

ホタルの光が試験管の中で？

山梨大学工学部応用化学科
桑原哲夫，高橋正樹，原本雄一郎

[はじめに]

「ほ，ほ，ほたる，来い！こっちの水は甘いぞ。あっちの水は苦いぞ！」子供の頃，ホタルを追いかけてながら口ずさんだ唄。「夏はよる。月の頃はさらなり，やみもなほ，ホタルの多く飛びちがひたる。また，ただひとつふつつなど，ほのかにうちひかりていくもをかし。」古典の授業で学んだ枕草子。ホタルの光は，古くから日本人の心をとらえてきました。

我々は，あの美しいホタルの光を見ると，“どのようにしてあの様なきれいな光を放つのだろう，あの光を捕まえたい，あるいは，どうすればあの光を試験管の中で再現できるのだろう”という疑問・命題を抱かずにはいられません。そして，その瞬間から，どんどん化学の世界へ入り込んでいくのです。実際，オワンクラゲの発光に魅せられた下村脩(おさむ)先生は，その発光物質の正体が緑色蛍光タンパク質であることを発見し，その功績により2008年ノーベル化学賞を受賞されました。

現在，ホタルの発光は，ルシフェリンとルシフェラーゼという酵素の働きによって起こることがわかっています。また，ルミノールという構造の単純な物質を使って，試験管の中で簡単にホタルの光?を作ることが出来るようになりました。ルミノール発光は，血痕の鑑識に利用することができ，多くの事件を解決する際の重要な手段となっています¹⁾。



注 1) ルミノールの化学発光は，血液中のヘモグロビンが触媒となって働きます。したがって，だ液，尿，体液などでは発光しません。

[さあ、やってみよう！]

<ルミノールの合成>

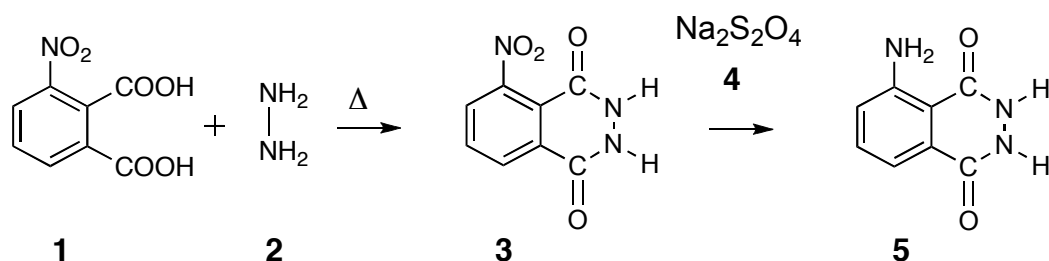
- 1) 攪拌子を入れたナス型フラスコに、3-ニトロフタル酸 (1) 1 gと8%ヒドラジン水溶液 (2) を2 mlを取り、冷却管を取り付け、油浴中で固体が溶けるまで加熱する。
- 2) 溶解後、トリエチレングリコール3 mlを加え、温度を110–130 °Cに設定し、溶液を2~3分間激しく沸騰させながら攪拌する。冷却後、ロータリーエバポレータで過剰の水を蒸発させる。
- 3) フラスコの外面の水をふき取り、攪拌子を入れ、オイルバス中で攪拌しながら、温度を3–4分で急速に215 °Cまで上げ、215–220 °Cに2分間程度保つ。
- 4) オイルバスを取り除き5分程放置後、あらかじめ作っておいた熱湯15 mlを加え、水で冷やし、析出した化合物 (3) をろ過により取り出す。
- 5) 取り出した固体を三角フラスコに取り、10%水酸化ナトリウム水溶液5 mlを加え、ガラス棒で攪拌することにより着色した溶液を得る。
- 6) 着色溶液に攪拌子と亜ジチオン酸ナトリウム二水和物 (4) 3 gを加え、冷却管を取り付け、5分間攪拌しながら加熱沸騰を続ける。
- 7) 酢酸2 mlを加え、かき混ぜながら水道水で冷やす。
- 8) 析出した淡黄色の化合物、ルミノール (5) をろ過する。(沈殿物が細かい場合、遠心分離を行い、その後ろ過する。)

<ルミノールの化学発光>

- 9) 得られたルミノールを10%水酸化ナトリウム水溶液10 mlに溶かし、水90 mlを加え希釈し、A液とする。A液を25 ml取り175 mlの水で希釈しB液とする。
- 10) 3%ヘキサシアノ鉄 (III) 酸カリウム水溶液20 ml, 3%過酸化水素水10 ml, 水70 mlを混ぜた溶液を作り、これをC液とする。
- 11) B液50 ml とC液50 ml を暗いところで混ぜ合わせる。

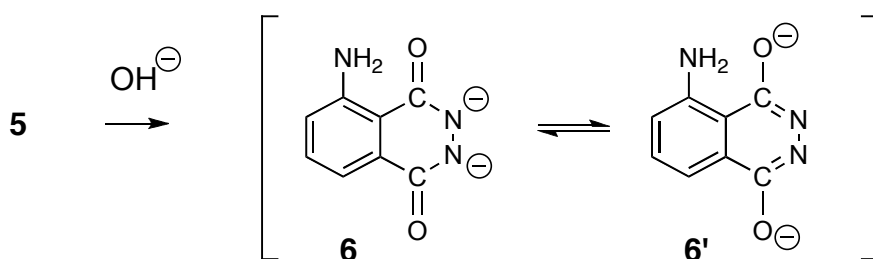
<化学反応式による説明>

今回行うルミノール (5-アミノフタルヒドラジド) の合成実験を化学反応式で示すと、下のようになります。

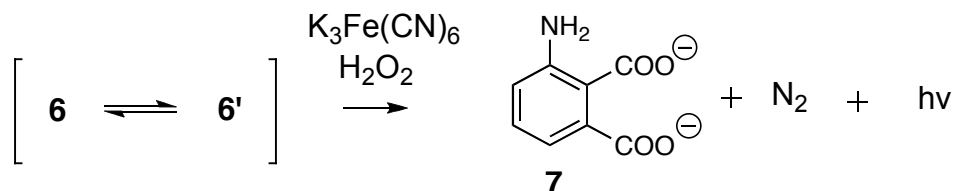


まず、実験1, 2 で 1 と 2 を混合し、実験3で加熱脱水することによりニトロ化合物 (5-ニトロフタルヒドラジド) 3 を合成します。そして、実験4では 3 を単離します。続いて、3 をアルカリ水溶液に溶解し(実験 5)、還元剤である 4 (亜ジチオン酸ナトリウム, または、ヒドロサルファイト) を加え(実験 6), 3 のニトロ基をアミノ基へと還元して 5 のルミノールを得ます。

続いて、ルミノールの化学発光の実験を化学反応式で示すと下のようになります。ルミノール 5 をアルカリ水溶液に溶かすと(実験 9), 6 や 6' の構造になります。



これに過酸化水素-ヘキサシアノ鉄(III)酸カリウム (フェリシアン化カリウム) を加えることで(実験 10), 6 が酸化されて 7 となり, この過程で発光が観察されます。



<実験を行う上での注意>

- 1) 実験で使用する試薬は危険です。直接手で触れないで下さい。皮膚についた場合、すぐに水道水で洗い流して下さい。
- 2) 実験は、指導員の指示に従い、必ず保護眼鏡を着用して行って下さい。
- 3) 研究室の中にある薬品, 装置などに勝手に触れないでください。

[観察してみよう！]

(◎_◎) 実験2) で溶液を2~3 分間激しく沸騰・攪拌した時の溶液の色変化は？

答え

(◎_◎) 実験2) のロータリーエバポレーターの先にヒモを近づけた時の様子は？

答え

(◎_◎) 実験4) では何色の固体が析出しましたか？

答え

(◎_◎) 実験11) では、どのような現象が観察されましたか？

答え

[調べてみよう！]

φ(。^。) 前述の通り、今回合成したルミノール発光は「化学発光」であり、ケミルミネッセンス(Chemiluminescence)と呼ばれています。ケミルミネッセンスを示す他の物質には、どんなものがあるでしょうか？

φ(。^。) 「化学発光」に対して、ホタルやオワンクラゲの発光は「生物発光」であり、バイオルミネッセンス(Bioluminescence)と呼ばれています。バイオルミネッセンスには、他にどんなものがあるかな？

φ(。^。) 化学発光や生物発光は、私達の生活のどんなところに役だっているかな？

φ(。^。) 化学発光や生物発光は、どんな原理で起きるのかな？