

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

〔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、ただひとつふたつなど、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よう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>

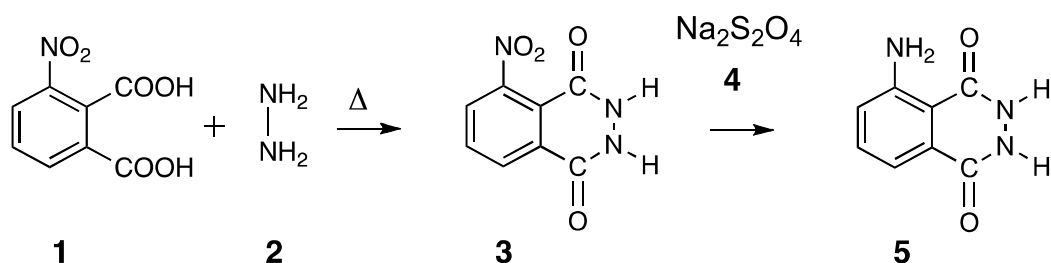
- 1) 攪拌子を入れたナス型フラスコに、3-ニトロフタル酸 (1) 1 gと8%ヒドラジン水溶液 (2) を2 mlを取り、冷却管を取り付け、油浴中で固体が溶けるまで加熱する。
- 2) 溶解後、トリエチレングリコール3 mlを加え、温度を110-130 °Cに設定し、溶液を2〜3分間激しく沸騰させながら攪拌する。冷却後、ロータリーエバポレータで過剰の水を蒸発させる。
- 3) フラスコの外面の水をふき取り、攪拌子を入れ、オイルバス中で攪拌しながら、温度を3-4分で急速に215 °Cまで上げ、215-220 °Cに2分間程度保つ。
- 4) オイルバスを取り除き5分程放置後、あらかじめ作っておいた熱湯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>

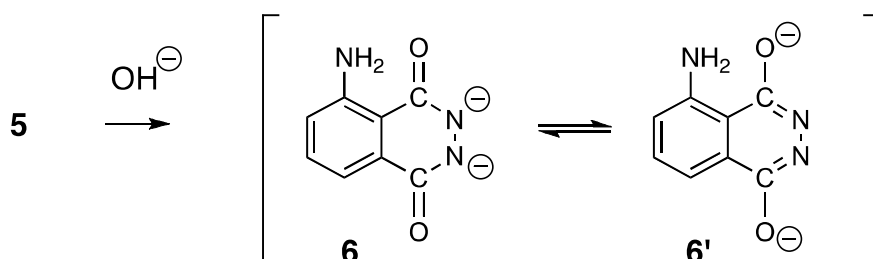
今回行うルミノール (5-アミノフタルヒドラジド) の合成実験を化学反応式で示すと、下のようになります。



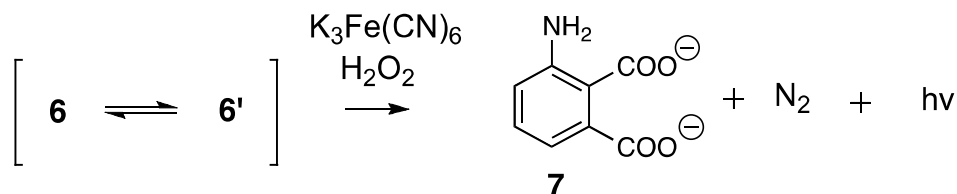
まず、実験1, 2 で 1と 2 を混合し、実験3で加熱脱水することによりニトロ化合物 (5-ニトロフタルヒドラジド) 3を合成します。そして、実験4では 3を単離します。続いて、3をアルカリ水溶液に溶解し(実験 5)、還元剤である4 (亜ジチオン酸ナトリウム, または、ハイドロサルファイト) を加え(実験 6), 3のニトロ基をアミノ基へと還元して 5のルミノールを得ます。

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？