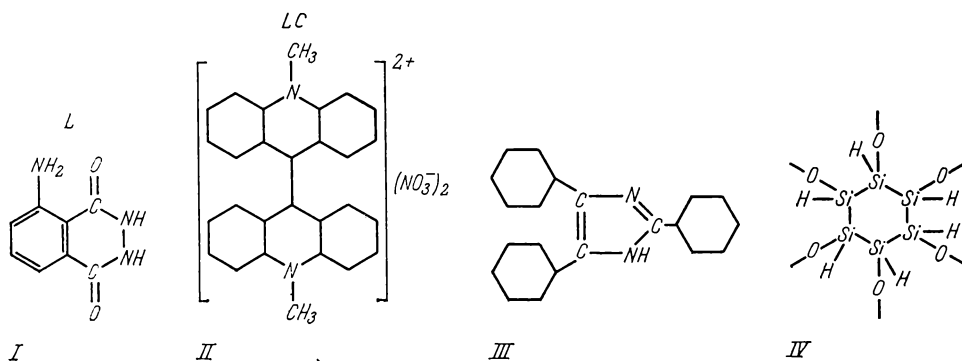


W większości przypadków *ChL* uwarunkowana jest obecnością dwóch substratów — utleniacza i chemiluminoforu. Najczęściej stosowanym utleniaczem w fazie ciekłej jest  $H_2O_2$  lub  $O_2$ . Chemiluminoforami są zazwyczaj związki organiczne, mające słabo związane atomy wodoru.

Związki te utleniają się poprzez pośrednie stadium wolnych rodników (semichinonów) do związków karbonylowych i  $O_2$ , znajdujących się we wzbudzonych elektronowo stanach singletowych *S* lub tripletowych *T* — stadium (1). Dezaktywacja promienista z tych stanów do stanu podstawowego *S* (lub *T* w przypadku  $O_2$ ) manifestuje się jako *ChL* — stadium (2).

Niektóre chemiluminofoery odznaczają się zdolnością do szczególnie silnego świecenia i stosowane są w analizie miareczkowej jako wskaźniki. Do najważniejszych należą:

- hydrazyd kwasu 5-aminoftalowego, tzw. luminol — *L*,
- dwuazotan N, N'-dwumetylo 9,9'-dzuakrydyny, tzw. lucygenina — *LC*,
- 2, 4, 5-trójfenyloimidazol, tzw. lofina — *III*,
- siloksen — *IV*.



Zastosowanie chemiluminoforów jako wskaźników w analizie miareczkowej polega na tym, że podlegają one reakcjom warunkującym luminescencję tylko w określonych warunkach, a mianowicie w określonym pH i potencjale oksydacyjno-redukcyjnym. Jeżeli warunki, w jakich zaczyna się świecenie (lub wygasa), odpowiadają warunkom punktu końcowego miareczkowania *PK*, to moment zaświecenia (lub wygaśnięcia) wskazuje na koniec miareczkowania. Wartość pH lub potencjału oksydacyjno-redukcyjnego, dla której roztwór zawierający wskaźnik zaczyna dostrzegalnie świecić (lub wygasać), nazywamy wykładnikiem mianowania *WM*.

Szczególne znaczenie mają wskaźniki chemiluminescencyjne w analizie produktów rolniczych i przetworów przemysłu rolno-spożywczego oraz w analizie materiału biologicznego, tj. w przypadku miareczkowania roztworów silnie zabarwionych lub mętnych. Umożliwiają one wyraźne uchwycenie *PK* miareczkowania poprzez obserwację w ciemni pojawia-

nia się lub zaniku promieniowania. Wskaźniki te mogą być również zastosowane do takich miareczkowań, które dotychczas nie były możliwe z powodu tworzenia się przeszkadzających produktów reakcji. Warto zaznaczyć, że podczas miareczkowań chemiluminescencyjnych, w przeciwieństwie do pomiarów potencjometrycznych lub konduktometrycznych, nie wprowadza się do badanego roztworu jakiegokolwiek przyrządu pomiarowego. Porównanie wskaźników fluorescencyjnych z chemiluminescencyjnymi wykazuje pewne zalety tych ostatnich. Mianowicie nie jest potrzebne zewnętrzne źródło światła, ponadto wiele jonów silniej wygasza promieniowanie fluorescencyjne od chemiluminescencyjnego.

W przypadku miareczkowania wyciągów glebowych mętnych lub zabarwionych, np. kwasami huminowymi, jonami  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Ti}^{3+}$  uchwycenie *PK* miareczkowania wobec wskaźników barwnych sprawia duże trudności i jest mało precyzyjne. Można przypuszczać, że zastosowanie wskaźników chemiluminescencyjnych ułatwi w tych warunkach wykonywanie oznaczeń i zwiększy ich dokładność. Próby opracowania konkretnych metod muszą być jednak poprzedzone badaniami wstępnymi. Wynika to z faktu, że związki obecne w roztworze reagującym mogą wpływać na (1) lub (2) stadium *ChL* bądź zmieniając [ $P^*$ ], bądź też prawdopodobieństwo dezaktywacji świetlnej wzbudzonego produktu  $P^*$ . Spośród substancji zawartych w wyciągach z gleb jony i zole wodorotlenków metali ciężkich, np.  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Mn}^{3+}$ ,  $^{4+}$ ,  $\text{Ti}^{3+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$  mogą katalizować utlenianie chemiluminoforów oraz rozkład  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Fenole, aminy aromatyczne, garbniki i prawdopodobnie związki humusowe mogą być inhibitorami reakcji wolnorodnikowych, warunkujących *ChL*. Nie można jednak przewidzieć a priori wypadkowego działania na *ChL* tak złożonych układów, jakimi są wyciągi z gleby.

Dlatego konieczne jest wykonanie badań wstępnych, które określiłyby, czy i w jakim stopniu wyciągi wodne z gleb wpływają na *ChL* wskaźników. Kryterium przydatności wskaźników jest wielkość zmian składu widmowego  $I = f(\lambda)$ , wykładników mianowania *WM* oraz natężenia *I* chemiluminescencji pod wpływem wyciągów z gleb. W pracy niniejszej badane są te trzy wielkości dla kilku wskaźników chemiluminescencyjnych, stosowanych w alkaometrii [2, 4, 6].

#### MATERIAŁ GLEBOWY I METODYKA BADAŃ

Do badań użyto trzech rodzajów gleby: I — piasek luźny z poziomu iluwiального z wyspy Wolin, II — ił z miejscowości Brzeziny, położonej w obrębie czarnych ziem przyrzyckich, III — torf przejściowy z Reptowa

o stopniu rozkładu 8 w skali von Poste. Charakterystyka tych gleb podana jest w tab. 1.

Analizy fizyczne i chemiczne wykonano w Katedrze Gleboznawstwa WSR w Szczecinie. Z każdego rodzaju gleby sporządzono po trzy wyciągi: wodny, 0,1n HCl i 0,01n NaOH biorąc 50 ml roztworu na każde 10 g powietrznie suchej gleby, przesianej przez sito o średnicy oczek 1 mm.

T a b e l a 1

Własności fizyczne i chemiczne gleb  
Physical and chemical soil properties

Gleba - Soil Własności - Properties	I Piasek luźny Loose sand	II Ił Clay	III Torf przejściowy Transitional peat
Miejscowość - Locality	Wolin	Brzeziny	Reptowo
Głębokość - Depth cm	55-110	120-130	30-45
Skład mechaniczny Mechanical composition %			
> 1	0,00	0,00	
1 - 0,5	0,08	} 6,00	
0,5 - 0,25	1,65		
0,25 - 0,1	86,27		
0,1 - 0	8,00		2,00
0,05-0,02	1,00	11,00	
< 0,02 mm	3,00	81,00	
Substancja organiczna 600°C Organic matter %	0,75	-	
pH <sub>H<sub>2</sub>O</sub>	5,4	8,0	5,8
pH <sub>KCl</sub>	4,5	7,5	5,3
Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> ogółem - total %	0,71	1,95	1,08
CaCO <sub>3</sub> %	-	21,50	0,27
Popielność - Ashiness %	-	-	15,80

W celu zbadania wpływu substancji zawartych w wyciągach z gleb na  $I = f(\lambda)$ , WM i I ChL wykonano pomiary kontrolne bez wyciągów z gleb oraz pomiary właściwe — z wyciągami. Do pomiarów kontrolnych użyto roztworów: 2 ml 1/15m KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> + wskaźnik ChL + woda desty-

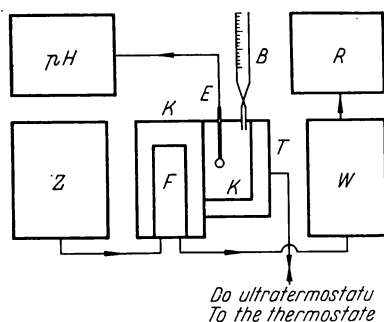
lowana do 50 ml. W pomiarach właściwych stosowano również 2 ml buforu  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , wskaźnik oraz 40 ml ekstraktu z gleby + woda destylowana do 50 ml. Brano 3 wskaźniki *ChL* stosowane do wyznaczania *PK* miareczkowań alkacymetrycznych: luminol *L*, lucygeninę *LC* i pirogalol *PG*. Stężenia układów świecących w m/l w roztworze przed miareczkowaniem były następujące:

$$3 \cdot 10^{-6}L; 1,5 \cdot 10^{-2}\text{H}_2\text{O}_2; 6 \cdot 10^{-4}\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6;$$

$$4 \cdot 10^{-7}LC; 1,1 \cdot 10^{-2}\text{H}_2\text{O}_2;$$

$$1 \cdot 10^{-4}PG; 1,8 \cdot 10^{-1}\text{H}_2\text{O}_2; 9 \cdot 10^{-2}\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6.$$

Natężenie promieniowania *I* oraz pH roztworu mierzono równocześnie za pomocą aparatury, której schemat blokowy podano na rys. 1. Do kuwety *K* wprowadzono roztwór kontrolny lub właściwy i wlewano do niego ze stałą prędkością 0,1n NaOH lub 0,1n HCl rejestrując za pomocą układu fotometrycznego natężenie *ChL I* oraz za pomocą pehametru pH. Bliższe szczegóły techniczne oraz sposób i warunki wykonywania pomiarów zostały już opisane [5—7]. Każdy pomiar powtarzany był 3 razy. *L* i *PG* są wskaźnikami nieodwracalnymi [2, 3] i dlatego miareczkowanie wyciągów zasadowych z gleb wykonywano jedynie wobec lucygeniny *LC*. W tym przypadku jako *WM* przyjmowano wartość pH, przy której świecenie wygasa.



Rys. 1. Schemat aparatury do rejestracji natężenia chemiluminescencji i wykładników mianowania miareczkowań

Z — stabilizowany zasilacz wysokiego napięcia, P — fotopowielacz RCA 1P 28, K — kuweta lub zlewka, T — płaszcz wodny połączony z ultratermostatem, k — kamera światłoszczelna, E — elektrody: kalomelowa i szklana. W — wzmacniacz, R — rejestrator fotoprądu, B — biureta, pH — pehametr „Radiometer 22 p”

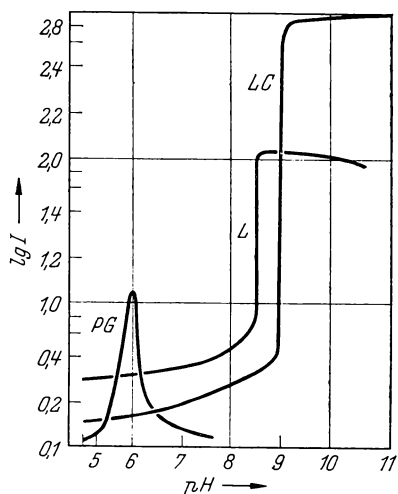
Scheme of apparatus for recording the intensity of chemiluminescence and exponents of titration

Z — stabilised high voltage supply unit, F — photomultiplier RCA 1P 28, K — emission cell or vessel, T — thermostat coating with water, k — dark camera, E — calomel and glass electrodes, W — amplifier, R — recorder, B — biurette, pH — pehameter „Radiometer 22 p”

Wpływ wyciągów z gleb na skład widmowy  $ChL$  ( $I = f(\lambda)$ ) określano obserwując w ciemni barwę świecenia roztworów kontrolnych — bez gleby i właściwych, zawierających wyciągi z gleb.

#### OMÓWIENIE WYNIKÓW

Wpływ substancji zawartych w obojętnych, kwaśnych i zasadowych wyciągach z badanych gleb na skład widmowy  $ChL$  wskaźników okazał się nieznaczny. Barwa świecenia  $L$ ,  $LC$  i  $PG$  była odpowiednio jaskrawoniebieska, niebiesko-zielona i biało-niebiesko-zielona zarówno w obecności ekstraktów z gleb, jak i roztworów kontrolnych. Zmiana barwy odpowiadająca  $\Delta\lambda = 250 \text{ \AA}$  w zakresie długości fal 5000—5800  $\text{Å}$  powoduje zmianę czułości oka ludzkiego o ok. 20%, a detektorów, takich jak fotopowielacze, fotoogniwa lub fotokomórki, o ok. 10%. W  $PK$  miareczkowania  $I$   $ChL$  zmienia się ok. 10 razy pod wpływem 0,01 ml 0,1n NaOH lub HCl (od jednej kropli — por. rys. 2). Podane liczby



Rys. 2. Krzywe miareczkowania alkalimetrycznego dla niektórych wskaźników chemiluminescencyjnych

Curves of alkalimetric titration for some chemiluminescent indicators

wskazują, że ewentualne nieznaczne zmiany składu widmowego  $I = f(\lambda)$   $ChL$  pod wpływem ekstraktów z gleb nie mogą mieć decydującego wpływu na przydatność wskaźników  $ChL$  do wyznaczania  $PK$  miareczkowań alkacymetrycznych.

Na rysunku 2 podane są przykładowo typowe krzywe  $I = f(\text{pH})$ , otrzymane podczas miareczkowań alkalimetrycznych roztworów wodnych poszczególnych wskaźników zbuforowanych 1/15 m  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ . W tabeli 2 zestawiono wykładniki mianowania  $WM$  oraz względne natężenie świecenia  $\frac{I_g}{I_0} \cdot 100$ , otrzymane z krzywych  $I = f(\text{pH})$  w pomiarach kontrolnych (bez gleby) i w pomiarach właściwych (z ekstraktami glebowymi).  $I_0$  oznacza  $I_{ChL}$  bez wyciągu glebowego,  $I_g$  — w obecności wyciągu z gleby.

Tabela 2

Wpływ wyciągów glebowych na wykładniki mianowania ( $WM$ ) i względne natężenie świecenia  $\frac{I_g}{I_0} \cdot 100$  wskaźników chemiluminescencyjnych  
Effect of soil extracts on the exponent of titration ( $WM$ ) and the relative intensity of luminescence  $\frac{I_g}{I_0} \cdot 100$  of chemiluminescence indicators

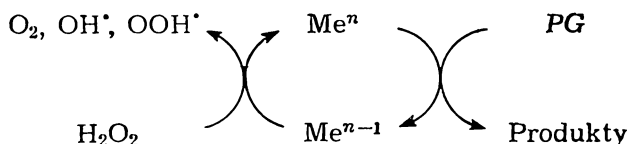
Gleba Soil	Wyciąg Extract	PG		L		LC	
		WM	$\frac{I_g}{I_0} \cdot 100$	WM	$\frac{I_g}{I_0} \cdot 100$	WM	$\frac{I_g}{I_0} \cdot 100$
-	bez gleby without soil	6,0	100,0	8,5	100,0	9,1	100,0
I	H <sub>2</sub> O	6,0	55,5	8,6	62,5	8,9	11,1
	HCl	5,7	71,4	9,3	13,0	10,0	9,3
	NaOH	-	-	-	-	10,0	0,4
II	H <sub>2</sub> O	5,6	60,0	8,5	81,3	9,2	88,8
	HCl	5,7	71,0	6,1	46,2	9,7	23,2
	NaOH	-	-	-	-	9,9	1,4
III	H <sub>2</sub> O	5,8	82,2	8,2	140,6	8,9	15,5
	HCl	5,9	81,0	6,1	25,3	9,0	9,5
	NaOH	-	-	-	-	10,1	4,0

Jak wynika z danych tab. 2, maksymalna zmiana  $WM$  pod wpływem wyciągów z badanych gleb wynosi (w jednostkach pH): dla  $PG$  — 0,4, dla  $L$  — 2,4 i dla  $LC$  — 1.  $WM$  tych wskaźników zawarte są w zakresie pH 5,6—10,1, tzn. przypadają na przedział pH odpowiadający „skokowi” krzywej miareczkowania mocnych kwasów mocnymi zasadami lub odwrotnie, o stężeniu większym od 0,1n. Wynika stąd wniosek, że zmiany  $WM$  spowodowane obojętnymi, kwaśnymi i zasadowymi wyciągami z badanych gleb nie wpływają w sposób istotny na wyniki alkacymetrycznych kwasów lub zasad o stężeniu  $\geq 0,1n$ .

Związki zawarte w obojętnych, kwaśnych i zasadowych wyciągach z gleb powodują gaszenie  $ChL$  stosowanych wskaźników. Przeciętnie najsilniej jest gaszone świecenie  $LC$  (18,1%  $I_0$ ), a najsłabiej  $PG$  (70,2%  $I_0$ ).

Najsilniejsze działanie gaszące wykazują wyciągi NaOH na świecenie *LC* (20%  $I_0$ ) oraz wyciągi HCl na świecenia *L* (45,6%  $I_0$ ). Z badanych gleb ił (II) tłumi w najmniejszym stopniu *ChL* wskaźników (53,1%  $I_0$ ), torf średnio (36,1%  $I_0$ ), a piasek w największym stopniu (15,6%  $I_0$ ).

Działanie gaszące wyciągów z gleb można wyjaśnić na podstawie wiadomości o mechanizmie procesu *ChL*, podanych na wstępie, oraz własności chemicznych wskaźników. Tak na przykład w obecności jonów metali ciężkich, oksydaz lub koloidowych związków nieorganicznych zwiększa się szybkość utleniania *PG* oraz rozkładu  $H_2O_2$ , co można ująć schematycznie [8]:



Powoduje to szybsze nagromadzenie produktów utleniania *PG*, niezbędnych do przebiegu reakcji świecącej, wskutek czego wykładnik mianowania *WM* przesuwa się w kierunku niższych wartości pH. Równocześnie zmniejsza się stężenie jednego z substratów —  $H_2O_2$  w wyniku reakcji rozkładu konkurujących z reakcją świecąca, co z kolei prowadzi do zmniejszenia stężenia cząsteczek wzbudzonych  $P^*$ , a tym samym gaszenie *ChL*. W przypadku *LC*, która w porównaniu z *PG* lub *L* jest odporna na utlenianie, główną rolę w procesach *ChL* odgrywa zmniejszenie stężenia  $H_2O_2$  w wyniku ubocznych reakcji rozkładu oraz — w wyciągach z gleb torfowych — inhibitowanie rozkładu  $H_2O_2$ . Reakcje te powodują również zwiększenie *WM LC*.

W niniejszej pracy ze względu na wysoką czułość aparatury fotometrycznej, stosowano bardzo małe stężenie wskaźników, rzędu  $10^{-7}$ — $10^{-4}$  m/l. Zwiększając stężenie o 1—3 rzędy wielkości można używać, nawet przy obserwowanym procencie gaszenia, łatwo dostrzegalne lub dające się zarejestrować świecenie. Nadto zaleca się dodawanie roztworu wskaźnika i  $H_2O_2$  przed samym miareczkowaniem.

Wyniki opisanych doświadczeń wskazują na możliwość zastosowania wskaźników chemiluminescencyjnych w oznaczeniach alkacymetrycznych wyciągów z gleb. Opracowanie sposobów poszczególnych oznaczeń będzie tematem następnych prac.

\*

Autor poczuwa się do miłego obowiązku podziękowania Pracownikom Katedry Gleboznawstwa WSR w Szczecinie, a w szczególności P. Prof.



Dr. J. Piszczkowi, Doc. Dr. Z. Chudeckiemu oraz Dr. H. Greinertowi za cenne rady i dyskusje oraz za pomoc okazaną podczas wykonywania pracy.

#### LITERATURA

- [1] Babko A. K., Łukowska H. M.: Issledowanije chemiluminescentnoj kataliticheskoj reakcji w sistiemie luminol Cu — H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Ukr. Chim. Ž., 27, 1961, s. 519—524, 28, 1962, s. 968—972.
- [2] Erdey L.: Titrationem mit Chemilumineszenzindikatoren. Chem. Anal., 3, 1958, s. 269—280.
- [3] Kroh J.: Chemiluminescencja w fazie ciekłej. Łódzkie Tow. Naukowe, Łódź 1960.
- [4] Michalski E., Turowska M.: Wykorzystanie chemiluminescencji pochodnych dwuakrydyny do celów analitycznych. Chemia Anal., 5, 1960, s. 625—630; 5, 1960, s. 631—636.
- [5] Sławiński D., Sławiński J.: Analityczne zastosowanie chemiluminescencji w fazie ciekłej. Chem. Anal., 11, 1966, s. 13—26.
- [6] Sławińska D., Sławiński J.: Zastosowanie chemiluminescencji pirogalolu w alkacymetrii. Zeszyty Naukowe WSR Szczecin, nr 10, 1963, s. 163—175.
- [7] Sławińska D., Sławiński J.: Wykorzystanie chemiluminescencji kwasu galusowego i pirogalolu do celów analitycznych. I. Oznaczanie kwasu galusowego i pirogalolu. Chem. Anal., 10, 1965, s. 77—84.
- [8] Sławiński J.: Badania w dziedzinie chemiluminescencji pirogalolu. Wiad. Chem., 19, z. 2, 1965, s. 146—149.

Я. СЛАВИНСКИ

ПРИМЕНЕНИЕ ХИМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ В ЖИДКОЙ ФАЗЕ ДЛЯ АНАЛИЗА ПОЧВ

ЧАСТЬ I

ВЛИЯНИЕ ПОЧВЕННЫХ ВЫТЯЖЕК НА ХИМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИЮ АЛЬКАЦИМЕТРИЧЕСКИХ ИНДИКАТОРОВ

Кафедра Общей Химии Высшей Сельскохозяйственной Школы г. Щецина

Резюме

В труде представлена попытка применения химилюминесцентных индикаторов для обозначения конечного пункта (PK) титрования алькациметрических мутных и окрашенных вытяжек из почв. Водные вытяжки, 0,1n HCl и 0,1n NaOH из песка, ила и переходного торфа титровали с тремя химилюминесцентными индикаторами: пирагаллолом, люминолом и люцигенином. Исследовали влияние отдельных вытяжек на изменение цвета свечения, показатели титра и относительную интенсивность

люминесценции. Установили, что концевой пункт (*PK*) алькациметрического титрования вытяжек из исследованных почв может быт обозначен с помощью химиллюминесцентных индикаторов, примененных в концентрациях  $10^{-5}$  —  $10^{-3}$  моля на литр.

J. SŁAWIŃSKI

APPLICATION OF CHEMILUMINESCENCE IN THE LIQUID PHASE  
TO SOIL ANALYSIS

PART I

EFFECT OF SOIL EXTRACTS ON CHEMILUMINESCENCE OF ALKALIMETRIC  
INDICATORS

Department of General Chemistry, College of Agriculture, Szczecin

S u m m a r y

An attempt was made to apply chemiluminescence indicators to determination of the end point (*EP*) of acid-base titration of turbid and colored soil extracts. 0,1n HCl 0,1n NaOH and water extracts from sand, clay and transitional peat were titrated with 0,1n HCl or NaOH in the presence of three chemiluminescence indicators, namely pyragallo, luminol and lucigenin. The effect of the particular soil extracts on changes in color of luminescence, the titer exponents and the relative luminescence intensity were observed. It was found that the *EP* of alkalimetric titration of the tested soil extracts can be determined by means of the chemiluminescence indicators used in concentrations of the order  $10^{-5}$  to  $10^{-3}$  mol/l.