

ルミノール反応実験キット

目次	ページ
はじめに	p. 1
ルミノール反応とは	p. 1
キットの特長	p. 2
キット内容	p. 2
キット以外に必要なもの	p. 2
実験の前に	p. 2
実験準備	p. 2
キットの使用方法	p. 3
実験方法	p. 3
保存	p. 3
適用法令	p. 3
使用上の注意	p. 4
廃棄上の注意	p. 4
Q & A	p. 4
参考文献	p. 4
関連製品	p. 4

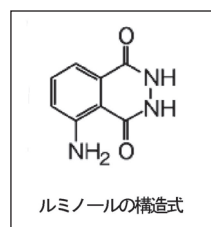
【はじめに】

ルミノール (Luminol) は過酸化水素と反応して紫青色の発光を示す化合物です。この発光反応は鉄や銅、コバルトなどの遷移金属やその錯体、およびペルオキシダーゼなどの酸化酵素によって触媒されます。この発光量を測定することで過酸化水素や金属の微量定量や定性試験に使用されます。血液に含まれるヘモグロビン中の鉄錯体が触媒となり、発光反応を励起することから、犯罪現場における血痕検出にも応用されています。本キットには、10 班分 (1 班 4 人) の試薬が入っています。化学発光を観察しやすい滴下実験と、犯罪現場での血痕検出に用いられるスプレー噴霧実験をご紹介します。

* 本試薬は宮崎県警察、国立大学法人宮崎大学と共同で開発いたしました。

【ルミノール反応とは】

ルミノール反応とは、ルミノール (5-アミノ-2,3-ジヒドロ-1,4-ナフタラジンジオン) が酸化されて、2-アミノフタル酸ジアニオンが生成される際に起こる化学発光です。ルミノールは化学発光物質の中で最も重要な化合物であり、その発光機構については広く研究されています。ルミノールは、アルカリ性の水溶液中で、ペルオキシダーゼ様活性を有する種々の物質 (鉄、銅、コバルト、樹葉、ヘモグロビンなど) による触媒作用によって紫青色の光を発します。



5-Amino-2,3-dihydro-1,4-phthalazinedione

$C_8H_7N_3O_2=177.16$

CAS No. : 521-31-3

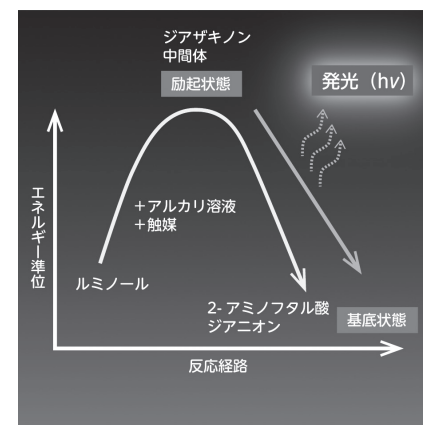
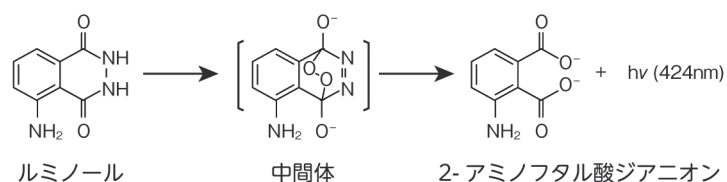
融点 : 319 ~ 320°C

黄色粉末

水酸化アルカリ溶液 : 溶けやすい。水、アセトン、エタノール : 溶けにくい。

反応機構 (原理)

アルカリ溶液中で鉄などの金属が触媒となりジアザキノン中間体を形成することで、フタル酸ジアニオンの励起状態が生じます。さらに反応が進むと、最終的に2-アミノフタル酸ジアニオンが生成され、基底状態に戻ります。このエネルギー励起状態が基底状態に戻るときに発光が起こります。



【キットの特長】

- 準備が簡単です。
- 2種類の試薬を蒸留水に溶かすだけでルミノール発光試薬溶液が調製できます。
- 電子天秤やメスシリンダーなど器具類は不要です。

【キット内容】(10班(1班4人)/実験時間15分)

1. ルミノール 0.5g × 1袋
2. 過酸化ナトリウム 2.5g × 1袋 [劇物]

500mL分のルミノール発光試薬溶液が調製できます。



【キット以外に必要なもの】(10班分)

- 蒸留水(なければ水道水) 500mL
- 対象物となるサンプル 20mL
ヘム鉄、ヘミン、ヘモグロビン、フェリシアン化カリウム、市販の食肉(鶏レバー、牛、豚、魚など)のいずれかを調製
*ヘム鉄は健康食品としてカプセル状のものが市販されています。薬局などで購入が可能です。
- ビーカーまたはフタ付きポリ容器(500mL容) 1個
- スポイト 10個
- ガラス試験管 10個
- ガラス棒(攪拌用(ポリ容器で混和する場合は不要)) 1本

【実験の前に】

保護眼鏡、保護手袋、保護マスクを着用してください。

【実験準備】

サンプルの調製(20mL/10班分)

1. 対象物となるサンプルを準備します。ヘミン溶液、フェリシアン化カリウム溶液、または食肉から抽出した血液を用います。
2. 調製したサンプルを2mLずつ、ガラス試験管10本へ小分けします。

<0.1w/v%ヘミン溶液の調製>

ヘム鉄、ヘミン、ヘモグロビンのいずれか20mgを、20mLの蒸留水で溶解します。調製後は、実験開始まで室温で保存してください。

<1w/v%フェリシアン化カリウム溶液の調製>

フェリシアン化カリウム0.2gを20mLの蒸留水へ加えて溶解します。調製後は、実験開始まで室温で保存してください。

<市販の食肉からの血液の抽出>

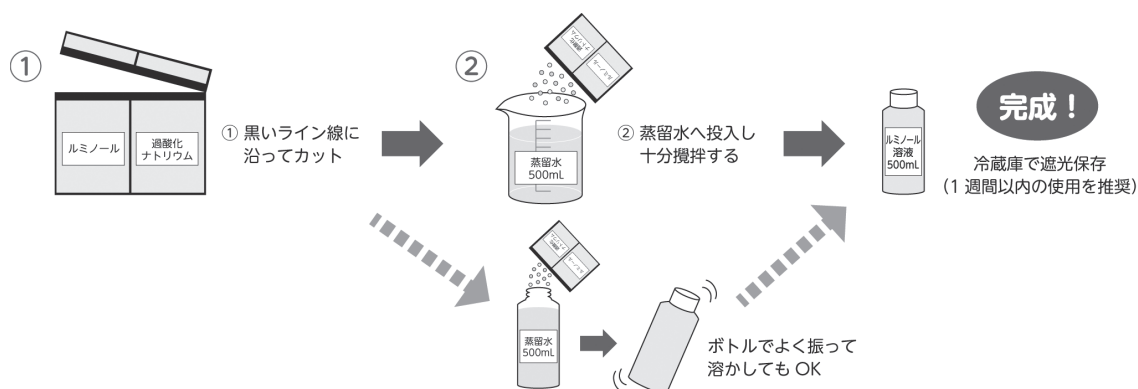
市販の食肉を約300g準備します。肉を細かく切り、1~2mLの蒸留水を加えて攪拌します。濃度が低すぎると発光が弱くなるので注意してください。血液が肉から染み出していればそのまま使用してください。

*血液をサンプルとして用いる場合、種類や濃度により発光強度が異なります。ヘミン溶液などで対照実験を行い、ルミノール発光試薬溶液が確実に発光することを確認してください。これにより、実験結果を検証することができます。

【キットの使用方法】

キット中のルミノールと過酸化ナトリウムを蒸留水に溶解し、ルミノール発光試薬液を調製します。

1. 蒸留水 500mL をビーカー（または広口のポリ容器）に準備します。（蒸留水は 500mL より少なくならないよう注意してください）
2. キットからルミノールと過酸化ナトリウムの入ったアルミパックを取り出し、黒色ライン部の切り取り線に沿って丁寧に開封します。
3. 2つの試薬を 1 のビーカー（またはポリ容器）へ同時に加えます。
4. ビーカーの場合はガラス棒を用いて混和してください。ポリ容器の場合はフタを閉めてゆっくり混和してください。数分間で溶解しますので澄明となったことを確認してください。



- 過酸化ナトリウムは、少量の水と接触すると発熱する恐れがありますので、大量の水へ加えてください。蒸留水をあらかじめ冷やしておくとお熱が吸収されるため安全です。また、衝撃により発火の恐れがありますので取り扱いに注意してください。
- 2つの試薬を同時に投入できない場合は、アルミパックを真中で切り離し、①過酸化ナトリウム②ルミノールの順で蒸留水へ加えてください。
ルミノールはアルカリ水溶液に溶解するため、過酸化ナトリウムにより溶液をアルカリ性にしてからルミノールを溶解します。

【実験方法①】 滴下実験（必要な備品：ビーカー（100mL 容）または試験管、スポイト：各 10 個）

2 の操作以降は部屋を暗幕で暗くするか暗室で行ってください。

1. ルミノール発光試薬溶液 500mL をビーカー（または試験管）へ小分けします。ビーカーの場合は 50mL、試験管の場合は試験管に 1/3 ～ 1/2 を目安にしてください。正確でなくてかまいません。
2. 準備しておいたサンプルを 1 のビーカー（または試験管）へ、スポイトを用いて滴下し発光を観察します。

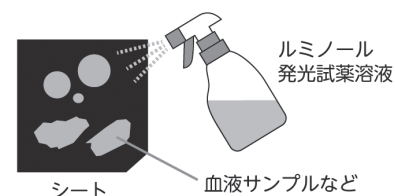


【実験方法②】 スプレー噴霧実験（必要な備品：スプレー容器、シート状のもの（紙、布、プラスチック板など）：各 10 個）

2 の操作以降は部屋を暗幕で暗くするか暗室で行ってください。

- スプレー容器はプラスチック製のものを用いてください。
試薬の劣化を防ぐため、透明な容器の場合はアルミ箔で遮光し、使用直前まで冷蔵庫で冷却してください。

1. シート状のものを 10 枚準備し、対象物となるサンプルを塗布して乾燥させておきます。
2. スプレー容器を 10 本準備し、ルミノール発光試薬溶液を 50mL ずつ小分けします。
3. 1 で準備したシートへ、ルミノール発光試薬溶液を噴霧し発光を観察します。



【保 存】

- 不活性ガス封入・2 ～ 10℃ ・遮光保存
※未使用の試薬は劇物のため、鍵のかかる保管庫で保管してください。
※調製後の溶液は、容器をアルミ箔などで覆い遮光して、冷蔵（2 ～ 10℃）で保存してください。調製後は 1 週間以内の使用をおすすめします。

【適用法令】

該当：過酸化ナトリウム

- 消防法：危険物第 1 類無機過酸化物（第 1 種酸化性固体）危険等級 1
- 毒物及び劇物取締法：劇物包装等級 3（5% 以下を含有するものを除く）

【使用上の注意】

保護眼鏡、保護手袋、保護マスクを着用してください。

調製後の溶液はアルカリ性です。眼に入った場合は、直ちに大量の水で数分間洗浄し、医師の手当てを受けてください。

【廃棄上の注意】

● 残余廃棄物

下水へ流さないでください。

廃棄は地域、国、現地の適切な法律、規制に則って廃棄してください。

● 汚染容器及び包装

廃棄は地域、国、現地の適切な法律、規制に則って廃棄してください。

【Q&A】

Q：水は、蒸留水でなければならないのか？

A：蒸留水または滅菌精製水をおすすめしますが、水道水でも問題ありません。蒸留水と同様の化学発光の様子を観察することができます。

Q：調製後の溶液の保存期間は？

A：保存状態によりますが、1週間以内の使用をおすすめします。

調製後はすぐに劣化がはじまるため、鮮明な発光を観察したい場合はできるだけ実験の直前に調製することをおすすめします。保存する場合は、冷蔵（2～10℃）で遮光保存してください。フタ付きポリ容器での保存をおすすめします。

Q：調製前、調製後の試薬の保存方法は？

A：過酸化ナトリウムは劇物、危険物に該当します。調製前の試薬は、鍵のかかる保管庫で保管してください。調製後の溶液は「5%以下の過酸化ナトリウムを含む溶液」のため劇物非該当となります。実験開始まで、冷蔵庫で遮光保存してください。

Q：廃棄方法は？

A：残余廃棄物（廃液）：水道（下水）へ流さないでください。廃棄は地域、国、現地の適切な法律、規制に則って廃棄してください。

汚染容器及び包装：廃棄は地域、国、現地の適切な法律、規制に則って廃棄してください。

【参考文献】

1. 和光純薬時報 Vol.81 No.2 (2013).
2. 化学辞典（株式会社東京化学同人）(1994).
3. 有機化合物辞典（株式会社講談社）(1985).

【関連製品】

Code No.	品 名	容 量
089-10321	ヘミン、ブタ由来	1g
167-03722	フェリシアン化カリウム（ヘキサシアノ鉄（Ⅲ）酸カリウム）	25g

*本製品に関しては、富士フィルム和光純薬（株）が責任を負うものであり、宮崎県警察および国立大学法人宮崎大学が責任を負うものではありません。

製造発売元

富士フィルム 和光純薬株式会社

大阪市中央区道修町三丁目1番2号

Tel : 06-6203-3741