

루미놀의 발광 반응

A. 화학발광 시계반응

B. 루미놀을 이용한 혈흔 검사법

실험 목표

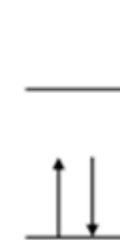


화학 발광을 이해하고, 루미놀을 이용한 혈흔 감식을 알아본다.

이론

스핀 다중도 (Spin multiplicity)

- 전자의 스핀 모멘트 상호작용에 의해 만들어진 미분화된 스핀 상태의 최대 수
- 전자의 총 스핀 양자수가 S 일 때 스핀 다중도 ($2S + 1$)



단일항



이중항



삼중항

단일항 (Singlet state)

- 스핀양자수의 부호가 다른 전자 두개가 더해져 스핀다중도($2S+1$)의 값이 1인 상태

삼중항 (Triplet state)

- 스핀양자수의 부호가 같은 전자 두개가 더해져 스핀다중도($2S+1$)의 값이 3이 되는 상태



형광이 사용되는 예 : 위조지폐 감별 등

형광 (Fluorescence)

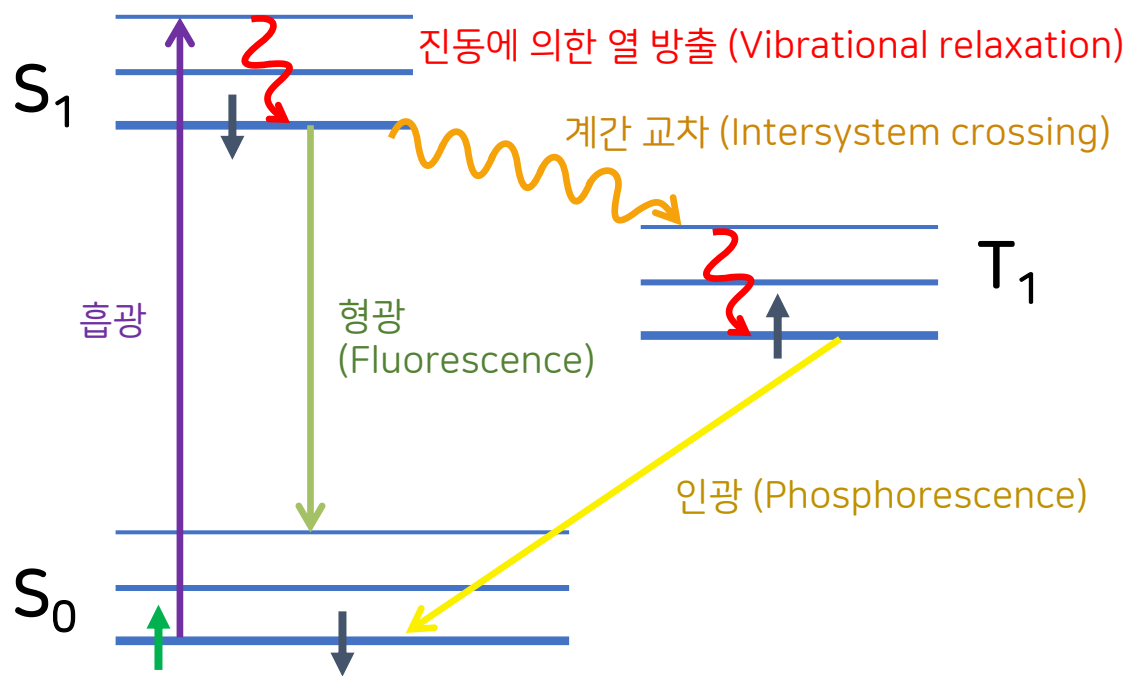
- 자외선의 빛을 쬐이면 가시광선 영역의 밝은 빛을 냄
- 흡수와 방출의 시간차가 짧아 외부의 빛을 차단하면 빛 방출이 멈춤



인광이 사용되는 예 : 야광스티커 등

인광 (Phosphorescence)

- 방출 과정이 형광에 비해 매우 느려서 외부의 빛을 차단해도 몇분~며칠간 빛을 방출



*야블론스키 도표

형광 (Fluorescence)

- 에너지를 받아 들뜬 전자가 빛을 방출하며 바닥상태로 내려가는 현상 ($S_1 \rightarrow S_0$)
- 흡수와 방출의 시간차가 짧음

인광 (Phosphorescence)

- 에너지를 받아 들뜬 전자가 형광과는 다르게, 계간 전이에 의해 중간 상태를 거쳐 바닥 상태로 내려가는 현상 ($T_1 \rightarrow S_0$)
- 빛의 방출이 형광에 비해 매우 느림

계간 교차(Intersystem crossing)

- 서로 다른 전자 스핀 다중도(spin multiplicity)를 가진 상태들 사이의 비복사 전이(발광을 수반하지 않는 전이)



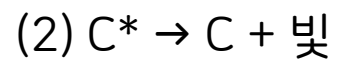
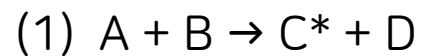
반딧불이의 발광

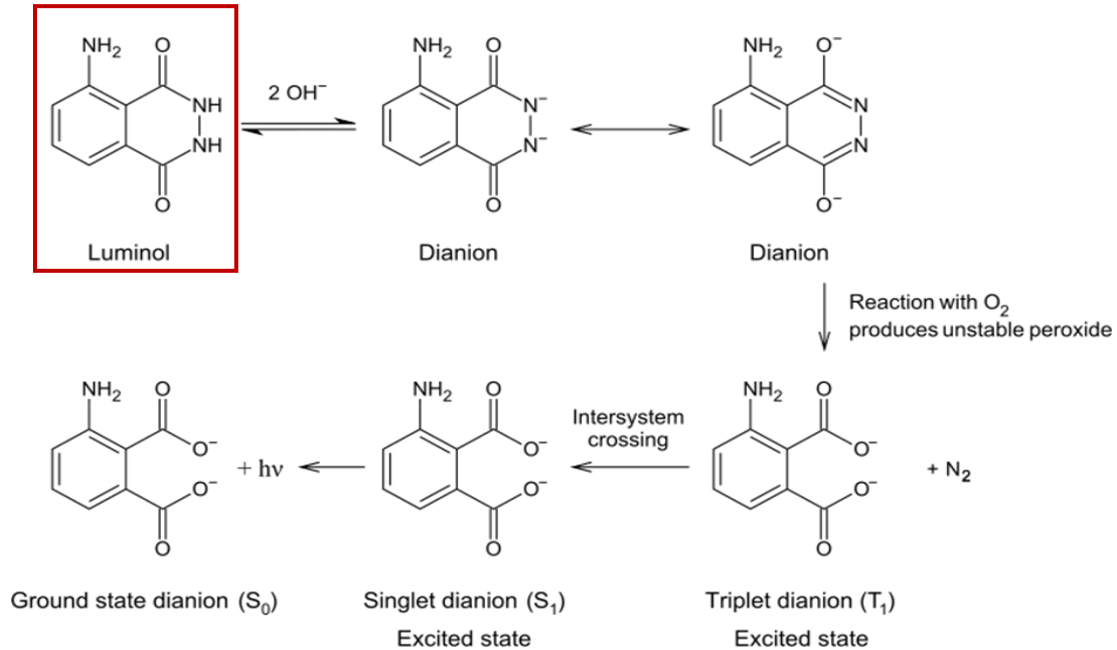
화학 발광 (Chemiluminescence)

- 화학반응의 결과로, 들뜬 상태의 화학종이 바닥 상태로 돌아오면서 에너지를 방출하는 것
- 대부분의 경우 열을 수반하지 않고 발광



화학발광의 예





루미놀 (Luminol)

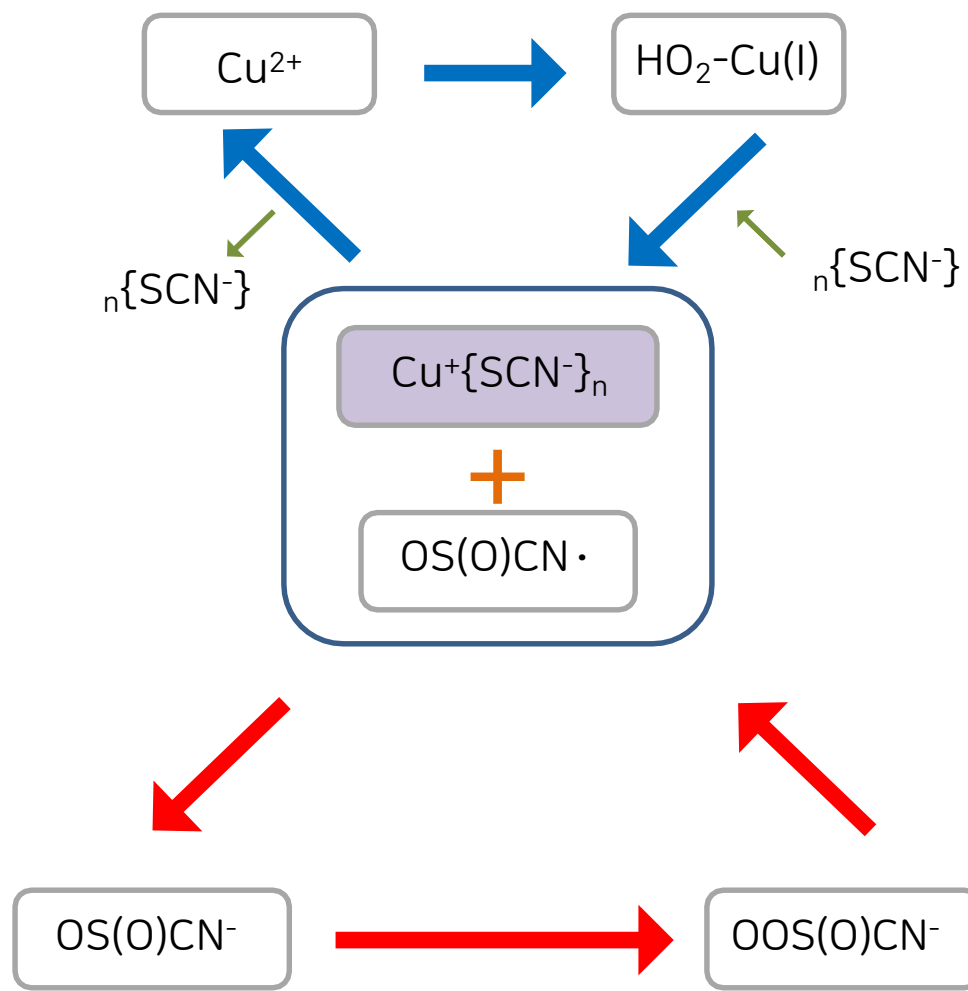
- $\text{C}_8\text{H}_7\text{N}_3\text{O}_2$: 3-Aminophthalhydrazide
- 염기성 용액에서 과산화수소나 여러 금속 촉매에 의해 산화되며, 이 과정에서 밝은 빛을 방출함
- 이 때, 루미놀의 에너지 상태는 삼중항(triple state)에서 단일항(Single state)으로 떨어짐
- 대략 425 nm의 빛을 방출하며 특히 혈액의 헤모글로빈과 반응하여 혈흔 검사법에 널리 이용됨

시계반응 (Oscillation Reactions)

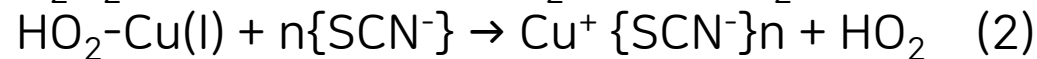
- 반응물 중 한 개 이상의 농도가 주기적으로 변하는 반응으로 시계반응이라고도 불림.
- 일정한 평형상태에 존재하지 않음 (비평형 열역학; Non-equilibrium thermodynamics를 보임)
- 두 종류의 반응이 동시에 일어남 (중간체를 생성하는 반응, 중간체를 소거하는 반응)

 H_2O_2 -KSCN- CuSO_4 -NaOH system

- 루미놀이 없는 경우, 구리를 촉매로 하는 과산화수소의 분해 반응에 의해 주기적인 색깔 변화(노랑 \leftrightarrow 무색)가 발생

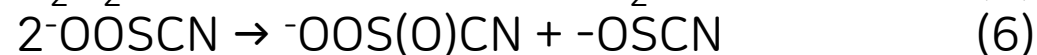
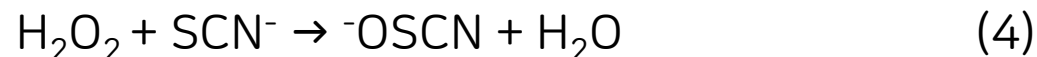


(a) H₂O₂ 와 Cu²⁺ 사이의 반응

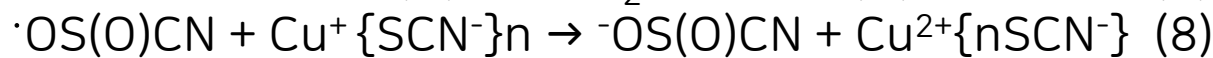
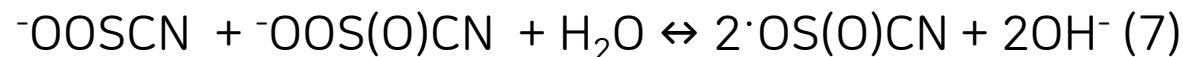


(n은 2,3 혹은 4)

(b) H₂O₂ 과 KSCN 사이의 반응



(c) 피드백 루프(feedback loop)에서의 반응



시약과 실험 기구

이름	화학식	몰질량 (g/mol)	녹는점 (°C)	끓는점 (°C)	밀도 (g/cm ³)
과산화수소 (Hydrogen peroxide)	H ₂ O ₂	34.0147	-0.43	150.2	1.463
티오시아산칼륨 (Potassium thiocyanate)	KSCN	97.181	173	500	1.89
황산구리 (Copper sulfate pentahydrate)	CuSO ₄ · 5H ₂ O	249.685	110		2.286
수산화나트륨 (Sodium hydroxide)	NaOH	39.997	328	1,388	2.13
탄산나트륨 (Sodium carbonate)	Na ₂ CO ₃	105.9888	851	1,600	2.54
루미놀 (Luminol)	C ₈ H ₇ N ₃ O ₂	177.16	319		

- 피펫과 피펫벌브
- 50 mL 삼각 플라스크
- 100 mL 삼각 플라스크
- 비커
- 가열교반기와 마그네틱바
- 스탠드와 클램프
- 스프레이식 분무기
- 시험관
- 면봉
- 거름종이
- 페트리접시

실험 과정

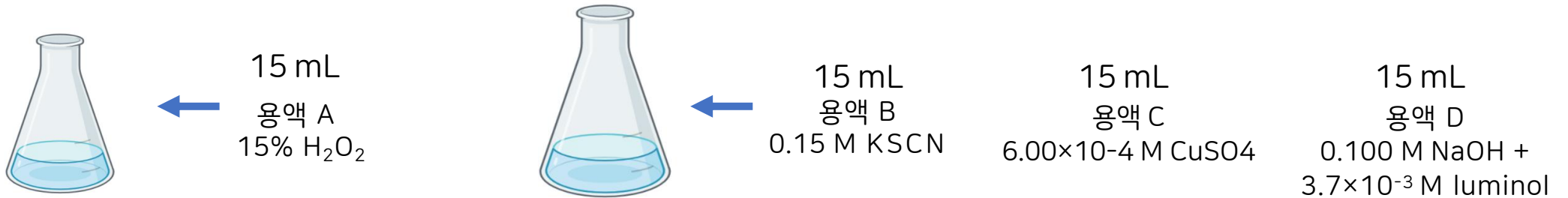
용액 준비

- 용액 A: 0.50 M H_2O_2 (30% H_2O_2)
- 용액 B: 0.15 M KSCN
- 용액 C: 6.00×10^{-4} M CuSO_4
- 용액 D: 0.100 M NaOH + 3.7×10^{-3} M luminol

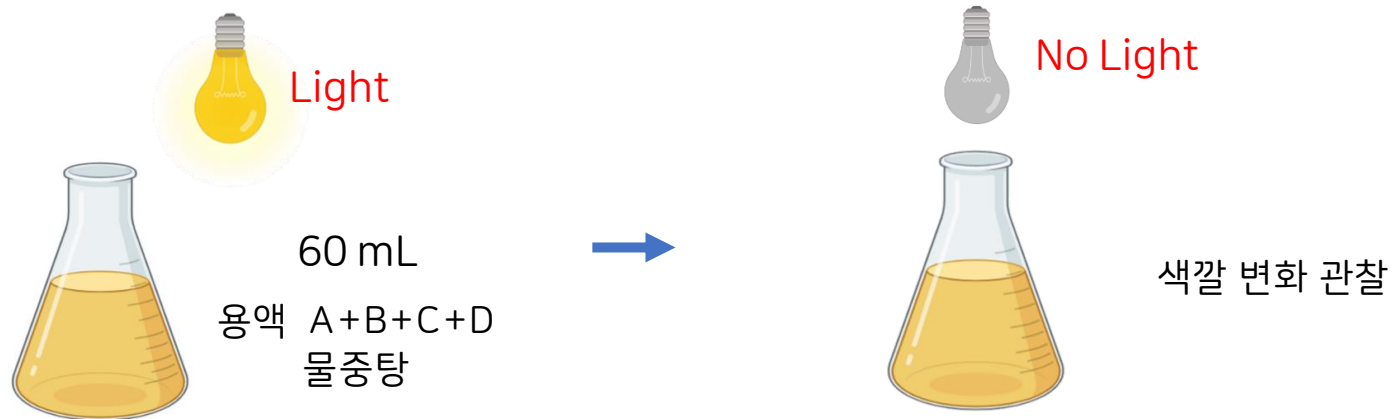
- 1) 용액 A 15 mL를 50 mL 삼각플라스크에 담음
- 2) 용액 B, C, D를 각각 15 mL씩 100 mL 삼각 플라스크에 넣고 마그네틱바를 넣어줌
- 2) 삼각 플라스크를 큰 비커에 들어가도록 스탠드에 고정하고 물 중탕으로 가열
- 3) 실험실의 빛을 모두 차단시킨 뒤, 2)에 1)을 첨가하며 삼각 플라스크에서 일어나는 일을 관찰

화학 발광 시계 반응

1.



2.



루미놀을 이용한 혈흔 검사

- 1) 루미놀 용액을 분무기에 넣어 준비 (조교 준비)
(루미놀 용액 = 루미놀 10 mg, 탄산나트륨 0.5 g, 증류수 10 mL, 30% H_2O_2 2.5 mL)
- 2) 혈액을 증류수로 묻히고, 묻힌 혈액을 면봉에 찍어 거름종이에 그림을 그리고 말림
(*농도가 너무 묽으면 확인이 어려우므로 덧칠하여 약간 진하게 표시함)
- 3) 실험실의 빛을 모두 차단한 뒤, 후드안에서 분무기로 루미놀 용액을 뿌린 다음 일어나는 현상을 관찰

루미놀을 이용한 혈흔 검사

1.



- 1) 10 mg 루미놀 + 0.5 g 탄산나트륨 + 10 mL H₂O
- 2) H₂O₂ 2.5 mL
루미놀 용액을 분무기에 넣어 준비



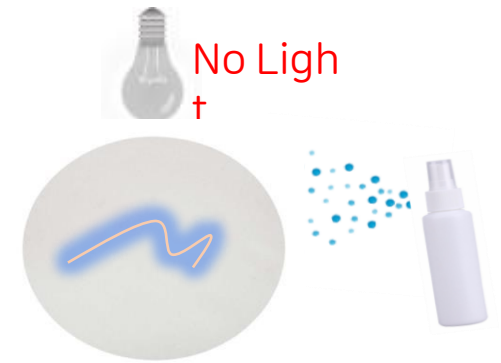
2.



면봉을 이용해 묻힌 혈액으로
그림, 글씨를 그리고 말림



3.



빛을 차단하고, 분무기로
루미놀 용액을 뿌림



실험 시 주의 사항

1. A번 실험의 경우 물중탕을 할 때, 마그네틱바가 잘 돌아가도록 높이를 조정해줘야함
 - 화학발광 시계반응을 확인할 수 있도록 불을 끄고 일정시간 이상 관찰하게 해야함
 - 물이 가열되기까지 시간이 필요
2. 혈액을 뭍힐 때, 증류수를 조금만 넣어야 함 (피 0.05 mL + 증류수 1 mL)
(너무 많이 뭍히면 분무기로 루미놀 용액을 뿌렸을 때 변화가 뚜렷하지 않음)
3. 루미놀 용액을 분무할 때 후드 안에서 진행해야함
4. 발광이 강하지 않아 사진을 찍을 때 어두운 곳을 찾아 찍어야함
5. 어두울 때에 사고 나지 않도록 주의, 비상등을 가려놓았으니 사고 발생 시 주의