

THE KANTO CHEMICAL CO., INC. Cica CHEMICAL TIMES

2007 No.3(通巻205号)

ISSN 0285-2446

フッ素資源の環境持続型循環系構築を目指してー生体触媒を用いたフッ素化反応系の開発ー	岩井 伯隆 北爪 智哉	2
アモルファス金合金めっき	千田 一敬 加藤 勝	7
液体クロマトグラフィーの基礎技術(1)ー逆相クロマトグラフィーとカラムの選び方 その1ー	酒井 芳博	13
新・私の古生物誌(3)ークモの進化古生物学(その2)ー	福田 芳生	18
ドイツの切手に現れた科学者、技術者達(18)フリードリヒ・ヴェーラー	原田 馨	22
編集後記		24



フッ素資源の環境持続型循環系構築を目指して

Construction of sustainable recycling system for fluorine resources

— 生体触媒を用いたフッ素化反応系の開発 —

— *Development of bio-catalytic fluorination* —

東京工業大学・フロンティア創造共同研究センター 助教 岩井 伯隆

NORITAKA IWAI (Assistant Professor)

Tokyo Institute of Technology and Frontier Collaborative Research Center

東京工業大学・大学院生命理工学研究科 教授 北爪 智哉

TOMOYA KITAZUME (Professor)

Graduate School of Bioscience and Biotechnology, Tokyo Institute of Technology

1. はじめに

近年、資源の(とりわけ石油の)枯渇化が現実問題視されるなかで、あらゆる化成品の持続可能な循環系による物質生産体制の重要性が提起されてきている。簡潔に言えば、ゴミとなるものを出さないシステムを作ろうということである。この取り組みは燃料などにも考え方が波及しており、バイオエタノールなどによる植物由来天然資源を利用した燃料生産などが車社会に浸透しつつあるのは、肌身でも感じられることである。

ところで、我々の身の回りには実にたくさんのフッ素化合物が用いられていることをご存知だろうか？ フッ素と聞くと、一般には歯磨き粉に含まれたり、テフロンなどフライパンのコーティングに用いられていることぐらいしか思いつかないかもしれないが、代替フロンなどの冷媒や樹脂、ゴム、塗料、光ファイバー、液晶、半導体、農薬、医薬品、ガラスなどのコーティング剤として用いられるなど実に様々な分野で応用されている。そして、これらほとんど全ての製品が石油を原料とした炭化水素系化合物と無機フッ素化合物を原料として有機化学的に製造されているのである。

では、フッ素化合物は環境に配慮された循環型のプロセスが構築されているだろうか？ 当然、これらを社会に提供している企業は一定の環境配慮や安全性をクリアした上で製造していることは言うまでもないが、クリーンな循環型プロセスとして完成されたものか？ と言えば、それはまだ不十分な点も多い。

このような背景から我々は、より安全かつ環境に配慮されたプロセスとして生物由来の酵素機能を利用したフッ素

化合物循環プロセスの構築を目指している。これまで、フッ素化合物について生物機能を利用して合成・分解することはほとんどなされなかったが、これにはフッ素の独特な性質が障壁となっていたからである。次の章では、フッ素という物質がもたらす特徴について紹介していこう。

2. フッ素

フッ素は地球上(正確には地殻上)で13番目(クラーク数では、17番目)に多い原子であると言われており、この順位は他のハロゲン原子(塩素、臭素、ヨウ素)と比べても塩素(クラーク数:11番目)の次に当たり、その量は塩素の6分の1程度である¹⁾。しかし、海水中に存在するフッ化物イオンの濃度は塩化物イオンに比べて1万分の1にも満たないし、有機化合物として天然に存在するフッ素化合物はこれまでにたった13種類しか知られていない(図1)²⁾。ほとんどのフッ素は無機塩として岩石中に含まれており、表舞台には出てこないのである。この理由は何か？ 答えはフッ素が水に溶けにくいことに由来する。フッ素の電気陰性度は全元素中で最も高く、それゆえに強力な求核剤として振舞う。イオン状態であれば、カルシウムなどと強固に結合し無機塩となってしまう。また、一方で水に溶けたフッ化物イオンは強い溶媒和を引き起こすため、反応性の低いイオンとなってしまう。

このような超安定的な性質は、常に代謝という形で物質を循環させている生物界においては厄介な性質であり、生物からはほとんど利用されずに今日まで来た。我々人類は、このフッ素の超安定的性質を利用することで様々な有機フッ素化合物を開発し、耐熱性、耐酸性、撥水性など

の恩恵を受けてきたのである。しかし、最近になってフッ素化合物のバイオテクノロジーへの展開が注目されつつある。フッ素化を行う微生物や、有機フッ素化合物を脱フッ素化する微生物の報告が出てきているのである³⁾。特にここで注目したいのはフッ素化を行う酵素の発見である。次章ではフッ素とバイオテクノロジーというこれまでに融合できないと思われてきた分野を結びつける大きな一歩として期待されているフッ素化酵素、フルオリナーゼの紹介をしよう。

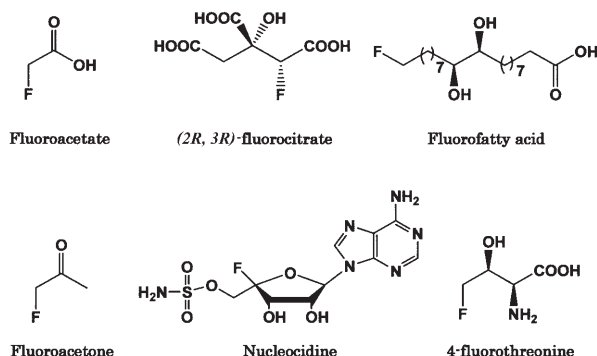


図1 天然化合物として見出されている有機フッ素化合物の代表例

3. フルオリナーゼの発見

有機フッ素化合物が生体の代謝産物として発見されたのは、1940年代のことであるが、無機フッ化物イオンから直接フッ素化されたものができるという酵素反応が捉えられたのは、つい最近の2004年のことである⁴⁾。この事実は衝撃的なものであり、これまでのハロゲン化合物の合成機構とは全く異なる機構によるフッ素化反応が生体内で起こりうるということが証明された。

このフッ素化酵素、フルオリナーゼが見出された微生物 *Streptomyces cattleya* は、もともと無機フッ化物イオンを培地に添加することで、モノフルオロ酢酸やモノフルオロトレオニンを生産することで知られていた細菌である⁵⁾。この細菌は抗生物質の生産など二次代謝能が豊富なことで知られている放線菌の一種で、フルオリナーゼと名づけられた酵素によってフッ化物イオンからC-F結合を作り、有機フッ素化合物である 5'-フルオロ-5'-デオキシアデノシン (5'-FDA) を作り出すことが明らかとなった (図2)。最終産物として報告されていたモノフルオロ酢酸やモノフルオロトレオニンからは、予想ができない化合物がフッ素化の出発物質であることが明らかとなり、その代謝経路には強い興味を持たれる。残念ながら、この代謝経路はいまだに全容がつかめていないが、明らかとなるのは時

間の問題であろう。

驚くべきは出発物質が S-アデノシル-L-メチオニン (SAM) であったことにある。SAMは生体内においてはメチル化の基質として供給され、ゲノムDNAのメチル化などに用いられる。DNAのメチル化反応は、生物が自己認識をする上で非常に重要な反応であるので、ほとんど全ての生物がSAMをメチル化の基質として用いているが、SAMが全く違う使われ方をした例は、恐らくこれが初めてであろう。フルオリナーゼは5'位の炭素をフッ素化することによって、アデノシンのフッ素化誘導体5'-FDAを生成する。この反応機構は、5'位の炭素を中心にして硫黄原子の背面からフッ化物イオンが求核的に攻撃する S_N2 型の反応であると考えられている。フッ化物イオンはこのとき水分子から脱溶媒和されていることが必要となり、非常に小さな結合ポケットにより、フッ化物イオンは脱溶媒和環境を提供されていることがフルオリナーゼタンパク質のX線結晶構造解析結果より示唆されている。

フルオリナーゼの大きな特徴の一つとして、このフッ化物イオンポケットの大きさが挙げられる。後に下流の引き込み系を強化することで塩素化合物の反応も進行することが明らかとなったが、結晶構造からの情報では塩化物イオンの入る大きさとしては不十分であると考えられていた。恐らく誘導適合などの酵素のフレキシビリティにより塩素化も多少は可能なのであろうが、その本質がフッ素化にあることは間違いなさだろう。いずれにせよ、初めてフッ化物イオンから C-F 結合を作ることができる酵素が明らかとなったのである。

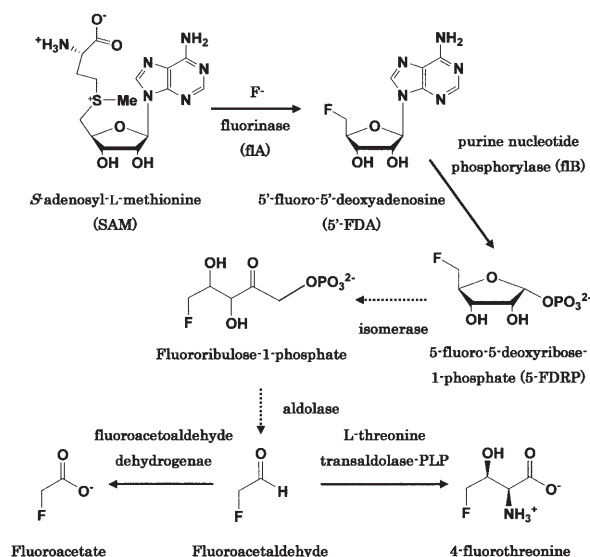


図2 放線菌 *S.cattleya* 内でのフッ素化反応とフッ素化合物の代謝経路

4. フルオリナーゼの応用と問題点

フルオリナーゼが、フッ化物イオンから有機フッ素化合物を合成することで知られている唯一の生体触媒であることを述べてきた。従って、この酵素が将来のフッ素化学とバイオテクノロジーを融合する上で、非常に重要な酵素であることは言うまでもなく、当面はフルオリナーゼをどのように応用できるかが重要課題であると言える。しかし、この酵素には少々問題がある。既に酵素の反応速度論的定数については、フルオリナーゼの立体構造が明らかにされると同時に報告されたが、回転数や基質との親和性はそれほど高いものではなく、酵素としての完成度は決して高いとは言えないものであった。実際、我々の研究室でも組換えのフルオリナーゼタンパク質を大腸菌内で発現して、精製した後、反応速度論的解析を行ったが、その反応性は非常に低いものであった。

そこで、将来的に応用する事を目指した上で、組換え系のフルオリナーゼタンパク質の効率を上げる方法が必要であると思われた。また、試験管内での酵素反応は基質の用意や、場合によっては酵素の精製などが必要となり、必ずしも効率的とは言えない。組換え宿主内でフッ素化合物の生成が効率良く行えれば、発酵という形で生産が可能となり、生産性の向上も高く望める。次章からは、組換え系フルオリナーゼタンパク質を応用するための工夫として進めてきたアイデアを紹介しよう。

5. シャペロンタンパク質の導入による高効率化

生体の中にはシャペロンといわれるタンパク質が存在し、熱やその他のストレスにより変性・失活したタンパク質を再生する機構が備わっている。大腸菌においては GroE (GroEL/ES) (Hsp60/Hsp10 ファミリー)、DnaK/DnaJ (Hsp70/Hsp40 ファミリー)、HtpG (Hsp90 ファミリー) が主要シャペロンタンパク質として知られており、その中でも GroE タンパク質は生存に必須な唯一のシャペロンタンパク質である。外来のタンパク質を発現させると、タンパク質が不溶性画分や封入体を形成してしまうことが多く、そのような場合に GroE タンパク質を強制的に過剰発現することで、問題を解決できることが知られている⁶⁾。

そこで我々は、この外来タンパク質の効率的発現に有効な手段として知られているGroE タンパク質の導入をフルオ

リナーゼ組換え系に試みた(図3)。GroE タンパク質の過剰発現系によるフルオリナーゼの可溶化は期待したほどの成果には至らず、不溶性画分から可溶性画分へのタンパク質量の大きな移行は認められなかった。しかし興味深いことに、その後精製したフルオリナーゼを用いて反応速度論的解析を行ったところ、GroE タンパク質の過剰発現系で発現させたフルオリナーゼの方が酵素の回転数において4倍近くの向上が認められたのである⁷⁾。この原因ははっきりとは分かっていないが、組換え系のフルオリナーゼは精製を容易にするためにタンパク質の N 末端側にヒスチンタグが付加されていることなどから、翻訳後の自然なフォールディングでは十分な酵素能力が発揮されず、シャペロン内でリフォールディングされることによって、より適切な状態へとタンパク質の立体構造が誘導されているのではないかと推測している。詳細な機構は今後の解析が待たれるが、いずれにせよシャペロンタンパク質を過剰発現させることにより、フルオリナーゼ組換え系の反応効率を上げることができた。

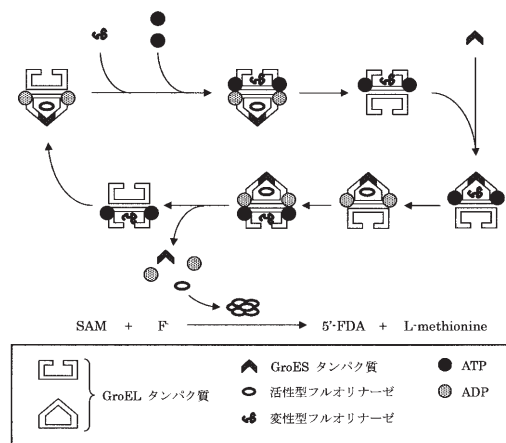


図3 GroE (GroEL/GroES)タンパク質によるフルオリナーゼの再生サイクル (フルオリナーゼは六量体を形成してフッ素化を行う。)

6. 基質供給系の強化

次に我々が改善策として注目したのは、基質の供給系である。フルオリナーゼが基質とする化合物は、フッ化物イオンと SAM である。SAM は前述の通り、生体内でのメチル化の基質として用いられるため、ほとんど全ての生物の中で合成される化合物である。しかし、フルオリナーゼ用の基質として十分に供給されているわけではない。試験管内でフルオリナーゼ反応を行うには、大過剰の SAM を加えて反応する必要がある。SAM が構造上不安定な物質であることに加えて、高価な化合物であることを考えると、SAM 合成酵素の共発現が迅速かつ安定的

な基質供給を可能にしてくれることが期待された(図4)。

この基質供給系の共発現による試験管内フルオリナーゼ反応の促進は、残念ながら現在のところ上手くいっていない。恐らくSAM合成酵素の不安定性によるものと思われるが、幸運なことに生細胞内でのフルオリナーゼ反応の促進にはつながった。すなわち、これまではフルオリナーゼ組換え大腸菌の培養液にフッ化物イオンのみを添加しても、生成物であるフッ素化合物(5'-FDA)は検出できなかったが、SAM合成酵素の共発現によって充分検出が可能な量の生成が可能となったのである。将来的には、試験管内反応の促進にもつなげたいと考えているが、培地にフッ化物イオンを添加するだけで、後は培養するのみで5'-FDAの生成が可能となったことは、発酵法による有機フッ素化合物の生成を目指す上で非常に画期的な成果である。

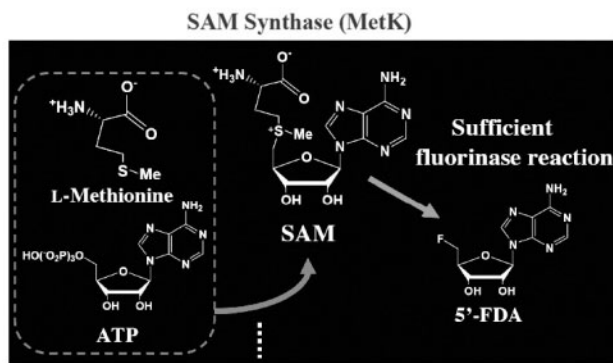


図4 効率的で安定な基質SAMの供給

7. フルオリナーゼの改変

近年、様々な手法を用いて元となるタンパク質のアミノ酸を変えたり、幾つかの相同的タンパク質配列をシャッフリングすることで、基質特異性を変化させたり反応性を上げる試みがなされてきている。進化工学などとも言われている手法である。フルオリナーゼはSAMに対しては結合定数 $74\mu\text{M}$ という高い親和性を示すが、フッ化物イオンに対しては 2mM と30倍近く、親和性が低い。我々はフルオリナーゼの完成度が低い原因(反応性の悪さ)はそこにあるのではないかと考えており、フッ化物イオンに対する親和性の向上が、反応の本質的な改善につながるものと考えている。

では、どこをどう改善すれば良いのだろうか?この答えは一朝一夕で導けるほど単純なものではないだろう。しかし、タンパク質の立体構造情報が明らかとなり、フッ化物イオンポケットを構成しているアミノ酸残基はほぼ明らかである(図5)。図5に示すように、フルオリナーゼの反応場は互いに異

なるフルオリナーゼのN末端ドメインとC末端ドメインによって挟まれる形で構成されており、N末端ドメイン側のアミノ酸残基によって形成されるフッ化物イオンポケットにフッ化物イオンは収まる。一番コンタクトをとると考えられるのは158番目のセリンであるが、脱溶媒と環境を形成するためには、156番目のフェニルアラニンも重要であると推測される。また、SAMのリボース環と水素結合を介すると思われる16番目のアスパラギン酸も、158番目のセリン残基であるヒドロキシル基の方向を規定すると思われ、これらのアミノ酸の変換がフッ化物イオンに対する親和性に大きく変化をもたらすことが容易に推測できる。現在我々の研究室では、この推測に従って研究を進めている。

酵素が長い年月を掛けて進化してきた賜物であることを考えれば、アミノ酸一置換がもたらす影響は基本的に向上ではなく減衰である。しかし、フッ素化酵素がまだ世の中に多く存在しないものであることを考えると、複数のアミノ酸置換などが面白い効果をもたらす余地があるのではないかと思う。我々もまだ見ぬ完成度の高いフッ化物イオンポケット構造を期待しながら、フルオリナーゼの変異体を設計し、進化型フルオリナーゼの構築を試みている⁸⁾。

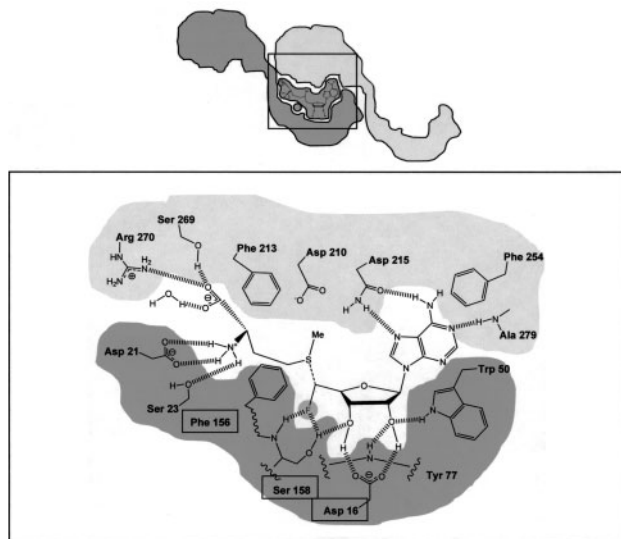


図5 X線結晶構造解析より明らかとなったフルオリナーゼの基質結合ポケット(フッ化物イオンポケットを形成する3残基を四角で囲った。)

8. 下流代謝経路の魅力

フルオリナーゼが発見されてからしばらく、その後の反応経路は謎に包まれていたが、2006年にフルオリナーゼをコードする*fIA*付近の遺伝子が調べられ、次の反応にかかわる酵素が報告された⁹⁾(図6)。*fIB*と名づけられたこの遺

伝子の産物は、5'-FDA を脱アデニン化しリン酸化するヌクレオチドホスファターゼの一種であり、5-フルオロ-3-デオキシ-1-リン酸リボース (5-FDRP) を生成する。興味深いことは、*flA* を挟んで前後に 12 kb (11 ORF) も、フッ素化合物代謝関連遺伝子候補が見つかったにもかかわらず、*flB* 以降の代謝関連遺伝子は一つも見つからなかったことである。フルオロクラスターと名づけられたこの一連の遺伝子群に含まれていたものは、フッ素化合物に対する耐性を獲得する上で重要となったであろうフルオロアセチル-CoA 分解酵素や、フルオリナーゼ反応の阻害剤となる *S*-アデノシル-*L*-ホモシステイン (SAH) の分解酵素 (SAH は SAM の脱メチル化合物であり、生体内では容易に生じる) だけで、他に ORF として見出されたものは輸送系タンパク質や DNA 結合タンパク質 (転写因子候補) のみであった。恐らく、*S. cattleya* のゲノム上にまだ他のフルオロクラスターが存在し、最終産物であるモノフルオロ酢酸やモノフルオロトレオニンまでつながる遺伝子がまとまっているのではないかと期待される。

flB からの下流反応を効率よくスクリーニングする系が構築できれば、第二のクラスター発見につながるのではないかと考えており、我々もスクリーニング系の構築を目指している。下流代謝経路はフッ素化反応には直接関わらない反応だが、有機フッ素化合物耐性メカニズムや、有機フッ素化合物代謝機構を考える上で非常に重要なヒントを与えてくれるであろう。これまでにリパーゼのような生体触媒がフッ素化合物を基質とすることが可能であることが示されてきたが、これらは生体にとって本質的なものではなく、フッ素化合物を生体触媒により利用するための核心的な情報にはつながりにくい。今後、生体触媒を用いたフッ素化合物循環プロセスの構築を目指す上で、フッ素化合物を本質的に扱う酵素の情報収集は非常に重要であり、フッ素のバイオテクノロジーの発展には欠かせない情報となるであろう。

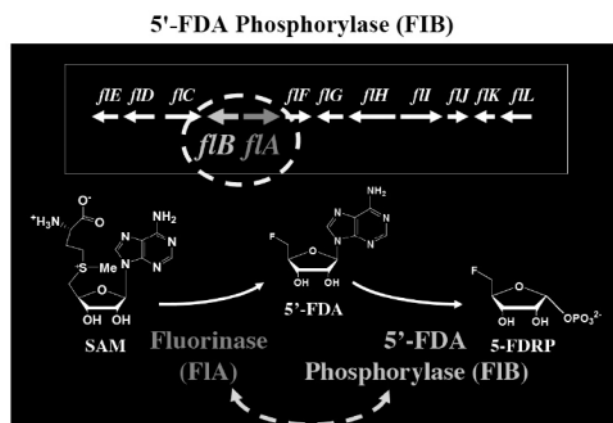


図6 下流代謝経路

9. 最後に

以上で、フッ素化酵素 (フルオリナーゼ) の概説と我々の研究室での応用化への試みを簡単に紹介してきたが、最後にフッ素化学とバイオテクノロジーの今後について述べてみたい。

冒頭でも述べたことであるが、フルオリナーゼはフッ素のバイオテクノロジーを切り開いていく上での第一歩である。数少ないとは言え、有機フッ素化合物を利用している生物は少なからず存在し、これらの生物のほとんどがフッ化物イオンをその原料としているであろう。従って、様々なアイデアを用いて、より巧妙なスクリーニング系を構築する事で第二、第三のフッ素化酵素も見つかるにちがいない。フルオリナーゼがこれまでに報告されてきたどのタンパク質とも類似していなかった (相同性が低かった) ことを考えると、新しいフッ素化酵素がまだまだ地球上には存在していても不思議ではないのである。このようなフッ素をとりまく生物情報が蓄積されていくことで、フッ素が生体触媒にとって不可能な材料ではない日が訪れることを強く期待している。

同時に、我々は作り出したものを元へ戻すことも考えなければならぬ時代に来ている。有機化学的に、また生物化学的に作り出された有機フッ素化合物を再度フッ化物イオンへと戻すシステムを生体機能により構築することも、重要な命題となるであろう。既に、有機フッ素化合物を分解し、脱フッ素化する微生物の報告があることは最初に述べた通りである。フッ素資源が生体機能のみで循環できるシステムが構築される日も夢ではないだろう。

参考文献

- 1) E.A. Paul, P.M. Huang, Handbook of Environmental Chemistry, 1980, **1**, 69
- 2) D. O'Hagan, D.B. Harper, *J. Fluorine Chem.*, 1999, **100**, 127
- 3) R. Natarajan, R. Azerad, B. Badet, E. Copin, *J. Fluorine Chem.*, 2005, **126**, 425
- 4) C. Dong, F. Huang, H. Deng, C. Schaffrath, J.B. Spencer, D. O'Hagan, J.H. Naismith, *Nature*, 2004, **427**, 561
- 5) M. Sanada, T. Miyano, S. Iwadera, J.M. Williamson, B.H. Arison, J.L. Smith, A.W. Douglas, J.M. Liesch, E. Inamine, *J. Antibiotics*, 1986, **39**, 259
- 6) J.G. Thomas, A. Ayling, F. Baneyx, *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 1997, **66**, 197
- 7) N. Iwai, T. Akashi, S. Nakajima, T. Kitazume, To be submitted.
- 8) 中島 聡, 松下 知宏, 岩井 伯隆, 北爪 智哉, 第30回フッ素化学討論会, 2006.
- 9) F. Huang, S.F. Haydock, D. Spiteller, T. Mironenko, T-L. Li, D. O'Hagan, P.F. Leadlay, J.B. Spencer, *Chem. & Biol.*, 2006, **13**, 475

アモルファス金合金めっき

Electrodeposition of Amorphous Gold Alloy Films

関東化学株式会社 技術・開発本部 中央研究所 第四研究室 研究員 千田一敬
KAZUTAKA SENDA

Central Research Laboratory, Technology & Development Division, Kanto Chemical Co., Inc.

関東化学株式会社 技術・開発本部 中央研究所 第四研究室 室長 工学博士 加藤 勝
MASARU KATO, Ph. D

Group Manager, Central Research Laboratory, Technology & Development Division, Kanto Chemical Co., Inc.

1. 序

金は、高電気伝導性、高耐食性、高延展性など他の金属にない優れた特性から、電子工業分野においてボンディングパッド、マイクロバンプ、コネクタ・リレーなど電気接点材料として幅広く用いられている。電子工業分野ではプリント基板や接点部品など、比較的穏やかな条件で大量処理により最表面に信頼性の高い金特性を付与することが求められ、電解または無電解による金めっき処理が行われる。さらに、電子工業用の金めっきでは、特性の違う2種類の金(軟質金、硬質金)が用途に応じて使い分けられているが、軟質金、硬質金ともにめっきにより析出可能な金は結晶質のみである^{1,2)}。

一方、結晶構造を持たないアモルファス(非晶質)金属・合金について多くの研究がなされ、通常の結晶性金属にないユニークな物性が見いだされている^{3~5)}。アモルファス金属・合金は、通常は液体急冷法など冶金学的な方法で調製されるが、めっき法による析出も多数報告されている^{6~8)}。接点・コネクタ材料に用いられている硬質金は結晶粒の微細化により本来の金よりも硬度を2~3倍としている。それゆえ、結晶粒微細化の究極とも考えられるアモルファス化、つまり、結晶粒径、粒界というものが存在せず、構造的に均質であるアモルファス構造の金または金合金は、硬度を含めてどのような物性を示すか非常に興味深い。さらに、接点材料用の硬質金にとどまらず新材料としても大いに期待できる。しかし、これまでのところめっき法によるアモルファス構造の金及び金合金に関する報告例はない。

このような背景から、当社では早稲田大学理工学部応用化学科逢坂研究室と共同でアモルファス金合金めっ

きの研究を進めており、これまでに三元系のアモルファス金合金を得ている⁹⁾。本稿では、アモルファス金属の概要と現在研究を進めているアモルファス金合金についてその概要を紹介する。

2. 背景技術

2.1 接点材料用の硬質金めっき^{1,2)}

電子工業分野で使用されている金めっきは、析出物の硬さ(硬度)を基準に大きく2種類に分類されている。硬度の低い軟質金(ソフトゴールド:硬度Hv90以下)と硬度の高い硬質金(ハードゴールド:硬度Hv200前後)である。軟質金は極めて純度が高く、熱と圧力をかけると容易に純金線と接合するため、半導体、IC、薄膜回路などのボンディング端子表面や、接合用バンプなどに使われる。一方の硬質金は、通常、コバルトやニッケルなどの微量(0.2%以下)の添加金属及びC、N、H、Kなどの不純物元素を含む。また、一部に金属を添加しない硬質金も開発されている。硬質金は、その高い耐摩耗性から、プリント配線板やコネクタの接点材料の表面処理に用いられている。硬質金とは、金本来の特長である高導電性、高耐食性に加え、本来柔らかい金属である純金を接点材料に対応できるよう、意図的に硬くして機械的強度と耐摩耗性をもたせたものである。

低カラットの金合金が高硬度なのは周知であるが、CoまたはNiをわずか0.1~0.2%程度しか含有しない硬質金が純金の2倍以上の硬度を示すのは、単純な合金化では説明できない。結論としては、不純物そのものが硬化の一次的な原因ではなく、不純物混入による結晶粒径の微細

化が要因である。この結晶粒径と硬度の関係については、Loらが金属学的に知られている多くの効果を考慮して論議している¹⁰⁾。沖中らによると、組成的に純金に近い軟質金の結晶粒径は1~2 μm であるのに対し、Co含有硬質金(CoHG)は20~30nm、添加剤を用いない硬質金(AFHG)は25~75nmであり、1~2 μm 結晶粒が小さい¹⁾。金属の結晶粒と硬度の間には、Hall-Petchの関係と呼ばれる次式が知られており、結晶が微細化するほど高硬度になる。

Loらはスパッタ条件により種々粒径を変えて金を析出させ、粒径と硬度の関係が下式に従うこと、さらに粒径が同じであればスパッタ、めっき法といった調製方法の違いによる硬度差は生じないことを確認している¹⁰⁾。

$$H=H_0+k_H/\sqrt{d}$$

(H:硬度、d:結晶粒の直径、 H_0 、 k_H :実験的定数)

CoもしくはNiを添加した硬質金めっきにおいて粒径が微細化するの、金析出と同時にCoもしくはNiに由来した不純物が混入し、それが結晶成長を妨げるためである。また、添加剤を用いない硬質金めっき(AFHG)では高純度軟質金と類似した $\text{KAu}(\text{CN})_2$ とリン酸塩の極めて単純な浴組成であるが、軟質金と温度条件の違いによりAuCNがポリマー化して混入し結晶成長を妨げて膜を硬質化している。既存の硬質金めっきから考えると、硬質金めっき膜を得るには結晶粒径を極力小さくする必要がある。逆に、結晶粒径微細化の限界が硬質化の限界と考えられるが、ナノ~サブナノ粒径の硬質膜についての検討報告はない。

現状で最も小型なMEMS用接点では、接触面積100 μm^2 、膜厚1 μm で使用されており¹⁰⁾、硬質金めっきの結晶粒径:20~30nmに比べて、50~500倍スケールである。しかし、デバイスの更なる小型化・高密度化に伴い電気接点自体がサブミクロンスケールに至ったならば、その微小薄膜を形成している結晶粒子数が相対的に少なくなるため、バルクと同様の硬度を維持できないことが懸念される。特に、“結晶粒径”の微細化によって膜が硬質化している硬質金めっき膜においては、根本的な問題である。この問題への対策案として、より微細な結晶粒径を有する金めっき膜の開発が考えられるが、数ナノ~サブナノサイズの硬質金が開発された例はない。微細結晶の究極として、結晶粒径、粒界が存在しないアモルファス(非晶質)構造の金または金合金は今後の微細化による問題を解決できる方法と考えられる。

2.2 アモルファス合金^{6~8)}

アモルファス(非晶質)とは、結晶構造を持たない物質の状態を示す言葉である。固体では、原子が規則正しく並んだ『結晶』と、原子がバラバラに配列した『アモルファス』(非晶質)の2種類がある。一般に、氷や金属、水晶などの鉱物などは結晶構造で、ガラスはアモルファス構造である。アモルファス材料とは、その原子配列が結晶体のような長周期的規則性を持たず、原子がバラバラに乱れた配置構造を持つもののことである。

一般に材料の諸物性は、その構成原子の結合状態に強く支配されている。逆に、その結合状態によって原子配列や構造が決まっている。そのため、材料の物性と構造は結合を通じて直線的につながっていると言うことができる。例えば通常の金属(結晶構造)では、最外郭の電子の軌道の重なりによってできた伝導帯に伝導電子が存在し、それを介する金属結合は方向性の極めて少ない最密充填配置の面心立方(fcc)、六方最密(hcp)、体心立方(bcc)、などの結晶格子を作り出す。そのため、高い延展性は方向性結合のない最密充填のためであり、これらの構造に熱的効果(格子振動、熱的膨張、格子欠陥、層転移など)が加わって物性がきまる。一方、原子配列を大きく乱しているアモルファス構造に関しても、基本的には共有結合が存在し、乱れた構造の中でも大部分が4配位であり、金属の伝導体を介しての金属結合を保っている。しかし、アモルファス構造の場合は伝導電子の平均自由行程、磁性の元となるd電子の配置、原子間の磁氣的相互作用、結晶転位の困難さによって、電気、電気特性、塑性変形様式や材料強度に大幅な変化がみられる。

アモルファス合金の作製法としては、大きく分けて以下の4種の方法がある。

- ① 真空蒸着、スパッタ法、イオンプレーティング法などの気体またはより大きな分子のクラスターを下地上に堆積させる方法
- ② 電解めっき、無電解めっき、陽極酸化法など、溶液からの析出による方法
- ③ 液体急冷法、溶射急冷法など、融体を下地上に薄くのばして急冷する方法
- ④ その他

この中で、②に示した湿式の作製法は、①高真空系を必要とするドライ成膜および③高温と低温を必要

とする冶金学的製法と比較して、エネルギーや装置の面から、穏やかで扱いやすい特異的な方法と捉えることができる。めっき法によるアモルファス合金形成のポイントは、主金属(今回の場合はAu)と共に非金属もしくは高融点金属をめっき膜中に取り込むことである。これらの相互作用によって吸着原子の拡散が抑制され、原子配列の規則性が欠如したアモルファス金属となると考えられている(図1参照)。この理論からすると、アモルファス構造のめっき膜を得るには2つ以上の元素を合金化する必要がある。

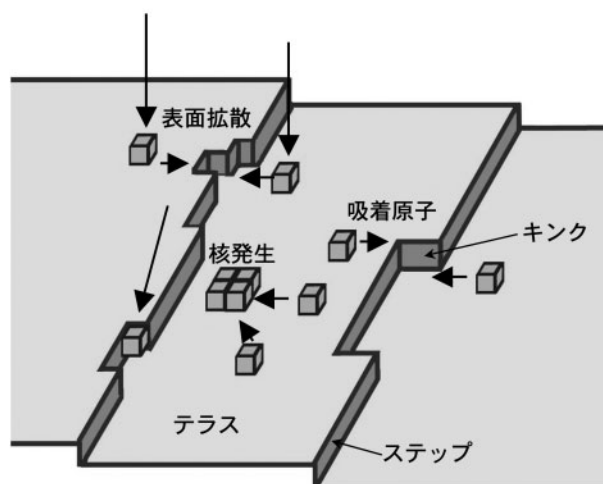


図1 電析機構のモデル図

3. アモルファス合金めっきの研究

3.1 既存二元系アモルファス合金系への金添加

金及び金合金に関して、金めっきの中では微細結晶である硬質金めっき(20~30nm)より微細な結晶粒径の析出膜、さらにはアモルファス構造を有する金(もしくは金合金)めっきは開発されていない。結晶の微細化については、結晶粒径と析出膜の硬度の関連性研究のなかで結晶粒径5~10nmの析出膜が得られた報告がある¹²⁾。また、金合金のアモルファス化についてはAu-Ni系、Au-Co系金合金などがアモルファス構造となる可能性があることを論じている報告⁶⁾はあるが、実際には結晶性のAu-Ni系金合金析出物しか得られておらず¹³⁾、めっきによりアモルファス金合金が得られたという報告はない。

当社では早稲田大学理工学部応用化学科逢坂研究室と共同でアモルファス合金めっきの研究を進めてきた。検討は、アモルファス構造を有する既存二元系合金(例え

ば、Ni-W、Ni-Moなど)の一部を金原子で置き換える、即ち二元系合金めっき浴の組成に金塩を添加して電解めっきを行うことで、所望の金合金めっき膜が得られるのではないかという考えのもとに行った。

表1にアモルファス構造の析出膜が得られる二元系、三元系の合金めっきの例を示す⁶⁾。析出膜がアモルファス構造となる条件として、金属間化合物を造る組み合わせ、原子半径・配位数(結晶系)が異なる系、高融点金属を含む系(誘起共析型)などが報告されている。我々は、これらの系の中でニッケル-タングステン(Ni-W)系合金めっき浴¹⁴⁾を用いて、金合金のアモルファス化の可能性を検討した。Ni-W系を選定した理由は、NiとAuの組み合わせは硬質金めっき(NiHG)として実績があり、金との相性が良いためである。検討に用いたAu-Ni-W三元系めっき液組成およびめっき条件を表2に示す。本めっき浴はNi-W二元系アモルファス合金のめっき液組成及び条件に、金塩としてKAu(CN)₂を加えたものである。

表1 めっき法で得られるアモルファス合金例(6)

Ni-H	Ni-P	Ni-W	Bi-S
Pd-H	Co-P	Co-W	Bi-Se
Cr-H	Fe-P	Fe-W	Cd-Te
Cr-W-H	Co-Ni-P	Ni-Mo	Cd-Se
Cr-Mo-H	Ni-B	Co-Mo	Cd-Se-S
Cr-Fe-H	Co-S	Fe-Mo	Ir-O
	Cr-C	Co-Re	
		Co-Ti	
水素混入型	半金属混入型	誘起共析型	その他

表2 Au-Ni-W系合金めっき浴組成及びめっき条件

Reagents	mol L ⁻¹ (g L ⁻¹)
NiSO ₄ ·6H ₂ O	0.076 (20)
Na ₂ WO ₄ ·2H ₂ O	0.182 (60)
KAu(CN) ₂	0~0.0525 (15)
C ₆ H ₈ O ₇ ·H ₂ O	0.258 (54)
pH : 6.0 (adjusted with NH ₄ OH)	
Temperature : 70°C	
Current density : 150mA·cm ⁻²	
Agitation : None	

3.2 金合金アモルファス化の条件

めっき液中のKAu(CN)₂濃度と析出膜中の金属組成の関係を図2に示す。膜組成はエネルギー分散型X線分光法(EDX)による分析結果である。Ni-W系にKAu(CN)₂を添加した浴からめっきを行ったところ、期待したように析出膜中へのAuの共析が認められた。これより、二元系浴への金塩添加で、三元系金合金が得られることを確

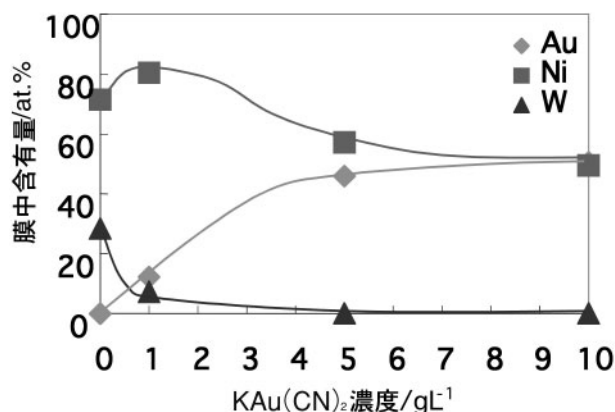


図2 浴中KAu(CN)₂濃度と析出膜組成(EDX分析)

認した。次に、析出膜中のAu含有量は、浴中のKAu(CN)₂濃度に比例して増加し、KAu(CN)₂濃度10gL⁻¹の場合は50.4at.%に達した。一方、KAu(CN)₂濃度が5.0gL⁻¹以上のめっき膜からは、Wの析出がほとんど認められなかった(湿式分析の結果、KAu(CN)₂濃度10gL⁻¹で膜中W含有量0.2at.%)。Ni-W二元系析出膜ではW含有量が概ね30~60wt%であった¹⁴⁾ことと比較すると大きな差が認められた。KAu(CN)₂濃度の増加に伴い膜中のWがほとんど痕跡量まで極端に減少したのは、アモルファス金合金めっき膜の生成過程において、Auの還元反応([Au(CN)₂]⁻+e⁻→Au+2CN⁻)により電極界面で生じたCN⁻が錯形成などの方法でNiと関与したために、電極近傍でWの誘起共析に必要な前駆体と考えられる[(Ni)(WO₄)(H)(Cit)]²⁻のような複合錯体の濃度が減少し、W析出を抑制したと推測している。また、めっき析出膜の表面にAu-CN錯体が優先的に吸着し、Wの析出を阻害した可能性も考えられる。このめっき膜の表面および断面をEDXで元素マッピングした結果、局所的な偏析はみられず、Au、Ni、Wは三次元的に均一に分布していた。

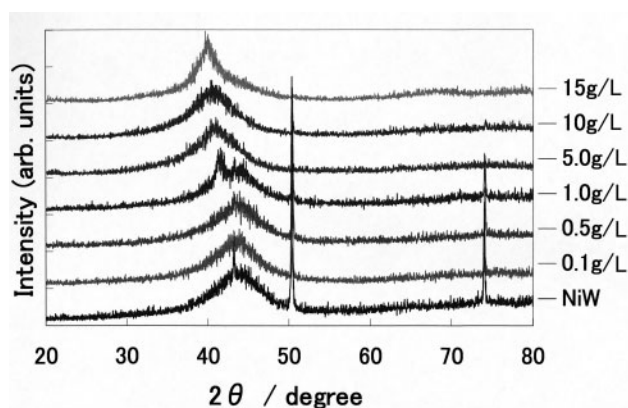


図3 浴中KAu(CN)₂濃度変更時の析出膜XRDパターン

図3にこれらのめっき析出膜のX線回折(XRD)測定結果を示す。一般的に、結晶性金属はその金属特有の回折パターンを示し、シャープなほど結晶性が良いと言える。逆に、Ni-W系のようなブロードパターンは、結晶性が悪い全く結晶化していない、即ちアモルファス構造である可能性が高い。このような状態はX線アモルファスとも呼ばれている。まず、簡易的にX線でアモルファス可能性を判断した。浴中KAu(CN)₂濃度0.1~0.5gL⁻¹の金低濃度浴からの析出膜の回折パターンはNi-W二元系析出膜の回折パターンとほぼ同様であり、金析出による顕著な構造変化は認められない。一方、浴中KAu(CN)₂濃度1.0gL⁻¹の析出膜は2θ=41.5°付近に、準安定相とみられる新たな相の生成が認められた。さらにKAu(CN)₂濃度を5.0~10.0gL⁻¹に増加するとピークは再び単一化し、ブロードな回折パターンを維持したまま低角度側へシフトすることが確認された。また、15.0gL⁻¹以上ではめっき浴が不安定化したため、良好な析出膜を得ることができなかった。以上より、KAu(CN)₂濃度5.0~10.0gL⁻¹の時に成膜しためっき膜は、アモルファス構造を有していることが示唆された。回折ピークが低角度側にシフトした(面間隔が広がった)原因は、表3に示すようにAuの原子半径が他の原子に比べて大きいこと、NiやWと置換して結晶格子中に共析して面間隔が広がったためと考えられる。

表3 Au, Ni, Wの諸性質

元素	結晶構造	格子定数(nm)	原子半径(nm)	融点(℃)
Au	面心立方	0.40785	0.144	1063
Ni	面心立方	0.35238	0.125	1453
W	体心立方	0.3165	0.137	3300

上述したように、XRDによりAu-Ni-W三元系合金でアモルファス構造の可能性が認められたので、次に透過型顕微鏡(TEM)による確認を実施した。図4に(a) Au-Ni-W合金めっき浴(KAu(CN)₂濃度:10.0gL⁻¹)より作製しためっき膜と(b)従来型の硬質金めっき膜CoHG(結晶性、

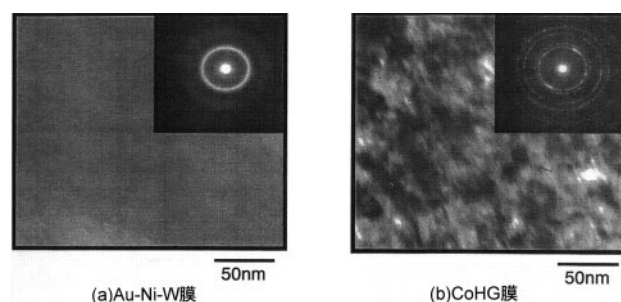


図4 基本析出膜とCo系硬質金めっき膜のTEM像

Au-Co系)のTEM像(明視野)および電子線回折像を示す。CoHG硬質金では明視野像から結晶粒やそれに伴う結晶粒界の存在が確認され、電子線回折像からもfccの多結晶体であることがわかる。一方、Au-Ni-W合金めっき浴より作製しためっき膜は粒界が存在せず、電子線回折像がハローリングであることから、アモルファス構造を有していることが確認できる。高分解能像観察(倍率100万倍)により原子配列がアモルファス特有の短・中周期規則的構造であることも確認している(結晶は長周期規則的構造を示す)。以上の結果より、Au-Ni-W合金めっき浴より作製しためっき膜がアモルファス構造であることが確認された。

今回の検討で、アモルファス構造の二元系合金析出物が得られるNi-W浴にAu塩を添加することで、期待したようにアモルファス構造の三元系金合金析出物を得ることができた。しかし、Au-Ni-W系析出膜の組成は予測に相反するものとなった。即ち、Ni-W二元系は膜中にWが多量(W:28.5at.%)混入し、これがアモルファス化の要因と考えられているが、今回得られたアモルファス金合金のW含有量は0.2at%と極微量であり、Ni-W二元系とはアモルファス化要因が異なっているものと考えられる。また、Au-Ni二元系合金はこれまでに硬質金をはじめとして多数研究例があるが、いずれも結晶化することが知られている。今回検討したアモルファス金合金と従来の結晶性のAu-Ni合金の構造的差が、何に起因しているのかが問題である。最近、この両者間の微量混入成分に差があることが明らかとなっており、詳細を解明中である。また、Ni系と同様手法によりCo-W浴をベースにAu-Co-W三元系アモルファス合金を得ることができた¹⁵⁾。アモルファス化機構の詳細と併わせて別の機会に紹介したい。

3.3 アモルファス膜の物性

アモルファス材料の大きな特徴は構造の均一性にある。多結晶材料では多くの粒界や格子欠陥が存在し、単結晶では結晶異方性の問題がある。これに対し、アモルファス材料はそれらの問題は全くなく、理想的な均質性を持っている。これが機械的強度や耐食性など、アモルファスが種々の特異な材料学的物性を持つ主因の一つとなっている。今回アモルファス構造が確認された金合金めっき膜の電気接点材料としての基本的な物性について調べるため、機械的強度(ヌープ硬度)と電気的特性(比抵抗、接触抵抗)を評価した。

図5に、今回開発したAu-Ni-W三元系のアモルファス金合金めっき膜及び既存の各種金めっき膜(SoftAu:電解軟質金めっき、AFHG:アディティブフリー硬質金めっき、NiHG:Au-Ni硬質金めっき、CoHG:Au-Co系硬質金めっき)のヌープ硬度(Hk)の測定結果を示す。アモルファス金合金めっき膜の硬度は平均Hk464であり、軟質金めっき膜(平均Hk86)の約5倍、硬質金めっき膜(平均Hk160~184)の約2.5倍の優れた硬度特性を示すことが確認された。

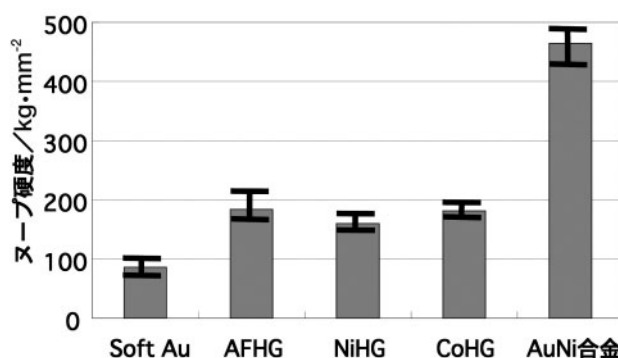


図5 金および金合金めっき膜のヌープ硬度(Hk)

次に、アモルファス金合金めっき膜および種々の金めっき膜の耐摩耗性を評価した。評価方法は回転摺動摩耗法を採用し、金合金膜の破壊限界回転数を比較した。摩耗による金合金膜の破壊は抵抗値の増大によって判断した(金合金膜と下地Ni膜の抵抗値に大幅な違いがあるため)。なお、アモルファス金合金めっき膜には最表面にフラッシュ金(膜厚0.01 μ m程度)を施し、評価検体とした。結果を図6に示す。軟質金めっき膜は1000回転以下、硬質金めっき膜は3000回転で破壊したが、アモルファス金合金めっき膜は10000回転以上摩耗しても破壊せず、優れた耐摩耗性を有することを確認した。以上より、アモル

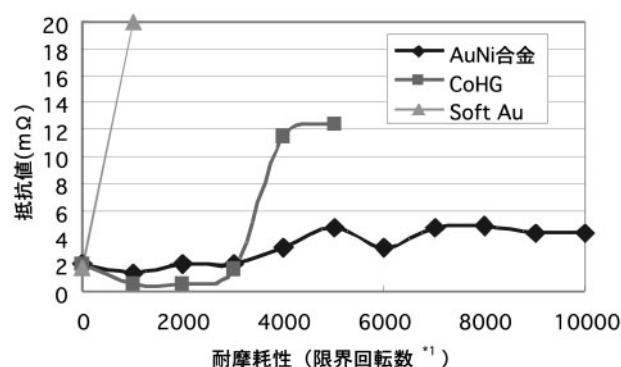


図6 金および金合金めっき膜の耐摩耗性評価

ファス金合金めっき膜は、既存の金めっき膜に比べて機械的強度が著しく優れていることがわかった。

表4に電気的特性(比抵抗、接触抵抗)の測定結果を示す。

表4 比抵抗および接触抵抗測定結果

	アモルファス金合金Au-Ni-W	硬質金めっきCoHG
比抵抗 $\mu\Omega\cdot\text{cm}$	94	17
接触抵抗 $\text{m}\Omega$	2.2	2.2

Au-Ni-W金合金めっき膜の接触抵抗は $2.2\text{m}\Omega$ (荷重1N時)であり、CoHG硬質金めっき膜($2.2\text{m}\Omega$)とほぼ同等の良好な値であることが確認された。一方、アモルファス金合金めっき膜の比抵抗値は $93.3\mu\Omega\cdot\text{cm}$ であり、硬質金めっき膜と比べて5倍以上の高い値を示した。表面の酸化膜などが関与する接触抵抗は、アモルファスと結晶に大きな差が見られないのに対して、構造的な因子が大きく関与するバルク抵抗は大きな差が認められた。アモルファス構造では原子配列が長期的な周期性を持っていないため、伝導電子が散乱されずに進行できる平均距離(平均自由行程)が極端に減少したことが推測される。アモルファス合金の比抵抗値についての一般的な知見としては、①室温における比抵抗値は $50\sim 350\mu\Omega\cdot\text{cm}$ を示す、②結晶金属に比べて $10\sim 100$ 倍程度大きいことが報告されており¹⁶⁾、①②の知見よりAu、Niのバルクの比抵抗値(Au: $2.35\mu\Omega\cdot\text{cm}$ 、Ni: $6.84\mu\Omega\cdot\text{cm}$)と比較しても、今回の測定結果は十分予想される範囲内の値であった。また、結晶構造の金属の場合でも、硬質金めっき膜及びニッケルめっき膜で、結晶粒径の微細化により比抵抗値が上昇した報告^{17,18)}もある。また、微量成分の混入による影響も考えられ、比抵抗と析出膜のアモルファス化度、微量成分混入量の関係について、今後の検討で明らかにしたい考えである。

4. まとめ

アモルファス合金の背景技術と、当社が早稲田大学と共同研究を進めているアモルファス金合金めっきの研究概要を紹介した。めっき法によるアモルファス構造の析出は多くの合金系が知られていたが、金合金の研究例は報告されていなかった。今回、我々は既存の二元系(Ni-W、Co-W)アモルファス合金めっき液を利用して、金を含む三元系のアモルファス合金(Au-Ni-W、Au-Co-W)を得ることができた。ただし、二元系と三元系ではWの含有量が

大きく異なり、非晶質化要因の解明を進めている。得られたアモルファス金合金の物性は、既存の結晶性硬質金の2~2.5倍という優れた硬度を有し、耐摩耗性、電気特性も既存の硬質金と同等以上であり、十分接点材料として利用できると期待される。また、高硬度、貴金属としての耐食性を有する、さらに結晶構造を持たず微細かつ均一な膜という物性は、電気接点材料以外にも新規材料として思いもかけない新しい分野への応用が期待できる。現在、新規用途開発も含め三元系アモルファス金合金について、さらに研究を進めている。

参考文献

- 1) 沖中 裕, 金属表面技術, **32**(10), 500(1981)
- 2) Y.Okinaka and M.Hoshino, *Gold Bulletin*, **32**, 3(1998)
- 3) 増本健, 金属表面技術, **32**(12), 649(1981)
- 4) 井上明久, 増本健, 表面技術, **40**(3), 361(1989)
- 5) 増本健“アモルファス金属の基礎” オーム社(1982)
- 6) 渡辺徹, 表面技術, **40**(3), 375(1989)
- 7) 森河努, 横井昌幸, 江口清一郎, 科学と工業, **65**(5), 213(1991)
- 8) T. Watanabe, “NANO PLATING”, Elsevier verlag (2004)
- 9) N.Togasaki, Y.Okinaka, T.Homma, and T.Osaka, *Electrochim. Acta*, **51**, 882(2005)
- 10) C.C.Lo, J.A.Augis, and M.R. Pinnel, *J. Appl. Phys.*, **50**, 6887(1979)
- 11) Daniel Hyman, Mehran Mehregani, *IEEE Transactions on components and packaging technology*, Vol.22, No.3, Sept. (1999)
- 12) 戸ヶ崎徳大, 早稲田大学理工学部平成14年度卒業論文(2002)
- 13) 清水保雄, 田辺良美, 金属表面技術, **27**, 20(1976)
- 14) 小見 崇, 西土和宏, 松本英幹, 山本 久, 表面技術, **40**, 1287(1989)
- 15) M.Kato, K.Senda, Y.Musha, J.Sasano, Y.Okinaka, and T.Osaka, *Extended Abstract of EPTM2005 International Symposium on Electrochemical Processing of Tailored Materials*, 190(2005)
- 16) 水谷宇一郎, 固体物理, **20**(8), 105(1985)
- 17) W.F.Fluehmann, F.H. Reid, P.A. Mausuli, and S.G. Steinemann, *Plating and Surface Finishing*, **67**(6), 62(1980)
- 18) G.Palumbo, F.Gonzalez, K.Tomantschger, U.Erb and K.T. Aust, *Plating and Surface Finishing*, February 2003, 36(2003)

液体クロマトグラフィーの基礎技術(1)

Fundamental Techniques of Liquid Chromatography

— 逆相クロマトグラフィーとカラムの選び方 その1 —

— How to select the appropriate column for your reversed phase chromatography (I) —

関東化学株式会社 草加工場 生産技術部 酒井 芳博

YOSHIHIRO SAKAI

Production Technique Dept, Soka Factory, Kanto Chemical Co., Inc.

高速液体クロマトグラフィー (HPLC) は、現在ではなくてはならない重要な分析方法の一つであるが、その実施にあたっては、一般的に「固定相 (カラム) の選択」、「移動相の選択」、「検出方法の決定」が三要素として重要視されている。

今回は、その中から「固定相 (逆相及び順相) の選択」及び「移動相の選択」の二つの要素についてそれぞれポイントとなるいくつかの基礎技術をとらえてやさしく解説する。

1. 液体クロマトグラフィーとその特徴

本論に入る前に、液体クロマトグラフィーの概要を説明する。

液体クロマトグラフィーには、いろいろな分類方法があるが、一般的には、固定相と移動相の関係から逆相クロマトグラフィー (Reversed Phase Chromatography) と順相クロマトグラフィー (Normal Phase Chromatography) に大別される。「逆相クロマトグラフィーとは、非極性の固定相に極性の移動相を使用して行うクロマトグラフィー」のことであり、「順相クロマトグラフィーとは、極性の固定相に非極性の移動相を使用して行うクロマトグラフィー」のことである。

最近では、この逆相、順相クロマトグラフィーという二つの分類だけでなく、分離機構を基にした分類も一般的であり、その代表的なものとして、

- a) 分配クロマトグラフィー
(Partition Chromatography)
- b) 吸着クロマトグラフィー
(Adsorption Chromatography)

- c) 親水性相互作用クロマトグラフィー
(Hydrophilic Interaction Chromatography)
- d) サイズ排除クロマトグラフィー
(Size Exclusion Chromatography)
- e) イオン交換クロマトグラフィー
(Ion Exchange Chromatography)
- f) アフィニティークロマトグラフィー
(Affinity Chromatography)

などがある。したがって、これら分類の手法を踏まえて分析しようとする試料の物性と分離機構を考慮することで、変化に富んだ分離・分析が可能となる。

2. カラムと充填剤について

現在HPLC用カラムは、内径0.3mmほどのキャピラリータイプのカラムから内径1mm程度の大口径を有する分取用のカラムまで種々のサイズのカラムが使用されている。

普通、これらカラムは、その内径により50mm以上のカラムを大量分取用、10~50mmをセミ分取用カラム、2~4.6mmのカラムを汎用カラム、1~2mmのカラムをセミマイクロカラムそして1mm以下のカラムをマイクロカラムと分類されている。

その中でも分析用として主に使用される代表的なカラムサイズは、内径が4.6mm、カラム長が150mmと250mmであり、充填剤の粒子径は5 μ mが中心となっている。

しかしながら、近年検出器に質量分析計 (MS) を使用したLC/MSが普及してきたこともあり、内径2mmのカラムの需要増加と共に、充填剤の粒子径も3 μ mと小さくなっている。

充填剤は、球状シリカゲルを基本材料とした化学結合型充填剤が多く使用されているが、最近、シリカゲル骨格にメチル基を組み込んだハイブリッドシリカゲルも開発され、シリカゲルとポリマーの長所を生かした耐薬品性に優れた充填剤として期待されている。

この他、シリカゲル以外の素材も多く使用されているが、その代表的なものが、ポーラスポリマーと総称されている樹脂を加工した充填剤である。

また、アルミナ、ガラス、チタニア、カーボン等様々な素材がHPLC用の充填剤として使用され、それぞれ特徴のある効果を出している。

3. 検出方法について

HPLCの検出方法では、現在吸光光度法(UV/VIS)が最も多く使用されているが、近年では検出感度や選択性が優れている質量分析計(MS)も検出器として急速に普及している。

この他、示差屈折率(RI)検出、蛍光(FL)検出、電気化学検出(ECD)、電導度検出(CD)、光散乱検出(ELS)、NMR検出等、目的に応じさまざまな検出手法が採用されている。

これら検出器の使用方法を含めた詳細については成書^{1), 2)}を参照願いたい。

4. 固定相について

液体クロマトグラフィーの原点は、1906年、Twettが炭酸カルシュウム(チョークの粉)の固定相に葉緑素のエーテル溶液を流し、クロロフィルを分離したことが始まりといわれている。

しかしながら、近代的なHPLCは、1969年にJ.J.Kirklandらが開発した球状シリカゲルの出現を契機に始まりを見るが、さらにシリカゲルにシラン化合物を化学結合させたパーマネントフェーズ充填剤が登場して以降、現在ではシリカゲルにアルキルシランを化学結合させた逆相充填剤、特にオクタデシルシリルシリカゲル、通称ODSシリカゲル充填剤がHPLCを広く普及させることになった。

HPLC用カラムには、現在オクタデシルシリル(ODS)シリカゲル充填剤(C18)を中心とした逆相分配、いわゆる逆

相(Reversed Phase)クロマトグラフィー用充填剤が多用されていることは周知の事実であるが、このほかにもオクチルシランを化学結合させたC8充填剤をはじめC22充填剤、C30充填剤等、逆相充填剤も種類が豊富になっている。

現在ODSシリカゲル充填剤が多用されている理由として、ODSシリカゲル充填剤が物理的、化学的に安定であること、また有機溶媒と水の混合液を溶離液に使用することができる等、使いやすさを第一にあげることができる。また、最近では、水系100%の溶離液を使用しても、溶出時間が変化しない再現性に優れた親水性ODSシリカゲル充填剤も一般的となってきた。

順相クロマトグラフィー用充填剤では、シリカゲルが代表的な充填剤であるが、アミノプロピルシリカゲル、シアノプロピルシリカゲルなども順相クロマトグラフィー用充填剤として使用されている。

現在、これら順相系充填剤は、親水性相互作用クロマトグラフィー(HILIC)³⁾にも使用できることが解り再び注目されている。

5. 逆相系カラムの選択に関して

ODSシリカゲル充填剤は、前述のように、大変使いやすい充填剤ではあるが、一方で、残存シラノールが原因となる不可逆的な二次相互作用にも悩まされてきたという歴史がある。

しかしながら、1980年代後半、高純度シリカゲルを基材としたHPLC用逆相充填剤が市場に登場し、かつエンドキャッピング技術が進歩したこと及び充填剤の評価方法の進歩もあり、それまで分析者を悩ませていた不可逆的な二次相互作用に起因する充填剤の品質の課題が劇的に改善されている。⁴⁾

例えば、塩基性化合物や配位性化合物など、ODSシリカゲル充填剤を使用する逆相クロマトグラフィーでは溶出が困難であった化合物も容易に分析できるようになり、益々その有用性は増しているといえよう。

弊社では、高純度シリカゲルを採用したODSシリカゲル充填剤Mightysil RP-18⁵⁾を1995年に発売したが、これを改良したMightysil RP-18GP⁶⁾を1997年に上市し現在に至っている。また2000年には、水系100%の溶離液でもHPLCを可能とする、親水性ODSシリカゲル充填剤⁷⁾を使用したMightysil RP-18GP Aquaのシリーズを上市し、

ODSシリカゲルの利用範囲の拡大を図ってきた。

ODSシリカゲルカラムは、従来ベンゼン、ナフタレン、アントラセン等、固定相と二次相互作用しない化合物を使用して理論段数を中心としたカラムの性能試験データを添付して販売されていたが、Mightysil RP-18GPシリーズの充填カラムでは、これ等芳香族炭化水素に加え、塩基性化合物、配位性化合物等の6種類の溶離試験を行い、全ての項目に適合していることが保証されている。

逆相系カラムの選択に関しては、ODSシリカゲル充填剤の物性が極めて重要なポイントとなるので、ここではMightysil RP-18 GPシリーズ製品の溶離試験の特徴を中心に説明を進めることとした。

5-1 Mightysil RP-18 GP 充填剤の物理特性

Mightysil RP-18 GP充填剤の基本物性を表-1に示した。Mightysil RP-18 GPシリーズは、平均細孔径12nmの真球状シリカゲルを使用し、一反応性(モノファンクショナル) ODSを化学結合した炭化水素量20%の充填剤を中心に15%、25%の充填剤が用意されている。粒子径は5 μ mと3 μ mの2種類だが、高精度に分級され粒度分布の幅が極めて狭く圧力損失が小さいことが特徴である。

表1 主なMightysil RP-18GPの基本物性

粒子径(μ m)	比表面積(m ² /g)	平均細孔径(nm)	炭化水素量(%)	結合官能基
5	340	12	20	一反応性
5	270	13	15	一反応性
3	350	12	20	一反応性

Mightysil RP-18GPシリーズは、平均細孔径12nmのシリカゲルに一反応性ODSを化学結合した充填剤であるが、メーカーによっては平均細孔径が8nm、10nmのシリカゲルを採用している場合もある。

またODS基も二反応性、三反応性のODSを結合したポリファンクショナルODSシリカゲル充填剤も供給されているが、これら充填剤はそれぞれ特徴のある溶離特性を示すことも知られている。

したがって、ODSシリカゲル充填剤のこれら基本的な物性を知ることは、カラムの選定にあたり大変重要となるので、これらODSシリカゲル充填剤の基本物性に基づく溶離特性の違いは、5-3項で詳しく述べる。

5-2 ODSシリカゲル充填剤のエンドキャッピング(TMS化)

ODSシリカゲル充填剤は、シリカゲル及び反応試薬であるアルキルシリル化剤由来の残存シラノールの影響によ

り、塩基性化合物との不可逆的な二次相互作用を生じることがよく知られている。この不可逆的な二次相互作用の影響を除くためにエンドキャッピングと呼ばれるトリメチルシリル化(TMS化)が行われているのである。

ODSシリカゲル充填剤にTMS化の処理が必要な理由であるが、シリカゲルの表面の構造的な特徴を理解すると大変分り易い。

シリカゲルの表面は、図1に示すように三種類のシラノールが存在しているといわれており、この状態は、図2の²⁹Si CP/MAS NMRスペクトルにより具体的に証明されている。

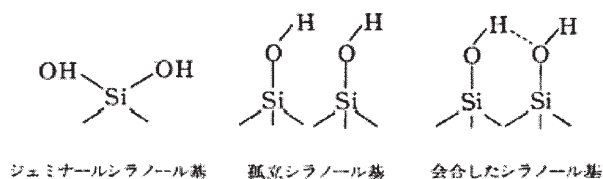


図1 シリカゲル表面に存在するシラノール²⁾

図2中のaで示されるピークは、ジェミナール型シラノールであるが、bで示されるピークはシングルシラノールに属している孤立シラノールと会合型シラノールを示している。cで示されるピークは、シロキサン($-\text{Si}-\text{O}-\text{Si}-$)結合に相当している。

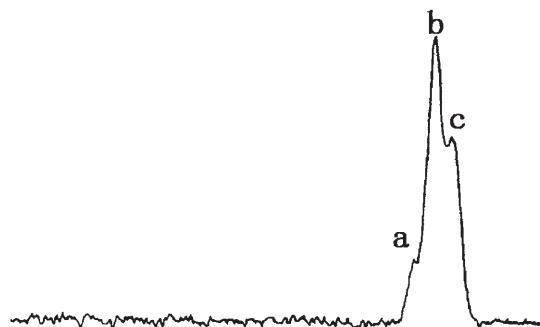


図2 シリカゲル表面の²⁹Si CP/MAS NMRスペクトル

シリカゲルのODS化では、シリカゲルの表面に存在しているこれらシラノールにODS基を化学結合させるのであるが、ODS基の立体障害のため、未反応のシラノールが残存し易くなるのである。この残存シラノールが塩基性化合物や配位性化合物と不可逆的な二次相互作用を引き起こすため溶出が乱れて検出されるピークがテーリングし、また極端な場合では、溶出しなくなることがある。

図3は、モノファンクショナルODSシリカゲルのエンドキャッピングの進行の様子を²⁹Si CP/MAS NMRスペクトル

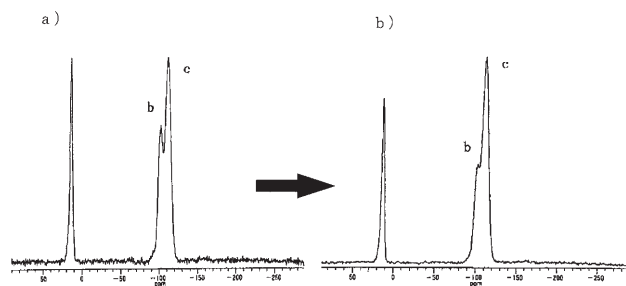


図3 一反応性ODSシリカゲル充填剤の²⁹Si CP/MAS NMR スペクトル
a) エンドキャッピングが不十分なODSシリカゲル充填剤。
b) a)をさらにエンドキャッピングした充填剤(Mightysil RP-18GP(5μm))

の変化をとらえて示したものである。

図3 a) は反応途中のエンドキャッピングが不十分な状態のODSシリカゲルであるが、反応の進行と共に図3 b)のごとくジェミナール型シラノールの消滅と、シングルシラノールが減少している様子がよく分る。

エンドキャッピングは、トルエン還流温度でTMS化反応を行う方法^{8), 9), 10)}が一般的であるが、この方法では完全なTMS化が困難であるとの観点から、より完全なエンドキャッピングを目指した気相法¹¹⁾、高温高压法⁵⁾、高温常圧法¹²⁾、超臨界法¹³⁾など、改良されたエンドキャッピングの方法が報告されている。

Mightysil RP-18 GP (5 μm)

Certificate of Analysis

Batch No. 05M1202

Analytical Results for Bulk Material

Physical Inspection	Spec.	Result
Mean Particle Size	[μm]	4.3~4.7
Surface Area	[m ² /g]	325~380
Mean Pore Diameter	[nm]	11.0~14.0
Pore Volume	[ml/g]	1.0~1.2
Carbon Content	[%]	19.5~21.5

Atomic Emission	Spec.	Result
Na [ppm]	≤20	0.1
Al [ppm]	≤5	0.4
Fe [ppm]	≤10	1.5
Ti [ppm]	≤1	0.1

Chromatographic Results and Conditions

- Column: Mightysil RP-18 GP 150-4.6 (5 μm) -

Selectivity test	Spec.	Result
Test I		
K ⁺ Anilinium	> 5.5	6.07
K ⁺ Anilinium / K ⁺ Butylamine	1.4~1.5	1.48
K ⁺ Triphenyl / K ⁺ o-Tolyl	1.4~1.5	1.45

Analytical Conditions	
Eluent:	Methanol / Water = 80 / 20
Flow rate:	1.0 ml / min
Temp.:	40 °C
Detection:	UV 254 nm
Inj. Vol.:	5 μl

Test II		
K ⁺ Acetylacetonide / K ⁺ Protonamide	1.9~2.2	2.18

Eluent:	Methanol / 20mM buffer(pH7.6)* = 40 / 60
Flow rate:	0.5 ml / min
Temp.:	40 °C
Detection:	UV 254 nm
Inj. Vol.:	5 μl

Test III		
K ⁺ Sorbic acid / K ⁺ Benzoic acid	2.0~2.5	2.13
K ⁺ Dehydroacetic acid / K ⁺ Benzoic acid	5.0~6.0	5.03

*pH adjust: add 20mM K ₂ HPO ₄ ·3H ₂ O to 20mM KH ₂ PO ₄	
Eluent:	Acetonitrile / 20mM buffer(pH4.6)* = 1 / 2
Flow rate:	0.5 ml / min
Temp.:	40 °C
Detection:	UV 225 nm
Inj. Vol.:	5 μl

Test IV		
K ⁺ Oxine-copper / K ⁺ Caffeine	0.10~0.15	0.12

*pH adjust: add conc. CH ₃ COOH to 20mM CH ₃ COONa	
Eluent:	Acetonitrile / 20mM H ₃ PO ₄ = 5 / 95
Flow rate:	1.0 ml / min
Temp.:	40 °C
Detection:	UV 250 nm
Inj. Vol.:	5 μl

Test V		
K ⁺ Pyridine / K ⁺ Caffeine	2.3~2.6	2.43
K ⁺ Aniline / K ⁺ Pyridine	2.6~2.9	2.90
K ⁺ o-Toluidine / K ⁺ Aniline	1.8~2.0	1.87
K ⁺ N-Methylamine / K ⁺ o-Toluidine	1.6~1.8	1.74
K ⁺ o-Ethylamine / K ⁺ N-Methylamine	1.1~1.3	1.16
K ⁺ p-Nitroaniline / K ⁺ o-Ethylamine	1.3~1.5	1.48
K ⁺ N,N-Dimethylaniline / K ⁺ p-Nitroaniline	1.7~1.9	1.70

Eluent:	Acetonitrile / Water = 30 / 70
Flow rate:	1.0 ml / min
Temp.:	40 °C
Detection:	UV 254 nm
Inj. Vol.:	10 μl

Test VI		
K ⁺ Ethanol	3.0~3.5	3.05

Eluent:	Acetonitrile / 20mM KH ₂ PO ₄ = 40 / 60
Flow rate:	1.0 ml / min
Temp.:	40 °C
Detection:	UV 220 nm
Inj. Vol.:	3 μl

図4 Mightysil RP-18GP(5μm)の充填剤バッチ試験の分析表

5-3 Mightysil RP-18 GPの溶離特性について

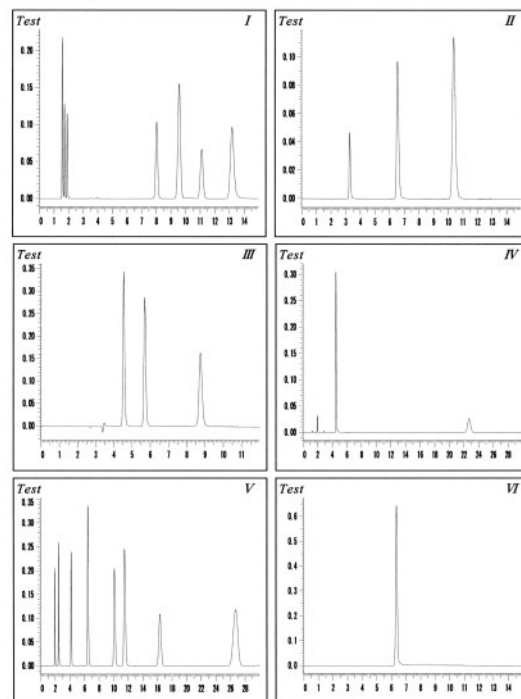
Mightysil RP-18 GPシリーズは、充填剤の製造バッチ毎の品質を一定に保つことを目的に6種類の溶離特性試験を行いバッチ間の再現性を確認し、優れた再現性を保証することを最大の特徴としている。製品に添付されている試験成績表を図4に示す。

図4は、母体シリカゲルの物理特性と代表的な金属不純物および6種類の溶離特性試験の実測値及び規格値を示した一覧表と、6種類の溶離特性試験のクロマトグラムを示したものである。

最近のHPLC用充填カラムでは、このような充填剤の基本性能と溶離試験データが添付されていることが多く、使用者はこれらのデータ(バッチデータ)が試験方法の妥当性の管理にも利用できるようになっているのでGLP (Good Laboratory Practice) 活動の一助となれば幸いである。

Mightysil RP-18GPシリーズで実施しているこれら6種類の溶離特性試験は、試験—I 疎水性、立体選択性試験、試験—II エンドキャッピング試験、試験—III 酸性化合物試験、試験—IV 配位性化合物試験(その1)、試験—V 塩基性化合物試験、試験—VI 配位性化合物試験(その2)により構成されているが、このうち特徴

Chromatograms



Approved by Y.SAWADA
Date 2005.12.02

関東化学株式会社
試験事業本部

〒100-0023 東京都中央区日本橋8丁目11番1号 03-3653-7031
〒100-0004 東京都中央区東区2丁目1番1号 03-6222-2796
〒102-0077 東京都中央区東区3丁目22番3号 03-6244-9061
《関東化学インターネットホームページ》 <http://www.kanto-chem.co.jp>

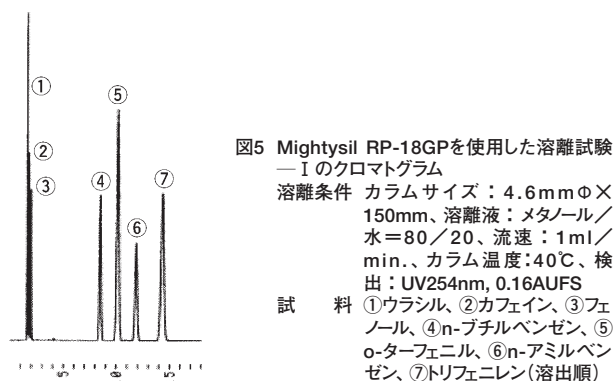
的な試験である、試験—I、試験—II、試験—IVについて以下に述べる。

5-3-1 試験—I 疎水性及び立体選択性試験

1) ODSシリカゲル充填剤の結合官能基数の違い(ファンクショナリティー)による溶離特性

ODSシリカゲル充填剤の溶離特性は、化学結合されたODS基の結合官能基数(ファンクショナリティー)により異なることから、田中試験¹⁴⁾で知られている評価方法を試験—Iとして採用することで充填剤の疎水性と立体選択性を評価し、ODSシリカゲル固定相が均質であることを確認している。

一反応性ODSシリカゲル充填剤が充填されているMightysil RP-18GP (5 μ m) (4.6mm Φ ×150mm) のクロマトグラムを図5に示す。



これに対して、ポリファンクショナルODSシリカゲル充填剤を使用した場合の溶離挙動を図6a) (二反応性ODS)、図6b) (三反応性ODS)に示す。一反応性ODSシリカゲルに比べ、溶出時間も長く特徴のある溶離挙動を示している。

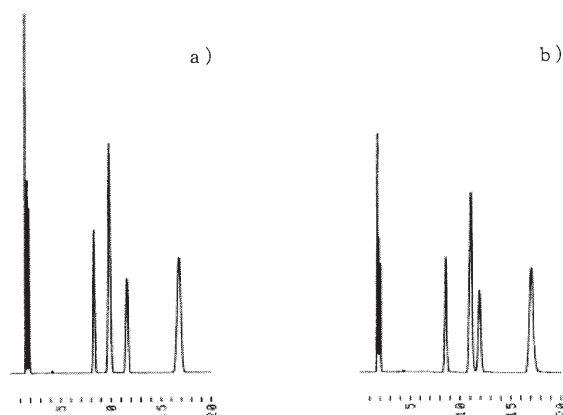


図6 ポリファンクショナルODSシリカゲル充填剤の溶離試験—Iのクロマトグラム
a) 二反応性ODSシリカゲル、b) 三反応性ODSシリカゲル
溶離条件及び試料は図—5と同じ

一般的に、ポリファンクショナルODSシリカゲル充填剤のうち、三反応性ODS充填剤は、ポリメリックな表面構

造になりやすく、多環芳香族炭化水素の立体選択性に優れているといわれている。

この状況を一反応性充填剤のクロマトグラムと比較すると、図6 b)に示される三反応性ODSシリカゲル充填剤の場合、o-ターフェニルとn-アミルベンゼンが接近し分離が悪いように思われるが、これはo-ターフェニルの溶出時間が遅れ、n-アミルベンゼンの溶出時間がほとんど変わらないことから生じた現象である。前述したように多環芳香族化合物に対して特異な働きを示していることがわかる。

これに対し、図6 a)に示す二反応性ODSシリカゲル充填剤は、一反応性充填剤と三反応性充填剤の中間の性質を有しているといわれているが、実際は使用されている例が少ないこともありこれといった特徴が見出されていないのが実情である。

表2 ODSシリカゲル充填剤の分離係数の比較

	k' _{AM} /k' _{BU}	k' _{TR} /k' _{TE}
一反応性 ODS	1.49	1.44
二反応性 ODS	1.48	1.62
三反応性 ODS	1.49	1.64

*) AM: Amylbenzen、BU: Butylbenzene、TR: Triphenylene、TE: o-Terphenyl

表2は図5の溶離条件で測定した際のアルキルベンゼンと多環芳香族炭化水素の分離係数(α)を示したものである。アルキルベンゼンの分離係数は各充填剤共、ほとんど差は見られないが、多環芳香族炭化水素の分離係数は、それぞれ特徴的な結果を示している。

このように、ODS基のファンクショナリティーが異なると溶離特性も違ってくことから、分析しようとする試料の性質もあわせ、充填剤を選定することが重要となる。

(次号に続く)

参考文献

- 1) Lloyd R. Snyder, Joseph J. Kirkland, Joseph L. Glajch, "PRACTICAL HPLC METHOD DEVELOPMENT" 2nd EDITION, JOHN WILEY & SONS INC
- 2) 日本分析化学会関東支部編, "改訂2版 高速液体クロマトグラフィーハンドブック", 丸善 (2000)
- 3) 中村洋監修 "液クロ虎の巻", p54, 筑波出版会 (2003)
- 4) Y. Ohtsu, Y. Shiojima, Y. Okuyama, J. Koyama, K. Nakamura, K. Kimata, N. Tanaka, *J. Chromatogr.*, **481**, 147 (1989)
- 5) 細田誠、酒井芳博 *Chromatography*, **17**, 39 (1996)
- 6) 酒井芳博 *THE CHEMICAL TIMES* **171**, 17 (1999)
- 7) US Patent No. US6713033 B2
- 8) C.H. Lochmueller, D.B. Marshall, *Analitica Chimica Acta*, **142**, 63 (1982)
- 9) K. Jinno, S. Shimura, N. Tanaka, J.C. Fetze, R. Biggs, *Chromatographia*, **27**, 285 (1989)
- 10) N. Nagae, Y. Hatano, D. Ishii, *Chromatography*, **14**, 45R (1993)
- 11) 特許第2611545号
- 12) 酒井芳博、浜川大爾、太田鈴枝 第2回LCテクノプラザ講演要旨集, BP2 51 (1997)
- 13) 檜田孝、井原俊英、堀本能之、野村明 第4回LCテクノプラザ講演要旨集, BP2 36 (1999)
- 14) K. Kimata, K. Iwaguchi, S. Onishi, K. Jinno, R. Eksteen, K. Hosoya, M. Arai, N. Tanaka, *J. Chromatogr. Sci.*, **721**, 27 (1989)

新・私の古生物誌(3)

New Series of My Paleontological Notes (3)

—クモの進化古生物学(その2)—

—*Evolutional Paleontology of Spiders*—

医学博士 福田 芳生
M.Dr. YOSHIO FUKUDA

5. クモの体外消化と吸胃・中腸

多くの方は、クモが専ら獲物の体液を吸飲していると思いきこんでいるようです。その理由は、クモの巣に引っ掛かった昆虫の体がセミの抜け殻のようになっていて、硬いキチン質の外被しか残っていないからでしょう。

体液吸飲説は大変な間違いです。クモはまず口器からタンパク消化液を、神経毒で運動能力を奪った犠牲者の体内に注入し、筋肉や内臓を液化します。専門家の間では、このような消化法を指して、体外消化と呼んでいます。強力な筋肉を備えたクモの胃は、激しく収縮・拡張を繰り返し、まるで動力ポンプのように、液化した獲物のタンパク質を吸飲します。この特別なクモの胃は、吸胃(サックリング・スタマック)と呼ばれています。

吸胃の内側は角質層で覆われ、タンパク液の消化・吸収は全く行われません。吸胃を通過した食物は、中腸に送られます。中腸内側には角質層がありません。クモは中腸でタンパク液を分解し、吸収します。

そして、栄養分は中腸上側にあるブドウの房を思わせるような形の、中腸腺の部分に貯えられます(前回のシリーズ図1)。北アメリカ産の毒グモの1種で、俗に”黒衣の未亡人”と呼ばれるラトロデクサス・マクタンズでは、何と200日にも及ぶ絶食に耐えたという実験結果があります。

それは、中腸腺の貯蔵物質に支えられたからなのだそうです。そして、未消化物は中腸後方で脱水され、一時糞嚢に貯溜され、最終的に肛門から排出されます。また、不要なタンパク分解産物や無機塩類は、腎臓のような機能を有するマルピギー管を経由して、やはり肛門から体外に棄て去られます。

6. クモの呼吸器

クモはどのような呼吸装置を持っているのでしょうか。書肺と気管呼吸の2つの手段によって、ガス交換を行います。書肺の方は腹部下面前方にあって、小さな空気取り入れ口があります。

書肺という名称は切断面を横から見た際、重なった本のページに似ていることに因っています(図10のa)。本のページのような多数の襞は袋状になっていて、内部に空気を貯えます。袋状の襞をエアー・ポケットと呼びます(図10のb)。

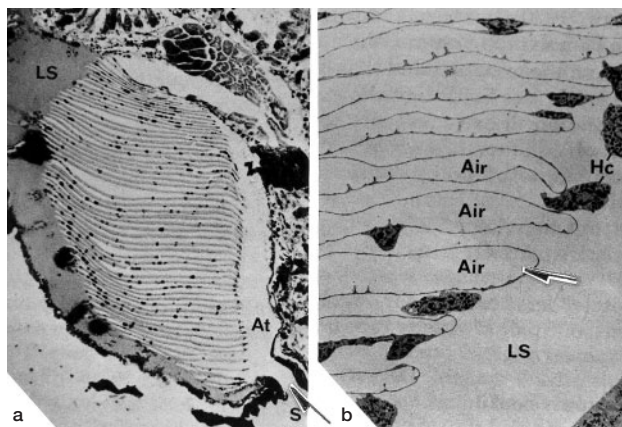


図10. クモの書肺. aは書肺の縦断面。エアー・ポケットの薄板が重なっている様子が本のページのように見えることから、書肺と呼ばれるようになった。矢印は空気取り入れ口(80倍)。bはエアー・ポケット(矢印)の薄板を拡大して示す(1000倍)。(R.F.フェリックスによる)

この書肺の起源を辿ってみると、腹部の外被が細かく折れ曲がって形成されたことが分かります。スコットランドの石炭紀初期の陸生サソリに、その好例を見ることができます(図11)。

気管呼吸は、特に大形のクモ類に発達しています。それは、初期のクモでは書肺に依存していたが、次第に大形化するに従って、気管呼吸が主流になったと考えられています。

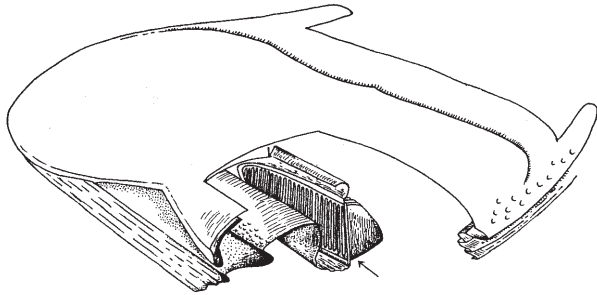


図11. 書肺を備えた石炭紀初期の陸生サソリ。矢印は腹側の外被が内側に折れ込んで形成された書肺(A.J.ジェラムによる)

7. 最古のクモ、エオタルプス・ジェラミ

クモはダニ類から誕生したと推定されています。化石の記録から、今のところ最古のクモとみなされているのは、イギリスのウェールズ地方のシュロップシャー県ルドフォードにある、古生代シルル紀末(今から約4億1千万年前)の頁岩層より産出したエオタルプス・ジェラミです(図12)。虫体はひどく小さなもので、全長1.35ミリメートルしかありません。

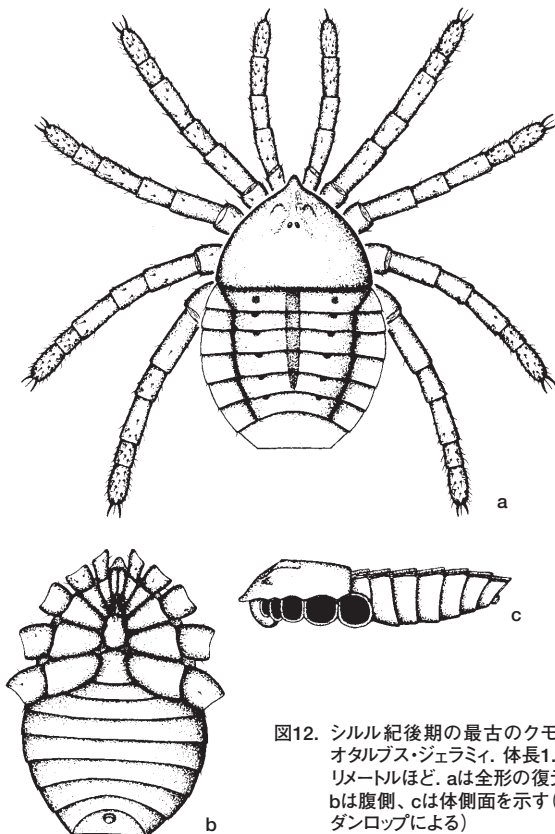


図12. シルル紀後期の最古のクモ、エオタルプス・ジェラミ。体長1.35ミリメートルほど。aは全形の復元図。bは腹側、cは体側面を示す(J.A.ダンロップによる)

最古のクモ、エオタルプスを発見したのは、マンチェスター大学地球科学科のダンロップ博士です。このダンロップ博士は、古生代のクモやサソリの世界的な権威です。

博士は、地層から採取してきた頁岩の塊を細かく砕いて、フッ化水素酸の溶液に浸し、母岩を溶解しました。そして、器の底に沈んだ濃褐色の炭化物を顕微鏡で熱心に観察し、ようやく最古のクモを発見したという訳です。

エオタルプスは全体に楕円形をしていて、頭胸部と腹部をはっきり区別することができます。頭胸部は丸味を帯びた三角形で、背側上方に小さな1対の個眼があります。頭胸部下側から1対の触肢と4対の歩脚が体の側方に伸び出し、触肢末端にはそれぞれ1本の爪が、歩脚には1対の鉤型の爪があります。

半円形をした腹部は7つの節に分かれ、尾節の下側中央部に肛門が開孔しています。腹部を横走る多数の節は、古生代のクモ類に共通する大きな特徴です。

最古のクモ、エオタルプスはかなり先祖のダニに近い外形をしています。ダニ類では頭や胸、腹部の区別が無く、触肢もありません。そんなことから、ダンロップ博士はエオタルプスをダニとは別物であるとの判定を下したのです。このエオタルプスは、当時の湿地帯で生活していたと考えられています。

恐らく、腐った植物の葉や茎の下側に潜み、微小な有機物片を摂取していたのでしょう。そして、腹部下面に書肺があったに違いありません。

8. クモ類の進化

次のデボン紀から石炭紀にかけて、クモ類は次第に大形化し、石炭紀のクモ類のなかには体長4センチメートル近いものも出て来ます(図13)。未だ、ネバネバした捕虫網を植物の葉や茎の間に張り渡し、獲物を捕らえるといったクモ独特の生活様式は成立していません。

出現当初、植物の葉や小石の陰で生活していたクモ類は、やがて地表に浅い穴を掘り、その内部で生活するようになります。時々外に出て小型のダニ類や昆虫を捕食していたと考えられています。歩脚が概して細長いのは、敏捷に地上を走り回っていたことを示しています。それは獲物を追跡して捕らえるばかりか、デボン紀末から石炭紀にかけて猛威を振るっていた、初期の肉食性の両生類や爬虫類から身を守る上にも有利だったでしょう。

アメリカのクモ類化石の第一人者シェアー博士は、毒腺を備えたクモ類の出現時期について、デボン紀に入った頃(今から約4億年前)ではないかとしています。その推測を裏付ける化石が見つっています。

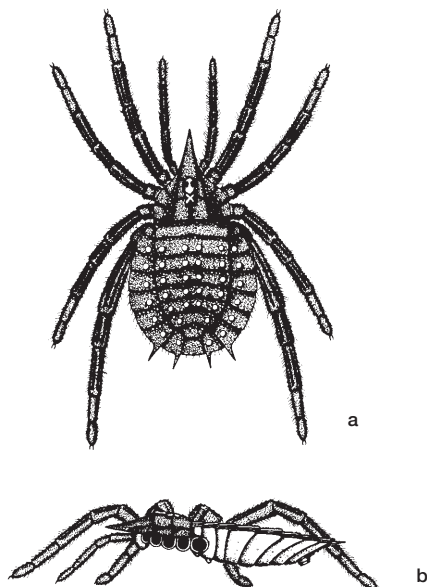


図13. 石炭紀後期のクモ、プレオプリヌス・ベルコサ。aは全形の復元図。これは雌の個体で、体長4センチメートル前後ある。bは体側面。手前の脚は省略されている(J.A.ダンロップによる)

9. 口器前方のフィルターの発見

最古のクモの化石を発見したマンチェスター大学のダンロップ博士は、スコットランド北部のライニー地方にある約4億年前の珪岩に注目していました。当時、このライニー地方は湖が点在する湿地帯でした。そこへ火山の噴出物が流入し、大量の珪素が水に溶け出しました。

その結果、湖水は濃い珪素のスープと化しました。このスープに、湖や周囲の湿地帯に生息していた植物や動物が取り込まれ、永い年月を経て珪岩、いわゆるライニーチャートとなったのです。この珪岩の内部には、とても化石として残り得ないような植物の細かな構造ばかりか、昆虫、ダニ、クモ類などが生息時と少しも変わらない姿で保存され、世界中の古生物学者の関心を集めています。

かのダンロップ博士は、現生種のクモ類が毒液で獲物の動きを封じ、次いで体をタンパク消化液で溶解し、その液を吸飲すること。タンパク液の通る口器前方の細いパイプに、剛毛が密生していることに着目しました。

この剛毛は高性能のフィルターの役目を負っていて、異物が消化管内に侵入するのを防いでいます。ダンロップ博士は、もし化石種のクモにフィルターが見つければ、前

記のような捕食行動を取っていたことの証明になると確信しました。

そして、ライニーチャートのクモに、フィルターがあるならば、必ず保存されているはずだと考えたのです。それからというもの、ダンロップ博士はクモの遺骸を含んでいるライニーチャートを入手すべく、何度も大英博物館に足を運びました。ようやく、標本を切断して調べてもよいという許可を取り付けました。

ダンロップ博士は、クモの化石を母岩ごと薄片にして、光学顕微鏡で丹念に観察しました。遂に、口器前方の細い管の内側にフィルターを発見したのです(図14)。それは1994年のことです。

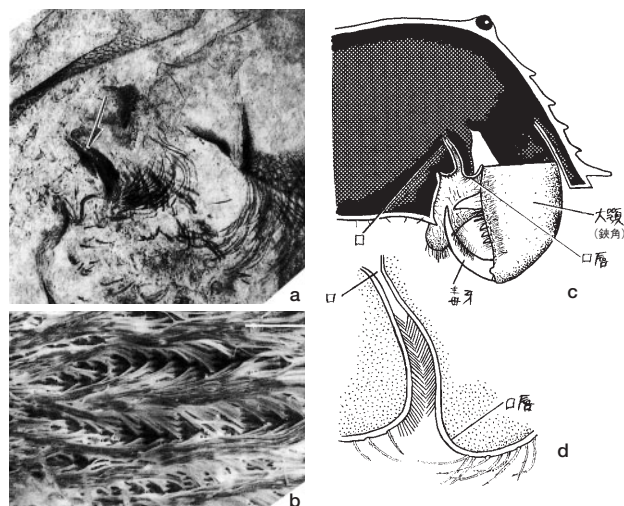


図14. 約4億年前のクモに認められた口前方の細管内を埋めるフィルター。aはデボン紀初期のクモに存在するフィルター(矢印)。bは現生種のクモのフィルターを示す電子顕微鏡像。cはデボン紀初期のクモの頭胸部縦断面。毒牙を備えた大顎(鉗角)内側に口がある。dはcの口前方の細管内にあるフィルターの様子を拡大して示す(J.A.ダンロップによる)

10. 中生代のクモ類と出糸突起の出現

さて、古生代と新生代の地層から、しばしばクモ類の化石が見つかるのに、どうした訳か中生代のクモ類については、近年になるまで全く不明でした。

1990年になって、ようやくロシアの古生物学者エスコフとゾンスタイン両博士が、トランスバイカル地方とモンゴルの白亜紀初期(今から約1億4千万年前)の地層から、立派なクモ類の化石を報告しました(図15)。次いで1992年に、フランスの三畳紀中期(今から約2億3千万年前)の砂岩層よりクモの化石、ロサミグレ・グラウボゲリイが、イギリスのセルデンとフランスのガル両博士によって発見されました(図16)。

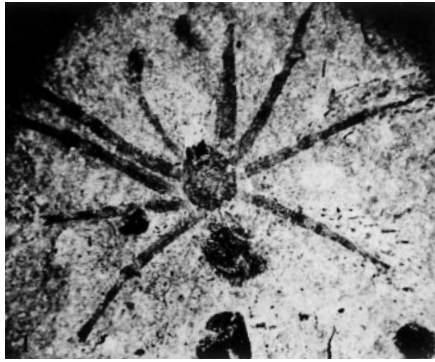


図15. トランスバイカル地方の白亜紀初期の頁岩層より発見されたクモ、クレトヘクウラ・コイレイ (写真は雄の個体)。体長7ミリメートルほどある (K.エスコフとS.ゾンスタインによる)

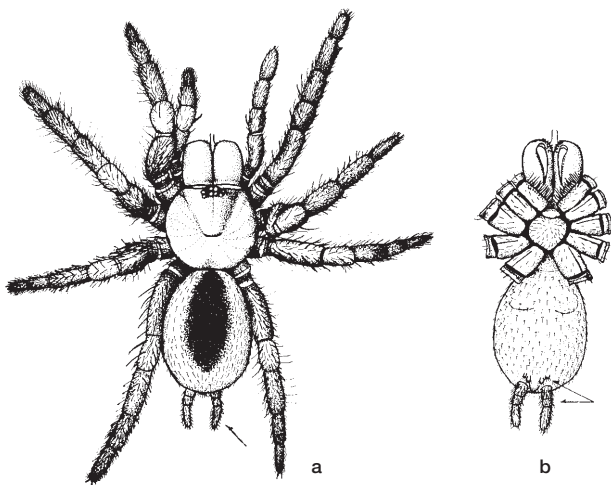


図16. 三畳紀中期のクモ、ロサミガレ・グラウボゲリ。体長7ミリメートルほどある。aは全形の復元図。bは腹側。既に腹部末端に糸突起 (矢印) が出現している (P.A.セルデンとJ.-C.ガルによる)

化石は体長7ミリメートル未満の幼体ですが、腹部の体節は融合の結果、完全に消失しています。そして、腹部末端に3対の糸突起を備えるなど、かなり現在のクモ類に近い姿をしています。白亜紀初期のクモでは、腹部に体節構造の名残が認められます。一方、ロサミガレには存在しないことから、本種はかなり進歩的なクモと言えるでしょう。

三畳紀のクモ、ロサミガレは入り江や渚の湿った草地に浅い穴を穿って潜み、獲物を狙っていたようです。糸突起から吐き出された糸は、巣穴内壁の補強材であったと考えられています。

白亜紀になると、巣穴の開口部を塞ぐ戸 (クモの糸で砂粒を固めたもの) を形成するようになります。それはキムラグモの段階に相当します。キムラグモの仲間をトタゲモと呼ぶのは、開口部の戸に因んで付けられた名称です。キムラグモは未だに穴居生活を送っていて、捕虫網を形成する能力がありません。キムラグモは体ばかりか、生態

の面でも”生きている化石”の範囲に止まっています (図2)。どのような理由で、キムラグモは進化を停止したのか、多くの謎が残されています。

キムラグモの段階を経て、次第に巣穴の入口を塞ぐ戸が拡大し、獲物を捕らえるクモ類に独特の捕虫網を完成させたのでしょう。糸突起を備えた”最古のクモ”、ロサミガレはクモ類の進化を語る上で、重要な位置を占めていることになります。

そして、新生代に入るや現生種と全く変わらない姿のクモ類が大発展し、水生のクモ類まで出現します (図17)。目下、人類の嫌われ者扱いされているクモですが、米軍兵器廠によれば、1970年代のライフル・スコープの十字線は、実はクモの糸からなっていたという時代もありました。また、薬理学の分野でも、クモは大変な貢献をしており、マリファナやLSDなどの幻覚剤をクモに与え、巣の張り方を調べます。その際、異常な捕虫網が形成されるか否かを観察し、幻覚剤の効力を判定します。皆さん、これでクモの見方 (味方?) も、多少良い方向に変わったのではないのでしょうか。

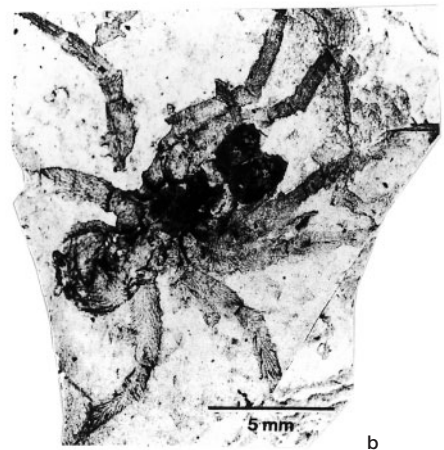
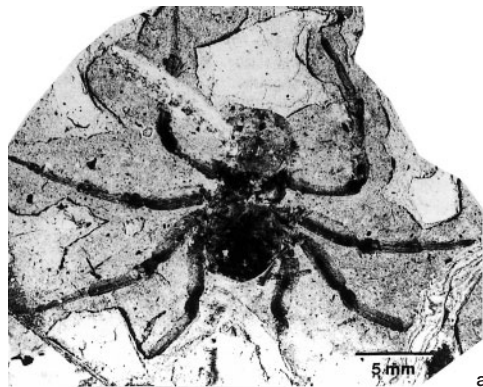


図17. 約2500万年前の水生グモ、アラプロネタ・アンティアquaの化石 (a~b)。体長10ミリメートルほどある。ドイツのケルン近傍より産出した (W.V.コエニグス・ヴァルドによる)

ドイツの切手に現れた科学者、技術者達 (18)

フリードリッヒ・ヴェーラー

Scientists and Engineers in German Stamps (18). Friedrich Wöhler

筑波大学名誉教授 原田 馨
KAORU HARADA

Professor Emeritus, University of Tsukuba.



シアン酸アンモニウムから加熱により尿素を合成したF. ヴェーラーの没後100年記念切手(1982)。この化学反応が生気論を打ち壊す最初の成功例となった。

フリードリッヒ・ヴェーラー

フリードリッヒ・ヴェーラー (Friedrich Wöhler, 1800-1882) ドイツの化学者。

1800年にフランクフルト近くのエッシャー・シャインの獣外科医の息子として生まれた。学校の低学年の頃は成績がよくなかったので、父親は自ら息子の学習を指導した。父親がフリードリッヒに非常に高いレベルの学力を要求したのだろう。1820年マールブルク大学に入学し医学を学んだが、翌年ハイデルベルク大学に移り、化学者レオポルド・グメリン (Leopold Gmelin, 1778-1853) のもとで種々の実験を行った。1823年医学の学位を得た後、化学を専攻した。「ヴェーラーには教えることは何もない」と言うグメリンの推薦により、スウェーデンのベルツェリウスのもとで学んだ。1825年～1831年ベルリンの工業学校で教え、次いで1831年～1836年までカッセル工業学校で教えた後、1836年にゲッティンゲン大学医学部化学教授となった。

ヴェーラーの著名な業績には、無機物質であるシアン酸アンモニウムの加熱による尿素の生成がある。当時生体物質の生成には「生命力」が必要であると考えられていた。尿素は典型的な有機物質であるので、ヴェーラーの尿素の非生物的生成は当時一般に信じられていた生物体が持つ「生命力」の存在に対する挑戦であった。

また彼は金属アルミニウムを単離したことで知られている。



ゲッチンゲン大学化学博物館に展示されている胸像。

友人リービッヒと協力して行った研究には、有機化合物に関するものが多い。例えばベンゾイルクロリドは、アニリンと反応してベンゾイルアニリンとなり、ベンゾイル基またはアラニル基が一同となって移動する説を提唱した。

ヴェーラーとリービッヒがそれぞれ得たイソシア

ン酸とシアン酸は同じ元素分析値を示すが、その他の物理的、化学的性質は異なる。それは分子内における原子の配列が異なるからである。ペルツェリウスは、このような同じ元素組成で分子量の同じ分子を異性体(Isomer)と命名した。これは19世紀における構造化学のはじまりであった。

数々の業績を残したヴェーラーは、この間ゲッチンゲン大学の官舎に46年間住み研究を行っていたが、やがてヴェーラーの高名さから、その名を冠して人々からヴェーラーハウスと呼ばれるようになった(ケミカルタイムズ203号レオポルド・グメリンの稿にも同じ記載がある)。

札幌農学校の「青年よ大志を抱け」の言葉で日本で有名なW. S. クラーク博士(Wiliam Smith Clark, 1826-1886)は、若い時代に鉄隕石の化学分析の論文をヴェーラーに提出し、Ph.D.の学位を得た。ヴェーラー自身も石質隕石中に含まれる有機化合物の分析を行っている。それ故ヴェーラーは、最初の宇宙有機化学的研究を行った研究者と見なされている。

※本稿に掲載の写真は、全て著者の撮影によるものである。



ゲッチンゲン大学の講義室に掲げられたヴェーラーの胸像。



少年の風貌を残す若き日のヴェーラー。



毛皮の外套を着てステッキを持つ初老のヴェーラー。



現在は別な研究所となっているが、ゲッチンゲン市のホスピタル通りに残るヴェーラーの名を冠したヴェーラーハウス。4人の科学者の記念版が掲げられている(ケミカルタイムズ203号グメリンの稿参照)。

ドイツの切手に現れた科学者、技術者達(18) フリードリッヒ・ヴェーラー



現在ゲッチンゲン市のホスピタル通りに立つヴェーラーの立像。

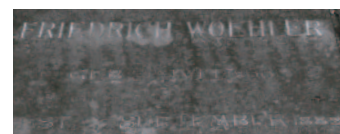
ヴェーラー誕生80年記念のために発行された大型の金色のメダル。1880年、直径10cm。



ゲッチンゲン市営墓地にあるヴェーラーの墓。



ヴェーラーの立像(上写真)の足下にあるのは尿素の分子式のモザイク。



ヴェーラーの墓の墓碑名の拡大図。

表紙写真

スミレサイシン(董細辛)

スミレ科 スミレ属

この花の名前がわからなくて、詳しい方に確認したところ、スミレの類ほど特定の難しい花はないと言うことをはじめて知りました。スミレサイシンは、日本海側と北日本の雪の多い地方に咲き、あまり高くない山地の落葉樹の木陰を好み、先の尖ったハート形の葉も特徴の一つです。これは長野県小谷村の雨飾山近辺で撮影しましたが、この雪解けから新緑の時期にかけての光景も本当に見事なものです。(写真文 北原)

編集後記

新緑の候も一転し、緑深まりゆく初夏。このように活力みなぎる空気に包まれると、身も軽く心も豊かになるというものではないでしょうか。

あることをきっかけに、本誌編集にも一つのアイデアを取り入れることにいたしました。化学に係わる若葉マークの読者に、栄養剤になるような情報の発信ができないものか、できるならば編集にも過重な負荷をかけずにやれることを考えておりましたら、60余年の試験研究用試薬を生業にする当社ならではの経験を活かすことはどうか、その中から適宜選んでご披露していくことから始

めてみようではないか、ということになりました。

このような企画にそって「化学分析における基礎技術の重要性」、「クロマトグラフィーの基礎技術」など適宜取り上げてまいります。

弊社自らを振り返っても、初級者への実践的な科学の知育を必要に感じており、皆様にとってもお役に立つものとの思いを深めておりますが、ご賛同いただける皆様がおられましたら、「基礎技術の重要性」について、ご経験を本誌編集室までご寄稿いただければ幸いに存じます。

古藤 記



関東化学株式会社

〒103-0023 東京都中央区日本橋本町3丁目2番8号
電話 (03) 3279-1751 FAX (03) 3279-5560
インターネットホームページ <http://www.kanto.co.jp>
編集責任者 古藤 薫 平成19年7月1日 発行