

THE HITACHI

Scientific Instrument

NEWS

June. 1964 Vol. 7 No. 3

 Hitachi, Ltd.

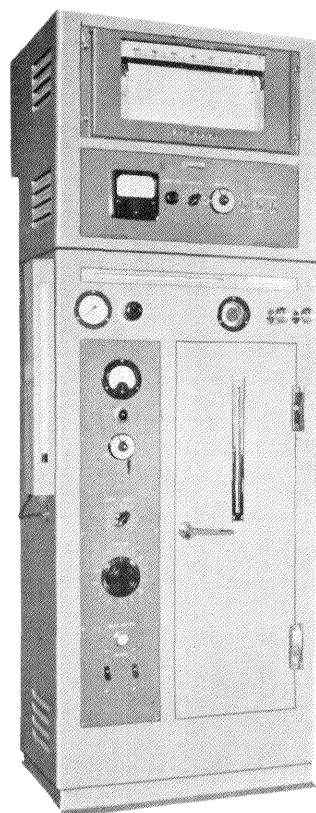
目 次

1. FID, キャピラリーカラム付ガスクロマトグラフによる微量灯油の
同定試験例……………益子賢蔵 …… 1
2. 周波数掃引式高分解能 NMR プロトンスピンデカップリング…宮島 剛・内海由春 …… 4
3. KLA-2 形 日立アミノ酸分析計による迅速分析法……………宮内圭治・藤井芳雄 …… 6
4. 炎光分析用新形バーナ……………保田和雄・須藤健吾 …… 8

FID, キャピラリーカラム付ガスクロマトグラフ

による微量灯油の同定試験例

*益子賢蔵



石油製品の検査については規格試験、成分分析としては Type Analysis, Ring Analysis さらに最近発達した赤外、紫外線吸収スペクトル、蛍光スペクトル、普通形ガスクロマトグラフなどを利用することにより、確認、同定試験が可能である。

しかしながら、試料が大量にあるとか、蒸発、燃焼などの変化を受けない石油製品に対しては、それらの試験法はきわめて効果的であるが、燃焼変化を受け不純物を混入ししかも微量の試料に対しては、いかなる試験法も明確なる同定を行なうことは至難であるとされている。そこで筆者は FID, キャピラリーカラム付ガスクロマトグラフを用いて測定した結果きわめて良い結果が得られたので報告する。

本例は火災保険金詐欺の目的をもって、自宅の畳の上に灯油を撒き放火し全焼せしめた事件の現場発掘の際臨場官が燃焼半炭化した畳に異臭を感じ、検査材料として鑑定依頼を受けたものについて鑑定した実例に基いたものである。

日立 KGL-2A 形 ガスクロマトグラフ

* 茨城県警察本部鑑識課

実験材料

1. 鑑定試料

- a 放火現場から採取した燃焼半炭化した畳からエーテル抽出を行ない、脱水芒硝により脱水し、エーテルを留去した末精製の茶色味を帯びた半透明流動性液体 約 0.1 cc
- b 放火現場の近くから発見された被疑者所有の空罐に残っていた灯油 約 1 cc

2. 対照試料

- a 各種石油市販品
日本石油、コーモリ 1 号灯油 (第 3 図)
日本石油、コーモリ 2 号灯油 (第 4 図)
東亜石油、白灯油 (第 5 図)
昭和石油、コンロ灯油 (第 6 図)
三菱石油、ダイヤモンド灯油 (第 7 図)
- b 市販石油に不純物を混じたもの
(イ) 日本石油製灯油純品 (第 8 図)
(ロ) 同上灯油 500cc にテレピン油 10g を混じたもの (第 9 図)
(ハ) 同上灯油 500 ml に天ぷら油 10g を混じたもの (第 10 図)
(ニ) 同上灯油 500 ml に印刷インク 10g を混じたもの (第 11 図)

測定装置

本体：日立ガスクロマトグラフ KGL-2A 形
付属装置：FID-2 形、フレイムイオン化検知器
カラム：Golay Column R-45 液相 UCON LB-550 (polypropylen glycol)

測定条件

試料：各 1 μ l (マイクロシリンジにより注入)
カラム温度：120°C
試料室温度：200~220°C
キャリアーガス：He
同カラム入口圧：1.0 kg/cm²
水素圧：0.6 kg/cm²
酸素圧：1.0 kg/cm²
記録計：3 mV
感度： $\times 3$
記録紙速度：20 mm/min

測定および考察

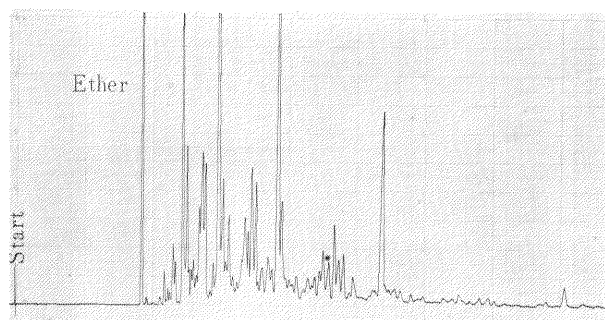
本実験において、単に放火現場からのエーテル抽出油と容疑灯油の二試料だけを測定して同定するのは早計であるので、あらかじめ次のような考慮が必要である。すなわち、試料油付着材料から混入される不純物による、ガスクロマトグラムへの影響が全くないこと、および各種石油製品のガスクロマトグラム上に歴然たる差異が認められることが、同定試験の絶対条件である。ただしクロマトグラムの各ピークが何であるかの解析は同定試験ではあまり重要な意味はない。

そこで、筆者は実験材料の項で記したとおり、各種の市販石油製品、およびエーテル抽出に伴う混入物の代表的なものとして、テレピン油、天ぷら油、印刷インクを選び、これらを市販灯油に混じたものを試料とした。

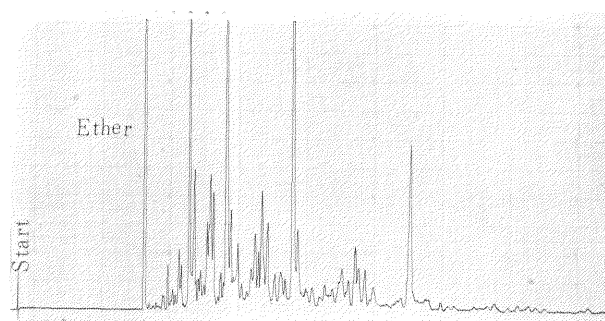
測定結果は第 1~11 図のとおりであるが、第 1 図と第 2 図を対照するとピークの比高値、面積比を求めなくても、各ピーク

間の相関関係が全く一致していることが一目瞭然わかる。

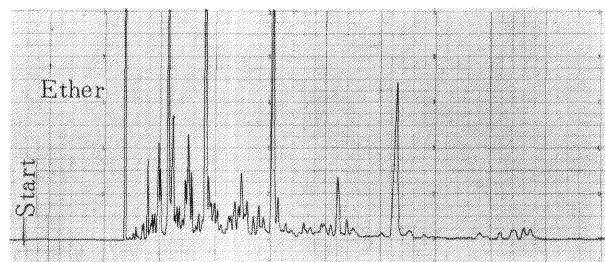
次に第 3~7 図によれば、各種石油製品の相違がクロマトグラ



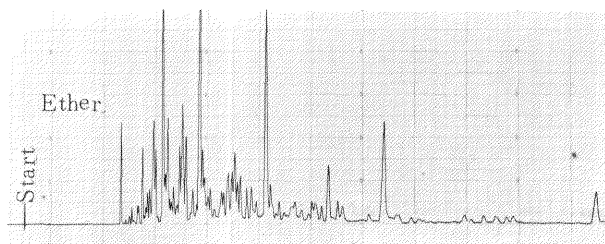
第 1 図 放火現場の畳からエーテル抽出した末精製灯油のガスクロマトグラフ



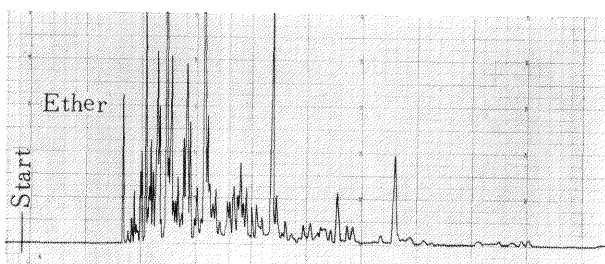
第 2 図 容疑者所有の灯油のガスクロマトグラフ



第 3 図 日本石油コーモリ 1 号灯油



第 4 図 日本石油コーモリ 2 号灯油



第 5 図 東亜石油灯油

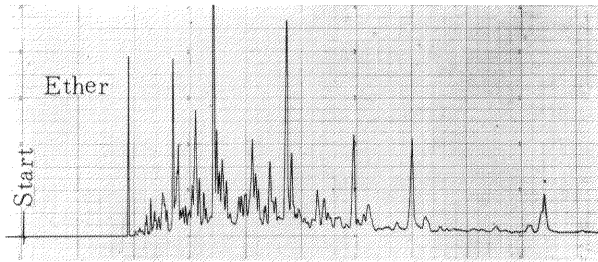
ム上に明らかに認められるが、これで銘柄が異れば測定結果が相違するという同定試験法の基礎が確立した。

また 第8～11図 のとおり、同一の灯油ならば不純物を混じったものも混じらないものも、全く同一のガスクロマトグラムが得られたが、これはいかに不純物が混入しても、主成分である灯油のガスクロマトグラム上になんら影響を与えないことを示していると同時に器械的誤差が全くなく、再現性がきわめて良好であることも証明している。

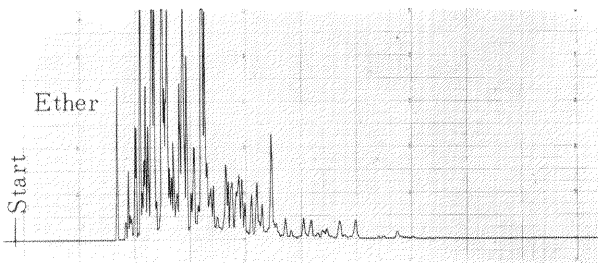
なお、従来の普通形ガスクロマトグラフにおいては、カラム内の充填剤にもよるが、一般に沸点の近接している物質間の分離がきわめて悪く、各種炭化水素の混合物である石油製品のそれぞれの成分がクロマトグラム上で近接して、ピークが重なり合っ大きくなり、したがってピークの数が少なく、しかも扁平となる。したがって石油類を同定するには、必ずピークの比高値、面積比を算出して比較しなければならず、急を要し、しかも確実性を必要とする犯罪鑑識には好適とはいえない。本法では石油製品中の各種炭化水素の分離がきわめて良いため、ピークの数が多く、しかもシャープであるため、同定因子がそれだけ多く、かつ確実性を増す。したがって計算という手間をばういて、クロマトグラムを対照しただけで、断定的に同定することができる。

また 第1, 2図 を対照して判るとおり、灯油が燃焼または加熱を受けても、必ずしも分解とか、重合して、本質的な化学変化をするものではなく、ただ低沸点炭化水素から高沸点炭化水素の差にしたがって、沸点差に基くピークの高さ、シャープの度合いがクロマトグラム全体を通じて徐々に変化するのが認められるが、同定試験にはなんら支障をきたすほどの差異は認められない。もちろん極端な燃焼を受けた場合にはこれらの各ピーク相互間の差がある程度急激になることは推定されるが逆転することは考えられないので、やはり同定試験は可能なものと考えられる。

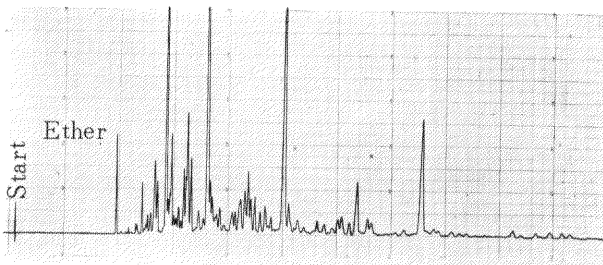
本例は放火事件の焼け跡から得られたきわめて微量の未精製エーテル抽出残さ油と熱変化を受けない容疑者所有灯油とをFID、キャピラリーカラム付ガスクロマトグラフにより従来のいかなる試験法をもってしても判定し得ない同定に成功した1事例である。



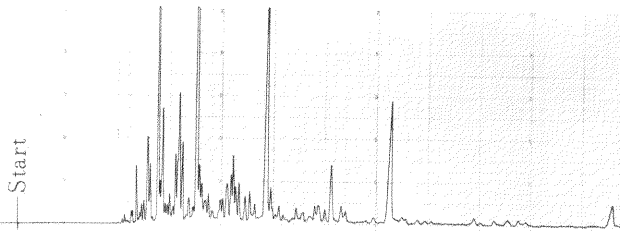
第6図 昭和石油コンロ灯油



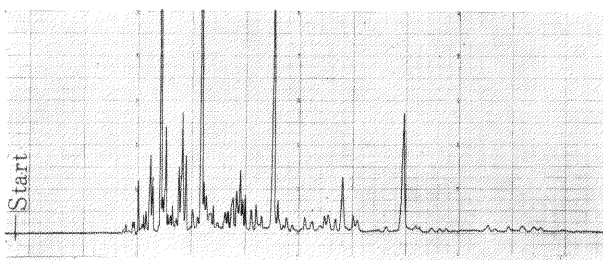
第7図 三菱石油ダイヤモンド灯油



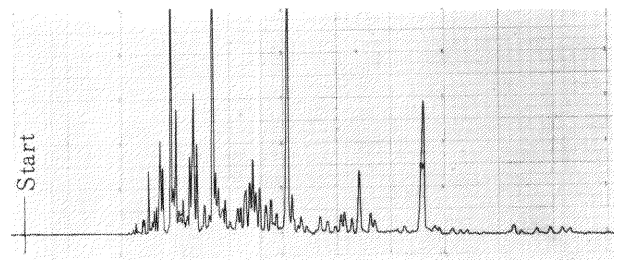
第8図 日本石油灯油に不純物を混ぜないもの



第9図 日本石油灯油 500 mℓ にテレピン油 10 g を混ぜたもの



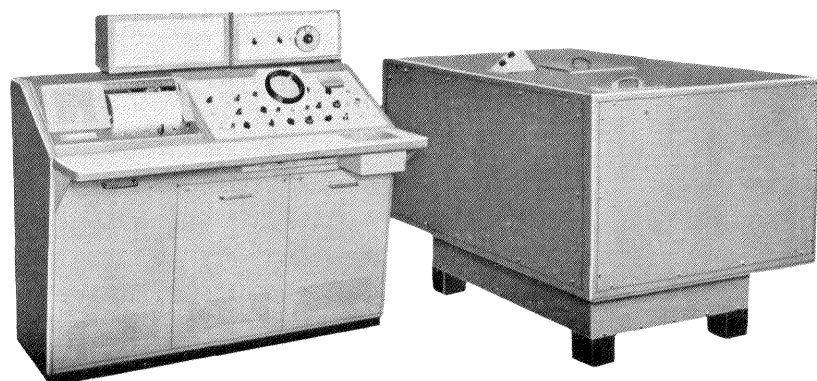
第10図 日本石油灯油 500 mℓ に天ぷら油 10 g を混ぜたもの



第11図 日本石油 500 mℓ に印刷インク 10 g を混ぜたもの

周波数掃引式高分解能 NMR プロトンスピントデカップリング

*宮 島 剛 ・ *内 海 由 春



第 1 図
Model H-60 H.R. NMR Spectrometer お
よび H-6007 Freq Sweep Proton Spin-Spin
Decoupler

1. 緒 言

第 1 図 は MODEL H-60 およびスピントデカップラの外観図である。高分解能 NMR スピントデカップリングは

- 1) 磁場掃引方式
- 2) 周波数掃引方式

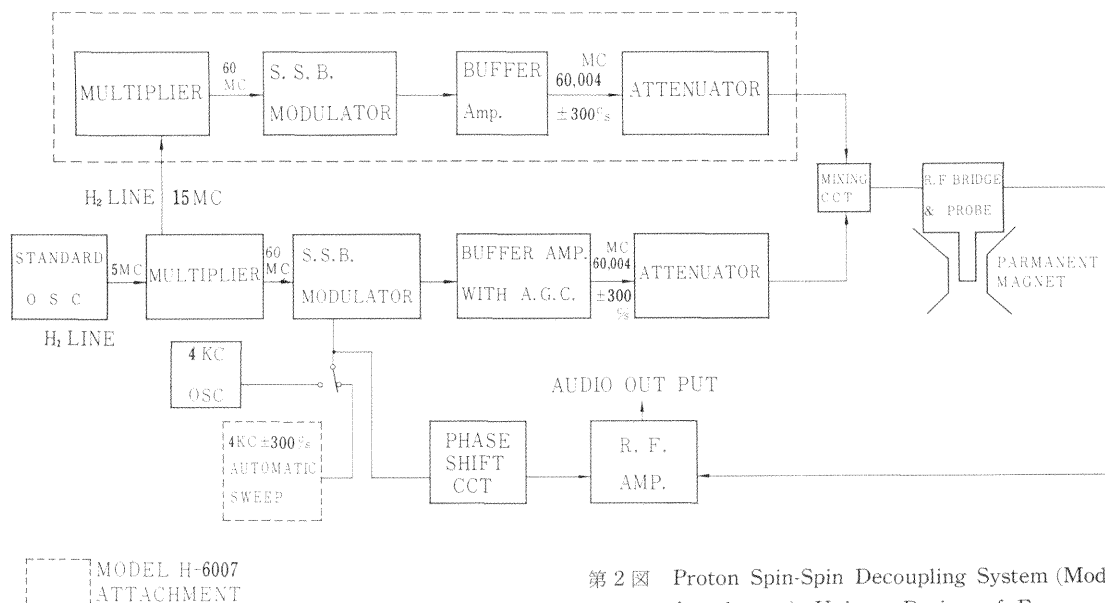
の二種類に大別される。磁場掃引方式については、すでに米国、および日本でその装置も市販されており、実験も多くなされているが、周波数掃引方式は装置も市販されておらず、その実験報告も少ない。

両者ともにちょうど二重共鳴の状態では同一のデータを得ることができるが、その前後では相当様子を異にする。ここではスピントデカップリングの原理について詳しく述べないが、磁場掃引法では、高周波 H_1 , H_2 が固定され磁場を掃引するから、二重共鳴線以外では磁場と H_2 の関係が変化するので二重共鳴の条件が満足されないのは明らかである。すなわち、磁場掃引方式のスペクトラムは、二重共鳴時の前後では左右対称の信号を得られない。一方周波数掃引方式では、磁場と H_2 の関係は周波数掃引に無関係に一定であるから第 5 図に示すごとく左右対称であり、スペクトラムの解析には周波数掃引方式がよい。

2. 測定原理および方法

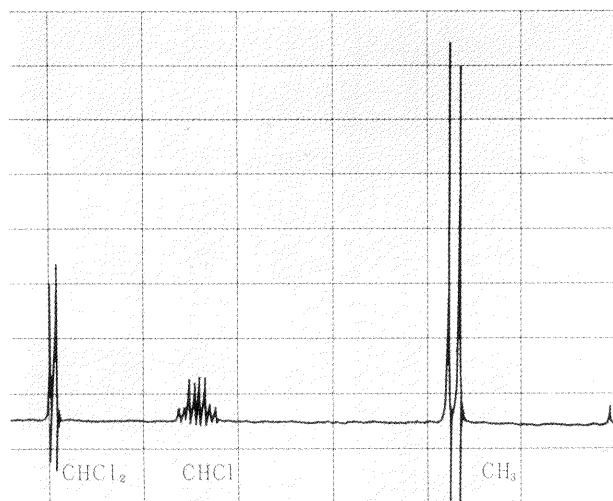
スピントデカップラは高分解能核磁気共鳴 (H.R. NMR と略す) 装置に付属させて使用するので、Model H-60, H.R. NMR 装置およびスピントデカップラ、MODEL H-6007 の結合構成を示す第 2 図で説明する。 H_1 line は H-60 系でスピントデカップリングしない時は、下の 4 kc OSC に接続して S.S.B. (Single Side Band の略) Modulator で上側帯波をとって $60 \text{ Mc} + 4 \text{ kc} = 60.004 \text{ Mc}$ を Attenuator を通し H_1 のレベルを適当にして Bridge & Probe に送り、RF. Amp で高周波増幅検波して低周波回路に信号成分を送り込んで H.R. NMR 信号をブラウン管上および記録紙上に記録する。なお H-60 ではブラウン管およびレコーダの横軸は、永久磁石部の磁場掃引と同調させてあるので較正チャートを使用する。

さて、スピントデカップリングさせる時には、部を使用する。周波数掃引に切り換え、すなわち $4 \text{ kc} \pm 300 \text{ c/s}$ Automatic Sweep に接続し、上部の H_2 line を第 1 図に見られるダイヤルを任意に回すことにより、 H_2 レベルの周波数を任意に選ぶことができる。このとき第 1 図の H-60 操作卓のブラウン管上で信号を見ながら着目しているスペクトラム波形の変化をみて、適時それをレコーダで記録すればよいから、測定は非常に簡単になる。[第 5 図]

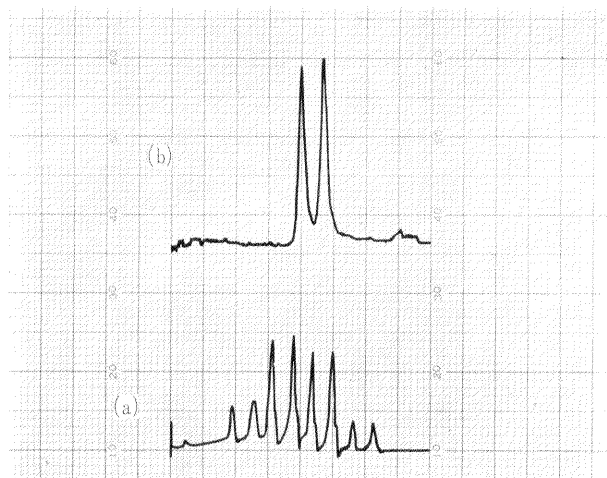


第 2 図 Proton Spin-Spin Decoupling System (Model H-6007 Attachment) Unique Design of Frequency Sweep Basis

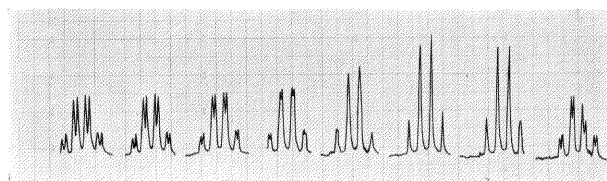
* 日立製作所 那珂工場



第3図 $\text{CH}_3\text{CHClCHCl}_2$ の普通の H.R. NMR パターン



第4図 (b) は CH_3 を H_2 で飽和させた時の CHCl_2 のパターン



第5図 CHCl_2 を H_2 で飽和させた時の CHCl グループのパターン群 (H_2 の周波数を少しずつ変えている)

(Model H-60 では、スイッチ1個の操作でブラウン管直視とレコーダ記録の切換ができる)。ダイヤル目盛からデカップリングの周波数を読みとることができるので、それが結合定数 (c/s 単位) になる。

スピンドカップリング構成は、 H_1 line より 15 Mc を受け、これを H_2 line で 60 Mc に通倍し、かつ S.S.B. Modulator で $60.004 \text{ Mc} \pm 300 \text{ c/s}$ にする。ここで $\pm 300 \text{ c/s}$ は、ダイヤル設定で任意に変変でき $\pm 300 \text{ c/s}$ が最大可変範囲である。

この H_2 レベルを Attenuator で適当に減衰させる。 $\text{H}_1 < \text{H}_2$ であることは勿論のこと H_2 で着目する系を飽和させるのである。 H_2 は Mixing-CCT で H_1 と混合され R.F Bridge & Probe に送り込まれる。あとは H-60 系で述べたのと同様である。

スピンドカップリングの場合も較正チャートを使用する。周波数掃引スピンドカップリングは S.S.B. 変調方式を採用したこと、永久磁石使用による磁場の安定化および Standard OSC の周波数安定化により可能になったものである。 H_2 line をもう一段追加することにより、 H_3 line を設け、これを H_2 line と同一操作することにより周波数掃引方式の三重共鳴も可能であり、第6図はその1例である。

以上は、周波数掃引方式を述べたが、この構成方式では構成図よりわかるごとく、 H_1 、 H_2 の周波数間隔を任意に選んで磁場掃引式のスピンドカップリングも可能であることを付記したい。

3. 応 用 例

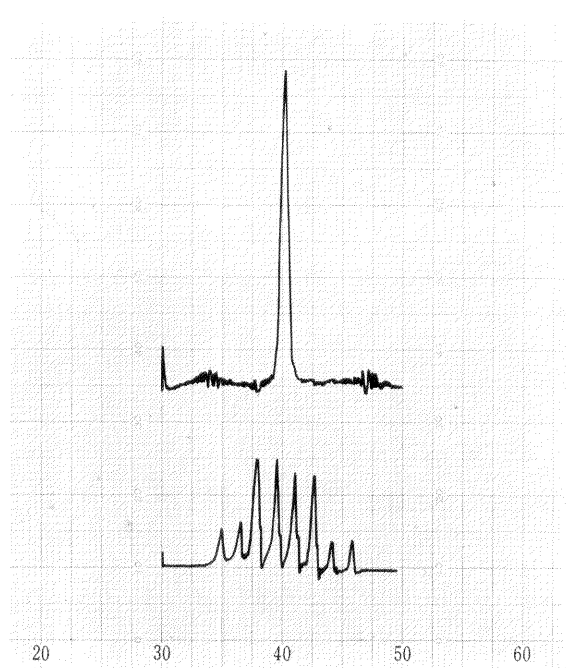
H.R. NMR でスペクトラム中のどれとどれがカップリングしているかを知りたい場合が非常に多く、この目的のためにスピンドカップラ装置は偉力を発揮する。

ここに、 $\text{CH}_3\text{CHClCHCl}_2$ の周波数掃引スピンドカップリングの例を示す。第3図は、普通の H.R. NMR のデータである。 CH_3 パターンは CHCl グループにより2本に分裂しており、 CHCl グループは、 CH_3 および CHCl_2 グループによって8本に分裂している。一方 CHCl_2 グループは CHCl によってやはり2本に分裂している。

これを証明するために CH_3 グループを高周波磁界 H_2 で飽和させると、 CHCl グループは CH_3 の影響がなくなり、 CHCl_2 グループのみの影響により2本に分裂したパターンを示す。(第4図)

また、周波数掃引方式の特長を示すパターンが、第5図に示されている。これは CHCl_2 に高周波磁界 H_2 で飽和させた時の CHCl グループのパターンであるが、ここで H_2 の周波数を少しずつ変化させ、不完全→完全→不完全二重共鳴のパターンを示している。左右対称で、解析は楽になる。これらは、ブラウン管上で直視して、それをレコーダで記録したものである。

第6図は、 CH_3 および CHCl_2 を同時に高周波磁界 H_2 および H_3 で飽和させた時の CHCl のパターンを示したもので、完全な1本になっており、これより CHCl グループは CH_3 および CHCl_2 とカップリングがあることが証明される。



第6図 CHCl_2 および CH_3 を同時に飽和させた時の CHCl グループパターンすなわち三重共鳴

KLA-2 形 日立アミノ酸分析計による迅速分析法

*宮内圭治・*藤井芳雄

1. ま え が き

イオン交換樹脂によるアミノ酸の自動分析法が1958年 Moore らによって確立されて以来、その原理を採り入れたアミノ酸分析計が数多く製品化された。KLA-2 形 日立アミノ酸分析計もその一つで、一年有余にして60台の販売実績を示すに至り、Moore法に対する認識は益々深まりつつある。しかし、Moore の原法は1日一検体のRoutine Workを目的としているので、とかく、所要分析時間、分析経費などが論議の対象となる。Beckman Spinco の Accelerated Analysis, 日立研究所有川氏の配位子交換クロマトグラフィなどはそのあらわれである。Beckman Spinco の Accelerated Analysis は Moore の原法を Modify して、1日3検体の分析を可能としているが、そのためには、従来の装置に多少の改造を要し、かつ分離能の低下現象を伴う。

イオン交換クロマトグラフの分析時間を支配する主要素は①カラムの長さ、②カラム温度、③カラム内の緩衝液の流速などである。Moore の原法は20種のアミノ酸の最良の分離効果を目的としたために、カラムの長さは150cm と15cm に限定された。しかし、ある程度、分離能を犠牲にすれば Beckman Spinco のごとく短かいカラムを使用して分析時間の短縮化も図れる。

日立では配位子交換クロマトグラフィを中心にした迅速、かつ簡易な分析法の研究を推進しているが、その詳細については後の機会に譲り、ここでは上述のカラムの物理的条件に基づく迅速分析法について述べる。この方法は KLA-2 を改造することなく行なえるので、すでに一部に利用されており、分析目的によっては十分に実用性を保証されている。

2. 迅速分析法

2-1 50cm カラムによる全分析

KLA-2 には生体液中の塩基性アミノ酸化合物の分析に供される50cm カラムが付属している。このカラムを用いて、通常の150cm カラムの場合と同一要領で中性および酸性アミノ酸の分析を行なえば6hr以内に終了する。ただし、pH3.25 から pH4.25 の緩衝液の切換えを展開開始後2½hrに行なうようプログラムを設定する。第1図はその実験結果を示す。(A) は各アミノ酸1μmole を含む標準試料のクロマトグラムで、試料量をその半量にしたのが(B)である。双方ともチャート送り速度を75mm/hr、打点間隔を5sec で記録した。

また50cm カラムを用いて酸性アミノ酸から塩基性アミノ酸までの分析を一貫して行なうことも可能である。その例を第2図に示す。この場合はpH6.10、1.4規定クエン酸緩衝液を用意し、電動弁吸入口(Buffer3)に接続して、緩衝液切換えのプログラムを次のごとく設定する。

BUFF. 1-2 1⅓ hr

BUFF. 2-3 1⅓ hr

この方法によると、従来22時間を要した一検体の分析が、8時間に短縮される。

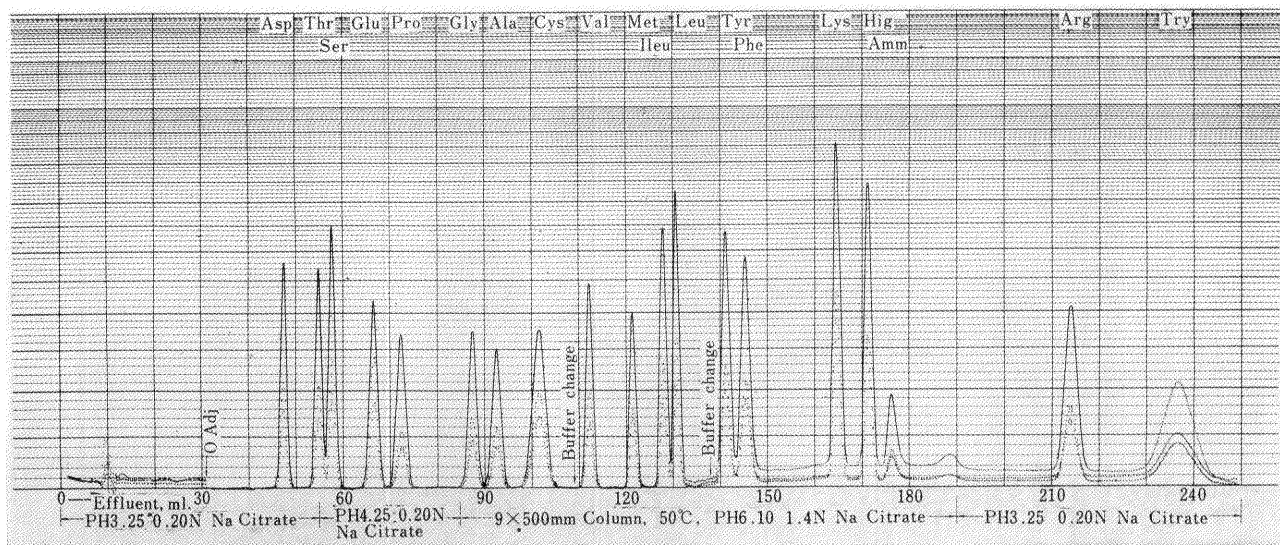
2-2 群別迅速分析

Moore の原法では酸性アミノ酸群と塩基性アミノ酸群の二つのグループに分けて分析するために、2本のカラムの使い分けをしているが、この方法で、単にカラム長さのみ変えて分析を行なうのも迅速化の一法である。



第1図 50 cm カラムによる中性・酸性アミノ酸標準試料の分析

* 日立製作所 那珂工場



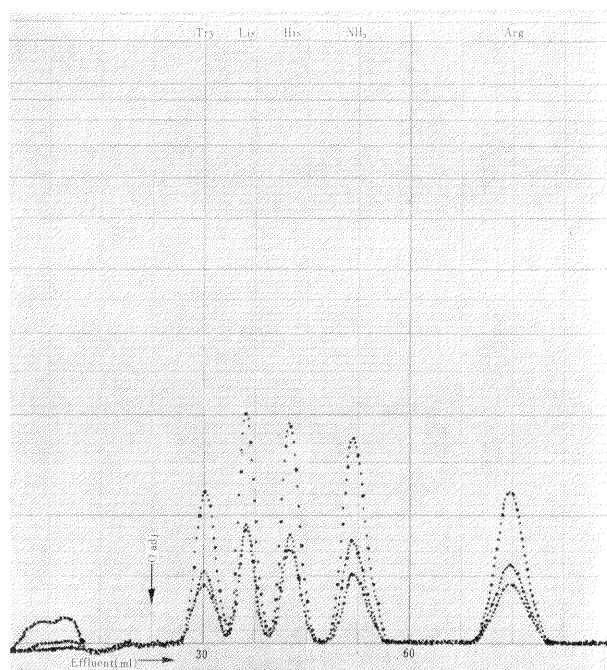
第2図 50 cm カラムによる全分析

第2図のクロマトグラムが示すごとく、アミノ酸の全分析を1本のカラムで行なうと、塩基性アミノ酸群の分析に必要以上の時間を要するので、使用カラムを中性酸性群対象と塩基性群対象とに分けるほうが時間短縮には効果的である。第3図は15cm カラムの樹脂層を7.5cm にして、塩基性アミノ酸の標準試料を分析した例である。樹脂層15cm では通常 Arginine の溶出までに5時間要したのを、この場合は2時間半に短縮されている。

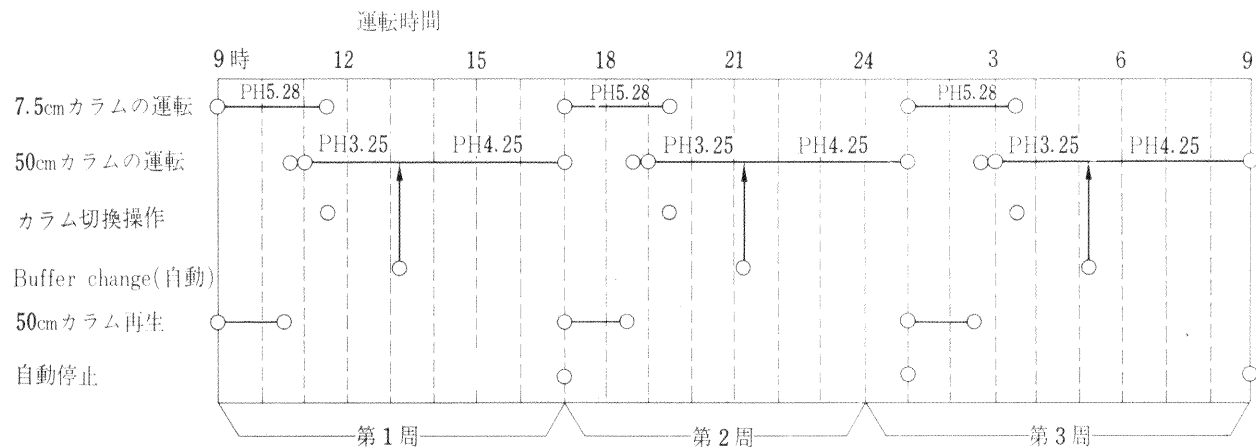
したがって、7.5cm カラムによる塩基性アミノ酸の分析と50cm カラムによる中性および酸性アミノ酸の分析を、多少、重複させながら行えば1日3検体の分析も不可能でない。参考までに第4図にその運転プログラムを掲げる。50 cm カラムは7.5 cm カラムの展開開始後の2時間、まだ塩基性アミノ酸群のクロマトグラムを記録中に展開を開始し、7.5cm カラムの分析が終わるまでは溶出液をドレンに導き待機している。そして、Arg の溶出が終わると同時にカラムの切り換えを行なう。すなわち、7.5cm カラムの溶出液をドレンに、50cm カラムの溶出液を比色計に導くようにする。重複の程度は使用緩衝液のpHによって適宜加減する必要がある。

3. む す び

イオン交換クロマトグラフのカラム長さだけ操作してアミノ酸分析の迅速化を検討した二、三の結果について述べた。いずれの場合も Thr/Ser, Gly/Ala, Ileu/Leu などの分離能の低下は免れないが、KLA-2 および KLA-3 に直ちに応用できる点に価値がある。特に、50 cm カラムによる全分析は試料を二分する必要がないので有効である。



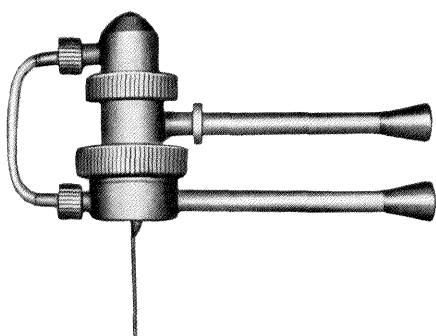
第3図 15 cm カラムによる塩基性アミノ酸の標準試料の分析例



第4図 迅速分析における運転プログラム

炎光分析用新形バーナ

*保 田 和 雄・**須 藤 健 吾



第1図 炎光分析用新形バーナの外觀

炎光分析法は、アルカリ金属、アルカリ土金属を始め他の無機元素の迅速な定性、定量分析法として、医学、化学、農学、薬学、生物学、化学工業、金属工業、食品工業などの分野で広く利用されている。

現在一般に使用されているアトマイザーバーナは、試料の噴霧と燃焼を同じ機構の中で行なっているので、最適検出感度および燃焼条件が一致しないため、この両機構は別々にすることが望ましい。

そこで、以下に述べる構造を有する、バーナを開発した。

第1図、第2図にこのバーナの外觀およびその構造を示す。

第3図に、このバーナの噴出口近辺の概略図を示す。

第3図中のAより酸素、Bより燃料ガスが噴出し、この両ガスで燃焼条件を定める。そして、Cのところより、これとは無関係に、ガスを噴出させ試料を噴霧するようにした。なお、使用しやすさを考慮して、AおよびCには、酸素ガスを流すようにした。このため、両条件は、完全に独立したものではなくなったが、一般のアトマイザーバーナよりは、この両条件が独立している。したがって、酸素—水素、酸素—アセチレン、酸素—プロパンなどのフレイムが一つのバーナで作れるようになった。またAから噴出した酸素ガスによる熱ピンチ効果のため、フレイムがしぼられることおよび外気による影響が少なくなったので、ノイズが減少し検出感度が上がり騒音も多少低くなった。

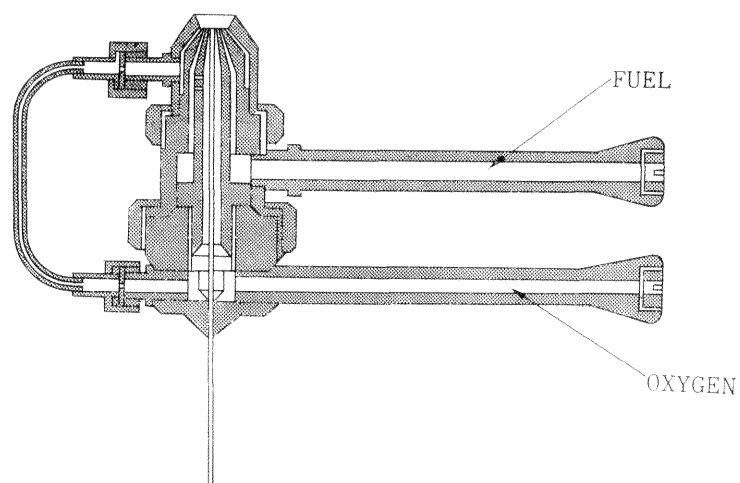
第1表に、このバーナの使用圧力、および試料消費量を示した。

第2表に139形分光光電光度計の炎光付属装置にこのバーナを装備し、光電管受光部、光電子増倍管受光部を使いS/N=1としたときの、酸素—水素、酸素—アセチレン、酸素—プロパンにおけるNa, Ca, Kについて、著者らが測定した検出限界の一例を示す。

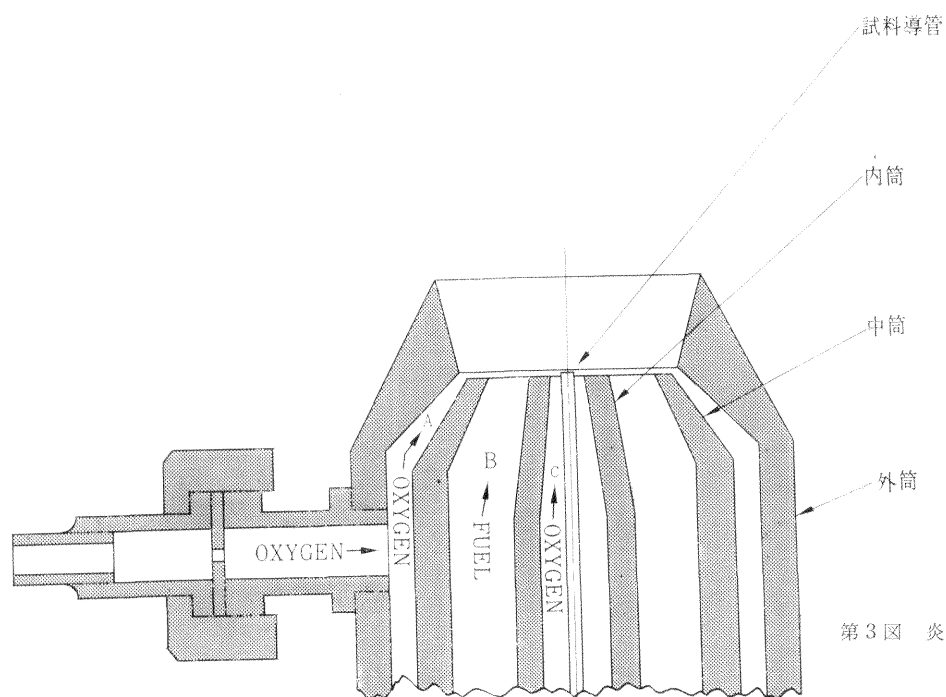
第1表 各種ガスの使用圧力

ガ ス	圧 力	試 料 消 費 量*
H ₂	0.5 kg/cm ²	約 2.0 cc/min
O ₂	1.0 kg/cm ²	
C ₂ H ₂	0.25 kg/cm ²	約 2.5 cc/min
O ₂	1.0 kg/cm ²	
C ₃ H ₈	0.15 kg/cm ²	約 2.5 cc/min
O ₂	1.0 kg/cm ²	

* 日立製作所 那珂工場 ** 日立パーキンエルマー（株）



第2図 炎光分析用新形バーナの構造



第3図 炎光分析用新形バーナ頂部概略図

第2表 S/N=1 としたときの検出限界

(単位 p.p.m)

元 素 波 長 m μ	O ₂ — H ₂		O ₂ — C ₂ H ₂		O ₂ — C ₃ H ₈	
	光 電 管	光電子増倍管	光 電 管	光電子増倍管	光 電 管	光電子増倍管
Na 589	0.0025	0.0007	0.002	0.00068	0.0034	0.00056
Ca 422.7	0.13	0.02	0.10	0.025	0.17	0.0071
554	0.16	0.007	0.118	0.08	0.153	0.0068
622	0.5	1.1	0.23	1.0	0.476	0.38
K 405	1.0	0.68	0.19	1.50	2.65	0.308
768	0.016	0.93	0.033	7.05	0.046	0.33

(上表の値は、バーナ、受光部によるバラツキを考慮していない)

THE HITACHI Scientific Instrument News Vol.7 No.3

昭和39年6月20日 印刷

昭和39年6月30日 発行

非 売 品

年6回 毎偶数月発行

編集人 麓 吉 次

発行人 白 川 義 雄

発行所 株式会社 日立製作所

印刷所 株式会社 日立印刷所