



THE HITACHI

SCIENTIFIC INSTRUMENT
NEWSJUNE 1971
Vol.14 No.3発ガン性物質N-ニトロソ化合物の定性、定量法について
——特にTLC, GLCによる分析法——

俣野景典*

1. まえがき

われわれの日常食生活にとり入れられるあらゆる飲食物は、安全であり、そのうえ健康の保持、増進に役立つものでなくてはならない。近年、われわれの食生活の向上は目覚しく、その内容は年々高度化、多様化の傾向を示し、食糧の流通機構の合理化や食品工業技術の革新と相まって、年毎に加工食品の消費量は増大する傾向をみせている。



加工食品の多様化、高度化に伴って、これら加工処理された食品にはさまざまな食品添加物が使用されているが、調理加工時の加熱、焙焼、あるいは保蔵中における冷凍、冷蔵および光線照射や近い将来実用化されようとしている放射線照射処理などによって化学的、物理的、生物学的な作用を受ける。その結果、食品を構成している常成分と添加物との反応や異なった添加物同士の相互反応、さらにそれによって生成したものと食品成分との反応生成物の病害性、特に亜急性や慢性病害に対する安全性の確認などについての研究は多難をきわめるものと思われるが、常日頃から調査、研究を怠ってはならない食品衛生上の重要な問題の一つである。

2. N-ニトロソ化合物の毒性機構

最近、われわれの周囲に広く分布しているN-ニトロソ化合物が発ガン性を有していることが知られて以来、その一般毒性、代謝および作用機構、変異誘発性あるいは発ガン性などについて多くの広い研究が行われてきた。特に実験動物に対して、微量で強い発ガン作用のあることが発見され、さらにnitrosamineやnitrosamide類はその化学構造によって動物の肝、肺、前胃、食道、膀胱あるいは腎などにガンを生ずるなど、臓器特異性（向臓器性）があることが判明した¹⁾。これらの発ガン部位や組織像が人の病理学的所見に非常に酷似していることも見逃がせない重要なものの一つであることが指摘された。

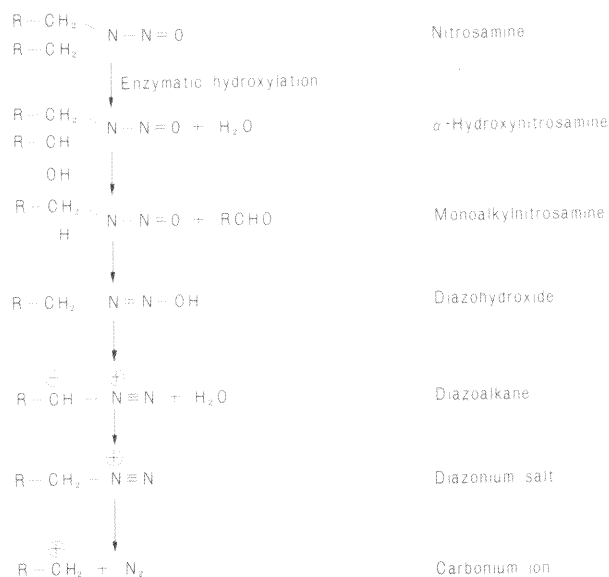


図1 生体内におけるDialkyl nitrosamineの代謝と反応機構

目次

■発ガン性物質N-ニトロソ化合物の定性、定量法について	俣野景典	1
■203形 日立分光けい光光度計による神経分泌モノアミンの定量	岩田年永	7
■HU-1000D形 日立超高圧電子顕微鏡による人の毛母色素細胞の観察	神保孝一, 佐藤昌三, 久木田淳, 上野武夫	9
■微分分光測光法	本川 忠, 保田和雄, 黒石忠文	11
■300形 日立高周波プラズマ発光分析装置による分析例	松平俊次, 大石公之助	16
■063形 日立ガスクロマトグラフによる微量一酸化炭素、炭酸ガスの分析	永井久晃, 打木英夫	20
■R-24形 日立高分解能核磁気共鳴装置(NMR)を利用した不飽和ポリエステル樹脂の組成分析	向山吉之, 藤枝邦美	25

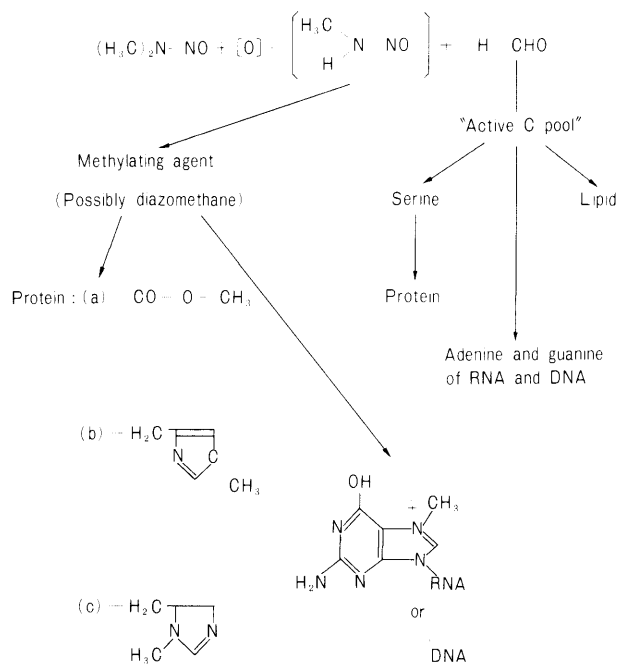


図2 Dimethyl nitrosamineの推定代謝経路

Magee一派やDruckreyとその共同研究者らは、指導的な幅広い研究からdialkyl nitrosamineの生体内での代謝過程で活性アルキル化剤を得、この中間代謝物としてdiazolalkaneそれ自体か、活性化alkaneあるいはさらに分解して生成したalkylcarbonium ionであるとしている²(図1)。また、Mageeらは肝臓毒であり、かつ発ガン性のdimethyl nitrosamine (DMNA)は生体内でRNAやDNAをメチル化して、異常な7-methyl guanineを生成することを確認した(図2)。

3.N-ニトロソ化合物の定性・定量分析

最近、この種のニトロソ化合物がタバコ^{5,6,7}、タバコの煙^{8,9,10}、魚粉をはじめ、日常食用に供している小麦粉^{11,12,13,14}、乳製品^{15,16}、畜肉・魚肉製品中にも存在する可能性が示唆されたが、その含有量が微量なため、未だ確立された分析法はない。一部、ポーラログラフィ、ヨードメトリ、比色法、紫外・赤外あるいはけい光による分光分析法や分解生成物の分析法などで測定した報告もあるが、結果は必ずしも一致しているとはいえない現状である。

本文では、薄層クロマトグラフィ(TLC)およびガスクロマトグラフィ(GLC)を用いたN-ニトロソ化合物の定性・定量法に限って、最近の分析法を述べる。なお、TLCとGLCを併用したものも多いが、ここでは重複するが別個にあげておく。

3.1 薄層クロマトグラフィ (TLC)

Preussmann¹⁸は、N-ニトロソ化合物の分別および検出法について種々な方法を試みた。

まず、TLCで敏感な発色反応として1.5% diphenylamine-ethanolと0.1% palladium chloride-0.2% NaCl水溶液の5:1の混液を噴霧してから、湿っている間に紫外線光(λ_{max}=240nm)で数分間照射すると、青~紫色のスポットとして検出される。この反応機構は光化学的

なニトロソ基転移によるものであって、palladium chlorideによってニトロソ基がdiphenylamineに転移して発色するものであり¹⁹、検出限界量はニトロソアミン類(NA)で0.5μgである。また、吸着剤にSilica Gel HF₂₅₄(メルク)を用いると、NAは短波長光の照明下でけい光薄層板上に暗色スポットとして検出されるが、感度は約5μgである。表1に数種のNAのR_fを示した。

表1 Dialkyl nitrosamineのR_f

Compound	R _f
Dimethylnitrosamine	0.24
Diethylnitrosamine	0.49
Di-n-propylnitrosamine	0.69
Di-n-butylnitrosamine	0.78
Di-n-pentylnitrosamine	0.82

layer :Silica Gel .

developing solvent :hexane-diethylether-methylene chloride (4:3:2)

さらにPreussmannらは²⁰ Silica Gel G上で次の様な展開剤を用いて展開した。

- (1) Symmetrical dialkylおよびmethylalkyl NA: hexane-diethylether-methylene chloride (4:3:2)
- (2) Cyclic NA: hexane-diethylether-methylene chloride (5:7:10)
- (3) Aralkylおよびdiaryl-NA: hexane-diethylether-methylene chloride (10:3:2)

また、発色剤としては

- (1) (a)1.5% di-phenylamine-ethanolと(b)0.1% palladium (II) chloride-2% NaCl溶液の4:1の混液を噴霧して、紫外線照射した。
- (2) (a)1.0% sulfanilic acid-30% acetic acidと(b)0.1% α-naphthylamine-30% acetic acidの1:1の混液(Griess試薬²¹)を噴霧、直ちに紫外線で照射して発色、検出した。

表2に、これらの諸結果を示す。

Yasuda²²は、芳香族ニトロソ化合物について酸性2-naphthol溶液[methanol-ethyleneglycol-30%HCl (10:8:2)の混液中に1% 2-naphthol含有]を噴霧後、105~110°C、10~20分間加熱しているが、p-nitroso anilineの誘導体は特に感度が高く、検出限界はp-nitrosodimethyl aniline, p-nitrosophenol, 1-nitroso-2-naphtholおよびN-nitrosomethylanilineでそれぞれ0.03, 0.2, 0.3, および1μgであった。

Neurath⁷らは、NAの微量な存在を他の方法によって検出するために、まずNAをLiAlH₄で還元し、得られたhydrazineを5-nitro-2-hydroxy benzaldehyde (5-nitrosalicyl aldehyde)と重合させてbenzalhydrazineを作った。さらにSilica Gel Gを用い、CCl₄-ethyl acetate(95:5)あるいはchloroform-methanol(95:5)で展開した後、3% KOH-ethanolを噴霧すると黄~黄褐色を呈す(感度0.5γ)。また、さらに高感度の発色剤としては1% potassium-ferri cyanide [K₃[Fe(CN)₆]]-5% HCl溶液を噴霧してから加熱すると青色を呈するが、特異的ではない(感度0.05γ)。

Schaental²³は、Chinese incenseの煙中の発ガン性物質について研究を行い、TLCでGriess試薬やPreussmann試薬によりR_f=0.35(hexane-diethyl ether-CH₂Cl₂ (4:3:2))のサーモンピンクのスポットを検出したが、ポーラログラフィではNAは陰性であった。

表2 Silica Gel G による各種 nitrosamine の *R_f*

Nitrosamine	Solvent	<i>R_f</i>
Symmetrical dialkyl-NA	(1)	
Dimethyl		0.24
Diethyl		0.49
Di-n-propyl		0.69
Di-isopropyl		0.64
Di-n-butyl		0.77
Diamyl		0.82
Methyl alkyl-NA	(1)	
Methyl ethyl		0.36
Methyl propyl		0.46
Methyl butyl		0.51
Methyl amyl		0.57
Methyl heptyl		0.60
Methyl benzyl		0.53
Cyclic NA	(2)	
N-Nitroso-N'-methylpiperazine		0.04
Dinitrosopiperazine		0.27
N-nitroso-N'-carbethoxypiperazine		0.35
Morpholine		0.40
Pyrrolidine		0.41
Proline ethyl ester		0.52
Piperidine		0.63
Indoline		0.74
Aralkyl-, diaryl-NA	(3)	
p-Nitrosomethyl amino benzoic acid		0.00
p-Nitroso methyl amino benzaldehyde		0.22
Methyl phenyl		0.63
Ethyl phenyl		0.72
Diphenyl		0.80
Methyl (2-phenyl ethyl)		0.29

Serfontein⁵¹は、タバコ中のNAの生成を確認するために、タバコ 1 kg を処理して中性エーテル区分のGLCから、N-nitrosopiperidineを検出し、さらにこの区分をLiAlH₄で還元して得られたhydrazineを5-nitrosalicylaldehydeと処理し、赤色のbenzalhydrazineを得て、Silica Gel Gで分別した。また、タバコの煙中のNAを確認するためNAから得られたhydrazineに4-nitroazobenzene-4-carboxylic acid chloride を作用させ、TLCで分別し、定量を行った。すなわち、Silica Gel G 上でCHCl₃-petroleum ether (b.p.60~80°) (9:5)を用いて展開し、黄褐色のスポットをかきとり、抽出して比色定量した。

一方、Sakshaug¹⁰¹は、家畜に対して肝臓毒性を呈したニシン魚粉（保存料として亜硝酸ナトリウム添加）を用い、Preussmann 法で半定量的に測定した処、30~100 ppm のDMNAが含まれていたと述べている。

小麦粒や小麦粉のような食品中のdiethylnitrosamine (DENA) の生成についてもHedler¹³¹によって研究が行われ、特に175°C、7時間加熱された小麦粉のエーテル抽出物からGriessおよびPreussmann試薬で検出する量が得られた。さらにTLCにより相当する*R_f*をかきとり、再抽出して得た抽出物15μgから約2.5μg相当量のDENAを回収した。同様にMilkやTilsit Cheese⁷⁾からもNAの存在を認め、また、Neurathの方法に従って小麦粉、チーズ抽出物から少量のbenzalhydrazineを得、TLCによ

って確認した。展開剤はCCl₄-ethyl acetate (19:1)で、DENAのbenzalhydrazine (m.p. 98°C)は*R_f*=0.45であった。

タバコや食品中のNAの存在についてKröllerも追究し、Silica Gel G (250μ)を用い、hexane-diethyl ether-CH₂Cl₂ (100:40:10) で展開してからGriess およびPreussmann試薬で検出を行った。また、予め10%HClでプレート処理してから紫外線で5分間照射した後、0.2% ninhydrin-ethanolで発色させた。表3にNAの*R_f*と呈色を示した。

最近、南アフリカのトランスカイ地区のBantu族の間で食道ガンが多発し、それに伴って肝障害を呈する原因について調査したところ、彼らの主食であり、かつ蛋白源であるカードルミルク (Curdle milk) に用いられるナス科植物 (Solanum incanum) 果汁中からSilica Gel Gを用い、CCl₄-CH₂Cl₂ (3:2)で展開してDMNAおよび未確認のNAを同定、検出した。

小麦粉、チーズ、魚介類およびホウレン草のような食品や亜硝酸ナトリウムを添加した魚介類の缶詰、さらに実験動物や人の胃液中で亜硝酸塩と第2級アミン類とからNAが生成するか否かについて研究を行い、まず微量なNAを他の阻害物質から収量よく回収するため、次のような処理を行った。(1)、試料から適当な溶媒で収量よくNAを抽出。(2)、次に水蒸気蒸留法やイオン交換性樹脂によってクリーンアップして、他の阻害因子を除去。(3)、TLCにより検出するとともに半定量を行い、(4)最後にTLCで分別したNAを再抽出してGLCにより同定、定量した。

TLCはSilica Gel G-HR (250μ)を用い、Preussmannらの展開剤で展開後、Griess試薬とNinhydrin試薬〔まず30% acetic acidを噴霧し、紫外線で5~10分間照射してから、過剰のacetic acidを温風で留去後、0.3% ninhydrin-ethanol (2%のpyridineを含有)を再度噴霧して80°Cで加熱、発色させる〕で検出した。検出限界は前者は0.3~0.6μgであるが、後者はそれよりも30%くらい感度が高いようである。

表3 ニンヒドリン発色法による各種 nitrosamine の *R_f* と呈色

Nitrosamine	<i>R_f</i>	spot color
Dimethyl	0.18	light pink
Diethyl	0.31	dark pink
Di-n-propyl	0.51	pink
Diisopropyl	0.47	ochre
Di-n-butyl	0.59	pink
Diisobutyl	0.66	pale pink
Di-n-pentyl	0.69	light pink
Di-n-hexyl	0.75	pink
Methyl-n-butyl	0.32	violet pink
Ethyl-n-hexyl	0.40	dark pink
Diallyl	0.54	yellow-pink
Benzyl methyl	0.34	red
Dimethyl aniline	0.12	brown-violet
Diethyl aniline	0.67	green
Morpholine	0.14	yellow
Piperidine	0.26	yellow
Diphenyl	0.75	blue-green
Pyrrolidine	0.13	grey-brown

plate : Silica Gel G (250μ)
developing solvent : n-hexane-diethyl ether
-methylene chloride (100:40:10)

3.2 ガスクロマトグラフィ (GLC)

Kröller¹⁶はTLCおよびGLCによりタバコの煙や食品中のNAについて追究した。特にGLCについては、5% SE-32 Celite (60~100mesh) と15% Silicone DCO Celite (60~100mesh) の2 m×3 mmカラムで、カラム温度は165°C、キャリアガスはN₂, 36 ml/minの条件で0.5% NA (hexane中), 1 μlを注入したときの保持時間を表4に示した。

表4 GLCによる各種nitrosamineの保持時間

Column temp: 165°C

Nitrosamine	Retention time(s)
Diethyl	315
Di-n-propyl	368
Diisopropyl	323
Di-n-butyl	559
Diisobutyl	453
Di-n-pentyl	1,013

また、1% SE-30 Chromosorb G (80~100mesh, A W, DMCS) の2 m×2.77 mmガラスカラムを用い、カラムおよび注入口の温度はそれぞれ165°C, 260°Cとし、キャリアガスはN₂, 1.5気圧の条件で0.5% NA (hexane中), 0.15 μlを注入したときの保持時間を表5に示した。

表5 GLCによる各種nitrosamineの保持時間

Nitrosamine	Retention time(s)
Diethylamine	45
Di-n-propylamine	57
Diisopropylamine	62
Di-n-butylamine	92
Diisobutylamine	68
Di-n-pentylamine	169

Möhler¹⁵も、畜肉、チーズ中のDMNAやDENAの検索を行い、DEGSの1.8 mカラムで、カラム温度は160°Cとし、キャリアガスにH₂を用いた。

一方、前述したナス科植物 (*Solanum incanum*) 果汁中のNAを分離、同定するために、15% Carbowax 1,000 Gaschrom P (80~100mesh) の1.19 m×12.5 mmガラスカラム、カラム温度 100°C、キャリアガス N₂, 115 ml/minの条件下でGLCを行った。また、Wells²⁸は、ソテツ粉末中の発ガン剤CycasinのGLC分析に、3% OV-1/Gas-Chrom Z (80~100mesh) の6 ft×1/8 in ガラスカラム、カラム温度 230°C、キャリアガス argonを使用している。

Sen²⁵(前出)は、食品中のNAをTLCで分別後、相当する部位をかきとり、再抽出してGLCによる同定、定量を行った。水素炎イオン化検出器付きガスクロマトグラフで次の条件下で分析を行った。(1) 6% Reoplex 400-Chromosorb W (60~100mesh) の5 ft×1/8 in ステンレスカラム、カラム温度 115°C、キャリアガス N₂ (29 ml/min), (2) 5% SE-30 Chromosorb W (AW, DMCS, 60~80mesh) の5 ft×1/8 in ステンレスカラム、カラム温度 48°C、キャリアガス N₂ (27 ml/min)。検出限度は食品中のDMNAは0.15 ppmであり、DENAおよびdi-n-propyl nitrosamine (DPNA) はそれぞれ50 ppbであった。図3に上

GLC Condition :

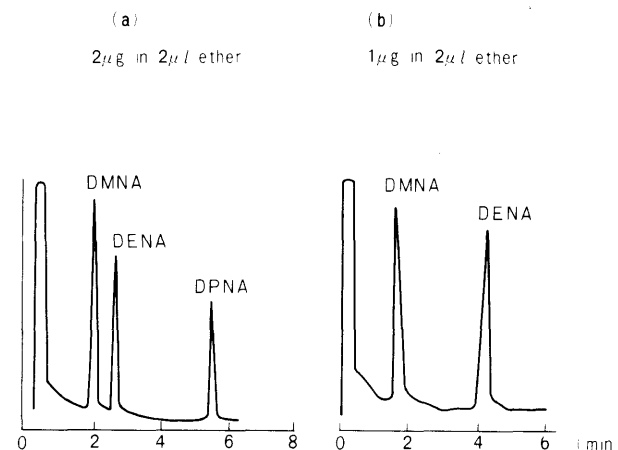


図3 GLCによる標品DM-, DE-, およびDP-NAの分離

述の条件における標品の分離を図示した。

1960年以来、米国においてGreat Lakes産の燻製魚によって3つの大きなボツリヌス中毒が発生した。Howard²⁹らは、これらを予防するために、亜硝酸塩を添加した魚(ウグイ)で燻製を製造した際、DMNAが生成するか否かをモデル実験によって確かめるため、次の方法によりクリーンアップしてDMNAを測定した。(1) 試料をKOH-methanolで消化。(2) 消化液を水蒸気蒸留してから、methylene chlorideで抽出。(3) カラムクロマトグラフィによってクリーンアップしてからGLCで測定した。この測定には、高感度検出法として改良形KCl thermionic 検出器(図4) 付きのガスクロマトグラフを用い、10% Carbowax 1540+3% KOH-Gas chrom P (100~120 mesh) の9 ft×4 mmガラスカラムで、カラム、注入口および検出器の温度はそれぞれ180°C, 185°Cおよび220°Cとし、キャリアガスにはargonを用いた。この方法によると ppb 単位で検出されるが、試料5検体からはほとんど(1 ppb以下) 検出されないことが判明した。

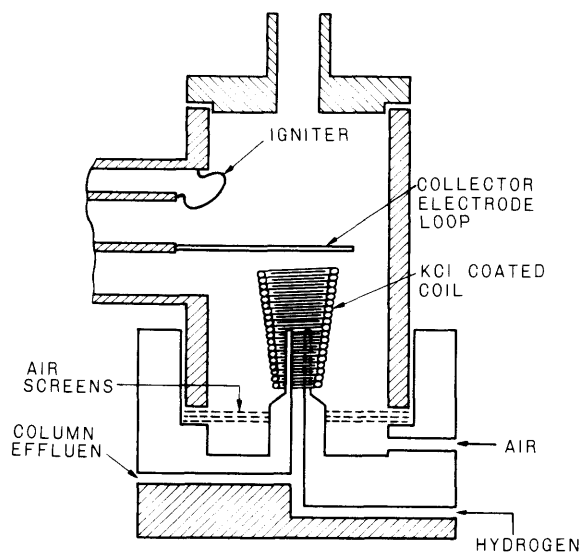


図4 改良形 Thermionic detector

Foreman³⁰⁾も、迅速簡易なN-alkyl NAのGLCを開発しようとして、コーンビーフに1 ppmのDMNAやDENAを添加し、水蒸気蒸留法によりその留出液を直接GLCで測定して、それぞれ95%および97%の回収率を得た。条件は、Chromsorb 101の6 ft × 1/8 in ステンレスカラムを用い、カラム温度 200°C、流速 25 ml/minである。なお、適当な濃縮法—蒸留の繰返しや溶媒の留去—によれば0.01 ppm単位まで検出は可能であろうと述べている。

最近、Sen³¹⁾は、食品中のNAをさらに微量検出する方法について研究を試みた。従来、ポーラログラフィ、TLCあるいはGLCなどは食品中のNAの検出法として広く使用されてきた。しかし、ポーラログラフィは1 ppm以下の感度をもっているにもかかわらずNAに対する特有性を欠き、またTLCやGLCは感度も高く、かつNA特有性を持っているが、試料を大量使用(0.2~1.0 kg)し、かつクリーンアップには複雑な操作と時間を要する。特に、動物実験などにおけるNA代謝研究で少量の生化学的試料を分析するには不適當であり、そのため、より感度の高い分析法が望まれるわけである。

そこで、DMNAをEmmonsらの方法³²⁾に従って peroxy trifluoroacetic acidで酸化し、dimethyl nitramineを得た。これはelectron capture detector (ECD) に著しく敏感であり、この方法を応用して少量の試料からDMNAを検出した。GLCの条件はECD (3 H) 付きのガスクロマトグラフを用い、10% Carbowax 20M—ChromosorbM(H MDS, 60~80 mesh)の6 ft × 1/8 in ステンレスカラム、カラム、注入口および検出器の温度はそれぞれ152°C、225°Cおよび210°Cであり、キャリアガスはN₂ (24 ml/min)である。検出限界はpg単位であり、水素炎検出器によるNAの検出限度よりも約100倍も感度が高い。図5にdimethyl-nitramine 量とピーク高との関係を図示した。

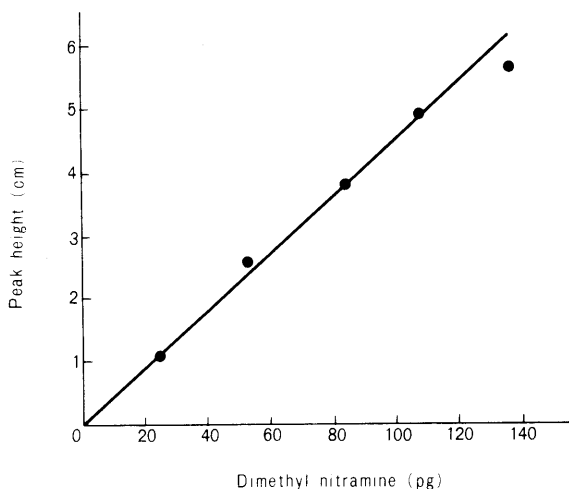


図5 Dimethyl nitrosamineの標準曲線

上述のSenの報告とほとんど同時に、Althorpeら³³⁾も同様な検出法を発表した。彼らはFlame ionization detector (FID)とECDによる感度の比較試験を試みていた際、うかつにも試料を直射日光に照射させてしまったところ、NAのピークはわずかに減少し、NAよりも保持時間の長い新しいピークが検出された。また、この新しいピークはECDではFIDよりも約200倍もの感度で検出されることを知り、GC—MSで分析した結果それに相当する

nitramine であることが判明した。NAをEmmonsの改良法³²⁾で酸化して、nitramine を調製し(表6)、ECD—GLCを用い、PEG20Mの5 ftカラム(温度 140°C)で測定した。なお、保持時間(表7)とECDによる検出感度の増大(表8)から、NAをnitramine としてECD—GLCで測定することは、生化学的研究には特に有効な手段であることが確認された。

4. おわりに

以上、食品を主にして発ガン剤であるNAの分析法のうち、特にTLCおよびGLCについて述べてきたが、対象が毎日摂取する食品だけに、再現性のある迅速で微量な検出法が強く望まれている。

わが国においては、食品添加物の発色剤として亜硝酸ナトリウムは食肉製品、鯨肉製品(亜硝酸根として残存量が70 ppm以下)、魚肉ソーセージ、魚肉ハム(同 50 ppm以下)、イクラ、スジコ(同 5 ppm以下)などに添加が認められており(米国その他では亜硝酸根として200 ppmまで認められている——主に保存料として使用)、その残存量が規定されているが、これを無視した過量の不正使用や違反使用が後を絶たない現状である。一方、硝酸塩については使用基準がゆるく、広く使用、添加される可能性があるが、特に海産魚介類のようなtrimethylamine oxideを多く含むものは、加工あるいは保蔵過程で亜硝酸塩に変化して、これらmethylamine類と反応する危険性を有している。したがって、硝酸塩の使用、添加についても早急に再検討すべきであり、少しでも危険の疑いのあるものは一つ一つ排除してゆくことが望ましい。

わが国は諸外国と食生活事情が異なり、多種多様な海産魚介類を調理、加工して多食しているが、これらに添加された硝酸、亜硝酸塩と構成成分の一つであるmethylamine類とが反応して、DMNAを生成する危険性があるので、早急にNAの分布および含有量などとともに、硝酸、亜硝酸塩の食品中での変化と摂取されてからの生体内での変動についても調査、研究し、食生活の安全性の確保に努力すべきである。

最近、われわれも生体内(ウサギ使用)でdimethyl amineと亜硝酸ナトリウムとからDMNAを生成することを確認するとともに、激しい肝障害を呈することを観察した³⁴⁾。

今後は、たとえ食品添加物自体の毒性が低い場合でも、食品の調理加工および保蔵時、あるいはそれを摂取した後の生体内での安全性の確認についても対処されねばならない。

表6 nitrosamineからnitramineへの変換率

Nitrosamine	Conversion (%)
Dimethyl	86
Methyl ethyl	85.5
Diethyl	84.5
Methyl-isopropyl	76
Diisopropyl	72
Di-n-propyl	84
Diisobutyl	82.5
Di-n-butyl	83
N-Nitrosopiperidine	25
N-Nitrosopyrrolidine	85

表7. nitrosamine とその nitramine の保持時間

Nitrosamine	Retention time (min)	Retention time of corresponding nitramine (min)
Dimethyl	4.0	9.8
Methyl ethyl	4.9	11.25
Diethyl	5.5	12.4
Methyl isopropyl	5.8	12.65
Diisopropyl	7.15	15.05
Di-n-propyl	9.5	20.5
Diisobutyl	10.45	20.65
Di-n-butyl	20.2	42.9
N-Nitrosopiperidine	22.5	39.6
N-Nitrosopyrrolidine	25.25	57.65

表8 ECDによるnitramineの検出感度の増加

Original nitrosamine	Increase in sensitivity for nitramine	
	By peak areas	By peak heights
Dimethyl	1,150	545
Methyl ethyl	620	372
Diethyl	438	215
Methyl isopropyl	243	141
Diisopropyl	119	65
Di-n-propyl	245	125
Diisobutyl	215	110
Di-n-butyl	205	91
N-Nitrosopiperidine	183	102
N-Nitrosopyrrolidine	255	98

参考文献

- 1) Druckrey, H., Preussmann, R., Ivankovic, S. & Schmähl, D. Z. *Krebsforsch.*, 69, 103 (1967)
- 2) Druckrey, H., Schildbach, A., Schmähl, D., Preussmann R. & Ivankovic, S.: *Arzneimittel-Forsch.*, 13, 841 (1963)
- 3) Magee, P. N., & Hultin, T. *Biochem. J.*, 83, 106 (1962)
- 4) Magee, P. N., & Farber, E.: *ibid.*, 83, 114 (1962)
- 5) Serfontein, W. J., & Smit, H.: *Nature.*, 214, 169 (1967)
- 6) Serfontein, W. J., & Hurter, P.: *ibid.*, 209, 1238 (1966)
- 7) Neurath, G., Pirmann, B. & Dünger, M.: *Chem. Ber.*, 97, 1631 (1964)
- 8) Ender, F., Havre, G.N., Helgebostad, A., Koppang, N., Madsen R., & Ceh, L.: *Naturwiss.*, 51, 637 (1964)
- 9) Ender, F., Havre, G. N., Madsen, R., Ceh, L. & Helgebostad, A.: *Zeit. für Tierphys., Tierernährung u. Futtermittelkunde*, 22, 181 (1967)
- 10) Sakshaug, J., Sognem, E., Hansen, M.A. & Koppang, N.: *Nature*, 206, 1261 (1965)
- 11) Marquardt, P. & Hedler, L.: *Arzneimittel-Forsch.*, 16, 778 (1966)

- 12) Thewlis, B.H.: *Food Cosmet. Toxicol.*, 5, 333 (1967)
- 13) Hedler, L. & Marquardt, P.: *ibid.*, 6, 341 (1968)
- 14) Thewlis, B.H.: *ibid.*, 6, 822 (1968)
- 15) Möhler, K. & Mayrhofer, O.L.: *Z. Lebensm. Untersuch. u. Forsch.*, 135, 313 (1968)
- 16) Kröller, E.: *Deut. Lebensm. Rundschau.*, 10, 303 (1967)
- 17) Ender, F. & Ceh, L.: *Food Cosmet. Toxicol.*, 6, 569 (1968)
- 18) Preussmann, R., Daiber, D. & Hengy, H.: *Nature*, 201, 502 (1964)
- 19) Yoe, Y.H. & Overholser, L.G.: *J. Am. Chem. soc.*, 61, 2058 (1939); 63, 3224 (1941)
- 20) Preussmann, R., Neurath, G., Wulf, Lorentzen, G., Daiber, D. & Hengy, H.: *Z. Anal. Chem.*, 202, 187 (1964)
- 21) Griess, P.: *Ber.*, 12, 427 (1879)
- 22) Yasuda, K. & Nakashima, K.: *Bunseki Kagaku*, 17, 732 (1968)
- 23) Schoental, R. & Gibbard, S.: *Nature.*, 216, 612 (1967)
- 24) DuPlessis, L.S., Nunne, I.R. & Roach, N.A.: *Nature*, 222, 1198 (1969)
- 25) Sen, N.P., Smith, D.C., Schwinghamer, L. & Marleau, J.J.: *J.A.O.A.C.*, 52, 47 (1969)
- 26) Sen, N.P., Smith, D.C., Schwinghamer, L. & Howsam, B.: *Can. Inst. Food Tech. J.*, 3, 66 (1970)
- 27) Sen, N.P., Smith, D.C. & Schwinghamer, L. *Food Cosmet. Toxicol.*, 7, 301 (1969)
- 28) Wells, W.W., Yang, M.G., Bolzer, W. & Mickelsen, O.: *Anal. Biochem.*, 25, 325 (1968)
- 29) Howard, J.W., Fazio, T. & Watts, J.O.: *J.A.O.A.C.*, 53, 269 (1970)
- 30) Foreman, J.K., Palframan, J.F. & Walker, E.A.: *Nature*, 225, 554 (1970)
- 31) Sen, N.P.: *J. Chromatog.*, 51, 301 (1970)
- 32) Emmons, W.D. & Ferris, A.F.: *J. Am. Chem. Soc.*, 75, 4623 (1963); 76, 3468 (1964)
- 33) Althorpe, J., Goddard, D.A., Sissons, D.J. & Telling, G.M.: *J. Chromatog.*, 53, 371 (1970)
- 34) 俣野、清水、宇津山、中村、宮本：食衛誌，12，62 (1971)

追記

昭和46年2月26日厚生省告示第39号により食品添加物等の規格基準の一部改正が発表され、昭和46年9月1日から適用される。それによれば硝酸塩（ナトリウムおよびカリウム）はチーズ（原料乳につき0.2g/ℓ以下）、および清酒（酒母に対し0.1g/ℓ以下）について食品製造用剤として規制された。また亜硝酸根として、食肉製品および鯨肉製品（0.07g/kg以下）のみに発色剤として使用が認められ、他の使用については禁止された。

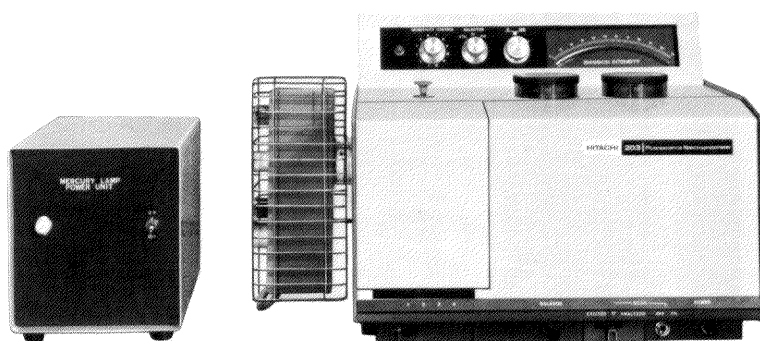
203形 日立分光けい光光度計による神経分泌系モノアミンの定量

岩田 年永*

1 緒 言

内分泌学の分野で、視床下部脳下垂体後葉系のcatecholamine, serotoninの存在は、脳下垂体前葉および後葉の分泌機構との関連が重要視されてきている。脳内・末梢神経内のモノアミンはこれらの組織内に微量にしか存在しないため、副腎髄質内catecholamineの定量に使用されている比色法、紫外外部吸収などの定量法で測定することが困難であった。しかし、近年、けい光光度法の進歩により脳内モノアミンのほとんどがけい光光度法で測定できるようになった。

脳内アミンのうち、catecholamine 類の3種(dopamine, noradrenaline, adrenaline)とserotoninの定量法およびウマの視床下部脳下垂体後葉神経分泌系の各組織を使用してこれらのアミンを定量したので、記述する。



2 材料 装置および測定方法

ウマの視床下部、正中隆起部、脳下垂体後葉の各組織は、屠殺後30分から1時間内に摘出・氷冷し、1時間後各組織を分け測定用試料を作製した。

装置は203形 日立分光けい光光度計を使用した。

2-1 モノアミンの分離

けい光光度法の弱点として、夾雑物の影響が大きいことがあげられているが、われわれはアミンを分離するために、catecholamine類(dopamine, noradrenaline, adrenaline)はAnton and Sayre(1962)のalumina-batch法を使用し、分離を行った。また、serotoninはAmberlite—C G 50のカラムを用い、分離を行った(Anden and Magnusson 1967)。

今回の実験では行わなかったが、dopamineとnoradrenaline, adrenalineの分離にはDowex-50Wのカラムクロマトが有効である。

2-2 けい光光度法

catecholamineの測定法には、Trihydroxyindole (THI) 法, etylene diamine condensation法などがあり、また Carlsson and Waldeck(1958)の方法もdopamineを定量するのに有効である。serotonin は塩酸強酸性の条件でけい光を出すので、この方法で測定できる。

(1) Trihydroxyindole法

Trihydroxyindole法はcatecholamine 類を硫酸亜鉛の存在下 pH6.5に調整しフェリシアン化カリで酸化し、0.2%アスコロビン酸を含む5 N酸性ソーダを加えて測定すると、noradrenaline, adrenalineの両方を測定できる。同様にしてpH3で酸化するとadrenalineだけが測定できる。また、pH6.5で酸化し、一次波長405mμ、二次波長510mμで測定するとnoradrenalineが高く出現し、一次波長435mμで行なうとadrenalineが高く測定できる。

表1の二元方程式を解くと、noradrenalineとadrenalineの混合試料は、noradrenaline 0.09μg, adrenaline 0.1μg とほぼ正確に定量できる。また、THI法でのnoradrenalineの直線性を表2に示す。ただし、この方法ではdopamineは検出できない。

表1 2つの波長の組合せによるTHI法でのnoradrenaline adrenalineの定量法

	405/510mμ	435/530mμ
Blank	4	4
Noradrenaline 0.2μg	100	32
Adrenaline 0.2μg	104	100
NA+A(各0.1μg)	99	65

$$405/510 \quad (100-4)x + (104-4)y = 99-4$$

$$435/530 \quad (32-4)x + (100-4)y = 65-4$$

* 早稲田大学教育学部

(2) Carlsson and Waldeck(1958)の方法

この方法はdopamineとDOPAが高濃度に測定できる。dopamineをpH6.5でKI—I液で還元し、亜硫酸ソーダ0.2%を含む5N酸性ソーダで処理し、5N酢酸でpH5.3とし水素放電管(260m μ)で前照射し、一次波長313m μ 、二次波長410m μ で測定する。dopamineの直線性は表2に示す。

(3) Anden and Magunusson(1967)の方法

この方法はserotoninの測定方法である。serotoninをアスコロビン酸とフェリシアン化カリで処理した後、塩酸強酸性の条件でけい光を測定する。測定は、一次波長295m μ 、二次波長545m μ で行なう。serotoninの直線性は表2に示す。

参考文献

- 1) Andén, N.E. & Magnusson, T.: *ACTA Physiol scand.*, **69**, 87(1967)
- 2) Anton, A.H. & Sayre, D.F.: *J. Pharmacol. exp. Therp.*, **138**, 360(1962)
- 3) Bertler, A., Carlsson, A. & Rosengren, E.: *ACTA Physiol. scand.*, **44**, 273(1958)
- 4) Carlsson, A. & Waldeck, B.: *ibid.*, **44**, 293(1958)

表2 Noradrenaline, Dopamine, Serotoninの直線性

	Blank	Blankを差し引いたもの				
		0.2	0.4	0.6	0.8	1.0(μ g)
Noradrenaline	1	18	37	54	76	95
Dopamine	9	21	42	67	87	100
Serotonin	7.5	25	41	61	80	96

3 ウマの視床下部・脳下垂体後葉神経分泌系におけるモノアミンの分布

上記測定法を用い、ウマの視床下部・脳下垂体後葉系のアミンを定量すると表3のようになる。これらの組織でadrenalineは検出できなかった。noradrenalineは視床下部、正中隆起部で濃度が高く、脳下垂体後葉では低濃度であった。dopamineはそれと反対に、脳下垂体後葉に高濃度に存在し、視床下部、正中隆起部では低濃度であった。また、serotoninは正中隆起部が高く、他の部域では低いという結果を得た。

表3 ウマの視床下部-脳下垂体後葉、神経分泌系のモノアミンの分布

	μ g/g tissue		
	Noradrenaline	Dopamine	Serotonin
視床下部	0.21	0.07	0.45
正中隆起部	0.29	0.24	1.2
下垂体後葉	0.01	1.1	0.15

4 終りに

このように数種のアミンが存在する場合、けい光光度計を用いると、一次、二次の波長幅が広がり、アミンが相互に干渉する事がある。その点分光けい光光度計は有効である。

HU-1000D形日立超高压電子顕微鏡による人の毛母色素細胞の観察

神保孝一* 佐藤昌三* 久木田淳*
上野武夫**

1. 目 的

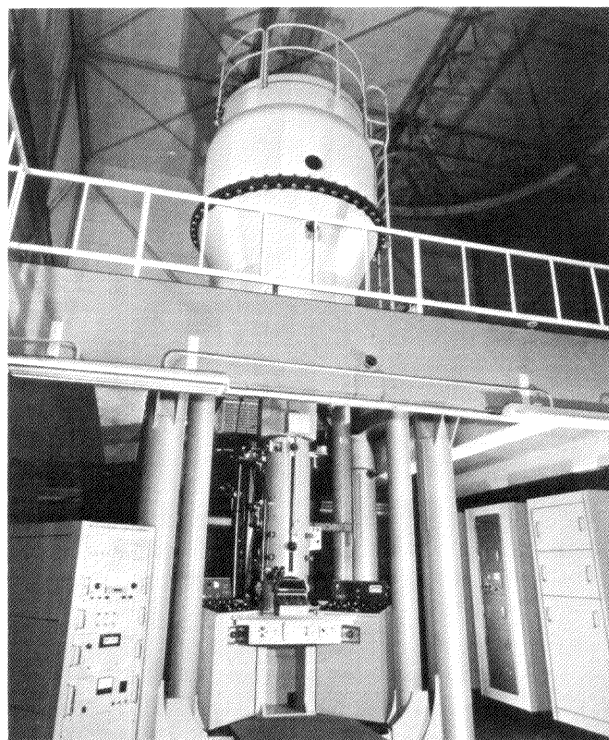
毛母色素細胞は他部のそれに比較して、細胞質内で種々の発達段階を示す旺盛な色素顆粒産生像が認められ、顆粒成熟過程の追求に格好の材料である。今回は人の毛母色素細胞を超高压電子顕微鏡下で観察し、色素顆粒の成熟過程における超微構造的特徴を明らかにしようとした。

2. 材料および方法

正常人男女から黒色毛髪を採取し、実体顕微鏡下で毛母を分離した。試料はグルタルアルデヒド、オスミウム酸二重固定後、エタノールにて脱水、エポンに包埋し、Du Pont diamond knifeを用い、 $4,000\text{\AA}$ (0.4μ)の厚い切片とし、HU-1000D形日立超高压電子顕微鏡により800kVの超高压下で観察した。また、三次元構造を解明するために、HK-2A形全方位試料傾斜装置を併用した。

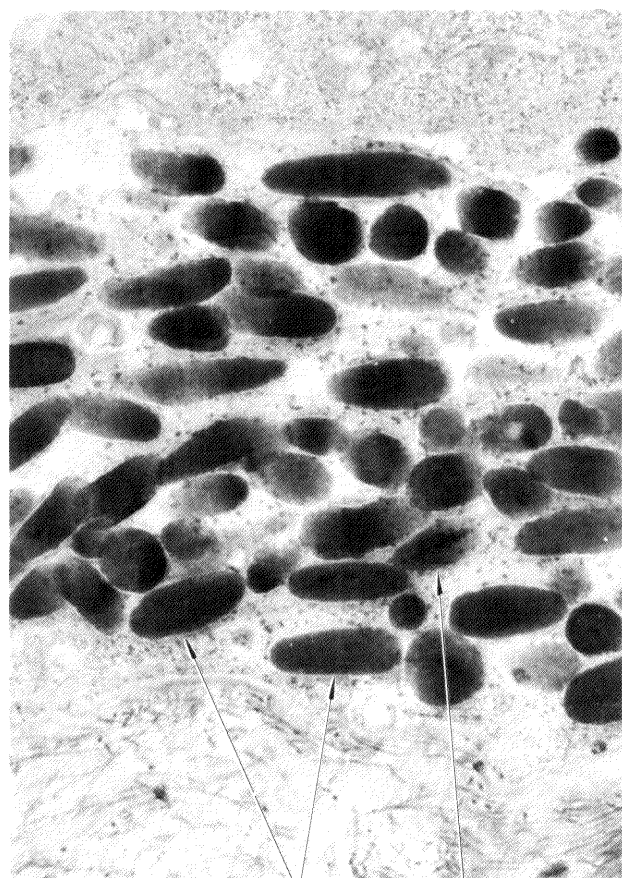
3. 結 果

未熟な色素顆粒は当初、類円形の空胞として認められ、内部に微細繊維状ないし膜状物が不規則に集積しているが、発達して空胞がだ円状になるにしたがって、内部構造物の配列に規則性が生じ、約 $70\text{\AA}$ の間隔を有する微細繊維状あるいは細縞模様を示す板状もしくは膜状構造が環状をなして見られる。これらの構造は別個に存在しているのではなく、薄膜の側面が切断されると繊維状、正面が切断されると板状構造を呈すると解釈するのが妥当である。メラニンの沈着は細縞模様の薄膜上に生じ、沈着の進行にしたがって膜自体の電子密度が増加し、縞模様は次第に不明りようになって成熟顆粒へと移行してゆく。成熟顆粒は従来から内部構造不明りようの顆粒とされていたが、今回の観察では明らかに区別できる二つの構造を有することが判明した。すなわち、顆粒辺縁の微細顆粒の集積からなるcortical shellと顆粒中央部のcentral coreを区別し得た(図1参照)。core内には未熟顆粒に存在した環状に配列された薄膜重層像が認められた。これに加え、central core最外側に見られる膜構造に径約 $400\text{\AA}$ の低電子密度を示す小類円形顆粒物が多数あり、その周囲にはメラニンが沈着している注目すべき所見も見られた(図2参照)。また、この小類円形顆粒物は球状を呈し成熟顆粒の表面に突出するが、今回の厚い切片の観察によりこれを再確認し得た。なお、図1、図2とも各々 $+8^\circ$ 、 -8° ずつ傾斜して撮影した像を示した。ステレオ鏡もしくは肉眼で一対の写真を同一面上に焦点合わせすれば三次元的に観察できる。



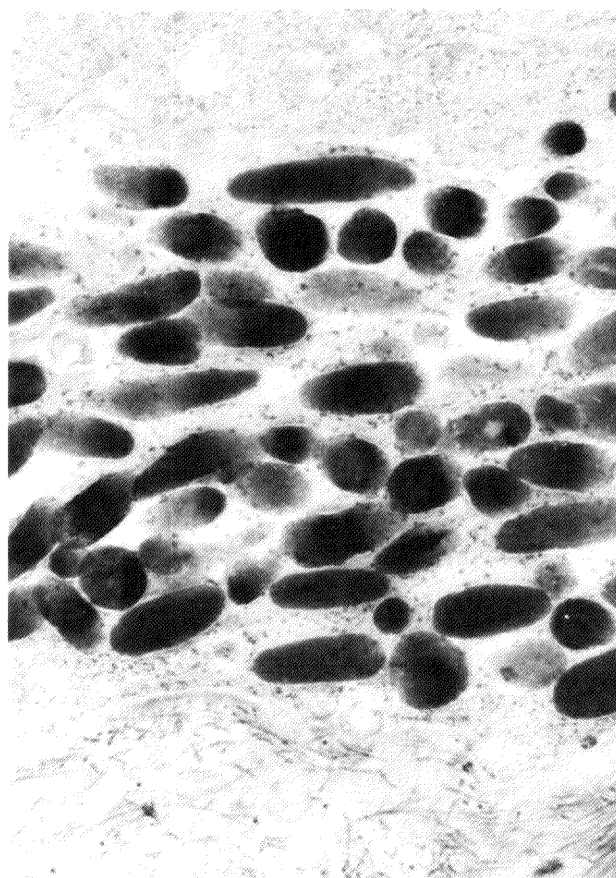
* 札幌医科大学 皮膚科学教室

** 日立製作所 那珂工場



試料傾斜角度：+ 8°

cortical shell central core



- 8° 傾斜

× 40,000

図1 cortical shellとcentral core



試料傾斜角度：+ 8°

メラニンが沈着している小類円形顆粒物



- 8° 傾斜

× 40,000

図2 小類円形顆粒物およびメラニンの沈着

微分分光測光法

本川 忠* 保田和雄* 黒石忠文*

1. 緒 言

測定物質の吸収スペクトルと共存物質の吸収スペクトルが重なっている場合に分析対象物質の吸収スペクトルを求めるには、差スペクトルを用いる方法が一般にとられている。しかし、この差スペクトルでは共存物質の吸収スペクトルが変化する場合あるいは、濃度が変化する場合には、一つの測定について常に対照溶液を選ばねばならない。このように対照溶液を常にとらねばならないとき、あるいは対照溶液が得られない場合には、微分スペクトルによる方法を用いると共存物質に基づく吸光度が変動してもこれに影響なく（対照溶液を選ぶことなく）定量ができる。本報告は共存物質の吸光度の変動する場合における微分スペクトル法の定量性について調べたものである。

2. 装 置

356形日立2波長自記分光光度計を使用し、自記分光測光方式と微分分光測光方式で測定した。光学系は図1に示す。上下2枚のグレーティングにより2つの単色光（標準、試料）を得る。

しかも、チョップパによりこの単色光は時間分割される。2つの単色光の波長間隔を一定に保ち走査し、1つの試料をそれぞれの単色光が通過すると微分スペクトルが得られる。

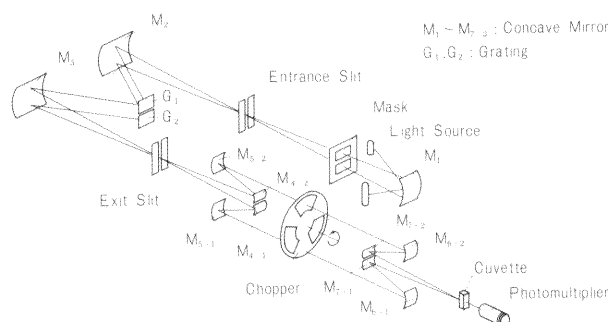
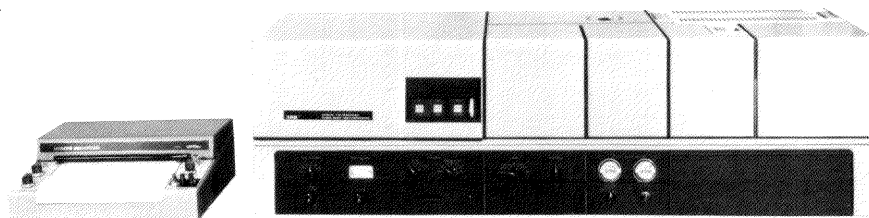


図1 356形日立2波長分光光度計光学系統図

*日立製作所 那珂工場



3. 実 験

(1) 共存物質の吸収スペクトルが直線で近似され、かつその濃度が一定の場合

測定した試料の濃度は表1に示したように一定Ce（共存物質）中でのEr（試料）の濃度を变化させる。

図2は自記分光測光方式により求めた吸収スペクトルであり、図2,3中の(1)はCe（共存物質）だけの吸収スペクトルで、(2)から次第にEr（試料）の濃度を变化させていった。図3は同一条件での微分スペクトルで、このpeak to peakの値を求め濃度に対応させると図4のように直線性のよい検量線が得られる。

(2) 共存物質の吸収スペクトルが直線で近似され、かつその濃度が変化する場合

測定した試料の濃度を表2に示したようにEr（試料）を一定にし、Ce（共存物質）の濃度を变化させた。図5は自記分光測光方式により求めた吸収スペクトルである。図5,6中の(1)はErだけの吸収スペクトルで、(2)から次第にCeの濃度を变化させた。図6は図5と同一条件の微分スペクトルである。このpeak to peakの値とCeの濃度の関係を図7に示す。共存物質の濃度をかえても、Erの値は一定値を示している。

(3) 共存物質の吸収スペクトルが目的とするスペクトルよりブロードで、目的物質の濃度が変化する場合

試料の濃度は表3に示したようにCe（共存物質）中で（Er）の濃度を変えた。図8は自記分光測光方式でバックグラウンド（共存物質）を示すCeの濃度を一定にしてErの濃度を変えたものである。図9はそれの微分スペクトル、図10はその検量線である。

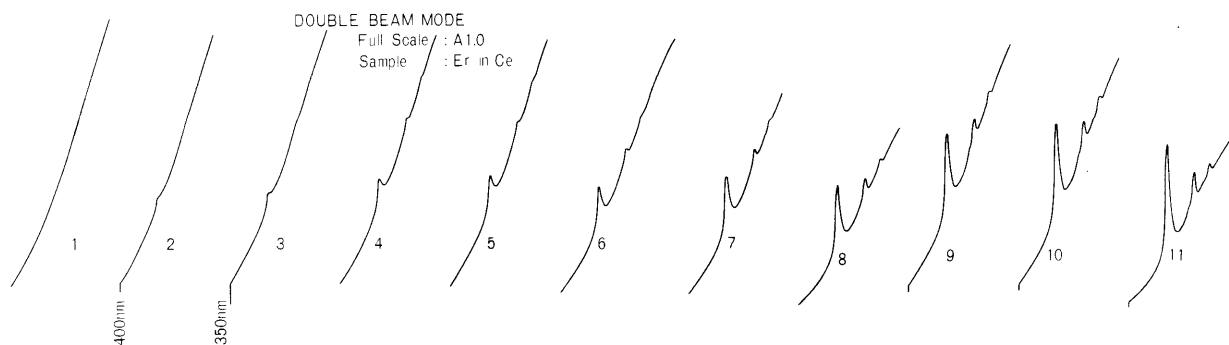


図2 Ce中のErの吸収スペクトル(Ceの濃度一定)

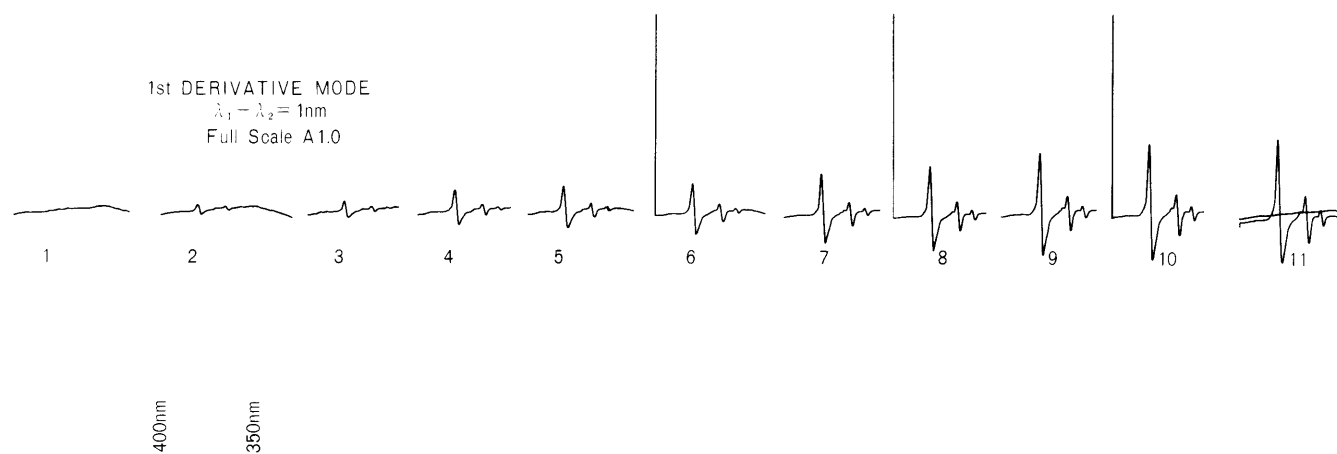


図3 図2の微分スペクトル

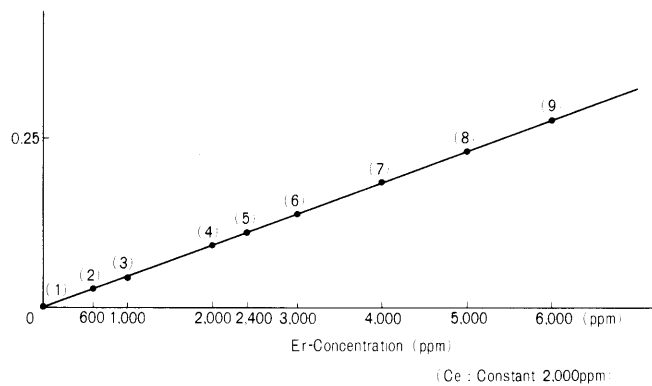


図4 濃度に対する図3のPeak to Peakの値

表1 実験(1)の試料濃度

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Er (ppm)	0	600	1,000	2,000	2,400	3,000	4,000	5,000	6,000
Ce (ppm)	2,000								

表2 実験(2)の試料濃度

	1	2	3	4	5	6	7	8
Ce (ppm)	0	400	800	1,200	1,600	2,000	2,600	3,000
Er (ppm)	6,000							

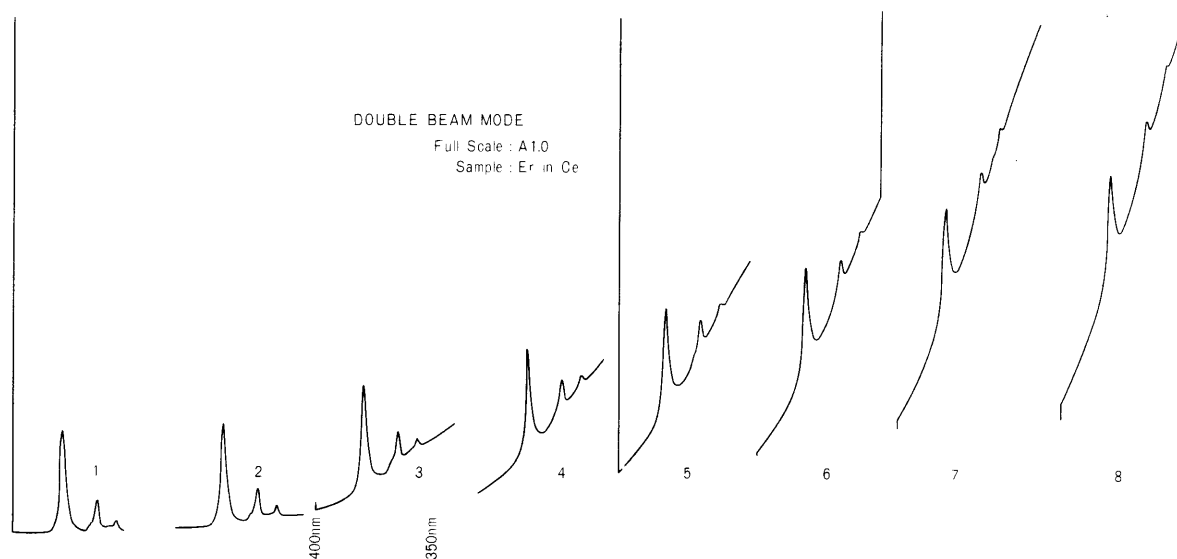


図5 Ce中のErの吸収スペクトル(Erの濃度一定)

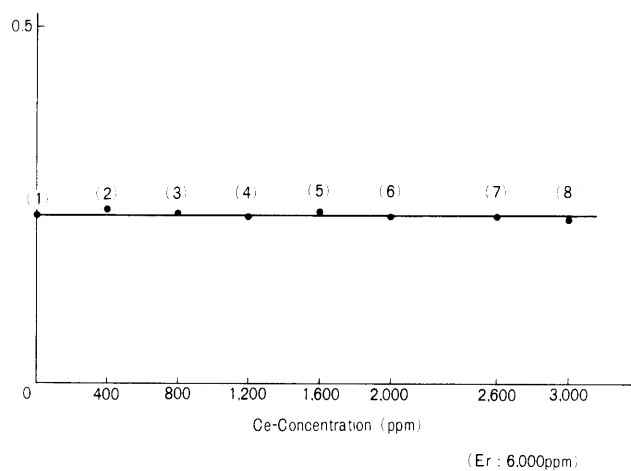
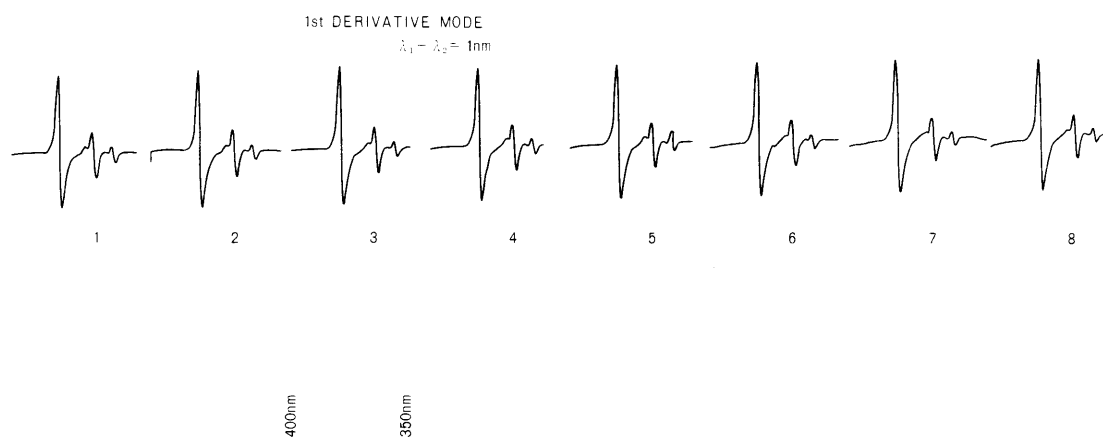


図7 濃度に対する図6のpeak to peakの値

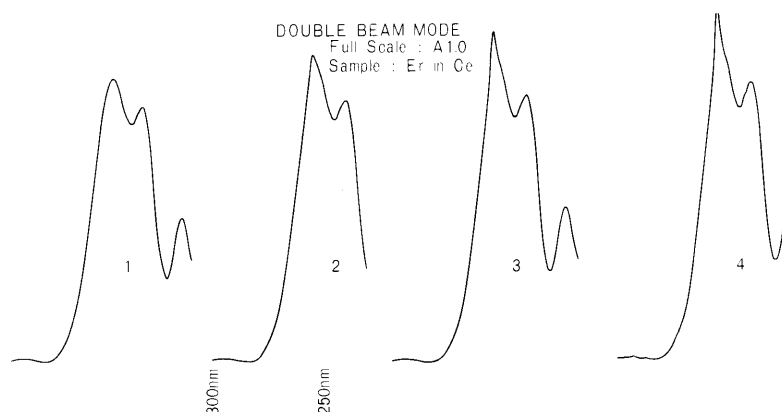


図 8 Ce中のErの吸収スペクトル(Ceの濃度一定)

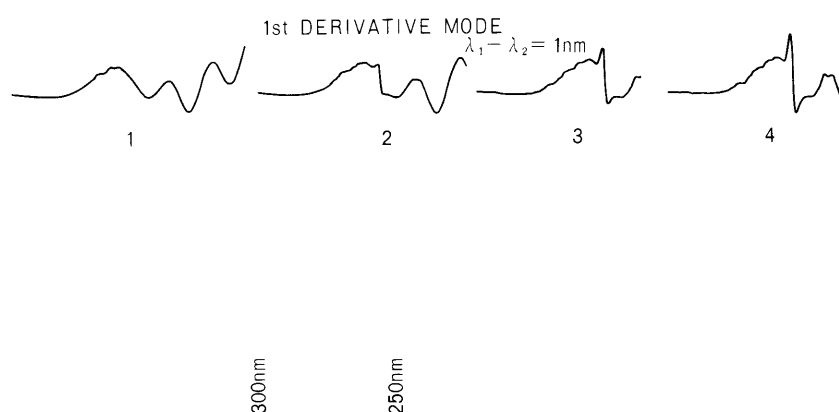


図 9 図 8 の微分スペクトル

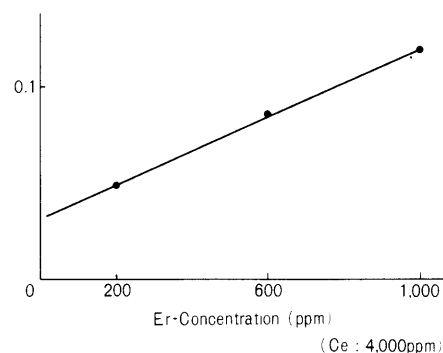


図10 濃度に対する図 9 のpeak to peakの値

(4) 共存物質の吸収スペクトルが目的とするスペクトルよりブロードで共存物質の濃度が変化する場合。

測定した試料の濃度は、表 4 に示すように求める (Er) 試料の濃度を一定にし、共存物質の濃度を变化させた。図 11 は自記分光測光方式により求めた吸収スペクトルで、同一条件の微分測光方式により求めたスペクトルは図 12 に示す。図 11、12 の (1) は Er だけのスペクトルで、図 11、12 の (2) より次第に Ce の濃度を变えていった。この図 12 の微分スペクトルの peak to peak の値を求めると、その値は図 13 に示すように一定値を示し、バックグラウンド (共存物質) の影響がないことを示す。

4. 結 果

以上実験で明かなように、微分測光方式によれば、共存物質によるバックグラウンドの影響なしに標的物質の定量が可能である。

表 3 実験(3)の試料濃度

	1	2	3
Er (ppm)	200	600	1,000
Ce (ppm)	4,000		

表 4 実験(4)の試料濃度

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Ce (ppm)	0	200	600	1,000	2,000	3,000	6,200	6,400	6,800
Er (ppm)	2,000								

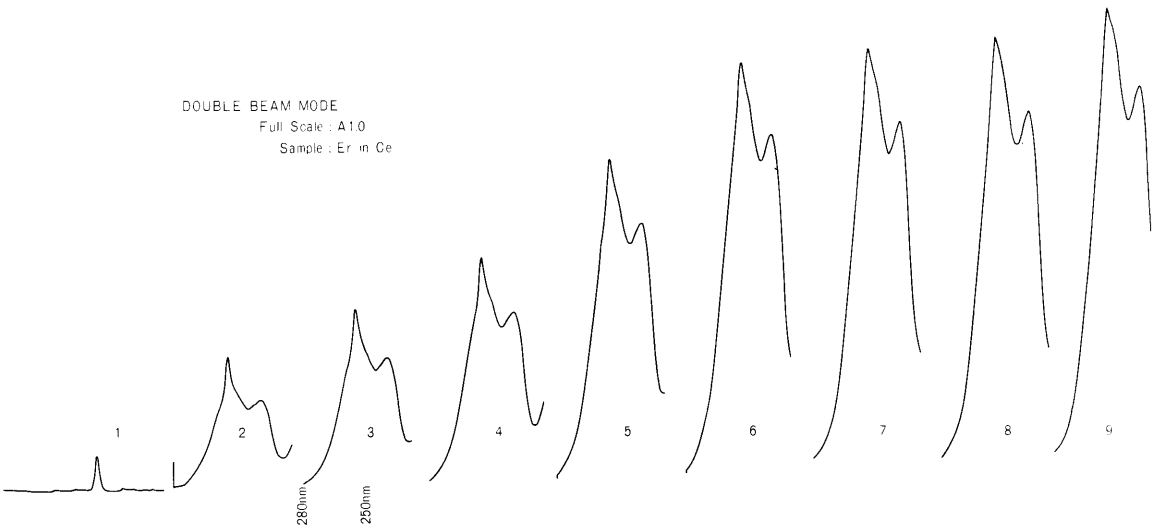


図11 Ce中のErの吸収スペクトル(Erの濃度一定)

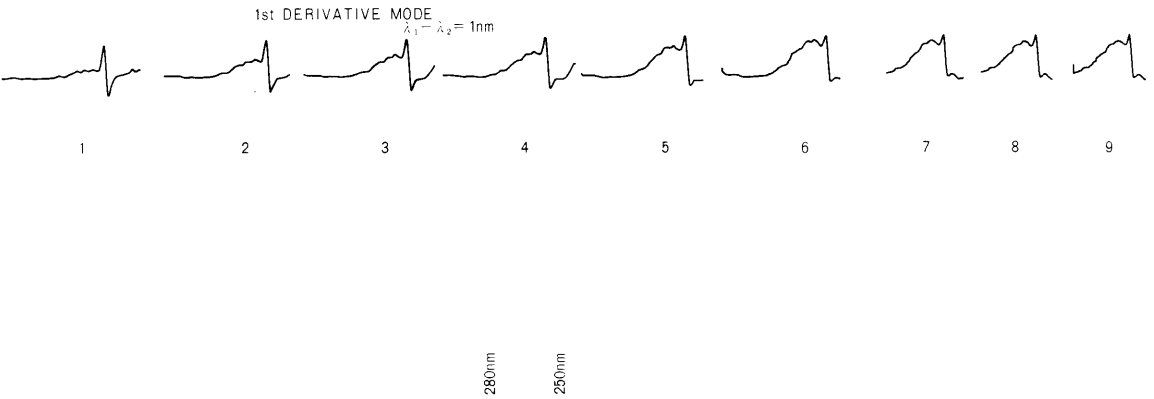


図12 図11の微分スペクトル

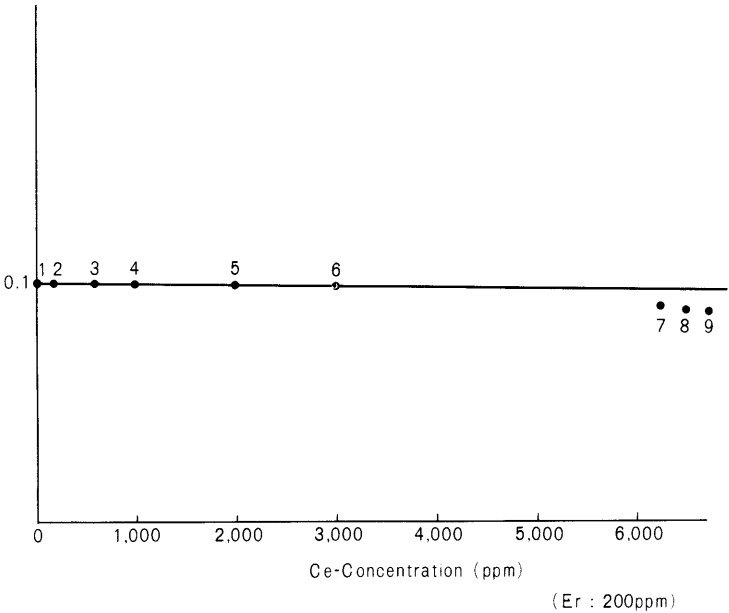


図13 濃度に対する図12のpeak to peakの値

300形 日立高周波プラズマ発光分析装置による分析例

松平俊次* 大石公之助*

1. 緒 言

発光分析装置は古くからあるが、その安定性の点から、従来のアークやスパークに代るさらに安定な、高温のプラズマの生成が要求されていた。

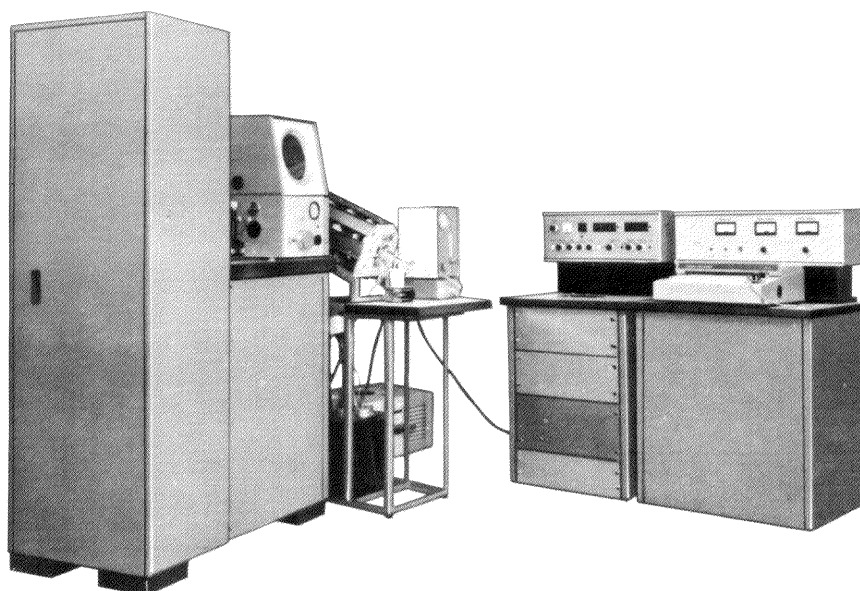
その試みとして、日立中央研究所において安定な高周波プラズマ光源が開発され、この光源を用いて300形発光分析装置が完成した。既存のいわゆる発光分析装置には、波長を固定して一次的に測定を行い定量分析するものと、波長走査のかわりにスペクトル写真を取り二次元的測定を行い定性分析するものがある。本装置は光電測光法を採用し、波長走査し二次元的測定ができるうえに、波長固定で定量分析も可能であり、既存の装置の欠点を補ったものである。

また、固体試料では試料の熱処理条件による影響やマトリックスによる影響があるが、本装置では試料を溶液にして、アトマイザでエアゾール状態にしてプラズマトーチに導くので、この影響は避けられる。また、電極に成形できないような小さな試料でも測定できる。本装置のプラズマの雰囲気ガスとしてはアルゴンを用いるので、化学燃焼炎などのように、酸化物ができたりしない。また、プラズマトーチの温度が高く(約7,600°K)励起エネルギーの高い元素も励起、発光できる。したがって、希土類元素も含め70種余の元素が測定できる。分光測光部は2つの分光器をもち、2波長方式で、容易に内部標準法や主要元素のバックグラウンド補正ができる。

発光スペクトルの分析に際しては全域走査すると長時間かかるので、プログラムにより所定の波長範囲だけを低速で走査し、不必要な範囲は高速で走査させ、時間の短縮を図った。このスペクトル線の波長選択は、30本まで可能である。波長走査はパルスモータで行い、出力はコンピュータに接続可能なよう考慮してある。

2. 装置の概要

光源としての高周波プラズマトーチは一般に使用されている2,450MHzを用い、出力は450Wである。雰囲気ガ



スとしてはアルゴンを用い、溶液試料は、アトマイザによりエアゾール状としてアルゴンガスとともに電極に送り、プラズマの中に導く。

プラズマトーチの中では多くの元素が発光するから、分光器は十分な分解能が要求される。そこで、分光器の回折格子には、日立中央研究所のルーリングエンジンで彫刻される最も格子定数 d の小さい $d = 14.40\text{mm}$ を採用した。焦点距離は $f = 1,200\text{mm}$ でCzerny-Turnerマウントである。分光器の光学系を図1に示す。

分光器を短波長から長波長まで全域走査するのでは、長時間(約10h)を要し、試料の消費量が増し、非効率、不経済でもある。そこで、測定前に予想設定された波長の近傍にある波長幅、たとえば $2\text{\AA}$ 程度をゆっくり走査し、次の設定波長直前までは高速走査を行って時間を節約し、また必要波長幅だけを低速走査する。これを順次繰返し最高30種のスペクトルについて約15分で分析できるプログラム方式を採用した。

分析すべき元素の選定は、その波長値を穴あきカードにプログラムすることによって行う。分光器は、sine bar方式を採用しているので、送りねじの回転数と波長は比例する。さらに、駆動にはパルスモータを採用しているので、回転数と入力パルス数とは比例する。また、入力パルス数をカウンタに入れて、波長をデジタル表示した。

* 日立製作所 那珂工場

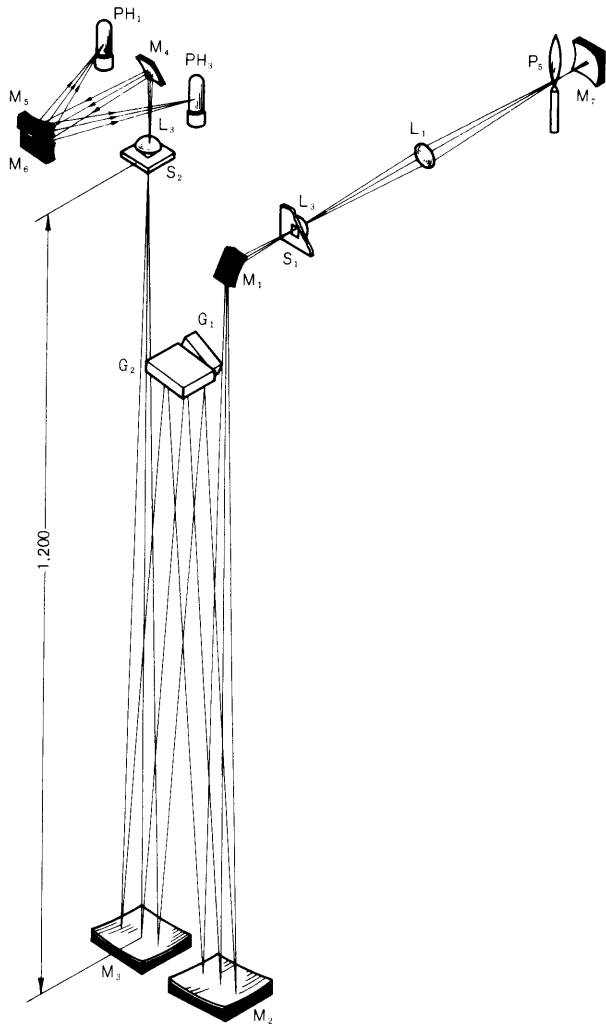


図1 300形日立高周波プラズマ発光分析装置の光学系

表1 元素とそのスペクトル波長

元素	波長(Å°)	強度比	検出限界(ppm)	元素	波長(Å°)	強度比	検出限界(ppm)
Ag I	3,280.68	3.3	0.03	Co I	3,518.35		0.1
Ag I	3,382.89	1.3	0.1	Co I	3,569.38		0.1
Al I	3,944.03	1	0.06	Cr I	3,578.69	7	0.05
Al I	3,961.53	2	0.03	Cr I	3,593.49	5.4	0.07
As I	2,288.12	1	0.2	Cr I	3,605.33	3.7	0.1
As I	2,349.84	1	0.2	Cs I	4,555.36	1.4	0.1
Au I	2,675.95	1.5	0.005	Cs I	4,593.18	0.65	0.2
Au I	2,427.95	1		Cu I	3,247.54	2	0.03
B I	2,496.78	1	0.06	Cu I	3,273.96	1	0.06
B I	2,497.73	2	0.03	Dy II	3,968.42	5	0.04
Ba II	4,554.03	4	0.003	Dy II	3,944.70	4	0.05
Ba II	4,934.09	1	0.01	Dy II	3,872.13	3	0.07
Ba I	5,535.48		0.05	Er II	3,692.64	7.4	0.05
Be II	3,130.42	3	0.002	Er II	3,616.58	3.2	0.1
Be II	3,131.07	2	0.003	Er II	3,633.56	1.0	0.3
Be I	2,348.64		0.005	Eu II	3,819.67	8	0.05
Bi I	4,722.19	0.2	1.0	Eu I	4,627.22	5.5	0.07
Bi I				Eu I	4,661.88	4.2	0.08
C I	2,478.57			Eu II	4,205.05	4	0.1
Ca II	3,933.67	2	0.005	Eu II	4,129.70	4	0.1
Ca II	3,968.47	1	0.01	Fe I	3,719.94	2.5	0.05
Ca I	4,226.73		0.05	Fe I	3,737.13	1.5	0.07
Cd I	2,288.02	4	0.002	Fe I	3,734.37		
Cd II	2,265.02	1		Ga I	4,172.06	2	0.03
Ce II	4,460.4		0.1	Ga I	4,032.98	1	0.06
Ce II	4,186.60			Gd II	4,325.57		0.5
Co I	3,453.50		0.05	Gd II	3,791.17		

元素	波長(Å°)	強度比	検出限界(ppm)	元素	波長(Å°)	強度比	検出限界(ppm)
Gd II	3,646.19		0.2	Se I	2,039.85	8	1
Ge I	2,651.58	8	0.05	Se I	1,960.26	6	1.2
Ge I	2,709.63	12	0.03	Se I	2,062.79	3	2.5
Hf II	3,561.66	1		Se I	2,074.79	1	8
Hf II	3,399.80	1		Si I	2,506.90	6.3	0.2
Hg I	2,536.52		0.001	Si I	2,514.32	5.7	
Hg I	4,358.35		0.1	Si I	2,516.11	13	0.1
Ho I	4,053.93	1	1	Si I	2,524.11	8.4	0.15
Ho I	4,103.84	1	1	Sm II	4,424.34	5.3	0.2
In I	4,511.31	1.2	0.05	Sm II	4,280.79	4.0	
In I	4,104.74	1	0.06	Sm II	4,467.34	3.7	
Ir I	3,800.12	0.6	0.1	Sm I	4,841.70	3.3	
Ir I	3,513.64	1	0.1	Sm I	4,296.74	2.8	
K I	4,044.14	2	0.1	Sn I	3,801.02		0.2
K I	4,047.20	1	0.1	Sn I	2,706.51		0.06
La I	5,501.34			Sr I			
La I	4,187.32			Sr II	4,077.71	2	0.002
La II	4,086.72		0.1	Sr II	4,215.52	1	0.004
Li I	2,741.20		0.1	Ta I	3,642.06		
Li I	3,232.61		0.1	Ta I	3,406.94		
Lu II	3,507.39		0.5	Ta I	3,311.16		
Lu II	2,615.42		0.5	Tb I	4,318.85	5.2	1.5
Mg I	2,852.13		0.11	Tb I	4,326.47	7.2	1
Mg II	2,795.53	2	0.005	Tb I	4,338.45	4.1	2
Mg II	2,802.70	1	0.005	Te I	2,385.76	8.2	0.15
Mn II	2,576.10	8	0.02	Te I	2,383.25	6.4	0.1
Mn II	2,593.73	5	0.44	Th II	4,019.13		
Mn II	2,605.69	3	0.66	Th II	3,929.67		
Mo I	3,864.11	1	0.55	Th II	3,539.59		
Mo I	3,798.25	1	0.55	Th II	3,435.98		
Na I	3,302.32	2	0.1	Ti I	3,653.50		0.05
Na I	3,302.99	1	0.1	Ti I	3,752.86		
Nd II	4,303.58	1	0.1	Ti II	3,349.41		
Nd II	4,156.08	0.8	0.1	Ti II	3,361.21		
Ni I	3,414.76	1	0.02	Ti I	5,350.46		0.05
Ni I	3,524.54	1	0.02	Ti I	3,775.72		
Pb I	4,057.83	3	0.1	V I	4,379.24	7.5	0.02
Pb I	3,683.48	1	0.3	V I	4,384.72	5.7	0.03
Pb I	3,639.58	0.3		V I	4,389.97	3.7	0.04
P I	2,553.28			V I	4,395.23	2.4	
Pr II	4,189.52	1		V I	4,400.58	1.0	
Pr II	4,225.33	1	0.2	W I	4,008.75		0.2
Pt I	2,659.45	8.2	0.05	W I	4,302.11		
Pt I	2,646.89	3.1	0.1	Y II	4,374.94	2.5	0.03
Pt I	2,677.15	1.2	0.3	Y II	3,788.70	2.1	
Rb I	4,201.85	2	0.2	Y II	3,710.30	5.0	
Rb I	4,215.56	1	0.4	Yb II	3,694.14		
Rh I	3,692.36		0.005	Yb I	3,987.98		
Rh I	3,657.99			Yb I	3,464.36		
Rh I	3,502.52			Zn I	2,138.56		0.005
Sb I	2,598.05		0.05	Zn I	4,680.14	5.8	
Sb I	2,311.47			Zn I	4,772.16	15	
Sc II	3,613.84	11		Zr I	4,810.53	21	
Sc II	3,630.75	8		Zr II	3,391.98		1.0
Sc II	3,642.79	5		Zr I	3,519.60	5.0	1.0
				Zr I	3,586.29	1.9	2.5

注 条件 S/N=2とした。

3. 測定例

高周波プラズマトーチで発光できる元素のスペクトルの波長を表1に示す、あわせて各元素の検出限界も示した。飲用水などのように懸濁物がなく比較的きれいな水は、測定に際しろ過の必要はなく、そのまま測定に供することができる。

ごく普通の元素について表1の中から選び、Zn 2,138.56ÅからBa 4,810.53Åまでを短波長側から順に井戸水について定性分析した例を図2に示す。この結果から、Ca、Cu、Fe、K、Mg、Na、Si、Sr、Znなどが検出された。

温泉水や鉱泉などは、種々の金属イオンに富み、本装置の分析の迅速性からいって興味ある対象である。図3に温泉水の定性例を示す。この結果から、Ba、Ca、Cu、Fe、K、Mg、Mn、Srが認められた。

定量を目的とする場合は、種々の濃度に対してそのスペクトルの近傍だけを走査し、検量線を得て、未知濃度の試料を測定すれば定量できる。

図4にCdの濃度を変えたときのスペクトルの状態を示す。この発光強度と濃度の関係をプロットすると図5のようになる。この結果から再現性もよく、0.01ppm程度のCdは十分定量できることがわかる。

4. 結 言

高周波プラズマトーチ光源は、その温度が約7,600°Kと高く、70種余の元素について励起発光できる。また従来、困難とされていた溶液状試料の発光分析が容易にできる。また測光方式を、精密波長走査方式としたために、既存の自動発光分析装置の定性分析、写真分光器の定量分析などの短所を補い、定性定量分析ができる。プログラム走査方式の採用により、従来の写真分光器などよりはるかに短時間で含有元素の定性が可能となった。

普通の場合は、試料をそのまま測定できる。以上の利点を生かし一般の金属分析はもちろん、品質管理における微量金属成分の管理、水質、大気、食品など環境汚染の管理、予防などにも本装置が大いに利用されるものと考えられる。

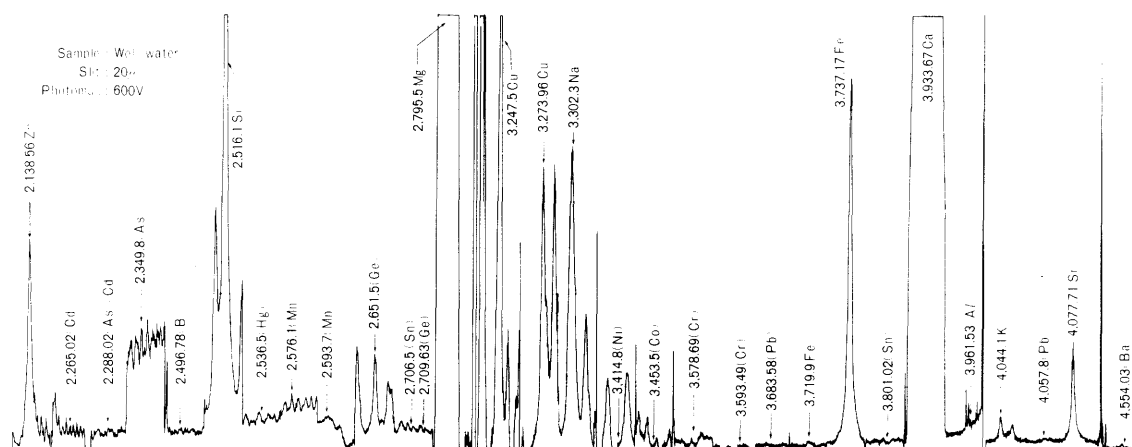


図2 井戸水の定性分析例

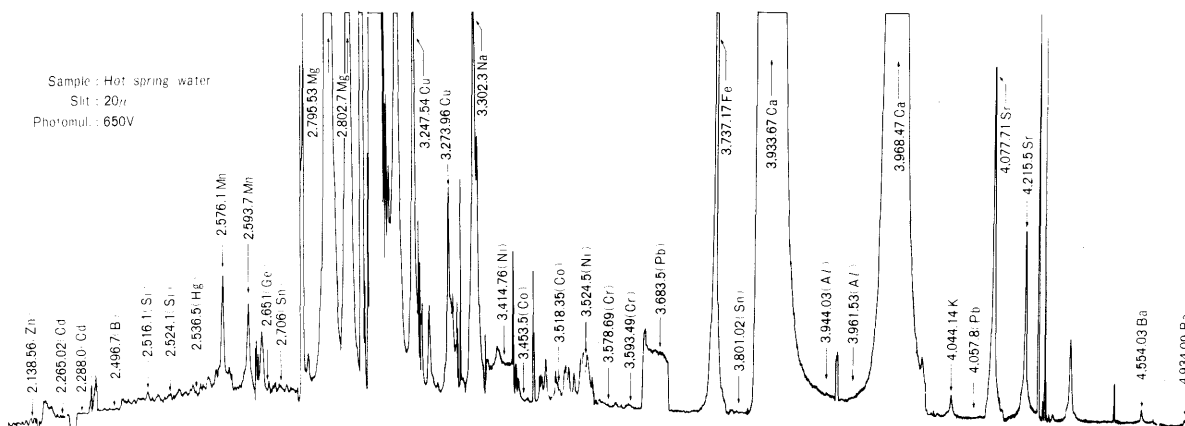


図3 温泉水の定性分析例

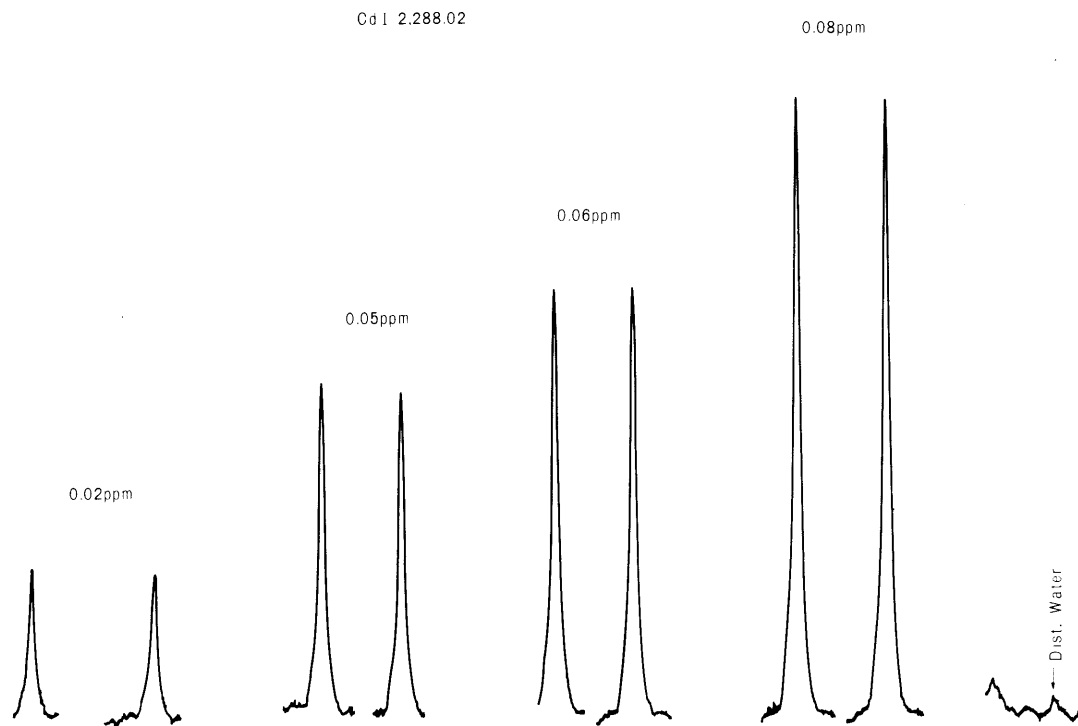


図4 Cdの発光スペクトル

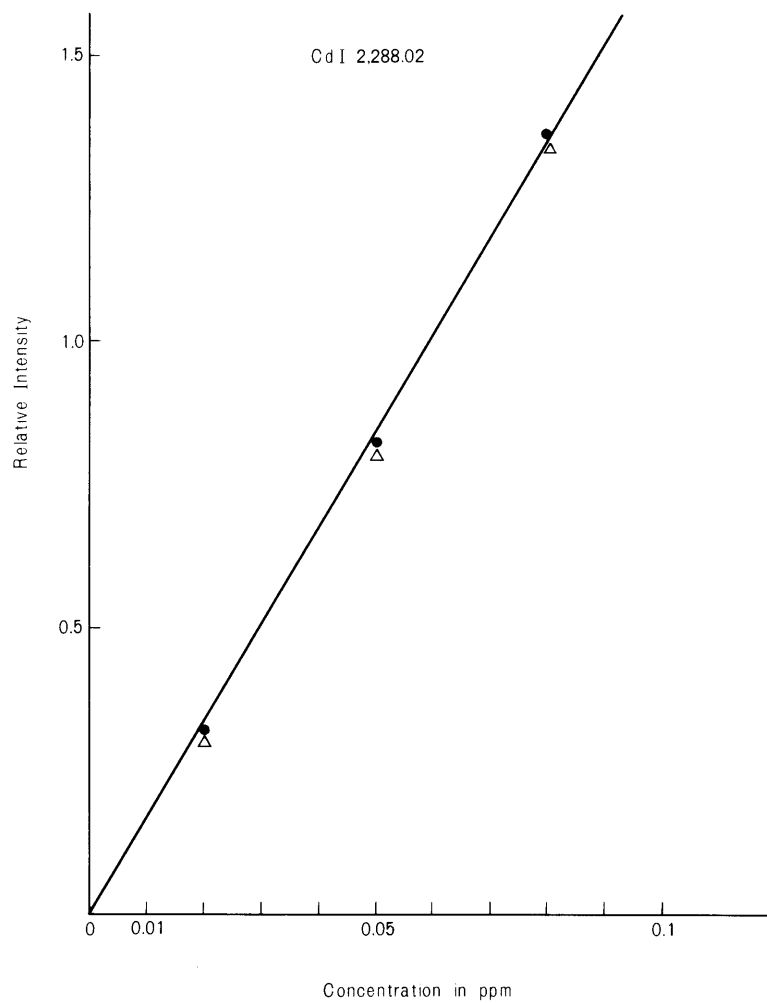


図5 Cdの検量線

063形 日立ガスクロマトグラフによる 微量一酸化炭素，炭酸ガスの分析

永井久晃* 打本英夫*

1. 緒 言

063形 日立ガスクロマトグラフは、カラム恒温槽のほかに検出器用の小形の恒温槽をもっているため、これを反応槽として使用することにより、いわゆる反応ガスクロマトグラフィの実験が簡単にできる。

これに着目して、Porter⁽¹⁾らによって報告されている「FIDによる微量COの検出」を検討した。本法に関しては、すでにSIニュース⁽²⁾に紹介されたとおりであるが、今回の分析条件の検討により、FIDでPorterらの実験結果の感度を約3ヶタ上回る数ppbのCOの検出が可能であることが明らかになった。

反応式は



であるが、CO₂も同様の反応でメタンに還元されることもわかった。以下に実験の概略を報告する。

2. 実験方法

2.1 装置および器具

ガスクロマトグラフ 日立063形 FID検出器付
気体試料導入装置 日立063-0913形 1ml 5ml
真空ポンプ 日立4VP-C2形 200W 100ml/min

2.2 還元ニッケル触媒の調整

- (1)硝酸ニッケルの飽和水溶液を作る。
- (2)これに必要な量のC-22をつけ、真空中に引き5分間ほど保ち、C-22中の気泡を除いた後常圧に戻して一夜放置する。
- (3)傾斜法により水溶液を除き、110℃で一夜乾燥する。
- (4)400℃で5時間乾燥する。
- (5)ガスクロ用ステンレスパイプ 内径3mm 長さ10～20cmにつめ、水素を通しながら350℃で一夜還元する。

2.3 流 路

063形 日立ガスクロマトグラフに図1の流路を組み入れた。図に示すように、反応槽には還元ニッケル触媒カラムを入れ、還元用の水素は触媒カラムの前から入れ、そのままFID用燃焼ガスとして使用した。なお、反応槽は検出器用恒温槽をそのまま使用したもので、温度制御感度は±0.1℃である。

3. 実験結果

3.1 CO、CO₂の還元率と反応槽温度との関係

図2に示すとおり、CO、CO₂とも同じように190℃より還元が始まり、310℃で最高に達し、あとは一定になる。したがって、反応槽温度を310℃以上にすれば、安定した状態で最も感度よくCO、CO₂を検出できることがわかる。ただし、O₂によるショックピークは温度が高くなるにつれて大きくなるので、310℃くらいにするのが最もよいことがわかった。

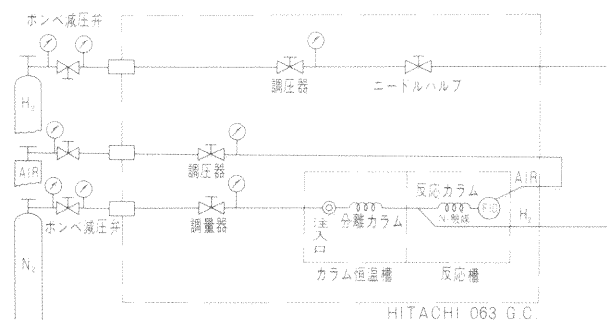
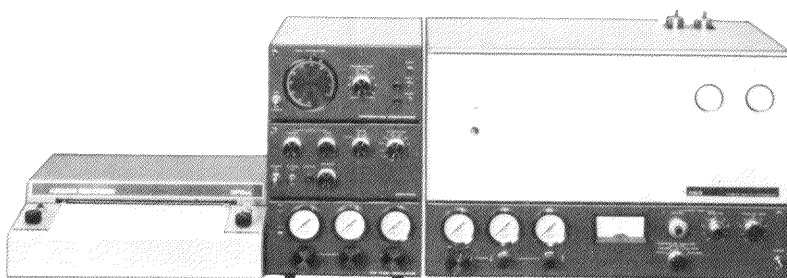


図1 流 路

3.2 水素量と還元率との関係

CH₄、CO、CO₂の混合試料を作り、CO/CH₄、CO₂/CH₄のピーク面積比と水素量との関係を図示すると図3のようになり、水素量は還元率に関係ないことがわかる。したがって、FIDの感度を最も高くする水素量を選ぶことが大せつである。

3.3 CO、CO₂の分析

反応槽温度を310℃にし、水素量はFIDの感度を最も高くする量に設定して分析を行った。

(1)COの分析

図4に示すとおり、2ppbのCOを検出できた。

(2)CO₂の分析

図5に示すとおり、1ppmのCO₂を分析した。これはガスクロ条件を検討すれば（カラムを短くして温度を上げるか、あるいはカラムにポラパックを使用する）、さらに感度を上げることができる。

* 日立製作所 那珂工場

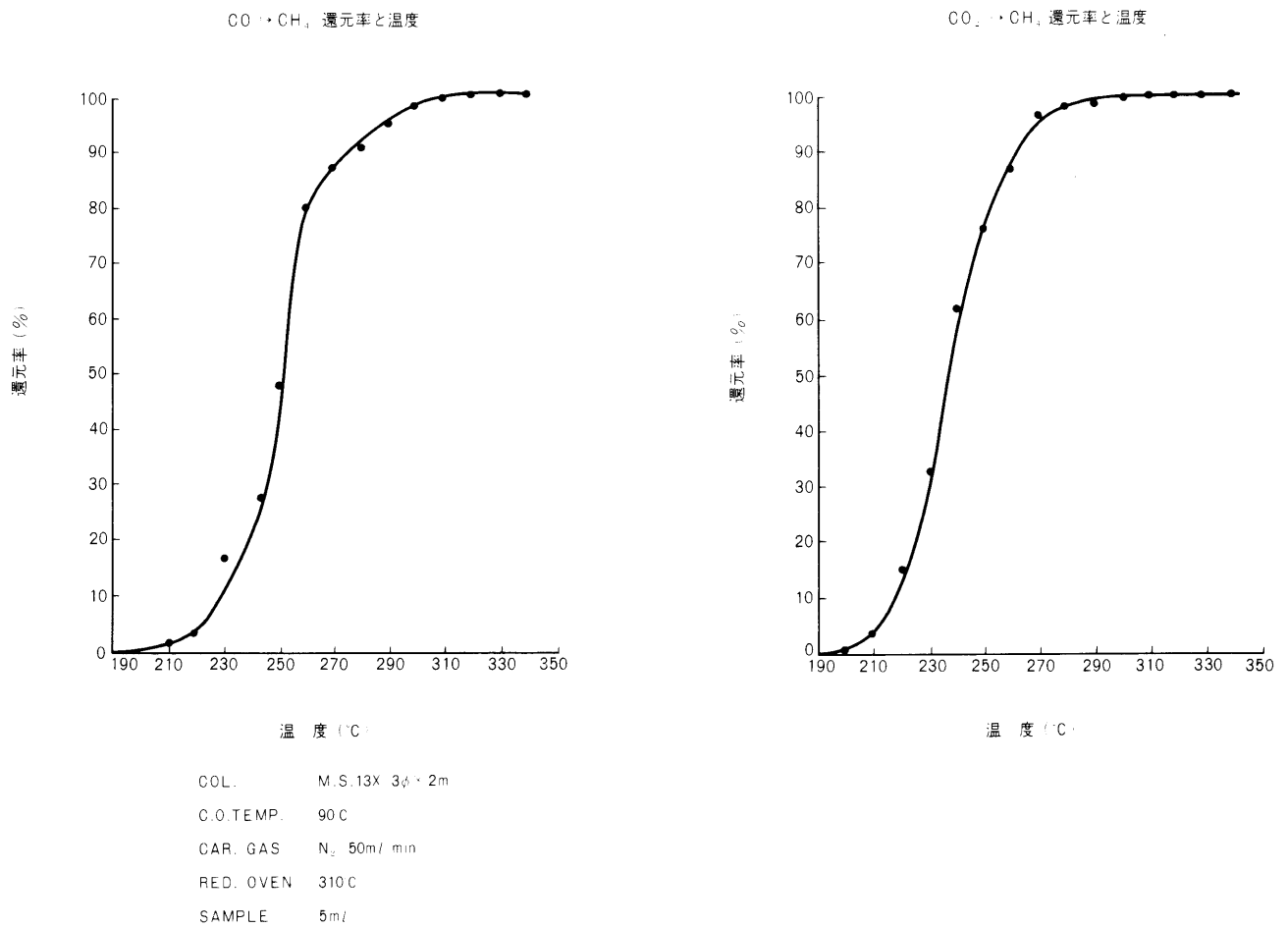
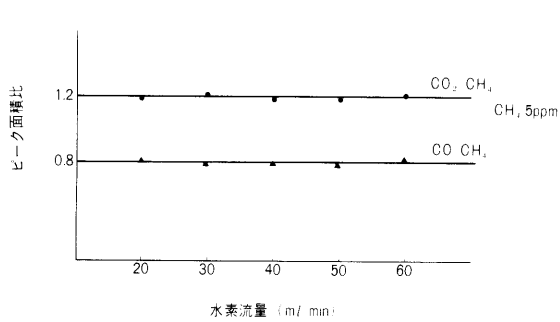
図2 CO、CO₂の還元率と反応槽温度との関係

図3 水素流量と還元率の関係

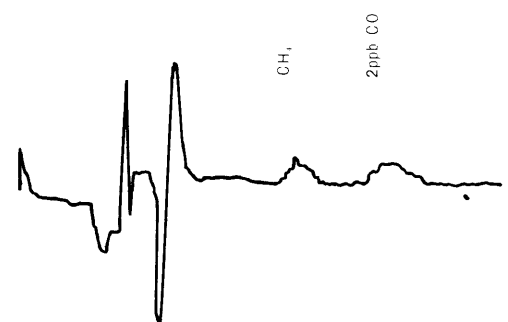
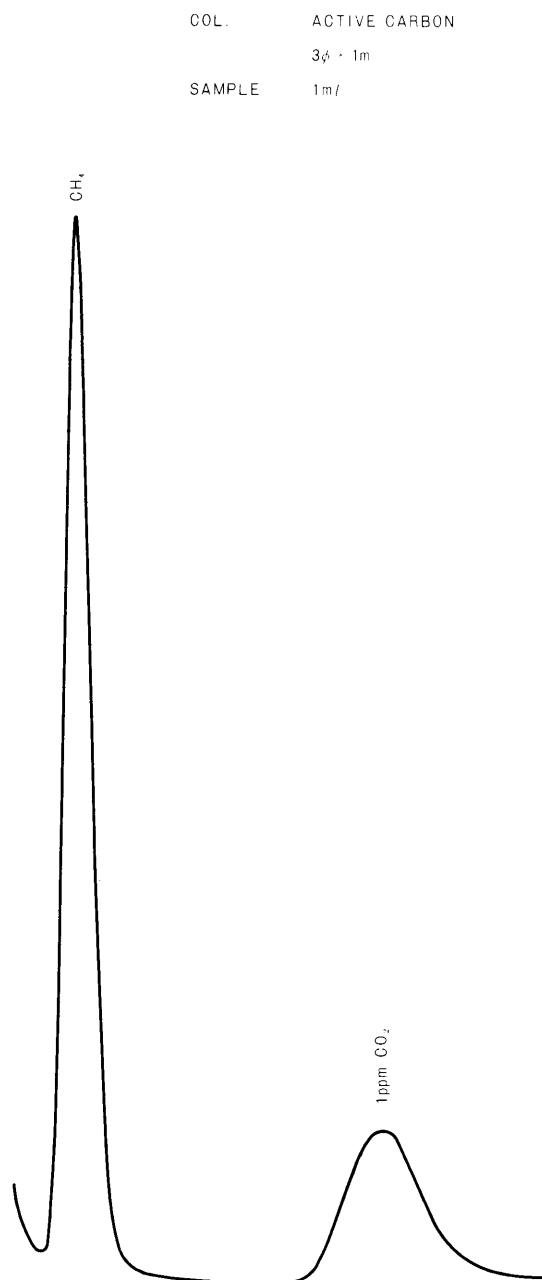
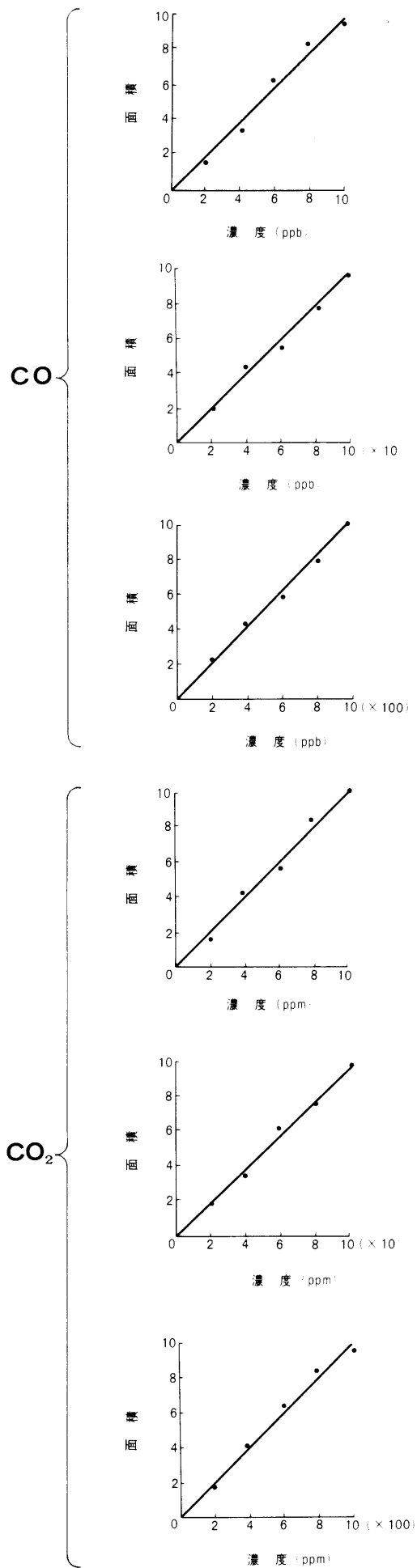
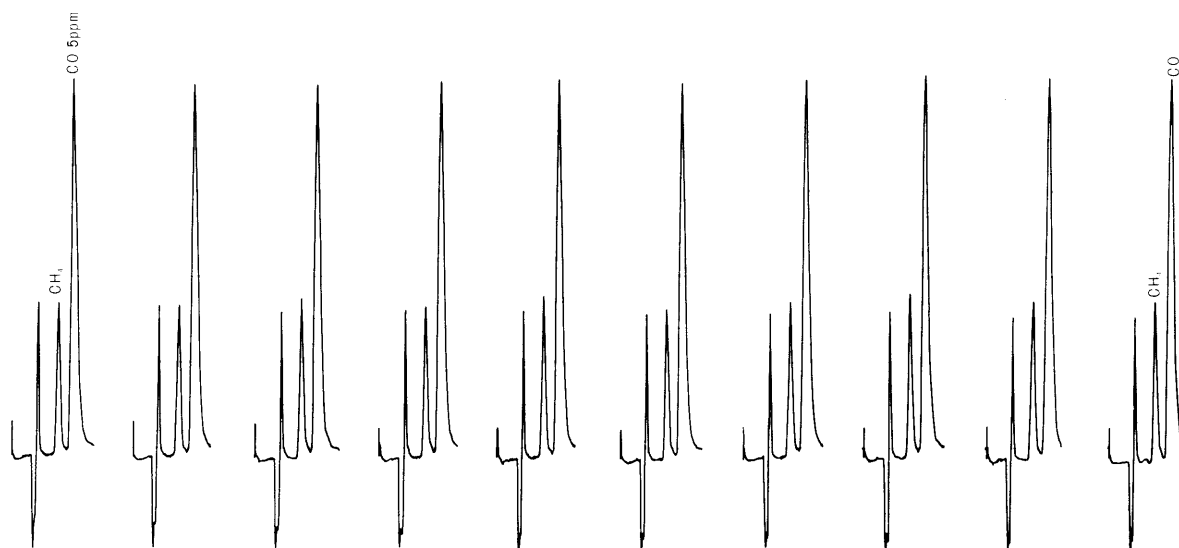


図4 微量COの分析

図5 微量CO₂の分析図6 CO、CO₂の検量線

CO還元再現性

図7 空気中の微量CO₂の還元再現性

3.4 検量線

図6に示すとおり、CO、CO₂ともよい直線性を示している。

3.5 再現性

(1)図7に示すとおり、CO 5 ppmを含む空気1 mlを連続10回注入した結果、よい再現性が見られた。

(2)図8に示すとおり、純粋なCO 1 mlを連続5回注入した結果、よい再現性が見られた。

したがって、大量のO₂、COによってもニッケル触媒は安定であり、この種の試料の分析に利用できることがわかる。

3.6 寿命

筆者らは、これを2ヵ月余り連続使用したが、ニッケル触媒カラムの変化は認められなかった。

4. 測定例

4.1 大気中のCOの検出

図9に示すとおり、COの微妙な変化をよく検出している。同時にメタンも検出している。

4.2 呼気ガスの分析

図10に示すとおり、タバコを吸う人、吸わない人、吸った本数、吸ったあとの時間の経過によるCO、CH₄の変化がよく判る。正常人の呼気ガス中には、大気中と同程度のCH₄と大気中の約4倍程度のCOが含まれていることがわかる。

5. 結 言

本研究の結果を要約すると次のとおりである。

(1)還元ニッケル触媒を使い、反応温度310°CでCOをCH₄に還元し、FID検出器で2ppbのCOを検出できた。

(2)検量線はよい直線性を示す。また、再現性もよい。しかも、大量のCO、O₂によっても還元ニッケルの急激な劣化はない。したがって、十分実用が可能である。

(3)寿命に関しては、2ヵ月以上連続使用しても劣化が全く認められなかった。

(4)CO₂もCOと全く同じようにCH₄に還元して検出することができる。

参考文献

- 1) Perter, K., et al: *Anal. Chem.*, 34 NO June 740(1961)
- 2) Dubois, L., et al: *J. of the Air Pollution Pollution Association*, 16 NO3 march (1966)
- 3) 打木英夫: *The Hitachi Scientific Instrument News*, Vol.2 NO2 April(1966)
- 4) 山中龍雄: 触媒化学, 日刊工業新聞社

CO還元再現性

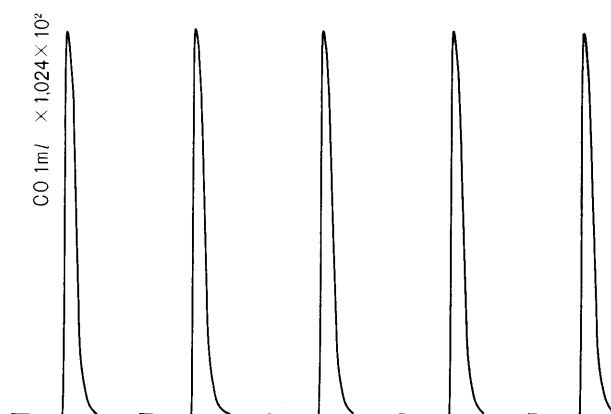


図8 大量のCOの還元再現性

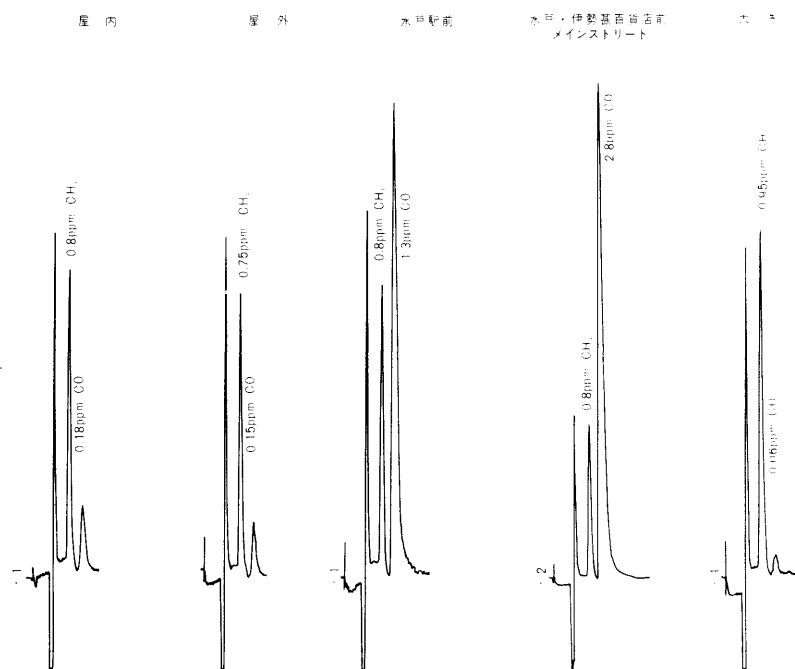
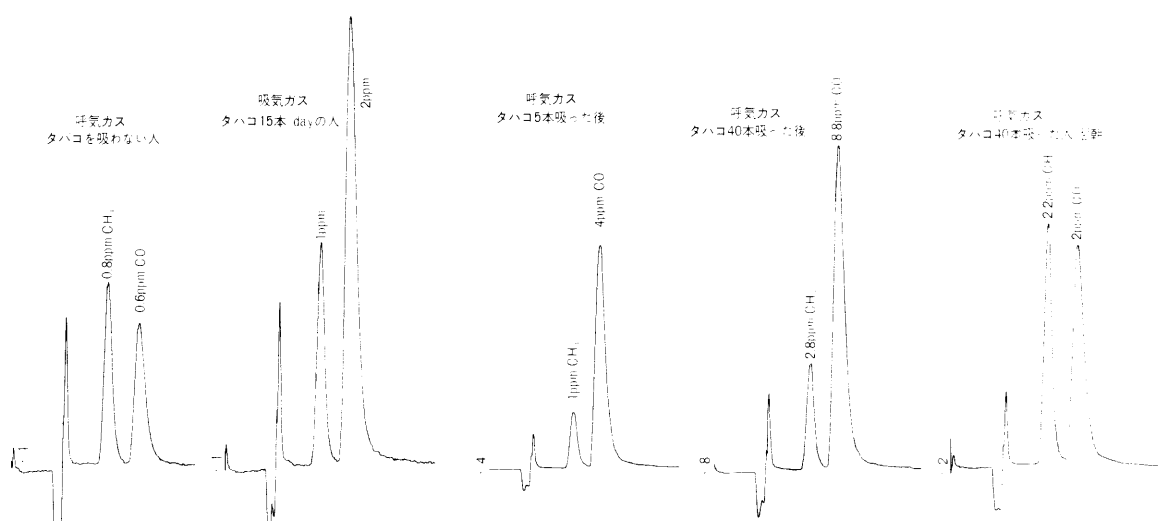
図9 大気中のCO、CH₄分析

図10 人間の呼気ガスの分析

R-24形 日立高分解能核磁気共鳴装置(NMR)を利用した 不飽和ポリエステル樹脂の組成分析

向山 吉之* 藤枝 邦美**

1. 緒 言

高分解能NMRスペクトルより、不飽和ポリエステル樹脂の分子構造の定性・定量分析の試みを行った例について述べる。

従来、この樹脂の組成分析はIRスペクトルや加水分解生成物のガスクロマトグラフによる分析が主に行われて来た。しかし、測定精度や化学反応が定量的でないことから、反応生成物の分析では精度に問題があった。このような見地から、NMRを利用した分析が試みられ始めた¹⁾。ここでは、二塩基酸とグリコール類から成るモデル樹脂を合成し、NMRスペクトルを検討した結果、ほとんどすべてのポリエステル樹脂の組成分析が可能であることを見出した。つまり、ポリエステル樹脂を構成している酸成分とグリコール成分のシグナルに着目することによって、ケミカルシフトより定性分析が、シグナルの面積強度によって定量分析を行うことができる。

2. 測 定

2.1 供試料

樹脂は日立化成の製品を供試料とした。比較検討のためのモデル樹脂は既知の方法に従って合成した。

2.2 測定装置

R-24 型日立高分解能核磁気共鳴装置(NMR)を用いて測定した。

溶媒は四塩化炭素および重フッ化ホルムを用いた。基準物質にTMSを使用し、化学シフトは較正チャート上から直読して求めた。シフトの測定精度は $\pm 1.2\text{Hz}$ (0.02ppm)である。

3. 不飽和ポリエステル樹脂の構成成分のNMR

図1に酸成分とグリコール成分のNMRスペクトルを示す。エステル中で、お互いに重ならないシグナルに着目すると、シグナルの面積より定量分析を行うことができる。

図1を利用して実際のスペクトルを解析し、解析の結果と合成仕込み量の比較を行った結果を表1に示す。分析結果と仕込み量は全般によい一致を示しているが、表中の3、4、5の例などではフマル酸のNMRスペクトルによる値は仕込み量より少ない。この原因は、マレイン酸を加えてからの反応中に異性化しフマル酸になる途中で副反応が起こるのか、あるいはマレイン酸のままでポリマー化しているかであろう。

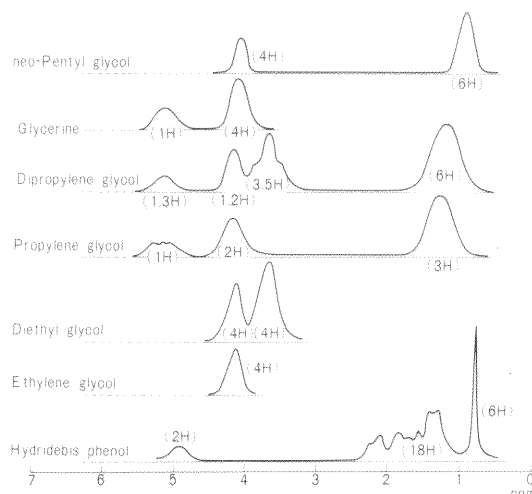
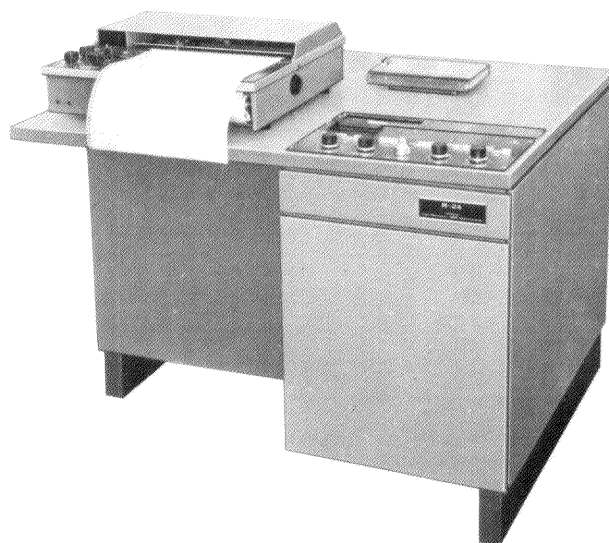


図1(1)ポリエステル樹脂のグリコール成分のNMRスペクトル

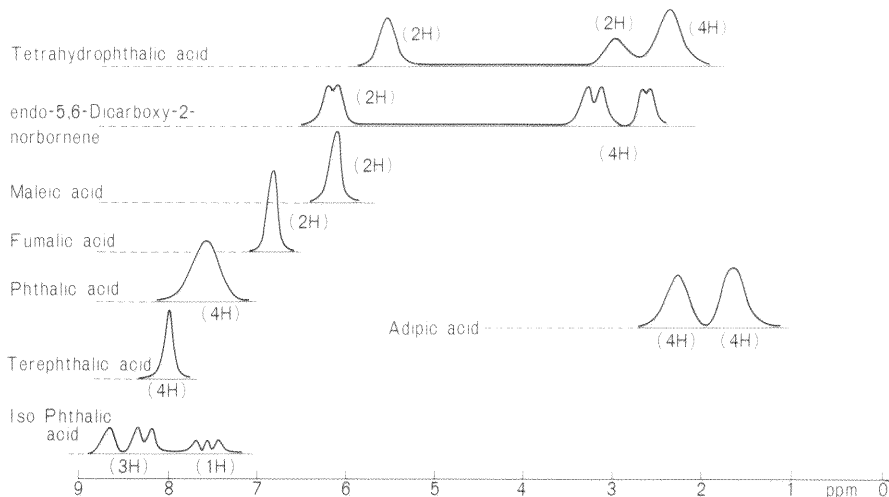


図1(2)ポリエステル樹脂の酸成分のNMRスペクトル

* 日立化成工業(株) 山崎工場

** (株)日立製作所 那珂工場

表1 ポリエステルモデル樹脂のNMRスペクトルの分析結果と仕込み量との比較

	組 成	仕込み量 (モル比)	分析値 (モル比)
1	PAC	1.0	1.0
	DPL	1.15	1.0
2	PAC	1.0	1.0
	DEL	1.15	1.2
3	IPAC	0.3	0.3
	MAC	0.7	—
	FAC	—	0.25
	PGL	1.05	1.04
4	PAC	0.50	0.50
	MAC	0.50	—
	FAC	—	0.35
	PGL	1.10	1.10
5	IPAC	0.40	0.40
	MAC	0.30	0.03
	FAC	—	0.25
	ADAC	0.30	0.30
	DEL	1.05	1.14

注 PAC : Phthalic acid,
DEL : Diethyl glycol,
MAC : Maleic acid,
PGL : Propylene glycol,

DPL : Dipropylene glycol,
IPAC : iso-Phthalic acid,
FAC : Fumalic acid,
ADAC : Adipic acid,

4. endo-5,6-Dicarboxy-2-norbornene/propylene glycol ポリエステル樹脂の組成分析

樹脂骨格中でendo-5,6-Dicarboxy-2-norbornene (以下EDNという) がどのような構造をとっているか、また平均樹脂構造がどのようなになっているかを調べた。
図2にこのポリエステル樹脂のNMRスペクトルを示す。

前掲の図1(2)より6.2ppmのEDNの二重結合水素に基づくシグナルと6.8ppm付近のフマル酸エステルの二重結合によるシグナルに着目して、平均構造の割合を求めることができる。

スペクトル中に結果を示す。2.7ppm～3.4ppmの共鳴線は1,4-,5,6-位の水素核によるもので、trans型結合であることを示している。

6.2ppmと6.8ppmのシグナル強度から、約20%程度のEDNがフマル酸に変わっていることが推察できる。また、マレイン酸成分も当然考えられるが、6.2ppm付近のシグナルが対象的なABパターンを示すことから、ほとんど含まれていないものと考えられる。

以上の検討結果から、endo-EDN/propylene glycol ポリエステル樹脂の平均的樹脂構造は次のような構造をとっていると推定できる。

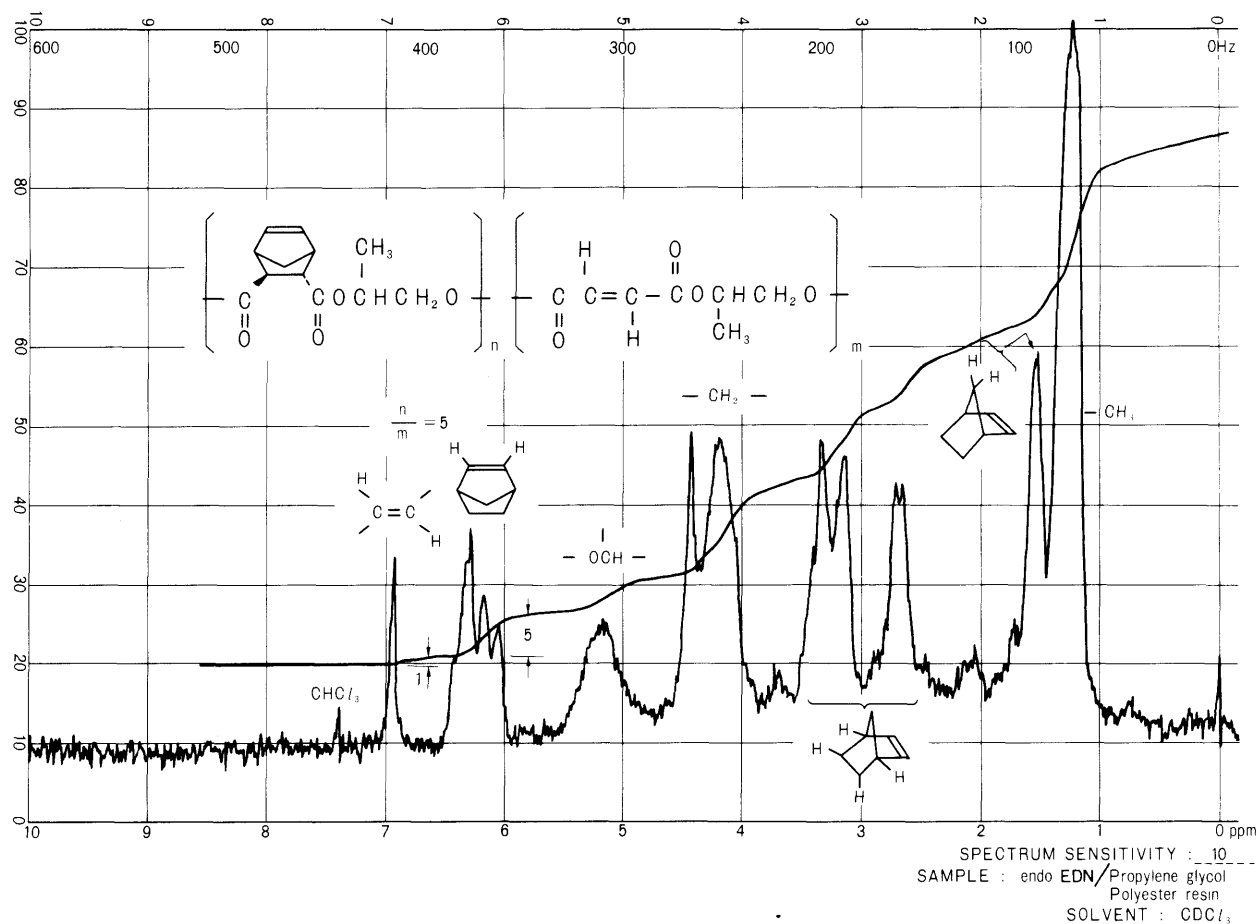
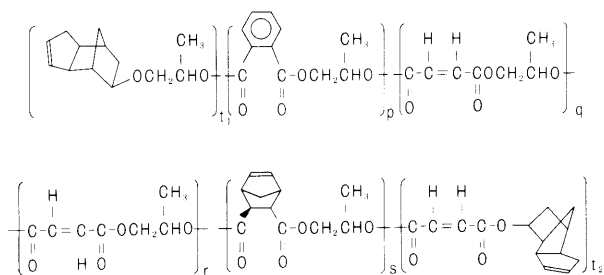


図2 endo-5,6-Dicarboxy-2-norbornene/propylene glycol
ポリエステル樹脂のNMRスペクトル

5. DCPD^{*}変性ポリエステル樹脂のNMRスペクトルと化学構造

PAC/MAC/FAC/PGL/DCPD^{**}で合成されたポリエステル樹脂は次のように考えられる。



普通PAC/MAC/FAC/PGLで合成されたポリエステル樹脂は p, q, r の組合せから成っており、NMRによる分析法の検討結果から各成分の組成および p, q, r の比を知ることができる。DCPD変性ポリエステル樹脂の場合には、 s, t という構造単位が入っているの、これを p, q, r といかに区別するかが問題となる。前述のようなSユニットを主としたモデル樹脂のNMRスペクトルや一般的なポリエステル樹脂のNMRスペクトルから、 $p, r, (q+s), (t_1+t_2)$ は識別可能であることがわかった。ただし、 q と s は、 s の量が少ないときは識別が不可能である。同様に、 t_1 と t_2 の区別もNMRスペクトルから行うことはできない。

これらの知見をもとに一段合成法、二段合成法^{***}とで各々合成した代表的なNMRスペクトルを調べ、平均樹脂構造を解析した。図3に代表的なスペクトルを示す。

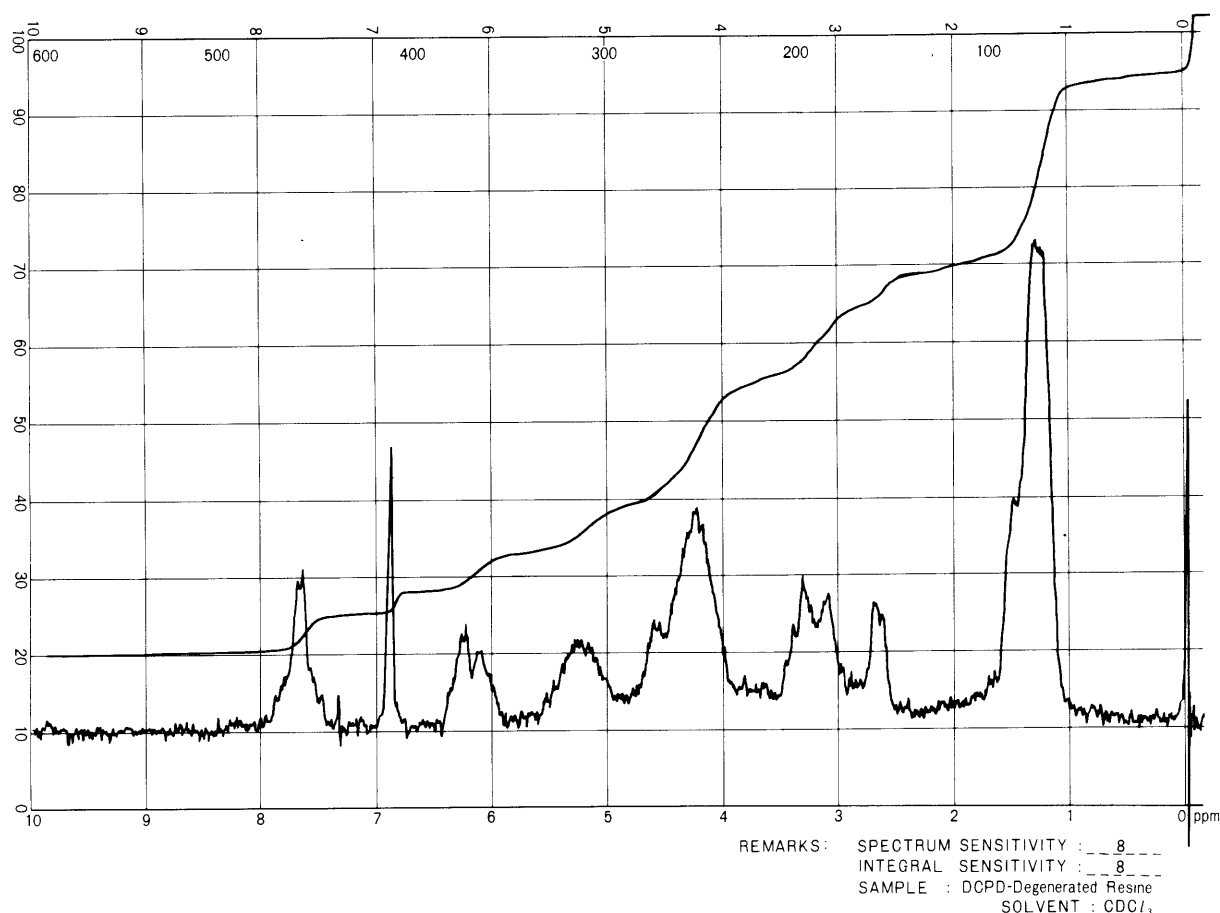


図3 DCPD 変性樹脂のNMRスペクトル

- * DCPD : Tricyclo[5, 2, 1, 0^{2,6}]deca-3-ene (endo-Dicyclopentadiene)
- ** PAC : phthalic acid, MAC : Maleic acid
FAC : Fumalic acid, PGL : Propylene glycol
- *** 一段合成法 : PAC/MAC/FAC/PGL/DCPD を同時に仕込んでエステル化を行って合成する方法
二段合成法 : PAC/MAC/FAC/PGL でエステル化反応をある程度まで行い、後からDCPDを加えて合成する方法。

また、5～6 ppmのシグナルおよび1.5～3.5 ppmのシグナルからDCPDは大部分付加体になっていることがわかる。分析値は次のようにして求めた。

$$\text{PAC} : \text{FAC} : \text{EDN} = \frac{\text{a}}{4} : \frac{\text{b}}{2} : \frac{\text{c}}{2} \quad (\text{モル比})$$

ただし、a：7.3～8.0 ppmのPACプロトンに基くシグナル強度

①：6.6～7.0 ppmのFACプロトンに基くシグナル強度

②：5.9～6.4 ppmのEDNの二重結合プロトンに基く強度

これらの分析の結果、DCPDと85～90%が付加体となり、残り10～15%程度がEDN構造になっているものと考えられる。

二段合成法では、6.2 ppmのシグナルがABパターンを示すことおよび2.5～3.5 ppmのシグナルがtrans-EDNの特長をもっていることから、容易にEDN構造であることがわかる。また、2 ppm付近に付加体シグナルがないことから、付加体はほとんどないものと考えてよいと考えられる。分析値は次のようにして求めた。

$$\text{PAC} : \text{FAC} : \text{EDN} : \text{PGL} = \frac{\text{a}}{4} : \frac{\text{b}}{2} : \frac{\text{c}}{2} : \frac{\text{d}+\text{e}}{3} \quad (\text{モル比})$$

ただし、a, b, c：同上

③：1.0～1.8 ppmのPGLのメチルプロトンとEDNの橋状メチレンプロトンのシグナル強度

これらの分析の結果、ほぼ100%DCPDはtrans EDN

構造になっていることがわかる。EDN/PGL樹脂の場合と比較すれば、おそらくポリエステル樹脂構造中のフマル酸二重結合へのDCPDのジールス・アルタ反応式がおこったものと考えられる。

上記の結果を表2にまとめた。原料配合と、それから考えられる構造ユニットと分析結果はよい一致を示している。

これらの結果は、R. Zimmerman らが薄層クロマトグラフで行った分析結果とよく一致する²⁾。

表2 DCPD変性ポリエステル樹脂の分析結果

成分	一段合成法			二段合成法		
	原料配合	理論値	分析値	原料配合	理論値	分析値
PAC(p)	0.20	0.20	0.20	0.20	0.2	0.20
FAC(r)	—	0.20	0.43	—	0.3	0.22
MAC(q)	0.80	—	—	0.80	—	—
EDN(s)	—	0.60	0.13	—	0.5	0.42
PGL	1.00	1.00	?	1.10	1.10	1.04
DCPD	0.30	—	—	0.25	—	—
DCPD付加体(t ₁ +t ₂)	—	—	0.47	—	—	—

- 注(1)数字はすべてPACを基準としたモル比を示す。
(2)理論値は添加されたDCPDが全部EDNに変わるものとして算出した。
(3)樹脂骨格中にMAC構造はなく、すべてフマル化しているものとして算出した。
(4)DCPD付加体の値は理論EDN量から実測EDNを差引いた値として求めた。

- 参考文献 1) Percival, D.F., *et al*: *Anal. Chem.*, **36**, 1574(1964)
2) Zimmerman, R. & Reiners, F.: *Farben chemiker.*, **66**(4), 16～29(1964)

SIニュース Vol.13 NO.2 (1970年4月号)の訂正

上記SIニュース768ページより772ページに掲載されたR-20A形 日立高分解能核磁気共鳴装置による¹³C測定—R-208PWDプロトンワイドバンドデカップラ応用による¹³CNMRのうち、表1、表2、表3が欠けておりました。

以下に表を記載いたしましたので、お手数でも原文にご添付ください。
ここに、お詫びしてお願い申し上げます。

表1 モノ置換チオフェンの¹³C化学シフト(化学シフトは二硫化炭素からppmで示した)

Substituent	C-13 position				Others
	2	3	4	5	
—	68.1	66.3	66.3	68.1	
2-Br	79.7	62.5	64.8	65.4	
2-I	117.7	54.8	62.8	60.2	
2-CHO	49.1	56.1	64.4	57.9	9.7(co)
2-COOCH ₃	59.3	59.7	65.4	60.6	30.7(co)
2-CH ₃	53.5	67.8	66.1	69.9	
2-OCH ₃	25.8	88.9	68.0	81.1	
3-Br	65.6	82.1	62.4	69.5	
3-I	64.4	113.8	57.3	63.3	
3-CHO	55.4	49.9	67.6	65.2	7.8(co)
3-COOCH ₃	60.6	59.6	65.4	67.1	30.6(co)
3-CH ₃	72.4	55.7	63.7	67.8	
3-OCH ₃	95.8	33.6	73.3	68.0	

1) Errors are estimated to be ±0.2ppm.

表2 モノ置換チオフェンの¹³CとHとのJ_{CH}スピン結合定数(単位はHzで示す)

Substituent	¹ J _{C₂H₂}	¹ J _{C₃H₃}	¹ J _{C₄H₄}	¹ J _{C₅H₅}
2-Br	—	171.0	169.6	189.7
2-I	—	171.5	170.0	186.9
2-CHO	—	167.5	172.9	187.3
2-COOCH ₃	—	171.6	170.8	186.9
2-CH ₃	—	161.7	164.6	184.8
2-OCH ₃	—	166.5	168.1	189.6
3-Br	188.0	—	175.8	187.5
3-I	183.0	—	171.0	190.0
3-CHO	190.0	—	175.0	190.0
3-COOCH ₃	188.4	—	172.4	186.9
3-CH ₃	182.8	—	166.8	185.9
3-OCH ₃	183.5	—	167.2	187.3

1) Errors are estimated to be ±1.5 Hz.

表3 モノ置換チオフェンの¹³CとHとの遠隔スピン結合定数(単位はHzで示す)

Substituent	² J _{C₂H₄}	³ J _{C₂H₃}	⁴ J _{C₄H₃}	⁵ J _{C₄H₅}	³ J _{C₃H₅}	² J _{C₃H₄}
2-Br	6.1	8.5	4.0	4.0	10.1	6.6
2-I	6.1	8.9	3.8	3.8	10.4	6.9
2-COOCH ₃	5.0	9.0	4.5	4.5	10.5	7.5
2-CHO	5.0	9.0	4.5	4.5	10.5	7.5
2-OCH ₃	5.9	7.5	3.1	3.1	10.7	5.6
2-CH ₃	5.8 ²	8.2 ²	5.55 ²	3.8 ²	6.8 ²	9.8 ²
Substituent	¹ J _{C₂H₄}	³ J _{C₂H₃}	⁴ J _{C₄H₃}	⁵ J _{C₄H₅}	³ J _{C₃H₅}	² J _{C₃H₄}
3-Br	7.3	4.7	7.0	5.7	5.8	5.8
3-I	7.3	5.1	9.0	5.0	6.6	6.6
3-COOCH ₃	8.3	5.3	8.4	4.7	6.7	6.7
3-CHO	8.2	5.1	8.9	4.5	6.3	6.3
3-OCH ₃	6.5	3.4	7.3	4.6	5.9	5.9
3-CH ₃	8.95 ²	4.3 ²	7.2 ²	5.5 ²	5.9	7.5

- 1) Errors are estimated to be within 0.3 Hz
2) The values are cited from Ref.10.

THE HITACHI Scientific Instrument News
Vol. 14 No. 3

昭和46年5月20日印刷
非売品
編集人 石川直成
発行所 株式会社日立製作所 印刷所 日立印刷株式会社

昭和46年6月1日発行
年6回毎偶数月発行
発行人 比良清一