

# ニンジンを触媒としたルミノール発光反応

静岡県立清水東高等学校

自然科学部化学班 2年 影山朱莉 川口日向子 井尻光

## 1 序論

ルミノール発光反応とは塩基性水溶液にルミノール( $C_8H_7N_3O_2$ )を混合し過酸化水素と反応させることで波長 460nm の青白い光の放出がみられる反応である<sup>[1]</sup>。一般的な触媒としてはヘモグロビンやヘキサシアニド鉄Ⅲ酸カリウム知られているが、その他の遷移金属や野菜などに含まれる酵素のペルオキシダーゼも触媒としての働きを示す。そこで私たちはニンジンに含まれるペルオキシダーゼに着目し、その条件を変化させ結果の比較をする研究を行った。

## 2 実験 1

ニンジンやダイコン等も個体内に含まれる酵素「ペルオキシダーゼ」が触媒となりルミノール反応の発光を増強させることを知った。そこでニンジンに触媒としたルミノール反応についての研究を行った。

ペルオキシダーゼとは生体内で有害な過酸化水素を水と酸素に分解する酵素である。本研究の実験においても過酸化水素の分解を助けられていると考えている。

まず、ニンジンのどこで発光が見られるか、目視で観察した。

〈表 1 : 各試薬の詳細〉

- |                     |
|---------------------|
| ・ 蒸留水 18mL          |
| ・ NaOH 0.064g       |
| ・ ルミノール 0.005 g     |
| ・ 過酸化水素水 35% 0.35mL |

### (1) 実験方法

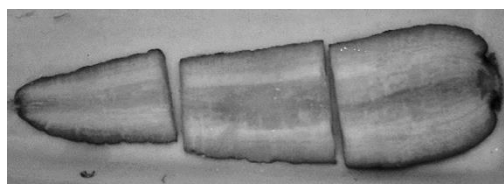
表 1 の薬品混合液に、横方向、縦方向にスライスしたニンジンを浸し、暗室にて、カメラをシャッタースピード 15 秒に設定して撮影した。

### (2) 結果

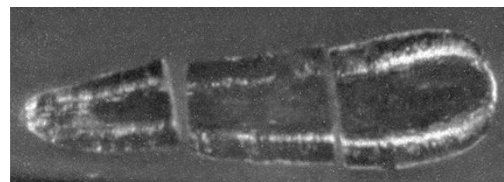
縦方向の断面ではライン状に発光が見られた。

(図 1、図 2)。

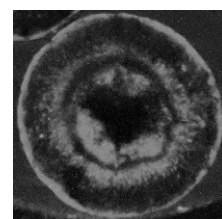
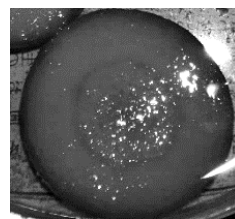
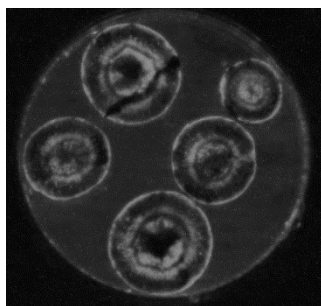
横方向の断面では、輪状の発光が見られた(図 3、図 4)。拡大すると、赤円のラインでは発光は見られず、その周辺で発光が見られた(図 5、図 6)。調査したところ、内皮周辺だと分かった。



〈図 1 : ニンジンの縦方向の断面 発光前〉



〈図 2 : ニンジンの縦方向の断面 発光後〉



〈図 3 : ニンジンの横方向の断面 発光前〉〈図 4 : 図 3 発光後〉〈図 5 : 図 3 拡大〉〈図 6 : 図 4 拡大〉

### 3 実験2

ニンジン部位ごとの照度を計測した。

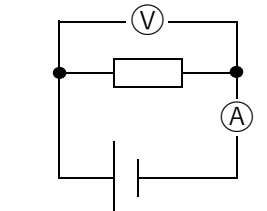
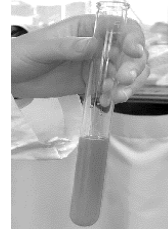
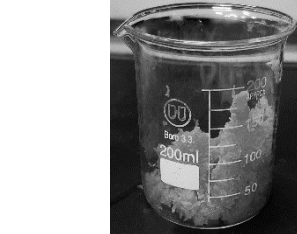
#### (1) 実験方法

ア 表2の薬品混合液を作成した。

イ ニンジンを上部、中心部、下部に切り取った。(図7)

ウ それぞれを卸し金ですりおろし(図8)、コーヒーフィルターで液体を搾り取った。(図9)

エ ニンジン液2 mLに、薬品混合液2.75 mLを加え、照度を計測した。



〈図10：電気回路図〉

〈図7：切り分けたニンジン〉

〈図8：すりおろしたニンジン〉

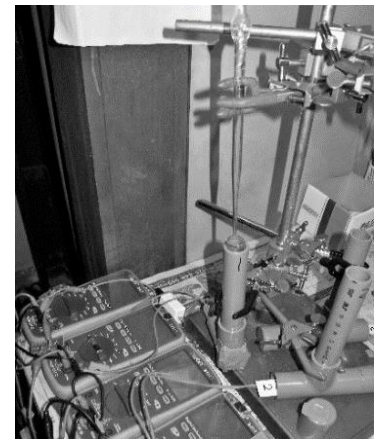
〈図9：搾ったニンジン〉

同じ検体の資料3本を同時に計測し、それらの平均をその資料のデータとした。

※試料に金属が混入するのを防ぐため、セラミック製包丁、プラスチック製卸し金を使用した。

#### (2) 計測方法

本校における先行研究(ルミノール発光の定量測定装置の開発<sub>[2]</sub>)で開発された装置をより利便化し使用した。明るさによって抵抗値の変化する硫化カドミウムセル(GL5516)を図10のように回路につなぎ、抵抗値を求め、セルのデータシートに掲載されていた変換公式(表3)より照度を算出した。



〈図11：測定装置〉

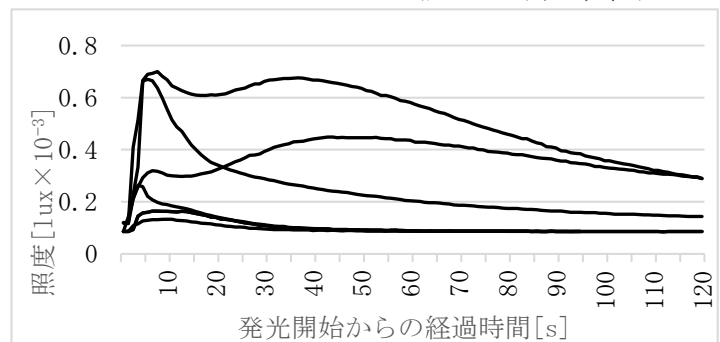
〈表3：変換公式〉

$$(L, R) = (107, 500), (100, 1,900)$$

$$L = A \cdot R^B \quad L = \text{照度}, R = \text{抵抗値}$$

#### (3) 結果

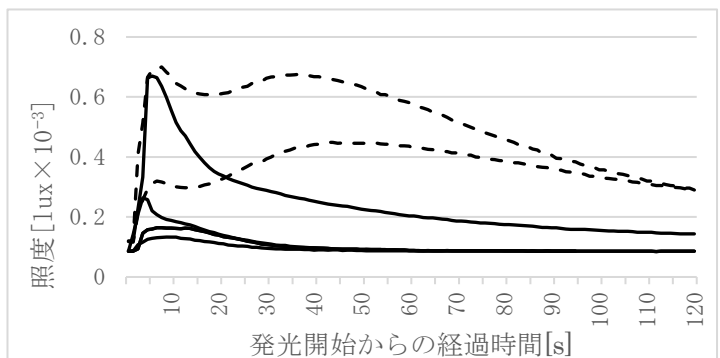
グラフの波形は様々で明確な結果は得られなかった。(グラフ1では代表的な結果のみ示している。)



〈グラフ1：時間経過による照度変化〉

#### (4) 考察

明確な結果が得られなかった原因は検体の条件が不揃いであったことであると考えられる。しかしグラフ2のように波形を大きく2つに分けることができた。図12のように照度の低下が早いものをI型、図13のように照度の低下が緩やかなものをII型とした。



〈グラフ2：型で分けたグラフ2-1〉

#### 4 実験3

実験2の結果を受け、照度変化のグラフの波形に上記のような違いが生じた原因を探った。



〈図12：I型モデル〉

〈図13：II型モデル〉

##### (1) 実験方法

購入したエンジンを購入直後と1週間保管したエンジンに分け、それらを実験2と同様の方法で計測し、経過時間における照度変化と、薬品液投入から120秒間の発光量(下記参照)で比較した。

##### (2) 発光量

発光量とは先行研究<sup>[2]</sup>で考案された、一定時間の照度の合計を表す独自の指標である。例えばグラフ3、4のような2つの経過時間における照度変化のグラフのモデルデータを比較するとピーク時の照度は $\alpha$ のほうが大きい、発光量は $\beta$ のほうが大きい。このように光度量を算出することで照度と発光時間、両方の観点から計測結果を比較することが出来る。



〈グラフ3：モデルデータ $\alpha$ 〉

〈グラフ4：モデルデータ $\beta$ 〉

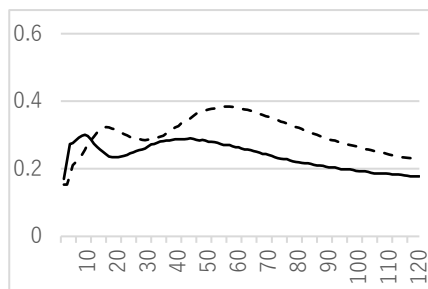
〈グラフ5：モデルデータの発光量〉

##### (3) 結果

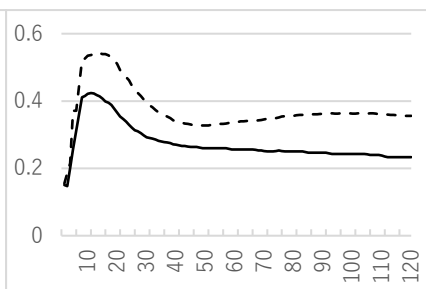
###### ア エンジン上部

購入直後のエンジンより1週間保管したエンジンの方が照度の低下が緩やかで、II型に近づいた。  
(グラフ6～グラフ11 「経過時間における照度変化」)

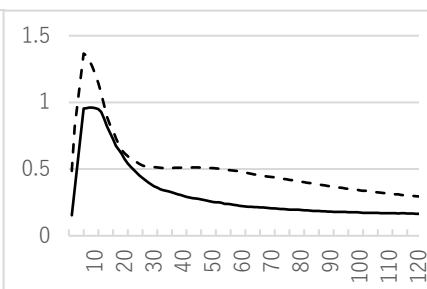
実線：購入直後、破線：1週間保管、縦軸：照度 $[\text{lux} \times 10^{-3}]$ 、横軸：発光開始からの経過時間 $[\text{s}]$



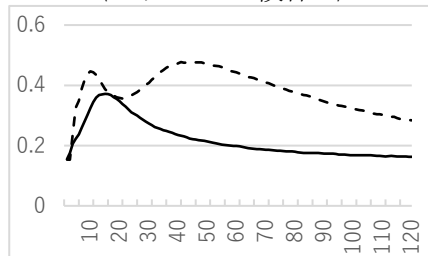
〈グラフ6：検体A〉



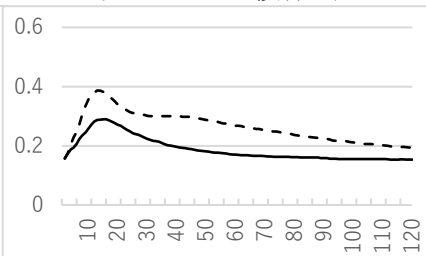
〈グラフ7：検体B〉



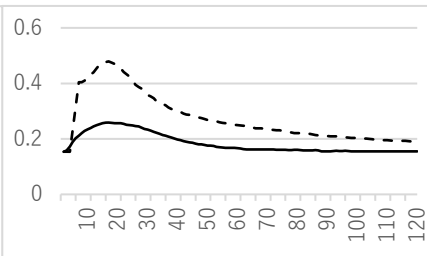
〈グラフ8：検体C〉



〈グラフ9：検体D〉

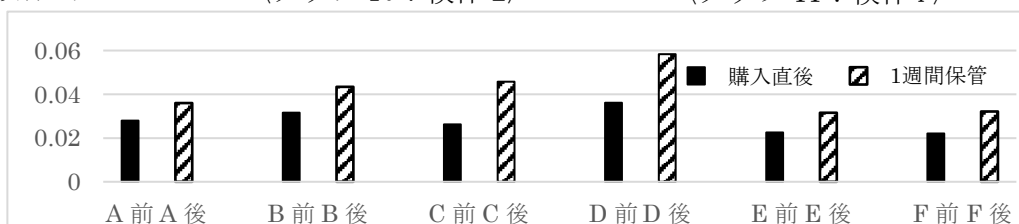


〈グラフ10：検体E〉



〈グラフ11：検体F〉

発光量はすべての検体で1週間保管したエンジンの方が大きかった。  
(グラフ12)



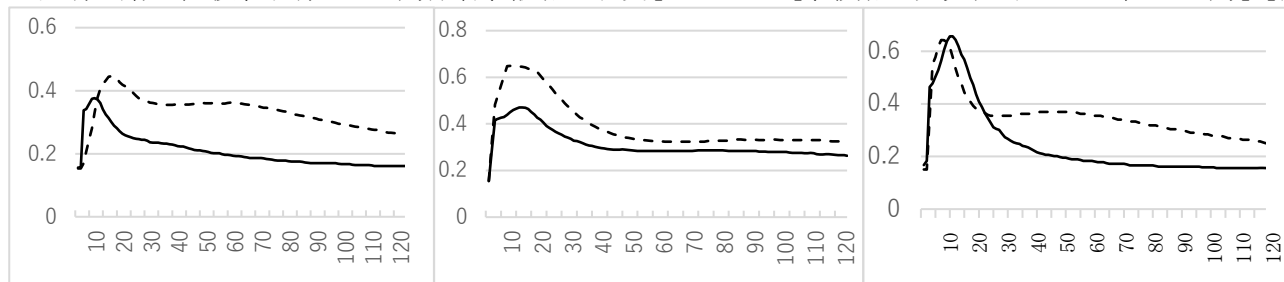
〈グラフ12：エンジン上部の検体ごとの発光量〉

## イ ニンジン中心部

上部同様、1週間放置したニンジンの方が、Ⅱ型に近づいた。

(グラフ 13～グラフ 18「経過時間における照度変化」)

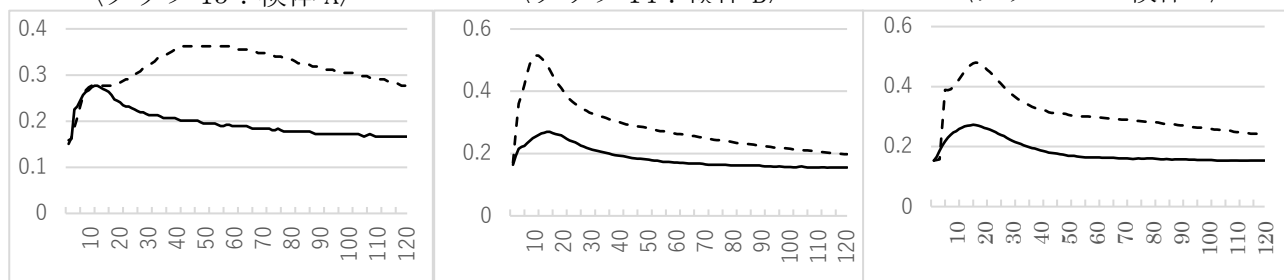
実線：購入直後、破線：1週間保管、縦軸：照度 $[1\text{ux} \times 10^{-3}]$ 、横軸：発光開始からの経過時間[s]



〈グラフ 13：検体 A〉

〈グラフ 14：検体 B〉

〈グラフ 15：検体 C〉

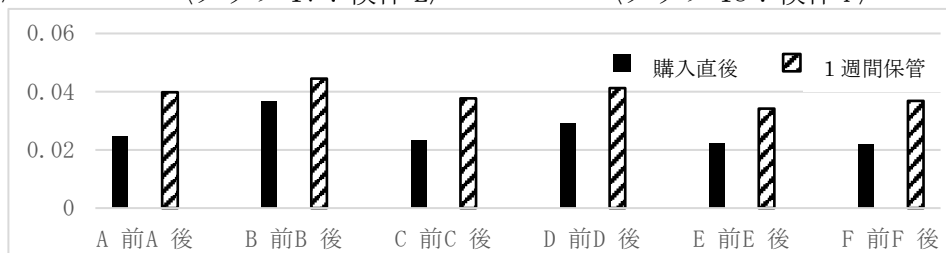


〈グラフ 16：検体 D〉

〈グラフ 17：検体 E〉

〈グラフ 18：検体 F〉

発光量も上部同様、すべての検体で 1 週間保管したニンジンの方が大きい結果となった。  
(グラフ 19)



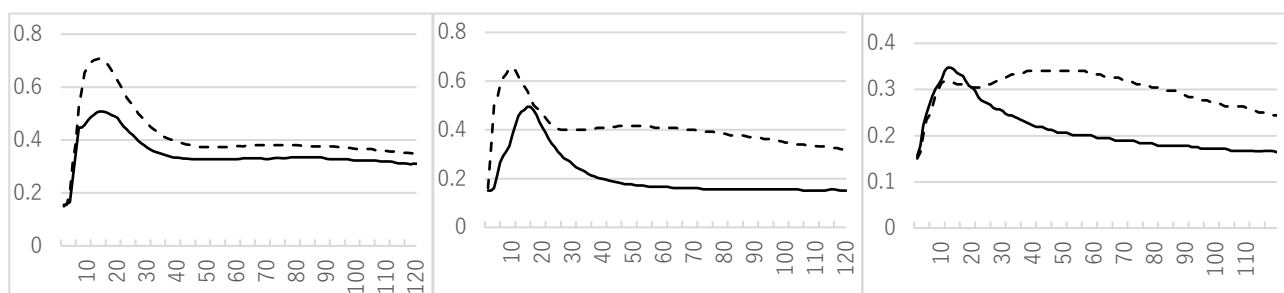
〈グラフ 19：ニンジン中心部の検体ごとの発光〉

## ウ ニンジン下部

上部、中心部同様、購入直後のニンジンより 1 週間保管したニンジンのほうがⅡ型に近かったが、5本の検体の中には、型の変化が明確に見られないものもあった。

(グラフ 20～グラフ 24「経過時間における照度変化」)

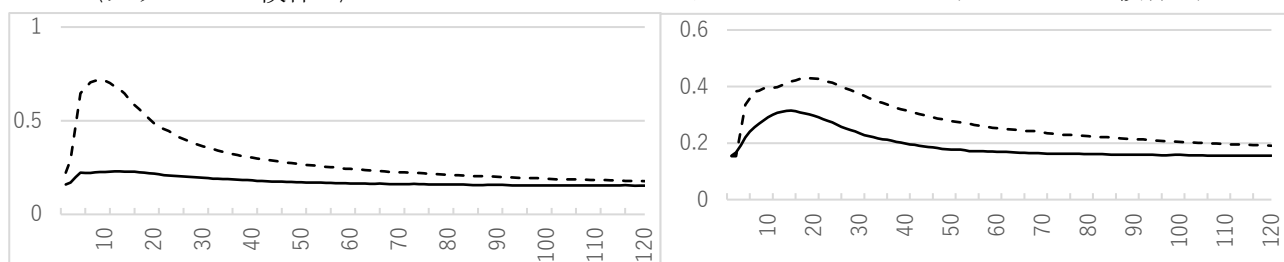
実線：購入直後、破線：1週間保管、縦軸：照度 $[1\text{ux} \times 10^{-3}]$ 、横軸：発光開始からの経過時間[s]



〈グラフ 20：検体 B〉

〈グラフ 21：検体 C〉

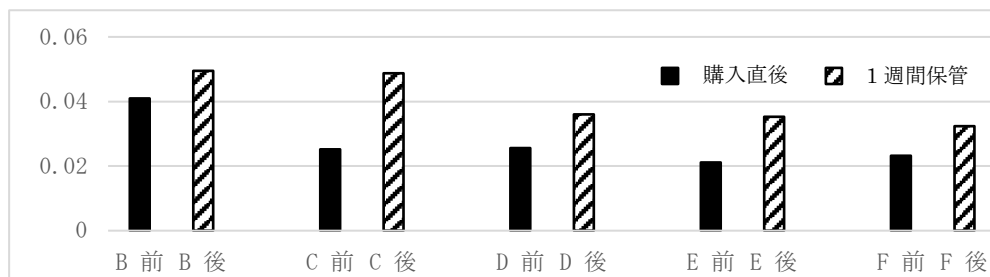
〈グラフ 22：検体 D〉



〈グラフ 23：検体 E〉

〈グラフ 24：検体 F〉

発光量は上部、中心部同様、すべての検体で1週間保管したニンジンの方が大きい結果となった(グラフ 25)。

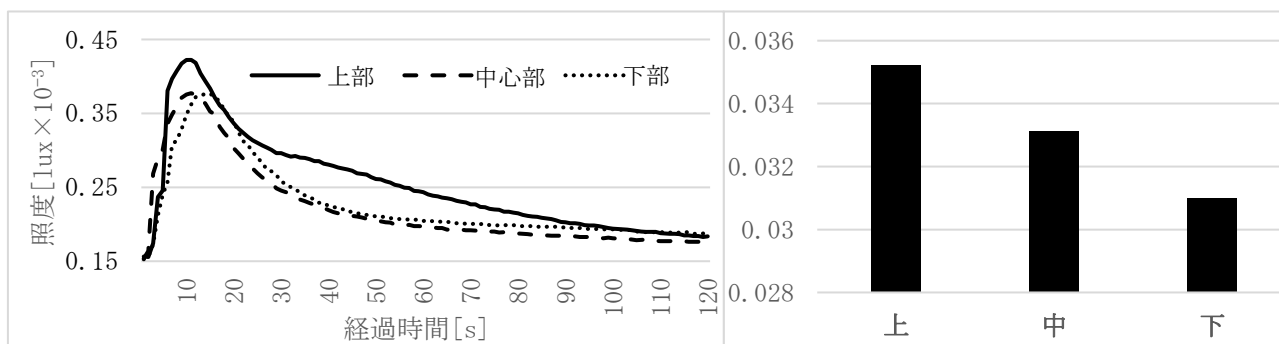


〈グラフ 25：ニンジン下部の検体ごとの発光量〉

#### (4) 成長点

ニンジンの成長点は、下部に存在する。つまり下部のほうが新鮮で、逆に、上部のほうが鮮度が低く、Ⅱ型の傾向が見られると考えた。そこで部位ごとのデータを改めて比較した。

時間経過における照度変化のグラフは下部より上部のほうがⅡ型に近く(グラフ 26)、発光量は上部のほうが大きかった。(グラフ 27)



〈グラフ 26：部位ごとの経過時間による照度変化〉

〈グラフ 27：部位ごとの発光量〉

### 5 まとめ・考察

(1) 一週間保管したニンジンで照度の低下が緩やかになった

(2) 発光量が増加した

(3) 部位ごとに比較したとき古いと考えられるニンジン上部で同様の傾向が見られた

以上より、ニンジンの鮮度が発光の仕方に影響していると結論付けた。また、鮮度が低下することによってペルオキシダーゼが変化するのではないかと考えた。

### 6 今後の展望

(1) ニンジンの銘柄、栽培条件、保存条件による比較

(2) ダイコン等ニンジン以外の野菜のペルオキシダーゼを触媒した実験

(3) 発行開始から発光終了までの全体の発光量の算出

(4) 鮮度が発光に影響を与える詳しい原因の解明

### 7 参考文献

- [1] 『ケミルミネッセンス—化学発光の基礎・応用事例』大沢善次郎 著 丸善
- [2] ルミノール反応の定量測定装置の開発(清水東高等学校自然科学部化学班：2019 年)
- [3] CdS セル GL5516 データシート(秋月電子通商ホームページより)

### 8 謝辞

本研究を行うにあたり静岡県立清水東高等学校自然科学部化学班顧問の京田慎一先生をはじめ多くの方々にお世話になりましたこと、心より感謝申し上げます。