

THE HITACHI SCIENTIFIC INSTRUMENT NEWS

April

1968

Vol. 11

No. 2

■EPS-3T形 日立自記分光光度計によるミトコンドリアの呼吸酵素濃度の測定

緒言 ミトコンドリア(Mt)の電子伝達系を構成している酵素は、可視部に特徴ある吸収スペクトルを示し、その吸光度からそれぞれの濃度を測定することができると共に、吸



関 周司



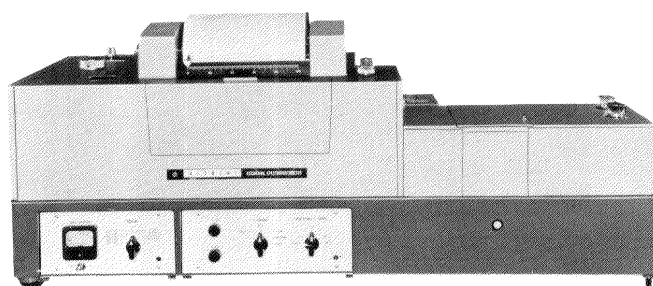
小田 琢三

収スペクトルの変動からその機能状態を知ることができる。しかし、実際には呼吸酵素量を直接測定する場合、一般に濁った状態で測定せねばならないので、散乱光によるバックグラウンドの上昇があり、また数種の呼吸酵素が含まれているために吸収曲線が重なってその正確な定量が困難である。これらの困難を克服するためにこれまで多くの努力が払われてきた。差スペクトル法はその基本であるが、試料の面ではMtに胆汁酸などのディターゼントを加えて透明化して測定する方法や高稠蔗糖液にMtを懸濁して光の散乱を少なくする方法が考えられ、装置の面ではオパール・ガラス法、積分球法、エンドオン形光電子増倍管に試料を密着させる方法などあり、またダブルあるいはトリプルビーム法や低温スペクトル法などが開発されてきた。筆者らは、日立EPS-3T形自記分光光度計(積分球付属、吸光度0-0.1スケール付き)を用いて、Mtの呼吸酵素量を混濁試料のまま、直接測定し、良好な結果を得たので紹介する。

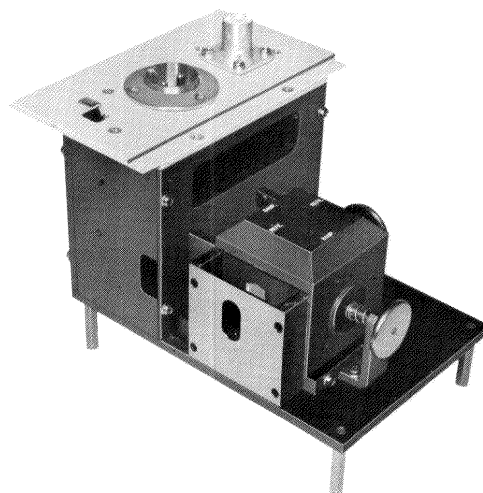
混濁試料測定に対する積分球法の有用性については、赤松¹⁾ら、品川²⁾小森³⁾の報告があるので詳述は省く。

材料と方法 ミトコンドリア：新鮮なウシ心筋をミンチし、ワーリングブレンダーにかけ、ついでガーゼおよびテトロン布で汙過した汙液を分別遠心(700×gと7,000×gの間の分画)して精製した。^{4) 5) 6)}チトクローム(Cyt.)濃度測定^{4) 6)}：Mtを0.1Mリン酸緩衝液(pH7.4)に懸濁し(通常2~5mg蛋白量/ml)、38℃に2~3分保って固在基質を除き(この操作でチトクロームは全て酸化型になる——これでも還元型を含む場合は酸化型試料として使用するもの)のみフェリシアン化カリ、一尖刀加えて酸化する)、3mlづつ3本のキューベットに分注し、任意の2本で基準線を描いた。一つのキューベットにシアン化カリ溶液(1M pH7.4~8.0)0.02mlとアスコルビン酸溶液(1M pH7.4)0.03mlを加え、他の一つのキューベットにハイドロサルファイト一尖刀(3mg/3ml)を加えて約10分後アスコルビン酸還元型—

関 周司* 小田琢三* 小森律夫**



EPS-3T形 日立自記分光光度計



EPS-3T形用 積分球付属装置

目 次

- EPS-3T形 日立自記分光光度計による
ミトコンドリアの呼吸酵素濃度の測定
……………関 周司, 小田琢三, 小森律夫…………… 1
- 原子吸光分析法の高分子化学への応用
……………西川 勇, 須藤健吾…………… 7
- 139形 日立分光光度計による、Al合金中の Cu, Ti
およびSteel中のCr, Mn, Niの簡易発光分析法について
……………長谷川政美, 服部 彰, 福満 元…………… 8
- K53形 日立ガスクロマトグラフによる高沸点成分の分析
……………中田豊哉, 秋森伯美…………… 11
- 043形 日立ガスクロマトグラフによる
液化石油ガスの分析……………吉原挑八, 柳沢徳幸…………… 13
- 日立回折格子彫刻装置
……………山田弥彦, 原田達男, 森田健二…………… 15

酸化型(Asco./Ox.)を、ハイドロサルファイト還元型-酸化型(Hydro./Ox.)ハイドロサルファイト還元型-アスコルビン酸還元型(Hydro./Asco.)の各々の差スペクトルを、波長範囲500~650m μ , 吸光度フルスケール0-0.1で記録した。これからミリモル分子吸光係数(ϵ mM $^{-1}$ cm $^{-1}$)を、それぞれCyt. a, 16($\Delta_{603}-\Delta_{630}$); Cyt. b, 20($\Delta_{562}-\Delta_{575}$); Cyt. c + c $_1$, 19($\Delta_{553}-\Delta_{540}$)として次式で計算した。

$$\text{チトクローム濃度(mM)} = \frac{\Delta A (\text{peak-trough})}{\epsilon \times \text{mg蛋白質量}}$$

濁った試料で吸収スペクトルを描いた場合極大吸収波長(peak)は透明試料の場合と殆んど変らないが(厳密には高い濁り度の場合わずかに長波長側に移動する)¹⁾谷(trough)はわずかにずれることが多い。このような場合の濃度測定はここに述べた波長対の吸光度差に厳密に従うのではなく、この波長対に対応するpeak-troughの吸光度差から求める。例えば実験2でCyt. bの575m μ に相応する谷は578m μ にあり、Cyt. c + c $_1$ の540m μ に相応する谷は536m μ にある。

ハイドロサルファイトは空気(酸素)にふれると徐々に還元力が低下するので密封保存しなければならない。アスコルビン酸は常温ではCyt. bの一部をも還元するので、それを避けるためこの測定は0~5℃で行なう。

結果と考察

(1) ウシ心筋ミトコンドリアの吸収スペクトル

0.1Mリン酸緩衝液に懸濁したB.H.M. (3.32mg蛋白質量/ml)を2本のキューベットの3mlずつ分注し、その一つをハイドロサルファイトで還元した。図1-aは0.1Mリン酸緩衝液を対照としてこのMtの酸化型(Ox.)と還元型(Red.)の吸収スペクトルを同じチャートに記録したものである。短波長になる程全体に吸収が増加しているのは、試料が混濁しているため、波長の短い光程散乱されることによる。EPS-3T形の積分球方式で測定した場合、他の方法(オパールガラス法や、2検知器法)よりも、この散乱による

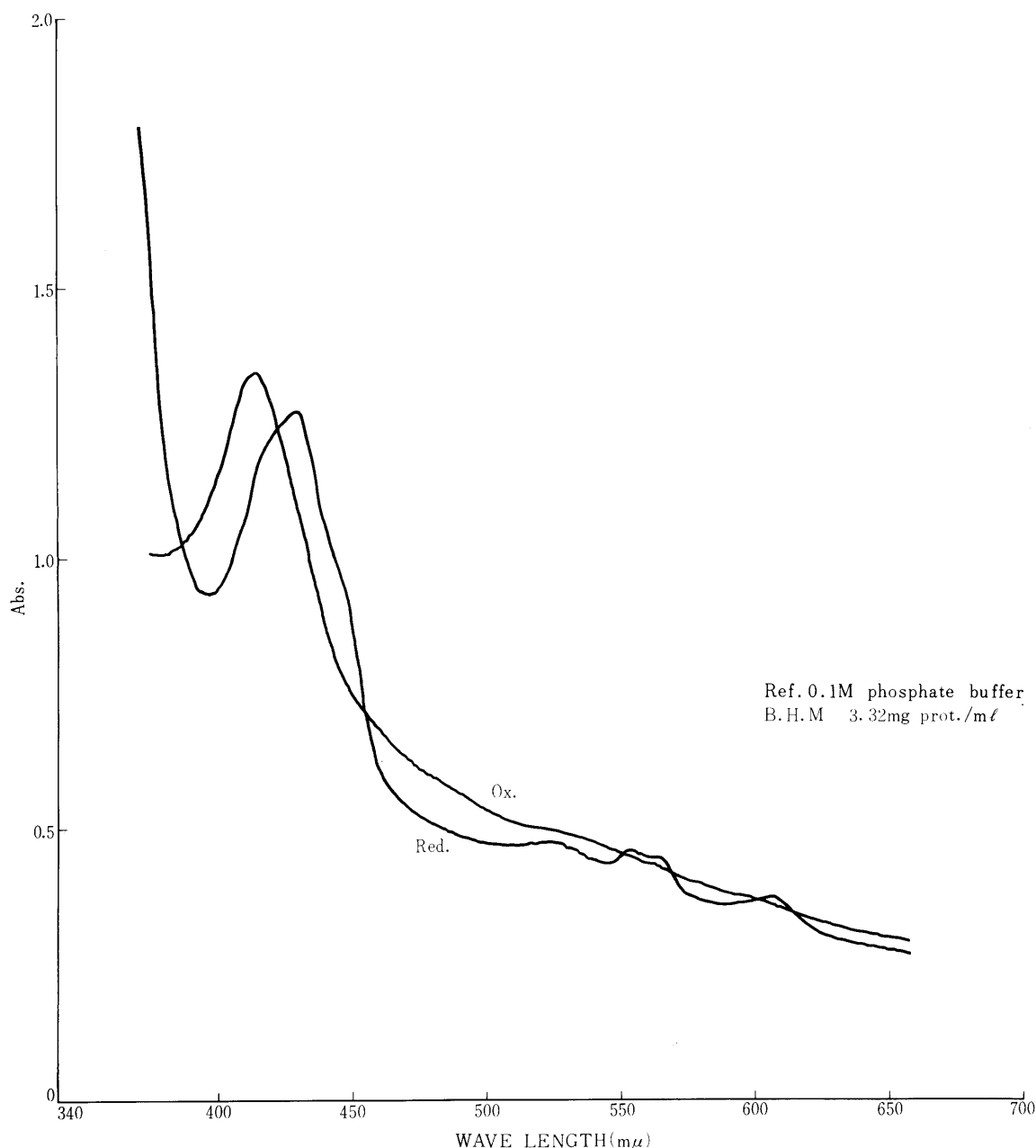


図1-a ウシ心筋ミトコンドリアの酸化、還元型スペクトル

バックグラウンドが低く、又短波長にかけた傾斜のゆるやかなことが積分球方式の利点の一つになっている。¹⁾

図1-bは同じ試料の還元型-酸化型の差スペクトルを吸光度スケール0-1で記録したもの、図1-cは吸光度スケール0-0.1でその α および β 吸収帯の部分を広大記録し

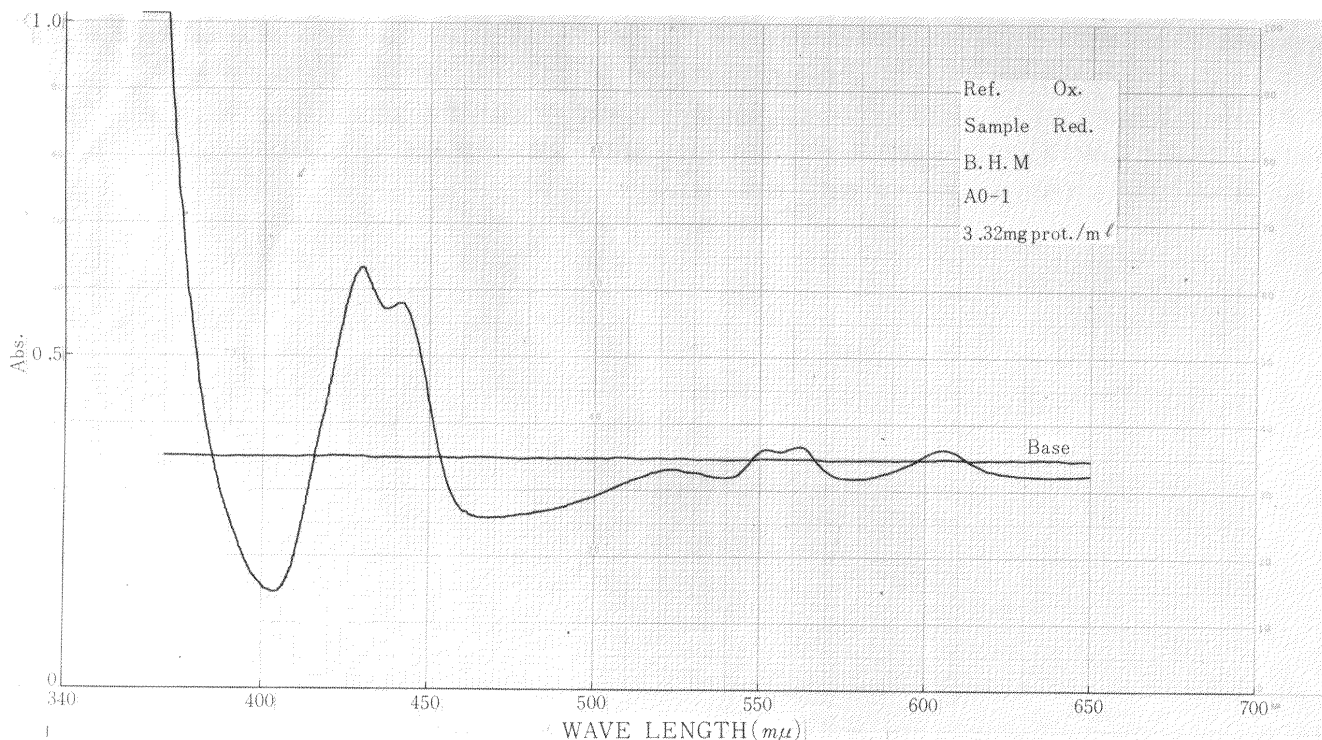


図1-b ウシ心筋ミトコンドリアの酸化、還元による差スペクトル (吸光度スケール 0-1)

たもので、波長500-650m μ 間が10倍に拡大されている。このスペクトルから明らかな様に α 帯の吸収ピークが近接しているCyt. bとCyt. c+c₁の分別も非常に良好である。Cyt. a, Cyt. b, Cyt. c+c₁, の α 帯の吸収ピークもそれぞれ、605-606, 563, 553で、一般に報告されている値とよく一致している。^{4) 6)}

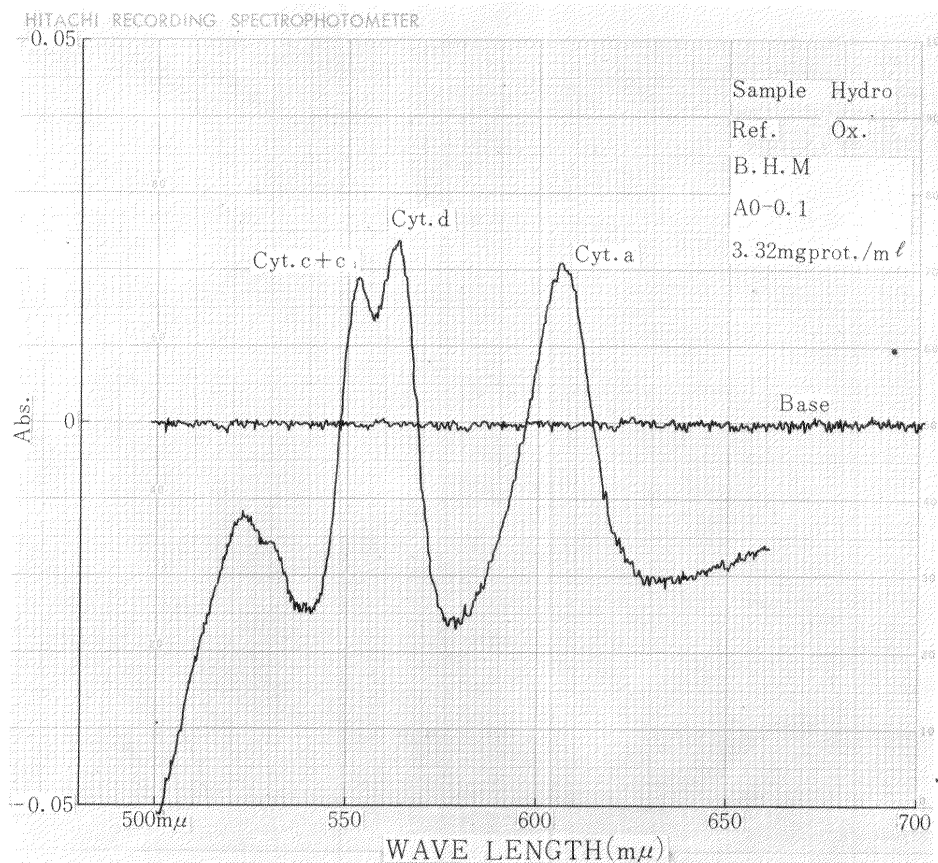


図1-c ウシ心筋ミトコンドリアの酸化、還元による差スペクトル (吸光度スケール 0-0.1)

(2) ミトコンドリアの濃度と吸収スペクトルの比例性の検討

(1) の実験で得たチトクロームの吸収スペクトルからチトクローム濃度を測定するには α 吸収帯における吸光度の変化がチトクローム濃度に比例しなければならない。混濁試料(牛乳や血液)では既に高濃度域までの比例性(Beerの法則の成立)について検討が赤松ら¹⁾によって行われている。Mtのように、わずかしき得がたい試料ではこれらより低濃度でもBeerの法則が成立することが望まれる。そこでMt懸濁液(6.70mg蛋白質/ml)を $\frac{1}{2}$ (3.35mg蛋白質/ml), $\frac{1}{4}$ (1.68mg蛋白質/ml)に希釈して吸収スペクトルの変化を観察した。

3つのpeak-troughペア $\Delta A_{605-630}$ (A, $\times$ — $\times$), $\Delta A_{563-575}$ (B, $\circ$ — $\circ$), $\Delta A_{553-540}$ (C, $\triangle$ — $\triangle$)について計測した値とMtの蛋白濃度との関係を纏めたのが、図2である。吸光度の変化はMtの濃度にはほぼ比例している。このことは相当に高い濁り度のMt懸濁液に含まれる低濃度のCyt. 成分でも、積分球付属装置と吸光度スケール0—0.1により定量できることを示している。

図3に各濃度の吸収スペクトルを示した。

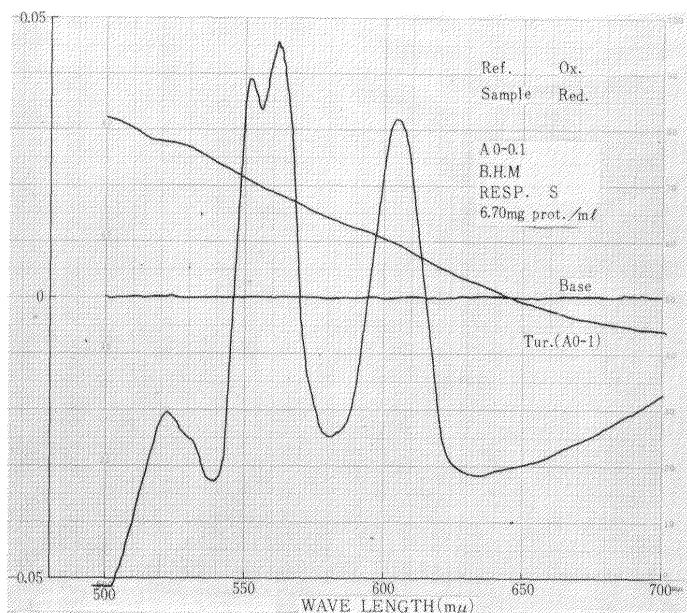


図3-a 差スペクトル法による蛋白量と吸光度の関係 (蛋白量6.70mg/ml)

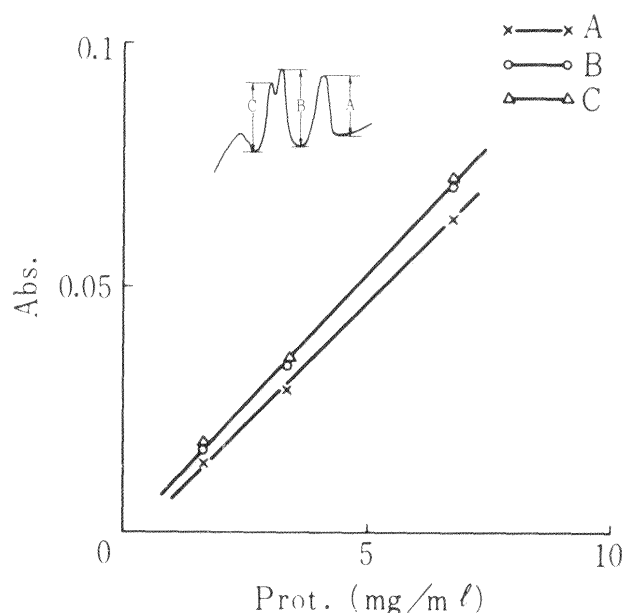


図2 差スペクトル法によるミトコンドリアの蛋白量と吸光度の関係 (チトクロームa,b,c+c'の吸収スペクトルの α 帯)

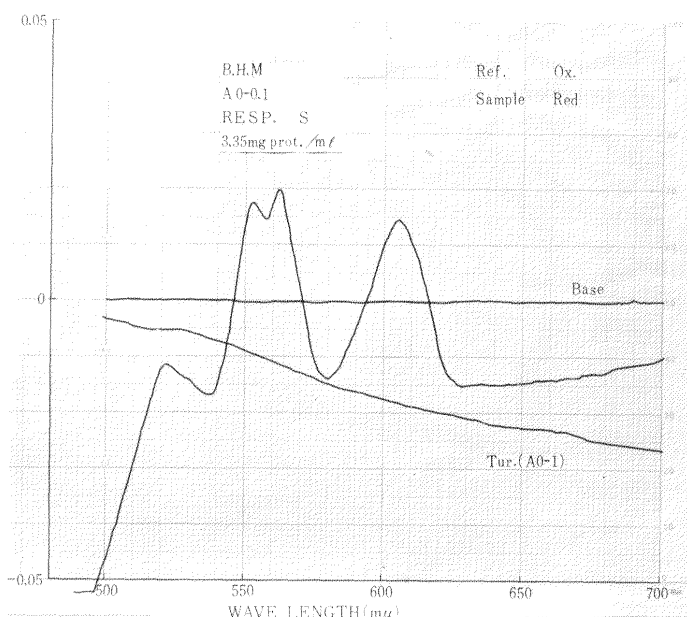


図3-b 差スペクトル法による蛋白量と吸光度の関係 (蛋白量3.35mg/ml)

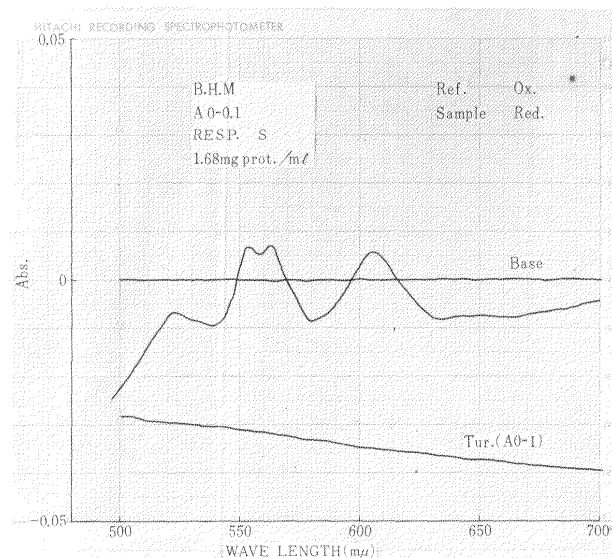


図3-c 差スペクトル法による蛋白量と吸光度の関係 (蛋白量1.68mg/ml)

(3) チトクロームa,b,c+c₁濃度の測定

MtのCyt.a,b,c+c₁の濃度を測定する方法は幾つかあるが、ここでは方法の項で述べた差スペクトル法で測定した結果を示す。

図4-a,b,cは、ウシ心筋Mt(2.20mg蛋白質/ml)の差スペクトルでCyt.aの濃度はHydro./Ox. 差スペクトルから

$$\text{Cyt. a} : \frac{0.0273}{16 \times 2.20} = 0.78 \mu \text{ mole} / \text{mg 蛋白質量}$$

Cyt.bの濃度はHydro./Asco.差スペクトルから

$$\text{Cyt. b} : \frac{0.0262}{20 \times 2.20} = 0.60 \mu \text{ mole} / \text{mg 蛋白質量}$$

Cyt.c+c₁の濃度はAsco./Ox.差スペクトルから

$$\text{Cyt. c+c}_1 : \frac{0.0202}{19 \times 2.20} = 0.48 \mu \text{ mole} / \text{mg 蛋白質量}$$

以上の結果は他の装置あるいは方法で得た結果とよく一致している。⁴⁾

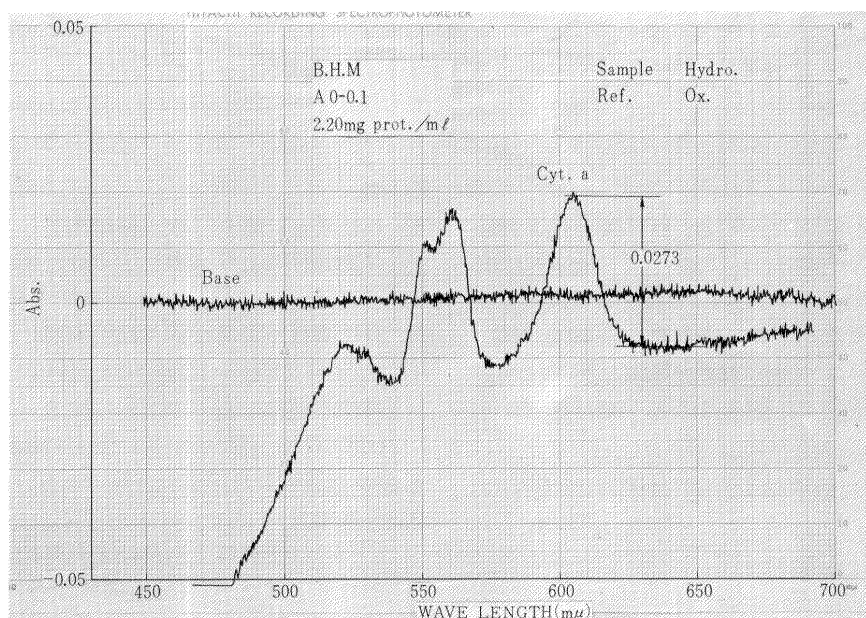


図4-a 差スペクトル法によるチトクローム濃度の測定 Hydro./OX.

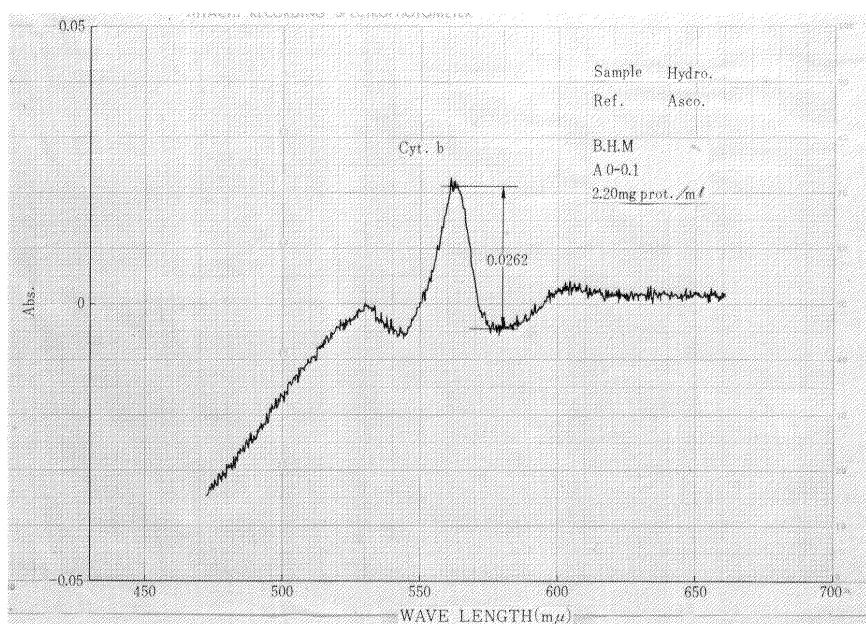


図4-b 差スペクトル法によるチトクローム濃度の測定 (Cyt. b)

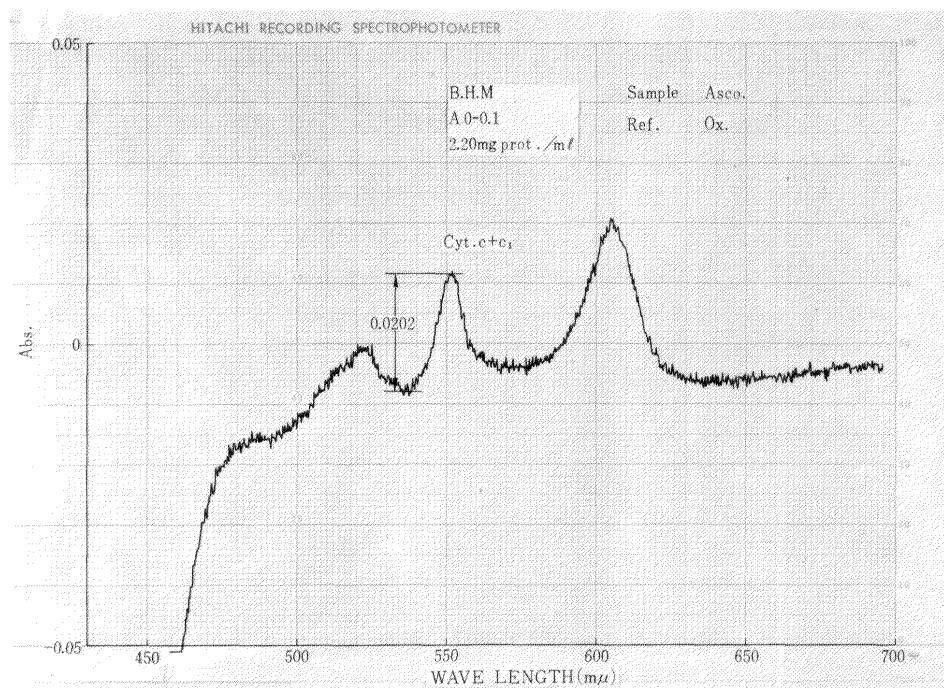


図 4-c 差スペクトル法による、チトクローム濃度の測定 (Cyt. a)

結 語

EPS-3 T形自記分光光度計によるMtの呼吸酵素濃度測定について検討した結果、吸収スペクトルの分別もよく、比較的高い濁り度の中に含まれる微量の呼吸酵素の濃度でも定量的に測定し得ることが明らかにされた。このことは、操作性の簡便さと相まって、この装置が医学、理学、農学の各分野で生体色素の研究に活躍することが期待される。

文 献

- (1) 赤松貫之, 青木 哲, 嶺岸久子
混濁試料の吸収スペクトル分光研究 第15巻 第3号 (1966)
- (2) 品川嘉也, 島津威雄, 品川泰子
EPS-3 T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測定
HITACHI Scientific Instrument News Vol. 10 No. 3 1967
- (3) 小森律夫
EPS-3 T形日立自記分光光度計によるミクロゾーム中のチトクローム(混濁試料)の測定
HITACHI Scientific Instrument News Vol. 9 No. 5 1966
- (4) S. Iwata, S. Seki, and T. Oda
Flavin and cytochrome contents in the mitochondria of the heart and liver Acta Med. Okayama, 21, 191, 1967
- (5) 小田琢三, 林英生
ミトコンドリアの subfragments の調整法生体の科学 18, 32, 1967
- (6) 小田琢三, 関周司
ミトコンドリアの構造と機能
続生物物理学講座 Vol. 5 準備中

最近の高分子化学の進歩とともに、金属を分析する機会が増加している。特に、トリアルキルアルミニウムと四塩化チタンに代表されるZiegler-Natta 触媒により、立体規則性の分子構造を有する高分子(ポリマ)が生成することがわかってから、多くの金属がイオン重合の触媒として使用されるようになった¹⁾。

一方、このような金属触媒を用いて合成されたポリマーは、そのまま繊維あるいはフィルムに成形されることもあるが、多くの場合配合剤を混合して、いわゆるプラスチックとして製品化される。塩化ビニル樹脂に例をとってみると、配合剤は安定剤、滑剤、充てん剤および着色剤に分類されている²⁾。これらの配合剤はおもに金属せっけんからなり、たとえば、安定剤としてはオクチル酸鉛、ステアリン酸カドミウム、滑剤としてはステアリン酸亜鉛、ステアリン酸アルミニウム、充てん剤としては炭酸カルシウム、けい酸マグネシウム、着色剤としては酸化チタン、銅フタロシアニンなどが使用されている。これらの配合剤はプラスチックの成形性および商品価値を左右する重要な役割を果たしている。微量金属の管理すなわち分析が重要なゆえんでもある。

金属の分析法として、正確さ、再現性および迅速性の点で原子吸光分析法が注目されている。最も心配される共存物質の干渉について、武内ら³⁾は(1)分光的干渉、(2)励起干渉、(3)化学的干渉に分けて論じた。(1)(2)はいずれもほとんど無視でき、(3)の干渉だけを考慮すればよいと考えられる。

筆者らは、オクチル酸の金属塩の混合物をイオン交換クロマトグラフィーと組み合わせて分析したので、原子吸光分析法の応用例の一つとして紹介したい。

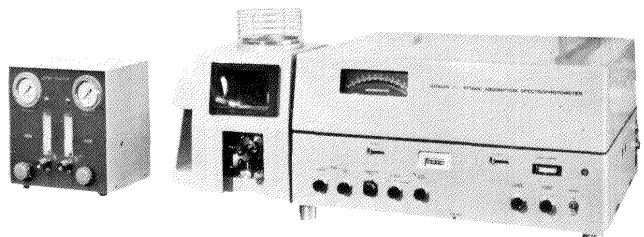
(実験方法)

オクチル酸の金属塩の混合物(試料)に濃塩酸を加え、金属を抽出した。濃塩酸でうるおしたアニオン交換樹脂カラムに金属の濃塩酸溶液を通し、いわゆるKraus法⁴⁾によりクロマトグラフ的に展開して金属を分離した。展開して得られた各フラクションについて、原子吸光分析法により金属含量を定量した。測定すべき金属は、あらかじめ蛍光分析により灰分から検出した。日立207形原子吸光分光分析装置の測定条件をつぎに示した。

アトマイザーバーナへの通気量は空気13ℓ/min. アセチレン3ℓ/min. である。各金属のホローカソードランプはカルシウムのく形波電流10mA, スリット0.18mm(3.24Å), 波長4227Å, 鉛10mA, 0.18mm(3.24Å), 2833Å, コバルト10mA, 0.18mm(3.24Å), 2407Å, 銅15mA, 0.18mm(3.24Å) 3247Åである。

(実験結果)

実験結果を図1に示した。この図からカルシウム、鉛、コバルト、銅の各金属を単離し、かつ定量できることがわかった。

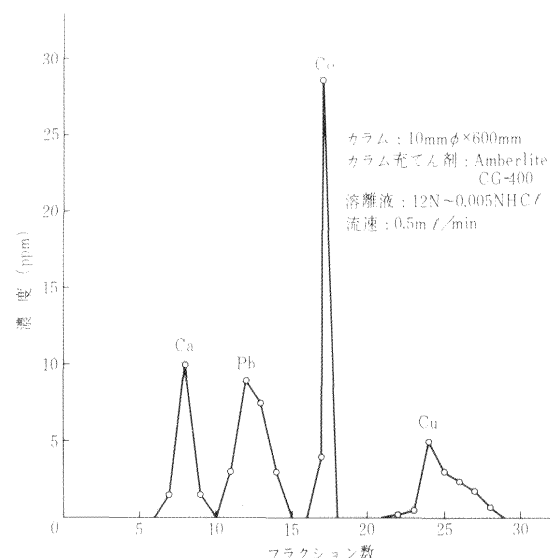


(考察)

イオン交換クロマトグラフィーと原子吸光分析法を組み合わせることで、共存物質の干渉のおそれなく金属を分析することができる。原子吸光分析法の検出可能限界に近いほどに試料濃度が低いときには、Kraus法により試料を濃縮して分析の検出限界を広げることができると思われる。また、図1のようなパターンが異常なときには、金属以外の物質、たとえば、所定のpHでキレートを形成するキレート試薬の存在を推定することも可能であろう。

(参考文献)

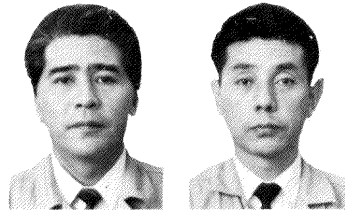
- (1) 東村ほか, 近代工業化学, 16, 11(昭42)朝倉書店
- (2) 古屋, 塩化ビニル樹脂, 74(昭36)日刊工業新聞社
- (3) 武内ほか, 原子吸光分光分析法, (昭39)南江堂
- (4) 実験化学講座, 続2, 348(昭42)丸善



■139形日立分光光度計によるAl合金中のCu, Ti, およびSteel中のCr, Mn, Niの簡易発光分析法について

1. 序

Al合金中のFe, Mg, Mnの発光分析は前回のS・I・News (Vol. 9 No. 2) で報告した。今回はAl-alloy中のCu, Ti及び、Steel中のCr, Mn, Niの簡易発光分析法について報告する。

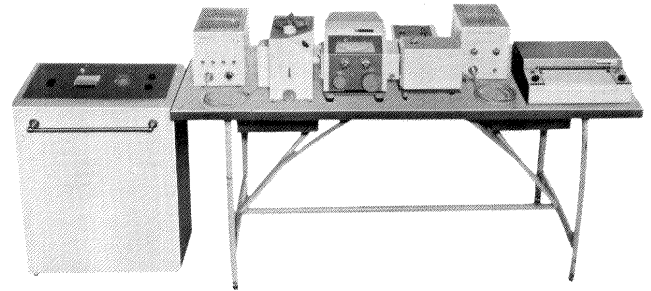


長谷川政美



服部 彰

長谷川政美* 服部 彰* 福満 元**



139-0450形発光付属装置を装着した139形日立分光光度計

2. 分光分析条件

分光分析条件の詳細概略は前回報告とほぼ同様で表1に示す通りである。

3. 検量線

検量線用の標準試料は、化学分析法による成分既知各種Al-alloy試料とSteelを選び、内標準法による分光分析結果の平均強度比を縦軸、濃度(%)を横軸にして検量線を作成した。図1に各検量線、図2に各発光記録例を示す。

4. 分析結果

Lautal系Al-alloy中のCu, Ti及びSteel中のCr, Mn, Ni分析は従来の化学分析法と比較しても、表2に示すとおり非常に良好な結果が得られた。さらにAl-alloy中のTi分析はTi/Alの線対が大きく離れているため、手動により途中をCutする方法を用いても精度に影響がない。また、Steel試料の電極面は円錐形より平面のほうが良い結果が得られた。

5. 結 言

発光分析装置の適用能力範囲は、Al合金中のCu, Fe, Mg, Mn, Ti以外、さらにSi, Ni, Zn, 鉄鋼中のCu, Si, Mo等の分析と、かなり広いものと思われる。本分光分析法は、日常作業分析を合理化でき、工場作業分析に導入すると迅速分析が可能である。また、今後の検討方向としては、銅合金など、他の非鉄合金の簡易迅速分析への適用を進めている。

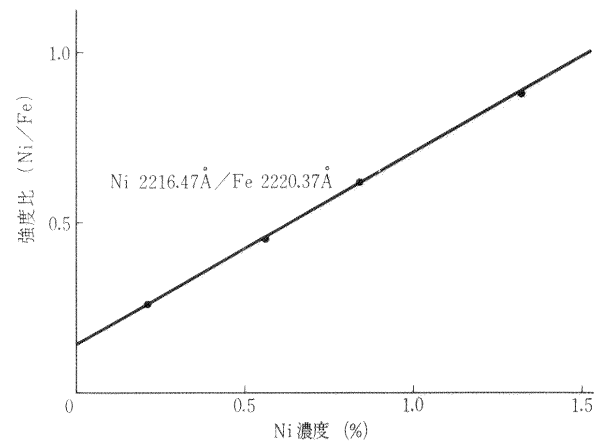


図1-1 Niの検量線

表1 分光分析条件

分析元素 条件項目		Al-alloy		Steel [*]		
		Cu	Ti	Cr	Mn	Ni
電極形状	試料側 対黒鉛側	8～10φ，先端60°円錐 8φ，先端60°円錐				
電極間隙		2mm				
発光電源一次電圧		60V				
予備放電時間		30Sec.				
分析線対		Cu 2276.25Å [*] Al 2269.21Å [*]	Ti 3349.406Å [*] Al 3439.352Å [*]	Cr 2835.633Å [*] Fe 2832.436Å [*]	Mn 2939.304Å [*] Fe 2925.900Å [*]	Ni 2216.47Å [*] Fe 2220.37Å [*]
スリット幅		0.02mm				
ホトマル感度	粗	7	7	7	6	6
	密	5	4	4	4	1
セレクター		×10				
波長騒動		25Å/min.				

* 日産自動車(株)吉原工場

** 日立製作所 那珂工場 応用開発課

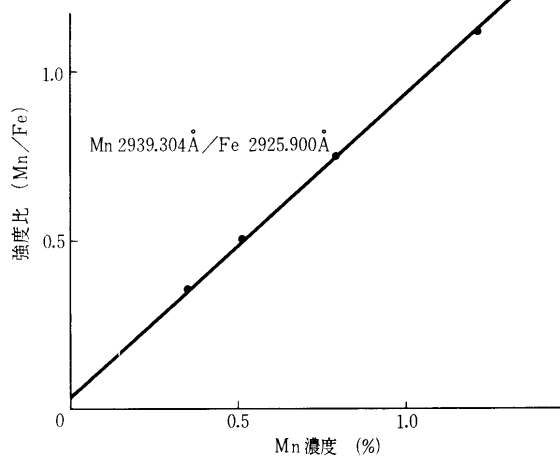


図 1 - 2 Mnの検量線

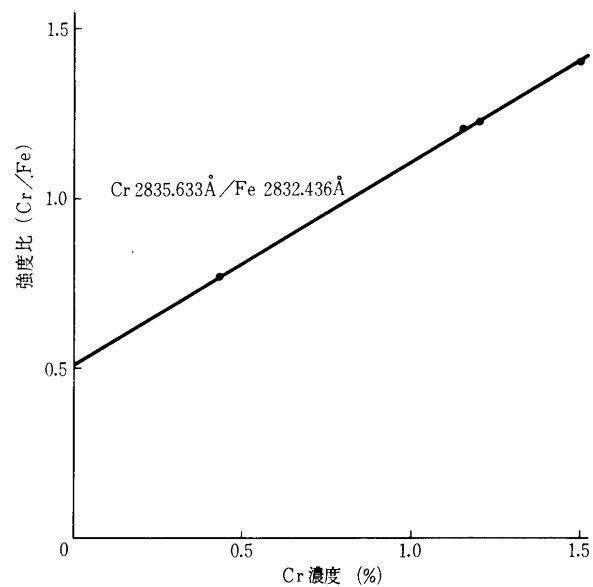


図 1 - 3 Crの検量線

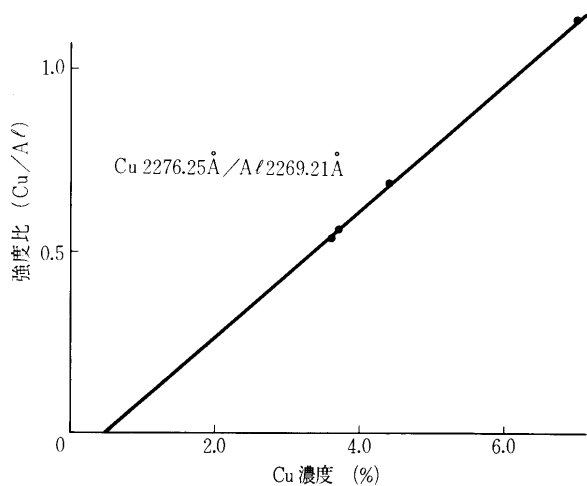


図 1 - 4 Cuの検量線

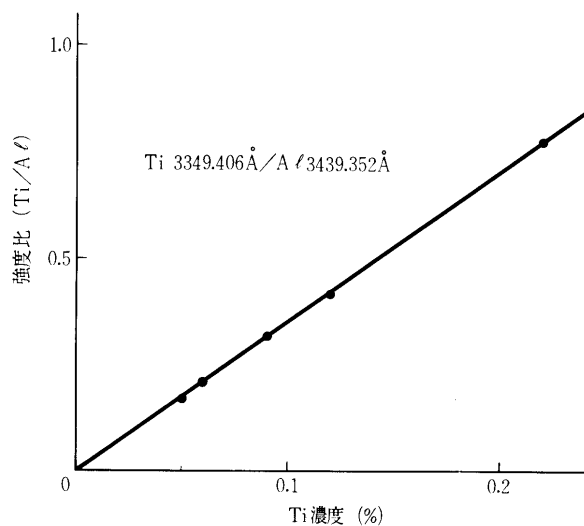


図 1 - 5 Tiの検量線

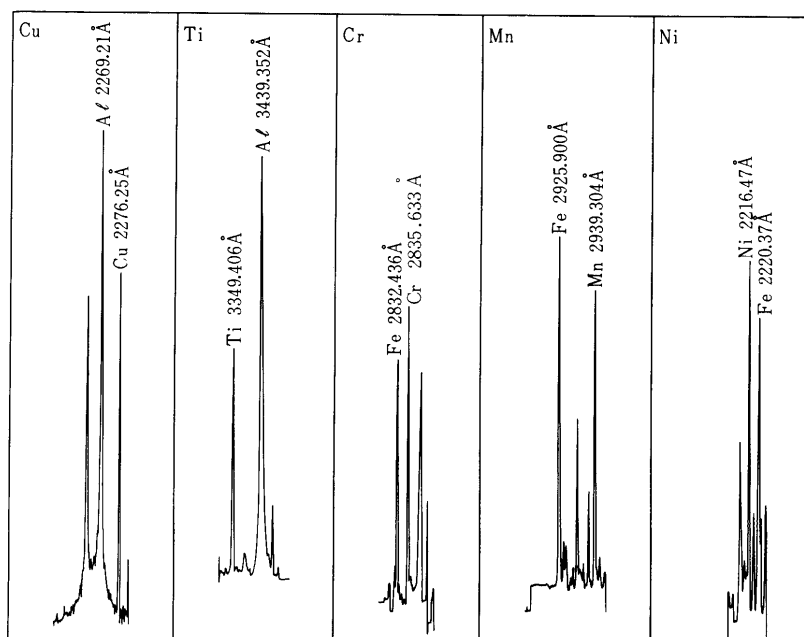


図 2 発光記録例

表2 分光分析結果と化学分析結果との比較

	分析元素	試料	化学分析法	分光分析法		差(%)
			分析結果(%)	平均強度比	分析結果(%)	
アルミニウム合金試料	Cu	No. 27	1.72	0.229	1.80	+0.08
		No. 9	2.06	0.258	1.98	-0.08
		12184 PDC	2.48	0.339	2.43	-0.05
		No. 40	3.01	0.458	3.10	+0.09
		12130 AC2A-Y	3.29	0.475	3.20	-0.09
		SS380 AG	3.60	0.547	3.60	0
		13067 AC2A-Y	3.77	0.565	3.70	-0.07
		14235 AC2A-Y	3.84	0.586	3.83	-0.01
		12123 AC2A-Y	3.95	0.605	3.90	-0.05
		No. 8	4.05	0.633	4.08	+0.03
	Ti	AC2A-Y 12064	0.11	0.388	0.11	0
		12128	0.10	0.326	0.09	-0.01
		12186	0.13	0.419	0.12	-0.01
		13019	0.08	0.311	0.09	+0.01
		13054	0.08	0.350	0.10	+0.02
		11197	0.10	0.290	0.08	-0.02
		13017	0.08	0.313	0.09	+0.01
		13015	0.09	0.324	0.09	0
		Lautal 12196	0.05	0.168	0.05	0
		Lautal No. 6	0.21	0.703	0.20	-0.01
鉄鋼試料	Cr	13044	0.85	1.03	0.87	+0.02
		13139	0.98	0.09	0.98	0
		14039	0.99	1.12	1.03	+0.04
		05199	0.98	1.09	0.98	0
		012176	1.01	1.09	0.98	-0.03
		13204	0.99	1.07	0.95	+0.04
		13223	0.95	1.06	0.93	-0.02
		05216	1.02	1.10	1.06	-0.02
		13140	0.93	1.08	0.96	+0.03
		012078	0.49	0.815	0.50	+0.01
	Mn	13140 CM40	0.65	0.635	0.67	+0.02
		13038 CR20H	0.69	0.657	0.71	+0.02
		13139 CR20	0.70	0.639	0.67	-0.03
		13204 CM20	0.72	0.647	0.68	-0.04
		13138 CR20	0.73	0.652	0.69	-0.04
		11178 CR20H	0.74	0.707	0.75	+0.01
		05216 CR20H	0.74	0.713	0.75	+0.01
		11096 SCM	0.77	0.727	0.77	0
		14109 CM20H	0.79	0.727	0.77	-0.02
		02118 8620	0.79	0.761	0.80	+0.01
	Ni	13142 8620H	0.50	0.433	0.52	+0.02
		13143	0.50	0.428	0.50	0
		A 8630H	0.44	0.387	0.44	0
		C	0.44	0.387	0.44	0
		07106	0.48	0.398	0.45	-0.03
		02117	0.55	0.462	0.57	+0.02
		02118	0.55	0.448	0.54	-0.01
		B 8620H	0.52	0.460	0.56	+0.04
		13144 4320	1.64	1.06	1.61	-0.03
		13154	1.65	1.10	1.69	+0.04

1. まえがき

ガスクロマトグラフ法は原理的に、試料がガス化されることが要求されるので、従来のガスクロマトグラフの使用温度で有効な蒸気圧を持ち得ない試料については

- 1), ガスクロマトグラフの使用温度を更に高くする。
- 2), 試料の誘導体を作り十分な蒸気圧を持つようにする。

1)に関しては、カラム充填剤の最高使用温度による制限があり、また一般に有機物は高温では分解を起すので、実際に使用するカラム温度は限定されてくる。そのため、カラム温度をどうして低くするかが重要な問題となってきた。しかるに、カラム温度を低くすると分析時間の増加を伴うので、分析時間を短縮する必要性が生じてくる。そのために、短いカラムを用いるとか、キャリアガスの流量を増加する方法など考えられるが、これらの方法では、理論段数が低くなったり、カラム入口圧力が増加するなどの弊害が起り、分析時間を大巾に短縮することは困難である。したがって、固定相液体の濃度を低くした低液相カラムを使用することによって、分析時間を短縮することができ、理論段数の向上も期待できる。また、温度を下げることによって広範な液相の選択も可能となる利点があり、低液相カラムの使用は、高沸点成分の分析には、欠かすことのできないカラムテクニックとなって来た。

2)に関しては現在広範に研究が進められ、有用な誘導体が次々に報告されている。

ついで、低沸点から高沸点成分を含んでいる試料を分析する場合は、カラム温度を一定にして分析したのでは、高沸点になるほど保持時間が大きくなり、ピークの中が広がって、ピーク自体がはっきりしない。逆に高沸点成分のピークをはっきり出すために、条件を高沸点成分に合わせると、低沸点成分が早く出すぎて分離が悪くなる。それで、カラム温度を時間とともに上げて行き、それぞれの成分沸点にあった条件で分析しようとするのが、昇温ガスクロマトグラフィである。

高沸点成分の分析には、低液相カラムと昇温ガスクロマトグラフィの組合せが、進歩して行くと思される。

ステロイド、乳油脂(トリグリセライド)、高級炭化水素混合物、などの高沸点試料を低液相カラムと昇温ガスクロマトグラフィを用いて分析した結果を紹介する。

2. 測定装置

実験に使用した装置は、日立K53ガスクロマトグラフで図1に示した。主な仕様は、恒温槽は500℃まで使用でき、プログラマーの昇温速度は、1°, 2°, 3°, 4°, 5°, 7.5°, 10°, 15°, 20°, 30°, 60℃/minの範囲で選べます。わずか6分で冷却できるので、操作条件を能率よく選択できる。記録計は、日立QPD33形卓上記録計です。

3. 測定結果

図2は、アンドロステロン系ステロイドの分析例である。ステロイド試料は不安定で分解し易いので、一般的には、ガラスカラムが用いられていた。本実験では、Hexamethyldisilazaneでシラン処理した3φ×2mステンレスカラムを用いた。充填剤は、担体(HMDS処理した、クロモソルプW 60~80mesh)、液相は2% OV-17(フェニルメチルシリコン)をカラムに充填し、恒温槽に装着後、300℃で、一昼夜キャリアガス(N₂, 40ml/min)を通しながら、Conditioningして、カラム剤の安定を待つ。しかる後に、恒温

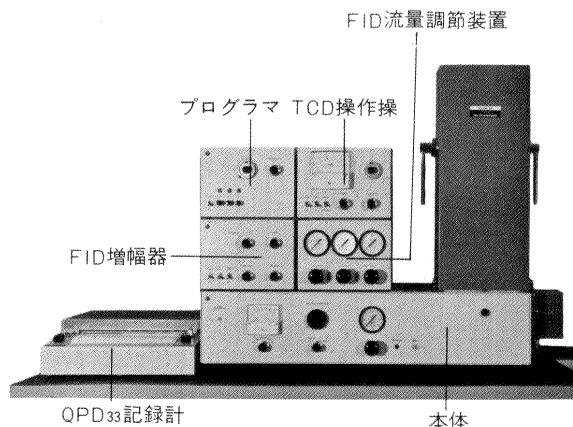


図1 K53形日立ガスクロマトグラフ

槽を80℃の一定温に保ち、HMDS剤を50μl、マイクロシリンジで注入して、1~2時間Conditioning(この時のキャリアガスは約5ml/min)した後、試料の分析を行なった。なお、この場合カラムよりFIDへの接続パイプは、汚染を防ぐために取はずしておかねばならない。OV-17, OV-1は、従来のシリコン系カラム(SE-30, SE-52など)に比較して、さらに安定であるため生化学、臨床医学分野で、血液或いは尿中より抽出した、ステロイド類の日常分析を行なうのに最適な液相である。

図3は、トリグリセライドの分析例です。

従来は高級脂肪酸では、前処理(エステル化法)してから分析が行なわれていた。低液相カラム、昇温分析により、油脂を直接分析することが出来る。

図4は、高級炭化水素の分析例です。

100~310℃まで約200℃昇温することにより、C₁₄~C₃₅まで広い沸点範囲をもつ混合成分に対して、良好な分離を示している。

4. むすび

以上述べたように低液相カラムと昇温ガスクロマトグラフを使用する事により、高沸点有機成分の分析が可能であり、適用範囲は更に拡大されることが期待できる。

試料 ステロイド

1. 4-Androstene-3-One
2. Dehydroepiandrosterone
3. 5α-Androstane-3β-ol-17-one
4. 5α-Androstane-3, 17-dione
5. 4-Androstene-3, 17-dione
6. Testosterone
7. Testosterone acetate

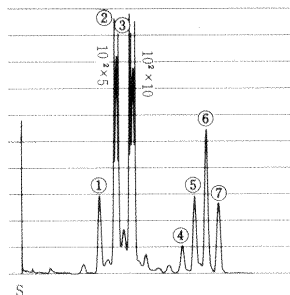


図2 アンドロステロン系ステロイドの分析

測定条件

試料: 1 μl
感度: 10⁻² × 2
カラム: 2% OV-17
3φ 2m ステンレス
担体: クロモソルプW
60~80mesh
カラム温度: 150°~280℃
昇温速度: 5℃/min
キャリアガス: N₂ 40ml/min
記録紙速度: 5mm/min

試 料 乳油脂 (トリグリセライド)

測定条件

試 料 : 0.5 μ l

感 度 : $10^{-2} \times 2$

カ ラ ム : 3% SE-52 3 ϕ 2 m

担 体 : クロモソルブW 80~100 mesh

カラム温度 : 200° ~ 360° C

昇 温 速 度 : 5° C/min

試料室温度 : 390° C

キャリアガス : N₂ 30ml/min

記録紙速度 : 5mm/min

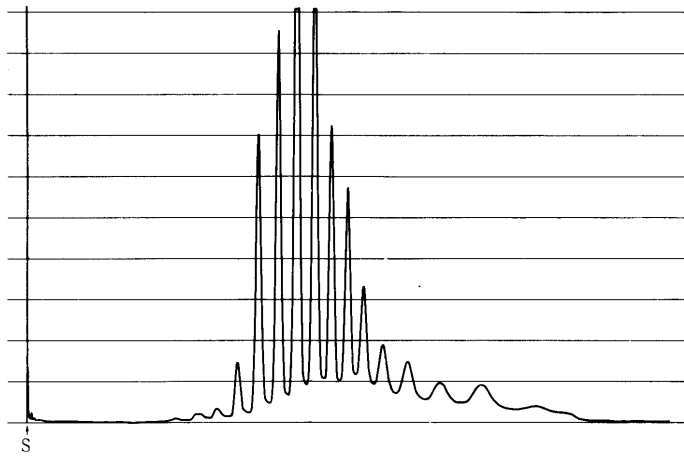


図 3 乳油脂 (トリグリセライド) の分析

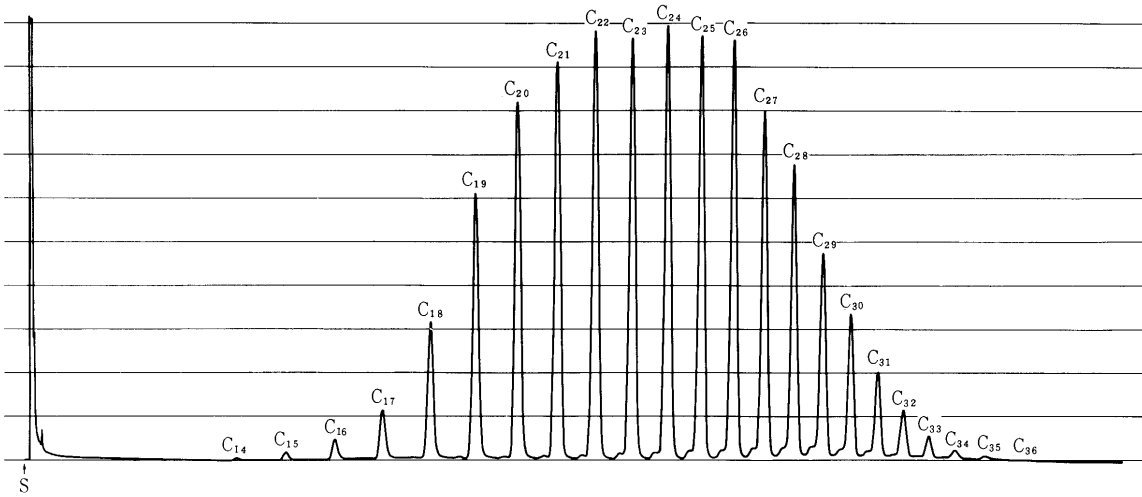


図 4 高級炭化水素の分析

試 料 高級炭化水素

測定条件

試 料 : 1 μ l

感 度 : $10^{-2} \times 5$

カ ラ ム : 3% SE-30 3 ϕ 2 m

担 体 : クロモソルブW 80~100 mesh

カラム温度 : 100° ~ 310° C

昇 温 速 度 : 5° C/min

試料室温度 : 320° C

キャリアガス : N₂ 60ml/min

記録紙速度 : 10mm/min

■043形 日立ガスクロマトグラフによる液化石油ガスの分析

吉原桃八* 柳沢徳幸*

昨年12月の国会で液化石油ガス(LPガス)に関する新法「液化石油ガス保安の確保および取引の適正化に関する法律」が成立、3月1日より施行された。LPガス組成の規格を表1に示す。これにより、LPガス販売者は、LPガスの品質が明示されたものでなければ一般消費者に販売出来なくなり、貯蔵タンクを所有する事業者は、分析装置の設置を義務づけられた。LPガスの分析方法は色々あるが手軽に、迅速に、しかも正確に行うためには、ガスクロマトグラフを使用するのが最適である。日立製作所では、この種の分析装置として恒温槽温度を一定にしたポータブルタイプの043形ガスクロマトグラフを製作している。本稿は043形ガスクロマトグラフをLPガス分析に応用したその操作について述べる。図1にこの装置を示した。

表1

名 称	プロパンおよびプロピレンの合計量の含有率	エチレンおよびエタンの合計量の含有率	ブタジエンの含有率
イ号液化石油ガス	80%以上	8%以下	2%以下
ロ号液化石油ガス	60%以上 80%未満	8%以下	2%以下
ハ号液化石油ガス	60%未満	8%以下	2%以下

我々は、この法律の制定された背景を考え、実際にこの分析計を事業所が、価格的にも、操作面でも使用しやすいように特に考慮した。LPガス分析には次の点が特に重要である。

- (1)ガスクロマトグラフは、操作が簡単で、法律に定められる精度が確実に得られること。
- (2)液化石油ガスの試料採取が簡単、安全で正確に行える、専用の採取器を製作すること。
- (3)定性定量が誰にでも簡単に出来ること。

装置の操作

ガスクロマトグラフは分析者が、キャリアガスを流し電源スイッチを入れるだけで分析条件がと、のうようにした。クロマト条件として、カラム恒温槽温度40°C、カラム内径3mm、長さ5m、カラム剤“V”に予め固定した。又気体の体積は温度が変わると変化するので、試料計量管も室温の変化を受けぬよう恒温槽内に内蔵し、試料温度を一定に保てるようにした。このようにして、LPガス分析の場合、分析者は、零点調整つまみ、ガスサンプル導入つまみ、そして感度の減衰つまみの3ヶ所を操作するだけで、簡単に確実に分析が行える。

試料採取

通常の使用状態でLPガスを採取分析すると、容器中の液体の組成と比べ、軽い成分が相対的に多くなっている。これは蒸気圧の高い成分程多くガス化するためである。容器中の液体組成を正しく分析するために、試料を液体で採取し、これを気化させガスクロマトグラフに導入する特別なLPガス試料採取器を開発した。これを図2に示す。液体試料を1mlとる試料室と、この液体を気化する気化室より出来ている。容器からLPガスを採取するには、容器を逆さにして、容器下方に試料の取出口を設け、採取器に接続する。第3図にこの操作手順を示した。

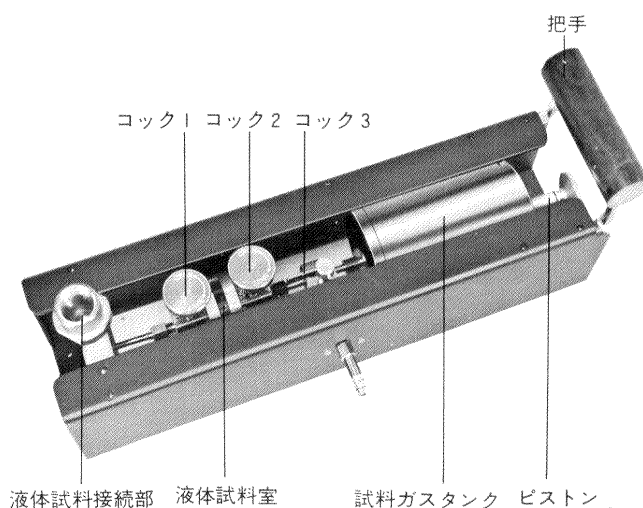
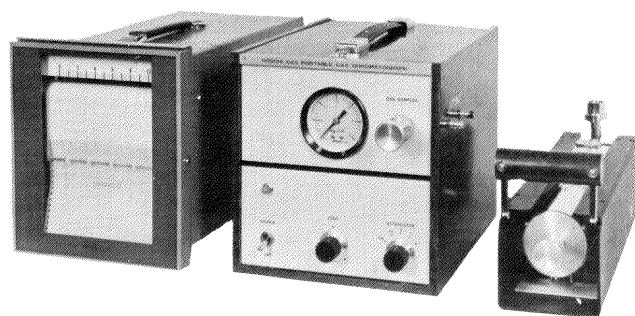


図2 試料採取器

- (1)コック1を開き、容器の液体試料を導入する。試料室は透明な材料を用いているので、液体試料が入る様子が観察出来る。気泡が残る場合は、サンプリング系に空気又はLPガスの気体が残っているため、この場合試料を一旦放出し、改めて採取しなおす。
- (2)コック1を閉じ、コック2を開く。試料室に入っている試料(液体)が気化し、その気化圧力で気化室のピストンを押す。
- (3)コック3を開き、ピストンを押し、気化室内の試料ガスをガスクロマトグラフに導入する。

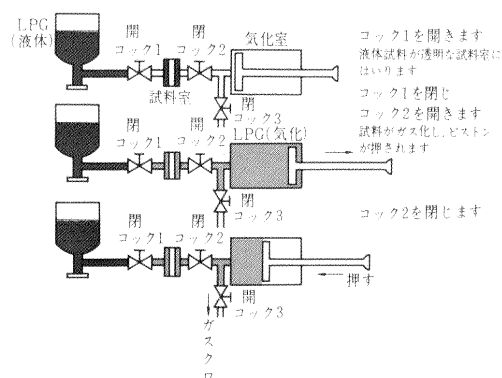


図3 試料採取の操作手順

* 日立製作所 那珂工場 理器部

次々に試料ガスを変え分析する場合、試料室、気化室に前の試料が残留している。従って別な試料を分析する時は、これらの残留ガスを追出するため、一回は(1)~(3)の操作を行い、流路系を次に分析する試料で洗滌しておく必要がある。これは分析の信頼性を保つ上で重要である。

定性定量

分析結果の定性定量については、先に述べたように、全ての分析条件が固定されているので、何時、誰が分析しても同じ結果が得られる。従って予め各成分の定性用保持時間および定量用ピーク高さの絶対検量線を製作し、標準スケールとして、横軸に各成分の保持時間を取り、縦軸にその成分の絶対検量線の目盛をつけたスケールを製作した。従って測定したチャート（クロマトグラム）にこのスケールを合せれば、ピーク高さより直接各成分の割合が読みとれる。カラムの性能を揃えて製作すれば、この標準スケールは全ての機器に共通に使用出来、非常に便利なものになる。図4に043形ガスクロマトグラフで再現性を測定したデータを示した。上述のように特殊な試料採取器を用い043形ガスクロマトグラフで液化石油ガスの分析を行えば、操作が簡単で確実な測定が出来る。

クロマト条件

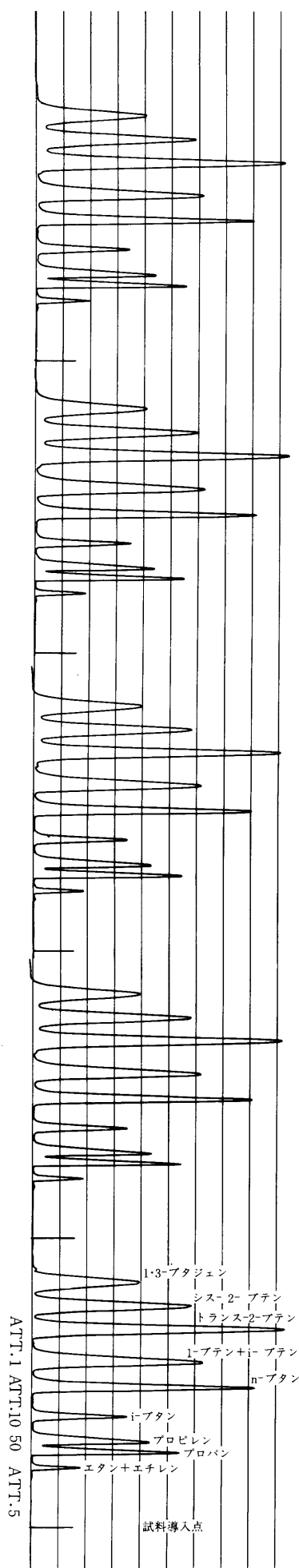
試料量：1 ml

キャリアガス：He 10ml/min

カラム温度：40°C

カラム：V-5

図4 分析再現性データ



■ 日立回折格子彫刻装置

山田弥彦* 原田達男* 森田健二*

分光装置分散子用の回折格子を製作するルーリングエンジンは現在一般に知られている最も高度な精密工作装置と考えられる。Rowland, Michelson, Anderson 等は当時の最高度の工作技術ときわめて長い年月にわたる調整により、高分解能の回折格子を機械的技術のみで製作した。その後 Harrison により光波干渉の技術が導入され、エレクトロニクス技術の進歩もあってルーリングエンジンの性能は飛躍的に向上し、これによって製作される回折格子は従来分光分散子に用いられていたプリズムに取って代るものとなった。

回折格子用ルーリングエンジンの開発は主として米国に於て進められた結果、従来回折格子の供給はほとんど全面的に米国に依存することとなり、我国の分光装置メーカーはいずれもその心臓部とも云える回折格子を輸入に仰いでいた。当社もその例外ではなかったが、この回折格子を自製し、更に回折格子選択の自由度を持つことにより独自の分光装置開発の可能性を増すため、昭和36年より中央研究所において理論値に近い分解能を持つ回折格子の製作出来るルーリングエンジンの試作を行なった。装置の製作は中央研究所を中心に当社精密工作技術の粋を結集して行なわれ、昭和40年、初期の目標性能を持った回折格子の製作に成功した。

本装置で製作する回折格子の仕様性能は次の通りである。

種類 : Echelette 形反射回折格子
格子定数 : $1/75 \sim 1/1200 \text{ mm}$
最大彫刻面積 : $150 \times 75 \text{ mm}^2$
偽線強度 : 主線強度の 0.1% 以下 ($600 \ell/\text{mm}$ 1 次)
格子溝直線度 : 使用光波長の $1/32$ 以下

装置はルーリングエンジンの区分によれば、いわゆる Rowland 形と称されるシェーパー方式の刻線機で、ダイヤモンドツールが同一平面内で往復運動を行ない、格子素材(ブランク)が格子定数に対応する割出を受ける。図1に装置の外観を示す。本装置では速度制御付直流電動機、ベルトプーリー、減速歯車、リンク装置を経てダイヤモンドキャリッジが往復運動を行ない、ダイヤモンドツールの直線度は光学平面を基準にして高直線度を實現している。一方ブランクの送り系はダイヤモンド往復動用減速歯車の回転をシンクロ送受信機により電氣的にエンジン室外へ取出し、歯車装置により格子定数に応じた変速を受けた後、再び機械本体に電氣的に伝える。この回転は更に減速された後1条ウォームと2モジュール300枚のハスバ歯車の対に伝えられ、ブランク送り用の主ネジ(ピッチ1mm)を回転させる。機械的性能のみで回折格子を製作する場合、最も問題になるのは主ネジとそれを駆動する歯車から生じる周期的送り誤差である。主ネジのピッチを周期とする送り誤差の振巾bに対する Rowland Ghost 強度 I_G と主線強度 I_P の比は格子定数aに対し次成で与えられる。

$$\frac{I_G}{I_P} = \left(\frac{\pi m b}{a} \right)^2$$

ここでmはスペクトル次数である。いま前述の回折格子要求性能から $600 \ell/\text{mm}$ の1次スペクトルに対し $\frac{I_G}{I_P}$ を 0.001 以下にするためにはbが 0.017μ 以下になる必要がある。研

* 日立製作所 中央研究所 第4部

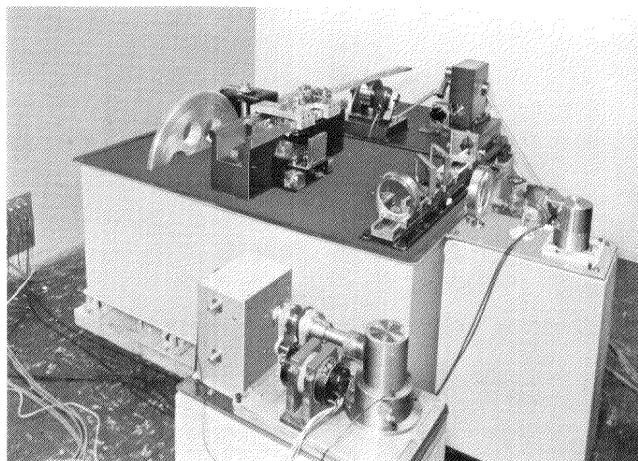


図1 装置外観

削等のネジ工作精度を考える時、ネジ1回転を周期とする誤差(酔歩)を 1μ 以内に製作することはほとんど不可能に近く、これを減少させる手段としてラッピングが行なわれ、古典的なルーリングエンジンに於ては数年、十数年に亘る長期的なラッピングにより機械的性能向上が行なわれた例もある。日立のエンジンの場合も約3ヶ月に亘る終夜連続ラップにより、ネジ、軸受、歯車等を総合したネジ1回転を周期とした送り誤差が 0.8μ まで到達しているが、回折格子に要求される送り精度にはほど遠い。

Harrison により導入された光波干渉利用の送り誤差補正の方式は、移動鏡をブランクキャリッジ上を持つマイケルソン式干渉計によりブランクの送り状態を検出し、理想的な(機械的誤差が全くない場合に相当する)送り状態の場合に得られる送り信号に相当する標準信号を設け、両信号の位相差を検出し、機械的誤差をアナログ的に補正するので、これ以後のルーリングエンジンは基本的にはすべてこの方式を踏襲していると云える。本装置も同様であり図2にその速度制御系が示されている。光源箱には Hg^{198} の無極放電管があり、これよりマイケルソン式干渉計により得られたブランク送り信号(半波長すなわち約 0.27μ の送りを周期とした明暗信号)を光電子増倍管Bが受ける。一方同じ光源から2枚の平行なポラロイド板を通した光を受ける光電子増倍管Aがあり、内1枚のポラロイド板はブランク送り用と同じ回転源から電氣的に結合されたシンクロにより駆動されており、この回転ポラロイドにより作られる明暗の信号は理想的なブランク送り信号と周波数が一致する様歯車比が選択されている。この両信号は等しい振巾に増巾された後、位相弁別器、増巾器、サーボ増巾器により、両信号の合成信号によりサーボモータを回転させて、これをブランク送り用歯車列の差動歯車に加え、機械的送り誤差を補正して両信号の位相差を常に 180° に保つ。図3はこの速度制御の實際を示したもので、上は回転ポラロイドによる送り標準信号、下はこれと 180° の位相差を保つ様速度制御されたブランクキャリッジの送りを示す干渉計からの明暗信号である。

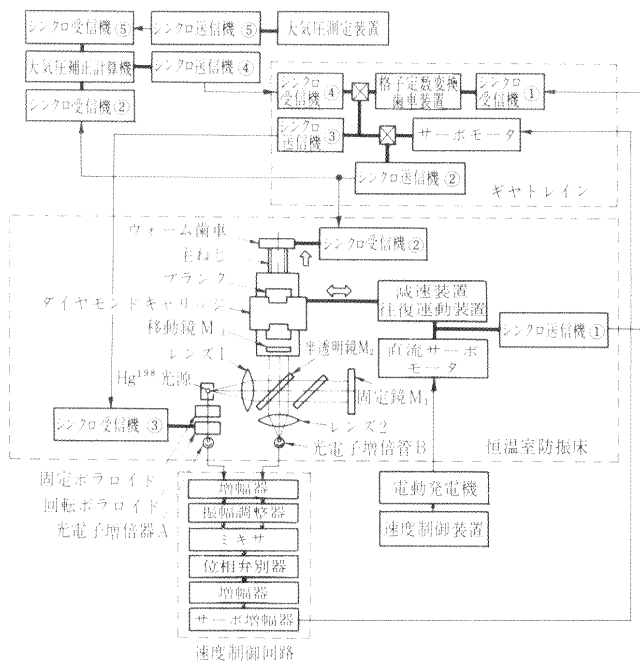


図2 速度制御系

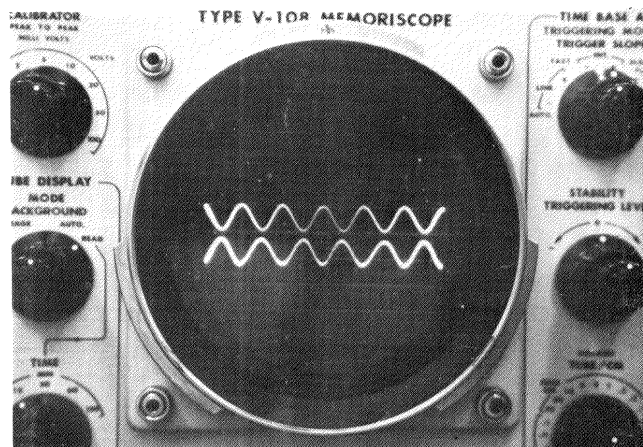


図3 速度制御状態

光等が問題となり、当社のみならず米国における回折格子のメーカーに於ても良質の格子素材やダイヤモンドツールの製作、格子溝形状を含めた検査方式の開発等今後に残された課題は多い。

参考文献

日本機械学会誌 第69巻 575号 (昭41.12)

光波干渉により位置の検出を行なう場合、使用光波長が長さの基準になるため光源の波長安定度が問題になる。 Hg^{198} は可干渉距離も長く、きわめて安定な光源であるが、使用条件としての気温や大気圧が変動すると空気の屈折率が変わるため、見掛け上波長変動と同等の結果を生じる。このためエンジン室内はサーミスタ温度検出装置を使用して厳密な温度制御を行ない、また大気圧の変動に対してはそれに対応する見掛け上の波長変動の影響を補正する計算機を付属している。

この装置により製作した回折格子の性能検査結果の一例が図4であり、4 mリトロ型分光器により 600 L/mm 回折格子について、 $\text{Hg}^{198}5461\text{\AA}$ 緑色光の1次スペクトルとRowland Ghost強度を測定したものである。図においてACが主ネジ1回転を周期とした送り誤差によるRowland Ghostであり、電圧計の感度切換による零点移動を補正して換算するとACの主線Bに対する強度比は約0.05%となり目標性能に達している。

以上述べた通り日立ルーリングエンジンは溝間隔精度としては十分な性能が実証されたが、回折格子の総合的性能としてはこの他分光強度を得るためのエネルギー集中、迷

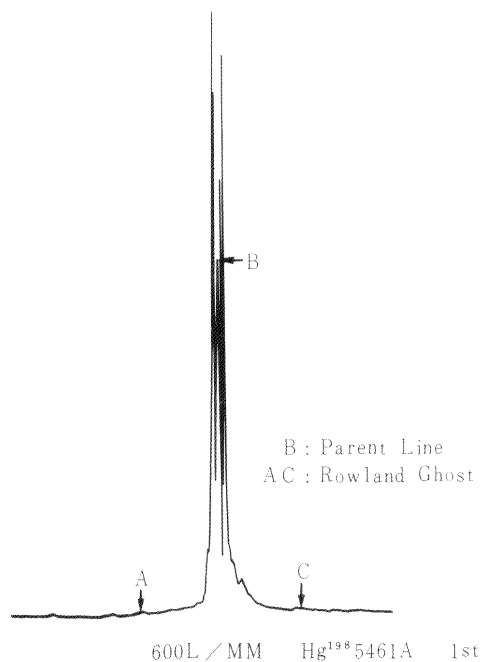


図4 回折格子検査結果