



THE HITACHI

SCIENTIFIC INSTRUMENT
NEWSDEC. 1970
Vol.13 No.4X線マイクロアナライザによる
波長シフト (Chemical Shift) の測定 (その2)

1. 緒 言

前号リローランド円半径200mm、ヨハンソン形ADP結晶 ($d=5.321\text{\AA}$) およびXeガス封入式比例計数管を備えたX線分光器を用いて、 $\text{Al}_{K\alpha_1}$ および $\text{Al}_{K\alpha_2}$ Satellite線、 $\text{Al}_{K\beta}$ 線のピーク位置を正確に求める際の機械的誤差ならびにピーク位置の再現性の精度について述べた。その実験の結果、装置の取扱いが正しければ、 $0.0005\sim 0.001\text{\AA}$ の精度でChemical Shiftの実験ができることが明らかになった。

本報告では、アルミニウム化合物およびアルミニウム合金におけるアルミニウム原子の化学結合の特性が、 $\text{Al}_{K\alpha_1}$ および $\text{Al}_{K\alpha_2}$ satellite線、 $\text{Al}_{K\beta}$ 線の形や位置に重要な影響を及ぼすことに注目し、電子線の加速電圧および分光器の受光スリット幅を変えて、 $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$ からの $\text{Al}_{K\beta}$ 線のプロファイルの変化を調べた。さらに、アルミニウム原子の化学結合状態の非常に異なる代表的な試料、金属Al (Al^0)、Kaolinite ($\text{Al}^{\text{IV}}; \text{Al}_4\text{Si}_4\text{O}_{10}(\text{OH})_8$) およびOrthoclase ($\text{Al}^{\text{VI}}; \text{KAlSi}_3\text{O}_8$) の $\text{Al}_{K\alpha_1}$ および $\text{Al}_{K\alpha_2}$ satellite線、 $\text{Al}_{K\beta}$ 線を測定した。

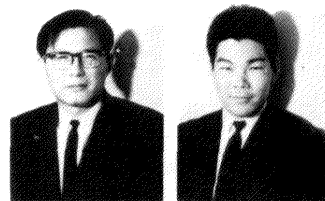
2. 実験方法

使用した分光器の受光スリットは、巾0.1mm間隔ごとに外部よりラチェット式に切換えが可能なものである。X線マイクロアナライザ (EPMA) による $\text{Al}_{K\beta}$ 線の強度は、 $\text{Al}_{K\alpha_1}$ および $\text{Al}_{K\alpha_2}$ satellite線よりもはるかに弱く、 $\text{Al}_{K\alpha_1}$ および $\text{Al}_{K\alpha_2}$ satellite線よりわずかに強い程度であるから、受光スリット幅が0.1mm以下になると強度の正確な測定が困難になるため、スリット幅0.1mmから1.0mmについて実験を行った。強度の測定は前回と同様Fixed time法を用い、波長を0.002 $\text{\AA}$ ずつ移動 (manual) させ、各点で30秒間3回計数しその平均をとった。また、電子線径を約10 μ から50 μ にすると、X線強度は増大するがピークの位置はほとんど変わらないことを確認し、最強ピークのX線強度が30秒間の測定で1,000カウント以上になるよう試料電流および電子線径 (10 $\sim$ 50 μ の範囲) を調節した。加速電圧はアルミニウムの特性X線の励起電圧を考慮し、10kV、15kVおよび20kVについて行った。非電導性試料は表面に薄くカーボンを真空蒸着 (約200 $\sim$ 500 $\text{\AA}$) し、測定にはanti-contamination device (試料の汚れ防止装置) を使用した。なお、ピークの形、位置および幅の比較は、最高X線強度を100としてnormalizeしたものについて検討した。

3. 実験結果と考察

加速電圧 10 kV、15 kV および 20 kV における受光スリット幅の変化に対する $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$ からの $\text{Al}_{K\beta}$ 線のプロファイルの変化を、金属Alからの $\text{Al}_{K\beta}$ 線 (加速電圧15kV、受光スリット0.1mm一定) と対比させて図1、図2および図3に示す。受光スリット幅が狭くなるにつれて、スペクトルの分解能がよくなっている。また、アルミニウム原子の化学結合状態のChemical Shiftに及ぼす影響が金属と酸化物で非常に異なることがわかる。加速電圧10kVでは、十分に正確なプロファイルを描くにはX線強度が弱く散乱線の影響が大きくなる。スリット幅が狭くなるにつれて、その測定誤差が増大することが図1と図2および図3と比較することによって容易に推察される。図2および図3に見られるように、一般に受光スリットの幅の増大に伴い、ピークの位置が短波長 (高エネルギー) 方向に移動する傾向が認められた。すなわち、ピークの位置をその強度の3/5の幅の中心と仮定すると、15kVでは2.3/1,000 $\text{\AA}$ 、20kVでは3.2/1,000 $\text{\AA}$ 移動した。これは主にEPMAに規定の取出し角度 (XMA-5形は38°) で取付けられたX線分光器系のメカニカルな問題で、X線発生源と焦点円上の分光結晶の両端の見込み角度の違いおよびスリット幅の増大に伴う有効スリット幅の焦点円からのずれによるものと考えられる。加速電圧15kVおよび20kVでは、受光スリット幅の狭いものほどピークの半値幅 (強度1/2

丸野 重雄* 藤井 末男*



丸野 重雄 藤井 末男

目 次

■ X線マイクロアナライザによる波長シフトの測定	1
……丸野重雄, 藤井末男……	
■ 宇宙線中のコーク検出実験とPHA	4
……常本兼二, 黒川真一……	
■ PSP-2形ラビッドスキャン分光光度計および139形 分光光度計を用いたカソードクロミズム測定装置	5
……大野 信……	
■ MPF-2A形日立分光けい光光度計用スペクトル補正 付属装置……	7
……大西 靖, 塚田正道, 中野正博……	
■ 207形 日立原子吸光分光光度計による血清銅の定量 について……	12
……市田篤郎, 信岡 学……	

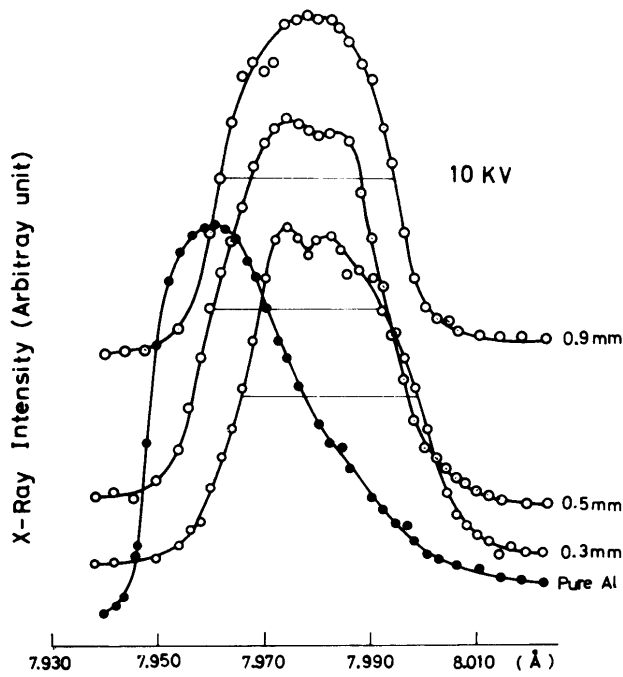


図1 α - Al_2O_3 の $\text{Al}_{K\beta}$ 線と受光スリット幅の変化
(加速電圧 10kV)

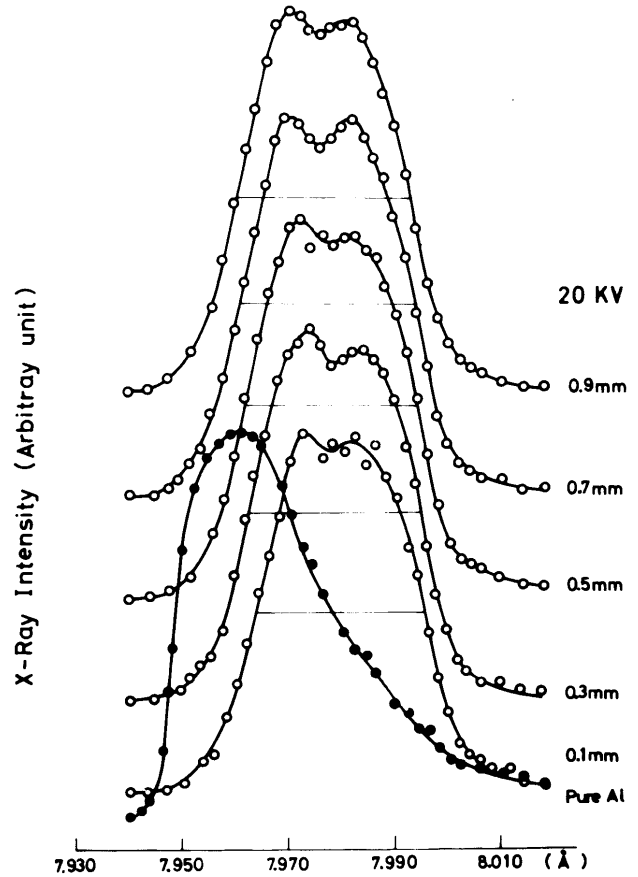


図3 α - Al_2O_3 の $\text{Al}_{K\beta}$ 線と受光スリットの幅の変化
(加速電圧 20kV)

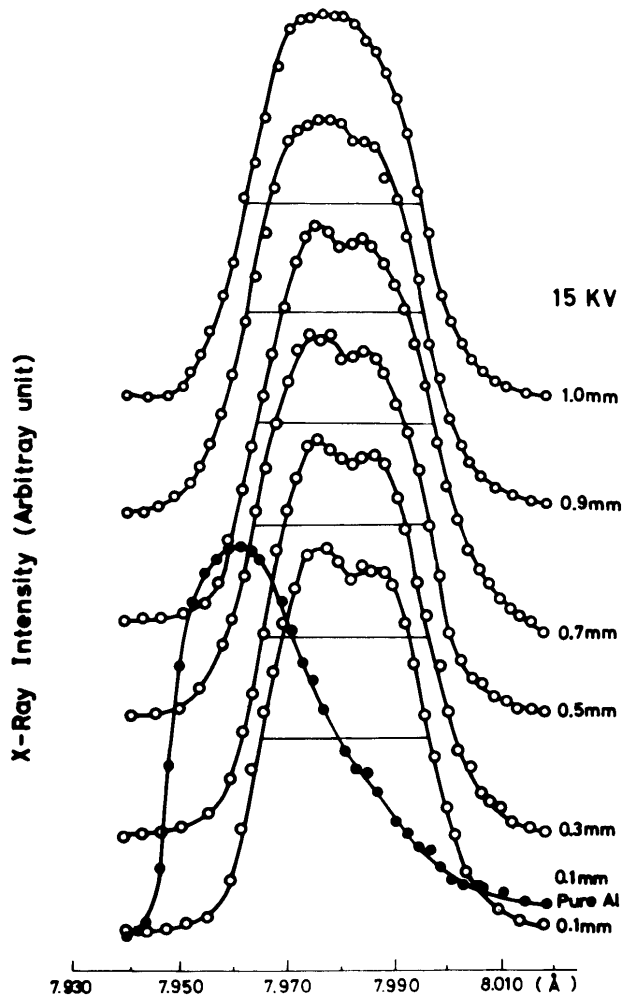


図2 α - Al_2O_3 の $\text{Al}_{K\beta}$ 線と受光スリット幅の変化
(加速電圧 15kV)

	10 kV	15 kV	20 kV
0.1mm	0.0328 Å	0.0314 Å	0.0318 Å
0.3	0.0328 Å	0.0314	0.0320
0.5	0.0318	0.0324	0.0324
0.7		0.0324	0.0328
0.9	0.0324	0.0328	0.0328
1.0		0.0328	

表1 α - Al_2O_3 の $\text{Al}_{K\beta}$ 線の半値幅

の幅)も小さくなっている。各加速電圧における受光スリット幅とピークの半値幅の関係をまとめて表1に示す。

以上の実験結果から、加速電圧 15 kV、受光スリット幅 0.1 mm の場合が最適測定条件と考えられるので、この条件のもので金属 Al を標準試料として Kaolinite (Al^{IV}) および Orthoclase (Al^{VI}) の $\text{Al}_{K\alpha_1}$ および $\text{Al}_{K\alpha_2}$ satellite 線、 $\text{Al}_{K\beta}$ 線を測定した。その結果を図4および図5に示す。ピークのプロファイル、位置および幅は、これら物質の化学結合の特長を非常によく表している³⁾。 $\text{Al}_{K\alpha_1}$ および $\text{Al}_{K\alpha_2}$ satellite 線では、Kaolinite と Orthoclase のピーク位置の違いは認められなかったが、金属 Al に対しては $\text{Al}_{K\alpha_1}$ で 0.003₄ Å、 $\text{Al}_{K\alpha_2}$ で 0.033₇ Å 短波長方向に shift した。

一方、 $\text{Al}_{K\beta}$ 線では、Kaolinite (b) と Orthoclase (a) の shift の差が明確に現れ、前者では 0.0016 Å (3.1 eV)、後者では 0.022 Å (4.3 eV) で、いずれも金属 Al に比べて長

波長方向にピークの位置が移動した（ピーク位置は最高強度の5%の幅の中心と仮定した）。特に配位数の違いによるピークのプロファイルの変化が顕著に表れ、White and Gibbs³⁾の結果とよく一致している。

4. 結 言

既存のEPMA（本実験では日立XMA-5形）で、充分Chemical Shiftの測定ができることが実証されたものと思われる。特に、EPMAによるこの分野への応用は比較的新しく、EPMAの特長を生かしたChemical Shiftの応用例として、アルミニウム陽極酸化皮膜および合金の粒界析出物ほどの研究があるが、また別の機会に報告させていただくことにする。

終りに、本実験に際し、いろいろとご援助くださった日立製作所那珂工場原 行一主任技師に心よりお礼申し上げます。

参考文献

- 1) 丸野重雄, 藤井末男: The Hitachi Scientific Instrument News **13** (1970) NO.3
- 2) D. W. Fischer and W. L. Baun: Advances in X-Ray Analysis (Plenum Press, New York, 1970) Vol.10, P.374.
C. G. Dodd and G. L. Glen: Amer. Mineral. **54** (1969) 1299.
- 3) E. W. White and G. V. Gibbs: Amer. Mineral. **54** (1969) 931.
- 4) D. W. Fischer and W. L. Baun: J. appl. Phys **36** (1965) 534.
- 5) 丸野・藤井・山田: 軽金属学会講演概要 (昭和45年5月) P. 103.
金属表面技術協会講演概要 (昭和45年5月) P. 105.
丸野重雄・山田敏夫: 金属学会東海支部講演概要 (昭和45年6月) P. 10.

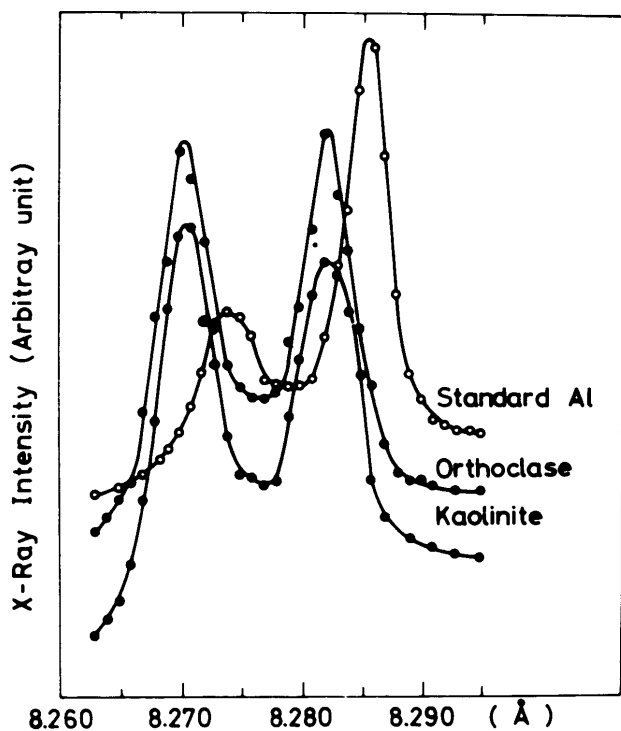


図4 $Al K_{\alpha 2}$ および $Al K_{\alpha 1}$ satellite 線

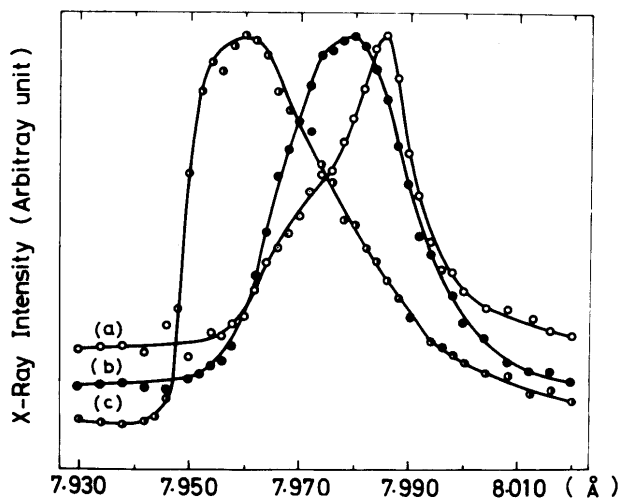


図5 Orthoclase(a), Kaolinite(b)および金属Al(c)の $Al K_{\beta}$ 線

宇宙線中のコーク検出実験とPHA

常本 兼二* 黒川 真一*

最近高エネルギー加速器の進歩によって、数多く発見された素粒子や素粒子の励起状態を系統的に理解するための新しい理論が次々に提案されている。中でも、電荷が電子や陽子などのもつ電荷 e の $\frac{1}{2}$ または $\frac{2}{3}$ の大きさをもつ基本的粒子（コーク）があって、その合成によって各種の素粒子ができていくという考えがあり、世界各地でコーク粒子をさがす実験が行われている。

われわれは現在、素粒子の構成要素として仮定されたコーク粒子を宇宙線中に検出するための実験を行っている。もし予言どおり電荷が $\frac{1}{2}e$ の粒子があれば、それらがシンチレータなどを通るときに、宇宙線の大部分を占める高エネルギーの μ -粒子に比べて $\frac{1}{2}$ の波高値のパルスを出すはずである。したがって、そういう低いパルスを出す現象を根気よく追及すれば、コークの存在を検証できることになる。しかし、この種の実験で困難な点は、長時間にわたる測定装置の安定性を確保することおよびひん度の多いバックグラウンドの識別と除去などであり、充分注意深い実験を行わないと、しばしば誤った結論を得るおそれがある。

実験に使用した装置は、6層のシンチレータ・ホドスコープと多数の光電増倍管、その出力を処理するエレクトロニクス系と記録用のカメラ系から成っている。長期的変動の要因としては、電源のドリフト、シンチレータ発光効率の劣化、光電増倍管の利得の変動、回路の変動（ディスクリミネータのレベル変化、半導体特性の温度変化など）などがあげられる。

電源電圧はACスタビライザと定圧電源を結合して $\pm 0.1\%$ 以内の変動に抑え、測定中は6チャンネルの打点式レコーダにモニタしている。発光率や光電増倍管の利得の変動を見るには、12台のレートメータで大きな変動（ダークカレントの増減）をチェックし、かつ写真に撮った24個のパルスの波高値や波形で細かい変化を調べている。しかし、72本の光電増倍管を1本1本すばやくチェックするのはそういう方法では不可能で、PHAを用いて特定の光源に対する感度を調べなくてはならない。光源としては初めGaAs系の発光ダイオードを準備していたが、設定の簡便さと時間的制約によりCo60アイソトープを使った。放射される1.33MeVの γ 線がコンプトン効果ではじき出す電子の連続スペクトルを基準とした。

測定法は後に述べるが、光電増倍管の印加電圧、利得、前置増幅器などカウンタ・ボックス内部の変動要因が、RAH-403形日立400チャンネルPHAを用いることによって簡単に調べられた。回路系の変動は安定電源と室温調節により約1%以内に抑えている。

このような実験でバックグラウンドとして混入するのは、ほとんど空気シャワー中の低エネルギー γ 線である。このことはエネルギーロスの分布を見ればすぐにわかる。荷電粒子なら一定のパルス波高値に集中するが、 γ 線は連続スペクトルを出す。このため両者を区別するには統計的検定法が有効である。いま予想されるコークの波高分布の中心を X_i (i 番目のシンチレータについて)、その

標準偏差を ΔX_i とすると、測定された波高値 P_i から次の式で χ^2 なる検定量が構成される。

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^n \left(\frac{P_i - X_i}{\Delta X_i} \right)^2$$

もし、 P_i がコークに起因するパルスであれば、 χ^2 は特定の数学的分布 (χ^2 -分布) を示すはずであるが、実際には全く違う分布を示す。それで χ^2 -分布から決めるある値(信頼水準)よりはずれた事象はバックグラウンドとして除去することができる。この検定を有効に行うためには ΔX_i をなるべく小さくすることが必要である。 ΔX_i に影響するものは光電子数の統計的フラツキ、集光の不均一性、光電増倍管の利得の不ぞろいなどである。前2者はカウンタの製作段階で決ってしまうが、第3のものは印加電圧を調整することによって最小限に抑えることができる。これはPHAによって楽に遂行できる(図1)。PHAを用いてそろえた後フィルム・データによって正確な波高値を読んだ結果は次表のとおりである。

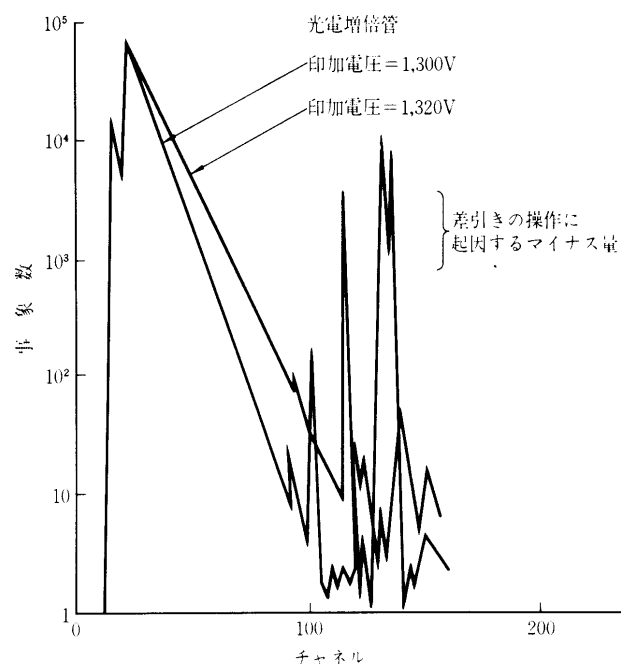


図1 Co⁶⁰からの γ 線スペクトル
(バックグラウンド差引きの後)

シンチ番号 i	1	2	3	4	5	6
中心値 X_i	90	150	145	130	140	mV 100
相対偏差 $\frac{\Delta X_i}{X_i}$	45	50	55	55	60	% 45

* 東京大学西川研究室

第1層と6層の値が違うのは、この2つだけパルス幅が違うのでそろえる基準を別にとったためである。

このほか、バックグラウンドを除去するためホドスコープによる直線性の検定、パルス間隔のバラツキによる検定、アンチカウンタによる空気シャワーとのアンチ・コインシデンスなどの方法を使っている。

われわれの実験では、時間分解能をあげるため幅が $0.01\mu\text{s}$ の速いパルスを用いている。本来このような速いパルスはPHAに入れるとき、その内部発振器に合う程度に幅を広げなくてはならない。日立400チャンネルPHAは4MHzの発振器を蔵しており、 $1\sim 5\mu\text{s}$ のパルス幅が必要とされている。こんなに幅を広げると波形の細かい情報がなまされてしまうし、何より困るのはフィルム・データとの直線の対応がつきにくくなることである。そこで、われわれは規則を破って速いパルスを直接PHAに入れてみた。その結果は、ちょっと注意すればこういう測定も可能であることがわかったが、これは多分PHA内で速いパルスが積分されているためだと思われる。直線性をチェックするため水銀パルサからの速いパルスをいれてみたところ、幅を一定にしておけば400チャンネル中20チャンネル以上の広い範囲にわたって充分な直線性が得られた(図2)。

ゲート入力とのコインシデンスを取ることは失敗したが、速いパルスが積分されたあとにゲート回路を移せばこれも可能になると考えられる。

これまでに3,500時間の測定結果、天頂からの宇宙線中のコークのひん度は 0.50×10^{-10} 個/ $\text{cm}^2 \cdot \text{s} \cdot \text{strad}$ 以下と

いう上限値が得られている。これは、コークがもし存在するとしてもその質量が非常に重くて発生ひん度が小さいことを示している。現在進めている測定は、こういう重いコークに重点を置いたもので、天頂角が 60° 以上のものを選択している。このような実験でも、上に述べたように、長時間にわたり安定な測定ができ、バックグラウンドとの識別が確実にできるために、日立PHAの助けによるところが非常に大きい。

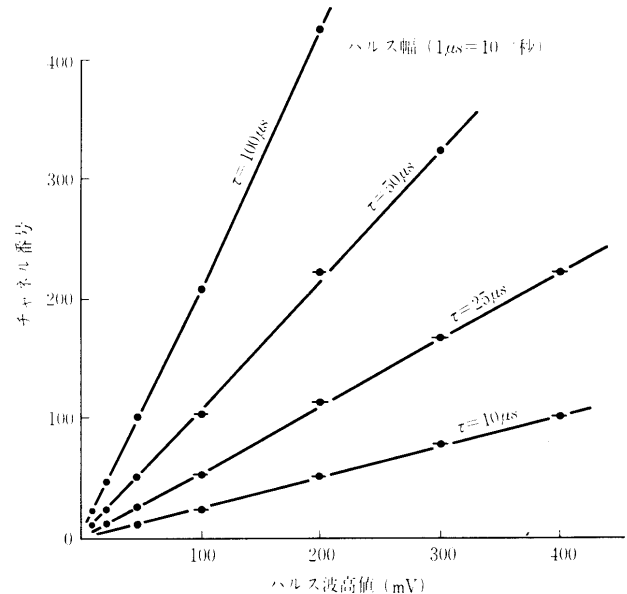


図2 PHAの直線性

RSP-2形ラピッドスキャン分光光度計および139形分光光度計を用いたカソードクロミズム測定装置

大野 信*

はじめに

近年、文字・画像などの情報記録の分野において、高速・高密度記録のために電子ビームの利用が目立ちはじめている。分子性化合物に加速電子が非弾性衝突すると、化合物は励起・ふく射・イオン化・解離や加熱作用を受け、化学反応的に変化するものが多い。中速と呼ばれる加速電圧5~100kVの電子ビームはエネルギー制御が容易で、電磁的にビーム径を微細化(最小 0.1μ 程度)してエネルギーを集中させる(約 10^5 W/cm^2)ことができるうえに二次元走査させることも容易である。

以上の諸特性から、電子ビームを情報記録のペンとして用いると高密度・高速記録が可能になり、材料の面で感度的にも選択の範囲が拡大するものと期待されている。現在では、TV画像記録(EBR: EVR, SVマスターを含む)や電算機出力データ的高速印字などの分野で実用化

されはじめている。記録材料としては銀塩フィルムやその類似物が用いられているが、光記録の場合と同様に高解像力特性をもった材料の開発が急がれている。

カソードクロミズム(Cathodochromism)測定装置は、RSP-2形および139形分光光度計を利用してNHK技研において開発したもので、試料を電子ビーム衝撃した際に生ずる吸収スペクトル変化を直接測定することができる。カソードクロムは電子ビームによって発色する記録材料であり、衝撃を停止すると消色反応が起る。このため材料の特性測定に当っては、衝撃時のスペクトル変化を直接的かつ迅速に求めるための装置が必要となる。本装置は、また、電子ビームと物質の相互作用を求めるためにも有用な知見が迅速に得られる。以下に本装置の性能や測定例を述べる。

* NHK総合技研・記録技術研究部

装置の性能

図1および図2に装置の構成と外観を示した。本装置は、RSP-2形、139形分光光度計の試料室部分に電子ビーム衝撃チェンバ(ディマンタブル)を組合せたものであり、電子ビームは光検出器に影響を与えないため、ビーム衝撃を行いながら分光吸収スペクトルを測定できる(ただし、試料が発光する場合には同時測定は困難である)。

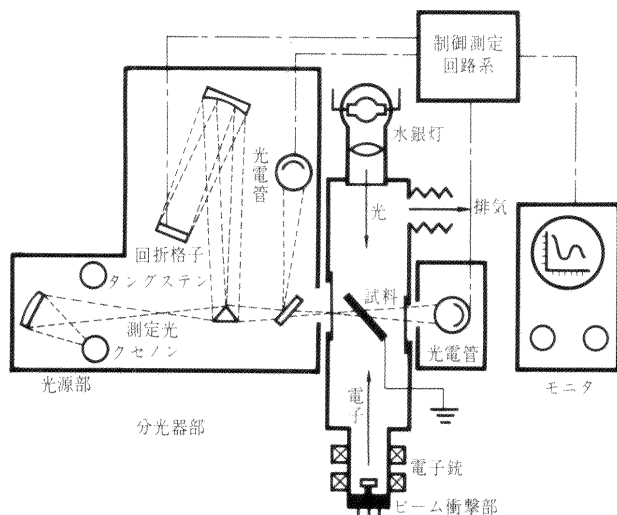


図1 カソードクロミズム測定装置の構成および性能

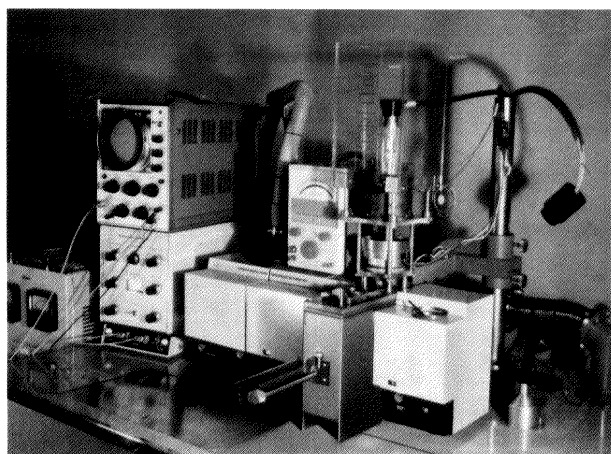


図2 カソードクロミズム測定装置の外観

このタイプの測定例としては、試料に紫外光を照射しながら赤外吸収スペクトルを研究した報告があった。チェンバには石英ガラスの窓があり、測定光はそれを通して 10^{-5} torr.の真空中にある試料を透過して検出器に到達する。電子銃は測定光の光軸の上方にあり、試料は電子ビームと測定光が交さる位置に 45° に傾斜させてセットする。試料の形状は石英ないしは^{ほうしゅう}硼硅酸ガラス基板からなる導電性ガラス(ネサ)上に塗布ないし蒸着したフィルムである。基板ガラスは測定波長域に応じて選択する。また電子銃と対称の位置に水冷式の超高圧水銀灯をおき、試料を光照射してホトトロピー(Phototropy)測定も可能にしてある。

電子ビームは酸化物陰極をもつ受像管用の電子銃から加速電圧5~20kV、ビーム直径 100μ 程度で陽極である試料に向って放射される。試料の表面のネサガラスはアース電位にあり、ビームは垂直方向60Hz、水平方向15kHzのTV速度で面走査する。また試料は液体窒素タンク上をしゅう動させ、低温実験もできるような構造を備えて

いる。分光光度計のRSP-2形と139形の選択は、可視紫外光領域の全般的な吸収スペクトルはRSP-2形で求め、波長固定や高吸光度($D=0\sim 3.0$)測定の場合には139形を用いている。

測定例 1

図3にフォトクロミック物質であるスピロピランの6'ニトロ置換体のカソードクロミズムスペクトル変化を示した。これはポリスチレンにスピロピランを10%含有させ、ネサガラス上に 3.2μ 厚に塗布したフィルムを加速電圧20kVで衝撃した結果であり、衝撃とともにフィルムは600nm付近に新しい吸収を生じシアン色となる。ホトクロミズムの場合とは400nm付近のスペクトルが異なり、光発色種とは別の生成物が考えられる。電子ビーム発色の場合も光発色の場合と同様に衝撃をやめると吸収は次第に減少して消える。

測定例 2

図4にポリビニルシナメート(PVAC)の電子ビームによる重合反応を追跡するために求めた276nmにおけるシナミル基の吸収変化を示した。PVACはビーム衝撃によって淡い青色発光をするため、衝撃停止2秒後の吸光度を求めた。この方法では同一試料について順次衝撃電流量を増加させ逐次測定を進めることができる。図4における低電流量側の吸光度の大きな変化は重合反応(硬化)の進行に対応することがわかった。

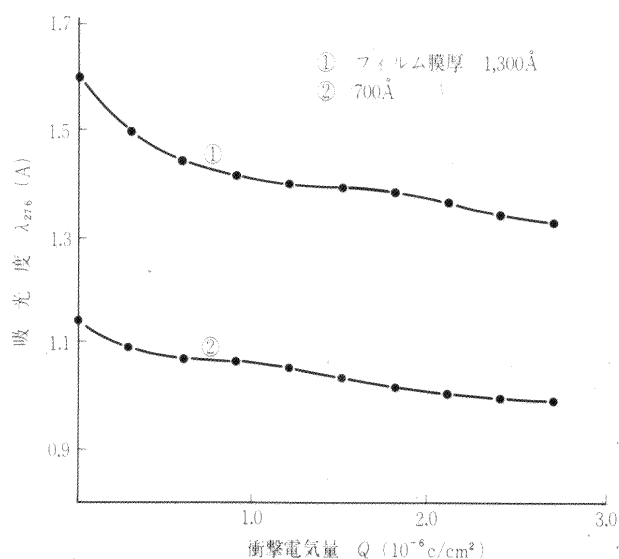
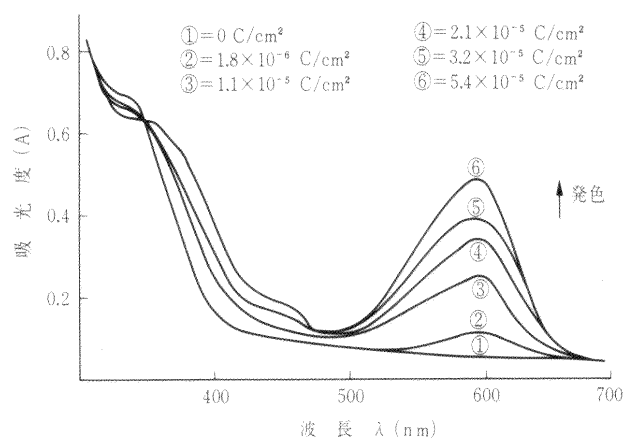


図4 PVACのカソードトロピック変化

MPF-2A形 日立分光けい光光度計用スペクトル補正付属装置

大西 靖* 塚田 正道* 中野 正博**

1. はじめに

1955年に2つの分光器をもった分光けい光光度計がR. L. Bowman¹⁾等によって報告されて以来、この種の装置は物質の研究や日常の分析業務に広く使用されている。けい光分析は比色法に比べると検出感度がけた違いに高く、広い濃度範囲にわたって定量性があり、特に一つの試料から励起スペクトルとけい光スペクトルの2つの情報が得られる点ですぐれた分析手段となる。

しかし、一般に市販されている分光けい光光度計で一つの物質のスペクトルを測定すると、その中に装置の分光特性も含まれるので、スペクトルは装置によっても変わるし、また、同じ位置でも光源や検知器を交換すると変わってしまうという問題がある。

このため、けい光物質の定性分析、量子収率の測定および相互のデータの比較研究などには、装置の分光特性を補正した真の励起、けい光スペクトルを求めることが要求されている。

本体属装置はMPF-2A形 日立分光けい光光度計に取付けて、物質の真の励起スペクトルおよびけい光スペクトルを測定するために開発されたもので、ここで装置の概要および二、三の測定例について報告する。

2. 装置について

本付属装置の試料室部をMPF-2Aの本体にセットした写真を図1に、また、ブロックダイアグラムを図2に示す。光源からの光は励起側分光器で単色化されたのち、励起光として試料に照射される。励起光の一部はビームスプリッターによって光量子計に導かれ、光電子増倍管で電気信号に変換増幅されて比記録計の基準信号となる。一方試料の放射したけい光はけい光側分光器を経て、検知器で電気信号に変換され、比記録計の試料側の信号となる。これら両信号の比を記録することにより、励起スペクトルを補正している。けい光スペクトルの補正は、けい光側分光器の波長軸につながれたポテンショメータとその中間タップにそれぞれ結ばれた25個のバリオームとから成る電気的な力によって試料側増幅器の利得を各波長ごとに变えて装置の分光特性（主に、けい光側分光器と検知器による）をキャンセルする方法をとっている。

本付属装置には、MPF-2Aの固体試料付属装置、偏光付属装置やりん光付属装置(特別付属品)を取付けられるので、真のスペクトルによる数多くの研究を可能にしている。

また、中継ボックス(Interconnection Assembly)に設けられたスイッチを切替えるだけで、本付属装置をセットしたまま標準状態の測定もできるようになっている。

2.1 励起スペクトルの補正

普通に測定した励起スペクトルには試料に照射される励起光の分光特性（主に光源と励起側分光器による）が含まれる²⁾。これを補正するために励起光のスペクトル分布を正しく検知する必要がある。このための基準検知器としては、波長依存性のない熱電対、ボロメータおよび



図1 スペクトル補正付属装置の試料室部

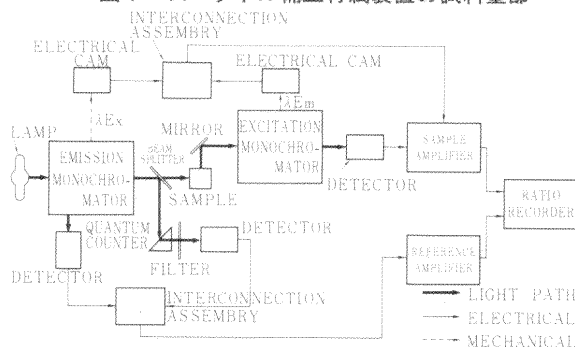


図2 スペクトル補正付属装置のブロックダイアグラム

光量子計などがよく使われる。熱電球^{3),4)}、ボロメータ⁵⁾をスペクトルの補正に用いた装置が報告されているが、これらの基準検知器は受光面が非常に小さいので、試料に照射される励起光の全光束を受光することはむずかしく、感度も悪いので取扱いが困難である。そこで本付属装置では、Parker によって確立された光量子計を用いる方法⁶⁾すなわち各波長にわたって量子収率が一定なけい光物質と光電子増倍管を組合せる方法を採用した。これにより、励起光の全光束を受光できるので補正精度が高く、感度の点でも光電子増倍管で検知するので、取扱いが容易である。

2.1.1 光量子計について

光量子計としては、紫外域から可視域の広い波長範囲にわたって有効な⁷⁾ローダミンBの高濃度溶液を採用した。

低濃度のローダミンBの励起けい光スペクトルを図3に示す。励起スペクトルは波長200からほぼ600mμまで分布しているのでこの範囲で光量子計として利用できる。一方、けい光スペクトルは波長580mμ付近にピークがあり、520から680mμの範囲に分布している。

ローダミンBを光量子計として使うときは、励起光の

* 日立製作所・那珂工場

** 日立製作所・青梅工場

すべてがセルの表面近くで吸収されてしまうように5%のエチレングリコール溶液にする。高濃度のローダミンBはセルの表面でしかけい光を放射しないので、図2にみるように三角形の特殊なセルに入れ、検知器の前にはカットフィルタを置いてローダミンBからのけい光だけを受光するようにしている。カットフィルタとしては図3より波長600m μ より短い方をカットし、620m μ 以上を通すフィルタR 62（保谷ガラス製）を用いた。

基準検知器として、けい光物質を用いたときにはその安定度が問題になる。

ローダミンBのけい光強度は、一般のけい光物質と同じく、温度が高くなるにつれて小さくなる。しかし一試料を測定するのに要する時間（約10分以下）の間に温度が大きく変らない限り、測定誤差にはならない。温度によって各波長における量子収率の相対値が変わると、測定値に誤差を生ずる。温度22°Cのときを基準にして10°C、30°Cおよび50°Cのときの量子収率の相対値と波長の関係を図4に示す。これより常温付近で測定している限り、温度による誤差は $\pm 1\%$ 以内に入っている。ローダミンBの経時変化についても非常に安定なことが相沢等⁶⁾によって報告されており、われわれの実験でも2,000時間以上変りなかった。これらのことからローダミンBが励起スペクトル補正用の基準検知器として十分安定な物質であることがわかる。本実験には、ローダミンB、エチレングリコールとも和光純薬株の特級を用いた。

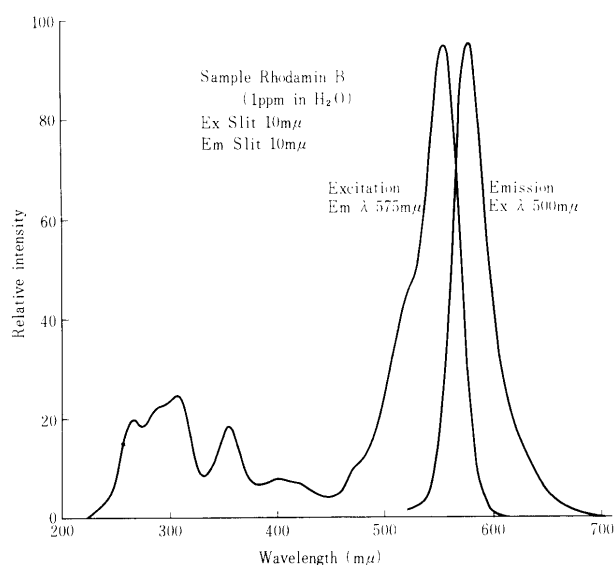


図3 ローダミンBのスペクトル

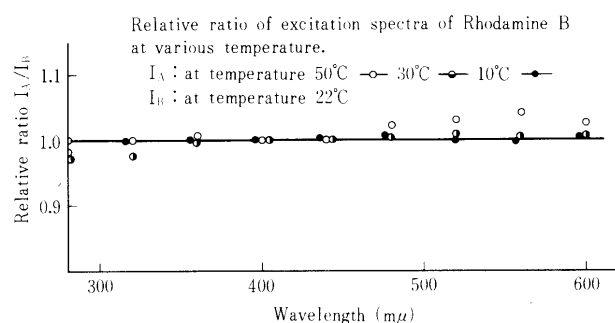


図4 ローダミンBの温度と相対強度

2.1.2 電気的カムの効果

励起光の一部を基準検知器に導くためのビームスプリッタ（石英板）の反射率は、フレネルの式で表されるように屈折率に関係するため、短波長ほど大きくなる。これによる測光誤差をなくするために、本付属装置には励起側の波長軸につながれたポテンショメータとバリオームからなる電気的カムを設けている（図2）。

試料室にも三角セルに入れたローダミンBの5%溶液をセットし、けい光側にフィルタR-62を入れ、波長は630m μ にして、励起波長を240m μ から600m μ にわたって走査して求めた。基準検知器との比記録を図5に示す。

補正しない場合には、長波長になるにしたがって浮上り、約 $\pm 7\%$ の誤差を生ずるが、電気的カムで補正するとほぼ理想的な直線になり、 $\pm 0.5\%$ 以内の精度に入っている。このように基準検知器との比記録が各波長で一定になるように補正して測定した真の励起スペクトルは、基準検知器が光量子計なので、光量子単位で表示されることになる。

上記、比記録において、スペクトルが長波長になるにしたがって波長の逆数に比例して小さくなるように電気的カムを調整すると、真の励起スペクトルはエネルギー単位で表示される。

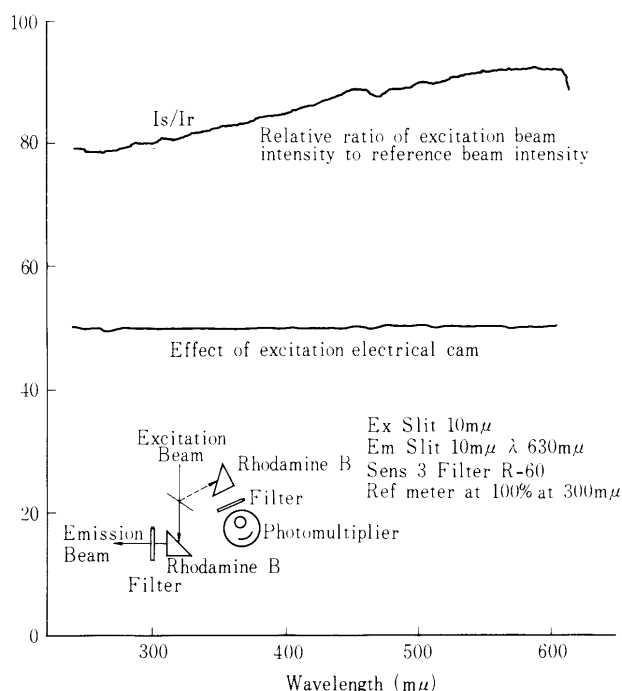


図5 電気的カムの効果

2.2 けい光スペクトルの補正

補正しないで測定したけい光スペクトルには、けい光側分光器と検知器の分光特性が含まれる。これを補正するために、一般に電気的なカムが使われる。この電気的カムを調整するのにその分光特性が既知なランプが必要となる。波長250m μ 付近の紫外域から値づけされた標準ランプは、非常に高価で、取扱いもむずかしい。そこで、本付属装置では、光量子計を用いて励起光のスペクトル分布を測定しておき、それを既知の光源として電気的カムを調整する方法⁷⁾を採用した。ただし、ローダミンBで

測定できる範囲が200m μ から600m μ までなので、もし波長600m μ 以上での補正を行うときには標準ランプを必要とする。それでも紫外領域は光量子計による方法で補正できるので可視域だけ値づけされた標準ランプがあればよい。

2.2.1 光量子計による電気的カムの調整

まず試料室に三角セルに入れたローダミンBの5%溶液をセットし、けい光側にフィルタ R-62 を入れ、波長は630m μ にして励起波長を280m μ から610m μ にわたって走査し、励起光のスペクトル分布を記録する(図6)。このとき試料の放射するけい光をスリット上に導くための集光レンズは外しておくのがよい。

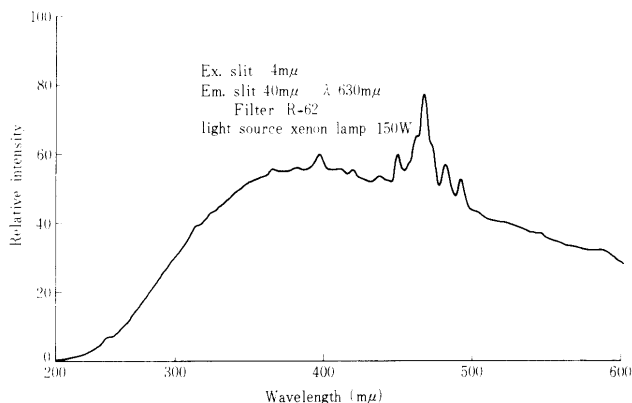


図6 励起光のスペクトル分布

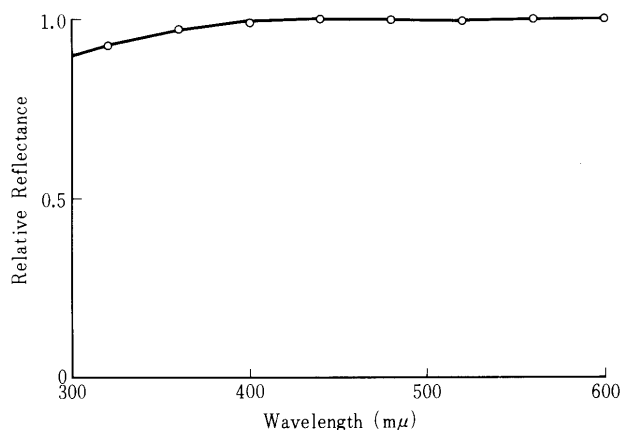


図7 白板の比反射率

次にローダミンBとフィルタ R-62 を外し、試料台の上に白板を励起光が直接けい光側分光器に入るようにセットする。けい光側のスリットは励起側のスリットよりも広くしておく。決められた補正波長の各位置において、励起、けい光側ともに同じ位置にセットし、上で記録した励起光のスペクトル分布と同じ値を記録計が指示するように電気的カムを調整する。

本調整に用いる白板は、その反射率が各波長に対してフラットなものが理想的である。その意味で酸化マグネシウムをくん着した白板がすぐれている⁹⁾。しかし、くん着をいつも同じ状態に行うことはむずかしく、そのうえ経時変化も大きいので取扱いにくい。

そこで本装置では、取扱いが容易で経時変化の少ない

酸化アルミナを主成分として固めた白板を採用した。酸化アルミナの比反射率は図7に見るように波長380m μ 以上ではほぼフラットで、波長300m μ では約10%低下する。

白板の代りに反射率幅広い波長範囲にわたってほぼフラットなアルミニウムミラーを用いた報告⁷⁾もあるが分散子にグレーティングを使った分光器では光が偏光されるので、それによる測定誤差に注意する必要がある。

2.2.2 標準ランプのスペクトル

光量子計による電気的カムの調整の精度を見るために色温度2995°Kのタングステンランプのスペクトル分布を測定した。図8に見るように補正しないで測定した場合にはタングステンランプ(色温度2995°K)の900m μ 付近のピーク波長は、長波長で検知器の感度が悪くなるため波長500m μ 付近に移っている。図8の黒点は色温度2995°Kのタングステンランプのそれぞれの波長における強度(光量子数で表示された)を示している。補正して測定したときのスペクトルの値と非常によく合っており、補正精度のよいことがわかる。

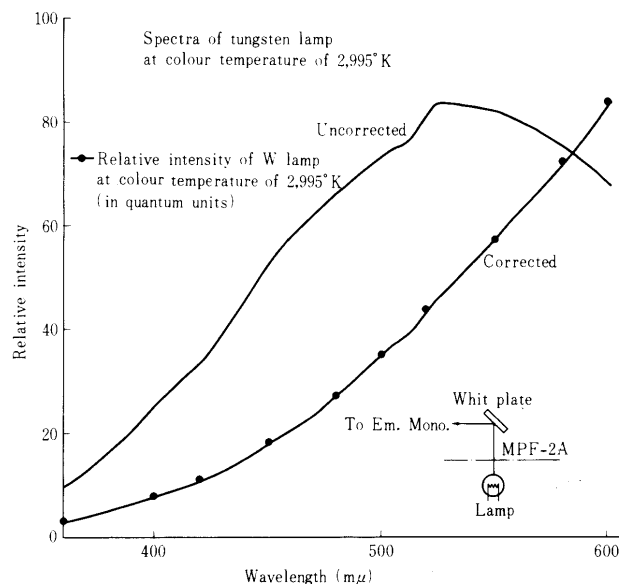


図8 タングステンランプのスペクトル分布

2.3 装置のおもな仕様

1. 測定波長範囲 励起側 250～600m μ
けい光側 300～600m μ
400～700m μ (標準ランプ必要)
2. 励起側基準検知器 光量子計(ローダミンB)
3. 恒温測定 温度範囲 0～60°C
(恒温槽が必要)

3. 測定例

本付属装置の補正の精度を確認するために数種の試料について測定した。測定条件の詳細はそれぞれ図の中に記入している。

3.1 励起スペクトル

硫酸キニーネ (10ppm, in 0.1N H_2SO_4) の励起スペクトルを図9に示す。

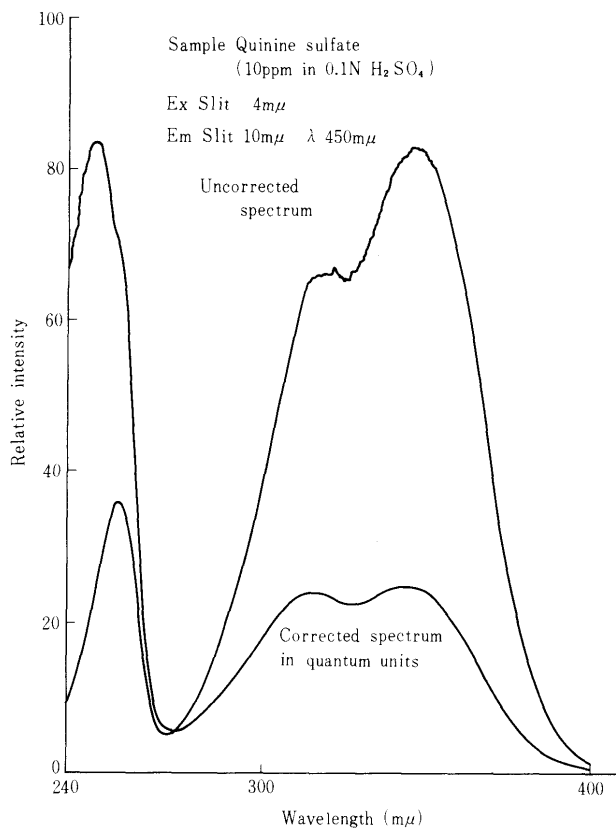


図9

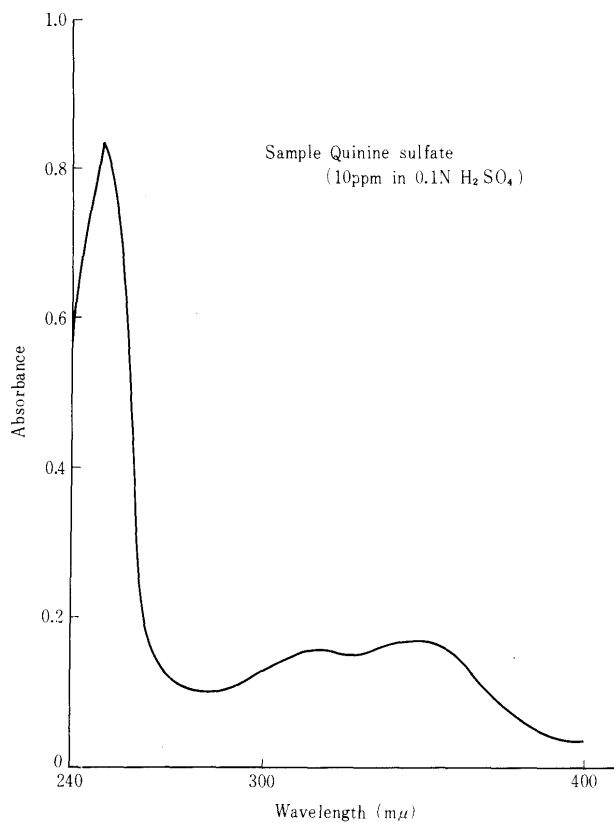
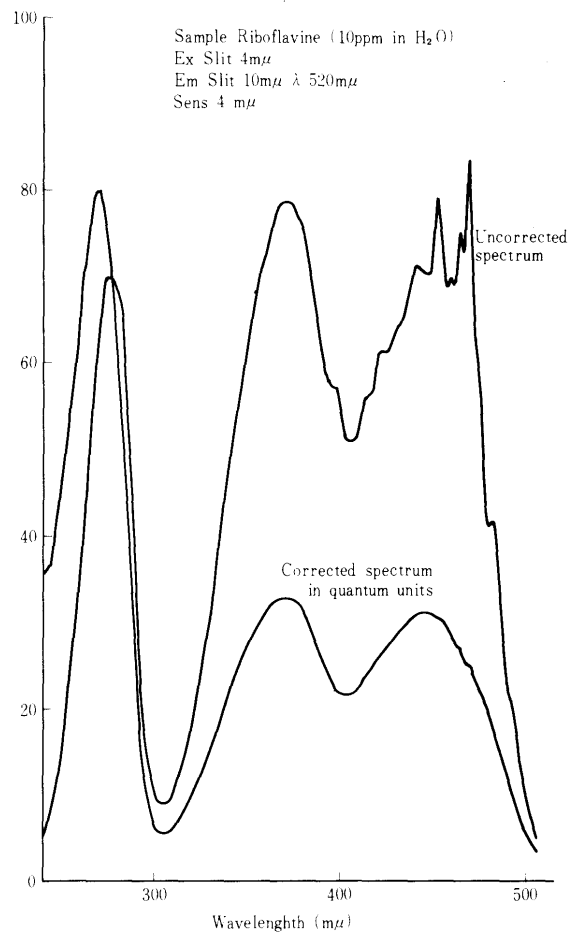
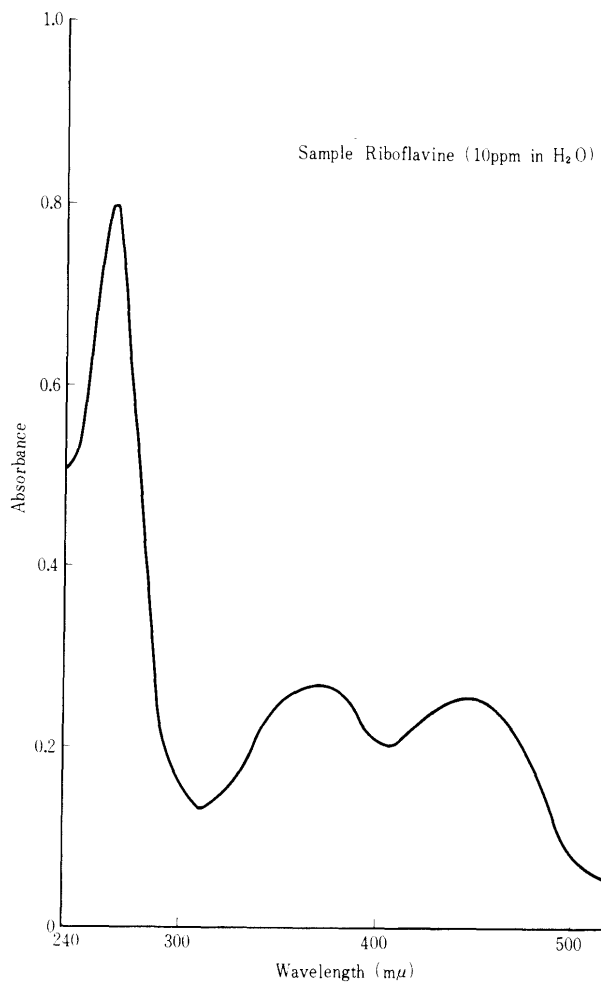


図10 硫酸キニーネの吸収スペクトル

図11 ビタミンB₂の励起スペクトル図12 ビタミンB₂の吸収スペクトル

補正をしないで測定した場合には、波長250m μ 付近のピークよりも350m μ 付近のピークのほうが高く出ている。これを補正して測定すると、250m μ 付近のピークが一番高くなり、ピークの位置も短波長側に約6m μ ずれている。同じ硫酸キニーネをEPS-3T 日立自記分光光度計で測定した吸収スペクトルを図10に示す。励起スペクトルと比較しやすくするためにMPF-2Aのチャートに書換えている。

図9の補正した励起スペクトルに各波長のピーク位置および高さ関係が非常によく似ており、補正精度のよいことを示している。ビタミンB₂(10ppm in H₂O)の励起スペクトルを図11に示す。

補正しない場合には波長470m μ 付近にキセノンランプの輝線(図6)が明りょうに出ている。補正するとその輝線がすっかりなくなり、波長270m μ 付近のピークも補正しない場合に比べて短波長側に寄り、図12に示す吸収スペクトルとよく似ている。

このように真の励起スペクトルは一般に吸収スペクトルと同じ形状を示すので、励起スペクトルの補正は微量試料の定性分析に非常に有効である。

真の励起スペクトルを求めるときは、自己吸収による消光現象の生じない濃度で測定すべきである。

3.2 けい光スペクトル

硫酸キニーネ(10ppm in 0.1N H₂SO₄)のけい光スペクトルを図13に示す。補正することによりピーク波長は約5m μ 長波長へシフトしており、Melhuish¹⁰⁾の結果とよい一致をみている。けい光ランプによく使われているハロリン酸塩けい光体の粉末をMPF-2Aの固体試料付属装置を用いて測定したけい光スペクトルを図14に示す。補正しないと、青色部と赤色部に生ずるけい光のピーク波長はそれぞれ470m μ 、570m μ に生ずるが、補正すると480m μ 、580m μ と全体に長波長側へ移行しており、Butler¹¹⁾の測定結果とよく一致している。

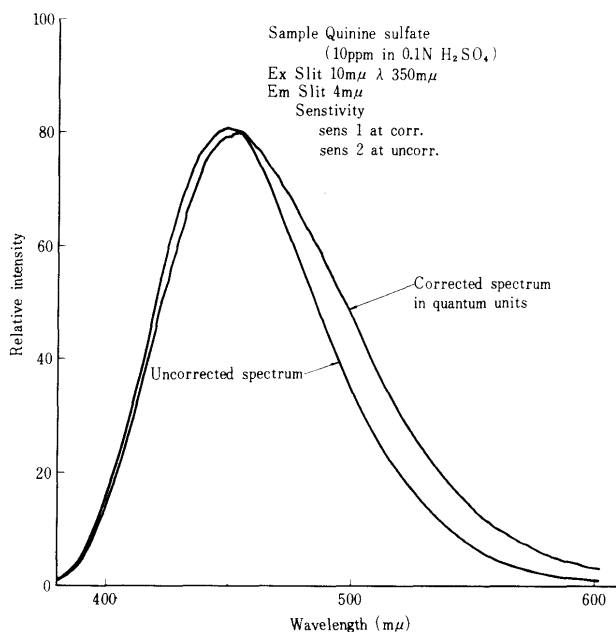


図13

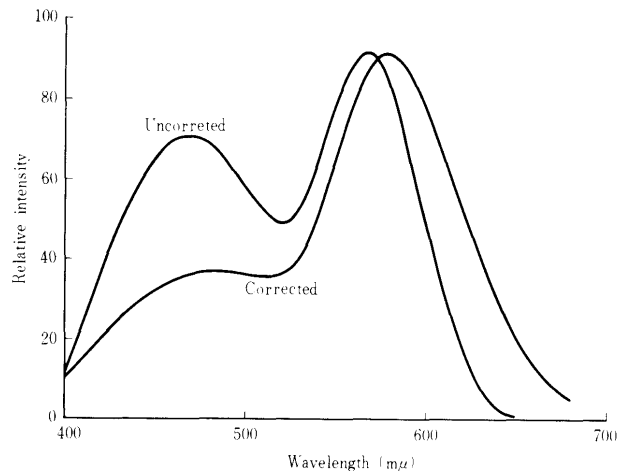


図14 ハロリン酸塩けい光体のけい光スペクトル

4. おわりに

MPF-2A形 日立分光けい光光度計用スペクトル補正付属装置の概要について述べた。励起スペクトルの補正に用いたローダミンBは非常に安定な物質であり、基準検知器として十分使用できることがわかった。

励起側にも電気的カムを採用したので、ビームスプリッタの汚れや各波長における反射率の違いによる測定誤差をなくし、高い精度で励起スペクトルの補正が可能になっている。けい光側の電気的カムの調整は、高価な標準ランプを使わず、光量子計で励起光のスペクトル分布を測定し、その励起光を白板でけい光側分光器へ導く方法で行い、よい結果を得た。

また、電気的カムの採用により、励起、けい光スペクトルともに光量子単位またはエネルギー単位のいずれでも表示することができる。ハロリン酸塩けい光体の測定(図14)に用いたMPF-2Aの固体試料付属装置はもとより、りん光、偏光などの付属装置をセットしてけい光物質の真の励起、けい光スペクトルの測定ができるので、医学、生化学、物理化学などの広い分野において、MPF-2A形 日立分光けい光光度計と本付属装置の組合せは絶対けい光スペクトル測定装置としての活用が期待される。

参考文献

- 1) R.L.Bowman, P.A.Caulfield and S.Udenfriend: Science, 32, 122 (1955)
- 2) S.Udenfriend: Fluorescence Assay in Biologg and Medicine, Academic Press, New York, 1962
- 3) W.Slarin, R.W.Mooney, R.W.Palumbo: J.Opt. Soc. Am. 51, 93 (1961)
- 4) H.K.Howerton: in Fluorescence (G.G.Guilbault, ed.), Debber, New York, 1967, Chapter 5.
- 5) G.K.Turner: Science, 146, 183 (1964)
- 6) C.A.Parker: Nature, 182, 1002 (1958)
- 7) W.H.Melhuish: J.Opt.Soc.Am. 52, 1256 (1962)
- 8) 相沢義雄ほか: 最新医学, 13, 78 (昭和33年3月)
- 9) W.W.Wendlandt and H.G.Hecht: Reflectance Spectroscopy, Wiley, New York, 1966, P270,
- 10) W.H.Melhuish: J.Phys. Chem. 64, 762 (1960)
- 11) K.H.Butler: J.Electro. Chem. Soc. 97, 266(1950)

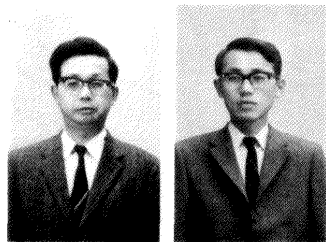
207形日立原子吸光分光光度計による血清銅の定量について

011 711 2111 Ext 5127

市田 篤郎* 信岡 学**

1. はじめに

臨床生化学において、血清銅の定量はWilson氏病のような特異な疾患や、銅欠乏時に見られるエラスチン、コラゲンなどの形式不全といった特殊なケースに



市田 篤郎 信岡 学

ともあるが、多くの場合は血清鉄代謝と対比的な変化の見られることから、血清鉄と同時に平行して測定されるのが普通である。このような観点からすると、Landers & Zak¹⁾の方法(L-Z法)は両者を最終の発色剤以外は共通に処理し得るという利点がある。これに対して血清鉄測定に原子吸光法(AAS)を適用することは、次の理由から必ずしも有利とはいえない。すなわち、AASによる鉄測定の感度はBPTなどの発色剤の感度に比べてそれほど鋭敏とはいえず、また、赤血球中には血清の約1,000倍濃度に鉄が含有されているから、極めてわずかでも喀血がある場合にはヘモグロビン鉄とトランスフェリン鉄とを区別できないAASをそのまま適用することはできない。L-Z法では1N HClによる加熱処理でトランスフェリン鉄だけを遊離させ、トリクロール酢酸でヘモグロビンを沈でんさせることにより解決しているが、鉄の汚染を避けるための細心の注意を必要とするから、この操作以降をAASにするのでは、比色法に慣れている技術員にとってメリットを感じさせない。除蛋白を省いて単一の試験管内で測定することは、汚染の機会を減少し、作業能率を高め、分析の自動化を容易にすることで、その為の方法が考慮されつつあり、著者も一法を考案、報告している²⁾。

銅では喀血の影響は無視できるが、その除蛋白を行わない比色法は、色調や発色剤の至適pHの点、あるいは血清銅が鉄の場合と異なりセルロプラスミンのほか、アルブミンやアミノ酸とも結合して存在し、強い酸性でなければ銅イオンを遊離させられないために困難であり、除蛋白を行わずに直接定量するのにはAASによるのが好適と思われたので、その適用を試みた。

2. 装置、試薬および測定条件

207形日立原子吸光分光光度計(ディスペンザ付き)およびハローカソードランプ(Cu) 3247 Åを全実験に使用した。アセチレン圧および流量は0.5kg/cm², 3l/min, 空気は1.8kg/cm², 13l/minを選択し、QPD₅₄日立記録計に記録した。

試薬の溶解および使用ガラス器具のゆずぎにはすべて再蒸留水をさらにイオン交換した伝導度5,000 kΩ・cm以上の水を用いた。ガラス器具はクロム硫酸に24時間浸したのち、水洗および上記脱イオン水により洗じようした。

検討の結果、ルーチンに採用した標準液は次のものである。すなわち、CuSO₄・5H₂O 3.9297g/l(1ml=1mg Cu)を1.24mMol l-Histidine・HCl(和光特級)水溶液で100倍に希釈したものを貯蔵標準液とし(1,000μg/dl Cu), 使用時にこれを1.24mMol Histidine液で希釈して50~300μg/lとし、さらにこれを等容の1:6(V/V)希釈エチレングリコール(和光特級)と混和して使用した。

血清サンプルは等容の脱イオン水で希釈して用いる。

上記の条件でBase lineのドリフトは全く認められず、150μg/dlの標準液および同程度のサンプルを約5分バーナーに送ってピーク高の変化はなく、最大のノイズ高がピーク高の±1%以上にはならず、原点を通る直線の検量線が得られる。

アトマイザを清浄に保つために、サンプル吸引とはほぼ同時脱イオン水を交互に吸引させ、測定終了後には消火して空気だけを送って希硝酸、アセトン、純水の順に吸引して洗じようしている。

このようにして得られたスタンダードおよびサンプルによる記録を図1に示す。この図では、オートサンプラーを用いて検体と脱イオン水とを交互に吸引するようにしてあるが、サンプラーのカムが動くときノイズとして各ピークの左端に記録されており、測定自体のノイズはこの部分以外に見られるものである。

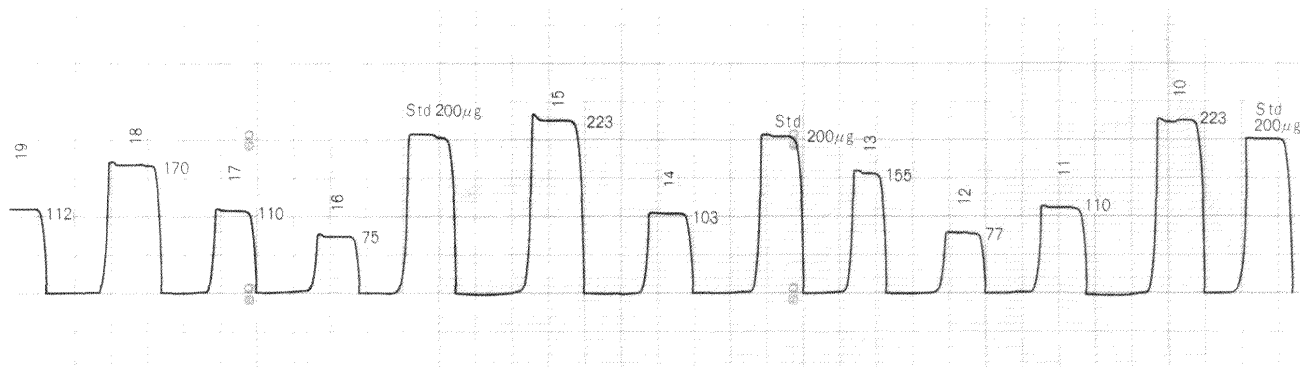


図1 スタンダードおよびサンプルによる記録

* 北海道大学・歯学部生化学教室

** 北海道大学・医学部附属病院検査部

3. 実験成績

3.1 単純希釈による成績

標準液にヒスチジン、グリコールなどを加えず、サンプル同様水による2倍希釈で測定して、前記のL-Z法によるものと比較すると54例で相関係数 0.974、回帰直線式として $y(AAS) = 0.88x(L-Z) + 0.82$ と約12%の低値が得られた(図2)。しかし、一方8種の血清に水の代りに銅標準液を添加して回収したところ平均97.7%(95.4~100.3%)とほかによい回収率を示した。

また、L-Z法によって血清サンプルを1N HClと加熱トリクロール酢酸で除蛋白したもの(血清2容+HCl 1容、さらに20%TCA 1容)および単に等容の20%TCAで除蛋白した上清にAASを適用すると、L-Z法に一致する値が得られ、水だけで希釈したものと明らかに差が見られる。なお、この際、標準液にもHCl, TCAを同様に加えてあるので、これらがサンプルの吸収を高めたとは考えられない(表1)。

また、血清の希釈倍数を高めると吸収の大きさの変化は直線的には変らず、検量線が直線であることから、粘度の影響のためと考えられた(図3)。このことはまたスタンダード(std)にグリコールを添加する実験で確認された。粘度の影響を除くには、少なくとも20倍以上の希釈が血清の場合必要であるとされるが、このように高度に希釈すると必然的に感度を上げなければならず、ノイズを拾い易くなるので、希釈倍数を変えず、stdに一定の粘度を与えて、血清と流量が同等になり既知濃度血清銅とstdとがマッチするように、添加エチレングリコール濃度を求めた。

3.2 種々な希釈液の効果

カルシウム、マグネシウムなどのAASで行われているように、std およびサンプルを種々な液で希釈したが、表2に示すように水希釈に比べて有利な点はない。

3.3 共存イオンの影響

表3に示すように、血清および血清の除蛋白上清に種々な塩類液を添加しても、銅の測定値に全く影響はないのに、銅の標準水溶液にこれらを添加すると約20%高値を示す。しかし、あらかじめ塩酸ヒスチジンを添加してくとこれらの共存イオンの影響はなくなる。

なお、塩酸ヒスチジン添加の有無によってL-Z法と一致させるに要するグリコール濃度は変化する。ヒスチジン、グリコールはそれぞれ銅の検出はされなかった。

Case No.	Atomic absorption*			Landers and Zak's chemical method $\mu\text{g/dl}$
	Water $\mu\text{g/dl}$	0.1 N HCl & 10% TCA** $\mu\text{g/dl}$	10% TCA $\mu\text{g/dl}$	
1	114	122	125	124
2	102	108	108	103
3	126	134	137	137
4	124	134	131	138
5	119	125	128	124
6	171	178	178	178
7	150	158	157	167
8	202	220	219	220
9	130	138	139	133
10	108	110	116	115
11	143	158	159	159
$\bar{x} \pm \text{S.D.}$	135.4 ± 29.7	144.1 ± 32.9	145.2 ± 31.8	145.3 ± 33.4

表1 除蛋白の効果

* サンプルおよびstdはともに1:1希釈もしくは除蛋白を各試薬で行った。
* * L-Z法と同じ処理による。

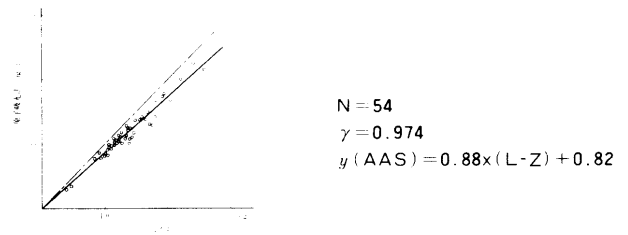


図2 単純希釈法によるAAS法とL-Zの成績の比較

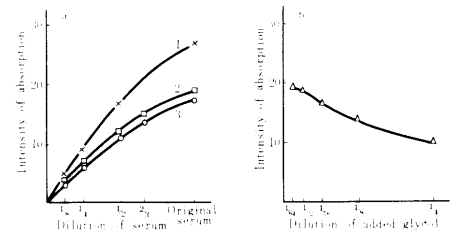


図3 吸光度に及ぼす希釈効果

a) 3種の血清を脱イオン水で希釈した際の吸光度の変化
b) 200 μg de Cu標準液に希釈度の異なるエチレングリコールを等容添加した際の吸光度の変化

Case No.	Atomic absorption					Landers and Zak's chemical method $\mu\text{g/dl}$
	Water $\mu\text{g/dl}$	2.5% SrCl_2 $\mu\text{g/dl}$	0.2% LaCl_3 $\mu\text{g/dl}$	2% EDTA-2 Na $\mu\text{g/dl}$	0.1 N HCl $\mu\text{g/dl}$	
1	114	110	111	114	107	124
2	102	101	96	104	99	103
3	126	126	123	134	126	137
4	124	120	122	123	114	128
5	119	114	116	112	112	124
6	133	133	131	130	—	137
7	133	131	131	132	—	142
8	138	142	143	145	—	153
9	112	111	111	115	—	123
$\bar{x} \pm \text{S.D.}$	111.2 ± 16.6	120.9 ± 13.1	120.4 ± 13.9	123.2 ± 13.0	—	131.2 ± 14.4

表2 種々な希釈剤の効果

以上の検討から、われわれがルーチンとして用いるために上記のような標準液組成と測定条件を設定した。

この条件ではL-Z法と充分な一致が得られ、30例で相関係数0.981、回帰直線 $y(AAS) = 1.00x(L-Z) - 0.100$ であり(図4)、プール血清の10回測定によるバラツキはC.V.2.7%、平均値137 $\mu\text{g/dl}$ で、L-Z法に匹敵し得る成績が得られた。

Added ions	200 µg/dl Cu standard (aqueous solution)		200 µg/dl Cu standard (histidine added)		Serum		Sup. of depro- teinized serum	
	as Cu µg/dl	Recovery %	as Cu µg/dl	Recovery %	as Cu µg/dl	Recovery %	as Cu µg/dl	Recovery %
Water	200	—	200	—	170	—	169	—
300 µg/dl Fe	240	120.0	203	101.5	172	101.1	167	98.8
10 mg/dl Ca	241	120.5	203	101.5	170	100.0	165	97.6
5 mg/dl Mg	237	118.5	199	99.5	174	102.3	171	101.1
0.1 mole NaCl	220	110.0	193	96.5	172	101.1	169	100.0
Na=145, K=5 Ca=5, Mg=3 mequiv/l mixture	238	119.0	195	97.5	169	99.4	169	100.0

表3 種々の溶液に対する共存イオンの影響

4. 考 察

日常臨床検査では正確さとともに、微量性、迅速性を満足させる方法が望まれる。また、実施に当っては、ノイズ、指針のフラツキによる読取りの困難さは技術員の最もきらいところである。

Dawsonら⁴⁾はサンプルを0.1N HClで20倍希釈して実施しているが、十分なピークが得られないためにスケールを拡大し、Base lineが上昇する状態でBaseの上昇を補正しながら読取っている。かれらのデータは、サンプルの吸引時間が短いのでノイズの程度がわからないが、同一試料を一定時間吸引して、そのデータがノイズを拾っているのではないことを明らかにすべきであろうと思われる。

無論、粘度をマッチさせるわれわれの方法が最良のものではなく、異常に粘度の異なるサンプルでは正確を期し得ない。この場合は除たん白を行うべきで、骨髓嚢など他の検査であらかじめわかっているときは除たん白し、stdにグリコールを添加せずに測定するとよい。しかし、一般の血清ですべて除たん白を行うのでは化学的方法に比べて有利とはいえなくなる。

共存イオンに関しては、血清サンプルではおそらく残存する蛋白やアミノ酸のために影響が避けられているのであろう。Dawsonら⁴⁾は血清銅の測定では0.1N HClを添加して銅を解離させて測定しており、尿中の銅の測定では標準液に‘Urine Equivalent Solution’を添加している。すなわち、血清中で銅は無機イオンとして存在することは考えられず、常に蛋白やヒスチジンのようなアミノ酸と結合している⁵⁾したがって、完全に電離している希薄な標準液とでは燃焼時においても異なるのではないだろうか。ヒスチジンの添加は std を生物試料に近づけるうえに有効であろう。

参考文献

- 1) J.W.Landers, B.Zak: Am. J.Clin. Path., 29 (1958) 590.
- 2) T.Ichida, T.Osaka, K.Kojima: Clin. Chim. Acta 22 (1968) 271.
- 3) T.Ichida, M.Nobuoka: Clin. Chim. Acta 24 (1969) 299.
- 4) J.B.Dawson, D.J.Ellis, H.Newton-John: Clin. Chim. Acta 21 (1968) 33.
- 5) P.Z.Neumann, A.Saas-Kortsak: J.Clin. Invest., 46 (1967) 646.

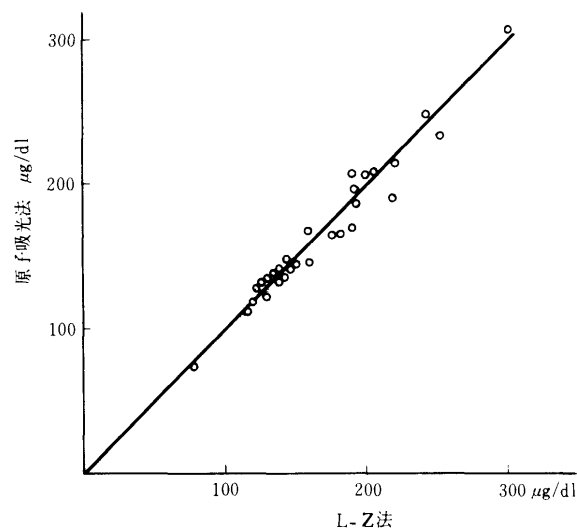


図4 改良法とL-Z法との成績の比較

5. おわりに

除蛋白を行わずに単純希釈により血清銅を測定する場合、約10%低値が得られることに注目して、われわれは標準液にエチレングリコールおよびヒスチジンを添加することにより、日常臨床検査への適用が容易となり、迅速かつ良好な精度で正確な成績が得られることを示した。またヒスチジンの添加が銅定量における共存イオンの影響を除くために有効なことを示した。

THE HITACHI Scientific Instrument News
Vol. 13 No.4

昭和45年11月20日印刷

昭和45年12月1日発行

非売品

編集人 石川直成

発行人 白川義雄

発行所 株式会社日立製作所 印刷所 日立印刷株式会社