

THE HITACHI SCIENTIFIC INSTRUMENT NEWS

June
1967
Vol. 10
No. 3

■ XMA-5形 日立微小部X線分析装置

原 行一* 三村 忠治* 渡部 忠雄* 久保木 健三* 垣内 秀行*

極微小部の非破壊分析装置として、ここ数年来急速に利用度が高まってきた微小部X線分析装置(略してEPMA)は種々の形式、機能、性能のものが世界各国で、発展しつつある。

この中で、真空中で昇華し易い多元素を含む試料を分析する場合あるいはNa以下の超軽元素(Bまで)に対する検出効率を上げる為X線取出角度が高く、X線分光器台数が多く、超軽元素検出感度も良く、操作・保守に簡便な装置ということで計画され、製品化されたものが、XMA-5形である。

従来機種でも、この中、いくつかの要素は満足されていたが、将来機器の進展に伴う、例えば、種々のアクセサリが附属し得るか否かの問題となると必ずしも充分ではなかった。

また、顧客要求内容の広範性から、構成内容に、変化を持たしめることも出来る様、配慮した。つまりビルディング・ブロック式の採用である。

これらに加えて、各部の機構の改善、特に長寿化に対する検討を充分考慮した。中でも、試料微動装置は、対象部が、常に1μ orderである為、再現性、精確度もまたこれ以上の精度が要求される。従来採用していた、摺動部、歯車機構は、ほとんどなく、全く新しい方式を長期に亘り検討した結果、金属板の弾性を利用した機構がこの種の微動機構に最適であることを確認し、製品に採用している。

装置各部について、改善した要点は次の如くである。

1. 電子光学系……①高輝度電子銃の採用、②電子光学系の軸調整簡易化。
2. 試料微動部……①試料寸法、装填数の増加、②新方式微動機構の採用、③試料自転可能。
3. 光学顕微鏡……①三眼接眼方式の採用、②偏光顕微鏡として使用可能(薄片試料の分析可能)
4. X線分光系……①X線取出角対38°(3台共 同一) ②結晶直進、波長直読方式。
③Dual Crystal(真空外より交換可能)
④Universal Counter(結晶交換により検出器の取換不要)
⑤3チャンネル同時計数可能(メモリー式)
⑥色別多ペンレコーダー使用可能
⑦波長マーカー、分析位置マーカー付。
⑧乾式 ガスフローメーター
5. EBS装置
①最高5本のCRT使用可能
②世界初のコンテンツマッピング装置、装備。

これら改善点のうち、X線取出角度については、従来装置が、XMA-4形で10°、XMA-M1形で57°という角度を採用していたが、前者では、試料表面の凹凸による、X線の影響があり、後者では、X線の蛍光励起による問題が存在する。一方特性X線の角度分布から30°以上が要求されるので、XMA-5形では、38°

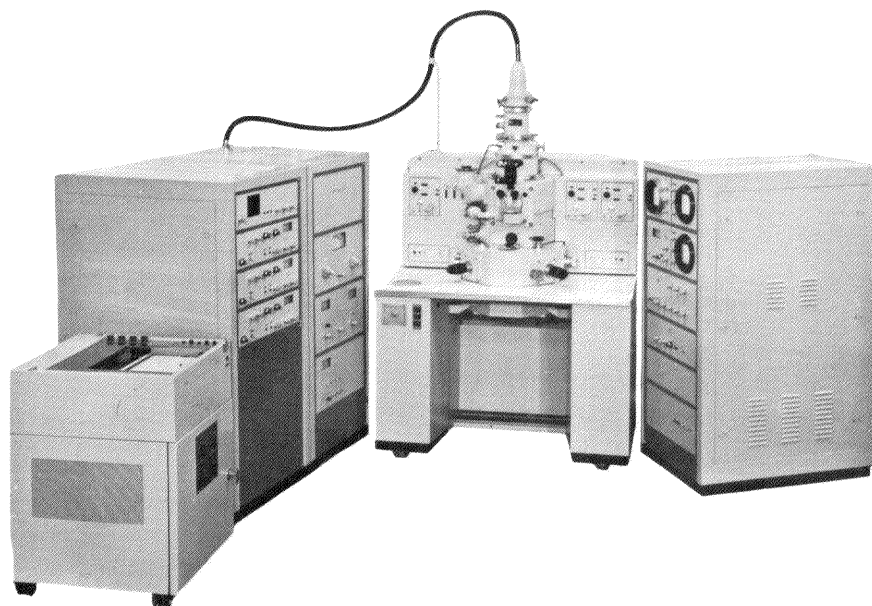


図1 XMA-5形 日立微小部X線分析装置の外観

なる角度を採用している。また、XMA-M1形に於て、5台の分光器の夫々の取出角度が異っていたことによる定量分析補正の複雑さを除く為、XMA-5形では、3台共38°の同一角度とした。各分光器は、それぞれ2個の分光結晶を取付けることができ、真空ケース外部より簡単に交換できる。また、それぞれの結晶に対する分光波長値は、直読できる構成を有し、所謂波長換算の手間がかからない。検出器に於ても、従来より採用していたユニバーサル・タイプ、すなわち有効検出波長域に応じた比例計数管のタンドム方式の採用で、結晶交換を行う度毎に検出器を取換える必要がない。

本形式よりnNa以下の元素を分光結晶を用いた分散分光法で分析可能となった。これは、ステアリン酸鉛の異積層で作られた、面間隔の大きい(2d=100Å)分散子で分光するものであるが、現在sBまで検出できている。この外C、N、Oの検出により炭化物、窒化物、酸化物が波長分解能よく、又検出感度良く検出されるようになった。

目 次

■ XMA-5形 日立微小部X線分析装置	原 行一	1
三村忠治 渡部忠雄 久保木健三 垣内秀行		
■ EPS-3T形 日立自記分光光度計(積分球付属)による細胞内顆粒の差スペクトルの測定	品川嘉也 島津威雄 品川泰子	3
■ RSP-2形 日立ラビッドスキャン分光光度計による還元性ミオグロビン・シアン結合物の生成、及び分解過程の観察	水上茂樹 原 敏行	4
■ 蛍光増白剤を含む紙の白さの測定法について	河田 正	6
■ G-3形 日立分光光度計用分光蛍光付属装置を用いた蛍光励起偏光度スペクトロメータの製作	鈴木 哲	8
■ 原子吸光法によるCr、Ni、Mo鋼中の銅、クロム、マンガン、ニッケルの分析	大津 修、須藤健吾	9
■ IIS形 日立分子量測定装置による、テロマー(分子量分布を有する試料)の分子量測定	増尾富士雄 草賀 淳	11

図1は、XMA-5形の外観を示す。中央部の本体は、幅1140mm、最高ツマミ高さが1550mmであり、所要の操作は、腰掛けのまま、操作可能である。左側には、電子レンズ励磁電源、高電圧電源、チェック回路が収納されており、その左側には3チャンネル分の計数回路が収納されている。従来装置のものに対して、同じ床面積で、容積が約1/3になっている。記録計は種々の形式が準備されており、写真では、4ペン記録計であるが、3ペン記録計では、計数回路の下部に抽出し式に収めることができ、更にコンパクトにできる。右側はYS-2A形スキャンニング装置で、CRTが3本の標準形のものである。この内にはコンテンツマッピング装置が収められている。

図2は、試料微動装置に於ける機械的スキャンニングの再現性

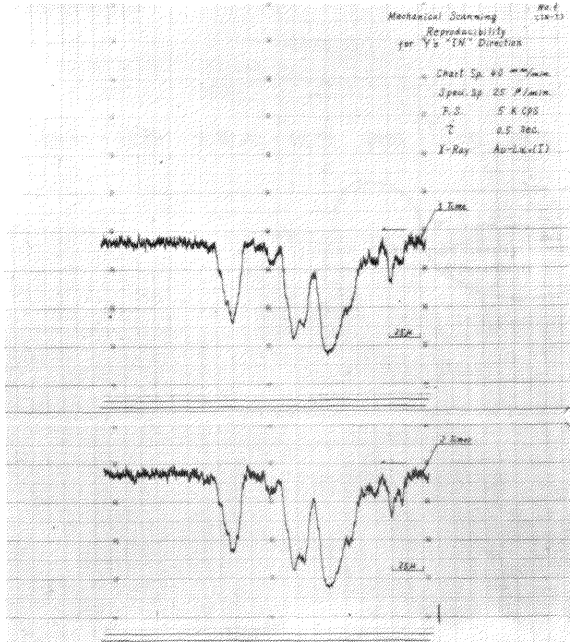


図2 試料自動送りの再現性

性の良さを示す例で、統計変動内で、全く一致している。

図3は超軽元素の分析例で、Graphite検出において、極めて高い検出感度を得ている。

図4は、コンテンツ・マッピングの応用例で、含有量変化のゆるやかな場所に特に有効である。被検体はAg-Cu合金で、試料吸収電子線がハート状のAg偏析を示しているが電気的線分析にても示される如く従来のX線像には、明白な検出ができない。コンテンツ・マッピング・ユニットによる表示では、その形状をも明らかに表示することが可能で、且つ、X線強度の位置に対する表示も一目瞭然である。この例では1段当り50CPSの強度変化(一番黒い部分が0~50CPSのX線強度、次が50~100CPS)を示し、分析の一辺が40μである。

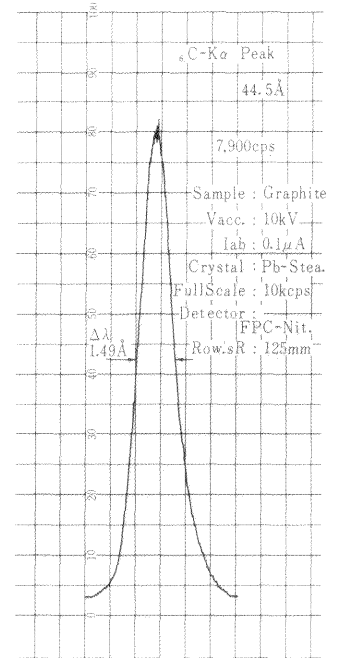
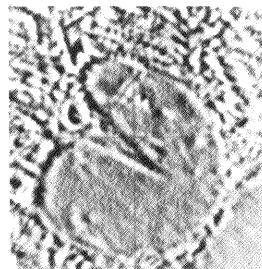
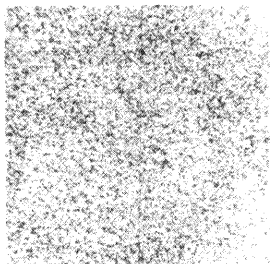


図3 C-K α 線

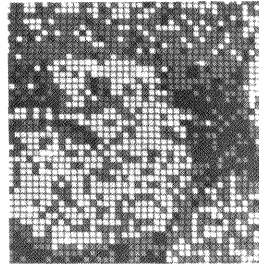
図4 Ag-Cu合金のコンテンツ・マッピング像



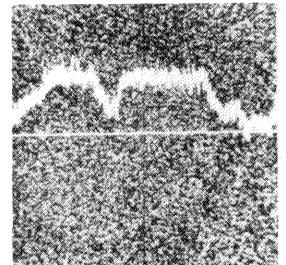
AE Image



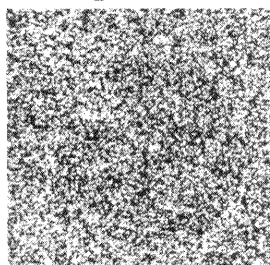
Ag - L α



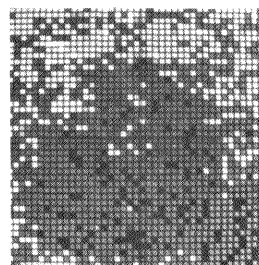
Ag - L α



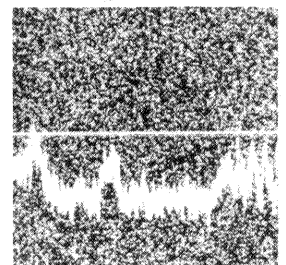
Ag - L α



Cu - K α
Xray Image



Cu - K α
Content Mapping



Cu - K α
Line Analysis

■ EPS-3T形 日立自記分光光度計(積分球付属)による細胞内顆粒の差スペクトルの測定

品川 嘉也 島津 威雄 品川 泰子

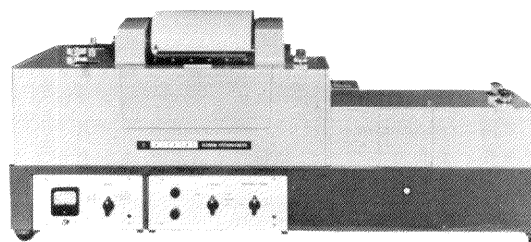
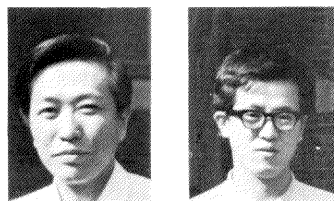


図1 EPS-3T形 日立自記分光光度計

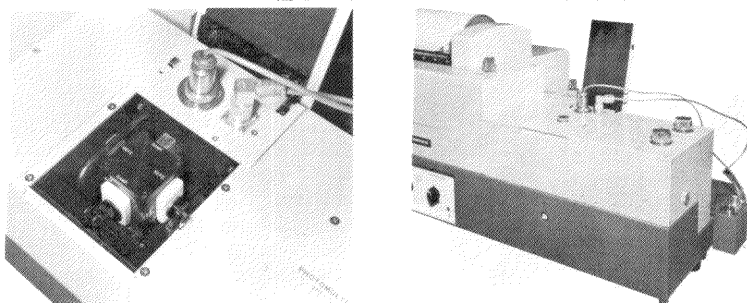
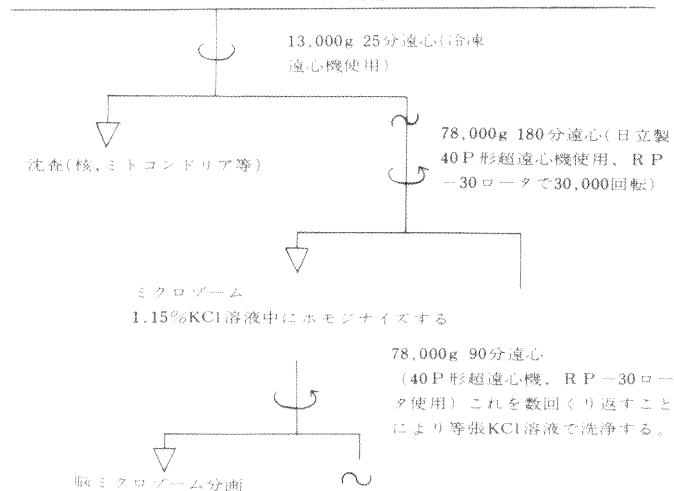


図2 EPS-3T形に装着した積分球付属装置

図3 脳ミクロゾームの分離法³⁾。

ウサギ脳を抽出、9倍量の0.32Mショ糖液を加えてデフロンホモジナイザーで均質化する。



(3) 差スペクトル

日立製EPS-3T形、自記分光光度計(積分球つき)を使用した。試料側セルおよび標準側セルに、細胞分画の同じ懸濁液(0.1Mリン酸緩衝液pH7.0に懸濁した)を各2cm³入れた。生体色素は空気中の酸素により酸化型になっているので、試料側セル中の細胞内顆粒懸濁液に微量のNAD(P)H液(0.01cm³=10μℓ程度)または固体のNa₂S₂O₄を加えて生体色素(チトクロムなど)を還元する。積分球方式では試料の濃度による影響が少ないから、この程度の処理では基線のずれをほとんど認めない。

この方法により生体色素の酸化型と還元型の吸光度の差が、記録紙上に直読できる。標準の差スペクトルを知っていれば、これからチトクロムを直ちに同定することができる。

4. 結果と考察

(1) 脳ミクロゾーム

脳ミクロゾーム懸濁液のNADH還元型マイナス酸化型差スペクトルを図4に示す。α帯554mμ、β帯525mμ、Soret帯424mμの吸収がみられ、われわれ³⁾⁶⁾が先に報告したようにチトクロムb₅が局在していることを示している。これはウサギ脳の他にウシ³⁾モルモット³⁾、ニワトリ⁶⁾、ガマ⁶⁾、コイ⁶⁾の脳でも同様に証明される。ただし肝ミクロゾームに比べてチトクロムb₅含量はかなり低い(40μμmole/mg protein程度)ので、差スペクトルの検出には極めて濃厚なミクロゾーム懸濁液を使用する必要がある。この点、散乱光の影響を受け難い積分球方式は有利であり、2受光部方式のような基線の傾斜を生じ難いので精度よく吸収帯の波

1. はじめに

細胞内顆粒——ミトコンドリア、ミクロゾーム etc. etc. の生理的機能を研究する手段として、顆粒に含まれる生体色素(各種チトクロムなど)の分光学的解析は最も有力なものの一つであることはよく知られている。しかし、細胞内顆粒の懸濁液は、必然的に混濁試料であるから分光光度計にかけるには何等かの工夫(積分球やオパールガラスを使用する)が必要となる。

また、細胞内顆粒には多くの色素が含まれているのが常であるから、そのうちの特定の色素を分析するには、差スペクトルによらねばならない。すなわち、分光光度計の試料側と標準側に同じ試料——細胞内顆粒懸濁液——を入れ、試料側の色素を特定の方法で還元して、吸収スペクトルの還元型色素と酸化型色素の差(差スペクトル)を測定するわけである。

2. 積分球

積分球はふるくから主に反射スペクトルの測定に使用されて来た。細胞内顆粒への応用としては葉緑体懸濁液の反射率の測定¹⁾が最初のものであろう。最近、日立EPS-3T形自記分光光度計の附属装置として積分球が製品化され、吸収スペクトルの測定にも容易に使用できるようになった。

積分球方式による測定に含まれる誤差の原因としては、完全な球でないことおよび球の内面の白色塗料の反射率が波長によって僅に変化することによる誤差があげられている。しかし、これらの誤差は標準試料を用いることによって容易に補正でき、実際上正しいスペクトルを与えることが示される²⁾。

われわれの経験でも、差スペクトル法において、常にほとんど完全に水平な直線として基線(base line)が得られ、基線のふれによる誤差が全く含まれない。これは積分球方式が、本質的に1受光部であるため、基線のふれを生じない利点を示している。これに対し、受光部に試料を密着させる方式などでは、本質的に2受光部方式を採らねばならないから、受光部間のアンバランスを生じ易い。全波長域に涉って受光部間のバランスをとるのは容易でなく、経年変化による差も生じるし、試料に攪拌散乱があればアンバランスは拡大される——極度に混濁した試料の測定では、試料毎に基線の補正が必要となり、しかも完全に補正できないことは2受光部方式の分光光度計では日常体験されることである。

これらの事情を考慮すれば、積分球は差スペクトルの測定には極めて実際的な方式であると思われる。

3. 実 際

(1) 実験動物、試料調製

ウサギ脳および白血球およびウマ白血球より細胞内顆粒を分離して使用した。各組織はデフロン製ホモジナイザーで均質化し、冷凍遠心機および日立製40P形分離用超遠心機を用いて分画遠心法により、細胞分画を分離した。脳ミクロゾームおよび白血球好中顆粒分画を主として使用した。

図3に脳ミクロゾーム分画の分離法³⁾のダイアグラムを示す。細胞分画法一般については、たとえば文献4を参照。

(2) 試料の純度検定

各分画について酵素活性を測定した(コリンエステラーゼ、NAD(P)H—チトクロムC還元酵素活性、ビタミンK₃依存性NAD(P)H酸化酵素活性など)、測定はワールブルグ検圧計および自記分光光度計によった。

形態学的検定は日立製HU-11形およびHS-7形電子顕微鏡を用いて行なった。各分画の沈査(ペレット)をOsO₄で固定、Eponに包埋⁵⁾、薄切して検鏡した。また一部はリンタングステン酸によるネガティブ染色法により直接検鏡した。

長を決定することができる。

脳ミクロゾームにおけるチトクロムb₅の生理意味としては、イオン輸送の制御に関係していると推測され⁷⁾⁸⁾、神経生理の本質につながる問題と考えている。

(2) 白血球好中顆粒

図5はウマ白血球より分離した好中顆粒分画懸濁液のNa₂S₂O₄還元型マイナス酸化型スペクトルである。これはわれわれ⁹⁾が先に報告したウサギ白血球の好中顆粒分画を、嫌気状態でNADH還元して得たcytochrome B(558,neutrophils)の差スペクトルと同じであり、すなわちウマ白血球にも、このチトクロムが含まれていることを示している。

この分画は電子顕微鏡による観察では、電子線で見える(OsO₄に淡染する)好中顆粒——A顆粒と呼ばれる——より成りcytochrome B(558,neutrophils)はA顆粒に局在する¹⁰⁾と考えられる。このチトクロムは白血球の貪食作用に関係があると思われ、細胞呼吸の生理学に重要な意味をもって来ると考えられる。

5. 結語

細胞懸濁液や細胞顆粒の懸濁液を用いて、差スペクトル法により生体色素を検出する方法は、生理的条件に近い状態で生体物質を検出・定量できるので、従来の生化学と生理学の境界を埋める方法として今後とも有用さを増して行くと思われる。また、細胞

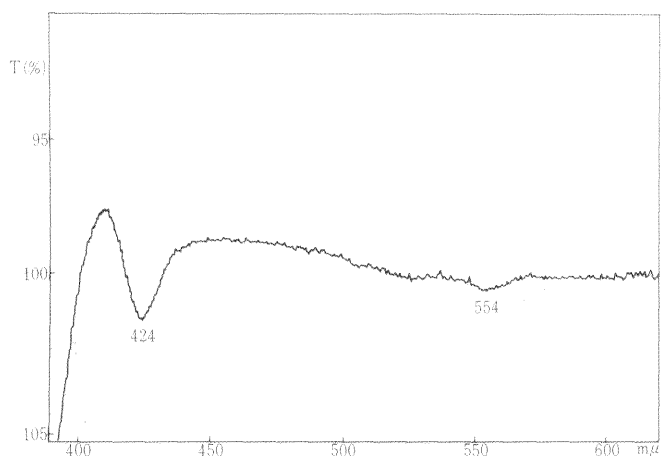


図4

膜や細胞内顆粒の膜の透過性を研究する手段としても有望であると思われる。

積分球は、このような研究にとって有力な武器の一つになると思われる。

文 献

- 1) A. Seybold & A. Wissweiler(1942) Bot. Arch., 43, 252.
- 2) 小森律夫(1966) Scientific Instrument News, 9(5), 4.
- 3) A. Inoue, Y. Shinagawa(1965) J. Neurochemistry, 12, 803.
- 4) 品川嘉也(1964) 超遠心機 in “実験装置ハンドブック”(中垣, 東編) 朝倉書店.
- 5) Y. Shinagawa & Y. Uchida(1961) J. Electron Microscopy, 10, 86, (1962) ibid. 11, 133.
- 6) A. Inoue, Y. Shinagawa & Yasuko Shinagawa(1966) J. Neurochem., 13, 385.
- 7) Y. Shinagawa & A. Inoue(1965) International Congress of Physiological Science, Tokyo.
- 8) 井上 章, 品川嘉也, 島津威雄, 上田基二(1966) 日本生理学会
- 9) Y. Shinagawa, Chikako Tanaka, A. Teraoka & Yasuko Shinagawa(1966) J. Biochem., 59, 622.
- 10) 品川嘉也, 品川泰子, 田中千賀子, 寺岡章雄(1966) J. Electron Microscopy, 15, 81.

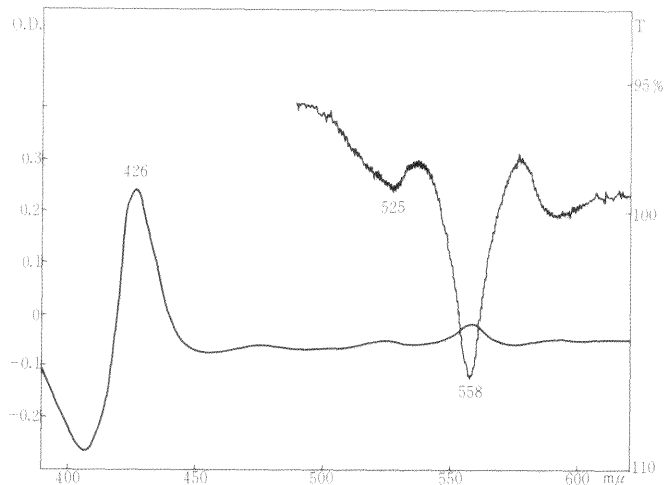


図5

■RSP-2形 日立ラピッドスキャン形分光光度計による還元型ミオグロビンシアン結合物の生成及び分解過程の観察

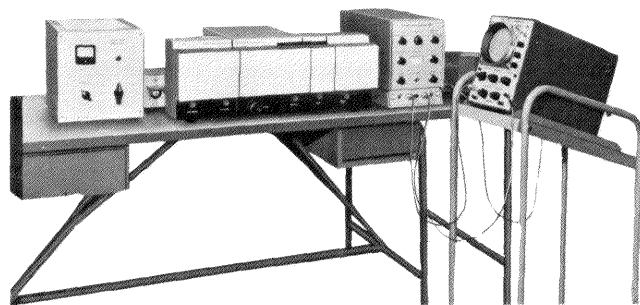
水上 茂樹・原 敏彦*

ヘモグロビンやミオグロビンの中心にはポルフィリン環にかこまれた鉄原子があって、その鉄原子がこれら蛋白質の機能の主役を演じている。これらの蛋白質が酸素と結合するときにはその鉄原子は還元状態(2価)になっていなければならないが、呼吸毒であるシアンは鉄原子が酸化状態(3価)であるときに強く結合することが知られている。

しかし結合性というのは相対的なものであるから、例えばシアンが還元型のヘモグロビンやミオグロビンに結合しないと言い切るよりは、その結合力が非常に弱いと言った方が正しいであろう。

われわれは日立RSP-2形 Rapid scanning spectrophotometerを使って、シアンは酸化型のヘモグロビンやミオグロビンに結合するだけでなく、非常に弱いながらも還元型のそれら蛋白質にも結合しうることを実証した。

ここではミオグロビンとシアンの結合物について観察したところを概説しよう。



用いたミオグロビン標品は馬の心臓から抽出し再結晶を繰り返したものである。

方法と結果

任意のpHの0.2M Tris緩衝液にメトミオグロビンをとかしたものをキュベットに入れ、コンパートメントの中にセットする。ここでメトミオグロビンのスペクトルを観察したのち、終濃度10 mM程度になる量のシアンカリを攪拌棒に付けて、これをメトミオグロビンの入ったキュベットに挿入する。このときスペクトルが急速に変化してシアン結合型のメトミオグロビンが形成されたことが観察される。次にこのシアン結合型メトミオグロビン溶液に強力な還元剤であるハイドロサルファイト・ナトリウム塩を混

*東京大学 医学部 栄養学教室

入する。方法は粉末のハイドロサルファイトを攪拌棒に5mg程度ぬりつけたものを溶液の中に挿入し短時間急激に攪拌するのである。ここで引き続きスペクトルの推移を観察していると、まず還元型チトクロームに似た特徴あるスペクトルが1秒以内に出現し、それが頂点に達するや、次には1分程度の半減期の1次反応に従って次第に還元型ミオグロビンのスペクトルに移行する。

図1はハイドロサルファイト添加後、中間物の生成量が最大に達する3秒までのスペクトル変化を1/5秒毎にメモリーを用いて撮影したものであり、図2は中間物のその後の崩壊をハイドロサルファイト添加時から3、5、10、15、30、60、100秒後に撮影した

ものである。各図の a 及び b はそれぞれ可視部及び近紫外部の変化を示す。

以上の観察によって推定されることは、シアン結合型メトミオグロビンの鉄原子が強く還元され、シアンを離して還元型ミオグロビンになる過程で、鉄原子は還元されているがシアニオンがいまだ解離していない不安定な状態、すなわち還元型ミオグロビン・シアン結合物が過渡的に形成されたことを示している。

またこの中間体の崩壊速度は、緩衝液の種類、PH、温度に依存し、共存するシアンおよびハイドロサルファイトの濃度には依存しない。

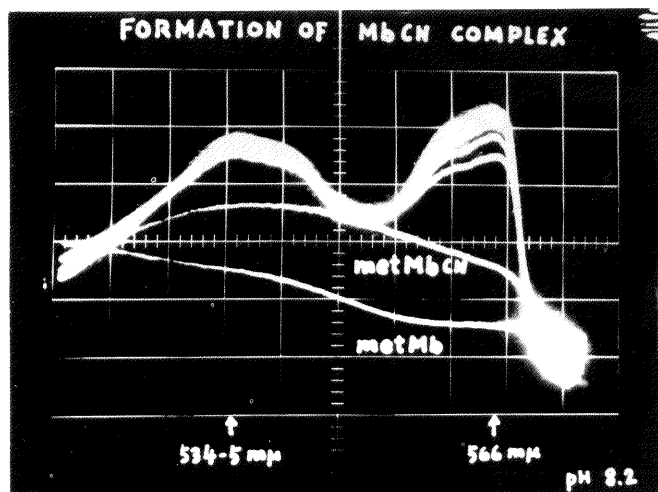


図 1 a

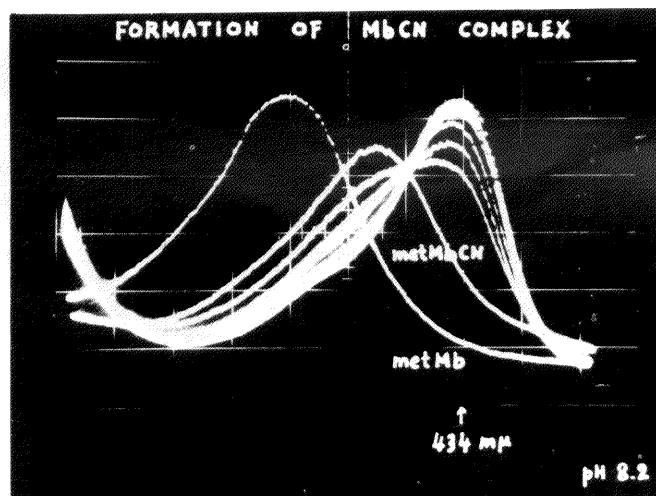


図 1 b

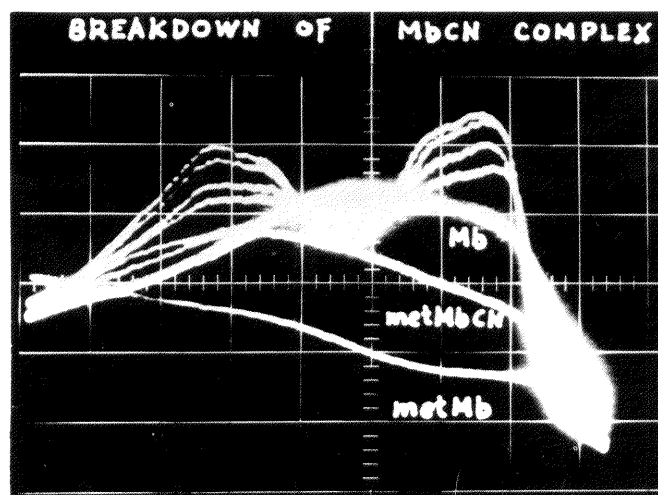


図 2 a

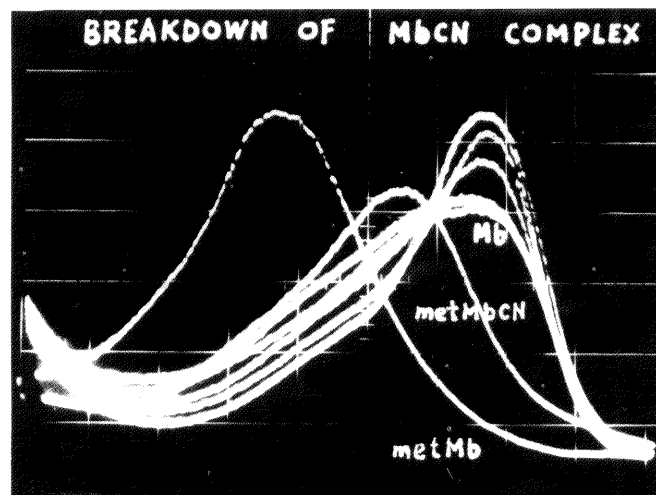


図 2 b

■ 蛍光増白剤を含む紙の白さの測定法について

河田 正*

従来から色は紙の外観特性の中でも非常に関心を持たれた特性の一つである。染料等で着色した紙は別にしても、一般に白いと言はれている紙にも千差万別、あらゆる種類の色があり、その微妙な差をどのように評価するかが重要な問題となることが多い。

更に、最近白さに対する要求が高まると共に、各種の蛍光増白剤の開発が進み、製紙業界にも活用する機会が多くなり、今迄得られなかったような白さを持った紙が製造されるようになった。しかし蛍光増白剤を添加した場合には、今迄の測定法では視覚判定した結果と一致しないので、研究結果の評価、製造条件の管理、製品の検査保証等の各段階に於て、適正な評価の出来る測定方法を要求されている。この要求を満足するために製作された機器に139形日立分光光度計の蛍光反射附属装置がある。この装置で検討したところの結果を報告する。

従来の測定方法

色を評価する場合に、従来から行なわれている最っとも一般的な方法は肉眼による観察である。肉眼による方法は誰にでも又どこでも出来るので、一般に計器と併用することが多いが、実際的には肉眼観察のみで判断することも多い。この場合は蛍光増白剤を添加して白くした試料を評価しても、北側の窓から入る自然光を使うとか、標準白色光源を使用するとか条件さえ考えてやれば大体添加量に応じた順位をつけることが可能である。しかし人によって感じ方が異なり非常に敏感な人もいるが、あまり見分けられない人もあり、年令や好みによって左右されることもある。又、周囲の状況や光源の種類や照度によって異なった評価がされたり、相対的な差には敏感であるが絶対的評価が不可能である等の問題もあり、データの処理が難かしく、研究・管理・検査等の客観的評価が必要な場合には不適当である。

以上のようなことから色を数値化するために各種の計測器が市販されているが、一般には139形日立分光光度計の反射附属装置のように積分球を分光器の後に取り付け反射率曲線を求めて行く方法や、良く似た反射率曲線をもつ白または白に近い紙の場合には、TAPPI T-452mやJIS P-8123に規定されているように、単一波長に於ける白色度又はブライトネスを使うことが多い。こゝに139形分光光度計の反射附属装置を使った結果を示す。

測定した試料は、漂白したバルブに蛍光増白剤を添加した紙料と添加しない紙料を用意して、シートマシンで約100g/m²の紙を手抄したものである。

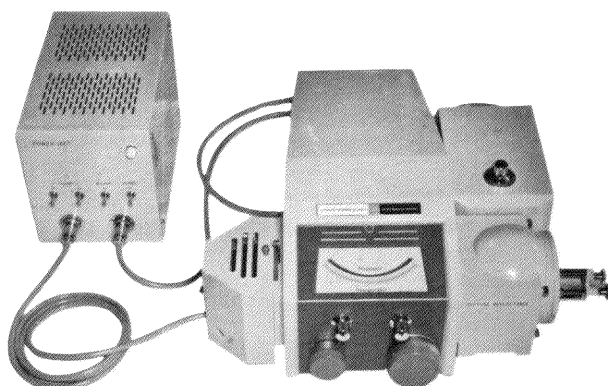


図1 139-0640形反射付属装置付 139形日立分光光度計

この分光光度計は図2に示すような機構を持ち、光源としてはタングステン電球を使用し、受光部には光電子倍增管を用いた。標準板はMgOを用い、試料を5枚重ねて測定した結果が図3に示したものである。この分光反射率曲線で蛍光増白剤を添加してない紙は、各波長でほぼ等しい反射率を示し、短波長側にわずかな低下が見られる程度であり、視覚的に白いと言われている紙の典型的な分光反射率曲線を示している。

一方蛍光増白剤を添加した紙は、430mμより短波長側に吸収が見られるが、それ以上の波長では両者にはほとんど差が認められない。しかし視覚的には400mμ以上でない目に感じない苦であるから、この曲線の比較のみではかえって黄色っぽく見えることになるが、肉眼観察では当然蛍光増白剤を添加した紙の方が白く見え、可視的な評価と分光反射率曲線との結果が一致しない。従って、分光反射率曲線から求められるデータは蛍光増白剤を使用した紙の場合には使用出来ないことになる。

蛍光反射附属装置を用いた場合

一般に蛍光増白剤として市販されているものは、その種類によって中心波長や効率は差はあるが、通常近紫外部の320~380 mμの波長の光を吸収し、420~460mμの青色可視部に蛍光を発する性質をもつものが多い。従って図2に示すような機構であれば、既に分光された光を試料に当て、いるので、紫外部では吸収したエネルギーと発光したエネルギーの差だけ減少した反射率が現われ、可視部には何等差を生じないのは当然である。

この点を改良するためには紫外部も有する光源を用いて試料を照射した後に、反射して出て来る光を分光し、その強度を測定してやれば良いことは自明の理である。この目的のために作られているのが蛍光反射附属装置(図4)でありその機構は図5に示してある通りである。図3で示した試料をこの装置で測定した結果が図6である。この図には比較のために蛍光増白剤の添加量を半分

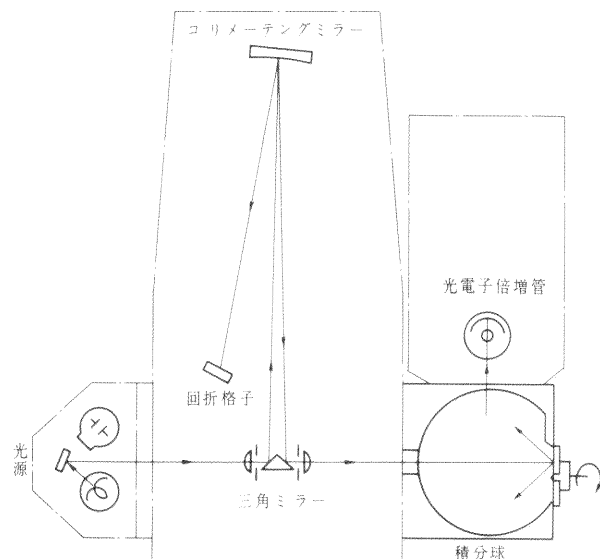


図2

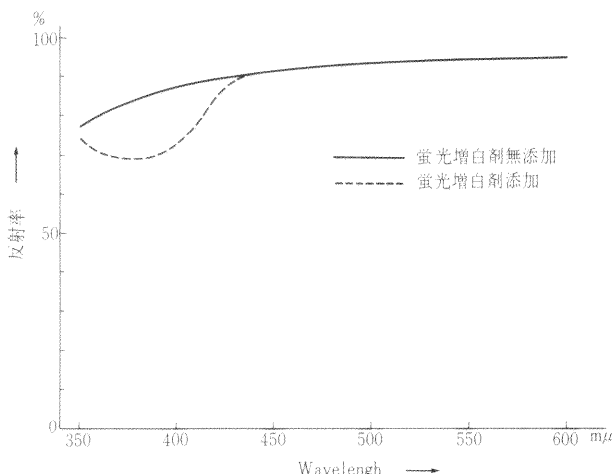


図3

*富士写真フイルム(株) 富士宮工場

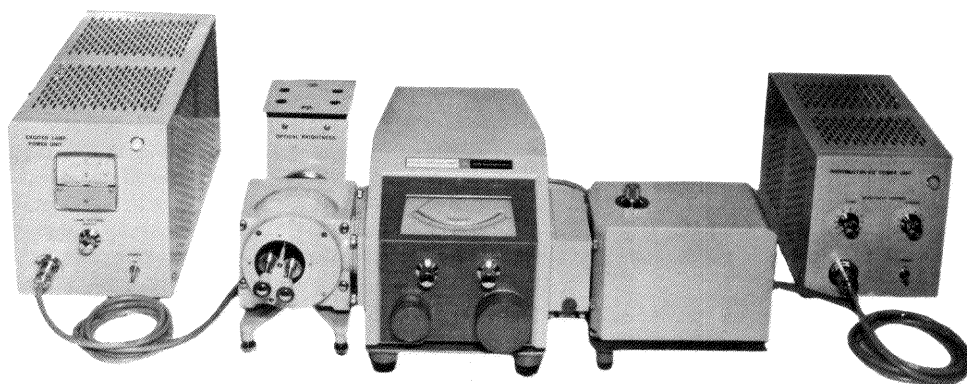


図4 139-0680形 蛍光反射付属装置付 139形日立分光光度計

にしたものも記入してあるが、いずれの場合も紫外部の吸収が更に増大し、 $440\text{m}\mu$ を中心とする附近の反射率が無添加の場合より増加している点を読みとれよう。

私達はこの装置で求めた値を蛍光反射率と呼んでいるが、この値で蛍光増白剤を添加した紙や塗工紙の白さの比較が可能になり、標準状態で肉眼観察した結果とも非常に良く一致していることがわかった。従ってこの装置を用いて、蛍光増白剤の吸収波長、発光波長、白さの評価、添加量の影響等蛍光増白剤の研究に大きく寄与し、更に製造の管理、製品の検査にも十分活用している。

例えば蛍光増白剤の添加量と紙の白さについて検討したものが図7に示してある。図6の蛍光増白剤の最大蛍光反射率は、 $440\text{m}\mu$ 前後であり吸収の最大は $370\text{m}\mu$ 附近なのでこの2点について蛍光増白剤の添加量による変化を示してあるが、いずれの場合も添加量を増加して行くに従って蛍光反射率は一定に近づいていくことがわかる。事実肉眼で観察した場合も段々差が無くなる。このような方法で蛍光増白剤を添加した場合の限界を知ることが可能である。

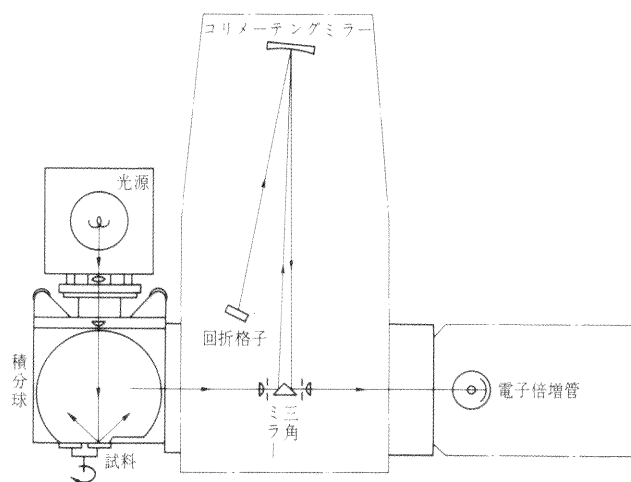


図5

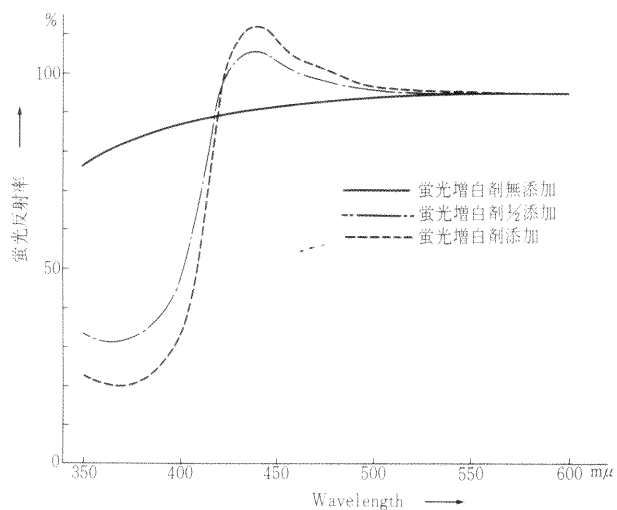


図6

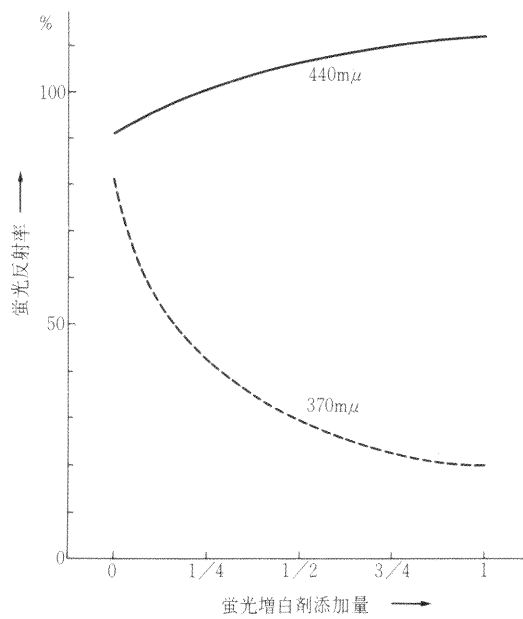
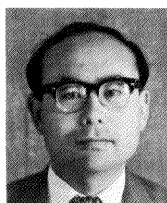


図7

■ G-3形日立分光光度計用分光蛍光付属装置を用いた 蛍光励起偏光度 スペクトロメーターの製作

鈴木 哲*

遷移エネルギーの大きさ、遷移確率の大きさ、遷移モーメントの方向は電子遷移の性質を規定する三つの重要な量である。前二者は普通に市販されている分光光度計を用いて測定可能であるが遷移モーメントの方向に関する知見をうるには特別な測定装置が必要となる。遷移モーメントに関する知識は電子スペクトルを解明する上で不可欠であるにもかかわらずその測定が一般化していないのは測定装置が普及していなかったことが原因となっていると考えられる。遷移モーメントについての知見をうるためには結晶あるいはPVA引伸膜の偏光吸収スペクトル、強電場における蛍光偏光スペクトル、Photoselectionなどの方法が考えられている。筆者はPhotoselectionの方法にもとづく蛍光励起偏光度スペクトロメーターを試作した。測定方式、報告されている測定装置およびこの方法を用いた研究例などについては文献¹⁻⁴⁾を参照していただきたい。



1. 測定装置の構成

装置のブロックダイアグラムを図1に示した。150Wキセノンランプから発した光は日立G-3形モノクロメーターM1により分光され必要な単色光が取り出される。レンズL1を通った単色光はグラントムソンプリズムPにより垂直方向に電場の振動面をもつ直線偏光に偏光されたのちレンズL2により試料セルCに集光される。プリズムPは後に述べる補正のために光軸のまわりに90°回転しうようになっている。試料から発した蛍光は検光子(グラントムソンプリズム)を通してモノクロメーターM2(日立EPU-2A用分光器)に入射する。蛍光の励起光に対して平行な成分と垂直な偏光成分の強度を測定するために、検光子Aは垂直および水平位置に回転できるようにしてある。M2で分光された光は光電子増倍管(目的により浜松テレビR-106, R-136を使いわけ)で検出され、マイクロマイクロアンメーターにより読みとるか、または記録計に記録させる。試料は多くの場合液体窒素温度に冷却した固溶体を用いる。測定用セルは全ガラスDewar型の吸収・蛍光両用セルを用いる。

2. 測定操作

a. 試料

蛍光の偏りが測定できるためには蛍光の寿命の間分子が回転しないという条件が不可欠である。そのために試料には特別な工夫を必要とする。

もっとも多く用いられるものに有機溶媒を液体窒素温度に冷却してえられる固溶体がある。透明な歪の少ない固溶体を生成する溶媒は非常に限られるので溶媒の選定には注意が必要である。その他室温付近ではグリセリンのような高粘度溶媒やメチルメタクリレート樹脂などが有用である。

b. 測定法

(1) 蛍光励起偏光度スペクトルの測定

モノクロメーターM2の波長は問題とする化合物の蛍光スベ

クトル中の希望する波長にセットする。スリット巾は蛍光強度とにらみ合わせながらなるべく狭くなるように選ぶ。次にPを電場の振動面が垂直になる位置(Vで表わす)にセットする。M1のスリット巾は装置の感度が許すかぎり狭く選ぶ。とくに吸収スペクトルにシャープな振動構造をもつものではその構造の半値巾と比較して十分狭いことがのぞましい。感度が不足する場合にはM2のスリット巾をひろげる。M1を吸収帯の一つの波長に固定し検光子の二つの位置——励起光の偏光と平行な偏光を透過させる位置とこれに対して直角な位置、それぞれI_{||}およびI_⊥で表わす——に対応した光の強度I_{||}およびI_⊥をマイクロマイクロアンメーターで測定する。偏光度はのちに述べる補正を考慮して(1)式から計算される。M1の波長を変化させて同様の測定を行うと蛍光励起偏光度スペクトルが求められる。試作した装置ではM1の波長軸にポテンションメーターがとりつけてあるので信号をX-Yレコーダーに記録させ、のちに偏光度を計算するようになって

(2) 蛍光偏光度スペクトル

蛍光偏光度スペクトルは(1)とは逆に励起モノクロメーターM1の波長をある位置に固定し、M2の波長を変化させて蛍光スペクトル内での偏光度スペクトルとして求める。この場合にはまずM2のスリット巾を蛍光スペクトルの振動構造とにらみ合わせて十分狭くすることが必要である。

(3) 補正

偏光度は種々の原因によって真の値からの偏差を生ずるので、正しい値を求めるためには補正が必要である。H励起の場合には直角方向から蛍光を観測する場合蛍光の偏りが存在しない(くわしくは文献を参照していただきたい)。もし偏りが観測される場合にはそれは装置に起因する偏りのはずである。従ってその装置は常にこれだけの偏りを生ずるものとして補正を行うことができる。このようにし偏光度Pは

$$P = \frac{1 - \left(\frac{I_{\perp}}{I_{||}} \right) v \left(\frac{I_{||}}{I_{\perp}} \right)_{H}}{1 + \left(\frac{I_{\perp}}{I_{||}} \right) v \left(\frac{I_{||}}{I_{\perp}} \right)_{H}}$$

として求められる。こゝでHおよびVは励起光の電場の振動面が水平および垂直位置を表わす。この他(1)式で求める代りに検光子のあとに補償子を入れてH励起の出力がI_{||} = I_⊥となる様に補償子を調整すればV励起の強度比から直ちにPを求めることができる。

3. 測定例

ローダミンBのグリセリン溶液における励起偏光度スペクトルの測定結果を図2に示した。この化合物については過去に多くの励起偏光度スペクトルが測定されているが、図2の結果はそれらとよく一致する。

文献

- 1) F. Dörr and M. Held, *Angew. Chem.* **72**, 287 (1960)
- 2) A. C. Albrecht, *J. Mol. Spectry.* **6**, 84 (1961)
- 3) F. Dörr, *Angew. Chem.* **78**, 457 (1966)
- 4) 鈴木 哲 応電研彙報 19, (1967)投稿中

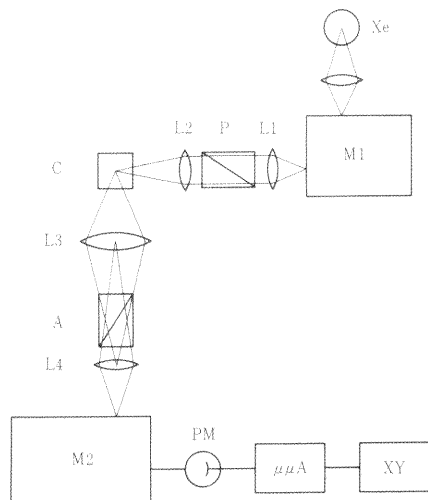


図1 装置の構成

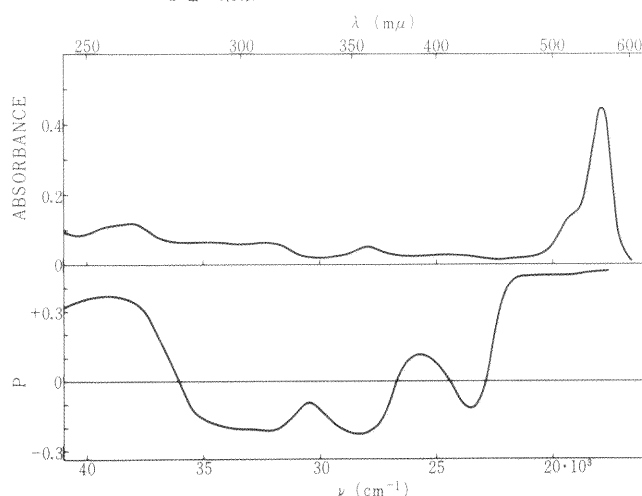


図2 ローダミンBのグリセリン溶液における吸収および励起偏光度スペクトル

■ 原子吸光光度法によるCr—Ni—Mo鋼中の銅、クロム、マンガン、ニッケルの分析

大津 修* 須藤健吾**

鉄鋼中の成分分析で広く行なわれている方法は比色分析である。

比色分析では各成分毎にサンプリングして溶解、試薬添加する。場合によっては溶解後濾過や加熱操作を入れ発色・測定という手法を行なわなければならない。このようにして発色した溶液も発色自体が必ずしも安定なものばかりとは限らない。

原子吸光分析法では1回のサンプリングで試料溶液を調製しておけば、あとはただ単に試料溶液を適当に希釈し、光源ランプを交換するだけで数成分の分析が可能である。

日立 207 原子吸光分光光度計は特に日常分析に役立つように機能性を高め、精度も良く、且つ低価格に重点をおき設計されている。

このことは、多忙を極める管理分析室における分析操作を半減すると考えられる。

そこで 207 形日立原子吸光分光光度計で NBS Cr—Ni—Mo 鋼中の Cu, Cr, Mn, Ni を分析したのでその結果を報告する。

装置 日立207形原子吸光分光光度計
試薬 和光純薬 特級
操作

1. 試料 1.00g をビーカー 100ml にはかりとり過塩素酸 20ml を加えて加熱する。
2. 水約 20ml を加えて静かに 2 分間加熱する。冷却後メスフラスコ 100ml に移し入れ標線まで水を加えてうすめる。これを試料溶液とする。
- a) Cu の定量
100ml メスフラスコ 3 本に試料溶液 10ml ずつ分取する。これに Cu 標準液 (100ppm) 0, 2, 4, ml を加え水で標線までうすめる。波長 3247 Å で各液による吸収強度を読みとる。
- b) Ni の定量
100ml メスフラスコ 3 本に試料溶液 10ml ずつ分取する。これに Ni 標準液 (100ppm) 0, 3, 5, ml を加え、水で標線までうすめる。波長 2320 Å で各液による吸収強度を読みとる。
- c) Cr の定量
100ml メスフラスコ 3 本に試料溶液 10ml を分取する。これに Cr 標準液 (100ppm) 0, 4, 0, 8, 0, ml を加え水で標線までうすめる。波長 424 Å で各溶液による吸収強度を読みとる。
- d) Mn の定量
100ml メスフラスコ 3 本に試料溶液 2 ml を分取する。これに Mn 標準液 (100ppm) 0, 1, 2, ml を加え水で標線までうすめる。波長 2795 Å で各溶液による吸収強度を読みとる。

結果と考察

図 2 ～ 5 に定量操作 a) ～ b) に従って調整した試料溶液の測定結果を示す。標準添加法の場合は各溶液を噴霧させた時の吸光度をプロットし、これらの点を結んだ延長線が基線と交わった点を定量値とする。この値から求めた NBS Cr—Ni—Mo 鋼 139A 中の Cr, Cu, Mn, Ni の定量値と NBS 表示値を表 1 に示す。

表 1 NBS Ni—Cr—Mo 鋼 139A 定量結果

元素	NBS 表示値 (%)	AA 定量値 (%)	差
Cu	0.096	0.095	-0.001 %
Ni	0.510	0.515	+0.005 %
Cr	0.486	0.49	+0.004 %
Mn	0.780	0.775	-0.005 %
C	0.404	—	—
Mo	0.183	—	—
P	0.013	—	—

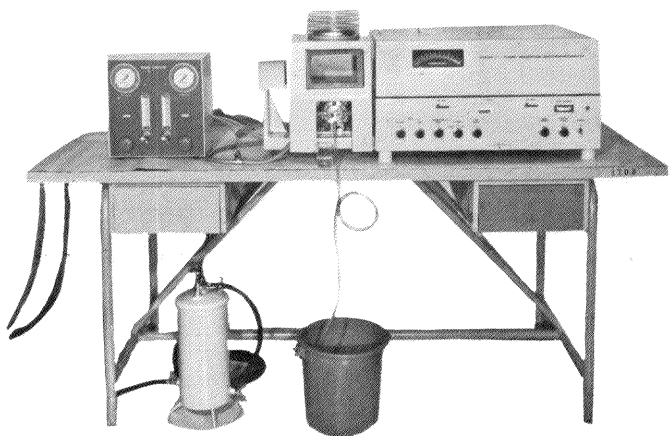


図 1 207 形 日立原子吸光分光光度計

表から判るように標準添加法により 207 で測定した場合、その定量値は NBS 表示値と極めてよく一致するといえる。NBS 表示値と AA 法による定量値の差は他の分析法で分析した場合のバラツキの範囲内に入っている。

又、定量操作 a) ～ d) でわかるように試料は一回のサンプリングで、標準試料を加え単に水でうすめるだけで多成分が分析できるから、迅速に分析することができる。

比色分析法と原子吸光分析法との分析所要時間を下表のように比較してみた。

表からわかるように Cu, Ni, Cr, Mn の 4 成分を分析するのに要す

表 2 比色分析

	試料はかりとり 溶 解 時 間	分 取 希 釈 試 薬 添 加 等	測定計算	計
Cr	8 ～ 10	29 ～ 41	2 ～ 3	39 ～ 54
Ni	5 ～ 7	22 ～ 38	2 ～ 3	29 ～ 48
Mn	3 ～ 5	14 ～ 19	2 ～ 3	19 ～ 27
Cu	3 ～ 6	8 ～ 12	2 ～ 3	13 ～ 21
四成分分析所要時間				100 ～ 150
四成分分析所要時間 平均値				平均 125

表 3 原子吸光分析 (標準添加法)

	はかりとり 溶 解 時 間	分取希釈標準液 添 加 等	測定計算	計
Cr	8 ～ 10	3 ～ 5	2 ～ 3	13 ～ 18
Ni	同上でとかした 試料を使用する ため不要とみな す	3 ～ 5	2 ～ 3	5 ～ 8
Mn		3 ～ 5	2 ～ 3	5 ～ 8
Cu		3 ～ 5	2 ～ 3	5 ～ 8
四成分分析所要時間				28 ～ 42
四成分分析所要時間 平均値				35

る平均所要時間は比色法の125分に対して原子吸光法では、35分で約1/4の時間で分析できる。

この他原子吸光法では試薬中の不純物が混入する機会がないことと発色条件やその他の煩わしい条件が無視できるという利点がある。

ある。

これらのことから、鉄鋼中の成分分析は非鉄金属中の成分分析、その他の分野に於ける微量金属の成分分析に日立 207 形原子吸光分光光度計は今後威力を発揮するものと考えられる。

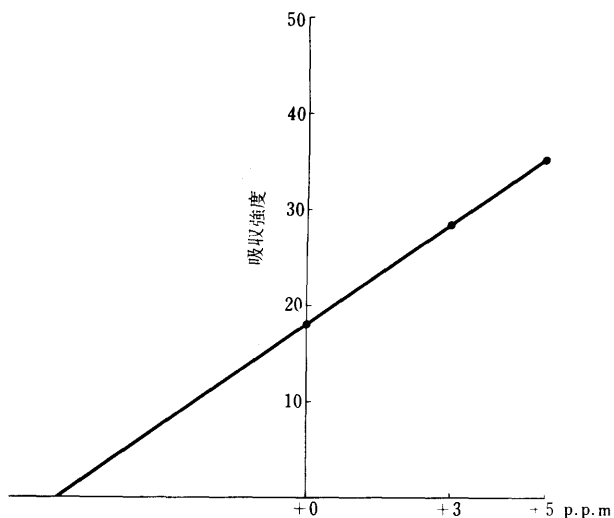


図2 Niの検量線

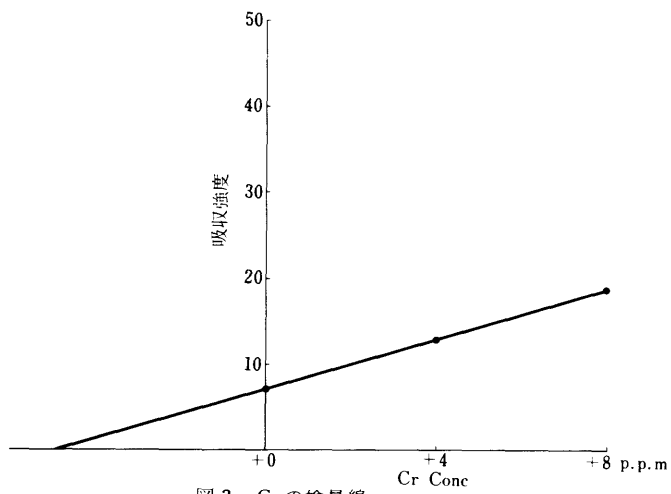


図3 Crの検量線

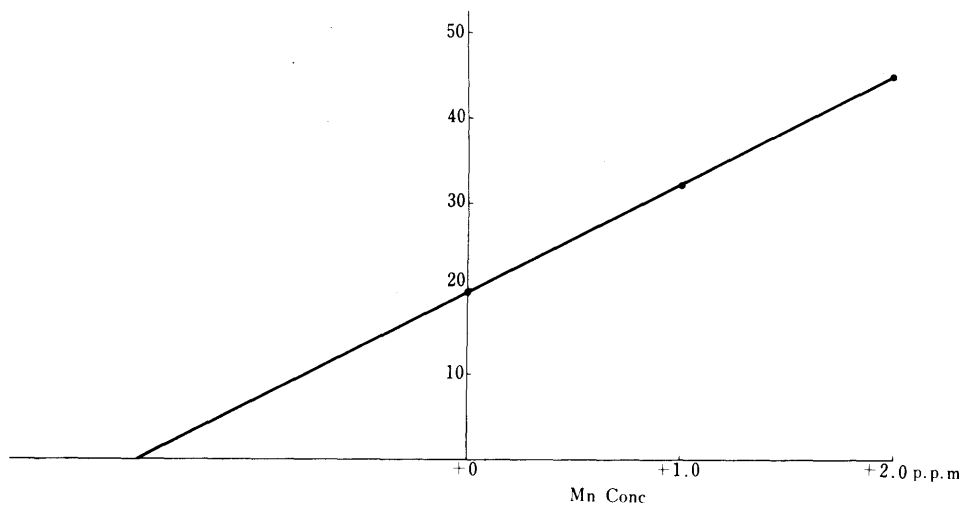


図4 Mnの検量線

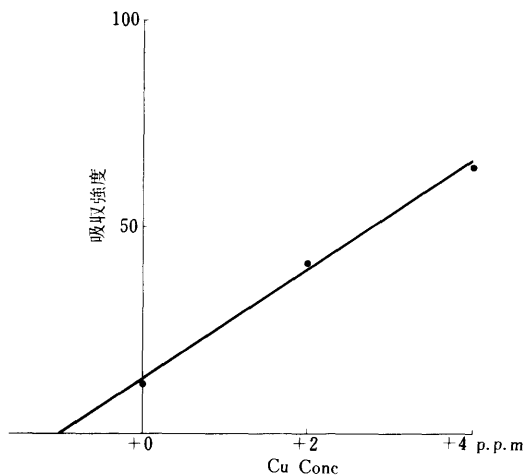


図5 Cuの検量線

■ 115形日立分子量測定装置によるテロマー(分子量分布を有する試料)の

分子量測定

増尾富士雄* 草賀 淳**



オリゴマー、或いはテロマーが低重合体として、ポリマーとは異なった性質を有することから、近年その有用性が認められ、数多くの研究がなされるようになって来た。これらの特徴は、何れも生長反応を何らかの方法によって作為的に停止せしめるものであって、その為には連鎖移動剤が用いられることが多い。中でもテロマーにおいては、過剰の連鎖移動剤を用いることによって、その移動剤分子が生成物の両端に分れ、その間にモノマーをはさんだ形になり、生成物の両末端の構造が明確な点に特徴がある。この反応の一般式は次のように書くことができる。



この場合の連鎖移動剤1分子当りのモノマーの数、即ちnは通常1~20程度までで、余り高重合体は得られない。しかし乍らこれらのテロマーが、ポリマー、オリゴマー等と同じように、ある分子量分布をもった混合物であることには変りがない。

従来、高分子の分子量分布測定法としては、クロマト法、ゲル分別法、分別沈澱法などが用いられているが、分子量が高々500~10,000程度のテロマーについては、同様な方法によっては、分別も分子量測定も困難である。特にこれらテロマーの分子量測定にあたっては、通常ポリマーに用いられる粘度法、浸透圧法等、又低分子量物の測定法として用いられる氷点降下法、沸点上昇法等何れも使用に限界があり、両者の中間の分子量を有するものの分子量測定には非常に困難があった。最近になって蒸気圧法による分子量測定が装置的にも可能になり、数種のものが市販されるようになって、これら中間領域の分子量を有するものについての研究は急速に進歩して来た。

蒸気圧法による分子量測定の原理は、かなり古くから知られていたものであるが、これまで、僅かの蒸気圧変化に伴う微小温度差を正確鋭敏に検出することが困難であったために、その装置開発が遅れていたものであるが、最近、優れたサーミスターの開発によってこの原理の実用化が可能になり、我が国でも1966年に日立製作所から115形分子量測定装置として市販された。

我々は、各種テロマーの分子量分布測定を目的として、これらテロマーの分子蒸溜法、及び液体クロマト法による分別を試み、得られた各テロマーの分子量測定に上記の分子量測定装置の応用についていくつかの実験を行なってきたので、その中から2,3の例を紹介したい。

氷点降下法による数平均分子量の測定

氷点降下法は、かなり精度の高い数平均分子量の測定法として

iPrOH-VAC系テロマーの分別

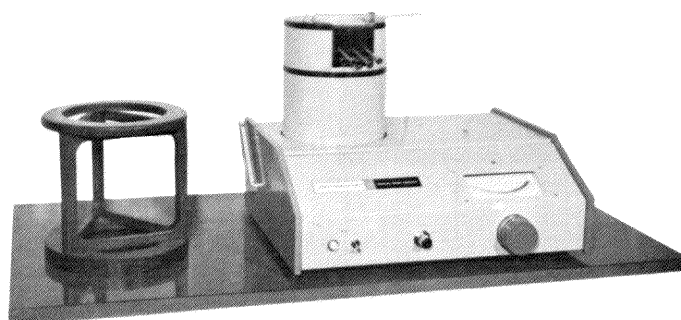
表1 分別試料=39.0gr 回収量=35.5gr

	I	II	III	IV	V	VI
分別条件	59.5~65.0℃ 2.5mmHg	120℃ 10 ⁻³ mm	130℃ 10 ⁻³ mm	140℃ 10 ⁻³ mm	160℃ 10 ⁻³ mm	残 査
区分重量 (gr)	7.1	10.6	4.6	3.3	1.3	8.9
分子量	134	230	269	334	374	719

未分別試料の分子量=246

$$M_n = \sum NiMi / \sum Ni = 252 \quad M_w = \sum NiMi^2 / \sum NiMi = 352$$

$$M_w / M_n = 1.4$$



知られているが、蒸気圧法の精度との比較のために、分子蒸溜によって分別したテロマーの、分別前の数平均分子量と分別後の各溜分の重量とそれぞれの分子量とから計算によって求めた実測数平均分子量とは良く一致することを確認した。その結果は表1、表2に示した。

115形分子量測定装置による数平均分子量の測定

先きの場合と同様に、分子蒸溜によって分別したテロマーの分子量を115形分子量測定装置によって測定した結果は表3の通りであるが、分別後の回収率の良いものについては分別後の数平均分子量と分別前の平均分子量とは良く一致しており、この装置は、この程度の分子量の異なったものの混合物についても、正確にその数平均分子量の測定が可能であることを示している。

複雑な分子量分布を持つテロマーの分子量測定

n-ブタノール-スチレン-無水マレイン酸からなる共テロマーで、高範囲の分子量分布を持ち、かつ分子量の非常に異なる生成物の混合物(Mn:300~5000)の液体クロマトグラフ法による分別、及び115形分子量測定装置によるそれらの分子量測定を行なった結果が表4であるが、このようにならかなり広範囲の複雑な分子量分布を持ち、かつかなり高い分子量(Mn:5,000)のものまで含まれる系についても、比較的良い精度で数平均分子量の得られることが判る。尚、表4において混合物の分子量と分別後の数平均分子量の計算値にや、違いのあるものは、分別の精度、特に操作時における試料の損失によるものと思われる。

まとめ

上記の他に、我々は数多くのテロマーについて分子量測定を行なって来たが、115形分子量測定装置は、氷点降下法と同程度の精度を持った数平均分子量の測定装置であり、氷点降下法によっては測定困難な比較的高分子量(10,000~)のもの測定もかなりの精度で可能である。又、かなり分子量の異なった化合物の多種混合物であっても、正確な数平均分子量を測定できると考えられる。

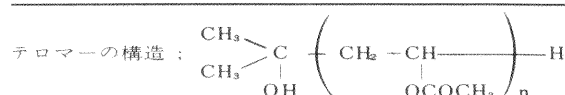
本装置は、測定が短時間でできること、再現性のあること、個人差のないことなど、いくつかの優れた点を持っているが、準備時間の短縮、内部洗浄を簡単にできるようにすることなど2,3の改良余地もあると考える。

表2 分別試料=68.7gr 回収量=67.4gr

	I	II	III	IV	V	VI	VII
分別条件	83.5℃ 7mm	120℃ 10 ⁻³ mm	130℃ 10 ⁻³ mm	140℃ 10 ⁻³ mm	160℃ 10 ⁻³ mm	180℃ 10 ⁻³ mm	残 査
区分重量 (gr)	7.7	14.4	7.2	3.9	4.2	3.2	26.8
分子量	145	257	279	332	410	518	965

未分別試料の分子量=370

$$M_n = 353 \quad M_w = 555 \quad M_w / M_n = 1.6$$



* 分子量測定は氷点降下法による

* 京都工芸繊維大学 工芸学部長
** ニチパン (株)

表3 i-PrOH-VAc系テロマーの分別
分子量測定：日立115形分子量測定装置

実験番号	分別前の 分子量	分別試料 gr	分別収量 gr	各溜分の 分子量	数平均分子量 (計算値)
1	395	80	32.6	239	402
			45.8	797	
			計78.4gr		
2	541	100	37.0	300	540
			58.0	1,103	
			計95.0gr		
3	493	100	47.8	314	497
			50.2	1,113	
			計98.0gr		
4	721	80	16.0	286	723
			59.8	1,227	
			計75.8gr		
5	832	110.6	24.6	293	781
			76.5	1,680	
			計101.1gr		

蒸溜条件：180°C/10⁻³ mmHg 分子蒸溜

表4 n-BuOH-Sty-MAnh Cotelomer
のクロマトグラフィーによる分別
分子量測定：日立115形分子量測定装置

実験番号	分別前の 分子量	分別試料 gr	分別収量 gr	各溜分の 分子量	数平均分子量 (計算値)
1	185	10	7.0	207	202
			1.8	188	
			0.4	178	
2	216	5	計9.2gr		222
			0.3	426	
			2.1	247	
3	274	3	2.5	194	311
			計4.9gr		
			1.5	374	
4	817	5	0.8	285	791
			0.4	231	
			0.1	220	
5	630	4	計2.8gr		652
			1.8	5,210	
			0.9	4,850	
6	817	5	1.4	301	791
			計4.1gr		
			0.1	1,578	
7	630	4	0.1	3,643	652
			1.8	630	
			1.3	615	
8	817	5	計3.3gr		791
			1.4	301	
			0.9	4,850	

条件 カラム 25mmφ×500mm
 カラム充填剤 シリカゲル 200 mesh
 溶 媒 CCl₄-アセトン
 流 速 10cc/Hr

THE HITACHI Scientific Instrument News Vol.10 No. 3

昭和42年 5月20日印刷

非 売 品

編集人 藤 森 慶 一

発行所 株式会社 日立製作所

昭和42年 6月1日発行

年6回毎偶数月発行

発行人 白 川 義 雄

印刷所 株式会社 日立印刷所