

THE HITACHI SCIENTIFIC INSTRUMENT NEWS

FEBRUARY 1973
VOL. 16 NO. 1

目 次

巻 頭 言

ルーペから電子顕微鏡へ

.....細川修治... 1

展 望

光学装置における二、三の動向

.....保田和雄... 3

報 文

2 波長／自記分光光度計による食品添加物の分別定量〔食用色素製剤への応用I〕... 神蔵美枝子... 7

333形 日立デジタル自動分光光度計の使用経験〔主として検量線曲り補正器について〕... 大川義栄
大津みち子・吉川敏子・栗原
浩子・関根律子・野上有信... 13

高周波プラズマトーチ溶液分光分析法による鉄鋼中諸成分の分析法
.....渡辺俊雄・森田矩夫... 16

634形 日立液体クロマトグラフ
.....塚田勝男

鴈野重威・藤田一紀・武内静士... 19
フレームレスアトマイザ (Heated Graphite Atomizer) による原子
吸光分析... 坂上佳司・田淵博義... 22

550形 日立金属成分自動抽出装置
について.....青木 哲・高野
信義・橋本 汎・阿部寿美雄... 27

E-507形 日立光電子分析装置
柴田 淳・竹花洋一・松下 甫... 30

新製品紹介

HHS-2R形 日立走査電子顕微鏡... 34

RMU-Mシリーズ日立質量分析計... 35

MPF-4形 日立分光けい光光度計... 36

お知らせ

H.S.I.NEWS索引の発行について... 33

次号予告..... 6

巻 頭 言

ルーペから電子顕微鏡へ

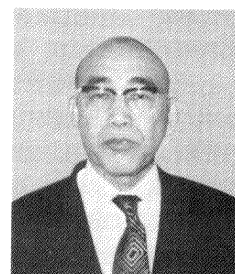
私の研究室の額内には、VIRCHOW (1821-1902) 先生がルーペでスライドを見つめている顎髯の写真と白衣のASCHOFF (1866-1942) 先生が光学顕微鏡のスライドを左眼を閉じて検鏡しながら討論しているように見える写真が向いあって納まっている。来訪者はげげんな顔で眺めている。というのは、VIRCHOW先生は、古くから唱えられた液体病理学や固体病理学の旧説に対して、細胞病理学を提唱した病理学者であり、片や、ASCHOFF先生はもち論細胞病理学を受け継いだ学者であるが、彼は細網内皮系の確立と清野-ASCHOFFのHistiocyteの命名者でもある先生が、こんな器械で討論されたかと想像されるからである。両学者が対面して細胞学の進歩と未来を論じ、さらに広く疾病論を語りあっているように構成した写真を通して、研究機械の改良あるいは新製品が医学特に細胞学の研究面にいかなる影響を及ぼしたかを若干考えてみたい。

1. 細胞説確立の歴史

細胞説 (The Cell Theory) が確立されるまでは長い年月がかかった。医学も初期は全く原始的で、液体病理学説の時代はレンズもなかった時代である。B.C 500年にはエジプト、ギリシャおよびローマにレンズがあったような記載もあるが詳ではない。その後、ポーランドのJanssens (1590) により顕微鏡が発明されたといわれ、microscopeやtelescopeの名称はGiovanni Faber (1625) によって使われるようになった。この頃には単純な器械での研究が行われたが、Stelluti, F. (1630) が顕微鏡で調べた蜜蜂の一部を記載し、PisaのBorellusは動物の構造の検索や若葉の細胞などを調べた。Malpighiが1661, 1665年に循環に注目し、また、肺、腎、肝、脾などの細かい構造を検査した成果を記述した。Leeuwenhoek (1687) は人ならびに下等動物の血球を正確に記載した。彼は毛細管や大部分の組織を証明し、また、鳥、蚊、魚類や昆虫の精子も証明した。このような雰囲気の中で、Cell TheoryがHooke, R., Malpighi, M., Grew, N.らの植物細胞の研究の中から芽生えた。また、Dutrochet (1824) が細胞が生物体の基本的構造単位をなすという説を述べ、Schleiden (1838) およびSchwann (1839, 1847) らの研究が細胞説の確固たる基礎を築いた。また、Müller (1837) は彼等の師として細胞学説の確立のための偉大な功績者であることはいふまでもない。

顕微鏡の研究には当然ミクロトームが発明されたはずであるが、Cummingsにより考案され、それをHill (1770) が使用した。Schleiden (1842) はこれを改良したのを使って研究した。このような時代にVIRCHOW先生の「細胞は細胞より生ずる」(omnis cellulae e cellulae) という有名な金言が生れて、細胞増殖の基本が確立した。

細川修治*



* 大阪医科大学 学長、(病理学) 医博



細胞学の研究では、Hertwig(1892)の原形質説、原形質微細構造については、Frommann, Klein, Flemming, Altmannらを思い起す。細胞小器官では、Benda(1898)のミトコンドリア、Golgi(1898)のゴルジ装置の発見など枚挙にいとまがない。

先に述べたASCHOFF先生は細胞の貪食機能の有無により、網内系を確立した。細胞の形態から細胞の機能までの進歩には裸眼観察からレンズの時代、さらに複合顕微鏡時代を経て完成した光学顕微鏡によりある程度の目的が達成されたのである。研究成果をあげる場合には、思考すなわち真理探求が優先し、それが実現のために種々の機械の発明が伴って学説が生れる場合、たまたま新しく製作された機器を使用して偉大な研究成果をあげる場合があるが、平素の努力と研究への情熱のないところには絶対に研究の成果はあがらない。また、常に先人の偉大な業績を十分咀嚼する必要があることも銘記しなければならない。VIRCHOW先生もASCHOFF先生も先人の研究の基盤の上に、不滅の業績を残されたのである。

2. 電子顕微鏡の発明と細胞の超微構造

Jannens(1590)の顕微鏡創製以来、細胞形態学研究を支えてきた優れた光学顕微鏡も、学問の進歩に伴い研究者の要望を満足させることができない限界に到達した。そこで、電子線を集束するレンズの製作と光学顕微鏡よりも遙かに分解能の小さい顕微鏡を作ることが試みられた。その結果、KnollとRuska(1932)が電子顕微鏡写真撮影に成功した。ここで極微の世界への光明がほのかに輝きかけた。また、KrauseとMüller(1937)は250Åの分解能を有する電子顕微鏡を試作した。シーメンス社では1939年に分解能30Åの磁界形電子顕微鏡を製作した。わが国では京大派が1941年に細菌の電子顕微鏡写真を発表して氣勢をあげた。その後、日本の電子顕微鏡は世界的水準を凌駕し、諸外国で好評を博している。我々は日立の大形電子顕微鏡のよい性能のおかげですぐれた研究ができた。ミクロトームは残念ながら日本製は伸び悩み、外国のPorterとBlum, Sjöstrand, LKBなどが用いられている。最近走査形電子顕微鏡も研究に使用されているが、これについては省略する。

電子顕微鏡による細胞の小器官の研究報告は年々増加の一途をたどっているが、私は電顕像の解析には細胞学の光学的知見を十分熟知したうえで取組べきであると信ずるが、これは先人が研究で得た成果が電顕的解明の基盤になるからである。ただし、本稿は光学機器の歴史を述べるのが目的ではないので、一応ここから本論に入りたい。

3. VIRCHOW先生の研究とわれわれの研究

偉大な学者とわれわれの研究を比較検討するのは分に過ぎたことだが、ここではあえてその関連について考えて

みたい。

VIRCHOW(1855)先生が蛋白代謝障害の中で述べたアミロイド(類澱粉)が、依然として不明のものとして残っていたが、電顕の導入にそってその構造や性格が幾分明かになってきた。この疾病は、舌、消化管の筋層、心筋、肝、脾、腎、副腎などにアミロイドが沈着し、肝、脾などが腫張する病気である。染色標本では細胞と細胞の間に淡紅色の物質としてみえる。電顕像でも、はじめは大部分が無構造であるが、一部が繊維状とされた。

外国の研究の報告では無構造か網の目状ということであったが、筆者が山口医科大学当時に、内野、宮里(1960)の肝のメタクリレート包埋無染色試料での検索所見では、アミロイドは微細粒子と無構造基質からできていると報告している。これより先、CohenとCalkin(1959)が燐タングステン酸染色試料で観察した結果は、80~300Åの繊維構造であると述べ、アミロイドフィブリルと呼んだ。

電顕試料もエポキシ包埋し、種々の金属塩による電子染色法が実施されるようになってからは繊維状構造を示し、周期性の明かでない直線状の繊維であるということになった。電顕の検査にあたって、包埋剤の種類や処理の仕方によってはVIRCHOW先生が光学顕微鏡で観察したのと類似の像を呈した。彼の観察、検討が微に入り細に入った卓越した慧眼であった点にはただただ敬意を表するのみである。“Omnis cellulae e cellulae”の金言が100年有余の現代も細胞学の中で脈打っていることを身をもって感じた。

さて、このアミロイドの成分だけを抽出してnegative staining法で検索すると、繊維状のものがビーズ状のように見える。その他に、P-componentが存在するといわれている。アミロイドは筆者らの検索では繊維性蛋白であるが、現在の電顕では、形態から構成要素の解明は無理である。繊維成分についてはアミノ酸分析で解析したが、将来、電顕像の形態から蛋白が読み取れるようになれば、形態学のみをやる者にとっては便利であり、研究も容易にできるようになる。形態学のみしか知らない者の夢物語である。

われわれの研究は、VIRCHOW先生がきわめて簡単な顕微鏡で行った研究の一端を近代の最良の機器を使用しながら、ごく一部の断面を解明した程度にとどまる。今さらながら、この偉大な病理学者の卓抜な頭脳には敬服せざるを得ない。

最後に、本アミロイドの研究には日立製作所那珂工場から受けたご援助に深謝の意を表する次第である。

展 望

U.D.C. 543.42

光学装置における二、三の動向

保田 和雄*



1. 原子吸光分析

原子吸光分析においてフレイム (Open flame) を用いる通常の原子吸光分析法は、空気—アセチレン、酸化二窒素—アセチレン、アルゴン/空気—水素であれ、いずれも機器分析の観点からはほとんど完成されたものである。確かに、温度の低い空気—アセチレンフレイムから温度の高い酸化二窒素—アセチレンまでの間の任意の温度を選び、分析の感度を高くし、また干渉を除去するなどの進歩や、測定信号を積分することによる S/N の向上などの小さい発展はある。しかしながら、これらは少なくとも革命的な発展とはいえない。

1961年に L'vov はフレイムを用いない方式の原子吸光分析法を開発したが、その当時は、フレイムを用いて全金属元素をどのようにして分析するかに重点が置かれていたため、この Flameless の方法は多くの人々の注目を集めることはなかった。その後、Massmann によってこの方法がより使用し易い形に改良されるとともに一般的な方法として用いられるようになった。その結果、今まで不可能に近かった低濃度で、かつ少量の試料の分析、例えば、血清中の銅、亜鉛などの分析ができるようになった。さらに、この方法はアルゴン雰囲気でも測定が可能なので、非金属であるヨウ素やリンなどの測定もできるようになった¹⁾。

原子吸光度計の感度が向上するにつれて、今まで問題にならなかった分子吸光や光散乱が測定精度に大きく関係するようになった。このため、分析法もまた変らざるを得なくなった。特に、高温炉を用いる場合には、バックグラウンドになる分子吸光などによって目的の元素が測定できるか否かが決まるので、測定にかけられるまでの化学処理に十分注意しなければならないようになった。

原子吸光分析の初期においては、この分析法は測定にかけられるまでの化学処理が簡単で、ただ酸に溶解すればよいといわれていた。これは、一つには、装置の分析感度が低かったため測定に供する試料濃度が高く、その信号がバックグラウンドの吸光の信号に比べて高かったため、バックグラウンドの吸光がほとんど問題にならなかったからである。確かに現在でも多くの試料はこの範疇に入るが、分析感度の向上によってどの試料でも分析ができるようになって来ると、今までのような簡便な方法ではかえって問題を残すようになった。この結果、分析化学者は抽出、分離などの化学処理を考える方向をとり、機器分析からはこのような問題を装置のうえで解決しようとする方法がとられた。この方法には大別して2つある。1つは分析線とその付近の波長の光を検知して両者の吸光度信号の差をとってバックグラウンドを補正する方法であり、他の1つは光源の共鳴発光

線—分析線—のウイングの光を用いて補正する方法である。前者は1つのランプで共鳴発光線に近い適当な輝線を選ぶ場合は問題が少ないが、2種類のランプ、例えば中空陰極ランプと重水素ランプを用いる場合には両光源の安定度、光束の形などを一致させなければならない。第2のウイングの光による補正では、共鳴発光線の重心の光強度とウイングのそれとは光量差が大きいけれども、これを正確に検出しなければならないと云う問題がある。上記の2方法の他にも別の方法もあるが、いずれにせよ現状ではすべての元素に適応できるとはいえない。しかし、端的にいえることは、分子吸光、光散乱の補正を行うことによって Open flame を用いた場合も、高温炉を用いた場合も、水銀の測定で吸収セルを用いた場合でさえも必要とされる前処理といわれる化学処理が容易になることは間違いない。

このほかに、原子吸光分析法の問題として、ダイナミックレンジが狭いこと、固体試料を直接測定できないことがある。固体試料の測定についてはこれまでにいろいろな方法が提案されたが、目的成分の濃度が高いときまたは低いときに液体のように自由に濃縮、希釈ができないので実用化にはいたらなかった。また、ダイナミックレンジについては、吸光法は本質的に広い範囲がとれないが、発光の方法ではこの欠点がないので、もし、原子吸光の特長である原子の基底状態に関係する測定をとり、一方、検知はダイナミックレンジの広い発光—けい光で測定することができれば、新しい機器分析法になることが考えられる。

Walsh²⁾ はこの点に注目し図1に示す方法を開発した。

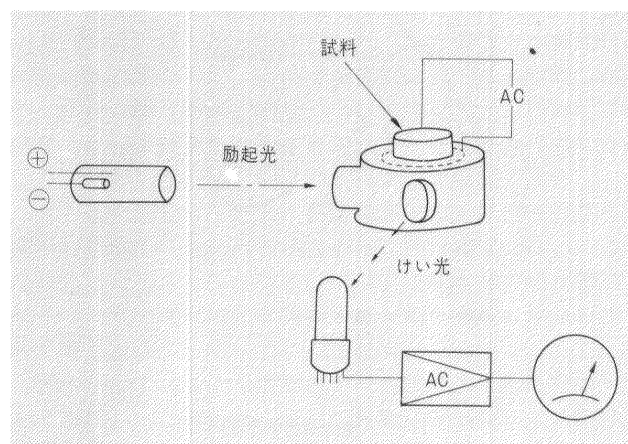


図1 Walshの提案した原子けい光分析装置

*日立製作所 那珂工場 光装部 主任技師 理博

これは試料をスパッタリングによって蒸気にし、これに光源の光を照射して原子けい光を測定する方法である。この場合、都合のよいことに、原子けい光である共鳴発光は主として共鳴線についてだけ行われ、他の輝線についてはこの現象がない。このため共鳴線だけを取出すモノクロメータはその必要がなくなり、直接検知器を試料の前に置くことができるので、装置が非常に単純な形になる。この方法は基底状態の原子に関する測定であり、試料も数 mm Torr のアルゴンガスに囲まれているだけなので消光現象も少ない。しかも発光としての測定であるから検知器の増幅度を換えることによって低濃度から高濃度まで測定が容易にできる。

今後の原子吸光光度計は、1つは装置自身に共存物質の影響を除去できる機能を持ち、前処理の少なくなる方向に進み、他の1つは吸光と発光の現象を組合せて、ユーザーにとってみればけい光X線装置と同じような分析分野に指向するものと考えられる。

2. 発光分析

アーク・スパークを光源とする発光分析は、図2に示すように感度および精度ともに原子吸光分析に劣り、けい光X線に比べても精度が悪い。このため、両分析法に両方からはさまれた形で、本来の特長である定性分析の機能までも見失われそうになってきた。しかし、原子吸光分析法は定性分析ができないこと（これが最大の欠点である）、および同時に多数の元素の分析はできないという弱点があり、また、けい光X線では原子番号の低い元素の測定ができないという欠点がある。従って、もし発光分析において感度や精度を向上させることができるならば、これは上記二者の欠点を補う新しい機器分析法になることが考えられる。このため、1つは、Fassel ーを中心として新しい光源の探求が始まり、プラズマトーチやプラズマジェットがこの目的にかなうものであることが見出された。他の1つは、Grimm, Massmannらによって開発されたスパッター法による発光である。これらの方法は、いずれも特長と欠点を兼ね備えているが、今までの発光分析とは異なり、分析感度も原子吸光分析法とほとんど同じであり、かつ精度も変

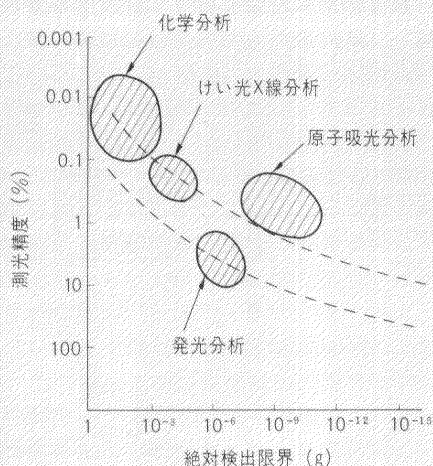


図2 分析法と精度検出限界の関係

動係数1%以内である良好な結果が得られている。

また、プラズマフレームとリボンフィラメントを組合すことによって、極微量の試料の測定も可能になり始めた。この方法は、試料をリボンフィラメントの上に置いて加熱して原子蒸気にする。これをアルゴンガスでフレームに導入して分析するもので、高温炉を用いた原子吸光と同じ測定結果が得られるようになった。

3. 2波長、微分、相関分光

2波長測光法は、Chance がミトコンドリアなどの生化学試料を直接測定するために生み出されたもので、これをButler がりんごなどの熟度を直接測定するために農芸化学の分野に応用した。これらの仕事を通して、2波長測光は固体や濁った試料の測定に有用なものであるとの印象が強くもたれるようになった。しかし、この方法は生化学の領域だけではなく、一般の分析化学の分野にも広く用いられるものである。2波長、微分、相関分光法の指向するところは、種々なものが混合している中から目的とするものに関する情報だけをいかにして取出すかということにある。その一番簡便な方法が2波長測光であり、一次微分の方法である。この方法では、目的物質に関する情報を1つしか取出せないが、もし何らかの方法で多数の情報を取出すことができるならば、より信頼度の高いものになる。分析上の言葉で表現するならば干渉の少ない分析ができることになる。

この目的で開発されたものが相関分光と呼ばれる方法³⁾で、大気中のNO₂、SO₂の測定に用いられた。大気の中には種々なごみや分子が存在し、これによって光散乱や光吸収が生ずる。この中からNO₂、SO₂に関する情報だけを他のものに影響なく取出すために次の方法がとられた。連続光を放射する光源の光をこれらのガスに透過させ、これを分光器で分光する。NO₂、SO₂の数多くの吸収バンドに対応する位置にスリットを置いて信号を取出す。しかし、これでは共存物質までも同時に吸収して測定してしまうので、スリットを振動させるなどして検知する波長を周期的に動かし、共存物質による信号および共存物質と目的物質との合成された信号を取出し、両者の引算をして目的物質の信号だけを取出すものである。たしかにこの方法は情報量が多いという利点はあるが、一方、測定物質が制限されるという欠点もある。逆に情報量を少なくすると、いいかえれば2波長測光の場合には、情報量に制限があるが、測定物質に対する制限が少ない。

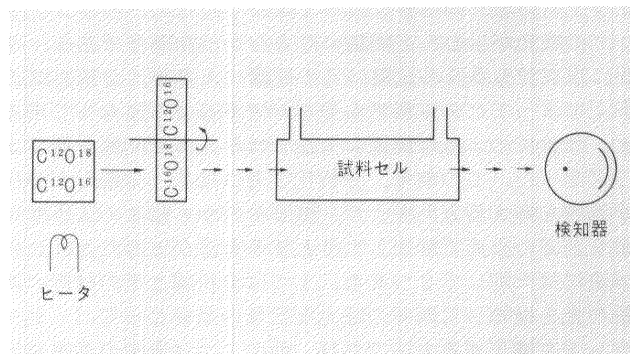


図3 相関分光形CO分析計

相関分光の他の方法として図3に示す方法がある⁴⁾。これはCOの測定に用いられたものである。光源に $C^{12}O^{18}$ と $C^{12}O^{16}$ の混合ガスを置き、これを加熱して赤外線を放射す。次に $C^{12}O^{18}$ と $C^{12}O^{16}$ とのガスセルを置きこれを回転させる。このようにすると、ある時刻には光源から放射された赤外光のうち $C^{12}O^{18}$ に関係する波長の光だけが試料セルを透過する。また次の時刻には $C^{12}O^{16}$ に関係する波長の光だけがセルを透過する。天然に存在する一酸化炭素は $C^{12}O^{16}$ がほとんどであるので、 $C^{12}O^{18}$ に関係する光の信号は対称信号になりバックグラウンドの吸光を測定し、 $C^{12}O^{16}$ の信号で一酸化炭素とバックグラウンドの測定を行う。そして、この両者の信号を引算して、一酸化炭素に関係する信号だけを取り出すことができる。

共存物質に重なった目的物質の情報を得るのには、前述した方法の他に高次微分をとる方法がある。例えば、図4⁵⁾に見られるような吸収スペクトルがあったとすると、これの二次微分では6個の成分しか認められないが、四次微分になると明らかに6個の成分が認められる。このように高次微分になるほどわずかの成分でも検知できるが、反面、高次になるにしたがってS/Nが悪くなる欠点がある。このため通常は4～6次微分までが限界である。

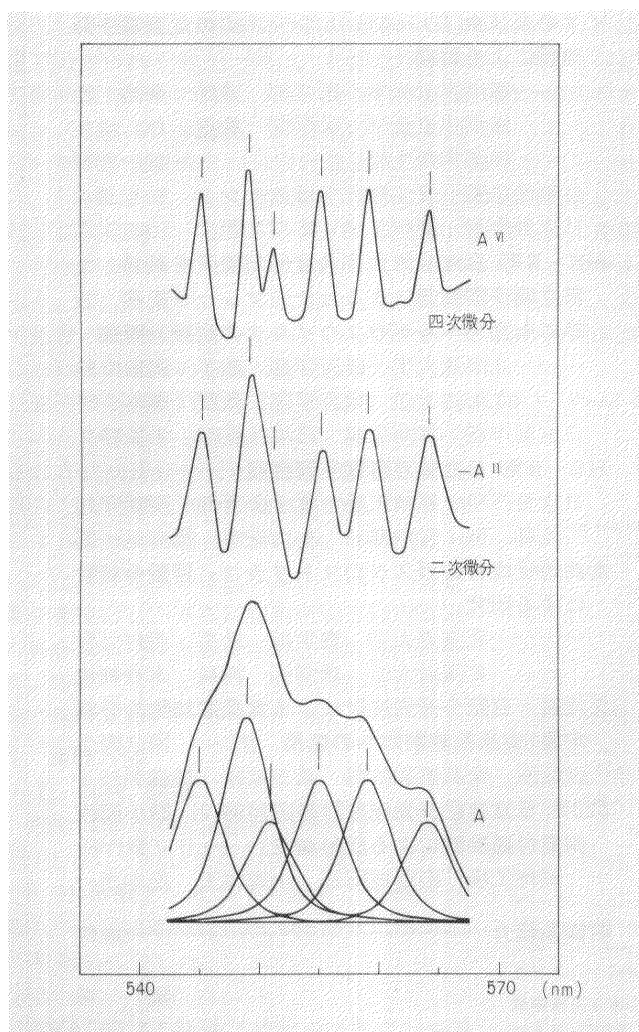


図4 高次微分スペクトル

4. 分光光度計

分光光度計の歴史を見ると、クレットの光度計、ベックマンの分光光度計という段階を経て、自記分光光度計ができあがった。一方、分光光度計をブラックボックスとして、日常分析のユーザ側から見ると、試料を10mmの角セルに移して測定することが基本になっており、この方法が少なくとも20年以上も続いた。これを打破した技術がSample Sipperで、これによって始めて試料をセルへ移しかえる必要がなくなり、迅速な測定ができるようになった。ここに日常分析にとって大きな発展があった。しかし、よく考えてみると、これらの測定はいずれも分子吸光係数を測定することが暗目の前提になっており、日常分析においてはこのような測定は、あまり意味があるとはいえない。望ましい方法は、試料を反応容器のまま直接測定できることで、この方法だと測定セルに移しかえる必要もないし、まして分子吸光係数を求める必要もない。いいかえれば、今までに完成された光度計は物理に指向したもので、化学者に指向したものとはいえない。光度計ではこれまでも試験管を用いて測定が行われてはいたが、この方法は試験管の大きさ、よごれ、くもりなどのために精度の高い測定ができないという欠点があった。これを解決する方法が2波長測光であり、また微分測光でもある。これは1つの波長で容器のよごれやくもりを検知し、他の波長で目的とするものの信号を取り出すので、測定容器に対する制限が少なくなる。将来はさらに化学者の望むような各種の機能が加わり、一つの新しい光度計が生まれる可能性がある。

臨床化学の分野において、酵素反応を用いて反応速度を測定してGOT、GPTなどの分析を行う方法が一般化し始めている。この分析で要求される測光精度は、通常の分光光度計より5～10倍高いことが要求されている。このため新しい分光光度計のノイズレベルは吸光度スケールで $4 \sim 1 \times 10^{-4}$ になり始めている。このことは吸光度の拡大を意味しているので、これまでの分析法で行われている濃度の約1/10で十分測定ができることを約束している。

5. けい光分析

けい光分析の発展は吸光分析とは異なり、分析のほうが先行し、分析機器のほうがむしろ遅れていた。けい光、励起スペクトルのような物理的な意味をもつ分析は、Bowmanが分光けい光光度計を開発するまでは研究分野における大きな発展はなかった。しかし、この装置も本質的には相対値の測定なので、使用する装置によって測定値が相違していた。このため、励起、けい光スペクトルの測定においては、装置関数を除去する方法がとられるようになった。このようにして始めて相互のデータの比較ができる。

けい光の測定は、たとえ装置関数を補正したとしても、得られる結果は常に相対値であり、絶対値ではない。この絶対値として考えられるものには量子収率や寿命がある。現在けい光光度計は装置関数の補正からさらに寿命の測定ができるように指向している。

Photon countingの技術の進展に伴い、これまでは不可能とされていた微弱光の測定が可能になった。この結果、大気中の SO_2 の測定や生化学的な発光の測定が容易になり、新しい分析分野が開け始めた。

けい光の寿命の測定は、ある時間をおいた後の残光の強度を測定することにより可能である。これを時間分割測光と呼んでいるが、この方法を応用することによって希土類の混合体をそれぞれの成分に分離しなくても分析ができるようになった。さらに図5に示すように分子が励起状態でのような挙動をしているかもわかるようになった⁶⁾。例えばピレンの励起状態にある分子についてみると、図5に示すように、寿命の短いものは単分子のけい光であり、長いのがエキサイマの寿命であるので、この分子は単分子で存在するだけではなく、ダイマのような形も共存していることがわかる。

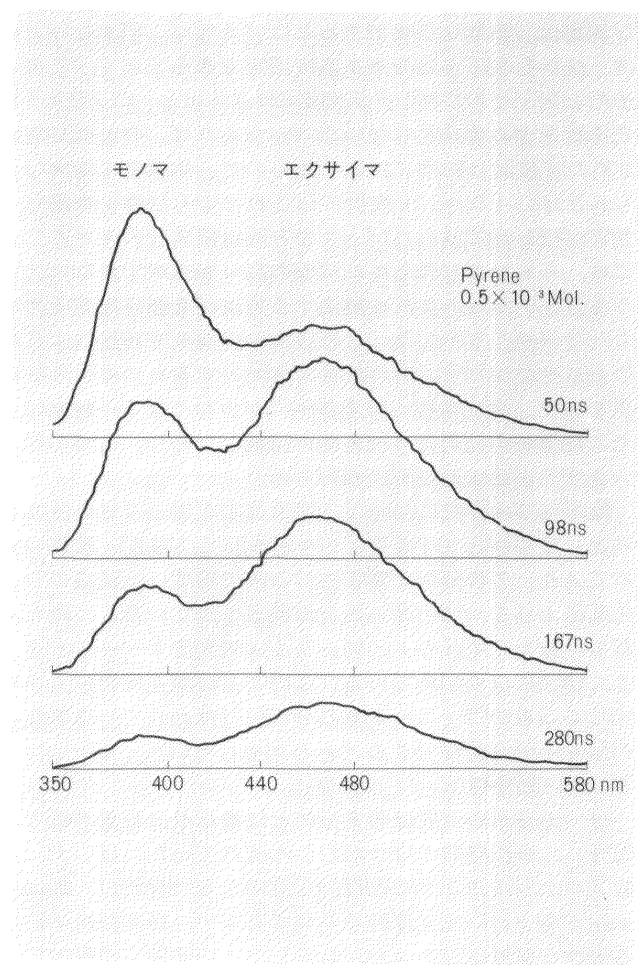


図5 ピレンの時間分割スペクトル

- 1) L'vov, B.V.: Abstr. of paper, Intern. Atomic Absorption Spectry. Cont. Sheffield, July 1969
- 2) Walsh, A.: IUPAC Intern. Cong. on Anal. Chem., Kyoto, April 1972
- 3) Davies, J.H.: Anal. chem., **42**, No. 6, 101A 1970
- 4) McClatchie, E.A., A. B. Compher, K. G. Williams: Anal. Instrumentation **10**, 67 1972
- 5) Butler, W.L., Hopkins D. W.: Photochemistry and Photobiol., **12**, 439 1970
- 6) 野上太郎, 大西靖, 福田健二, 岡垣博: 第8回応用スペクトロメトリ 東京 10月 1972

次 号 予 告

APRIL 1973 Vol.16 No.2

巻 頭 言

分析機器と分析試薬の接点……………九州大学 工学部 教授 上野景平

展 望

高速液体クロマトグラフィの現状と将来……………日立製作所 日立研究所 有川喜次郎

報 文

異臭魚に含まれる芳香族化合物について……………岡山大学 医学部 教授 緒方正名
岡山県水産試験場 三宅与志雄

アミノ酸の蛍光分析〔液体クロマトグラフへの応用〕……………昭和大学 薬学部 教授 辻 章夫
昭和大学 薬学部 前田昌子

034形 日立液体クロマトグラフの自動化……………日立製作所

那珂工場 光装部 渡部伸一 鷹野重威
イヌの糸状虫 (*Dirofilaria immitis*) の走査電子顕微鏡による観察……………

……………横浜市立大学 医学部 講師 菊池 滋
横浜市立大学 医学部 教授 林 滋生
横浜市衛生局 奥山義輝

日製産業(株) 日立理化学機器センタ 松本健次
日立製作所 那珂工場 応用技術部 山田満彦

HK-6形 日立全方位高角度傾斜装置を装着した日立電子顕微鏡によるヒナのマレック氏病、並びに七面鳥ヘルペスウイルスの電顕的観察……………

……………北海道大学 獣医学部 助手 岡田幸助
北海道大学 獣医学部 教授 藤本 畔

日立製作所 那珂工場 応用技術部 米原勝久
HS-9形 日立普及形電子顕微鏡……………

日立製作所 那珂工場 電子装置部 窪添守起
佐藤 恒 宮内恭一 小内俊男 福島竜一郎

食品香味成分のガスクロマトグラフ/質量分析計による研究……………

……………北海道大学 農学部 助手 西村弘行
北海道大学 農学部 教授 水谷純也

2波長/自記分光光度計による食品添加物の分別定量〔食品色素製剤への応用. II〕……………国立衛生試験所 食品添加物部 第3室長 神蔵美枝子

323形 日立自記分光光度計の応用例(2)〔微小面積測定付属装置による反射測定〕……………日立製作所
那珂工場 応用技術部 小森律夫 松本孝一

新製品紹介……………数件



報 文

U.D.C. 543.422.5.062: [667.28:664.022.33]

2波長／自記分光光度計による食品添加物の分別定量

〔食用色素製剤への応用Ⅰ〕

まえがき

合成着色料として、現在12種の色素が食品衛生法によって許可されている。これらの色素は単一色素として使用される場合もあるが、多くは2種あるいは数種の組合せによる配合色として食品に添加される場合が多い。食品添加物公定書¹⁾に記載されている単一色素については、三塩化チタン滴定法あるいは分光測光法によって定量することが容易である。しかし、2種以上配合された混合系にあっては個々の色素の分別定量は容易でない。すなわち、従来から行われているカラムクロマトグラフィ、ペーパークロマトグラフィ、薄層クロマトグラフィなどの方法を用いて単一色素に分離したのち、光電濃度法あるいは分光測光法を応用して定量が行われている。

食用色素の製剤²⁾は、都道府県知事もしくは厚生大臣の指定した者の検査を受け、これに合格したものでなければ販売し、陳列し、または営業上使用してはならない旨、法律で定められており、現在、各都道府県の衛生研究所などで製品検査が行われている。検査の内容は、配合組成のチェック、ヒ素、重金属、クロムの試験を行うよう規定されているが、色素成分の分別定量法については示されていない。しかし、タール色素製剤の場合にはその成分およびそれぞれの重量パーセントを表示する必要があるため、簡便な方法が見出されれば、試験法として完備させる必要があろう。また、近年タール色素の毒性問題とも関連して、食用色素の最高使用量を定めている国もあり、混合色素溶液における各成分の定量が必要となり、その試験法が要求されている。そこで、この目的のために近年 B. Chance³⁾によって開発された二波長分光測光法を応用することを試みた。食用色素の製剤は目的とする色調によって種々の組合せがある。本研究においては、まず、2種混合系についての定量条件を検討し、さらに食用色素2種混合系の場合ならびに市販食用混合色素製剤の分析に応用⁴⁾したところ、良好な結果を得たので報告する。

1. 実験方法

1.1 試料、試薬

色素は国立衛生試験所標準品ならびに米国 FD&C Color を用いた。(表1)

0.2N 酢酸アンモニウム溶液：酢酸アンモニウム(試薬特級) 15.46g を水に溶かして 1,000ml とした。

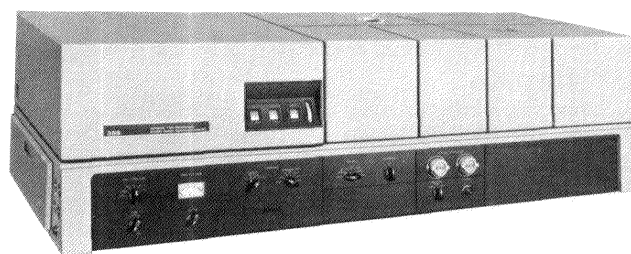
1.2 装置

356形 日立2波長／自記分光光度計を用いた。

1.3 試料溶液の調製

それぞれの食用色素について 5 ppm, 10ppm, 20ppm および 500ppm 濃度の 0.02N 酢酸アンモニウム溶液を調製した。なお、500ppm 溶液は原液とし、かつ色共センビンに入れ保存した。低濃度溶液ならびに食用青色2号(Indigo Carmine)の溶液は用時調製した。

神 蔵 美 枝 子*



356形 日立2波長／自記分光光度計

1.4 操作法

すべての色素について波長 320~750nm の吸収スペクトルを各色素2種組合せ系として同一チャート上に作成した。得られたスペクトルから紙上で2成分混合物中の各成分の測定に適する対照波長(λ_1)ならびに測定波長(λ_2)を選定した。これに基づいて各色素の 5, 10, 20ppm 溶液を用い、

表1 Food Colors

No.	Official name ^{*(3)}	Name	Abbreviation	C.I. ^{*(4)} (1971)	Purity (%)	Absorption maximum (0.02N ammonium acetate)
1	Food Red No.2 (食用赤色2号)	Amaranth ^{*(1)}	R 2	16185	99	520±2 10
2	" No.3 (" 3号)	Erythrosine ^{*(1)}	R 3	45430	95	526±2 3
3	" No.102 (" 102号)	New Coccine ^{*(1)}	R 102	16255	94.5	508±2 10
4	" No.104 (" 104号)	Phloxine ^{*(1)}	R 104	45410	95.5	538±2 5
5	" No.105 (" 105号)	Rose Bengale ^{*(1)}	R 105	45440	95	548±2 5
6	" No.106 (" 106号)	Acid Red ^{*(1)}	R 106	45100	97.5	566±2 3
7	Food Yellow No.4 (食用黄色4号)	Tartrazine ^{*(1)}	Y 4	19140	99.5	428±2 10
8	" No.5 (" 5号)	Sunset Yellow FCF ^{*(1)}	Y 5	15985	99.9	482±2 10
9	Food Green No.3 (食用緑色3号)	Fast Green FCF ^{*(2)}	G 3	42053	90	628±2 5
10	Food Blue No.1 (食用青色1号)	Brilliant Blue FCF ^{*(1)}	B 1	42090	96.5	630±2 5
11	" No.2 (" 2号)	Indigo Carmine ^{*(1)}	B 2	73015	99.9	612±2 10
12	Food Violet No.1 (食用紫色1号)	Acid Violet 6B ^{*(1)}	V 1	42640	91	548±2 5

⁽¹⁾ Dye standards of National Institute of Hygienic Sciences⁽²⁾ Allied Chemical Co.*⁽³⁾ The names were depended on the Food Sanitation Law in Japan*⁽⁴⁾ Colour Index Number

食用紫色1号については昭和47年12月13日食品添加物としての指定が削除された(厚生省令第54号, 官報第13792号)。

λ_1 あるいは λ_2 を固定して λ_2 または λ_1 を走査させ、各濃度のスペクトル群上の交点を仮りに λ_1 または λ_2 とした。次いで、これらの波長を固定させ、フルスケールA1.0、0.3および0.1のそれぞれにおける差吸光度 ΔA を記録し、さらに各濃度における ΔA をできるだけゼロに近づけるために、 λ_1 あるいは λ_2 の波長を1nm程度前後に移動させて ΔA の変化および量を記録し、 $A(\lambda_2 - \lambda_1) = 0$ になるような波長を求めた。得られた λ_1 ならびに λ_2 を用いて各色素の5ppm溶液をベースとした分析成分の一定量を含む溶液を調製し、検量線を作成した。

2. 実験結果および考察

2.1 λ_1 および λ_2 の決定ならびに検量線の作成

2.1.1 食用赤色2号 (Amaranth) と食用赤色102号 (New Coccine) の混合系

食用赤色2号は図1に示すスペクトルを与え、吸収極大波長は $520 \pm 2\text{nm}$ に、また、食用赤色102号は波長 $508 \pm 2\text{nm}$ にある。両色素の1:1混合溶液は図に示すようなスペクトルを与え、吸光度から直接各成分の量を求めることは不可能である。

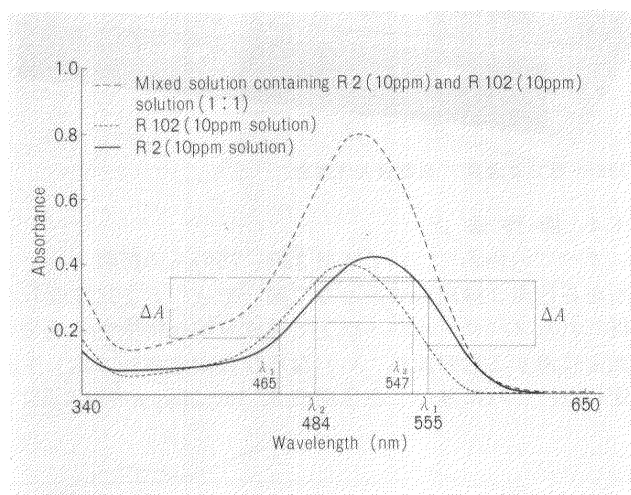


図1 Absorption spectra and selection of λ_1 and λ_2 for Amaranth(R 2) - New Coccine (R 102) system
Solvent: 0.02N Ammonium acetate solution

(1) 食用赤色102号中の食用赤色2号の定量

食用赤色102号中に含まれる食用赤色2号を定量する場合、食用赤色2号は分析成分であるのに対し、食用赤色102号は妨害成分となるため、これを装置的にマスクする必要がある。まず、図1に示すスペクトルから2波長分光測光法の原理により、同一吸光度を示す2つの波長の選定を行った。すなわち、波長465nmと547nmが吸光度の等しい波長と考えられた。

次に、これらの2つの波長が正確に等しい吸光度を示す波長であることをさらに検討した。食用赤色102号の5ppm、10ppmおよび20ppm溶液を用い、1波長固定、1波長走査スペクトル法によって λ_1 465nmを固定し、 λ_2 を560nmから短波長方向へ走査させ、同一チャート上に得られた吸収スペクトル群上の等吸収点(交点)を求めた。その結果、それぞれの濃度における交点は547nmにあることがわかつ

た[図2(A)]。さらに、 λ_1 465nmと λ_2 547nmが吸光度の全く等しい波長であることを確かめるために、それぞれの波長を固定して、フルスケールA1.0、0.3および0.1のそれぞれにおける ΔA を記録した。その結果、いずれのスケールにおいても各濃度の吸光度は一致した[図2(B)]。このことは、食用赤色102号の5~20ppm溶液は波長465nmと547nmの吸光度が全く等しいことを示している。したがって、食用赤色102号中に含まれる食用赤色2号を定量する場合にこれらの波長を使用することができるものとする。

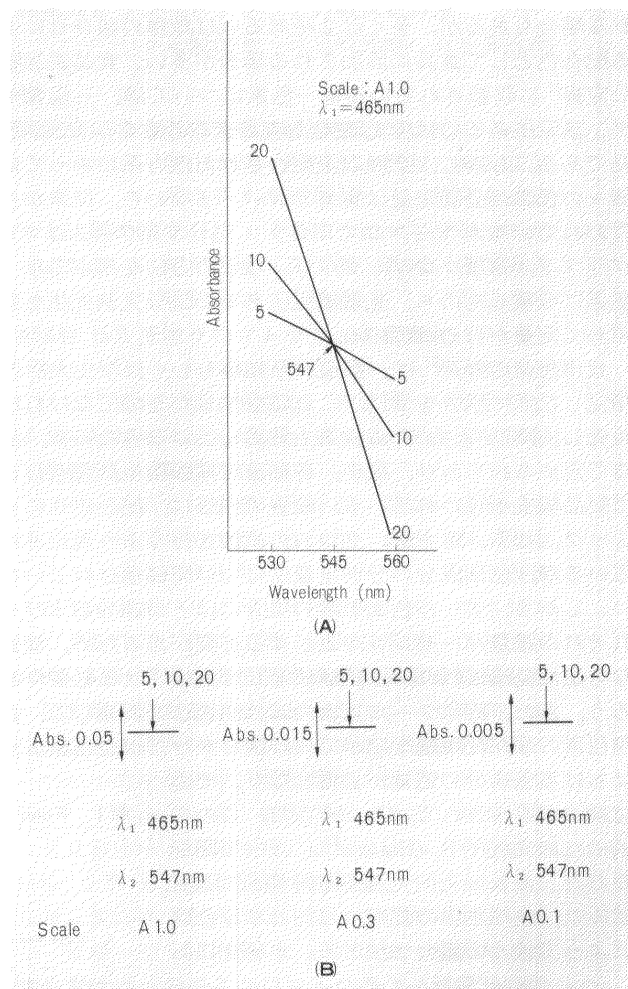


図2 Determination of λ_1 and λ_2 for Amaranth-New Coccine system

Concentration of New Coccine: 5:5mg/l, 10:10mg/l, 20:20mg/l

Solvent: 0.02N Ammonium acetate solution

Band pass: 1.0nm

上記の操作法によって決定された λ_1 465nm、 λ_2 547nmを用い、食用赤色102号の5ppm溶液中に食用赤色2号の一定量ずつを添加した溶液を調製し、食用赤色2号に起因する差吸光度 ΔA がBeerの法則に従うか否かの検討を行った。その結果、食用赤色102号の5ppm溶液中に食用赤色2号が0~11 $\mu\text{g/ml}$ 添加された条件で直線性を示した[図3]。

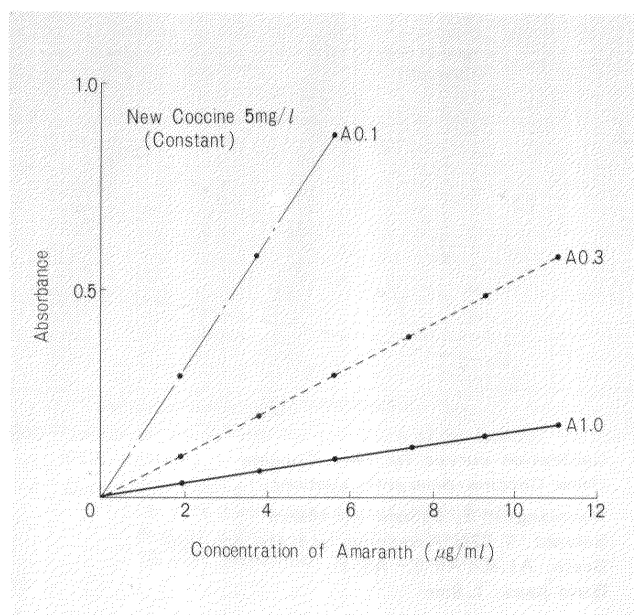


図3 Calibration curves for Amaranth (Amaranth-New Coccine system)

 Wavelength: λ_1 465nm

 λ_2 547nm

Solvent: 0.02N Ammonium acetate solution

Scale: A1.0, A0.3, A0.1

Band pass: 1.0nm

すなわち、食用赤色102号中に含まれる食用赤色2号は、上記の条件において、分析成分と妨害成分（食用赤色2号と食用赤色102号）の比が0～2：1まで定量することができる。上記の λ_1 および λ_2 の決定の結果でもわかるように、食用赤色102号は2～20ppmまでスペクトルの形状が変わらない（図4）。さらに、食用赤色2号を0.1 μ g/ml、0.5 μ g/ml、1 μ g/ml、5 μ g/ml、10 μ g/mlとそれぞれ一定濃度に保ち、食用赤色102号を0～20 μ g/ml含有する5種類の溶液をそれぞれの濃度について調製し、 ΔA を測定した。その結果は、図5に示すように、食用赤色102号の濃度変化によって食用赤色2号の ΔA は変化しないことがわかった。

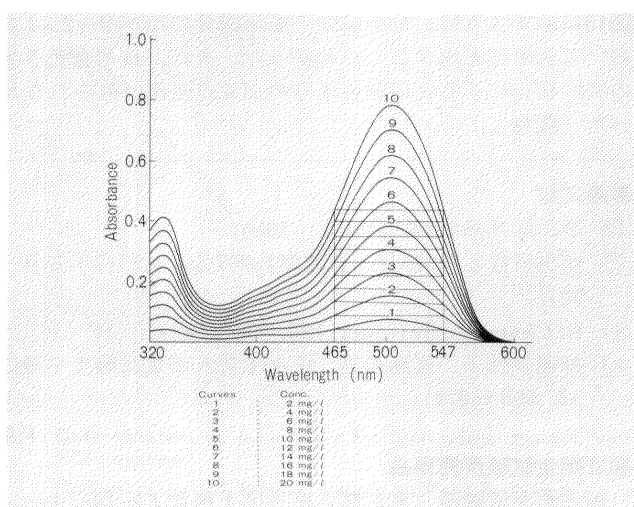


図4 Absorption spectra of New Coccine

Solvent: 0.02N Ammonium acetate solution

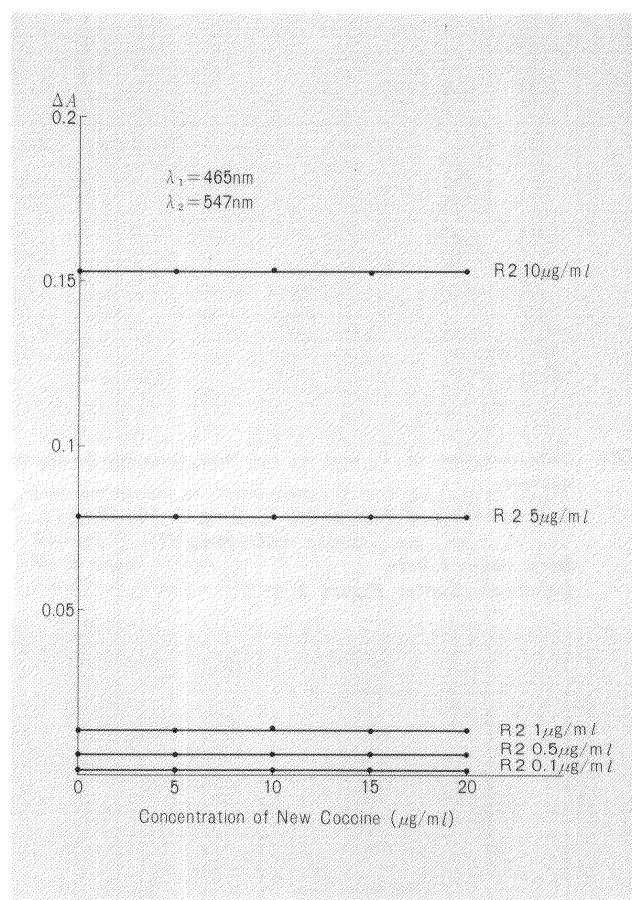


図5 Difference absorbance of Amaranth in various concentrations of New Coccine

Solvent: 0.02N Ammonium acetate solution

(2) 食用赤色2号中の食用赤色102号の定量

食用赤色2号中に含まれる食用赤色102号を測定するには、食用赤色2号が妨害成分となるので、この色素の吸光度の等しい2つの波長、すなわち、 λ_1 および λ_2 を決定する必要がある。食用赤色102号の場合と同様にしてまず図1のスペクトルから λ'_1 555nm、 λ'_2 484nmを選び、 λ'_2 484nmを固定して λ'_1 を570nmから540nmまで走査させ、その交点として555nmが求められた〔図6(A)〕。さらに、これらの2つの波長の精密決定を行って λ_1 555nm、 λ_2 484nmが得られた〔図6(B)〕。フルスケールA 0.1において、食用赤色2号の5ppm溶液と20ppm溶液についての両波長間の吸光度の差は0.00134であったが、この数値は食用赤色102号の測定にほとんど影響を与えないものとする。上記の波長を用いて検量線を作成したところ、分析成分、妨害成分（食用赤色102号：食用赤色2号）の比が0～2：1において直線性を示した（図7）。なお、食用赤色2号は2～20ppmまでスペクトルの形状がほとんど変わらない（図8）。さらに、食用赤色102号を0.1 μ g/ml、0.5 μ g/ml、1 μ g/ml、5 μ g/ml、10 μ g/mlとそれぞれ一定濃度に保ち、食用赤色2号を0～20 μ g/ml含有する5種類の溶液をそれぞれの濃度について調製し、 ΔA を測定したところ、図9に示すように食用赤色2号の濃度変化によって食用赤色102号の ΔA は変化しないことがわかった。

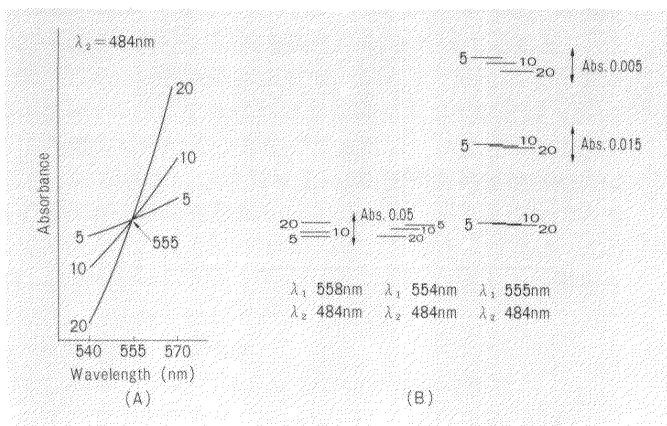


図6 Determination of λ_1 and λ_2 for New Coccine-Amaranth system

Concentration of Amaranth: 5: 5 mg/l, 10: 10 mg/l, 20: 20 mg/l

Band pass: 1.0 nm

Condition: Confer Figure 2

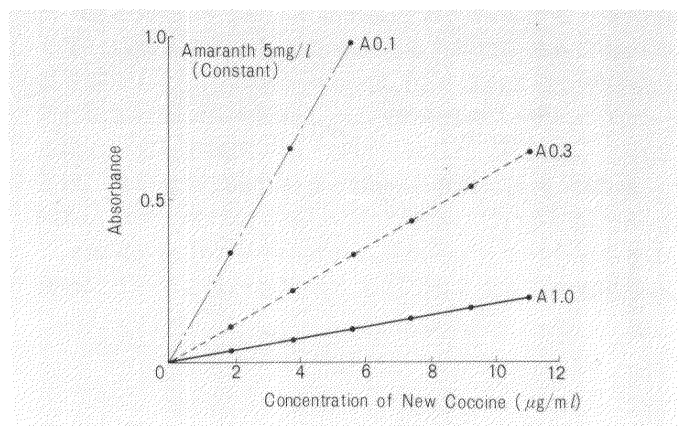


図7 Calibration curves for New Coccine (New Coccine-Amaranth system)

Wavelength: λ_1 555 nm, λ_2 484 nm

Solvent: 0.02N Ammonium acetate solution

Scale: A1.0, A0.3, A0.1

Band pass: 1.0 nm

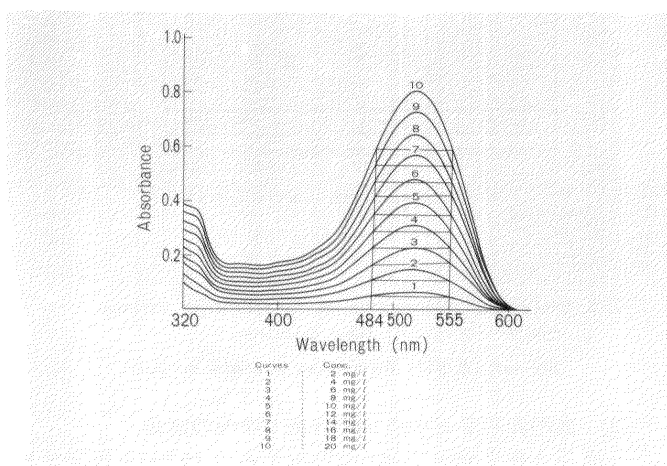


図8 Absorption spectra of Amaranth

Solvent: 0.02N Ammonium acetate solution

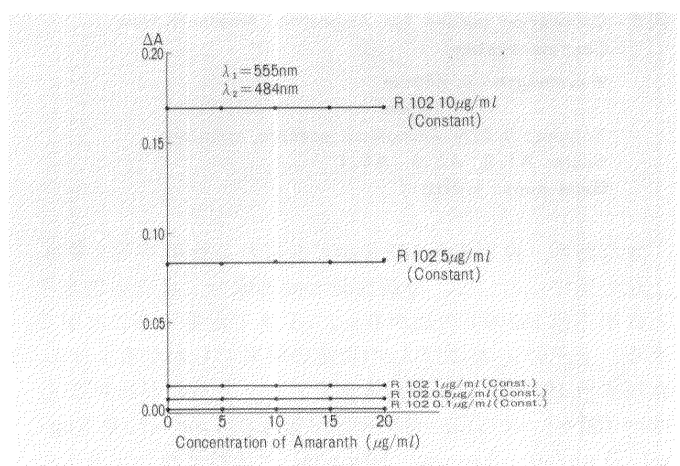


図9 Difference absorbance of New Coccine in various concentrations of Amaranth

Solvent: 0.02N Ammonium acetate solution

2.1.2 食用黄色4号 (Tartrazine) と食用黄色5号 (Sunset Yellow FCF) の混合系

食用黄色4号中に含まれる食用黄色5号を測定するには図10に示すスペクトルから妨害成分としての食用黄色4号の λ_1 を350nm, λ_2 を485nmとして選定した。これらの波長について図11に示す精密決定を行い、両波長が食用黄色4号のための等しい吸光度を示す波長であることが決定された。これらの波長を用いて食用黄色5号についての検量線を作成したところ、分析成分：妨害成分の比が0～2：1において直線性を示すことがわかった(図12)。さらに、食用黄色4号の濃度変化による食用黄色5号の ΔA を測定したところ食用赤色2号と同様に変化はみられなかった(図13)。

食用黄色5号中に含まれる食用黄色4号を定量するための条件、すなわち、食用黄色5号の λ_1 および λ_2 は図10のスペクトルから λ_1 523nm, λ_2 430nmが選定された。これらの波長についてさらに精密決定を行ったところ、 λ_1 523nm, λ_2 430nmが決定された(図14)。両波長を用いての検量線は

図15に示すように、分析成分：妨害成分の比が0～2：1において直線性を示すことがわかった。また、食用黄色5号の濃度変化による食用黄色4号の ΔA の変化はみられなかった(図16)。

参考文献

- 1) 第二版食品添加物公定書：1966
- 2) 厚生省告示第285号, 官報第13707号, 昭和47年8月30日
- 3) B. Chance, Science, 120, 767 (1954)
- 4) 神蔵美枝子, 遠藤英美, 佐々木英人：食品衛生学雑誌 13, 555 (1972)

国立衛生試験所標準品

国立衛生試験所 (東京都世田谷区上用賀1-18-1)
TEL (03) 700-1141~5) へ直接申込み購入できるほか、和光純薬などの試薬販売業者も取扱っている。

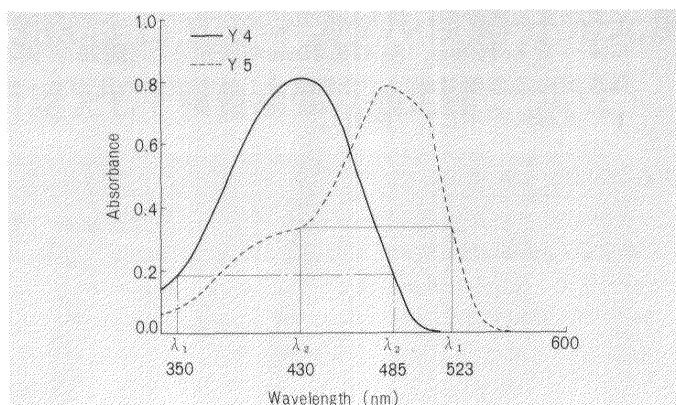


図10 Selection of λ_1 and λ_2 for Tartrazine-Sunset Yellow FCF system

Conc.: Tartrazine (Y4), 15mg/l
(0.02N Ammonium acetate solution)
Sunset Yellow FCF (Y5), 15mg/l
(0.02N Ammonium acetate solution)

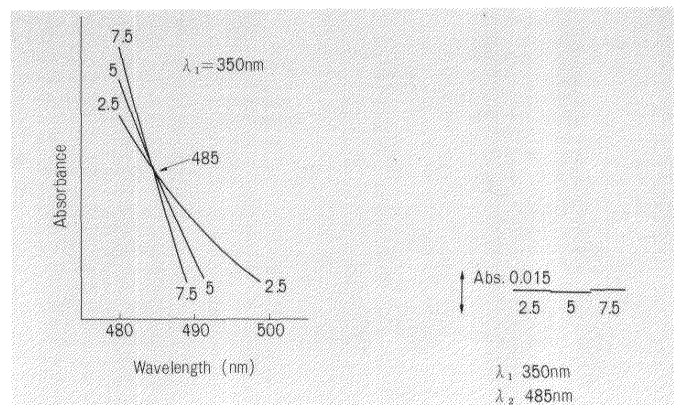


図11 Determination of λ_1 and λ_2 for Sunset Yellow FCF-Tartrazine system

Concentration of Tartrazine: 2.5:2.5mg/l, 5:5mg/l, 7.5:7.5mg/l
Solvent: 0.02N Ammonium acetate solution
Band pass: 1.0nm
Condition: Confer Figure 2

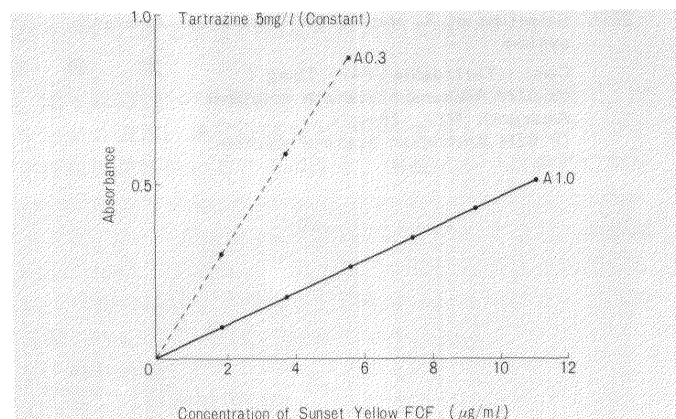


図12 Calibration curves for Sunset Yellow FCF (Sunset Yellow FCF-Tartrazine system)

Wavelength: λ_1 350nm, λ_2 485nm
Solvent: 0.02N Ammonium acetate solution
Scale: A1.0, A0.3
Band pass: 1.0nm

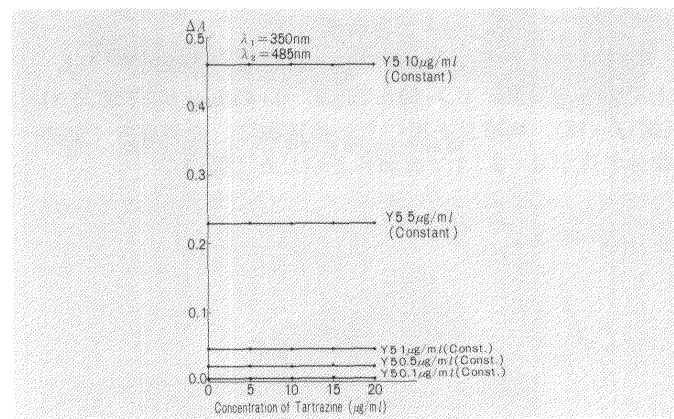


図13 Difference absorbance of Sunset Yellow FCF in various concentrations of Tartrazine

Solvent: 0.02N Ammonium acetate solution

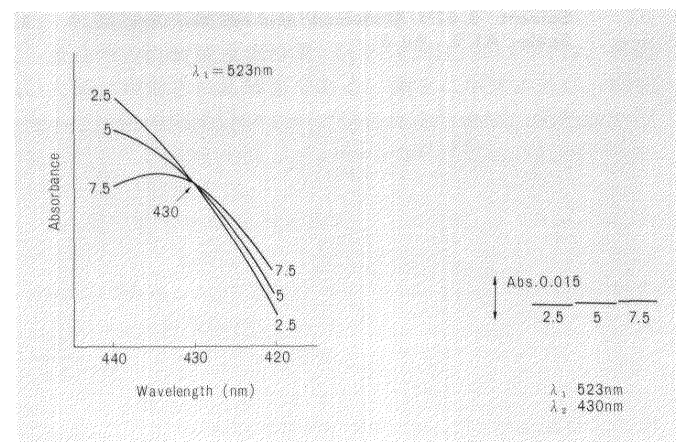


図14 Determination of λ_1 and λ_2 for Tartrazine-Sunset Yellow FCF system

Concentration of Sunset Yellow FCF: 2.5:2.5mg/l, 5:5mg/l, 7.5:7.5mg/l
Solvent: 0.02N Ammonium acetate solution
Band pass: 1.0nm
Condition: Confer Figure 2

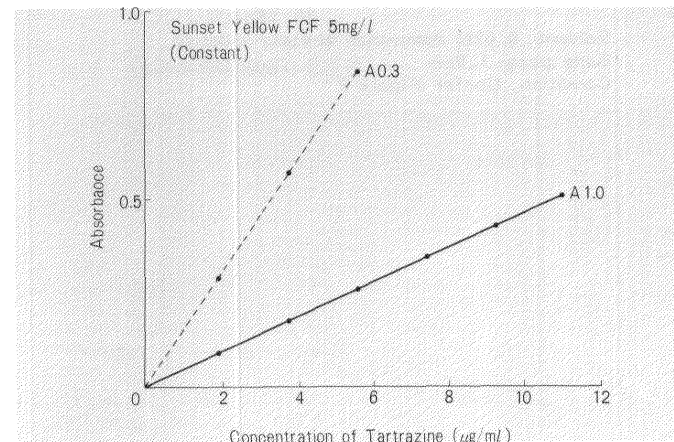


図15 Calibration curves for Tartrazine (Tartrazine-Sunset Yellow FCF system)

Wavelength: λ_1 523nm, λ_2 430nm
Solvent: 0.02N Ammonium acetate solution
Scale: A1.0, A0.3
Band pass: 1.0nm

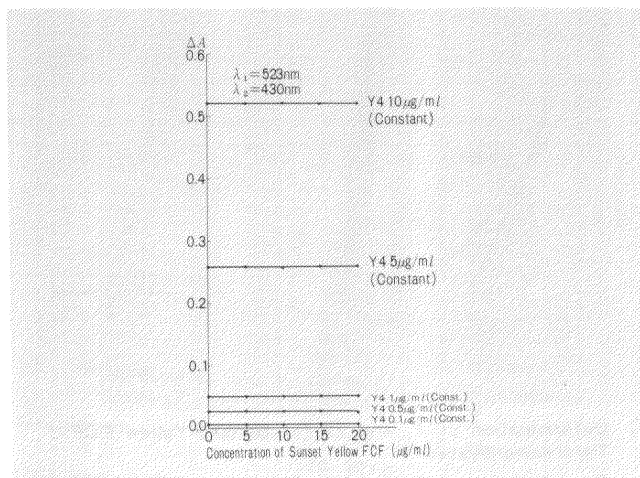


図16 Difference absorbance of Tartrazine in various concentrations of Sunset Yellow FCF

Solvent: 0.02N Ammonium acetate solution

2.1.3 食用赤色 2 号 (Amaranth) と食用黄色 4 号 (Tartrazine) の混合系

食用赤色 2 号中に含まれる食用黄色 4 号の測定条件は、上記の方法に準じて $\lambda_1 580.75\text{nm}$, $\lambda_2 430\text{nm}$ が決定され (図17~18), 両波長を用いての検量線は, 分析成分: 妨害成分の比が 0~2:1 で直線性を示した (図19)。

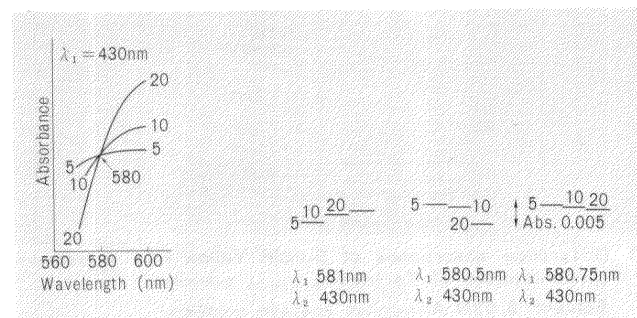


図18 Determination of λ_1 and λ_2 for Tartrazine-Amaranth system

Concentration of Amaranth: 5: 5mg/l, 10: 10mg/l, 20: 20mg/l

Solvent: 0.02N Ammonium acetate solution

Band pass: 1.0nm

Condition: Confer Figure 2

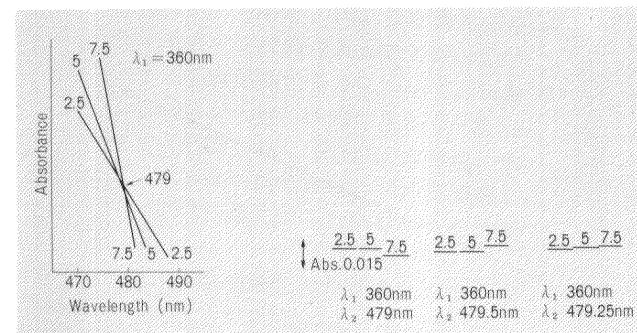


図20 Determination of λ_1 and λ_2 for Amaranth-Tartrazine system

Concentration of Tartrazine: 2.5: 2.5mg/l, 5: 5mg/l, 7.5: 7.5mg/l

Solvent: 0.02N Ammonium acetate solution

Band pass: 1.0nm

Condition: Confer Figure 2

食用黄色 4 号中に含まれる食用赤色 2 号は, 同様な操作によって $\lambda_1 360\text{nm}$, $\lambda_2 479.25\text{nm}$ が決定され (図20), 両波長を用いての検量線は, 分析成分: 妨害成分の比が 0~2:1 で直線性を示した (図21)。

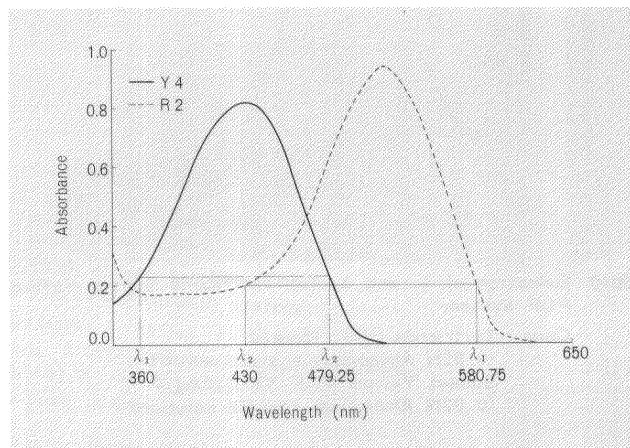


図17 Selection of λ_1 and λ_2 for Tartrazine-Amaranth system

Conc.: Tartrazine (Y4), 15mg/l

(0.02N Ammonium acetate solution)

Amaranth (R2), 20mg/l

(0.02N Ammonium acetate solution)

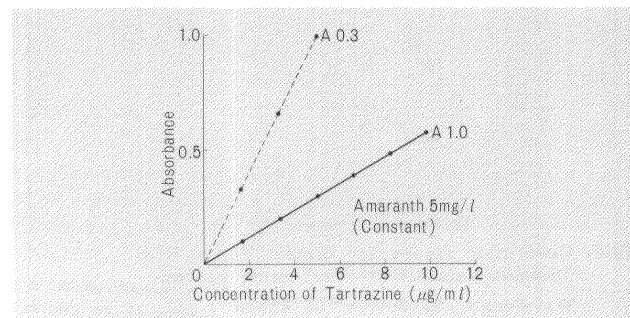


図19 Calibration curve for Tartrazine (Tartrazine-Amaranth system)

Wavelength: $\lambda_1 580.75\text{nm}$, $\lambda_2 430\text{nm}$

Solvent: 0.02N Ammonium acetate solution

Scale: A1.0, A0.3

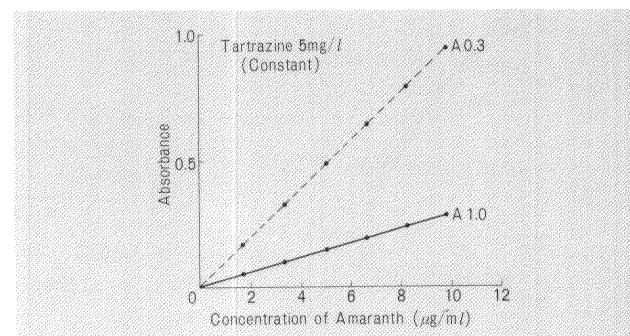


図21 Calibration curves for Amaranth (Amaranth-Tartrazine system)

Wavelength: $\lambda_1 360\text{nm}$, $\lambda_2 479.25\text{nm}$

Solvent: 0.02N Ammonium acetate solution

Scale: A1.0, A0.3

Band pass: 1.0nm



333形 日立デジタル自動分光光度計の使用経験

〔主として検量線曲り補正器について〕

大川 義栄* 大津 みち子* 吉川 敏子* 栗原 浩子* 関根 律子* 野上 有信*

1. はじめに

最近、医学の進歩に伴い臨床検査の件数も著しい増加を示し、そのため、いかにして大量の検体を精確、迅速に処理していくかの問題があり、また、検査結果に対する要求がかなり高度になったため精度や信頼度を向上する必要に迫られている。

このような状況の中でわれわれは検査室の機械化、自動化を推進し、ルーチン検査に対処しなければならない。このほど、これらの解決策の一端として完全自動化とはいえぬが部分自動化の目的で、日立333形 デジタル自動分光光度計（以下「333形」という）に検量線曲り補正付属装置（以下「カーベチャ・コレクタ」という）を用いて二、三の検討を行い、ある程度の知見を得たので報告する。

2. 装 置

図1に333形の外観を示す。本器は、試料系の自動化、デジタル表示、濃度直読などの機能を有し、サンプルフィード付属装置を付けることにより、連続的かつ自動的にプリントアウトできる。

また、カーベチャ・コレクタ（図2）を接続すると、検量線の曲りを補正できる。トランジスタの折線特性を利用し5本の折線の組合せで曲線を直線化する。5本のカーブ（検量線）を記憶できるので便利である。

3. 検討内容

- (1) カーベチャ・コレクタの信頼度については、モニター、コンセーラを用い6日間の重測定を行った。
- (2) 測定値の相関性に対しては、101形 分光光度計（従来法）を用いた（サンプルフィードによる連続測定）。
- (3) UV法は乳酸脱水素酵素（LDH）について行った。（25℃恒温下で行う）。

4. 乳酸脱水素酵素（LDH）の測定

血清中の乳酸脱水素酵素（以下「LDH」という）は、最近ひん繁に測定される酵素である。図3に示すように、吸光度—活性値の関係は明らかに褪色反応であり、活性値の増加に対して吸光度は減少し、かつ高い活性値（1,000付近から）では湾曲する。

333形は符号逆転機能を有し、これにカーベチャ・コレクタを付けることにより、全域を直線化し、かつ吸光度—活性値の関係を正にすることができる。また、濃度直読機能を活用すれば、活性値を直接デジタル表示できるから便利である。その関係は図4に示すようより直線性が得られている。

このようにしてカーベチャ・コレクタにより調整したのち、従来法（101形 分光光度計で吸光度を測定し換算表で活性値を求める）とカーベチャ・コレクト法との比較を行った。図5にLDH 50検体をそれぞれ測定し、相関性を検討した結果を示すが、相関係数は $r=0.970$ と良好であった。

* 水戸赤十字病院 検査部

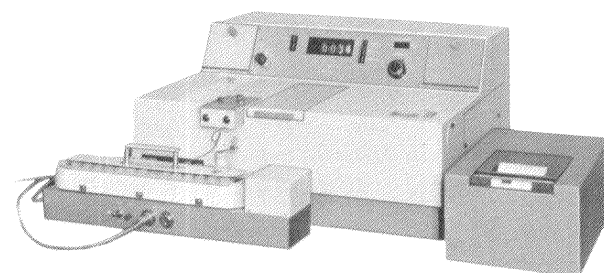


図1 333形 日立デジタル自動分光光度計

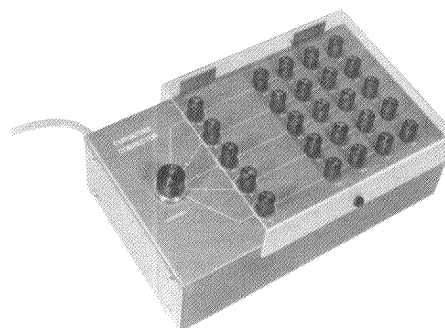


図2 333形用検量線曲り補正器（カーベチャ・コレクタ）

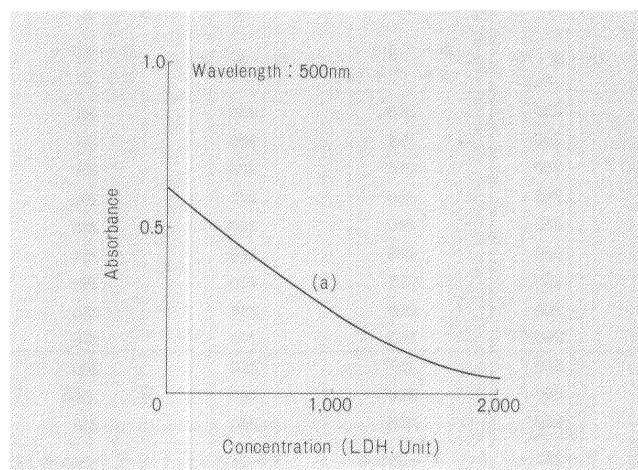


図3 LDHの検量線

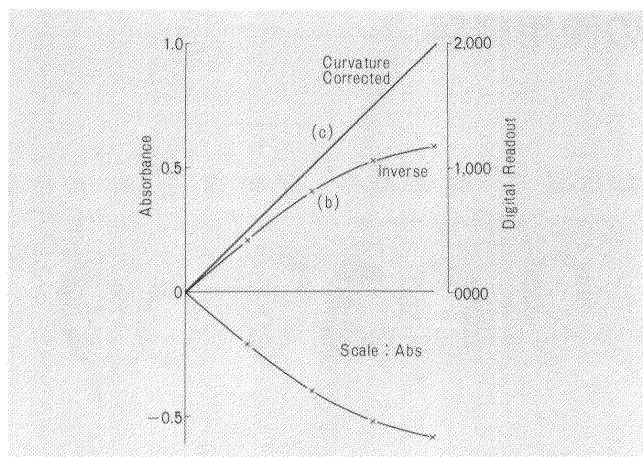


図4 カーベチャ・コレクタによる直線補正（符号逆転機能併用）（LDHの測定）

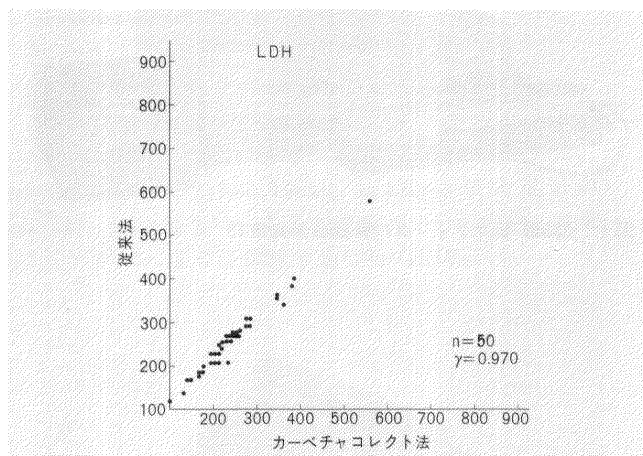


図5 従来法とカーベチャ・コレクト法との相関（LDHの測定）

また、表1には日差再現性を測定した結果を示すが、CV値2.6できわめて良好な再現性を有する。これから、一度カーベチャ・コレクタを調整すれば、長期間にわたり使用できることが明らかである。

表1 LDH活性の再現性（6日間の重測定）

コンセーラ		モニター	
従来法	カーベチャ・コレクト法	従来法	カーベチャ・コレクト法
250	243	260	260
250	254	260	250
260	256	270	260
260	260	270	260
250	246	260	265
260	248	270	254
260	258	270	268
260	268	250	256
260	260	270	276
260	257	250	260
260	260	260	256
260	258	260	256
$\bar{X}=257.5$ CV=1.7		$\bar{X}=262.5$ CV=2.7	
$\bar{X}=255.6$ CV=2.6		$\bar{X}=259.6$ CV=2.6	

5. 血清トランスアミナーゼの測定

血清トランスアミナーゼ（GOT）は臨床検査室で日常的に大量測定を要する代表的な物質である。この吸光度—活性値の関係（検量線）は周知のように極端な曲率を描く。

検量線は、最も多く使われる正常範囲（8～40Karmen単位）で湾曲しており、既製の“吸光度—活性値換算表”をにらみながら算出したのでは、そのために多大の神経と

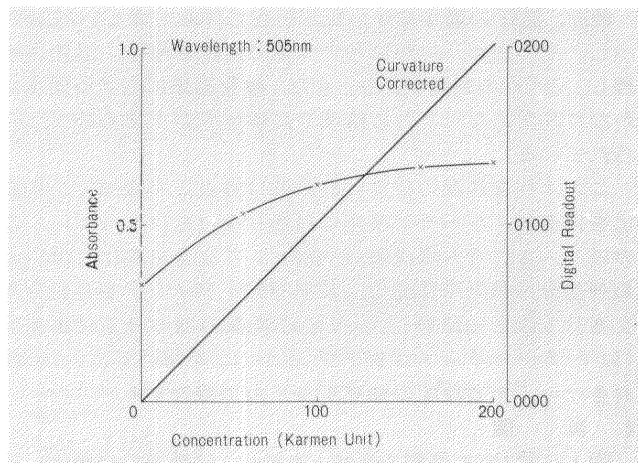


図6 カーベチャ・コレクタによる直線補正（GOTの測定）

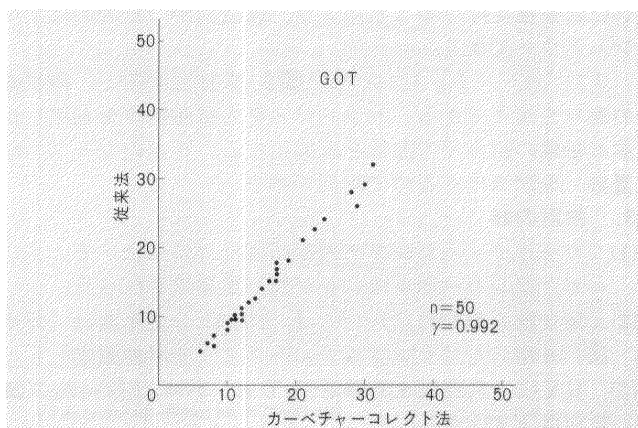


図7 従来法とカーベチャ・コレクト法の相関（GOTと測定）

表2 GOT活性の再現性（6日間の重測定）

コンセーラ		モニター	
従来法	カーベチャ・コレクト法	従来法	カーベチャ・コレクト法
19	20	23	24
17	18	21	25
19	19	23	24
17	18	22	23
17	18	24	26
17	18	23	25
19	19	24	26
17	18	23	24
19	20	20	22
17	19	23	24
19	20	23	25
17	19	26	27
$\bar{X}=17.8$ CV=5.5		$\bar{X}=22.9$ CV=6.3	
$\bar{X}=18.8$ CV=4.2		$\bar{X}=24.4$ CV=5.6	

労力を費し、かつ精度に期待がもてない。

しかし、333形にカーベチャ・コレクタを装着すれば直線化することができる。図6に直線補正した結果を示す。カーベチャ・コレクタには5種類のサンプルを別個にそれぞれ記憶できる。

図7には従来法とカーベチャ・コレクト法の相関を求めた結果を示すが、相関係数は $\gamma=0.992$ であり、良好であった。

表2にはコンセーラ、モニターール標準血清を用いて重測定を試みた。その結果はCV 5.6であり、再現性も問題はない。

6. UV-Testについて

最近、NADH補酵素を用いてその単位時間当りの吸光度変化量から測定酵素の定量を行う、いわゆるUV-Test(波長 340nm)による測定が普遍化されつつある。

本測定の特長は、前処理が簡単で、かつ検量線の直線範囲が比色法に比べて広いという魅力がある。

333形は波長範囲が紫外—可視域(195~850nm)であるから、直ちにUV-Testができる。

Testは指示書により反応させた試料を自動吸引させ吸収セルに移し、これを記録させればよい。図8には反応させた吸収スペクトルの経時変化を、また、図9には波長340nmに固定したときの減衰吸光度を記録した。

毎分当りの吸光度変化量とLDH活性を整理したが、よい直線性が得られている。

実試料について、従来法とUV-Testとの相関性を図10に、表3には、測定値の比較および再現性を示したが、いずれもよい結果が得られた。

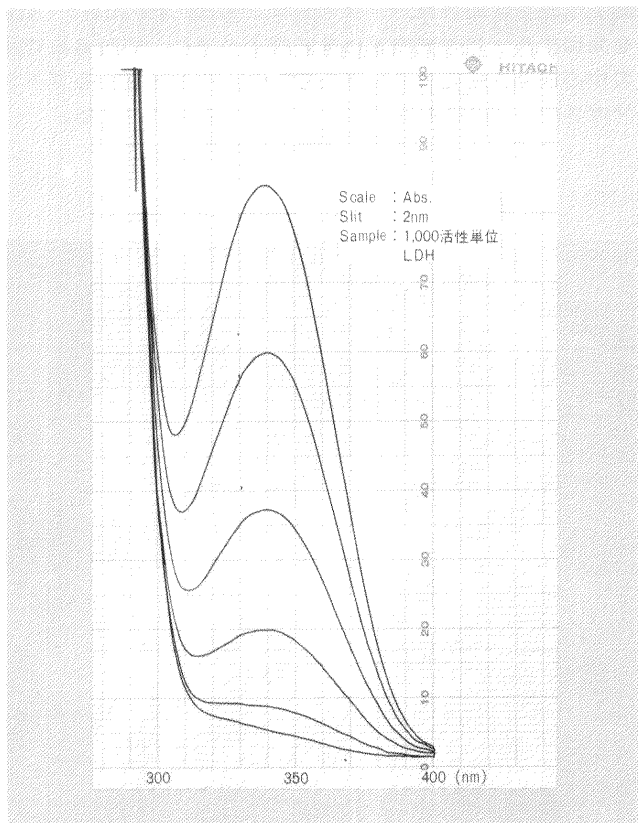


図8 LDH酵素活性(吸収スペクトルの経時変化)

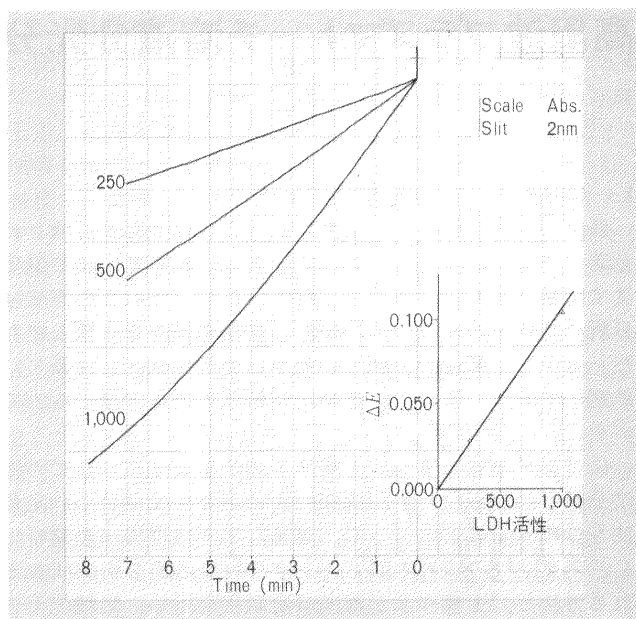


図9 LDH酵素活性(減衰吸光度)

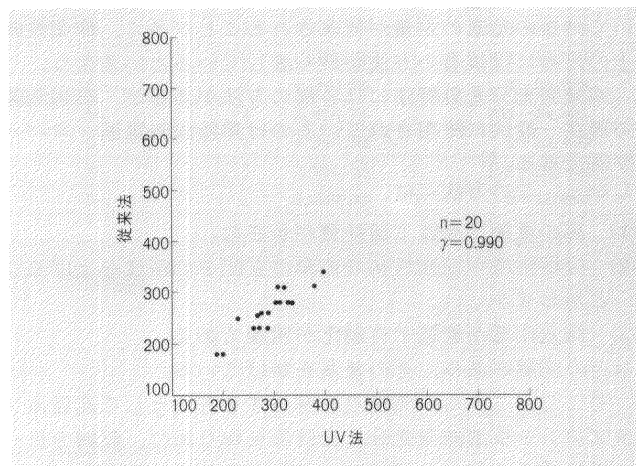


図10 従来法とUV法の相関

表3 比色法とUV法の再現性

従 来 法		U V 法
1	260	265
2	250	260
3	250	265
4	250	270
5	250	260
6	260	260
7	260	255
8	260	260
9	250	255
10	260	270
X 255		X 262
CV 2.06%		CV 2.04%

7. 結 言

以上の結果から333形は部分自動化の目的を達成してくれるものと思われる。特にカーベチャ・コレクタによる直線補正に効果が期待できる。

高周波プラズマトーチ溶液分光分析法による鉄鋼中諸成分の分析法

渡辺 俊雄* 森田 矩夫*

1. はじめに

鉄鋼の化学分析法は、従来、鉄あるいは共存する種々の元素の妨害を化学処理によって除去し、吸光度法や滴定法で定量する方法が多くとられていたが、これらの方法は分析に時間がかかり、また操作も高度の技術を必要とされた。しかし、最近の合理化の動きは分析作業へも波及し、鉄鋼化学分析の省力化、自動化が目下重要な課題となっている。

化学分析の省力化は、1 操作 1 元素定量はこれまでの化学分析とは変わらないが、共存元素の影響を受けにくい定量法を採用することによって、複雑な化学処理操作を簡略化し、所要時間の短縮を図ろうとする原子吸光分析に代表される方法と、1 操作多元素同時定量法を用い、処理能力を一挙に増大させようとする溶液発光分光分析に代表される方法との2 とおりがある。鉄鋼分析の場合、1 つの試料でいくつかの元素の定量が要求されることが多く、作業性向上のためには後者の方法が最も適しているといえよう。

溶液発光分光分析法には各種の方法があるが、鉄鋼関係で現在一般的に使用されているのは黒鉛回転電極・スパーク法である。¹⁾しかし、この方法には、

- (1) 黒鉛電極が高価で消耗費がかさむ。
 - (2) 分析精度が電極性状の変動に支配され精度を上げることがむずかしい。
 - (3) 測定作業が複雑で自動化が困難である。
- などの問題があり、その普及を妨げている。

そこで、これらの問題点を解決する方法として高周波プラズマトーチ溶液発光分光分析法を取りあげ、鉄鋼分析への適用性を検討したので、その概要を報告する。

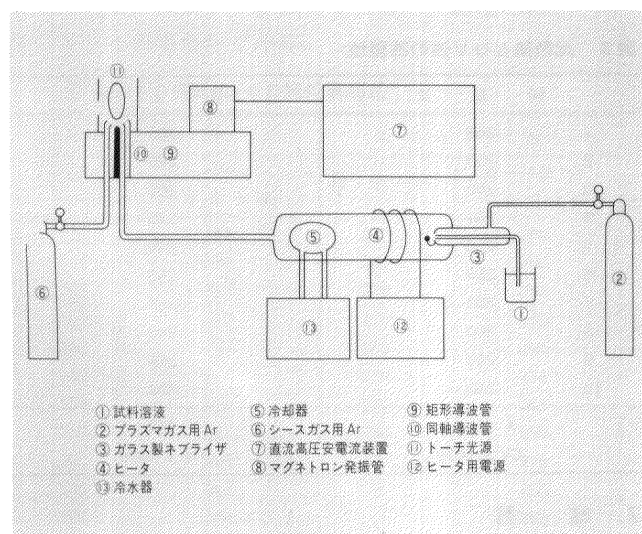


図1(A) 高周波プラズマトーチ発光装置

2. 装 置

高周波プラズマトーチ発光装置は、300形日立高周波プラズマトーチスペクトル分析装置の発光装置を、また分光計は市販の溶液発光分光分析装置を用いた。本実験で使用した高周波プラズマトーチ発光装置の系統図を図1(A)に、プラズマ炎を同図(B)に示す。

鉄鋼試料を酸で分解して調整した試料溶液①はアルゴンガス②キャリアでガラス製ネブライザ③によって霧化され、霧状になった試料溶液は石英製ヒータ管④内部で加熱され、塩の微粉と水および酸の蒸気に分離される。これらは次に冷却器⑤で急冷され、水および酸の蒸気は大部分取除かれ、塩の微粉はアルゴンガスで送られ、シースガス⑥と共にトーチ先端から流出する。一方、直流高圧定電流装置⑦から高圧電源を供給され、マグネトロン⑧は2,450MHzのUHFを発振する。この電磁波は導波管⑨を通り、同軸導波管⑩の中心電極先端でエネルギー集中し、そこを流れるプラズマガス中の試料微粉を励起し火炎状に発光⑪させる。

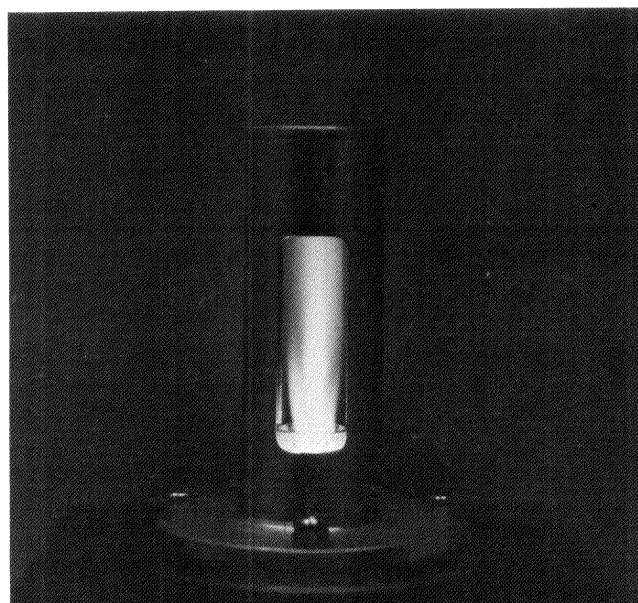


図1(B) プラズマ炎

* 新日本製鉄(株) 製品技術研究所



3. 実験結果および考察

3.1 スペクトル

図2からわかるように、高周波プラズマスペクトルは黒鉛回転電極・スパーク法に比べてスペクトル線の数少なく、スペクトルパターンが非常に簡単である。高周波プラズマスペクトルで現われるスペクトル線はほとんど中性線で、普通の直流アークで現われるようなイオン線も強度が弱く、分析線および内標線の選択にあたっては励起電圧の低い線を選ぶ必要がある。本実験で使用したスペクトル線を表1に示す。マンガンについては分光計の都合でイオン線を使用した。4,000 Å 付近の中性線の方が好ましい。

高周波プラズマトーチ発光の場合、水の分子スペクトルの妨害が心配されたが、OHバンドスペクトルは回転電極スパーク法のCNバンドスペクトルに比べてはるかに少なく、使用不可能の波長範囲はバンドヘッドに近い所に限られるため、波長選択での制約はほとんどなかった。また、アルゴンの分子スペクトルおよび連続スペクトルも極めて弱く、スペクトル線のSN比がよいことは、スパークやプラズマジェットに比べてこの励起法の大きな特長である。

3.2 試料導入方法

試料溶液は、脱水装置を使用することにより、長時間連続使用に耐えられる安定な炎を得ることができた。加熱器や冷却器などの試料導入系が複雑になることによる試料間の相互コンタミネーションは、これらを小形化することにより防止し、試料溶液間に洗じょう液を入れることなしに20秒間隔で発光できた。

3.3 酸の影響

高周波プラズマトーチ発光法は酸の影響を受けることが知られており²⁾ 本実験でも通常よく使用される塩酸、硝酸、王水、過塩素酸および硫酸についてスペクトル線強度との関係を調べた。その結果、使用した各スペクトル線とも、強度は、塩酸>王水>硝酸>過塩素酸の順で、硫酸はスペクトル線強度が非常に低く、他の酸と交互に発光させたときそれらの強度を著しく低下させ、使用できないことがわかった。

次に、試料溶液中の酸の濃度が定量値に及ぼす影響を知るため、硝酸系について試料1 gを酸量を変えて分解し、液量を100 mlにした試料溶液を定量した結果、内標準にFe II 2,714 Åを用いると酸量によって定量値が大きく変動し定量不可能になるのに対し、In I 3,039 Åを使用すればその影響がかなり小さくなり、内標準線の適正な選定により酸濃度の影響を防げることがわかった。実際の作業上では、分解酸を20~40 mlの範囲で精度1 ml程度で加え、通常の加熱分解操作をすれば実用上問題はない。

表1 使用スペクトル線

元 素	波 長 (Å)	遷移レベル (K)
Si	I 2,516.05	223-39,955
Mn	II 2,933.06	9,473-43,557
Cu	I 3,273.96	0-30,535
Ni	I 3,414.76	205-29,481
Cr	I 4,254.35	0-23,499
Al	I 3,961.53	112-25,348
In	I 3,039.30	0-32,892

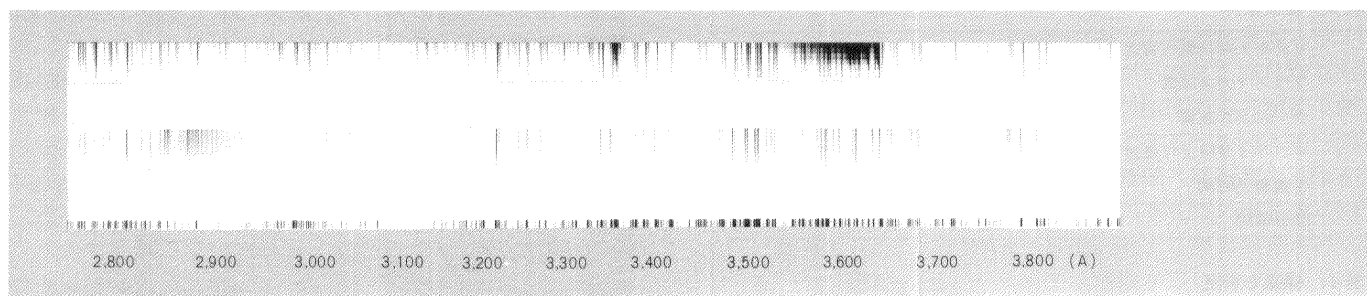


図2 鋼試料溶液のスペクトル

3.4 共存元素の影響

炭素鋼および低合金鋼を分析する場合、ケイ素、マンガン、銅、ニッケル、クロム、アルミニウムの存在がそれらを定量するときに及ぼす影響を調べた。図3からわかるように、クロムおよびニッケルがアルミニウム定量値にやや低値を示すほかは、この濃度範囲では共存元素の影響はほとんどない。

3.5 試料溶液調製法

高周波プラズマトーチ発光法は感度が高く、また、炎の安定性のうえからも、試料溶液濃度は低いほうが好ましいが、作業分析として操作のし易さを考慮して、試料溶液は、削粉試料1,000 gを秤り取り、インジウム33.3 ppmを含む硝酸(1+2)30.0 mlで加熱分解し(硝酸は市販の自動ビレットを使用すると便利)、No. 5C濾紙で濾過後濾液を水で100 mlにして調製した。本実験では硝酸を用いたが、塩酸、王水あるいは過塩素酸でも使用できる。

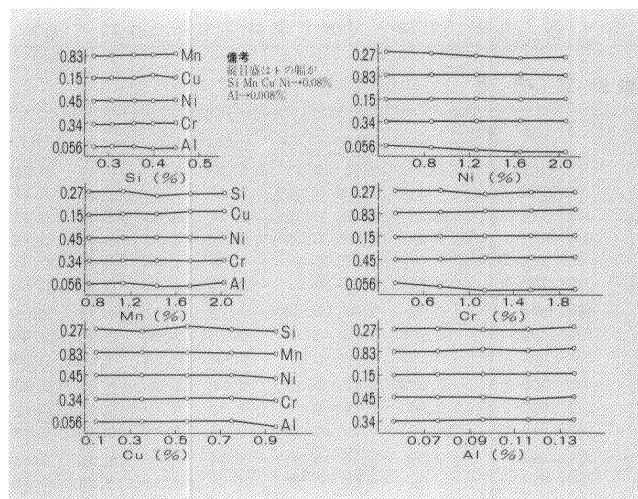


図3 共存元素の影響



3.6 検量線

炭素鋼および低合金鋼用検量線として表2の範囲のものを作成した。それに使用した標準試料溶液は、ケイ素については日本鉄鋼標準試料検量線シリーズAを、その他の元素については純鉄をベースに合成して調製した。検量線作成時の装置条件を表3に、得られた検量線の一例を図4に示す。いずれも良好な検量線が得られた。長時間使用した場合、装置の状態が変り検量線が動くが、その補正は検量線の上点および下点を抑える標準化試料溶液を用いて校正した。標準化のひん度は2～3時間に1回の割合でよい。

3.7 精度および正確さ

自家製標準化試料を用い繰返し精度を測定した結果を表4に示す。アルミニウムは変動係数率は1%をこしたが、他の成分は1%以下で、回転電極法に比べて2～3倍の精度があることがわかった。また、市販標準試料を用い日を代えて2回測定した結果を表5に示す。いずれも標準値(アルミニウムは化学分析値)とよい一致を示している。

表2 検量線範囲

元 素	範 囲 (%)
Si	0.01 ~ 0.6
Mn	0.05 ~ 1.4
Cu	0.01 ~ 0.5
Ni	0.01 ~ 1.0
Cr	0.01 ~ 1.0
Al	0.001 ~ 0.06

表3 装置条件

マグネトロン電圧電流	1,800V 250mA
プラズマガス流量	Ar 4l/min
シースガス流量	Ar 1.5l/min
ネブライザ吸上げ速度	2.9ml/min(純鉄溶液)
予備発光時間	30秒
積分時間	約30秒

表4 繰返し精度

元 素	Si	Mn	Cu	Ni	Cr	Al	Exp
含有率	0.42	1.70	0.38	0.78	0.69	0.062	
C. V. %	0.68	0.82	0.51	0.47	0.79	1.11	0.51

表5 正 確 さ

試 料 番 号	Si			Mn			Cu			Ni			Cr			Al		
	St	X ₁	X ₂	St	X ₁	X ₂	St	X ₁	X ₂	St	X ₁	X ₂	St	X ₁	X ₂	St	X ₁	X ₂
JSS 150-1	0.36	0.36	0.35	0.20	0.20	0.19	0.060	0.062	0.057	4.14	—	—	0.46	0.45	0.44	—	—	—
JSS 151-1	0.034	0.034	0.033	1.37	—	—	0.47	0.48	0.48	2.86	—	—	0.11	0.12	0.12	—	—	—
JSS 152-1	0.15	0.15	0.15	0.44	0.44	0.44	0.41	0.41	0.41	1.86	—	—	0.66	0.67	0.68	—	—	—
JSS 153-1	0.23	0.23	0.23	0.77	0.78	0.78	0.13	0.13	0.13	1.06	1.06	1.06	1.10	—	—	—	—	—
JSS 154-1	0.57	0.57	0.57	1.04	1.04	1.04	0.21	0.21	0.21	0.51	0.51	0.51	1.95	—	—	—	—	—
JSS 155-1	0.61	0.61	0.61	0.10	0.10	0.10	0.30	0.29	0.29	0.046	0.046	0.039	3.00	—	—	—	—	—
NBS 65d	0.37	0.37	0.38	0.73	0.72	0.73	0.051	0.049	0.049	0.061	0.062	0.061	0.049	0.048	0.046	0.056	0.056	0.055
NBS 19g	0.186	0.19	0.19	0.554	0.56	0.56	0.093	0.093	0.094	0.066	0.069	0.071	0.374	0.38	0.39	0.025	0.025	0.026
NBS 361	0.222	0.22	0.22	0.66	0.66	0.64	0.042	0.043	0.043	2.00	—	—	0.69	0.70	0.69	0.022	0.022	0.022
JSS 430-1	0.098	0.10	0.10	0.51	0.55	0.54	0.20	0.20	0.20	0.053	0.056	0.056	0.067	0.073	0.073	—	—	—
JSS 507-1	0.24	0.24	0.24	0.70	0.70	0.69	0.12	0.11	0.12	0.12	0.12	0.12	0.98	0.97	0.97	0.029	0.028	0.028
JSS 510-1	0.25	0.25	0.25	0.76	0.76	0.76	0.15	0.15	0.15	0.50	0.52	0.52	0.44	0.44	0.45	0.039	0.037	0.038
NBS 362	0.39	0.39	0.38	1.04	1.06	1.06	0.50	0.49	0.49	0.59	0.57	0.57	0.30	0.29	0.29	—	—	—
NBS 327	—	0.57	0.57	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	—	0.016	0.017	—	0.016	0.015	0.014	0.014	0.014
NBS 331	—	0.20	0.20	—	—	—	—	0.10	0.10	—	0.035	0.036	—	0.025	0.025	0.034	0.035	0.035
NBS 332	—	0.00	0.00	—	0.30	0.30	—	0.045	0.045	—	0.020	0.021	—	0.006	0.005	—	—	—

3.8 作業性および分析費用

回転電極法に比べて高周波プラズマトーチ法は1回の発光に要する時間は同程度であるが、分析精度がよいので、前者で2回発光していたものが1回ですみ、処理能力は約2倍に増大する。

しかし、高周波プラズマトーチの最大の利点は自動操作が可能となることである。電極が消耗しないため、オートサンプラで次々と試料を供給すれば、自動的に発光し、測光値を記録してゆき、また、小形電子計算機を用いれば、定量値をタイプアウトすることも可能で、同時多元素定量性ととも作業性を飛躍的に向上させることができる。

従来の回転電極法は高価な黒鉛回転電柱を使い捨てにすることが多く、多額の消耗費がかかり、その低減が大きな課題であったが、高周波プラズマトーチ法は消耗品はアルゴンガスくらいで、それも、真空形発光分光分析装置で使用するものと比べはるかに低品位のものでよく、ランニングコストは回転電極法の1/10以下ですみ、人件費が減少するのといまって経済的効果も大きい。

4. おわりに

新しい溶液発光分光分析法として高周波プラズマトーチ法は、(1)精度・正確さに優れ、作業分析において化学分析にとって代ることができる。(2)操作の自動化が容易で作業性がよい。(3)ランニングコストが安い。などの特長を有し、鉄鋼分析の分野で今後その利用が広まってゆくものと考えられる。

最後に、本実験にあたりいろいろとご協力くださった日立製作所那珂工場の大石公之助氏に深く感謝申しあげる。

参考文献

- 1) 遠藤芳秀, 畑 俊彦, 中原悠紀: 分析機器, 6, No. 5 298(1967)
- 2) 鈴木光泰: 分析化学, 17, 1529(1968)

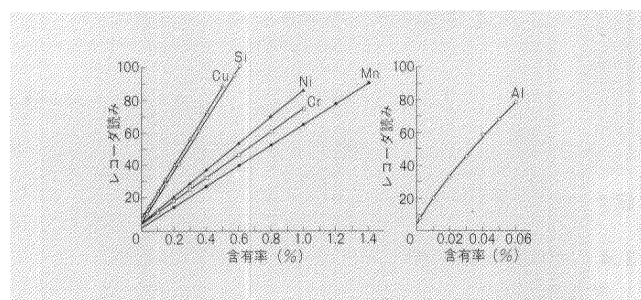


図4 検量線

634形 日立液体クロマトグラフ

U.D.C. 543.544-14

塚田 勝男* 鴈野 重威** 藤田 一紀*** 武内 静士****

1. はじめに

ガスクロマトグラフィ(GC)は高い分離能(理論段数)と短い分析時間という利点をもち、今日最も広く使われているクロマトグラフィの一つである。しかし、不揮発性の試料は揮発性の誘導体に変えなければならないなどの前処理を必要とすること、また揮発性誘導体への変換が困難な高沸点の試料や熱に不安定な試料は適用できないなどの欠点もある。

このようなGCに適用できない試料は、専らペーパークロマトグラフィ(PC)、薄層クロマトグラフィ(TLC)により分析され、ときには液体クロマトグラフィ(LC)****も使用されてきた。PCやTLCは取扱いが簡単で、理論段数もGCに匹敵し、特にTLCは分析時間が短いので盛んに使われている。しかし、PCやTLCは分離された成分の定量が困難である。一方、LCは分析時間が長いという欠点のため、その適用範囲も限られたものであった。

しかし、LCはGCやTLCの欠点を補う優れた長所を有している。すなわち、

- (1) 不揮発性試料もそのまま分析でき、揮発性誘導体に変換するなどの前処理が不必要である。
- (2) 分子量数百万以上の高分子化合物まで分析できる。
- (3) 熱に不安定な試料も分析できる。
- (4) 定量性に優れている。

などである。もし、LCの分析時間をGCなみに短縮できれば、すなわちLCを高速化すれば、GCとTLCの長所を兼ね備えた優れた分析装置が出現することとなり、その適用範囲は測り知れないほど広いことは容易に想像がつく。634形 日立液体クロマトグラフ(図1)はLCの高速化を図った高速液体クロマトグラフ(HLC)で、こうした要望に十分応えられるものである。以下にその概略につき述べることにする。

2. 原 理

GCの分析時間がLCのそれに比べて短いのは、移動相がGCでは気体、LCでは液体であることによる。気体の拡散速度(cm^2/s)は液体のそれに比べ約 10^4 倍大きい。カラム内で試料が十分に分離するためには移動相と固定相間で交換平衡に達しなければならないが、この交換平衡の速さは移動相の拡散速度に依存する。LCでは移動相に液体を用いているためGCなみの速い交換平衡は望むべくもないが、相対的に速くすることは可能である。

すなわち、充填剤の粒径を可能な限り小さくし、かつ粒径をそろえれば交換平衡を速くすることができる。TLCの理論段数が高いのは固定相の粒径が小さいことによる。粒径が小さいと固定相内への移動相の拡散が速やかに行われるからである。したがって、移動相の流速をあげても分

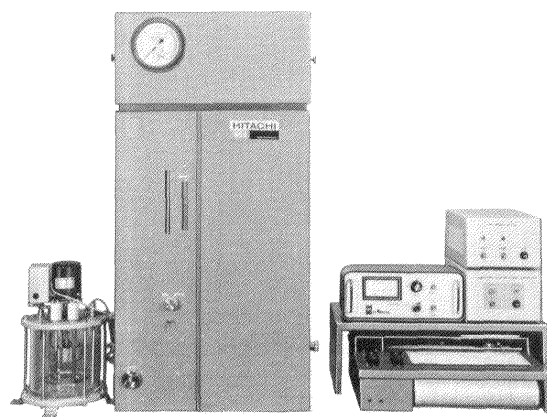


図1 634形 日立液体クロマトグラフ

離を低下させずに高速分析ができることになるが、さらにカラム内でのバンドの広がりを防ぐため、カラムの径を小さくすることが必要である。このことはTLCの場合固定相の厚さを薄くするほど分離がよくなることに相当する。

カラム径が小さく、粒径が小さい充填剤を詰めたカラムへ大きい線速度で液を流すために、カラム入口圧は当然高くなる。このため、無制限に充填剤の粒径を小さくすることは、圧力の面で装置に負担がかかることになるため、多孔性充填剤の場合、 $5 \sim 25 \mu$ の粒径のものがよく使われている。また、圧力損失を小さくするため粒径 $30 \sim 50 \mu$ の比較的径の大きいガラスなどの剛球(移動相の液体が透過しない非多孔性のもの)の表面に多孔性の膜を薄く均一に結合させた、いわゆる「薄皮」充填剤も開発されている^{1), 2)}。「薄皮」充填剤は多孔性膜が薄いため交換平衡が速く、粒径の小さい多孔性充填剤と同等の効果を現わす。ただし薄皮充填剤は交換容量が小さいため多量の試料の分析(分取など)には不向きである。以上の関係を図2に示した。

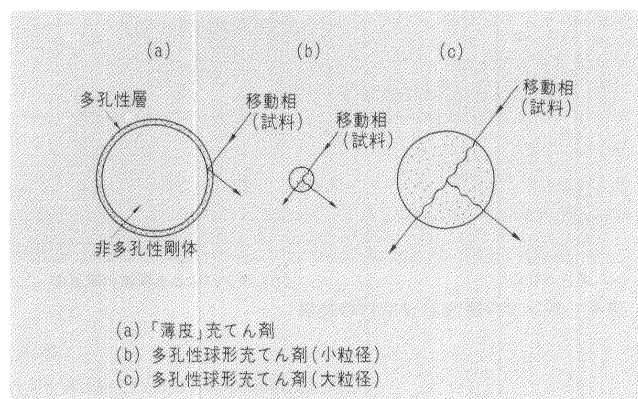


図2 「薄皮」充填剤と多孔性球形充填剤との比較説明図

* 日立製作所 那珂工場 光装部
 ** 日立製作所 那珂工場 光装部 主任技師、理博
 *** 日立製作所 日立研究所
 **** PCやTLCも液体クロマトグラフィの一種であるが、ここで液体クロマトグラフィというのはカラムクロマトグラフィのことをいう。

3. 装置の説明

本装置の流路配管を図3に示す。

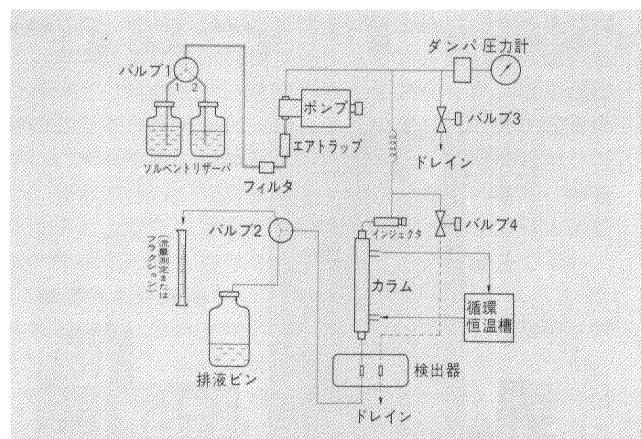


図3 634形日立液体クロマトグラフの流路配管図

ポンプは往復ピストン方式で、ピストンは50Hzの場合1分間に60往復(60Hzでは72往復)する。吐出量はピストンのストローク(0~6mm)を変えることにより設定する。ピストン1往復で吐出する液量は最大0.04mlという微量であるが、このような往復ピストン方式では吐出液は脈流となる。この脈流は検出器で検知され、図4(a)に示すようにベースラインに波形となって現われる。この脈流を平滑化するのにアキュムレータと抵抗を組合せたダンパが組込まれている。ダンパは幾組も組合せることにより、より平滑化された液流を得ることができるが、ダンパにより圧力損失も伴うので不必要に幾組も入れることは避けた。要は検出器の最高感度において脈流が検知されなければ充分であり、本装置には1組のダンパが組込まれている。このダンパの効果は図4(b)に示すとおりである。ポンプの吐出圧は0~100kg/cm²である。なお、この往復ピストンポンプは、ポンプ内のデッドボリュームが極めて小さいため、短時間で溶媒の交換が可能であり、また、溶媒の切換えも低圧側(ポンプ入口側)のバルブで簡単に切換えができるという利点があり、試料の分離条件を検討するのに便利である。

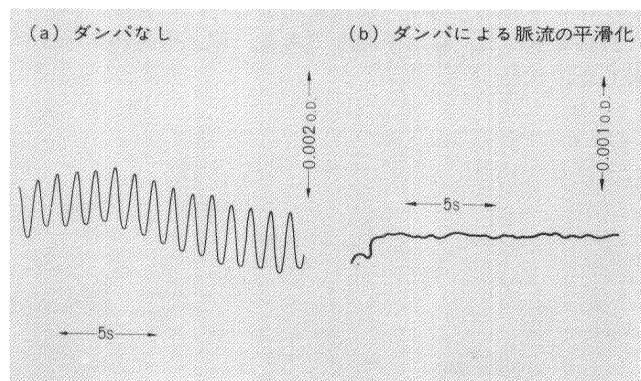


図4 ポンプの脈流とダンパの効果

カラムは内径2.1mmのステンレス製で、長さは50cmおよび25cmである。カラム温度は、循環恒温水により室温から70℃までの任意の温度に設定できる。カラムはジャケットに1本だけ組込んだものもあるが、ジャケット1本に内径2.1mm、長さ50cmのカラム4本が組込まれたものがあり、これを用いると4本の異なるカラムとして用いることもできるし、また直列に接続すれば長さ2mのカラムとしても用いられる。カラムは、この他に、内径4mm、長さ50cmのものがあり、小さい線速度で溶離液を流す必要がある場合や比較的多量の試料の分析(分取)のときに用いる。

試料導入装置は、シリコンゴムの隔壁を通してマイクロシリンジで直接試料を流路の中に注入するinjection方式である。試料導入装置はデッドボリュームが最小に抑えられており、カラムの長さ(25cm, 50cm, 100cm, 150cm, 200cm)に関係なく、カラム入口直前に取付けられるよう取付け位置が3箇所用意されている。試料注入に用いるマイクロシリンジは、高压液中(最高圧力100kg/cm²)へ注入した際に、リークがなく、プランジャが曲らない高压用のものが必要で、本装置では、ハミルトンの701-NWG(10μl、ガイド付き)を用いている。この試料注入方式によるピーク高の再現性を図5に示した。圧力110kg/cm²の液中へ注入した場合でも極めてよい再現性が得られることがわかる。このほか、比較的多量(~100μl)の試料をサンプリングする場合のために、試料管とバルブを組合せた試料導入装置も取付けることができる。

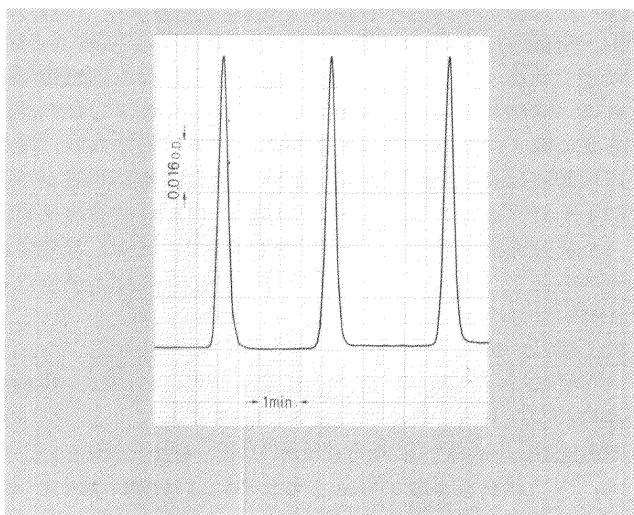


図5 マイクロシリンジによる試料注入の再現性

検出器は紫外光度計(UV)あるいは差動屈折計(RI)で、どちらかが組込まれている。UVは波長254nm、流動セルは内径1mm、長さ(光路長)10mmの円筒状で、容量は8μlである。最高0.01吸光度フルスケールまで8段階のレンジ切換えができ、出力は吸光度リニアである。RIはFresnel形で、セル容量は5μlと小さく、最高 1×10^{-5} 屈折率単位(RIU)フルスケールまで8段階のレンジ切換えができる。プリズムは、溶媒の屈折率1.31~1.44の場合 Low Indexのものを、また1.40~1.55の場合 High Indexのものを、使用する溶媒の屈折率によって使いわけている。

4. カラム充てん剤の充てん法

カラム効率の高いカラムを得るためには充てん剤を均一に充てんすることが必要で、充てんの巧拙がカラム効率に大きく影響する。充てん剤の充てん法には充てん剤を乾いたまま詰める dry packing 法と、¹⁾スラリにして詰める方法⁴⁾とがある。本装置ではスラリ充てん法を採用し、高流速(高圧)でスラリをカラムに押込む。スラリ充てん用の用具は装置に付属しており、ユーザーが種々の充てん剤を自由に充てんして使用できるようになっている。

5. 応 用 例

カラム充てん剤を選ぶことにより、吸着、イオン交換、分配、ゲル濾過、ゲル浸透クロマトグラフィー(立体排除クロマトグラフィー)ができるが、ここでは、イオン交換、吸着クロマトグラフィーによる分析例をあげる。図6は日立カスタムイオン交換樹脂#2610を用いた核酸塩基の分析である。この樹脂は従来からアミノ酸分析用として用いられてきたものであるが、このような球形樹脂を用いても十分なデータが得られる例として示した。図7、図8は日立ゲル#3010を用いた芳香族化合物および塩化ビニル添加剤の吸着クロマトグラフィーの分析例である。

6. あとがき

以上634形 日立液体クロマトグラフについてその概要を述べた。本装置により分単位での分析が可能となり、医薬品、農薬、食料品、石油成分、合成高分子、生体成分など広い範囲での応用が期待される。

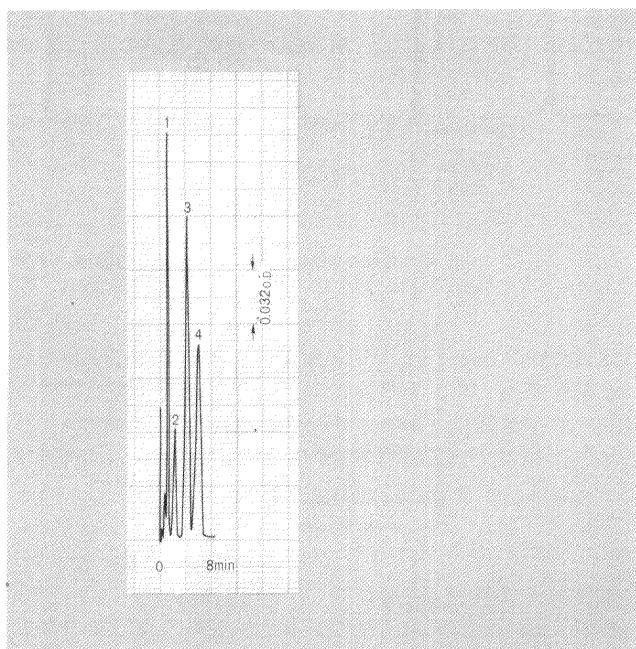


図6 核酸塩基の分析

■ 参考文献

- (1) Kirkland, J.J. : J.Chromatog. Sci., 7, 7 (1969)
- (2) Kirkland, J.J. : J.Chromatog. Sci., 8, 72 (1970)
- (3) Kirkland, J.J. : J.Chromatog. Sci., 9, 206 (1971)

なお、高速液体クロマトグラフィーに関する叢書としては次のものがある。

Kirkland, J.J. 編集 : Modern Practice of Liquid Chromatography by Wiley-Interscience (1971)

(日本語訳, 「高速液体クロマトグラフィー」 平田義正, 鴈野重威, 監訳 : 講談社サイエンティフィク)

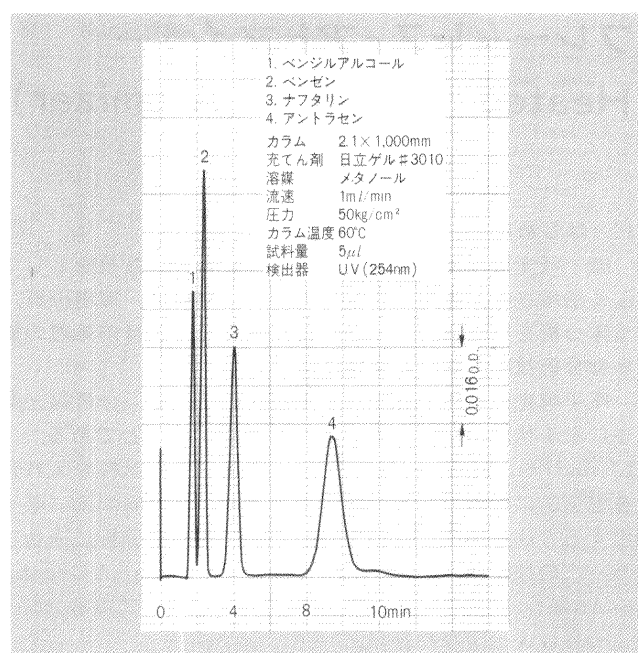


図7 芳香族化合物の分析

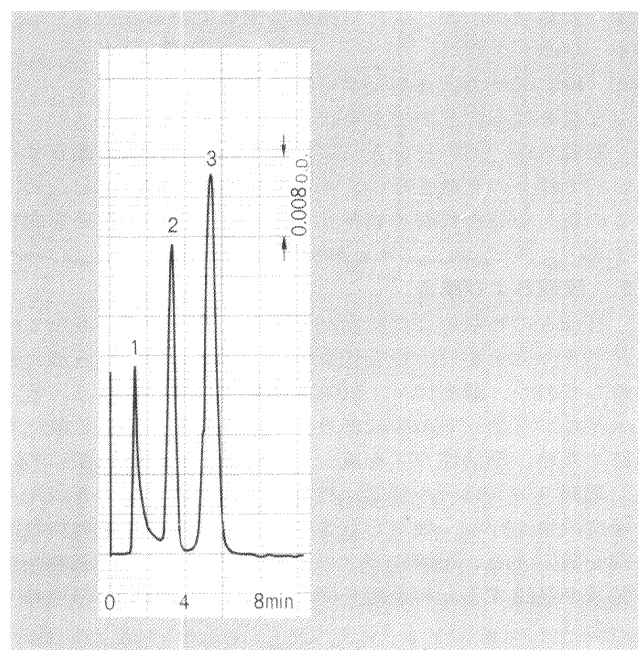


図8 塩化ビニル添加剤の分析

フレームレス・アトマイザー (Heated Graphite Atomizer)による原子吸光分析

U.D.C. 543.422,6

坂上佳司* 田淵博義*

1. はじめに

原子吸光分析は、微量金属定量に最も適した技術として広く活用され、急速に普及して来た。同時に、環境分析、生体分析を中心として、さらに高感度で、試料前処理の簡単な分析技術の開発が要望されている。

原子吸光における感度向上の根本的手段は、分析線光束中に原子状態の金属元素の密度を増加することである。

L'vov¹⁾や、Massmann^{2),3)}は、炭素管中に試料を入れ管を電氣的に加熱し、この熱エネルギーにより瞬間的に原子化する方法を開発し、 10^{-12}gr 程度の高感度分析に成功した。この技術は、Perkin Elmerにより、Heated Graphite Atomizer(HGA)として、世界で最初に製品化された^{4),5)}このHGAの主な特長は、

- (1) 極めて高感度である($\text{Cd } 10^{-12}\text{gr}$)。
- (2) 試料量が少なくてもよい($10\sim 100\mu\text{l}$)
- (3) 前処理が不要、または極めて簡単である。
- (4) 干渉が少ない。
- (5) 粉末試料の直接測定が可能である。

筆者らは、このHGAによる血中鉛の分析法を確立する目的で種々の実験を行い、また多種の試料を測定したので、この新しい分析技術を紹介するとともに、その結果を報告する。

2. 原理および構造

HGAの外観および断面図を図1、2に示す。直径1cm、長さ5cmの炭素管の中を光束が通る。管の両端は電極と密着しており、最高10V、500Aの電流が供給される。管はメタルジャケットの中にあり、水冷されるとともに酸化を防ぐため、不活性ガスを流して外気と断されている。

電源コントロール部で、乾燥、灰化、原子化の3段階の温度設定を行い、独立した3個のタイマで各段階の持続時間を設定する。不活性ガスの不足、ジャケットの過熱から装置を保護するため電源を停止する安全機構が設けられている。

試料溶液は、管中央の小さな穴を通して、マイクロピペットなどで $10\mu\text{l}$ から $100\mu\text{l}$ 程度注入する。乾燥、灰化の段階を経て、原子化の過程では最高 $2,700^\circ\text{C}$ 程度の高温が得られる。試料中の金属は瞬間的に光束中に蒸発、原子化され、吸収信号はきわめてシャープなピークとして得られる。一般に、沸点の低い金属は時間幅の狭い信号を示し、高いものは幅広い信号を示す。吸収強度は注入された金属の絶対量に比例している。

不活性ガスには、アルゴン、窒素がよく使用されるが、Manningらによると、通常アルゴンのほうが感度が高く、ガス流量が少ないほど高感度である⁴⁾また、Kahnは原子化の際ガスを止めるストップドフロー方式で、 2 ng のCu

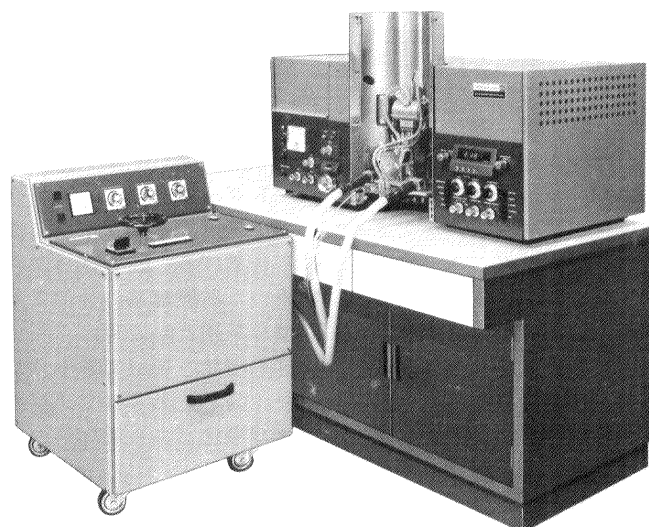


図1 HGA(Heated Graphite Atomizer)の外観

の吸収強度が通常的方式より約50%増加したと報告している⁶⁾これは、ストップドフロー方式では原子蒸気が光束中にとどまっているためであろう。しかし、常時ガス流量を 1 l/min 以下にすると、炭素管の消耗を早めることになる。

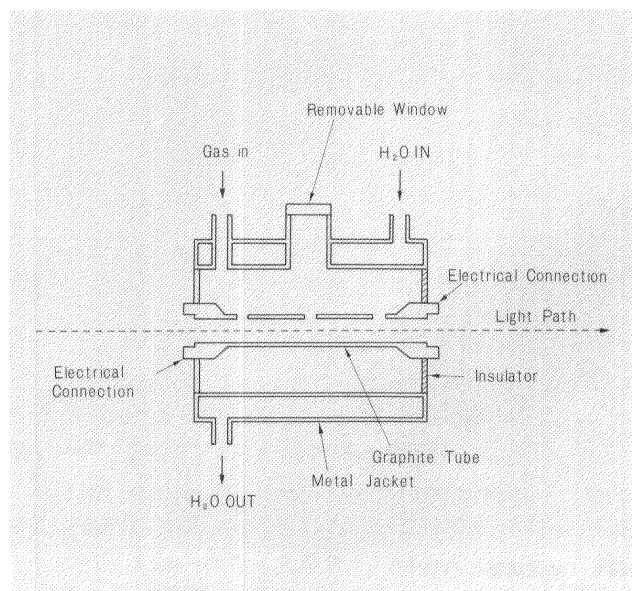


図2 HGAの断面図

3. 検出限界および再現性

表1にHGAによる検出限界例を示す。絶対感度は1%の吸収信号を示す金属の絶対量で、検出限界は $100\mu\text{l}$ の試料量で、 $S/N=2$ の信号を与える濃度を示す。炎を使用した原子吸光法と比較すると極めて高感度であり、原子化効

*日製産業(株)日立理化学機器センター



率の高いことを示している。100 μ lの試料を注入し、乾燥のみを行って再び100 μ l注入する方法を繰返すことにより、さらに高感度が期待できる。

図3にHGAの再現性を示す。Cd、2 μ g/lの水溶液を試料量20 μ lで繰返し測定したもので、変動係数2.5%であった。Pb、Cr、Niなどについても同程度であった。

筆者らの経験によると、HGAによる再現性を左右する最大の要因は、装置そのものよりも注入方法および共存イオンの種類と量であると思われる。前者については、試料の蒸発が管の加熱によるため、試料が中にどのような形で存在するか、一部に集中しているか分散しているか、また内壁面に深くくみ込むのかによって測定値が異なる⁷⁾。筆者らは、エッペンドルフのマイクロピペットを使用し、出きるだけ同一条件で注入するようかなりの注意を払ったが、測定に際しては、2～5回程度測定し平均値を求めることが望ましいであろう。

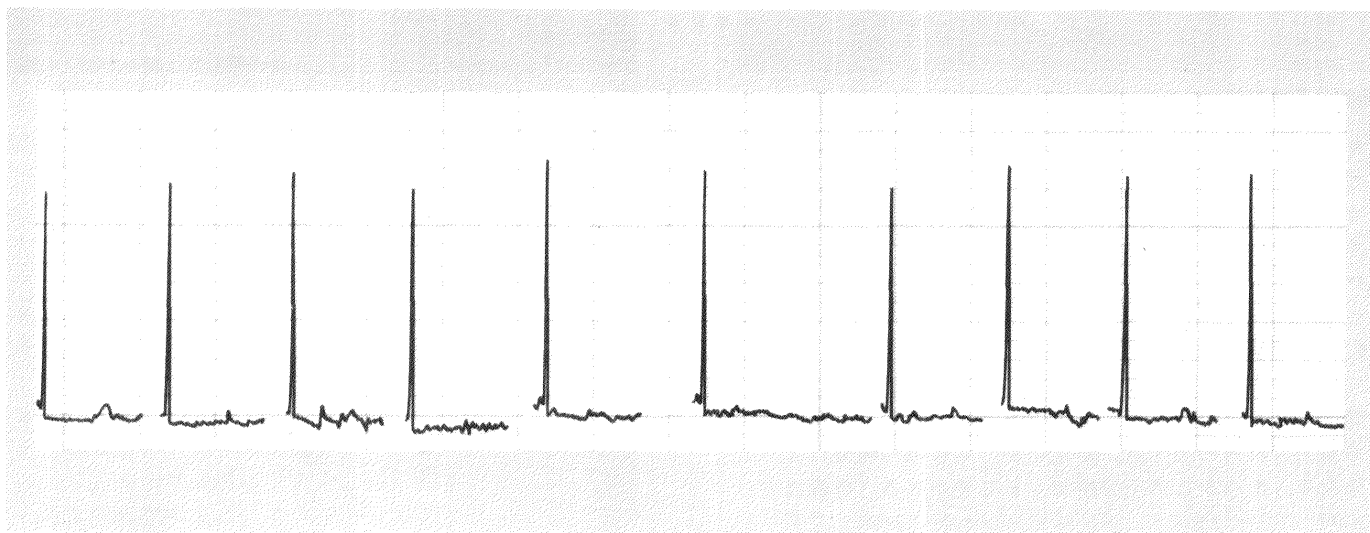


図3 再現性 Cd 2ppb 20 μ l 208形+HGA

4. 干 渉

HGAが炎による原子吸光法に比べて極めて有利な点は、原子化温度が自由に制御できることである。温度を適当にプログラムして、共存物質から目的元素を分離して原子化できる。しかし、目的元素の原子化温度が共存物の分解温度とほとんど等しい場合、共存物の影響を避けることができないという問題が残る。

4.1 バックグラウンド

Cd、Pbなどの分析で、Naの共存が、光散乱や分子吸収によりバックグラウンドを与えることはよく知られている。これは、HGAにおいても大きな問題である。

- (1) Naの多量に含まれる海水中のPb、Cdの測定
 - (2) 生体試料、食品など有機物を主体とした試料中のCd、Pb、Zn、Asの測定
 - (3) 鉱石などの無機物中のFe、Ni、Cr、Cuの測定
- などの場合、原子化の段階で共存物が分解し、バックグラウンドとして見かけの吸収が現われる。このため、重水素放電管または近接線によってバックグラウンドを補正する必要がある。

表1 検出限界例

Element	λ (Å)	Absolute Sensitivity $g \times 10^{-12}$	Detection Limits μ g/liter	
			HGA-70	Flame AA
Al	3,093	145	1	30
As	1,937	980	30	500
Cd	2,288	1.3	0.02	1
Co	2,407	73	0.7	10
Cr	3,579	26	0.4	3
Cu	3,247	60	0.1	2
Fe	2,483	25	0.4	10
Mn	2,795	11	0.1	2
Ni	2,320	140	1	10
Pb	2,833	38	0.4	20
Sn	2,246	1,500	25	200
Zn	2,138	1.8	0.02	2

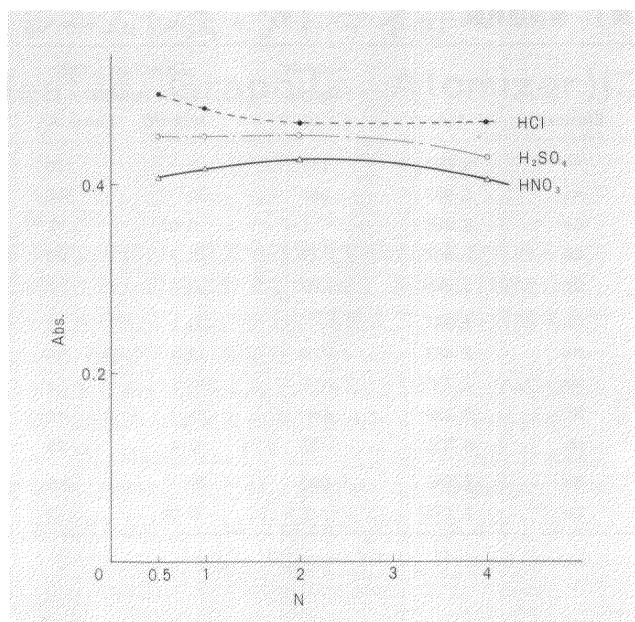
4.2 各種酸による影響

炎による原子吸光法では、各種酸は化学的干渉や吸引速度を変えるなどの影響を与える。このため、筆者らは原子吸光で一般に使用されている各種酸のHGA法でのPbに対する影響を検討した。実験に用いた酸は、塩酸、硝酸、硫酸で、各々、0.5N、1N、2N、4Nの濃度について行った。Pbの濃度は0.2 μ g/ml試料量は20 μ lである。4N程度の酸濃度でも、図4に示すようにほとんど影響は認められない。灰化の段階で分解気化し影響が認められないものと考えられる。ただし、酸濃度が高いと炭素管の劣化を早めることになるため、酸濃度は低くした方がよい再現性が得られる。

4.3 その他

Fernandezらは、PbのNaCl共存による影響を検討した⁸⁾。その結果、図5に示すように、300 μ g/mlのNaCl共存によりPbの吸収は約30%減少している。多量にNaが共存する場合は、バックグラウンド補正を行うとともに、標準添加法による測定を行う必要がある。

筆者らは、Ca、Al、Feなどについて、Pbに対する影響


 図4 酸の影響 0.004 μ g Pb

を検討したが、いずれも100 μ g/ml程度で若干の影響が認められた。いうまでもないが、HGAのような高感度分析ではコンタミネーションに細心の注意を払う必要がある。また、イオン交換水では、かなりのFeの吸収が認められたことがある。ピーク高さから考え、0.1 μ g/ml程度であった。

5. 測定条件の設定

HGAによる測定条件として、(1)乾燥、灰化の温度と時間、(2)原子化温度、(3)試料量、(4)不活性ガスの流量などがある。これらの条件は、測定元素、共存物の種類によって異なり、あらかじめ十分検討する必要がある。乾燥温度は100℃で十分であるが、接続時間は試料量に比例して若干長くすべきである。HGAで、最も重要な条件は、原子化温度と灰化の温度、持続時間であろう。

5.1 原子化温度

一般に、原子化温度が高くなるほど感度は高くなる。図6に原子化温度とPbの吸収強度の関係を示す。0.2 μ g/ml Pb、試料量20 μ lで測定した。再現性を考慮すれば、水溶液では1,800℃から2,000℃で原子化したほうがよい結果が得られる。取扱説明書は、この点を考慮して最適な原子化温度を指定している。

原子化は瞬間的に行われるため、持続時間は数秒程度で十分であるが、残留分がないか注意すべきである。原子化時間を十分長くするか、測定後10s間程度、最高温度にしてクリーンアップを行うことが望まれる。

5.2 灰化温度と持続時間

灰化温度は、共存物が十分分解される温度が望ましいが、目的元素の蒸発に注意すべきである。また、短時間では認められなくても時間を長くすると目的元素の一部が蒸発することがある。図7に灰化時間とPbの回収率との関係を示す。灰化時間8minでは、約20%の減少が認められている。

水溶液では、灰化温度はすべて230℃程度で十分であるが、海水や排水では750℃から1,100℃程度で灰化する必要

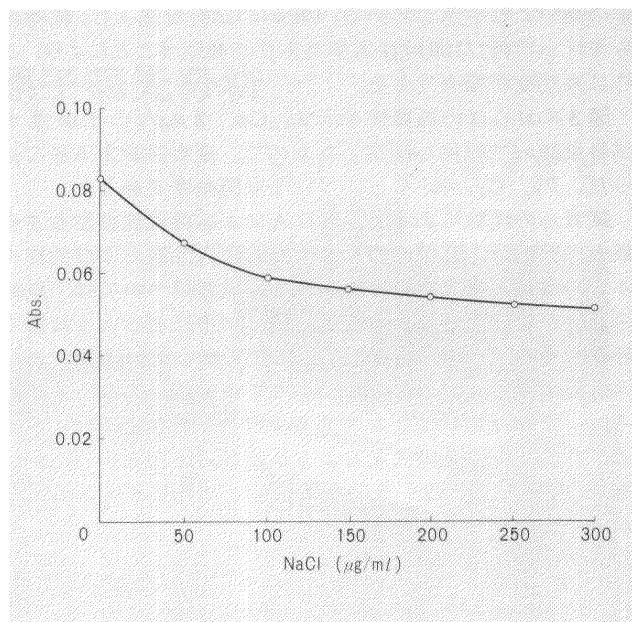


図5 NaClの共存効果 Pb 20ppb

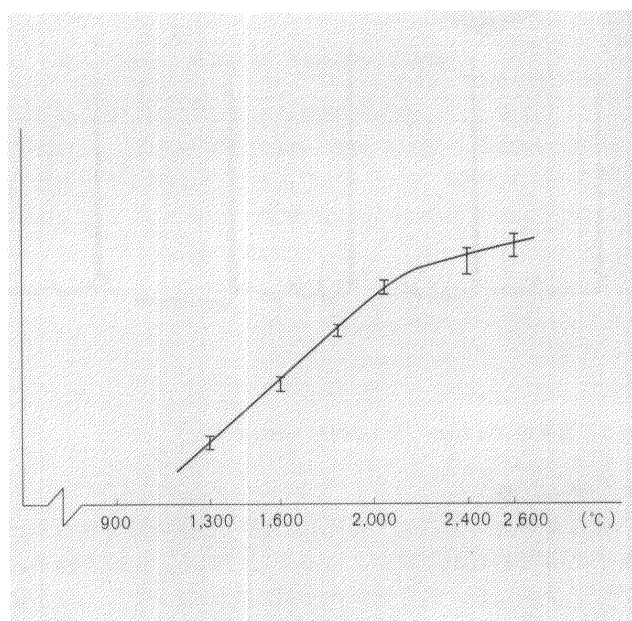


図6 原子化温度と吸収強度 Pb 0.2ppm

がある。しかし、As、Cdなどの低沸点金属では、350℃以上にはできない。

有機物を多量に含む場合でも、灰化時間をかければ分解することができる。固体試料についても、数mgの試料で直接測定が可能である。固体試料用には付属装置(Solid Sampling Spoon)がある。Kerberは、ポリエステル繊維、1~3mg中のAuの直接分析を行った⁹⁾ 800℃で40秒間灰化、2,300℃で原子化を行い、炎による原子吸光法での分析値と極めてよく一致したと報告している。

6. 測定例

HGAや、同様の装置を使用した分析例は、最近かなり報告されている。河、湖水、¹⁰⁾ 海水中の重金属¹¹⁾ 血液中のPb^{12), 13)} などの報告例がある。

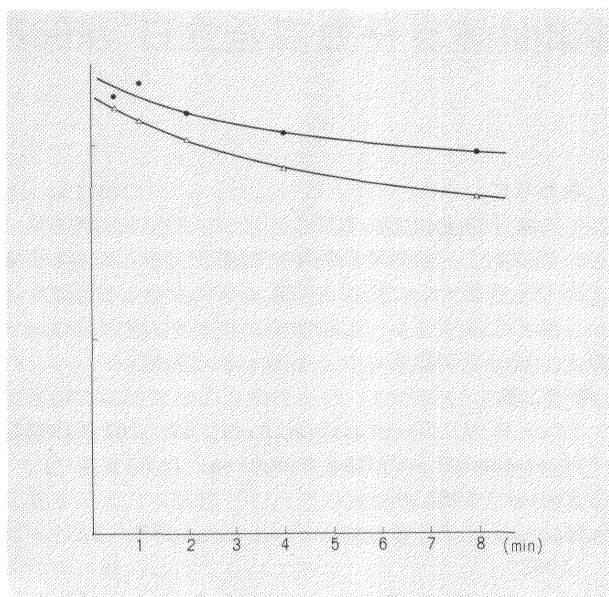


図7 灰化時間と回収率 Pb

筆者らの測定例についてすべて紹介することはできないので、表2に測定条件を示す。この中から3例について紹介するが、この測定条件は試料それぞれについて種々の検討を行った末、決定したものである。なお、血液中のPbについては別の機会に詳しく報告したい。

6.1 米、土壤中のCd(湿式分解)

図8に測定チャートを示す。Cdの吸収は矢印で示したピークで、灰化の段階における煙のピークも記録されている。米は20mg程度を過塩素酸で分解、土壌は0.5gは硝酸で溶解したものを20 μ l注入した。

6.2 清涼飲料中のFe

清涼飲料20 μ lを直接炭素管に注入して測定した。糖分がかなり含まれているが、1,100℃で60s間灰化すれば影響は認められなかった。図9にチャートを示すが、原子化の段階では煙の発生は認められず、ベースラインに完全に戻っている。

6.3 コーンフリ、朝鮮人参中のCo、Ge

コーンフリ、朝鮮人参の粉末を炭素管に数mg入れ、直接測定した。図10にコーンフリ中のCoの測定チャートを示す。灰化の初期の段階でほとんど分解されていることがわかる。測定結果を表3に示すが、溶液試料の場合より再現性に劣る。これは、試料中の金属の分布、秤量精度、炭素管中での状態など、再現性を左右する要因が多くなるためであろう。この測定のように5回程度測定し平均値を求めることが必要である。Co、Geとも1,100℃で180s間灰化、2,500℃で原子化した。

表2 測定条件(溶液試料)

試 料	米・土 壤	牛 の 肝 臓	清 涼 飲 料	食 用 油			潤 滑 油		原 油	ビ ー ル	
試 料 处 理	酸分解	LTA	直 接	直 接			直 接		直 接	直 接	
試 料 量	米20mg ±0.5g	0.1～ 0.2g	20μl	20μl			20μl		5μl	10～20μl	
天 素	Cd	Cd	Fe	Cr	Pb	Ni	Cu	Pb	V	Al	Sn
波 長 (A)	2,288	2,288	2,483	3,579	2,833	2,320	3,247	2,833	3,184	3,093	2,246
乾 燥 (℃)	100	100	100	100	100	100		100	100	100	100
(sec)	40	40	60	40	60	20	0	20	40	30	30
灰 化 (℃)	330	490	1,100	1,100	750	1,100	1,100	490	1,100	1,100	1,100
(sec)	60	30	60	150	180	180	60	180	30	60	60
原 子 化 (℃)	1,500	1,500	2,400	2,400	1,900	2,400	2,400	2,300	2,400	2,400	2,400
(sec)	10	6	5	20	5	6	6	5	6	20	20
使 用 機 種	403	208	403	403			403		403	403	

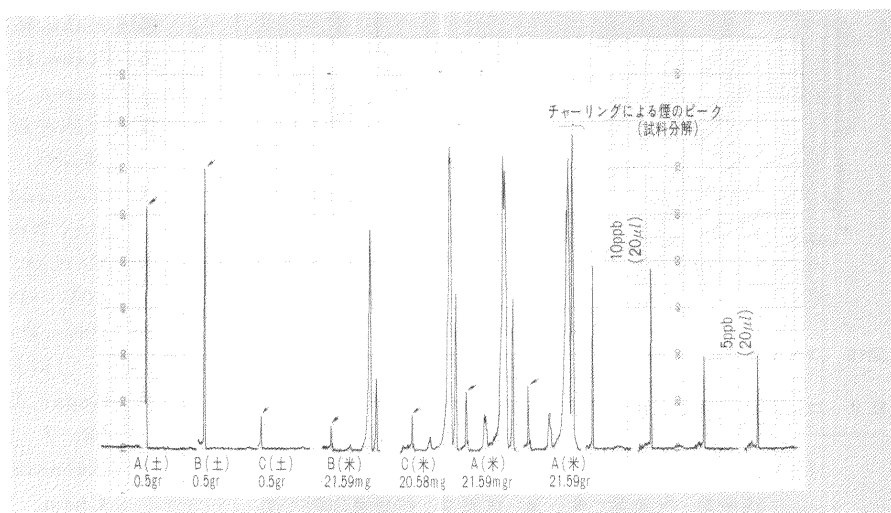


図8 米、土壤中のCd

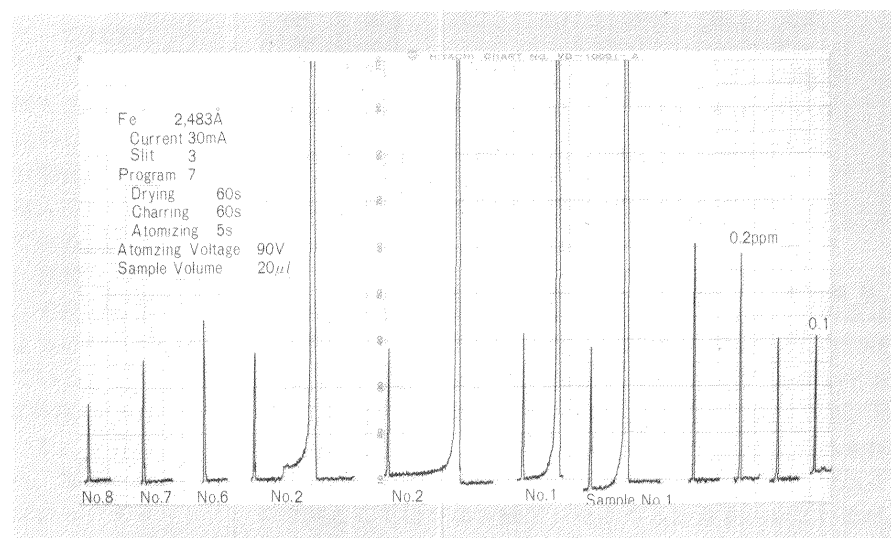


図9 清涼飲料水中のFe

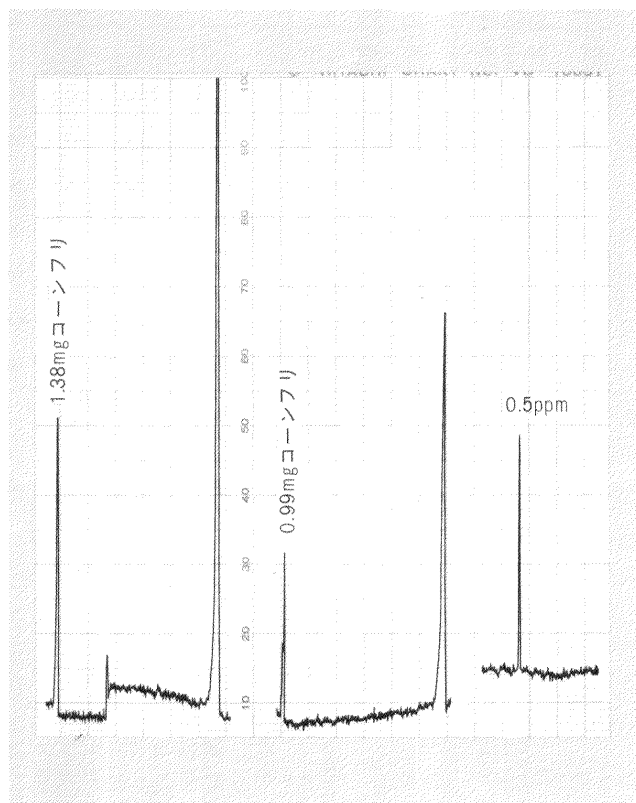


図10 コーンフリ中のCo

表3 コーンフリ、朝鮮人参中のCo, Ge

	Co			Ge		
	試料量	検出量	濃度	試料量	検出量	濃度
コーンフリ	mg	μg	$\mu\text{g/g}$	mg	μg	$\mu\text{g/g}$
1回目	0.99	0.007	7.0	1.13	0.80	710
2	1.13	0.011	9.7	1.68	1.35	800
3	1.38	0.012	8.6	1.94	1.40	720
4	1.76	0.018	10.2	2.43	1.95	800
5	---	---	---	2.74	2.05	750
平均			8.8			750
朝鮮人参	mg	μg	$\mu\text{g/g}$	mg	μg	$\mu\text{g/g}$
1回目	1.84	0.006	3.2	1.62	0.4	250
2	3.29	0.011	3.3	7.70	2.2	280

7. おわりに

新しい原子吸光法であるHGAについて紹介したが、これは、感度向上、前処理の簡略化の面で大きく進歩した技術であり、今後大いに活用されるようになると信じている。灰化、原子化温度をもっと細かくプログラム化することにより、一層分析が容易になるものと考えられる。

参考文献

- (1) L'vov, B. V.: Spectrochim. Acta 17, 761 (1961)
- (2) Massmann, H.: Colloq. Spectrosc. Intern X II, Exeter 1965
- (3) Massmann, H.: Spectrochim. Acta 23B, 215 (1968)
- (4) Manning, D. C. Fernandez, F. J.: Atomic Absorption Newsletter 9, 65 (1970)
- (5) Kahn, H.: American Laboratory 3, 35 (1971)
- (6) Kahn, H. Slavin, S.: Atomic Absorption Newsletter 10, 125 (1971)
- (7) 保田和雄, 長谷川敬彦: 原子吸光分析 102 P 講談社 (1972)
- (8) Fernandez, F. J. Manning, D. C.: Atomic Absorption Newsletter 10, 65 (1971)
- (9) Kerber, J. D.: Atomic Absorption Newsletter 10, 104 (1971)
- (10) Paus, P. E.: Atomic Absorption Newsletter 10, 69 (1971)
- (11) Segar, D. A. Gonzalez, J. G.: Anal. Chim. Acta 58, 7 (1972)
- (12) Kubasik, N. P. Volosin, M. T. Murray, M. H.: Clin. Chem. 18, 410 (1972)
- (13) Norval, E. Butler, L. R. P.: Anal. Chim. Acta 58, 47 (1972)

550形 日立金属成分自動抽出装置について

青木 哲* 高野 信義* 橋本 汎* 阿部寿美雄*

1. はじめに

公害問題が盛んにとりあげられるにつれ、公害防止技術に関連して公害計測技術も注目されるようになってきた。とりわけ、化学分析の自動化が要望されているが、実験室における複雑な分析作業を機械化することはなかなかむずかしいことである。われわれはこの課題に取り組んだ結果、まず溶媒抽出操作の自動化を行う550形日立金属成分自動抽出装置を開発したのでここに紹介する。

この装置(写真)は、水中の金属成分を原子吸光度計で定量することを前提とし、その前処理として、低濃度成分の濃縮および干渉成分からの分離とをあわせ行う溶媒抽出操作を自動的に行うものである。

分析方法は、JIS K 0102(工場排水試験方法)に準拠している。このJIS中の37.2備考3.によるDDTC-酢酸-n-ブチル法を採用した。この分析のフローチャートを示すと図1のようになる。

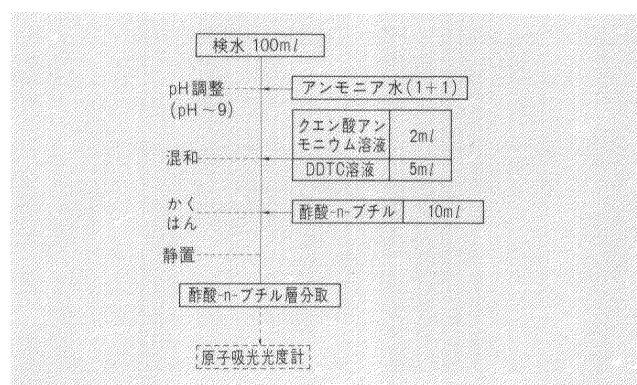


図1 分析のフローチャート

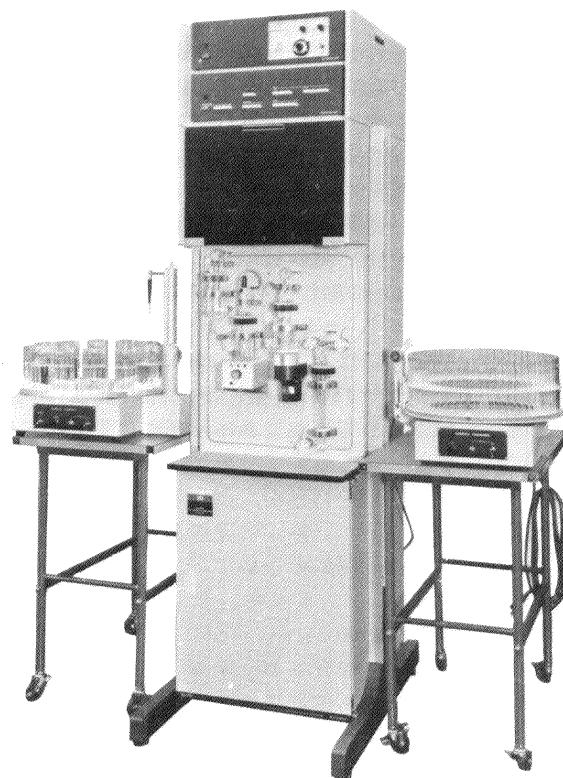
2. 装置の概要

この装置は、試料の供給、pH滴定、試薬添加、かくはん、静置、洗浄、抽出層分取などの諸操作がすべて一定順序に従って動作する。

試料としては、河川などで採取された後、酸を添加してpH 2程度に保存された検水を使用する。この試料はオートマチックサンプラ上の容器から、5分ごとに分析部に自動的に供給される。オートマチックサンプラには、100~300 mlのピーカが12個まで搭載できるようになっているが、処理に必要な試料量は100mlである。分析部は、容器から容器へ試料を移送する方式を採用し、各容器で、その容器固有の化学操作、たとえばpH滴定が行われるようになっていく。移送の動力源としては空気圧を利用している。

分析部には4個の容器があり、それぞれ、試料採取、pH滴定、かくはん、静置の各操作を受けもっている。各容器は試料を処理した後、他の容器に移送してから、加圧された洗浄用水のシャワーで容器内を洗浄する。ブロックダイアグラムを図2に示す。

*日立製作所 那珂工場



550形 日立金属成分自動抽出装置

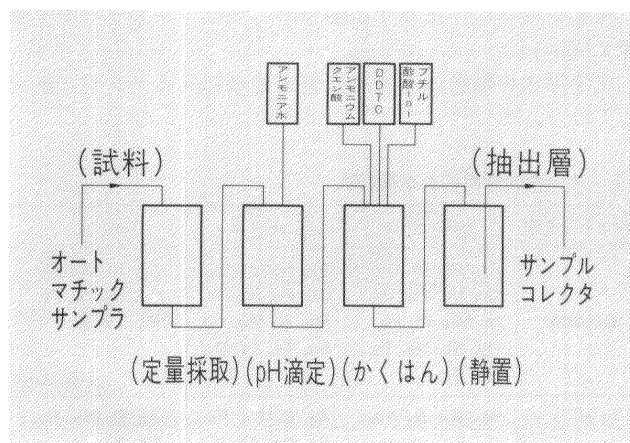


図2 ブロックダイアグラム

抽出溶媒には酢酸-n-ブチルを使用しており、その添加量は10mlなので、試料中の金属成分濃度は抽出後には10倍に濃縮されることになる。錯化剤にはDDTC^{a)}を用いており、この錯化剤の働く条件としてpHを約9に調整することを標準としているので、この条件下でDDTCと錯体を作る金属成分は表1のとおりとされている(表1¹⁾)。マスキング剤としてはクエン酸アンモニウム溶液を用いているが、この効果は表1中の酒石酸塩とほぼ同様である。なお、本装置ではpH滴定値の設定が可変できるようになっている



ので、他の pH 値においても抽出を試みることもできる。また、錯化剤として APDC^{b)}を用いることもできるが、抽出溶媒として MIBK^{c)}を用いることは水層との分離に長時間を要し、自動化が困難であった。試薬添加量は図に示した量に固定されたものでなく、ディスペンサのシリンジのストロークを調節することによって変えることができる。

溶媒抽出の主要操作は、水と抽出溶媒とのかくはんおよび分離の 2 つの操作に分けて考えることができる。かくはんはマグネチックスターラにより行っている。分離は水と抽出溶媒との混合液を静置することにより、両液の比重の差を利用して行っている。

抽出層の分取は、静置後の抽出溶媒層を空気圧を利用してサンプルコレクタ上の試験管に移しとる。分取量は 7～8 ml 程度であって、添加した有機溶媒全量を分取していない。

サンプルコレクタには試験管が 60 本まで搭載できる。標準の試験管の大きさは 15 mm (径)×150 mm (高さ)である。

装置の運転はきわめて容易である。運転に先立つ予備操作としては、ディスペンサの手動駆動による古い試薬の排出、各容器の洗浄排水を行うが、これらの操作スイッチは電源部のコントロールパネルに配置されている。運転用のスイッチには、運転開始のために「スタートスイッチ」、停止のための「ストップスイッチ」、緊急停止用の「リセットスイッチ」の 3 つがある。

「スタートスイッチ」を押すと、オートマチックサンブラ上の試料が自動的に分析部に供給され、処理される。

「ストップスイッチ」を押すと、新たな試料吸入を行わず、分析部に入っている試料が順次処理されてサンプルコレクタに分取されてから停止する。

運転を即時に停止させる場合は「リセットスイッチ」を押せばよい。

洗浄用水の補給は、随時に装置背後にあるタンクに補充して行う。

表 1 マスキング剤による選択性

マスキング剤	pH—5～6	pH—9	pH>11
酒石酸塩	Ag, As, Bi, Cd, Co, Cu, Fe, Hg, In, Mn, Ni, Pb, Pd, Sb, Se, Te, Tl, Zn	Ag, Bi, Cd, Co, Cu, Fe, Hg, In, Mn, Ni, Pb, Pd, Sb, Te, Tl, Zn	Ag, Bi, Cd, Co, Cu, Hg, Ni, Pb, Pd, Tl, Zn
EDTA	Ag, As, Bi, Cd, Cu, Fe, Hg, In, Mn, Pb, Pd, Sb, Se, Sn, Te, Tl	Ag, Bi, Cu, Fe, Hg, Pd, Sb, Te, Tl	Ag, Bi, Cu, Hg, Pd, Tl
KCN		Bi, Cd, Fe, In, Mn, Pb, Sb, Te, Tl	Bi, Cd, Pb, Tl
クエン酸塩 + EDTA		Ag, Bi, Cu, Hg, Sb, Te, Tl	

3. 測定データ

次に本装置を用いて抽出処理した結果について述べる。

Cu および Cd イオンを一定量含む溶液をそれぞれ 20 本本装置により抽出し、208 形日立原子吸光光度計により定量した結果を図 3 および図 4 に示す。両図は同一濃度試料による再現性を見たものであるが、図 3 の場合はその再現性は 0.5% (変動係数による) となっている。このときの試料の Cu イオン濃度は 0.1 ppm であった。また、図 4 における再現性は同じく変動係数で表わして 0.6% で、このときの Cd イオン濃度は 0.05 ppm であった。この再現性の結果には原子吸光光度計による測定誤差が含まれていることを考え合えると満足すべきものであり、おそらく相当の分析経験をもつ人が溶媒抽出を試みた場合に比べても、遜色のないものと思われる。

次に、段階的に濃度を変えた試料を濃度ごとに 2 本ずつ

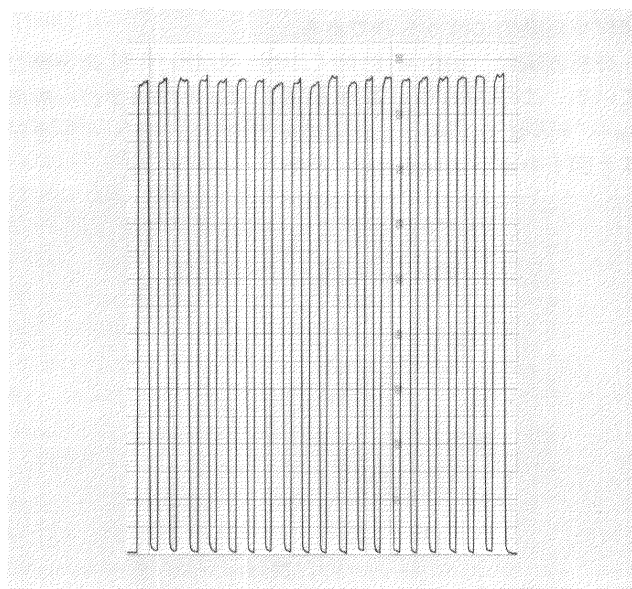


図 3 再現性 (Cu 濃度: 0.1 ppm)

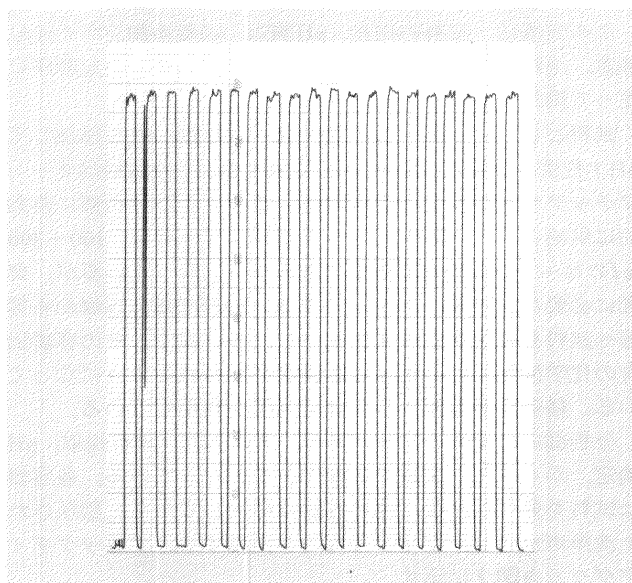


図 4 再現性 (Cd 濃度: 0.05 ppm)



抽出して検量線を検討した。この結果を図5(a)に示す。使用した金属イオンはCuであり、各濃度は図中に記載してあるとおりである。この結果は良好な直線性を示している(図5(b))。

最後に、抽出を行った場合と行わない場合とで検出感度がどのくらい増大するかを検討した。図6(a)、(b)にCuイオンを例にとって実験した結果を示す。まず、0.5ppmのCu水溶液を208形日立原子吸光光度計により測定する。これが図6(a)の結果である。このCu水溶液を抽出して、20倍に希釈して測定した結果が図6(b)である。

この場合、有機溶媒を噴霧させるときは燃料の流量を少なくしなければならない。

図6(a)、(b)を比較すると、抽出した結果約20倍に感度が上っていることがわかる。この感度増大の原因は、抽出の際の濃縮によるものと有機溶媒効果とが考えられる。この

場合、濃縮比は10倍であるので、有機溶媒効果が約2倍相乗されていることになる(有機溶媒効果は普通2～5倍とされている)。このように低濃度成分が感度よく測定できる。

4. まとめ

上述の如く、本装置はJIS K 0102に準拠する溶媒抽出を自動化したもので、1試料の処理時間は10分、サンプリング間隔が5分(処理能力：12検体/時)という速さで処理ができ、低濃度の成分の定量に大きな威力を発揮するので、多数試料を処理する必要がある各所の分析センター、研究所などで大いに活用されるものと期待される。

なお、溶媒抽出における抽出効率、日常作業者の抽出動作の緩急により大きく左右されるが、この自動化により本文のデータに見られる如く分析精度が著しく向上されるにいたったこと、および抽出に用いる有機溶媒が最近労働衛生上問題があるとされているが、この自動装置により溶媒蒸気から作業者を完全に隔離できるようになったことも特筆すべきことである。

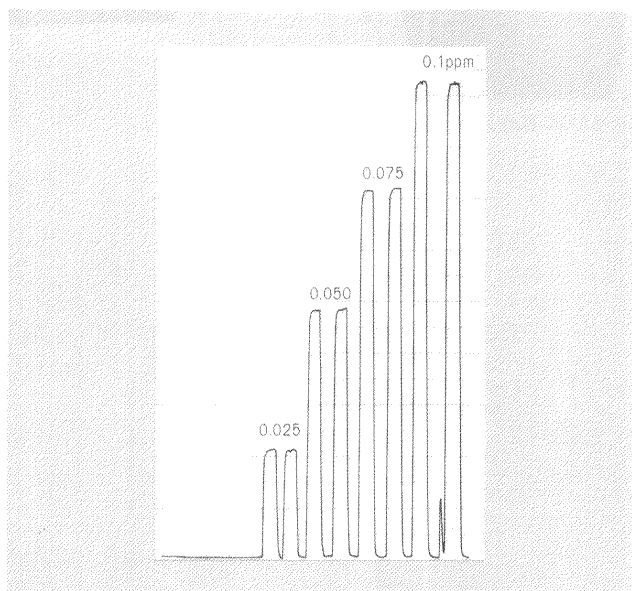


図5(a) 検量線 (Cu)

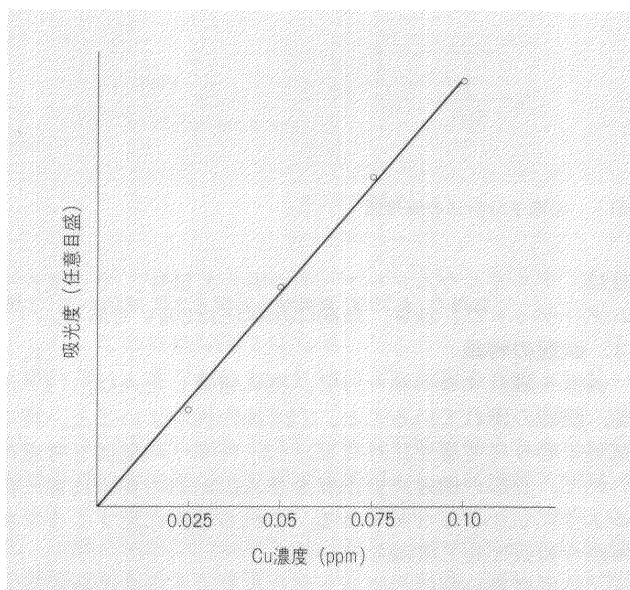


図5(b) 検量線

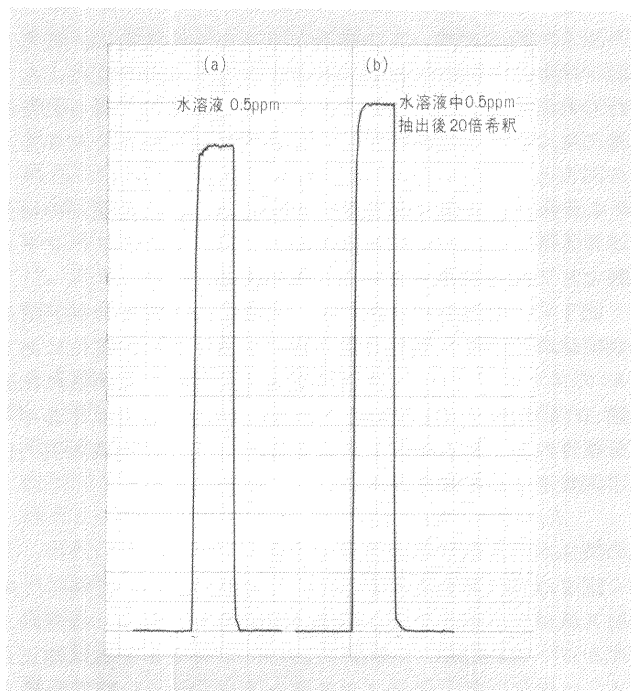


図6 感度の増大

参考文献

- 1) 日本規格協会：工場排水試験方法の改正 JIS 説明会テキスト (1971)

E-507形 日立光電子分析装置 (ESCA)

柴田 淳* 竹花 洋一* 松下 甫*

X線を物質に照射して生じる光電子の運動エネルギーは、照射線のエネルギーから、電子の結合エネルギーを差し引いたものに等しい。特に、X線が照射源である場合には、従来の光電効果を利用した測定手段と異なり、原子の内殻のイオン化が可能であり、結合エネルギーを精密に測定することによって、水素を除いたあらゆる元素の同定をはじめ、化学結合状態での、いわゆるケミカルシフトを直接的に知ることができる。

この方面の先駆者である K. Siegbahn らが、上記の特長に着目し、ESCA (Electron Spectroscopy for Chemical Analysis) と呼んで広範な測定例を発表して以来、各界からの注目を集めるにいたっている。

1. 原理

原子の内殻についての結合エネルギーの決定は、従来X線の吸収端や特性X線の励起ポテンシャルの測定によって行われてきた。しかし、これらの測定法では、得られた曲線のもつ性質が実験結果についての的確な判断をくだすための障害となっている。

しかるに、光電子分光法においては、各々の電子の結合エネルギーが、バンド構造を除いては、すべてスペクトル線として記録できるという利点がある。

図1に、金属試料を例にとった場合の光電子分析装置の測定原理を示す。試料は電子線アナライザと同電位にある。 $h\nu$ のエネルギーをもったX線光子によって放出された運動エネルギー E_k の光電子はアナライザによりエネルギー分析される。結合エネルギー E_b はアナライザ構成物質の仕事関数を ϕ_{sp} とすると、

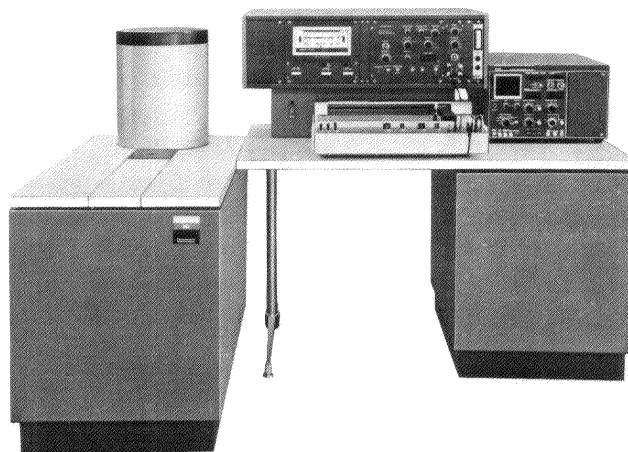
$$E_b = h\nu - E_k - \phi_{sp}$$

の関係から決定することができる。

図2は507形装置による金の蒸着膜の測定例である。照射X線はマグネシウムの $K\alpha$ 線を使用した。横軸には運動エネルギー E_k を記してある (アナライザの仕事関数は補正し、 $\phi_{sp} = 0$ とした)。結合エネルギー E_b は $h\nu = 1,253.6\text{eV}$ として上記関係式から求めることができる。図中に検出された炭素 (C-1s) および酸素 (O-1s) は試料表面の吸着物質と考えられる。

2. 構造

図3に装置の系統図を示す。電子線のエネルギーアナライザには、同軸円筒形 (Cylindrical mirror) を使用している。図では断面図で示されている。アナライザの焦点としては、同軸円筒の中心軸から外れた位置にリング状の入射および集束スリットを設けたことが特長で、これによって光電子の透過率を増して感度の向上を図っていると同時に、測定位置にあたる試料面とアナライザの焦点が分離された結果、試料面の凸凹などにより分解能や感度に影響を受けない構造となっている。X線源は、マグネシウムまたはアルミニウムの $K\alpha$ 線を標準として使用している。X線管の容



E-507形 日立光電子分析装置

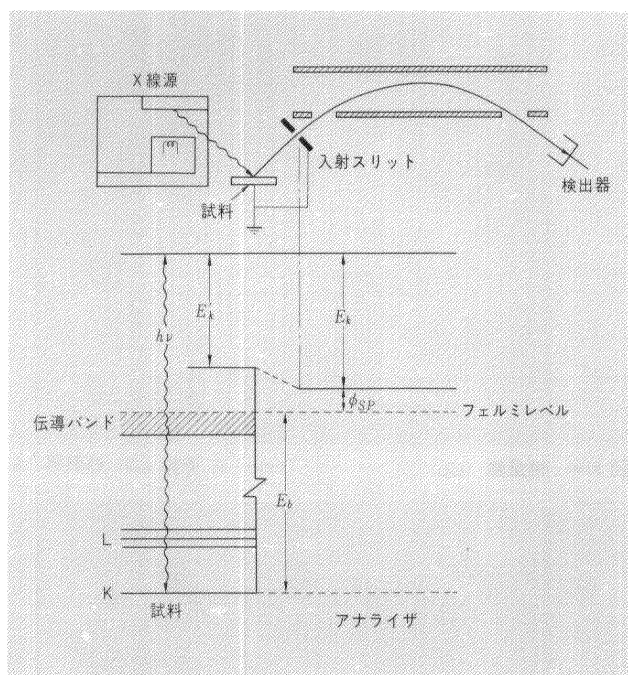


図1 光電子分析法の原理図

量は、アルミニウムターゲットの場合 1.5kW 、マグネシウムターゲットで 1.2kW 、最高印加電圧は 20kV である。

3. 装置の特長

装置を設計するにあたって、特に留意した点は、(1)性能、機能の優れていること。(2)操作性がよいこと。特に試料まわりに考慮を払うこと。(3)将来への発展を考慮にいて、各部の構造に自由度を与え広範囲の要求に答えるようにしたことなどである。これらは次に記すような具体的な特長として実現している。

(1) 高感度高分解能の優れた特性をもった同軸円筒形 (Cylindrical mirror) 電子線エネルギーアナライザを採用

*日立製作所 那珂工場 電子装置部

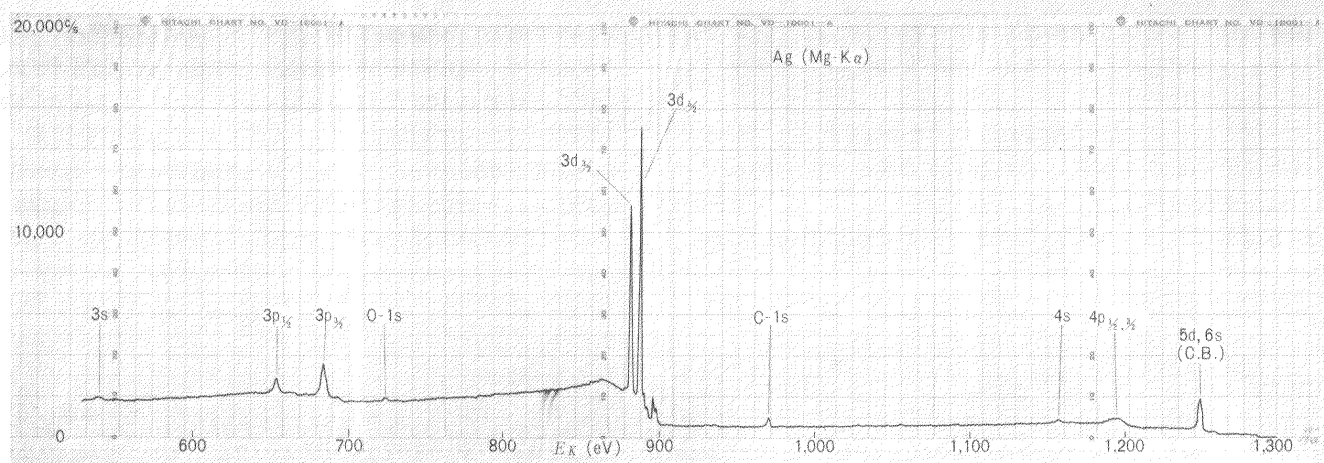


図2 金蒸着膜の光電子スペクトル

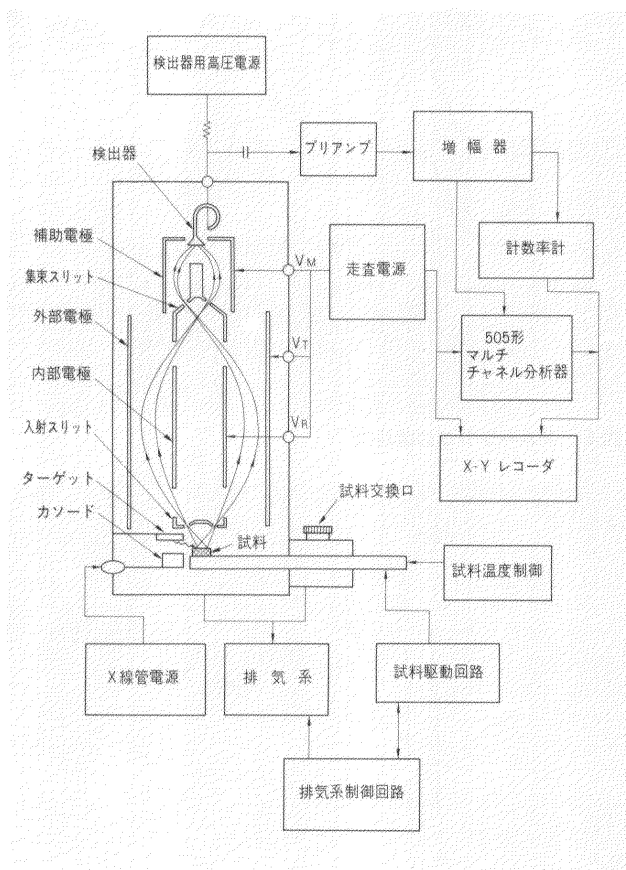


図3 E-507形 日立光電子分析装置 (ESCA) の構成

した。この結果は図2にも示したように、バックランドの少ない、すなわちL-B比のよい記録を可能としている。

- (2) 清浄な雰囲気のもとでの分析を可能にするために、有機系ガスの混入を極力避ける構造とし、真空排気にはイオンポンプを採用した。
- (3) 試料の準備や装着が容易にでき、かつ安定した位置で保持できることを最優先に考慮した結果、平板状の試料が上向き水平の状態での測定できる構造とした。

- (4) 試料を大気中から交換し、測定開始までに要する時間を短縮して測定能率の向上に努めた。特に前処理を必要としない固体試料の場合には、5分以内で交換が可能である。この場合、ソーブションポンプなどによる中間排気を必要とせず、油回転ポンプで荒引きした後、直ちに高真空分析室へ移動させることができる。
- (5) 測定に先だって、試料の前処理を必要とする場合も多いと考えられるので、分析室に隣接した試料準備室を設け、蒸着、焼出し、気体導入による反応処理、イオン照射による表面の清浄化などを目的とした各種のアタッチメントの装着を可能とした。また、将来追加される場合を考慮して予備フランジを付けた。
- (6) 分析室においても、各種アタッチメントの装着や、将来の発展段階に即応できることを考慮して、広い分析室内空間を確保すると同時に複数の予備フランジをもつ構造とした。
- (7) 試料は4個同時に装着し、分析室内での選択は、排気系の各種バルブ操作とともに、前面パネルの押しボタンで容易に操作できる方式として、能率を向上させた。
- (8) 大容量のX線管(1.5kW)を開発し、高感度の測定を実現させた。X線管のフィラメントの温度を低く保つことのできる(2,200℃以下)構造としたために、長寿命(半年以上)が得られ、また、フィラメントの蒸発による周囲の汚染を極力少なくすることに成功した。
- (9) 計数、記録走査の各回路は、回路自体に記憶機能をもたせて、種々の測定シーケンスプログラムを可能とした。この方式はコンピュータを追加した場合に、その能力を本来のデータ処理のためにより多く拡大できる特長がある。さらに、505形マルチチャンネル分析器の接続も可能である。マルチチャンネル分析器によって、高精度なデジタルステップスキャン方式での繰返し積算走査や、データ処理として、スムージング、バックグラウンドの引き算、ブラウン管へのディスプレイ、データの記憶とトランスファなどが、内蔵のハード部で可能である。



4. 測定例

図4は銀の蒸着膜を試料として3d殻の $\frac{3}{2}$, $\frac{5}{2}$ スピンドレットを測定したものである。照射X線源はマグネシウムK α 線である。

スペクトル分解能は半値幅の位置で0.95eVに達している。分解能を低くとり、半値幅で1.5eVまで許せば50,000カウント以上が得られる。

図5は金のスペクトルを、標準の走査回路に内蔵した飛

び越し走査機能を使用して自動プログラム方式で記録したものである。不要なバックグラウンド領域を省略して走査できるので、測定能率が大幅に向上する。測定は4個所についてそれぞれ100点(100 channel)ずつ、0.2eVのステップ間隔で行っている。

図6は505形マルチチャンネル分析器のデータ処理機能によりスムージングを行った例である。スムージング前のスペクトル(最下段)から、スペクトル左方に記してある数

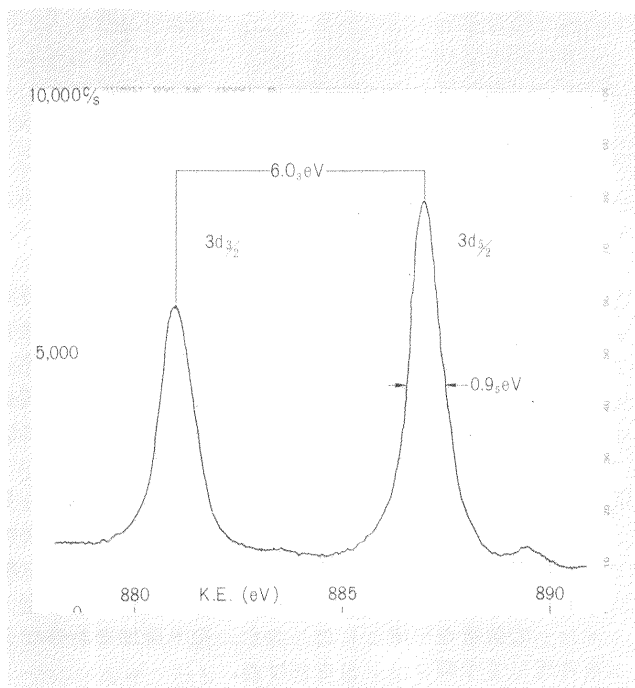


図4 銀蒸着膜による3dスペクトルの測定(MgK α 線照射)

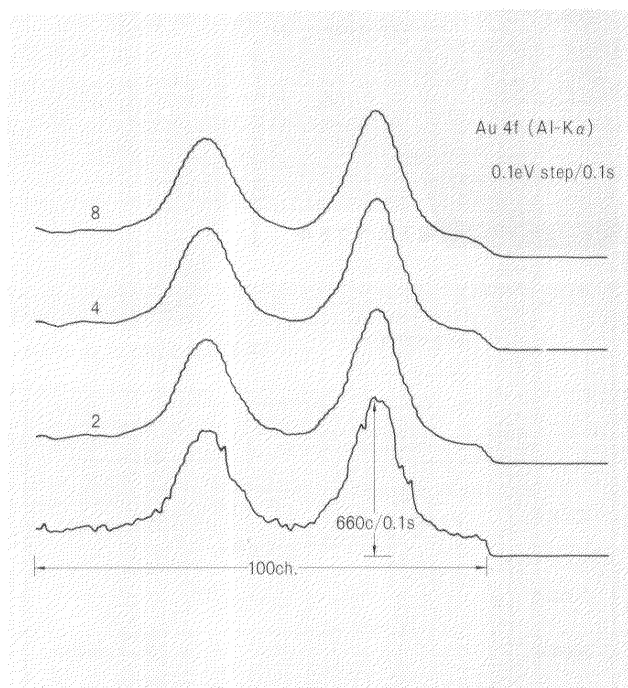


図6 スムージングの適用例

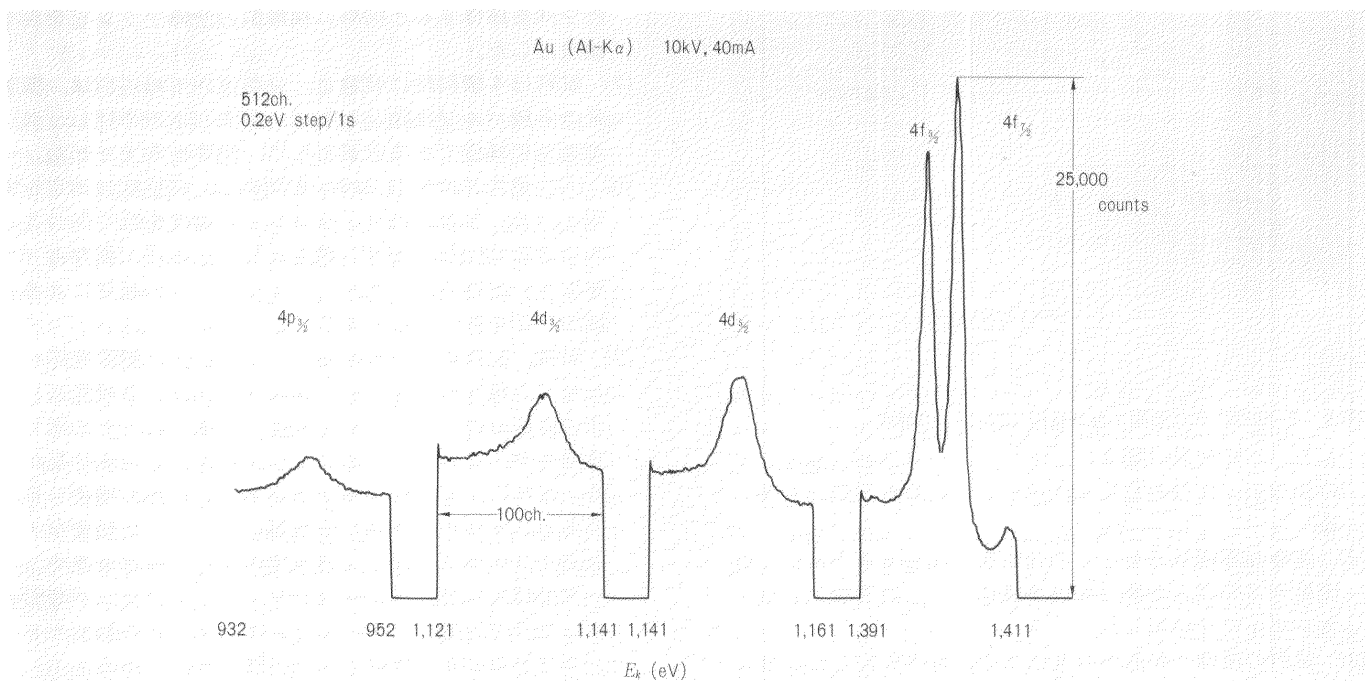


図5 プログラム記録による金のスペクトルの測定例



字に対応して順に2, 4, 8回のスムージングを行っている。スムージング操作は、ブラウン管に表示されるスペクトルを観察しながら、パドルスイッチ操作により行うことができる。

5. 表面分析およびケミカルシフトの測定例

光電子分析法の特長の一つとして、試料表面の薄層の検出感度が優れている点をあげることができる。1 keV前後の光電子は、試料内での吸収量が大きく、測定対象となる表面層の厚さは通常50ないし100Åといわれている。図7はシリコン単結晶ウェーハの測定例で、大気中に放置された試料(下段の記録)には酸化層が認められる。図中下段の各スペクトルが2本に分離しているが、これは酸化によるケミカルシフトを起したスペクトルが加わっているためである。フッ化水素酸により洗浄した後の測定(上段)では、酸化層に対応するスペクトルが消滅していることが確認できる。

図8は、各種のリン化合物の示すケミカルシフトの測定例である。化学結合状態の相違により、分子中の電荷の分布に対応してケミカルシフトが観測されている。

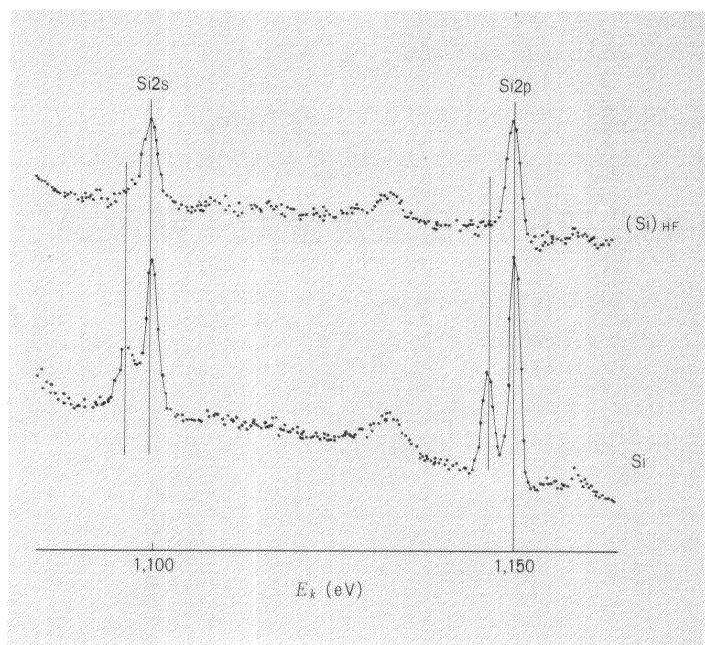


図7 シリコン単結晶ウェーハの表面酸化層の検出

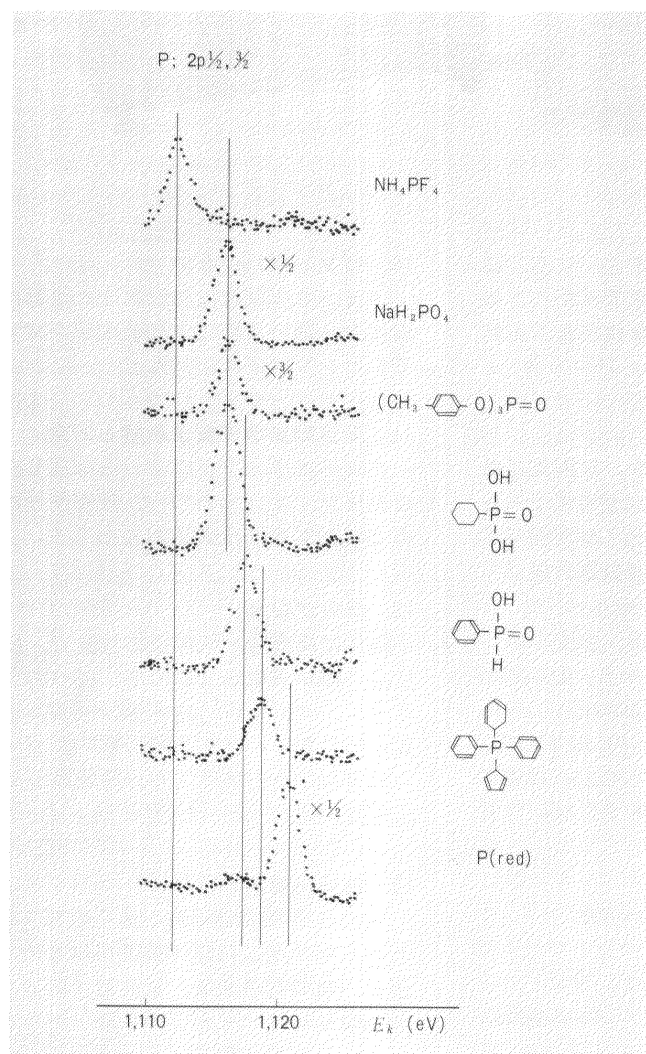


図8 種々のリン化合物の示すケミカルシフトの測定例

お知らせ

H. S. I. NEWS 索引の発行について

このたび、本ニュース Vol. 12～Vol. 15 (1969～1972年)の掲載記事の索引を作成いたしました。これは前回の索引 (Vol. 1～Vol. 11 1969年2月発行) につながるものです。前回の索引は読者全部に配布いたしましたが、今回は、ご希望の方のみに配布いたします。ご希望の方は、日製産業(株)精機企画室宛ご請求ください。

新製品紹介

高性能、かつコンパクトな構成 低・高倍率同時表示装置が使用できる HHS-2R形 日立走査電子顕微鏡

このたび、日立では、HHS-2R形日立走査電子顕微鏡を新たに開発いたしました。

HHS-2R形は、どなたにでも簡単な操作で高分解能の像がえられ、しかも保守が容易なコンパクトな装置です。

低高倍率像同時表示装置が使用できますので、試料の視野選択をきわめて容易に行うことができます。

■ 特 長

1. 高分解能です。

100Å またはそれ以上の高分解能が得られます。

2. 鏡体に三段レンズ系を採用

非常にコンパクトにまとめられています。しかも三段レンズ系を採用しているので、簡単な操作で高分解能像が得られます。

3. ほとんど軸調整が不要

電磁方式ですから、フィラメント交換の際、鏡体の機械的な軸調整はほとんど不要です。

4. 最適の加速電圧で観察できます

1kV から30kV まで多段階に変えられるので、どのような試料でも最適な加速電圧を用いて観察できます。

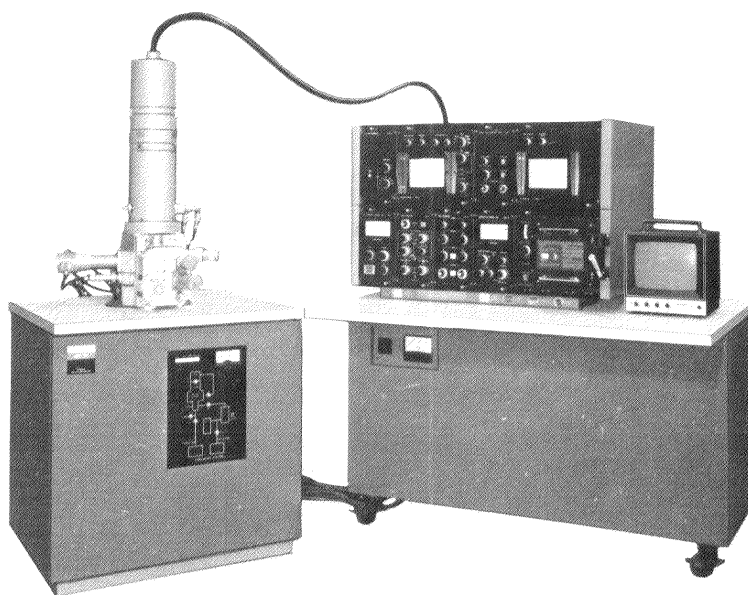
5. 視野選択範囲が広い

倍率は、 $\times 20$ から $\times 200,000$ まで細かく変えることができます(連続)。

また、低・高倍率像同時表示装置(特別付属品)を用いると、試料の低倍率像を観察しながらその視野の微小部分を別のCRTに拡大して見られるので、試料微動装置をいちいち動かさずに視野選択ができます。

6. 大きい試料サイズ

標準サイズで1インチ径 $\times 10$ mm高さ



の試料まで装てんできます。なお、試料微動装置は引出し方式ですから、必要があればもっと大きな試料まで入れることができます。

7. 検知モードが多い

二次電子モードのほか、反射電子モード、吸収電子モード、透過電子モードその他のあらゆるモードが可能です(二次電子モード以外は特別付属品)。

8. 画像モードが多い

通常のNORMALモード、PHOTOモードのほかに、OBLIQUE、LINE ANALYSIS、SPOT POSITION、RAPID SCAN、TV SCANなどのモードが可能です(TV SCANは特別付属品)。

9. ハレーションフリーです

信号増幅器にガンマコントロール回路が組込まれているので、常にハレーションフリーのソフトトーンの画像が得られます。

10. ピントずれがない

フォーカス電流は加速電圧と連動可変になっているので、加速電圧を変えてもピントはずれません。

11. 全自動排気で安全装置も万全

ニューマチックシステムを採用し全自動排気です。もちろん、停電や断水などに対する安全装置も万全です。

12. 保守が容易

鏡体は高真空・低汚染の設計で、絞りは外部から取出せるので、絞りのクリーニングのために鏡体を分解する必要はありません。また、長期間クリーニングをしない状態でも分解能は低下しません。

13. 特別付属品

試料を高角度に傾斜させて観察するための高角度試料傾斜装置をはじめ、通常の吸収電子装置、反射電子装置、透過電子装置、そのほか各種アタッチメントが用意されています。



すぐれた性能と操作性

基礎研究から精密構造解析まで、用途に応じて自由にユニットの組合せができる

RMU-Mシリーズ 日立質量分析計

RMU-6M, RMU-6MG, RMU-7M形

このほど、日立では、新たにRMU-Mシリーズ日立質量分析計を開発いたしました。

近年、質量分析計は、有機化合物の解析をはじめ各化学の分野で不可欠の装置となっており、ますます高性能の装置が要求されています。RMU-Mシリーズは、長年にわたる実績をもつ日立がさらに性能と操作性を向上させた新形で、基礎研究から精密構造解析まで広くご利用いただけます。

用途に応じ、次の3機種よりお選びください。

■RMU-6M形 日立単収斂質量分析計

有機構造解析に便利な普及形で、信頼性の高い単収斂質量分析計です（薬学、化学、農学、医学の基礎研究および各種の化学工業の応用研究用）。

■RMU-6MG形 日立ガスクロマトグラフ質量分析計

高性能を誇る本格的GC/MCです。GC部は定評ある日立063形を使用しています（生化学、薬学、医学の基礎応用研究および公害計測用）。

■RMU-7M形 日立二重収斂質量分析計

高分解能、高感度、高信頼性の二重収斂質量分析計です。精密な質量測定（ミリマス）に最適です（合成化学、製薬、石油化学、生化学、食品など広い分野の研究用）。

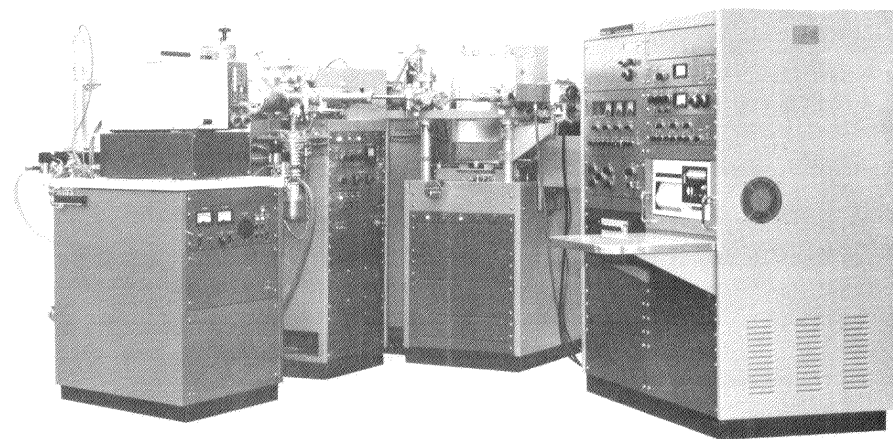
■特 長

1. 高分解能

M/ Δ M 27,000 (RMU-7M形), M/ Δ M 12,000 (RMU-6M形, -6MG形)以上の高分解能により、有機化合物の構造解析に不可欠なデータが豊富に、しかも迅速に得られます。

2. 効率の高いGC直結分析 (RMU-6MG形)

高性能ヘリウム分離器の働きで、GCカラムからの微量成分の質量スペクトルを瞬時に記録できます。（RMU-6MおよびRMU-7M形もガ



RMU-7M形 日立二重収斂質量分析計

スクロマトグラフとの直結が可能です）

3. 測定しにくい試料の分析が容易

直接試料導入装置により、気化しにくい試料、微量試料、熱分解しやすい試料が高感度で分析でき、試料の交換も容易です。

また、常温で気化しやすい試料を冷却導入することもできます。

4. 負イオンスペクトルの測定が容易

イオン加速電場・分散磁場の極性スイッチの切換操作だけで、負イオンの質量スペクトルが得られます。

5. 広い質量範囲を1回で記録します

分解能や感度をくずさずに、質量比750倍の質量範囲を1回で掃引します。

6. データ処理装置との接続が容易です

高安定度の電流リニアスキャン、逆励磁スキャンができるので、高精度のデータ処理ができます。

7. スキャンは自在です

電流リニアスキャン、エキスポウネンシャルスキャン、超低速スキャンの3モードの正・逆スキャンが自由に選べます。

8. イオン源室のエアロックができます

イオン源室を独立にエアロックできるので、フィラメントやイオン源の交換が能率的にできます。

9. 差動排気装置を標準装備しています

差動排気装置を装備しているので、

試料導入流量を増加させて検出感度を向上させることができます。特にガスクロマトグラフの場合に威力を発揮します。

10. ゴーレイカラムの直結ができます

ガスクロマトグラフ直結で、特にゴーレイカラムを用いる場合、ヘリウムセパレータを介さずにカラムを直接イオン源に結合できるので、感度・分離能ともに抜群の性能を示します。

11. メタステーブルイオンが高感度で検出できます

Nier-Johnson イオン光学系を採用しているため、メタステーブルイオンを明りょうに検出記録でき、フラグメンテーションの解析が容易です。

12. 各種の保護装置を完備しています

停電・断水・真空低下時などの安全保護装置が完備しているので安心してご使用ができ、保守に手間がかかりません。

13. 豊富な付属装置がそろっています

直結用ガスクロマトグラフ、高速マスマーカー、同位体比比較測定装置（ダブルコレクタ）、全ガラス製試料導入装置、イオンポンプ排気装置など多くの付属装置が用意されています。分析目的に応じてあとの増設や入換えが簡単にできます。



高い分解能, すぐれた波長精度

高い感度と安定度をもつ

MPF-4形 日立分光けい光光度計

このほど、日立では新たにMPF-4形 日立分光けい光光度計を開発いたしました。

MPF-4形は、0.2nmの高分解能、 ± 0.3 nmの波長精度をもち、従来からの超高感度に加えて高い安定度を備えており、すぐれたけい光スペクトルが得られます。

■特 長

1. 0.2nmの高分解能です

新しくルーリングした1,200本/mmの低速光グレーティングとカーブスリットの採用で、励起・けい光両分光器ともにけい光装置で最高の分解能です。

2. ± 0.3 nmのすぐれた波長精度です

分解能の向上とともにサインバー方式による波長駆動によって、励起・けい光両分光器ともに信頼できる精度をもっています。しかも、波長マーカは10nm間隔で入るので正確に読取れます。

3. 0.05ppbの硫酸キニーネが超高感度で検出できます。

けい光分析に適した明るいグレーティング分光器の採用により、超高感度で測定できます。

4. 1時間で0.5%以内の安定度です

励起側分光器を出た光をモニタリングして光源の変動を補償しているため、安定度は1時間で0.5%以内と一段と向上しました。

5. 波長は読取り易いカウンタ方式です

波長は4ケタのカウンタで読み易く、しかも、0.2nmの最小目盛が付いているので、波長の読取りが精度よく容易にできます。

6. 全量けい光測定ができます。

励起、けい光側とも0次光が取り出せるので、全量けい光測定ができます。また、キセノンランプの輝線による波

長校正が容易です。

7. 吸収スペクトルが得られます

励起、けい光両波長を同時に駆動できるので、試料の放射するけい光の影響を受けずに吸収スペクトルの測定ができます。

8. リピートスキャンもできます

波長軸と記録計のチャート駆動軸をリピートスキャン装置（特別付属品）でつなぐことにより、けい光の時間的変化も記録できます。

9. 豊富な付属装置がそろっています

薄層クロマト付属装置をはじめ、リン光付属装置などのけい光分析に必要な付属装置がそろっています。光源部に、オゾン分解装置を取付けばオゾンの放出による人体への害を防ぎます。

10. 操作しやすく能率的です

操作つまみはすべて前面にあり、各ユニットは機能的に配置されているので、能率的に精度よく測定ができます。

■仕 様

●光度計本体

1. 励起・けい光分光器

光学系：ツェルニターナマウンティング、明るさ：F4、
グレーティング：1,200本/mm
ブレース波長：300nm

2. スリット

0~20nm 連続可変

3. 波長範囲

目盛範囲：0~1,200nm

測定範囲：200~900nm および0次

4. 分解能 0.2nm

5. 波長精度 ± 0.3 nm

6. 波長送り 15, 30, 60, 120, 240 および480nm/min

7. 光源 150Wキセノンランプ

8. 検知器 R-446F ホトマル

9. けい光側フィルタ内蔵

5枚のカットフィルタを内蔵

10. 測光方式

直接法 (ENERGY)

比測光 (RATIO)：ダイノードフィードバック方式

11. 大 き さ

幅750×奥行500×高さ320 (mm)

●増幅器

1. 感度切換 $\times 0.1, \times 0.3, \times 1, \times 10, \times 30$ および $\times 100$ の7段

精度 $\pm 0.5\%$ 以下

2. レスポンス

HIGH, MEDIUM, LOW
の3段切換

3. バックグラウンドの補償

フルスケールの3倍の浮上りまで補償可能

4. 大 き さ 幅440×奥行290×高さ133 (mm)

(編集後記)

■本ニュースも、本年をもって創刊16年目を迎えましたが、更に内容の充実に努力したいと考えております。読者各位の御研究分野がきわめて広範囲にわたり、当社の取扱製品も多岐にわたる結果、夫々の号において、特定の製品にかたよることなく、共通に関心をもっていただけるテーマを如何にそろえるかということが課題であります。読者各位のご意見をお寄せ頂ければ幸いです。

す。

■本号の報文では、分光分析に関するもの5件、液体クロマトグラフに関するもの1件、ESCAに関するもの1件を掲載いたしました。

本NEWSに関するお問合せは、下記へご連絡ください。

日製産業株式会社 精機企画室

東京都港区芝西久保桜川町2 第17森ビル

〒105 TEL (03) 501-5311

THE HITACHI
SCIENTIFIC INSTRUMENT NEWS
FEBRUARY, 1973, Vol.16 No.1

発行 昭和48年2月1日

(年6回 毎偶数月発行)

発行人 比良清一

編集人 高橋 弘 岩井孝之

発行所 株式会社 日立製作所 計測器事業部
東京都港区芝西久保桜川町2 第17森ビル
〒105 TEL (03) 501-7201

印刷所 日立印刷株式会社