



Po sledih zločina – forenziki na delu

Učiteljeva priprava

Avtor: red. prof. dr. Margareta Vrtačnik

Institucija: Naravoslovnotehniška fakulteta UL

Kompetence

Učna enota »Po sledih zločina« je namenjena razvijanju naslednjih kompetenc:

- pridobivanje novega znanja in razumevanje s področja kemiluminiscence, bioluminiscence
- sposobnost opredeljevanja problemov
- sposobnost uporabe znanja za reševanje realnih problemov
- sposobnost iskanja informacij po svetovnem spletu
- uporaba znanja za načrtovanje poskusov
- izvajanje poskusov, opazovanje, zapisovanje rezultatov
- sposobnost analize in sinteze podatkov ter reševanje problemov
- sposobnost komuniciranja
- sposobnost pisnega poročanja

Umestitev v učni načrt

Učna enota presega znanje, ki ga predvideva veljavni učni načrt za srednje šole, predstavlja pa lahko dobrodošlo nadgradnjo vsebinskih sklopov: energijske spremembe pri kemijskih reakcijah, kataliza, encimi, hemoglobin. Značilnost enote je, da teoretično znanje s področja kemiluminiscence poveže s praktično uporabo v forenziki. Enota je tudi primer izvedbe pristopa reševanja problemov v šolski praksi. S tem enota morda privede do razumevanje vrste TV nadaljevanj, pri katerih spoznavamo delo forenzikov, vendar zgolj na površini.


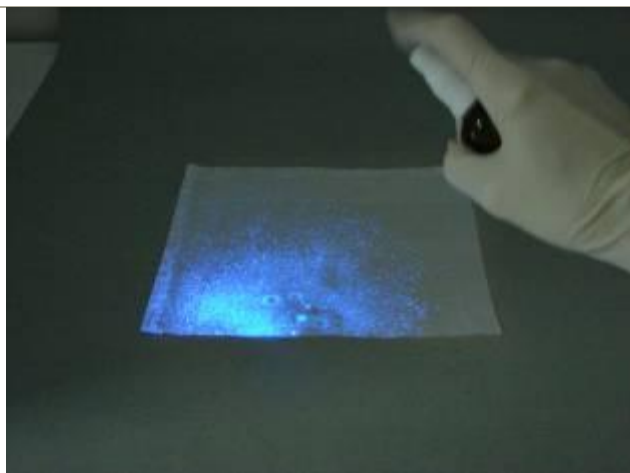
Predznanje

- reakcija razpada vodikovega peroksida
- kataliza in katalizator
- energija pri kemijskih reakcijah
- oksidant, reducent
- hidroksidi

Predstavitev raziskovalnega problema

Učitelje razdeli dijakom problem »Po sledih zločina – forenziki na delu« jim pusti čas, da preberejo besedilo problema in nato demonstrira luminolni test na krpi, ki je navidezno povsem čista, vendar so na njej po pranju domnevno še ostali očem nevidni ostanki krvi, Tabela 1.

Tabela 1: Luminolni test

	
Slika 1: Krpa, navidezno brez sledi krvi	Slika 2: Krpa po orositvi z raztopino luminola

Izvedba testa – predhodna priprava

Priprava imitacije krvnih madežev

Pred učno uro belo krpo na večih mestih omočimo z varikino. Krpo nekoliko osušimo s papirnato brisačo. (Varikina je v funkciji hema v krvi, ki katalizira razpad vodikovega peroksida, ki je dodan raztopini luminola. Poskusi s telesnimi tekočinami so v šoli prepovedani.)

Hemin, kot nadomestek za človeško kri je predrag, da bi ga šole kupile, zato si lahko kemiluminiscenco, ki jo povzroči hemin, ogledate na filmskem posnetku *Kemiluminiscenca.avi**, ki je dodan enoti.

*Film ima dva dela. V prvem opazujemo pojav neposredne kemiluminiscence luminola ob dodatku oksidanta hemina, v drugem je prikazana posredna kemiluminiscenca, ko aktiviran kompleks luminola preda energijo barvilu, ki ima vlogo senzibilizatorja. Senzibilizatorja sta pri poskusu Na-fluorescein in Radamin B. Molekule senzibilizatorja preidejo v vzbujeno stanje in pri vračanju v osnovno stanje sevajo svetlobo, ki ima drugačno valovno dolžino, kar opazimo s spremembo barve kemiluminiscence.

Priprava raztopine luminola: 1g luminola in 20 g Na_2CO_3 raztopimo v 250 mL destilirane vode.

Raztopina peroksida: pripravimo 100 mL 3 % H_2O_2 .



Demonstracija luminolnega testa v razredu

Z razpršilko, v katero smo dali 10 mL raztopine luminola in 10 mL raztopine vodikovega peroksida, orosimo krpo, na kateri naj bi bili sprani madeži krvi in si v temi ogledamo rezultat. Na mestih, kjer naj bi bili ostanki krvi, opazimo značilno modrozeleno emisijo svetlobe, glej sliko.

Po prikazu luminolnega testa, učitelj spodbuja dijake, da si zastavijo vprašanja, ki bodo v pomoč pri iskanju odgovorov v zastavljeni nalogi.

Iniciacija ključnih vprašanj

V razgovoru z dijaki jih ob nenehnem spodbujanju in usmerjanju vodimo toliko časa, da uspejo zastaviti ključni vprašanja za rešitev naloge:

Kaj je luminol in kako reagira s krvjo?

(Kompetenca – sposobnost prepoznavanja problema.)

Iskanje informacij - pomoč

Šele, ko so dijaki zastavili ključni vprašanja, dobijo nalogo, naj naredijo načrt, kako se bodo lotili iskanja odgovorov na zastavljeni vprašanja.

Pri tem jih ponovno po potrebi usmerjamo s podvprašanji. Kje lahko dobimo informacije in podatke, ki jih ne poznamo? (Knjige, članki, svetovni splet.)

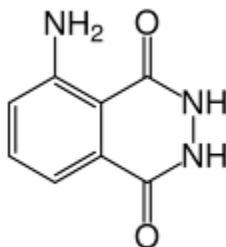
Šele, ko presodimo, da se dijaki zavedajo potrebe po iskanju informacij, jim nudimo pomoč v obliki spletnih naslovov v Wikipediji.

(Kompetenca – sposobnost iskanja informacij.)

Rezultat iskanja informacij o luminolu in reakciji

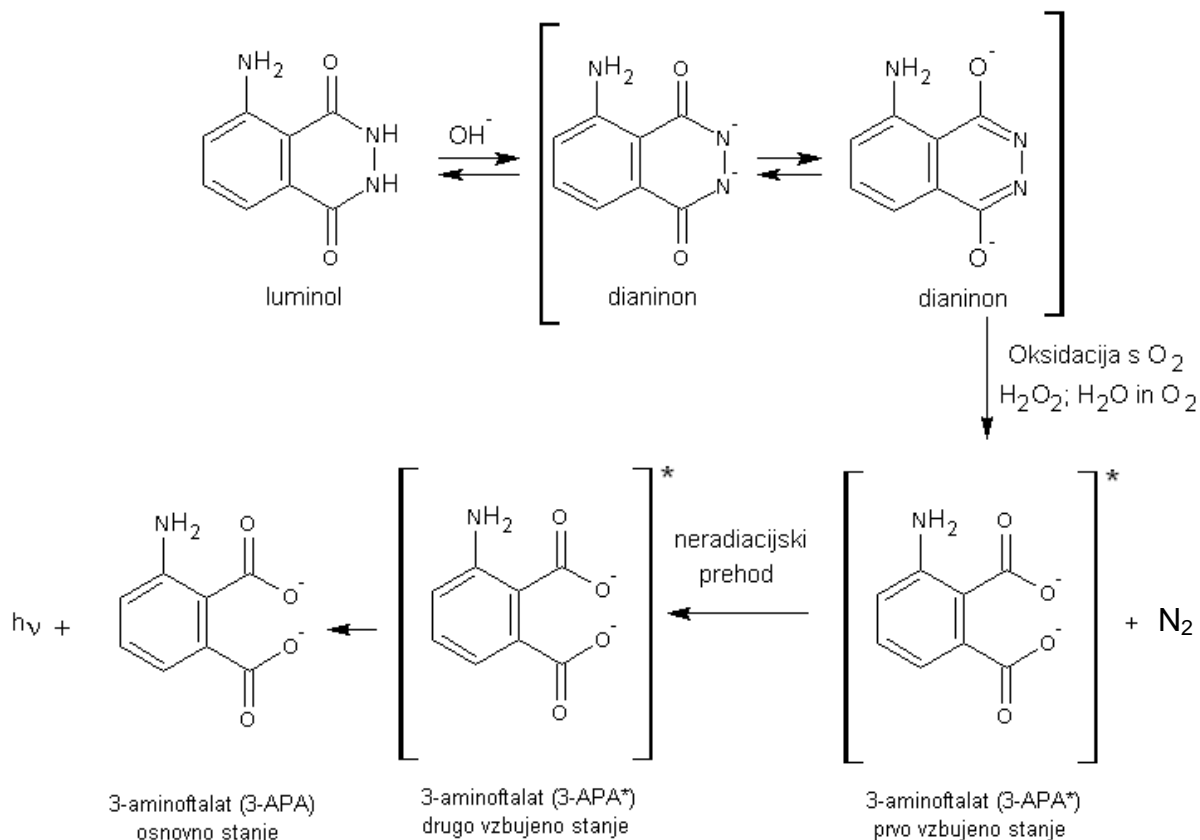
Na spletnem naslovu: <http://sl.wikipedia.org/wiki/Luminol>

najdejo dijaki strukturno formulo in reakcijsko shemo reakcije luminola z vodikovim peroksidom.



Slika 3: Strukturna formula luminola

Reakcijska shema reakcije luminola z vodikovim peroksidom – kemiluminiscenca.



*Uporaba izrazov singletno stanje oz. tripletno stanje opustimo, ker razlaga presega raven srednješolske kemije. Izraza nadomestimo z izrazoma vzbujeno stanje in osnovno stanje. To je dovolj za razumevanje pojma kemiluminiscence, ki ga razvijemo v nadaljevanju učne enote. Prvo vzbujeno stanje je tripletno, drugo je singletno. Prehod med obema je neradiacijski.

(Kompetenca – sposobnost prenosa informacij v elektronski obliki.)

Teoritični del – razloži učitelje

Za poglobitev teoretičnega znanja s področja kemiluminiscence in njene uporabe v forenziki, je učitelju na voljo prispevek *Uporaba luminola v sodni medicini, Teoretične osnove za učitelja* (priredba članka Barni s sodelavci, 2007).

Reakcijsko shemo luminola z vodikovim peroksidom v bazičnem mediju razložimo v poenostavljeni obliki z uporabo animacije *Luminol_reakcija.swf*. Animacija prikazuje odcep protonov iz molekule luminola v prisotnosti hidroksida in nastanek dianiona, ki je resonančno stabiliziran. Sledi oksidacija dianiona luminola. Oksidant je kisik, ki nastane pri katalitičnem razpadu vodikovega peroksida, kot katalizator razpada učinkujejo Fe^{3+} ioni, ki se nahajajo v krvnih madežih*. Produkt oksidacije dianiona je oksidirani dianion v



vzbujenem stanju, ki se relaksira pri prehodu v osnovno stanje s sevanjem svetlobe značilne modrozeleno barve. Pojav imenujemo **kemiluminiscenca**.

* Hemoglobin, ki se nahaja v rdečih krvničkah ima na barvilo hem vezane Fe^{2+} ione, ki jih pred oksidacijo ščitijo kompleksni encimatski mehanizmi. Ko pa je kri izpostavljena delovanju okolja (kri, ki priteče iz telesa), poteče oksidacija Fe^{2+} ionov v Fe^{3+} ione, zato kri tudi spremeni barvo iz svetlo rdeče v rjasto rjavo. Fe^{3+} ioni so tisti, ki katalizirajo razgradnjo peroksida pri luminolnem testu.

Na višji ravni lahko razložimo absorpcijo energije in relaksacijo vzbujene molekule, katere posledice so lahko radiacijski ali pa neradiacijski prehodi z diagramom elektronskih stanj v molekuli. Pomagamo si z animacijo dela Jablonskega diagrama, ki je izvedena v zahtevnejši obliki kot

Jablonski_diagramU.swf in v poenostavljeni obliki Jablonski_diagramD.swf, brez prikaza tripletnega stanja in uporabe izraza singletno stanje.

(Kompetenca – razumevanje.)

Ponovno pri problemu - povzetek

Kakšno vlogo je torej imela kri pri luminolnem testu? Zakaj je samo tisti del krpe, kjer so bili madeži krvi, seval svetlobo? Spodbujamo dijake k razmišljanju, da je kri katalizirala razgradnjo vodikovega peroksida v vodo in kisik. Na delih brez katalizatorja reakcija ni potekla, zato tudi ni bilo zaznati značilnega svetlikanja. Razgradnjo vodikovega peroksida so katalizirali Fe^{3+} ioni, ki so koordinacijsko vezani v porfirinski obroč hema. Spodbujamo razmišljanje o lastnostih Fe^{3+} ionov, kar nas privede do predpostavke, da so železovi ioni pri razpadu vodikovega peroksida v funkciji oksidanta. Če ta predpostavka drži, lahko funkcijo Fe^{3+} ionov prevzamejo še kakšni drugi kovinski ioni? Predlagajte!

Pričakovani odgovori: npr. Cu^{2+} , Ni^{2+} , CrO_4^{2-} ioni.

Vendar je zagovornik gospoda Podleska trdil, da so madeži na preprogi, ki so povzročili kemiluminiscenco luminola, posledica uporabe čistila in ne kri gospe Podleskove? Na kaj nas lahko navede ta trditev gospoda Vesela?

S postavljanjem vprašanj želimo od dijakov dobiti odgovor, da je morda sestavina čistila, ki ima lastnost oksidanta, tista, ki je katalizirala razpad vodikovega peroksida.

Kako bi se prepričali, kateri oksidanti, poleg Fe^{3+} ioni v hemu, katalizirajo kemiluminiscenco luminola? Predlagajte poskuse.

Dijaki predlagajo uporabo različnih čistil* in oksidantov, ki naj bi katalizirali razpad vodikovega peroksida in pripravijo osnutek tabele izvedbe poskusa.

*Poskus bo uspešen le, če bo čistilo vsebovalo optično belilo oz. kar varikino.



(Kompetenci – postavljanje hipotez, načrtovanje poskusov.)

Eksperimentalni del

Hipotezo o vlogi različnih oksidantov pri pojavu kemiluminiscence luminola bomo preverili z eksperimenti.

Učitelj razdeli eksperimentalni del vaje **Po sledih zločina - forenziki na delu**, *Eksperimentalni del za dijake*.

Predhodna priprava – pripravimo raztopine po shemi v Tabeli 2.

Tabela 2: Priprava raztopin

Luminolni reagent A	Katalizator B	Razmerje med reagenti
1g luminola, 20 g Na ₂ CO ₃ , 35 mL H ₂ O ₂ (3%) – razredčiti na 200 mL	0,5 M CuSO ₄	1 kapljica B + 3 kapljice A
	0,1 M Co(NO ₃) ₂	1 kapljica B + 3 kapljice A
	0,1 M K ₃ [Fe(CN) ₆]	1 kapljica B + 3 kapljice A
	belilo - varikina 13 %	1 kapljica B + 3 kapljice A
	ekstrakt naribanega hrena – 40 mL	1 kapljica B + 3 kapljice A
	pralni prašek 1 z dodanim belilom, 10 mL + 90 mL vode	1 kapljica B + 3 kapljice A
	pralni prašek 2 z dodanim belilom, 10 mL + 90 mL vode	1 kapljica B + 3 kapljice A

Dijaki dobijo v temnih steklenih reagenčnih stekleničkah raztopino luminolnega reagenta in raztopine oksidantov. Potrebujejo še blistre (lahko tudi urna stekla ali stekelca za mikroskopiranje), Pasteurjeve pipete ter plastično posodico za odpadke. Poskuse izvajajo v kapljicah, tako je nevarnost pri delu s kemikalijami minimalna in enako tudi obremenitev okolja s preostanki reakcijskih mešanic.

(Kompetence – sposobnost preverjanja hipotez, izvajanje poskusov, opazovanje in zapisovanje podatkov.)

Preverjanje razumevanja:

1. Opišite, kako narava katalizatorja vpliva na barvo izsevane svetlobe in čas trajanja kemiluminiscence.

2T



2. Ali je imel gospod Vesel prav, ko je podvomil v zanesljivost dokazov z luminolnim testom in zahteval DNK analizo domnevnih madežev krvi? Utemeljite svoj odgovor. 3T
3. Zasnujte poskus, s katerim boste preverili, kako koncentracija katalizatorja vpliva na čas pojava kemiluminiscence. Kot oksidant izberite raztopino $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$. 3T
4. V literaturi poiščite, kaj je oksidant v primeru, ko ste uporabili kot katalizator razpada vodikovega peroksida varikino in ekstrakt hrena? 3T
5. 3T
6. Oglejte si prvi del filmskega posnetka – *Kemiluminiscenca.avi*. Kaj se uporablja kot katalizator? Poiščite strukturno formulo spojine. Oglejte si še drugi del eksperimenta. Opišite in razložite opažanja. 4T

(Kompetence - razumevanje, iskanje podatkov, analiza podatkov, prenos znanja v nove situacije.)

Razširitev teme - bioluminiscenca

Kaj povzroči svetlikanje kresnic v temi?



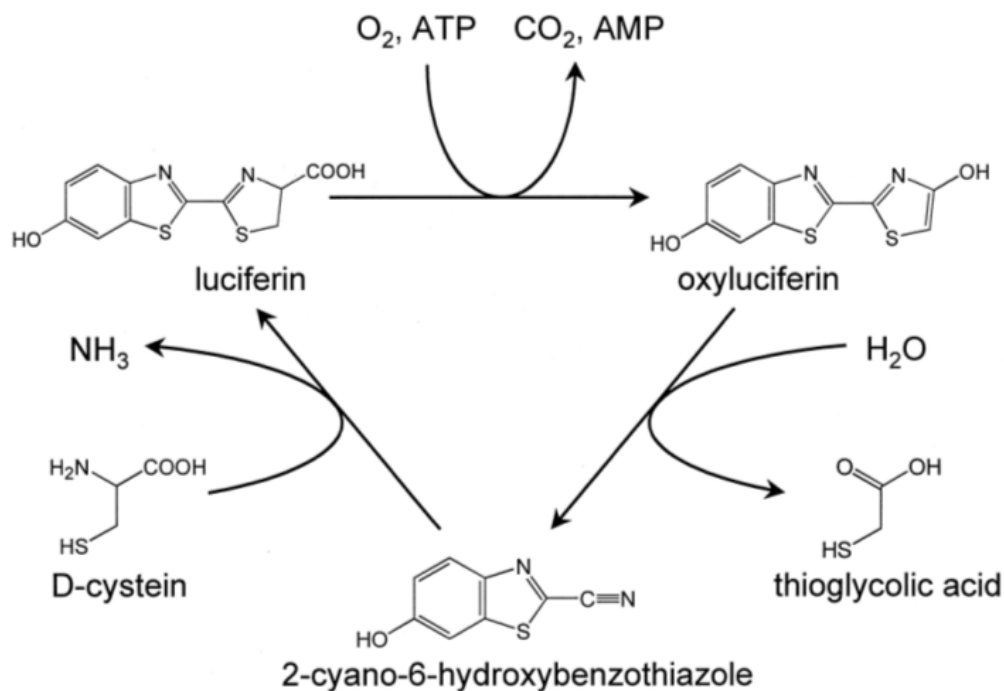
Slika 4: Pojav bioluminiscence pri kresnički *Photinus pyralis*, vir: Wikipedia

Pojav je posledica bioluminiscence. Encim luciferin, ki se nahaja v celicah kresnic, katalizira oksidativno dekarboksilacijo luciferina v prisotnosti ATP, kisika in Mg^{2+} ionov. Pri reakciji nastaja oksiluciferin, sprošča se energija v obliki rumeno-zelene svetlobe ($\lambda_{\text{max}} = 560 \text{ nm}$).

Oksidacija luciferina v prisotnosti kisika in energijsko bogate molekule adenozin trifosfata (ATP) ter ponovna regeneracija oksiluciferina v luciferin, sta podani na spodnji shemi (povzeto po članku Gomi K., Kajiyama N. J. Biol. Chem. 2001;276:36508-36513).



Oksidacija in recikliranje luciferina v kresničkih.



Gomi K, Kajiya N J. *Biol. Chem.* 2001;276:36508-36513

©2001 by American Society for Biochemistry and Molecular Biology

jbc

Naloga za dijake

Preverite, pri katerih organizmih, razen pri kresnicah, še zasledimo pojav bioluminiscence?



Uporaba luminola v sodni medicini *Teoretične osnove za učitelja*

Margareta Vrtačnik
Priredba znanstvenega članka

Priredba znanstvenega članka

V sodni medicini se že več kot 40 let uporablja luminol za detekcijo krvnih madežev, ki so često »prstni odtisi« krutih zločinskih dejanj. Detekcija ostankov krvi je osnovana na emisiji modrikaste svetlobe, ki je posledica kemične reakcije med luminolom (5-amino-2,3-dihidro-1,4-ftalazin-dionom ali enostavneje 3-aminofthalhidrazidom) in vodikovim peroksidom v prisotnosti krvnega hemoglobina.

Kaj je kemiluminiscenca?

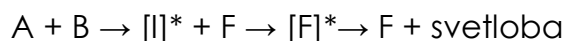
Kemiluminiscenca je emisija svetlobe pri kemijski reakciji. Značilna je tako za reakcije v tekoči, kakor tudi v trdni in plinasti fazi.

Literatura opisuje dve glavni vrsti kemiluminiscence: neposredno in posredno. Neposredno kemiluminiscenco lahko poenostavljeno predstavimo s splošno reakcijsko shemo:



A in B sta reaktanta, $[I]^*$ je intermediat v vzbujenem stanju. Reakcija med luminolom in vodikovim peroksidom je primer neposredne kemoluminiscence.

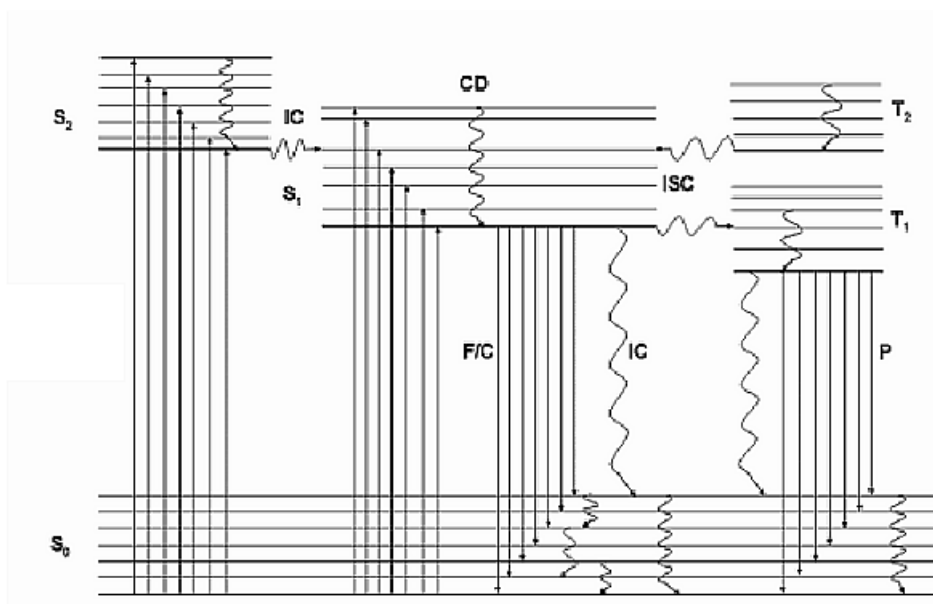
V primerih, da vzbujeno stanje reakcijskega intermediata ni dovolj učinkovito emisijsko sredstvo, lahko preda energijo neki drugi zvrsti (senzibilizatorju, F), ki potem izseva energijo. V tem primeru govorimo o posredni kemiluminiscenci. Primer je svetloba, ki jo sevajo aktivirane svetlobne paličice; popularni »modni« dodatek obiskovalcev diskotek, reverskih zabav in drugih srečanj mladih. Splošno reakcijsko shemo **posredne** kemoluminiscence predstavi spodnji zapis.



Prehajanje molekule iz vzbujenega stanja v osnovno stanje je možno preko vrste poti, ki jih je grafično že leta 1930 predstavil Jablonski (Shema 1). Emisija svetlobe je lahko fluorescenca ali kemiluminiscenca, če izhaja iz singletnega vzbujenega stanja, ali fosforescenca, v primeru da izhaja iz tripletnega stanja.

Svetloba, ki se emitira pri kemiluminiscenci je različne intenzitete, trajanja in valovne dolžine. Slednja lahko pokriva tako bližnje ultravijolično, vidno, kakor tudi bližnje infrardeče področje.

Preglednica 1: Jablonski energijski diagram (Vir: Barni et al., 2007)



Legenda: S_0 osnovno singletno stanje, S_1 , S_2 vzbujeni singletni stanji, T_1 , T_2 vzbujeni tripletni stanji, C – kemiluminiscenca, F – fluorescenca, P – fosforescenca, IC – interna konverzija, ISC – prehod med sistemoma (singlet – triplet), CD-relaksacija s trki, ravne puščice nakazujejo radiacijske prehode, cik-cak puščice nakazujejo neradiacijske prehode

Da pride pri kemijski reakciji do emisije svetlobe, morajo biti izpolnjeni trije ključni energijski pogoji:

1. Obstajati mora energijsko ugodna reakcijska pot za nastanek vzbujenega stanja. Od vseh prisotnih molekul, mora znatno število molekul doseči vzbujeno stanje.
2. Reakcija mora biti eksotermna, sprememba proste energije pa v območju 170-300 kJ/mol.
3. Kemiluminiscenca mora biti prednostna deaktivacijska pot vzbujenega stanja molekule. Drugi neradiacijski procesi deaktivacije, kot na primer: prenos energije znotraj ali med molekulami, disociacija molekule, izomerizacija, morajo potekati le v minimalnem obsegu.

Intenziteta emisije svetlobe pri kemiluminiscenci je odvisna od hitrosti reakcije in učinkovitosti procesa, pri katerem nastaja vzbujeno stanje. Učinkovitost procesa je izražena s kvantnim izkoristkom kemiluminiscence, Φ_{CL} , ki je opredeljen z razmerjem:

$$\Phi_{CL} = \frac{\text{število vseh emitiranih fotonov}}{\text{število molekul, ki reagirajo}}$$



Kvantni izkoristki kemiluminiscence imajo vrednosti od 10^{-15} pa vse tja do skoraj 1, vendar so kvantni izkoristki za večino reakcij, ki se uporabljajo v analizni kemiji, v območju 0,01-0,1. Z uporabo zelo občutljivih detektorjev je možen monitoring kemiluminiscence, v primeru popolne odsotnosti emisij ozadja, celo za neučinkovite kemiluminiscentne reakcije, s kvantnim izkoristkom manj kot 0,001, kot so oksidativne ultra-šibke kemiluminiscentne reakcije v živih celicah.

Na kvantno učinkovitost in barvo svetlobe pri kemiluminiscenci močno vpliva okolje, v katerem reakcije potekajo. Tako je kvantni izkoristek kemiluminiscence za luminol v dimetilsulfoksidu 0,05 in barva emitirane svetlobe modrozelená ($\lambda_{\max} \approx 480\text{--}502\text{ nm}$), za luminol v vodi pa je kvantni izkoristek 0,01 in barva izsevane svetlobe od modrovijoličaste do modrozelené ($\lambda_{\max} \approx 425\text{ nm}$).

V analizni kemiji se meri intenziteta emisije kemiluminiscence (I_{CL}), ki je opredeljena kot funkcija kvantnega izkoristka kemiluminiscence Φ_{CL} in hitrosti reakcije.

$$I_{\text{CL}} = \Phi_{\text{CL}} \cdot (dC/dt)$$

$$dC/dt = \text{hitrost reakcije}$$

Kemiluminiscentne reakcije lahko potekajo izredno hitro ($<1\text{ s}$) ali pa izredno počasi ($>1\text{ dan}$), kar je odvisno od vrste reakcije in reakcijskih pogojev.

Predstavitev luminola

Osnovne kemijske in fizikalne lastnosti so predstavljene v Tabeli 3.

Tabela 3

Luminol osnovne kemijske, fizikalne in toksikološke lastnosti	
Ime	5-amino-2,3-dihidro-1,4-ftalazin-dion, o-aminoftalil hidrazid, 3-aminoftalhidrazid
Strukturna formula	
Molekulska formula	$\text{C}_8\text{H}_7\text{N}_3\text{O}_2$
Molska masa	177,16 g/mol
Tališče [$^{\circ}\text{C}$]	319–320
pKa1 pKa2	6,74 15,1



Topnost v vodi [g/100 mL]	< 0,1 pri sobni temperaturi
Izgled	Rumenkasti zrnati kristali.
Splošne lastnosti	Obstojen pri sobni temperaturi, občutljiv na svetlobo, gorljiv, reagira z močnimi oksidanti, reducenti, močnimi kisljinami in bazami, pri reakciji z oksidanti se sprošča svetloba.
Toksikologija	Toksični učinki za človeka še niso povsem raziskani. Znano je, da draži mukozna tkiva: oči, kožo, dihalni trakt in prebavni trakt (slabost, bruhanje in diareja). Podatkov o kroničnih učinkih ni.

Podatki povzeti po spletni strani: (The National Institute of Environmental Health Sciences, NC, USA) <http://ntp.niehs.nih.gov/index.cfm>

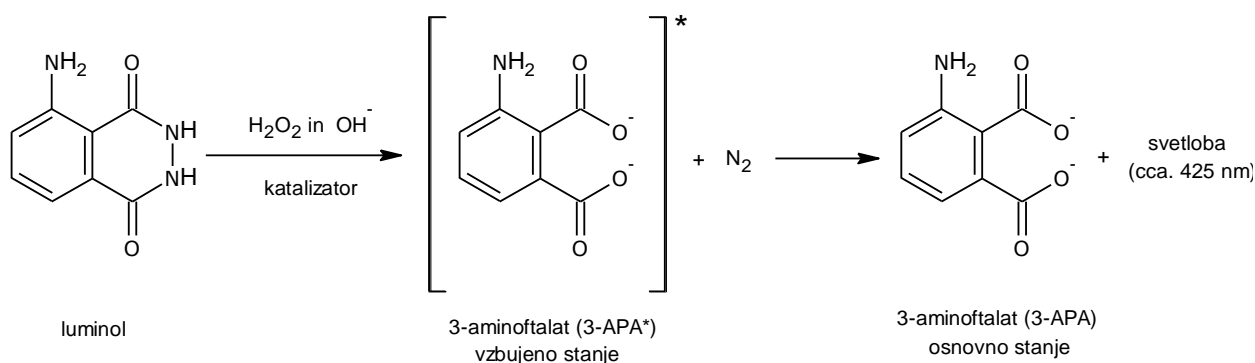
V zadnjih dvajsetih letih je postal luminol eden od najbolj splošno uporabljenih kemiluminiscentnih reagentov v molekularni biologiji in analizi kemiji. Uporablja se kot osnova za vrsto občutljivih in selektivnih detekcijskih metod, ki vključujejo visoko ločljivo tekočinsko kromatografijo (HPLC), imunoesej, preiskave DNA, v zadnjem času njegova uporaba prodira tudi v zgodovinske in arheološke raziskave.

Reakcija luminola

Oksidacija luminola, ki vodi do pojava kemiluminiscence, je kompleksen večstopenjski proces, odvisen od pH, temperature, ionske jakosti reakcijskega medija in reaktivnih zvrsti, ki reagirajo z luminolom, npr. kovinski katalizatorji in hidroksidni ioni. Raziskovalci so opazili, da se fluorescenčni spekter intermediata pri oksidaciji luminola, 3-aminofthalata, v vznemirjenem stanju povsem ujema s kemiluminiscentnim spektrom luminola, zato so sklepali, da je elektronsko vznemirjeni intermediat tisti, ki emitira svetlobo pri deaktivaciji v osnovno stanje.

V polarnih aprotičnih topilih, ki vsebujejo kisik (DMSO – dimetisulfoksid) ali v slabo bazičnih protičnih topilih (pH \approx 8-11) kot so voda, nižji alkoholi in v prisotnosti srednje močnih oksidantov (največkrat je to H₂O₂) ter ob prisotnosti ustreznega katalizatorja (kovinskih ionov ali oksidoreduktaz), vznemirjeni 3-aminofthalat (3-APA*) preide v osnovno stanje (3-APA) s sproščanjem energije v obliki svetlobe, preglednica 2.

Preglednica 2: Reakcija luminola



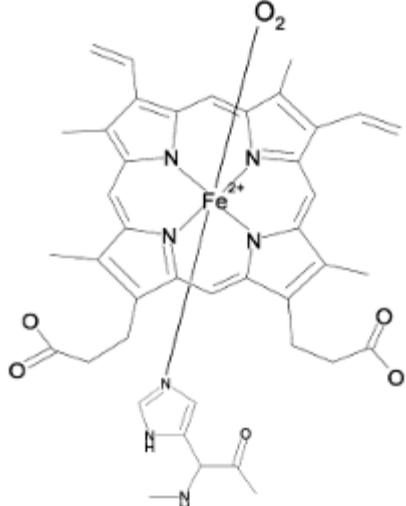
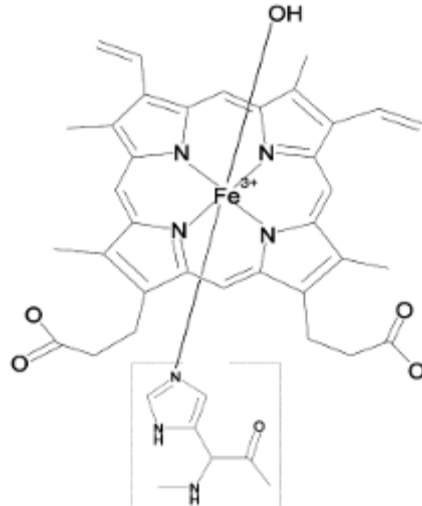
V vodnih raztopinah je barva emitirane svetlobe lahko vse od modrovijoličaste do modrozeleno. Emisijski maksimum je odvisen od vrste parametrov. Tako lahko npr. prisotnost krvi, ki močno absorbira pri 420 nm učinkuje kot notranji filter, ki povzroči premik maksimuma emisijskega spektra luminola k 455 nm.

Vloga katalizatorja pri reakciji luminola v bazični vodni raztopini še ni povsem pojasnjena in tudi struktura reakcijskih intermediatov ni povsem poznana. Poznano je, da reakcijo katalizira vrsta kovinskih katalizatorjev in kovinskih kompleksov, ter da je optimalna vrednost pH med 8 in 11, kar omogoča predpostaviti vrsto možnih katalitičnih mehanizmov.

Vloga hemoglobina pri luminolnem testu

Hemoglobin sesalcev je tetramerni hemoprotein, ki je sestavljen iz štirih proteinskih delov, globinov, od katerih vsak vključuje barvilo hem, ki je koordinacijski kompleks Fe^{2+} ionov s porfirinskim obročem, Slika A. Fe^{2+} ion je v sredini porfirinskega obroča s štirimi koordinativnimi vezmi vezan na štiri dušikove atome pirolonih obročev, na dveh preostalih koordinacijskih mestih Fe^{2+} iona, nad in pod planarnim porfirinskim obročem, je na eno mesto vezana aminokislina histidin globina, medtem, ko se na drugo mesto veže kot ligand molekularni kisik v primeru oksihemoglobina, v primeru deoksihemoglobina na tem mestu ni liganda. V telesu je hemoglobin zaščiten pred denaturacijo z enkapsulacijo v rdeče krvničke, kjer številni encimatski in neencimatski procesi ščitijo Fe^{2+} ione pred oksidacijo.

Tabela 4

Slika A – oksihemoglobin	B – hematin
	

(Vir: Barni et al., 2007)

Izven organizma je kri izpostavljena hidrolitičnim in oksidacijsko-redukcijskim degradacijskim procesom. Slednje katalizirajo encimi, prisotni v krvi, in dodatno encimi mikroorganizmov iz okolja. Z razgradnjo globinske makromolekule se vez med Fe^{2+} ioni in histidinom prekine, Fe^{2+} ioni, vezani v na porfirinski obroč, se oksidirajo v Fe^{3+} ione, saj varovalni celični reduktivni mehanizmi ne delujejo več. V prisotnosti hidroksidnih ionov se Fe^{3+} ioni koordinirajo s hidroksidno skupino, nastane hematin, Slika B, rdeča barva krvi se spremeni v rjasto rjavo.

Proces izgube polipeptidne zaščitne ovojnice hemoglobina in oksidacija hema v hematin pospeši luminolni reagent, s katerim orosimo madeže krvi, zaradi prisotnega oksidanta (vodikovega peroksida) in bazičnega medija. Fe^{3+} ioni katalizirajo razgradnjo vodikovega peroksida in oksidacijo luminola ter drugih substratov z vodikovim peroksidom.

Uporaba luminola v sodni medicini

Luminol se v sodnomedicinski praksi uporablja za odkrivanje majhnih, neopaznih krvnih madežev, vse tja do ravni koncentracije $1:10^6$ ($1\mu\text{L}$ krvi v 1 L raztopine). Vizualizacija krvnih madežev s pomočjo luminolnega testa čisto omogoča preiskovalcem rekonstruirati dogodke, ki so pripeljali do hudih kriminalnih dejanj. Druge metode, ki se uporabljajo za detekcijo krvi, kot npr. test s fluoresceinom, fenolftaleinom in leukomalahit zelenim, so sicer uporabne, vendar ne omogočajo tako nizke ravni detekcije kot luminolni test.

V literaturi je opisanih več načinov priprave raztopine luminola za detekcijo krvi, vendar ne glede na pripravo raztopine, običajno se z luminolno raztopino v popolni temi orosijo sumljive površine. Svetlobo, ki je posledica reakcije luminola z ostanki krvi fotografirajo (včasih tudi s posebnimi kamerami, da ojačijo učinek luminiscence), luminiscentno področje pa

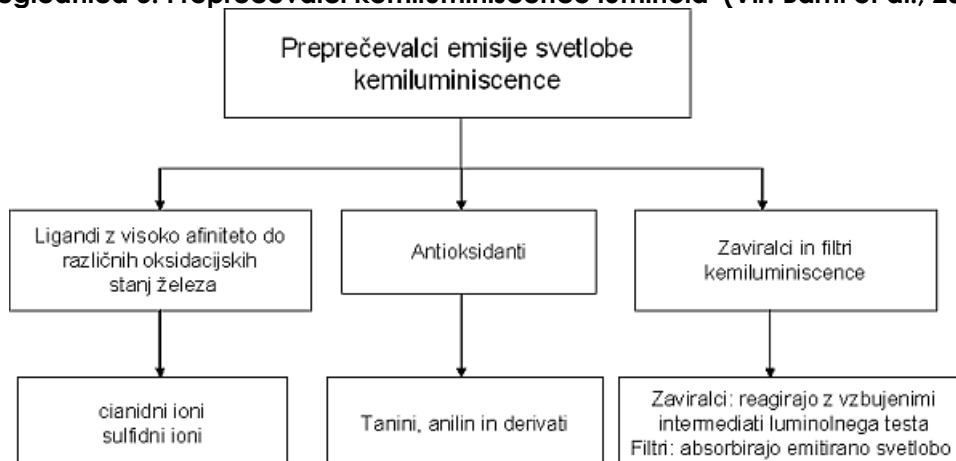


ustrezno označijo. Pri delu je potrebna ustrezna zaščitna oprema: zaščitna očala, respirator, rokavice in zaščitna obleka. Prostor, kjer je bil luminolni test izveden pa je potrebno dobro prezračiti. Po lociranju krvnih madežev sledi zbiranje vzorcev za nadaljnje analize. Način zbiranja je odvisen od substrata, na katerem se kri nahaja. Za zbiranje krvnih madežev iz ploščic, sten in drugih velikih površin, se uporabljajo bombažne krpice za upijanje ostankov ali pa skalpel, s katerim se vzorec krvi izpraska s površine. V primerih, da se kri nahaja na manjših predmetih, delih pohištva, preprogah, blazinah, odejah, se pri nadaljnji analizi uporabi kar celoten predmet. Ne glede na način izbiranja vzorcev, je potrebno zagotoviti popolno sterilnost vzorca, da se prepreči razgradnja vzorca pod učinkom bakterij in gliv iz okolja.

Interpretacija rezultatov luminolnega testa

Pri interpretaciji rezultatov luminolnega testa je potrebno upoštevati strukturo substrata, na katerem so bili odkriti krvni madeži, njegovo kemijsko zgradbo in prisotnost drugih spojin na substratu. Materiali, ki imajo sposobnost dobrega vpijanja, lahko zadržijo krvne madeže nespremenjene tudi daljši čas in celo po močnem drgnjenju. V to skupino substratov sodijo tepihi, usnjeni izdelki, obleke, odeje in podobno. Analiza krvi na teh materialih je dokaj enostavna, saj se vanje veže običajno veliko krvi, ki ostane lahko tudi več let nerazgrajena in daje z luminolom intenzivno pozitivno reakcijo. Poleg tega absorbenti zaščitijo kri pred učinki okolja, kar pomeni, da je možno odkriti zločin tudi po preteku več let. Materiali, ki ne absorbirajo, predstavljajo za detekcijo krvi problem, tako z vidika uporabe razpršila luminolnega reagenta, kakor tudi kvalitete kemiluminiscence. S teh površin se da relativno hitro odstraniti sledi krvi in s tem zabrisati zločinsko dejanje.

Moteča pri luminolnem testu za detekcijo krvnih madežev je tudi prisotnost nekaterih spojin, ki so dnevno v rabi in bodisi zavirajo emisijo svetlobe pri luminolnem testu, ali pa dajejo same pozitivno reakcijo z luminolom. Na Preglednici 3 so predstavljene spojine, ki preprečujejo oz. zavirajo luminolni test.

Preglednica 3: Preprečevalci kemiluminiscence luminola (Vir: Barni et al., 2007)

Treba je poudariti, da je v praksi malo možnosti, da bi spojine, ki preprečujejo kemiluminiscenco luminola prišle v stik s krvnimi madeži, z izjemo taninov, ki se nahajajo v lesu. Tako te spojine nimajo na sodnomedicinsko uporabo luminola velikega vpliva, tudi v literaturi ni podatkov o napačnih negativnih luminolnih testih, ki bi bili posledica naštetih spojin na kraju zločina.

Hujši problem pri identifikaciji ostankov krvi predstavljajo spojine, ki same reagirajo z luminolom in povzročajo kemiluminiscenco. Zaradi možne prisotnosti teh spojin na kraju zločina se luminolni test ne sme upoštevati kot dovolj specifičen za nesporno identifikacijo krvi. Spojine, ki se na luminolni test odzivajo podobno kot kri, lahko razdelimo v tri glavne skupine:

1. peroksidaze in spojine, ki imajo podobno katalitično aktivnost kot peroksidaze,
2. oksidanti,
3. kompleksne zmesi, za katere mehanizmi delovanja z luminolom niso poznani.

Podrobneje so spojine prikazane na Preglednici 4.

Preglednica 4: Spojine, ki pospešujejo kemiluminiscenco luminola (Vir: Barni et al., 2007)

Med spojine, ki imajo podoben katalitični učinek kot peroksidaze uvrščamo: (1) proste kovinske ione, ki se največkrat nahajajo v rji ali prsti (poleg ionov železa, se v prsti nahajajo še ioni kobalta, niklja, bakra, mangana in kroma); (2) biološke kompleksne spojine kovinskih ionov z organskimi spojinami; (3) encime oksidoreduktaze, ki se nahajajo v hrenu, krompirju in drugih vrstah zelenjave.

V drugo kategorijo motečih spojin sodijo oksidanti; natrijev hipoklorit, kalijev permanganat, jod in podobni srednje močni oksidanti. Te spojine so sestavine mnogih proizvodov za domačo in industrijsko rabo. Mednje uvrščamo: insekticide, čistila, razkužila in belilna sredstva. Zadnjo kategorijo motečih spojin predstavljajo kompleksne zmesi, ki jih najdemo v izdelkih za domačo uporabo. Sem sodijo razna olja, lepila, preproge, avtomobilski sedeži, laki in vse vrste prsti. Te spojine često tako učinkovo kot kri reagirajo z luminolom in povzročajo kemiluminiscenco, zaradi njihove kompleksne kemijske sestave pa mehanizmov, ki povzročajo kemiluminiscenco še ne poznamo.

Uporaba luminolnega testa v sodni medicini

V splošnem se v sodnomedicinske namene uporablja vizualna zaznava in interpretacija rezultatov luminolnega testa in ne inštrumentalna detekcija luminiscence. Strokovnjak lahko že na osnovi razpršenosti in oblike domnevno krvnih madežev, intenzitete luminiscence in trajanja emisije svetlobe, razlikuje med luminiscenco, ki je posledica reakcije luminola s krvjo od tiste, ki jo povzročajo druga, moteča sredstva. Seveda pa lahko tak pristop vodi tudi do napačne interpretacije podatkov. Zato je pri uporabi luminolnega testa potrebno natančno opazovanje in logično sklepanje ob upoštevanju tudi drugih indicov zločina. Priporočljiva je uporaba dodatnih testov (npr. imunokromatografski test) za nesporen dokaz, da so madeži resnično človeška kri.

Kljub številnim motečim faktorjem, ki često mečejo dvome na rezultate luminolnega testa, je luminol še vedno v centru zanimanja sodne medicine.



Njegova uporaba predstavlja izziv, saj se je v praksi dokazal kot občutljiv in enostaven za detekcijo nevidnih ostankov krvi. Njegovo zanesljivost je moč znatno povečati z DNK analizo domnevnih vzrocev krvi, vendar pa morajo zaradi kompleksnosti reakcij, ki so vključene v luminolni test in cele vrste spojin, ki lahko prekrijejo oz. motijo detekcijo krvi in vodijo v napačno interpretacijo rezultatov, praktiki sodne medicine poznati slabe strani luminolnega testa, da so pri svojem delu kar najbolj previdni.

Povzetu po članku

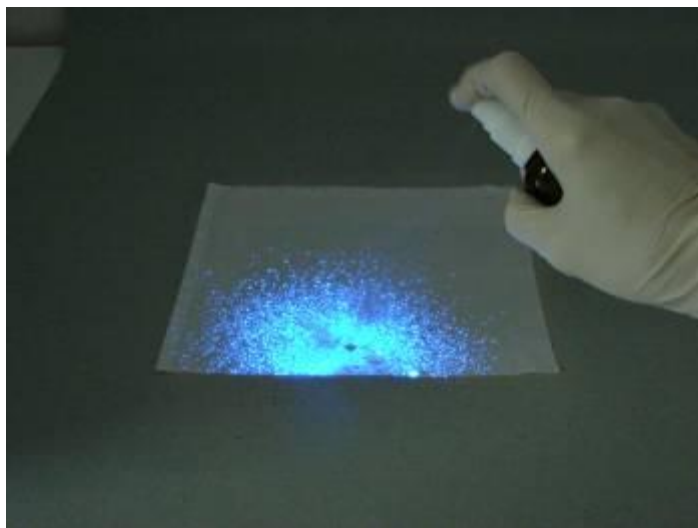
1. Barni, F., Lewis, S. W., Berti, A., Miskelly, G. M., Lagoa, G. (2007). Forensic application of the luminol reaction as a presumptive test for latent blood detection, *Talanta*, 72, 896-913.



Po sledih zločina - forenziki na delu

Predstavitev problema

Gospodu Podlesku, ki je bil obsojen umora svoje žene, na sodišču ni kazalo ravno dobro. Forenziki so dokazovali na osnovi testa z luminolom, da je bilo stanovanje, čeprav brezhibno čisto, vse polno krvi žrtve, kar dokazuje rezultat testa z luminolom, Slika 1.



Slika 5: Rezultat luminolnega testa

Vendar je imel gospod Podlessek, ki je nenehno izjavljal, da ni imel z izginotjem oz. umorom žene nobenega opravka, izredno dobrega odvetnika, ki je poleg prava obvladal tudi forenzično znanost in kemijo. Gospod Vesel, pravnik gospoda Podleska, je namreč trdil, da pozitivni luminolni test na preprogah ni nujno posledica krvnih madežev, temveč npr. belila, ki ga vsebuje čistilo, ki ga gospa Podlessek pogosto uporabljala za čiščenje preprog. Zahteval je DNA analizo domnevno krvnih madežev, ki bi dokazala, ali so madeži resnično madeži krvi umorjene žrtve.

Naloga

Prelevite se v forenzika in raziščite, zakaj je gospod Vesel, tako suvereno zagovarjal svojo stranko in zahteval DNK analizo domnevno krvnih madežev na preprogi.

Na voljo imate 5 minut časa, da napišete nekaj ključnih vprašanj, katerih odgovori bi vam pomagali pri rešitvi zastavljene naloge.

Sedaj naredite načrt, kako se boste lotili iskanja odgovora/odgovorov na zastavljena vprašanja. Kaj bo vaš prvi korak?



Tokrat Vam je na voljo pomoč.

1. <http://sl.wikipedia.org/wiki/Luminol>
2. <http://sl.wikipedia.org/wiki/Luminol>
3. <http://sl.wikipedia.org/wiki/Kemiluminiscenca>
4. <http://en.wikipedia.org/wiki/Luminol#Chemiluminescence>
5. <http://chemistry.about.com/od/glowinthedarkprojects/a/luminolblood.htm>



Po sledih zločina - forenziki na delu

Eksperimentalni del za dijake

Naloga: Ugotovite, katere od raztopin B, lahko katalizirajo razpad vodikovega peroksida in dajejo podobno pozitivno reakcijo z luminolom kot kri.

Reagenti in potrebščine:

- a) Raztopina A
 - luminolni reagent
- b) Raztopine B
 - 0,5 M CuSO_4
 - 0,1 M $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$
 - 0,1 M $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$
 - 13 % varikina
 - raztopina pralnega praška z belilom
 - ekstrakt hrena
 - Hemin (filmski posnetek)

Blistri ali urna stekla

Pasteurjeve pipete

Zaščitne rokavice in zaščitna očala

Izvedba:

1. V vdolbinice blistra dodajte po 1 kapljico raztopin B.
2. Blister postavite v temen prostor – npr. predal.
3. Vsaki kapljici raztopine B postopno dodajte 3 do 4 kapljice raztopine A in štopajte čas emisije svetlobe.
4. Rezultate vpišite v tabelo.

Tabela 5: Rezultati

Raztopina B	Barva izsevane svetlobe	Čas trajanja kemiluminiscence [s]
CuSO_4 (aq)		
$\text{Co}(\text{NO}_3)_2$ (aq)		
$\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ (aq)		
Varikina		
Pralni prašek		
Ekstrakt hrena		

Preostanke na blistru zavržite v posebej pripravljene posode, blistre pa dobro sperite.



Preverjanje razumevanja

1. Opišite, kako narava katalizatorja vpliva na barvo izsevane svetlobe in čas trajanja kemiluminiscence.
2. Ali je imel gospod Vesel prav, ko je podvomil v zanesljivost dokazov z luminolnim testom in zahteval DNK analizo domnevnih madežev krvi? Utemeljite svoj odgovor.
3. Zasnujte poskus, s katerim boste preverili, kako koncentracija katalizatorja vpliva na čas pojava kemiluminiscence. Kot oksidant izberite raztopino $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$.
4. V literaturi poiščite, kaj je oksidant v primeru, ko ste uporabili kot katalizator razpada vodikovega peroksida varikino in ekstrakt hrena?
5. Oglejte si prvi del filmskega posnetka – *Kemiluminiscenca.avi*. Kaj se uporablja kot katalizator? Poiščite strukturno formulo spojine. Oglejte si še drugi del eksperimenta. Opišite in razložite opažanja.



Ocena učinkovitosti metod odstranjevanja ionov bakra iz odpadnih vod

Avtorica: red. prof. dr. Margareta Vrtačnik
Institucija: Naravoslovnotehniška fakulteta UL

Enota je zasnovana kot kombinacija e-enote in laboratorijskega dela.

Cilj enote:

- kolorimetrična ocena učinkovitosti uporabe reakcij obarjanja in redukcije za odstranjevanje bakrovih ionov iz odpadnih vod.

Kompetence:

- sposobnost postavljanja hipotez o možnih produktih reakcij bakrovih ionov s solmi in hidroksoidi ter kovinami ob uporabi tabele topnosti soli in hidroksidov v vodi in tabele elektrokemijske redoks vrste,
- sposobnost izvajanja poskusov po navodilih za eksperimentalno preverjanje hipotez,
- sposobnost uporabe očesa kot inštrumenta za oceno koncentracije snovi v vodni raztopini na osnovi intenzitete obarvanosti raztopine,
- sposobnost kritičnega vrednotenja eksperimentalnih rezultatov in opredeljevanja prednosti in pomanjkljivosti izbranih metod.

Predznanje:

- ionske reakcije in zapisi enačb reakcij,
- oksidacija in redukcija,
- elektrokemijska redoks vrsta.

Reagenti in potrebščine:

- Odpadna voda, ki vsebuje bakrove ione (koncentracija od 0,3 -0,45 mol/L)
- Standardna raztopina $\text{CuSO}_4(\text{aq})$ – 0,50 mol/L
- $\text{Ba}(\text{NO}_3)_2(\text{aq})$ – 1 mol/L
- $\text{NaOH}(\text{aq})$ – 1 mol/L
- $\text{KNO}_3(\text{aq})$ – 1 mol/L
- Al folija
- Cinkove granule (male)
- Blistri
- Deionizirana voda
- Epruvete in stojalo
- Kapalne stekleničke
- Steklene palčke



- Trije manjši liji
- Filtrirni papir
- Posode za odpadke

Podatki:

Tabela 6: Topnost snovi

Snov	Topnost v vodi
Ba(NO ₃) ₂	79 g/L (20° C)
BaSO ₄	netopen
CuSO ₄ ·5 H ₂ O	316 g/L (20° C)
Cu(NO ₃) ₂	topen
NaOH	1,1 kg/L
Na ₂ SO ₄	2680 g/L
Cu(OH) ₂	2,5 mg/L (25° C)
KNO ₃	357 g/L
K ₂ SO ₄	11 g/L (20° C)
Al ₂ (SO ₄) ₃	870 g/L
ZnSO ₄	topen

Tabela 7: Elektrokemijska redoks vrsta

Kovina/kation	E° (volti)
Litij/Li ⁺	-3.03
Kalij/K ⁺	-2.92
Kalcij/Ca ²⁺	-2.87
Natrij/Na ⁺	-2.71
Magnezij/Mg ²⁺	-2.37
Aluminij/Al ³⁺	-1.66
Cink/Zn ²⁺	-0.76
Železo/Fe ²⁺	-0.44
Svinec/Pb ²⁺	-0.13
Vodik/H ⁺	0
Baker/Cu ²⁺	+0.34
Srebro/Ag ⁺	+0.80
Zlato/Au ³⁺	+1.50

Konteks in naloga – delo z e-enoto

Problemi onesnaževanja vodotokov s težkimi kovinami. Odstranjevanje težkih kovin iz industrijskih odpadnih vod in ostankov šolskega eksperimentalnega dela.



Eksperimentalno delo

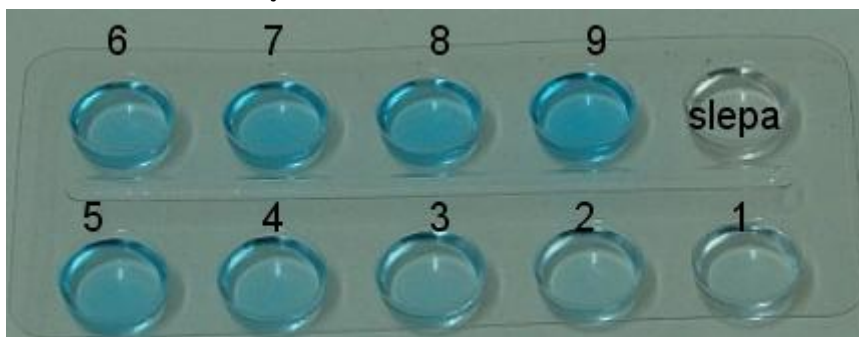
Priprava primerjalnih raztopin $\text{CuSO}_4(\text{aq})$ znane koncentracije.

Dijaki dobijo v eni kapalni steklenički standardno raztopino $\text{CuSO}_4(\text{aq})$ in v drugi deionizirano vodo. V vdolbinicah blistra pripravijo z razredčevanjem standardne raztopine devet primerjalnih raztopin bakrovega sulfata s koncentracijo od 0,056 mol/L do 0,50 mol/L, v deseti vdolbinici je deionizirana voda. Razredčujejo po shemi v tabeli.

Tabela 8: Postopek razredčevanja

Raztopine	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	Slepa
$\text{CuSO}_4(\text{aq})$ kapljice	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
Deionizirana voda, kapljice	8	7	6	5	4	3	2	1	0	9
c [mol/L]	0,056	0,111	0,167	0,222	0,278	0,333	0,389	0,444	0,5	0,0

Pričakovani rezultat za učitelja



Slika 6: Primerjalne raztopine Cu^{2+} ionov znane koncentracije

Odstranjevanje bakrovih ionov iz odpadne vode – delo poteka v laboratoriju

V šestih epruvetah dijaki pripravijo reakcijske mešanice po shemi v tabeli.

Tabela 9: Priprava reakcijskih mešanic

Epruvete/ reagenti	1. $\text{Ba}(\text{NO}_3)_2(\text{aq})$	2. $\text{NaOH}(\text{aq})$	3. $\text{KNO}_3(\text{aq})$	4. $\text{Zn}(\text{s})$	5. $\text{Al}(\text{s})$	6. Primerjalna
Volumen/masa [mL] oz. [g]	4	4	4	2g*	0,5 g*	
Voda [mL]	0	0	0	4	4	4
$\text{Cu}^{2+}(\text{odp})$ [mL]	6	6	6	6	6	6

*Uporabite majhne granule Zn, da je reakcijska površina čim večja. V primeru Al uporabite Al-folijo, ki jo zmečkajte, da bo površina kar največja.

Vsebinsko epruvet pretresejo in počakajo 10-15 minut, da reakcije potečejo.

Pričakovani rezultati za učitelja



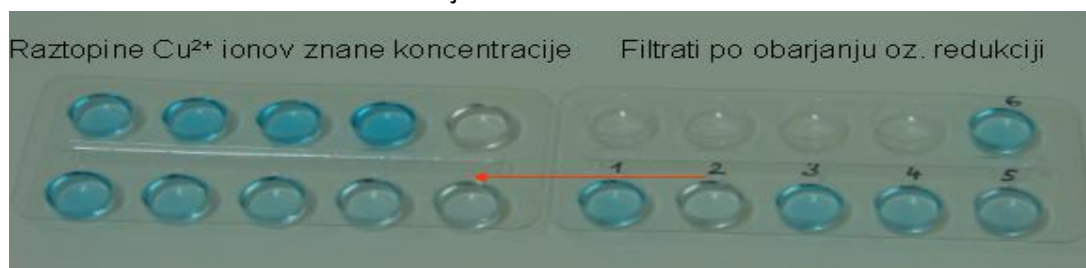
Slika 7: Reakcije odstranjevanja Cu^{2+} ionov iz odpadne vode

V nadaljevanju dijaki pripravijo šest kapalnih stekleničk in jih označijo 1. do 6. Po končanem obarjanju in redukciji prefiltrirajo filtrate 1., 2. in 4. epruvete v kapalne stekleničke, bistre raztopine pa samo prelijejo v kapalne stekleničke. V vdolbinice svežega blistra dodajo po 9 kapljic vsakega od filtratov.

Ocena učinkovitosti metod odstranjevanja bakrovih ionov – delo v e-učilnici

Vrednotenje učinkovitosti metod odstranjevanja bakrovih ionov iz odpadne vode izvedejo dijaki kolorimetrično, kot inštrument za oceno intenzitete barve uporabijo oko. Primerjajo intenziteto modre barve filtratov s primerjalnimi raztopinami $\text{CuSO}_4(\text{aq})$ znane koncentracije in tako ocenijo koncentracijo Cu^{2+} ionov v posameznih filtratih. Tista metoda odstranjevanja, pri kateri je v filtratu ocenjena najnižja koncentracija Cu^{2+} ionov, je očitno najbolj učinkovita.

Pričakovani rezultati za učitelja



Slika 8: Kolorimetrično primerjanje, z uporabo očesa, intenzitete modre barve filtratov (desni blister) s primerjalnimi raztopinami Cu^{2+} ionov znane koncentracije (levi blister)

Intenziteta modre barve v vdolbinici desnega blistra, ki je označena s številko 2 (kot reagent za odstranjevanje bakrovih ionov je bila v tem primeru uporabljena raztopina natrijevega hidroksida), je najmanjša, primerljiva je z



intenziteto modre barve v prvi vdolbinici blistra na levi strani (spodnja vrsta). Koncentracija Cu^{2+} ionov je v tem primeru približno 0,056 mol/L.

Dijaki izpolnijo delovni list *Rezultati*.

Preverjanje razumevanja in ocenjevanje

Razumevanje preverijo dijaki z interaktivnimi nalogami, ki so vključene v e-enoto. V zaključku morajo dijaki doma izpolniti še delovni list *Ocena učinkovitosti metod odstranjevanja in preverjanje razumevanja*, ki ga dobijo v e-enoti. Delovni list skopirajo na trdi disk svojega računalnika, izpolnijo in po e-pošti ali osebno oddajo učitelju v oceno.

Posebnost

Pri ocenjevanju zadnjega delovnega lista morate biti zlasti pozorni na oceno prednosti in pomanjkljivosti metode odstranjevanja bakrovih ionov z natrijevim hidroksidom, ki se bo pokazala kot najbolj učinkovita. Pričakujemo, da bodo dijaki kot prednost navedli dejstvo, da je metoda hitra, reagent pa dostopen in poceni, zato je seveda njena uporaba vabljiva. Vendar ima metoda vrsto pomanjkljivosti: (1) voluminoznost oborine $\text{Cu}(\text{OH})_2$, ki predstavlja problem pri odlaganju, hkrati pa ima visoko vsebnost bakra, ki ga je škoda enostavno zavreči, (2) bazičnost filtrata, ki ga je potrebno pred izpustom v okolje nevtralizirati, kar terja uporabo dodatnega reagenta in postopka, kar podraži in podaljša postopek.

Razgovor – priporočen po končanju enote

V razgovoru z dijaki se pogovorimo o rezultatih vseh uporabljenih metod za odstranjevanje bakrovih ionov in njihovih posebnostih. Od dijakov želimo dobiti odgovor, zakaj $\text{Ba}(\text{NO}_3)_2(\text{aq})$ in $\text{KNO}_3(\text{aq})$ ne moremo uporabljati kot obarjalna reagenta za odstranjevanje bakrovih ionov. Uporabimo prvi del e-enote Postavljanje hipotez. Ob rezultatih reakcije redukcije z granulami cinka in Al-folijo se kaže pogovoriti o uporabi elektrokemijske redoks vrste za napoved smeri poteka redoks reakcije, o vplivih površine kovine na učinkovitost reakcije, o prednostih – reciklaža bakra, o ionih Zn^{2+} in Al^{3+} , ki nadomestijo Cu^{2+} ione v filtratu, o njihovi toksičnosti in vplivih na okolje.

Ena od možnih didaktičnih izvedb e-enote

Učno enoto začnemo v e-učilnici, kamor prinesemo tudi pladnje z blistri, kapalnimi stekleničkami z deionizirano vodo in standardno raztopino bakrovega sulfata, zaščitnimi rokavicami in očali. Dijaki delajo v parih. Najprej si ogledajo uvodni del e-enote in se tako seznani s problemom in nalogo. Pri tem preverimo, ali so razumeli problem in nalogo, ki jih čaka v nadaljevanju. Sledi postavljanje hipotez o možnih produktih reakcij med bakrovimi ioni v odpadni vodi in reagenti za njihovo odstranjevanje. Hipoteze dijaki preverijo z uporabo interaktivnih nalog v e-enoti. Hipoteze temeljijo na razumevanju



poteka ionskih in redoks reakcij. Dijakom sta v pomoč tabela Topnost snovi v vodi in tabela Elektrokemijska redoks vrsta.

Nato izvedejo prvi del eksperimenta – po shemi v e-enoti pripravijo z razredčevanjem primerjalne raztopine Cu^{2+} ionov znanih koncentracij.

Drugi del poskusa poteka v laboratoriju. Pri tem učitelj poskrbi, da so dijaki predhodno dobili delovni list »Metode odstranjevanja bakrovih ionov«. Po končanem poskusu, prinesejo dijaki blister s filtrati v računalniško učilnico in nadaljujejo z izpolnjevanjem delovnega lista »Rezultati« ter interaktivno preverijo razumevanje. Doma izpolnijo še zadnji delovni list »Vrednotenje rezultatov in preverjanje razumevanja«, ki ga oddajo učitelju v oceno.

Dodatna literatura za učitelja

1. Jones, L. in Tasker, R. Bridging to the Lab, Media Connecting Chemistry Concepts with Practice, CD, Producent: J. Saunders, CADRE Design
2. Copper Toxicity <http://www.holistic-back-re lief.com/copper-toxicity.html>, 23. 04. 2010
3. Motnje v metabolizmu bakra http://www.farmadrustvo.si/gradivo_p/Klinicna%20biokemija/SEMINARJI/Motnje%20v%20metabolizmu%20bakra.pdf, 24.04.201
4. Removal of chromium, lead and copper ions from industrial wastewaters by *Staphylococcus saprophyticus* http://www.albuw.ait.ac.th/Group_R/Chromium/report-4/PDF/g.pdf, 24.04.2010
5. A Copper Removal Process for Printed Circuit Board Wastewater Sludge Applying Extraction and Cementation with Chelating Agents Recovery
6. <http://www.liebertonline.com/doi/abs/10.1089/ees.2006.0060?cookieSet=1&journalCode=ees>, 24.04.2010



Odstranjevanje bakrovih ionov

Delovni list

Priprava reakcijskih zmesi

Potrebščine:

- 6 epruvet
- stojalo
- liji
- filtrirni papir
- kapalne stekleničke z nastavki
- stojalo

Shema priprave reakcijskih zmesi:

Reagenti	Ba(NO ₃) ₂ (aq)	NaOH(aq)	KNO ₃ (aq)	Zn(s)	Al(s)	Cu ²⁺ odpadna
V (mL) oz. g reagenta	4 mL	4 mL	4 mL	2 g	0,5 g	-
V (mL) vode	0	0	0	4	4	4
V (mL) Cu ²⁺ (odpadna)	6	6	6	6	6	6

Vsebinsko epruvet pretresite. Počakajte 15 - 20 minut, da se filtrati nad oborinami zbistrijo. Filtrirajte vsebinsko 1. in 2. epruvete (oborine), po potrebi tudi 4. epruvete (delčki bakra) v označene kapalne stekleničke. Bistre raztopine samo prelijte v kapalne stekleničke.

V jamice svežega blistra dodajte po 9 kapljic filtratov, v zadnjo jamico pa devet kapljic izhodne odpadne raztopine bakrovega sulfata.

Preostanke reakcijskih zmesi razredčite z vodo, zmešajte in vsebinsko prelijte v posebej pripravljeno posodo za odpadke.



Rezultati

Delovni list

V tabelo vpišite ocenjene koncentracije Cu^{2+} ionov v filtratih po uporabi različnih metod odstranjevanja bakrovih ionov iz odpadne vode.

Uporabljeni reagenti	1. $\text{Ba}(\text{NO}_3)_2(\text{aq})$	2. $\text{NaOH}(\text{aq})$	3. $\text{KNO}_3(\text{aq})$	4. $\text{Zn}(\text{s})$	5. $\text{Al}(\text{s})$
c [mol/L] Cu^{2+} v filtratih					



Iskanje učinkovite metode za odstranjevanje bakrovih ionov iz odpadnih vod

Delovni list za previranje razumevanja

Ime in priimek:

Razred:

Datum:

1. Katere reagente ste uporabili pri poskusu za obarjanje bakrovih ionov?
2. Katere reagente ste uporabili za redukcijo bakrovih ionov?
3. Kako ste vrednotili učinkovitost metod za zmanjšanje koncentracije bakrovih ionov v odpadni vodi?
4. V katere primeru, je filtrat nad oborino potreboval največ časa, da se je zbistril?
5. Ali bi lahko raztopine, ki ste jih pripravili za oceno učinkovitosti metod odstranjevanja bakrovih ionov, uporabili tudi v primeru, če bi bila koncentracija Cu^{2+} ionov v odpadni vodi, večja kot v izhodni raztopini iz katerih ste z razredčevanjem pripravili standardne raztopine za oceno učinkovitosti metod? Utemeljite svoj odgovor.
6. Katera metoda odstranjevanja bakrovih ionov se je glede na vaše rezultate pokazala kot najbolj učinkovita. Zapišite enačbo reakcije za to metodo.
7. Komentirajte prednosti in slabosti izbrane metode za učinkovito odstranjevanje bakrovih ionov iz odpadne vode.