

O luminescenciji luminola V.

Mehanizam katalitičkog djelovanja željeznih kompleksa^{*})

K. WEBER

Ispitivan je uticaj temperature na kemiluminescenciju luminola u prisutnosti slijedećih katalizatora: klorhemin, salicilaldehidetilendiamin-feriklorid, hemiglobin i kalijev fericijanid. Prva dva od navedenih katalizatora uvjetuju veći uticaj temperature na reakciju luminola, a s tim u vezi i veće vrijednosti za energiju aktiviranja. Hemiglobin i fericijanid kataliziraju naprotiv savršenije luminescenciju luminola, skoro bez primanja energije aktiviranja, te daju temperaturne kvocijente, koji su jedva veći od jedinice. Ove eksperimentalne činjenice mogu poslužiti u vezi kemijskom konstitucijom upotrebljenih katalizatora za promatranje reakcionog mehanizma katalize uticajem željeznih kompleksa. Peroksidativno djelovanje, koje je zapravo jedino djelotvorno u smislu emisije svijetla luminescencije, mogu izazvati savršenije samo željezni kompleksi hemiglobinskog karaktera, dok kod kompleksa, koji su u pogledu načelne kemijske konstitucije slični heminu, dolazi do istovremenog peroksidativnog i katalitičkog djelovanja, a mogu i prevladavati čisto katalitički procesi.

Katalitičkim djelovanjima kompleksnih spojeva željeza pripada određeno biokemijsko značenje, budući da su neke biološke funkcije usko povezane s kemijskim reakcijama, koje takvi kompleksi kataliziraju. U tom pogledu zaslužuje naročitu pažnju biokemijsko djelovanje katalaze, peroksidaze, fermenta disanja i drugih heminskih proteida. Mehanizam djelovanja tih katalitičkih tvari, koje sadrže kompleksno vezano trovaljano željezo, istraživan je mnogostruko i prema tome je poznat u glavnim svojim fazama, ali još ipak nisu odgonetane potpuno neke kinetičke pojedinosti tih reakcija.

Kinetiku katalitičkog djelovanja heminskih proteida (katalaza) istraživali su suvremenom i zaista savršenom metodikom rada H. Theorell i suradnici¹⁾. Oni su, pored drugih značajnih rezultata svog rada, dokazali eksperimentalno sigurno stvaranje adicionog međuprodukta između molekule katalaze i vodikovog peroksida, kao i stvaranje drugih sličnih produkata u toku reakcije katalaze s raznim supstratima, te su na taj način eksperimentalno potvrdili — barem načelno — neke starije biokemijske hipoteze o mehanizmu katalitičkog djelovanja heminskih proteida, kao i enzima uopće.

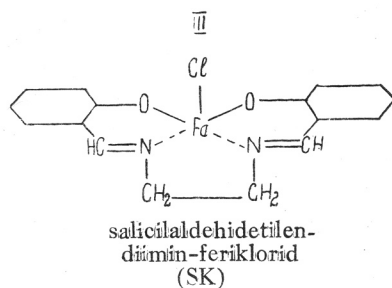
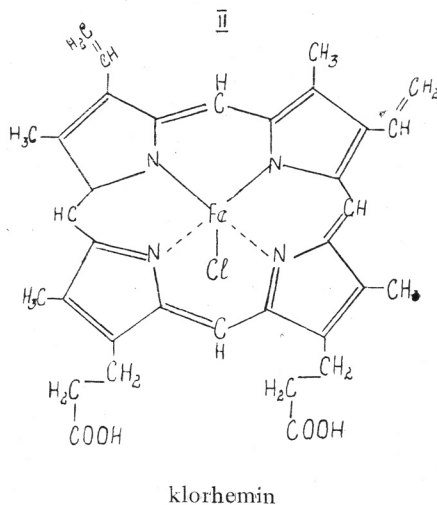
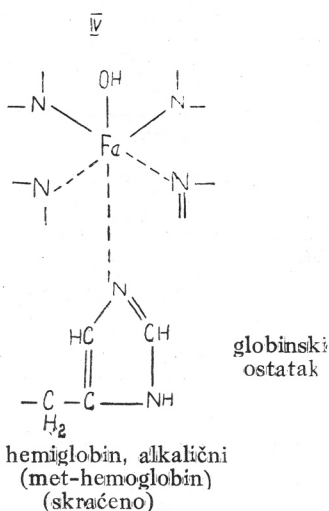
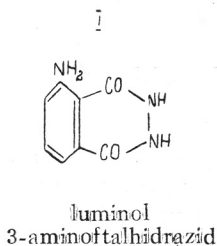
Kinetička metoda, koja je primijenjena uz savršene aparature u radovima Theorell-ove škole konzekventno, a koja se u starijim radovima jedva upotrebljavala, dala je rezultate od velikog zamašaja. No da se ta metoda s uspjehom može upotrebiti i kod znatno skromnijeg aparativnog uređaja, možemo pokazati na temelju pokusa, koje smo izveli u pogledu peroksidativnog odnosno katalitičkog djelovanja nekih željeznih kompleksa, a u prisutnosti luminola (3-aminofthalhidrazida) kao supstrata.

^{*}) Četvrta radnja ove serije: Ber., 76 (1943) 366.

¹⁾ Vidi prikaz tih radova: H. Theorell, *Experientia* 4 (1948) 100.

EKSPERIMENTALNI DIO

Izvršena su ispitivanja uticaja temperature na kemiluminescenciju luminola (I), koja se zbiva u alkaličnoj otopini (Na_2CO_3) uticajem vodi-

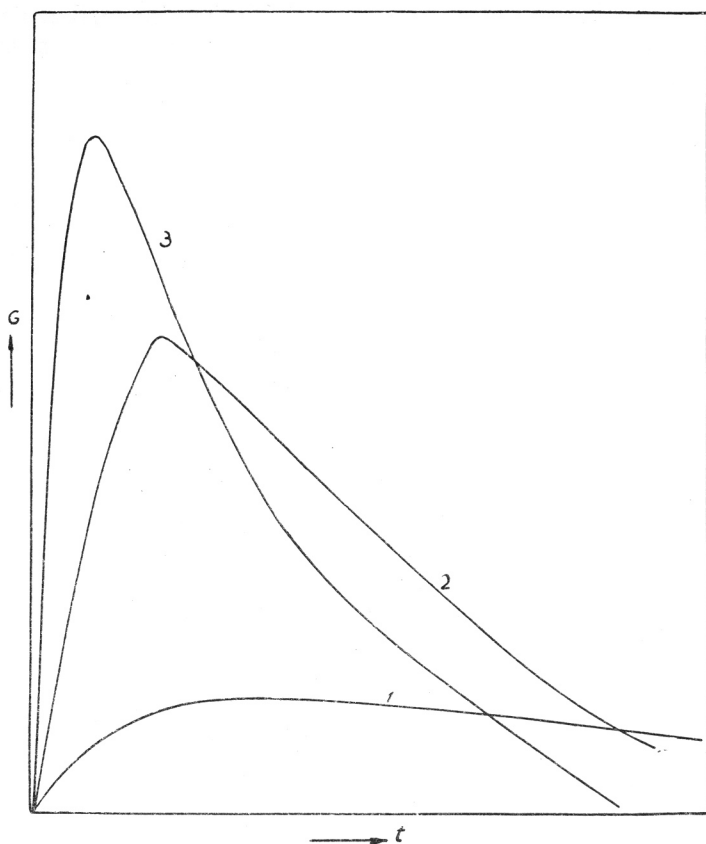


kovog peroksida, a uz djelovanje slijedećih katalizatora: klorhemin (II), salicilaldehidetylen-diamin-feriklorid (III. skraćeno SK), hemoglobin (IV, methemoglobin) i kalijev fericijanid. Reakcione smjese²⁾ sadržavale su reakcione komponente uvijek u slijedećim koncentracijama: luminol $8 \cdot 10^{-4}$ mol/l, H_2O_2 $1,76 \cdot 10^{-2}$ mol/l i Na_2CO_3 0,10 mol/l, a katalizatori primijenjeni su u koncentracijama: klorhemin $2 \cdot 10^{-6}$ mol/l, SK $2 \cdot 10^{-4}$ mol/l, hemoglobin $1 \cdot 10^{-3}$ % i $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ $4 \cdot 10^{-6}$ mol/l. Otapalo bila je voda. Temperatura varirana je između 10° i 30°C , a bila je konstantna za vrijeme reakcije na $\pm 0,2^\circ$. Mjerenja intenziteta kemiluminescencije luminola u tim reakcionim smjesama, u ovisnosti od reakcionog vremena, izvršena su fotoelektričnom aparaturom, koja je već ranije opisana³⁾.

²⁾ U pogledu literature o luminolskoj reakciji vidi: K. Weber, Ber., 75 (1942) 566; K. Weber, A. Režek i V. Vouk, ibid., 75 (1942) 1141.

³⁾ K. Weber, Z. physik. Chem., (B), 50 (1941) 100; K. Weber i J. Rukavina, Acta medic. Jugoslav., 3 (1949) 104.

Reakciona smjesa luminescira veoma slabo bez katalizatora, a kod dodavanja katalizatora u navedenim koncentracijama naglo se javlja intenzivna kemiluminescencija luminola, koja se postepeno gasi, a pri upotrebljenim pokusnim uvjetima za nekoliko minuta skoro posve isčezava. Krivuljama ovisnosti intenziteta luminescencije o reakcionom vremenu pripadaju pri tomu principijelni oblici, koje shematski prikazuje slika 1. Što jače djeluje katalizator, to je viša vrijednost maksimalnog intenziteta luminescencije, a to je kraće vrijeme njezinog trajanja. Krivulja 1. na slici 1. prikazuje principijelnu promjenu intenziteta luminescencije (Φ) u

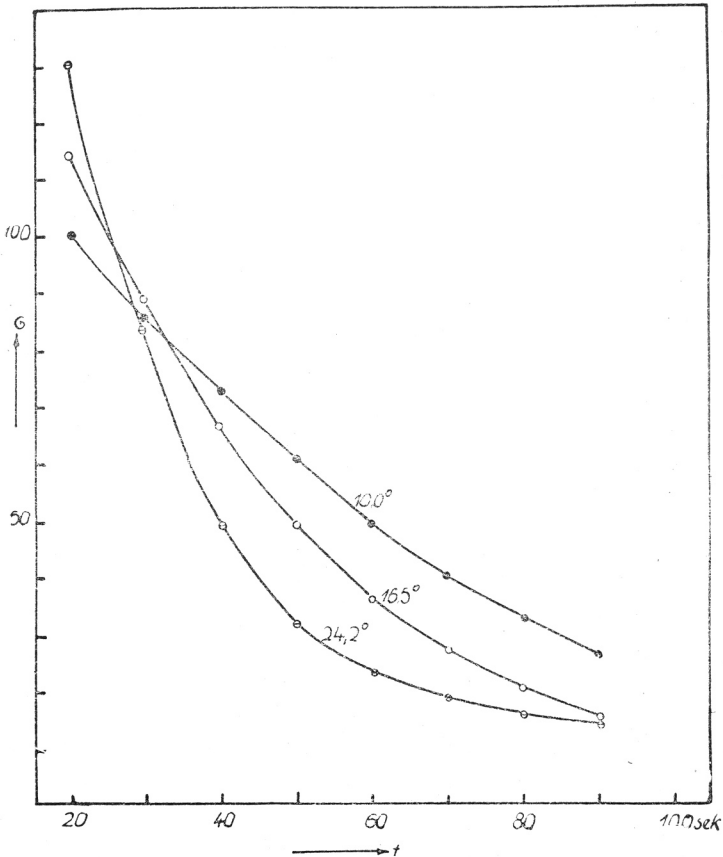


Sl. 1. Ovisnost intenziteta luminescencije luminola o reakcionom vremenu (shematski). Krivulja 1 bez katalizatora, krivulje 2 i 3 s katalizatorom kod niže odnosno više temperature.

Fig. 1. Schematischer Verlauf der Intensitäts-Zeitkurven der Lumineszenz des Luminols. Kurve 1 ohne Katalysator, Kurven 2 und 3 mit Katalysatoren bei tieferer bzw. höherer Temperatur.

ovisnosti o reakcionom vremenu (t), a bez prisutnosti katalizatora. Krivulje 2. i 3. na istoj slici odgovaraju intenzitetnim promjenama u reakcionim smjesama sa katalizatorom, i to kod niže (krivulje 2.), i više temperature (krivulja 3.). Integral tih krivulja daje brojčanu vrijednost za zbroj svijetla, t. j. za ukupnu količinu emitiranog svijetla luminescencije.

Strmina krivulje opadanja intenziteta luminescencije u ovisnosti o reakcionom vremenu, predstavlja prema razloženoj relativnu mjeru za djelotvornost upotrebljenog katalizatora, a povišenjem temperature ta strmina krivulje također postaje veća, jer se povećava brzina reakcije. Kod eksperimentalnog ustanovljenja intenziteta luminescencije luminola prvi dio krivulje (porast intenziteta) ne može se obično mjeriti, jer se maksimum intenziteta postizava veoma brzo, za nekoliko sekunda. Zato se prvo mjerenje obavi nakon što od početka reakcije prođe određeno vrijeme, na pr. nakon 20 sekunda, pa se opadanje intenziteta dalje prati mjerenjima u određenim vremenskim razmacima. Tako dobivene krivulje za kemiluminescenciju luminola u prisutnosti klorhemina prikazuje za različite temperature (10,0°, 16,5° i 24,2°C) slika 2. Vidimo, da su krivulje to strmije, što je temperatura viša.



Sl. 2. Krivulje opadanja intenziteta luminescencije luminola u prisutnosti hemina, kod različitih temperatura.

Fig. 2. Abklingungskurven der Luminescenz des Luminols bei Anwesenheit von Haemin, für verschiedene Temperaturen.

Krivulje opadanja intenziteta luminescencije mogu se računski dobro interpretirati jednadžbom za brzinu reakcije prvog stepena, koju za konkretni slučaj možemo pisati u ovom obliku:

$$0,4343 k = \frac{1}{t_x - t_m} \log \frac{G_m}{G_x} \dots \dots \dots (1)$$

U toj jednadžbi označili smo sa G_m otklon galvanometra fotoelektrične aparature, koji je dobiven za maksimalnu vrijednost intenziteta luminescencije (reakciono vrijeme $t_m = 20$ sek.), G_x je otklon galvanometra za reakciono vrijeme t_x , a k je konstanta brzine reakcije. Reakciono vrijeme (t_m odnosno t_x) uzima se u minutama. Po toj formuli izračunane vrijednosti za k prilično su konstantne (vidi tabelu 1.) što naročito vrijedi za pokuse s klorheminom i katalizatorom SK. Iz rezultata pokusa s različitim katalizatorima, kod različitih temperatura, po jednadžbi (1) dobivene vrijednosti za konstantu brzine reakcije (k) unesene su u tabelu 2. Vidimo da

Tabela 1
Luminol + SK; temp.: 21° C

t u sek.	20	30	40	50	60	70	80	90	120	150	180
G	54	47	42	38	33	28	24	20,5	14,4	10,1	7,4
k	—	0,833	0,754	0,703	0,756	0,788	0,811	0,828	0,774	0,745	0,690

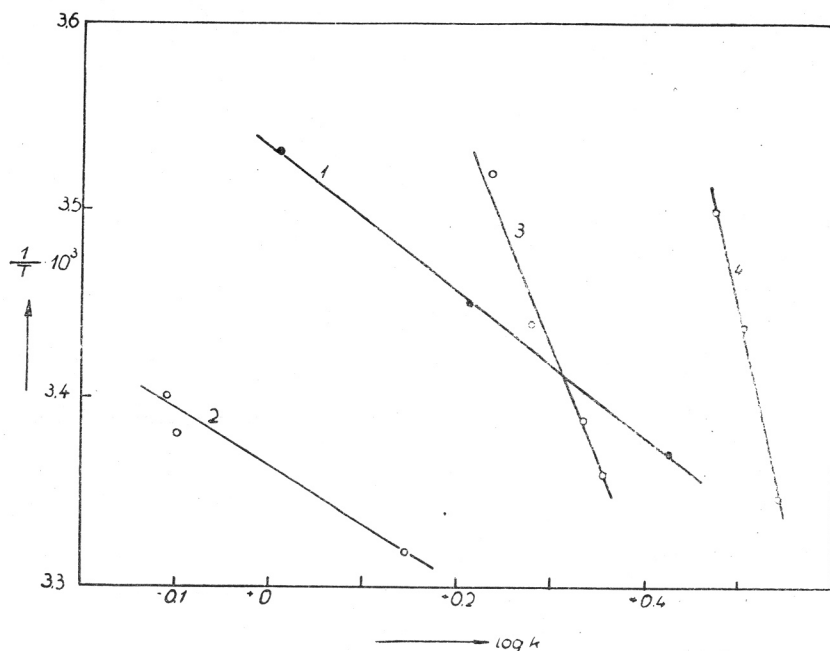
Srednja vrijednost: $k = 0,768$

Tabela 2

Katalizator	T	k	A cal/mol	Q ₁₀
hemin	283,0	1,028	11433	1,95
	289,5	1,619		
	297,2	2,627		
S K	294,0	0,768	15190	2,44
	295,4	0,797		
	301,5	1,399		
hemiglobin	285,8	2,932	2130	1,13
	291,1	3,149		
	298,4	3,425		
K ₃ [Fe(ON) ₆].	283,7	1,698	3700	1,24
	290,5	1,877		
	295,3	2,137		
	297,3	2,238		

porastom temperature u svim slučajevima raste brzina reakcije, no ne znatno većoj mjeri u prisutnosti hemina i SK katalizatora, nego li uz doatak hemiglobina ili fericijanida. Ta činjenica se naročito lijepo vidi kod promatranja brojčanih vrijednosti temperaturnog kvocijenta reakcije (Q_{10}), koji se odnosi na temperaturnu razliku od 10^0 . U prisutnosti hemina, ili katalizatora SK brojčane vrijednosti tog kvocijenta po prilici odgovaraju vrijednostima temperaturnog kvocijenta običnih termičkih reakcija, dok luminolske reakcije, koje kataliziraju hemiglobin i fericijanid imaju kvocijente, koji nisu znatno veći od jedinice. To znači da luminescencija u tim slučajevima skoro nije ovisna o temperaturi⁴⁾.

Kod uobičajenog grafičkog prikazivanja ovisnosti logaritma konstante brzine reakcije o recipročnoj apsolutnoj temperaturi ($1/T$) dobivaju se pravci, koje prikazuje slika 3. Nagib tih pravaca odgovara energiji aktivi-



Sl. 3. Ovisnost logaritma konstante brzine reakcije o recipročnoj apsolutnoj temperaturi u prisutnosti raznih katalizatora. 1 hemin, 2 SK, 3 kalijev fericijanid, 4 hemiglobin.

Fig. 3. Der Logarithmus der Geschwindigkeitskonstanten als Funktion der reziproken absoluten Temperatur, bei Anwesenheit verschiedener Katalysatoren, 1 Haemin, 2 SK, 3 Kaliumferri-cyanid, 4 Haemiglobin.

ranja (A) luminolske reakcije, a svaki pravac odnosi se na jedan od navedenih katalizatora. Brojčane vrijednosti energije aktiviranja, računane po jednadžbi:

$$A = \frac{4,573 \cdot T_2 \cdot T_1}{T_2 - T_1} \log \frac{k_2}{k_1} \dots \dots \dots (2)$$

⁴⁾ Do sličnih konstatacija došli su J. Plotnikov i J. Kubal, Radiologica, 2 (1938) 138; nadalje O. Schales, Ber., 72 (1939) 168.

umešene su također u tabelu 2. Vidimo da je energija aktiviranja u prisutnosti hemiglobina i fericijanida upravo neznatna, dok katalizatori hemin i SK uvjetuju vrijednosti te energije, koje su skoro »normalne« za obične termičke reakcije.

TEORETSKA RAZMATRANJA

Navedenim eksperimentalnim rezultatima pripada stanovito značenje kod proučavanja mehanizma katalitičkog djelovanja željeznih kompleksa, pri čemu igra prije svega ulogu njihova kemijska konstitucija. U svim upotrebljenim katalizatorima nalazi se kompleksno vezano trovaljano željezo, a međusobno se ovi spojevi načelno bitno razlikuju naročito i u pogledu broja zauzetih koordinativnih mjesta željeza. Maksimalni koordinativni broj željeza jest šest, a od tih šest mjesta zauzeta su u kationu klorhemina, kao i u kationu SK-spoja samo četiri*). U hematinu, odnosno u odgovarajućem spoju, koji se u alkaličnoj otopini stvara iz SK, imat ćemo još uvijek jedno potpuno slobodno koordinativno mjesto, a OH-skupina, koja zauzima peto mjesto, nije naročito čvrsto vezana, pa se lako zamijeni s kojom drugom skupinom.

U fericijanidu kao i u alkaličnom hemiglobinu zauzeto je naprotiv svih šest koordinativnih mjesta željeza. Ali OH-skupina u alkaličnom je hemiglobinu vezana na željezo manje čvrsto od drugih skupina, pa je zato i lako zamjenljiva. To isto vrijedi i za jednu od prisutnih šest CN-skupina u fericijanidu, što možemo zaključiti iz činjenice, da se iz kompleksnih heksacijanida željeza lako stvaraju blagim kemijskim ili fotokemijskim uticajima odgovarajući pentacijanidi⁵⁾. U tom pogledu postoji dalekosežna sličnost u kemijskoj konstituciji fericijanida i hemoglobina. U klorheminu, odnosno hematinu i SK-spoju, koga u pogledu katalitičkog djelovanja možemo smatrati nekim umjetnim heminom, imat ćemo dakle dva koordinativna mjesta željeza, na koja se kod katalitičkog djelovanja mogu vezati druge tvari, dok kod hemoglobina i fericijanida postoji samo jedno takovo mjesto. Ove principijelne razlike u kemijskoj konstituciji katalizatora dolaze do izražaja i u kinetičkom pogledu, jer spojevi, u kojima je samo jedno koordinativno mjesto željeza slobodno (hemiglobin, fericijanid), kataliziraju luminescenciju luminola skoro bez energije aktiviranja, dok je ta energija kod reakcije s katalizatorima s većim brojem slobodnih koordinativnih mjesta znatna.

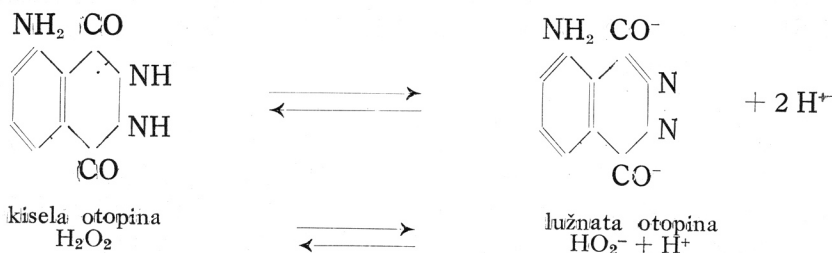
Za mehanizam katalize bitno je, da su H. D. K. Drew i R. F. Garwood⁶⁾ dokazali eksperimentalno stvaranje peroksida između luminola i

*) Vidi prije navedne formule tih spojeva.

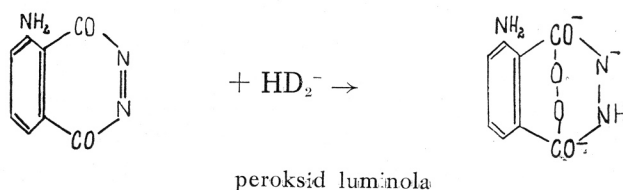
⁵⁾ Vidi opširan prikaz: Abeggs Handb. d. Anorg. Chem. Bd. IV. Abt. 3, Teil II, B. str. 527 i 587.

⁶⁾ J. Chem. Soc., 1938, 791.

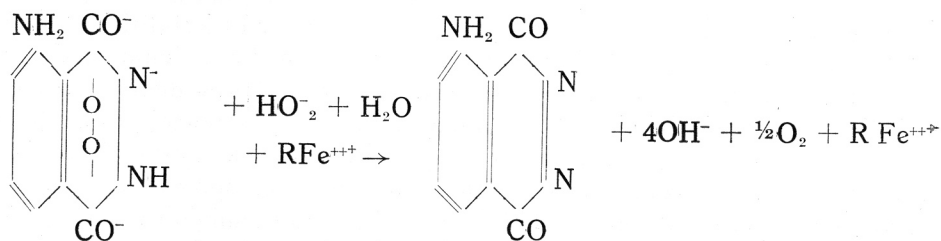
H_2O_2 u alkaličnim otopinama. Uzimajući u obzir disociacione ravnoteže luminola, kao i vodikovog peroksida:



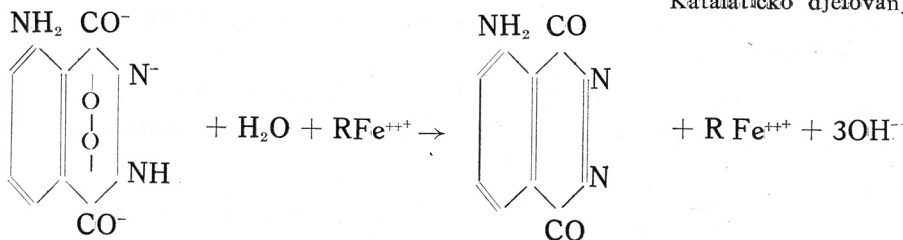
stvarat će se peroksid luminola u lužnatim otopinama po jednadžbi:



Nastaje zapravo peroksid aniona laktim-oblika luminola, koji predstavlja ishodnu tvar luminolske reakcije. Po biokemijskim teorijama katalize taj će peroksid stvarati adicioni spoj s molekulom katalizatora, a raspadanjem tog spoja za vrijeme reakcije nastaju konačni reakcioní produkti. Ako se među ovim produktima reakcije nalazi i elementarní kisik, govorimo o katalitičkom djelovanju, a kod peroksidativnog djelovanja ne će se razvijati kisik, nego se oksidira odnosno dehidrira supstrat (luminol). Za luminescenciju luminola možemo ove reakcije formulirati slijedećim brutojednadžbama:



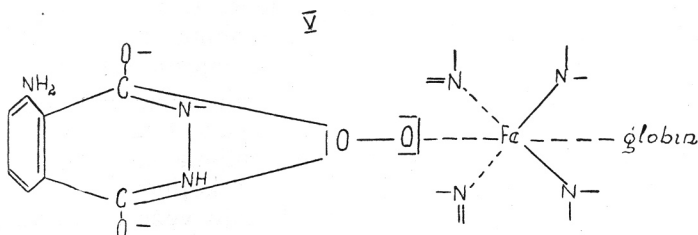
Katalitičko djelovanje:



Peroksidativno djelovanje

Prva od navedenih reakcija nije zapravo čisto katalitička, jer se pored razvijanja elementarnog kisika supstrat (luminol) još i dehidrira. Ta formulacija odgovara istovremenom zbivanju katalitičkog i peroksidativnog djelovanja, dok druga od navedenih jednadžba daje proces stvarno čisto peroksidativnog djelovanja.

Promatramo li sada mehanizam tih reakcija, bit će jasno, da stvaranje adicionog produkta između peroksida luminola i katalizatora (kompleksa željeza) predstavlja najvažniju međureakciju tog mehanizma. Hemiglobin će lako stvarati takav adicioni produkt, jer se peroksid luminola jednostavno veže na šesto koordinativno mjesto željeza u hemiglobinu, pa nastaje produkt slijedeće konstitucije*).



Raspadanjem takvog kompleksa stvaraju se zamršenim reakcionim slijedom⁷⁾ oksidacioni produkti luminola, a u nizu međuprodukata tih reakcija nalaze se i podražene molekule, koje emitiraju svijetlo luminescencije luminola. Taj drugi dio luminolske reakcije, koji nije više katalitički, nije u svim pojedinostima još razjašnjen potpuno sigurno.

Kod katalitičkog djelovanja hemoglobina igrat će presudnu ulogu stabilnost adicionog produkta V. Ako je taj produkt veoma stabilan, on će se lako stvarati, ali će se teško raspasti; ako je naprotiv malo stabilan, teže će se i stvarati. Prvi kao i drugi slučaj uvjetuju slabo katalitičko djelovanje. Tek kod neke srednje stabilnosti tog adicionog kompleksa će katalitičko djelovanje biti veoma efikasno. U pogledu takvih kataliza vladat će slične okolnosti s obzirom na čvrstinu veza između peroksida i željeza u kompleksu kao kod transporta kisika u krvi putem hemoglobina.

Kalijev će fericijanid moći stvarati, s obzirom na svoju kemijsku konstituciju, načelno jednake adicione produkte s peroksidom luminola kao i hemiglobin, no drugačije će se u tom pogledu vladati klor-hemin i SK-spoj. U tim se spojevima peroksid luminola može vezati na peto koordinativno mjesto željeza, a šesto će mjesto ostati prazno, ili se na njega veže jedna molekula (jon) vodikovog peroksida. Na taj način dobivamo kemijsku konstituciju, koja odgovara formuli V., ali u kojoj je globin nadomješten molekulom odnosno jonom vodikovog peroksida. U

*) Vezivanje kisika u peroksidu možemo si predočiti slijedećom elektronskom formulom:



⁷⁾ K. Weber, A. Režek i Vel. Vouk, 1. c.

prvom slučaju, kada je šesto koordinativno mjesto prazno, biti će adiciioni produkt prilično stabilan, jer su i hemoglobin, kao i pentacijanidi željeza stabilni spojevi, a u drugom je slučaju čisto peroksidativno djelovanje jedva moguće, već dolazi do istovremenog katalatičkog djelovanja po prije navedenoj formulaciji. U jednom kao i drugom slučaju možemo očekivati, da će kataliza luminescencije luminola biti slabija. Kod reakcije s klorheminom i SK-spojem igrat će dakako i koncentracija vodikovog peroksida važnu ulogu. Općenito će ove reakcije zahtijevati veće koncentracije H_2O_2 , da bi dale optimalne vrijednosti za luminescenciju luminola. Ovo je očekivanje stvarno potvrđeno eksperimentom. Kod zaista velikih koncentracija H_2O_2 moći će ovi katalizatori izazvati i čisto katalatičko djelovanje, koje dakle nije popraćeno pojavom luminescencije. U tom slučaju peroksidu luminola pripada načelno ista uloga kao globinu u hemoglobinu, naime u glavnome blokiranje petog koordinativnog mjesta željeza.

U vidu tih teoretskih razmatranja postaju razumljive u ovoj radnji eksperimentalno ustanovljene razlike u uticaju temperature na luminescenciju luminola, a s obzirom na upotrebljene katalizatore. Savršeni katalizatori kompleksni su spojevi željeza, u kojima je »prazno« samo jedno koordinativno mjesto, a na ovo se mjesto veže peroksid supstrata. Takvi katalizatori djeluju tako, da se reakcija zbiva praktički bez energije aktiviranja, a to je formalno kinetički zapravo i cilj kemijske katalize. Kompleksni spojevi željeza, u kojima su prazna dva koordinativna mjesta djeluju naprotiv u tom smislu znatno slabije, a uvjetuju razmjerno velike vrijednosti energije aktiviranja.

U pogledu same luminolske reakcije slijedi iz ovih radova, da će kemiluminescencija biti to izrazitija, što više prevladava u reakcionim smjesama peroksidativno djelovanje, a što se manje zbivaju katalatički procesi.

INSTITUT ZA SUDSKU MEDICINU I KRIMINALISTIKU
MEDICINSKI FAKULTET
ZAGREB

Primljeno 9. srpnja 1951.

ZUSAMMENFASSUNG

Über die Lumineszenz des Luminols V

Zum Mechanismus der Katalytischen Wirkung von Eisenkomplexen*)

K. WEBER

Es wurde der Temperatureinfluss auf die Chemilumineszenz des Luminols (3-Aminophthalhydrazid), die in alkalischer Lösung (Na_2CO_3) bei Anwesenheit von H_2O_2 und komplexen Eisenverbindungen auftritt, kinetisch untersucht. Als katalytisch wirkende Eisenkomplexe wurden Chlorhaemin, Salizylaldehydaethylendiamin-ferrichlorid (SK), Haemoglobin (Met-Haemoglobin) und Kaliumferricyanid verwendet. Im Temperaturbereich zwischen 10° und $30^\circ C$, bei jeweilig auf $\pm 0,2^\circ$ konstanter Temperatur für eine kinetische Messung, wurde das Abklingen der Lumineszenzhelligkeit als Funktion der Reaktionszeit photoelektrisch gemessen. Es wird gezeigt, dass die Abklingungskonstanten der erhaltenen Kurven (Figur 2.), die sich nach der Gleichung der Reaktionen erster Ordnung berechnen lassen (Gleichung 1.), den Geschwindigkeitskonstanten der Reaktion entsprechen. Aus der Temperaturfunktion dieser Konstanten lassen sich die Temperaturquotienten für 10° (Q_{10}) und die Aktivierungsenergien

*) IV. Mitteilung: K. Weber und Mitarbeiter, Ber., 76 (1943) 366.

der Reaktion (A) berechnen (Tabelle 2), und zwar gesondert für jeden der verwendeten Katalysatoren.

Die Luminolreaktionen mit Chlorhaemin, oder der SK-Verbindung als Katalysator, haben Temperaturquotienten und Aktivierungsenergien, die ungefähr den Werten dieser kinetischen Grössen für gewöhnliche thermische Reaktionen entsprechen. Die Reaktionen die durch Haemoglobin oder Ferricyanid katalysiert werden sind hingegen fast unabhängig von der Temperatur und haben demzufolge kleine Aktivierungsenergien. Diese Tatsache wird einerseits mit der chemischen Konstitution der verwendeten Katalysatoren in Zusammenhang gebracht, anderseits aber dazu benützt um über den Mechanismus der Katalyse etwas aussagen zu können.

In den Kationen des Chlorhaemins und der SK-Verbindung sind von den sechs Koordinationsstellen des Eisens nur vier besetzt und die übrigen zwei freien Stellen können bei der Luminolreaktion von H_2O_2 bzw. vom Peroxyd des Luminols eingenommen werden. Im alkalischen Haemoglobin und Ferricyanid ist hingegen nur eine Koordinationsstelle frei, die bei der Luminolreaktion nur vom Peroxyd der Leuchtsubstanz besetzt werden kann. Dadurch ergibt sich, dass im ersten Falle die komplexen Eisenkatalysatoren ausser der Peroxydasewirkung auch noch eine Katalasewirkung entfalten können. Die reine Peroxydasewirkung entspricht bei der Luminolreaktion der Gleichung 2, während Gleichung 1 die gleichzeitig verlaufenden Peroxydase- und Katalasewirkungen wiedergibt. Da nur die Peroxydasewirkung die Ausstrahlung des Lumineszenzlichtes des Luminols zur Folge hat, können Katalysatoren wie Haemoglobin und Ferricyanid, die nur nach der Reaktionsgleichung 2 wirken, als vollkommene Katalysatoren der Luminolreaktion betrachtet werden, und sie ergeben dementsprechend sehr kleine Werte der Aktivierungsenergien. Mit den anderen Katalysatoren (Chlorhaemin und SK-Verbindung) erzielt man hingegen, da sie nach Gleichung 1 reagieren, nur unvollständige Katalyseneffekte und Reaktionen mit verhältnismässig grosser Aktivierungsenergie.

Durch die hier besprochenen Versuchsergebnisse scheint die bei biologischen Katalysen allgemein übliche Annahme der Bildung von Additionsprodukten zwischen dem Katalysator und dem Substrat, auch für den betrachteten Fall der Chemiluminescenz des Luminols, experimentell bewiesen zu sein. Die chemische Natur dieses instabilen Zwischenproduktes scheint der Formel 3 zu entsprechen.

INSTITUT FÜR GERICHTLICHE MEDIZIN UND KRIMINALISTIK
MEDIZINISCHE FAKULTÄT
ZAGREB, KROATIEN

Eingegangen am 9. Juli 1951.