

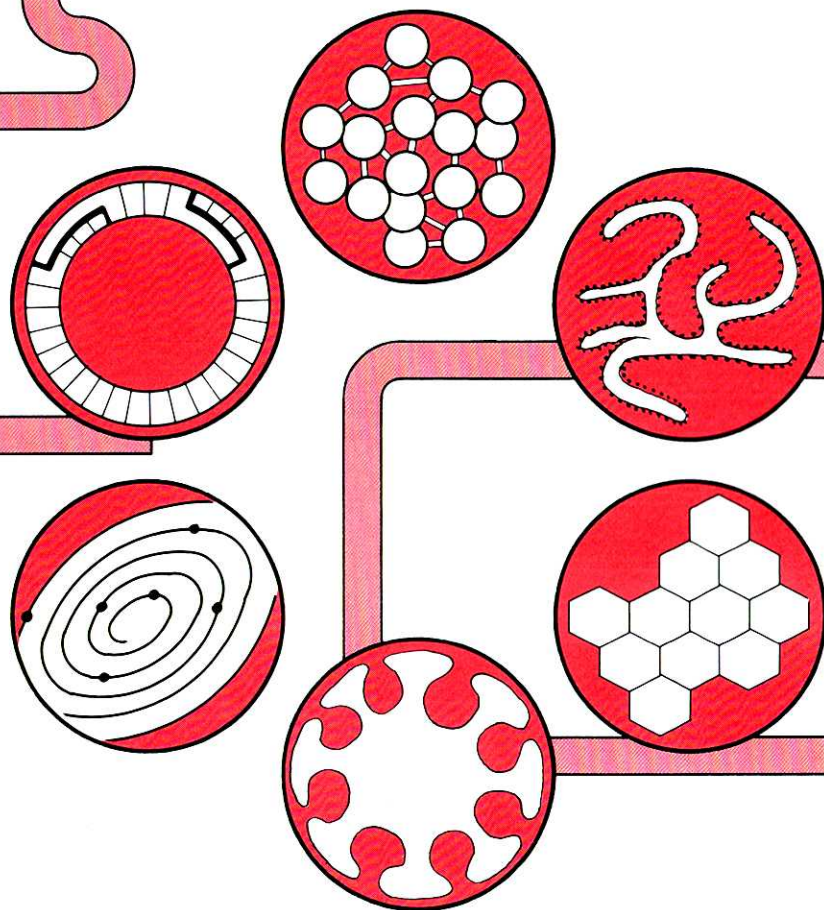
THE

CHEMICAL TIMES

ISSN 0285-2446

KANTO CHEMICAL CO., INC.

1989 No.2 (通巻132号)



目 次

臨床化学並びに臨床化学検査への接近.....佐々木 禎 一.....26

5. 含窒素化合物 (creatinine, creatinine および ammonia) の臨床検査

酵素を用いた血中塩素イオンの定量.....小 野 敏 広.....32

酸化タングステン膜のエレクトロクロミズム(IV).....三 宅 清 司.....39

エレクトロクロミックセルの特性

E. メルク社の品質管理.....M. キースリング.....44

くすりの文化交流(10).....根 本 曾 代 子.....46

—伝承と科学性—

編集後記.....48

臨床化学並びに臨床化学検査への接近

5. 含窒素化合物(creatine, creatinine および ammonia)の臨床検査

札幌医科大学附属病院 検査部 佐々木 禎 一

I. はじめに

前回は血清、尿およびその他の生体試料中の含窒素化合物の中、非蛋白性窒素(NPN)、尿素および尿酸を対象に、それぞれの生理的並びに診断的意義と、代表的測定法について概説した。

今回はそれ以外の含窒素化合物として、creatine, creatinine 並びに ammonia を取り上げて、説明してみよう。

II. Creatine 並びに Creatinine

1. 生理的並びに診断的意義：

(1) creatine の生合成——

creatine は腎臓で図1の様に、arginine と glycine とから glycine amidinotransferase (GAT ; EC 2.1.4.1) の作用により guanidinoacetic acid となり、これは肝臓で guanidinoacetate methyltransferase (GAMT ; EC 2.1.1.2) の働きにより、methionine と反応して creatine となる。その大部分は骨格筋で creatine kinase (CK ; EC 2.7.3.2) の働きによって creatine phosphate となり筋肉中に貯えられ、筋収縮の際のエネルギー源となっている。

(2) creatinine の生合成——

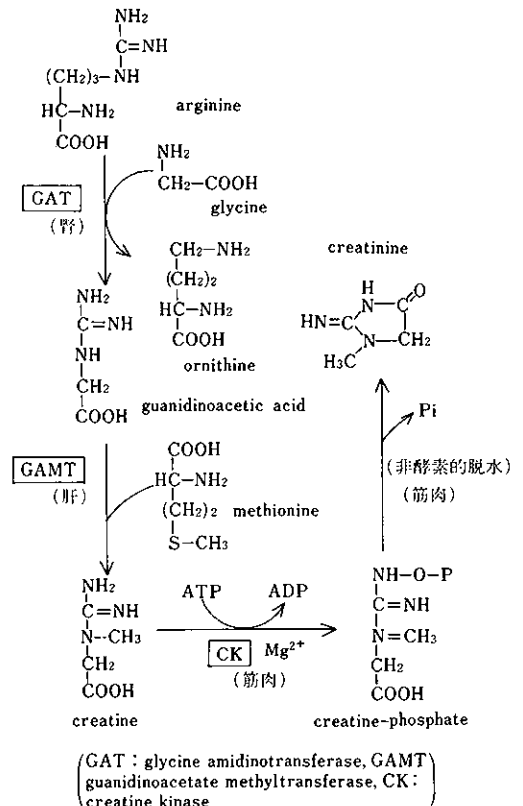
creatine phosphate は非酵素的に脱水されて creatinine となり、代謝終産物として尿中に排泄される。

(3) creatine および creatinine の尿中への排泄——

腎糸球体で濾過された creatine は尿細管で再吸収されるが、creatinine は再吸収されない。従って通常成人男子では、尿中に creatine はほとんど見出されない。creatinine の24時間尿中排泄量は、体重特に骨格筋の発育に比例して変動する。しかし一般に食餌の組成、運動、尿量等により大きな影響を受けず、日差変動も少ない。24時間の体重当たりの creatinine 排泄量をみると、年齢、性別等の因子の影響を受けるが、狭い範囲内の一定値を示しており、男性では20~26、女性では14~22、小児では12~18mgとなる。この値を creatinine 係数と呼ぶ。排

泄される総 creatinine 量の中、creatine の割合は極めて低く、男性で数%程度であり、幼児ではこれより高値である。一方成人女性では個人毎の変動が大きい、普通は男性の2~2.5倍となる。

図1. 生体内における creatine, creatinine の生合成



(4) creatine 値の変動——

種々の筋肉疾患、特に筋ジストロフィでは筋への取り込みの低下、或いは放出の亢進が原因となって、血中の

creatinine 濃度が増加し、尿中に排泄される。また組織の異化亢進のある場合（発熱、飢餓、悪性腫瘍等）や、肝臓での合成が亢進して筋組織からの放出が増加する様な場合（甲状腺機能亢進症等）でも高値となる。

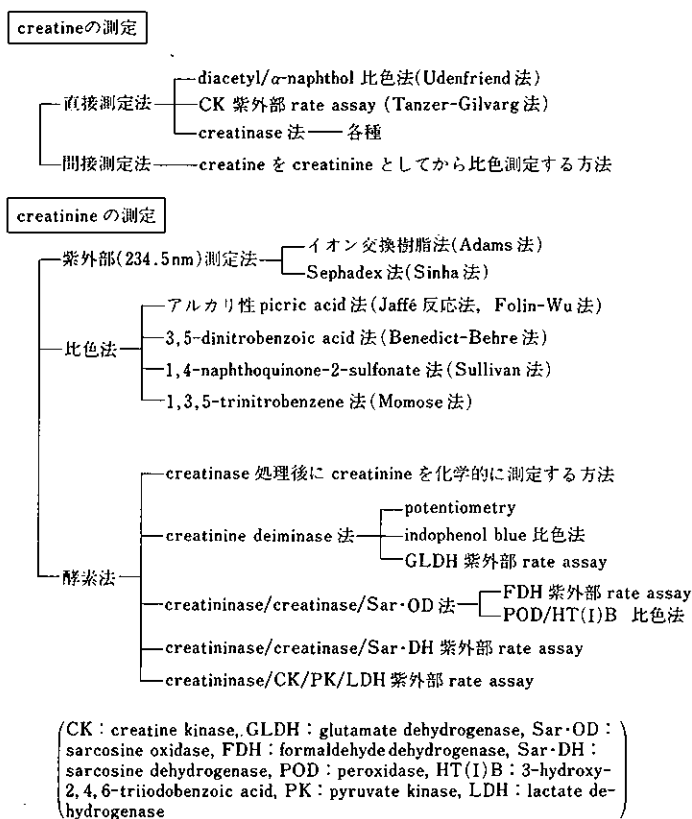
(5) creatinine 値の変動——

血清中 creatinine の値は、正常男性では0.7~1.2、女性では0.6~1.1mg/dℓであるが、腎障害時には高値となり、中等度障害>1.5mg/dℓ、重症障害>2.5mg/dℓ、極めて重篤な場合15~20mg/dℓとなる。

2. 測定方法：

creatinine および creatinine の各種測定法をまとめてみると、図2のようになる。これ等の中で、従来はアルカリ性 picric acid 比色法が中心であった。しかしその特異性および感度上の問題が指摘されており、最近では酵素法が序々に普及してきた。また近年急速に進歩している dry chemistry で用いられる試薬 strip 上での呈色反応には、3,5-dinitrobenzoic acid による比色法が利用されている。

図2. creatine および creatinine 測定法の概要



(1) アルカリ性 picric acid 比色法——

creatinine は NaOH 存在下で picric acid と反応して、図3の様に紅色のキノイド色素を生成する (Jaffé 反応)。この比色法は Folin 法と呼ばれているが、呈色度が弱く種々の干渉物質の影響を受けるので、特異性に問題があった。しかし操作的に便利な方法であり、改良法も幾種か報告され、極く最近まで creatinine 測定法の主流であった。creatinine は脱水反応で creatinine としてから測定することができる。

(2) 酵素を用いる測定法(半酵素法)——

この方法は試料中の creatine を creatinase (EC 3.5.3.3; creatine amidinohydrolase) で処理し、creatinine を分解後残存する creatinine を Jaffé 反応で比色測定する方法である。

(2) creatine kinase (CK)/pyruvate kinase (PK)/lactate dehydrogenase (LDH) 法による creatine の測定——

図4に示した反応は、CK 活性の測定に用いられてき

た方法である。検体中の creatine を ATP の共存下で、CK により ADP と creatine phosphate とし、生成した ADP を phosphoenol pyruvate (PEP) の存在下で pyruvate kinase (PK; EC 2.7.1.40) を働かせて pyruvate とし、さらに lactate dehydrogenase (LDH; EC 1.1.1.27) により lactate とするが、その際の $\text{NADH}_2 \rightarrow \text{NAD}^+$ の共役反応を 340 nm で rate assay で求める方法である。

(3) creatinine deiminase (CDI) を用いる creatinine の測定 —

図 3. Jaffé 反応による発色反応機構

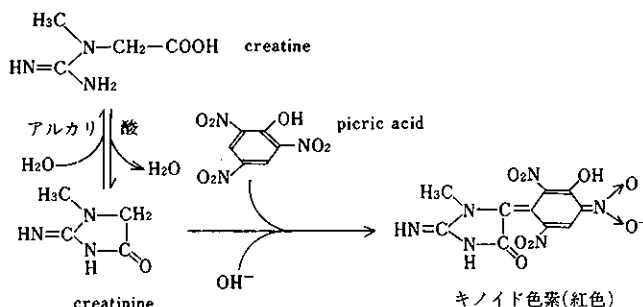
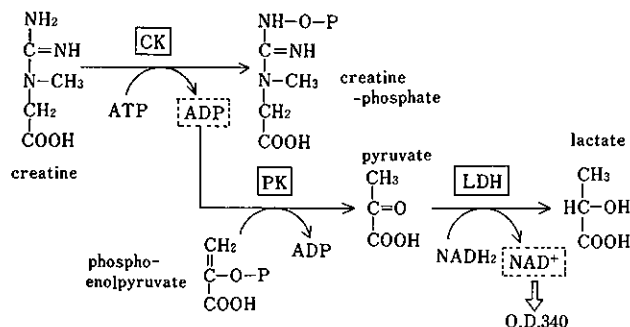


図 4. 酵素を用いる creatine の測定法—CK/PK/LDH 法—

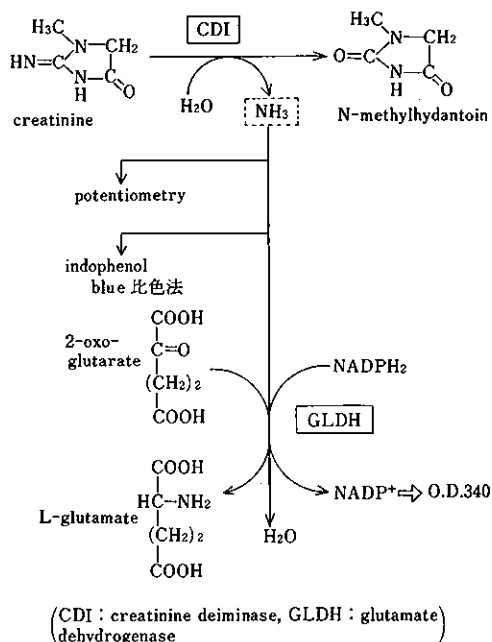


(CK: creatine kinase, PK: pyruvate kinase, LDH: lactate dehydrogenase)

この測定法の様に NH_3 を生成させて測定する方法では、検体中の内因性 NH_3 の影響は無視できず、その消去法が検討されている。図 6 に示したのは、GLDH と isocitrate dehydrogenase (ICDH; EC 1.1.1.42) を用いる酵素的消去法である。2-oxoglutarate の存在下 GLDH を働かせて、前以て検体中の内因性 NH_3 を消去しておくが、この際の生成 NADP^+ は isocitrate 添加下で、ICDH により 2-oxoglutarate と CO_2 , NADPH_2 とし、さらに本反応ではこの ICDH は EDTA を添加して阻害する様配慮している。

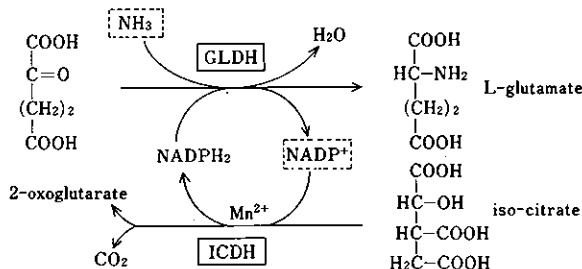
この方法は図 5 に示した様に、creatinine deiminase (CDI; EC 3.5.4.21; creatinine iminohydrolase) により creatinine を N-methylhydantoin と NH_3 とし、生成した NH_3 量を NADPH_2 共存下 glutamate dehydrogenase (GLDH; EC 1.4.1.2) を働かせて 2-oxoglutarate と反応させて、L-glutamate, H_2O および NADP^+ とし、340 nm における吸光度の減少度から、生成 NADP^+ 量を知って測定する方法である。

図 5. creatinine の酵素を用いる測定法—creatinine deiminase/GLDH 法, 他—



(CDI: creatinine deiminase, GLDH: glutamate dehydrogenase)

図 6. 内因性 NH_3 を除去するため酵素を用いた前処理



(GLDH: glutamate dehydrogenase, ICDH: isocitrate dehydrogenase)

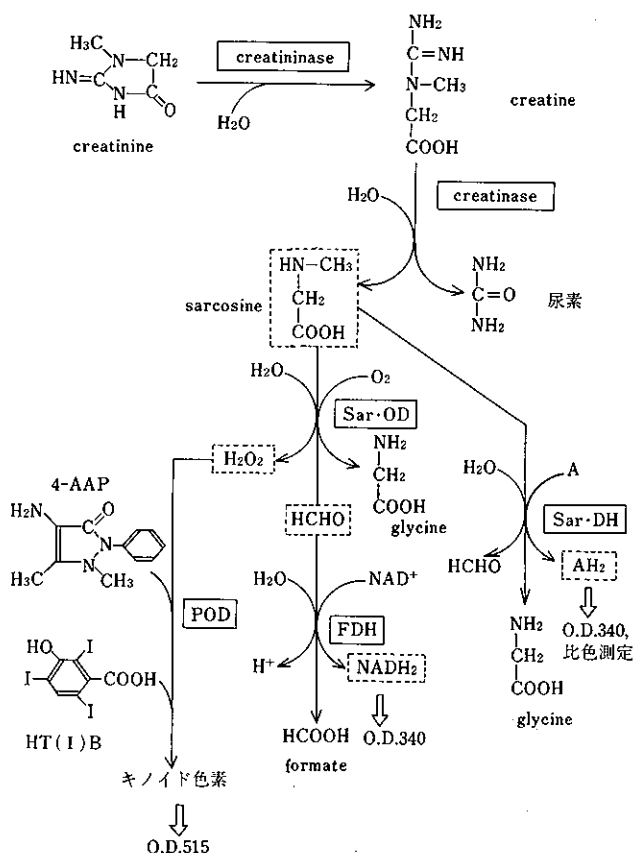
(4) 生成 sarcosine を酵素的に定量する creatine および creatinine の測定法 (図 7 参照)——

検体中の creatinine は creatinase (EC 3. 5. 2. 10; creatinine amidohydrolase) により creatine としてから、また creatine はそのまま creatinase により尿素と sarcosine とし、この生成 sarcosine 量を測定する方法で、図 7 の様に幾種かの測定系がある。

すなわち sarcosine oxidase (Sar·OD; EC 1. 5. 3. 1) により酸化して H_2O_2 , HCHO および glycine とし、 H_2O_2 は peroxidase (POD; EC 1. 11. 1. 7) により 4-aminoantipyrine および 3-hydroxy-2, 4, 6-triiodobenzoic acid

(HTB 或いは HTIB) と反応させ、赤色キノイド色素として 515nm で吸光度測定をするか、 HCHO を formaldehyde dehydrogenase (FDH; EC 1. 2. 1. 1), 或いは formate dehydrogenase (EC 1. 2. 1. 2) で HCOOH へ導き、その際の共役反応 $\text{NAD}^+ \rightarrow \text{NADH}_2$ の反応速度を 340 nm で rate assay して求める。また sarcosine dehydrogenase {Sar·DH; EC 1. 5. 99. 1; sarcosine: (acceptor) oxidoreductase (demethylating)} を利用して、その際の acceptor (A) $\rightarrow$ 還元型 acceptor (AH_2) の変化率を追跡する方法も可能である。

図 7. 酵素を用いる creatine, creatinine の測定—生成 sarcosine を測定する方法



(Sar·OD : sarcosine oxidase, 4-AAP : 4-aminoantipyrine, HT(I)B : 3-hydroxy-2,4,6-triiodobenzoic acid, FDH : formaldehyde dehydrogenase または formate dehydrogenase, POD : peroxidase, Sar·DH : sarcosine dehydrogenase)

III. ammonia NH_3

1. 生理的並びに診断的意義:

生体内で食餌蛋白や組織の崩壊等により生成された amino acids $\text{R}\cdot\text{CH}\cdot\text{NH}_2\cdot\text{COOH}$ は、脱アミノ反応 deamination により NH_3 を離脱する。しかし NH_3 は生体内では有毒であるので、生成 NH_3 の速やかな処理～体外への排泄は重要なことである。実際生成した NH_3 は一部が他の amino acid へ変化する(例えば glutamic acid と反応して glutamine へ、或いは oxalacetate と 2-oxo-glutarate の様な keto acid と反応して amino acid となる) 他は、大部分が尿素に合成されて体外に排泄される。

通常 $\text{NH}_3\cdot\text{N}$ としては、血中濃度は $0.4\sim 1.4\mu\text{g}/\text{ml}$ と極く微量しかない。しかし $> 2\text{mg}/\text{dl}$ となると、肝性昏睡等でみられる様な重篤な中毒症状を呈し、この様な患者では緊急検査として血中 NH_3 量の迅速な測定が不可欠である。

また NH_3 が尿中に排泄されるには腎が関与し、それは血中 pH の変化により左右される。血中 NH_3 は肝臓で処理されているので、血中 NH_3 値の変動は肝疾患の際の重要な指標となる。すなわち肝機能障害があると、血中 NH_3 値が上昇する。ただし肝臓での NH_3 処理能力はかなり旺盛なので、軽度の肝実質障害ではその影響はほとんどみられないが、高度になると NH_3 値は上昇をみせる。 NH_4^+ の形で血液の pH に影響し、その結果肝性昏睡 hepatic coma 等の中毒症状を呈するので、重症肝疾患では精神異常や意識混濁を惹き起こす。また消化管内の大出血の場合にも血中 NH_3 値は上昇して、肝障害の場合と同様な症状を呈することがある。

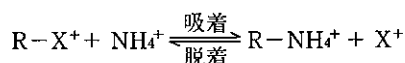
2. NH_3 の測定法(図8参照):

NH_3 の測定法の歴史は古く、以前気散し易い性状を利用して通気法、水蒸気蒸留法や、微量拡散法等が行われ、その後滴定や比色法で定量するのが主流であった。しかし血中 NH_3 量は一般に微量で、しかも採血後の放置により顕著に増量するので、その採取、前処理や保存には細心の注意が不可欠である。従って採取後速やかに測定することは当然であるが、氷冷下での実施が必要であり、かつは除蛋白も必要であった。測定法としては trichloroacetic acid や HClO_4 、リンタングステン酸等で除蛋白した濾液中の NH_3 を Nessler 試薬、或いは Berthelot 試薬で測定する方法(第4報参照)がよく使われた時期もあったが、いずれも繁雑で現在は用いられていない。比較的よく用いられてきたのはイオン交換樹脂法で、最近では酵素を用いる測定法が中心となっている。

(1) イオン交換樹脂法——

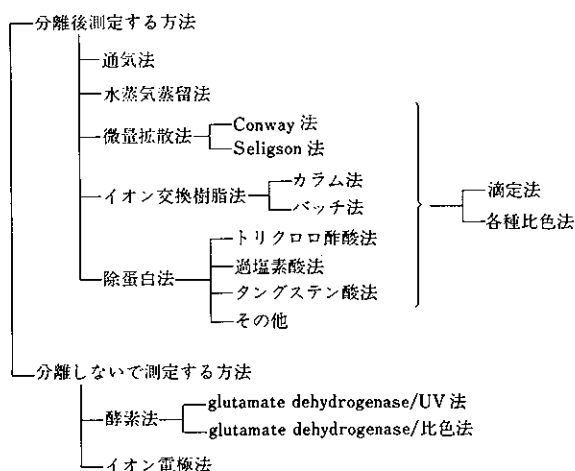
陽イオン交換樹脂を用いて血漿中 NH_4^+ を吸着させ、

水洗して他成分を除去した後に、過剰の陽イオンを加えて NH_3 を溶出させて、比色測定する。この反応は



として表わされるが、Dowex 50-16, Amberlite IR-120 B, -CG 120, Permutit Q 等が用いられる。溶出 NH_3 は Berthelot 反応を利用して indophenol blue として比色測定する。この測定法は高感度で glutamate 等の影響は少ない一方、用いる樹脂の性状、調整条件、或いは NH_4^+ の溶出条件に左右される。

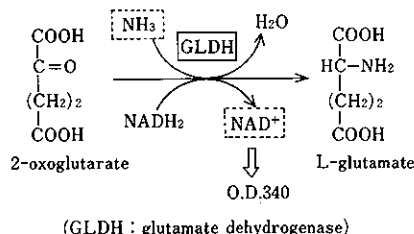
図8. ammonia の測定法の概要



(2) glutamate dehydrogenase (GLDH) を用いる酵素的測定法——

GLDH を用いる NH_3 の測定法の反応原理を図9に示した。助酵素 NADH_2 の共存下、GLDH の触媒作用に

図9. ammonia の酵素的測定法

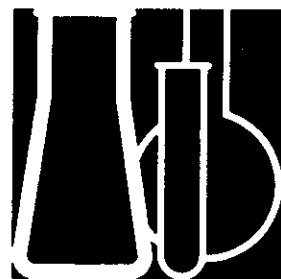


より 2-oxoglutarate と NH_3 とを反応させ、L-glutamate と H_2O とにし、その際の $\text{NADH}_2 \rightarrow \text{NAD}^+$ の共役反応に伴う 340 nm での吸光度の減少度を紫外外部 rate-

assay する方法である。比色測定系に持っていく方法もある。測定精度も良好で、測定操作も簡便であり、自動化も容易であるため、現在かなり普及しているが、用いる酵素の純度や安定性に関しての配慮が必要である。

IV. 小括

前回に続き蛋白を除く含窒素化合物の臨床化学検査（生理的並びに診断的意義および測定法）について、概説した。今回対象とした項目は creatine, creatinine および ammonia の3種であるが、いずれも腎疾患の場合を中心に、種々の疾患や病態の把握の際の重要な検査項目である。いずれも早くから日常検査に利用されているが、また重篤な腎機能障害や末期の肝障害の場合の緊急検査としても重要な項目である。



γ - GT (New)

溶血 の影響を回避

〔特 長〕

- 溶解性の高い基質を使用
(L- γ -glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide)
- あらゆる装置に適応可能
- 試薬調製後、冷所で1ヵ月安定
- 日立736シリーズ、TBA-Sシリーズ
AU5000シリーズの専用ボトル使用
- IFCC処方に準拠
- ワンタッチで簡単な試薬調製



関東化学株式会社

東京都中央区日本橋本町3-2-8 Tel.03-270-6500

Cica-MERCK

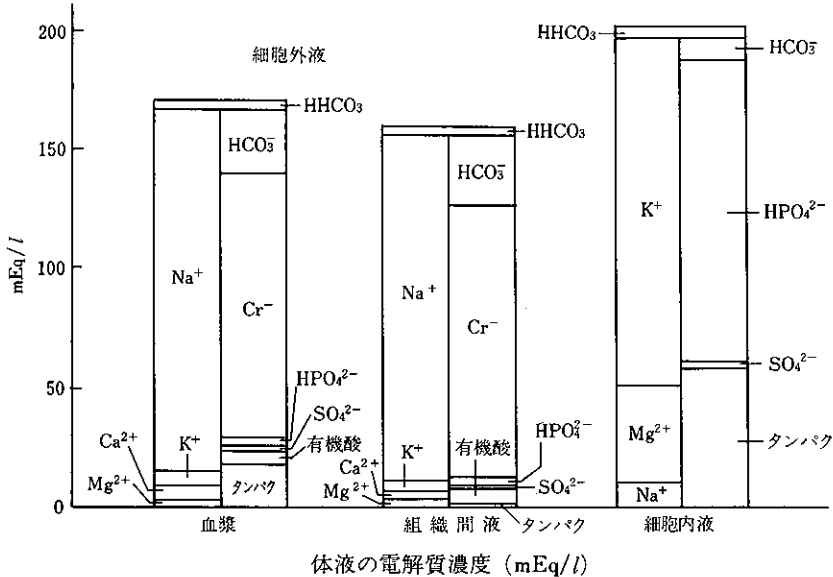
酵素を用いた血中塩素イオンの定量

関東化学(株) 伊勢原研究所 小野 敏 広

1. はじめに

塩素イオン（以下 Cl^- と略）は、生体内では組織外液に広く分布しており、血中（血清もしくは血漿）では、重炭酸イオン、りん酸イオン、硫酸イオンとともに陰イオンの主成分を構成している（図-1）。

図 1.



体液の電解質濃度 (mEq/l)

また生体内では、水分の代謝や浸透圧の調節、酸塩基平衡の維持をつかさどり、重要な生理作用を有している。

Cl^- は血中において、陽イオンの主成分である Na^+ とほぼ平行して増減するが、酸塩基平衡障害等が生じると Cl^- は Na^+ とは独立的に変動し、重炭酸イオンと反比例的に増減する。そもそも血液ばかりでなく生体内では、陰イオンと陽イオンは、酸塩基平衡を維持するため、ほぼ等価に保たれており、何らかの原因で病的状態となり Cl^- が変動した場合、それに伴って他の陰イオン、陽イオンの変動も生ずる。したがって臨床的には、血中の Cl^-

を単独で定量することではなく、他のイオン、特に Na^+ や K^+ 等と併わせて定量し、総合的に診断のための資料としている。

さらに、 Cl^- をはじめとする血中の各種イオンは、健康人では個体間差も、個人の変動幅も小さく、これらイオンの微小な変動も診断上重要な意味を持つことが多い。また Cl^- は、臨床検査の中で、最も高い頻度で検査される項目の一つであり、その測定方法としては、高い精度と正確性、そして多数検体の高効率分析を可能とする簡便性を持つ方法が要求されている。

このように臨床検査の分野において、血中の Cl^- 定量は臨床重要でかつ高頻度で行なわれているにもかかわらず、高精度、高速多検体処理を目的に開発された生化学自動分析装置による適確な定量方法が少ない状況にある。

血中の Cl^- の定量方法としては、滴定法、電量滴定法、イオン選択電極法 (ISE 法)、及び化学比色法等がある。この中で、滴定法は古くから利用されてきたもので、基本的な Mohr 法(1)、Volhard 法(2)、改良型の Dubsky 法(3)や Schales-Schales 法(4)がある。しかし、前 2 者の場合は除蛋白操作を必要とし、除蛋白操作を必要としない後 2 者においても、滴定終点の見極めの客観性や、作業効率に乏しく、最近ではあまり行なわれていない。一方、最近検査室で汎用されている方法としては、電量滴定法、ISE 法、及び化学比色法等がある。

電量滴定法は、血中 Cl^- の定量法としては標準法的な位置付けをされてお(5)、マニュアル又は、セミオート方式で広く利用されている。しかし、その定量原理が、銀イオンと Cl^- との沈殿生成時間の測定に基づいており、一定時間内で反応を制御し測定する生化学自動分析装置とは全く異なる原理であり、その導入組み込みには、多くの困難がある。

ISE 法は、生化学自動分析装置に組み込むことの可能な方法であり、自動分析方法として、電量滴定法に代わりつつある定量法である。しかしながら、イオン特異性という点に関しては多くの問題を残している(6)。

化学比色法は、主に $\text{Hg}-\text{Cl}$ 反応を基本としており(7)、(8)、生化学自動分析装置に適用することの出来る優れた方法であるが、使用に際し、廃液による環境汚染の問題を解決しなければならない状況にある。

ここに紹介する、酵素による Cl^- 定量方法は、これらの状況下で要求される、自動化、高イオン特異性及び、重金属類の非使用等の諸条件を満足させることを目的として開発されたものである。

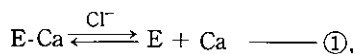
2. 原理

本定量法は、哺乳類由来の α -アミラーゼ(以後 AMY と略)の持つ性質を利用していることが特徴となっている。

AMY は、デンプンに代表される多糖類を加水分解する酵素である。加水分解の形式として、糖類の α -1, 4-グリコシドをランダムに加水分解するもので、末端から逐次マルトース単位で加水分解する β -アミラーゼとは区別される。この AMY の中でも哺乳類由来(主にブタ膵臓より抽出されたもの)の酵素は、 Ca^{2+} 及び Cl^- との間

で興味深い関係を有しており、数多くの研究が成されている。

元来、活性を有する AMY は、その分子内に Ca^{2+} を含有しており、 Ca^{2+} は活性発現のための必要因子の役割を負っている。そのため、EDTA 等のキレーターを含有する水溶液中で活性 AMY を透析すると AMY はその分子から Ca^{2+} を失い、活性を発現しなくなる。さらにこの非活性状態の AMY に Ca^{2+} を添加すると、再び活性を発現する。また古くから、AMY の中でも哺乳類由来の酵素については、 Cl^- がその活性化剤としての作用を有しているとの報告が多数知られている。1974年に、Levitzki らは、ブタ膵臓由来の AMY と Ca^{2+} 及び Cl^- と関係について明確な関連付けを行なった(9)。Levitzki は、AMY と Ca^{2+} との親和力は Cl^- の存在、非存在下で大きな違いを生じ、次式①、②に示す $\text{KE} \cdot \text{Ca}$ の値として、約 840 倍にも変化すると報告している。



$$\text{KE} \cdot \text{Ca} = \frac{[\text{E}][\text{Ca}]}{[\text{E-Ca}]} \quad \text{--- ②}$$

(注) E は、非活性アミラーゼを E-Ca は活性アミラーゼを示す。

Table-1 は、Levitzki の実験値を示したものであるが、 Cl^- の非存在下では $\text{KE} \cdot \text{Ca}$ の値が、非活性型 AMY の多量の存在を示しており、逆に Cl^- 存在下では、 $\text{KE} \cdot \text{Ca}$ の値が、圧倒的な、活性型 AMY の存在を示している。

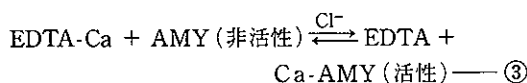
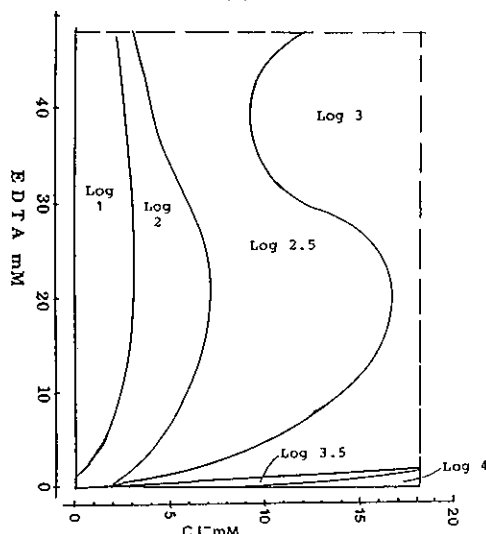
Levitzki のこの実験は、10 mmol/L の Cl^- 濃度における結果であり、我々は血中の Cl^- を定量する際に想定される 1 mmol/L 前後の濃度域での Cl^- による AMY の活性化に対し興味を持ち、10 mmol/L 以下での Cl^- 濃度と AMY 活性との関係の解明に取り組み Cl^- 定量法の確立に至った。

TABLE 1

EDTA	KE · Ca	
	no Cl^-	with Cl^-
mM	nM	nM
0.06	1.4	—
0.1	1.4	—
1	0.69	0.0054
2.5	—	0.0046
Average: 1.2		0.0050

図-2は、AMY (ブタ腓) の活性と EDTA 及び Cl^- 濃度との関係を実験的に求め、図示したものである (AMY 活性は対数で示した)。AMY の基本的性質として、その活性は EDTA 濃度に反比例的で、 Cl^- 濃度に比例的であることが、図-2 よりうかがえる。当然注目すべき点は、 Cl^- 濃度と AMY 活性が比例的な関係にあるという点で、EDTA 濃度が、比例定数に係わってくることも想像できる。したがって、Lévitzi により報告された以下の平衡反応 (式-③) を利用して、 Cl^- 濃度を定量するのが本方法の原理となる。

図 2.



$$K = \frac{[\text{AMY} \cdot \text{Ca}][\text{EDTA}]}{[\text{EDTA} \cdot \text{Ca}][\text{AMY}]} \quad \text{--- ④}$$

式-④において、 $[\text{AMY} \cdot \text{Ca}] \ll [\text{EDTA} \cdot \text{Ca}]$ を成立させる濃度域内で、 $[\text{EDTA} \cdot \text{Ca}] \ll [\text{EDTA}]$ となる EDTA 濃度を設定すれば、EDTA $\cdot$ Ca 及び EDTA の濃度変化は無視できる程度となり、式-⑤が近似式として成立する。

$$K = \frac{[\text{AMY} \cdot \text{Ca}]}{[\text{AMY}]} \times A \quad \text{--- ⑤ (注)}$$

$$\text{(注)} \quad \frac{[\text{EDTA}]}{[\text{EDTA} \cdot \text{Ca}]} \doteq A \text{ (一定)}$$

式-⑤において、もし Cl^- 濃度に、解離定数 K が比例

関係を示すなら (Cl^- 濃度が K の関数であるなら)、式-⑥が成立する (B は比例定数)。

$$[\text{Cl}] = B \times K \quad \text{--- ⑥}$$

式-⑥に式-⑤を代入すると

$$[\text{Cl}] = A \times B \times \frac{[\text{AMY} \cdot \text{Ca}]}{[\text{AMY}]} \quad \text{--- ⑦}$$

となり、 $[\text{AMY} \cdot \text{Ca}] \ll [\text{AMY}]$ の範囲内では $[\text{AMY}]$ の変化が無視出来るため、 $1/[\text{AMY}] \doteq C$ (一定) となる。したがって、式-⑧が近似式として成立する。

$$[\text{Cl}] = A \times B \times C \times [\text{AMY} \cdot \text{Ca}] \quad \text{--- ⑧}$$

A, B, C ともに定数であるから、 $A \times B \times C = D$ (定数) とすると式-⑨となる。

$$[\text{Cl}] = D \times [\text{AMY} \cdot \text{Ca}] \quad \text{--- ⑨}$$

これは、 $[\text{AMY} \cdot \text{Ca}] \ll [\text{AMY}]$ の範囲内で、AMY 活性が Cl^- 濃度に近一次的に比例することを意味し、 Cl^- の定量が容易に可能となることを示している。

したがって、本原理を用い、 Cl^- を定量する際は、 $[\text{EDTA} \cdot \text{Ca}] \ll [\text{EDTA}]$ 、及び $[\text{EDTA} \cdot \text{Ca}] \gg [\text{AMY}]$ を設定すれば良く、さらに測定可能域を目的とする域まで維持するには、 $[\text{AMY}] \gg [\text{AMY} \cdot \text{Ca}]$ の条件を保つ $[\text{Cl}]$ まで試料を希釈すれば良いことになる。実際体外診断薬は、試薬そのもので検体を希釈する方法をとっているため、検体と試薬の混合比を前もって決めておけば良い訳である。

3. 定量試薬の実際

Cl^- 濃度が、ある濃度域では、AMY 活性に対し、近一次的に比例することは「原理」で述べた通りであるが、実際に試薬として使用する際は、出来る限り広範囲の Cl^- 濃度域で一次的な比例関係を得ることが望ましい。すなわち、広いダイナミックレンジを有する定量試薬が望まれているわけである。

図-3は Cl^- 濃度と AMY 活性との関係を示しており、それぞれの曲線は、EDTA の濃度を変動させたものである。曲線の傾向として、EDTA が高濃度になるに従って一次的な比例部分の延長が認められる。図-3において、最大の AMY 活性の 1/2 の活性を得ることの出来る Cl^- 濃度を K_m 値 (m mol/L) とし、それぞれの EDTA 濃度における K_m 値を算出し、図-4にグラフ化した。 K_m 値は酵素反応速度論において、酵素と基質との親和性を示す値として取扱われているが、この場合の K_m は、AMY の活性化因子である Cl^- に対する AMY の活性化の鋭敏度を示すものと考えられる。 K_m が小さい程高い鋭敏度を示し、大きい程低い鋭敏度を示していると解釈できる。

当然、 Cl^- 濃度を広域で定量しようとする場合は、低い鋭敏度が要求されるため、EDTA濃度としては、 K_m 値が最大となる 15 mmol/L 以上を使用するのが望ましい。一方 EDTA は、 Cl^- の非存在下における $[\text{AMY} \cdot \text{Ca}]/[\text{AMY}]$ を小さくする作用を有しており、図-5 に示すように高濃度の EDTA を使用し、試薬ブランクを最小に抑える必要がある。以上の理由により、本定量法には、 30 mmol/L の EDTA 濃度を選定している。

Ca^{2+} に関しては、 Ca^{2+} 源として EDTA の Ca 塩を使用し、 $[\text{血中 } \text{Ca}^{2+}] \ll [\text{EDTA} \cdot \text{Ca}] \ll [\text{EDTA}]$ を保持出来る濃度の 0.75 mmol/L を選定している。

以上が Cl^- 定量試薬において、AMY の活性化を制御する構成成分の組成であるが、次に本定量法において、主役を成す AMY の量的問題について説明する。

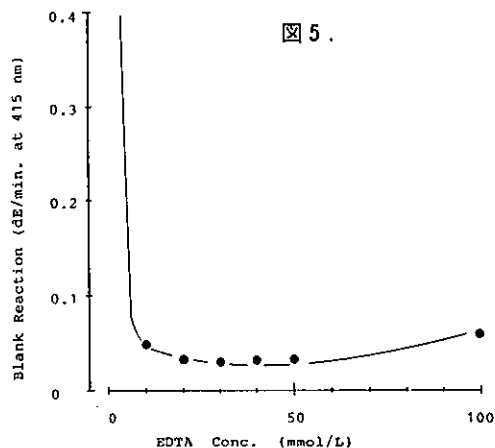
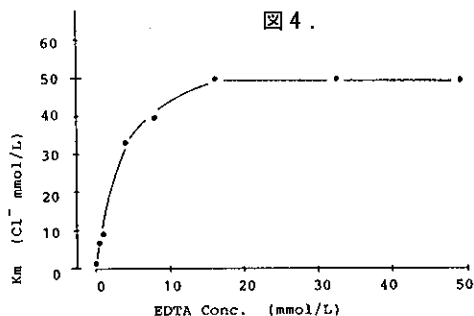
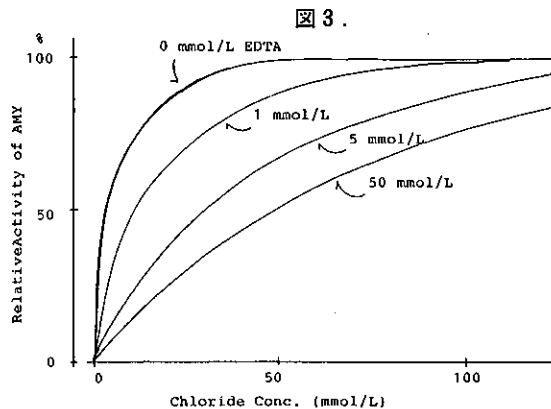
Cl^- 定量試薬中の AMY は、 Ca^{2+} 濃度に比べて過少であれば、基本的にはどのような濃度であっても良いことになるが、現実的には、ある程度の感度を維持させ、かつ血中に常に存在する AMY による影響を避け得る濃度を選定しなければならない。

ヒト血中に存在する AMY は、ブタ膵臓由来 AMY と同様に、EDTA により活性を失い Cl^- により活性化を受ける。仮に試薬中に存在する総 AMY ($\text{AMY} \cdot \text{Ca} + \text{AMY}$) を血中存在の AMY と同程度の濃度に設定すると、一定の Cl^- 濃度において、 $[\text{AMY} \cdot \text{Ca}]/[\text{AMY}]$ 比は変動しないが、血液を検体とした場合、単なる水溶液を検体とした場合に比べて、総 AMY が約 2 倍となってしまう。そのため $\text{AMY} \cdot \text{Ca}$ の絶対量も約 2 倍となり、大幅な誤差を生じてしまう。これがいわゆる内因性アミラーゼによる影響と呼ばれる問題である。

この内因性アミラーゼの影響を回避するためには、総 AMY 中に占める血液由来 AMY の存在比を出来る限り小さくすることが必要である。すなわち、試薬中に存在させる血液由来以外の AMY 濃度を、 $[\text{Ca}^{2+}] \gg [\text{AMY}]$ の域内で、出来る限り高くすることが必要となってくる。本定量法において、AMY 濃度としては $16,000\text{ U/L}$ を選定している。この AMY 濃度は、もちろん Ca^{2+} 濃度に比べて過少であるが、通常のヒト血液由来アミラーゼの約 1 万倍、超異常高アミラーゼ血液由来の約 200 倍の濃度となっている。したがって、内因性アミラーゼにより生ずる誤差は、通常で 0.01% 程度、超異常で 0.5% 程度となり、十分に影響を回避していることになる。

以上が Cl^- 定量試薬の主成分を構成する各成分の濃度の設定根拠である。本定量試薬は、この他に、活性化した AMY を測定する AMY 活性測定成分が含まれているが、基本的には、AMY 活性を測定出来るものであれば

どのような方法でも利用することが出来るため、本文では説明を省略することとする。ちなみに、本定量試薬に使用している AMY 活性測定系は、2-クロル-4-ニトロフェニル- β -D-マルトヘプタオシドを基質とし、活性 AMY により加水分解され生成する、2-クロル-4-ニトロフェニル- β -D-マルトース及び-マルトリオースを、 α 及び β -グルコシダーゼにて加水分解し、2-クロル-4-ニトロフェノールとし、 405 nm あるいはその近域の波長における吸光度の上昇として、分光光学的に測定するものである。



3. 性能

本定量法は、酵素活性を分光光学的に測定し、その活性値を Cl^- 濃度に換算する手法を用いており、実際の定量に際しては、分光光度計による比色、それも反応速度追跡による活性測定の可能な装置が必要になる。体外診断薬として使用される場合、俗に呼ぶ生化学自動分析装置は、この手法を自動的に処理するための装置であり、本装置により使用されるのが最も望ましい。

本定量試薬の性能として、生化学自動分析装置のひとつである日立705型自動分析装置にて行なった評価結果について説明する。

まず、酵素反応の追跡結果であるが、タイムコースとして図-6に示すように、 Cl^- 濃度に比例して反応速度の上昇が見られる。感度としては、 100 mmol/L の Cl^- 含有検体を用いた場合、(この時の検体は、試薬により100倍に希釈されている。) $\Delta E/\text{分}$ 約0.17(415 nm)を示す。

検量線は図-7に示す通りであるが、若干の曲線となっている。これは Cl^- 濃度の上昇に従って、 $[\text{AMY-Ca}] \ll [\text{AMY}]$

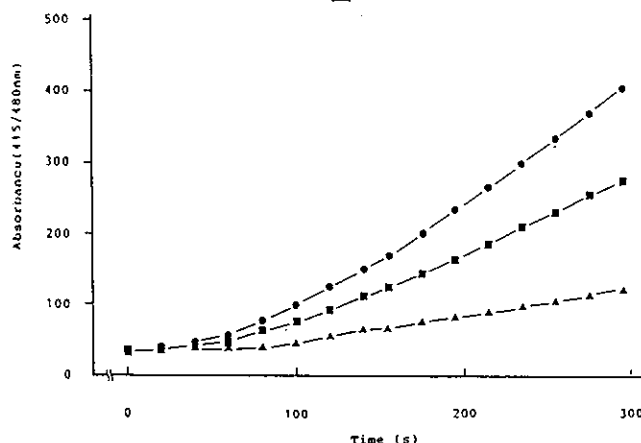
が、わずかではあるが $[\text{AMY-Ca}] < [\text{AMY}]$ に近づき、近一次的比例条件から離れるためであろうと考えられる。

測定精度に関しては、使用する自動分析装置の精度に負う所が大であるが、3種の血清に対し、Table-2に示した結果を得ている。この精度は、体外診断薬として要求される精度として充分であると思われる。

TABLE 2

Precision of Assays with Patients' Sera Cl^- , mmol/L			
	Mean	SD	CV, %
<i>Within-run (n=25)</i>			
Serum 1	77.54	0.548	0.70
Serum 2	101.37	0.554	0.54
Serum 3	118.15	1.027	0.86
<i>Between-run (n=8)</i>			
Serum 1	97.1	0.225	0.23
Serum 2	102.4	0.560	0.55
Serum 3	117.8	0.603	0.51

図 6.



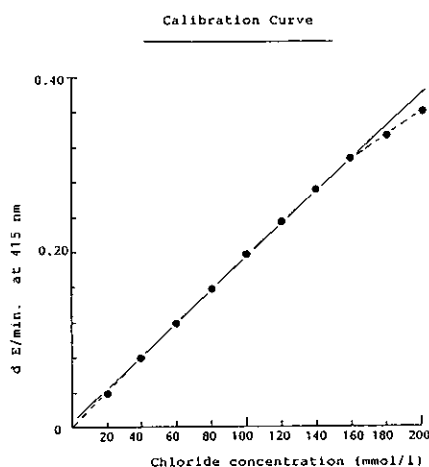
Time course of assay reaction with 0 (▲), 50 (■), and 100 mmol/L (●) sodium chloride solutions

従来の定量方法との比較に関しては、図-8に、標準法的位置付けをされている電量滴定法との相関を示す。

174検体についての相関結果として、十分に値の互換可能な強い相関性を得ている。

本定量法の正確性については、今後多方面から、検討論議されると思われるが、本法の正確性を示唆する資料として、イオンクロマト法での測定値との比較結果をTable-3に示す。測定に用いた検体は、化学品検査協会にて、イオンクロマトグラフィー法によりその Cl^- 濃度が定量されたものであり、その値と本法での定量値とが

図 7.



非常に近い値を示していることより、本法の高い正確性がうかがえる。

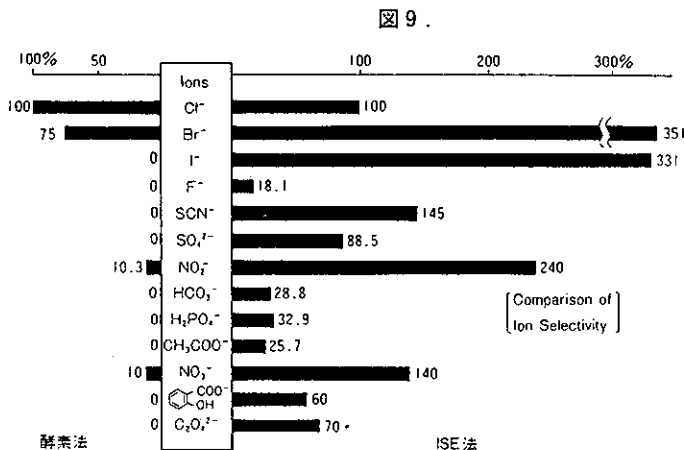
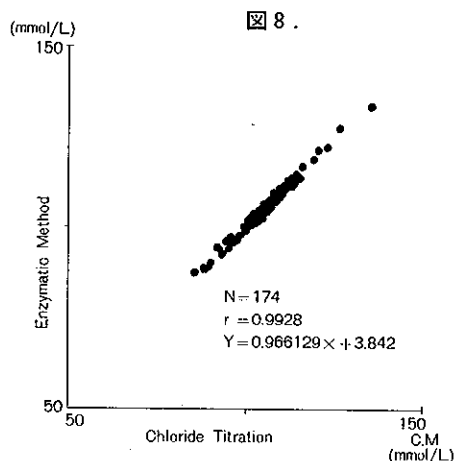
TABLE 3

METHOD COMPARISON

Sample	Ion Chromato. (mmol/L)	Enzymatic (mmol/L)
S-1	87.4	87.1
S-2	104.3	104.0
S-2	120.2	121.0

酵素を用いた本定量法の最大の特徴は、その優れたイオン特異性にある。現在 Cl^- の定量に汎用されている ISE 法は、簡便性及びコストの点で優れた方法ではあるが、イオン特異性には多くの問題を抱えている。図-9には、本定量法と ISE 法とのイオン特異性の比較結果を示してある。感度の値として、 Cl^- に対する感度を100とした時の他イオンの 100m mol/L における感度を示した。すべての ISE に言える訳ではないが、非常に多種のイオ

ンに対し感度を示す ISE 法に対し、本酵素法は Br^- 、硝酸及び亜硝酸イオンに対して感度を示すにすぎない。この様な高い特異性を示す理由として Levitzki は、イオン半径と特異性との関連性についてその相関性を示唆している(9)が、ほぼ Br^- と同じ水合イオン径を有する重炭酸イオンが感度を示さない等の現象も見られ、簡単に説明できない面もあり、今後検討を要する点であろう。



4. おわりに

本定量法は、AMY の間接的活性化剤である Cl^- を、AMY 自身の活性として捕え定量するものであるが、AMY の Ca^{2+} に対する親和性という視点から見ると、生体内キレーターとしての AMY の特性が浮かび上がってくる。しかもこのキレーター (AMY) は、 Cl^- 濃度の変化、すなわち環境変化によりその強さが変動するという特性を有しており、体外診断薬ばかりでなく、イオンアフィニティークロマトやイオン抽出等の他分野においても応用することができると考えられる。また、このような特性を示す酵素は AMY だけに限らず他にも多数存在しているものと思われ、これからの酵素研究の新しい興味となってゆくものと考えている。

最後に、本定量法の研究開発に際し、評価、御指導して下さった、茅ヶ崎徳洲会病院の小清房也先生に深謝いたします。

参考文献

- 1) Mohr F., Lehrbuch der Titrimetrie, 1856: 2, p. 13.
- 2) Volhard J., Die Silberfällung mit Schwefelcyanammonium, Z. Anal. Chem., 1878: 17, p. 482.
- 3) Dubsky J. V., Trtilek J., Micromassanalyse unter Benützung von Diphenylcarbazid und Diphenylcarbazol als Indicator, Mikrochemie N. S., 1933: 6, p. 315.
- 4) Schales O., Schales S. S., A simple and accurate method for the determination of chloride in biological fluids, J. Biol. Chem., 1941: 140, p. 879.
- 5) Velapolidi R. A., Paule R. C., et al., A reference method for the determination of chloride in serum, Nat. Bur. Stand. (U. S.) Special Publ., 1979: p. 260.
- 6) Oesch V., et al., Ion-selective membrane electrodes for clinical use, Clin. Chem., 1986: 32, p. 1448.
- 7) Sendroy J., Note on the photometric micro determination of Chloride in biological fluids, J. Biol. Chem., 1942: 142, p. 171.
- 8) Zall, D. M., et al., Photometric determination of chloride in water, Anal. Chem., 1956: 28, p. 1665.
- 9) Levitzki A., Steer M. L., The allosteric activation of mammalian α -amylase by chloride, Eur. J. Biochem., 1974: 41, p. 171.

Diagnostica

Cica-MERCK

EASY system

キュベットテクノロジー = ドライケミストリー + ウェットケミストリー



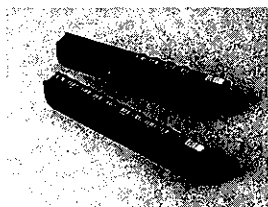
新しい緊急・特殊検査用分析システム

イージーアナライザー

医療用具登録番号 62B輸963号



サンプルを
立てて



テストキュベットを
並べて



装置に
入れるだけで



イージーテスト

緊急項目	ルーチン項目	特殊項目
Na, K, Cl, Ca, BIC, T-Bil, GLU, BUN, CREA, TP, ALC, GOT, GPT, LDH, ALP, CHE, CK, CK-MB	酵 素 : 9 項目 代謝物 : 12 項目 電解質 : 4 項目	TDM PHNO, PHTN, THEO, CBAM, QUIN, PRIM 凝固 PTT, PT



5分後に
答えがでます



関東化学株式会社

103 東京都中央区日本橋本町3丁目2番8号 (03) 270-6500
541 大阪市中央区瓦町2丁目5番1号 (06) 222-3709

酸化タングステン膜のエレクトロクロミズム(Ⅳ)

エレクトロクロミックセルの特性

元山口大学教授 三宅清司

1. まえがき

電気化学的方法による微細結晶三酸化タングステン膜の着色が $\text{H}_{0.33}\text{WO}_3$ の組成を持つタングステンブロンズの生成によるものであることは筆者等の研究により明らかにされている。¹⁾ 他方、表示装置への応用を目的とした多くの研究に用いられている非晶質酸化タングステン膜の着色も、微細結晶膜と同様、ほぼ同じ組成、 $\text{H}_{0.36}\text{WO}_3$ のタングステンブロンズの生成によるものであるとの推定もできる。²⁾

ところで、応用電子工学の分野で発展が特に遅れている電子装置は固体表示装置である。表示装置は今なお、液晶を使用した装置や放電現象を利用した装置が広く用いられ、エレクトロルミネッセンスを利用した発光形の表示装置は実用されていない。また、これまで述べてきた酸化タングステンを用いる表示装置も非発光形であり、その研究もなお充分ではない。

酸化タングステン膜を用いた表示装置の優れている点は、非発光形であっても高い鮮明度が得られ、視角も広いことである。しかし、応答性が劣り、信頼性に関する研究も充分では無い。応答速度は装置に用いる透明電極の電気抵抗を低くすることにより改善できるが、鮮明度を悪くする。装置の信頼度は使用環境にもよるが、セルに用いる電解質に関係し、酸化タングステン膜に対向する電極の材料にも依存する。

エレクトロクロミックセル(ECCセル)の着色の色合は一価金属イオンを含む電解質を用いる限り大きな差異はない。^{3,4)} また、その度合も用いる酸化タングステン膜の厚さによるものではなく、注入する電荷量により決まるものである。膜の基板に白色のセラミック板を用いれば、極めて僅かの電荷の注入により表示の目的を達することも出来る。以下、酸化タングステン ECCセルの特性について述べる。

2. エレクトロクロミックセルの動作特性

図1は酸化タングステン膜の電気化学的着色と消色の

諸特性を確かめるため用いた実験用セルの構造と外部回路を示したものである。⁵⁾ セルの構造は電流の変化と膜の透過率の変化を同時に観測できるようにスペーサを挟んだ二枚の透明電極のガラス板からなり、ガラス電極の一つには透明な酸化タングステン膜が蒸着してある。スペーサの空隙には電解液が封入されており、酸化膜の有効面積は 1.8 cm^2 である。なお、蒸着膜の製作条件等は初めに述べたと同様である。⁶⁾

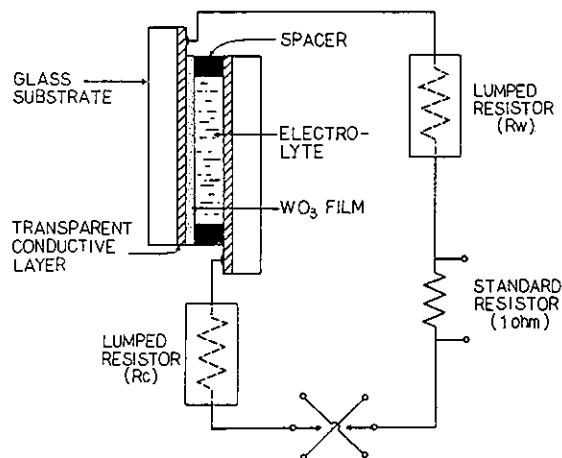


図1. 酸化タングステン・エレクトロクロミックセルの構造と特性測定回路。

外部回路はセルを流れる電流を測定するための標準抵抗、外部抵抗の大小がセルの応答性に与える影響を確かめるための直列抵抗、および、両電極の極性を繰返えし切換えるための開閉器からなっている。酸化タングステン膜のある透明電極を負に、対向する透明電極を正に電圧を印加するとセルに電流が流れ酸化膜は青色に着色する。両電極の極性を反転し酸化膜を正に、対向電極を負に切換えると酸化膜の青色は消え、もとの透明な酸化膜に戻る。

図2は酸化タングステンECCセルの着色と消色の様子を電流の変化と光の透過率の変化で示したものである。実験用セルを分光器の試料室に置き、波長5000Åの光の透過率と電流の変化を15 secの継続時間で極性を繰り返し反転し測定したものである。^{4,5)}セルに用いた酸化タングステン膜の厚さは2400Å、透明電極はSnO₂:Sb透明導電膜、そのシート抵抗は35オーム/sq、また、電解液は、1N H₂SO₄で、スペーサの厚さは0.2mmである。なお、両電極に加えた電圧は3Vである。

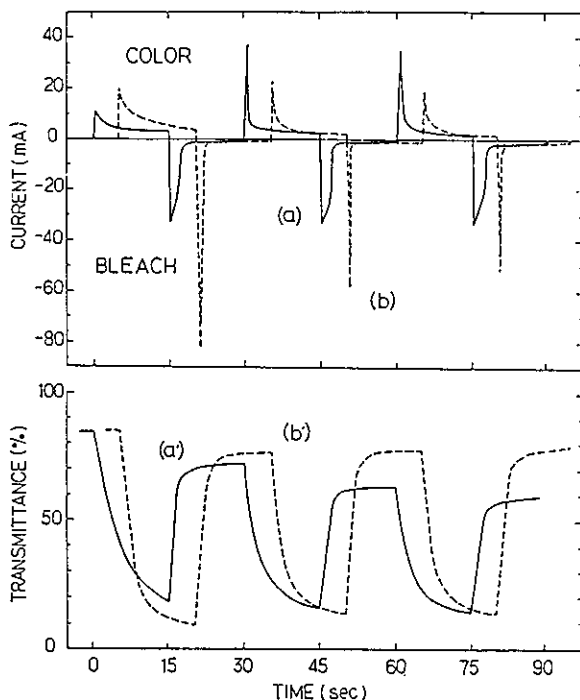


図2. 酸化タングステン膜の電気化学的着色、消色に伴うセルの電流と透過率の変化。着色および消色繰返し継続時間は15 sec。実線はシート抵抗35オーム/sq、点線はシート抵抗10オーム/sqの透明電極のセルの特性。

図の(a)で示した実線は酸化タングステン膜を負とし、セルを流れる電流をプラス、また、膜を正としセルを流れる電流をマイナスで表示したものである。図の(a')で示した実線は酸化膜を負としたとき膜の着色によりセルの透過率が減少し、膜を正としたとき着色が失われるためセルの透過率が回復する様子を繰返し示したものである。

図に示すように、酸化タングステン膜を用いたECCセ

ルの極性の繰り返し反転に伴う着色と消色の様子は、用いた酸化膜の製法や厚さには関係せず、着色は比較的ゆるやかであるが、消色は可成り速い。また、前にも述べたように、着色の度合は飽和し、印加電圧の値が同じであれば、膜厚が厚いほど時間がかかる。しかしながら、消色の速さは膜厚には余り関係しない。

これまで報告されたECCセルに関する研究の多くは電気化学的、または、物理化学的立場からされたため、表示装置としての電気的特性についての注意が充分とはいえず、特に、表示側電極および対向電極の電気抵抗、すなわち、セルの内部抵抗の大小、また、セルに直列に接続された外部抵抗の大小がセルの着色および消色特性に与える影響についての研究は充分ではなかった。

図2の(b)および(b')の点線で示した電流および透過率は、この事を示す一例であって、低い内部抵抗を持つECCセルの着色および消色の変化の様子を比較のため重ねて掲げたものである。このセルの両透明電極のシート抵抗は、いずれも、10オーム/sqであって、透明導電膜は図2の実線で示した特性のセルと同じSnO₂:Sbである。酸化タングステン膜の厚さも、ほぼ同じ2500Åであって、電解液その他の条件も、すべて実線で示す特性のセルと同じである。また、これらの特性は図1に示した電流測定のための標準抵抗のみを外部抵抗とした測定回路で得られたものである。図から明らかなように、セルの構造や外部回路が同じであっても、セルに用いた透明電極のシート抵抗の大小がセルの着色および消色特性に極めて大きな影響を与える事がわかる。

3. セルの応答特性と電気抵抗

上にのべたように、ECCセルの着色、消色の動作特性はセルの内部抵抗と外部抵抗の大小によって大きく左右される。この事を、外部回路の負荷抵抗は用いず、対向電極のシート抵抗を一定とし、酸化膜のある透明電極のシート抵抗の異なる3つのセルを用い電流波形で特性を比較し示したものが図3(a)である。また、セルの両透明電極のシート抵抗その他は一定とし、外部回路の抵抗の異なる3つのセルの着色、消色の繰返し特性を電流波形で示したものが図3(b)である。⁵⁾

図3に示した実験に用いた各セルの寸法、構造は図2に示した実験に用いたセルのそれらと同一であり、電解液も1N H₂SO₄、印加電圧も3Vである。また、電流変化を知るために用いた標準抵抗も1オームで同じである。なお、透明電極の導電膜もすべてSnO₂:Sb膜である。図3(a)の実験で用いた3つのセルの酸化タングステン膜のある透明電極のシート抵抗は、995、75、および、

25オーム/sq で、対向透明電極のシート抵抗は、いづれも、40オーム/sq、また、酸化タングステン膜の厚さも4300 Åで同一である。なお、この実験の外部回路の抵抗も、1オームの標準抵抗のみであって、この抵抗の電流波形に対する影響は無視できる。

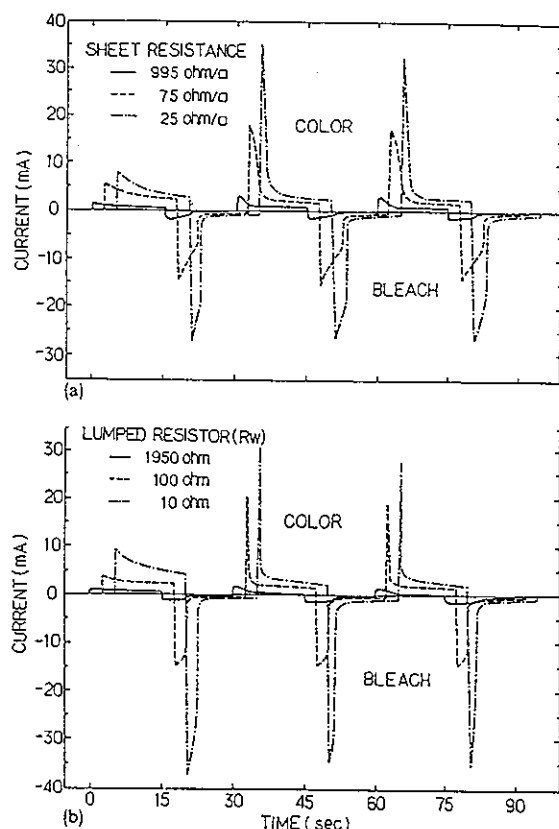


図3. 透明電極および外部回路の電気抵抗の大小がセルの繰り返し電流波形に与える影響。(a)透明電極のシート抵抗の影響、(b)外部回路の抵抗の影響。

図3(a)の実線で示す通り、シート抵抗995オーム/sqの透明電極のセルは、着色過程の15 secの間に酸化膜に注入される電荷量が極めて少なく、着色、消色の過程とも極めて緩慢な動作をすることが判る。これに対し、シート抵抗25オーム/sqの透明電極のセルの電流波形は同一時間の間に注入される電荷量も多く、したがって、より濃く着色され、動作も速いことを示している。

図3(a)の一点鎖線で示したセルの波形が、図2の(a)の実線で示したセルの波形に近いのは、このセルの酸化タングステン膜のある透明電極のシート抵抗が25オーム/sqで、図2の(a)で示したセルの透明電極のシート抵抗35

オーム/sqにより近く、対向電極のシート抵抗も、それぞれ、40オーム/sq、および、35オーム/sqと、ほぼ同じであるためである。このような、透明電極のシート抵抗の大小がセルの動作特性に与える影響を、対向する透明電極のシート抵抗を1250, 145, および、20オーム/sqとし、酸化タングステン膜のある透明電極のシート抵抗、40オーム/sq一定の3つのセルを用い同様の実験を試みた結果、図3(a)の3つのセルの電流波形に対応する同様の波形が得られた。⁵⁾

他方、図3(b)はECCセルの動作特性が外部回路の直列抵抗の大小に依存することを示したものである。この実験に用いた3つのセルは、酸化タングステン膜のある透明電極、および、対向透明電極のシート抵抗が、それぞれ、20, および、40オーム/sqで、外部回路に接続された抵抗は各セルに対し、1950, 100 および、10オームで、図1の R_w に相当する抵抗である。標準抵抗は電流波形の測定に用い、図1の外部抵抗 R_c に相当するものは用いていない。なお、各セルに用いた酸化タングステン膜の厚さは4200 Åである。図から明かなように、セルの両透明電極のシート抵抗を一定とし、外部回路に値の異なる負荷抵抗を用いた場合、セルの動作特性は、透明電極のシート抵抗の大小にセルの動作特性が依存すると同様、負荷抵抗の大小に大きく依存することが判る。

図3(b)の外部抵抗10オームの場合の波形は図2の(b)の電流波形に類似し、図2の(b')で示す着色、消色の様子が推測される。これに対し、外部抵抗が1950オームの場合、15sec間の電荷注入では、ほとんど着色は見られない。図3(a)に示すシート抵抗995オーム/sqの透明電極を持つセルの場合と同様である。以上のように、ECCセルの内部、外部の抵抗はセルの動作特性の上に大きな影響を持つもので、セルの応用を考える際、十分な注意を払う必要がある。

4. セルの特性とその他の因子

表示や遮光に応用する通常の構造を持つECCセルの特性がセルの内部、外部の電気抵抗に依存する事は上に述べた通りであるが、その他の因子がその特性にどのような影響を与えるかは、まだ、よく研究されてはいない。ここでは、2,3の因子と特性の関係について述べる。

図4はセルに用いる電解液の種類がセルの着色特性に与える影響を透過率の減少の様子で示したものである。用いたセルの構造、大きさ等は、これまで用いた実験用セルのそれらとほぼ同じである。透明電極は $\text{SnO}_2:\text{Sb}$ 膜で、酸化タングステン膜の厚さは2900 Å、印加電圧は3Vである。電解液は1Nの H_2SO_4 , Li_2SO_4 , Na_2SO_4 ,

および、 K_2SO_4 である。これらの電解液を用いたセルの着色は、いずれも青色の着色であって、分光透過率も大きな変りはない。^{3,4)} なお、図の透過率の変化は波長5000 Åの光に対するものである。

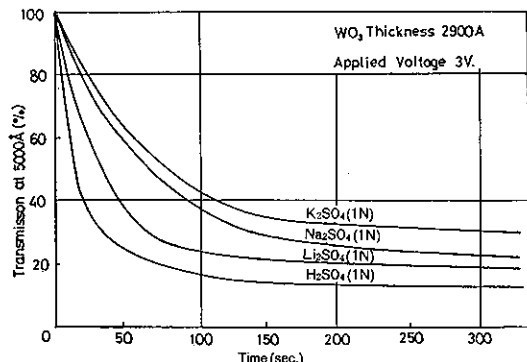


図4. 酸化タングステン膜の着色による透過率減少の様子とセルに用いた電解液との関係。

図から判るように、これら電解液による着色の速さの差異は正イオンの原子半径に依存し、原子半径の大きい正イオンを含む K_2SO_4 を電解液に用いたセルの着色は、 H_2SO_4 を電解液としたセルの着色の速さに比較すると著しく緩慢であり、その速さは正イオンの半径の小さいほどはやいことが明らかである。この事は、電解液と酸化タングステン膜の境界面から膜の内部に向かって正イオンが移動し、透明電極から膜に供給される電子と結合し、 $HxWO_3$ 、あるいは、 $KxWO_3$ などが生成され着色するという考えと矛盾しない。

図5はECCセルの消色特性を、着色により減少した透過率の回復の様子で示したものである。⁴⁾ 図の(a)は異なる着色状態からの消色の様子を、図の(b)は一定の着色状態から消色する様子が加えた電圧に依存することを示した例である。いずれのセルも電解液は1Nの H_2SO_4 で、透過率の変化は波長5000 Åの光に対するものである。図の(a)に示した結果は膜厚3300 Åの酸化タングステン膜のセルによるものであって、初めに負の電圧2.5 Vを酸化膜に加え、特定の量の電荷を注入し着色をしたとき電圧の極性を反転し消色を行ない得られたものである。

用いたセルの透明電極はシート抵抗39オーム/sqの $Sn_2O_3 : Sb$ 膜であり、着色の様子は用いたセルにより僅かの差異があるが、初期の消色の速さはほとんど差異がなく極めて速い。極性の反転後、数secで、ほぼ、消色し終り着色の度合にはほとんど無関係である。しかし、その間に消色する度合は初め、着色していた度合が小さ

いほど良く、注入電荷量が10, 30, 50 mCを注入したセルの透過率は97, 94, および90%にまで回復する。

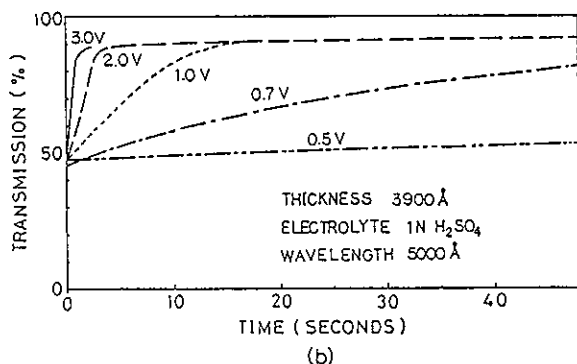
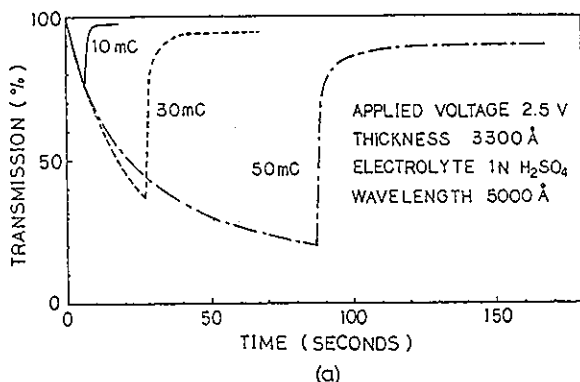


図5. 酸化タングステン・エレクトロクロミックセルの消色特注。(a)異なる着色状態からの透過率回復の様子、(b)異なる印加電圧による透過率回復の様子。

図5の(b)は(a)の場合と同様、印加電圧2.5 Vで透過率が45~50%になるまで着色し、極性を反転し異なる電圧で消色したとき、セルの透過率が回復する様子を示したもので、各セルの酸化タングステン膜の厚さは3900 Å、電解液は1N H_2SO_4 である。図から明らかなように、消色の様子は印加電圧の大小に強く依存し、印加電圧が大きいほど消色は速く、0.5 Vの電圧では180 sec経過した後でも消色していないが、2.0 Vでは約5 secで90%に近い透過率にまで回復する。

その他の電解液、例えば、1Nの $MgCl_2$, $CdCl_2$, $SnCl_4$ を電解液とし、同様のセルを用いた着色、消色の様子は、1Nの H_2SO_4 を電解液としたセルと同様の図5(a)に示すような形状の透過率の減少と増加を示し、消色の初期の速さは、一定電圧で消色する限り電解液の種類に関せ

ず極めて速い。しかしながら、透過率が90%以上にまで回復するに要する時間は電解液の種類に依存する。

例えば、厚さ4000 Åの酸化タングステン膜を用い、印加電圧2.5Vで透過率が約30%に減少するまで着色し、極性を反転して消色を行なうとき、 SnCl_4 を電解液としたセルでは約15 secで初期の透過率の98%にまで回復する。また、 MgCl_2 、 CdCl_2 を電解液としたセルは、それぞれ、ほぼ同じ透過率、94%、95%にまで回復するが、回復に要する時間は、前者が約30 secに対し後者は数 secである。なお、これらのセルの透明電極のシート抵抗は同一の値、30オーム/sqである。

このように、酸化タングステン膜を用いた通常の構造を持つ ECC セルの特性は、印加電圧が或る値以上、例えば、 $\text{SnO}_2 : \text{Sb}$ 膜を対向電極とし、電解液に1N H_2SO_4 などを用いたセルであれば2.5V以上では、用いる電解液の種類にそれほど大きく依存しない。しかしながら、その電解液はセルの寿命に関係するものであり、セルを構成する部品、材料も、また、セルの寿命に関係する。ECC セルを応用する装置が表示装置であるか、遮光装置であるかによっても用いる電解液の種類も異なってくると考えられるので、今後の研究で最も重要と思われるものは、このような立場から行なわれる装置の信頼性に関するものである。

5. むすび

酸化タングステン膜の電気化学的着色現象を応用した ECC セルの特性を真空蒸着膜と、主として H_2SO_4 を電解液に用いたセルの実験結果について述べてきたが、現在のところ、着色過程に関する知識は比較的多くあるが、消色過程に関する研究は極めて少ない。また、両方の過程についての微視的解釈も充分にはされていない。

これまで得られた実験結果によると、セルの構造を一定にし、同じ膜厚の酸化膜、同じ材料の対向電極、同じ電解質を用いてセルを作り、異なる電圧を両極に加えて着色の速さをみると、セルに加えた電圧の高いほど着色速度は速い。³⁾ また、印加電圧を一定にし、着色の過程でセルを流れる電流の減少は、一般に云われているように、時間の $1/2$ 乗則に従うこともある。⁷⁾

しかしながら、前者の事柄は酸化膜と電解液との境界面からガスが発生しない程度の印加電圧である時であり、後者は、少なくとも、セルの両電極の電気抵抗が充分小さいと云う条件が必要のようである。

他方、着色した酸化膜は、正の電圧を印加すると消色し始めるが、その速さは着色の時とは異なり、セルの種々の条件には余り関係しないようである。少なくとも、

セルの内外部の電気抵抗を小さくしておけば、着色の度合に関せず、可成り速やかに消色する。その理由の一つは、着色した酸化タングステン膜の電気抵抗は極めて低く、 10^{-3} オーム・cm以下であることのようにである。⁸⁾ しかしながら、消色過程の電流の減少も、必ずしも、時間の $1/4$ 乗則に従うとも云えないようである。⁹⁾

何れにしても、現在のところ、ECC セルの定常動作特性を左右する大きな要因はセルの内部、外部の電気抵抗であると云える。その大きさにもよるが、セルの応用を考えると、印加電圧を高くし応答性を高めるため、電解液を如何に選ぶかが、その次の要因と思われる。

6. まとめ

酸化タングステン膜のエレクトロクロミズムの研究は、10数年前、Deb, および, Faughnan により始められた。以来、多くの人達によって研究され今日に至ったが、現在なお、その応用装置は実用されてはいない。それは、薄膜を用いたエレクトロルミネッセンス、薄膜ダイオード、および、薄膜トランジスタの研究が20年余前に着手されたにもかかわらず、今なお実用されていないの理由は同じである。

これら薄膜を利用する電子装置を実用するためには、いうまでもなく、用いる薄膜の製法とその性質の研究、特に、その再現性と信頼性に関する研究が不可欠である。これまで、筆者が酸化タングステン膜を用いた電子装置を実現するに先立ち、膜の製作と性質について、より単純な条件の下で得られる結果を求めてきたのは、応用装置としての実用性を確かめたいためである。

酸化タングステン膜を工業的に製造することと、それに適合する透明電極を製造することとは技術的には同一の問題であって、現在は、より良い性質の膜をより高い再現性をもって製作する事も研究の第1目標としなければならない。そのためには、応用装置に適した性質の膜の作れる製造技術を選ぶことが必要であって、応用装置の完成を急ぐあまり、基礎的知識の習得をおろそかにすることは極力さげなければならない。

酸化タングステン膜を用いた ECC セルの応用装置の開発で、今後の研究のうち、特に化学的、または、電気化学的立場よりの検討が重要と思われるが、その中でも特に大切なものは、セルの安定性と寿命に関する事である。セルの特性に関する研究は、応用装置を特定し、その機能と直接関係づけて行なうことが望ましく、全般的立場での研究は薄膜としての基礎的研究が良い。Deb が始めた酸化タングステン膜の応用は、固体電解質を用いたエレクトロミックセルとその応用が最終目標である。

参考文献

- 1) H. Kaneko, F. Nagao & K. Miyake, Appl. Phys. 63, 510(1988).
- 2) 未発表。
- 3) 岡村和男他, 山口大学工学部研究報告, Vol. 30, No. 2, p. 119 (1980).
- 4) 兼子宏子他, ibid., Vol. 32, No. 1, p. 183(1981).
- 5) H. Kaneko & K. Miyake, Appl. Phys. Lett., 49(2)112(1986).
- 6) 三宅清司, "The Chemical Times" 関東化学 K. K. No. 1, 17 (1988).
- 7) 兼子宏子他, 山口大学工学部研究報告, Vol. 31, No. 1, p. 99 (1980).
- 8) 兼子宏子他, ibid, Vol. 31, No. 2(1981).
- 9) B. W. Faughnan, et al., Appl. Phys. Lett., 27, 275(1975).

E. メルク社の品質管理

関東化学㈱ 製品企画部長 M. キースリング

E. メルクの製品は多岐に渡っており、医薬品、化成品(例：ビタミン類、食品添加物、化粧品成分)、工業薬品(例：液晶、写真材料)、顔料、診断薬(臨床化学、顕微鏡学、微生物学)及び試薬等で合計13,000項目にも及ぶ。

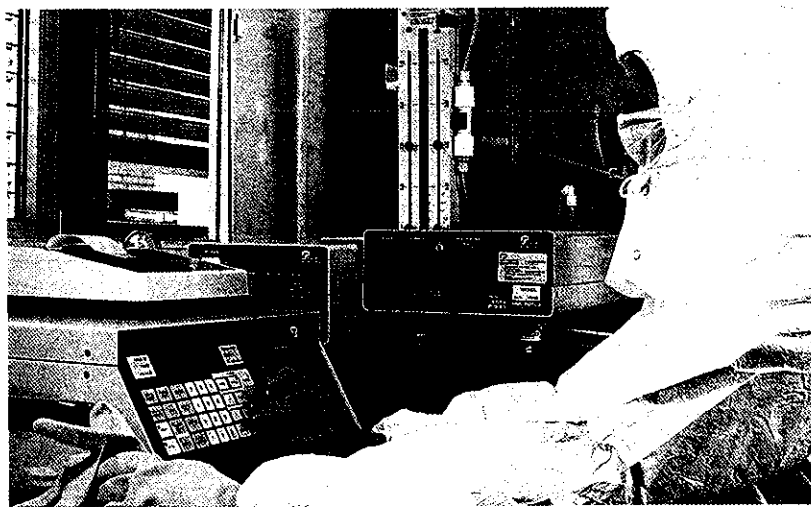
「確実な品質と純度の製品のみを供給するというE. メルクの理念に基いて、AZL (Analytisches Zentrallabor) =品質管理部が設置されている。約60ある検査室には250人余りが検査に従事しており、毎日150種以上の製品の同定を一品目につき平均8回行っている。又、顧客からのクレームも全てこのAZLで究明されるので、年間50万件にものぼる測定が実施されている。

製品群が多ければ多いほど、当然駆使する分析法の種

類も広範囲に及ぶ。HPLC, TLC, ガス・クロマトグラフィー、電子顕微鏡、NMR 分光分析、高周波誘導プラズマ等がその一部である。

各検査室から届く膨大な資料はコンピューターで処理される。原料であれ中間体であれ完成品であれどのサンプルにも一様に特定のコード番号を付け、コンピューターにインプットする。分析結果が詳細にレポートされ、サンプルが規定の品質基準に達しているか否か決定される。サンプルは全て後年発生するかもしれないクレームに備えて3～5年間保存される。

E. メルクが常に最良の品質を保証する姿勢にある事を知って載ければ幸いである。



Die Qualitätsprüfung von Chemikalien für Megabit-Chips verlangt analytische und anwendungstechnische Höchstleistungen

Dr. M. Kiessling
Delegate of E. Merck to Kanto Chemical Co., Inc.
(Manager of Product Management Dept.)

Adsorbex[®]**サンプル前処理用カラム****Reagents****MERCK**

メルクのサンプル前処理用カラム **Adsorbex[®] 新登場!**

高い回収率、再現性

時間を節約

経済的

カラムの重ね合わせが可能

24検体まで同時処理

SPU(サンプル前処理ユニット)を使用した場合、24検体まで同時に処理できます。また、シリンジアダプターを使用することにより、汎用のシリンジによる1本ごとの操作も可能です。



(例)

	製品名	包装	価格
Adsorbex (アドソルベックス)	SiO ₂	(100mg) (100本入)	¥21,000
		(400mg) (50本入)	¥17,000
Adsorbex (アドソルベックス)	RP-18	(100mg) (100本入)	¥26,000
		(400mg) (50本入)	¥19,000

この他、6種類の充填剤(RP-8, CN, DIOL, NH₂, SAX, SCX)を取り揃えております。
詳しくは下記までお問い合わせ下さい。

関東化学株式会社 試薬事業本部

103 東京都中央区日本橋本町3-2-8 03(563)7631
541 大阪市中央区瓦町2丁目5番1号 06(222)2796

くすりの文化交流(10)

—伝承と科学性—

日本薬史学会 薬学博士 根本 曾代子

花まつりの心

栽培技術の進歩で、本来の季節を忘れた野菜や花が年中出回って、生活様式が豊かになる反面、郷愁を誘う味覚や花の愛着や新鮮味が薄れてしまう。

桜前線が南から北へ、爛漫の春を告げる花便りは、さすがに日本の国花である“さくら”の花期を変えることは出来ない。

春を人生にたとえれば、世界の大国となった、日本の未来を築く青春期の人達の叡智と勇断と融和に期待される。まぶしい春光をあびて、すくすく萌え出る緑草にみながる栄養素の蓄積が考えられる。

緑草にとって陽光は、言うまでもなく、葉緑素(クロロフィル chlorophyll)をつくるために不可欠の光合成の重要資源である。人間が不要物質として排出した炭酸ガスを、緑草にとっては光合成の重要材料として取り入れ、不要になった酸素ガスを放出する。酸素が欠乏すれば人間の生命保持は不可能となる。日常無意識に呼吸している生理現象も、人力の及ばぬ自然の法則の中で生かされていることを思い知るのである。

世界の四聖のひとり、仏教の開祖・釈迦(西紀前566～486)が菩提樹下で究極に到達した教理は、インド哲学を象徴する病理説に基づくものであった。自然現象の変化や飲食物などによって、心身の平衡に障害を来すという相関関係は、生命科学の原理に通じるものといえる。

さかのぼって、仏教が国是であった奈良時代から、生活慣習や思想、医薬の面にも宇宙の原理に基づく信仰を深くしていた。今も寺院に伝承されている花まつりの行事は、承和4年(834)に端を発している。

今は陽暦の4月8日に行われるが、元は陰暦の4月8日に生誕された釈尊の功德をたたえる灌仏会(降誕祭)の始まりであった。薬を表現する花花で飾られた花御堂に安置した可愛らしい立像の誕生仏は、右手を真直ぐ天上を指差し、左手を地にに向けて、“天上天下唯我独尊”の毅然としたポーズである。誕生仏に甘茶を注ぐ由来は、善政を布いた王者に天から甘露を降らすという故事によ

るもので、甘味は貴重な薬であった象徴である。

正倉院薬物(756)の記帳にも蔗糖(砂糖)の名が見える。これは唐渡りの皇室専有の貴重薬であったことを示している。花まつりの甘茶は、日本古来の唯一の国産甘味であった。ユキノシタ科のアマチャの葉を蒸してよく揉み、日光に干すと甘味が生じる。アマチャは糖尿病患者の甘味料や医薬部外品の甘味矯味薬などに供される。

なお、釈迦ゆかりの菩提樹は、梵語の Bodhidruma の音訳で、覚樹、思惟樹とも呼ばれる。インド、ビルマの仏教徒に神聖の樹として尊ばれている。インド産のクワ科のボダイジュは、根皮を糖尿病などの薬用とする。欧州のボダイジュはシナノキ科に属し、花を発汗剤に用いる。西洋のボダイジュはむしろ、著名なオーストリアの作曲家シューベルトの優雅な“Lindenbaum”(菩提樹)のメロデーによって、世界の人びとの心に安らぎと鎮静の心身安定剤の効果を与えた。

5月5日の薬日の移り変わり

推古天皇の摂政となられた聖徳太子は、新しい国造りの方針を、釈迦の基本理念である仏教に帰依された。

593年太子が難波(大阪)に創建された四天王寺の「聖徳太子伝」によれば、難民救済のために、寺に療病院、施薬院、悲田院(孤児院)、敬田院(養老院)を設置して、薬剤を施与し、薬草栽培の自給自足を図ったという、最古の記録が伝えられている。

推古天皇は百濟から伝来した暦(太陰暦)を採用する旨の詔勅を発せられた(604)。序でに付け加えると、太陰暦は明治5年(1872)11月9日発令の“太陽暦採用”(12月3日を明治6年1月1日とする)の公布に至るまで、1288年の長きにわたって、日本人の生活慣習の基準に定着していた。とりわけ自然の気象状況と関わりの深い農作にとっては、重要な生活信条の拠り所になっていた。

元へ戻して、推古天皇は611年の5月5日の早朝、大和の菟田野において、百官を率いる大規模な薬獵を催されたことが史に見える。目的は鹿麝で、獲物は新生角の袋角を陰干しにして作る“鹿茸”という強精薬が狙いで

あった。以後、この催しは毎年5月5日を“薬日”と定め、慣例行事となった。

その後、殺生を忌む仏教の興隆にともなって、殺伐な薬獵の公式行事は廃止となった。代わって5月5日の薬日には、野山で薬草採集を競う勇壮な競狩(薬狩)が盛んになった。「万葉集」(759)にも“かきつばた衣にすりつけますらをの競狩する月は来にけり”と、待ちかねて気負い立つ心境が詠まれている。この競狩の効果は、薬草の知識を覚えるとともに、高価な外来薬種に代わって、薬草栽培の自給化が開発された。毎年宮中に納める貢進料の中に、薬種の品類や数量が年々増加して、栽培技術の進歩を示している。この傾向は、男子の競狩が衰微して、女子の摘み草の行事に変わった世の成り行きを物語っている。

ところで、万葉集のカキツバタについて付記すると、白や紫の大型の花が咲くカキツバタは観賞用で薬用効果はない。薬草のショウブは小さな黄緑色の花は見映えがしないが、葉の外観は見分け難い。万葉時代は植物の鑑別も判然としておらず、そのうえ漢字から国語を創案する模索の混乱は、歴史の必然と言えるものであった。

一例として、サトイモ科のショウブの漢名は白菖で、菖蒲はセキショウ(石菖)の漢名で紛らわしい。菖蒲根は芳香性健胃薬で、根茎と葉を溶剤とする菖蒲湯は、香り高くすり湯として民俗風習に伝承された。

スウェーデンのC. Linné (1707~1778) は、ウプサラ大学長で世界的博物学者として、生物分類学に二名法を確立した業績は著名である。世界各国の新植物を発見し、命名した品種は多数に上り、日本植物もその例外ではない。ショウブ *Acorus calamus* L. もその系列に入る。

飛躍したが、5月5日の薬日は、もともと古代中国渡来の五節句の端午の節句に由来している。いずれも季節の変わり目の健康保持を祈る重要な慣例で、宮廷の行事が時代とともに一般に普及した。

5月5日の端午の節句は、3月3日の雛祭と並んで、男児の健やかな成長を祈る尚武に通じる菖蒲の節句として、江戸文化の風習に受け継がれた。

恐ろしい疫病神の侵入を防ぐために、入り口に香り高い菖蒲とヨモギを飾った。座敷に甲冑や武者人形を飾り、粽や柏餅を供えて、庭先に鯉のぼりを立てた。菖蒲湯に入って身を浄め、清々しい気分で、百薬の長の菖蒲酒を酌み交わすのが、端午の節句の一日であった。

今は5月5日は男女平等に“こどもの日”の祝日になった。地球は一分の狂いもなく、整然と自転を繰り返している。こども達の健全な成長と知性と努力によって、21世紀の世界の日本の限らない発展の形成に祝福を送り

たい。

本年は建国紀元2649年に当り、世界最古の皇統連綿の日本の歴史を振り返って、改めて第125代昭和天皇の英邁な御生涯を偲び、感慨を禁じ得ない。

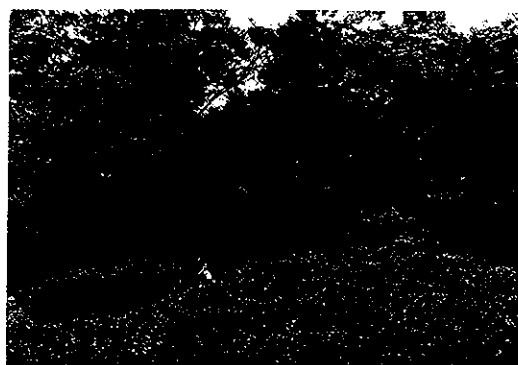
茶の薬効と伝来

立春から数えて88日目に当たる5月2日は、今年の八十八夜である。小学唱歌にも、八十八夜の茶摘みの情景が歌われて、日本民俗の歴史のひとつを印象づけている。八十八夜という特徴的な字数は、“米”という字を形づくる吉兆の数で、米寿にも通じる。八十八夜に米の種をまく農作の瑞穂の国の初めが偲ばれる。

立春と、八十八夜などの自然気象との関連を指示したのは、古代中国で四季を二十四節氣に区分して、各節氣を太陽の黄道の位置によって定めたといわれる。複雑多岐な配列は別として、天体の運行と地球の自転の関連は、人力では及ばない。

話題を下界に戻して、茶の原産地は、中国西南の雲南、四川地区の山岳地帯で、中国でも貴重薬であった。伝説の古代中国の炎帝神農(西紀前3000)が、多くの草の薬用効果を人体実験して中毒した時、茶によって解毒したといわれる。

茶の薬効を日本に伝えたのは、中国の宋に再度留学して、学問、医薬を学修した禅僧の栄西であった。中国から茶を持ち出すことは困難で、わずかに3個の茶の種子を入手して帰国した。栽培も山岳の寒冷地区を選ぶ必要から、後輩の京都梶尾の高山寺を再興した明恵に依頼した。丹精の甲斐あって試植に成功したので、宇治の茶園で生産が始まった。



京都梶尾高山寺発祥の茶畑

栄西はその間、鎌倉幕府の二代將軍源頼家の師僧として、京都建仁寺を開いた。三代將軍実朝の信任を得て診断の結果、宿酔(ふつかよい)であるとして、茶の服用

を勧めたことが伝えられている。茶を服薬指導した始めであろう。栄西は恐らく実朝のために執筆したと思われるが、茶の効能と養生の方法など、茶に関する最古の書「喫茶養生記」2巻を将軍に献上した。翌建保3年(1215)75歳で世を去った。実朝は4年後28歳で暗殺された。

薬用効果のある茶は、和敬清寂を説く禅宗に結びついて、座禅の眠気覚ましにも受けて次第に広まった。大徳寺の一休が点茶の作法を創め、師事した村田珠光が技法を工夫して、茶道の祖となった。千利休に至って、戦国武将の間で茶道が流行し、その頂点を極めたのは秀吉であった。和敬清寂の信条とはうらはらに、黄金の茶室の奢りが、滅亡の一步となった。

茶の海のシルクロード

ツバキ科 Theaceae のチャの学名 *Thea sinensis* L. をリンネが命名するまでには、数度の失敗に屈せず、特にインド洋の海のシルクロードを乗り越えた喜びに溢れたものに違いない。リンネが植物学者の好奇心から、未知の茶の木に異常な関心と意欲を示したのは、ドイツ人医学者で博物学者ケンペルの「日本誌」(今井正氏訳)の中に、日本の茶の木の詳細な興味深い紹介に心を奪われたのであった。

リンネは自国スウェーデンの緯度と原産地中国を比較

<編集後記>

今冬は気象台開設以来の暖冬で、あちらこちらと異変が起きていたようである。スキー場は雪不足で、若者達は豚肉を託ち、湖上では氷結せず「わかさぎ」の穴釣りをできる場所が少なく釣りマニアを嘆かせ、また業者は冬物の在庫をかかえて頭を悩ませていたという話もある。反面、東北や北海道などの雪国のお役所では、除雪費が少なくすみ、予算が余ってホクホクのところもあったように聞いている。今一番心配されるのは、夏の水不足であろう。何とか適当に雨が降って水飢饉だけは回避してほしいものである。

年号が昭和から平成に改められ、年号のように平和な世界が何時までも続いて欲しいと念願するのは、全国民の、いや人類すべての偽らざる気持であろう。

ケミカルタイムスは、昭和25年が1号の発刊であるが、それ以降平成元年の132号に至るまで、その間、科学の進歩は素晴らしく、ウィルスやバクテリア等の目に

して、果たして茶の木の栽培が可能かどうか不安であった。初めは中国商人に茶の種子を依頼したが、インド洋の暑熱で腐ってしまった。次にロシアの隊商に種子の入手を頼んだが失敗に終わった。今度は宣教師が茶の木を1本運ぶ途中、インド洋を越えたが、喜望峰の旋風で海中に吹き飛ばされた。

その後やっと茶の木と思われる2株を入手して、ウブサラの植物園で丹精込めて栽培したが、2年目に待ちかねた花が開いてがっかり、ツバキだったので初めて商人に騙されたことを知った。それからインド洋辺で船室の茶の木が鼠にかじられて失敗に終わった。

それでもリンネは屈せず、船長に頼んで、新鮮な種子を鉢植えにしたところ、予想通り赤道を越えた付近で発芽して、ようやく苦節がむくいられ、真正の茶の木がスウェーデンの土に根付いたのであった。

喜びの余り上記の茶の学名を命名したに違いない。ツバキをチャと混同したことを記念するためか、科名のスペルを茶に因んだツバキ科 Theaceae とした心配りが滲み出ている。

リンネは日本のツバキに *Camellia japonica* L. の学名を付している。

見えない微細な境域から、広大無辺な宇宙の世界まで、秘密のベールが1枚ずつ剥がされ真理が浮き彫りにされていくのは神秘的でさえある。ここに人間の底知れない叡知が窺われて、どこまで学問が進むのかはかりしれないものがある。

さて今回は、佐々木先生の「臨床化学並びに臨床化学検査への接近」と、三宅先生の「酸化タングステン膜のエレクトロクロミズム」を、また根本先生には「くすりの文化交流」の何れも興味ある記事を掲載させて頂き、誠に有難うございました。この他 E.メルク社の Dr. キースリングより同社の品質管理と、弊社の小野研究員の研究発表も併せ掲載することができました。

これからは桜前線も北上してきて、麗かな季節に移り変わりますが、ケミカルタイムスも内容を更に充実させ、皆様方に愛されるよう美しい花を咲かせていきたいと存じますので、一層のお引立を賜りますようお願い申し上げます。

<松田記>

 関東化学株式会社

〒103 東京都中央区日本橋本町3丁目2番8号
電話 (03) 279-1751

編集責任者 松田 三郎 平成元年4月1日発行