

化學發光

蘇賢錫

國立臺灣師範大學物理系

化學發光 (chemiluminescence)——由化學反應所產生的「冷光 (cold light)」——是化學中極吸引人且重要的領域。化學發光實驗容易進行，並且對化學分析法或生物化學分析法的研究，可以提供有用的資料。

一、概 說

化學發光是化學反應所產生的「冷光」。在自然界中，這種反應相當地普遍，除螢火蟲而外，某些細菌，原生動物類，蠕蟲與菌類，都顯示生物光的發生，亦即生物發光 (bioluminescence)。根據估計，棲息於深海中的一切生物，其中 90 % 以上是能夠產生生物發光的。

十多年前，化學發光反應已被開發成爲一種獨特的工具，可以用來研究試管中與活生生的有機體中的生物系統，以及各種化合物與金屬離子的精密化學分析。

化學發光反應牽涉到能量的釋放，其意義頗爲深長。然而，不像一般化學反應，這種能量幾乎全部變成光，幾乎沒有熱的伴隨，因而得名「冷光反應 (luminous reaction)」。因爲能夠探測極低光子通量的光子計數器，現在比較容易獲得，所以只要探測到化學發光，即可理解這些反應，那怕供以分析的材料只有 10^{-12} 莫耳。

所有的化學發光反應，所形成的反應產物，均在受激態 (見圖 1)。該產物可能發射光子 ($h\nu_{em}$) 而降到基態，也可能透過碰撞而發生減活化作用 (deactivation)，把激發能交給鄰近分子。受激發射分子數與受激分子總數的比值，稱爲量子產量 (quantum yield) Φ ，即

$$\Phi = \frac{\text{發射光子數}}{\text{形成的受激分子數}}$$

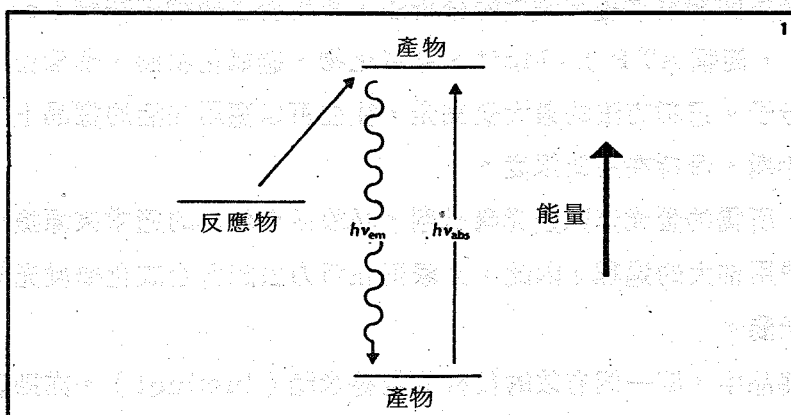


圖 1

激發能轉變成為光，其效率由 Φ 來衡量，而生物系統的 Φ 值非常高（典型的數值是0.3左右，而螢火蟲化學發光的 Φ 值幾近於1）。

大多數生物發光的主要成分是螢光素與螢光酶。這些是籠統的名詞，僅指所牽涉到的分子之種類，而不是指特定的化合物。因此，雖然所有的螢光酶都是大蛋白質，其相對分子質量（RMM）是 10^5 道耳吞左右，但其組成各異。同樣地，截至目前所確認的所有螢光素，雖然都是很小很簡單的分子（見圖2），但從不同來源提取的螢光素，其組成幾乎沒有類似之處。

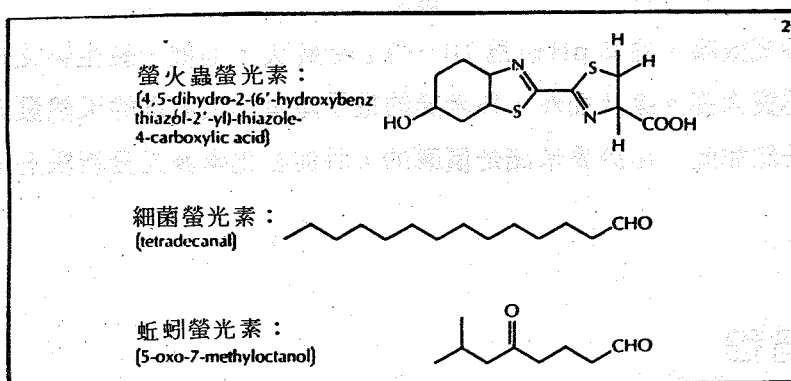


圖 2

二、合成化學發光

許多螢光素與螢光酶的系統，均需氧、過氧化物，或金屬離子來產生光。化學界一

直根據這種現象來開發很多極其靈敏的分析法，適用於三磷酸腺苷酶（adenosine 5'-triphosphate，簡稱 ATP）、 Mg^{2+} 、過氧化物、過氧化物酶、葡萄糖，以及其他生物學上的重要分子。這種方法的最大優點是，往往可以應用在活的樣品上，而使正常生物化學過程的中斷，保持在最低限度。

不巧的是，所需的螢光素與螢光酶試劑，必須從自然界的適當來源提取，而這又是冗長乏味並且費用浩大的過程。因此，大家正在努力去開發合成化學發光分子，以便代替螢光素與螢光酶。

天然化學藥品中，第一個有效的代替物是魯米諾（luminol），亦即氨基苯二銻一肼（5-amino-2,3-dihydro-1,4-phthalazinedione，見圖 3）。如果溶劑為非質子性（如 DMSO），則在這介質中只需氧與強鹼就可以發光；如果溶劑為質子性（如水），則在這介質中需要鹼、催化劑（如赤血鹽），以及氧或過氧化物。

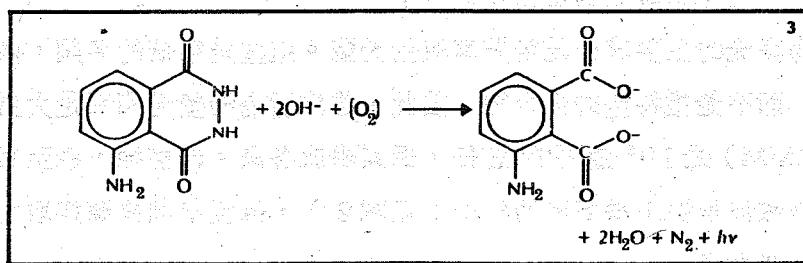


圖 3

魯米諾的發光效率，在其 pH 值為 10 ~ 11 時最大，而就一般生物化學上的應用而言，這種鹼性委實太高。除此而外，魯米諾的量子產量比大多數的天然發光反應系統小 20 ~ 30 倍。雖然如此，由於魯米諾是價廉的，目前在化學發光分析法上，魯米諾依然普受採用。

三、發光過程

過氧草酸鹽的化學發光，在 1963 年首次被報導。在過氧化氫的存在之下，可用活化劑（例如水楊酸鋰或三乙胺）來引起草酸二酯的氧化分解。結果所生成的極不穩定 3,4-環雙氧烷二酮，本身並不發光，而裂開成為兩個 CO_2 分子，同時，把能量傳遞給螢光劑。接着，這螢光劑把能量當光子來發射（見圖 4）。

這種反應尚未廣泛應用在生物學上，因為必須用到有機溶劑。雖然如此，該反應確

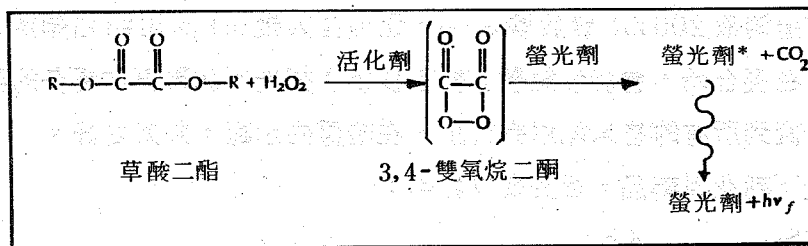
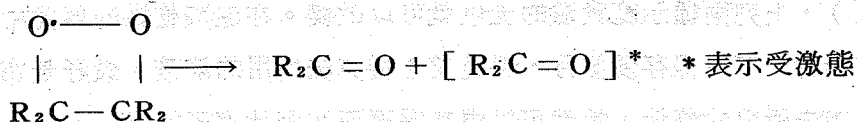


圖 4

實能夠進行，且就任何合成化學發光分子而言，其最高量子產量 Φ 是0.3左右。此外，只要選擇適當的螢光劑，即可調節發光的顏色。因此，由美國氰胺公司徹底研究的這個反應系統，現在已在商業上廣泛使用，稱做氰光棒。

化學發光的中心問題是，當一個化學反應既然能夠產生基態分子時，為什麼該化學反應竟然會產生受激發的該分子？這答案顯然很複雜，目前仍然不十分清楚。在許多化學發光反應中，即使發光物質在其基態，也不穩定，而發光後再作進一步的反應。因此，發光物質的確認並不容易。然而，發光現象確實迅速發生，可能發生在分子振動一次的時間內。瞭解較清楚的化學發光是單分子雙氧烷的熱解反應。其分解反應為：



中心步驟的複雜性與化學發光的量子產量，二者之間究竟有什麼關係，目前不得而知，然而，光子的迅速發射似乎非常重要，如此始能避免與其他分子發生碰撞而成為熱能，不發光。

受激態產物的形成與衰變，其過程的進一步理解，有助於瞭解致光的反應機構。如此一來，這些靈敏的分析法，將能應用在化學與生物學的更廣大領域。

四、示範實驗

教室內或實驗室內的化學發光示範實驗，其操作十分簡單，深具教育意義。利用螢火蟲尾巴或經過提取而得的ATP與適當的緩衝劑，即可展示螢火蟲化學發光現象。然而，這種生物化學藥品，價格相當昂貴。因此，下面介紹比較廉價而同樣有效的兩種示範實驗方法。

(1) 將 4 g 氫氧化鈉溶解於 1ℓ 水中 (0.1 M NaOH)，再加入 0.15 g 魯米諾。混合均勻後，取這溶液 200 ml 置於燒杯中，迅速注入幾 ml 商用漂白劑或 5 % 次氯酸鈉溶液。該溶液在混合時，會發生短暫 (約 1 秒鐘) 亮光。如果再加更多的漂白劑，就產生更多的光，直到所有的魯米諾用完為止，在暗房內示範，效果更好。

(2) 秤量下列化學藥品，置於廣口杯中：

血紅朊 4 g

磷酸三鈉 30 g

魯米諾 0.5 g

高硼酸鈉 4 g

冰糖 30 g

塞住廣口瓶口，倒轉或轉動瓶子，徹底混合瓶中所有的化學藥品。取這混合物大約 10 g，注入錐形大燒杯中的 600 ml 水中，塞住瓶口搖勻，就會產生明顯的化學發光現象，可持續數分鐘。這項示範實驗，在暗室中實施最有效。

在氫氧化鈉與魯米諾的溶液中 (第 1 種方法)，或在固態混合物 10 g 中 (第 2 種方法)，加入些少螢光素 (fluorescein，綠光) 或薔薇紅 (rhodamine B，紅光或粉紅光)，上列兩種示範實驗的光色就可以改變。在涼爽乾燥的環境中，第 2 種方法所用的混合物，可以保存幾個月，但是第 1 種方法所用的溶液，最好是在使用當天製備。這兩種方法所用的藥量，當然可以視其需要而按照比率予以增減。

參考資料：Education in Chemistry, May 1985。