

THE HITACHI Scientific Instrument NEWS

October, 1965 Vol. 8. No. 5.

 Hitachi, Ltd.

目 次

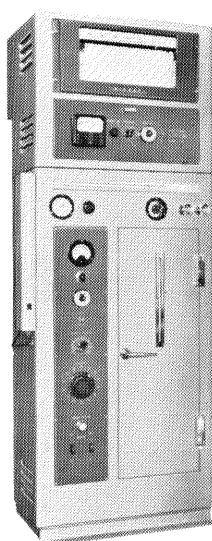
1. Golay カラムによる立体異性体の分析三井生喜雄・今 泉 真..... 1
2. 原子吸光分光分析法による血清電解質 (Na, K, Mg, Ca) の測定について
.....酒 井 正 衛..... 6
3. キャピラリーカラムによる脂肪酸異性体の分離川 瀬 義 行・白 井 浩.....9
4. 139 による連続比色装置の試作黒 田 正 男.....12

Golay カラムによる立体異性体の分析

三井生喜雄*・今 泉 真*

1. 緒 言

有機化学において立体異性体を正確かつ迅速に分析することは非常に重要な問題である。特に、有機化学反応の機構を立体化学的立場から研究することはきわめて有力な手段の一つであり、古くから多くの反応について調べられているが、従来はその立体異性体の分析に相当な時間と労力を要する場合が多く、また、化合物によっては全く分析できなかったものも少なくなかったため、この分析法の開発が望まれていた。ところが、近年ガスクロマトグラフィーの発展によりシス、トランスまたはエリトロ、トレオなどの立体異性体の分析が比較的容易にできるようになり、この方面からの研究が一段と進展しつつある。



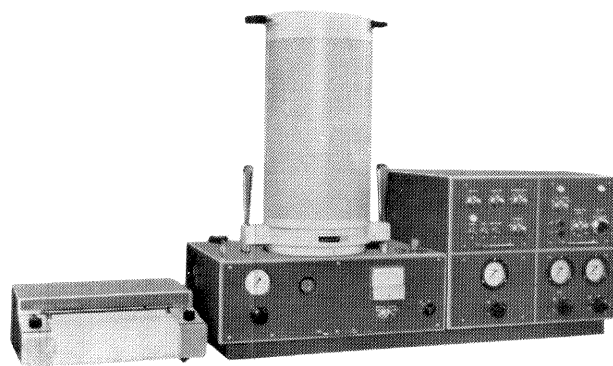
KGL-2A形 日立ガスクロマトグラフ



三井生喜雄



今 泉 真



F-6形 日立昇温ガスクロマトグラフ

* 東北大学工学部応用理学教室

われわれは接触水素化反応の機構を究明する目的で多くの有機化合物を水素化し、生成物の立体異性体を F6 形日立昇温ガスクロマトグラフに Golay カラムを用いて分析した結果、きわめて良好なクロマトグラムを得たので、その測定結果の一部を紹介する。

2. 測定装置と測定条件

装置は F6 形日立昇温ガスクロマトグラフおよび KGL-2A 形日立ガスクロマトグラフを用い、前者には Golay カラム K-45 (液相: PEG 4000) を、後者には充填カラム (日立製: PEG 4000) を使用した。検知には、F6 形はフレイムイオン化検知器を、KGL-2A 形は熱伝導形検知器を用い、前者の感度は 1×3 または 1×10 、後者は 2 で行なった。キャリアガスとして F6 形には窒素を、KGL-2A 形にはヘリウムを用いた。

試料には各種有機化合物の水素化生成物または標準品の 1:1 混合物を用い、Golay カラムには 0.1~0.5 μ l (溶媒を除いて)、充填カラムには約 5 μ l 注入した。

その他の測定条件は各図に示した。なお、図 1, 11 は充填カラムで、その他は Golay カラムで測定した結果である。

3. 測定結果

3.1 シス、トランス異性体の分析

図 1, 2 は 2-シクロペンチリデンシクロペンタノールをパラジウム-炭-B 触媒で水素化した生成物の分析結果であり、充填カラム (図 1) より Golay カラム (図 2) を用いた方が正確かつ速かに分析できることがわかる。

図 3 は 1-メチル-2-シクロペンチリデンシクロペンタノールをラネーニッケル触媒で水素化した生成物の分析結果である。

図 4 は 2-ベンジリデンシクロペンタノールをラネーニッケル触媒で水素化した生成物の分析結果であるが、この場合は両異性体が十分には分かれなかった。しかし、これをアセチル化することにより図 5 のように両異性体が完全に分かれ分析できた。

図 6, 7, 8 はそれぞれ 1-フェニルシクロヘキセンオキッド, 2-ベンジリシクロヘキサノン および 1-メチル-2-ベンジリデンシクロヘキサノールをラネーニッケル触媒で水素化した生成物の分析結果で、いずれも両異性体がよく分離した。

図 9 はシス および トランス-1-フェニル-4-tert-ブチルシクロヘキサノールの混合物のクロマトグラムであり、図 10 はそのシス異性体をパラジウム-炭-A 触媒で水素化した生成物を未反応物の存在下で分析するため 140 から 190°C の昇温条件下で測定した結果である。

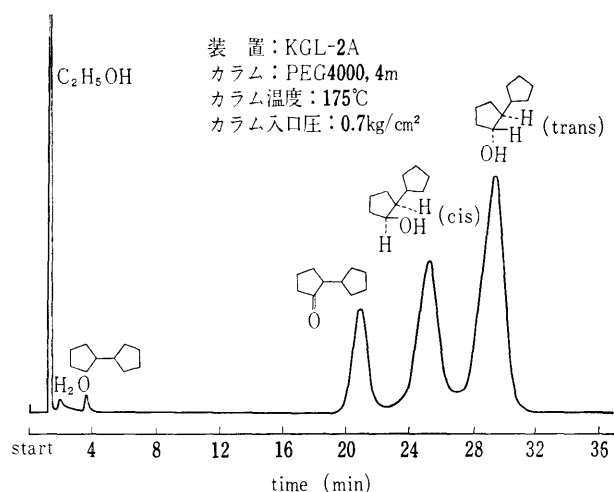


図 1

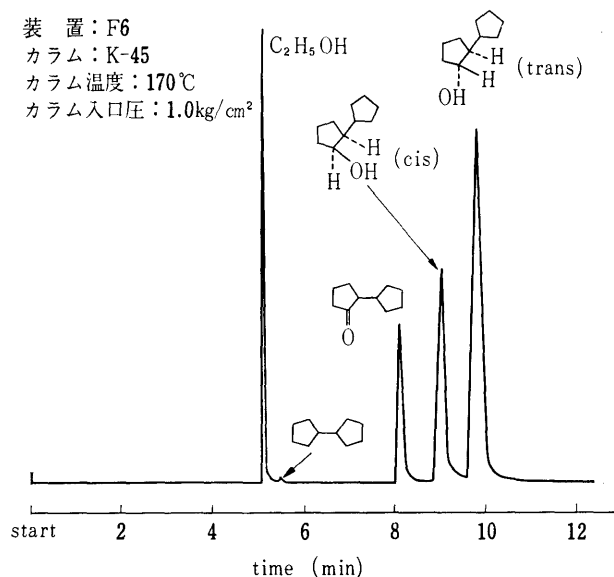


図 2

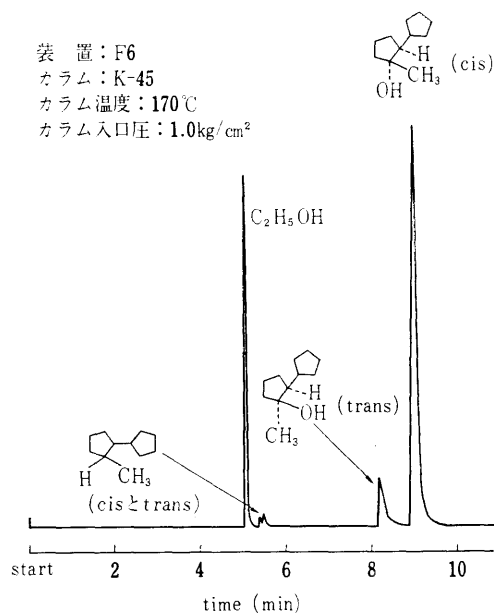


図 3

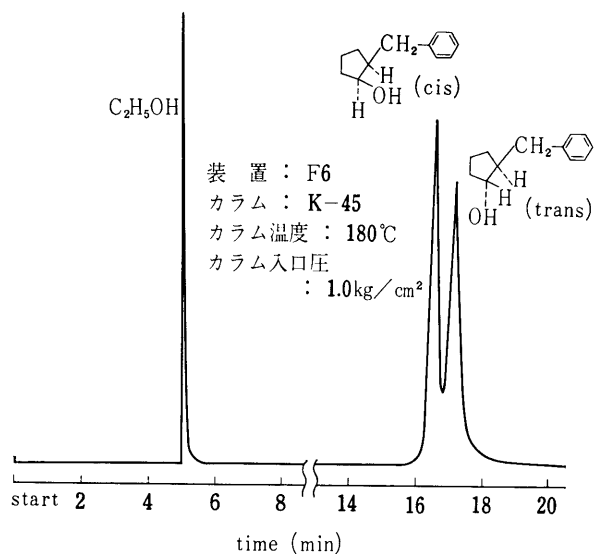


図 4

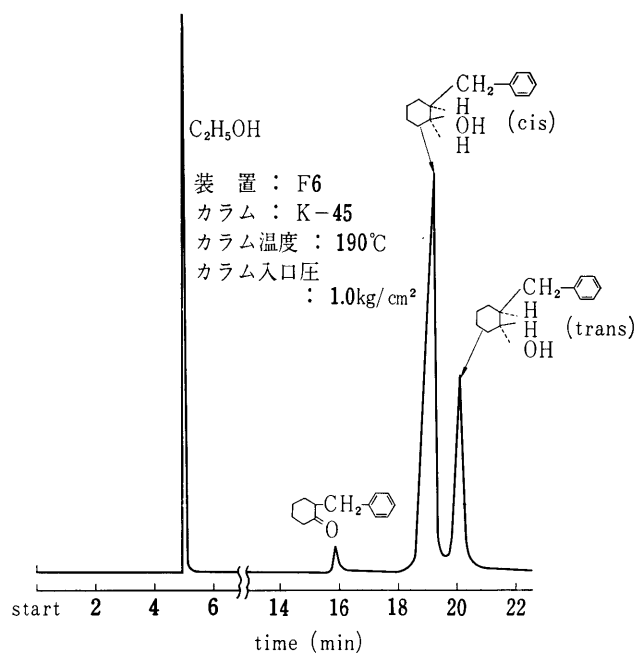


図 7

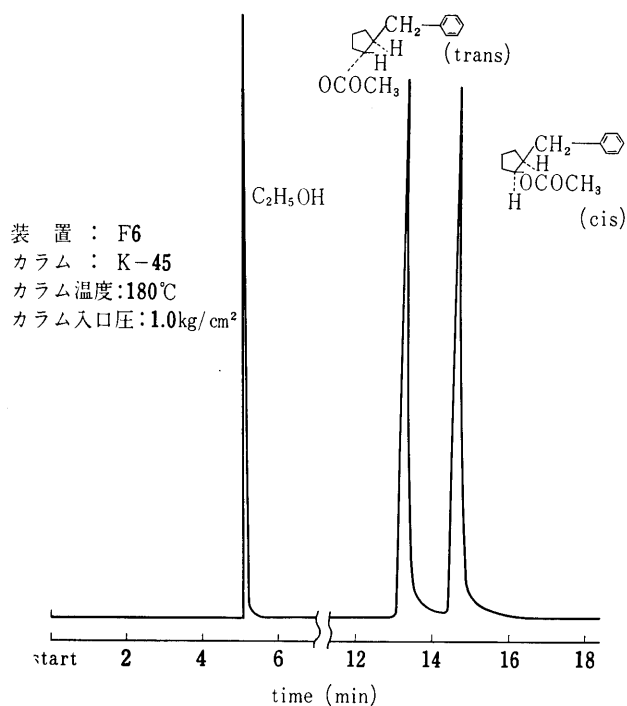


図 5

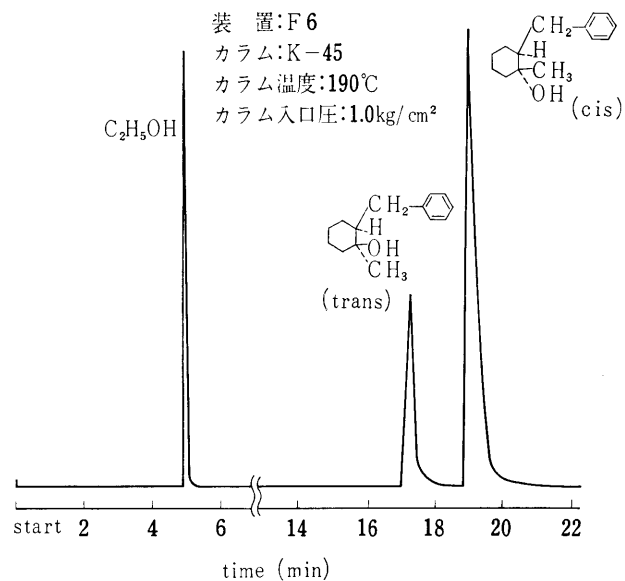


図 8

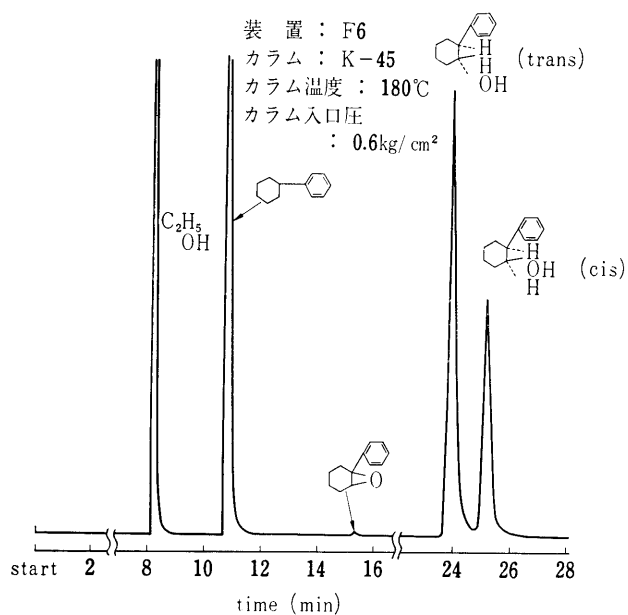


図 6

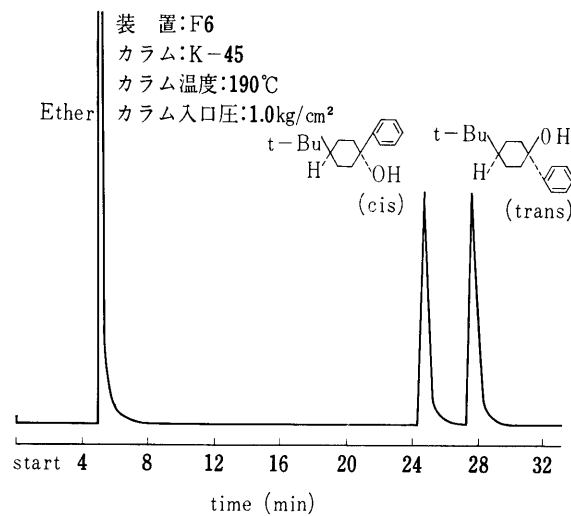


図 9

3.2 エリトロ，トレオ異性体の分析

図11, 12は2,3-ジフェニルブタンのエリトロ，トレオ異性体の混合物を充填カラム（図11）と Golay カラム（図12）で分析した結果であり，後者の方がきわめてよいことが明らかである。

図13はシス- α , α' -ジメチルスチルベンオキシドをラネーニッケル触媒で水素化した生成物の分析結果であり，2,3-ジフェニルブタンおよび2,3-ジフェニル-2-ブタノールの両異性体が同時に分析できた。なお，後者の化合物は充填カラムでは分析不可能であった。

3.3 ジアステレオマーの分析

図14は tert-ブチルグリオキシシル酸（-）メンチルエステルをパラジウム-炭-B触媒により水素化した生成物のクロマトグラムであり，tert-ブチルグリコール酸（-）メンチルエステルのジアステレオマーが明瞭に分かれオキシ酸を遊離させることなく不整還元率が測定できた例である。しかし，tert-ブチル基の代りにメチル基の結合した乳酸（-）メンチルエステルのジアステレオマーは同条件下で分離しなかった。

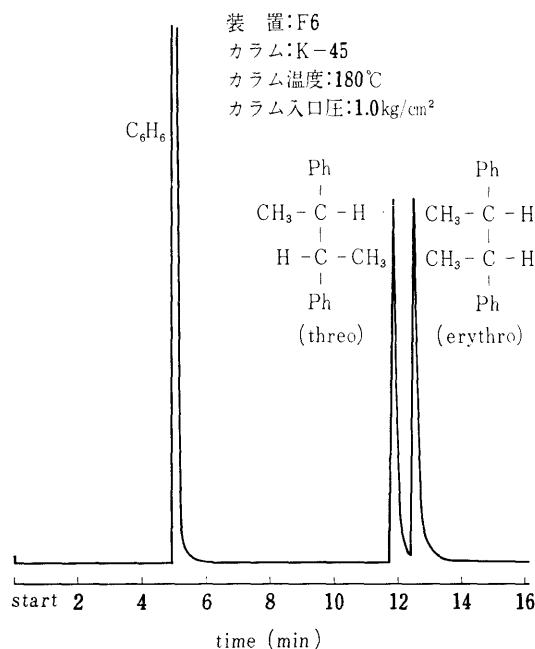


図12

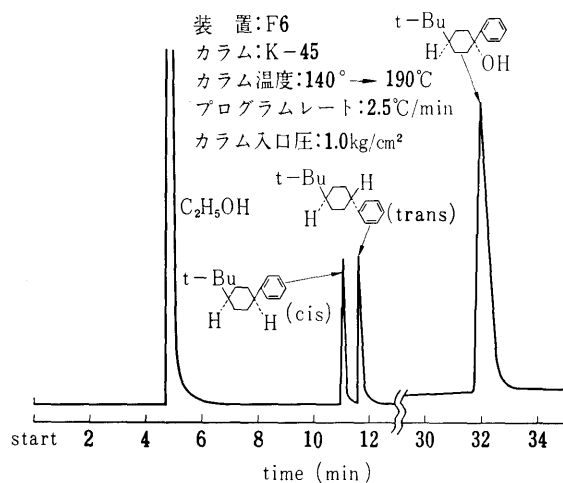


図10

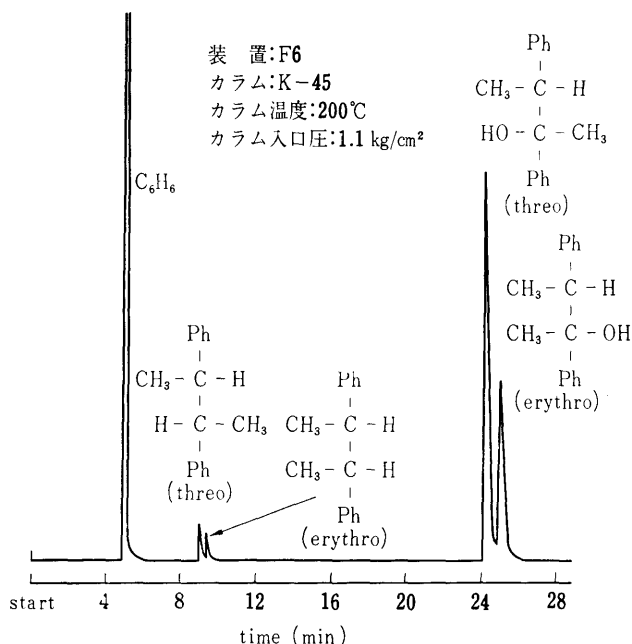


図13

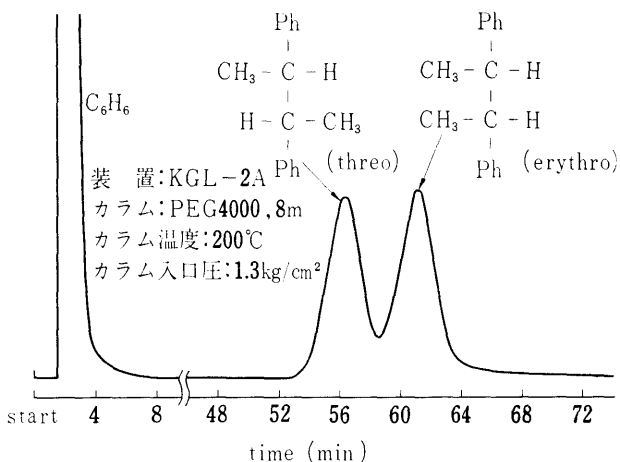


図11

4. 考 察

図2, 3および図7, 8のシス，トランス異性体の保持時間がそれぞれ逆になっているが，これは命名のための基準置換基が異なるためこれらの化合物はすべて水酸基と2位のアルキル基がシス位にある異性体の保持時間が短くなっている。この傾向は図4の場合も同様である。しかし，2位がフェニル基である図6では逆の関係になっている。また，図4, 5のように水酸基をアセチル化することにより分離がよくなるばかりでなく両異性体の保持時間が逆転する場合もある。しかし，アルコールのすべてがアセチル化により分離がよくなるとは限らない。たとえば，図

2, 7 の生成物をアセチレン化した場合はアルコール自身よりむしろ分離し難くなった。要するにアルコールとその誘導体ではそれらの異性体間の性質の差が異なるから、アルコール自身で分離できない場合は適当な誘導体に導くことによりカラムの液相を変えることなく分離できる可能性のあることがわかる。

つぎに、図12, 13のようにエリトロ、トレオ異性体も Golay カラムにより非常に容易に分析できたが、図14のようにジアステレオマーの分析もできた。このことはジアステレオマーの関係が本質的にはエリトロ、トレオの関係と同じであるから分析可能なことが推定されるが、その例は少ない**ので非常に興味がある。図14の生成物と類似化合物である乳酸(一)メンチルエステルでは分離しなかったことは不整炭素にメチル基より立体的に大きな tert-ブチル基の結合した分子のほうがそのジアステレオマー間の性質の差が大きくなるためと思われる。

以上の結果は同一液相カラム (PEG 4000) による測定結果であるが、これまでの充填カラムでは分析できても非常に時間を要したり、または全く分析不可能であった比較的高沸点の化合物でも Golay カラムを使用することによりきわめて容易に分析できる場合の多いことが明らかである。したがってその他の液相を有する Golay カラムを使用すればさらに多くの立体異性体の分析が可能になるであろう。

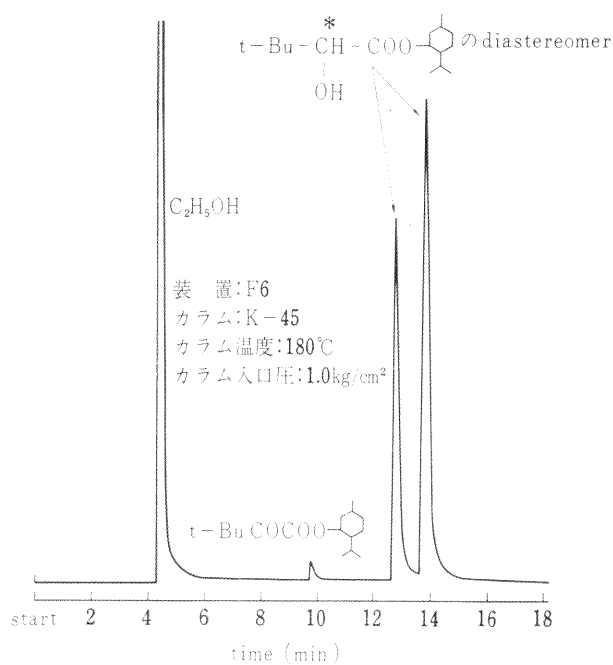
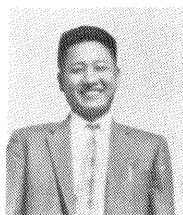


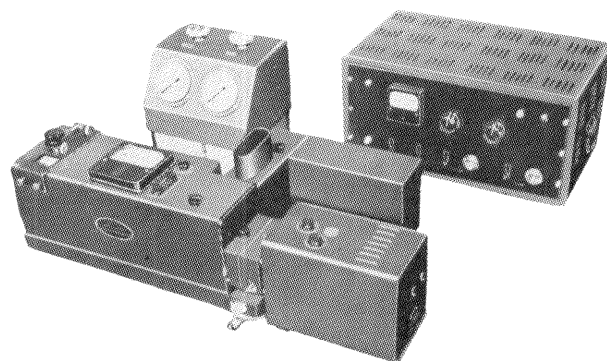
図14

原子吸光分光分析法による血清電解質 (Na, K, Mg, Ca) の測定について

酒井正衛*



酒井正衛



RA-1 形原子吸光付属装置を装着した EPU-2 形日立分光光度計

生体における電解質の重要性についてはいうまでもないが、その測定法の複雑さは多くの人が常に不便を感じているところである。最近簡易、迅速、正確を旨とする臨床検査にマッチしそうな原子吸光分光装置 RA-1 形が日立製作所より発売された。本学はその第2号機を昭和37年度に購入した。

著者は本機を使用し、臨床検査として血清電解質測定の実験を得たので、その2~3の点について吟味し、測定法を紹介する。

**この種の例として Arcus らの報告がある。

C. L. Arcus, L. A. Cort, T. J. Howard, Le Be Loc, J. Chem. Soc., 1960, 1195.

C. L. Arcus, T. J. Howard, J. Chem. Soc., 1961, 670

C. L. Arcus, J. M. J. Page, J. A. Reid, J. Chem. Soc., 1963 1213.

* 岐阜県立医科大学総合研究室

測定用器機および試薬

1. 日立分光光度計 EPU-2形, 日立原子吸光分光装置 RA-1形
2. オルガノ式純水製造機で調製した純水 (比抵抗 $500 \times 10^4 \Omega \cdot \text{cm}$ 以上)

3. 希釈用ストロンチウム溶液

特級塩化ストロンチウム 8.05 g を純水に溶かして 1 ℓ としたものの。

4. 希釈用 EDTA-Di-Na 溶液

特級 EDTA-Di-Na の 10,000 ppm 濃度溶液。

5. 基準液

特級 NaCl	8.1836 g
特級 KCl	0.3355 g
特級 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.2465 g
特級 CaCO_3	0.2502 g
特級 Conc. HCl	1.0 ml

以上を 50~70 ml の純水に完全に溶解して全量を 1 ℓ とする。

それぞれの最終濃度は

Na ⁺	140 mEq/l
K ⁺	4.5 mEq/l
Mg ⁺⁺	2.0 mEq/l
Ca ⁺⁺	5.0 mEq/l

である (冷所に保存すれば 6 カ月は安定)。

測定準備

1. 5 ml 用注射器, $1/1$ 注射針, スピッツグラスは純水で清浄にしたものを乾燥滅菌して使用する。
2. 患者からの採血は早朝空腹時とし, 3~5 ml 採血する。
3. 採血後凝血した血液は直ちに 2,000 rpm, 10 分間遠心分離する。血清をポリエチレンチューブに分取する。
4. 分取した患者血清はそれぞれ次のように希釈する。
 - a. K, Mg, Ca 測定用 5 倍希釈液
希釈用ストロンチウム溶液 2 ml に血清 0.5 ml を加えよく振って混和する。
 - b. Na 測定用 200 倍希釈液
純水 4 ml に上記 5 倍希釈液 0.1 ml を加えよく振って混和する。
5. 測定

検量線

1. K, Mg, Ca の検量線の作製

基準液を希釈用ストロンチウム溶液で 5 倍, 10 倍に希釈調製した溶液のそれぞれの吸光度と原点を結ぶ (図 1)。

2. Na の検量線の作製

上記 5 倍, 10 倍希釈液を更に純水で 200 倍, 400 倍になるよう希釈した溶液のそれぞれの吸光度と原点を結ぶ (図 1)。

グラフ上の検量線を図 1 のように画けば, 正常範囲が中心に集まりそれぞれの金属濃度の読みとり, それぞれの金属濃度の相互関係が一目で迅速に判読できる。

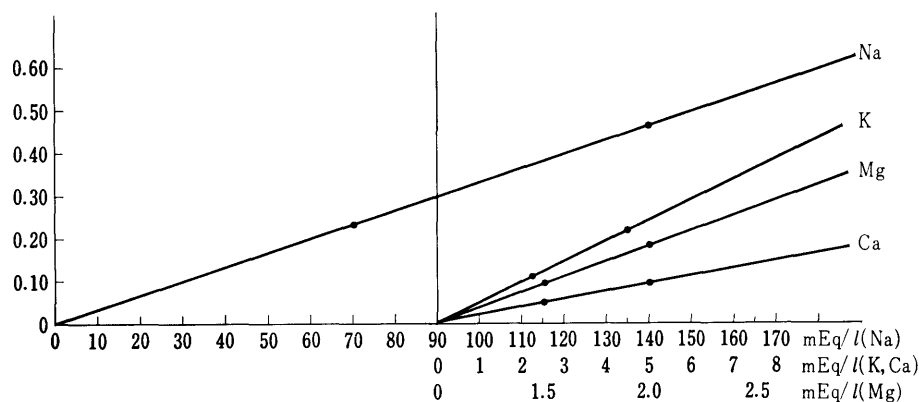


図 1 検量線

計算式

検量線を使用しない場合

K, Mg, Ca の場合は 5 倍液の吸光度, Na の場合は 200 倍液の吸光度を用いて次式で算出する。

$$\begin{aligned} & \text{未知試料} \times \frac{\text{基準液のそれぞれの mEq/l}}{\text{基準液の未知試料と同一希釈倍液の吸光度}} \\ & = \text{求めるそれぞれの mEq/l} \\ & \text{未知試料濃度} \end{aligned}$$

回 収 率

1. K, Mg, Ca 測定の場合

希釈用ストロンチウム溶液 4 ml 入試験管 3 本を用意し、1 本目は Blank 用とし純水 1 ml、2 本目に血清 1 ml、3 本目に基準液 0.5ml と同一血清 0.5ml を入れてそれぞれよく混和し、それぞれの金属濃度 mEq/l をそれぞれの吸光度から検量線を用いて算出する。回収率は

$$\frac{2 \times \left(\frac{\text{基準液混合血清のそれ}}{\text{その金属濃度 mEq/l}} - \frac{\text{同一血清のそれぞれ}}{\text{その金属濃度 mEq/l}} \right)}{\text{基準液のそれぞれの mEq/l}} \times 100 = \text{回収率\%}$$

2. Na 測定の場合

上記回収率を算出するために準備した 3 本の試験管から 0.1ml 宛採取し、別に準備した純水試験管 3 本にそれぞれ入れてよく混和してそれぞれの Na 濃度を算出する。次に上式を用いて回収率を計算する。

測 定 操 作

日立製作所の指示した操作による（表 1）。

表 1 各種ランプ放電電流値および測定条件

ラ ン プ	電 流 値 (mA)	安定するまでに要 する時間 (min)	波 長 (Å)	ス リ ッ ト 幅 (mm)	炎
Na	—	20	5,890	0.03	アセチレンガス 0.25 kg/cm ² 空気 1.30 kg/cm ²
K	—	20	7,665	0.10	
Mg	35	20	2,852	0.20	
Ca	50	20	4,225	0.035	

表 1 の条件で実際に任意に選んだ血清を純水、EDTA-Di-Na 溶液、ストロンチウム溶液を用いて希釈し、それぞれの金属濃度に対応する吸光度を測定し、回収率を算出して吟味をした（表

2, 3, 4）。中でもストロンチウム溶液で希釈した血清から得られる各金属濃度および回収率は良好な結果であった。

表 2

No.	希 釈 剤	Na	density K	Mg	Ca	Cl (mEq/l)
1	純水*	0.415	0.260	0.160	0.090	111
2	"	.440	.150	.115	.095	113
3	"	.450	.150	.115	.090	116
4	"	.440	.155	.115	.095	112
5	"	.460	.145	.120	.095	121
6	"	.440	.135	.100	.080	106
基準液	"	.450	.215	.200	.095	
1 + 基準液	"	.435	.220	.165	.100	
回収率		100.5%	95.0%	92.0%	108.0%	

* イオン交換樹脂による純水。

表 3

No.	希 釈 剤	Na	density K	Mg	Ca
1	EDTA**		0.185	0.120	0.085
2	"		.200	.145	.090
3	"		.200	.140	.085
4	"		.185	.150	.090
5	"		.185	.120	.075
基準液	"		.250	.185	.090
5 + 基準液	"		.215	.150	.090
回収率			98.6%	98.2%	190.0%

**EDTA-2 Na 10,000 ppm 溶液を使用。

表 4

No.	希 釈 剤	Na	density K	Mg	Ca
1	SrCl ₂ ***	0.460	0.175	0.150	0.080
2	"	.460	.170	.145	.080
3	"	.455	.175	.145	.075
4	"	.460	.155	.150	.080
5	"	.440	.160	.120	.070
基準液	"	.460	.220	.180	.095
5 + 基準液	"	.455	.190	.150	.080
回収率		100.1%	100.0%	100.0%	97.0%

*** SrCl₂ 8.05g/l 溶液を使用。ただし Na のみは純水で更に希釈して 200 倍とした。

結 語

臨床検査として原子吸光分光分析法を導入するにあたり、2～3 吟味を加え本ストロンチウム希釈法を案出したので紹介した。

1. 本法は検量線の直線性、回収率ともに良好、使用血清が少なくてすみ大量の検体を 1 度に消化し、かつ短時間に 4 種類の金属濃度が測定できることは、従来の測定法に比して優位である。
2. ストロンチウム溶液による希釈法は K 測定時共存する Na による妨害は僅少である。Mg, Ca の場合も同様に妨害因子を除去できる。
3. Na の場合は希釈度が高いため共存イオンによる妨害は認められない。
4. Mg 値はネフローゼ、痛風、無尿症等の場合に 2 mEq/l 以上の高値を示す。Ca 値はカルシウムキットから得られる値とよく一致する。

なお健康者血清および脊髄液の電解質を本法で測定し次の結果を得た。

	Na mEq/l	K mEq/l	Mg mEq/l	Ca mEq/l	Cl mEq/l
血 清 (103 例)	139±4.0	4.1±0.2	1.6±0.1	4.5±0.3	105±3.0
脊 髄 液 (20 例)	131.0	2.80	2.20	2.40	103.0

(本要旨は昭和 39 年 8 月 原子吸光分光分析研究会で発表した。於大阪・電子会館)

文 献

1. J. B. Willis: Spectrochim. Acta **16**, 259 (1960); **16**, 273 (1960); **16**, 551 (1960)
2. J. B. Willis: Anal. chem. **33**, 556 (1961)
3. J. W. Robinson: Anal. chem. **33**, 1069 (1961)
4. 長谷川敬彦・中根清司: 医学のあゆみ **39**, 772 (1961)
5. 武内次夫・鈴木正巳共著: 原子吸光分光分析法 (昭和 39 年 2 月発行) 南江堂
6. 加藤暎一: 最新医学 17 巻, 9 号, 2220 (1962)
7. 大野丞二: 日本医事新報 No. 2108, 168 (1964)

キャピラリーカラムによる脂肪酸異性体の分離

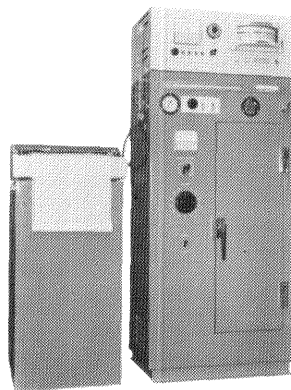
川 瀬 義 行*・白 井 浩*



川 瀬 義 行



白 井 浩



KGL-2B 形 日立万能形ガスクロマトグラフ

* 日清製油株式会社・研究所

ガスクロマトグラフィーの分野において、従来の充填カラムに変わってキャピラリーカラムを使用する方法は1958年 Golay¹⁾によって提案されて以来、そのすぐれた分離能ゆえ、急速に発展・普及しはじめた。キャピラリーカラムは通常長さ30~100 m、内径0.25 mm 内外の毛細管の内壁に液相の薄膜を付着させたもので、0.3mあたり500~1,000の理論段数を期待することができる。検出器としては通常の熱伝導度形検出器よりも数等高い感度をもつ検出器を使用しなければならず、中でも水素炎イオン化検出器はとくに有用であり広く採用されている。本カラムを用いたガスクロマトグラフィーは、現在脂質分析において非常に大きな貢献をなしつつある。部分水添した、または異性化した長鎖不飽和脂肪酸エステルおよび不飽和グリセリドを種々の触媒の存在下に水素添加、もしくは異性化を行なうと、採用した条件により、得られる生成物脂肪酸分子中で、二重結合位置が移動したり、立体配置が異なったりして、さまざまな異性体が生成する。これらの異性体の分離は従来充填カラムを用いて検討されてはいたが、一般に困難な場合が多く、他の機器分析法あるいは化学的手段を用いても、生成物の検討は容易ではなかった。

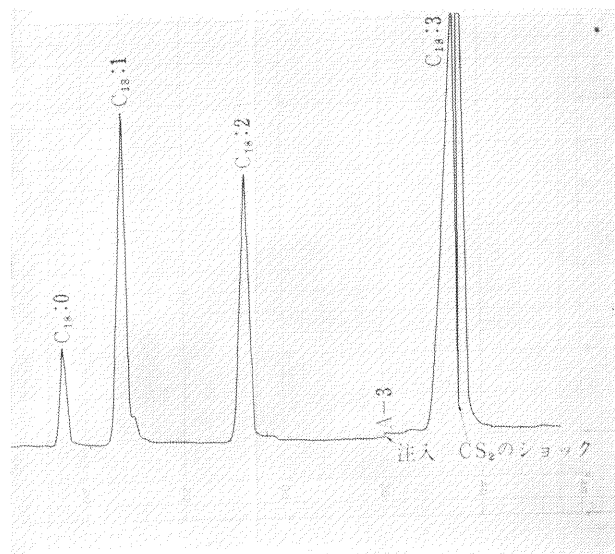
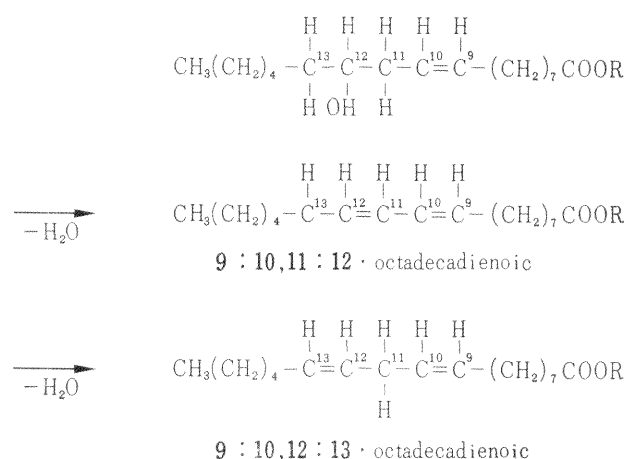
Kauffman²⁾は1960年アピエゾンLの30m キャピラリーカラムを用いて、オレイン酸メチル、エライジン酸メチル相互の完全分離に初めて成功し、この方面の研究に先鞭をつけた。その後、Litchfieldら^{3),4),7)}, Butterfieldら⁵⁾, Frankelら⁶⁾が、アピエゾンL、ポリエステル、ニトリルシリコンカラムを用い、種々のオクタデセン酸メチル異性体の分離を報告し、キャピラリーカラムの有用性を明らかにした。

第1図、第2図にステアリン酸メチル5%，オレイン酸メチル18%，リノール酸メチル15%，リノレン酸メチル61%混合物およびそれらを水素添加したものガスクロマトグラムを示す。操作条件はカラム温度170℃，試料室温度300℃，キャリアガスは窒素0.5 kg/cm²，記録紙速度5 mm/min，測定装置は、日立ガスクロマトグラフ KGL-2A 形，付属 FID-2 形 フレームイオン化検出器，カラムとしてブタンジオール，サクシネート，長さ90mの0.25φ キャピラリーに付着させたものを用いた。第1図からもわかるように水素添加前では、充填カラムにおける同様のクロマトグラムが得られ、おのおののピークは二重結合数，炭素数で分離し、異性体の存在が認められないが、これを水素添加したものは、第2図のようにオレイン酸、リノール酸、リノレン酸各メチルエステルのピークは生成した異性体のため、いくつかのピークに分離する。

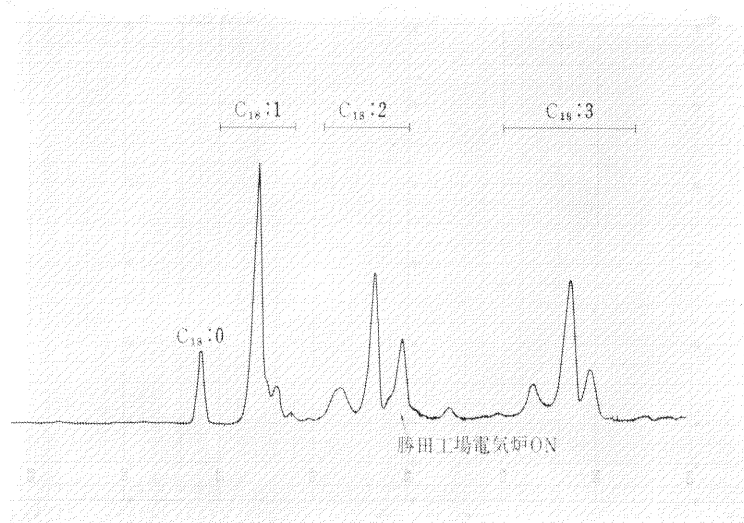
第3図は脱水ヒマシ油脂肪酸メチルの分析例である。ヒマシ油に含まれるリノール酸を、硫酸水素ナトリウム触媒の存在下に加熱すると、一般に次式に従って脱水が行なわれ、9:10, 11:12-もしくは、9:10, 12:13-octadecadienoic acidを生じる。このものは乾性油として工業的に重要であり、とくに共役二重結合を含む前者の酸の含有量が問題となる。また、上記反応の過程において、一部二重結合のトランス化が起こることが知られており、これらの反応の組み合わせにより複雑な生成物ができる。共

役ジェン酸メチルはポリエステルを固定液相とする充填カラムで非共役のものと分離することができるが、シス-トランス、シス-シス、およびトランス-トランス幾何学異性体の相互分離は十分でなく、キャピラリーカラムを用いることにより初めて良い結果が得られる。これら各脂肪酸の分析は他の分析法では非常に困難なものであり、従来の紫外スペクトル法による共役酸の分析法⁸⁾にかわり、今後キャピラリーカラムを用いた分析法が日常分析に取り入れられるものと思う。なお、クロマトグラム中、各ピークの同定は、Litchfield ら⁴⁾の結果と比較して推定を行なったものであり、詳しくは目下検討中である。

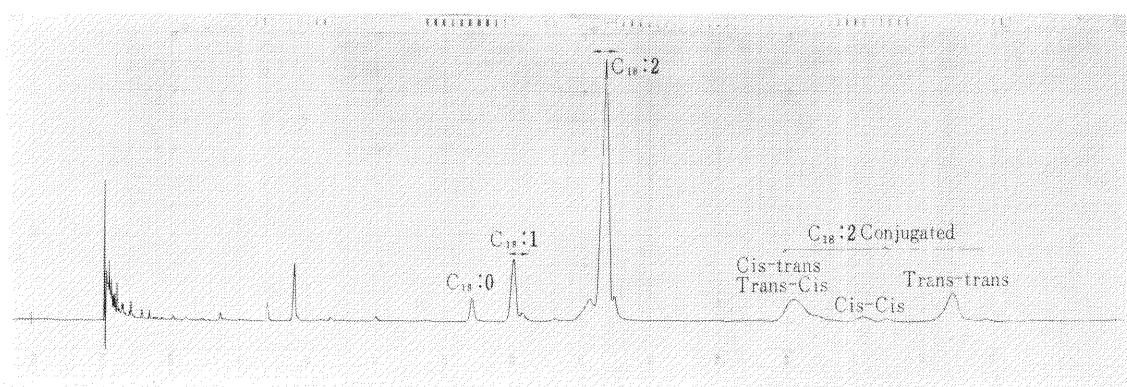
以上、キャピラリーカラムを用いた脂肪酸メチルの分析例を示したが、本カラムは二重結合位置異性体、幾何学異性体のみでなく、動物脂に含まれる微量の分枝脂肪酸、奇数脂肪酸の検出にも非常な威力を発揮し、油脂の分野にさらに新しい情報を提供してくれるものと思われる。



第1図



第2図



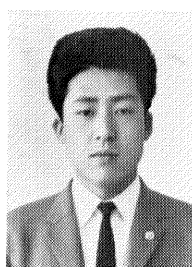
第3図

文 献

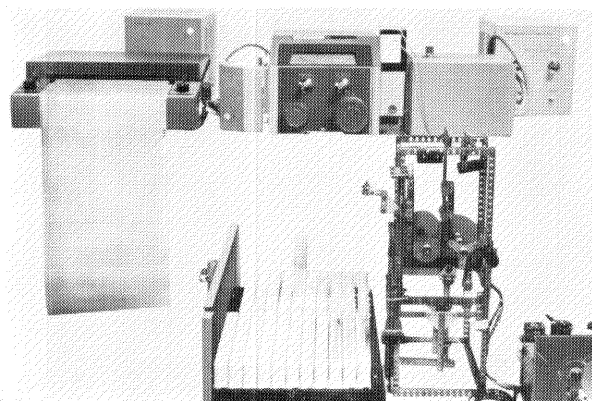
1. Golay, M. J. E., "Theory of Chromatography in Open and Coated Tubular Columns with Round and Rectangular Cross Sections" Butterworths London (1958)
2. F. L. Kauffman et al., J. Am. Oil, Chemists' Soc., **37**, 385, (1960)
3. C. Litchfield, A. F. Isbell, R. Reiser, *ibid* **39**, 330 (1962)
4. Litchfield, R. Reiser, A. F. Isbell, *ibid*, **40**, 302 (1963)
5. R. O. Butterfield, C. R. Scholfield, H. J. Dutton, *ibid.*, **41**, 397 (1964)
6. E. N. Frankel, E. P. Jones, V. L. Davison, E. Emken, H. J. Dutton, *ibid.*, **42**, 130 (1965)
7. C. Litchfield, R. Reiser, A. F. Isbell, G. L. Feldman, *ibid.*, **41**, 52 (1964)
8. 日本油化学協会編, 基準油脂分析, 試験法, P. 121 (1956)

139による連続比色装置の試作

黒田 正男*



黒田 正男



139形 日立分光光度計に装置した連続比色装置の全容

* 大阪大学医学部大学院中央研究室

はじめに

最近分析技術方面における自動化は、エレクトロニクスの発展と相まって長足の進歩をとげている。たとえばオートアナライザ、あるいはアミノ酸自動分析装置、スペクトロクローム等のごときものまで市販され、いわゆる分析技術のオートメーション化が急速に促進されつつある。しかしながらこれらの機器を一般の研究室へ導入することは研究予算の面からも容易なことではない。そこで研究室にある最も基礎的な機器を関連運動せしめることによって平常行なわれていることのオートメーション化を計画してみた。このおもな動機は液体クロマトグラフのごとくカラムから自動的に試験管内に溶出液が分注されるフラクションコレクタの装置は全て自動的であるにもかかわらずそのあとの測定は手動で行なわれているのが現状である。したがって多数の試験管内溶液を全自動的に測定記録しようとしたのがこの試作の目的である。

装置の概略

図1に示すごとく、試験管移動台（フラクションコレクタ）と139 分光光度計と159 レコーダーとの三つの基本的な機器からなっている。試料吸い上げ用ポンプは注射筒を用いた。測定用セルは自作の10mmのフローセルを使用しそのセルの上下両端はテフロンチューブで連結されており、上部チューブは試料吸引用ポンプに接続し、下部チューブの先端はピペット状で試験管内に下降（試験管外へ上昇）するようになっている。

これらの一連の装置の動きは図2に示すように全てリレー、タイマーなどによって関連運動するわけであるが一測定約35秒で終わり次に同じ運動をくり返し次の試料の測定を行なう。すなわち試験管内の試料液中にチューブ先端ピペットが下降し終わるとポンプが作動し測定セル上部までの一定量（本装置では2.8 cc）を吸い上げる。ポンプの吸引運動が終わると同時に139 分光光度計に取り付けてある自動シャッターが開かれ測定値がレコーダーに記録される。この時間はタイマーによって設定され所定の時間後シャッターは閉される。これと同期して、ポンプの排出運動とピペットの上昇運動が始まる。ポンプの排出運動が完全に終了すると同時に試験管移動台の駆動が始まり、一方ポンプは直ちに次の試料に備えて吸引位置にまで排出用の余剰空気を吸引しながらもどる。ポンプが試料吸引位置まで戻る間に試験管の移動は完了しピペット直下に次の試験管が用意される。こうして再びピペットの下降、測定用セル内吸い上げ、測定記録がくり返されるわけである。

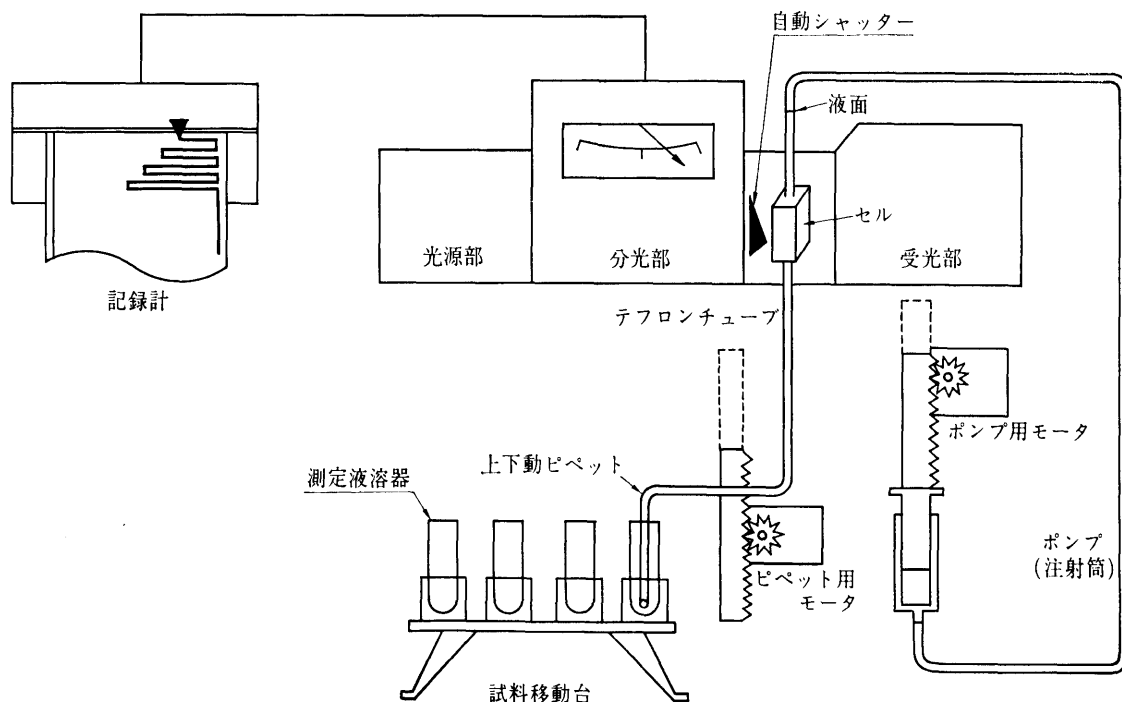


図 1

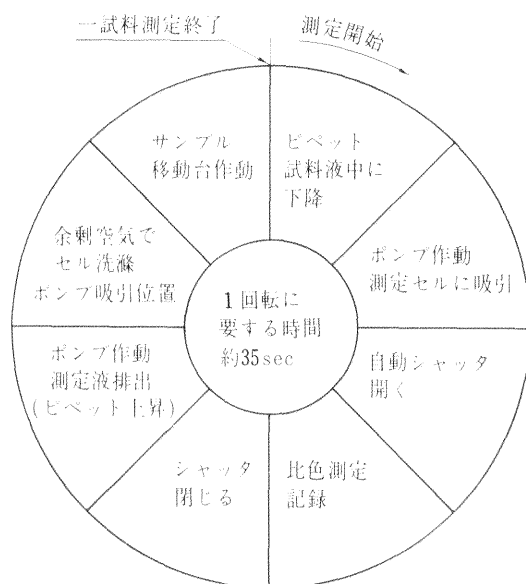


図 2

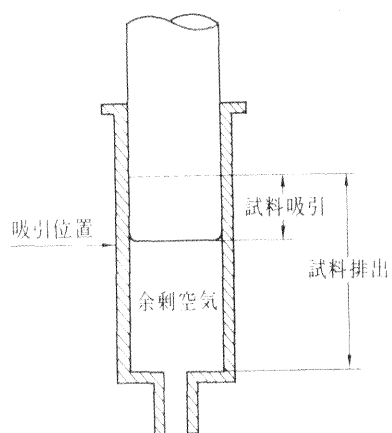


図 3

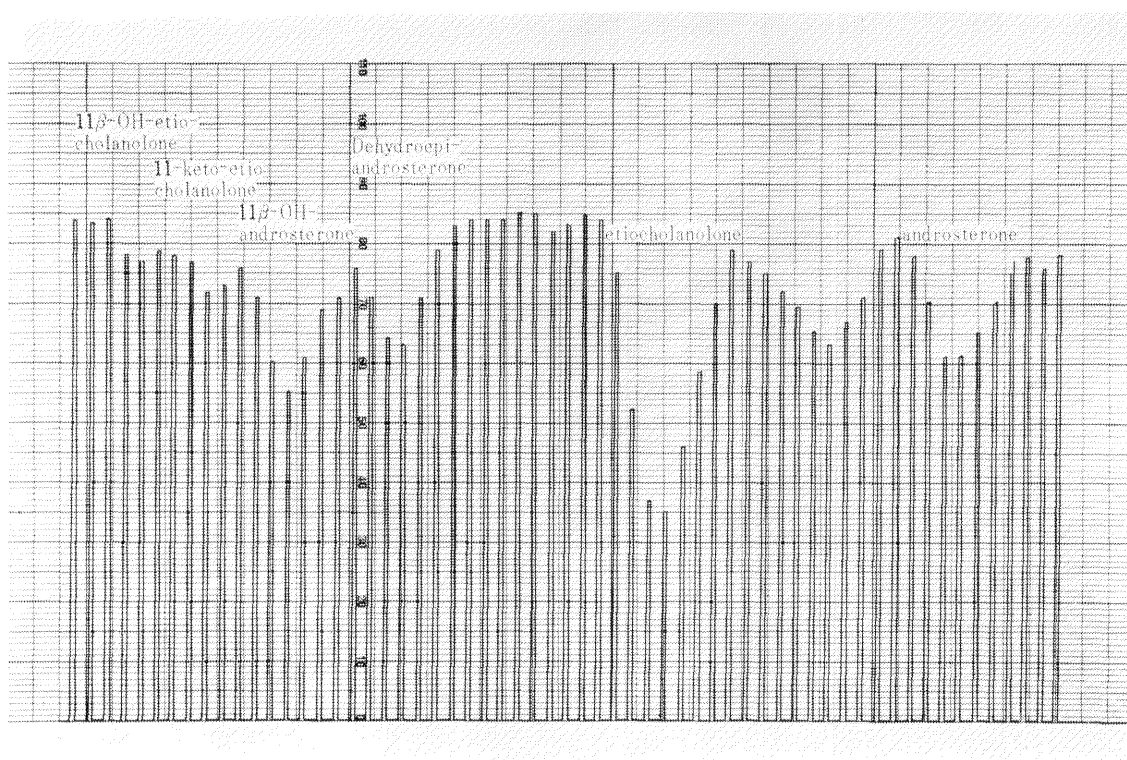


図 4 ホルモンの定量

男子尿 200ml より抽出した 17-ketosteroid
(glucuronide+sulfate+free)

Zimmermann 反応

測定波長 520 m μ

測定本数 60本

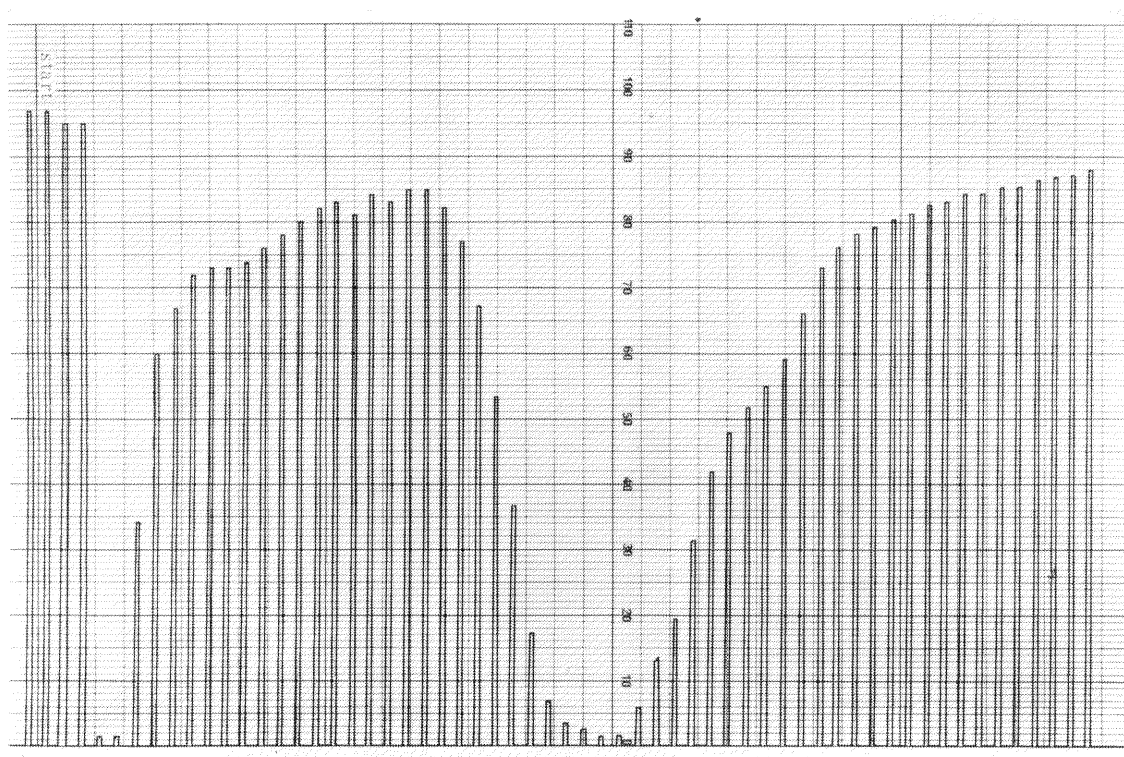


図 5 Glutamic Oxaloacetic Transaminase (GOT)

測定波長 280 m μ
測定本数 60本

実験とその結果

本装置を用いた実験結果は図4、図5に示すようにレコーダ上には各フラクションの透過率が明確に記録されている。この実験において特に留意した点は測定後の試料をいかに完全に測定用セルおよびチューブから排出するかにあった。この点については図3に示すようにポンプの試料吸引量に対し2倍以上の排出量の運動を行なわしめることによって測定精度の向上をはかった。すなわち排出用の余剰空気を試料吸い上げ前にポンプ内にためておき、排出時にはこの空気によって積極的に測定セルおよびチューブ内の洗浄を行なったわけである。これによって得た結果と、一本ずつ順次手動で測定した値との比較では1.3%前後の誤差にとどまった。ただし、順次一本ずつ手動で測定した場合は通常の測定セルで洗浄、乾燥等は行なわず口紙上にセル上部を下にして直立させ、よく試料を適下せしめることで逐次測定を行なった結果との比較である。

考 察

以上の結果から液体クロマトカラムより連続的に分注された試験管内の試料測定においては、一応期待どおりの結果を得ることができた。これによっても1日10時間の稼動を行なわしめるなら、約1,000本の試料を測定し得ることになり、夜間展開した液体クロマト用フラクションコレクタ約10台分(100本立)を測定記録させることが可能となる。もちろん本装置に要求されることは、分光光度計の安定性とこれが関連動作部分に耐久性のあることは当然である。なお海外において液体カラムからコレクタに分注する以前にフローセルによって測定する装置があるが、カラム1本の溶出が終了するまで一連のこうした装置を必要とし、またこれら測定機器を低温室などに長時間放置することにも問題があるように考え、あえて研究室にある基本的なものを組み合わせて、本装置を試作し、これを紹介した次第である。次の課題として引き続き那珂工場ならびに当研究室奥村らと協力し試験管内試料に試薬を分注せしめ、かつ加熱冷却等も行なわしめこれを測定する一連の簡単な装置の開発を行なっているが次回にこれは改めて発表する予定である。

文 献

- 1) S. Siggia: "Continuous Analysis of Chemical Process System" J. Wiley (1959)
- 2) 高橋, 小西: 連続分析法, オーム社 (1963)
- 3) A. Ferrari, G. Kessler: Ann. NY Acad. Sci., **87**, 658 (1960)
- 4) G. E. Schaiberger, A. Ferrari: Ann. NY Acad. Sci., **87**, 890 (1960)
- 5) G. D. Winter: Ann. NY Acad. Sci., **87**, 875 (1960)
- 6) A. Ferrari: Ann. NY Acad. Sci., **87**, 792 (1960)
- 7) A. Ferrari: Anal. Chem., **31**, 1710 (1959)
- 8) A. Ferrari: "Mcgraw-Hill Yearbook of Science and Technology" 1962, 152

THE HITACHI Scientific Instrument News Vol. 8 No. 5

昭和40年9月20日印刷

昭和40年10月1日発行

非売品

年6回毎偶数月発行

編集人 藤 森 慶 一

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