

烧杯中的彩虹——从化学发光探寻分子的奥秘

参赛选手:

指导教师:

摘要: 荧光棒——我们生活中常见的小物件，背后隐藏着丰富的化学发光原理。本科普实验采用双草酸酯（CPPO）与染料分子的能量传递所产生的间接发光，以及鲁米诺分子自身所产生的直接发光来展示化学发光这一神奇的魔法。实验通过乙酸铵催化探究、混合调制白光、鲁米诺字迹显色这三个有趣的实验由浅入深地通过可视化的发光现象，展示催化剂的原理、白光显示原理以及犯罪现场血迹显色等应用。将多彩的化学发光现象与基础化学知识以及日常生活结合起来，科普多彩化学发光背后分子世界的奥秘，以美丽的反应现象激发各年龄段和不同教育层次科普受众的兴趣，帮助社会大众更好地了解化学发光原理、体验化学之趣、知晓化学之用。

关键词: 化学发光；鲁米诺；双草酸酯；白光调制

Rainbow in the Beaker - Exploring the Mysteries of Molecules through Chemiluminescence

Abstract: Glow sticks - a common item in our lives, conceals a rich principle of chemiluminescence. This popular science experiment utilizes the indirect luminescence produced by the energy transfer of bis (2,4,5-trichloro-6-carboxyphenyl)oxalate (CPPO) and dye molecules, as well as the direct luminescence generated by luminol molecules themselves, to showcase the magic of chemiluminescence. This experiment explores ammonium acetate as a catalyst, creates white light through mixing and modulation, and reveals luminol's role in crime scene blood detection. With three engaging procedures, this experiment visualizes the principles of catalysts, the nature of white light in our daily life, and the application of revealing bloodstains at crime scenes, connecting the colorful phenomena of chemiluminescence with basic chemistry knowledge and everyday life. With the fascinating reaction phenomena, it sparks interest among popular science audiences of all ages and educational levels, helping the general public to better understand the principles of chemiluminescence, experience the joy of chemistry, and understand its practical applications.

Key Words: Chemiluminescence; Luminol; CPPO; White light modulation

1 引言

“银烛秋光冷画屏，轻罗小扇扑流萤”人们自古便追逐光，萤火虫发光的背后是萤光素（Luciferin）的化合物在酶催化下进行的生物化学反应。化学发光（Chemiluminescence, CL）是由化学反应所引发的分子发光现象¹。化学反应体系中某种物质吸收反应过程中释放的能量，由基态跃迁至激发态，不稳定的激发态在弛豫到基态的过程中，能量以光的形式辐射出来，形成化学发光。区别于火焰或者白炽灯这种高温光源，化学发光在发光过程中没有明显的热量产生，是一种冷光源。在1877年首个化学发光分子2,4,5-三苯基咪唑被发现²，拉开了化学发光研究的序幕。1928年，Albrecht首次报道了鲁米诺（3-氨基邻苯二甲酰肼，Luminol）在碱性溶液中的化学发光行为，至此，化学发光现象得以真正开始应用³。随后，Gleu和Petsch发现的光泽精⁴、联吡啶钌的化学发光⁵以及过氧化草酸酯体系⁶等，一系列的经典发光体系被报道出来，走进了大众的生活^{7,8}。

伴随着技术进步与化学发光研究的进一步深入，其被应用在化学发光法分析⁹、化学发光荧光免疫技术¹⁰、环境质量检测¹¹、基因序列检测¹²等诸多领域。在前沿科学研究中，

科学家们基于化学发光开发出了一系列诊疗手段，获得了更高的成像信噪比以及更好的治疗效果，并在未来可被应用于活体成像¹³及癌症治疗¹⁴等领域。

本实验展示的鲁米诺化学发光体系与双草酸酯化学发光体系，均为经典发光体系，已经取得了广泛的应用，且与我们日常生活联系紧密。化学发光实验现象绚丽惊艳，给人以美的视觉冲击，能让人在感受化学的神奇的同时感悟万物变化之美。依托化学发光反应在科普上的优势，我们针对不同知识水平的群体，通过不同的方式阶段性的展示了化学发光反应及其背后的化学知识，化学发光的科普利于提高社会大众的化学素养，同时利于培养其审美情趣。

2 实验部分

2.1 实验原理

2.1.1 化学发光

如图 1 所示，化学发光可分为直接化学发光与间接化学发光两类。直接化学发光通过反应物与氧化剂如过氧化氢、氧气等进行反应，在反应过程中吸收能量并生成激发态产物，在激发态产物返回基态时从而产生化学发光。而间接化学发光则是通过激发态的产物作为能量给体，通过能量传递过程将染料分子激发，在返回基态时发出染料分子的光，因此间接化学发光可以具有更为丰富的光色，常被用于荧光棒的制作。在本实验中涉及到的鲁米诺与双草酸酯体系分别属于直接化学发光与间接化学发光¹⁵。

(a) 直接化学发光



(b) 间接化学发光

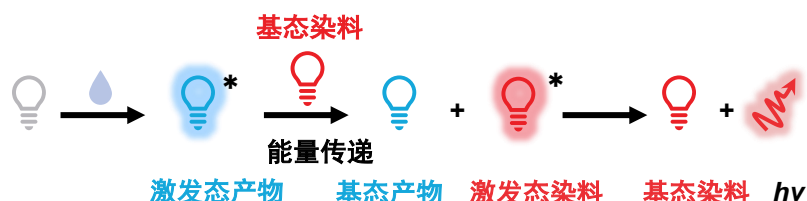


图 1 (a) 直接发光原理示意图，(b) 间接发光原理示意图¹⁵

2.1.2 鲁米诺化学发光

鲁米诺在碱性条件下与过氧化氢分解产生的活性氧发生环化反应(图 2a)，得到不稳定的环状内式过氧化物，该物质会立即分解释放氮气并得到激发态的 3-氨基邻苯二甲酸化合物，该化合物从激发态跃迁回到基态时，将能量以光的形式释放出来，形成直接化学发光。

2.1.3 双草酸酯化学发光

双草酸酯与过氧化氢发生环化反应，生成具有较高环张力的四元环过氧化物(图 2b)。不稳定的过氧化物会进一步发生分解，并在此过程中将能量传递给染料分子，从而将其激发至激发态，在染料返回基态时能量以光的形式被释放出来，形成间接化学发光。

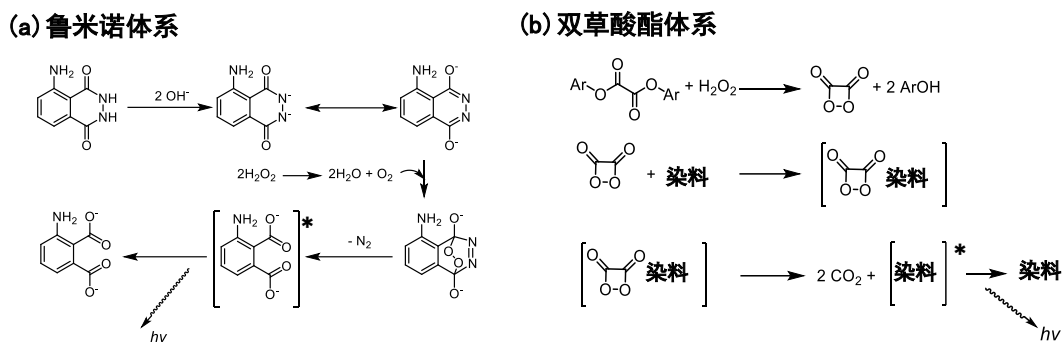


图 2 (a) 鲁米诺发光反应机理¹⁶, (b) 双草酸酯发光反应机理¹⁷

2.2 试剂或材料

表 1 试剂材料信息表

试剂	规格	生产厂家
四溴荧光素	5 g (97%)	毕得医药
9,10-双苯乙炔基蒽	5 g (95%)	毕得医药
芘	5 g (99%)	广州化学试剂厂
罗丹明 B	5 g (分析纯)	阿拉丁
草酸双[2,4,5-三氯-6-(戊氧羰基)苯基]酯 (CPPO)	5 g (98%)	麦克林
乙酸乙酯	5000 mL (分析纯)	General Reagent
过氧化氢	500 mL (30%)	广州化学试剂厂
乙酸铵	500 g (99.996%)	阿拉丁
鲁米诺	5 g (98%)	麦克林
氢氧化钠	2.5 kg (分析纯)	麦克林
铁氰化钾	500 g (分析纯)	广州化学试剂厂

2.3 仪器和表征方法

(1) 实验中涉及的实验仪器品牌及型号

表 2 实验仪器相关信息

仪器	品牌	型号
水写笔	\	\
分析天平	梅特勒托利多	ME104/02
磁力搅拌器	海道夫	Hei-Connect
光谱仪	海洋光学	QE65pro

(2) 化学发光光谱测试方法

化学发光无需激发光源即可实现样品的光谱测定, 因此使用光纤光谱仪对各个样品的化学发光行为进行表征(图 3)。将配置好的发光溶液加入比色皿中, 并将光纤置于距离比色皿 0.5 cm 处, 在黑暗下对样品的化学发光光谱进行测定。并对光谱图以及 CIE 坐标进行记录。

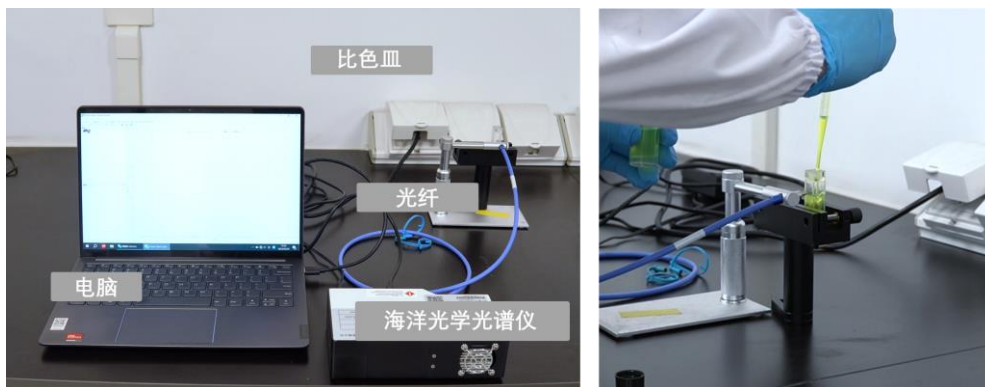


图 3 光谱测试系统及光谱测试过程

2.4 实验步骤

2.4.1 样品配置及测试方法

(1) CPPO 药品称量与溶液配置

如图 4 所示，称取四溴荧光素 500 mg，9, 10-双苯乙炔基蒽 200 mg，茈 40 mg，罗丹明 B 200 mg，草酸[2,4,5-三氯-6-(戊氧羰基)苯基]酯 (CPPO) 4 g。使用 100 mL 乙酸乙酯分别溶解，并转移至样品瓶中备用。称取 100 mg 乙酸铵将其用蒸馏水配置成 1 mg/mL 催化剂储备液并转移至样品瓶中备用。取 50 mL 过氧化氢 (30%) 溶液于样品瓶中备用。

(2) CPPO 发光溶液配置

向样品瓶中依次加入 5 mL 四溴荧光素储备液、5 mL CPPO 储备液，过氧化氢溶液以及乙酸铵溶液，将溶液摇匀后，反应体系在黑暗中发出黄光。

9, 10-双苯乙炔基蒽、茈、罗丹明 B 发光溶液配置流程与四溴荧光素相同，只是将染料溶液更换为各自储备液。

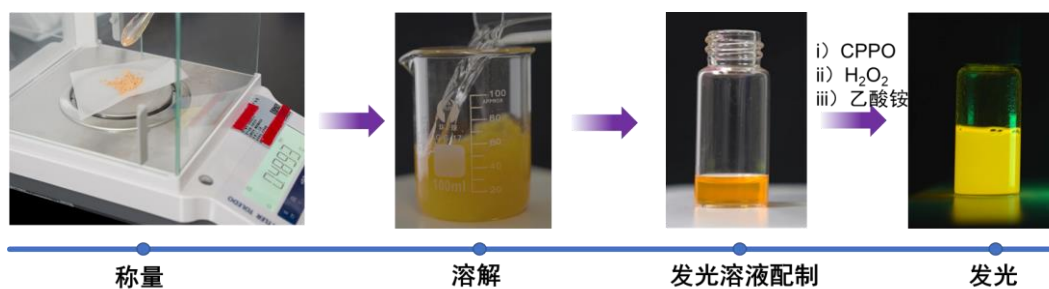


图 4 药品称量、溶解、发光溶液配置流程图 (以四溴荧光素为例)

(3) 鲁米诺发光体系药品称量及溶液配置

鲁米诺储备液配置：称取鲁米诺 0.8 g，氢氧化钠 5 g。将称取的鲁米诺和氢氧化钠在 500mL 烧杯中配置成 450 mL 水溶液，并加入 50 mL 过氧化氢 (30%) 溶液备用。

铁氰化钾储备液配置：称取铁氰化钾 2 g，加入到在 500 mL 烧杯中，并加入 500 mL 蒸馏水配置成铁氰化钾储备液备用。将鲁米诺储备液与铁氰化钾储备液混合后即可发出明亮的蓝光 (图 5)。

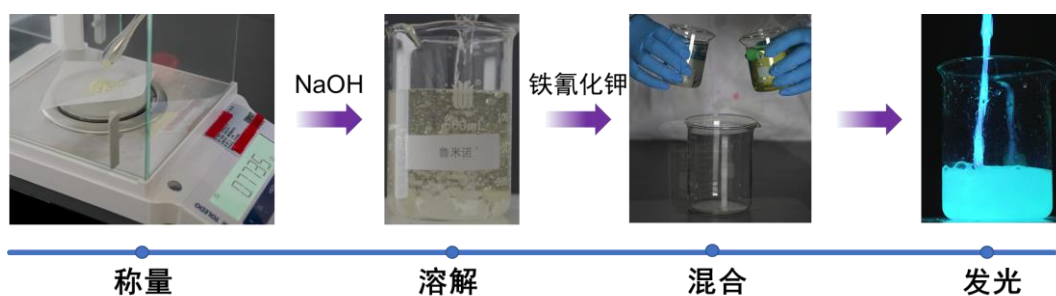


图 5 鲁米诺发光实验药品称量及溶液配制

2.4.2 双草酸酯发光实验

(1) 催化剂加入对化学发光强度影响的探究

由于化学发光的能量来源为化学反应，因此发光强度与化学反应速率呈现正相关，为了探究催化剂对化学发光的影响，我们分别采用 9, 10-双苯乙炔基蒽发光体系对催化剂对化学发光强度的影响进行了探究（图 6）。

向配置好的 9,10-二苯基乙炔蒽发光体系中加入乙酸铵溶液后，化学发光由原始微弱的发光转变为强烈的发光（图 6a）。对发光体系进行光谱测试，发现在加入催化剂前后，荧光发射强度提升了约 100 倍（图 6b），这表明催化剂的加入对化学发光强度具有显著影响。

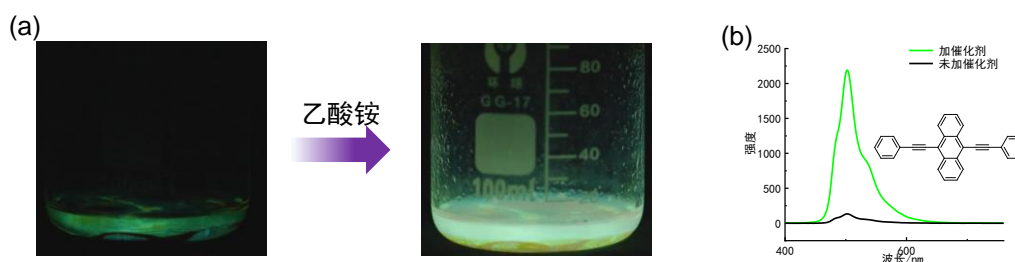


图 6 (a) 加入乙酸铵前后 9, 10-双苯乙炔基蒽发光体系发光强度变化, (b) 加入乙酸铵前后 9, 10-双苯乙炔基蒽发光体系光谱测试结果

依照此方法，对剩余三种 CPPO 化学发光体系进行相同测试，分别得到在加入催化剂前后的光谱图（图 7）。四种发光体系在加入催化剂前后发射强度均发生了显著增强，但最大发射波长均未发生显著位移，说明乙酸铵的加入只加速了化学反应，并不会改变发光分子的发射行为，从而验证了乙酸铵的催化作用。值得注意的是，其中四溴荧光素在加入催化剂后发射强度提升了近一千倍（图 7a）。

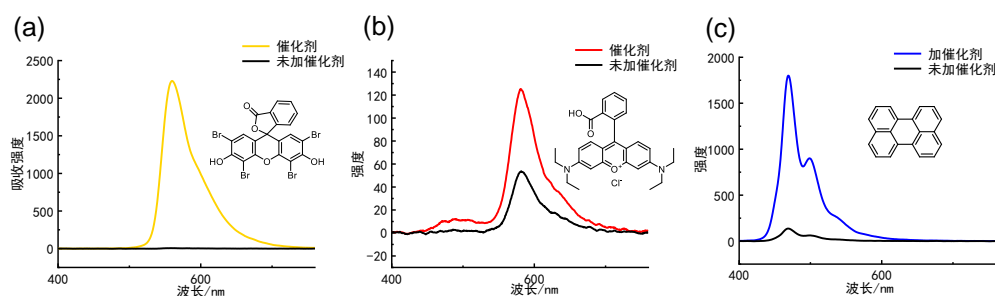


图 7 加入乙酸铵催化剂前后 (a) 四溴荧光素、(b) 罗丹明 B、(c) 花的化学发光光谱图

因此接下来，我们以四溴荧光素作为催化剂实验演示方案，科普化学发光以及催化剂在化学反应中的重要性（图 8）。配置不含乙酸铵催化剂的四溴荧光素发光溶液，可以看到在黑暗中，溶液自身发光通过肉眼几乎无法捕捉，向瓶中加入乙酸铵固体，通过发光现象将催化反应发生的位置进行可视化。随着乙酸铵在溶液中的逐步溶解扩散，形成了丝状的发光带，将其溶解及扩散过程清晰地展示出来，具有极佳的观赏性。随着乙酸铵扩散混合完毕，整体溶液发出橙黄色的荧光，表明催化剂的加入对化学发光体系具有非常重要的作用。

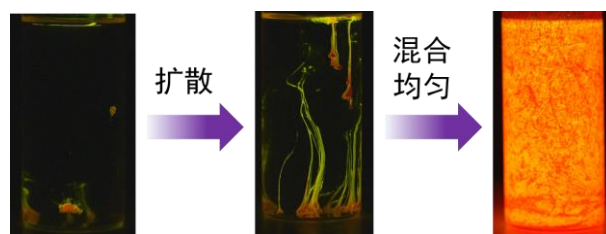


图 8 向四溴荧光素体系中加入乙酸铵固体后的化学发光现象

(2) 白光发射实验

在建立上述四种化学发光体系后，我们注意到，其中三种染料：罗丹明 B、9, 10-双苯乙炔基蒽以及苝分别可以发出红、绿、蓝三种颜色的光（图 9a）。结合白光调制原理（图 9b），我们探究了三种发光样品溶液在混合后的发光现象。通过将三种溶液按照不同比例混合，可以得到具有多发射中心的光谱。向若干样品瓶中依次加入 1 mL 罗丹明 B 溶液，1 mL 苝溶液；之后，向样品瓶中依次加入 0 mL, 0.075 mL, 0.15 mL, 0.30 mL, 0.45 mL, 0.60 mL, 0.75 mL 的 9,10-双苯乙炔基蒽溶液；之后向样品瓶中加入乙酸铵溶液和过氧化氢溶液，关灯，静止一段时间后观察发光现象。将各个比例的发光溶液转移至比色皿中，进行光谱测试并绘制 CIE 图像。在对混合比例进行优化后，在体积比为罗丹明 B 溶液：9,10-双苯乙炔基蒽溶液：苝溶液 = 1:0.15:1 时我们得到了 CIE 坐标为 (0.31, 0.34) 的白光发射（图 9c-e），并通过此实验，展示光的三原色以及生活中获得白光的原理。

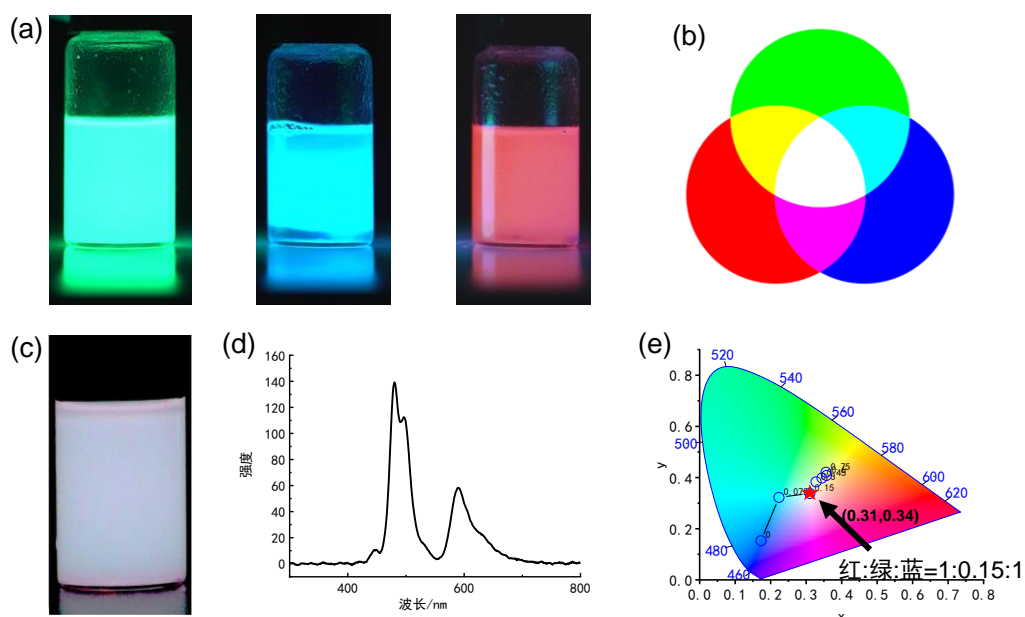


图 9 (a) 具有绿光、蓝光、红发射的三种发光溶液；(b) 白光调制原理；(c) 混合后得到的白光发射样品；(d) 白光发射光谱图；(e) 不同比例下的 CIE 色坐标变化图

2.4.3 鲁米诺发光实验

鲁米诺作为常用于犯罪现场的血迹显色试剂，在刑侦领域具有重要作用。在碱性条件下通过将鲁米诺的溶液与模拟血液——铁氰化钾混合，可在溶液中出现幽蓝的荧光。在此反应中铁氰化钾作为催化剂，加速过氧化氢的分解以及鲁米诺与活性氧的反应。在未加入铁氰化钾时，溶液呈现无色，并未出现肉眼可观察的发光（图 10a）。通过向鲁米诺溶液中慢速逐滴加入铁氰化钾时，溶液发出幽蓝的光，并随着其扩散亮度逐渐减弱（图 10b）；当瞬间加入大量铁氰化钾时，溶液发出明亮的蓝光，并冒出大量气泡，说明此时过氧化氢的分解加速（图 10c）。通过此实验展示了鲁米诺在铁氰化钾催化下的化学发光行为。

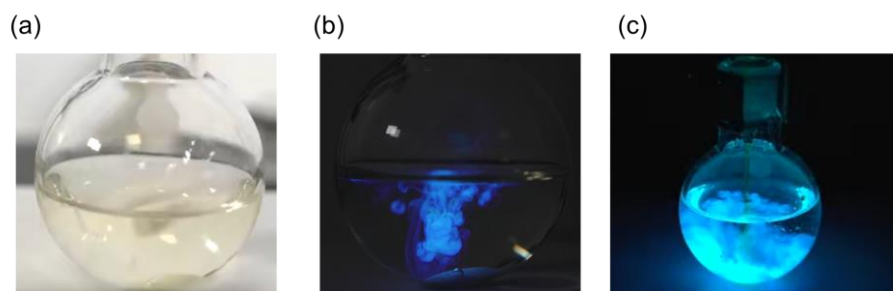


图 10 (a) 鲁米诺溶液，(b) 缓慢滴加铁氰化钾后鲁米诺发光，(c) 迅速加入铁氰化钾后的鲁米诺发光

进一步地，我们对鲁米诺在犯罪现场的应用进行了模拟（图 11），用使用水写笔吸取铁氰化钾溶液，并在白纸上写出字迹，在可见光下，字迹显色较弱，与背景对比度不强；在黑暗中向字迹上倾倒鲁米诺溶液后，字迹发出强烈蓝光，字迹展现出强显色，并出现 Chemistry 字样，通过此反应可以在犯罪现场进行血迹显色，通过向现场喷洒鲁米诺溶液后进行长时间曝光即可显示出血液泼溅的痕迹，对刑事案件的侦破具有重要作用。

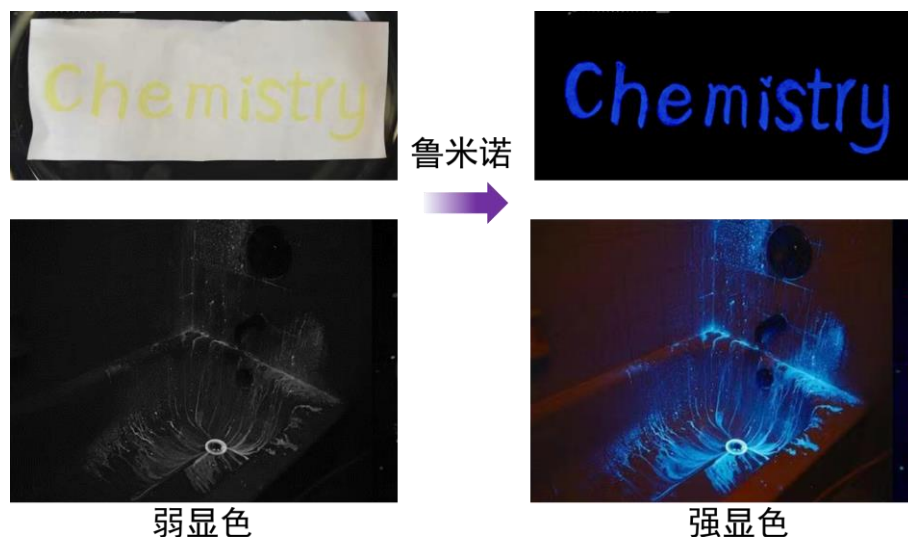


图 11 鲁米诺显色演示

3 科普展示和互动方案

在对于化学发光相关原理介绍的基础之上，我们通过多种途径与方式，让不同知识水平的科普受众充分体验到发光化学之趣、之美、之用。

互动方案如下：

(1) 面向小学生

我们施行“科普进课堂”的方式，通过在科学课上播放科普视频来使小学生感受发光化学之美，沉浸式体验化学的乐趣，增强小学生的化学素养（图 12）。看完科普视频后小学生们纷纷表示“化学实验十分有趣”、“让我想做一条萤光河”等等，充分展示了化学的魅力和化学实验的启发性。



图 12 面向小学生的科普方案及学生感想

(2) 面向中学生

对于具有一定化学基础的中学生，在班级设置兴趣小组，并为对于化学实验感兴趣的 同学播放了科普视频，将实验过程与基础课程中催化剂、热力学等知识结合，帮助中学生 巩固化学基础（图 13a）。对于竞赛生展示化学发光原理，从更深层次理解化学反应，并介 绍分子激发态等相关知识。

(3) 面向大学生

在学院的“化学节”活动中与大学生积极互动（图 13b），将发光化学知识与有机化 学、仪器分析、物理化学等课程内容相结合，由浅入深展示化学发光原理，阐释化学发光 在分析领域的应用。同时向非化学专业的大学生科普化学知识，展示化学之美，让其亲手 操作实验，体验有趣的化学发光。



图 13 面向 (a) 中学生，(b) 大学生，(c) 社会群体以及 (d) 新媒体科普方案

(4) 面向广大社会群体

针对广大社会各个年龄阶段群体，我们分别通过线上和线下的方式对发光现象进行展示。在“化学节”进行趣味小游戏，通过现场演示的方式，让小朋友们体验趣味化学，让成年人知晓化学之用（图 13c）。通过新媒体平台如 bilibili、腾讯视频号等对化学发光实验进行展示，视频发布三天即获得了两千余次播放，取得了良好的宣传效果，展现出了公众对化学发光强烈的好奇心（图 13d）。

4 结语

化学发光反应的应用贴近生活，与我们息息相关。相关实验操作简单，现象美丽，体验趣味性高，科普实验安全且绿色，引起了科普受众极大的兴趣，绚丽的实验现象可以让各年龄段的科普受众充分感受到化学之美。

5 科普特色声明

- (1) 该实验绿色、环保，操作简单，科普受众可亲手操作，体验化学发光之趣。
- (2) 通过发光将化学反应可视化，科普了化学反应的基本原理与过程。
- (3) 实验具有视觉冲击力，通过瓶中的溶液发光，向大众展示了化学之美。

参考文献:

1. Luo, Y.; Peng, R.; Cui, Q.; Niu, P.; Li, L., Internal Chemiluminescence Light-Driven Photocatalysis. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2021**, *13* (50), 60471-60477.
2. Radziszewski, B. R., Untersuchungen über Hydrobenzamid, Amarin und Lophin. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1877**, *10* (1), 70-75.
3. Albrecht, H. O., Über die Chemiluminescenz des Aminophthalsäurehydrazids. *Z. Phys. Chem.* **1928**, *136U* (1), 321-330.
4. Gleu, K.; Petsch, W., Die Chemiluminescenz der Dimethyl-diacridyliumsalze. *Angew. Chem.* **1935**, *48* (3), 57-59.
5. Hercules, D. M.; Lytle, F. E., Chemiluminescence from Reduction Reactions. *J. Am. Chem. Soc.* **1966**, *88* (20), 4745-4746.
6. Thimmaiah, K. N.; Lloyd, W. D.; Chandrappa, G. T., Stereochemistry and fungitoxicity of complexes of p-anisaldehydethiosemicarbazone with Mn(II), Fe(II), Co(II) and Ni(II). *Inorg. Chim. Acta.* **1985**, *106* (2), 81-83.
7. 陈效兰. 鲁米诺化学发光体系的增强研究及其相关应用[D]. 长沙: 中南大学, 2013.
8. 朱秋菊. 化学发光功能化纳米材料的合成、性质的研究及其分析应用[D]. 合肥: 中国科学技术大学, 2020.
9. Liu, M.; Wang, Z.-Y.; Zhang, C.-Y., Recent Advance in Chemiluminescence Assay and Its Biochemical Applications. *Chinese J. Anal. Chem.* **2016**, *44* (12), 1934-1941.
10. Chen, G.; Jin, M.; Du, P.; Zhang, C.; Cui, X.; Zhang, Y.; Wang, J.; Jin, F.; She, Y.; Shao, H.; Wang, S.; Zheng, L., A review of enhancers for chemiluminescence enzyme immunoassay. *Food Agric. Immunol.* **2017**, *28* (2), 315-327.
11. Mikuška, P.; Bruženiák, L.; Večeřa, Z., Detection of peroxyacetyl nitrate in air using chemiluminescence aerosol detector. *Chem. Pap.* **2014**, *68* (11).
12. Yao, J.; Li, L.; Li, P.; Yang, M., Quantum dots: from fluorescence to chemiluminescence, bioluminescence, electrochemiluminescence, and electrochemistry. *Nanoscale* **2017**, *9* (36), 13364-13383.

13. Cui, D.; Li, J.; Zhao, X.; Pu, K.; Zhang, R., Semiconducting Polymer Nanoreporters for Near-Infrared Chemiluminescence Imaging of Immunoactivation. *Adv. Mater.* **2020**, *32* (6), e1906314.
14. Mao, D.; Wu, W.; Ji, S.; Chen, C.; Hu, F.; Kong, D.; Ding, D.; Liu, B., Chemiluminescence-Guided Cancer Therapy Using a Chemiexcited Photosensitizer. *Chem* **2017**, *3* (6), 991-1007.
15. Yang, M.; Huang, J.; Fan, J.; Du, J.; Pu, K.; Peng, X., Chemiluminescence for bioimaging and therapeutics: recent advances and challenges. *Chem. Soc. Rev.* **2020**, *49* (19), 6800-6815.
16. Giussani, A.; Farahani, P.; Martinez-Munoz, D.; Lundberg, M.; Lindh, R.; Roca-Sanjuan, D., Molecular Basis of the Chemiluminescence Mechanism of Luminol. *Chem. Eur. J.* **2019**, *25* (20), 5202-5213.
17. Kuntzleman, T. S.; Rohrer, K.; Schultz, E., The Chemistry of Lightsticks: Demonstrations To Illustrate Chemical Processes. *J. Chem. Educ.* **2012**, *89* (7), 910-916.