



SSM-2形 日立走査電子顕微鏡

渡部忠雄* 神田公生* 大高 正*

1. 緒言

光学顕微鏡の発明は医学の急速な発展をもたらし、さらに最近では、透過電子顕微鏡が医学の分野に限らず、その他の分野においても学問の発展に大きな寄与をなした。ところで、光学顕微鏡は高い倍率が得られないという制約と焦点深度の浅さという点から、また、透過電子顕微鏡は試料作成上の技術的難点と得られる像の立体観の欠除という点から、試料の表面を高い倍率で、かつ立体的に観察しようとする人々に制約を与えてきた。

この走査電子顕微鏡は、試料の表面状態を高い倍率で、しかも、立体的に観察するために開発されたもので、従来の透過電子顕微鏡と光学顕微鏡の中間を埋めるものとして、独自の広い応用分野を含む領域の研究を可能とするものである。現在、市場に出ている走査電子顕微鏡は、高性能、多機能を主体としており、高価なため普及性に難点がある。今回、発表されたSSM-2形 日立走査電子顕微鏡は、操作性、据付け条件、価格などを考慮し、普及性を最大目標として開発した製品である。

2. 装置の概要

従来の走査電子顕微鏡（以下SEMと略記）は、操作性や価格より、高性能化に重点をおいて作られている。今回発表されたSSM-2形SEMは、操作性と低価格とに主眼をおいて設計されている。図1にSSM-2形SEMの外観写真を、図2にBLOCK DIAGRAMを示す。

2.1 電子光学系および鏡体

普及形SEMという点を考慮して、無調整電子光学系を採用し、レンズ系としては2段縮少レンズ系とした。

加速電圧は、外部磁場の問題、電子光学系の汚れなどを考慮し、最高20kVとし、生物などを観察する場合は、10kV、5kVと低加速電圧での観察が可能であり、3段切換方式とした。

鏡体には、正立形、倒立形、横形などがあり、これまでは正立形が多く採用されているが、正立形は、

- (1) 電子銃と高圧電源との距離が遠くなる。
- (2) 鏡体の重心が高くなり、振動対策がむずかしい。
- (3) 試料微動装置の操作性が悪くなる。

などの問題がある。SSM-2形SEMでは、鏡体を20°傾斜した倒立形を採用した。これにより試料室がテーブルの上にあるので、試料の着脱、試料微動機構が簡単になるという大きな利点が見られる。また、分解能は250Åを保証している。図3に、SSM-2形SEMの、鏡体および排気系断面図を示す。

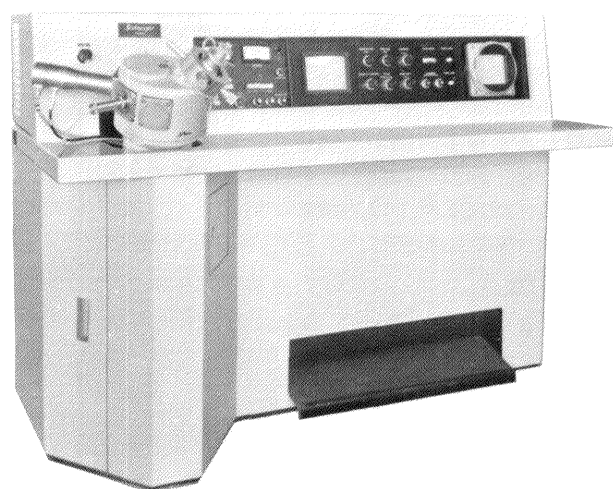


図1 SSM-2形 走査電子顕微鏡

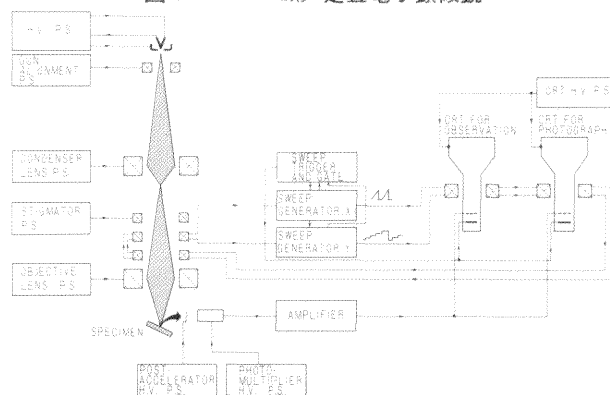


図2 SSM-2形 走査電子顕微鏡のブロックダイアグラム

目次

■SSM-2形 日立走査電子顕微鏡	……渡部忠雄, 神田公生, 大高 正…… 1
■遠赤外分光の高分子への応用	……田所宏行…… 6
■EDS-3T形 日立自記分光光度計によるP-dimethylaminobezylamine を基質とした新しいモノアミン酸化酵素の活性測定法	……永津俊治, 水谷公子……11
■原子吸光法によるスズ、半田の分析	……磯崎俊夫, 堀越幸雄……13
■205形 日立炎光光度計のルーチン化にあたって	……谷敷輝夫, 針田時子……17

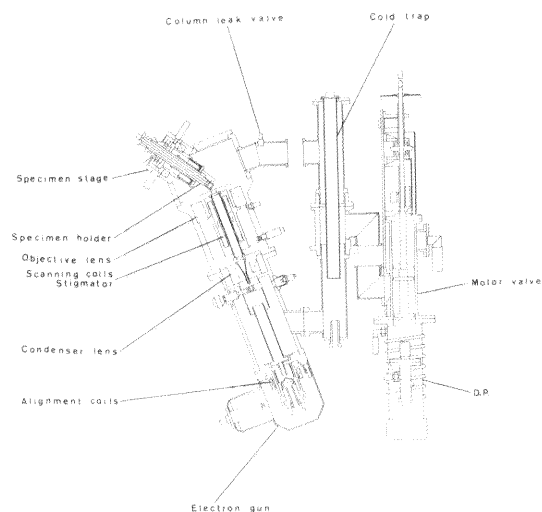


図3 鏡体および排気系断面図

2.2 試料ステージ

SEMの試料ステージは、試料の立体的観察を行うため、試料をあらゆる方向から観察できるように、X、Y、方向の微動、回転、傾斜などの機能が必要である。

SSM-2形SEMでは、鏡体が倒立型で、試料ステージがテーブル面の上部にあるため、設計上の制約がなく、付属装置の取付けおよび試料の着脱が容易であり、操作性が優れている。図4に試料ステージの外観写真を示す。標準仕様としては、試料サイズが15mmφ×10mmhで、微動範囲は±7mmである。試料回転は0°～360°可変である。

SSM-2形SEMの試料回転機構は、試料微動のX、Y、の位置がどこにあっても、回転中心がCRTの視野中心内にあるようになっている。例えば、観察したい視野をCRTの中心に微動つまみ(X、Y)でセットし、試料を回転しても、CRT面より視野が逃げない。図5にその例を示す。写真中0点はCRTの中心であり、この点を中心に試料が回転していることが明らかである。また、試料の交換を行う場合、X、Y、の微動つまみがどの位置にあっても、交換が可能である。

2.3 防振対策

SEMは振動に対して非常に敏感であり、高倍率では、特に除振を完全にすることが重要である。防振構造としては、①つり下げ方式、②重量分布が対称な構造、③しゃ断周波数は∞から数サイクル/sを満足しなければならない。SSM-2形SEMでは、鏡体および排気系を一体構造とし、除振台に乗せてある。さらに、鏡体が倒立形であるため、重心を低い位置に置くことができる。このため、ディスプレイのコントロールパネルより完全に独立させ、操作時パネルからの振動を防止することができる。

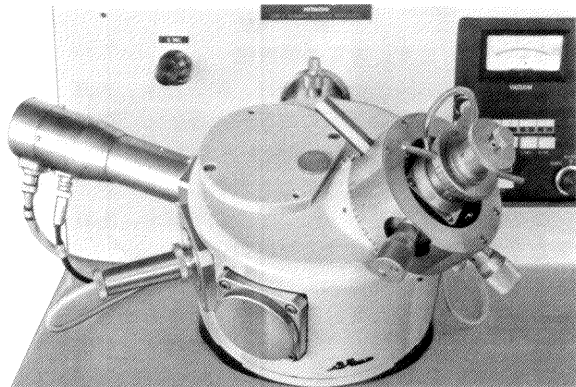


図4 試料ステージ

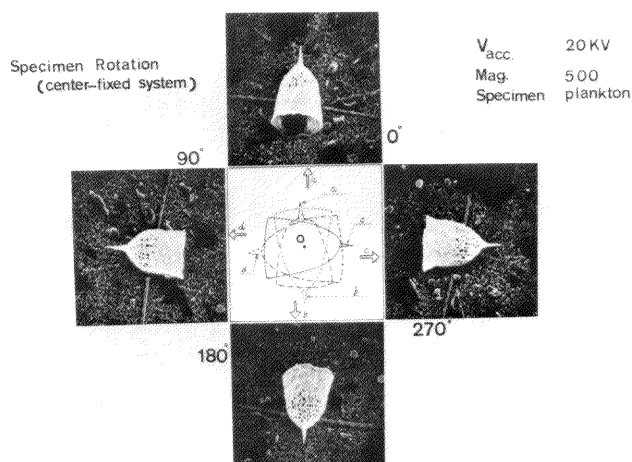


図5 試料の視野中心回転

3. 応用例

3.1 粉末試料の観察

図6に粉末樹脂の二次電子像を示す。粉末の大きさは～10μである。このような粉末試料は、試料ホルダ面に粉末を薄く置き、その上からAu蒸着を行い、試料を固定する。SSM-2形SEMでは、ジンバル機構付きの蒸着装置を用いることにより、粉末の表面にむらなくAuを蒸着することができる。

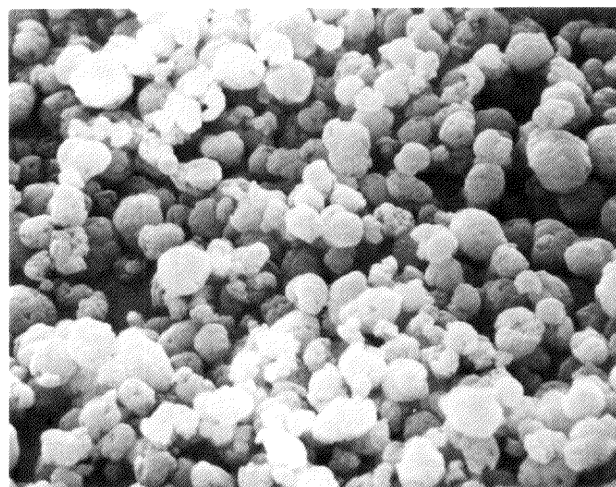


図6 粉末樹脂

3.2 IC表面の観察

図7に加速電圧5kVおよび20kVでICを観察した例を示す。20kVと5kVとではコントラストの差があることが認められる。加速電圧の違いによるコントラストの違いは、入射電子が試料に入射する深さに関係する。図8に、ICの断面と入射電子の関係を示す。図に示すように、20kVは入射電子のエネルギーが高いので、絶縁体であるSiO₂層を通り抜けてSi層まで到達する。5kVではSiO₂層で入射電子は止まってしまう。したがって、低加速電圧では、SiO₂層が表面に出ている部分は明るく観察される。こうした効果を利用すると、入射電子のエネルギーが高いとAl層の微細構造が明りようになる。また、エネルギーが低いとSiO₂層のパラツキや内部欠陥などが観察できる。

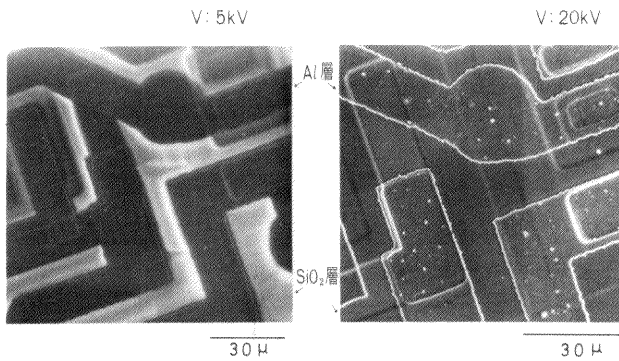


図7 IC表面の観察

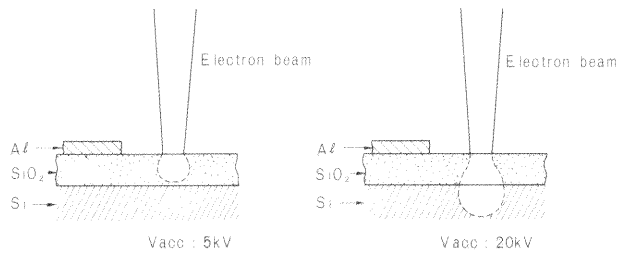


図8 IC断面と入射電子の関係

3.3 IC観察の工業的応用

SEMを用いて、ICやトランジスタなどの動作状態やIC回路の不良チェックができる。また、学問的には、トランジスタやICの素材の表面および内部構造の解析が可能である。図9にSEMの二次電子像によるICのチェックのきわめて興味深い一例を示す。写真で中央の板状の輝いているボタンが途中で切れていることがわかる。これは、写真の中央部でそのボタンが断線していることを示している。

このように、SEMの工業的応用として、トランジスタ、ICの不良の原因解析が、短時間で遂行できる。図10の写真はSSM-2用 SM-VC-1形ICホルダを用いて撮影したものである。このホルダは、ICを試料ホルダ上のソケットに取付け、最大12本のリード線を出すことができる。外部から、それぞれのリード線に必要なバイアス電圧を加えて作動状態にし、入力信号を加え、動作確認または、表面および内部欠陥のチェックが可能である。

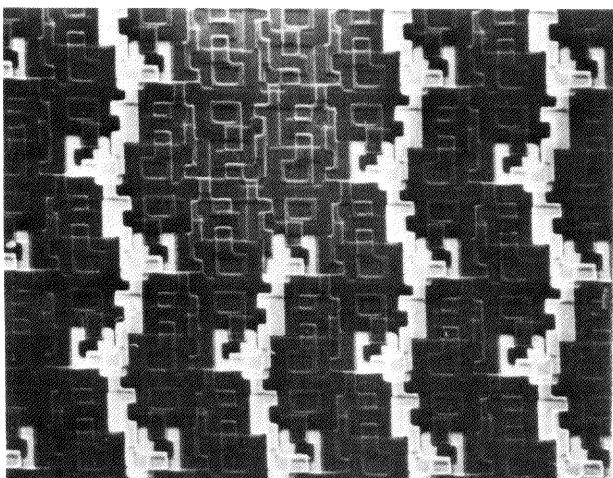


図9 ICの不良チェック

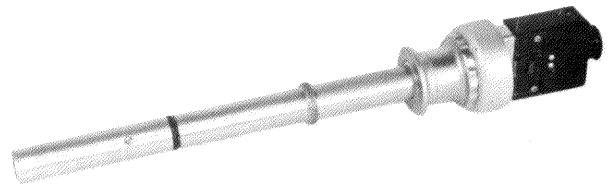


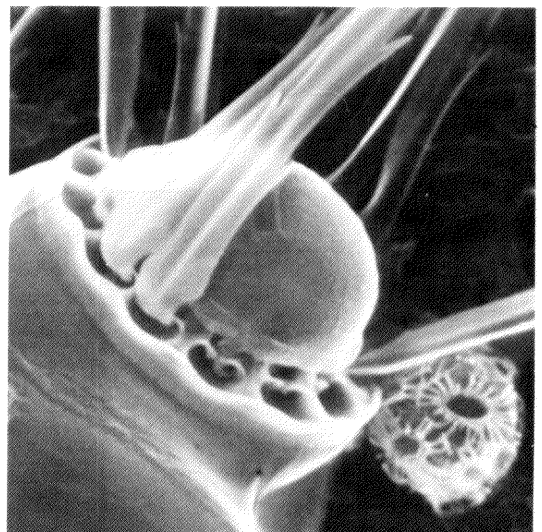
図10 SM-VC-1 ICホルダ

3.4 ブランクトンの透過電子像

SEMの透過電子像は、従来の電子顕微鏡による透過像に比べて分解能は落ちるが、高いコントラストの像が得られるという利点がある。図11に、微小プランクトンの二次電子像とを比較した例を示す。この写真より、二次電子像では、立体的な表面形状の観察ができ、また、透過電子像では、内部微細構造を明らかに知ることができる。この像は、SSM-2用 SM-TE-1形 透過電子像検出器を用いて撮影したものである。図12に検出器を試料ステージに取付けた状態を示す。



透過電子像 ×3,000



二次電子像 ×5,000

試料：プランクトン
加速電圧：20kV

図11 プランクトンの透過電子像

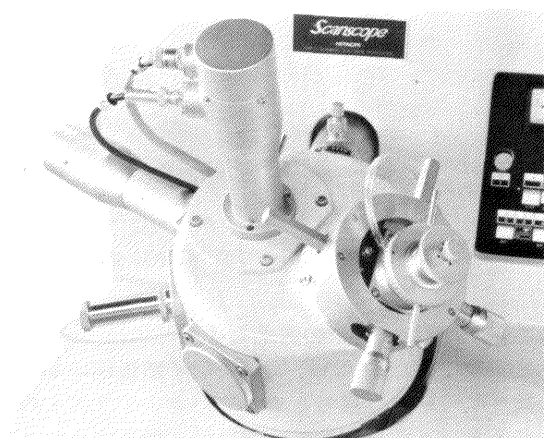


図12 SM-TE-1 透過電子像検出器

3.5 未蒸着での生物表面の観察

SEMで試料観察を行う場合、一般に、試料表面に200 Å程度のAuを蒸着して観察する。これは、絶縁物などの試料では表面に導電性をもたせ、また、金属などの導電性をもった試料では二次電子放出をよくするためである。

しかし、生物などでは、生のまま直接表面観察することが望まれる。このような場合は、加速電圧を低くすれば、試料表面のチャージアップ現象がなくなり観察ができる。図13にすぎなの茎の表面の写真を示す。この写真では、表面にAu蒸着が施されていないため、茎の表面を形成している物質や付着物の違いにより、二次電子の放出が異なるので、像のコントラストがついている。

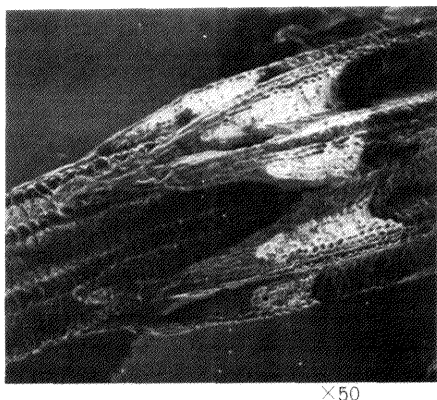
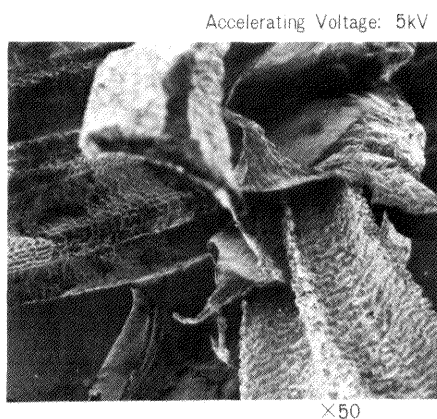


図13 すぎなの茎 (Au蒸着なし)

3.6 高角度試料傾斜装置によるコンクリート表面の観察

コンクリートの表面のように凹凸（おうとつ）の激しい試料を観察する場合、ある一定の角度から観察するだけでは、誤った情報を得ることがしばしばある。このような場合は、入射電子線に対し、試料表面を $+$ 、 $-$ に傾斜させ、正しい形状を知る必要がある。

図14のSM-TS-2形 高角度試料傾斜装置を用いて観察した例を図15に示す。試料はコンクリートである。傾斜角70度は低い角度で表面を観察したことを意味し、試料表面の凹凸がよく見える。傾斜角0度は、試料の真上から観察したことを意味し、穴の内壁の状態がよく見える。また、 -20 度に傾斜したときは、0度のとき見られなかった穴の反対側の内壁の状態がよく見える。

4. 結 言

以上、SSM-2形SEMの特色と概要について説明し、付属装置を用いての応用例を述べた。SEMの需要は年々増大の傾向にあり、応用面もこれから開発されて行く分野が多い。本装置は求めやすい価格と、かつ使い易さの点で、一般的な試料観察はもちろん、特に工場の品質管理や工業的な利用などに大いに役立つものと期待されている。

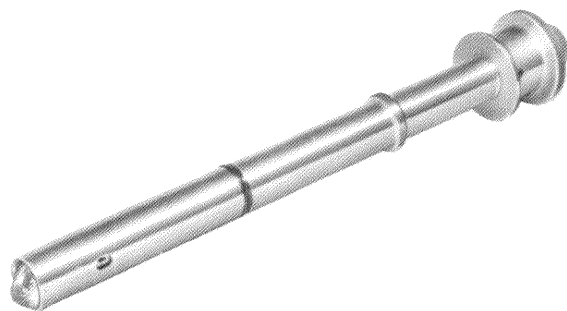
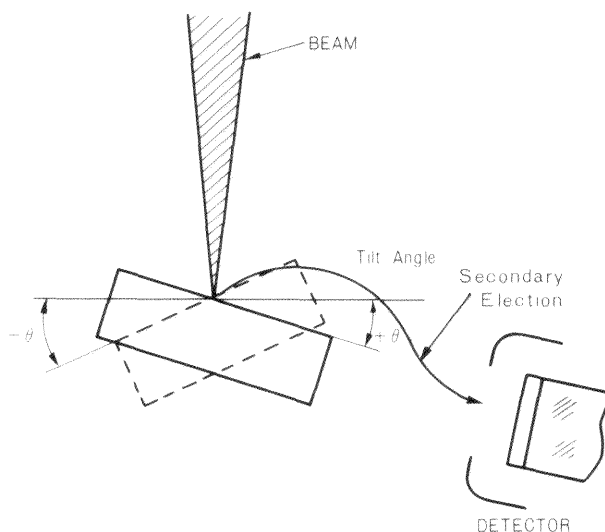


図14 SM-TS-2形 試料傾斜装置



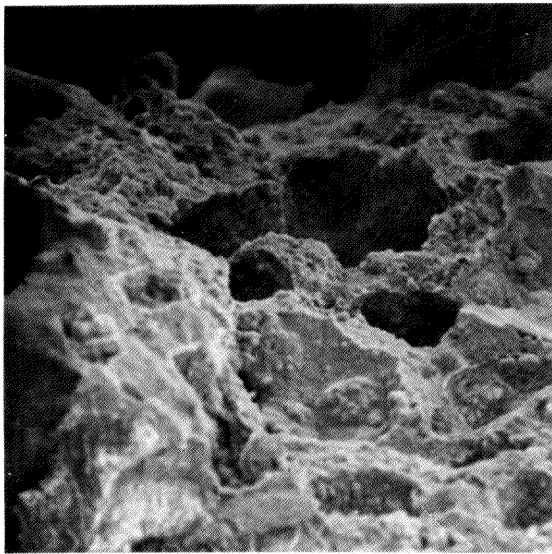
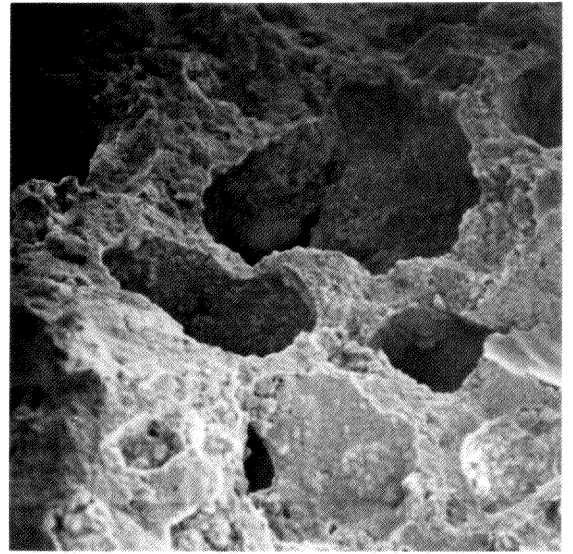
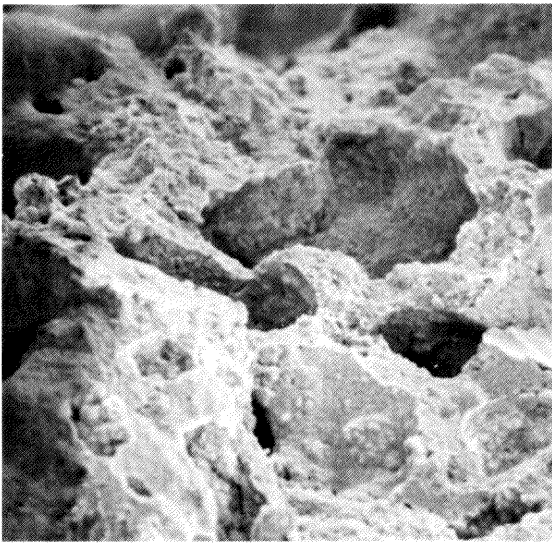
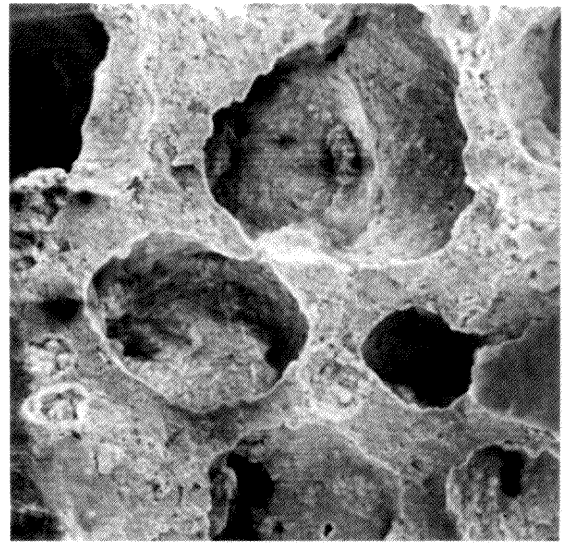
 $\theta = 70^\circ$  $\theta = 0^\circ$  $\theta = 55^\circ$  $\theta = -20^\circ$

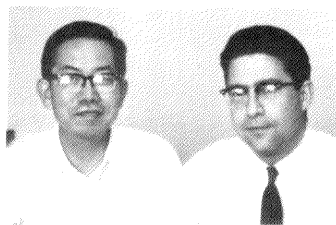
図15 コンクリートの表面の観察

遠赤外分光器の高分子への応用

田所宏行*

1. はじめに

図1にポリ-ε-カプロラクトン $[-(\text{CH}_2)_5\text{COO-}]_n$ とポリ-ε-カプロアミド(ナイロン6) $[-(\text{CH}_2)_5\text{CONH-}]_n$ の $4,000\text{cm}^{-1}$ より 80cm^{-1} にわたる領域の偏光赤外吸収スペクトルを示してある。 700cm^{-1} より高波数側はNH基のHが振動する領域であって、化合物特有の原子団に起因する特性吸収帯が現われ、両化合物のスペクトルは互いに全く異なっており、エステルとアミドの違いをよく反映している。しかし、 700cm^{-1} より低波数側はNH基が一体になって振動する領域であって、互いによく似ていることがわかる。このことは両者がエステル基とアミド基の違いを除けば互いによく似た化学構造を持ち、ともに平面ジグザグ型分子構造をとっているためである(ポリ-ε-カプロラクトン²⁾、ナイロン6³⁾)。このように 700cm^{-1} 以下の遠赤外領域には、一般に骨格の変角および内部回転振動に起因する吸収帯が現われ、分子のconformationがよく反映されるので、分子構造を解析する場合、特に有用である。参考のために、脂肪族ポリエステルおよびポリアミドの遠赤外吸収バンドの帰属を表1に示す。



S. Krimm教授(右)と筆者(左)

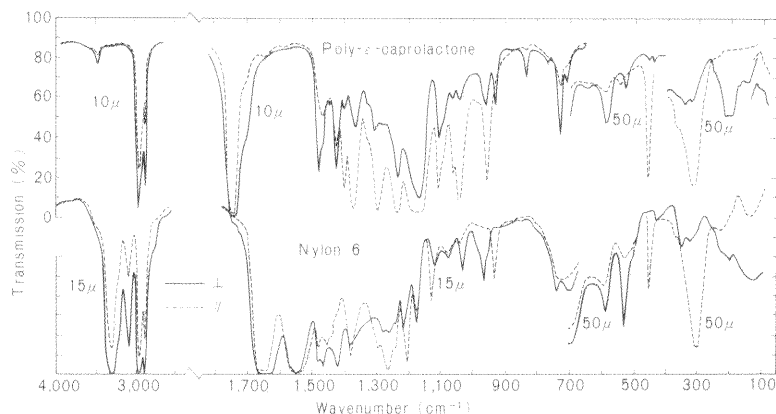
高分子の遠赤外吸収スペクトルに関する研究としては、下記のものがあげられる。

a) 構造決定：ポリエチレンオキシド^{4,5)}、ポリオキサシクロブタン^{6,7)}、ポリエチレンオキシド-HgCl₂付加化合物Ⅱ型⁸⁾、アイソタクチックポリメタクリル酸メチル⁹⁾、ポリ-1,3-ジオキセパン¹⁰⁾、ポリふっ化ビニリデン¹¹⁾

b) 結晶の格子振動：ポリエチレン(格子振動による吸収帯の検出^{12,13)}、重水素化パラフィンについての測定、二色性¹⁵⁾、因子群解析¹⁶⁾、基準振動の計算^{17,18)}

c) 吸収帯の帰属：ポリオキシメチレン^{19,20)}、アイソタクチックポリプロピレン²¹⁾、脂肪族ポリエステル¹⁾、ポリアミド^{1,22-24)}、ポリエーテル、 $[-(\text{CH}_2)_m\text{-O-}]_n$ ($m=3,4,6\sim12$)²⁵⁾

本稿では遠赤外吸収スペクトルが高分子の構造決定に役立った例として、筆者らの研究室における最近の研究を紹介する。いずれも日立FIS-1形 遠赤外分光光度計を用いて行ったものである。

表1 脂肪族ポリエステルおよびポリアミドの遠赤外特性吸収帯の帰属¹⁾

振動数 cm ⁻¹	脂肪族ポリエステル	α-ポリアミド(ナイロン6)
730-630	C=O面内変角, ν(CM), δ(主鎖)	—
~690	—	アミドV
590-580	C=O面外変角	アミドVI
~523	δ(M-CO-O), δ(主鎖)	δ(M-CO-N), δ(主鎖)
450-430	δ(OMM), δ(CH ₂ 鎖)	δ(NMM), δ(CH ₂ 鎖)
370-295	δ(M-CO-O-M), δ(CH ₂ 鎖)	δ(M-CO-NH-M), δ(CH ₂ 鎖)
235-195	τ(-CO-O-), τ(CH ₂ 鎖)	τ(CH ₂ 鎖)
150-90	τ(CH ₂ 鎖), τ(-CO-O-)	τ(CH ₂ 鎖)

注 (1) ν: 伸縮, δ: 変角, τ: 内部回転振動, M: CH₂基

(2) 523cm⁻¹付近のバンドはポリ-ε-カプロラクトンおよびポリ-ε-カプロアミドよりCH₂基の多いメンバーにだけ現われる。

2. ポリメタクリル酸メチル*1

ポリメタクリル酸メチル(PMMA)については、重合方法によって高度にisotactic(*it*)からsyndiotactic(*st*)にわたるものが得られ、特にNMRによるtacticityの研究や重合機構の研究において重要なポリマーとされてきた。*it*か*st*かというconfigurationのいかんはNMRによって決定されているが^{27,28)} conformationについては長い間確定しなかった(結晶構造についてはまだ明らかでない)。Stroupe²⁹⁾らは*it*-PMMAについて(5/2)、すなわち繊維周期中に5個のモノマー単位を含み、2巻きしているらせんのモデルを提案し、Liquori³⁰⁾は溶液の紫外スペクトルの温度変化とconformational analysis(後述)の結果から、*it* PMMAの場合、溶液中で43℃を境にして(5/1)と(5/2)らせんの間で変化するであろうと推定した。さらに、Liquori³¹⁾は*st:it*=2:1の結晶性付加化合物の生成について報告した論文の中で、(5/2)らせんモデルについて理論的に計算したX線反射強度は実測値と合わないと付記しているが、それ以上詳細な報告はなされていない。

筆者ら⁹⁾は*it*-PMMAの構造について解析を試みた。*it*-PMMAは一応結晶性のX線図形を与えるが、あまり鮮明ではない。このポリマーの場合には普通のX線解析の手順を適用することは困難で、図2に示した手続きに従って解析を行った。まず、X線データと実測密度との比較より、単位格子中に5モノマー単位を含むらせんが4本通っていると考えることができる。このようならせんの場合、図3に示したτ₁~τ₄の4個の内部回転角を決めれば、分子の構造が与えられる。

図1 ポリ-ε-カプロラクトンおよびポリ-ε-カプロアミド(ナイロン6)の偏光赤外吸収スペクトル。実線は入射偏光赤外線の電気ベクトルが延伸方向に垂直、破線は平行な場合のスペクトルを示す。¹⁾

まず、主鎖の τ_1 と τ_2 であるが、繊維周期10.50Å中に5個のモノマー単位が含まれるとし、普通の原子間距離と原子価角を仮定し、らせんパラメータの式(宮沢³²⁾)を用いて計算すると、図2に示した(5/1)と(5/2)の2種のらせんモデルが得られる。次に、側鎖の τ_3 と τ_4 の推定、すなわち妥当な側鎖の形を探すためには、conformational analysisの方法を用いた。conformational analysisというのは、X線解析ではなくて、非結合原子間の相互作用に関するポテンシャルエネルギーを仮定し、いかなるconformationが最も安定であるかを検討する方法である。(5/1)と(5/2)のいずれのらせんについても、 α -メチル基がらせんの外側に向くか、内側に向くかの2つの可能性があるが、それぞれについて2個の安定なモデルが得られたので、合計8種の可能な分子モデルがあげられた。

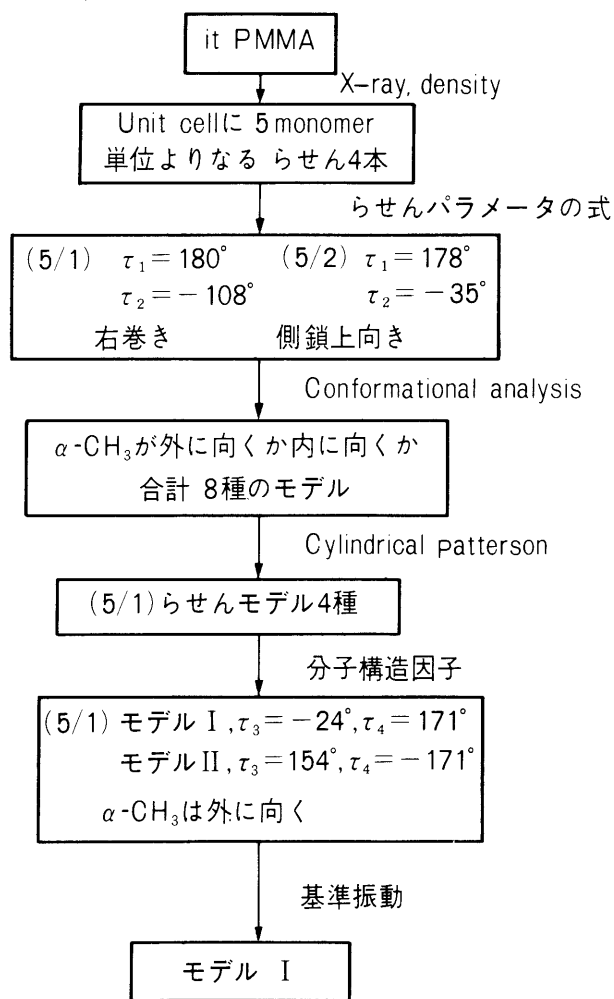
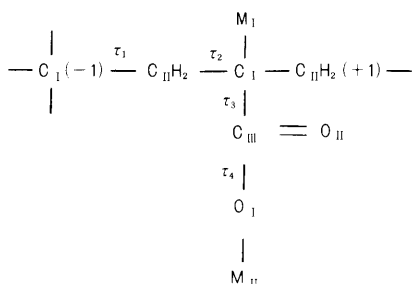
図2 解析の過程⁹⁾

図3 原子の番号付けと内部回転角

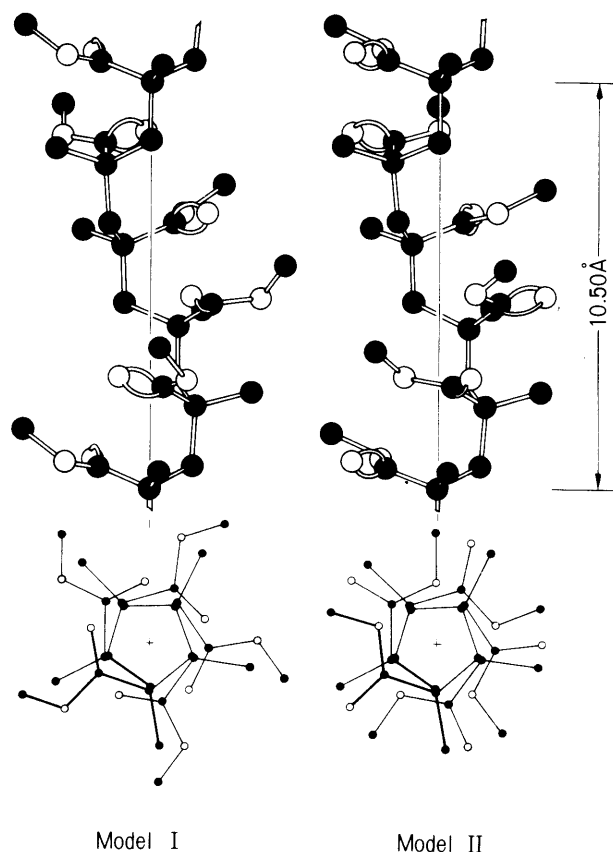
τ_1 [C_{II}(-1)C_I(-1)C_{II}C_I], τ_2 [C_I(-1)C_{II}C_IC_{II}(+1)],
 τ_3 [M_IC_IC_{III}O_I], τ_4 [C_IC_{III}O_IM_{II}].

(5/1)か(5/2)らせんかの判定にはcylindrical Patterson関数を利用した。その詳細は省略するが、この結果は明らかに(5/1)らせんが妥当なことを示している。次に、(5/1)らせん4個のモデルの中で α -メチル基がらせんの外側に向くか、内側に向くかの判定には、それぞれのモデルについて計算した理論的なX線反射強度を実測値と比較した。その結果、 α -メチル基が外側に向く2個のモデルのほうが実測との一致がよいことがわかった。すなわち、さきにあげた8種のモデルの中で、図4に示すモデルIとIIが最も妥当なことがわかったが、そのいずれが正しいかということは、X線の解析だけでは困難であった。図4のモデルIとIIで異っているのは、 τ_3 に相当するC-C結合の内部回転角で、モデルIではC-O単結合が α -メチルに対してcisに近く、モデルIIではtransに近いことである。

このモデルIとIIのいずれがより妥当であるかの判定に、遠赤外吸収スペクトルの利用を試みた。遠赤外吸収スペクトルはモデルIとIIの違いのような分子のconformationの差を反映するが、この場合基礎となる関連物質についての研究が必要である。

筆者らは一連の脂肪族ポリエステル[-(CH₂)_m-COO-]_n (m=1, 2, 4, 5)について、遠赤外吸収の研究を行って来た。¹⁾図5はこれら4種のポリエステルについてとった遠赤外スペクトルを示す。これら一連のスペクトルには類似の波数と強度をもってsystematicに現われる吸収帯が見出された。

一方、これと平行してこれらのポリエステルについてX線結晶解析を行い、いずれも平面ジグザグのconformationをとることを明らかにした。^{2, 33, 34)}そこでこれらのポリエステルについて骨格の基準振動を計算したが、その結果を図6に示す。各ポリマーについて、上は実測振動



Model I

Model II

図4 it PMMAの(5/1)分子モデル⁹⁾

数, 下は計算値で, 実測値については実線が垂直バンド, 破線は平行バンドを示す。よい一致が得られ, エステル結合を含む分子振動に対する妥当な力の定数を集積することができた。

図7に*it*-PMMAの遠赤外偏光スペクトルを示す。上記のポリエステルについて得られた力の定数を転用し, *it*-PMMAの(5/1)らせんモデルⅠとⅡについて基準振動の計算を行った。モデルⅠとⅡについての計算結果を実測値と比較する際に, ポリエステルの場合の経験に照し, 図7に現われている4個の強いバンドを極性基の寄与の大きい振動型に対応させた。このようにして得られた計算値と実測値の対応を図8に示す。上がモデルⅠの計算値, 下がモデルⅡの計算値で, 中央に実測値を示す。この結果によれば, モデルⅠではよい一致が得られたが, モデルⅡでは対応付けが困難で, 対応のできないバンドがいくつかあった。

このようにして図4のモデルⅠのほうがより妥当なことが明らかになった。しかし, 初めに述べたように, *it*-PMMAについては必ずしもよいX線図が得られていない。したがって, 結晶領域中または1本のらせん中になんらかの不整があることが想像される。なお, 図4のモデルⅡはLiquoriらの報告³⁰⁾中の(5/1)モデルに似ているが, モデルⅠは筆者らがはじめて提案したものである。

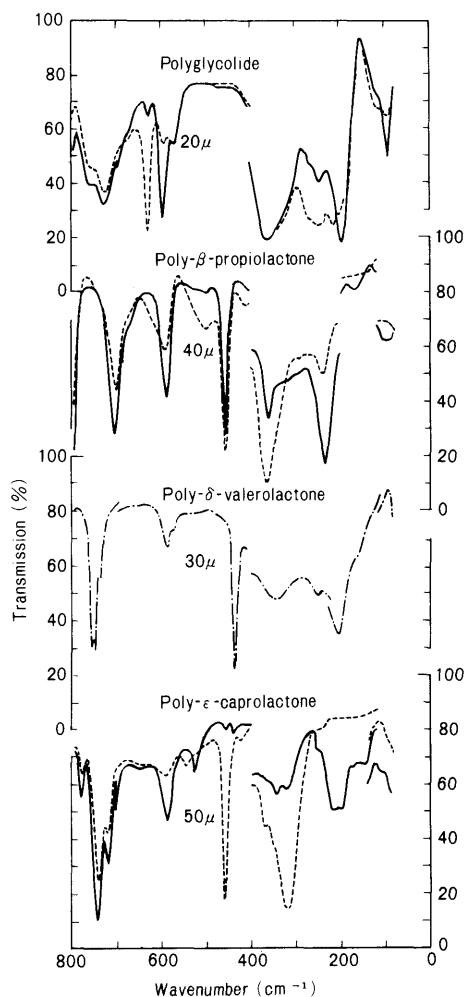


図5 ポリグリコリド, ポリ-β-プロピオラクトン, ポリ-δ-バレロラクトンおよびポリ-ε-カプロラクトンの遠赤外吸収スペクトル

——: 偏光の電気ベクトル⊥延伸方向
 -----: 偏光の電気ベクトル//延伸方向
 - · - · - : 非偏光による測定¹⁾

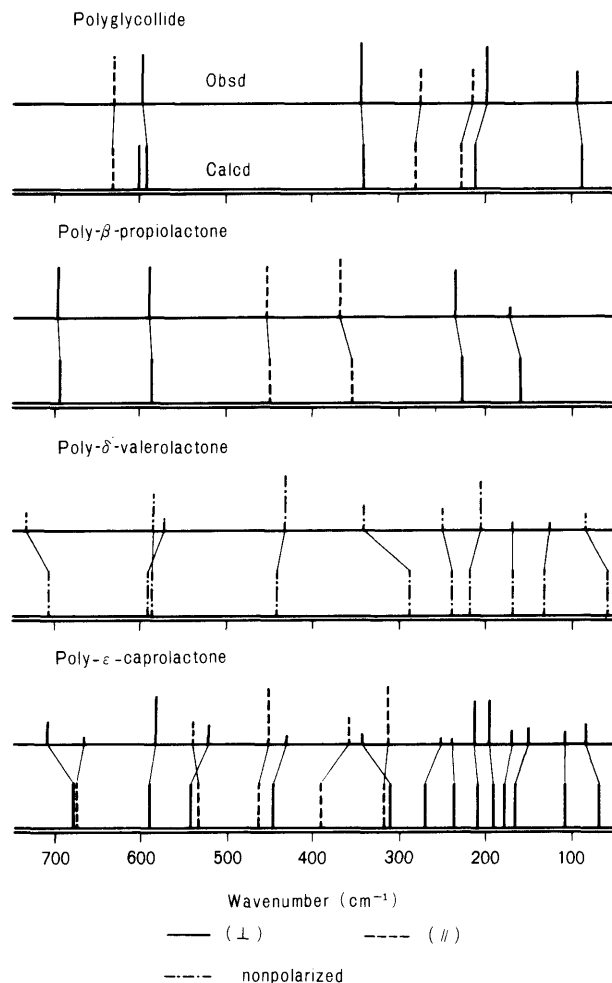


図6 4種のポリエステルの赤外バンドの振動数, 実測値(上)と計算値(下)¹⁾

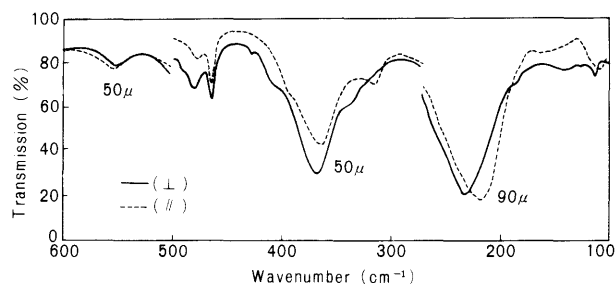


図7 *it*-PMMAの遠赤外偏光スペクトル⁹⁾

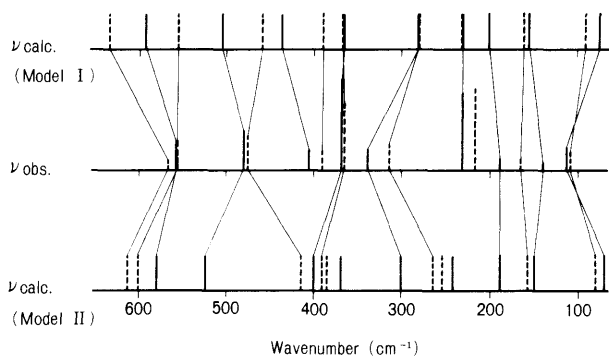


図8 *it*-PMMAの赤外バンドの振動数の実測値(中)とモデルⅠ(上)およびモデルⅡ(下)についての計算値
 実線: 垂直バンド 破線: 平行バンド⁹⁾

3. ポリエチレンオキシド-HgCl₂付加化合物⁸⁾

ポリエチレンオキシド (PEO) はHgCl₂と2種類の付加化合物を作る。その一つはPEOとHgCl₂のモル比が4:1でⅠ型と名付け、他の一つはモル比1:1でⅡ型と名付ける。Ⅰ型の結晶構造は主としてX線回折の方法を用いて決定した。³⁵⁾ Ⅱ型の場合にはPEO分子に比較してHgCl₂分子のX線反射に対する寄与が圧倒的に大きい。すなわち、原子番号はHg: 80, Cl: 17, O: 8, C: 6で、大まかにいって散乱能には原子番号の自乗がきくので、原子散乱能を比較すると

$$f_{\text{Hg}}^2 + 2f_{\text{Cl}}^2 (=6978) \gg 2f_{\text{C}}^2 + f_{\text{O}}^2 (=136)$$

ようになる。このためにX線解析のみではPEOのconformationを決定できず、解析に赤外吸収が役立った例である。Hg原子のおおよその位置はまずPatterson図形より求められ、フーリエ合成を繰返し行うことにより、HgとClの座標が決定された。ab面への電子密度投影を求めると図9のようになり、HgとCl以外の位置にPEOによると考えられるブロードなピークが認められる。

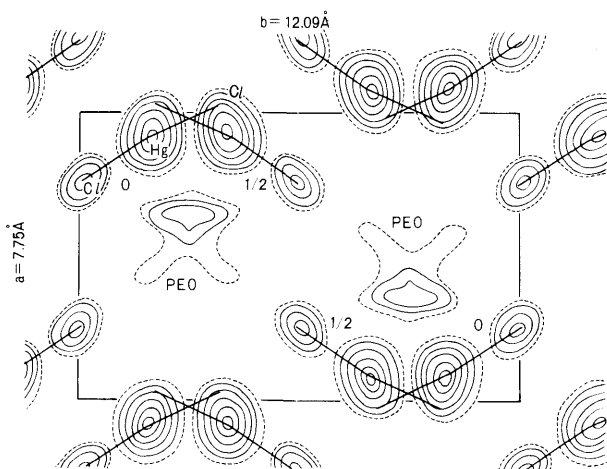
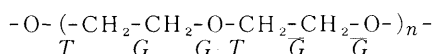


図9 PEO-HgCl₂付加化合物Ⅱ型のab面フーリエ投影 (Hgのみは等高線を1/2の高さに書いてある)⁸⁾

次に、HgとCl原子の位置を中心としてそれぞれの van der Waals半径の球を描く (Hg: 1.5 Å, Cl: 1.8 Å)。さらに、これらの球の外側にO原子とCH₂基の van der Waals半径 (O: 1.4 Å, CH₂: 2.0 Å) の厚さの皮をかぶせる。こうすると、PEOのOとC原子の存在できる領域が狭い空間に制限される。図10はc軸に垂直な断面とa軸に垂直な断面を示したものであるが、白い所にはOもCも入ることができず、点を打った領域にはO原子だけが存在可能で、線を引いた領域にはOもCも存在可能のはずである。

一方、Ⅱ型の繊維周期は5.88 Åで、Ⅰ型の値 (11.75 Å) のちょうど1/2であることより、2モノマー単位で繰返していると考えられる (Ⅰ型は4モノマー単位で繰返す)。また、赤外吸収スペクトルの吸収帯の数よりPEO分子の対称は点群C₂またはC_sと同型であろうと推定されるが、結晶格子のすき間についての考察よりPEOの分子モデルとして映進面の対称をもつモデルが考えられた。すなわち、



に比較的近いものではないかと想像された。もし正確にT=180°, G=60°とすると、その繊維周期は5.38 Åになる。しかし、このモデルでは-CH₂-O-CH₂-CH₂-の両端のCH₂

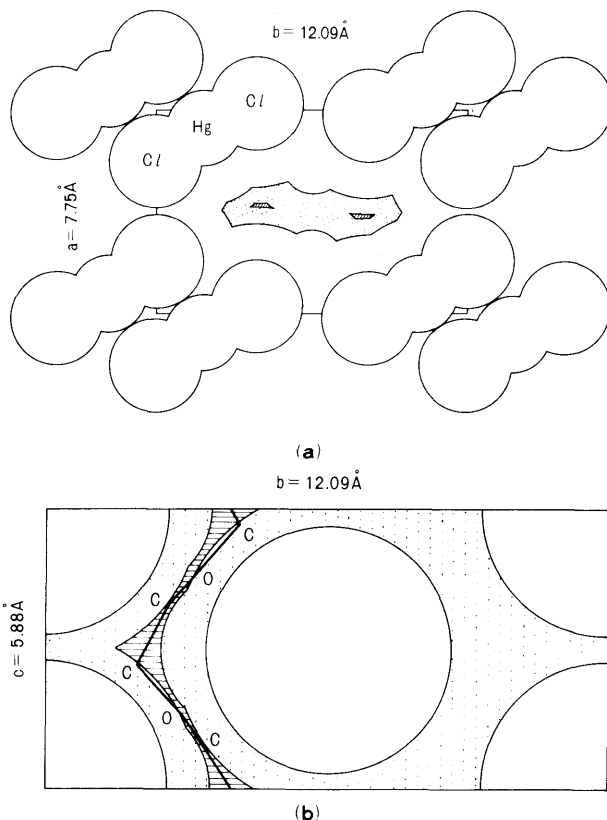
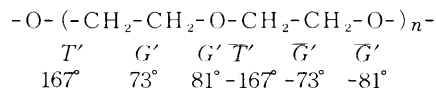


図10 PEOの存在可能な領域

(a) c軸に垂直な断面 ($z=0$), (b) a軸に垂直な断面 ($x=0.48$), 斜線で示した領域にはCおよびOが、点で示した領域にはOの4が存在可能⁸⁾

のH...H距離が1.73 Åとなり、H...Hの van der Waals距離2.2~2.4 Åに比べて短く、C-O結合はゴーシュをとり得ないという常識どおり不都合である。しかし、このモデルについてこれまでに得られているPEOの力の定数を用いて骨格の基準振動を計算してみると、図11に示す遠赤外領域のスペクトルをかなりよく説明できることがわかった。そこでこの分子モデルより出発し、繊維周期を5.88 Åとして、映進面の対称を保ったまま内部回転角を変化させて行き、上記のH...H距離が最も離れるような骨格の内部回転角を探した。その結果次のようなモデルが得られた。(ダッシュはT, Gよりずれていることを示す)。



このモデルを仮定すると、最も近いH...H距離が2.07 Åとなり、近接するCH₂基の間でH原子がちょうど2個のH原子の間に入るようにしてH...H距離が遠ざかるようになっている。このモデルについて骨格の基準振動を計算すると、遠赤外スペクトルをよく説明する結果が得られた(図12)。このようにして遠赤外吸収スペクトルの考察より求めたconformationをもつPEOを格子に入れてみると、ちょうどPEOの存在可能な空間に当てはまることがわかった。最終的に得られた結晶構造を図13に示すが、HgCl₂だけについて計算したX線反射強度よりも、この図に示すようにPEOを含めて計算すると実測強度との一致が改善された。図14にPEOだけの場合、PEO-HgCl₂付加化合物Ⅰ型およびⅡ型におけるPEO分子鎖のconformationを比較して示した。

以上it PMMAとPEO-HgCl₂付加化合物の構造決定について述べたが、いずれもX線のみ、または赤外のみでは構造決定がほとんど不可能で、両方法を併用することにより決定し得た例であろうと考えている。

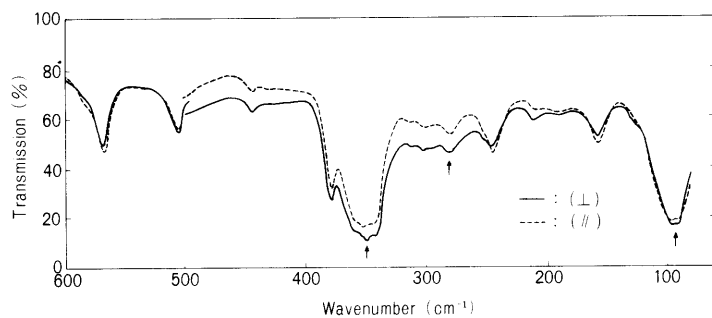


図11 PEO-HgCl₂付加化合物Ⅱ形の遠赤外吸収スペクトル (矢印はHgCl₂による吸収を示す)⁸⁾

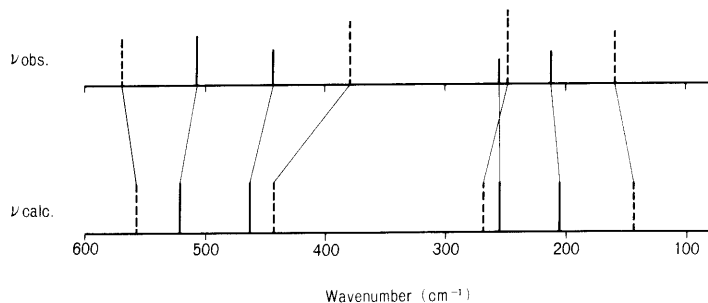


図12 PEO-HgCl₂付加化合物Ⅱ型の遠赤外吸収スペクトルとT' G₂' T' G₂型PEOについての計算値の比較⁸⁾

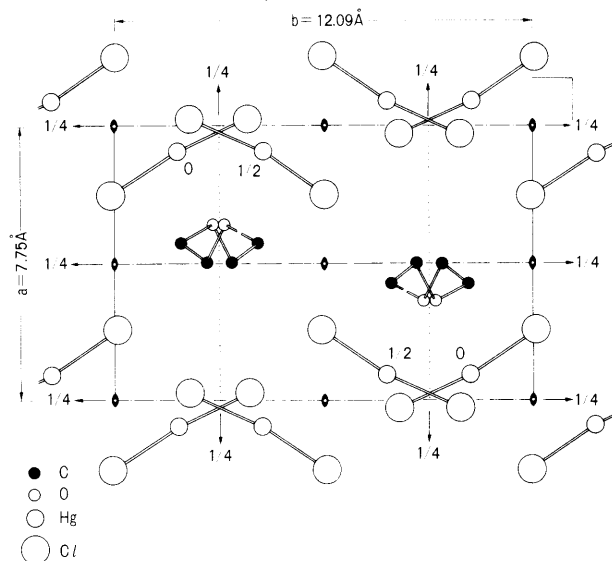


図13 PEO-HgCl₂付加化合物Ⅱ型の結晶構造⁸⁾

参考文献

- 1) H.Tadokoro, M.Kobayashi, H.Yoshidome, K.Tai, D.Makino, *J.Chem.Phys.*, **49**, 3359(1968).
- 2) Y.Chatani, Y.Okita, H.Tadokoro, Y.Yamashita, *Polymer J.*, **1**, 555(1970).
- 3) D.R.Holmes, C.W.Bunn, D.J.Smith, *J.Polymer Sci.*, **17**, 159(1955).
- 4) H.Tadokoro, Y.Chatani, T.Yoshihara, S.Tahara, S.Murahashi, *Makromol. Chem.*, **73**, 109(1964).
- 5) T.Miyazawa, K.Fukushima, Y.Ideguchi, *J.Chem. Phys.*, **37**, 2764(1962).
- 6) D.Makino, M.Kobayashi, H.Tadokoro, *J.Chem. Phys.*, **51**, 3901(1969).
- 7) H.Kakida, D.Makino, Y.Chatani, M.Kobayashi, H.Tadokoro, *Macromolecules*, **3**, 569(1970).
- 8) M.Yokoyama, H.Ishihara, R.Iwamoto, H.Tadokoro, *Macromolecules*, **2**, 184(1969).
- 9) H.Tadokoro, Y.Chatani, H.Kusayagi, M.Yokoyama, *Macromolecular Chemistry*, **3**, 441(1970).
- 10) 佐々木伸太郎, 高橋泰洋, 田所宏行, 日化年会, 01326, 東京(1970).
- 11) G.Cortili, G.Zerbi, *Spectrochim. Acta*, **23A**, 285(1967).
- 12) J. E.Bertie, E. Whalley, *J.Chem.Phys.*, **41**, 575(1964).
- 13) A.O.Frenzel, J.P.Butler, *J.Opt.Soc.Am.*, **54**, 1059(1964).
- 14) S.Krimm, M.I.Bank, *J.Chem.Phys.*, **42**, 4059(1965).
- 15) M.I.Bank, S.Krimm, *J.Appl.Phys.*, **39**, 4951(1968).
- 16) S.Krimm, C.Y.Liang, G.B.B.M.Sutherland, *J.Chem.Phys.*, **25**, 549(1956).
- 17) M.Tasumi, T.Shimanouchi, *J.Chem. Phys.*, **43**, 1245(1965).
- 18) M.Tasumi, S.Krimm, *J.Chem.Phys.*, **46**, 755(1967).
- 19) H.Tadokoro, M.Kobayashi, Y.Kawaguchi, A.Kobayashi, S.Murahashi, *J.Chem.Phys.*, **38**, 703(1963).

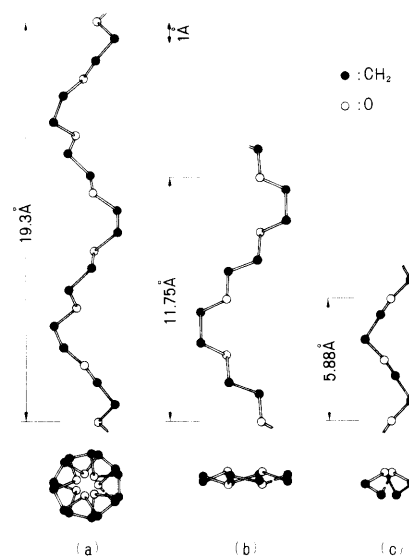


図14 (a)PEO, (b)PEO-HgCl₂付加化合物Ⅰ型中のPEOおよび(c)Ⅱ型中のPEOの分子構造⁸⁾

- 20) V.Zamboni, G.Zerbi, *J.Polymer. Sci. C*, **7**, 153(1964).
- 21) H.Tadokoro, M.Kobayashi, M.Ukita, K.Yasufuku, S.Murahashi, T.Torii, *J.Chem.Phys.*, **42**, 1432(1965).
- 22) I.Matsubara, Y.Itoh, M.Shinomiya, *J.Polymer Sci.B*, **4**, 47(1966).
- 23) I.Matsubara, J.H.Magill, Inter. Symp. Macromol. Chem., Tokyo-Kyoto, Japan, 1966, Preprints, p. VII-10.
- 24) T.Komatsu, D.Makino, M.Kobayashi, H.Tadokoro, *Reports Progress Polymer Phys. Japan*, **13**, 165(1970).
- 25) D.Makino, M.Kobayashi, H.Tadokoro, *Reports Progress Polymer Phys. Japan*, **13**, 169(1970).
- 26) 田所宏行, 高分子, **19**, 775(1970).
- 27) F.A.Bovey, G.V.D.Tiers, G.Fillipovich, *J.Polymer Sci.*, **44**, 173(1963).
- 28) A.Nishioka, H.Watanabe, K.Abe, Y.Sano, *J.Polymer Sci.*, **48**, 241(1960).
- 29) J.D.Stroupe, R.E.Hughes, *J.Am.Chem.Soc.*, **80**, 2341(1958).
- 30) M.D'Alagni, P.De Santis, A.M.Liquori, M.Savino, *J.Polymer Sci.B*, **2**, 925(1964).
- 31) A.M.Liquori, G.Anzuino, U.M.Coiro, M.D'Alagni, P.De Santis, M.Savino, *Nature*, **206**, 358(1965).
- 32) T.Miyazawa, *J.Polymer Sci.*, **55**, 215(1961).
- 33) Y.Chatani, K.Suehiro, Y.Okita, H.Tadokoro, K.Chujo, *Makromol. Chem.*, **113**, 215(1968).
- 34) 末広和昭, 茶谷陽三, 田所宏行, 加藤力太郎, 田中稔, 高分子学会年次大会, 名古屋(1966).
- 35) R.Iwamoto, Y.Saito, H.Ishihara, H.Tadokoro, *J.Polymer Sci. A-2*, **6**, 1509(1968).

EPS-3T形 日立自記分光光度計による p-dimethylaminobenzylamineを基質とした新しいモノアミン酸化 酵素の活性測定法

永津俊治* 水谷公子*

著者らの研究室では、EPS-3T形日立自記分光光度計と恒温加熱付属装置を用いて、一定温度で光度計セル内で酵素反応を行い、基質や助酵素の吸収スペクトルの時間的変化、あるいは一定波長における吸光度の時間的増加減少をレコードすることにより、酵素活性の測定を迅速正確に行っている。ここにその一応用例としてモノアミン酸化酵素活性の新しい測定法を紹介したい。

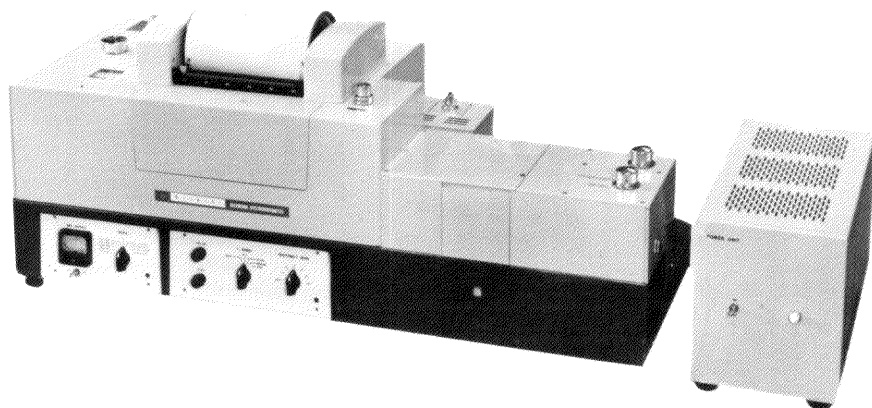
モノアミン酸化酵素 (MAO, monoamine : oxygen oxidoreductase (deaminating), E. C. 1. 4. 3. 4) の活性測定法には従来多くの方法が報告されている。 $a \text{ monoamine} + \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2 = an \text{ aldehyde} + \text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$ の反応式より、(1)基質 monoamine の消失量、(2) O_2 の消費量、(3)aldehyde の生成量、(4) NH_3 の生成量、(5) H_2O_2 の生成量、のいずれかを測定すればよいが、感度、簡易さなどの点で従来報告された方法はいずれも長短がある。従来 benzylamine を基質として生成する benzaldehyde を測定する方法¹⁾が広く用いられてきたが、紫外部 (250 $m\mu$) で測定するために紫外部で吸収の強く出る粗酵素標品ではブランク値が高くなる欠点がある。Weissbach²⁾ による kynuramine の消失速度を 370 $m\mu$ で測定する方法は、簡易さですぐれているが、kynuramine が高価であることと基質の消失速度をみているので基質濃度に制限があることが欠点である。

最近 Deitrich, Erwin³⁾ が p-dimethylaminobenzylamine (DAB) を基質に用いて、生成する p-dimethylaminobenzaldehyde を 355 $m\mu$ で測定する方法を報告した。われわれは EPS-3T 形 自記分光光度計と恒温加熱付属装置を用いてこの方法を検討し、良好な成績を得た。

材料と方法

基質 p-dimethylaminobenzylamine ($2\text{HCl} \cdot 1/2 \text{H}_2\text{O}$, Mol. wt. 232. 15) (DAB) は Cyclo Chemical (P.O.Box 71557, 1922 East 64th Street, Los Angeles, California 90001, U. S. A.) より購入した。酵素材料はウシ肝臓を用いて、ホモジネート、ミトコンドリアおよび原田・永津の方法⁴⁾で可溶化、精製した精製酵素を用いた。ホモジネートは、組織 1g 当り 9 ml の 0.25M しょ糖液を加えて調整した。ミトコンドリアはもとのホモジネートの 1/2 量のしょ糖液に suspension とした。

反応系は 50mM リン酸緩衝液 (pH 7.4)、3mM DAB、酵素よりなり、水で総量 3.0ml とした。基質は 0 時に酵素と同時に添加した。ブランクは DAB の代りに水を加えたものを使用した。恒温加熱付属装置を用い、37°C で 355 $m\mu$ の吸光度の変化を自記測定した。レコーダーなしで反応を停止して測定する場合は、37°C で一定時間反応後に、1% ZnSO_4 0.5ml, 1N NaOH 0.1ml を添加し、2 分間沸騰水浴で加熱、遠沈して上澄みの吸光度を 335 $m\mu$ で測



ESP-3T形 日立自記分光光度計

定した。ブランクは基質なしで incubation し、 ZnSO_4 で反応停止後に基質を添加したものとなった。

生成した p-dimethylaminobenzaldehyde の吸光度より濃度を算出するには分子吸収係数 $\Sigma = 2.77 \times 10^4$ (355 $m\mu$)³⁾ を用いた。

成績と考察

ウシ肝臓ミトコンドリア精製 MAO と酵素 DAB を基質として、37°C で incubation を行い、3 分おきに可視部の吸収スペクトルを記録した。結果を図 1 に示す。p-dimethylaminobenzaldehyde の生成に伴って 354 $m\mu$ の極大吸収が時間とともに増大している。

ウシ肝臓のホモジネート、ミトコンドリアの粗酵素を用いた結果は図 2 のようである。はじめの 2 分間はやや動揺が見られるが、これは粒子のセル内での沈澱などの影響と考えられる。しかし、2 分間以後はほとんど直線的に反応が進行した。

ウシ肝ミトコンドリア MAO 精製酵素による結果は図 3 に示すようにはじめ約 3 分間に log が見られたが、3 分間以後は直線的に反応が進行した。この成績は Deitrich, Erwin の報告と一致する。

吸光度が 0.5 を超えるとやや反応速度が低下したが、これは product inhibition に基くものと考えられる。

酵素量と活性 (p-dimethylaminobenzaldehyde 生成量) との関係は図 4 に示すとおりで、直線関係が得られた。

レコーダーを用いずに、一定時間 incubation 後に ZnSO_4 で反応を停止して測定しても全く同じ成績が得られた。この場合、通常タイプの分光光度計では吸光度 0.5 を超えると著しく反応は直線より外れてくるので、吸光度 0.5 以下で測定することが必要である。

肝臓のホモジネートに大量の aldehyde dehydrogenase が含まれているのに、この測定法が用いられるのは、Deitrich, Erwin³⁾ の指摘しているように、おそらく生成した p-dimethylaminobenzaldehyde が aldehyde dehydrogenase のきわめて弱い基質であるためと考えられる。

結 語

EPS-3T形 自記分光光度計を用いてモノアミン酸化酵素活性を測定した。p-dimethylaminobenzylamineを基質として生成するp-dimethylaminobenzaldehydeの355 m μ の吸光度を連続記録することにより、ホモジネート、ミトコンドリア、精製酵素の酵素活性が迅速正確に測定できた。

この測定に当り、基質p-dimethylaminobenzylamineの購入に便宜を図ってくださった原田実博士、また実験や本稿の作製を援助してくださった西川裕子氏、芝原由美子氏に感謝します。

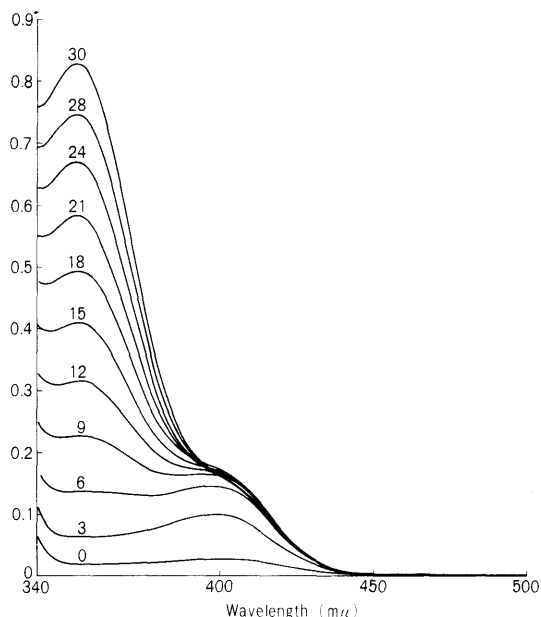


図1 時間に対する吸収スペクトルの変化
ウシ脳ミトコンドリアより精製したMAOと基質DABをincubationし、3分おきに記録した可視部吸収スペクトル、各スペクトルの上の数字は時間(min)を示した。

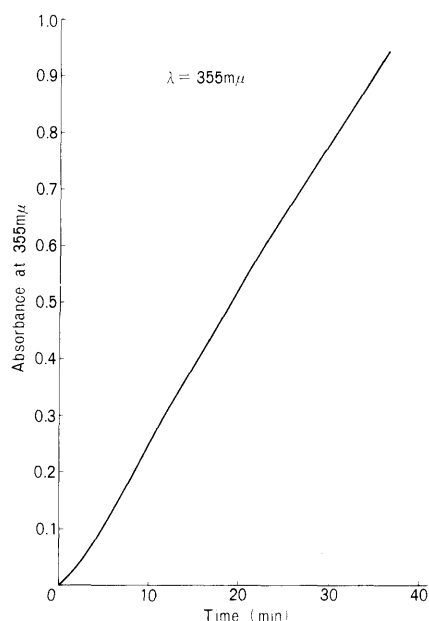


図3 時間に対する吸光度の変化(ウシ肝ミトコンドリアMAO精製)
ウシ肝ミトコンドリアより精製したMAO(蛋白量0.1 mg)によるp-DABよりp-dimethylaminobenzaldehydeの生成

参考文献

- 1) C.W.Tabor, H.Tabor, and S.M.Rosenthal Purification of amine oxidase from beef plasma J.Biol.Chem., **208**, 645 (1954)
- 2) H.Weissbach, T.E.Smith, J.W.Daly, B.Witkop, and S.Udenfriend A rapid spectrophotometric assay of monoamine oxidase based on the rate of disappearance of Kynuramine J.Biol.Chem., **235**, 1160 (1960)
- 3) R.A.Deitrich, V.G.Erwin A convenient spectrophotometric assay for monoamine oxidase Anal.Biochem., **30**, 395 (1969)
- 4) M.Harada, T.Nagatsu Identification of flavin in the purified beef brain mitochondrial mnoamine oxidase Experientia, **25**, 583 (1969)

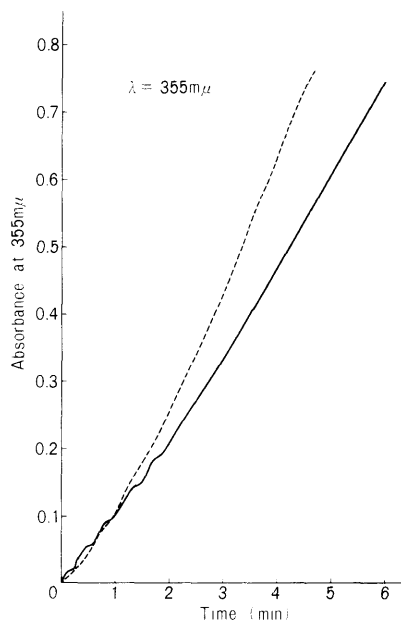


図2 時間に対する吸光度の変化(ウシ肝臓のホモジネート, ミトコンドリア)
ウシ脳ホモジネート (0.2ml), ウシ肝ミトコンドリア (0.2ml)のMAOによるp-DABよりp-dimethylaminobenzaldehydeの生成。—ホモジネート ---ミトコンドリア

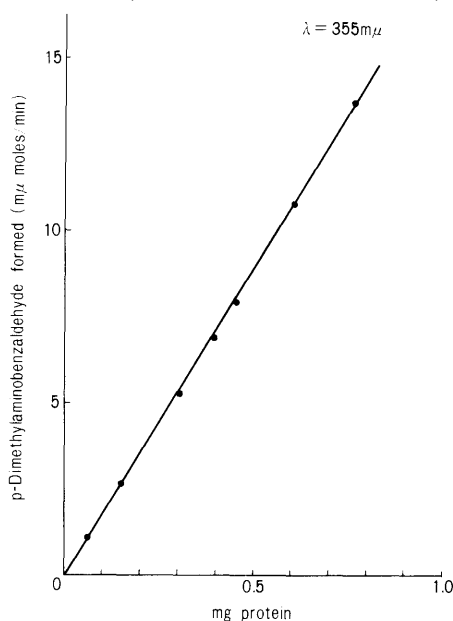


図4 ウシ肝ミトコンドリアより精製したMAOの活生と酵素量との関係

原子吸光法によるスズ半田の分析

1. 緒 言

原子吸光分析法は、特有の迅速さと測定操作の簡易さにより、近年特に金属分析および合金分析分野の進出が目覚ましく、それぞれの分野で数多くの分析法が解決されている。

われわれは、原子吸光分析装置を利用してスズ半田（スズ95%以上）中の銅、鉛、鉄の3元素を同一溶液で連続的に吸光度を測定して定量することを試み、各元素共通なスズによる吸光度増大の干渉を臭化水素酸—臭素混合溶液で分解し、過塩素酸を加えてスズを揮散して測定する方法を採用して実験した。その結果は各元素相互間の干渉が全く見られず、試料を溶液化することで直ちに3元素を連続して測定することができ、分析時間が大幅に短縮された。

2. 装置および試薬

2.1 装 置

- (1) 207形 日立原子吸光分光光度計
- (2) QPD₅₄形 日立卓上記録計
- (3) HLA-3形 日立中空陰極ランプ（銅、鉛、鉄）
- (4) SH-5S₃形 日立スーパーベビコン
- (5) 日立100mm魚尾形バーナー
- (6) 燃焼ガスは空気—アセチレン炎

2.2 試 薬

試薬は日常の分析に合せるため、金属以外はいずれも試薬1級を用いた。

- (1) 純銅（99.99%）
- (2) 鉛（99.999%）
- (3) 鉄（99.9%）
- (4) スズ（試薬特級）
- (5) 臭化水素酸（小宗）
- (6) 臭素（和光）
- (7) 過塩素酸（小宗）
- (8) 水（純水を使用した）

3. 測定条件の検討

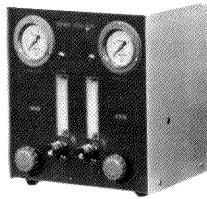
銅、鉛、鉄の3元素をスズ半田の原子吸光分析に適用するに当たり、それぞれの最適測定条件を選定するため、測定条件として波長（Å）、ランプ放電電流値（mA）、バーナー位置（目盛）、空気流量（l/min）およびアセチレン流量（l/min）について実験し、その最適条件を決め表1としてまとめた。

表1 原子吸光における測定条件

測定条件	ホーカソードランプ 元素名	Cu	Pb	Fe
波 長	(Å)	3247.2	2833.1	2483.3
放 電 電 流 値	(mA)	6	10	10
バーナー 位置	(目盛)	1	1	1
空 気 圧	(kg/cm ²)	1.8	1.8	1.8
空 気 流 量	(l/min)	13.0	14.0	13.0
アセチレン 圧	(kg/cm ²)	0.5	0.5	0.5
アセチレン 流量	(l/min)	3.0	3.0	3.5

*日立製作所 日立工場

磯崎俊夫* 堀越幸雄*



207形 日立原子吸光分光光度計

4. 共存酸の影響

各被験元素の中空陰極ランプが、過塩素酸、塩酸、硫酸、硝酸および王水の濃度変化により吸光度に及ぼす影響について調べた。

4.1 銅

各無機酸とも100ml中conc 0.5mlまでは一時的に変動が認められ、硝酸、過塩素酸、塩酸および王水については、酸濃度が増すにしたがって吸光度は安定しており、100ml中conc 1~15mlまでの共存は許容できることがわかった。硫酸は変動が大きく、測定上硫酸の共存は許容できない（図1）。

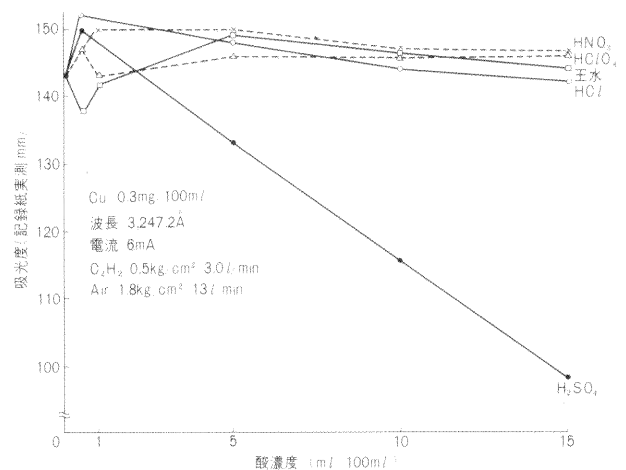


図1 銅原子吸光における共存酸の影響

4.2 鉛

鉛に対する各無機酸の影響は、濃度が増すにしたがって吸光度は低下するが、硝酸、過塩素酸、塩酸および王水については100ml中conc 15mlまでは吸光度の低下はわずかであり、その共存は許容することができる。硫酸は100ml中conc 0.5mlまで吸光度は大きく低下し、100ml中conc 1~15mlまでは比較的安定しているが、特別の場合以外での共存は許容できない（図2）。

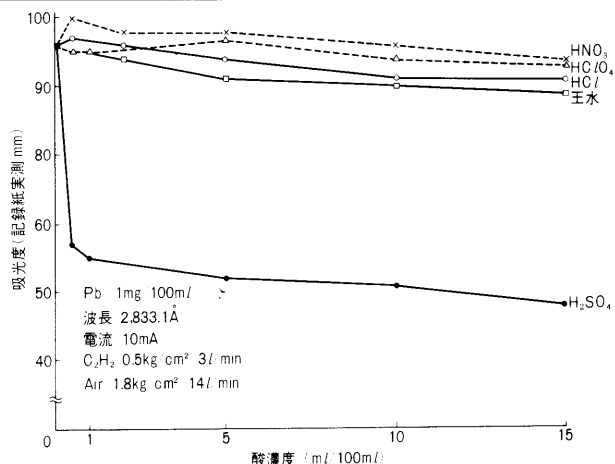


図2 鉛原子吸光における共存酸の影響

4.3 鉄

鉄に対する各無機酸の影響は銅の場合と同様な傾向を示し、100ml中conc 0.5mlまで一時的に変化する。しかし、塩酸、過塩素酸、王水は100ml中5mlまでは吸光度が比較的安定しており、実用上の共存は許容される。硝酸は濃度が増すにしたがい吸光度は急激に低下し、その共存は許容されない。硫酸の影響は濃度を増すにしたがい吸光度は減少が見られたが、100ml中conc 1~5mlまでは安定であるが、特別な場合以外の共存は許容されない(図3)。

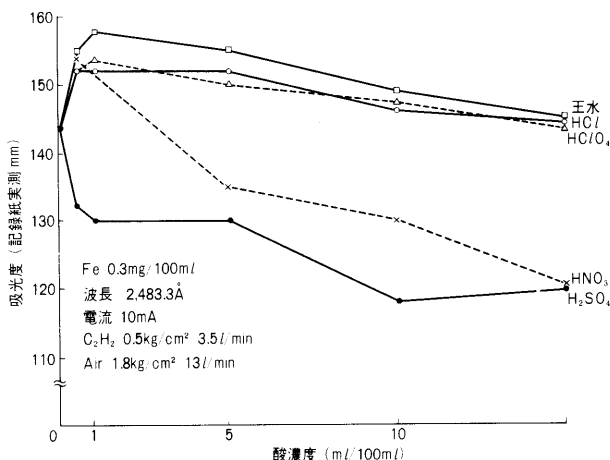


図3 鉄原子吸光における共存酸の影響

5. 共存元素の影響

スズ半田中の銅、鉛、鉄を分析する場合に、實際上共存元素はスズ、銅、鉛、鉄の4元素である。われわれはそれぞれの共存が吸光度に対して影響する度合について調べた。すなわち、銅に対してはスズ、鉛、鉄の影響、鉛に対してはスズ、銅、鉄の影響、鉄に対してはスズ、銅、鉛である。

5.1 銅

銅に対してスズの影響は100ml中に2mlの濃度をもつ王水中に銅0.3mg、スズを銅濃度に対する倍数濃度変化として混入させ5,000倍までの濃度の吸光度変化を調べ(図4)を得た。その結果では、スズ100倍までは吸光度に干渉は認められないが、100倍を超えると、その干渉は徐々に吸光度を増大し、5,000倍までの間では共存は許容されない。一方、鉛、鉄の共存はその影響がなく、100ml中2mlの濃度をもつ過塩素酸に銅0.3mg、鉛、鉄を銅濃度の倍数濃度変化させて20倍までの濃度について調べた結果では、図5, 6に示すとおり、その干渉は全く

認められず、共存は許容される。

5.2 鉛

鉛に対してスズの影響は、100ml中に2ml濃度をもつ王水中に鉛0.5mg、スズを鉛の濃度に対して倍数濃度変化して加え5,000倍までの吸光度を調べ(図7)を得た。その結果では、50倍までは徐々に干渉が現われ、実用上での干渉は許容されない。鉛に対する銅、鉄の共存の影響は、100ml中2mlの濃度の過塩素酸中に鉛1mg、銅、鉄を鉛濃度の倍数濃度変化にして加え、前者を500倍、後者を20倍までの吸光度変化を調べ(図8, 9)を得た。その結果では、指定した倍数内での吸光度の干渉は全くなく、共存は許容される。

5.3 鉄

鉄に対するスズの影響は、100ml中2mlの濃度の王水中に鉄0.3mg、スズを鉛濃度の倍数濃度変化させて加え5,000倍までの影響を調べ(図10)を得た。その結果では50倍までは吸光度に影響はないが、それ以上ではわずかつ吸光度増大の干渉が現われ、その共存は許容されない。

銅、鉛の共存は、100ml中2mlの濃度をもつ過塩素酸中に鉄0.3mg、銅、鉛を鉄濃度に対する倍数濃度変化にして加え、銅500倍、鉛20倍までの吸光度変化を調べて(図11, 12)を得た。その結果は吸光度への影響は認められず、共存は許容される。

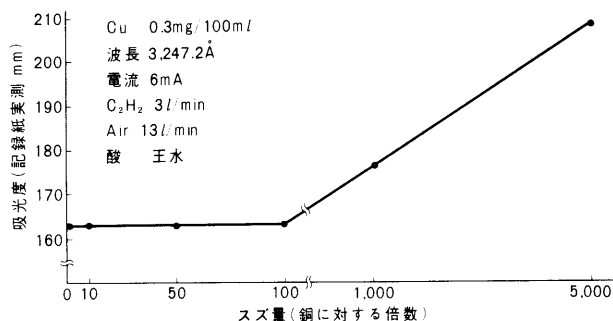


図4 銅原子吸光におけるスズ共存の影響

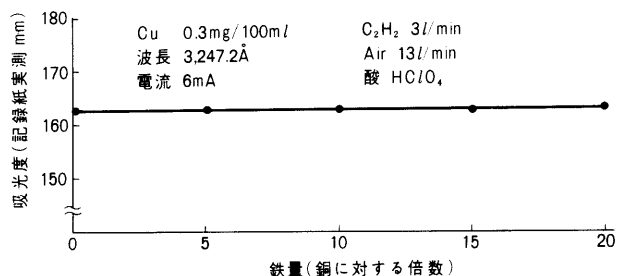


図5 銅原子吸光における鉄共存の影響

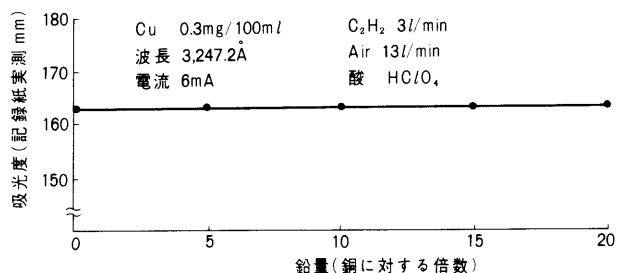


図6 銅原子吸光における鉄共存の影響

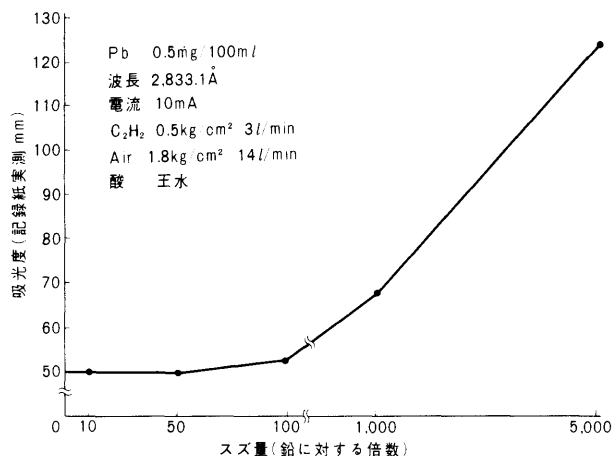


図7 鉛原子吸光におけるスズ共存の影響

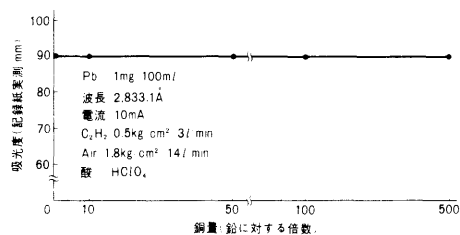


図8 鉛原子吸光における銅共存の影響

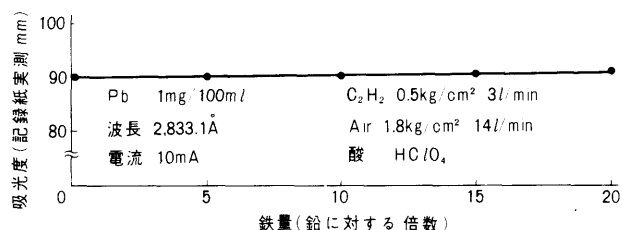


図9 鉛原子吸光における鉄共存の影響

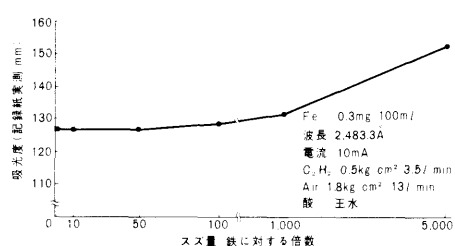


図10 鉄原子吸光におけるスズ共存の影響

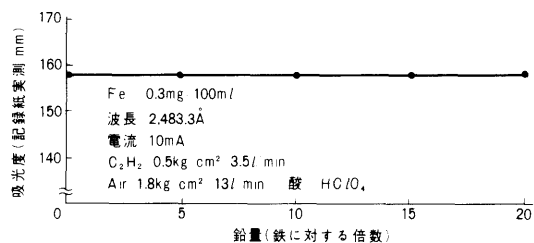


図11 鉄原子吸光における鉛共存の影響

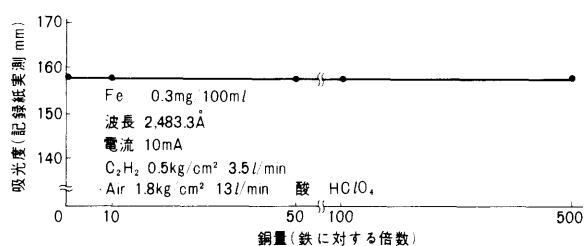


図12 鉄原子吸光における銅共存の影響

6. 検量線

4.1~4.3の検討結果により、共存元素の影響は、被験元素に共通な干渉を示すスズの共存を除けば、被験元素相互の干渉は全くないことがわかった。そこで、スズを除く手段として臭化水素酸-臭素混合液(9:1) 20mlで試料を加熱分解して、これに過塩素酸10mlを加えて加熱を続け、スズを揮散する方法をとり、吸光度を測定することにした。

検量線の作成には、'実際試料を同様にスズを含む被験元素の濃度を変えた合成試料を作り、上記方法で処理した溶液を100mlフラスコ中に移し入れ、標線まで水を入れて薄め、その濃度での吸光度を測定し、検量線を作成し、図13~15を得た。しかし、原子吸光度場合の検量線は、噴霧効果の変化、炎の状態などにより微妙な変化を示し、その傾斜は日時により変化を生ずるため、測定の都度、または長時間一定状態で測定を続ける場合は定期的に標準溶液によって補正を行う必要がある。

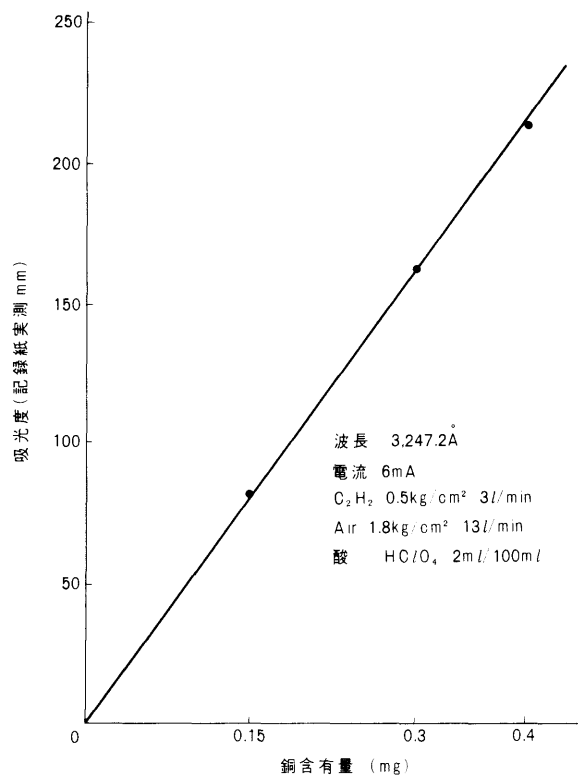


図13 銅の検量線

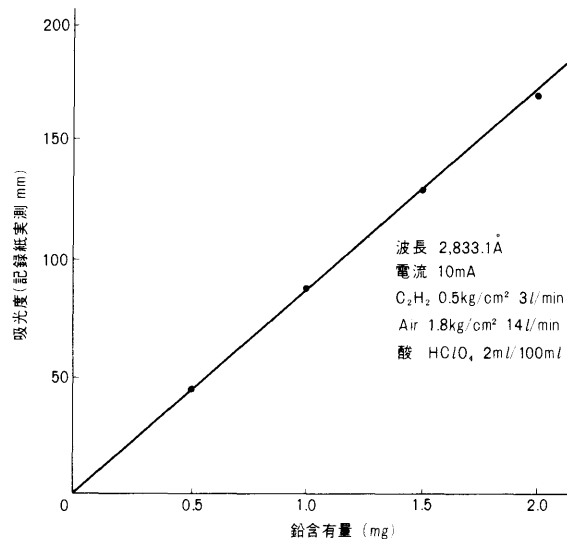


図14 鉛の検量線

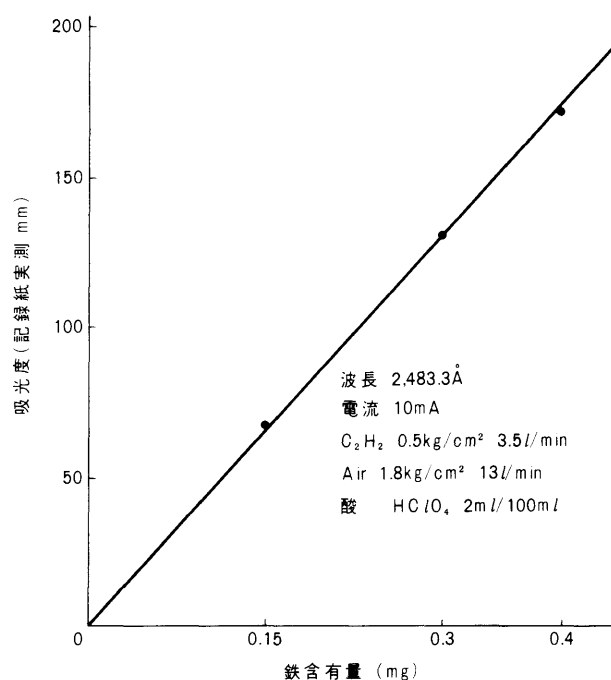


図15 鉄の検量線

7. 分析方法

試料0.5g¹⁾を300mlビーカーに正確に秤り取り、臭化水素酸-臭素混合溶液(9:1)20mlを加え、試料を完全に加熱分解し、これに過塩素酸10mlを加えて引き続き白煙を発生するまで加熱し、スズを完全に揮散²⁾させる。冷却後、溶液を100mlメスフラスコに移し入れ、水で標線まで薄める³⁾。この溶液の一部を3で定めた測定条件で噴霧し、吸光度を測定して、それぞれの検量線より、銅、鉛、鉄量を求める。

注 1) 測定元素の含有量により、試料の量り取り量は増減する。

注 2) 溶液中に白濁のある場合は、臭化水素酸-臭素混合溶液を少量ずつ徐々に加え、白濁のなくなるまで続けスズを完全に揮散させる。

3) 100mlメスフラスコ中での過塩素酸濃度は100ml中20mlの濃度になるよう規正する。

8. 結 言

原子吸光法によるスズ半田中の銅、鉛、鉄の3元素の分析について、測定条件、共存酸、共存元素および妨害元素除去について考察したが、本装置での分析は迅速性、操作の簡易さにおいて従来の化学分析に比較して有効であった。また、その結果の信頼性においても、他の分析に比較して遜色はない。特に分析時間が大幅に短縮されたことは、本装置の有効性の現われである。

原子吸光装置をさらに有効に活用するためには、中空陰極ランプの複合化の必要性を強く感じた。メーカーの強力な推進を望みたい。

日立205形炎光光度計のルーチン化に当って

谷敷輝夫* 針田時子*

日頃、病院の臨床検査室で仕事をしている者の一人として、なんとかいい炎光光度計が手に入らないだろうかという思いが念頭から離れないでいた。外国品は値段が高く、限られた予算の中ではなかなか買えない。そのようなとき価格は外国品の約1/2で、測定時間も従来品の1/2以下で性能も外国品に劣らない国産品が日立から世に出るようになった。これで、炎光光度計が購入できるようになったのではとした。

205形日立炎光光度計はデザインも近代的センスにあふれており、見るからに優秀な器械という印象を与える。今回ルーチンにとり入れるに当って、若干の検討を行ったので参考に供したい。

1. ガラス器具の汚染

血清の200倍希釈液を多量に調製し、次の3種類の容器に移してNa, Kを測定した。

容器①：蒸留水、脱イオン水でゆすぎ乾燥させた三角フラスコに入れる。

容器②：水道水のみでゆすいだ試験管に分注。

容器③：蒸留水、脱イオン水でゆすいだ試験管に分注。

各容器中の同一血清希釈液を測定し、その成績を比較すると表1のようになる。この成績を通じてわかることは、各容器ともにNaの変動は少なく、平均値の間には有意の差がないと思われるが、水道水だけのゆすぎでは変動係数が大きい。また、Kの各容器間の成績をみると、変動係数はもちろん脱イオン水ゆすぎの容器に対して10倍強と大きいのが、正確度にも差が見られるようである。

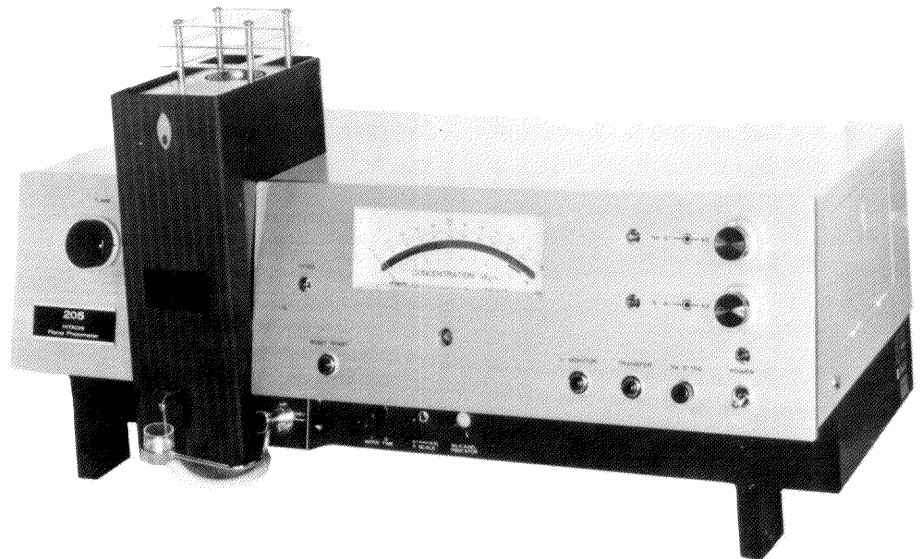
このことから、測定に用いる試験管は必ず蒸留水、脱イオン水を通してゆすがなければ、測定精度、正確度ともに信頼のおける成績が得られない。

表1

	Na			K		
	$\bar{x}$	$\pm$ S. D.	C.V.	$\bar{x}$	$\pm$ S. D.	C.V.
容器① N=12	142.33	± 0.55	0.40%	4.27	± 0.05	0.9%
容器② N=23	143.17	± 1.17	1.40	5.54	± 0.60	10.8
容器③ N=10	142.9	± 0.50	0.35	4.97	± 0.22	4.4

2. 市販管理血清の測定成績

正確度をうかがうために市販の管理血清を二三とりあげ測定した。表2に示すように十分満足すべき成績が得られ、指定された標準液を用いれば問題はないと思われる。



205形 日立炎光光度計

表2

	Na		K	
	表示値	実測値	表示値	実測値
Monitrol I	145 $\pm$ 2	142 142	4.5 $\pm$ 0.25	4.2 4.2
Monitrol II	117 $\pm$ 2	120 119	6.0 $\pm$ 0.25	5.8 6.0
Labtrol	145 $\pm$ 2	146 147	4.5 $\pm$ 0.25	4.5 4.7
Versatol	137.9	143 143	4.9	5.1 4.9
Versatol Acid Base	150	151 152	6.0	6.0 6.1
Versatol Acid Base Normal	133	135 136	4.5	4.4 4.5
Versatol Acid Base Alkalosis	124	122 122	2.9	2.8 2.9
Hyland Normal	164 $\pm$ 4	164 165	5.9 $\pm$ 0.2	5.7 5.8

3. 試料の採量に用いるマイクロピペットの種類による成績の差

タイプの異なる2種類のマイクロピペット(50 μ l)をとりあげ、正確度に差を生ずるかを見ると、表3に示すような成績を得た。統計処理を行っていないので結論できないが、使用するマイクロピペットによっては、正確度に差を生ずることも考えられるので、信頼のおける製品を用いることが重要と思われる。

表3

マイクロピペット	Na		K	
	$\bar{x}$	$\pm$ S. D. C.V.	$\bar{x}$	$\pm$ S. D. C.V.
A	135.6	± 0.66 0.49%	5.65	± 0.25 4.42%
B	139.0	± 0.65 0.65	5.84	± 0.29 4.97

*北海道大学 医学部付属病院 検査部

4. 高濃度検体による汚染—特にカリウム—

カリウムは血清中より血球中に高濃度に含まれている。長時間全血のまま放置しておくと、溶血していても、代謝の低下により膜の透過性にも変化をきたして、Kが血清中に遊出して汚染されるといわれている。血清が分離したら速かに遠沈し、血清の状態で作成しておけば問題はない。外来患者の検体に上記のような汚染の例がよく見られる。48時間ほど冷蔵庫に保存してあったある臨床のルーチンの検体のNa、Kを測定したところ、106mEq/l、10mEq/l以上の値が得られた。この検体を仮りに尿として扱い再検してみると、34mEq/lのKの値が得られた。当然次の検体が汚染されていると考え、Na121mEq/l、K4.2mEq/lの検体を再検すると、Naは121と変わらないが、Kが3.3mEq/lとなり、0.9mEq/lの汚染を受けている。この汚染はピペッティングによるものであり、十分注意しなくてはならない。

5. 喫煙による汚染

タバコの煙がフレイムによる電解質の測定に影響するので、炎光光度計の周囲で喫煙してはならないといわれている。そこで実際にどの程度の影響があるのかをみると、測定器の炎の中へ直接煙を吹込んだ場合、Kの値に明らかな(+)の強い誤差を生じ、その傾向は試験管の中に吹込んだ場合も同様であった。これは管壁の煙による汚染によるものであり、炎の中に直接吹込まないとはいえ、測定者の傍で喫煙することは慎まなければならない。

具体的に一例をあげると、汚染を受けていないK値4.1mEq/lが、試験管に煙を吹込んだ場合5.0mEq/l、燃焼部の傍でタバコを吹かした場合4.6mEq/lとなった。しかし、Naについては影響はみられなかった。

6. Coleman 22形との相関

205形炎光光度計の入手前までColeman 22形を使用しており、血清63検体による相関を図1および図2に示す。

これによると、Na、Kともに十分満足される相関を示したので、直ちにルーチンを205形炎光光度計に移行した。

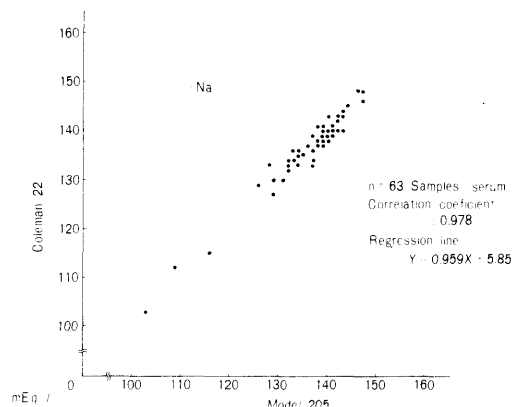


図1 Naの相関グラフ

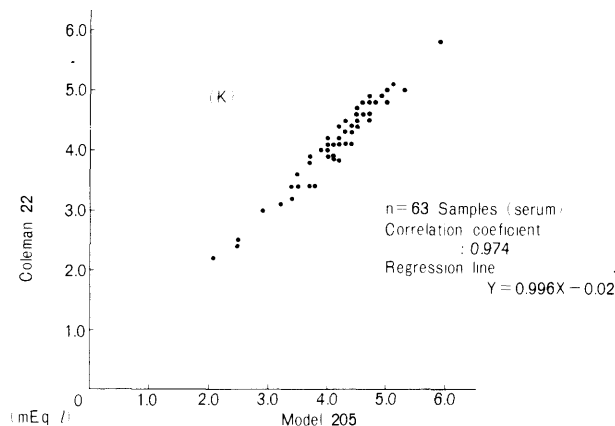


図2 Kの相関グラフ

まとめ

上記の成績をまとめてみると、

- (1) 使用ガス器具はすべて脱イオン水でゆすがなければならない。
- (2) 正確度も十分満足できるものと考えられ、採量ピペット(50μl)も信頼のおける製品を用いることが必要である。
- (3) 高濃度なKの検体によるピペッティングの汚染に注意が必要である。
- (4) 測定室や測定者の傍で喫煙すべきでない。

以上十分な検討ではないが、205形日立炎光光度計を使用するに当たって上記の検討を行った結果を述べて参考に供する。

THE HITACHI Scientific Instrument News

Vol. 13 No. 2

昭和46年3月20日印刷 昭和46年4月1日発行
非売品 年6回毎偶数月発行
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

Printed in Japan NH-M (H)