テーマ４

# 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。

[ さぁ，やってみよう！ ]

＜ルミノールの合成＞

1)　撹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 ℃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，撹拌子を入れ，オイルバス中で攪拌しながら，温度を3-4分で急速に215 ℃まで上げ，215-220 ℃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，ガラス棒で撹拌することにより着色した溶液を得る。

6)　着色溶液に撹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＞

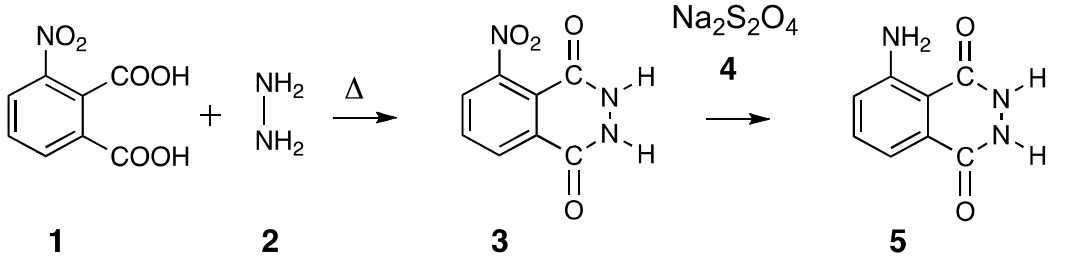
9)　得られたルミノールを10%水酸化ナトリウム水溶液10 mlに溶かし，水90 mlを加え希釈し，A液とする。A液を25 ml取り175 mlの水で希釈しB液とする。

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＞

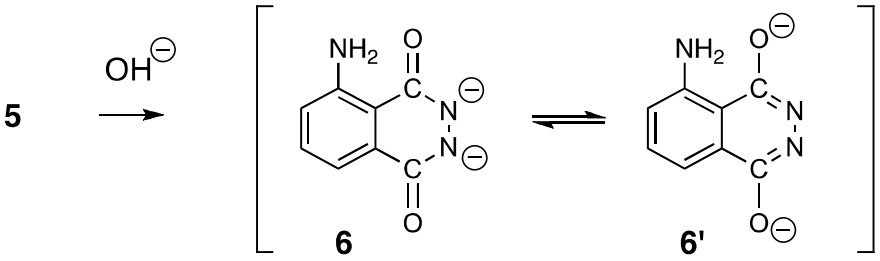
今回行うルミノ－ ル (5-アミノフタルヒドラジド) の合成実験を化学反応式で示すと，下のようになります。



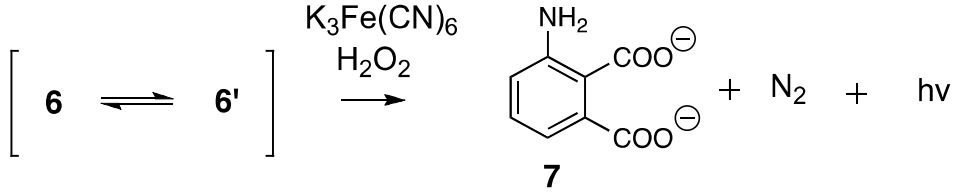

まず，実験1，2 で 1と 2 を混合し，実験3で加熱脱水することによりニトロ化合物（5-ニトロフタルヒドラジド）3を合成します。そして，実験4では 3を単離します。続いて，3をアルカリ水溶液に溶解し(実験 5)，還元剤である4（亜ジチオン酸ナトリウム，または，ハイドロサルファイト）を加え(実験 6)，3のニトロ基をアミノ基へと還元して 5のルミノ－ ルを得ます。

続いて，ルミノ－ 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－ 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・撹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(^o^)　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(^o^)　「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(^o^)　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(^o^)　化学発光や生物発光は，どんな原理で起きるのかな？