

CCA - 6

535.379:541.128.13

## Über die Lumineszenz des Luminols. VIII. Eine sehr wirksame Inhibition der Luminolreaktion\*

K. Weber und R. Kostelac

»Fotokemika« Film- und Photopapier-Fabrik, Forschungsabteilung, Zagreb,  
Kroatien, Jugoslavien

Eingegangen am 6. Dezember 1955

Die Chemilumineszenz des Luminols (3-Aminophthalhydrazid), die bei der oxydativen Einwirkung des Kalium-Eisen(III)cyanids auftritt, kann so geleitet werden, dass eine nichtkatalytische bzw. katalytische Reaktion resultiert. Beide Reaktionen sind inhibitorischen Einflüssen durch Fremdstoffe zugänglich, wobei das Hydrochinon eine sehr wirksame Inhibition der nichtkatalytischen Reaktion und Löschung der Lumineszenz in sehr kleiner Konzentration verursacht. Die Halbwertskonzentration dieser Löschung beträgt  $1,10 \cdot 10^{-7}$  Mol/l und es ist bezeichnend, dass Inhibitionen dieser Grössenordnung bisher nur bei Kettenreaktionen beobachtet wurden. Andere Inhibitoren wirken wesentlich schwächer. Der vermutliche Reaktionsmechanismus der Lumineszenz wird diskutiert.

Es sind zwei grundsätzlich verschiedene Arten der Durchführung der Luminolreaktion bekannt. Bei der einen Art dient als Oxydationsmittel und Reaktionskomponente Wasserstoffperoxyd, dessen Sauerstoff durch einen entsprechenden Katalysator, meist Schwermetallkomplex, aktiviert und auf das Luminolmolekül etwa in Form einer Peroxydasewirkung übertragen wird, während bei der anderen Art der Reaktionsführung ein Oxydationsmittel, Kalium-Eisen(III)cyanid oder Hypochlorit, direkt auf das Luminol wirkt, ohne die Vermittlung eines Katalysators zu benötigen<sup>1</sup>. Beide Arten der Reaktion ergeben während des Reaktionsverlaufs eine mehr oder weniger intensive Emission von blauem Licht. Bezüglich der Inhibition (Hemmung) der Reaktion und Löschung der Lumineszenz verhalten sich — wie wir feststellten — die beiden Modifikationen der Reaktion wesentlich verschieden. Bei Anwesenheit von Wasserstoffperoxyd und eines entsprechenden Katalysators wurden Inhibitoreffekte der Grössenordnung erhalten<sup>2</sup> wie sie auch bei anderen thermischen und photochemischen Reaktionen und bei der Löschung der Fluoreszenz gelöster Stoffe regelmässig zu beobachten sind<sup>3</sup>, während bei der nichtkatalysierten Reaktion eine sehr wirksame Inhibition auftritt über die hier kurz berichtet werden soll.

### DIE VERSUCHSMETHODEN

Die Versuche wurden mit der früher beschriebenen photoelektrischen Apparatur vorgenommen. Es wurden jeweils drei Serien der Versuche mit den folgend angegebenen Zusammensetzungen der Reaktionsgemische durchgeführt:

\* VII. Mittel.: *Croat. Chem. Acta* 28 (1956) 25.

1. Luminol (3-Aminophthalhydrazid)  $2 \cdot 10^{-3}$  Mol/l  
 Natronlauge  $2,5 \cdot 10^{-2}$  Mol/l  
 Kalium-Eisen(III)cyanid  $4 \cdot 10^{-4}$  Mol/l
2. Luminol  $4 \cdot 10^{-4}$  Mol/l  
 Natronlauge  $5 \cdot 10^{-3}$  Mol/l  
 Wasserstoffperoxyd  $1,76 \cdot 10^{-2}$  Mol/l  
 Kalium-Eisen(III)cyanid  $4 \cdot 10^{-4}$  Mol/l
3. Luminol  $4 \cdot 10^{-4}$  Mol/l  
 Natronlauge  $4,5 \cdot 10^{-2}$  Mol/l  
 Wasserstoffperoxyd  $1,76 \cdot 10^{-2}$  Mol/l  
 Kalium-Eisen(III)cyanid  $4 \cdot 10^{-4}$  Mol/l

Das Reaktionsvolumen war immer 50 ml. Die Versuche nach dem Ansatz 1. beziehen sich — wie ersichtlich — auf die nichtkatalysierte Reaktion, während die Versuche nach den Ansätzen 2. und 3. katalysierte Reaktionen bei verschiedener Laugenkonzentration ergeben. Als Inhibitoren (Fremdstoffe) wurden Phenol, Hydrochinon, Methylparamidophenolsulfat (Metol), Anilin und Kaliumjodid verwendet. Gemessen wurde in relativen Einheiten (Galvanometeraussschläge) die Intensität der Lumineszenz in Abhängigkeit von der Reaktionszeit bei Ab- und Anwesenheit der Fremdstoffe. Berechnet wurden die Lichtsummen der Lumineszenzstrahlung und die Halbwertskonzentrationen der Inhibition (Bezüglich der Definition dieser gröszen vgl. die VII. Mitteilung<sup>2</sup>).

#### DIE VERSUCHSERGEBNISSE

Die oben angeführten Reaktionsgemische sind — wie ersichtlich — so aufgebaut, dass die Konzentration des Kalium-Eisen(III)cyanids immer konstant gehalten wurde. Bei Anwesenheit von Wasserstoffperoxyd ist die Konzentration des Eisencomplexes gleich der Luminolkonzentration, während die Konzentration des Peroxydes fast im Verhältnis von 1 : 50 grösser gewählt wurde. Dieser Überschuss ist notwendig um dem Peroxyd die Rolle der zweiten Reaktionskomponente zu erteilen und den Eisenkomplex als Katalysator wirken zu lassen. Die Luminoloxydation geht dann auf Rechnung des Sauerstoffvorrates des Peroxyds vor sich und ist beendet wenn das gesamte Luminol verbraucht ist. Bei Abwesenheit von Wasserstoffperoxyd musste die Luminolkonzentration wesentlich höher genommen werden um entsprechende messbare Lumineszenzerscheinungen zu erhalten. Hier ist das Luminol in fünffachem Überschuss vorhanden und die Reaktion ist offenbar beendet, wenn der oxydierend wirkende Eisenkomplex verbraucht ist.

Mit diesen Reaktionsgemischen wurden bei Abwesenheit von Inhibitoren maximale Lumineszenzintensitäten ( $G_m$ ) und Lichtsummen ( $L$ ) erhalten die (in relativen Einheiten) in der Tabelle I. verzeichnet sind. Es ist ersichtlich, dass die grösste maximale Lumineszenzintensität bei Anwesenheit von Wasserstoffperoxyd und der grösseren Laugenkonzentration erhalten wurde, die grösste Lichtsumme aber bei Abwesenheit des Peroxydes, also bei Anwesenheit grösserer Luminolmengen. Die grössere Reaktionsgeschwindigkeit der katalytischen Reaktion ergibt also bei kleinerer Reaktionsdauer eine intensivere Lumineszenz, während die unkatalysierte langsamere Reaktion bei kleinerer Lichtintensität schliesslich durch die längere Reaktionsdauer doch mehr Lumineszenzlicht emittiert.

Auf die nichtkatalysierte Reaktion wirkt Hydrochinon in sehr ausgeprägtem Masse inhibierend, wobei schon bei sehr kleiner Inhibitorkonzentration sowohl die maximale Intensität der Lumineszenz als auch ihre Lichtsumme

TABELLE I.

Maximale Lumineszenzintensitäten und Lichtsummen der inhibitorfreien Ansätze

Reaktionsgemische	$G_m$	$L$
ohne $H_2O_2$ (nichtkatalytisch)	57	141,5
mit $H_2O_2$ NaOH : 0,005 Mol/l (katalytisch)	11,4	5,4
mit $H_2O_2$ NaOH : 0,045 Mol/l (katalytisch)	122	24,8

wesentlich herabgesetzt wird. Einige Abklingungskurven der Luminescenz (Intensität-Zeitkurven) zeigt bei Anwesenheit von verschiedenen Hydrochinonkonzentrationen die Abb. 1. Es ist ersichtlich, dass in diesem Falle bei grösseren

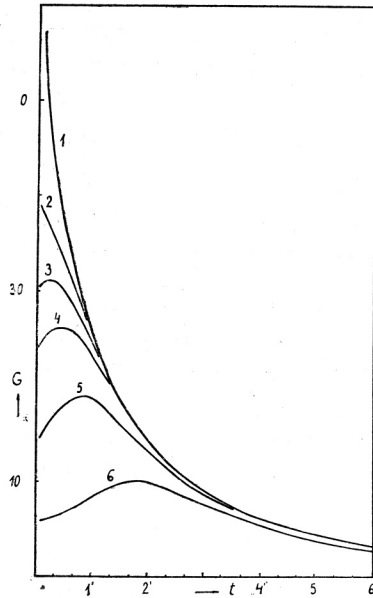


Abb. 1. Inhibition der nichtkatalytischen Reaktion durch Hydrochinon. Inhibitorkonzentration  $\times 10^8$  Mol/l: 1. —; 2. 5,4; 3. 9,0; 4. 18; 5. 36 und 6. 90.

Hydrochinonkonzentrationen die maximale Intensität der Luminescenz erst nach einer gewissen Reaktionsdauer erreicht wird.

Aus dem Verlauf der Abklingungskurven kann für jede Inhibitorkonzentration die Anfangs- und Maximalintensität, sowie auch die Lichtsumme der Luminescenz in Prozenten der entsprechenden Werte für die Reaktionsgemische

ohne Inhibitorzusatz berechnet werden. So wurden die Zahlenwerte der Tabellen II., III. und IV. erhalten, die unabhängig von den absoluten Werten der Lumineszenzintensitäten miteinander vergleichbar sind und sich auf die nichtkatalysierte, sowie auch katalysierte Reaktion nach den Ansätzen 1., 2. und 3. beziehen. In diesen Tabellen sind auch die Werte der Inhibitorkonstante  $\beta$ , die nach der allgemeinen Inhibitorgleichung\* berechnet wurden, verzeichnet. Es ist ersichtlich, dass für die Ansätze 1. und 2. der reziproke Wert der Inhibitorkonstante ( $1/\beta$ ) der durch graphische Intrapolation berechneten Halbwerts-konzentration der Inhibition ( $\bar{c}$ ) entspricht. Die Inhibitorgleichung ist also für diese Reaktion gut erfüllt. Beim Ansatz 3. wurde hingegen keine Konstanz der  $\beta$ -Werte erhalten, die Inhibition nimmt mit zunehmender Konzentration des Hydrochinons wesentlich stärker zu als es der Inhibitorgleichung entspricht. Durch die grosse Laugenkonzentration scheinen hier sekundäre Einflüsse (rasche Oxydation des Inhibitors) verursacht werden.

TABELLE II.  
Luminol +  $K_3[Fe(CN)_6]$

Ansatz 1.

Hydrochinon Mol/l. $10^8$	G in %		L in %	$\beta \cdot 10^{-6}$
	Anfangs- Intensität	Maximal- Intensität		
—	100	100	100	—
5,4	68,1	68,1	93,0	8,7
9,0	53,5	54,4	89,4	9,7
18	33,4	45,6	86,6	11,1
36	25,4	33,0	81,0	8,2
90	10,4	17,5	56,3	9,6

Mittelwert:  $\beta = 9,5 \cdot 10^6$ ;  $1/\beta = 1,06 \cdot 10^{-7}$ ;  $\bar{c} = 1,10 \cdot 10^{-7}$

TABELLE III.  
Luminol +  $H_2O_2$  +  $K_3[Fe(CN)_6]$   
NaOH:  $5 \cdot 10^{-3}$  Mol/l

Ansatz 2.

Hydrochinon Mol/l. $10^4$	G in %		L in %	$\beta \cdot 10^{-3}$
	Anfangs- Intensität	Maximal- Intensität		
—	100	100	100	—
0,9	85,9	85,9	325,7	1,8
1,8	64,9	64,9	453,8	3,0
2,7	59,7	59,7	582,8	2,5
3,6	22,8	24,9	431,0	9,4
4,5	3,8	12,1	117,1	5,6

Mittelwert:  $\beta = 4,1 \cdot 10^3$ ;  $1/\beta = 2,43 \cdot 10^{-4}$ ;  $\bar{c} = 2,4 \cdot 10^{-4}$

\* Gleichung (1) der Mitteilung VII<sup>2</sup>.

TABELLE IV.  
*Luminol* +  $H_2O_2$  +  $K_3 [Fe(CN)_6]$   
*NaOH*:  $4,5 \cdot 10^{-2}$  Mol/l

Ansatz 3.

Hydrochinon Mol/l. $10^4$	G in %		L in %	$\beta \cdot 10^{-3}$
	Anfangs- Intensität	Maximal- Intensität		
—	100	100	100	—
0,9	99,2	99,2	267,3	0,9
1,8	80,3	80,3	303,7	1,3
2,16	48,4	48,4	163,0	5,0
2,52	30,1	30,4	143,8	9,2
2,56	14,1	14,1	82,3	23,8
2,61	2,4	2,4	24,2	149

$$c = 2,24 \cdot 10^{-4}$$

Wesentlich ist die sehr kleine Halbwertskonzentration des Hydrochinons bei der nichtkatalytischen Reaktion. Sie ist nach der Grössenordnung etwa im Verhältnis 1 : 4000, bzw. 1 : 20000 kleiner als die Konzentration des Kalium-Eisen(III)cyanids, bzw. des Luminols im Reaktionsgemisch. Das bedeutet aber, dass bei dieser Inhibitorkonzentration die Hälfte der zur Emission je eines Lichtquantens befähigten angeregten Moleküle (Ionen) des Luminols in der Lichtausstrahlung behindert werden, wenn sich in der Reaktionslösung auf 20000 Luminolmoleküle und 4000 Ionen des Eisenkomplexes ein Molekül (Ion) des Hydrochinons befindet. Dies ist eine sehr wirksame Inhibition, wie sie\* bei anderen Reaktionen nur selten zu beobachten ist und die für einen besonderen Reaktionsmechanismus der nichtkatalytischen Reaktion spricht. Bei den gewöhnlichen thermischen und photochemischen Reaktionen, sowie bei der Fremdlöschung der Fluoreszenz ist die Halbwertskonzentration des Inhibitors oft sogar im Verhältnis 1 : 100 grösser als die Konzentration der Reaktionskomponenten, während Reaktionen für die ein Kettenmechanismus angenommen werden kann, gewöhnlich wirksamer inhibiert werden\*.

Die anderen Inhibitoren die wir untersuchten wirken auch auf die nichtkatalysierte Reaktion schwächer, wenn auch allgemein zu beobachten ist (vergl. die Tabelle V.), dass diese Reaktion leichter inhibiert werden kann als die katalysierte. Kaliumjodid wirkt hingegen, offenbar in der Form eines primären Elektrolyteffektes, erhöhend auf die maximale Intensität der Lumineszenz, wobei auch die Lichtsumme unwesentlich erhöht wird. Die molaren Konzentrationen des KJ, die die maximale Intensität der Lumineszenz auf den doppelten Wert erhöhen sind gleichfalls in der Tabelle V. verzeichnet.

\* Es kann hier auf die Inhibition der Autoxydation des Benzaldehyds durch Hydrochinon und ähnliche Stoffe<sup>4</sup>, auf die Inhibition der Autoxydation des Cysteins durch  $MnSO_4$ <sup>5</sup>, auf die Hemmung der Photopolymerisation des Styrols und Vinylacetats durch Hydrochinon<sup>6</sup> und auf die Löschung der Chemilumineszenz des Phosphors durch Dämpfe von Terpentinöl (Graham 1829) hingewiesen werden.

Für die Erklärung der sehr wirksamen Inhibition kann man annehmen, dass bei der chemischen Reaktion des Kalium-Eisen(III)-cyanids mit dem Luminol eigentlich nicht das Hexacyanidion des Eisenkomplexes, sondern das Pentacyanidion reagiert, das sich aus dem Hexacyanid in kleiner Konzentration durch Hydrolyse nach folgender Reaktionsgleichung bildet:

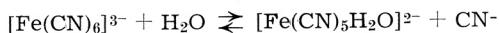


TABELLE V.

Die Halbwertskonzentrationen verschiedener Inhibitoren

Inhibitor	Reaktion ohne $\text{H}_2\text{O}_2$	mit $\text{H}_2\text{O}_2$	
		0,005 M NaOH	0,045 M NaOH
c			
Phenol	$2,02 \cdot 10^{-3}$	$3,60 \cdot 10^{-3}$	$2,70 \cdot 10^{-2}$
Hydrochinon	$1,10 \cdot 10^{-7}$	$2,40 \cdot 10^{-4}$	$2,24 \cdot 10^{-4}$
Metol	$7,70 \cdot 10^{-6}$	$6,67 \cdot 10^{-6}$	$3,42 \cdot 10^{-5}$
Anilin	$1,03 \cdot 10^{-2}$	$2,00 \cdot 10^{-2}$	$5,30 \cdot 10^{-2}$
Konzentration in Mol/l die $G_m$ um 100% erhöht			
Elektrolyt			
KJ	0,117	0,018	0,052

Die Anwesenheit des Aquopentacyanidions in wässrigen Lösungen unter verschiedenen Versuchsbedingungen wurde vielfach beobachtet<sup>7</sup> und es ist wahrscheinlich, dass das labil gebundene Wassermolekül in diesem Ion leicht durch ein Molekül oder Ion des Luminols ersetzt werden kann. Dieser Luminolkomplex des Pentacyanids wäre somit der eigentliche kritische Reaktionskomplex (instabiles Zwischenprodukt) der nichtkatalysierten Luminolreaktion und die Inhibition käme dann dadurch zustande, dass ein Hydrochinonion im kritischen Komplex das Luminolion verdrängt und so die Reaktion die zur Lichtausstrahlung führt behindert. Gleichzeitig verlaufen aber anscheinend auch andere thermische Reaktionen die kein Licht emittieren, weshalb auch die Lichtsumme der Lumineszenz wesentlich herabgesetzt wird.

## LITERATUR

1. Bezüglich der Literatur vgl. besonders A. Etienne: *Heterocycles Hexaminiques* in V. Grignards, *Chimie organique*, p. 1129 ff. Paris 1952.
2. K. Weber, Z. Procházka und I. Špoljarić, *Croat. Chem. Acta* **28** (1956) 25.
3. K. Weber, *Inhibitorwirkungen*, Stuttgart 1938.
4. K. Bodendorf, *Ber.* **66** (1933) 1608.
5. E. Baur und H. Preis, *Z. physik. Chem. B* **32** (1936) 65.
6. H. S. Taylor und A. A. Vernon, *J. Am. Chem. Soc.* **53** (1931) 2527.
7. *Abeggs Handb. d. Anorg. Chem.* Bd. IV. Abt. 3. Teil II. B. S. 527 ff.

## IZVOD

**O luminescenciji luminola. VIII.  
Vrlo djelotvorna inhibicija luminolske reakcije***K. Weber i R. Kostelac*

Kemiluminescencija luminola (3-aminofthalhidrazida), koja se zbiva u prisutnosti kalijeva ferijanida, temelji se na oksidativnoj razgradnji luminola, a može biti izvedena kao nekatalitička, odnosno kao katalitička reakcija, već prema tome da li se vodikov peroksid nalazi u reakcionoj smjesi ili ne. I jedan i drugi oblik luminolske reakcije pristupačan je utjecajima inhibitora, pa hidrokinon vanredno uspješno inhibira nekatalitičku reakciju već u veoma malenoj koncentraciji u reakcionoj smjesi (tablica II). Ta se inhibicija manifestira kao smanjenje maksimalnog intenziteta i zbroja svijetla luminescencije. Molarna koncentracija hidrokinona, koja smanjuje maksimalni intenzitet luminescencije na polovinu vrijednosti, što je daje reakcija bez prisutnosti inhibitora, iznosi svega  $1,10 \cdot 10^{-7}$  mol/l. Tako djelotvornim inhibicijama pristupačne su redovito samo kemijske reakcije, za koje možemo pretpostaviti da se zbivaju putem određenoga lančanog mehanizma. Zbog toga možemo smatrati, da nekatalitička luminolska reakcija ima naročito zamršeni reakcioni mehanizam.

Postoji mogućnost, da kompleksni ion željeznog akvo-pentacijanida, koji se u reakcionim otopinama nalazi samo u malim koncentracijama, kod ovog reakcionog mehanizma primarno reagira s ionom luminola, te stvara kritički reakcioni kompleks. Inhibicija utjecajem hidrokinona, pa i drugih inhibitora, sastajala bi se u tom slučaju u sprečavanju stvaranja toga kompleksa. Drugi inhibitori djeluju na luminolsku reakciju znatno slabije negoli hidrokinon, a kalijev jodid povisuje maksimalni intenzitet luminescencije. U potonjem slučaju očito se radi o primarnom elektrolitnom efektu.

»FOTOKEMIKA«

ODJEL ZA ISTRAŽIVANJE  
ZAGREB

Primljeno 6. decembra 1955.