

THE HITACHI

Scientific Instrument

NEWS

April. 1964 Vol. 7 No. 2

目 次

- | | | |
|-----------------------------|----------------|---|
| 1. 超遠心分析装置用紫外吸収自記装置 | 垣内欣二・鵜沼伸充・山崎義一 | 1 |
| 2. HR-11 形 反射電子顕微鏡用低速電子銃の開発 | 木村 力 | 3 |
| 3. ガスクロマトグラフによるステロイドの分析 | 打木英夫 | 4 |

超遠心分析装置用紫外吸収自記装置

*垣内欣二・**鵜沼伸充・**山崎義一



分析用超遠心機は1923年 Suedbeg などによってはじめて製作されて以来今日では蛋白質、核酸などの天然高分子をはじめ、広く合成高分子などの溶液物性（特に分子量、分子量分布および分子の形など）の研究には欠くことのできないものである。

現在測定に用いられる光学系としてシュリーレン法、干渉縞法および紫外外部吸収法の3つの方法がある。最近紫外外部吸収法による測定が非常に多くなり、吸収法の測定部の改良に努力がはられてきた。その理由は一口にいえば溶液の濃度が非常に低い条件で測定ができるということである。

シュリーレン法および干渉縞法によって測定し得る溶液の濃度は1.0%から0.1%までである。したがってそのような高い濃度が得られにくい試料の場合でも紫外吸収法では正確に測定できるわけである。さらに一層重要なことは測定される溶質分子の沈降定数 S はたとえその溶液が均一であっても溶質分子の相互作用などのために濃度依存性があるため濃度が高くなるとともに減少することがある。このことから溶質の真の沈降定数を求めるにはそれぞれ異なった濃度で測定された沈降定数を濃度0に外挿して求めなければならない。紫外外部吸収法の測定によれば最小限0.001%の濃度まで測定可能であるため希薄溶液について1回の測定を行なうだけで真の沈降定数に近い値を求めることができる。このような希薄溶液で測定を行えば、溶質分子の相互作用が小さく理想溶液に近い状態が測定できるので今後ますます紫外外部吸収法が用い

られると思われる。

紫外外部吸収法は現在スピスコE型分析用超遠心機に付属品として市販されている。これは一度写真に取って現象したのち初めてその変化を知ることができる。そのことは測定中の細かい変化が全然わからずまたその変化に応じた必要な手段がすぐ行ない得ない欠点をもつ。このため最近アメリカで自記装置が学会に発表されたが日立製作所でも独自に開発された。その構造とそれを用いて行なった測定結果についてその一部を紹介する。

第1図はその光学系統図である。光源には紫外域から近赤外域にわたって分光エネルギー分布が強力な連続スペクトルからなるキセノンランプを用いてある。コリメーティングレンズにて平行になった光線はセルを通過後、集光レンズAによってスキャンニングスリット上にセルの像を結ぶように配置されており、この像をスリットによって走査することにより、セルの各位置における透過光を逐次検知器ホトマルの受光面に射出する。集光レンズBによって、ホトマルの受光面には射出孔の像を結像するよう配置されているため、スキャンニングスリットが移動しても受光面の光点が移動することなく、受光感度ローカリティの影響が除かれている。

一般の分光光度計と異なる大きな点は光源としてキセノンランプを用い、 Cl_2 (Gas), Br_2 (Vapour) の2個のフィルターにコーニングフィルターを加えて230 m μ から290 m μ までの波長の光を使用する。(第2図)(最大光度波長 260 m μ)

第3図は紫外外部吸収法とシュリーレン法によって得られたもの

* 大阪大学蛋白質研究所

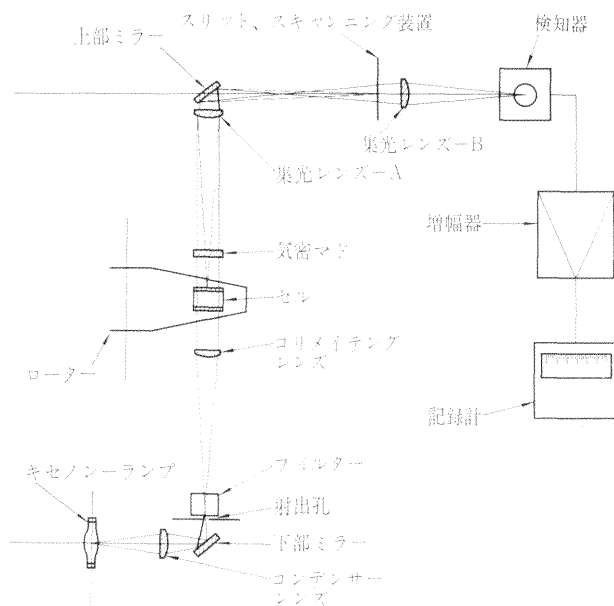
** 日立製作所那珂工場

である。試料はタカアミラーゼの 0.1M NaCl 水溶液で濃度は両者の方法で測定可能ならしめるため 0.077% で行なった。両者の結果から計算された沈降定数はいずれも 4.4 S で紫外吸収法でも非常に正確に求められた。

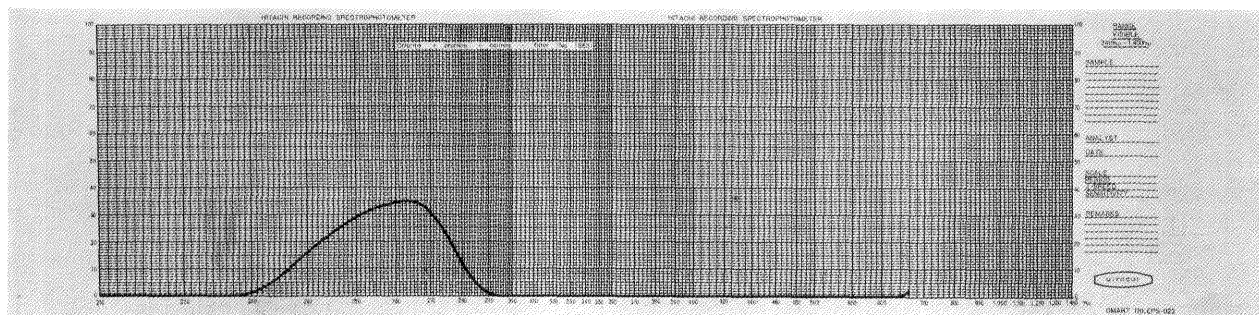
なおこの方法による測定のさいの注意として波長が $230\text{ m}\mu\sim 290\text{ m}\mu$ の光であるためセルを組み立てる窓ガラスは石英窓にする必要がある。また溶質分子がこの波長領域で吸収のあるものでなければならないし当然のことであるが溶媒がこの波長領域で吸収のあるものは使用することはできない。(例えばベンゼン)

参考文献

“Ultracentrifugal Studies with Absorption Optics I, II.”
H. K. Schachman, et al, Arch. Biochem. Biophys., **99** 157-190 (1962)



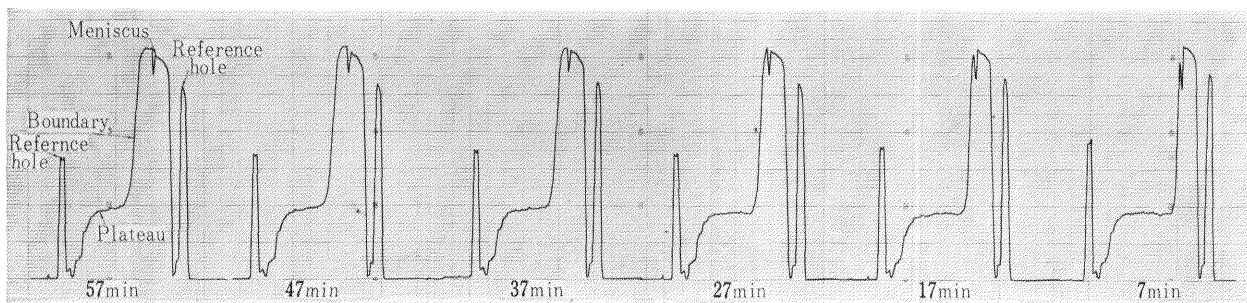
第1図



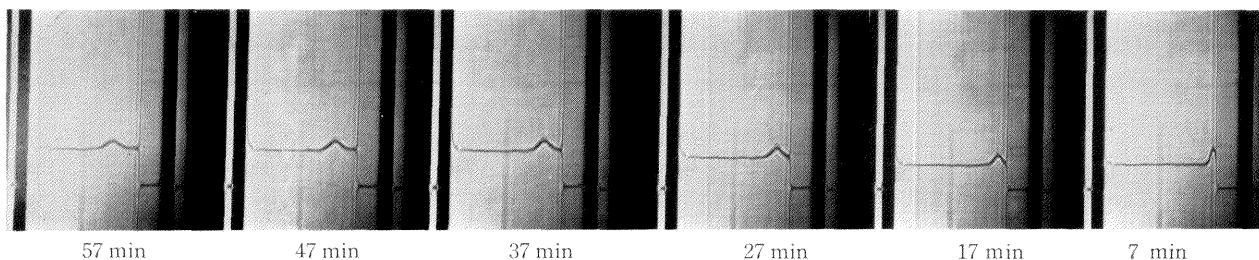
第2図 フィルター特性

第3図の説明

タカアミラーゼAの沈降図形
(I) 紫外吸収自記記録図形
(II) シュリーレン図形 (angl, $70^\circ\sim 60^\circ$) (日立 phase plate 使用)
蛋白濃度 0.077% 0.1M NaCl 水溶液 温度 17.0°C
回転数 53,700 rpm 図形に付記した分数は最高回転に達した後の時間、沈降方向は右から左である。



第3図 (I) 紫外吸収法



第3図 (II) シュリーレン法

HR-11 形 反射電子顕微鏡用低速電子銃の開発

*木 村 力

反射電子顕微鏡像での観察、撮影は主として金属など導体の試料が対象とされていたが最近ではセラミックなどの絶縁物やシリコン、ゲルマニウムなどの半導体の研究が盛んとなり、これらを反射電子顕微鏡像として観察、撮影する要求が多くなってきた。しかし電気的な絶縁物や半導体は電子線の照射によって試料表面が電子によって帯電し、その影響で像が乱れ正確な反射像が得られない。したがってこれらの試料の正確な反射像を得るには低速度の電子線を照射して表面電荷を取り除く低速電子銃が必要となる。

従来、電子回折用としては SG-A 形低速電子銃が製作されており、電子回折装置と併用してその効果をあげている。しかるに反射電子顕微鏡の場合には、試料室が特殊な構造であるため電子流を試料へ到達させることが不可能に近かった。その上反射電子顕微鏡では試料を肉眼で観察しながら操作するための視窓が必要であること、対物レンズの極く近傍に試料がある為に交流加速電圧では低速電子銃からの電子流そのものによる像障害も無視することはできないなど構造上の問題がある。

今回、使用者からの要望に応じて試料の極く近傍に取り付けられるような超小形低速電子銃を開発し、HR-SG 形低速電子銃と名付けて発売することにした。以下その大要を述べる。

本装置、HR-SG 形低速電子銃はコイル型フィラメントを採用し、従来のヘアーピン型フィラメントの短寿命の問題を取り除くと同時に極端に電子銃を小型化することによって構造的な問題を解決した。さらに固定直流加速電圧方式を採用して像障害を避けると同時に操作の簡易化を図り、HR-11 形反射電子顕微鏡

用低速電子銃として開発したものである。なお本装置は回折試料室に装着することも可能であり、電子回折用低速電子銃として使用できる。第1図はその外観写真である。

1. 装置の説明

本装置は電子銃本体部および電源操作箱から構成されている。

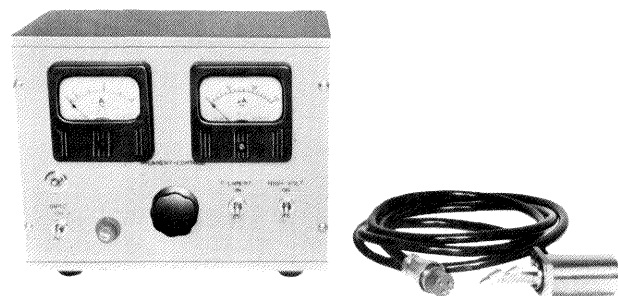
1) 電子銃本体部 (第2図)

電子銃、視窓部、電源接続コードから成っている。電子銃は電子遮蔽筒を持ったコイル型フィラメント、アノード、ターミナルフィラメント台を1体に組み立てられており、反射試料面上への電子線の照射状況が観察できる視窓を備えたボデーに支持金具で取り付けられている。電子銃は上下に自由に角度を変えることができる。電源への接続は真空を保つためのハーメチックシール端子を備えた特殊コネクターを通してコードに接続されている。加速電圧の(−)側はフィラメントに、(+)側は電子顕微鏡本体に接続されている。

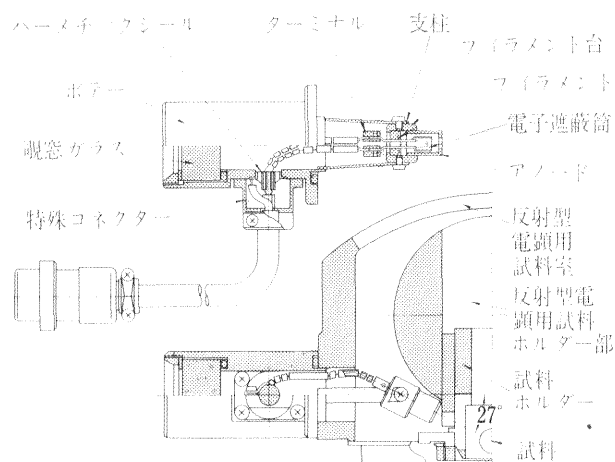
2) 電源操作箱の回路図 (第3図)

電源回路はフィラメント交流加熱回路および直流加速電圧回路から構成されている。

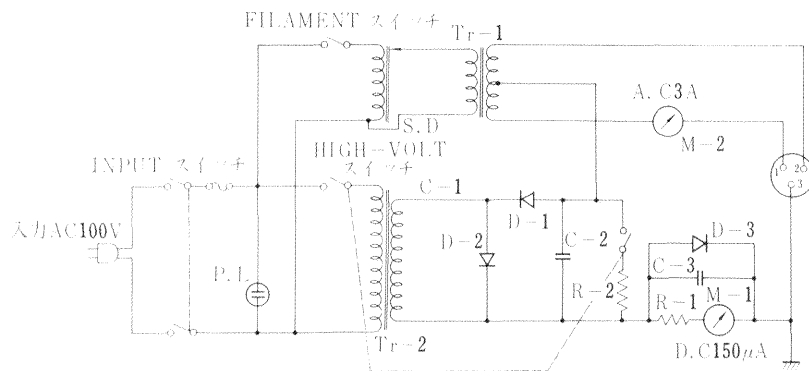
フィラメント電流は“FILAMENT-CONTROL”ツマミによって可変することができ、その値は A, C, 3A 電流計 (M-2) に指示される。加速電圧電源は2倍圧方式を採用している。発生した直流加速電圧はフィラメント、アノード間に印加される。全電子流は、D, C, 150 μ A 電流計 (M-1) に指示される。



第1図

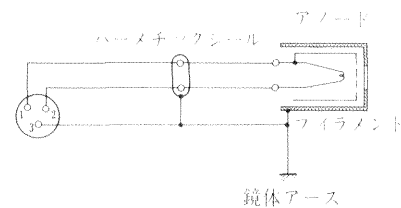


第2図



第3図

電源操作箱



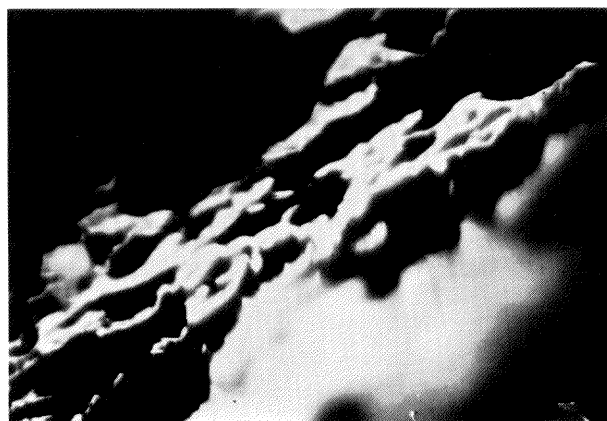
電子銃本体部



(a)



(b)

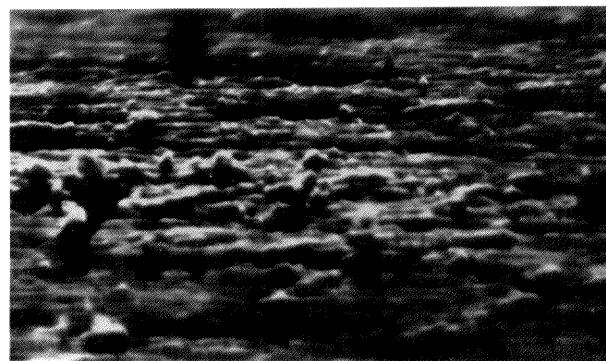


(c)

第 4 図



(a)



(b)

第 5 図

2. 特性を示す使用例

第4図はセラミック（チタン酸バリウム系）粗面の8度反射電子顕微鏡像である。第4図（a）は低速電子銃を使用しない場合で、試料表面に帯電した電荷の影響によって反射像として判別することが不可能である。加速電圧として交流500V（50 $\sim$ ）を印加して低速電子銃を働かせたときの反射像が第4図（b）である。この場合は交流加速電圧の周波数の半周期でのみ低速電子銃として動作する。すなわち電子流も同じ半周期で試料に到達し、試料表面電荷量もこの半周期をもって増減する結果となり、結像のための反射電子線はこの試料表面電荷量の増減によって振動し、写真のごとく幅をもった像のボケ現象となって現われる。第4図（c）は直流加速電圧により低速電子銃を働かせた場合の反射像であり、像障害の取り除かれた正確な反射像が得られている。

第5図はセラミック（チタン酸バリウム系）試料研磨面の8度反射電子顕微鏡像である。第5図（a）は低速電子銃を使用しない場合の反射像で帯電のため像はボケている。第5図（b）は、本装置、HR-SG形低速電子銃装置を使用した場合の反射像できわめて鮮鋭な像が得られている。

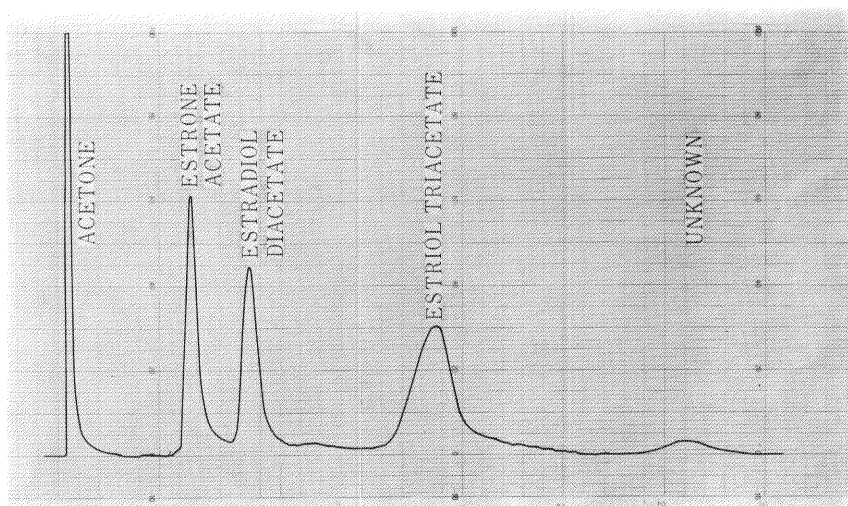
ガスクロマトグラフによるステロイドの分析

*打 木 英 夫

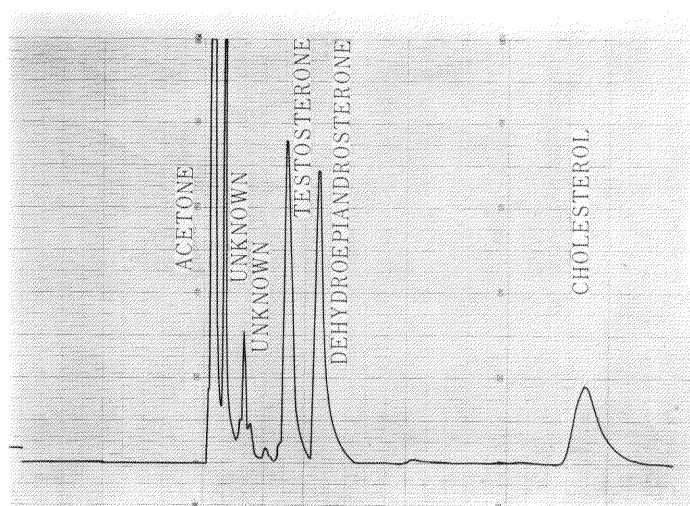
ガスクロマトグラフィとはその名の示す通り気相中の成分の分離のテクニックとして目覚ましい発展を見ているものであるが、ステロイド、アルカイドなどのごとくきわめて蒸気圧が低く、然も熱による変化を受け易いものに対しては相当の困難を感じてい

* 日立製作所那珂工場

た。然るに1960年より1961年にかけ Horning, Lipsky 等によりステロイド分析が発表されるや医学界に急速な発展を見、論文の数も年々増加の一途をたどっているようである。現状では、すべてのステロイド類が、ガスクロで分析できるとはいえない難いではあるが、一見不可能とも見えたこのような物質の分析ができるよ



第 1 図



第 2 図

うになった陰には、次のようなテクニックの開発が、これをバックアップしているのである。

1. 高感度検知器の実用化

放射線イオン化検知器次いで水素炎イオン化検知器が出現し、検出感度が数百～数千倍に上昇した。したがって熱伝導型検出器では検出不可能であった低蒸気圧の物質まで検出可能になりました、所要サンプル量も極微量ですむようになった。

2. 低液相カラム

微量サンプルの処理には固定相含浸量も少くてよく、従来の20～30%の含浸率に対し5%以下のものが用いられるようになり下記の如き優良な担体の開発と相俟って Retention Time の短縮または操作温度の降下をという利点を生み、分解しやすい物質の分析を可能ならしめた。

3. 担体の改良

カラムが低液相になるにつれ、担体表面の特性が強く現われ始め吸着、分解、異性化などの現象が目立ってきて、これがはなはだしい場合には全然ピークが出ないこともある。これを表面処理により不活性化（特にシリコン処理）することが行なわれ、有害な作用の少ない担体が造られるようになった。

一方、Sample Preparation の面においても、アセチル化、シ

ルエーテル化などによるOHの保護、あるいは、コーチゾンなどのごとき分解しやすい側鎖の酸化または bismethylenedioxy 誘導体化による安定化等多くの研究が行なわれ、分析可能範囲はさらに拡大されつつある。

一例として、女性ホルモン(第1図)(estrone, estradiol, estriolの各アセテート)および Testosterone (第2図)(そのまま)その他の分析記録を掲げる。

注 比較時の条件により大幅に変動する。

参 考 文 献

- R. K. Beerthuis, J. H. Recourt. Nature, 186, 372, 1960
- W. J. A. VandenHeuvel, C. C. Sweeley, E. C. Horning, J. Am. Chem. Soc., 82, 3481, 1960
- C. C. Sweeley, E. C. Horning, Nature, 187, 144, 1960
- S. R. Lipsky, R. A. Landowne, Anal. Chem., 33, 818, 1961
- D. K. Bloomfield, J. Chromatography., 9, 411, 1962
- E. C. Horning, E. O. A. Haahti, W. J. A. VandenHeuvel, J. Am. Oil Chem. Soc., 38, 625, 1961
- M. A. Kischner and H. M. Fales, Anal. Chem., 34, 1548, 1962
- A. Anne Patti, Philip Bonanno, T. S. Frawley, A. A. Stein, Acta Endocrinologica, Supplementum 77.

株 式 會 社
日 立 製 作 所

本 社	電 話	電 信 略 号
(新 丸 ビ ル) 東 京 都 千 代 田 区 丸 の 内 1 丁 目 4 番 地	東 京 (212) 1111 (大代)	トウキヨウ」ヒ タ チ
(第3大手町ビル) 東 京 都 千 代 田 区 大 手 町 2 丁 目 8 番 地	東 京 (270) 2111 (大代)	トウキヨウ」ヒ タ チ
(新大手町ビル) 東 京 都 千 代 田 区 大 手 町 2 丁 目 4 番 地	東 京 (211) 1411 (大代)	トウキヨウ」ヒ タ チ
営業所 東京, 大阪, 福岡, 名古屋, 札幌, 仙台, 富山, 広島, 高松		

日 製 産 業 株 式 會 社

本 社	東京都港区芝南佐久間町 2 丁目 4 番地 (日立愛宕別館)	電話 東京 (503) 2311 (大代) 電信略号 トウキヨウカニユウ ニツセイサンギヨウ (22-911)
大 阪 営 業 所	大阪市北区梅ヶ枝町 164 番地 (宇治電ビル)	電話 大阪 (361) 1241 (大代) 電信略号 オオサカカニユウ ニツセイサンギヨウ (33-667)
名 古 屋 営 業 所	名古屋市中村区広井町 3 丁目 98 番地 (名古屋ビル)	電話 名古屋 (58) 6211 (大代) 電信略号 ナゴヤカニユウ ニツセイサンギヨウ (44-330)
九 州 営 業 所	福岡市天神 2 丁目 12 番地 1 号 (天神ビル日立製作所内)	電話 福岡 (75) 2936 (代) 電信略号 フクオカカニユウ ニツセイサンギヨウ (77-141)
広 島 営 業 所	広島市紙屋町 8 番地 (広電ビル)	電話 広島 (21) 4511 (代) 電信略号 ヒロシマカニユウ ニツセイサンギヨウ (66-530)
仙 台 販 売 所	仙台市東四番丁 51 番地 (日産生命館日立製作所内)	電話 仙台 (25) 5561 (代) 電信略号 センダイカニユウ ニツセイサンギヨウ (88-586)
札 幌 販 売 所	札幌市北三条西 4 丁目 1 番地 (第一生命ビル日立製作所内)	電話 札幌 (4) 4319, 4469, 5674 (6) 9448 電信略号 サツポロカニユウ ニツセイサンギヨウ (99-166)
富 山 出 張 所	富山市新桜町 35 の 2 番地 (太陽生命ビル)	電話 富山 (2) 4526 (代) 電信略号 トヤマ」ヒタチキヅケ」ニツセイ
四 国 出 張 所	高松市寿町 1 丁目 4 番地の 2 (日立製作所内)	電話 高松 (2) 3721 (代) 電信略号 タカマツ」ニツセイ