

dessen Abdampfen als eine Säure mit scharfem Geruch, die beim Stehen zu einer kristallinischen Masse erstarrte, erhalten.

$C_6H_{11}.CH_3.COOH$ . Ber. C 67.75, H 9.8. Gef. C 67.60, H 9.9.

Auf Grund der Analyse und der Eigenschaften muß die Säure als Cyclohexyl-essigsäure angesprochen werden.

Moskau, den 3. November 1925.

#### 49. Bernhard Batscha:

##### Über die Fluorescenz des Fluoresceins in sauren Lösungen.

[Aus d. Laborat. d. Deutschen Staats-Oberrealschule, Olmütz.]

(Eingegangen am 31. Dezember 1925.)

Die Untersuchung der Phosphorescenz-Fähigkeit des Fluoresceins<sup>1)</sup> führte zu dem Ergebnisse, daß diese durch Stoffe mit freien H-Ionen aktiviert oder zumindest stark beeinflußt wird. Im Hinblick auf die Wesensgleichheit der Fluorescenz- und Phosphorescenz-Erscheinung lag der Gedanke nahe, die Untersuchungen auf die Fluorescenz-Fähigkeit des Fluoresceins in sauren Lösungen auszudehnen. Zur Verwendung kam eine stark verdünnte alkoholische Fluorescein-Lösung, die schon an und für sich fluorescierte, obgleich mehrfach destillierter Weingeist (ca. 95-proz.) zur Auflösung genommen wurde. Diese Tatsache hatte für den weiteren Verlauf der Untersuchung keine wesentliche Bedeutung; sie verdient aber deshalb hervorgekehrt zu werden, weil sie auch von dem Entdecker des Fluoresceins, v. Baeyer<sup>2)</sup>, angegeben wird, während E. Howe<sup>3)</sup> findet, daß eine neutrale alkoholische Fluorescein-Lösung keine sichtbare Fluorescenz zeigt. Die Entscheidung dieser Frage wurde vom Verfasser nicht angestrebt, weil sie zu dem eigentlichen Gegenstande der Untersuchungen nur in einer entfernteren Beziehung steht.

Es wurde, da die alkoholische Lösung von schwacher Fluorescenz war, die Aufmerksamkeit darauf gerichtet, ob und in welchem Grade sich diese nach dem Zusatze von Säuren änderte. Zur Anwendung kamen HCl, HBr, HNO<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O<sub>4</sub>, C<sub>4</sub>H<sub>6</sub>O<sub>6</sub>, C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>7</sub> (Citronensäure) in  $n/_{10}$  Stärke, indem sie allmählich und in denselben Mengen zu gleichen Teilen der Fluorescein-Lösung hinzugesetzt wurden. Bei den vier ersten Säuren wurde ein rasches Ansteigen der Fluorescenz bis zum Maximum der Intensität bemerkt, bei der Oxalsäure geschah es in etwas verringertem Maße und am langsamsten bei der schwachen Wein- und Citronensäure. Diese Beurteilung wurde dadurch erleichtert, daß durch die Einwirkung der Säuren gleichzeitig ein Farbenumschlag der Lösung hervorgerufen wird. Die ursprüngliche rötlich-gelbe Färbung schlägt in Grünlich-gelb um, wobei die Geschwindigkeit dieses Vorganges parallel mit der Steigerung der Fluorescenz verläuft.

Durch diese Beobachtungen wurde demnach die Erwartung bestätigt, daß auch in der gewöhnlichen Fluorescein-Lösung die Wasserstoff-Ionen die Fluorescenz beeinflussen, und zwar in einem Grade, der bis zum Optimum der Fluorescenz mit wachsender Konzentration jener zunimmt. Dabei wird allerdings von der Voraussetzung ausgegangen, daß die Dissoziation der ver-

<sup>1)</sup> B. 58, 187 [1925].

<sup>2)</sup> A. 183, 2 [1876].

<sup>3)</sup> Physic. review 8, 684 [1916].

schiedenen Säuren in der alkoholischen Lösung, **zumindest** was ihr gegenseitiges Verhältnis betrifft, analoge Werte erreicht **wie** in der wäßrigen Lösung, um so mehr, als sich beim Zusatz der stark **verdünnten** Säuren der Wassergehalt der Lösung vermehrt. Mit Rücksicht **darauf** wurde die genaue Feststellung des Dissoziationsgrades durch die **Bestimmung** der elektrischen Leitfähigkeit unterlassen. Hingegen wurde in einer **zweiten** Versuchsreihe eine stark verdünnte alkoholische Lösung (Alkohol zu Wasser = 1:4) verwendet, die sich allerdings als nicht besonders geeignet **erwies**. Denn es wurde durch den Wasserzusatzen ein Teil des Fluoresceins **ausgefällt**, und vor allem wurde die Fluorescenz bedeutend verstärkt, auch **als mehrfach** destilliertes Wasser verwendet wurde. Letzterer Umstand erscheint **auffällig**, hängt aber wahrscheinlich damit zusammen, daß sich unbestimmbare Spuren von alkalischen Stoffen, die aus den Glasgefäßen **stammten**, im destillierten Wasser befanden und die Fluorescenz-Verstärkung **veranlaßten**. Denn beim vorsichtigen Zusetzen der  $n/_{10}$ -Säuren trat zunächst eine **Abschwächung** der Fluorescenz ein, um nachher einer deutlichen, wenn auch unbedeutenden Steigerung derselben zu weichen. Ein anderer Mangel **bestand** darin, daß man bei dieser Fluorescein-Lösung nicht so deutlich **das gegensätzliche** Verhältnis zwischen den starken und schwachen Säuren **hinsichtlich** ihres Einflusses auf die Fluorescenz beobachten konnte. **Dagegen** konnte auch hier beim gleichmäßigen Hinzufügen der oben genannten Säuren (in  $n/_{10}$  Stärke) festgestellt werden, daß die Geschwindigkeit, mit der der Farbumschlag der Lösung erfolgt, von dem Dissoziationsgrade jener **bestimmt** wird. Die anfänglich bräunlich-gelbe Färbung schlug bei **tropfenweisem** Zusatz der starken Säuren rascher in Grünlich-gelb um als bei **jenem** der schwachen.

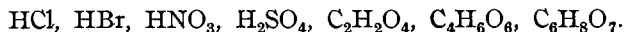
Schließlich wurde der Einfluß derselben Säuren in **n. Stärke** auf die alkoholische Fluorescein-Lösung untersucht. Auch in **diesem** Falle wurde das abweichende Verhalten der schwachen Säuren gegenüber den starken **festgestellt**: Die langsamere Steigerung der Fluorescenz bis zum Maximum der Intensität und das langsamere Übergehen des rötlich-gelben Farbtones der Lösung in Grünlich-gelb. Eine Mittelstellung in **bezug** auf diese Merkmale nahm die Oxalsäure ein. Sonst verhielten sich die anderen starken Säuren bis zur Grenze des Optimums der Fluorescenz **anscheinend** gleichmäßig fluorescenzverstärkend. Jenseits dieser Grenze aber **konnte** bei der Salzsäure und Bromwasserstoffsäure ein von den anderen Säuren **abweichendes** Verhalten wahrgenommen werden. Wenn man nämlich **einen** Überschuß der **n**-Säuren (in gleichen Mengen) zu den alkoholischen Fluorescein-Lösungen hinzusetzt, so wird die Fluorescenz abgeschwächt, **doch** bei HCl und HBr in viel höherem Grade als bei den anderen Säuren. **Diese** Erscheinung ist bemerkenswert und erinnert an die „auslöschende“ **Wirkung** der Halogenwasserstoffsäuren auf die Fluorescenz des Chinins, ein **Phänomen**, welches zuerst von Stokes<sup>4)</sup> beobachtet wurde.

### **Beschreibung der Versuche.**

I. 0.033 g (=  $1/_{1000}$  Mol.) Fluorescein wurden in 100 ccm **Alkohol** (ca. 95-proz.) gelöst. Diese Lösung weist schwache Fluorescenz **von grüner** Färbung auf und erscheint im durchfallenden Lichte rötlich-gelb **gefärbt**. Von dieser

<sup>4)</sup> J. 1869, 171

Lösung wurden je 5 ccm auf mehrere Probierrohre von gleichem Lumen verteilt und die Einwirkung folgender  $n_{/10}$ -Säuren beobachtet:



Zunächst wurden je 0.1 ccm zufließen gelassen.

Bei HCl, HBr, HNO<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> war eine deutliche, wenn auch geringe Steigerung der Fluorescenz zu beobachten und ferner ein Farbumschlag der rötlich-gelben Lösung in Grünlich-gelb, bei der Oxalsäure war die Fluorescenz-Zunahme etwas geringer, der Farbumschlag nicht so ausgesprochen, bei der Wein- und Citronensäure konnte eine Fluorescenz-Verstärkung nicht mit Sicherheit festgestellt werden; desgleichen war keine Farbenveränderung in der Durchsicht zu bemerken.

II. Es wurde nunmehr der Einfluß der  $n_{/10}$ -Säuren auf eine mit Wasser stark verd. alkohol. Fluorescein-Lösung untersucht. Die gleiche Menge von Fluorescein wie vorher wurde zunächst in 20 ccm Alkohol gelöst und 80 ccm Wasser hinzugesetzt, wobei sich ein Teil des Fluoresceins wieder ausschied. Die Lösung fluorescierte ziemlich lebhaft.

Vielleicht kann dieser Umstand auf die Anwesenheit von unbestimmten Spuren alkalischer Stoffe zurückgeführt werden, die aus den Glasgefäßen stammen, denn bei Zusatz der Säuren trat zunächst eine Abschwächung der Fluorescenz ein. Infolge dieser Tatsache und infolge der lebhaften Fluorescenz, welche die ursprüngliche Lösung aufwies, trat die Gegensätzlichkeit zwischen den starken und schwachen Säuren nicht mit der gleichen Deutlichkeit hervor wie in der früheren Versuchsreihe. Immerhin konnte auch hier wahrgenommen werden, daß die Fluorescenz bis zum Maximum der Intensität, abgesehen von der anfänglichen Abschwächung, bei Zusatz starker Säuren etwas rascher zunimmt, und daß auch der Farbumschlag der ursprünglich bräunlich-gelben Lösung in Gelb-grün bei diesen Säuren früher erfolgt.

III. Dieselbe alkohol. Fluorescein-Lösung wie oben (Versuch I) wurde mit den gleichen Säuren von  $n$ . Stärke versetzt. Zu je 5 ccm der Lösung wurden je 0.1 ccm  $n$ -HCl, HBr, HNO<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O<sub>4</sub>, C<sub>4</sub>H<sub>6</sub>O<sub>6</sub> und C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>7</sub> zugesetzt. Es wurde durch alle Säuren bis auf die beiden letzten eine deutliche Verstärkung der grünen Fluorescenz und ein Farbumschlag der Flüssigkeit von Rötlich-gelb in Grünlich-gelb hervorgerufen. Der weitere Zusatz von je 0.3 ccm der  $n$ -Säuren hatte bei den starken Säuren eine weitere, wenn auch nur geringe Steigerung der Fluorescenz zur Folge, bei der Wein- und Citronensäure war erst jetzt eine nur schwache Zunahme der Fluorescenz und der Farbumschlag zu bemerken; dennoch war dieser noch immer nicht scharf definiert.

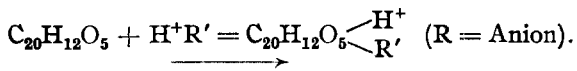
Daraus ist ersichtlich, daß auch hier die Fluorescenz der Fluorescein-Lösung von verschiedenen Säuren in ungleichem Maße beeinflußt wird. Es liegt auf der Hand, daß die Ursache dieser Erscheinung in ihrem ungleichen Dissoziationsgrad bzw. in der verschiedenen Konzentration der Wasserstoff-Ionen liegt. Daraus folgt, daß das Optimum der Fluorescenz durch Anwendung starker Säuren früher erreicht wird. Eine interessante Anomalie wurde aber beobachtet, als ein Überschuß (5 ccm) der  $n$ -Säuren zugesetzt wurde. Im Gegensatz zu allen anderen Säuren, die das Optimum der Fluorescenz nicht beeinträchtigten, war bei der Salz- und Bromwasserstoffsäure eine abschwächende Wirkung deutlich zu sehen. Wie schon an einer früheren

Stelle bemerkt wurde, erinnert dieses Phänomen an die „auslöschende“ Wirkung der Halogenwasserstoffsäuren auf die Fluoreszenz der Chininsalze

### Fluoreszenz und Phosphoreszenz.

Die Ergebnisse der Untersuchung der festen und gewöhnlichen Fluorescein-Lösung weisen deutlich auf die Analogie, oder besser gesagt, auf die Wesensgleichheit beider Lumineszenz-Erscheinungen (Fluoreszenz und Phosphoreszenz) hin: In allen Fällen wurde der gleiche Einfluß der Stoffe mit freien Wasserstoff-Ionen festgestellt, desgleichen die Tatsache, daß dieser Einfluß mit wachsender Konzentration derselben — bis zum Optimum der Lumineszenz — zunimmt. Es erscheint daher berechtigt, die Lumineszenz-Erscheinungen der festen und gewöhnlichen (sauren) Fluorescein-Lösungen vom gleichen Gesichtspunkte zu betrachten und die Annahme<sup>5)</sup>, daß das Fluorescein sich mittelst freier Valenzen mit den Stoffen, die freie H-Ionen führen, zu instabilen, komplexen Molekülen verbindet, auch auf die gewöhnliche (saure) Lösung auszudehnen. In weiterer Ausführung dieses Gedankens müßte die Lumineszenz (Fluoreszenz und Phosphoreszenz) als die Begleiterscheinung einer chemischen Reaktion anzusehen sein, indem diese komplexen Moleküle während oder nach ihrer Bildung Licht absorbieren und es bei ihrem Zerfalle ausstrahlen. Daraus folgt wiederum, daß die Geschwindigkeit der Reaktion und deren gesetzmäßiger Verlauf von wesentlicher Bedeutung für die Lumineszenz-Erscheinung ist. Nehmen wir nun an, daß die Lichtabsorption während der Bildung jener komplexen Moleküle, die Lichtemission während ihres Zerfalles erfolgt, so ist es klar, daß sich die beiden einander entgegengesetzten Reaktionen in einem und demselben System im Gleichgewichte befinden, und daß durch jede Änderung des Gleichgewichtszustandes, bzw. der Reaktionsgeschwindigkeit, die Lumineszenz beeinflusst wird.

Dieser Gleichgewichtszustand kann durch die Gleichung veranschaulicht werden:



Aus dem engen Zusammenhang zwischen Reaktionsgeschwindigkeit und Lumineszenz folgt, daß in einem und demselben Systeme vor allem Konzentration und Temperatur einen wesentlichen Einfluß auf die Lumineszenz-Erscheinung nehmen müssen. Damit stimmt die Tatsache überein, daß die Fluoreszenz in einer gewöhnlichen Lösung durch Erhöhung der Konzentration, sei es der Fluorescein-Moleküle oder der Wasserstoff-Ionen über das Optimum der Fluoreszenz hinaus abgeschwächt wird. Auch in der festen Lösung wirkt eine zu hohe Konzentration der Fluorescein-Moleküle beeinträchtigend auf die Leuchterscheinung. Die kinetische Betrachtungsweise der Lumineszenz-Erscheinung führt nunmehr zu folgender Auffassung dieser Tatsache: In der konz. Lösung wird zwar das Wechselspiel der Moleküle vermehrt, doch kann infolge der erhöhten Reaktionsgeschwindigkeit nur eine kleinere Lichtmenge absorbiert bzw. abgegeben werden (unter sonst gleichen äußeren Bedingungen). Außerdem wäre es möglich, daß die Lichtemission nicht zur vollständigen Auswirkung gelangt.

<sup>5)</sup> B. 58, 187 [1925].

Daß auch die Temperatur die Lumineszenz beeinflussen kann, beweist die Tatsache, daß die phosphoreszenzfähigen festen Fluorescein-Lösungen gegen Temperatur-Erhöhung sehr empfindlich sind (l. c.). Auch in der gewöhnlichen (sauren) Fluorescein-Lösung konnte eine Einflußnahme der Temperatur betrachtet werden: .

5 ccm alkohol. Fluorescein-Lösung wurden mit 5,5 ccm  $n/10$ -HCl oder HBr versetzt (siehe oben Versuch 1) und bis zum Sieden erhitzt. Die Fluoreszenz nahm deutlich ab und kam beim Abkühlen mit ursprünglicher Stärke zurück.

Vom Standpunkte der kinetischen Betrachtungsweise vollzieht sich der Übergang der Fluoreszenz in Phosphoreszenz von selbst, wenn die Reaktionsgeschwindigkeit entsprechend verringert wird. Dies ist der Fall in der starren Fluorescein-Lösung, in welcher sich die Moleküle nur langsamer bewegen können als in einer gewöhnlichen Lösung. Dadurch wird es möglich, daß unter sonst gleichen Bedingungen eine größere Lichtmenge absorbiert wird und daß die Emission des Lichtes längere Zeit andauert. Die Verlangsamung der molekularen Bewegung war auch der Gedanke, von dem E. Wiedemann<sup>6)</sup> sich leiten ließ, als er Fluoreszenz in Phosphoreszenz umzuwandeln suchte, wobei er allerdings annahm, daß die Lumineszenz durch die Zusammenstöße gleichartiger Moleküle beeinflusst werde.

Die Frage, ob sich diese Art der Betrachtung der Lumineszenz-Erscheinung auch auf andere Fälle wird anwenden lassen, bleibe vorläufig dahingestellt. Hingegen sei die Frage berührt, ob neben der Konzentration der Wasserstoff-Ionen auch die Art der Anionen (R') die Lumineszenz der sauren Fluorescein-Lösungen beeinflusst. Diese Frage wird sich wohl erst nach Untersuchung der Absorptions- und Emissions-Spektren mit einiger Sicherheit beantworten lassen. Dennoch kann im Hinblick auf die Gleichartigkeit der beobachteten Erscheinungen schon jetzt gesagt werden, daß zumindest in sehr verd. Lösungen kein sichtbarer Einfluß stattfindet. In konzentrierteren Lösungen aber liegen die Verhältnisse scheinbar anders. Darauf weist das abweichende Verhalten von HCl und HBr hin. Vielleicht gibt auch hier die kinetische Betrachtungsweise einen Fingerzeig zur Erklärung des Phänomens; denn es liegt der Gedanke nahe, daß die verschiedene Größe der Moleküle bzw. deren verschiedene Eigengeschwindigkeit die Bildungsgeschwindigkeit der komplexen Moleküle beeinflussen können.

Zum Schlusse sei noch bemerkt, daß es zur Aufklärung der Lumineszenz-Erscheinungen des Fluoresceins notwendig ist, das Verhalten der alkalischen Lösung in Einklang zu bringen mit jenem der sauren Lösungen. Die Behandlung dieser Frage behält sich der Verfasser vor.

<sup>6)</sup> Ann. d. Physik 34, 446 [1888].