



Lumineszenzversuche

Grundlagen: Bei jeder Lumineszenzerscheinung geben Moleküle Energie in Form von „kaltem“ Licht ab, dies erfolgt beim Übergang vom angeregten Zustand in den Grundzustand.

Je nach Erzeugung des angeregten Zustandes unterscheidet man:

- **Chemolumineszenz:** Angeregte Moleküle entstehen bei einer chemischen Reaktion.
- **Biolumineszenz:** Angeregte Moleküle entstehen bei chemischen Reaktionen in lebenden Organismen.
- **Fluoreszenz:** Moleküle werden z.B. durch UV-Licht angeregt. Beim Übergang vom angeregten Singulettzustand in den Grundzustand wird Licht abgestrahlt.

Versuch 1: Chemolumineszenz der klassischen Luminol-Reaktion

Materialien:

3 Erlenmeyerkolben (2 x 500 mL, 1 x 1000 mL), Waage, Messzylinder, Pipette (10 mL), Pipettierhilfe, Trichter, Stehkolben (1000 mL)

Luminol (= 3-Amino-phthalsäurehydrazid oder 5-Amino-2,3-dihydrophthalazin-1,4-dion, z.B. Fluka Nr. 09253), Natronlauge (w = 10 %), Kaliumhexacyanoferrat(III)-Lösung (w = 0,1 %), Wasserstoffperoxid-Lösung (w = 30 %), dest. Wasser

Durchführung:

Für einen Demonstrationsversuch werden zwei Lösungen vorbereitet:

- Lösung A: 0,2 g Luminol in 50 mL Natronlauge lösen und mit dest. Wasser zu ca. 400 mL Lösung ergänzen.
- Lösung B: Zu 400 mL Kaliumhexacyanoferrat(III)-Lösung erst vor Versuchsbeginn 10 mL Wasserstoffperoxid-Lösung zufügen.

Die hier angegebenen Volumina und Konzentrationen sind ungefähre Werte, die nicht genau eingehalten werden müssen.

In einem abgedunkelten Raum werden die Lösungen A und B über einen Trichter in einen größeren Glaskolben gefüllt. Die neue Lösung strahlt dabei kurz ein blaues Licht ab. Die Chemolumineszenz kann durch Zugabe von kleinen Mengen Kaliumhexacyanoferrat(III), $K_3[Fe(CN)_6]$, aufgefrischt werden.



Hinweise zu Alternativen:

1. Als Lösung A kann auch ebenso die Lösung von Versuch 2 eingesetzt werden. Als Lösung B eignet sich Kaliumhexacyanoferrat(III)-Lösung (w = 0,1 %).
2. Lumineszenzversuche mit intensiverem und länger anhaltendem Leuchten: [1]

Lösung A: 0,02 g TCPO (= Bis(2,4,6-trichlorphenyl)oxalat)
0,02 g Perylen (→ hellblaue Fluoreszenz) oder Rubren (→ gelbe Fluoreszenz) oder
9,10-Diphenylanthracen (→ violette Fluoreszenz)
50 mL Methylacetat (Essigsäuremethylester)

Lösung B: 10 mL t-Butanol
0,03 g Natriumsalicylat oder Magnesiumtitriplex
3 mL Wasserstoffperoxid (w = 30 %) vor Versuchsbeginn zufügen



Versuch 2: Nachweis von Blutspuren in der Kriminalistik

Materialien:

- a) Für Demonstrationsversuch: Becherglas (150 mL), Glasstab, Sprühflasche, farbiger Stoff mit Blutflecken (Schweineblut), Stativmaterial, 2 Wäscheklammern, Waage, Schutzhandschuhe, alte Zeitungen.
Natriumperoxid-Lösung ($w = 1\%$), Luminol.

Vorbereiten:

- 0,2 g Luminol in 100 mL Natriumperoxid-Lösung lösen, die Lösung in eine Sprühflasche füllen.
- Tisch mit alten Zeitungen abdecken.
- Stoff mit Blutflecken an waagrecht Stativstange aufhängen.

Durchführung:

Der mit Blut befleckte Stofflappen wird nach Abdunklung des Raumes mit wenig Lösung eingesprüht.

Beobachtung: Intensive blaue Chemolumineszenz im Bereich der Blutflecken.



Materialien:

- b) Für Schülerversuch (8 Gruppen): Becherglas (150 mL), Glasstab, 8 Porzellanschälchen mit kleinem Stofffleck mit Blut, 8 Bechergläser (50 mL), 8 Tropfpipetten,

Vorbereiten:

- Stoff mit Blutflecken in kleine Stücke schneiden.
- 0,2 g Luminol in 100 mL Natriumperoxid-Lösung lösen, die Lösung auf 8 Bechergläser verteilen.

Durchführung: Die Schüler tropfen bei schwacher Beleuchtung etwas Lösung auf verschiedene Stellen des Stoffflecken.

Beobachtung: Siehe oben.

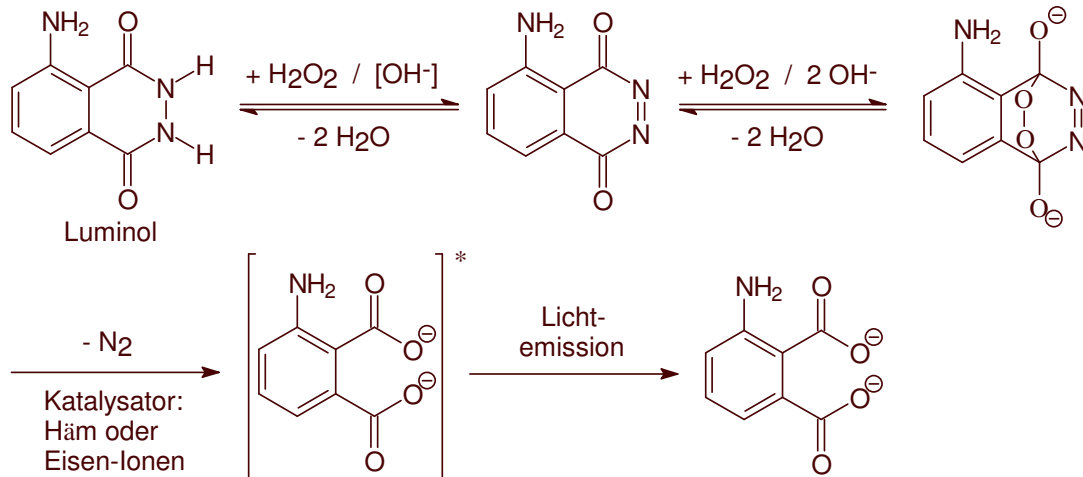
Erklärung: [2, 7]

Natriumperoxid reagiert in Wasser zu einer alkalischen Wasserstoffperoxid-Lösung:

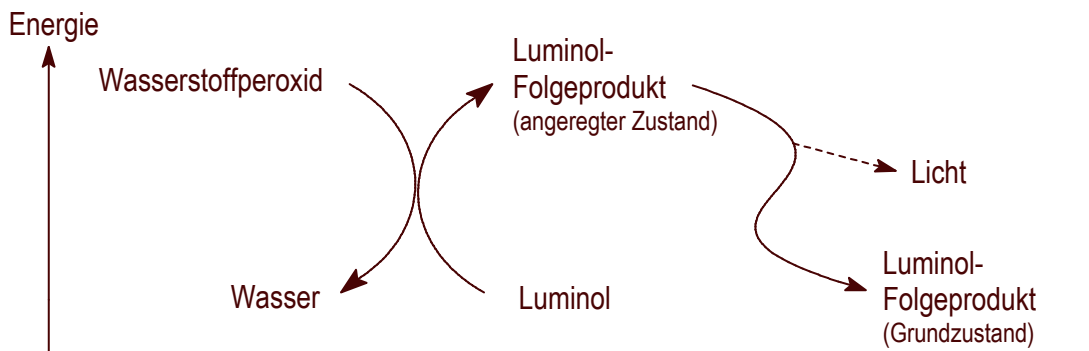


Luminol wird unter Einwirkung von Wasserstoffperoxid in alkalischer Lösung zum Diazachinon oxidiert. Im weiteren Verlauf entstehen durch Oxidation Peroxid dianionen. Nach Abspaltung von Stickstoff aufgrund des im Blut enthaltenen Protohäms (bzw. in Gegenwart von Eisen-Salzen) bilden sich 3-Aminophthalsäuredianionen in einem angeregten Zustand. Durch Abgabe von Lichtenergie wird der energetische Grundzustand wieder erreicht.

Bereits sehr geringe Mengen von Blut katalysieren die beschriebene Luminol-Reaktion. Hierbei ist für die polizeiliche Spurensicherung vor allem wichtig, dass diese Lumineszenz charakteristisch für Blut ist, da andere Körperflüssigkeiten nicht das im Blutfarbstoff Hämoglobin enthaltene Protohäm besitzen (Hämoglobin besteht aus Protein und Protohäm).



Energetische Kopplung bei der Luminol-Reaktion:



Versuch 3: Leuchtende Kartoffeln

Information: Es gibt eine große Vielfalt an Enzymen, die in der Lage sind, die Luminolreaktion zu katalysieren. Es handelt sich dabei um Cytochromoxidasen und Peroxidasen. [3]

Materialien:

Becherglas, Messer, Pinzette, Tropfpipette.
 Kartoffel, Lösung von 0,2 g Luminol in 100 mL Natriumperoxid-Lösung (w = 1 %).

Durchführung im abgedunkelten Raum:

- Eine dünne Kartoffelscheibe wird mithilfe einer Pinzette in die alkalische Luminol-Lösung getaucht und leicht hin und her bewegt.
- Die alkalische Luminol-Lösung wird auf eine Kartoffelscheibe getropft.

Beobachtung:

- Die Lösung beginnt zu leuchten.
- Die Kartoffelscheibe leuchtet.



Versuch 4: Reversible Elektronenübertragung durch Vitamin B₂ [4-6]

Informationen: Schleimhautläsionen (besonders auf der Zunge) sind häufig Symptome einer Avitaminose. Man nahm zunächst das Fehlen eines Vitamins B₂ an. Später stellte sich heraus, dass die Ursachen komplexer sind, es also mehrere B₂-Vitamine geben muss. Diese Substanzen fasste man zum „Vitamin-B₂-Komplex“ zusammen, zu dem man Riboflavin, Nicotinsäureamid, Pantothersäure und Folsäure zählt. Heute bezeichnet man als Vitamin B₂ im engeren Sinne nur das Riboflavin. Riboflavin ist in den meisten Nahrungsmitteln enthalten. Besonders vitaminreich sind Milch (daher der alte Name Lactoflavin), Pilze, Nüsse und Leber.

Materialien:

Erlenmeyer- oder Rundkolben (1000 mL), UV-Lampe (366 nm), Tropfpipette, Becherglas (50 mL).
 Riboflavin, Natriumdithionit (Na₂S₂O₄), dest. Wasser.

Es werden zwei Lösungen vorbereitet:

- Riboflavin-Lösung: Eine kleine Spatelspitze (ca. 2 mg) Riboflavin in 200 mL dest. Wasser lösen.
- Frische, gesättigte Natriumdithionit-Lösung: Etwa 2 g Na₂S₂O₄ in 10 mL dest. Wasser lösen.

Durchführung:

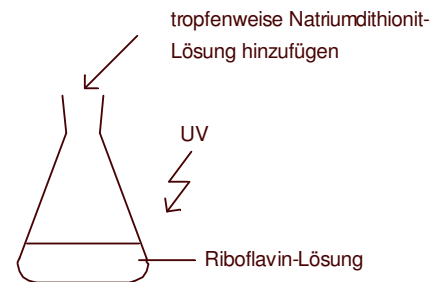
a) Reduktion (siehe Skizze):

Im abgedunkelten Raum die Riboflavin-Lösung mit der UV-Lampe bestrahlen. Sie fluoresziert jetzt gelbgrün. Bei leichtem Schwenken des Kolbens so lange Natriumdithionit-Lösung zufügen bis die Lösung nicht mehr fluoresziert.

b) Reoxidation:

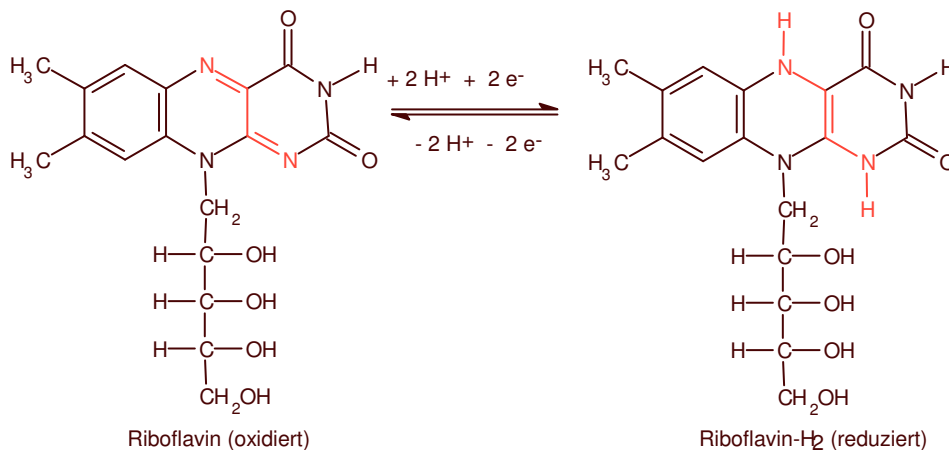
Kolbeninhalt kräftig schütteln. Nach kurzer Zeit fluoresziert die Flüssigkeit wieder gelbgrün.

c) Die Reduktion des Riboflavins und dessen Reoxidation durch Luftsauerstoff können mehrmals hintereinander wiederholt werden.



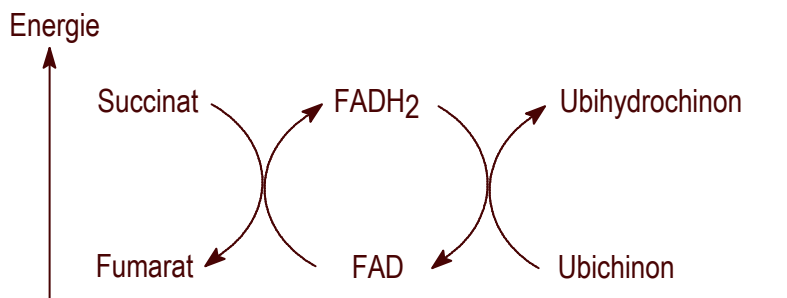
Erklärung:

Riboflavin wird zur Bildung der Coenzyme FMN (Flavin-Mononucleotid) und FAD (Flavin-Adenin-Dinucleotid) benötigt, die als prosthetische Gruppen an Wasserstoff übertragenden Enzymen („Flavo-Proteine“) gebunden sind. Die Riboflavin-Gruppe dient den Zellen als Redox-System, um z.B. beim Citronensäurezyklus und in der Atmungskette Elektronen und Protonen zu übertragen.

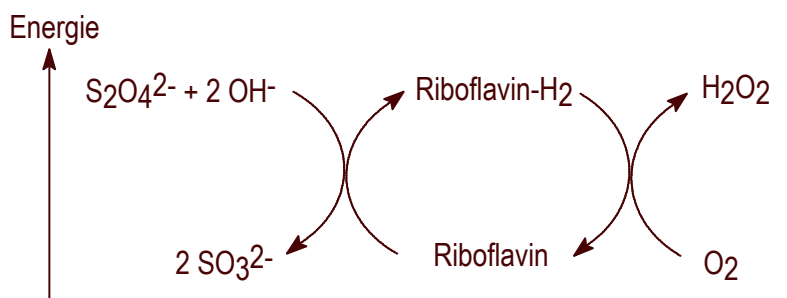




Im Citronensäurezyklus wird bei der Oxidation von Succinat zu Fumarat FAD zu FADH₂ reduziert. In der Atmungskette wird dieses FADH₂ wieder oxidiert und dabei Ubichinon reduziert.



Das Experiment mit Vitamin B₂ kann als Modellversuch für die Funktionsweise von FAD dienen. Riboflavin wird durch Dithionit reduziert, hierbei entsteht Sulfid. Anschließend wird das Vitamin B₂ durch Luftsauerstoff wieder oxidiert. Es überträgt also die Reduktions-Äquivalente von Dithionit auf Sauerstoff.



Literatur:

- [1] A. Moser: Plus lucis – eine Verstärkung d. Peroxyoxalatchemolumineszenz, PdN-ChiS 1/51. Jg. 2002, 43
- [2] A. Groß: Forensische Chemie, Vortrag v. 19.01.2000;
<http://www.chemie.uni-marburg.de/~butenuth/649.pdf> (18.04.04)
- [3] P. M. Pritchard, M. J. Cormier: Studies on the mechanism of the horseradish peroxidase catalyzed luminescent peroxidation of luminol; Biochem Biophys Res Commun (1968), 131-136
- [4] B. Laier, P. Pfeifer : Riboflavin (Vitamin B₂), NiU-Chemie 7 (1996) Nr. 31, 28-29
- [5] U. Albrecht: http://www.unifr.ch/biochem/ALBRECHT/LECTURES/15_Stoffwechsel.pdf (01.05.04)
- [6] Experiment des Monats August 2001 - Riboflavin: <http://www.chemie.uni-ulm.de/experiment/index.html> (30.04.04)
- [7] Versuch des Monats 12/2002 Forensik – Leuchtendes Blut: <http://www.experimentalchemie.de/versuch-042.htm> (25.06.04)