



キリヤ 色と化学の Q&A

Q47

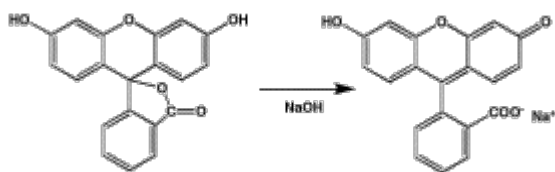
いろいろな質問（蛍光その1）

Q フルオレセインの実験をしたのですが、フルオレセイン溶液を作ったときは普通の黄色で、アルカリ性にしたときに色が褐色になって緑の蛍光が発生しました。どうしてアルカリ性にしなければいけないんですか？

A フルオレセインは環状（ラクトン環）になっていて、黄色で蛍光は少ないです。

中性になると環は開くのですが、赤くなってやはり蛍光はありません。

蛍光が強いのは、アルカリを加えて、図の右側のようになったときです。この時は、分子の上側の6角が3つ並んだものが平面で共役していますので、エネルギーが回転などにより逃げることがなく、エネルギーが蛍光として発します。



Q 「0.1%ルミノール溶液と 10%水酸化ナトリウム水溶液に 15%過酸化水素水を 10:1 で混合する」との記載がありますが、この反応は暗室など、暗いところで検出可能でしょうか。460 nm の蛍光と記載されておりますので目視で見えそうですが

A 450 nm の蛍光を発しますので、目視で見えます。蛍光はそんなに強くないので、暗いところの方がよく見えます。

Q ルミノール反応で、「液をかけてランプで照らす」との記載のように、なにか励起装置が必要となるのでしょうか。

A 反応が起これば蛍光が出るのですが、見落としてしまいます。そこで、基底状態に落ちた 3-アミノフタル酸に紫外線を当てると、蛍光を発するので見えます。

当てる光は紫外線で、ブラックライトとかいうものが市販されています。薄層クロマトグラフィーでも検出に使う物です。

Q ルミノール反応で、水酸化ナトリウムのかわりに炭酸ナトリウムや炭酸カリウムを使用する例もあるようですが、これはルミノールを溶解させる為に加えるのでしょうか。pH によって発光の強さに差が出るとも聞いたのですが、実際の血液に使用する場合に適した濃度というものはあるのでしょうか。

A 炭酸ナトリウムや炭酸カリウムは水酸化ナトリウムに比べて弱いので、だめだと思います。3-アミノフタル酸のカルボン酸が 2 つともマイナスになる必要があるので、強いアルカリが必要です。ルミノールを溶

かすためではありません。かける液があまり少ないとだめですが、試されるのが一番いいです。

Q 同じ波長の光を当てて、蛍光を発する物質 A と吸収する物質 B が混ざっている溶液の蛍光度を分光蛍光度計で測定したいと考えています。この場合の蛍光度は、A の濃度が同じでも、A を単品で測定した場合に比べて見かけ上、低くなると考えてよいでしょうか。

A 光の強さが強い場合と弱い場合によって異なります。

(1) 光の強さが弱い場合 (100 と仮定します) A だけの場合 A が 100 吸収し、10 の蛍光を出します (蛍光の量子収率が 10 (%) と仮定します)。これに B を加えると、A が 60 吸収し、B が 40 吸収します (その波長での吸光係数が 60:40 と仮定します)。したがって、A からの蛍光は、 $60 \times 0.1 = 6$ になり、低くなります。

(2) 光の強さが非常に強いとき (1000 と仮定します) A は 100 吸収し、そのほか (900) は透過して出てしまいますので、蛍光は 10 です。これに B を加えますと、A は 100 吸収し、B は $66[100 \times (2/3) = 66.666]$ 吸収し、その他は透過します。蛍光は 10 です。光が強いと、B が吸収しても、十分残っているからです。

光が十分強いかどうかを見るには、透過する光の強さを測定すれば良いでしょう。または、光の強さを変化させて蛍光を測定し、A の蛍光がだんだん 10 に近づくと光の強さを求めれば良いでしょう。

Q アルブミンなどの生体試料を蛍光光度計で測定すると、蛍光度が時間と共に少しずつ下がっていく

のですが、どういう理由が考えられるでしょうか。また、基本的に蛍光度の最適測定時間といったものはあるのでしょうか。

A もう一度測定したときに、再び同じ値になるかによって理由が異なります。

たとえば、最初 100 で、時間とともに減少して 50 になったとします。

(1) もう一度測定したとき、50 のままでしたら、アルブミンが光反応をしたと考えられます。それは、光化学反応による分解と、アルブミンのコンフォメーションが変化して構造が変化したか、凝集などが起こったと考えられます。常に新鮮なサンプルで測定する必要があります。低温で測定すればいいかもしれませんが。いずれにしても、生体試料ですので迅速に測定する必要はあります。

(2) もし、もう一度測定して、100 に戻っていたとします。この場合は、励起状態の物が増えて、もはや基底状態から励起状態に上がらない状態になっていたと考えられます。

おそらく (1) が理由だと思います。

●著作権について

キリヤ色と化学の Q&A の文書、画像、デザインなどの著作権は、キリヤ化学株式会社に帰属します。このサイトの内容を転載される場合は、弊社までご一報下さり了解をお取り下さい。なお、提供者が記載されている写真・絵に関しましては、著作権は提供者に属しますので、恐れ入りますがそちらの方へ直接お問い合わせ下さい。

●内容について

できるだけ科学的に間違いの無いようにしていますが、わかりやすく説明するために実際とは異なる記述もあります。また、科学的に証明がされていないことも述べていますので、ご自身でご確認されますようお願いいたします。

キリヤ色と化学の Q&A 内の情報のご利用により、万一何らかの損害が発生したとしても、当社は一切の責任を負いません。

<https://www.kiriya-chem.co.jp>