

Механизмы хемилюминесценции в реакции Фентона

Аристова Н.А. (1), Иванова И.П. (2), Трофимова С.В. (2),
Пискарев И.М. (i.m.piskarev@gmail.com) (3), Бурхина О.Е. (4),
Сошникова О.О. (4)

- (1) Нижнетагильский технологический институт (филиал) УрФУ,
(2) Нижегородская государственная медицинская академия федерального
агентства по здравоохранению и социальному развитию,
(3) Научно-исследовательский институт ядерной физики имени Д.В.
Скобельцына Московского государственного университета имени М.В.
Ломоносова,
(4) Нижегородский государственный университет имени Н.И. Лобачевского

Реакция Фентона широко используется в практике научных исследований как источник гидроксильных радикалов. Сама реакция Фентона приводит к появлению излучения, регистрируемого современными люминометрами. Вторичные реакции, инициируемые реактивом Фентона, также часто являются источником фотонов. Регистрируя эти фотоны, можно получить информацию об исследуемых биофизических процессах. Биолюминесценции и хемилюминесценции посвящен обзор [1]. При введении реактива Фентона наблюдается вспышка свечения. Механизм формирования коротких вспышек ранее нигде не рассматривался.

Реакцию Фентона используют для определения антиоксидантной способности веществ. Один из вариантов метода описан в работе [2]. Измеряют светосумму хемилюминесценции реакции Фентона при отсутствии испытуемого вещества S_0 и светосумму в присутствии испытуемого вещества S . Если $S_0 = S$, то говорят, что антиоксидантных свойств нет. Если $S < S_0$, то антиоксидантные свойства есть. Здесь под антиоксидантными свойствами имеется в виду способность испытуемого вещества окисляться гидроксильными радикалами, поглощать их на себя и тем самым уменьшать скорость реакций гидроксильных радикалов с другими веществами. Возможен случай, когда $S > S_0$. Тогда можно сказать, что данное вещество – прооксидант, усиливает радикальные реакции.

Представляет интерес исследовать общие характеристики реакций, инициированных реактивом Фентона, и ведущих к образованию излучения с целью использовать эту реакцию для изучения окислительной способности различных веществ, в том числе, и медицинских препаратов. Процессы, происходящие в жидкости, описываются большим числом реакций между активными частицами и веществами, вводимыми в раствор. Аналитическое решение уравнений химической кинетики в этом случае возможно только при некоторых сильно упрощающих ситуацию предположениях. Поэтому нами использованы численные методы решения. Составлена схема реакций, включающая образование излучения с чистым реактивом Фентона, а также при добавлении люминола, неорганических соединений и органических веществ, одним из каналов окисления которых являются цепные реакции.

Методика эксперимента. Световое излучение регистрировалось люминометром БХЛ-06 (Н.Новгород, Россия). Спектральный диапазон чувствительности ФЭУ 300 – 700 нм. Калибровку прибора осуществляли по эталонному источнику света известной интенсивности.

При регистрации излучения от образца определение шума регистрирующего прибора, который вычитался автоматически, проводили непосредственно перед и сразу после каждого измерения. Нижний предел обнаружимости излучения определяется

флуктуациями шума. Измерения показали, что среднеквадратичные флуктуации шума составляют от 200 до 500 импульсов в секунду в зависимости от состояния прибора, поэтому минимально обнаружимый эффект составляет около 200 фотонов в секунду. Объём пробы 1.0 мл. В состав пробы входили: 0.4 мл раствора FeSO_4 , 0.4 мл исследуемого вещества, 0.2 мл перекиси водорода. Концентрации реагентов: $[\text{FeSO}_4] = 10^{-3}$ Моль/л, $[\text{H}_2\text{O}_2] = 10^{-4}$ Моль/л. Кювета с пробой располагалась почти вплотную к фотокатоду ФЭУ, что обеспечивало высокую эффективность регистрации (телесный угол $\Omega = \pi$). В кювету сначала вводили раствор двухвалентного железа, исследуемое вещество, и в последнюю очередь – перекись. Раствор перекиси водорода для реактива Фентона требуемой концентрации готовился предварительно, раствор FeSO_4 – непосредственно перед началом эксперимента. Регистрация излучения начиналась через 0.5 - 1 секунды после смешивания исследуемого раствора, содержащего FeSO_4 , с перекисью. Это время необходимо для того, чтобы добавить перекись и перевести прибор в режим измерения интенсивности хемилюминесценции. Использовались реактивы ЧДА, дважды дистиллированная и просто дистиллированная свежеприготовленная вода (pH = 6).

Хемилюминесценцию растворов регистрировали в течении 30 секунд. Каждая точка обсчитывалась в 10 – 12 повторностях. Чистота растворов, состав продуктов реакции на разных стадиях контролировался путём наблюдения УФ-спектров с помощью прибора Флюорат-02 Панорама.

Спектральные характеристики излучения образца качественно оценивались с помощью светофильтров из синих и красных пластиковых плёнок толщиной 0.5 мм. Спектр пропускания плёнок измерялся прибором Флюорат-02 Панорама. Полоса пропускания синего фильтра на уровне не менее 10% от максимума лежит в диапазоне от 410 до 590 нм, красного - от 590 до 750 нм. Отбирались плёнки, не дающие вторичного излучения в видимой области спектра.

Результаты и обсуждение

Кинетическая модель процесса. Модель процесса включающая реакцию Фентона и взаимодействие радикалов, продуктов этой реакции, представлена в работе [3]. Дополнительно предполагалось, что в нейтральной и щелочной среде двухвалентное и трёхвалентное железо выпадает в осадок (реакции 1, 2, таблица 1, настоящая работа). Поскольку в воздухе всегда есть углекислый газ, который поглощается водой, то учитывалось наличие гидрокарбонатов (реакции 3 – 5, таблица 1). Решение системы уравнений химической кинетики осуществлялось с помощью пакета MathCad 14. Задача численного моделирования заключалась в том, чтобы оценить вклад конкретных механизмов и оценить концентрации активных частиц (радикалов и молекулярных продуктов). Эти данные необходимы для количественного анализа свободно радикальных продуктов, образующихся в биологических системах при развитии патологических процессов, и после воздействия физико-химических факторов.

Таблица 1

Константы скорости реакций в растворе Фентона

№№	Реакция	k, (Моль·с) ⁻¹ , [4]
1.	$\text{Fe}^{3+} + 3\text{OH}^- \rightarrow \text{Fe}(\text{OH})_3$	$k_{15} = 10^6$, pH = 12
2.	$\text{Fe}^{2+} + 2\text{OH}^- \rightarrow \text{Fe}(\text{OH})_2$	$k_{16} = 10^6$, pH = 12
3.	$\text{HCO}_3^- + \text{OH}^\bullet \rightarrow \text{CO}_3^{\bullet-} + \text{H}_2\text{O}$	$k_{18} = 4 \times 10^7$
4.	$\text{CO}_3^{\bullet-} + \text{OH}^\bullet \rightarrow \text{CO}_2 + \text{HO}_2^-$	$k_{19} = 3 \times 10^9$
5.	$\text{CO}_3^{\bullet-} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{HCO}_3^- + \text{HO}_2^\bullet$	$k_{20} = 8 \times 10^5$

Механизм свечения раствора Фентона

При протекании в воде реакций с участием свободных радикалов, инициированных реактивом Фентона, наблюдается свечение, регистрируемое прибором БХЛ-06. С помощью красного и синего светофильтров оценивался спектральный состав излучения.

Установлено, что синий светофильтр ослабляет свечение более, чем в 10 раз, а с красным фильтром интенсивность свечения не меняется. Претендентом на свечение в этой спектральной области может быть димер синглетного кислорода. Схема образования и распада синглетного кислорода приведена в таблице 2.

Таблица 2

Образование и распад синглетного кислорода

	Реакция	k , (Моль с) ⁻¹ [5]
6.	$O_2^{\bullet-} + OH^{\bullet} + H^+ \rightarrow H_2O + O_2(a^1\Delta_g)$	$k_{21} = 10^{10}$
7.	$O_2^{\bullet-} + H^+ \rightarrow \frac{1}{2} H_2O_2 + \frac{1}{2} O_2(a^1\Delta_g)$	$k_{22} = 10^{10}$
8.	Распад $O_2(a^1\Delta_g)$	$\tau_{1/2} = 2.9 \times 10^{-4}$ с
9.	$O_2(a^1\Delta_g) + O_2(a^1\Delta_g) \rightarrow 2O_2 + \gamma$	$k_{24} = 0.1$
10.	$O_2(a^1\Delta_g) + O_2(a^1\Delta_g) \rightarrow$ продукты	$k_{25} = 10^{11}$

Люминесценция регистрируется, если в пробе присутствуют продукты реакций в возбуждённом состоянии. Почти все продукты реакций, приведённые в работе [3], таблица 1, могут образовывать возбуждённые состояния, высвечивающие в УФ-области спектра (длина волны меньше 400 нм). В красной области может высвечиваться только димер синглетного кислорода ($\lambda = 480, 535$ и 580 нм) [1].

Проанализируем механизмы образования синглетного кислорода. Правила отбора по спину разрешают образование синглетного кислорода вместе с триплетным в реакциях (3, 5, 6. таблица 1, работа [3]). Соотношение вероятностей заселения синглетного и триплетного состояний определяется правилами квантовой механики и равно 1:3. Только синглетный кислород может образовываться в реакциях (6, 7, таблице 2, настоящая работа). Расчёт показал, что выход $O_2(a^1\Delta_g)$ в реакциях (3, 5, 6, табл. 1, работа [3]) мал, так как мала концентрация радикалов HO_2^{\bullet} и OH^{\bullet} . Поэтому основным механизмом образования синглетного кислорода являются реакции с радикалом $O_2^{\bullet-}$ (6, 7, настоящая работа). Источником $O_2^{\bullet-}$ являются радикалы HO_2^{\bullet} (реакции 7 и 10, таблица 1, работа [3]).

Конечным светящимся продуктом является синглетный кислород (точнее, димер синглетного кислорода). Распадается димер практически мгновенно, поэтому интенсивность свечения определяется скоростью его образования. Это не есть скорость одной какой-либо реакции, это суммарная (результатирующая) скорость всей последовательности (цепочки) реакций, которая заканчивается образованием димера синглетного кислорода.

В растворе в случае реактива Фентона образующееся трёхвалентное железо взаимодействует с $O_2^{\bullet-}$ (реакция 11, таблица 1, работа [3]), значительно уменьшая концентрацию этих частиц. С уменьшением концентрации $O_2^{\bullet-}$ уменьшается и выход синглетного кислорода, поэтому в растворе Фентона всегда наблюдается короткая вспышка излучения сразу после смешивания реагентов, длительность которой существенно меньше полного времени реакции при данных концентрациях реагентов [3]. Когда в растворе трёхвалентного железа нет, ион-радикалы $O_2^{\bullet-}$ накапливаются, и количество образующихся молекул синглетного кислорода растёт. Время жизни синглетного кислорода в воде с низкой концентрацией примесей составляет около 40 минут. Вероятность образования димера примерно на 3 порядка больше, чем самопроизвольный распад [5]. Расчёт показал, что тушение синглетного кислорода на стенках сосуда и в реакциях с другими частицами незначительно. С повышением концентрации $O_2(a^1\Delta_g)$ определяющую роль в их гибели играет реакция 10 (таблица 2, настоящая работа), продукты которой не дают излучения в видимой области спектра. Кинетика изменения концентрации радикалов при введении реактива Фентона приводится в работе [3].

Подведём итог. Сразу после смешивания компонентов реактива Фентона трёхвалентного железа ещё нет, все образующиеся радикалы $O_2^{\bullet-}$ расходятся на

выработку синглетного кислорода. Поэтому сразу после смешивания наблюдается вспышка свечения. Нарбатывающееся трёхвалентное железо начинает расходовать радикалы $O_2^{\bullet-}$, свечение при этом уменьшается, и при большой концентрации Fe^{3+} прекращается совсем, так как Fe^{3+} перехватывает все радикалы $O_2^{\bullet-}$. Таким образом, длительность вспышки определяется не расходом реактивов в реакции Фентона, а временем, за которое будет наработано достаточно большое количество ионов Fe^{3+} . Высвечивание в этом случае происходит в красной области спектра.

Схема процесса окисления радикалами, генерируемыми в реакции Фентона, с образованием светящихся продуктов

Проанализируем механизмы свечения раствора Фентона в нейтральной среде для случаев:

- 1) раствор Фентона (никаких других реагентов не вводится);
- 2) добавляется люминол;
- 3) идеальный антиоксидант М (вещество, способное к окислению);
- 4) добавляется органическое вещество RH, в котором может развиваться цепная реакция окисления:
 - а) вещество, способное образовывать радикалы RO_2^{\bullet} (при наличии кислорода);
 - б) вещество, в котором образуются только радикалы R^{\bullet} (при недостатке кислорода).

Каналы реакций условно изображены на схеме 1 и обозначены цифрами.

Случай 1. Чистый раствор Фентона. Схема 1, канал 1. Продуктами реакции Фентона являются ионы трёхвалентного железа и гидроксильные радикалы OH^{\bullet} . Механизм свечения рассматривался ранее (см. таблицу 2). Последовательность превращений радикалов можно представить следующим образом: $OH^{\bullet} \rightarrow HO_2^{\bullet} \rightarrow O_2^{\bullet-} \rightarrow O_2(a^1\Delta_g)$. Высвечивание димера синглетного кислорода происходит в красной области спектра ($\lambda = 480, 535$ и 580 нм). Длительность вспышки определяется не расходом реактивов в реакции Фентона, а временем, за которое будет наработано достаточно большое количество ионов Fe^{3+} , которые расходуют радикалы $O_2^{\bullet-}$ и, тем самым, прекращают свечение.

Случай 2. Свечение с люминолом в нейтральной среде. Схема 1, канал 2. Люминол Lum взаимодействует с гидроксильным радикалом, образуя радикал L^{\bullet} . Этот радикал взаимодействует с супероксидным радикалом $O_2^{\bullet-}$, и после цепочки превращений, условно обозначенных на схеме двумя крестиками, высвечивает квант в синей области спектра [1]. Так происходит, пока трёхвалентного железа нет. Но когда оно появляется, радикал $O_2^{\bullet-}$ расходуется в реакции с Fe^{3+} . При этом синее свечение ослабевает, и при большой концентрации Fe^{3+} совсем прекращается. Но пока трёхвалентного железа мало, свечение происходит как в синей области спектра (люминол), так и в красной (димер синглетного кислорода), так как люминол перехватывает не все образующиеся гидроксильные радикалы. Детально люминол-зависимое свечение раствора Фентона в нейтральной среде рассмотрено в работе [3].

Случай 3. Идеальный антиоксидант М. Это вещество, окисляющееся радикалами. Продукты реакции – малоактивные радикалы, не способные с заметной скоростью участвовать в дальнейших превращениях. В этом случае гидроксильные радикалы расходуются на его окисление. Если скорость реакции $M + OH^{\bullet}$ много больше скорости реакций в канале 1, то никакого свечения не возникнет. Когда скорости расходования радикалов OH^{\bullet} в процессах 1 и 3 соизмеримы, то свечение в красной области спектра будет наблюдаться. С увеличением концентрации вещества М свечение будет уменьшаться, пока не пропадёт совсем. Зависимость светосуммы за 30 секунд от концентрации вводимого вещества М представлена на рис. 1. На рисунке 1а – результаты расчёта, на рис. 1б – экспериментальные данные для аланина, который представляется

идеальным антиоксидантом. Константа скорости реакции $M + OH^\bullet$ принята равной 10^8 (Моль с)⁻¹.

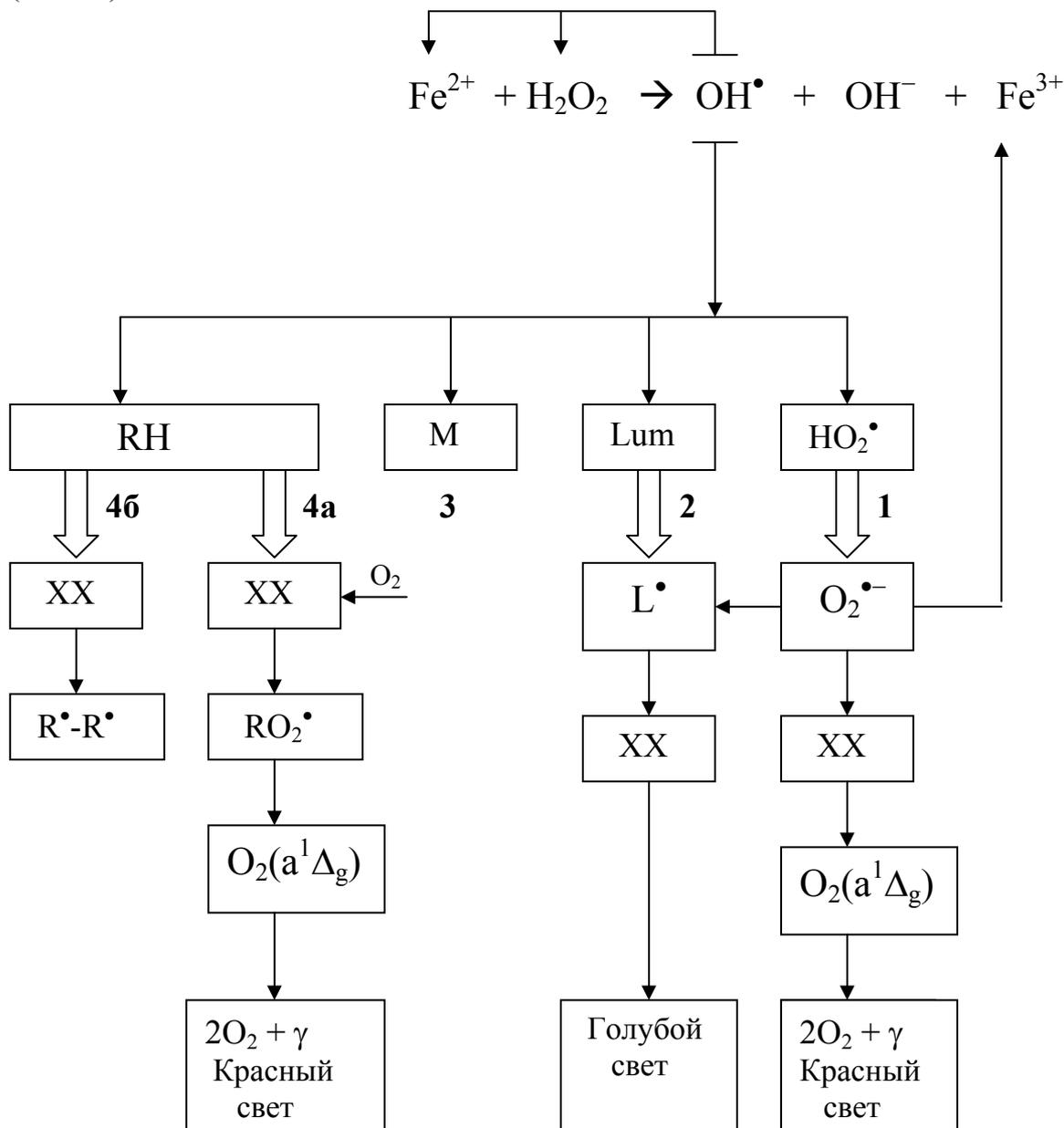


Схема 1. Реакции в растворе Фентона, приводящие к свечению. Цифрами обозначены случаи:

1. Только раствор Фентона.
2. В раствор Фентона добавляется люминол.
3. Раствор Фентона с идеальным антиоксидантом М.
4. Окисление органического вещества RH в растворе Фентона: а) при наличии растворённого кислорода; б) при недостатке или полном отсутствии кислорода

Случай 4. Окисление органических веществ

Отличительной особенностью органических веществ является то, что с ними возможны цепные реакции. Типичная схема окисления органического вещества RH в водном растворе представлена в таблице 3.

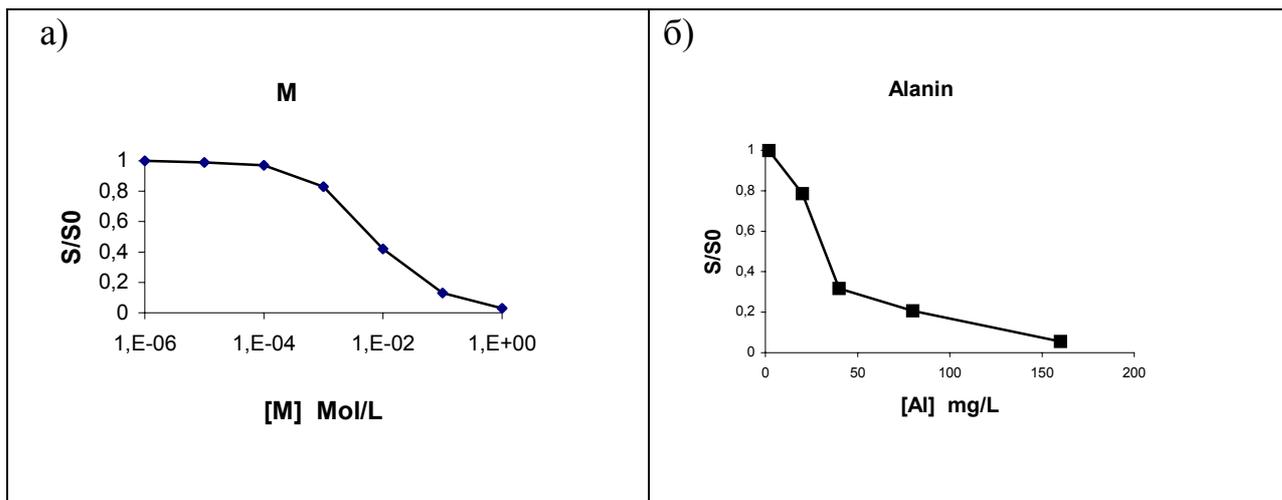


Рисунок 1. Хемилюминесценция идеального антиоксиданта М при окислении реактивом Фентона, $[Fe^{2+}] = 10^{-3}$ Моль/л, $[H_2O_2] = 10^{-4}$ Моль/л. По оси ординат: отношение светосуммы за 30 секунд при данной концентрации испытуемого вещества S к светосумме за 30 секунд чистого раствора Фентона S0, S/S0.

а) Расчёт для условного вещества М. [M] – концентрация вещества, Моль/л.

б) Экспериментальные данные по хемилюминесценции аланина в растворе Фентона. [Al] – концентрация аланина, мг/л.

Таблица 3

Реакции органического вещества RH в водном растворе, инициированные гидроксильными радикалами.

	Реакция	k, (Моль с) ⁻¹ [6]
11.	$RH + OH^\bullet \rightarrow R^\bullet + H_2O$	10^8
12.	$R^\bullet + O_2 \rightarrow RO_2^\bullet$	10^4
13.	$RO_2^\bullet + RH \rightarrow ROOH + R^\bullet$	10^6
14.	$ROOH + Fe^{2+} \rightarrow Fe^{3+} + OH^- + RO^\bullet$	100
15.	$RO^\bullet + RO^\bullet \rightarrow ROOR$	10^5
16.	$R^\bullet + R^\bullet \rightarrow R-R$	10^6
17.	$RO_2^\bullet + RO_2^\bullet \rightarrow ROOR + O_2 + O_2(a^1\Delta_g)$	10^7

Первым активным продуктом окисления является радикал R^\bullet (реакция 11). Далее в отсутствие кислорода эти радикалы могут погибнуть во взаимодействиях между собой (реакция 16). Никакого свечения в этом случае не будет, если концентрация введённого вещества велика, и оно перехватывает все гидроксильные радикалы. В промежуточном варианте может реализовываться ситуация, рассмотренная для случая 3, когда вещество RH расходует не все гидроксильные радикалы и свечение в канале 1 остаётся. Этот канал будет реализовываться при недостатке кислорода, если $[R^\bullet] \gg [O_2]$ (канал 4б, схема 1). Если кислорода достаточно, то образуется радикал RO_2^\bullet (реакция 12), который приводит к появлению синглетного кислорода (реакция 17). Запрета на образование кислорода в определённом спиновом состоянии для реакции 17 нет. Отношение вероятностей заселения триплетного и синглетного состояний определяется правилами квантовой механики и равно 3:1. Димер синглетного кислорода высвечивается в красной области спектра (канал 4а, схема 1). Спектральный состав излучения был проверен с помощью синего и красного светофильтров. Зависимость свечения от концентрации вводимых веществ в каналах 4а и 4б будет различной.

Случай 4б. Если вещества нет, то свечение раствора будет определяться каналом 1 (чистый раствор Фентона). По мере роста концентрации RH всё большая часть радикалов OH^\bullet расходуется, свечение ослабевает, пока не пропадёт совсем. Зависимость свечения от концентрации вводимого вещества будет аналогична представленной на рис. 1.

Случай 4а. При малой концентрации RH добавка этого вещества в раствор Фентона никак не влияет на хемилюминесценцию. С увеличением $[\text{RH}]$ начинает давать вклад свечение, обусловленное реакцией радикалов RO_2^\bullet . Суммарное свечение может увеличиться в десятки раз и достичь максимума интенсивности. При дальнейшем росте $[\text{RH}]$ начинает играть роль реакция $\text{RO}_2^\bullet + \text{RH}$ (реакция 13, таблица 3), в которой радикал RO_2^\bullet расходуется, и свечение уменьшается. Когда выполнится соотношение $[\text{RH}] \gg [\text{RO}_2^\bullet]$, взаимодействие радикалов RO_2^\bullet между собой (реакция 17, таблица 3) становится очень маловероятно, и свечение прекратится.

Результаты расчёта S/S_0 (см. рис. 1) от концентрации условного вещества RH при разных концентрациях кислорода в растворе представлены на рис. 2а. Видно, что вспышка свечения уменьшается с уменьшением концентрации кислорода, и при полном отсутствии кислорода вещество RH становится практически идеальным антиоксидантом (сравни рис. 1а). Реальность расчёта подтверждается экспериментальными данными для альбумина (рис. 2б), где свечение при определённой концентрации альбумина достигает максимума, а затем уменьшается.

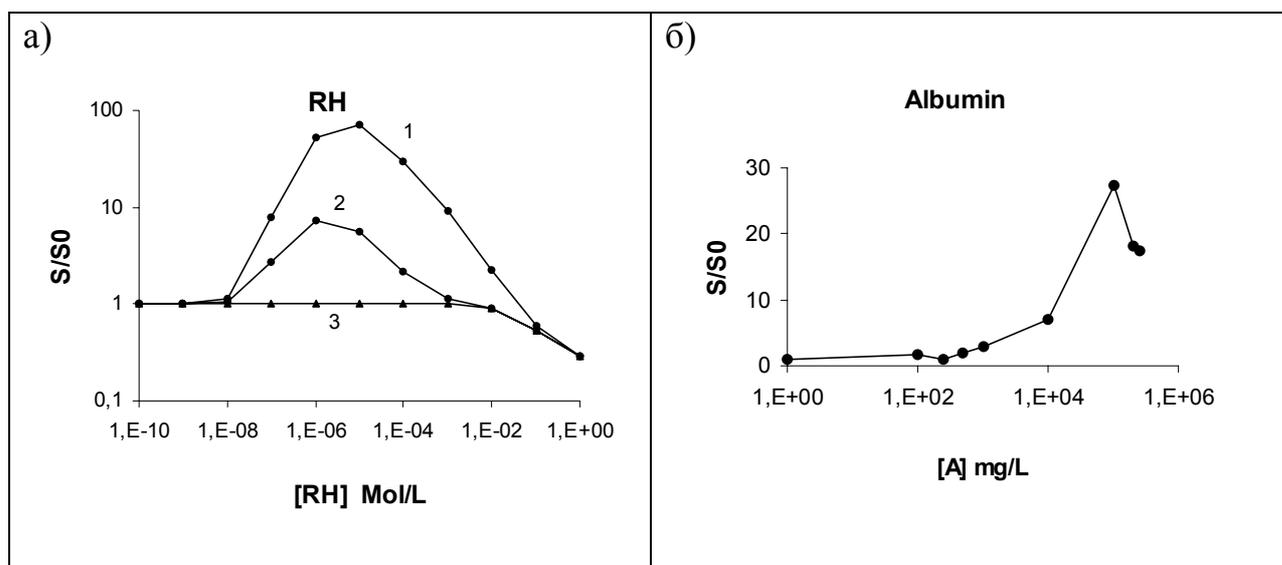


Рисунок 2. Хемилюминесценция органического вещества RH при окислении реактивом Фентона, $[\text{Fe}^{2+}] = 10^{-3}$ Моль/л, $[\text{H}_2\text{O}_2] = 10^{-4}$ Моль/л. По оси ординат: отношение светосуммы за 30 секунд при данной концентрации испытуемого вещества S к светосумме за 30 секунд чистого раствора Фентона S_0 , S/S_0 .

а) Расчёт для условного вещества RH. $[\text{RH}]$ – концентрация вещества, Моль/л. Константы скорости реакций приведены в таблице 3. Концентрация растворённого в воде кислорода $[\text{O}_2]$: 1 – 10^{-4} Моль/л; 2 – 10^{-5} Моль/л; 3 – $[\text{O}_2] = 0$.

б) Экспериментальные данные по хемилюминесценции альбумина в растворе Фентона. $[\text{A}]$ – концентрация альбумина, мг/л.

Индивидуальное вещество

Возможны случаи, особенно для низкомолекулярных органических веществ, когда окисление не описывается схемой, представленной в таблице 3. Тогда нужно учитывать особенности данного вещества. Рассмотрим окисление щавелевой кислоты. Окисление щавелевой кислоты гидроксильными радикалами изучалось в работе [7]. Упрощенную

схему реакций, которые дают вклад в хемилюминесценцию, можно представить в виде таблицы 4.

Таблица 4

Реакции щавелевой кислоты, влияющие на хемилюминесценцию в растворе Фентона.

	Реакция	k (Моль с) ⁻¹ [7]
18.	$(\text{COOH})_2 + \text{OH}^\bullet \rightarrow \text{HOOC-COO}^\bullet + \text{H}_2\text{O}$	$1.4 \cdot 10^6$
19.	$\text{HOOC-COO}^\bullet + \text{O}_2 \rightarrow \text{HO}_2^\bullet + 2\text{CO}_2$	$1 \cdot 10^8$
20.	$\text{HOOC-COO}^\bullet + \text{HOOC-COO}^\bullet \rightarrow (\text{COOH})_2 + 2\text{CO}_2$	$7.7 \cdot 10^6$

Особенностью является образование радикала HO_2^\bullet (реакция 19) вместо RO_2^\bullet и регенерация щавелевой кислоты (реакция 20). Радикалы HO_2^\bullet не разлагают щавелевую кислоту с заметной скоростью, поэтому с увеличением концентрации кислоты свечение не уменьшается. Рассчитанная зависимость хемилюминесценции щавелевой кислоты от её концентрации представлена на рисунке 3а. Видно, что с ростом концентрации щавелевой кислоты свечение возрастает. При уменьшении концентрации кислорода интенсивность хемилюминесценции уменьшается, и в отсутствии кислорода щавелевая кислота ведёт себя, как идеальный антиоксидант. При большой концентрации щавелевой кислоты в отсутствии кислорода расходуются не только радикалы OH^\bullet , генерируемые в реакции Фентона, но и образующиеся под действием внешнего фона. Из рисунка 3а видно, что при концентрации $[\text{Oxalic}] = 10^{-2} - 1$ Моль/л выход хемилюминесценции (кривая 3) становится существенно ниже уровня, обусловленного внешним фоном (линия 4).

Расчётная зависимость качественно подтверждается экспериментом с оксалатом натрия (рис. 3б). Основное отличие от схемы реакций, представленной в таблице 3, заключается в том, что с ростом концентрации щавелевой кислоты свечение только увеличивается, а не проходит через максимум и уменьшается, как на рис. 2. Более высокий выход хемилюминесценции по сравнению с чистым раствором Фентона обусловлен тем, что в растворе Фентона большая часть радикалов OH^\bullet гибнет во взаимодействиях между собой, не успевая превратиться в радикалы HO_2^\bullet . Когда добавляется щавелевая кислота досточно большой концентрации, так что $[\text{Oxalic}] > [\text{OH}^\bullet]$, основная доля радикалов OH^\bullet взаимодействует именно с ней, и радикалы OH^\bullet почти без потерь превращаются в радикалы HO_2^\bullet . С ростом концентрации щавелевой кислоты доля радикалов OH^\bullet , превратившихся в HO_2^\bullet , растёт.

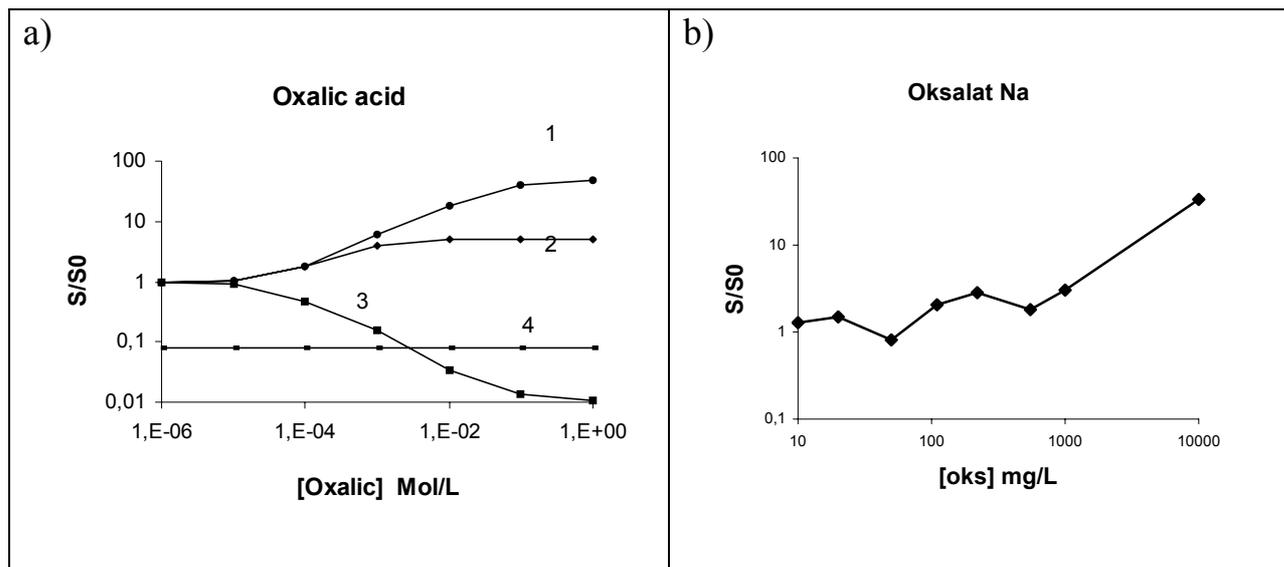


Рисунок 3. Хемилюминесценция щавелевой кислоты при окислении реактивом Фентона, $[Fe^{2+}] = 10^{-3}$ Моль/л, $[H_2O_2] = 10^{-4}$ Моль/л. S/S0 – см. рис.2.

а) Расчёт согласно схеме реакций, приведённой в таблице 4. [Oxalic] – концентрация щавелевой кислоты, моль/л.

1. Концентрация растворённого кислорода $[O_2] = 10^{-4}$ Моль/л.
2. $[O_2] = 10^{-6}$ Моль/л.
3. $[O_2] = 0$ (кислорода нет).
4. Хемилюминесценция раствора Фентона, обусловленная внешним радиационным фоном.

б) Экспериментальные данные для оксалата натрия, [oks] – концентрация оксалата натрия, мг/л. Немонотонный рост значений S/S0 обусловлен ошибками эксперимента.

Оценка свойств конкретного антиоксиданта с помощью реакции Фентона

В качестве примера рассмотрим аскорбиновую кислоту. Зависимость S/S0 в широком диапазоне концентраций аскорбиновой кислоты [Asc] представлена на рис. 4.

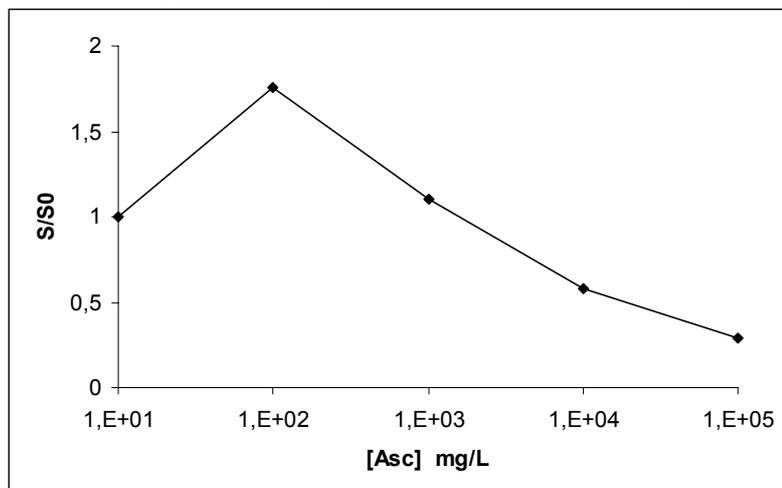


Рисунок 4. Хемилюминесценция аскорбиновой кислоты при окислении реактивом Фентона, $[Fe^{2+}] = 10^{-3}$ Моль/л, $[H_2O_2] = 10^{-4}$ Моль/л. S/S0 – см. рис. 2.

[Asc] – концентрация аскорбиновой кислоты, мг/л. Ошибка отношения S/S0 не превышает 5%.

При малых концентрациях [Asc] величина $S/S0 = 1$, что может быть связано в первую очередь с малым вкладом вторичных реакций, начало которым даёт взаимодействие $Asc + OH^\bullet$, в общий поток радикалов, генерируемых в реакции Фентона. С увеличением [Asc] отношение S/S0 становится больше единицы, затем уменьшается с ростом [Asc] и становится меньше единицы. При $S/S0 < 1$ можно говорить о выраженных антиоксидантных свойствах введённого в раствор Фентона вещества. Значение $S/S0 > 1$ свидетельствует о том, что число вторичных радикалов, образовавшихся в реакциях с введённым веществом, превышает число первичных, т.е. имеет место цепная реакция.

Наличие у аскорбиновой кислоты как антиоксидантных, так и прооксидантных свойств неоднократно отмечалось исследователями [8]. Прооксидантные свойства наблюдались при концентрации аскорбиновой кислоты порядка мМоль/л, что близко концентрации, при которой наблюдается максимум S/S0 на рис. 4. Авторы работы [8] сообщали, что аскорбиновая кислота в концентрациях порядка мМоль/л обладает другими свойствами по сравнению с большими концентрациями. С точки зрения схемы 1, свойства самой кислоты не меняются в зависимости от её концентрации. Меняется соотношение каналов отдельных реакций, происходящих при окислении Asc. Образовавшийся на первом этапе радикал аскорбата может взаимодействовать либо с кислородом, либо с самой аскорбиновой кислотой. При большой концентрации кислоты в силу закона действующих масс реакция аскорбата с кислородом будет маловероятна, и процессы окисления в системе будут подавляться. Но аскорбиновая кислота расходуется, и при уменьшении её концентрации до уровня ~ 1 мМоль/л реакция с кислородом выйдет на первое место. При этом вторичных радикалов станет больше, чем первичных.

Таким образом, анализ свойств антиоксидантов в рамках схемы 1 позволяет выявить особенности испытываемых веществ.

Выводы

1. Основным светящимся продуктом в растворе Фентона является димер синглетного кислорода. Свечение раствора прекращается, когда нарабатываемое трёхвалентное железо поглощает практически все радикалы $O_2^{\bullet-}$. Этот же механизм гашения свечения работает и для люминола в нейтральной среде.
2. Свечение органических веществ RH связано с наработкой радикалов RO_2^\bullet . В растворе, не содержащем кислород, свечения нет. При наличии кислорода с ростом концентрации RH начинает преобладать реакция $RH + RO_2^\bullet \rightarrow R^\bullet + ROOH$, и свечение прекращается.
3. Наблюдаемые для одного вещества оксидантные и прооксидантные свойства обусловлены одним и тем же механизмом реакции. При большой концентрации промежуточные радикалы, продукты реакции, поглощаются исходным веществом, и наблюдаются антиоксидантные свойства. При малой концентрации вводимого вещества промежуточные радикалы сохраняются, и наблюдаются прооксидантные свойства.
4. Делать вывод о прооксидантных или антиоксидантных свойствах вещества на основании измерений только при одной его концентрации некорректно.

Литература

1. Владимиров Ю.А., Проскурина Е.В. //Успехи биологической химии. 2009. Т. 49. С. 341 - 388.
2. Формазюк В.Е., Горшкова Т.Н., Сергиенко В.И. Способ определения антиоксидантной активности веществ. Патент РФ № 2163021. Б.И. 2001 г №2. http://ntpo.com/patents_medicine/medicine_6/medicine_2170.shtml

3. Аристова Н.А., Иванова И.П., Трофимова С.В., Князев Д.И., Пискарев И.М. Люминол-зависимое свечение, сопровождающее реакцию Фентона. // Электронный журнал «Исследовано в России», 008. Стр. 77-86. 2011 г. <http://zhurnal.ape.relarn.ru/articles/2011/008.pdf>
4. Пикаев А.К., Кабакчи С.А. Реакционная способность первичных продуктов радиолитиза воды. Справочник. 1982. М.: Энергоатомиздат. С. 201.
5. Кулагин Ю.А., Шелепин Л.А., Ярыгина В.Н. Кинетика процессов в газовых средах, содержащих метастабильный кислород//Труды ФИАН им. П.Н.Лебедева. 1994. Т. 218. С. 166 – 227.
6. Сараева В.В. Окисление органических соединений под действием ионизирующих излучений. 1991. М.: Издательство Московского университета. С. 261.
7. Аристова Н.А., Мокина Т.С., Пискарев И.М. Окисление муравьиной и щавелевой кислот в безэлектродной электрохимической реакции.//Журнал общей химии. 2003. Т. 73. Вып. 5. С. 756 – 760.
8. Рябченко Н.И., Рябченко В.И., Иванник Б.П., Дзиковская Л.А., Синькова Р.В., Грошева И.П., Дегтярёва Е.С., Иванова Т.И. Антиоксидантные и прооксидантные свойства аскорбиновой кислоты, дигидро кверцетина и мексидола в радикальных реакциях, индуцированных ионизирующим излучением и химическими реагентами.//Радиационная биология. Радиоэкология. 2010. Т. 50. №2. С. 186 – 194.