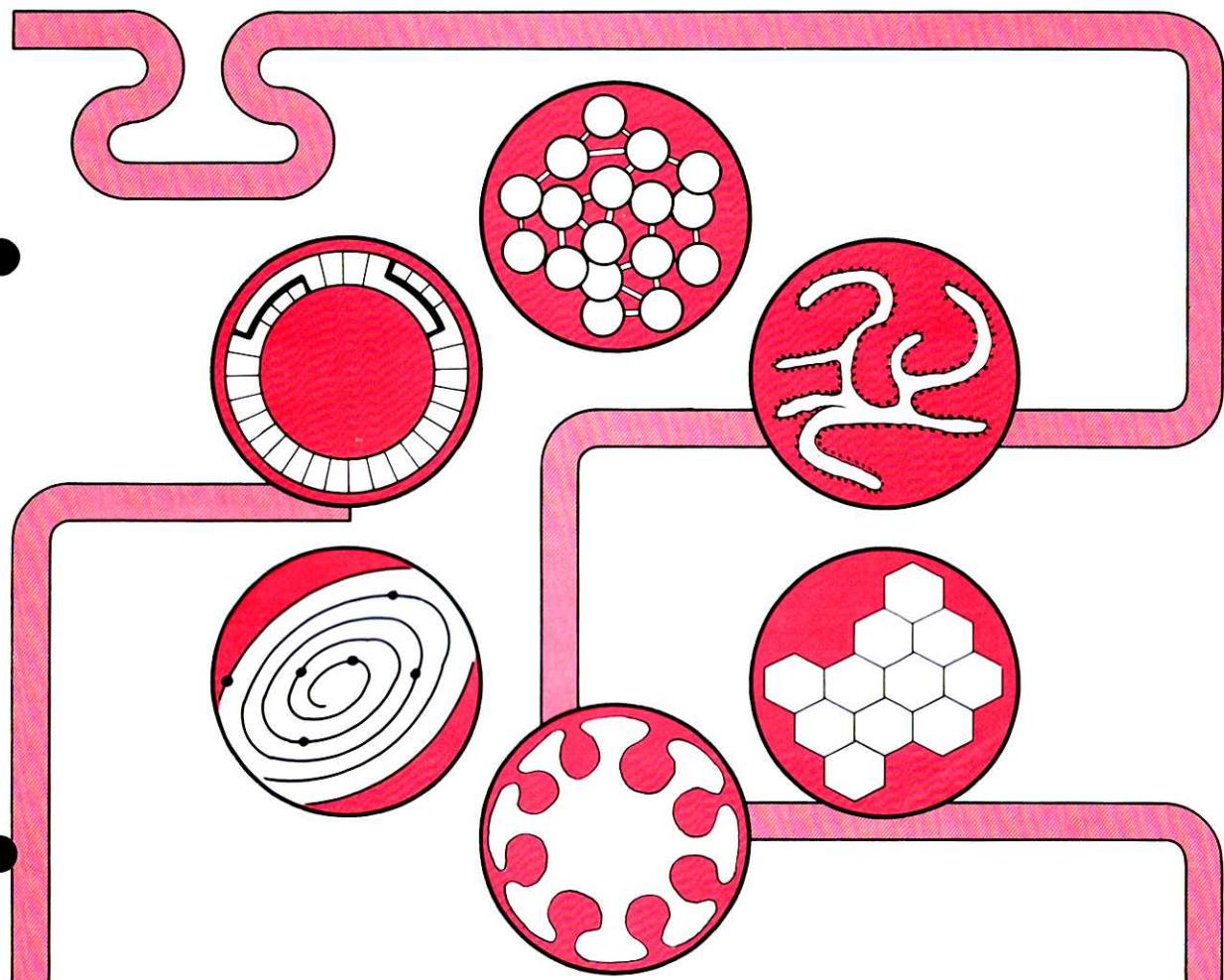


# THE CHEMICAL TIMES

ISSN 0285-2446  
KANTO CHEMICAL CO., INC.  
1993年 No. 4 (通巻150号)



## 目 次

微量過酸化水素のための定量用試薬の創製と応用	高 村 喜代子	74
	松 原 チヨ	
電子材料と電子デバイス：研究開発とその成果	三 宅 清 司	80
エレクトロニクスとその発端(1)		
順相 HPLC における移動相への水添加効果について	刃 刀 彰	86
実験例を中心に	田部井 克 己	
くすりの文化交流(27)	根 本 曾代子	94
目薬のエピソード		
編集後記		96

# 微量過酸化水素のための定量用試薬の創製と応用

東京薬科大学 薬学部 教授 理学博士 高 村 喜代子  
助教授 薬学博士 松 原 チヨ

## 1. はじめに

過酸化水素 ( $H_2O_2$ ) は水 ( $H_2O$ ) に似た非常に小さい分子で水溶液では色も臭いもない。過酸化水素が水と異なるのは、酸化性を有することである。ところで最近、過酸化水素は自然界のさまざまな場所で生成が認められ、その挙動が注目されるようになった。その中の一つとして、最近の環境問題では酸性雨の生成に過酸化水素が関わっていることが知られ、世界的に注目されている。大気中での光化学反応によって過酸化水素が生じ、これがイオウや窒素の酸化物を酸化して酸性物質を生成し、酸性雨の因となる。従って、雨水、霧、大気中の過酸化水素量は、大気汚染の指標として有用である。

また過酸化水素は、化学工業分野では後くされの無い、緩和な酸化剤として古くから広く使われており、今なお多方面に亘って使用されている。しかし近年発癌性が云々され、例えは食料製品では僅かに残った痕跡程度の過酸化水素でも問題にされるようになった。また排水や廃棄物中の過酸化水素のチェックもまた必要とされている。従って多くの分野で、微量の過酸化水素を精度および感度ともに高く、しかも簡易迅速に定量する方法が求められている。

一方臨床分析分野でも、過酸化水素の定量は日常的な手法として頻用されている。多くの生体成分は、それぞれに特定の酸化酵素の作用によって酸化され、過酸化水素を生じる。この過酸化水素を定量することにより、生体成分（例えは、血清中のグルコース、尿酸、遊離脂肪酸、コレステロール、リン脂質あるいは尿中のグルコース、シュウ酸など）の量的変化を適確に把握し、疾病的診断に有用な情報を与え得る。最近、酵素技術の進歩によって極微量の生体成分でも選択的に酸化され、定量的な過酸化水素の生成が可能となった。それに伴って、過酸化水素の定量法にも高い感度と選択性が要求されるようになってきた。

従来、微量過酸化水素を検出定量する方法として吸光光度法、蛍光光度法、化学発光法、あるいは電気化学測

定法などが考案されてきた。その大部分は酸化還元反応に基づいているので、分析試料中に共存する還元性物質の影響を受けやすく、また感度も不十分なことが多い。例えは、キットも市販されて、臨床分析などで広く実用されているペルオキシダーゼ (POD) 法は、酵素 POD の存在下で、過酸化水素による色原体の酸化の結果生じるキノン系色素を比色定量するものである。しかし POD の基質選択性が不十分であるため、生体試料中によく共存するアスコルビン酸、グルタチオンなど還元性物質の影響を当然避け難い。これまでに多くの色原体が開発されてきたが、POD 酵素を併用する酸化還元反応に基づく発色法による限り、この様な妨害を完全に避けることは難しい。

そこで著者らは、新しい発想による微量過酸化水素の定量法の開発を企てた。我々は、従来法とは異なる呈色機構による過酸化水素の吸光光度法を目指して、過酸化水素を含むチタン (Ti(IV)) 錯体生成反応に着目した。Ti(IV) とある種の有機試薬（以下 Y と略記）との錯体 (Ti(IV)-Y) の水溶液 (Ti-Y 試薬と称する) の可視部吸収スペクトルには、Ti(IV)-Y 錯体の吸収ピークが見られる。Ti-Y 試薬に過酸化水素を添加すると、その配位により過酸化水素錯体 (Ti(IV)-Y-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) を生じ、吸収極大波長 ( $\lambda_{max}$ ) のシフトと吸光度値の変化が見られ、その変化の大きさは加えた過酸化水素量に比例する。この場合、 $\lambda_{max}$  のシフトがより大きく、かつ吸光度の変化量の大きい Ti-Y 試薬ほど過酸化水素の吸光分析試薬として有用である。この様な見地から創製したいくつかの Ti-Y 試薬中、過酸化水素の吸光分析試薬として特に優れている、Ti-PAR, Ti-PAPS および Ti-TPyP 試薬の特徴と、環境分析や臨床分析への応用について紹介する。

## 2. Ti-PAR, Ti-PAPS 試薬による過酸化水素の定量と応用

### 2.1 Ti-PAR, Ti-PAPS 試薬とは<sup>1,2)</sup>

PAR, PAPS は、共にピリジルアゾ化合物であり、図 1 に示す構造を持つ。この化合物の金属錯体は、吸光係数の大きい charged quinone 構造(図 1 b)を示す。過酸化水素による呈色体(Ti(IV)-PAR-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 及び Ti(IV)-

PAPS-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)はともに、この charged quinone 構造を有するので、その呈色は安定であり、感度の点でも優れている。従って両試薬は過酸化水素の吸光分析試薬として有用性が高い。

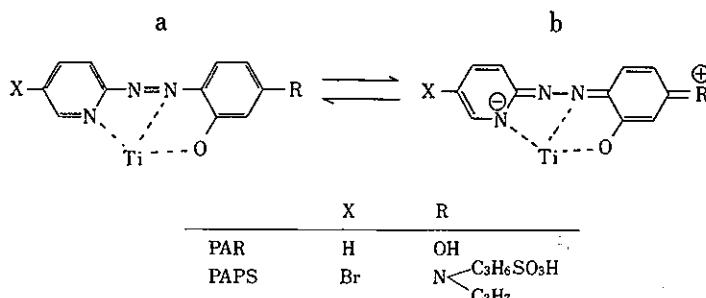


図 1. Ti(IV)-PAR, Ti(IV)-PAPS 錯体の構造

PAR : 4-(2-pyridylazo) resorcinol

PAPS : 2-((5-bromo-2-pyridyl) azo)-5-(N-propyl-N-sulfopropylamino) phenol disodiums

## 2.2 Ti-PAR 試薬による過酸化水素定量と応用<sup>3)4)</sup>

TiCl<sub>4</sub>(4 M HCl 溶液)と PAR(Na 塩水溶液)を混合して 4 mM Ti-PAR 溶液を調製する。定量操作法を、表 1 に示す。この方法で得られた検液の吸収スペクトルは pH 8.6において 508 nm に吸収ピークを示し、その値は過酸化水素濃度に比例した(図 2)。この吸収は過酸化水素と PAR を含む Ti(IV) 錯体によるものと考えられ、そのモル吸光係数は  $3.6 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  という大きな値である。一方、過剰な Ti(IV)-PAR 錯体は、pH 8.6において 45°C で 3 分間加温することによって解離し、試薬ブランクの吸収スペクトルは遊離 PAR 溶液のスペクトル( $\lambda_{\text{max}} 413 \text{ nm}$ )と同じになる。従って、試薬ブランクは、508 nm における吸光度測定にほとんど影響を及ぼさない。この定量法で得た検量線は図 3 に示すように過酸化水素濃度 0.2~50 μM の範囲でよい直線性が認められ、その相対標準偏差は 2% 以下であった。Ti-PAR 試薬は安定であり冷蔵庫中に 4 か月以上の保存が可能であった。また測定時の吸光度は安定で、室温で数時間以上にわたって変化がみられなかった。これらは、実用上 Ti-PAR 試薬の有利な点である。生体関連物質が、酸化酵素によって選択的に酸化されて生じる過酸化水素を、本試薬によって定量するためには、共存物質の影響が小さいことが必要である。血清試料などに存在する、あるいは添加されることが予想される物質について、吸光度への影響を調べた結果を表 2 に示す。無機化合物ばかりではなく、アスコルビン酸、グルタチオンなどの還元性物質による

影響が非常に小さいことは、実用上大きな利点である。

表 1. Ti-PAR 試薬による H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 定量法

検液調整	
試料	5.00ml
Ti-PAR 試薬	1.00ml
NH <sub>3</sub> -NH <sub>4</sub> Cl 緩衝液 (pH 8.6)	3.00ml
H <sub>2</sub> O	1.00ml
検液を 45°C において 5 分間加温、冷後 508 nm における吸光度を測定する。	

表 2. Ti-PAR 試薬による過酸化水素定量値への共存物質の影響

Inorganic compound (M)	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> found (%)	Organic compound (M)	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> found (%)
NaCl $5 \times 10^{-2}$	100	Acetic acid $1 \times 10^{-1}$	100
KCl $1 \times 10^{-2}$	100	Ascorbic acid $1 \times 10^{-3}$	100
CaCl <sub>2</sub> $5 \times 10^{-4}$	94	Citric acid $1 \times 10^{-2}$	100
	100	Glycolic acid $1 \times 10^{-4}$	100
MgCl <sub>2</sub> $2 \times 10^{-4}$	100	Lactic acid $1 \times 10^{-4}$	100
FeCl <sub>3</sub> $2 \times 10^{-5}$	120	Amino acid $1 \times 10^{-4}$	100
	102	Sorbitic acid $2 \times 10^{-3}$	100
CuCl <sub>2</sub> $5 \times 10^{-6}$	111	Benzoic acid $2 \times 10^{-3}$	100
Na <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> $5 \times 10^{-2}$	100		

[H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>] added :  $1 \times 10^{-5}$  M ; † Each of the following amino acids was tested, Arg, His, Met, Asn, Asp, Gly, Ala, Thr, Ser, Orn, Cit, Trp and Tyr.

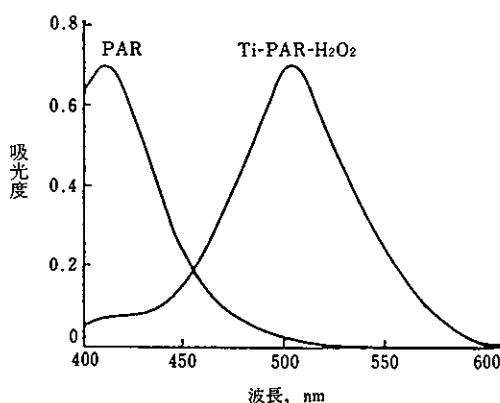


図2. Ti(IV)-PAR-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, PAR 各溶液の吸収スペクトル  
H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 濃度: 20 μM

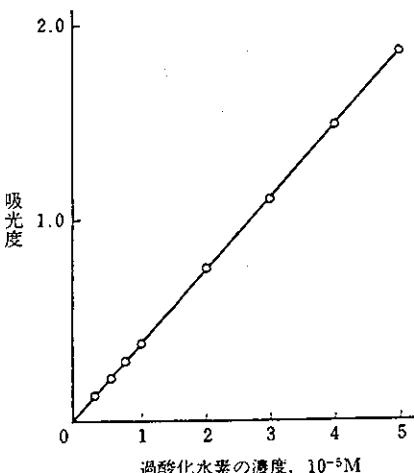


図3. Ti-PAR 試薬による H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> の検量線

#### Ti-PAR 試薬による血清グルコースの定量<sup>5)</sup>

Ti-PAR 試薬の臨床分析への応用例として血清グルコース定量を述べよう。グルコースオキシダーゼ (GOD) による過酸化水素の生成と、Ti-PAR 試薬による呈色反応を組み合わせた場合の至適条件を求め、定量方法を表3のように定めた。それに基づいて得た検量線を図4に示す。血清グルコース量 9 ~ 270 mg/dl の範囲で良い直線性を示し（相対標準偏差 2 %以内）血清への添加回収実験も 99~102 %と好結果を得た。

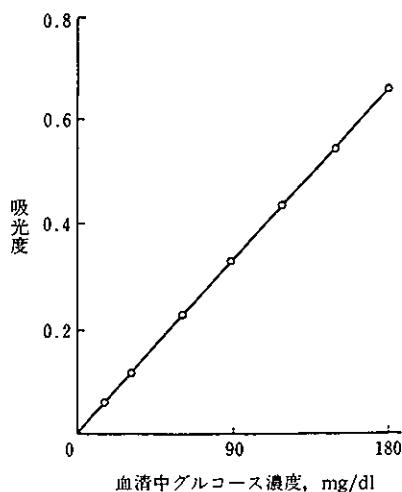


図4. Ti-PAR 試薬によるグルコースの検量線

#### 表3. Ti-PAR 試薬による血清グルコースの定量法

検液調整	
血清	10 μl
グルコースオキシダーゼ (10 U/ml)	1.0 ml
検液を 45°C で 15 分間加温,	
Ti-PAR 試薬	0.5 ml
NH <sub>3</sub> -NH <sub>4</sub> Cl 緩衝液 (pH 8.6) 3.5 ml 添加, 45°C に 10 分間加温, 冷後 508 nm における吸光度を測定する。	

#### Ti-PAR 試薬による血清中遊離脂肪酸の定量<sup>6)</sup>

血清中の遊離脂肪酸量は肝機能の指標となるが、その含量が小さいので高感度な測定法が望まれている。酵素アシル CoA シンテターゼとアシル CoA オキシダーゼとを用いて酸化し、生成する過酸化水素を本試薬で検出した。血清 50 μl を用いて 20 ~ 1500 μM の遊離脂肪酸を簡易かつ高感度に定量することが出来た（相対標準偏差 2.2 %以下）。そのほか血清中の尿酸、コレステロール定量にも応用して好結果を得た。

#### 2.3 Ti-PAR 試薬を用いる過酸化水素のフローインジェクション分析(FIA)<sup>7)</sup>

##### 雨水中の過酸化水素の FIA<sup>7)</sup>

FIA は微少量の試料を用いて、迅速に高い精度をもって定量することができる方法である。従って、雨水中過酸化水素のように含有量が急速に変化する対象物を扱うことが多い環境分析や、多数の試料を処理する必要のある臨床分析に適した方法である。そこで Ti-PAR 試薬を用いる過酸化水素の高感度 FIA を構築した。まず、酸性雨を生じる過程に関与すると言われている雨水中過酸化水素定量に応用した。FIA のフローダイアグラムを図5

に示す。雨水試料はミキシングコイル1(図5中MC1)でTi-PAR試薬と混合されTi(IV)-PAR-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>錯体が形成される。ついで、試液中の過剰なTi(IV)-PAR錯体は、ミキシングコイル2(MC2)でpH調整されることによって解離する。分光光度計のフローセルを通して過酸化水素量を知る。この方法で得た検量線は、雨水中含量1.4~1360 ppbの範囲で良い直線性を示した。本法によって1時間に40検体の分析が可能であり、繁雑な前処理をせず、試料をそのまま注入するだけで信頼性のある結果が得られた。実際試料の測定例を表4に示す。

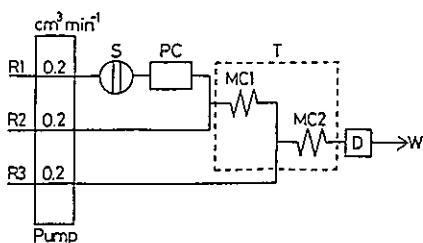


図5. 過酸化水素分析用FIAマニホールド

R1: キャリヤー液, R2: Ti-PAR試薬,  
R3: pH緩衝溶液(pH10.8), S: 試料注入,  
PC: 前置カラム(陽イオン交換樹脂)  
MC1; MC2: ミキシングコイル1; 2  
T: 恒温槽, D: フローセル型吸光光度検出器,  
W: 排出液

表4. 雨水中の過酸化水素含量(於東京)

採取日	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 濃度(ppb)	
	八王子	練馬
03/06/88	347	292
08/06/88	180	136
12/06/88	64.6	207
16/06/88	660	649
24/06/88	476	64.6
25/06/88	163	34.0
27/06/88	346	143
30/06/88	64.6	235
01/07/88	303	85.0
10/07/88	415	139
11/07/88	224	139

#### Ti-PAR試薬による生体成分のFIA<sup>8)</sup>

図5に示したFIA系に酸化酵素カラムを設置することにより、生体試料中成分を選択的に過酸化水素に変えて検出する生体成分測定用FIAを構築した。まずグルコ-

スオキシダーゼ固定化カラムを設置し、血清および尿中のグルコース定量を行った。検量線は10~2000 pmol/検体の範囲でよい直線性を示し、除蛋白などの前処理を必要とせずに高い検出感度が得られた。

またシュウ酸オキシダーゼカラムを組み合わせて、尿路結石の原因の一つとされる尿中シュウ酸の定量に応用了した。シュウ酸含量10 pmol~5 nmolの範囲で良好な直線性が得られた。本法は還元性共存物質の影響を受け難く、感度も高いので、試料尿の濃縮などの前処理をすることなく注入するだけで尿中シュウ酸を定量できた。

#### 2.4 Ti-PAPS試薬による過酸化水素定量と応用<sup>9)</sup>

Ti-PAR試薬よりさらに高い感度を得るために、配位子Yとしてより大きい分子表面積を持つと考えられるPAPS(図1を参照)を取り上げ、Ti-PAPS試薬を創製した。

Ti-PAPS試薬の調整法および検液の調整は上述のTi-PAR試薬の場合とほぼ同じである。Ti(IV)-PAPS-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>錯体溶液のモル吸光係数は、 $5.7 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ (λmax:539 nm)であり、PARの場合に比較して約2倍の高感度化と吸収ピークの長波長側へのシフトが達成された。従ってTi-PAPS試薬は、可視部の短波長範囲に吸収を持つ共存成分の多い臨床検査試料(例えば血清)への応用性が高い。血清中グルコース定量において試料10 μlを用いた場合、3~270 mg/dlの範囲で定量が可能であった(相対標準偏差2%以下)。また血清中尿酸定量にも応用了した。

#### 3. Ti-TPyP試薬による過酸化水素の定量と応用

##### 3.1 Ti-TPyP試薬と過酸化水素の反応<sup>10)</sup>

上述のように、著者等は過酸化水素の新定量法としてTi(IV)錯体生成による吸光光度法を開発し、その応用に成果を上げてきた。しかし科学の進歩に伴って、さらに微量過酸化水素検出の必要が高まりつつある。そこでこの方法をさらに高感度化するためには、PAR、PAPSよりも大きな吸光係数を持つ有機試薬を配位子(Y)とすることが有効である。

そこで、 $10^5 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ オーダーのモル吸光係数をもつ水溶性ポルフィリン化合物に注目した。Ti(IV)-ポルフィリン錯体の水溶液を呈色試薬として、Ti-ポルフィリン-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>錯体生成に基づく吸光度変化を測定する方法を新たに考案した。

ポルフィリンは、ピロールが環状構造を形成したポルフィリン核をもつ化合物群であり、これらの分子は、光吸収のために有効な大きな断面積と電子遷移確率を持っている。ポルフィリン錯体が、ソーレ帯と呼ばれる強い光吸収(モル吸光係数十万台)を持つことは古くから知ら

れていた。しかしポルフィリンの水溶性が低いことなどのために、分析化学分野での実用化が遅れていた。最近、水溶性ポルフィリン合成の技術が進歩し、製品の入手が容易になった。そこで我々は、その中の一つである5, 10, 15, 20-tetra (4-pyridyl) porphine (以下 TPyP と省略) を配位子 (Y) として取り上げ、Ti-TPyP 試薬を用いる極微量過酸化水素の定量法を確立した(図6)。Ti-TPyP 試薬とは、DMF 中、窒素気流下で Ti(IV) と TPYp を反応させて得た Ti(IV)-TPyP 錯体の水溶液である。図7に Ti-TPyP 試薬及び Ti(IV)-TPyP-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 錯体の吸収スペクトルを示す。試薬に過酸化水素を加えると、432 nm における吸光度は減少し、同時に 450 nm における吸光度が増大する。これは Ti(IV)-TPyP 錯体が消費され、Ti(IV)-TPyP-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 錯体が生成することに基づいている。このときの 432 nm および 450 nm における吸光度の変化量は、過酸化水素濃度に比例し、過酸化水素 1 M当たりの変化量はそれぞれ  $1.9 \times 10^5$  および  $1.1 \times 10^5$  であり、両波長いずれの吸光度を測定しても過酸化水素の高感度定量が可能である。バッチ法ではより感度の高い 432 nm における測定を行った。また FIA へ適用する場合は、ベースラインを低く保つために 450 nm における吸光度を測定した。また Ti-TPyP 試薬は非常に安定性が高く、冷暗所に 1 年以上保存した場合でも、吸光度に変化が見られなかった。

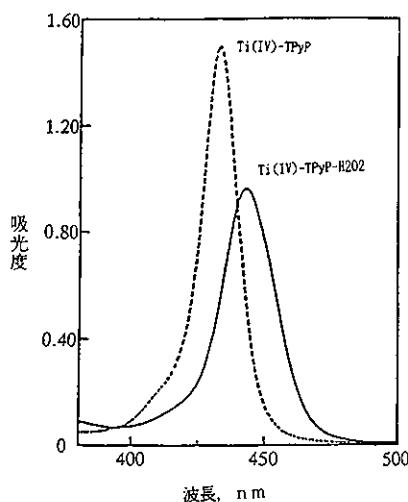


図7. Ti(IV)-TPyP, Ti(IV)-TPyP-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 錯体各溶液の吸収スペクトル 濃度: Ti(IV)-TPyP, 1 μM; Ti(IV)-TPyP-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 1 μM

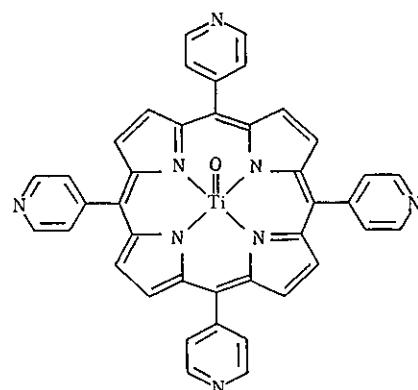


図6. Ti-TPyP 試薬

### 3.2 Ti-TPyP 試薬による過酸化水素定量と応用<sup>10)</sup>

バッチ法による定量法の概略を述べる。

過酸化水素定量: 検液 (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 25 pmol ~ 7.5 nmol を含む) 250 μl に 4.8 M 過塩素酸および Ti-TPyP 試薬を各々 250 μl を加えて室温で 5 分間放置する。その後、水で全量 2.5 ml として 432 nm における吸光度の減少を測定する。得られた過酸化水素の検量線は、濃度範囲 10 nM ~ 3.0 μM で良い直線性 ( $r=0.999$ ) を示し、見掛けのモル吸光係数は  $1.9 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$  であった(図8)。この値は、従前の過酸化水素の吸光度定量におけるモル吸光係数の中でも最高の値の一つである。

また、450 nm における吸光度を測定する FIA を組み立てた場合は、1~1000 pmol/test の範囲で良い直線性が得られた。

また、Ti(IV)-TPyP-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 錯体の安定性も高いので、

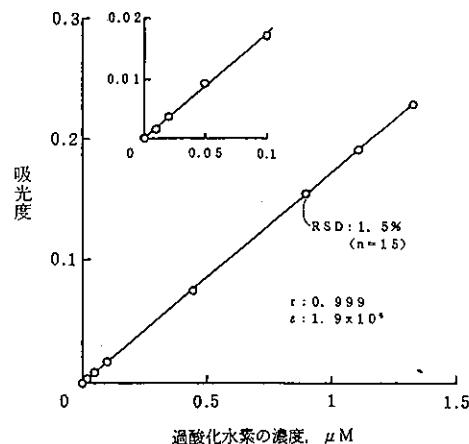


図8. Ti-TPyP 試薬による過酸化水素の検量線

共存物質による影響も非常に小さい。過酸化水素定量値への共存物質の影響を検討した結果を表5に示す。ナトリウムイオンなどのアルカリ金属、カルシウムイオンなどのアルカリ土類金属、塩素イオンなど各種陰イオンは、過酸化水素量の $10^4$ 倍量の共存でも測定に影響を与えたかった。またアミノ酸など多くの有機化合物も、過酸化水素の $10^3$ 倍量の共存まで定量値に影響を与えたかった。

#### 水中の過酸化水素定量

実際例として、イオン交換水など極純良な水に含まれている極微量過酸化水素のチェックに応用した結果を表6に示す。

表5. Ti-TPyP 試薬による過酸化水素定量値への共存物質の影響

Substance added	Concentration/ mol dm <sup>-3</sup>	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> found* (%)
NaCl	$1 \times 10^{-2}$	99.5
KCl	$1 \times 10^{-2}$	101.0
BaCl <sub>2</sub>	$1 \times 10^{-2}$	99.8
NH <sub>4</sub> Cl	$1 \times 10^{-2}$	98.2
NiCl <sub>2</sub>	$1 \times 10^{-2}$	100.6
CuCl <sub>2</sub>	$1 \times 10^{-2}$	99.9
MnCl <sub>2</sub>	$1 \times 10^{-3}$	94.7
CoCl <sub>2</sub>	$1 \times 10^{-4}$	99.4
FeCl <sub>3</sub>	$1 \times 10^{-5}$	97.3
CaCl <sub>2</sub>	$1 \times 10^{-2}$	101.2
MgCl <sub>2</sub>	$1 \times 10^{-2}$	100.3
NaBr	$1 \times 10^{-2}$	101.0
NaNO <sub>3</sub>	$1 \times 10^{-2}$	99.8
NaN <sub>3</sub>	$1 \times 10^{-2}$	101.7
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	$1 \times 10^{-2}$	98.3
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	$1 \times 10^{-2}$	100.9
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	$1 \times 10^{-2}$	99.6
* [H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ] = $1.00 \times 10^{-6}$ mol dm <sup>-3</sup>		

表6. Ti-TPyP 試薬による水中の極微量過酸化水素の定量

Sample source	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> concentration/ mol dm <sup>-3</sup>	Recovery* (%)
Well water	$4.74 \times 10^{-7}$	90.6
Tap water	$3.16 \times 10^{-7}$	84.0
Ion-exchanged water	$1.05 \times 10^{-7}$	96.9
NANOpure II	$2.63 \times 10^{-7}$	99.2
Rainwater sample No. 1	$2.74 \times 10^{-6}$	97.2
Rainwater sample No. 2	$9.16 \times 10^{-6}$	94.9
Rainwater sample No. 3	$1.62 \times 10^{-5}$	106.5
Rainwater sample No. 4	$2.91 \times 10^{-5}$	104.4
Rainwater sample No. 5	$3.34 \times 10^{-5}$	104.2
* [H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ] added : $3.00 \times 10^{-7}$ mol dm <sup>-3</sup>		

#### Ti-TPyP 試薬による血清及び尿中のグルコース定量<sup>11)</sup>

Ti-TPyP 試薬をグルコースオキシダーゼと組み合わせて、血清中及び尿中のグルコース定量に応用した。定量範囲は 20 nM~3.2 μM であり、血清 1 μl を用いて、なんら前処理せずに簡易迅速に定量できた。血清に 10 mM グルコースを添加したところ、ほぼ 99% の回収率が得られた。また尿中グルコースは血清グルコースに比べて稀薄であるため、従来法では検出が難しいとされていたが、本法によって濃縮などの前操作なしに定量できた。

Ti-TPyP 試薬は極めて高感度であるので、各種の酸化酵素と組み合わせることによって、多様な生体成分の分析に応用が可能である。

#### 4. おわりに

以上のように、我々は感度、ならびに精度共に高い過酸化水素定量法の開発を目指して、Ti(IV)錯体の検索を進め、その中で得られた Ti-PAR, Ti-PAPS 試薬及び Ti-TPyP 試薬を用いる吸光光度法について述べた。これらの試薬は、優れた呈色感度と安定性ゆえに、それぞれ広い応用性が期待される。

現在、蛍光光度法、化学発光法あるいは電気化学測定法など、種々の方法が過酸化水素の定量法として提起され、あるものは実用されている。しかし、これらの方法もその選択性あるいは感度などの点で必ずしも十分なわけではない。何處にでもある吸光光度計を用いて、誰でもが簡単に、高い精度と感度で、過酸化水素を定量出来る方法が、今も求められている。

過酸化水素は我々の周辺至る所に生成し、存在している。また、酵素などの助けを借りて多くの物質から定量的に生成される。従って過酸化水素の測定は、多くの分野で重要な情報を提供する。これが感度、精度とも優れた定量法が、さらに今後とも望まれる所以である。

#### 引用文献

- 柴田正三、古川正道、分析化学、23, 1412(1974).
- C. Matsubara, T. Iwamoto, Y. Nishikawa, K. Takamura, S. Yano, and S. Yoshikawa, J. C. Soc. Dalton Trans., 1985 (1), 81. (1985).
- 松原チヨ、高村喜代子、分析化学、29(11), 759(1980).
- 松原チヨ、高村喜代子、分析化学、30(10), 682(1981).
- 松原チヨ、高村喜代子、臨床化学、1981, 补冊1, 34(1981).
- C. Matsubara, Y. Nishikawa, N. Ishikawa, T. Iwamoto and K. Takamura, Anal. Biochem., 130(2), 128(1983).
- 松原チヨ、酒井和明、高村喜代子、日化誌、1991(5), 430(1991).
- 松原チヨ、酒井和明、高村喜代子、分析化学、40(7), 341(1991).
- C. Matsubara, K. Kudo, T. Kawashita and K. Takamura, Anal. Chem. 57(6), 1107(1985).
- C. Matsubara, N. Kawamoto, and K. Takamura, Analyst, 117(11), 1781(1992).
- 松原チヨ、河本直樹、高村喜代子、分析化学、41(5), 215(1992).

# 電子材料と電子デバイス；研究開発とその成果

## エレクトロニクスとその発端(Ⅰ)

帝京大学 理工学部 教授 理学博士 三宅 清司

### 1. まえがき

先年、「我が国応用物理学発展のための提言」と題し、わが国の応用物理学会誌に、研究と研究の在り方についての見解を投稿した事がある。同学会が「教育と研究の現状」を特集した号に一読者としてである。他方、先に本誌に掲載された研究発表に関する二つの見解は、我が国研究者が21世紀で世界の科学者として、その業績が充分な評価を受けるための条件を筆者が行った電子材料に関する研究結果を用い述べたもので、その論文は30年前、米国の物理学会出版の *J. Appl. Phys.* に掲載されたものである。

さて、我が国で日常、エレクトロニクス、コンピューター、先端技術、などの言葉をよく耳にするようになって久しい。そして、新聞、雑誌、テレビなど、専門外の人達もこれらの言葉を見聞きしても違和感を持たなくなつたようにも思える。しかし、エレクトロニクスなる言葉とその内容については、それらを口にする人ですら、そのよって来るところ、その意味する事について、必ずしも、納得しているようにも思えない。

最近の我が国の報道では、エレクトロニクスやコンピューターの言葉を用いただけで科学技術の内容を説明したつもりになつたり、判った気になつたりしているようでもある。特に、新聞やテレビの科学技術の取扱いに、そのように感じる事が多い。しかも、科学技術とそれに関連し生じる内容を、新聞では社会面で、テレビでは通常の番組で採り上げているようであるが、当を得ているであろうか。

この副題で筆者が述べたい事は、先づ、エレクトロニクスなる言葉が何時、何のようにして使われるようになったか、また、エレクトロニクスの中でも歴史的には二次大戦前から発達していた電子管、二次大戦後に発展した半導体装置、あるいは、半導体デバイスが、如何なる科学的背景の下で進歩したかである。

前から述べてきたように、科学技術の発達は、あらゆる意味において、過去の研究の必然的結果として生じる

ものであり、段階的ではあっても、突然、急激な進歩をするものではない。その歴史を調らべてみれば、現在のエレクトロニクスの発端と関連する研究は100数十年を越す以前からなされていた事が判る。ただ、それを知っていたのは限られた人達だけであったと言う事だけである。

ところが、最近の半導体装置、特に集積回路の発達、むしろ、高密度集積技術、あるいは、その加工技術の発達と、半導体工業における多量生産技術の進歩により、情報処理と通信の分野に予期以上の効果を産み出し、より多くの人達が、より広く、より速く、より多くの情報、特に、科学技術の知識を手にする事が出来るようになった。

その結果、昔に比べ、極めて速い速度で科学技術が進歩し、その恩恵を科学者、技術者のみならず、一般の人達も受けられるようになった。そのため、他方では情報過多となり、玉石混交の情報が社会に飛びかい人を惑わす結果ともなつたと言えるのである。

特に、科学技術に関する情報、例えば、学術会議や学会報告の内容をトピックスとして、それを充分理解しかねるマスコミ関係の人達が新聞やテレビの記事として採り上げる事が多くなり、一般の人達はもちろん、科学技術に携る人達も専門外の情報については慎重な取扱いと判断を下す事が必要となつたようになる。

このような訳で、エレクトロニクスに関する歴史的事実から出発し、発展過程の上で相関性の極めて強い学術分野を、出来るだけ専門的用語の使用を避け、幾つかの関連する科学技術の分野に分け書き記しておきたいと考える。

### 2. 放電管とカソードスパッタリング

最近のエレクトロニクスの発達は、上に述べたように、高密度集積回路 (Large Scale Integrated circuit; LSI) の精密加工技術と多量生産技術の発達がもたらしたものであるが、これら技術の中で最も高度で不可欠の技術を可能としたものが真空装置とその技術である。例えば、集積回路のシリコン基板に精密加工をするに必要な装置

の一つにイオン打込装置がある。

半導体の固有の電気抵抗は含まれている不純物元素の種類と濃度により決まるが、この装置は、不純物元素を減圧の下でイオン化し、電界を加え加速し半導体表面にそれを打込む (Ion implantation) 機能を持つもので、これは一つの真空装置である。真空装置とは、ある密閉容器内の空気が取り除かれたものか、前もって空気を取り除く事が必要なもので、空気を取り除く、排気するだけの装置を、通常、真空排気装置と呼んでいる。

他方、放電管は、現在でもなお、ネオンサインなど、広告、表示に利用されているが、これは、大気圧以下の低圧ネオンガスを封入し、両端に一つづつの電極が封止されたガラス管であって、両極間に高い電圧を印加するとガス放電をするものである。家庭用の蛍光灯は、ガラス管の内面に蛍光体が塗布された放電管で、アルゴンガスと水銀の蒸気が封入されている。

したがって、これらの放電管は、必要なガスを封入するに先立ち、管内の空気を排気し真空中にしなければならない。このため、放電管と真空排気装置の発達の歴史とエレクトロニクスの発達の歴史とは極めて密接な関係があり、電子管や半導体デバイスなど、電子デバイスの発達は、排気方法の進歩と共に、真空装置の発達が無ければ得られなかつたと云えるものである。

さて、放電現象に関する初期の研究は表1に示したよ

表1. 真空放電、陰極線と電子管の研究の歴史

年代	研究者	発見、発明の内容
1838	ファラデー	不完全な真空のガラス管の内壁が青く輝くのを発見
1852	グロー	グロー放電管でのスパッタリングの発見
1858	ガイスター	真空放電管の発明
1869	ヒットルフ	真空放電管の陰極から出る線は障害物の影を作ることを発見
1879	クルックスとバーリー	陰極線が磁界で偏向することを発見
1879	エジソン	白熱電球の発明
1883	エジソン	エジソン効果(熱電子放出の発見)
1887	ヘルツ	光電子放出効果の発見
1890	エルスタとガイタル	光電子放出の実験
1897	プラウン	陰極線オシロスコープの発明
1897	J.J.トムソン	陰極より出る粒子線の粒子を電子と名付けた
1904	フレミング	エジソン効果を利用した二極整流管を発明
1907	フォレスト	二極管の両極間に格子を入れ三極管を発明
1910~	アーノルド、クーリッジ	酸化物陰極の発明
1913		

うに、19世紀の前半に始まるが、放電管の二つの電極間に加えた電圧は直流電圧であって、自然に存在するイオン化された空気分子、あるいは、残留ガス分子のプラスイオンが陰極に衝突し、その結果、陰極材料の原子が真空中に叩き出される。この現象はカソードスパッタリング(Cathode sputtering)と呼ばれている。

この現象は現在、半導体デバイスを形作る金属薄膜の製作に積極的に利用されているもので、最新の集積回路の製造上でも極めて重要な技術の一つとなっている。その当時でも放電管の陰極附近のガラス管壁の汚れは陰極物質によるものである事は判っていたが、この現象を積極的に利用するようになったのはシリコントランジスタが広く使われるようになつた1965年以後の事である。図1はカソードスパッタリング現象を模型的に示したものである。

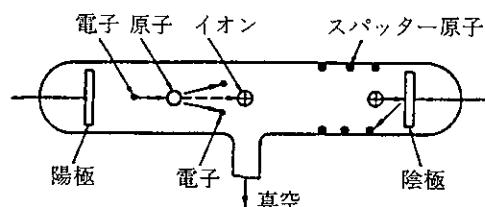


図1. 放電管のカソードスパッタリング

放電管の陰極附近の汚れと同様、放電管の陽極附近のガラス管壁が紫色に発光する事も、19世紀の初期から知られていた事ではあるが、管内に残留する空気が少なくなるに従い、云いかえると、管内の真空の度合が高められるようになるに従い、放電の様子は次第に変化し、その発光の色も変り、その圧力が水銀柱で $10^{-3}$ mmHg程度以下になると紫色の発光が観測されるようになる事が判った。

可視光を発する放電状態はグロー放電と名付けられているが、紫色の発光、あるいは、ガラス管壁よりの蛍光が見られるのは $10^{-3}$ mmHg、又は、それ以上の良い真空状態であつて、さらに真空の度合が良くなると、通常のガラス放電管の構造では放電状態は眼で見る事は出来なくなる。<sup>1)</sup>

### 3. 真空技術の進歩とエジソン効果

真空管、あるいは、電子管の発達は、云うまでもなく、真空技術の進歩により始めて得られたものであつて、放電管、ガス入り真空管、また、白熱電球など、いづれも、予め管内の空気を取り除き、用途に応じたガスを封入し

たものである。名実共に、真空管は排気装置で極限まで排気され、残留空気を吸着により取り除くため、管内に封入されているゲッター (getter) が使用されている。

トランジスタが真空管に取りかわる前、大量生産されていた受信用真空管等は、通常の排気装置、つまり、油回転真空ポンプと油拡散ポンプを用い、 $10^{-6}$  mmHg 程度の圧力まで管内を排気し、それ以下の圧力にするためゲッターが用いられた。現在、電子工学的立場での、例えば、半導体薄膜などの研究に用いられている超高真空装置では、ゲッターアイオンポンプ (getter ion pump) が利用され、 $10^{-12}$  mmHg 以下の圧力までの高い真空度が得られている。<sup>2)</sup> 表2に初期の真空ポンプとその発明者をあげた。

表2. 初期の真空ポンプと発明者

年代	発明者	真空ポンプの種類
1643	トリチエリー	トリチエリーの真空を作った
—	テブラー	テブラー型水銀ポンプの発明
1905	ゲーデ	水銀回転真空ポンプの発明
1915	ゲーデ	水銀拡散真空ポンプの発明
1920	ゲーデ	油回転真空ポンプの発明
1923	ゲーデ	三段式水銀拡散真空ポンプの発明
1929	バルヒ	油拡散真空ポンプの発明*

\* バルヒ, C. R. Burch, Proc. Roy. Soc. London A, Vol. 123, 271 (1929).

初期の真空ポンプは、有名なトリチエリーの真空を繰り返しつくることによって排気するテブラー (Töpler) 型の水銀ポンプであって、上に述べた油回転ポンプや油拡散ポンプが発明されたのは、いづれも1920年以後であって、19世紀の後半からその頃までは、真空を作ることは極めて困難な仕事であった。J. J. トムソンが初めて、陰極より出る粒子を電子と名付けたのは1897年であるから、それまでの研究に用いた真空が極めて悪い真空度であったことが推察される。

少なくとも、19世紀後半における真空を用いた研究では、表2からも判るように、容器内の水銀蒸気の存在は否定できない。エジソンが炭素フィラメントを用い発明した白熱電球の球内の、フィラメントの陰極端側から陽極端側の間で、一定電圧の下で或る青みを帯びた輝きを生じることを見たのは1883年の事である。この輝きがフィラメントを流れる電流とは別で逆方向のものである事を知った。これがエジソン効果と呼ばれるものである。<sup>3)</sup> この現象が1903年、リチャードソンによって理論づけられた熱電子放出現象である。<sup>4)</sup>

他方、光電子放出現象は、1887年、ヘルツによって発見された。熱電子放出は熱せられた金属表面から真空中に電子が放出され、陽極との間で電流が流れる事であるが、光電子放出は室温にある陰極の金属表面に光をあてると電子が放出され、真空中を陽極との間で電流が流れる現象であって、この二つの現象の発見は、J. J. トムソンが、陰極線は荷電粒子の流れであり、電子の流れであると提唱するより10年以上も前の事であった。さらに、光電子放出効果は光により金属表面から真空中に放出される荷電粒子の流れによるものとし、光の粒子性と関係づけたのがアンシュタインの光電方程式である。<sup>5)</sup>

さて、表1と表2を比較してみると判るように、1852年、グローブが放電管の陰極附近の金属薄膜による汚れを発見して以後、1905年、ゲーデが水銀回転真空ポンプを発明するまでの50年間、真空容器を用いた電気的現象の研究、つまり、放電現象、光電子放出現象、および、熱電子放出現象など、現在のエレクトロニクスの基礎となった諸現象の研究は、真空と云う状態とは云うものの、その不完全のため如何に困難なものであったかが推測できる。図2はゲーデ型の油回転真空ポンプ、また、図3はゲーデの水銀蒸気拡散ポンプを原理的に示したものである。

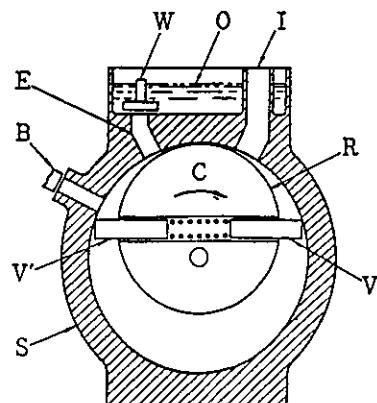


図2. ゲーデ型回転真空ポンプ

S : ステー, R : ローター, I : 吸気口, E : 排気口, V, V' : 羽根, B : バラスト弁, O : 真空油, C : 接点, W : 排気弁

現在の電子工業で使用している排気装置は、前に述べたように、油回転真空ポンプと油拡散真空ポンプが主体であるが、工業的に使用できる排気装置ができたのは、

1920年の前者、1929年の後者の発明以後であることになる。この事は、初期の真空管の熱陰極が金属であり、1910年から1913年の間に、アーノルドとクーリッジが独立に発明した酸化物熱陰極の出現により、真空管が初めて電子管として急速な進歩を始めた事に類似している。

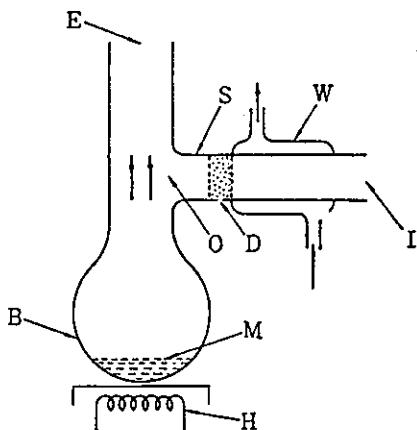


図3. ゲーデの水銀拡散ポンプ原理図

B : ボイラー, M : 水銀, H : ヒーター,  
S : 側管, O : 開口部, E : 排気口, I :  
吸気口, D : ダイヤフラム, W : 冷却器

#### 4. 電子管の進歩とエレクトロニクスの発端

電子と云う言葉を初めて用いたのは J. J. トムソンであって、陰極線が負の電気を帯びた粒子の流れであると述べたのはキャベンディッシュ物理学会での報告で、1897年の事である。それまでは、ヒットルフが、1869年、真空管の負電極から流れ出る線上に障害物を置くと青い発光をしている管壁にその影がうつるが、その様な影は障害物を正の電極の前に置いても出来ないを見出した事から、その線は光と同様のものと考えられていた。<sup>6)</sup> 今もって陰極線と呼ばれているのはこのためであろう。

しかしながら、放電管を強力な磁石の磁極の間に置くと、陰極線が曲げられる事を発見したのは、クルックスとバーリーで、1879年の事である。光、つまり、電磁波は磁界により偏向しないので、陰極線は荷電粒子から成るのではないかと考えるようになった。J. J. トムソンがこの陰極線の速度を決定するために行った実験が、同時に電界と磁界を加えた有名な  $e/m$  の実験である。

トムソンは電界と磁界の存在により陰極線が曲げられる事から、陰極線は粒子からなるとし、その電荷、 $e$  と質

量、 $m$  との比、 $e/m$  の値が水素原子のその比の約1800倍である事を発見した。これが陰極線を電子と名付ける粒子の流れ、粒子線であるとした初めての報告であって、それは負の電荷を持つ極めて軽い粒子からなるとした。プラウンが陰極線オシロスコープを発明したのも、トムソンと同じ1897年の事である。

プラウン管は、今なお、CRT (cathode ray tube) と呼ばれているが、そのよって来るところは、19世紀の終り頃、世界の科学者達が陰極線に大きな関心を持ち研究した事のためであって、トムソンの実験以後は、真空管、つまり、電子管の研究は陰極、および、その材料の研究に向い、また、二極管から三極管の研究へ発展した。二極真空管の発明は、1904年、フレミングによって、三極真空管は、1907年、フォレストによって発明され、さらに、四極管、多極管へと発展した。

1939年以前はエレクトロニックと云う形容詞は物理学者の間で使われ、電子そのものとその性質を述べるために用いられた。エレクトロニクスと云う言葉は1940年代に入って、真空管と光電管のような電子管をラジオ以外の用途に利用する場合に使われるようになり、エレクトロニクス産業は二次大戦の進展と共に急激に発達した。

電子管として、現在の電子管工業の基礎を作ったのは、二極管、つまり、整流管と陰極線管であるが、熱陰極より放出される自由電子の作用によって動作する最初の電子管、電子デバイスを発明したのは、先に述べたフレミングである。フレミングはエジソン効果を利用して無線通信用の整流装置の改良を試みた。つまり、二極真空管の負の電極を白熱すると、電子が陽極に向かい連続的に流れる事を知った。フレミングが整流管の特許をとったのが1904年のことである。

三極真空管とその增幅作用、および、それを利用した発振回路の発明はフォレストである、1907年のことである。二極真空管の両電極の間に格子形をした第三の電極を入れ、その格子電極を陰極に対して正にするか、負にするかによって、陰極、陽極間を流れる電流を制御できる事を発見した。さらに、1912年、この真空管を何段も接続し、一つの真空管の出力を次の真空管の入力に接続したとき、一本の真空管で得られるより遙かに大きい出力が得られる增幅作用がある事を知った。

フォレストが使用した真空管の陰極は金属タンタルであって、無線通信機に当時、使用されていた火花発振器の代りにこれが利用できる事を示したが、アーノルド、クーリッジ、および、ラングミュアはそれぞれ、独立にタンゲステン陰極、および、酸化物陰極を利用し、安定

度の高い真空管を発明した。1910年から1913年の事で、ラザーフォードが太陽系の惑星運動から類推し、原子核のまわりの軌道を電子が廻る原子模型を提案したのが1911年、それを用いボアが古典量子論を考え提案したのは、1913年の事であった。

### 5. あとがき

19世紀の前半にスタートした現在の電子工学、あるいは、電子工業につながる研究は、19世紀の後半で終り、それらの基礎となる真空管と真空中での電子の振舞いにつき、およその見当がついた。しかし、真空技術の進歩がおそらく、真空管の進歩を如何に遅らせていたかは明らかである。科学技術の発達のためには、材料とそれに関する技術の研究が如何に重要な鍵を握っているかが判る。

近代電子工業の発展は真空装置の発達に負うものであるが、残念ながら、1929年、バルヒが油拡散真空ポンプを発明するまでは、工業的には極めて不合理、不便な排気装置でしかなかった。それは水銀蒸気の存在を避ける事が難かしかったからである。云いかえると、室温における蒸気圧の低い真空ポンプ用の油が開発され、初めて、工業的規模での排気装置が出来たことになる。油拡散ポンプに使用される真空油の25°Cにおける蒸気圧は水銀の室温における蒸気圧より5桁も低く、 $10^{-8}$ mmHg程度である。<sup>7)</sup>

他方、真空中における電子の振舞いを人為的に制御する事に成功し、真空管と真空管工業が発達し通信機や計算機を含め、現在の広範囲のエレクトロニクス産業に発

達したが、それは、電子管の、主として、受信管の微細化からME(micro-miniaturization)が進展し、他方、固体の中での電子の振舞いを制御する事が人為的に可能となり、トランジスタの発明となつたためである。

固体電子デバイスは、固体中の電子やイオンの振舞いを制御する事が可能となった結果であるが、その端緒は固体のダイオード、次いで、トリオード、つまり、トランジスタが発明された1948年より20年も前の事である。さらに、固体の中で半導体としての特徴的性質を持つ事を始めて発見したのは、ファラデーであって、トランジスタの発明に先立つこと100年余り、1833年の事である。

現在のエレクトロニクスは、電子デバイス全般、つまり、電子管、半導体デバイスとも、その進歩は飽和しつつあるように思えるが、今後の電子デバイスの発展を期待するトスレバ、これまで述べてきた事でも判るように、材料やその製造に関する技術の進歩が先行しなければならない事は明らかである。

### 参考文献

- 1) 三宅清司、『薄膜の基礎技術』、p. 144、朝倉書店、東京、(1968).
- 2) 三宅清司、文献1) の p. 80.
- 3) S. ハンデル著、齊藤忠夫訳、『明日をひらくエレクトロニクス』p. 72、講談社、東京、(1971).
- 4) C. L. Hemenway, et al., "Physical Electronics", p. 62, John Wiley & Sons Inc., Toppan Company, LTD, Tokyo, (1967).
- 5) 三宅清司、『光電素子とその応用』、p. 10、朝倉書店、東京、(1966).
- 6) S. ハンデル著、齊藤忠夫訳、文献3) の p. 34.
- 7) 三宅清司、文献1) の p. 89.

## 大牟田新工場本格稼働

### 半導体産業新時代のニーズに即応

わが国半導体業界の技術革新は、更に高集積化の方向に進みつつあり、当社は電子工業用薬品のトップメーカーとして、半導体業界のニーズに対応しております。このほど九州地区ユーザーへの生産・供給拠点である大牟田工場のスクランプ・アンド・ビルトによる増強が完成、ユーザーの技術革新に即応した最新鋭工場として生まれ変わり、本格稼働を開始しました。



# 水質試験用試薬

*Reagents for Water Analysis*



KANTO Reagents

## 新製品

## 新水質基準対応 水質試験用標準液

平成4年12月に水道法が改正され、平成5年12月より施行されることになりました。弊社では、新水質基準に対応した水質試験用標準液を発売致しました。

### 揮発性有機化合物(VOC)

◎新水道法では、揮発性有機化合物の分析にバージ・トラップ/GC-MS法、ヘッドスペース/GC-MS法が採用されました。

★基準項目16種混合標準原液、基準項目に監視項目7種を加えた23種混合標準原液。

★基準項目、監視項目の単一化合物標準原液。

[メタノール溶液]

製品番号	製品名	規格	包装
44076-96	揮発性有機化合物混合標準原液I (基準項目16種類)	水質試験用	2mℓ×5本
44077-96	揮発性有機化合物混合標準原液II (基準項目16種及監視項目7種類)	水質試験用	2mℓ×5本
05008-96	4-ブロモフルオロベンゼン標準原液 (内部標準原液)	水質試験用	2mℓ×5本

\*包装はすべてアンプル包装。濃度は1mg/mℓ。

### 金属

◎新水道法では、金属類の分析にICP法が採用されました。

★ICPによる一斉分析に対応。

製品番号	製品名	規格	包装
25937-23	金属類混合標準液I (0.1mol/l硝酸溶液) [Cd, Pb, Cr, Zn, Fe, Cu, Na, Mn: 100mg/l]	水質試験用	100ml
25938-23	金属類混合標準液II (0.1mol/l塩酸溶液) [Ca, Al: 20mg/l, Mg: 10mg/l]	水質試験用	100ml
25939-23	金属類混合標準液III (0.1mol/l硝酸溶液) [Cd: 8mg/l, Pb, Zn, Fe, Cu, Mn, Ni, Co: 10mg/l]	水質試験用	100ml
25940-23	金属類混合標準液IV (0.1mol/l硝酸溶液) [Mo: 20mg/l, Cr, V: 10mg/l]	水質試験用	100ml

### 陰・陽イオン

◎新水道法では、陰・陽イオンの分析にイオンクロマトグラフィー法が採用されました。

★イオンクロマトグラフィーによる一斉分析に対応。

★単一イオン標準液。

製品番号	製品名	規格	包装
01849-96	陰イオン混合標準液I (Cl <sup>-</sup> : 0.008, F <sup>-</sup> : 0.004, NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> : 0.01, NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> : 0.01, PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> : 0.02, SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> : 0.02mg/ml)	イオンクロマート グラフィー用	50ml
01850-96	陰イオン混合標準液II (Cl <sup>-</sup> : 2.0, F <sup>-</sup> : 0.5, NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> : 0.2, NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> : 0.1mg/ml)	イオンクロマート グラフィー用	50ml
01851-96	陰イオン混合標準液III (Br <sup>-</sup> : 0.5, Cl <sup>-</sup> : 0.1, NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> : 0.5, NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> : 0.5, SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> : 1.0mg/ml)	イオンクロマート グラフィー用	5ml×5本
01853-96	アルカリ金属元素-アソニウムイオン混合標準液 (K <sup>+</sup> : 0.1, NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> : 0.1, Na <sup>+</sup> : 0.1mg/ml)	イオンクロマート グラフィー用	50ml

\*陰イオン混合標準液IIIの包装形態は、アンプル包装。

詳しくはパンフレットをご請求ください。

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(3563)7631  
〒541 大阪市中央区瓦町2-5-1 06(222)2796  
〒812 福岡市博多区山王1-1-32 博多堀池ビル 092(414)9361

# 順相 HPLC における移動相への水添加効果について —実験例を中心に—

東京薬科大学 助教授 薬学博士 田刀 彰  
〃 〃 〃 田部井 克己

HPLC に代表される液体クロマトグラ法は分析化学、薬物学、生化学、衛生化学、天然物化学、有機化学などの広い分野で定量分析、混合物の分離・精製、定性分析などに汎用されており、たとえば薬局方や衛生試験法などの公定書にも有力な試験法として規定されている。

液体クロマトグラ法にはシリカゲルなどを固定相とし有機溶媒を移動相とする順相系と、ODS-シリカゲルなどを固定相とし水を含む極性溶媒を移動相とする逆相系がある。薬学、生化学、衛生化学あるいは医薬品分析などの分野では、対象とする化合物が親水性の高いものが多いことから主として逆相系 HPLC が使用されており、一方、天然物化学や有機化学の分野では親油性のものも多いことから順相系 HPLC も汎用されている。

著者等は十年来、薬科大学の有機化学実習において液体クロマトグラフィーの基礎理論と実験法を教育しており、簡単な有機化合物混合系を対象に、シリカゲルカラムと n-ヘキサンと酢酸エチル、アセトンあるいはジクロロメタン等からなる混合溶媒を移動相とする順相 HPLC による分離実験を演示課題に取り上げてきた。<sup>1)</sup>

この間、順相 HPLC の移動相に微量の水を添加することにより、分離度を著しく改良できる事例を幾つか報告してきた。しかし、順相系 HPLC 系の展開溶媒に水を添加することに対して懐疑的な同学の士が多く、学会発表の折など問い合わせが多くあった。そこで、本誌編集委員からのお薦めもあり、順相 HPLC の移動相への水添加による分離度の改良について紹介させて戴くことにした。

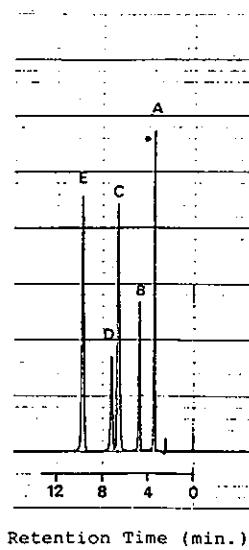
本報の実験は特に記載があるものを除き、いずれも LiChrosorb Si-60(5 μm) ステンレスカラム(4×250mm) と草野科学 KPW-14 HPLC 装置、UVILOG-III UV 検出器を用い試料注入量は 10 μl、展開速度 1.0 ml/min、測定温度 22°C で行なった。なお、当初の目標が学生実習における演示実験であったため、実験に供した化合物がいずれも教科書的なものである点は御了承戴きたい。

## 1. シリカゲル順相 HPLC の移動相への水添加による分離度の改良

—ニトロフェノール混合物の分離例<sup>2)</sup>—

本誌 143 号に記載したカラム内ニトロ化反応<sup>3)</sup>の検討過程において、ニトロ化生成物の分離と定量をシリカゲルカラムを用いる順相 HPLC 法で行なった。まず、n-ヘキサン：酢酸エチル(75:25) 混合液を移動相として、フェノール、o-, m-, p-ニトロフェノールおよび 2, 4-ジニトロフェノールの混合物の分離を試みたが、p-, m-

図 1. フェノール及びニトロフェノール混合物のクロマトグラム



Retention Time (min.)

移動相 : n-hexane:EtOAc:H<sub>2</sub>O-saturated EtOAc:AcOH  
(75:20:5:0.3)

- ピーク A : o-nitrophenol ( $k'$ =0.39)
- B : phenol ( $k'$ =0.97)
- C : 2, 4-dinitrophenol ( $k'$ =1.76)
- D : m-nitrophenol ( $k'$ =2.00)
- E : p-nitrophenol ( $k'$ =3.14)

ニトロフェノールおよび2,4ジニトロフェノールのピークが巾広く重なって現われた。次に移動相に微量の酢酸を添加したn-ヘキサン：酢酸エチル：酢酸(75:25:0.3)混合液を移動相に用いたところ、テーリングは解消されたが依然としてm-ニトロフェノールと2,4ジニトロフェノールのピークが重なって分離できなかった。

そこで、当時順相系クロマトグラフィーの移動相に積極的に水を添加して分離度を改良していた本学原名譽教授の示唆を受けて、我々も上記の移動相に水を飽和させた系を試みたところ、図1のような満足すべきクロマトグラムが得られた。

当初は水飽和酢酸エチルを用意し、n-ヘキサン、酢酸エチル、水飽和酢酸エチル：酢酸を75:20:5:0.3の容積比で混合したが、その後、測定温度の下では、n-ヘキサン：酢酸エチル(75:25)混合液には0.15%以上の水は溶けきれず水滴が分離するので、n-ヘキサン：酢酸エチル：水(75:25:0.15)混合液が水飽和状態に相当することが判った。

## 2. 水添加によるピークテーリングの解消

### —置換フェノール類の分離例<sup>4)</sup>—

ニトロフェノール類の分離定量の際、移動相への酢酸と水の添加によりテーリングが解消した例を述べたが、

n-ヘキサン：酢酸エチル混合液に水を添加するのみでピークテーリングを消失させた実験例として、フェノールおよび9種類のp-置換フェノール混合物の分離実験例を示す。実験に供した化合物はフェノール、p-エチルフェノール、p-クロロフェノール、p-メトキシフェノール、p-オキシ安息香酸メチル、p-ニトロフェノール、p-オキシベンズアルデヒド、p-オキシアセトフェノン、p-オキシベンゾニトリルおよびハイドロキノンの10種類である。これらのフェノール類を酢酸エチルに溶かし、試料溶液とした。なお、濃度はピーク高が揃うように調整した。

シリカゲル表面の水分を除去するため、まず、無水メタノールを30分間流し、次いで無水のn-ヘキサン：酢酸エチル(75:25)混合液を1時間以上流してカラムを安定化させた。この展開条件下でフェノール類の混合溶液を10μl注入し、無水のn-ヘキサン：酢酸エチル(75:25)混合液を用いて展開すると、図2aのように、p-ニトロフェノール、p-オキシベンゾニトリル、p-オキシアセトフェノン、p-オキシベンズアルデヒドおよびハイドロキノンのピークは大きくテーリングし、また一部のピークが重なって分離度がわるい。新品のシリカゲルカラムを用いた場合にもこれと類似のクロマトグラムが得られる。

次に、カラムに水飽和酢酸エチルを2時間流して固定

表1. フェノール類のキャパシティーファクター及びテーリングファクターに及ぼす移動相への水添加の効果

Phenol RC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> OH R =	k' and T for various eluents A-E <sup>a)</sup>									
	A		B		C		D		E	
	k'	T	k'	T	k'	T	k'	T	k'	T
p-CH <sub>3</sub>	0.70	1.13	0.90	1.01	0.92	1.01	0.95	1.00	0.89	1.00
p-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	0.63	1.00	0.71	1.00	0.75	1.00	0.76	1.00	0.82	1.00
H	0.73	1.06	0.82	1.00	1.00	1.00	1.05	1.00	1.10	1.00
p-Cl	0.86	1.67	1.18	1.06	1.25	1.02	1.28	1.02	1.12	1.00
p-Br	0.97	1.67	1.18	1.01	1.26	1.01	1.26	1.01	1.18	1.00
p-C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	0.99	1.04	1.28	1.01	1.32	1.01	1.34	1.01	1.19	1.00
p-OCH <sub>3</sub>	1.44	1.23	1.73	1.06	1.80	1.00	1.87	1.00	1.70	1.00
p-COOCH <sub>3</sub>	1.72	1.93	2.28	1.18	2.62	1.00	2.65	1.00	2.51	1.00
p-COOC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	1.34	1.81	1.92	1.09	2.19	1.01	2.22	1.00	2.07	1.00
p-CN	2.66	4.45	3.22	3.06	3.76	1.46	3.83	1.18	3.56	1.00
p-NO <sub>2</sub>	2.88	5.06	3.05	2.92	3.38	1.54	3.41	1.07	2.93	1.00
p-CHO	3.25	2.79	3.67	2.00	4.16	1.14	4.17	1.03	3.88	1.00
p-COCH <sub>3</sub>	3.57	2.62	4.31	1.86	4.83	1.27	5.04	1.19	4.61	1.00
p-OH	4.29	2.53	5.53	1.71	7.58	1.29	7.98	1.06	8.09	1.00
m-CH <sub>3</sub>	0.66	1.00	0.86	1.00	0.91	1.00	0.93	1.00	0.82	1.00
m-NO <sub>2</sub>	1.88	2.59	1.96	2.38	2.17	1.05	2.17	1.04	1.86	1.00

a) A: n-hexane: AcOEt (75:25).

B: n-hexane: AcOEt: H<sub>2</sub>O (75:25:0.05).

C: n-hexane: AcOEt: H<sub>2</sub>O (75:25:0.10).

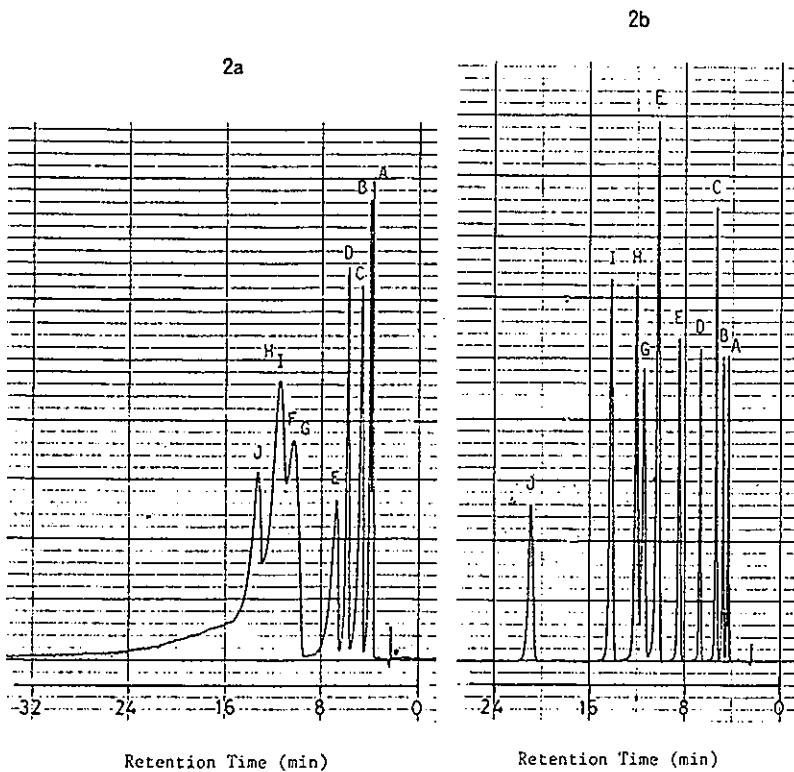
D: n-hexane: AcOEt: H<sub>2</sub>O (75:25:0.15).

E: n-hexane: AcOEt: H<sub>2</sub>O: AcOH (75:25:0.15:0.3).

相の表面に水を飽和するまで吸着させ、移動相として n-ヘキサン：酢酸エチル（75：25）混合液に水を少量づつ添加した溶媒系 A～D、および酢酸を触媒量加えた溶媒系 E を用いてクロマトグラムの改良を試みた。これらの移動相 A～E を用いて展開した場合の16種類のフェノール誘導体の各キャパシティーファクター  $k'$  およびテーリングファクター  $T$  を表 1 に掲げる。

水の添加量が増加するにつれて、 $T$  値が 1 に収斂する様子が良く分かる。n-ヘキサン：酢酸エチル：水（75：25：0.15）混合液を用いて展開したクロマトグラムを図 2 b に示す。なお、溶媒 E を用いた際に最も良好なクロマトグラムが得られた。移動相への水の添加量が増すと、ブロードなピークからテーリングが見事に消失し、同時に各ピークの分離度がよくなることがわかる。

図 2. フェノール及び置換フェノール類混合物のクロマトグラム



2a : 無水展開溶媒を用いた場合

2b : 水飽和溶媒を用いた場合

ピーカ A : p-ethylphenol	B : phenol	C : p-chlorophenol
D : p-methoxyphenol	E : methyl p-hydroxybenzoate	
F : p-nitrophenol	G : p-hydroxybenzonitrile	
H : p-hydroxybenzaldehyde	I : p-hydroxyacetophenone	
J : hydroquinone		

### 3. 水飽和シリカゲルカラムを用い無水溶媒で展開するとクロマトグラムはどう変わるか？<sup>5)</sup>

前節では無水の移動相に加える水分の量を増やしてゆく際にフェノール混合物のクロマトグラムがどのように改良されるかを検討したが、本節では逆に、あらかじめ表面に水分を飽和吸着させたシリカゲルカラムを用い、

無水 n-ヘキサン：酢酸エチル（75：25）混合液で展開し、フェノール混合物のクロマトグラムがどう変わるかを観察した。

含水溶媒でシリカゲル表面に水分子層を飽和状態に形成させたカラムを用い、n-ヘキサン：酢酸エチル：水（75：25：0.15）混合液で、フェノール混合物を展開す

ると、図3aのクロマトグラムが得られた。なお、これは前節にて示した図2bのクロマトグラムに相当する。

次に、移動相を無水のn-ヘキサン：酢酸エチル(75:25)混合液に変換し、0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 6, 24, 48時間経過時にクロマトグラムを記録した。

移動相を上記の無水溶媒に変えると、シリカゲル表面を覆っていた水分は移動相中の酢酸エチルに溶け込んで徐々に失われ、固定相の性能が劣化してくる。このため、極性の強いフェノール類の保持時間が短くなって全体にピークの分離が悪くなり、テーリングも現れてくる。移動相を無水溶媒に変換後、30分(図3b), 1時間(図3c), 2時間(図3d)および48時間(図3e)経過時のクロマトグラムを比較すると経時的な変遷がよくわかる。

2時間後のクロマトグラムでは、p-ニトロフェノール、p-ヒドロキシベンゾトリル、p-ヒドロキシベンズアルデヒド、p-ヒドロキシアセトフェノン、ハイドロキノンなどのピークが重なり、テーリングも無視できない程度に悪くなっている。2時間後のクロマトグラムと48時間後のそれに殆ど差が認められないことから、シリカゲル表面の水分子のうち、無水溶媒を流すことによって取り

去ることができる水分は2時間で全て除去されたと考えられる。そして最後まで残った水分は恐らく単分子層としてシリカゲル表面を覆い、Kleinによる「水和されたシラノール構造」を形成していると考えられる。<sup>6)</sup>

シラノール基と水素結合したこの水分子層が吸着サイトとして働く最小量に相当し、それより水分子層が厚くなる条件では吸着作用の他に分配現象も加味され、分離度の向上に寄与するものと考えられる。

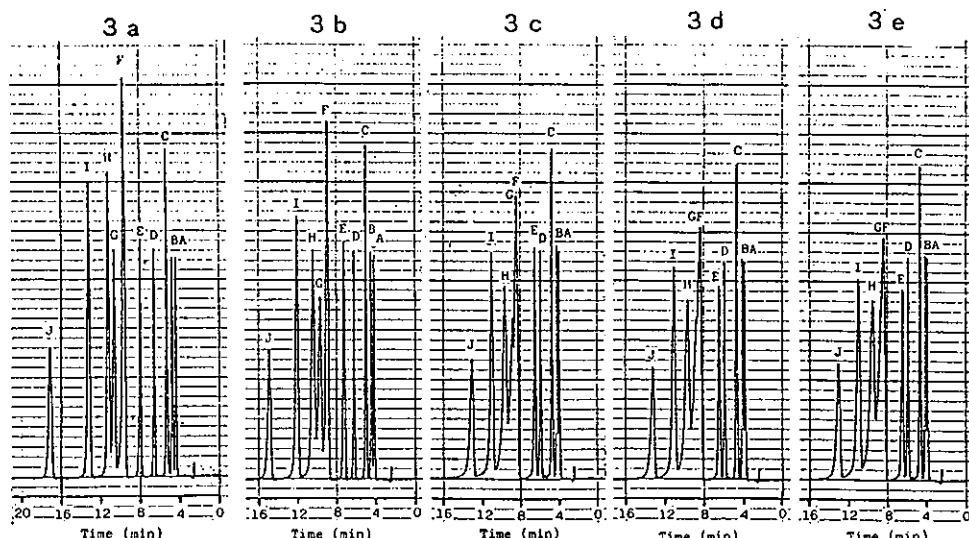
なお、シリカゲル表面の含水量が限界まで除去され、平衡状態に達した場合のクロマトグラムは、移動相として、n-ヘキサン：酢酸エチル：水(75:25:0.045)混合液を用いた場合のクロマトグラムに一致している。

#### 4. アニリン、ニトロベンゼン、フェノールおよびサリチル酸混合物の分離<sup>7)</sup>

n-ヘキサン：酢酸エチル(75:25)混合溶媒に少量の水と酢酸を添加した例として、アニリン、サリチル酸、ニトロベンゼンおよびフェノール混合物の分離実験について述べる。

本例のごとき酸性、塩基性および中性化合物からなる

図3. シリカゲル表面の水分子層を除去するとクロマトグラムはどう変化するか?



a : n-hexane:EtOAc:H<sub>2</sub>O (75:25:0.15)で展開したクロマトグラム  
b : 溶媒を n-hexane:EtOAc(75:25)に変えて30分後のクロマトグラム  
c : 1時間後 d : 2時間後 e : 48時間後の各クロマトグラム

ピーク A : p-ethylphenol B : phenol C : p-chlorophenol D : p-methoxyphenol  
E : methyl p-hydroxybenzoate F : p-nitrophenol G : p-hydroxybenzonitrile  
H : p-hydroxybenzaldehyde I : p-hydroxyacetophenone J : hydroquinone

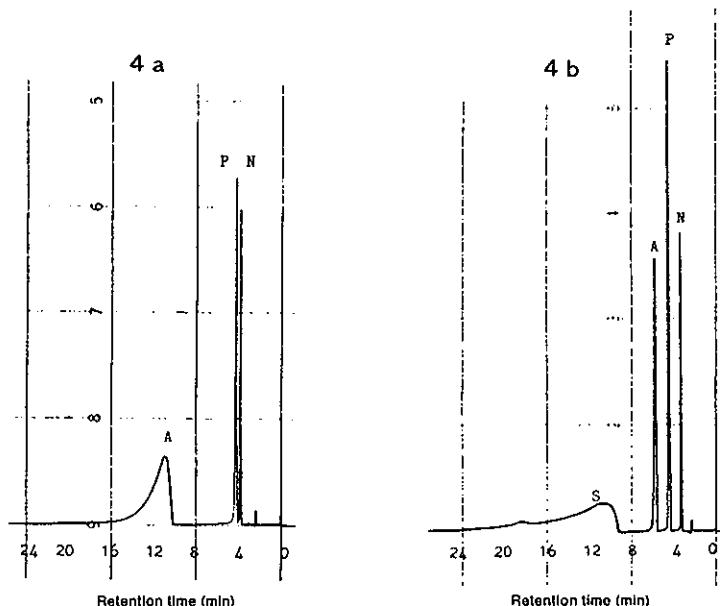
混合物の分離は一般に逆相 HPLC 法で行なわれているが、順相系 HPLC でグラジェントを掛けない限り、単一移動相だけを用いてはそう簡単には行かない。

**LiChrosorb Si-60** カラムと n-ヘキサン：酢酸エチル（75:25）混合液を用いて上記 4 化合物の混合物を展開すると、図 4 a に示すクロマトグラムが得られた。ここではニトロベンゼンとフェノールのピークはよく分離してい

るが、アニリンのピークは幅広いテーリングを示し、サリチル酸のピークは確認出来なかった。

次に n-ヘキサン：酢酸エチル：水（75:25:0.15）混合液を用いて展開するとアニリン、ニトロベンゼンおよびフェノールの各ピークはシャープになり分離度も極めてよくなり、更にブロードながらサリチル酸のピークが確認できた。（図 4 b）

図 4. アニリン (A), ニトロベンゼン (N), フェノール (P) およびサリチル酸 (S) 混合物の分離



a : n-hexane:EtOAc (75:25) で展開 [サリチル酸のピークは認められない]

b : n-hexane:EtOAc:H<sub>2</sub>O (75:25:0.15) で展開 [サリチル酸の幅広いピークが現われた]

酸性物質のピークを改良するため、常法に従い上記の移動相に 0.01~0.3 % の酢酸を添加しながらクロマトグラムの変化を追跡した。酢酸の添加量を増やすと、図 5 a ~ d に示すように、サリチル酸のピークがシャープになる。

酢酸の添加量が約 0.04% のところで、アニリンのピークとサリチル酸のピークが重なり、更に酢酸の添加量を増すと、両者の位置が逆転し、n-ヘキサン：酢酸エチル：水：酢酸（75:25:0.15:0.3）混合液を移動相として用いた場合に最も良好なクロマトグラムが得られた。酢酸の添加量を変えた際の各化合物ピークの  $k'$  値を図 6 に示す。

中性物質のニトロベンゼンや弱酸性物質のフェノールでは、酢酸の添加による  $k'$  値の大きな変化は認められ

ない。酸性物質のサリチル酸のピークは微量の酢酸を添加するだけで、 $k'$  値が大きく減少するが、0.1% 以上添加しても、もはや  $k'$  値に大きな変化は認められなかった。一方、塩基性物質であるアニリンの場合、酢酸の添加により  $k'$  値は添加量に比例してほぼ直線的に增加了。

なお、水を含まない n-ヘキサン：酢酸エチル：酢酸（75:25:0.3）混合液を移動相として用いた場合、アニリンはイオン化するためか、ピークが現われなかった。

図5. アニリン(A), ニトロベンゼン(N), フェノール(P)およびサリチル酸(S)混合物の分離において移動相に水および酢酸を添加した場合の分離度の変化

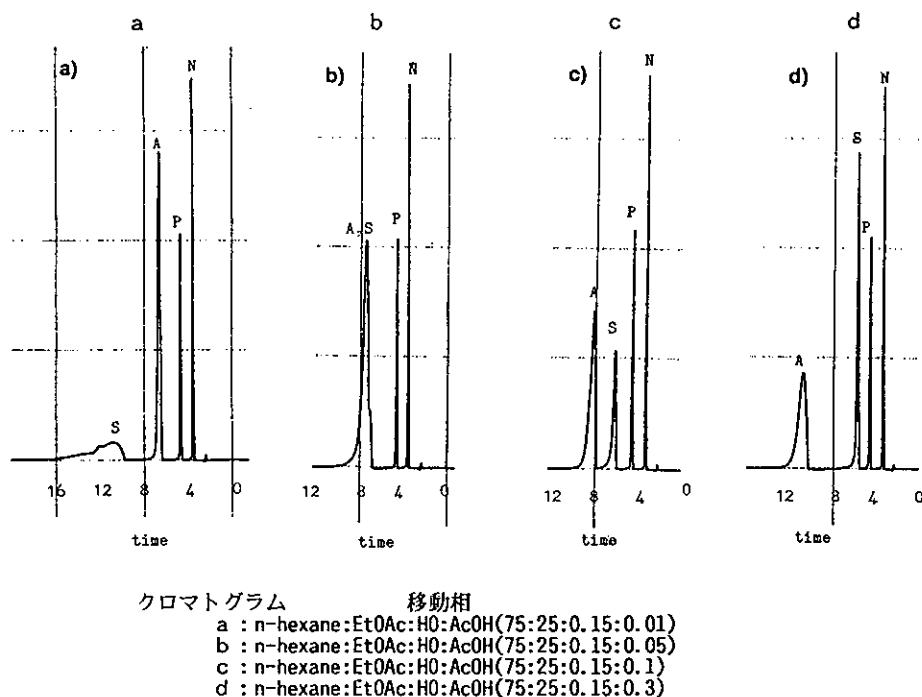
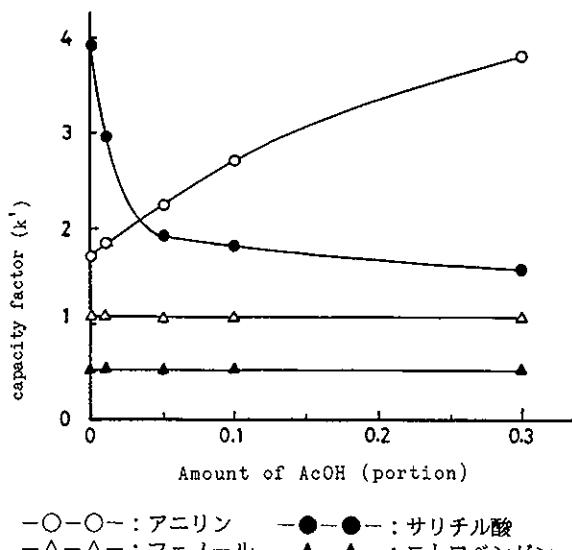


図6. アニリン(A), ニトロベンゼン(N), フェノール(P)およびサリチル酸(S)の $k'$ 値と移動相中の酢酸添加量の関係



##### 5. 脂肪族ケトンセミカルバゾンのシリカゲル順相HPLCによる分離<sup>8)</sup>

これまでにn-ヘキサン:酢酸エチル混合溶媒を用いた例ばかり示した。そこで他の溶媒系、ジクロロメタン又はクロロホルムとエタノールの混合液に水および酢酸を添加した系を用いてケトンセミカルバゾンの混合物を分離した実験例について述べる。

10種類の脂肪族ケトン類、8種類の脂環族ケトン類および芳香族ケトンとしてアセトフェノンおよびプロピオフェノンについて、それぞれ常法により対応するセミカルバゾンを合成し、それらのシリカゲルカラム HPLCに対する挙動を検討した。なお、このHPLCにおいては、水飽和ハロゲン系溶媒の使用がテーリング解消に不可欠であったため、すべて水飽和ジクロロメタンまたは水飽和クロロホルムを用い、これらに少量のエタノールと酢酸を加え4種類の移動相を用意した。これらの移動相を用い、20種類のセミカルバゾンの $k'$ 値を求めた。(表2)

簡単なメチルアルキルケトン類およびシクロアルカノン類のセミカルバゾン混合物のクロマトグラムを図7a, bに示す。炭素数の少ない低級ケトンセミカルバゾンの

表2. シリカゲルカラム／水飽和  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  又は  $\text{CHCl}_3$  系溶媒を用いた順相 HPLC におけるケトンセミカルバゾン類の  $k'$  値

Starting ketone	Semi-carbazone [mp (°C)]	K' for Various Eluents A-D <sup>a)</sup>			
		A	B	C	D
Acetone	[187]	3.78	4.60	7.64	4.36
Methyl ethyl ketone	[145]	2.51	3.36	5.46	3.06
Methyl n-propyl ketone	[109]	2.27	2.96	4.86	2.36
Methyl isopropyl ketone	[110]	2.18	2.87	4.67	2.46
Diethyl ketone	[139]	2.05	2.73	4.40	2.15
Methyl n-butyl ketone	[121]	2.07	2.73	4.31	2.18
Methyl sec-butyl ketone	[96]	1.91	2.64	4.31	2.15
Methyl tert-butyl ketone	[157]	1.76	2.35	3.89	1.91
Methyl isobutyl ketone	[132]	2.00	2.69	4.40	2.18
Di-n-propyl ketone	[133]	1.42	2.00	3.15	1.55
Cyclopentanone	[205]	3.89	4.35	7.13	3.58
Cyclohexanone	[166]	2.69	3.40	5.47	2.91
Cycloheptanone	[163]	2.31	2.85	4.51	2.22
2-Methylcyclohexanone	[194]	1.93	2.51	4.00	1.96
3-Methylcyclohexanone	[178]	2.56	3.09	4.95	2.55
4-Methylcyclohexanone	[197]	2.51	3.09	5.00	2.60
2,6-Dimethylcyclohexanone	[184]	1.63	2.00	3.31	1.60
Cyclooctanone	[164]	2.22	2.65	4.18	1.87
Acetophenone	[198]	1.73	1.95	3.40	1.91
Propiophenone	[174]	1.42	1.82	2.82	1.55

a) A: water-saturated  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , EtOH, AcOH (97:2.7:0.3).

B: water-saturated  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , EtOH, AcOH (98:1.7:0.3).

C: water-saturated  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , EtOH, AcOH (98.5:1.3:0.2).

D: water-saturated  $\text{CHCl}_3$ , EtOH, AcOH (98.5:1.3:0.2).

ピークは未だ巾広く、ややテーリング傾向が認められるが、水飽和した移動相を用いないと、この程度に分離することすら出来ない。

さらに、原料ケトンの炭素数に対して、対応するセミカルバゾンの  $k'$  の対数値をプロットすると、脂肪族系と脂環状系について図8のような直線関係が得られた。

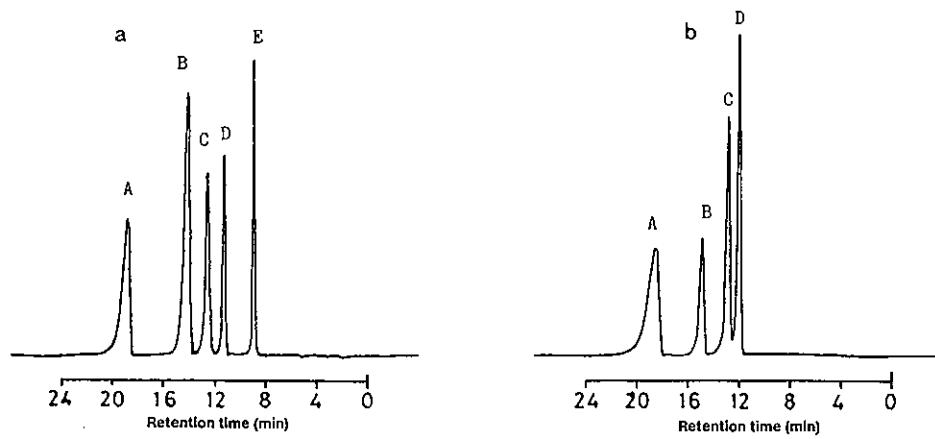
この結果はセミカルバゾン中のメチレン基の差が保持について、エネルギーの尺度で一定の差を生じさせていることが判る。n-アルカン類やn-アルキル脂肪酸におけるこのような直線関係は参考書等にも記載されており、移動相と固定相の間の試料の分配平衡に対応する自由エネルギー関係の成立を示している。

以上、LiChrosorb Si-60カラムとn-ヘキサンと酢酸エチルあるいは、ジクロロメタン又はクロロホルムとエタノールの混液を移動相とする順相HPLCにおいて、移動相に水を加えることが、分離度の向上やテーリングの解消にいかに有効であるか、実験例を中心紹介させて戴いた。

水の添加量は、たとえばn-ヘキサン：酢酸エチル(75:25)混合液に水を飽和させる場合でも、容積比で0.15%加えるに過ぎない。ジクロロメタンや脱アルコール処理したクロロホルムに水飽和した場合の水分含量も同程度である。

学会発表の際、「順相HPLCの移動相に加えた水分がシリカゲル等の固定相を劣化させるのでは?」とか「次

図7. ケトンセミカルバゾン混合物のクロマトグラム（温度：22°C）



a : メチルアルキルケトンセミカルバゾン  
A:acetone    B:methyl ethyl ketone  
C:methyl n-propyl ketone  
D:methyl sec-butyl ketone  
E:dim-propylketone

b :  $C_{5-8}$  シクロアルカノンセミカルバゾン  
A:cyclopentanone    B:cyclohexanone  
C:cycloheptanone    D:cyclooctanone

に無水条件で運転する場合の妨げになるのでは？」などの疑問の声に接することが多い。しかし、この点は全く問題がないばかりか、カラムの再生にも含水溶媒による処理が極めて有効である。すなわち、樹脂状物質等で汚れ性能劣化したシリカゲルカラムは、酢酸エチル又はメタノールで洗浄後、数%の水を含むメタノールを流してシリカゲル表面に水分子層を形成させることにより、カラム性能を完全に復旧できる。

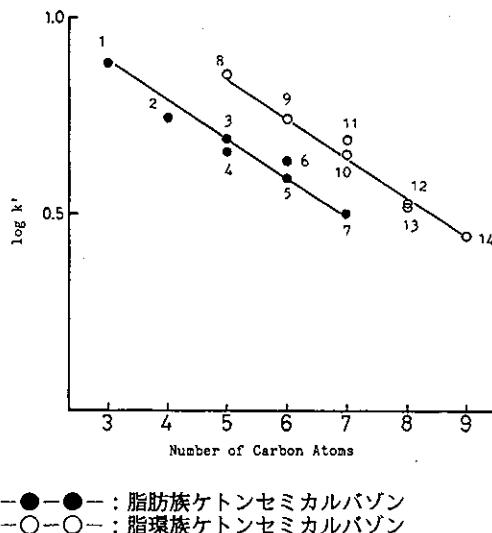
因みに、我々の研究室の LiChrosorb Si-60カラムは8年間約1,300検体を処理し、その間幾度となく上記の再生処理を行なっているが、理論段数の低下などの性能劣化は認められず、現在もなお使用中である。

順相系 HPLC は逆相系に比較して、カラムや展開溶媒の価格も割合安く、移動相の粘性が低いため展開速度も早く、ポンプ圧も低い。さらに緩衝液などの塩類を含む移動相を用いないため、カラムの保守も清浄も容易であるなど利点も多い。試料の性質によるとは云え、もっと順相 HPLC に光を当ててもよいのではないだろうか。

## 文 献

- 1) 功刀 彰, 田部井克己 化学と教育, 38, 204(1990).
- 2) A. Kunugi & K. Tabei, *J. HRC & CC*, 10, 624(1987).
- 3) 功刀 彰, 田部井克己 化学と教育, 35, 281(1987).
- 4) A. Kunugi & K. Tabei, *J. HRC & CC*, 12, 557(1989).
- 5) 功刀 彰, 田部井克己 東京薬科大学研究年報, 39, 1(1989).
- 6) P. D. Klein, *Anal. Chem.*, 34, 733(1962).
- 7) A. Kunugi & K. Tabei, *J. HRC*, 12, 59(1989).
- 8) A. Kunugi & K. Tabei, *J. HRC & CC*, 11, 600(1988).

図 8. ケトンの炭素数と対応するセミカルバゾン誘導体の  $\log k'$  値との直線関係



—●—●—: 脂肪族ケトンセミカルバゾン  
—○—○—: 脂環族ケトンセミカルバゾン

原料ケトン 1:acetone 2:methyl ethyl ketone  
3:methyl n-propyl ketone 4:methyl isopropyl ketone  
5:methyltert-butyl ketone 6:methyl n-butyl ketone  
7:di-n-propyl ketone 8:cyclopentanone 9:cyclohexanone  
10:cycloheptanone 11:3-methylcyclohexanone  
12:acetophenone 13:2,6-dimethylcyclohexanone  
14:propiophenone

## E. MERCK社の自信作ついに日本上陸!!

New

## Purospher® RP-18

—高純度シリカゲルにオクタデシル基(ODS)を化学修飾した充填剤です—

塩基性物質

配位化合物

Purospher® RP-18

抜群のピーク形状

詳細につきましては下記までお問い合わせください。



関東化学株式会社

試薬事業本部

本社/〒103 東京都中央区日本橋本町 3-2-8 ☎03(3663)7631

大阪/〒551 大阪市中央区瓦町 2-5-1 ☎06(222)2796

福岡/〒812 福岡市博多区山王1-1-32 博多堀池ビル ☎092(414)9361

# くすりの文化交流(27)

## —目薬のエピソード—

日本薬史学会 薬学博士 根本 曾代子

### めぐりあい

安政5年(1857)6月、幕府の井伊大老は死を決して、勅許を待たず、切迫する日米通商条約に続いて、英仏蘭露の4カ国と通商条約の調印を余儀なくされた。各国は大砲を備えた鋼鉄製の軍艦をもって迫り、風任せの日本の帆船は、未端微塵の惨状は火を見るより明らかであつた。

こうして、横浜、函館、長崎の3港を開くのを待ちかねて、貿易の巨利をもくろむ各国の商人たちが先を争つて乗り込んできた。

それらの巨利を目当ての外来者の中に、私財を投じてキリスト教布教のために、アメリカ人の宣教師で医師のヘボン J.C. Hepburn 夫妻が来訪した。Hepburn は日本流に“ヘボン”また“平文”と呼ばれた。

日本では当時キリスト教禁令(明治8年1875解禁)のため、神奈川在の成仏寺でもっぱら施療に従事した。

ヘボンの診察によると、周辺の漁民の多くは、まだ種痘が行われていないため、天然痘で命拾いした証拠に、3人に1人は顔にあばた(痘痕)があり、肺病と眼病患者が多く、できものだらけの頭が眼についたと、医薬や衛生状態の低劣を記録している。

ヘボン医師が最も困惑したのは、言葉が通じないことで、患者の愁訴を理解できず、診断にも影響を及ぼす配慮から、緊要な和英辞典の作成に有能な協力者を物色していた。

ヘボンは文久3年(1863)横浜居留地に移り、診療と英語塾を開設していたが、念願の和英辞典は優秀な協力者が見付からず、焦慮していた。

ヘボン医師の真摯な施療の義挙に感奮した友人が、念願の学識のある傑物の助力者を物色中、たまたま眼病を患っていた岸田吟香の逸材を知った。紹介によって、吟香は眼の治療を受けるとともに、辞典編纂に協力する契約が成立した。吟香はその年30歳であった。

### 吟香の生い立ち

岸田吟香は天保4年(1833)4月8日、美作国(岡山

県)井和村(津山藩)で、農業と酒造を営む家に生まれた。幼名は太郎、長じて銀次、吟香は別号。“銀公”と呼ばれたことに拠るといわれる。

銀次は生来の無類の好学心が旺盛で、父が放任するのを幸い、家業の手伝いもせず、読書や詩文の創作に熱中した。

当時は国学が次第に興隆してきたが、幕府の教学方針が、儒学(孔子を祖とする中国の伝統的な学問、いわゆる四書五経、一般に漢学と通称)を正学としたので、藩学も町村の寺小屋の教育方針も遵法したことは言うまでもない。

しかし、村の寺小屋では、良師も良書にも恵まれず、知識欲旺盛な銀次少年はいら立っていた。その願望は17歳の年に訪れた。時に嘉永3年(1850)、津山藩主が江戸詰の任期を終えて国入りした際、藩主に従って、儒者昌谷精溪が随伴した。

好機到来と早速入門して勉学に熱中した。師の昌谷精溪も、銀次の非凡な才能と熱意に対して、指導も懇篤に力を注いだ。2年余り、一心不乱の研学の歳月が流れた。師の昌谷精溪が江戸藩邸へ帰ると、矢も楯もたまらず、父母に懇願して、江戸へ勉学修業に旅立った。

### 反骨の儒者の試練

旧師昌谷精溪を頼って、江戸で勉学したい熱意を訴えると、精溪も銀次の学問探求の熱情に感じて、幕府儒官林大学頭の住み込みの塾生に斡旋の労を惜しまなかった。その上、旗本の子弟の勉学の相手をして学資を稼ぐ便法も与えた。更に銀次を雀躍させたのは、寄食先の林家の万巻の蔵書の閲讀を許されたことで、心を躍らせて知識の吸収にむさぼり読んだ。

こうした幸運も長くは続かなかった。23歳の安政2年(1855)12月2日、江戸市中は突如襲った大地震で、一瞬にして阿鼻叫喚の地獄と化した。赤坂溜池の林邸も倒壊し、身寄りのない塾生は、銀次もその一人で、寒氣と飢餓に震えながら、野宿を余儀なくされた。

ついに病魔に冒されたが、帰郷するにも路銀はなし、

人一倍負けん気の銀次も、病気と貧窮には身動きできず、「わが命数もこれまでか！」と観念した時、救いの神が現れた。

津山藩の兵学指南の知人が帰郷の際、自分が雇った奴隸に銀次を乗せて、自身は徒歩で付き添い、津山の実家まで無事に送り届けてくれた。人一倍気丈な銀次もこの時はばかりは、良友の厚い真情に感泣して深謝した。

両親の手厚い看護で全快すると、性徴りもなく江戸で学問を続けたいと主張したが、両親の猛反対で、近国ならば、ということで、大阪の儒者藤沢東駒の門下となった。

すでに儒者としての実力を体得した岸田銀次は、生地の津山藩の儒者としての地位を与えられて、藩主にも進講する実力を具有していた。しかし、天性の反骨精神から、開国に踏み切った佐幕派の津山藩に従属するのは、攘夷派の反骨の氣概が許さなかった。

藩の儒者としての要職をあっさり放棄して、伊勢崎の門人を訪ねたり、伊香保温泉勝地を周遊して、『伊香保沼考』を著わした。

その年、文久元年（1861）暮には江戸に戻り、間もなく31歳の新年を迎えると、儒者の英知に背を向けて、半天股引の職人に早変りした。左官屋の手伝をして、宵越しの金を持たぬ江戸っ子気分で、労銀を酒で豪さを晴らしていた。仲間から“銀公”と呼ばれたのがヒントで、『吟香』の雅号の由来といわれる。

反骨無頼の不摂生が崇って眼病を患い、さすがに心細くなり、友人の勧告に従って、横浜のヘボンの治療を受ける友好が結ばれた。

#### 和英辞典の創刊

ヘボンは念願の和英辞典編纂の有力な協力者にめぐりあったことに、心からの喜びを禁じ得なかった。ヘボンの施療を受ける患者は文盲が多く、多少文字を解しても、辞典編集には高度の学識が必要であった。

吟香はヘボンの懇切な治療を受けて、眼病が治癒するとともに、ヘボンの民族を超えた人類愛に感奮せざるを得なかった。今まで日本人同士で争った攘夷思想に背を向けるとともに、人類愛のために、ヘボンの宿願である和英辞典編集に積極的に協力する意欲を示した。

ヘボンも吟香の学殖の深いことを知って、初めて同志を得たことに歓喜した。しかし、辞典の出版は、日本にまだ設備がないので、上海で刊行予定を伝えた。吟香も以前から海外渡航の野望を抱いていたので、計画は実現に滑り出した。

吟香は昼は事典の編集に協力する一方、夜はアメリカ帰りのジョセフ彦（浜田彦藏）について、英語の研修に励み、ヘボンの信頼を深めた。

両氏が心血を注いでいる世界最初の和英辞典編纂の画期的な事業は、識者の間でも注目されていた。

特に关心と期待を寄せたのは、不慣れな外交折衝で、外国語の公文書の解説に途惑う幕府が着目した。

ヘボンは幕府からの辞典出版の申し出に喜び、吟香にも相談せずに快諾してしまった。編集に全力を傾注した吟香を無視したヘボンの措置に憤慨して、吟香は辞任した。

ヘボンはやむなく、代わりの助手を物色したが、一人として吟香に匹敵する適任者は見付からず、改めて吟香の学識を惜しむとともに、礼を失した非を悔やんだ。

そのうち幕府の存立が危ぶまれる切迫した情勢から、ヘボンの辞書編纂の契約も破棄せざるを得なかった。

ヘボンは目前の利に惑わされた非を悟り、人を介して吟香に心からの陳謝の意を表した。一徹な吟香は、とっさにヘボンの独断に立腹して離反したものの、世界的快挙に対する信念は、一時的な反抗の熱が冷めると、達成への意欲と理念が、ヘボンの最良の協力者の自信が募った。

こうして以前にも増して、両氏の火花の散るような熱情と信赖によって、事業は着々と順調に進行した。一語一語、ローマ字によって日本語を解説する、異邦人同士の異なる解説や理解を統一する吟香の学識ならではの自信と努力の結果と言えよう。

想像を超える苦難を経て、最初の「和英・英語辞書「和英語林集成」と、その基本となった「ヘボン式ローマ字」の原稿が完成した。時に慶応3年（1867）6月、年来の宿願であった上海へ吟香はヘボンと同行して、初めて見る近代式印刷機械によって、画期的な辞典が刊行された。

画期的な辞典によって、言葉や意志の通じない異民族が理解を助成する企画や構成が、いかに優れた叡智と労苦を要するものであるか、その困難な事業は当事者以外には実感が伝わらないが、人類に及ぼす至福は計り知れない。

特に伝道者としてのヘボンの喜びは想像に難くない。その感謝を込めて、絶大な協力者である吟香の勞に酬いる記念の品は、日本人に多い眼病者のために、眼薬の处方を贈った。“Zink 1. 水450”の処方は、ヘボンの予想を裏切らず、明治から大正にかけて、『岸田の目薬・精綺水』の名声は、日本から中国まで喧伝された。

Zink（硫酸亜鉛）に、精綺の字を当てたのは、當時蘭語で、硫酸亜鉛をシンキと称していたことから、吟香が“精綺水”と命名したといわれる。

#### 明治の偉材

上海で事典出版中にも、支那の各地を歴訪して見聞を

広めていた。

翌年帰国した時はすでに幕府は倒壊して、16歳の英明な明治天皇が親裁される近代国家形成の真っ最中であった。

慶應4年(1868)7月、江戸を東京と改称して帝都となり、9月、明治と改元された。吟香は時流に遅れじと、新聞港地として近代化の先端を行く横浜に開店する一方、東京に最初の日刊新聞を発刊して、自ら編集長として、取材、編集に才覚を發揮した。

当時、引札と称した広告の取材も抜かりなく、特に記念の「目薬・精綺水」の宣伝には力を入れた。

明治10年には文化の中心地銀座の一等地に精綺水本舗・樂善堂薬舗を新築した。樂善堂三薬として鎮溜飲、穩通丸、補善丸を始め、自家製薬剤を次々に売り出して繁盛に赴いた。

広告も特に印象的な精綺水は「眼病即癒」などと激賞している。更に才筆に物を言わせて、眼の構造や衛生論を平易に説いた啓蒙的な記事は、当時の低級な衛生知識に対する啓発的な感覚は好評であった。必然的に精綺水が目の薬として美人の要素の印象を与えた。

広告用の自画像は、銀座の人気男といわれる巨体にシルクハットの礼装で、ユーモアを漂わせているが、写真で見る実像は、和服で黒の被布姿の気品の眼光は、さすがに真理を見透す深遠が潜んでいる。

明治9年には著名な碩学の親友と語って、官内省の下賜金を基本金として、盲目、聾啞の不遇な児童を訓育する施設を創設した。

#### 〈編集後記〉

今夏は、長梅雨も影響してか昭和29年以来39年ぶりの記録という冷夏に見舞われました。稲作、農作物にも大きな被害がでているようですが最少限に止まることを願っております。

昨今の澄みきった空を眺めていると、いよいよ秋本番の到来を思われます。そこそこで聞こえる虫の音、たわわに実る果物等人びとの心を和ませてくれますが、改めて日本の四季の移り変りの素晴しさ、自然の力の偉大さに感銘しております。

今回は、高村、松原両先生の「微量過酸化水素のための定量用試薬の創製と応用」、三宅先生の「エレクトロニクスとその発展」、功刀、田部井先生の「順相HPLCにおける

明治14年には新聞界から退陣して、薬業に専念するとともに、上海に支店・樂善堂を設立した。その主旨は、日清両国間の親善を図る文化機関の役割を果たした。

日清戦争後は更に日清貿易研究所、東亜同文会等の文化施設を創設し、運営に努力したが、明治38年6月7日73歳の天寿が尽きた。



自画自讃の新聞広告の一例

る移動層への水添加効果について」と専門的な内容の研究に関する論説を、又、根本先生には引き続き「くすりの文化交流」で幕末の頃の目薬のエピソードについてご執筆賜り掲載させていただきました。厚くお詫び申し上げます。

本誌が今年最終の発行となります。来年もよろしくお引立下さいますようお願い申し上げます。〈山田記〉

#### 訂正とお詫び

THE CHEMICAL TIMES 1993年 No. 3 (通巻149号)

世界のキノコ切手 (水野 卓)

p.64の(84)と(89)は同種で(89)を削除、p.69の(142)はp.65の(93)と、(143)はp.64の(92)と同じもので発行国名はいずれもブルガリアでした。

謹んで、お詫びと訂正を致します。



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  
電話 (03) 3279-1751

編集責任者 山田 和夫 平成5年10月1日 発行