

THE KANTO CHEMICAL CO., INC. Cica CHEMICAL TIMES

2007 No.4 (通巻206号)

ISSN 0285-2446

特殊反応場を利用する導電性高分子材料の構造制御型合成	跡部 真人	2
選択的ショットガンプロテオミクスー肝ミクロソーム中P-450の網羅的解析ー	山中 秀徳 武吉 正博 美濃部 安史 矢可部 芳州 高月 峰夫	10
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2ー	酒井 芳博	13
化学分析における基礎技術の重要性(8)ーデータの解析力と分析の品質管理(精度管理)ー	井上 達也	18
ドイツの切手に現れた科学者、技術者達(19) マックス・フォン・ベッテンコーフェル	原田 馨	22
編集後記		24



特殊反応場を利用する 導電性高分子材料の構造制御型合成

Synthesis of Conducting Polymer Materials Having Highly-Regulated Structures in Unique Fields and Media

東京工業大学大学院総合理工学研究科 准教授 跡部真人
MAHITO ATOBE (Associate Professor)

Interdisciplinary Graduate School of Science and Technology, Tokyo Institute of Technology

1. はじめに

芳香族化合物の酸化重合によって生成する導電性高分子は多様な化学的、物理的有用特性を有することから機能性材料として広範な分野で注目されており、また、一部は実用化もされている¹⁻³⁾。導電性高分子材料のこのような特性・機能は薄膜化によって一層顕著に発現される場合が多く、そのため導電性高分子膜の製造技術は産業上極めて重要である。これら導電性高分子を膜材料として得るためには、一般に電解重合が用いられる。しかしながら、その他の物理的構造や秩序性は膜材料の合成時に非蓋然的に決定され、また電解重合の駆動エネルギー（電気化学エネルギー）自身の制御、すなわち電流密度や電極電位の制御による重合膜構造の制御範囲も狭い。さらには多くの導電性高分子は溶媒に対して不溶であることから合成後の成形加工も困難となってしまう。つまり、高分子膜合成過程と膜構造制御過程を同時に行ういわば構造制御型電解重合法の開発は非常に重要な課題といえる³⁾。

一方、超音波や遠心力などの力学エネルギーは電解重合を直接駆動させるものではないが、電気化学エネルギーに重畳して印加すれば、電気化学エネルギーだけでは不可能な重合膜物性の制御が達成される。また、特異なメディア効果を有するイオン液体や超臨界流体の利用も、重合膜物性の新規制御法として期待できるものである。

本稿では構造制御型電解重合法の開発を念頭に置き、著者らが実施した特殊な環境場や媒体を利用した導電性高分子材料の電解合成について紹介したい。

2. 超音波照射場における導電性高分子の電解合成

超音波の化学効果は光波（電磁波）などとは異なり音波のエネルギーが分子レベルで反応種を直接的に励起することによるものではない。このことは、例えば数十kHzの超音波の水中での波長が数cm程度であることから超音波が化学反応を直接駆動するには不十分であることは自明である。超音波の顕著な化学効果は事実上、キャビテーションという二次的現象に起因するものである⁴⁾。このキャビテーション現象とは疎密波である超音波を液体中に照射し、その出力を上げていくことで音圧の低圧部が液体の分子間力に打ち勝つほど十分陰圧になったときにキャビティと呼ばれる小さな気泡が生じ、これが液体中の圧力変化に伴って膨張・収縮を数回繰り返したのちに圧壊する現象である（図1(a)）。このわずかな数マイクロ秒の断熱的な圧縮の際には、キャビティとそ

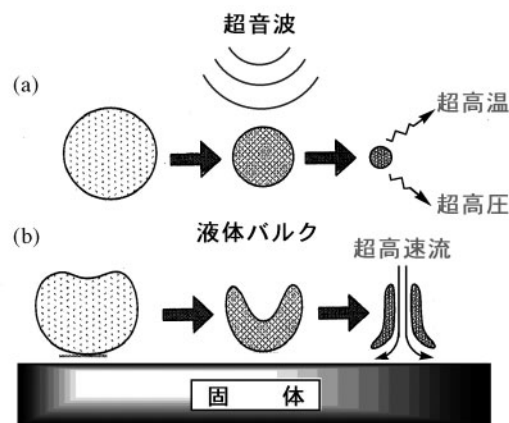


図1 超音波キャビティの圧壊による極限状態の発現。
(a) 液体バルク中。(b) 固体表面上。

の周辺は局所的に数千度、数百～数千気圧という極限状態になる。また液体バルク中とは異なり固体表面が存在する場合には、その表面付近でのキャビティの圧壊は固体側からの圧力が液体バルク側からの圧力よりも小さいために非対称に圧壊し、固体表面に向かう超高速流（線流速にして数百 m s^{-1} 程度にも達する）が生じる（図1（b））。これらはいずれも化学反応にとって魅力的な反応場であるが、不均一系化学反応においては、とくに物質移動過程を支配する超高速流の寄与が大きい。このため、典型的な固液不均一系反応である電気化学反応では、特異な超音波効果が大いに期待される。電気化学における超音波利用では電気めっきの分野で50年以上の実績があり、めっき層内部の構造欠陥の減少、めっき層の光沢化、基板電極への密着性の向上、均質めっきといった有益な超音波効果が多数見出されている^{5,6)}。陽極上に導電性高分子膜を形成する電解重合は電析反応という観点から電気めっきと等価なプロセスとみなすことが出来るものであり、電気めっきと類似した超音波の寄与が期待される。

そこで著者らは超音波照射下において典型的なモノマーであるアニリン、ピロール、チオフェンの電解酸化重合を実施した^{7,8)}。

図2には超音波照射下と非照射下それぞれにおいて陽極上に形成されたアニリン重合膜のSEM写真を示した。これら重合膜はいずれも50回の電位掃引重合により作製したものであるが、非照射下において得られた重合膜は粒塊が絡み合ったスポンジ状のものであるのに対し、照射下重合によるものはこの倍率では粒塊が確認できないほど緻密で、また基板電極の研磨痕が確認できるほど薄い膜であることが明らかとなった。同様の超音波

照射による重合膜の均一化・緻密化はピロールおよびチオフェン重合膜においても観測され、超音波効果の普遍性も確認された。

表1には超音波照射下、非照射下それぞれにおいて作製した各種重合膜の膜厚、重量密度ならびに電気化学的容量密度を掲げた。

表1 超音波照射下および非照射下それぞれにおいて作製された各種重合膜の物性

ポリマー	超音波照射	膜厚 / μm	重量密度 / $\times 10^{-2} \text{ cm}^{-3}$	電気化学的 容量密度 / C cm^{-3}
ポリアニリン	無	19	2.6	100
ポリアニリン	有	0.7	12	230
ポリチオフェン	無	26	2.2	14
ポリチオフェン	有	0.6	11	88
ポリピロール	無	1.2	6	140
ポリピロール	有	0.7	10	210

この結果が示すように超音波照射下において作製された重合膜はいずれも薄いものであったが、その密度は非照射下作製のものに比べ、大幅に増加することがわかった。

電解重合による導電性高分子膜形成の初期過程は、核形成過程と粒塊成長過程の2つに大別される。この際、反応場である電極界面へのモノマー輸送が十分であるならば、電極面全体にわたり核形成が十分に行われ、その後の重合膜の成長も均一に起こる。しかしながら、モノマー輸送が乏しい場合には、核形成過程から即座に粒塊成長過程に推移してしまい、最終的には比較的大きなサイズの大きいポリマー粒塊が出現してしまう。つまり粒塊の存在しない均一で緻密な導電性高分子膜を得るためには、反応場である電極界面への効率的なモノマー輸送が重要となり、超音波照射下では前述のキャビテーション高速流がこの役割を担っていることが実験的にも明らかにされている⁹⁾。

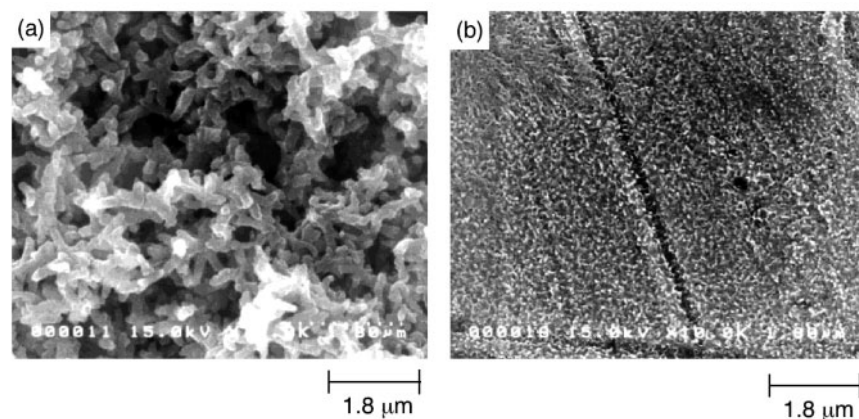


図2 アニリン重合膜のSEM写真。
重合方法:電位掃引重合。電解液:0.1 M アニリン / 4 M HCl水溶液。掃引回数:50回。掃引速度:100 mV s^{-1} 。(a) 非照射下作製。(b) 超音波照射下作製 (20 kHz, 17 W)。

3. 遠心場における導電性高分子の電解合成

近年、宇宙開発の進展とともに微小重力場における研究が、材料工学、流体力学、生体科学、更には電気化学といった極めて幅広い領域に及んでおり、多大な関心が集められている。これら微小重力環境を利用した研究を通じて我々は、重力加速度が $1\text{ g} = 9.8\text{ m s}^{-2}$ という地球が誕生する際の偶然によって決定された値以外をとることを知り、さらに、重力加速度が本来は連続可変なパラメータであることを改めて認識するに至った。

しかしながら、宇宙実験の実施には莫大な費用を要するため気軽に利用することが難しく、また、重力場効果をより包括的に捉えるためには微小重力場のみならず高重力場における反応挙動を精査することも重要となる。

地上において容易に大きな加速度を得る手段としては、遠心加速機の利用が挙げられる。実際、晶析技術への遠心場(高重力場)利用は活発に行われており、加速度を大きくしてゆくと、結晶に導入される成長縞と呼ばれる不純物のミクロな不均一性が消失したり、添加した不純物が均一に分布するなどの極めて興味深い実験結果が報告されている¹⁰⁾。

一方、芳香族化合物の電解重合もまた電極上に導電性高分子膜が析出する固体析出反応であることから、前述した遠心場効果の利用は極めて有効であると考えられる。そこで、著者らは遠心場においてアニリン、ピロールならびにチオフェンといった典型的なモノマーの電解重合を実施した^{11,12)}。なお、電解装置としては市販の遠心加速機と電解セルを組み合わせた「遠心場電解装置」を構築し、これを用いた(図3)。

図4にはおよそ300 gの遠心場のもと電極Aあるいは電極Bを作用極とした場合におけるアニリン重合(50回電位掃引重合)時のサイクリックボルタモグラム(CV)を自然重力下である1 gのものと一緒に示した。図4のCV曲線におけるピーク電流はいずれも作用極上に析出した重合膜のレドックス応答に対応しているため、この電流値は析出量の指標とみなせる。従って、遠心場では電極Aを作用極とした場合(図4 (a))に

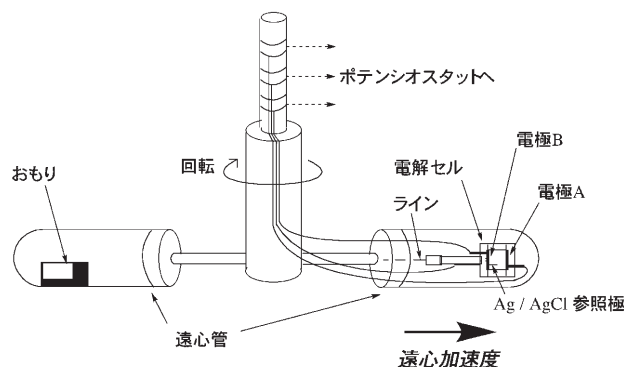


図3 遠心場電解装置。

おいて自然重力下である1 g(図4 (c))よりも重合析出が加速し、電極Bを作用極とした場合(図4 (b))には、逆に重合析出が減速したことになる。

このように電解重合におよぼす遠心場の効果は等方性を有する静水圧などとは異なり、作用電極の向きに対する依存性があることが明らかにされた。また、このような遠心場の異方的な作用効果は表面形態や密度といった膜物性においても発現することも分かった。

これら電解重合におよぼす遠心場の異方的効果は重合成長過程にあるオリゴマーの沈降によって説明できるものである。つまり、遠心力方向に逆対する電極Aでは、電解液よりも高密度であるオリゴマーが、遠心力によって電極側に捕捉されることで重合析出が促進されるが、遠心力方向に正対する電極Bでは、オリゴマーが電解液バルク側に追いやられ、重合析出が遅延したものと考えられる。

さらに、このような遠心場効果を2種類のモノマーによる共重合反応に応用することで、生成ポリマー中の各モノマー・ユニット比を制御できることも明らかにされた。つまり、例えばアニリンと*o*-アミノベンズニトリルそれぞれのモノマーを

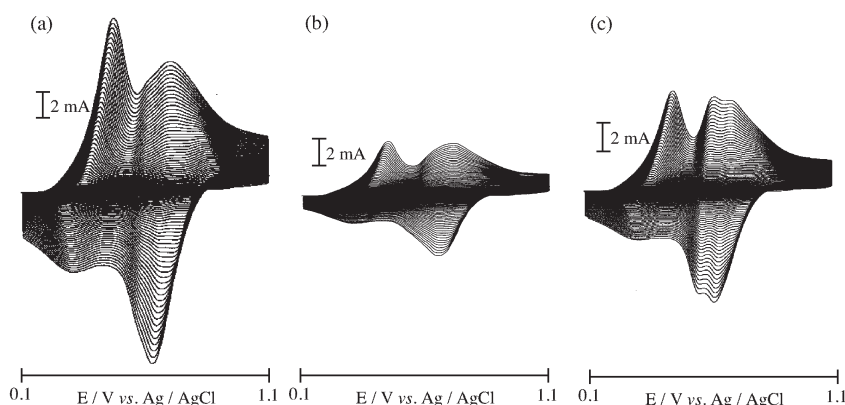


図4 アニリンモノマー電位掃引重合時のサイクリックボルタモグラム。
電解液:0.1 M アニリン / 4 M HCl水溶液。掃引回数:50回。掃引速度:100 mV s⁻¹。(a) 電極A, 315 g。(b) 電極B, 290 g。(c) 電極A, 1 g。

1:1の比で仕込んだ電解液において電極Aを作用極とし、重合を行うと遠心加速度の増加に伴い、密度の大きな α -アミノベンゾニトリルのユニット比が生成重合膜中では増加し、逆に電極Bを作用極とした場合では減少した(図5)¹³⁾。このような遠心場を利用した共重合比の制御効果はピロール/チオフェン共重合系においても確認されている¹⁴⁾。

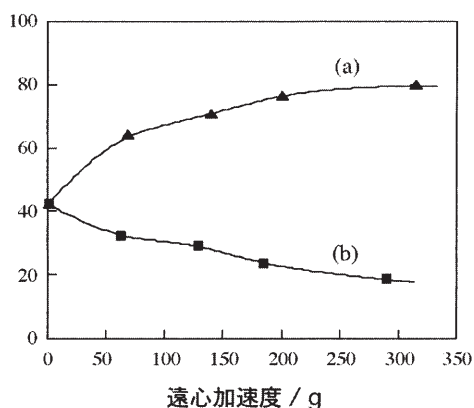


図5 共重合膜中における α -アミノベンゾニトリル・ユニット比。
重合方法:定電流重合(電流密度:10 mA cm⁻², 通電量:10 C)。電解液:
0.25 M アニリン + 0.25 M α -アミノベンゾニトリル / 1 M HClO₄水溶液。
(a) 電極A。 (b) 電極B。

4. イオン液体中における導電性高分子の電解合成

室温で安定な液体となる常温溶融塩(イオン液体と呼ばれる)は不揮発性・不燃性で、極性が高く多くの物質を溶解でき、しかもリサイクルが可能であることから従来の有機溶媒の代わりとなるグリーンな反応メディアとして有機・高分子合成の分野で近年特に注目されている^{15,16)}。また、イオン液体は単なる有機溶媒の代替メディアに留まらず、反応促進や生成物選択性の向上、材料物性の改善にも寄与するといった特異な効果も多数見出されている。さらにイオン液体は非常に良好な伝導性も兼備していることから電解メディアとしての使用も最近になって活発化してきている¹⁷⁻¹⁹⁾。このような事実を鑑みれば、イオン液体が導電性高分子などの電解合成メディアとしても利用可能であることが推察されるであろう。

実際これまでに、ポリアレーン、ポリアニリン、ポリピロール、ポリチオフェンなどの導電性高分子がクロロアルミナート系イオン液体中において電解合成されている^{17,20)}。しかしながら、この種のイオン液体を構成しているアニオンは、水分に対し極めて不安定なAlCl₄⁻であり、その取り扱いにはグローブボックスを用いるなどの十分な注意が必要とされる。また、AlCl₄⁻は導電性高分子のドーパントとしての役割も担っていることから、陽極上に堆積した重合膜の導電性はその加水分解の進行にともない激減してしまう。

これに対し、著者らはTfO⁻のような安定なアニオンを有するイミダゾール系イオン液体を電解メディアに用いることで安定なポリピロール膜が円滑に電解合成(電位掃引酸化重合)できることを見出した(図6参照)²¹⁻²³⁾。さらに、その重合析出速度は従来用いられる水や有機溶媒中でのものよりも速いことも明らかとなった。

一般にピロールなどの電解重合では、重合成長過程のオリゴマーの拡散速度が遅く、電極界面近傍に滞留している方が電極上への析出にとって好都合となる。このため、重合析出速度は電解液の粘性に大きく依存し、高粘性なイオン液体中においては、その速度が増加したものと考えられるが、理由は定かではない。

また、重合終了後のイオン液体中に残存するモノマー分子は、クロロホルム抽出により容易に分離除去され、5回繰り返し利用されたイオン液体中においても重合速度の減少は見られなかった²¹⁾。このように繰り返し再生利用が可能なこともイオン液体の大きな特徴の一つといえる。

一方、SEMによるポリピロール膜の表面観察において、常用される水や有機溶媒中で得られた膜表面には、いずれも粒塊の存在が認められたが、イオン液体中におい

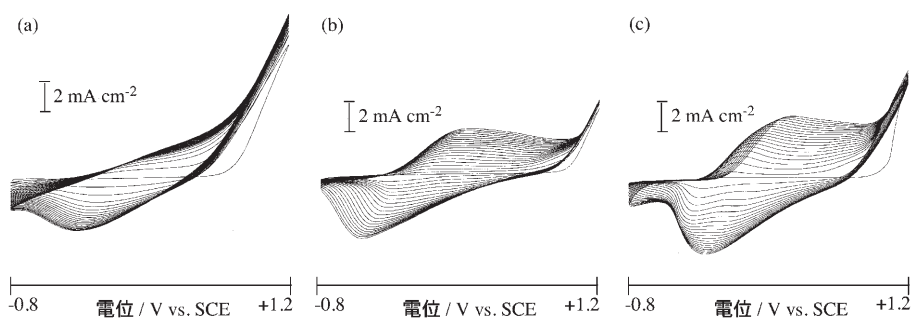


図6 種々の電解メディア中におけるピロール(0.1 M)の電位掃引重合時のサイクリックボルタモグラム。
掃引速度:100 mV s⁻¹。掃引回数:20回。電解重合メディア:(a) 0.1 M EMICF₃SO₃ / H₂O, (b) 0.1 M EMICF₃SO₃ / CH₃CN and (c) EMICF₃SO₃ (neat)。

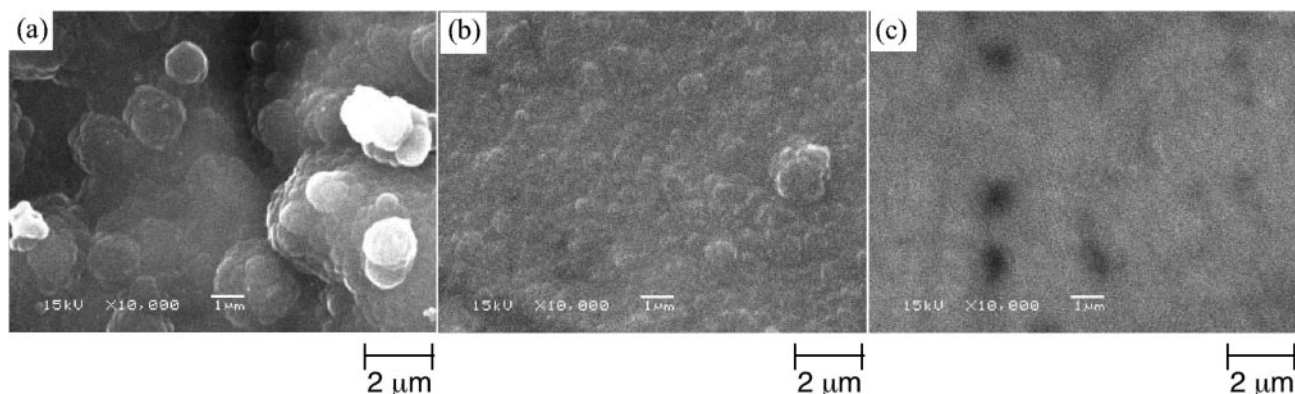


図7 種々の電解メディア中において作製されたポリピロール膜のSEM写真。
電解重合メディア:(a) 0.1 M EMICF₃SO₃ / H₂O, (b) 0.1 M EMICF₃SO₃ / CH₃CN and (c) EMICF₃SO₃ (neat)。

て得られたポリピロール膜は、この倍率(10,000倍)では粒塊が見られない極めて平滑なものであることが明らかとなった(図7)²²⁾。また、イオン液体による電解重合膜の平滑化はチオフェン重合系においても観察され、その普遍性が確かめられた。平滑化のメカニズムについては現在も検討中ではあるが、前述のようにイオン液体中での重合では、電極基板上への析出核となるオリゴマーや低分子量ポリマーが電極界面近傍に滞留しているため、核形成が電極面全体にわたり進行したものと考えられる。

イオン液体中で得られたポリマーフィルムの電気化学的容量密度は常用される水や有機溶媒中で得られたものに比べ、大幅に向上することが分かった(表2)^{21,22)}。

表2 種々の電解メディア中において作製されたポリピロールおよびポリチオフェンの物性

ポリマー	メディア	粗さ指標値 ^a / -	電気化学的 容量密度 / C cm ⁻²	電気電導度 / S cm ⁻¹	ドーピング レベル / %
ポリピロール	H ₂ O	3.4	77	1.4×10^{-7}	22
ポリピロール	CH ₃ CN	0.48	190	1.1×10^{-6}	29
ポリピロール	EMICF ₃ SO ₃	0.29	250	7.2×10^{-2}	42
ポリチオフェン	CH ₃ CN	8.6	9	4.1×10^{-8}	-
ポリチオフェン	EMICF ₃ SO ₃	3.3	45	1.9×10^{-5}	-

^a 膜厚の標準偏差。

一方、イオン液体中で作成したポリマーフィルムは基板電極に対して強固に付着しており、フィルム状で剥離することが困難であったことから、4端子法による伝導度の測定は実現しなかった。このため、精密な値とはいえないが、ポリマーフィルムを削り取ったサンプルを用いて2端子法による伝導度測定を実施したところ、その値は常用されるメディア中で作成されたものに比べ3~5桁も向上することが明らかとなった。電解重合によって形成される導電性高分子膜のドーパントは支持電解質を構成するアニ

オンが担っており、このため、イオンのみから構成されるイオン液体中ではドーパントアニオンが多量に存在することとなる。従って、このような特殊な環境が導電性高分子のドーブ過程において非常に有利に働いたものと推測される。実際、常用される溶媒系での電解重合においても支持電解質の濃度を増加させることで重合膜のドーブ率と伝導度は向上する。しかしながら、それらの値はイオン液体中で合成したものには到底及ぶことはなかった。

5. 超臨界流体中における導電性高分子の電解合成

すべての物質には臨界点が存在し、臨界温度および臨界圧力を超えると超臨界状態となる。その状態にある流体を超臨界流体と呼び、気体や液体とはかなり異なった性質を有することが知られている。例えば、超臨界流体の密度は液体の値に近く、粘度は気体とあまり変わらず、拡散係数や熱伝導率は気体と液体の中間に位置する。その結果、流体の動粘度(= 粘度/密度)は三つの流体の中では最小となる。つまり、超臨界流体は小さな温度や濃度差によって自然対流が非常に起こりやすくなる(物質や熱が移動しやすい)ので、大きな移動速度が期待できる。また、圧力や温度を少し変化することによって超臨界流体の性質を連続的かつ容易に可変できることも大きな特徴の一つといえる。このような特徴を有する超臨界流体は、分離・分析用の媒体、また最近では有機・高分子合成の反応媒体として利用されてきている²⁴⁾。超臨界流体は臨界点付近において密度、粘度あるいは溶解度などが大きく変化するので、とりわけこれを合成反応の制御に利用するケースが多く見受けられる。

一方、典型的な固-液不均一系反応である電解合成反応では、超臨界流体の有する高い拡散力は極めて魅力的なものと考えられる。有機電解反応は物質移動と電子移動の二つの直列した過程から構成されている。一般にもつくりを指向した電解合成では電気化学測定などとは大きく異なり大電流を流すことが多く、反応の律速過程は物質移動過程にある。このため、電極反応速度は対流や反応基質の拡散性などに依存することになり、超臨界流体などのような高拡散性を有する媒体中では極めて高い反応速度が期待される。

超臨界流体を電解合成の反応媒体として用いることを試みたのはSilvestriらが最初である²⁵⁾。しかしながら、ここで用いられた媒体は低極性の超臨界二酸化炭素であったため支持電解質がほとんど溶解せず、電解合成の媒体としては不適であったと報告している。この問題を解決するため、徳田らはアセトニトリルを超臨界二酸化炭素の共溶媒とすることで電解カルボキシル化反応が効率的に進行することを報告している²⁶⁾。

これに対し、著者らは温和な臨界条件(臨界温度: 25.9 °C, 臨界圧力: 4.82 MPa)を有し、しかもその誘電率が10 MPa以上の圧力下において酢酸エチルやTHFといった電解媒体にも利用されている有機溶媒と同等にまで上昇するトリフルオロメタンに注目し、これをポリピロール、ポリチオフェンの電解合成に利用した²⁷⁾。

その結果、超臨界フルオロホルム(scCHF₃)中におけるピロールおよびチオフェンの重合析出速度は、常用される水中やアセトニトリル中の場合に比べ2~10倍程度速いものであった。また、SEM観察からscCHF₃中において得られたポリピロール膜、ポリチオフェン膜は、いずれも極めて平滑なものであることもわかった(図8)。

このような重合膜の均一化の理由については前述の超音波効果と同様に考えることができる。つまり、高拡散性のscCHF₃中ではモノマーの電極界面への物質移動が促進され、結果として均一な重合膜が形成されたものと解釈される。

さらに、scCHF₃中において作製した重合膜は、アセトニトリル中で重合したものに比べ薄いものであったが、その電気化学的容量密度は10倍程度高いものであることも明らかにされた(表3)。

表3 アセトニトリル超臨界フルオロホルム中において作製されたポリピロールおよびポリチオフェンの物性

ポリマー	メディア	粗さ指標値 ^a / -	平均膜厚 / μm	電気化学的 容量密度 / C cm ⁻³
ポリピロール	CH ₃ CN	0.11	3.0	19
ポリピロール	scCHF ₃	0.03	0.4	150
ポリチオフェン	CH ₃ CN	0.12	1.4	13
ポリチオフェン	scCHF ₃	0.04	1.1	120

^a 膜厚の標準偏差。

また、高い拡散力を有する超臨界流体を多孔性基板上での電解重合のメディアに用いることで、細孔内部に至る効率的なモノマー輸送が達成され、結果として付き周りの良い重合膜が形成されることもわかった²⁸⁾。図9にはチオフェン電解重合後の多孔性グラファイトフェルト電極の内部の様子(SEM写真)を示した。これらの写真が示すように通常の液体メディア中において電解重合を行った場合には、フェルト内部のグラファイト繊維に重合膜の形成は全く見受けられなかったが、scCHF₃中で重合した場合にはフェルト内部のグラファイト繊維表面に均質なポリチオフェン膜が被覆されている様子が観察された。多孔性基板の細孔内部にまで均一で緻密な重合膜を形成することは、高性能な固体電解コンデンサや太陽電池等の製

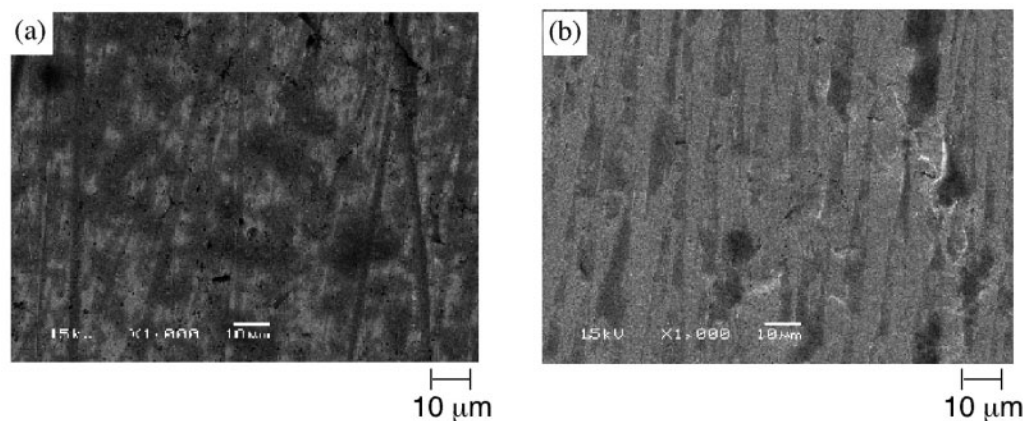


図8 超臨界フルオロホルム(scCHF₃)中において作製された(a)ポリピロール膜および(b)ポリチオフェン膜のSEM写真。
反応温度: 50 °C, 反応圧力: 15 MPa, 掃引速度: 100 mV s⁻¹, 掃引回数: 20回, 電解重合メディア: (a) 10 mM ピロール / 40 mM TBAPF₆ / scCHF₃, (b) 10 mM チオフェン / 40 mM TBAPF₆ / scCHF₃。

造上、極めて重要な要件であることから、本電解重合技術の応用展開が大いに期待される。

また、配線材料やフラットパネルディスプレイなどの電子放出源としての応用が期待されている導電性高分子ナノシリンダーの作製においても本電解重合技術は極めて有効である。導電性高分子ナノシリンダーの合成には、図10に示すようなナノ

細孔を有する鋳型を配した電極を利用するテンプレート電解重合法が用いられるが²⁹⁾、先に述べた通り、従来の液体媒体中ではナノ細孔へのモノマーの輸送が制限されるため、細孔内部への重合物の充填が困難となり、結果として低密度な重合材料となってしまふ。このため、鋳型を溶解除去してしまうとナノシリンダー自体が倒壊してしまう(図11(a))。これに対し、超臨界トリフルオロメタン中では重合析出速度がアセトニトリル中の10倍近くにもなり、しかも鋳型を溶解除去してもポリチオフェンナノシリンダーの倒壊はまったく見受けられなかった。これは超臨界流体の有する高い拡散性により、鋳型細孔内部に

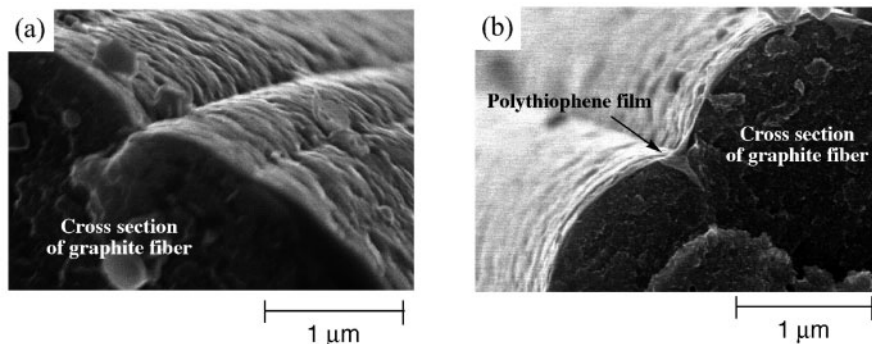


図9 チオフェン電解重合後の多孔性グラファイトフェルト電極の内部の様子(SEM写真)。
電解重合メディア:(a) 10 mM チオフェン / 50 mM TBAPF₆ / CH₃CN. (b) 10 mM チオフェン / 50 mM TBAPF₆ / scCHF₃.

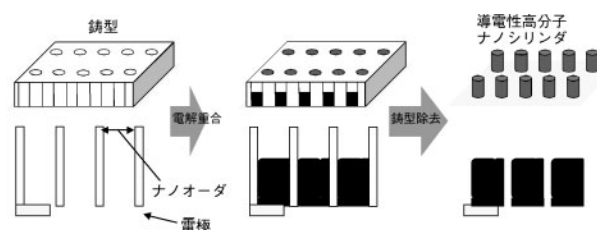


図10 テンプレート電解重合。

までモノマーが十分に供給された結果と解釈される。

このように、超臨界流体をテンプレート合成における電解媒体に用いることで、従来の媒体では困難とされていた「非常に正確なナノ転写」が可能になることが示された。

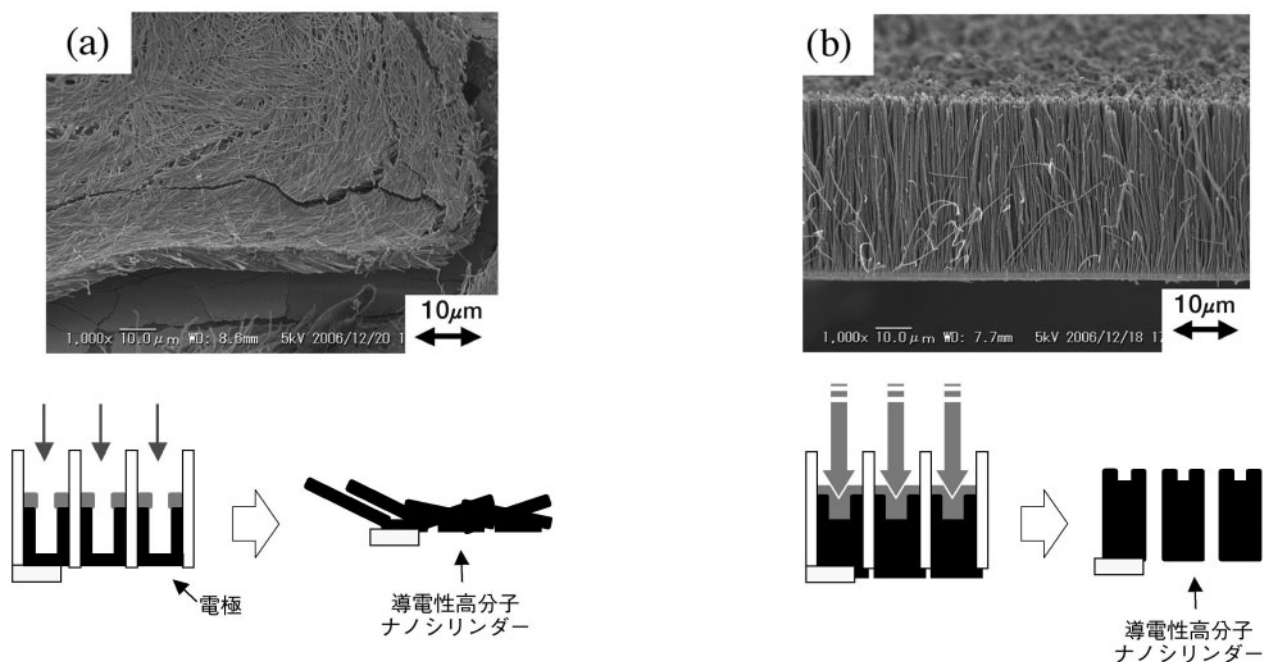


図11 鋳型除去後のポリチオフェンナノシリンダーのSEM写真。
電解重合メディア:(a) 10 mM チオフェン / 50 mM TBAPF₆ / CH₃CN. (b) 10 mM チオフェン / 50 mM TBAPF₆ / scCHF₃.

6. おわりに

本稿で紹介した4つの特殊反応場を利用する技術はいずれも原理的側面の特異性からみて、他をもって代替できない要素を多分に含んでおり、重合膜物性、さらには電解重合そのものの制御のための方法論として極めて魅力的ものと考えられる。それにもかかわらず、技術としての発達度、利用度のいずれにおいてもまだまだ未熟な点が多い。このことは、さらなる発展のための潜在力と余地が極めて大きいともいえ、今後の展開が大いに期待される。

また、超音波照射下や超臨界流体中において電解合成された緻密な導電性高分子膜は電気化学的耐久性、ドーピング/脱ドーピング特性などにおいても著しい物性改良が認められており³⁰⁾、電池やキャパシタなどの電気化学的要素部品の高容量密度化のための技術に結びつくことも期待される³¹⁾。

謝辞

本稿にまとめた研究は、文部科学省および日本学術振興会からの科学研究費補助金による支援を受けており、感謝致します。また、本研究は東京工業大学名誉教授 野中勉先生、東京工業大学教授 淵上寿雄先生のご指導のもと実施されたものである。ここに記して、謝意を表する。

参考文献

- 1) 直井勝彦, 末松俊造, 門間聰之, 跡部真人, 電気化学および工業物理化学, **70**, 894 (2002).
- 2) 吉野勝美監修, “ナノ・IT時代の分子機能材料と素子開発”, エヌ・ティー・エス (2004).
- 3) 東レリサーチセンター調査研究部門編, “導電性ポリマー技術の最新動向”, 東レリサーチセンター (1999).
- 4) T. J. Mason, “Sonochemistry”, Oxford University Press, Oxford (1999).
- 5) 千葉淳, 電気化学および工業物理化学, **67**, 930 (1999).
- 6) J. P. Lorimer, T. J. Mason, *Electrochemistry*, **67**, 924 (1999).
- 7) M. Atobe, S. Fuwa, N. Sato, T. Nonaka, *Denki Kagaku* (presently *Electrochemistry*), **65**, 495 (1997).
- 8) M. Atobe, T. Nonaka, *Trans. MRS-J*, **25**, 81 (2000).
- 9) M. Atobe, T. Kaburagi, T. Nonaka, *Electrochemistry*, **67**, 1114 (1999).
- 10) L. L. Regel, W. R. Wilcox (Eds), “Materials Processing in High Gravity”, Plenum Press, New York (1994).
- 11) M. Atobe, S. Hitose, T. Nonaka, *Electrochem. Commun.*, **1**, 278 (1999).
- 12) M. Atobe, A. Murotani, S. Hitose, Y. Suda, M. Sekido, T. Fuchigami, A.-N. Chowdhury, T. Nonaka, *Electrochim. Acta*, **50**, 977 (2004).
- 13) M. Atobe, M. Sekido, T. Fuchigami, T. Nonaka, *Chem. Lett.*, 166 (2003).
- 14) A. Murotani, M. Atobe, T. Fuchigami, *J. Electrochem. Soc.*, **152**, D161-D166 (2005).
- 15) 大野弘幸監修, “イオン性液体”, シーエムシー出版 (2003).
- 16) 北爪智哉, *ファインケミカル*, **30** (17), 5 (2001).
- 17) 跡部真人, 淵上寿雄, イオン性液体中での有機電解反応 (II編, 第12章), 有機電解合成の新展開 (分担), シーエムシー出版, p. 229 (2004).
- 18) 淵上寿雄, 跡部真人, 高分子錯体アニュアルレビュー, 12 (2002).
- 19) 淵上寿雄, 跡部真人, イオン性液体中での有機電解反応, マテリアル インテグレーション, **16** (5), 20 (2003).
- 20) N. Koura, H. Ejiri, K. Takeishi, *J. Electrochem. Soc.*, **140**, 602 (1993).
- 21) K. Sekiguchi, M. Atobe, T. Fuchigami, *Electrochem. Commun.*, **4**, 881 (2002).
- 22) K. Sekiguchi, M. Atobe, T. Fuchigami, *J. Electroanal. Chem.*, **557**, 1 (2003).
- 23) 淵上寿雄, 跡部真人, 化学と工業, **57**, 605 (2004).
- 24) “超臨界流体の最新応用技術”, エヌ・ティー・エス (2004).
- 25) G. Silvestri, S. Gambino, G. Filardo, C. Cuccis, E. Guarino, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **20**, 101 (1981).
- 26) 徳田昌生, 電気化学および工業物理化学, **67**, 993 (1999).
- 27) M. Atobe, H. Ohsuka, T. Fuchigami, *Chem. Lett.*, 618 (2004).
- 28) M. Atobe, H. Yamamoto, T. Fuchigami, 209th Electrochem. Soc. Meet., Denver, May 7-11, 2006, Abst. No. 978.
- 29) C. R. Martin, *Science*, **266**, 1961 (1994).
- 30) M. Atobe, H. Tsuji, R. Asami, T. Fuchigami, *J. Electrochem. Soc.*, **153**, D10-D13 (2006).
- 31) J.-E. Park, M. Saikawa, M. Atobe, T. Fuchigami, *Chem. Commun.*, 2708-2710 (2006).

選択的ショットガンプロテオミクス

Targeted Shotgun Proteomics

— 肝ミクロソーム中P-450の網羅的解析 —

— Exhaustive analysis of P-450 in liver microsomes —

財団法人 化学物質評価研究機構 安全性評価技術研究所

山中 秀徳
HIDENORI YAMANAKA

美濃部 安史
YASUSHI MINOBE

武吉 正博
MASAHIRO TAKEYOSHI

矢可部 芳州
YOSHIKUNI YAKABE

高月 峰夫
MINEO TAKATSUKI

Chemicals Assessment Center, Chemicals Evaluation and Research Institute, Japan

1. はじめに

ヒトを含めた多くの種において、「生命の設計図」であるゲノム構造解析が次々と完了し、その成果が公表されている。ゲノム情報は動物の生物学の研究に大きな変革をもたらしつつあり、ゲノミクスをはじめトランスクリプトミクス、プロテオミクス、メタボノミクスと呼ばれる生体分子の網羅的解析研究の流れが生まれてきた。これらオミクス研究の中で個々の疾患発症メカニズム・治療ターゲット・疾患マーカーなどを明らかにすることを主眼とした疾患プロテオミクスが注目されており、疾病の予防や早期診断・治療への応用が期待されている。スクリプス研究所のYatesⅢらが提案した多次元クロマトとタンデム型質量分析装置とを組み合わせた多次元タンパク質同定技術 (Multidimensional Protein Identification Technology: MudPIT) を利用したショットガンプロテオミクスは現在最も強力なプロテオーム解析手法だが、定量的な解析には不向きといわれている¹⁾。MudPIT法に安定同位体ラベル法などを組み合わせた様々な改良が試みられているが、マーカー探索のために正確な定量比較を多くの検体間で行うことは依然として困難な状況にある。我々は、ショットガンプロテオミクスの長所である網羅性を維持したまま、バイオマーカーやマーカーパネル探索に必須の多検体間での正確な定量比較を効率的に実施するシステムとして“選択的ショットガンプロテオミクス”を提案している。システムの応用例としてラットおよびヒト肝ミクロソームのP450 (CYP) アイソフォームの解析を行った例を紹介する。

2. 選択的ショットガンプロテオミクスの特徴

プロテオミクス解析に必要とされる主要な要素として、網羅性、再現性と定量性が挙げられる。現在、網羅性の点で最も強力なプロテオーム解析システムは、前述したMudPIT法を用いたショットガンプロテオミクスである。ショットガンプロテオミクスでは、図-1に示したような強カチオン交換樹脂および逆相系樹脂を充填したマイクロキャピラリーカラム (100 μ m i.d.) をHPLCに装着し、カラムから直接LC-MSにスプレーする。YatesⅢらの検討では、ラット脳ホモジネートに対してMudPIT法を適用した場合に1,610種のタンパク質が同定されたと報告している²⁾。このうち454のタンパク質 (28.2%) が膜貫通領域を有する膜タンパク質であり、これまで二次元電気泳動法などで解析するのが困難であった膜タンパク質の同定に対してMudPIT法が有効であることが証明された。しかし、同定された殆どのタンパク質で、ペプチド配列の照合に用いた範囲のシーケンズカバー率は20%以下と低かった。MudPIT法は、網羅性においては優れているが、再現性に難があり定量的な解析には不向きである。また、スループット化に関しても、質量分析装置を複数台導入可能な大規模施設以外では多検体の解析は不可能であるなど、バイオマーカー探索のためのシステムとしてのその使用は限定されたものであった。

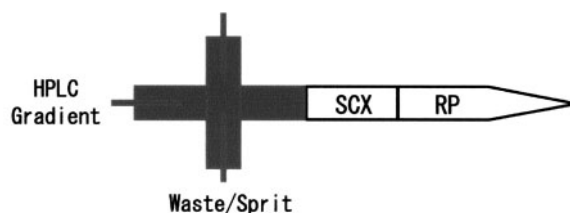


図1 多次元クロマトシステム

ショットガンプロテオミクス (MudPIT法) の解析フロー

ステップ1 : マイクロキャピラリーカラムに、全細胞溶解液フラクションである複雑なペプチド混合物をオフラインでロード。

ステップ2 : ペプチド混合物をロードした後に装置に装着し、ソフトウェアによりHPLCとMSを同時にコントロール。ロードしたペプチドは、最初に強カチオン交換樹脂から塩濃度勾配により逆相へ溶離させ、逆相樹脂から直接MSにスプレー。より高い塩濃度での溶離と逆相による分離を繰り返す。

ステップ3 : MS/MSデータをアルゴリズムによりタンパク質またはDNAデータベースと照合して同定する。

我々は、強カチオン交換樹脂からの塩濃度勾配による溶離が、MudPIT法において再現性を低下させている原因のひとつと考え、この強カチオン交換樹脂による分画の部分により信頼性の高い分画手法にすることでMudPIT法の網羅性を損なわずに、バイオマーカー探索に必要な定量比較が可能なシステムを構築可能と考え、下記に示したようなタンパク質同定システムを考案した。ステップ2の逆相分離以降の処理を同一とし、同一性能の質量分析装置を使用し、強カチオン交換樹脂と同程度の分画を実施すればMudPIT法と同レベルの網羅性が得られる。さらに、本システムの利点は、液相等電点分画のような再現性の高い前分画を実施することにより再現性を向上させただけでなく、フラクションに対して等電点に関する情報を付加できることである。本手法は、MudPIT法と同程度の網羅性を維持したまま、高い再現性が期待できるシステムでありバイオマーカー探索などには最適な手法と考える。

CERI*の選択的ショットガンプロテオミクス

* 財団法人化学物質評価研究機構

ステップ1 : 全細胞溶解液を液相等電点や溶解性に基づく分画などの手法を用いて前分画する。前分画後のタンパク質を混合物のまま、もしくはSDS-PAGEで分画したものを酵素消化する。

ステップ2 : ペプチド混合物を逆相樹脂で分離し直接MSにスプレー。

ステップ3 : MS/MSデータをアルゴリズムによりタンパク質またはDNAデータベースと照合して同定する。

3. 選択的ショットガンプロテオミクスによるP450アイソフォームの解析

薬物性肝障害の発症機序のひとつとして、P450(CYP)の分子種の遺伝的多型に起因する薬物代謝異常による肝障害や薬物相互作用による副作用が注目されている。たとえば、CYP3A4で代謝される経口避妊薬(エストロゲン製剤)は、CYP3A4を誘導するフェノバルビタールまたはフェニトインとの併用で、効果が減弱する可能性が指摘されている。CYPアイソフォームの解析は、今後、新薬の臨床試験における薬物相互作用の検討、個々の患者に対するオーダーメイド医療における診断等の目的に必須の技術となることが予想されている。CYPの質量分析装置による同定についても近年のプロテオーム解析技術の進展により、研究が急激に盛んになってきている。

現在、700種類以上のP450アイソフォームが細菌から哺乳動物までさまざまな生物で見つけられ、P450は遺伝子スーパーファミリーを形成している。ラットおよびヒトについては、Unigeneデータベース中に約50種類のP450アイソフォームが登録されている(<http://drnelson.utmem.edu/CytochromeP450.html>)。P450の各アイソフォームは非常に近い配列を有しており、この類似した構造を有することがP450の網羅的な解析をこれまで困難にせしめてきたことも事実である。

これに対して、近年質量分析装置の飛躍的な性能向上に伴い前述したショットガンプロテオミクスの手法を用いて、P450アイソフォームを直接質量分析装置で解析同定することが可能になってきている。最も多種類のP450アイソフォームを解析した例として、SDS-PAGEで分離したラット肝ミクロソームの分子量48-62kDaの画分のみをLC-MS/MS解析に供することにより24種類のアイソフォームを同定したことが報告されている³⁾。しかしながら、この分子量に基づく分画では網羅的な解析には不十分であった。

我々は、このP450が類似した一次構造をもつためにその物理化学的な性状も似てくることを逆に利用してP450の網羅的な解析を試みた。具体的には、肝ミクロソームを溶解性に基づいて5つのフラクションに分画し、各々の分画に対してLC-MS/MSを用いた一斉同定を試みた。この場合ほとんどのP450が、難溶解性の分画においてのみ検出されることが確認された。(表-1参照)難溶解性の画分に

P450が濃縮されることによって、これまで報告されている中で最も多い計36種類のCYPアイソフォームを同定することに成功した。また同定されたアイソフォームの中で分画の有無によるシーケンスカバー率の比較を図-2に示した。

表1 各フラクションで同定されたCYPアイソフォームの数

Solubility				
Low				High
Fraction1	Fraction2	Fraction3	Fraction4	Fraction5
29	17	4	0	0

本同定手法によりこれまでに報告されている中で最も多い36種類のCYPアイソフォームを含めて500種類以上の肝ミクロソーム中のタンパク質が同定された。本同定手法と安定同位体ラベル法とを組み合わせることで定量比較解析を行うことも可能である。

我々は、正確な定量比較手法として蛍光ディフュージョン解析(2D-DIGE; GEヘルスケア社)を用いた詳細なプロテオーム解析も実施している⁴⁾。いくつかのCYPアイソフォームに関して、二次元電気泳動上の相当する領域で実際にCYPを同定している。CYPのように、目的に応じて解析したいタンパク質種が決まっている場合には、選択的ショットガン法を利用して全領域のタンパク質を同定し、実際に解析する二次元電気泳動上の領域を絞り込むのが効率的で有効な手法になると考えられる。

4. 今後の展望

まだ基礎的検討の段階であるが、プロテオーム解析の応用例としてCYPアイソフォームの解析を紹介した。紹介したプロテオーム解析手法は、網羅性を犠牲にせずに、マーカー探索に必須の定量比較の正確さも追及可能なシステムに拡張可能である。様々な前分画手法とショットガンプロテオミクス手法の融合(選択的ショットガンプロテオミクス法)を実施することにより、既存の方法と比較してより正確に且つ多くの有意義な情報を得ることが出来るようになると期待される。

参考文献

- 1) Washburn MP, Wolters D, Yates JR 3rd. Large-scale analysis of the yeast proteome by multidimensional protein identification technology. *Nat Biotechnol.* **2001**, 19, 242-247.
- 2) Wu CC, MacCoss MJ, Howell KE, Yates JR 3rd. A method for the comprehensive proteomic analysis of membrane proteins. *Nat Biotechnol.* **2003**, 21, 532-538.
- 3) Nisar S, Lane CS, Wilderspin AF, Welham KJ, Griffiths WJ, Patterson LH. A proteomic approach to the identification of cytochrome P450 isoforms in male and female rat liver by nanoscale liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry. *Drug Metab Dispos.* **2004**, 32, 382-386.
- 4) Yamanaka, H., Yakabe, Y., Saito, K., Sekijima, M., Shirai, T. Quantitative proteomic analysis of rat liver for carcinogenicity prediction in a 28-day repeated dose study. *Proteomics* **2007**, 7, 781-795.

(A)

Match to: CP2B1_RAT Score: 912
(P00176) Cytochrome P450 2B1 (EC 1.14.14.1)
Sequence Coverage: 44%

```

1 MEPTILLLLA LLVGFLLLLV RGHPKSRGNF PPGPRPLPLL GNLLQDRGG
51 LLNSFMQLRE KYGDVFTVHL GPRPVVMLCG TDTIKEALVG QAEDFSGRGT
101 IAVIEPIFKE YGVIFANGER WKALRRFSLA TMRDFGMGKR SVEERIQEEA
151 QCLVEELRKS QGAPLDPTFL FQCITANIIC SIVFGERFDY TDRQFLRLLE
201 LFYRTFSLLS SFSSQVFEFF SGFLKYFPGA HRQISKNLQE ILDYIGHIVE
251 KHRATLDPSA PRDFIDTYLL RMEKEKSNHH TEFHHENLMI SLLSLFFAGT
301 ETSSTTLRYG FLLMLKYPHV AEKVQKEIDQ VIGSHRLPTL DDRSKMPYTD
351 AVIHEIQRFES DLVPIGVPHR VTKDTMFRGY LLPKNTEVYP ILSSALHDPQ
401 YFDHPDSFNP EHFLDANGAL KKSEAFMPFS TGRICLGEG IARNELFLFF
451 TTILQNFVS SHLAPKDIDL TPKEGIGKI PPTYQICFSA R

```

(B)

Match to: CP2B1_RAT Score: 418
(P00176) Cytochrome P450 2B1 (EC 1.14.14.1)
Sequence Coverage: 27%

```

1 MEPTILLLLA LLVGFLLLLV RGHPKSRGNF PPGPRPLPLL GNLLQDRGG
51 LLNSFMQLRE KYGDVFTVHL GPRPVVMLCG TDTIKEALVG QAEDFSGRGT
101 IAVIEPIFKE YGVIFANGER WKALRRFSLA TMRDFGMGKR SVEERIQEEA
151 QCLVEELRKS QGAPLDPTFL FQCITANIIC SIVFGERFDY TDRQFLRLLE
201 LFYRTFSLLS SFSSQVFEFF SGFLKYFPGA HRQISKNLQE ILDYIGHIVE
251 KHRATLDPSA PRDFIDTYLL RMEKEKSNHH TEFHHENLMI SLLSLFFAGT
301 ETSSTTLRYG FLLMLKYPHV AEKVQKEIDQ VIGSHRLPTL DDRSKMPYTD
351 AVIHEIQRFES DLVPIGVPHR VTKDTMFRGY LLPKNTEVYP ILSSALHDPQ
401 YFDHPDSFNP EHFLDANGAL KKSEAFMPFS TGRICLGEG IARNELFLFF
451 TTILQNFVS SHLAPKDIDL TPKEGIGKI PPTYQICFSA R

```

図2 CYP2B1の分画前後のMS/MSデータの検索結果の比較
(A) 溶解性に基づく分画後の2B1アミノ酸シーケンスの中で同定されたペプチド(大文字で表記)
(B) 分画しない場合の2B1アミノ酸シーケンスの中で同定されたペプチド(大文字で表記)

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2—

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

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.

5. 逆相系カラムの選択に関して

5-3-1 試験—I 疎水性及び立体選択性試験

2) 平均細孔径の違いによる溶離挙動の違い

充填剤において平均細孔径は、試料の溶出時間を左右する重要な因子である。

Mightysil RP-18GPシリーズの充填剤は、平均細孔径12nmのシリカゲルを採用していることは前稿(205号)に述

べたが、平均細孔径10nmのシリカゲルから合成された炭化水素含有量20%の一反応性ODSシリカゲルの溶出挙動との比較を図7に示した。

同じ溶離条件を用いた場合、平均細孔径が12nmの充填剤(図7a)では、最後に溶出するトリフェニレンは14分強だが、平均細孔径10nmのODSシリカゲル充填剤(図7b)では17分強と3分ほど保持時間が長く、全ての試料に対して保持力が強く現れるのである。

3-1) 炭化水素量の違いによる溶離挙動の変化

ODSシリカゲル充填剤の溶離、特に溶出時間に関係するファクターとして、炭化水素量があげられる。

これまで、溶出時間に影響を与える因子としてODS基のファンクションリティー、原料シリカゲルの細孔径について述べてきたが、炭化水素量も逆相クロマトグラフィーでは重要な因子の一つである。

炭化水素量は、ODS化する際に使用するシリカゲルの比表面積に依存することから、同じ比表面積のシリカゲルを使用する限り大きな変化は望めない。したがって、炭化水素量を制御するにはシリカゲルの比表面積を変えることが一般的である。一方、C18(ODS基)を中心にして、アルキル鎖の長さの異なるアルキルシリル化剤を用いて炭化水素量を調整することも行なわれている。

炭化水素量の異なる充填剤Mightysil RP-18GP(L)(炭化水素量15%)、(M)(炭化水素量20%)、及び(H)(炭化水素量23%)のクロマトグラムを図8に示した。当然ながら、炭化水素含有量の高い(H)タイプの充填剤の溶出時間が最も長くなっている。特に炭化水素量15%と炭化水素量23%の結果を比較した場合、明らかに溶出時間に差が認められる。

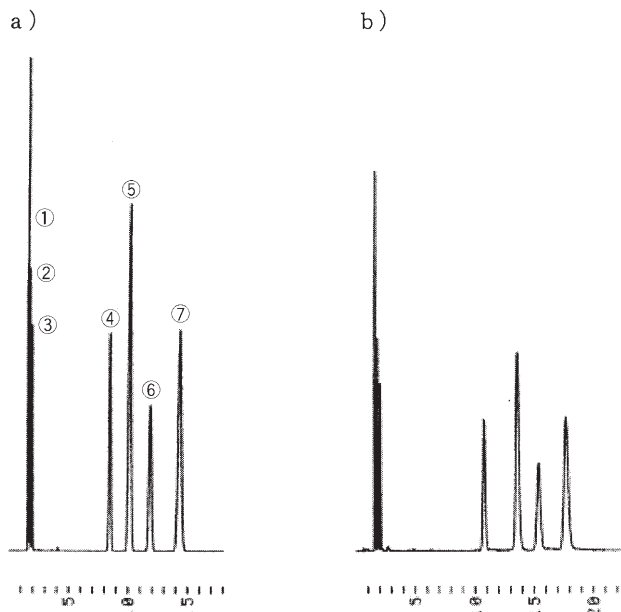


図7 平均細孔径の異なるODSシリカゲルを使用した試験—Iのクロマトグラム

a) 平均細孔径 12nm 炭化水素量20%のODSシリカゲル充填剤

b) 平均細孔径 10nm 炭化水素量20%のODSシリカゲル充填剤

溶離条件

カラム: 4.6mmφ×150mm

溶離液: メタノール/水=80/20

流速: 1ml/min.

カラム温度: 40℃

検出: UV254nm, 0.16AUFS

試料: ①ウラシル、②カフェイン、③フェノール、④n-ブチルベンゼン、⑤o-ターフェニル、⑥n-アミルベンゼン、⑦トリフェニレン(溶出順)

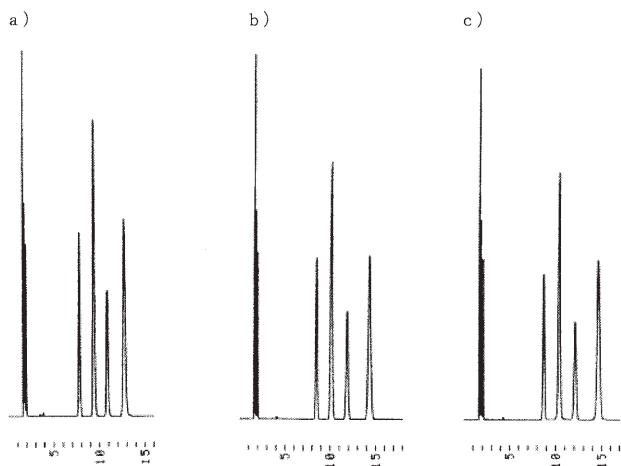


図8 炭化水素量の違いによる溶出時間の違い(試験-I)
カラム: 4.6mmΦ×150mm
a) Mightysil RP-18GP (L) (5μm) (炭化水素量:15%)
b) Mightysil RP-18GP (M) (5μm) (炭化水素量:20%)
c) Mightysil RP-18GP (N) (5μm) (炭化水素量:23%)
溶離条件及び試料は図7と同じ

3-2) アルキル鎖のちがいによる溶出挙動

ベンゼン、ナフタレン、アントラセンの三種類の試料を用いたクロマトグラムを比較して図9に示した。Mightysil RP-8GP (5μm) (炭化水素量:13%)は、Mightysil RP-18GP (5μm) (炭化水素量:20%)と比較すると、三番目に溶出するアントラセンの溶出時間がRP-8では4分半程度となっており、かなり保持時間が短くなることが分かる。

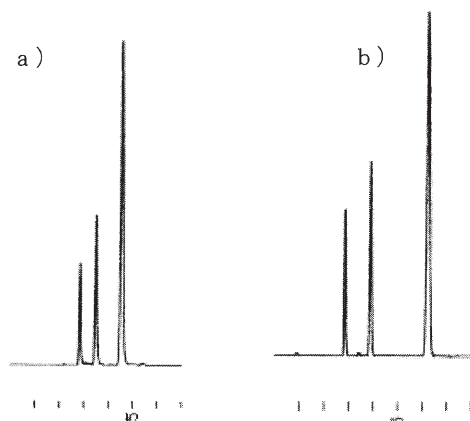


図9 C18とC8の溶出時間の比較
a) Mightysil RP-8GP (5μm)、b) Mightysil RP-18GP (5μm)
溶離条件
カラム: 4.6mmΦ×150mm
溶離液: アセトニトリル/水=75/25
流速: 1ml/min.
カラム温度: 40℃
検出: UV254nm, 0.16AUFs
試料: ベンゼン、ナフタレン、アントラセン(溶出順)

一方、Mightysil RP-8GP (5μm) (炭化水素量:13%)は、Mightysil RP-18GP (5μm) (L) (炭化水素量 15%)に比べ極端に炭化水素量が少ないわけではないにもかかわらず、溶離条件によっては、図10に示すように、炭化

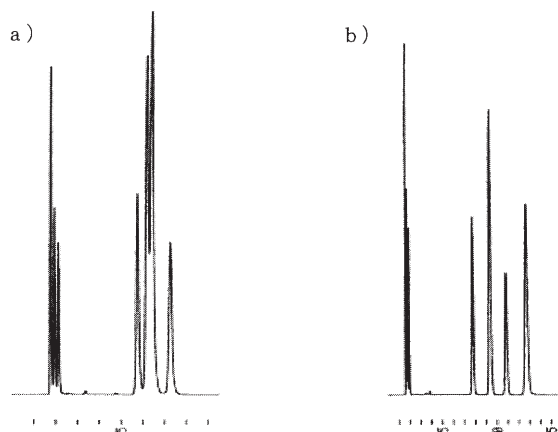


図10 Mightysil RP-8GP (5μm)とMightysil RP-18GP (L) (5μm)の比較(試験-I)
カラム: a) Mightysil RP-8GP (5μm) 4.6mmΦ×150
b) Mightysil RP-18GP (L) (5μm) 4.6mmΦ×150
溶離条件及び試料は図7と同じ

水素量の違い以上に溶離特性が大きく異なることがある。

このように、炭素鎖の違いは溶出挙動を大きく変化させることがあるので、単に溶出時間の調節のためだけにC8カラムを選択するには充分注意を払う必要がある。

5-3-2 試験-II エンドキャッピング試験

溶離試験-IIは、中性溶離液におけるプロカインアミド、アセチルプロカインアミドの溶離挙動からエンドキャッピングの達成度を確認するものである。同じくピリジン/フェノール試験も良く知られている試験方法であるので後述する。

最近では、より塩基度の強い化合物を試料として使用し、さらにpHの高い(中性から弱塩基性)溶離液を用いる試験方法がよく採用されている。その理由として、残存シラノールは、pHが高くなるにつれ解離が進み、塩基性化合物との不可逆的な二次相互作用が強く現れるためである。したがってpHの高い溶離液においても塩基性化合物がシャープなピーク形状を示す充填剤は、良好にエンドキャッピングされていることになる。

このような特性をふまえ、Mightysil RP-18GPではエンドキャッピングの評価用の試料としてプロカインアミドを採用している。そのクロマトグラムを図11a)に示す。

二番目に溶出するピークが、プロカインアミドである。対象性の良いクロマトグラムが得られており、塩基性化合物と不可逆的な二次相互作用がない充填剤であることがわかる。

一方、エンドキャッピングが不十分であると、図11b)に示すようにテーリングしたクロマトグラムになることが特徴である。ここで使用したODSシリカゲル充填剤は、Mightysil RP-18GPを合成する途中の中間体であり、エ

エンドキャッピングが不十分な充填剤を用いた。二番目に溶出しているプロカインアミドのピークはテーリングが大きく、不可逆的な二次相互作用が強いことを示している。

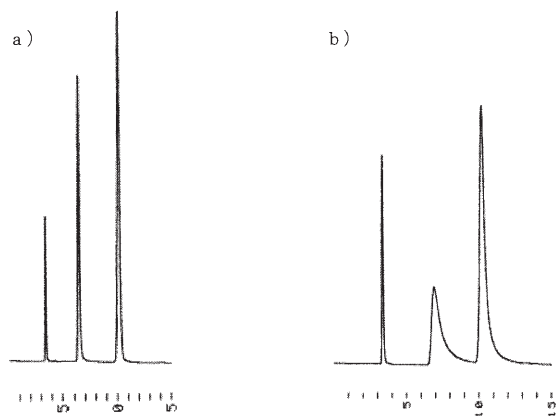


図11 エンドキャッピングの評価(試験Ⅱ)

溶離条件

カラム: 4.6mmφ×150mm、

a) Mightysil RP-18GP (5 μm)

b) エンドキャッピング不良充填剤

溶離液: メタノール/pH7.6 20mMリン酸緩衝液=40/60

流速: 0.5ml/min.

カラム温度: 40°C

検出: UV254nm, 0.16AUFS.

試料: ウラシル、プロカインアミド、アセチルプロカインアミド(溶出順)

プロカインアミドを使用した塩基性化合物の試験は、pH7.6の緩衝液とアセトニトリルの混合液を溶離液に使用する試験であるが、簡易的にはアセトニトリルと水の混合液を溶離液に、ピリジンとフェノールを試料にしたピリジン/フェノール試験と呼ばれている方法もよく利用されている。

この試験で得られたクロマトグラムを図12に示す。図12 a)は、Mightysil RP-18GP (5 μm)の結果で、同b)は、エンドキャッピング不良の充填剤(図11b)と同じカラムによる結果である。

前者では、ピリジン(最初に溶出しているピーク)はピークテーリングも小さくシャープなピークを示し、これに対して、後者のピリジンのクロマトグラムでは、テーリングが大きく、ピーク幅も広がっている。

また、エンドキャッピングが悪い場合、二次相互作用が強くなるため、塩基性化合物の溶出時間が遅れることも一般的に生じる現象である。

この様に、シリカゲルを基材とした逆相充填剤は、残存シラノールの影響が強く現れることから、エンドキャッピングは絶対的に必要なプロセスとなっている。

高純度シリカゲルを原料とするODSシリカゲル充填剤では、ほとんど、塩基性化合物の溶出に関して問題なく使

用できるようになってきたが、反面旧タイプの充填剤を使用した充填カラムも依然流通しているので、カラムの選択には注意が必要である。

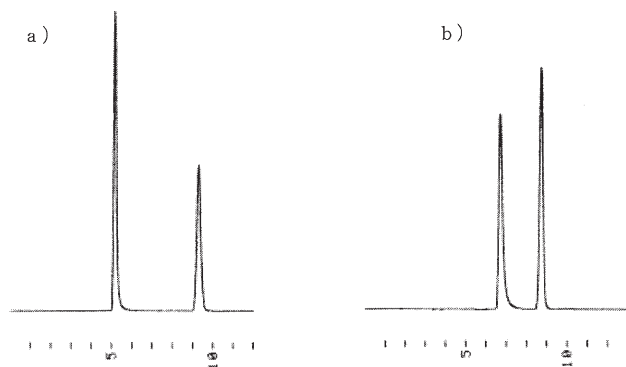


図12 エンドキャッピングの評価(ピリジン/フェノール試験)

溶離条件

カラム: a) Mightysil RP-18GP (5 μm) 4.6mmφ×150mm

b) エンドキャッピング不良充填剤 (5 μm) 4.6mmφ×150mm

溶離液: アセトニトリル/水=30/70

流速: 0.5ml/min.

カラム温度: 40°C

検出: UV254nm, 0.16AUFS

試料: ピリジン、フェノール(溶出順)

5-3-3 試験Ⅳ 配位化合物試験

配位化合物との不可逆的な二次相互作用の評価は、オキシシン銅を使用するMightysil RP-18GPシリーズは、高純度シリカゲル(純度99.99%以上)を原料に使用していることに加え、エンドキャッピングも完全に行われているため配位化合物の溶出は良好である。

図13a)にMightysil RP-18GP (5 μm)を使用した配位化合物試験Ⅳのクロマトグラムを示す。

オキシシン銅は、配位化合物の代表として充填剤の性能評価物質として使用されるが、測定に際しては、オキシシン(8-ヒドロキシキノリン)として測定されるので、その配位性のみならず、塩基性であることも考慮する必要がある。

現在、配位化合物の溶出挙動の改善の為には高純度シリカゲルを充填剤の原料に使用することが最善の策と考えられているが、たとえ高純度シリカゲルを原料としてもエンドキャッピングが不十分であれば、同時に溶出不良を引き起こすため、この二つの因子を適切に制御することが不可欠となる。この様子を図13b)に示す。

興味深いオキシシン銅の測定例を次に示すので参考にされたい。オキシシン銅は、ゴルフ場農薬として公共水域等で監視されている有害物質の一つである。

その代表例が、環境省法¹⁵⁾及び上水試験法¹⁶⁾である。

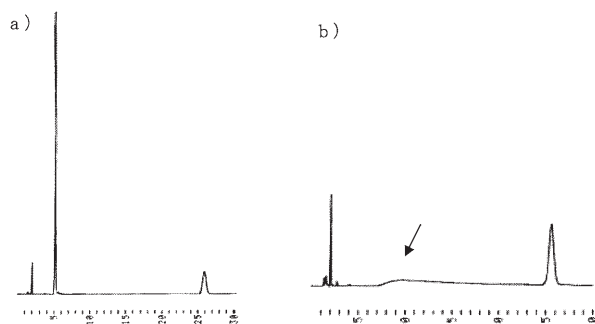


図13 配位化合物のクロマトグラム(試験Ⅳ)

溶離条件

カラム: a) Mightysil RP-18GP(5 μ m) 4.6mm ϕ ×150mm
b) エンドキャッピング不良充填剤 4.6mm ϕ ×150mm
溶離液: アセトニトリル/20mM リン酸=5/95
流速: 1.0ml/min.
カラム温度: 40℃
検出: UV250nm, a) 0.16AUFS, b) 0.08AUFS
試料: ウランシ、オキシ銅、カフェイン(溶出順)

これらの試験方法では、オキシ銅を測定する溶離液のpHは、環境省法がpH3.3、上水試験法がpH3.5と規定されている他、その定量下限も5ngとなっている。

この条件下でオキシ銅を測定すると一般的なODSシリカゲル充填剤では、図14に示す様に、ピークを確認(3.3分付近)することはできるが、定量性のないクロマトグラムを得ることになる。

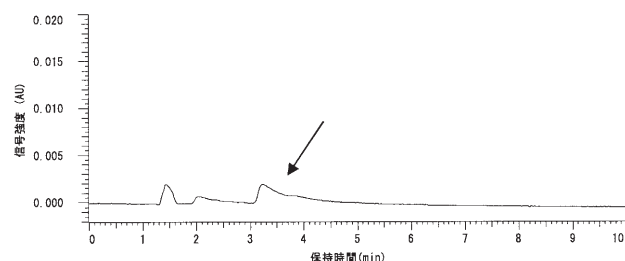


図14 上水試験法の溶離液(pH3.5)を使用した場合のオキシ銅(20ng)の溶離挙動

溶離条件

カラム: 市販ODSシリカゲルカラム(5 μ m) 4.6mm ϕ ×150mm
溶離液: 50mmol/l リン酸緩衝液(pH3.5)/AcCN=60/40
流速: 1ml/min.
カラム温度: 40℃
検出: UV230nm、
試料: オキシ銅 1ppm溶液、20 μ l

このクロマトグラムでは、オキシ銅を20ng注入したが、この状態では、定量下限である5ngの注入量ではピークを確認することは困難である。

これに対し、十分なエンドキャッピングを施した充填剤を使用すると、注入量が定量下限の5ngであってもシャープなピークを示し、上水試験法に対応が可能となる(図15)。

この様に、オキシ銅の微量分析では、高純度シリカゲルベースの充填剤を使用するのみならず、さらにエンド

キャッピングが充分行なわれていることも重要となり、Mightysil RP-18PAのように、溶出が保証されているカラムも選択肢の一つとなろう。¹⁷⁾

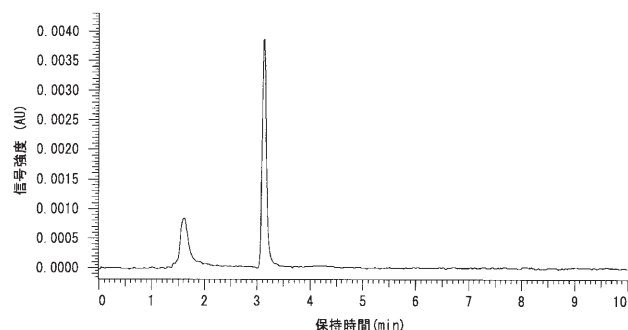


図15 Mightysil RP-18PAによるオキシ銅の溶離挙動

溶離条件

カラム: Mightysil RP-18PA(5 μ m) 4.6mm ϕ ×150mm
溶離液: 50mmol/l リン酸緩衝液(pH3.5)/AcCN=60/40
流速: 1ml/min.
カラム温度: 40℃
検出: UV230nm
試料: オキシ銅 1ppm溶液、注入量: 5 μ l

6. 親水性ODSシリカゲル充填剤

ODSシリカゲル充填剤は、水100%の溶離液を使用する場合、時間の経過と共に試料の保持が弱くなることが良く知られている。この現象は、「撥水現象」と呼ばれ充填剤表面のODS基がワックス化することで生じる現象であると考えられていた。最近、これは充填剤表面の細孔から水が抜けることにより生じる現象¹⁸⁾であると報告あり議論的となっている。

いずれにしても、試料の保持が弱くなることはHPLC分析上好ましいことではない。このため誕生したのが水100%溶離液を使用しても保持が変化しない親水性ODSシリカゲル充填剤Mightysil RP-18GP Aquaである。Mightysil RP-18GP Aquaの特徴を説明する前に、一般のODSシリカゲル充填剤カラムが引き起こす保持の低下について述べる。

ODSシリカゲル充填剤は、一般に有機溶媒と水、もしくは緩衝液の混合液を溶離液として使用される。しかし極性物質である核酸やアミノ酸等を分析する際は、有機溶媒の割合が増えるとその保持が弱くなることから、水リッチな系の溶離液で分析される。しかしながら、水分比率が高い溶離液では、図16に示すように短時間(連続送液15時間後)のうちに保持時間が低下し、再現性を失ってしまう。

これに対して、Mightysil RP-18GP Aquaは、図17に示すように、保持はほとんど変わらず良好な再現性を与えている。このように、Mightysil RP-18GP Aquaは、核酸等の極性化合物も誘導体化やイオンペアを考える必要もなく、直接分析することが可能であると共に、ODSシリカゲル充填剤としての一般的な特性も他のMightysil RP-18GPシリーズと同じであることから、より広範囲に応用が可能なカラムといえよう。

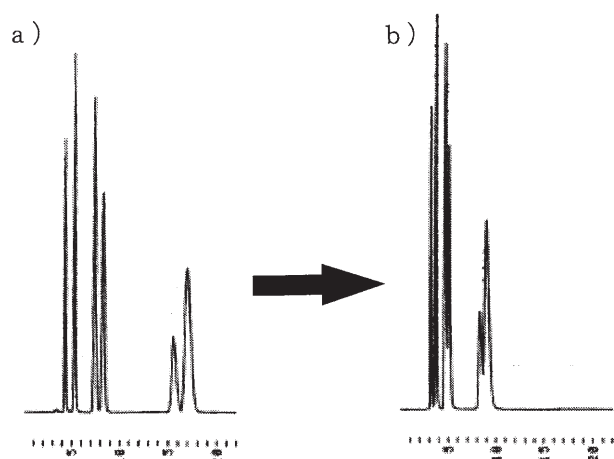


図16 水リッチな溶離液使用開始直後と15時間後のクロマトグラムの比較
溶離条件
カラム：Mightysil RP-18GP (4.6mmΦ×150mm)
a)使用開始直後、b) a)を測定した15時間後のクロマトグラム
溶離液：5mM KH_2PO_4
流速：0.5 ml/min.
カラム温度：40℃
検出：UV254nm、
試料：CMP、UMP、GMP、IMP、AMP (溶出順)

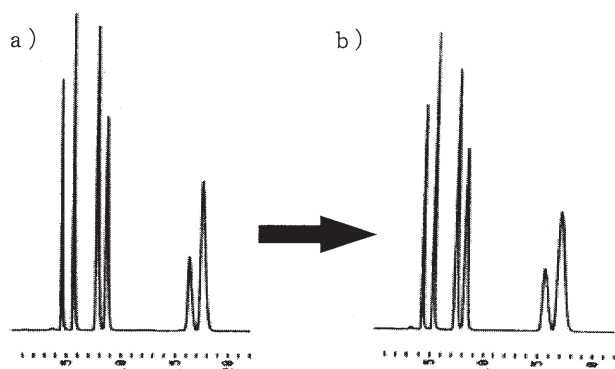


図17 水リッチな溶離液使用開始直後と15時間後のクロマトグラムの比較
溶離条件
カラム：Mightysil RP-18GP Aqua (5μm) (4.6mmΦ×150mm) a)使用開始直後、b) a)を測定した15時間後のクロマトグラム
溶離液：5mM KH_2PO_4
流速：0.5 ml/min.
カラム温度：40℃
検出：UV254nm
試料：CMP、UMP、GMP、IMP、AMP (溶出順)

7. 最後に

以上、逆相充填剤であるODSシリカゲル充填剤の基本的な特徴を説明してきたが、逆相カラムの選択にあたり、この解説がお役に立てば幸いである。

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)
- 15) 上水試験方法 (2001年版) 日本水道協会
- 16) 環境省環境管理局水環境部土壌環境課「ゴルフ場で使用される農薬による水質汚濁の防止に関わる暫定指導指針」(2001)
- 17) 竹田津研、深井伸彦、澤田豊、酒井芳博, 第8回LCテクノプラザ講演要旨集, GO1 (2003)
- 18) 長江徳和、榎並敏行, *分析化学*, **49**, 887 (2000)

化学分析における基礎技術の重要性(8)

Importance of The Basic Technique on Chemical Analysis(8)

—データの解析力と分析の品質管理(精度管理)—

— Data Analysis and Quality Control of Chemical Analysis —

関東化学株式会社 検査部 井上 達也

TATSUYA INOUE

Inspection Dept., Kanto Chemical Co., Inc.

1. はじめに

微量分析における環境からの汚染の影響については過去にも本誌に掲載したが、無数に存在する汚染源を特定し管理することは、「分析の品質管理」、即ち「精度管理」を進めるうえでも不可欠な要素になっている。そのすべてが分析を妨害するとは限らないが、分析者は、このような状況においてもデータを解析する力が求められているといえる。解析次第でその分析の価値を大きく変貌させることがあるからである。筆者自身の経験から、この解析では二系統に大別してデータを見ることにしている。一方は分析結果を基に何らかの傾向を見出す方法であるが、もう一方はその結果の妥当性を検証する方法である。本稿では、データ解析の重要性に関連していくつかの事例を紹介する。

2. バルビツール酸を用いたシアン化合物の吸光光度法分析

シアン化合物の分析といえばピリジンピラゾロン法が一般的であるが、「これに代わる試験方法があるか?」という問い合わせをいく度か受けたことがある。代替の試験方法を必要とする理由は多様で、分析者により異なっていたが、いずれも他の適切な試験方法の必要性に迫られていることと思われる。ここでは筆者がピリジンピラゾロン法の代替としてよく用いるバルビツール酸法の事例を紹介する。

【試薬】

(1) pH緩衝液

0.1 mol/Lりん酸二水素カリウム溶液50 mLと0.1 mol/L水酸化ナトリウム溶液29.1 mLを混合する。

(2) クロラミンT溶液

クロラミンT 1 gを100 mLの水に溶解する。

(3) 発色液

バルビツール酸6 gに水10 mLを加え懸濁状態とし、ピリジン30 mLを加え溶解し、水50 mL及び塩酸6 mLを加える。

【試験方法】

試料を50 mL全量フラスコに入れ、pH緩衝液2 mL及びクロラミンT溶液1 mLを加える。発色液3 mLを加え、水を加えて50 mLにし、よく振り混ぜる。直ちに水を対照に1 cmセルを用い波長580 nmにおける吸光度を測定する。

【検量線】

シアン標準液(0.01 mg/mL) 100,200,300,500 μ Lをとり、同様の操作で吸光度を測定し、検量線を作成する。別に空試験を行い補正する。

図1に吸収スペクトルを示す。立ち上がりのはっきりしたスペクトルが特徴である。

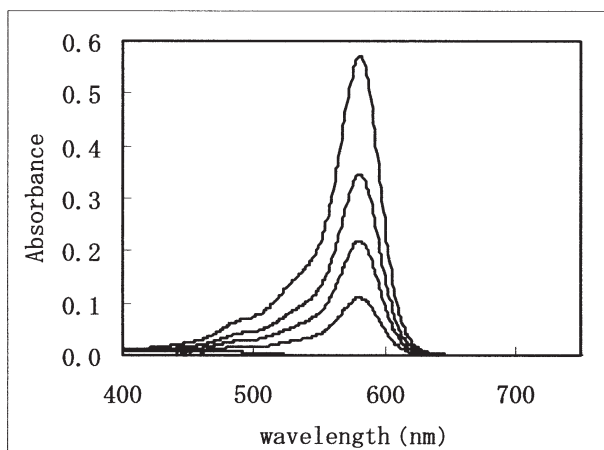


図1 バルビツール酸法によるシアン標準液の吸収スペクトル

検量線の相関係数は0.9997となり、良好な直線性を示す。また、シアン標準液0.04 mg/Lを用いてn=10で吸光度を測定した。併行精度は、相対標準偏差1%のレベルである。

当試験方法が、それぞれの目的に適切であるかは計り知ることはできないが、この方法を推奨する理由の一つとして、得られたデータから、分析結果の妥当性が検証できたからである。

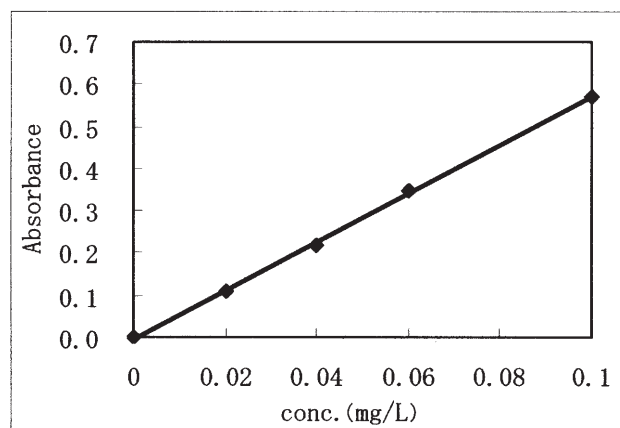


図2 シアン標準液の検量線

表1 バルビツール酸法によるシアン測定の併行精度

n	Absorbance	n	Absorbance
1	0.21582	8	0.21839
2	0.21713	9	0.21645
3	0.21071	10	0.21912
4	0.21798	Average	0.21721
5	0.21609	SD	0.00226
6	0.21632	RSD%	1.04
7	0.21845		

3. ボイラー蒸気による測定室内の汚染

近年のイオンクロマトグラフのベースラインノイズは、2 nS/cm以下にまで改善され、従来気にならなかったピークも認識できる状況になった。ボイラー蒸気による汚染に気付いたのは、イオンクロマトグラフ法による陰イオン測定の際実際の測定結果には影響しない微量のぎ酸の存在が確認できたことに始まる。仔細に調査すると、冬場になると特徴的にぎ酸のピークが現れることが確認できた。この汚染は、試験室を加湿しているボイラー蒸気に含まれる成分に起因するものと推定し、空調機内で噴霧されている蒸気を採取して陰イオン及び金属不純物を測定した。その結果を図3および図4に示す。陰イオン分析では、明らかにぎ酸のピークが認められたほか、硝酸イオンも多く

検出された(図3)。一方、金属不純物については、アルミニウム、ほう素、ナトリウム、カルシウム、鉄、亜鉛、けい素といった元素が検出された(図4)。

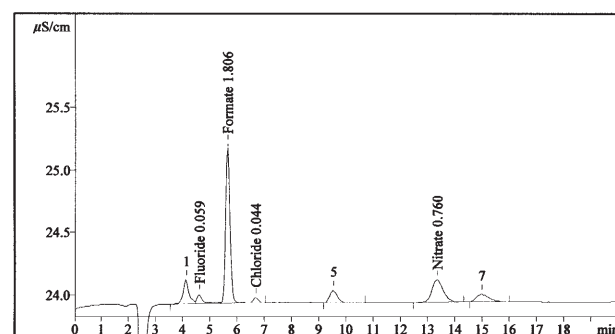


図3 ボイラー蒸気のイオンクロマトグラム (チャート内の数値はµg/mL)

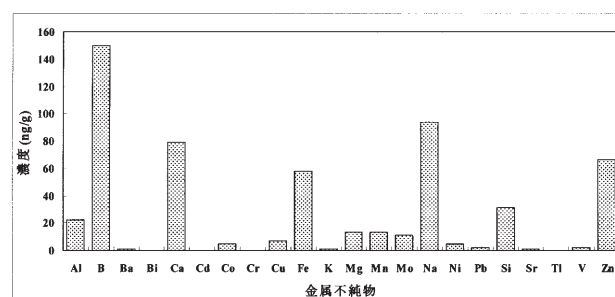


図4 ボイラー蒸気に含まれる金属不純物の測定結果

ここでボイラーの運転で用いられる薬品を調査したところ、その性能維持の目的で多数の化学薬品が使われていることがわかった(表2)。

表2 ボイラー運転で用いられる薬品例

種 別	代表的な薬品
脱酸素剤	ヒドラジン系、亜硫酸系、糖類系
清缶剤	りん酸系
スライム防止剤	第4級アンモニウム塩系、アルデヒド系、無機有機塩素系
スケール防止/防食剤	ホスホン酸・りん酸塩系、ホスホン酸・りん酸・亜鉛系、ポリマー系
防食剤	亜硝酸塩系、亜硝酸・モリブデン酸塩系
蒸気復水系防錆剤	アミン系
スラッジ分散剤	低分子量ポリマー

ボイラー運転による蒸気の供給は、分析でも多用される水蒸気蒸留と同様の機能と考えれば、かなり高沸点の成分も蒸気とともに揮散して室内に侵入してくる可能性がある。この事例では、ボイラー水にアルデヒド系薬液が添加されていたので、ぎ酸の生成がこれに由来すると考えられる。また亜硝酸やその塩が添加されていたので、これらが酸化を受けて硝酸イオンとして検出されたものと考え、データ解析により調査結果と分析結果に関連性と傾向が見出された。金属の室内汚染については、例えばほう素は、有機物の存在下に酸性状態で揮散する性質

があるため、原水に含まれるほう素類縁物が揮散して混入した可能性が強い。アルミニウムは原水の処理に用いられる沈殿凝集剤の成分が混入したものと考えられる。

今回測定された蒸気中の不純物は、空調機内に送り込まれる空気でかなり低濃度に希釈されるため、ppmレベルの検出感度の分析に影響を与えるものではないが、次世代の高感度分析の品質管理(精度管理)では、このような室内汚染のデータが極めて有用な情報になる。

4. 揮発性有機化合物の挙動

揮発性有機化合物(VOC)の名称を初めて耳にした頃のこと、その社内試験規格を設定するため水にVOCの標準液を添加して回収を試みたことがある。当初は思いのほか回収できずに苦戦したのは勿論のこと、最終的に90%台で水から回収できるようになったが、悩ましい現象がいくつか残されていた。例えば、テトラクロロエチレンの回収率が常に他より低い結果を与え、また一部の化合物では回収率の再現性に問題があった。これらの原因を突き止めるべく、まずは揮発性有機化合物のその名が意味するとおり、揮発性と回収率の相関を求めたが何らの相関も得られなかった(図5)。次いで水への溶解度との相関を求めたが、単純なグラフ化では明確な相関が得られなかった。しかし何日もグラフを眺めているうちに、対数で相関しているように見え始め、最終的に図6のグラフを得ることができた。

図6のグラフの序列は、常に再現できるわけではなく、四塩化炭素と1,1-ジクロロエチレン、またはシス-1,2-ジクロロエチレンと1,1,2-トリクロロエタンの回収率が逆転することが頻繁に起きたが、回収率の傾向は基本的に変わらなかった。

これらデータは、超純水にVOCの標準液を各0.1 mg/L添加しその回収率を測定した。水に揮発性有機化合物を添加する場合、水および使用するあらゆる器具(マイクロピペットのチップも含む)は冷却し、添加する際もチップの先端を水の中に入れて操作し、排出後一旦水を吸い込み再び排出し、その後の混合も泡立てぬようにゆっくり全量フラスコを回して時間をかけて添加試料を調製した。

ここで見られたテトラクロロエチレンの回収率の低下や一部の化合物での測定結果の変動は、操作や器具、器械などの問題ではなく、これらの物質の水中での分解挙動による結果と最終的に判断できた。

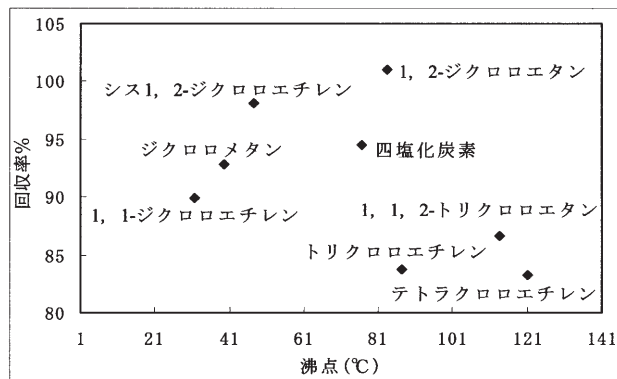


図5 VOCの回収率と沸点の関係

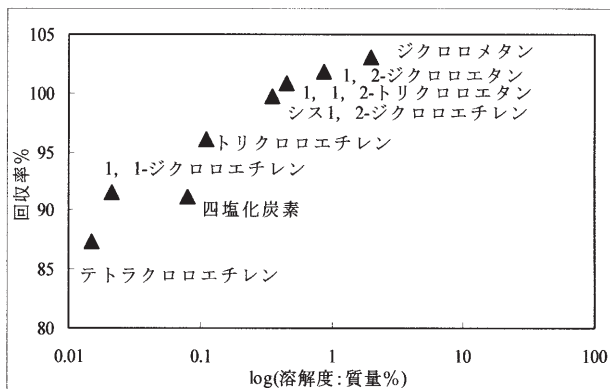


図6 VOCの回収率と溶解度の関係

こうした結果系のデータに基づく解析では、その状態が何に起因しているのかという原因系との関連を解き明かすことが肝要であり、原因系への適切な対策による状況の改善や、原因系の傾向がまた新たな分析手法へと発展的に利用されるなど、継続的な改善や発展のためには不可欠なデータ解析の手法といえよう。

5. 硫酸滴定溶液のかたより検証

近年では、各種の技能試験が実施され、各試験所は自らの試験結果の偏りが客観的に認識できるようになっているが、すべての分野に技能試験が存在するわけではない。そのような場合、原理の異なる別の方法で分析を実施し、その結果を比較評価することも偏りを知る一つの方法である。

ここでは、滴定用溶液0.05 mol/L硫酸を滴定とイオンク

表3 0.05mol/L硫酸の測定による標準結果

n	ファクター
1	1.0071
2	1.0067
3	1.0073
平均値	1.0070
標準偏差	0.0003

ロマトグラフで濃度を測定し、比較した事例を紹介する。滴定は、JIS K 8001に規定する方法で行い、その結果を表3に示した。

もう一方は、イオンクロマトグラフを用いてJCSS標準液と滴定用溶液を比較測定し硫酸イオン濃度からファクターを求めた。各液は次の要領で調製した。

(試料液)

0.05 mol/L硫酸を正確に10 mLとり、水で1000 mLに正確に希釈した。

(標準液)

JCSS硫酸イオン標準液(1005mg/L)を正確に10 mLとり、水で200 mLに正確に希釈した。

この際、10 mL全量ピペットは両液調製時に同一のものを使い、使用器具間の偏りを抑えた。

それぞれ20 μ Lを装置に導入し、試料液と標準液を交互に測定した(表4)。

表4 0.05mol/L硫酸のイオンクロマトグラフ法による測定結果

試料	標準液面積	試料液面積	試料液濃度	ファクター*
n	μ S/cm x sec	μ S/cm x sec	mol/L	—
1	315.837	302.832	0.050367	1.0073
2	314.199	302.623	0.050332	1.0066
3	314.611	302.883	0.050375	1.0075
4	313.818	302.397	0.050294	1.0059
5	314.091	303.196	0.050427	1.0085
平均値	314.511	302.786	0.050359	1.0072
標準偏差	0.794	0.299	0.000050	0.0010

*1005mg/LのJCSS硫酸イオン標準液(Na_2SO_4)から調製した標準液をmol濃度に換算し、試料液(H_2SO_4)の面積と比例計算し、希釈倍率を加味して計算した。

結果は、滴定で1.0070、イオンクロマトグラフで1.0072と予想外の整合を示し、偏りの評価として満足できる結果が得られた。一方この実験を通じて興味深い知見が得られたので次に紹介する。

イオンクロマトグラフ法による両液の標準偏差の違いに着目し、データ解析した。両液は、濃度が接近しているにもかかわらず、なぜ標準偏差が倍以上(0.794と0.299)に異なるのか、両チャートを比較したところ、図7に示すように6秒ほどの保持時間の差とピーク形状の違いが認められた。滴定用硫酸は遊離しているが、JCSS標準液は塩である硫酸ナトリウムから製造されており、この違いが、ピーク形状及び保持時間に現れたと考えている。交互に測定して図7のように再現できることを考慮し、この違いをさらに拡大できる条件を見出せば、硫酸の状態が遊離で

あるか、塩に由来しているかが識別でき、イオンクロマトグラフィーの新たな応用が期待できる。

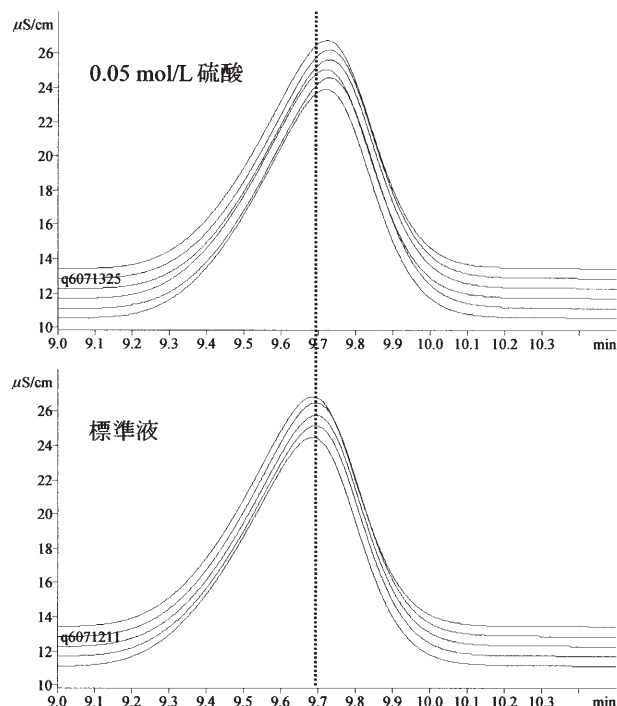


図7 滴定用硫酸と硫酸イオン標準液のイオンクロマトグラム

6. おわりに

イオンクロマトグラフ分析では、ラボの事情により多様な試料と種々の塩類の溶離液が扱われ、分析毎のクリーンアップではノイズ低減や再現性にまつわる失敗談も多く聞かれる。分析の品質管理(精度管理)では、このような結果に与えるリスクを逃すことなく克服していくことがポイントになるが、実に奥行きを感じる。

最近、筆者へ化学分析に関する質問が多く寄せられるようになり、おそらく本誌への寄稿内容が化学分析の基礎技術として読者に賛同を得ているものと身勝手に解釈しているが、関心をもって本稿を見て頂いていることに心より感謝申し上げたい。

ことさら弊社が供給する試薬は広範囲に亘っており、他の分析機関に較べれば多様な分析が要求されてきた。その精度管理は分析の品質管理そのものであるとして、目前に現れる疑問に翻弄されながら課題として取り組み弊社の分析の質の向上に反映してきた。課題解明の課程で得られたデータ解析を通じて色々な利用を見出すこともでき、これら活動の一端を紹介することで読者の分析活動にお役に立てれば大変幸いに思う次第である。

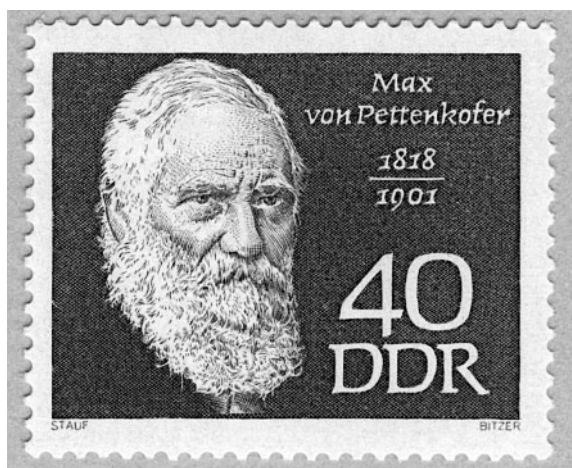
ドイツの切手に現れた科学者、技術者達 (19)

マックス・フォン・ペッテンコーフェル

Scientists and Engineers in German Stamps (19). Max von Pettenkofer

筑波大学名誉教授 原田 馨
KAORU HARADA

Professor Emeritus, University of Tsukuba.



生誕150年記念切手、1968年DDR発行

マックス・フォン・ペッテンコーフェル

マックス・フォン・ペッテンコーフェル (Max von Pettenkofer, 1818-1901) ドイツ (バイエルン王国) の衛生学者。

ペッテンコーフェルは、バイエルンのリヒテンハイム (Lichtenheim) に生まれた。両親は勤勉であったが、大勢の子供達を養育することが困難であった。父の兄はミュンヘンで王室の薬剤官をしており、また子供がなかったのでペッテンコーフェルの兄弟は次々とミュンヘンに引き取られて養育された。ペッテンコーフェルは9才の時に伯父に引き取られたが、子供心にただひたすらリヒテンハイムの田舎が恋しかった。しかし学校の成績はよく、古典語を楽しむことができるようになった。伯父はペッテンコーフェルに薬学を勉強させ薬剤官にしたいと考えていた。ペッテンコーフェルは薬学、化学の勉強をはじめたが、一寸した伯父との言い争いで伯父の家を飛び出し劇団の一員となった。別の伯父の執り成しで一年後に世話になっている伯父の家に帰ることができたが、王室薬剤官になることは殆ど絶望的であった。当時ドイツにおいて芝居の役者の社会的地位が低かったことを示している。しかし町の医者にはなれるであろうと考え、先ず医学を学んだが化学にも興味を持っていた。ペッテンコーフェルは薬剤師試験と医師の試験の両方に合格したが、化学を学ぶ希望が強く医師になるつもりはなかった。ヴェルツブルクのシェラー教授のもとで化学を学び、その後ギーセンのリービッヒのもとで学んだ。有能なペッテンコーフェルをリービッヒは可愛がった。ペッテンコーフェルは人格的にも優れた人であり、このギーセン滞在は両者にとって有意義なものであり、お互いに相手を高く評価し合った。残念ながら学費が切れ

たので、ペッテンコーフェルはミュンヘンに帰ったが、ギースンでは多くの友人を持つことができた。リービッヒらの計らいでペッテンコーフェルは造幣局に職を得、そこで多くの問題を次々と解決した。1847年ミュンヘン大学に医化学教室が設置され員外教授になったが、1850年に伯父が死亡し、その後任として王室薬剤官となることができた。彼の多才な能力の故にバイエルン王国の教育問題にも進言し、大化学者リービッヒをミュンヘンに招聘することへと発展した。この運動にペッテンコーフェルが主だっていたり、リービッヒは1852年にミュンヘンに移ってきた。ペッテンコーフェルは薬学、医学及び化学の知識を総合して衛生学を創始した。衛生学は境界領域に生まれた新しい学問であった。人々が健康に生活するにはどのような知識が必要であるかと云うことについての学問である。彼はこの新分野について研究し、ミュンヘンを伝染病のない健康な都市に変えることに成功した。この成功によりドイツ各地の大学には衛生学の教室が開設された。ペッテンコーフェルは人生の苦勞人でありながら才気のほとばしる人物であり、他人との付き合いもよい人であった。彼の人柄を示す一つのエピソードに次のような話がある。R. コッホがコレラの病原体を発見した時彼はこれを信ぜずコッホが培養した病原菌を飲んだと云うことである。幸い死には到らなかった。

ミュンヘン駅近くのペッテンコーフェル通りに面してペッテンコーフェル研究所がある。玄関正面に彼のレリーフが掲

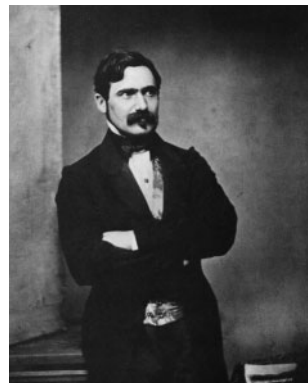
げられており、研究課題と所長名が記されていたが、その中に細菌学もあった。私がペッテンコーフェルは病原菌を信じなかったのではないですかと冗談を云うと案内の研究者はこの冗談に微笑みで答えてくれた。

マクシミリアン広場にJ. リービッヒとペッテンコーフェ

ルが互いに向かい合って座っている像があるが、残念ながら風化が激しい。大学者リービッヒをミュンヘンに招聘したペッテンコーフェルに感謝のための像でもある。老年になり大学と学士院長の職を辞したが、咽にできた腫瘍を癌だと思い込みピストル自殺を遂げた。ピストルで死ななければ大変長生きをしたであろうと云われている。彼の墓はミュンヘン旧南墓地にある。

余談ながらペッテンコーフェルは研究所の初代所長であり、2代目所長ハンス・ブッフナー (hans Buchner, 1850-1902) の弟は発酵の問題を解決し、ノーベル賞を受賞したエデュワルト・ブッフナー (Eduard Buchner, 1860-1917) であった。彼は第一次世界大戦に陸軍少佐として参戦し、ルーマニア戦線で戦死した。ノーベル賞受賞者の戦死とは珍しいことである。

※本稿に掲載の写真は、著者の撮影によるものである。



マックス・ヨセフ・フォン・ペッテンコーフェル
(フリー百科事典「ウィキペディア」より)

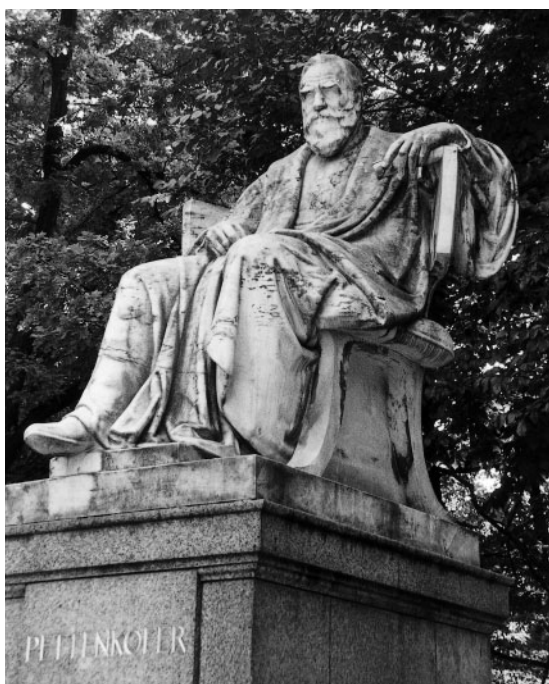


ギリシャ神話の衛生、健康の女神ヒュギエイア (Hygieia)。ハイデルベルグ薬事博物館で撮影。

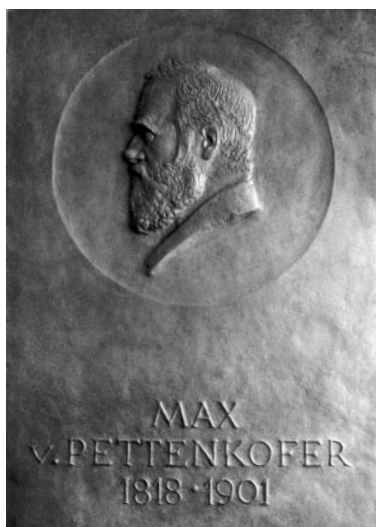


ペッテンコーフェル研究所入口

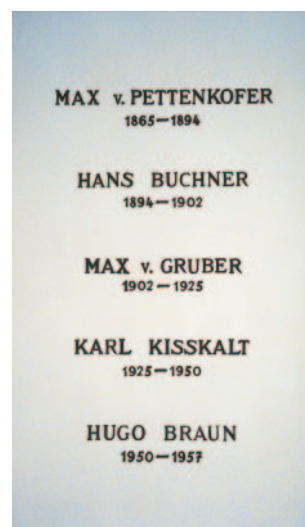
ドイツの切手に現れた科学者、技術者達(19) マックス・フォン・ペッテンコーフェル



マクシミリアン広場のリービッヒ像と向かい合っているペッテンコーフェルの像



ペッテンコーフェル研究所の正面玄関のレリーフ



ペッテンコーフェル研究所に掲げられている歴代所長の標識



ミュンヘン旧南墓地にある墓



リヒテンハイムに残るペッテンコーフェルの生家

表紙写真

ヒメシャクナゲ(姫石楠花) 躑躅(つづじ)科 ヒメシャクナゲ属

南会津の田代山湿原で6月末の撮影です。背丈が10cm前後の常緑小低木で、紅紫色の壺型の5~6mm程の花を下向きに付けます。地表を覆う絨毯状の群生は見事なもので、白い花のシロバナヒメシャクナゲもあります。学名は、ギリシャ神話のアンドロメダにちなんだ *Andromeda polifolia* と表されます。ヒメシャクナゲの名の由来は、花の形は全く違いますが、小さな葉の形がシャクナゲに似ることによるものです。(写真文 北原)

編集後記

今年の夏は、地球温暖化の加速を予見させるような記録的な猛暑でしたが、読者の皆様にはいかがお過ごしになりましたでしょうか。ご執筆の皆様には、厳しい暑さの中ご尽力賜りまして厚く御礼申し上げます。

弊社では、試薬を通じて多くの分野の方々とご交誼賜り、また数々のご教示を頂きまして社内に根ざした有意義な経験も少なからず蓄積されて参りました。有益な仕事をされている研究者の技術を広く紹介するという本誌の主旨に加え、弊社に根ざした試験技術や製品開発に投入された技術の一端を添えさせて頂き、ささやかながら本誌の裾野を広げていきたいと願っています。ま

た今後の新たな企画として、多くの読者に気軽に参画いただき、楽しく読んで参考になるというユニークなコラムの導入を考えております。ここに改めて編集室より読者の皆様にお願いがございます。「楽しいラボの知恵袋..」(仮称)ともいべき軽いタッチの寄稿文の別枠コラムとして、各分野の皆様のラボ活動からこれは優れものの、便利、簡単、正確、安全、環境に優しいなどの改良ネタや面白いネタを広く紹介させて頂きたく、皆様からのご投稿を何卒よろしくお願い申し上げます。その他ご投稿についてのご質問、ご意見等ございましたら下記の編集室までご連絡なくお寄せ下さい。(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10月1日 発行