

MECHANIZM INDUKOWANEJ ŚWIATŁEM CHEMILUMINESCENCJI
KWASÓW HUMINOWYCH

Włodzimierz Puzyna, Janusz Sławiński, Danuta Sławińska

Zakład Fizyki, Akademia Rolnicza, 71-424 Szczecin, ul. Janosika 8

Zespół Fizyki, Akademia Rolnicza Poznań

Chemiluminescencja obserwowana w toku reakcji utleniania glebowej substancji organicznej stanowi zasobne źródło informacji o szybkości, kinetyce i energetyce badanych procesów [1-6]. Występowanie chemiluminescencji w następstwie oksydatywnej fotodestrukcji kwasów huminowych [5, 7, 8] stwarza możliwość uzyskania dodatkowych danych o mechanizmie indukowanych przez światło przemian tych substancji.

MATERIAŁ I METODY

Do badań użyto handlowych preparatów kwasów huminowych (HA): Fluka AG Busch i „Gęsawy” z laboratorium IUNG Baborówko, preparat z czarnoziemiu leśno-łąkowego „Żabów” uzyskany metodą ekstrakcji gleby roztworem 0,1 M $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ + 0,1 N NaOH według Kononowej [9] oraz preparat modelowy otrzymany w wyniku oksydatywnej polimeryzacji hydrochinonu z tryptofanem (HT). Naświetlania roztworów oraz pomiary chemiluminescencyjne przeprowadzono w układzie przepływowym opisanym uprzednio [8]. Skład spektralny chemiluminescencji (CL) badano metodą Wasiljewa stosując zestaw filtrów granicznych GOST-941-66 [10]. Widma fluorescencji wykonano na spektrofotofluorymetrze Hitachi MPT 4 uwzględniając poprawki kompensujące spektralną charakterystykę czułości fotopowielacza. Widma absorpcji UV-VIS wykonano za pomocą spektrofotometru Varian-Techtron 635 D.

WYNIKI I DYSKUSJA

Roztwory kwasów huminowych poddane działaniu światła wykazują po przerwaniu naświetlania długożyciową luminescencją o czasach zaniku sięgających kilku godzin. Długi czas życia, a także uwydatnienie świecenia po nasyceniu roztworu tlenem, wskazują na chemiczny charakter procesów prowadzących do utworzenia molekuł w stanie elektronowowzbudzonym. Obserwowana luminescencja ma zatem charakter fotoindukowanej chemiluminescencji. Luminescencja badanych preparatów obserwowana przy największej szybkości przepływu (0,5 sek. od chwili opuszczenia reaktora do naświetleń) pojawia się praktycznie natychmiast po włączeniu światła wzbudzającego i osiąga maksimum w ciągu kilku sekund naświetlania. Dalsze naświetlanie preparatów Gęsawy, Żabów i polimeru hydrochinonu z tryptofanem powoduje stopniowy zanik świecenia. W przypadku HA Fluka obserwuje się po przejściowym spadku świecenia ponowne jego narastanie aż do 4-5 godziny naświetlania, po czym następuje powtórny, łagodny zanik CL (rys. 1).

T a b e l a 1

Stałe zaniku (k) fotoindukowanej chemiluminescencji kwasów huminowych (HA)

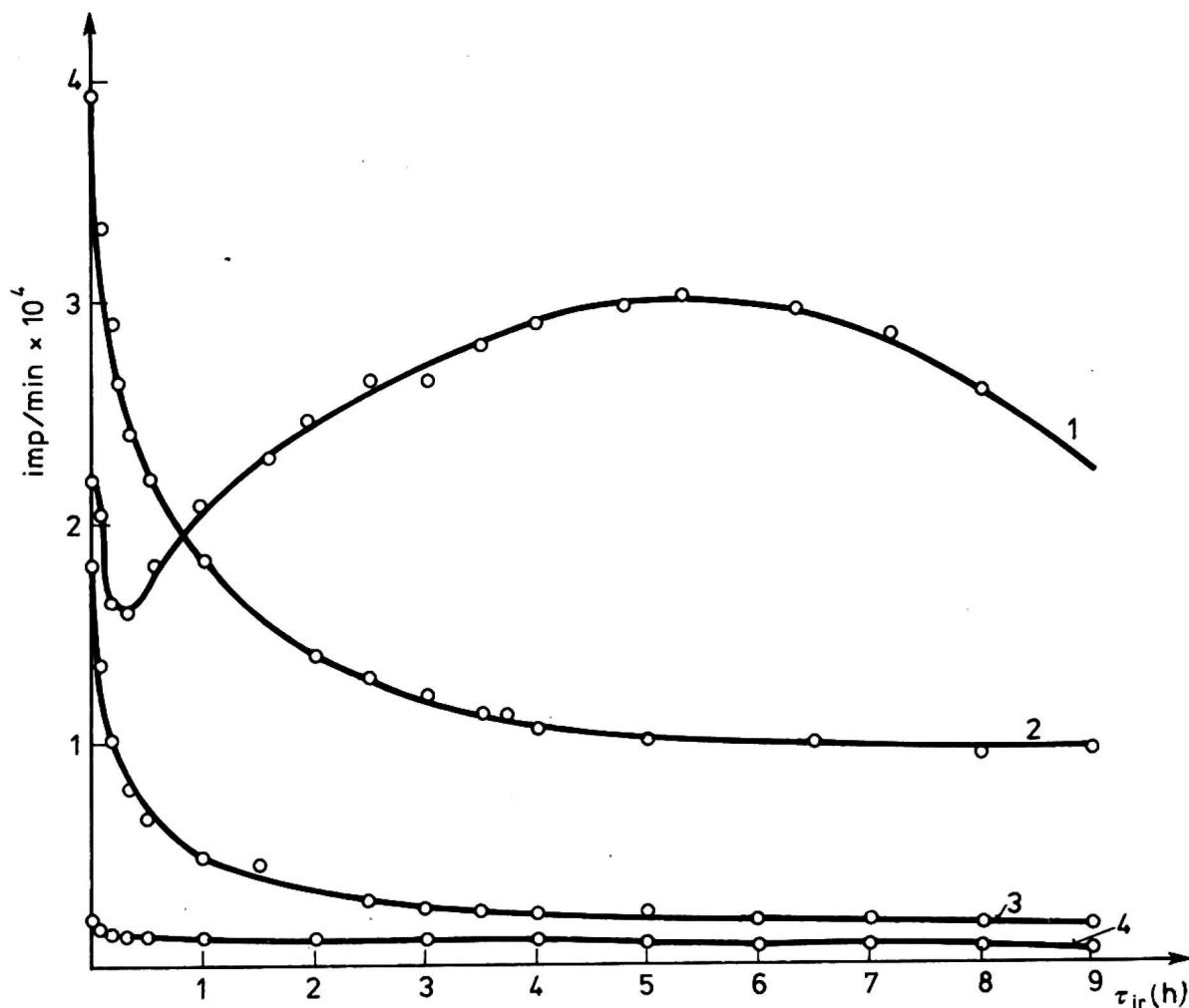
Preparat	Czas napromieniania [godz.]	k_2	k_3
HA Fluka	1	104	3,5
	4	131	5,5
	8	115	-
HA Żabów	2	110	15,5
	5	194	17,6
	8	217	22

Stężenie roztworów: 0,1 mg HA/ml 0,1 N NaOH

k_2 , k_3 - stałe zaniku drugiej i trzeciej składowej chemiluminescencji ($\text{imp.min})^{-1/2} \cdot 10^3$ obliczone metodą najmniejszych kwadratów jako współczynniki kątowe prostej:

$$\frac{1}{\sqrt{I_{CL}}} = kt + c$$

Średni błąd kwadratowy z trzech pomiarów wielkości k_2 przekracza 10% zaś wartości k_3 20%.



Rys. 1. Zależność natężenia fotoindukowanej chemiluminescencji od czasu naświetlania. Szybkość stacjonarnego przepływu 3 ml/s, czas martwy 0,5 sek. Stężenie roztworów 0,01% w 0,1 N NaOH. 1 - HA Fluka; 2 - HA Gęsawy; 3 - HA Żabów; 4 - HT

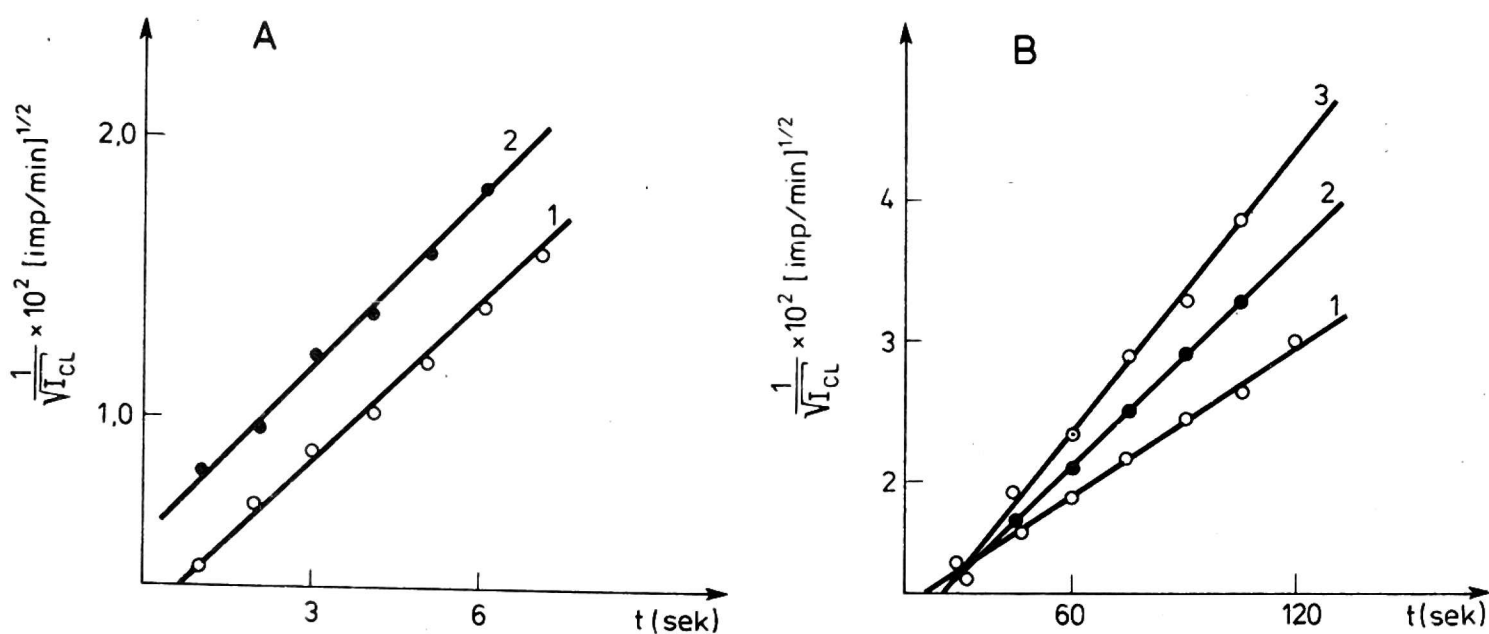
Kinetyka zaniku fotoindukowanej chemiluminescencji

Krzywe zaniku fotoindukowanej luminescencji uzyskuje się przez zatrzymanie cyrkulacji naświetlanego roztworu. Możliwe jest w ten sposób śledzenie wygasania CL począwszy od 0,5 sek. po przerwaniu naświetlania (najkrótszy czas przepompowywania roztworu z reaktora do kuwety).

W typowych krzywych zaniku CL preparatów glebowych można wyróżnić co najmniej cztery składowe. Pierwsza (najszybsza) odznacza się szybkością gaśnięcia porównywalną ze stałą czasową używanego rejestratora (ok. 1 sek) - stąd brak możliwości jej zapisu.

dwie dalsze składowe - sekundowa (2-6 sek) i minutowa (1-10 min) w większości przypadków dają liniową zależność:

$$\frac{1}{\sqrt{I_{CL}}} = f(t).$$



Rys. 2. Zanik chemiluminescencji po 1,5 godz naświetlania. A - II składowa świecenia; B - III składowa. 1 - HA Fluka; 2 - HA Zabów; 3 - HT

Charakter czwartej składowej o czasie życia rzędu godzin jest trudny do określenia z powodu małego natężenia świecenia i niewielkich jego zmian w czasie. Obserwowany związek natężenia chemiluminescencji z czasem:

$$\frac{1}{\sqrt{I_{CL}}} = kt + c$$

jest typowy dla reakcji dwuczasteczkowych przebiegających przy równych stężeniach obu reagentów. Zatem można sądzić, że w naj-

prostszy przypadku wzbudzone cząsteczki związane z drugą i trzecią składową krzywej zaniku świecenia powstają w wyniku rekombinacji bądź dysmutacji pierwotnych produktów fotolizy HA. Wzrost stałych zaniku II i III składowej CL w miarę upływu czasu naświetlania wiąże się prawdopodobnie z degradacyjnym charakterem procesów fotoutleniania polimeru i może wpływać zarówno ze wzrostu szybkości rekombinacji, jak i spadku wydajności kwantowej chemiluminescencji [8].

Krzywe zaniku CL modelowego HA (produktu polimeryzacji hydrochinonu z tryptofanem) różnią się od analogicznych krzywych preparatów glebowych brakiem dwóch pierwszych, szybkich składowych. Stałe zaniku CL preparatu modelowego wykazuje tendencję do spadku wraz z upływem czasu naświetlania. Ilustrują to następujące dane:

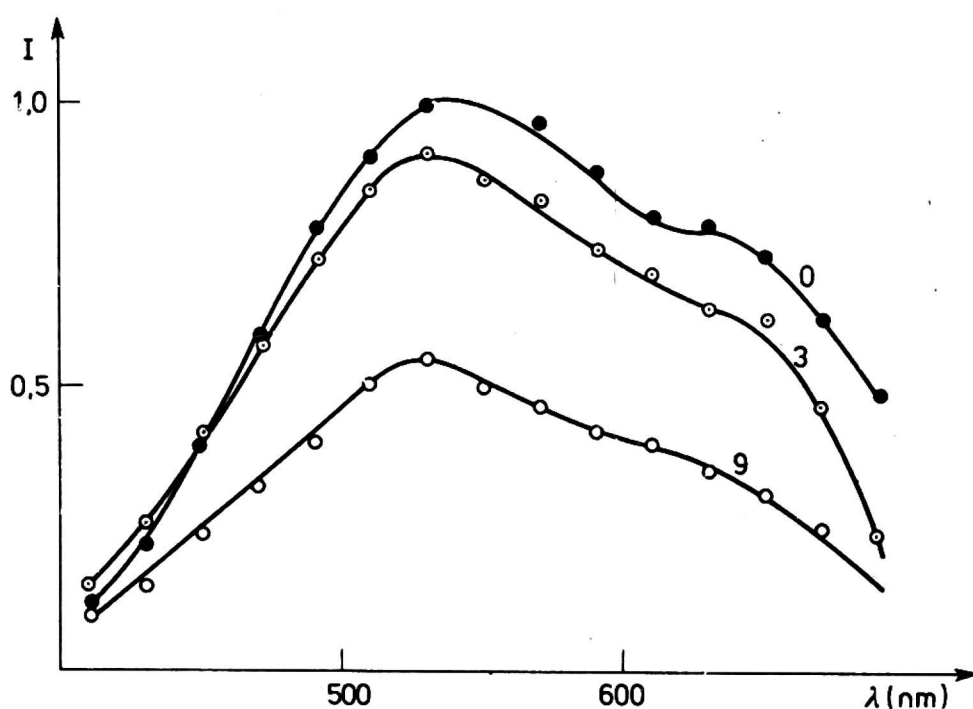
τ_{ir} (godz)	2	6	10
$k \cdot 10^3 \cdot (\text{imp} \cdot \text{min}) \frac{1}{2}$	19,2	15,6	10,7

Przebieg stałych zaniku może świadczyć o przewadze procesów sieciowania polimeru nad procesami rozpadu na mniejsze fragmenty. Efekt ten może wpływać z faktu, że hydrochinon jako antyutleniacz blokuje rozwój łańcucha degradacyjnych procesów rodnikowego utleniania.

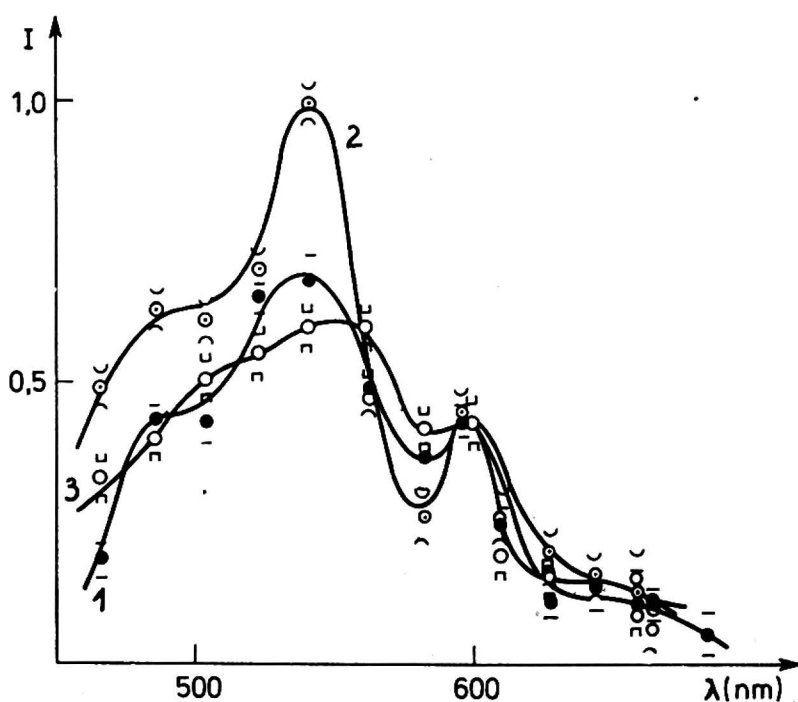
Skład spektralny fotoindukowanej chemiluminescencji

Emisja wszystkich badanych preparatów występuje w zakresie długości fal 450-700 nm, przy czym można zaobserwować pewne różnice w składzie spektralnym świecenia poszczególnych preparatów. HA Fluka wykazuje maksimum emisji w rejonie 530-570 nm, ponadto w widmie widoczne są pasma 470-490 nm oraz 580-610 nm; HA Żabów ma maksima emisji w pasmach 500-540 nm, 560-590 nm oraz 610-660 nm; preparat HT - 470-500 nm i 570-610 nm.

Porównując widma chemiluminescencji z widmami fluorescencji (FL) można stwierdzić wyraźne podobieństwo składu spektralnego CL i widma FL wzbudzonej przy 400 nm w przypadku HA Fluka (rys. 3). Podobnie fluorescencja występuje w tych samych obszarach widma, w których widoczna jest chemiluminescencja HA Żabów choć kształt



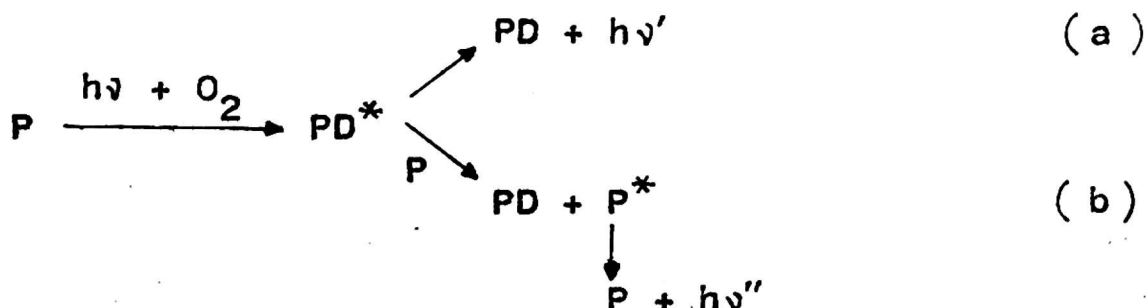
Rys. 3. Widma fluorescencji HA Fluka. Długość fali wzbudzającej 400 nm. Liczby przy krzywych oznaczają czas naświetlania w godz.



Rys. 4. Skład spektralny chemiluminescencji HA Fluka. 1 - 1 godz. naświetlania, 2 - 3 godz. naświetlania, 3 - 8 godz. naświetlania. Odległość znaczka krańcowego od punktu doświadczalnego jest miarą rozrzutu wyników

widma CL jest różny od widma FL. Największe różnice między rozkładem widmowym CL i FL występują w przypadku preparatu HT, który nie wykazuje fluorescencji w długofalowej części widma mimo wyraźnej chemiluminescencji w tym zakresie. Na podstawie przedstawionych da-

nych można przypuszczać, że obserwowana chemiluminescencja jest złożeniem bezpośredniej emisji wzbudzonych produktów (PD^*) fotoutleniania polimeru - wariant (a) oraz sensybilizowanej emisji fluorescencyjnych chromoforów - wariant (b) w schemacie:



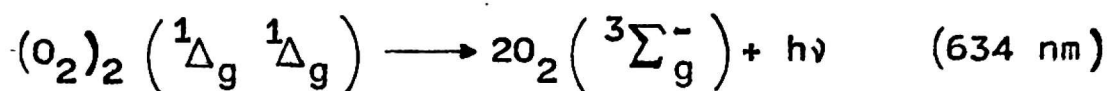
gdzie:

P - nie zdegradowany fragment cząsteczki polimeru,

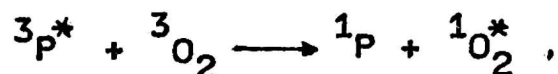
PD - produkt degradacji, gwiazdka oznacza stan wzbudzony.

$h\nu'$, $h\nu''$ - różne częstotliwości emisji w postaci widma CL.

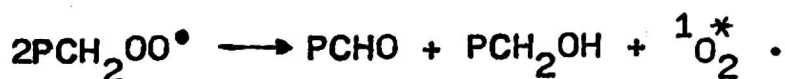
Chemiluminescencja w zakresie długofalowym może być również przypisana dimolom tlenu singletowego 1O_2 :



Tlen w stanie wzbudzonym mógłby powstawać w wyniku przeniesienia energii ze wzbudzonego polimeru:



lub w rezultacie dysmutacji rodników nadtlennokowych



Wśród procesów prowadzących do długofalowej emisji nie można również wykluczyć powstawania ekscimerów i ekscipleksów z udziałem wzbudzonych produktów fotoutleniania.

PODSUMOWANIE

Uzyskane wyniki ukazują złożony wieloetapowy charakter procesów fotoutleniania kwasów huminowych. Obserwowane zróżnicowanie składu spektralnego i kinetyki świecenia wskazują, że chemiluminescencja może być użyta jako selektywna metoda klasyfikacyjna w stosunku do kwasów huminowych różnego pochodzenia. W celu stwierdzenia na ile różnice w świeceniu są odbiciem szczegółów preparatyki, na ile zaś własności materiału wyjściowego konieczne są dalsze badania szerszej gamy preparatów. Osobnym zagadnieniem jest kwestia biologicznego znaczenia fotochemicznych przemian substancji humusowych. Można przypuszczać, że zarówno pierwotne - rodnikowe, jak i końcowe - stabilne produkty fotoutleniania HA są w stanie wywierać wpływ na aktywność mikroorganizmów glebowych, metabolizm roślin, strukturę i własności humusu. Pierwsze doświadczenia w tej dziedzinie [11, 12] przemawiają za celowością kontynuowania tej drogi badawczej.

LITERATURA

1. Sławińska D., Sławiński J.: Nature 213, 902, 1967
2. Sławińska D., Sławiński J.: Roczn. Chem. 44, 1955, 1970
3. Sławińska D., Sławiński J.: Roczn. Chem. 44, 2415, 1970
4. Sławińska D., Sławiński J.: Roczn. Gleb. 24, 495, 1973
5. Sławińska D., Sławiński J.; (Sarna T.: Photochem. Photobiol. 21, 393-396, 1975
6. Sławińska D., Michalska T.: w „Singlet Oxygen and Its Reactions with Polymers”. Wiley, 294, London, 1978
7. Sławiński J., Puzyna W., Sławińska D.: Photochem. Photobiol. 28, 75, 1978
8. Sławiński J., Puzyna W., Sławińska D.: Photochem. Photobiol. 28, 459, 1978
9. Kononowa M.: Substancje organiczne gleby. PWRiL, 1968
10. Vassil'ev R. F., Meluzova G. B.: Mol. Photochem. 2, 251, 1970
11. Grabikowski E., Pieniawski J., Puzyna W., Sławiński J.: Zesz. Nauk. AR w Szczec. 64, 117, 1977
12. Tichy V.: Trans. Intern. Symp. Studies about Humus, 553, Praga, 1971

В. Пузына, Я. Славиньски, Д. Славиньска

МЕХАНИЗМ ИНДУЦИРОВАННОЙ СВЕТОМ ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ
ГУМИНОВЫХ КИСЛОТ

Р е з ю м е

Долговременная хемилюминесценция связанная с фотоокислением гуминовых кислот обнаруживает после прерывания облучения многостепенное затухание в котором отличается не менее трех стадий. Вторая и третья фаза большинства кривых затухания исполняют формулу кинетики второго ряда. Спектры хемилюминесценции и флуоресценции свидетельствуют, что наблюдаемая эмиссия является сложением простой хемилюминесценции продуктов фотодеградации и сенсбилизированного свечения флуоресцирующих хромофоров полимера.

W. Puzyna, J. Sławiński, D. Sławińska

THE MECHANISM OF LIGHT-INDUCED CHEMILUMINESCENCE
OF HUMIC ACIDS

S u m m a r y

Long-lived chemiluminescence induced by photooxidation of humic acids reveals after irradiation was cut off a multistage decay with at least three components. The second and third components of the predominant number of decay curves obey second order kinetics equation. Chemiluminescence and fluorescence spectra indicate, that observed luminescence is a result of superposition of direct chemiluminescence of photodegradation products and sensitized emission from fluorescent chromophores.