THE HITACHI SCIENTIFIC INSTRUMENT NEWS

APRIL 1973
VOL. 16 NO. 2

目　次

巻　頭　言

分析機器と分析試薬の接点
……上野景平…1

展　望

高速液体クロマトグラフィの現状と将来……有川喜次郎…3

報　文

異臭魚に含まれる芳香族化合物について…緒方正名，三宅与志雄…6

アミノ酸の蛍光分析〔液体クロマトグラフへの応用〕…辻　章夫　前田昌子，鴈野重威，大西　清…10

034形 日立液体クロマトグラフの自動化……渡部伸一，鴈野重威…12

イヌの糸状虫（Dirofilaria immitis）の走査電子顕微鏡による観察……菊池　滋，林　滋生　奥山義光，松本健次，山田満彦…15

HK－6形 日立全方位高角度傾斜装置を装着した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……
岡田幸助，藤本　畔，米原勝久…19

HS－9形 日立普及形電子顕微鏡……窪添守起，佐藤　恒，宮内恭一，小内俊男，福島竜一郎…25

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……西村弘行，水谷純也…31

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〕…神蔵美枝子…35

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〕……小森律夫，松本孝一…39

新製品紹介

HSM－2B形 日立走査電子顕微鏡…42

034形 日立全自動液体クロマトグラフ……43

03P形 日立卓上遠心機……44

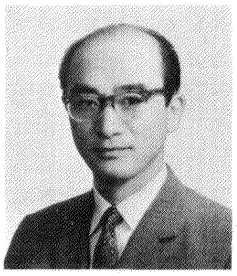
次号予告……2

巻　頭　言

U.D.C. 543.08:543－41

分析機器と分析試薬の接点

上野景平*



過去30年間の分析機器の発展をふりかえってみると，この急激な発展の口火を切ったものは何といっても Beckman DU形 分光光度計にその端を発した分光光電光度計の出現であろう。

戦前は，比色法といえば，せいぜい Dubosque や Pulfrich 光度計を用いた視覚測定であったため，ppm の濃度の成分を正確に定量するなど思いもよらなかったが，光電光度計の出現によりいとも簡単に正確な比色定量ができるようになった。

可視，紫外の全領域にわたって，溶液の吸収強度を吸光度として0.01まで精密に測定することを可能にした分析機器の出現は，分析化学者にとっては百万の援軍を得た心強さであった。1940年代以降，吸光光度法による無機，有機の微量成分の定量に関する研究論文の数がいかに激増しているかを知れば，その間の事情は明らかである。

一つの可能性の実現はまた次の可能性の実現へと研究者の意欲をかりたてる。これが科学の進歩の原動力になっていることはいうまでもない。分析化学者は光電光度計の出現に刺戟されて，微量成分の定量下限の追求に情熱を燃やし，その結果，比色分析用の有機試薬が続々と産み出されてきた。たとえば，鉄や銅イオンを ppb の濃度まで正確に定量できる分析試薬，すなわち，バソフェナントロリンやバソクプロインなどの出現はその代表例であろう。現在，高性能の有機試薬と分光光電光度計の使用によって，多くの無機，有機の微量成分が吸光光度法によって迅速，正確に定量されていることは周知のとおりで，分光光度計と有機試薬とは車の両輪のように助け合って微量分析の発展を支えているということができよう。

以上は分析機器と分析試薬とがいかに密接な関係にあるかを示す一例にすぎないが，分析機器が分析の対象である物質から何らかの情報を取出す装置であり，また試料が測定前または測定中何らかの形で化学的な処理を受けることが多い以上，機器と試薬の間には深いかかわり合いが存在することは当然のことであろう。

また，分析機器の進歩によって微量成分の分析感度が向上し，そのため従来純粋な試薬として通用していたものから多くの微量不純物が検出された例は数多く知られている。このような高感度の分析機器の出現は，試薬類の純度向上への強い刺戟となり，高感度分析によっても不純物の検出されないような高純度ないし超高純度の試薬が続々と開発される結果となった。そのような高純度試薬の普及がまためぐりめぐって機器による微量分析の発展を支えているわけである。

たとえば，紫外部の透明な溶媒やガスクロマトグラフィ的に純粋な有機化合物などはその代表例であろう。筆者が試薬の無水エタノール中に微量に存在するベンゼ

* 九州大学 工学部 教授，工博

ンを紫外吸光光度法で検出したのは1954年のことであるが〔分析化学，3，248 (1954)〕，その後紫外分光光度法が普及するに伴って，紫外部に微量不純物による吸収を示さない純溶媒類の需要が高まり，現在この目的のために精製された溶媒類が多種類にわたって市販され，研究の助けとなっている。

さらに，ガスクロマトグラフィの検出器が高感度化し，また，分離濃縮の技術が進歩した結果，食品や環境の中の10^{-6}～10^{-9}の濃度の残留農薬やPCBが検出定量できるようになったが，これらの分析の前処理に用いる試薬類中の微量不純物が無視できなくなる。現在はこの目的のため特に有機塩素化合物による汚染度の低い試薬類が提供されており，残留濃薬やPCBの分析に活用されている。分析機器だけが進歩しても，それに伴ってその分析に使用される分析試薬の純度が向上しなければ，機器の性能を完全に発揮することはできないということは特に強調さるべきであろう。

最近の分析機器と分析試薬の接点に関する大きな話題はβ-ジケトン類の応用であろう。ガスクロマトグラフィは揮発性有機化合物の分析法として広く実用化されているが，無機化合物，ことに金属イオンの分析には全く無力であった。ところが，ヘキサフルオロアセトンやジピバロイルメタンなどのβ-ジケトン類が多くの金属イオンと揮発性キレート化合物を生成することが見出されて以来，金属イオンの分離，分析にまでガスクロマトグラフィが応用されるようになった。また，上に述べたようなβ-ジケトンのユーロピウムやプラセオジウムキレートはNMRスペクトルのシフト試薬としても有用である。これらの希土類キレートを試料溶液に溶かすと，試料分子と希土類キレートとの相互作用の結果，試料のプロトンシグナルが高磁場あるいは低磁場側に拡大シフトするため，60MHzのNMR装置で100MHz相当のプロトンシグナルの分解能を得ることができる。すなわち，新しい試薬の出現によって機器の性能が一段と向上した例である。

さらに新しい分野では，高速液体クロマトグラフィのはなばなしい登場のかげには，装置の設計製作上の問題の解決とともにカラム充てん物の開発の成功があずかって貢献している。すなわち，ペリキュラービーズで代表される非常に精度の高い合成充てん物もまた広い意味での分析試薬ということができよう。このような高性能の充てん物の完成によってカラム中の移動相液体の流入圧を高く流速を速くすることが可能になってはじめて高速液体クロマトグラフィの実用価値が高くなったのである。

戦後30年近い年月の経過とともにわが国における分析機器のレベルも世界の一流に大刀打ちできる所まで到達したようである。このようなめざましい発展は，終戦当時はもちろん，10年以前でさえ全く予想もされなかったことであるが，今後は世界の一流に追いつくことからさらに一歩を進めて，世界の一流を追い抜く勝負が行われる正念場であろう。

このときにあたり，分析機器と分析試薬の新らたな接点を探りあて，そこから新しい分析機器や新しい分析法を開発して行くことにも，この勝負に勝ち抜く機会がかくされているように思うのは筆者だけの身びいきであろうか。

次号予告

JUNE 1973 Vol.16 No.3

巻頭言

医療機器産業の有用性とその将来…和歌山県立医科大学 学長 村野 匡

展望

昭和48年度基礎科学の研究経費について——文部省予算を中心に——
科学新聞社 編集局長 尾沢育郎

報文

走査電子顕微鏡における樹脂冷凍割断法の応用……鳥取大学 医学部 教授 田中敬一

走査電子顕微鏡による血球の立体形態の観察……新潟大学 医学部 服部 晃 伊藤粋子 教授 藤田恒夫

NMRおよびNOEによる生薬成分の構造研究……日本大学 理工学部 講師 高橋周七 教授 滝戸道夫

磁性体の遠赤外干渉分光……東京大学 物性研究所 永田一清

FPD付きガスクロマトグラフによるいおう化合物の分析におけるFIDモニタの必要性について……富山県公害センター 奥村秀一

イオン交換法による有機酸の分析……日立製作所 那珂工場 藤原延喜 小沢恭一

624形 日立ディジタルダブルビーム分光光度計の応用例…日立製作所 那珂工場 横瀬泰三 小森律夫 倉橋 徹 根本 勲 渡辺 寔

新製品紹介……数件

展　望

U.D.C. 543.544.4−14

高速液体クロマトグラフィの現状と将来

有川喜次郎*

1. はじめに

高沸点成分あるいは熱的に不安定な物質などガスクロマトグラフィ（以下“GC”という）の適用が困難な試料に対する分離分析法として液体クロマトグラフィ（以下“LC”という）が注目されている。本法に関する最近の技術的進歩は著しく，医薬品，石油化学，高分子化学工業など各分野で広く応用されるようになっている。

1903年，Tswettが石油エーテルを溶離液とし，アルミナを充てんしたカラムによりクロロフィル，カロチンなど天然色素を分離して以来，LCの研究はGCに比較し古くよりなされてきた。しかし，Martinらにより技術的可能性が報告されて以後のGCの発展に対し，LC装置の実用化には長い時間を要した。GCでは移動相が不活性ガスであるため，検出法としてはカサロメータとして知られていた汎用性の熱伝導度検出器（TCD）が適用されるなど，分析機器としても短時日で大きな進歩をとげた。これに対して，移動相に液体を用いるLCでは，微量送液ポンプおよび十分な性能の検出器が未開発であったため，分析機器としての実用化は非常に遅れ，応用範囲も限定されていた。このような状況にあったLCの分野において，Spackman, Moor, Steinらによってなされたイオン交換法によるアミノ酸自動分析計に関する詳細なる研究は，LCの進歩に大きく寄与するものであった。400メッシュ前後の粉砕樹脂しか使用できなかった初期には，蛋白構成のアミノ酸20成分の分離に約1日を要し，1成分あたりの分析時間は約1時間であった。GCにおける分離が1成分あたり1～5分程度で容易に実現できることを考えると，高速LCと呼ぶには余りにも長い時間を要するものであった。

その後，クロマトグラフィに関する理論およびGCに関する研究の進歩とともに，LCに関しても多くの検討が試みられてきた。特に，ポーラスポリマ，薄層樹脂など新しいカラム充てん剤が開発され，検出器の高感度化などに関する進歩によって，分析時間もGCに近づきつつあり，内外各社で高速LC用の装置が製品化される時代になった。

2. 高速分離

LCにおいて，分離の高速化を可能とするためには，次のような主たる3つの条件を十分考慮することが必要である。すなわち，(1)溶離条件，カラムの構造および充てん剤の選択など分離カラムに関する技術の改善，(2)装置の耐圧性向上による溶離液の高流速化，さらに(3)検出器の高感度化を図ることである。

(1) 分離カラム技術

図1(a)にみられるように，隣接する2つのピークの分離状態を改善するには2つの方法がとられる。一つには図1(c)のように隣接ピークの相対的溶出位置（保持時間 t_1，t_2），すなわち選択性の改善によって行う方法である。カラム内の保持時間は溶離液と充てん剤間における分配係数で定まるので，両成分に対して親和性の異なるカラム充てん剤の選択および溶離液組成の最適化は隣接ピークの分離改善に非常に重要である。

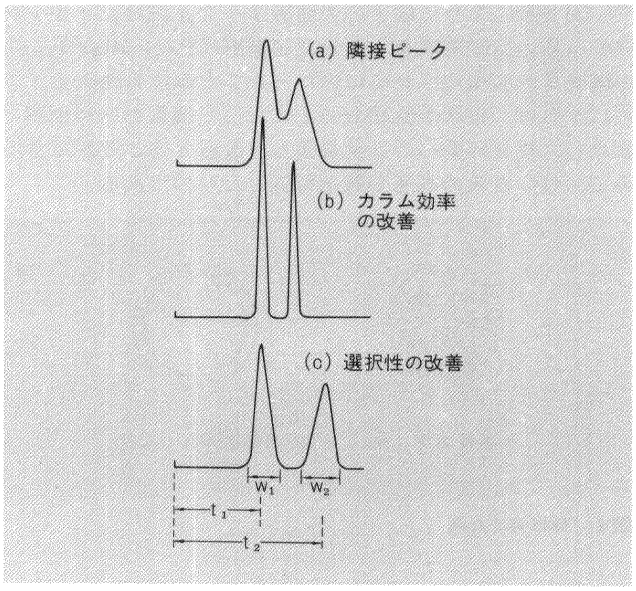


図1　ピーク分離の改善

LCではカラム充てん剤の種類においてGCに劣るが，pH，イオン強度および使用する溶媒の極性など，溶離液の組成について幅広い選択ができ，それだけ選択性の改善に大きな可能性をもっていることになる。この点キャリヤガスが He，N_2 などの不活性ガスに限定されるGCに比べ，LCの大きな特色であり，イオン交換LCによる生体液中アミノ酸40数成分の系統的分離も，このようなLCの特長を生かし幅広い溶離条件の検討によって達成されたものである。

分離を改善するためのもう一つの方法は，理論段数（N），あるいは一理論段あたりの高さ（H）で示されるカラム効率を改善することである。これは図1(b)に示すように，溶出位置をそのままにして，Nの増加（すなわち，Hの減少）によってピーク幅（W）を狭くシャープなものにすることにより分離をよくする場合に相当する。一様な分離カラムを考えた場合，長さを大とすればNは増加するが，それに応じて分離時間が長くなる。したがって，Hを小とし，一定カラム長さあたりの理論段数を増大できるようなカラム条件を選定することが望ましい。

カラム効率を示すN（H）と渦巻拡散や物質移動への抵抗との関係は有名なVan Deemterの式で示される。充てん剤の粒径（dp）は，その粒度分布とともに流路の不均一性による渦巻拡散によってカラム効率に影響する。物質移動への抵抗もまたカラム効率と密接に関係し，これは拡散速度の逆

* 日立製作所 日立研究所，工博

数と dp^2 に比例して増加する。したがって，できるだけ粒度のそろった微粒子を用い，均一に充てんする必要がある。LCによるアミノ酸分析計においても，イオン交換樹脂として13～17μの球形樹脂を用いることにより，カラム効率が著しく改善され，約1時間に分離の迅速化が可能となった。さらに最近，**図2(a)**に示す従来の球形充てん剤に対して，**図2(b)**のように粒子の表面層1～2μだけにイオン交換性あるいは吸着性をもたせた薄層形（Pericullar type）が開発され実用化されるにいたったことが注目される。これによれば，粒径が数10分の1になった通常の球形樹脂に相当し，物質移動への抵抗を著しく改善することができるので，GCなみの高速分離が可能となりつつある。

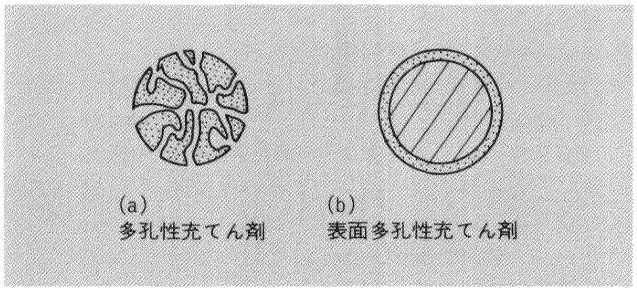


図2　球形充てん剤

(2)　流速の増加

溶離液の流速の増加は，分離を高速化するための有力な方法の一つではあるが，同時にカラム効率の低下に注意しなければならない。この点については，粒径（dp）の小さい充てん剤の選択によって解決できるが，充てんカラム内における圧力降下が $1/dp^2$ に比例するので，流速の増加とともに，いずれもカラム入力圧の増大をもたらす。したがって，粒径が10μ以下と小さくなるにつれて耐圧性に対する要求も著しくなっている。耐圧性の高いポンプの開発には多くの問題があるが，現在3,000psi（約210kg/cm²）までのものが開発され，高速分離に応用されている。カラムもガラス製からSUS製になり，高圧領域に用いられている。

(3)　検出器の高感度化

高感度検出器は微量成分の分離検出に必要であるばかりでなく，分離の高速化にも重要である。特に，高速分離用として注目される薄層形の充てん剤では，その吸着容量が通常の充てん剤に比較し約1000分の1程度である。したがって，試料量を減少させなければ高いカラム効率が得られず，分離の高速化を達成することはできない。

LC用としては，これまで可視，紫外域の光度法，屈折法，熱検出法，水素炎イオン化法，蛍光法などを応用した各種の検出器が数多く検討されてきたが，検出感度，安定性など性能が十分で広く実用化されているものは数が少ない。

屈折率法は適用範囲が広く注目されるが，周囲温度や流速の影響があり，検出感度が高速LC用として現在十分とはいえない。また，LC用水素炎イオン化検出器は，原理的に高い感度が期待されるが，有機性の溶媒を含む溶離液への適用には限界がある。これら数多くの検出法の中で，光度法はアミノ酸分析計以来，現在でもGCにおけるTCDと同様に最も安定した性能をもつ基本的な検出器の一つとなっている。UV検出器は紫外域に吸収をもつものに適用が限定されるが，高速LC用として最も広く用いられている。流速に影響されることが少なく，低圧水銀燈（波長254nm）を光源とし，フルスケール0.005AU，ノイズ±1%の高感度のものが開発されている。

3.　高速液体クロマト装置とその応用

(1)　装置の構成

高速LC用として開発された装置の一例について，その外観写真と流路図を**図3，4**に示した。溶離液は気泡を除去したのち約150kg/cm²の耐圧性をもつ送液ポンプで分離カラムに送られる。分離カラムは高速用としてますます細くなる傾向にあるが，内径2～4mmφ，長さ10～50cmのものが主として用いられる。

ポンプについては，吐出圧が高いと同時にノイズの原因となる脈流のできるだけ少いことが必要である。この点では，シリンジ形の一押しポンプがすぐれており実用化されているが，レシプロ・ポンプの場合適当な流体抵抗とガス溜めをもったダンパの組合せによって脈流を著しく改善することができる。

分析試料はカラム入口において，シリンジ注入法あるいは切換バルブによりチューブ内の試料を導入する方法が用いられる。前者は操作が簡便で微量試料の注入ができるが，耐圧性に限度がある。試料は恒温水の循環によって所要温度に一定に保持されているカラムで分離され，検出器に入る。検出器としては，可視，紫外光度計，示差屈折計のほか，クーロメトリ検出器の使用が可能である。

保持時間のみでは同定が不十分である場合，他の分析機器用に対する試料を採取するためフラクション・コレクタが付属している。また，複雑な試料に対する溶離液用としてグラジェント装置も利用することができる。

(2)　応用例

図5には，ポリスチレン系の多孔質な球形樹脂を充てんしたカラムを用い，検出器としてUVモニタ（波長254nm）を使用したときの測定例を示した。アニリン，ナフチルアミンなどの染料中間体および重質油中に含有されるチオフェン，ピロール系化合物3成分を約8minで分離した。**図2(a)**に示した通常の多孔質球形樹脂の場合も，溶離液の組

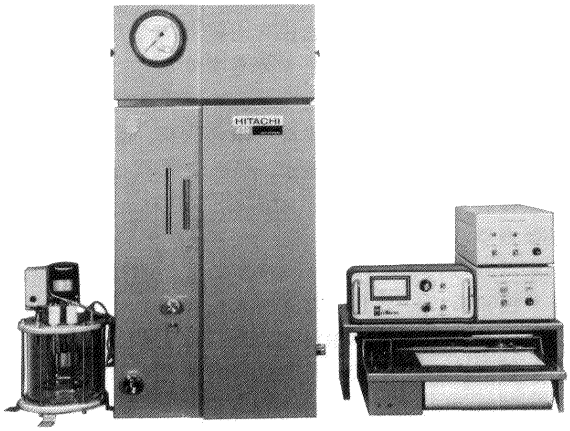


図3　634形 日立液体クロマトグラフ

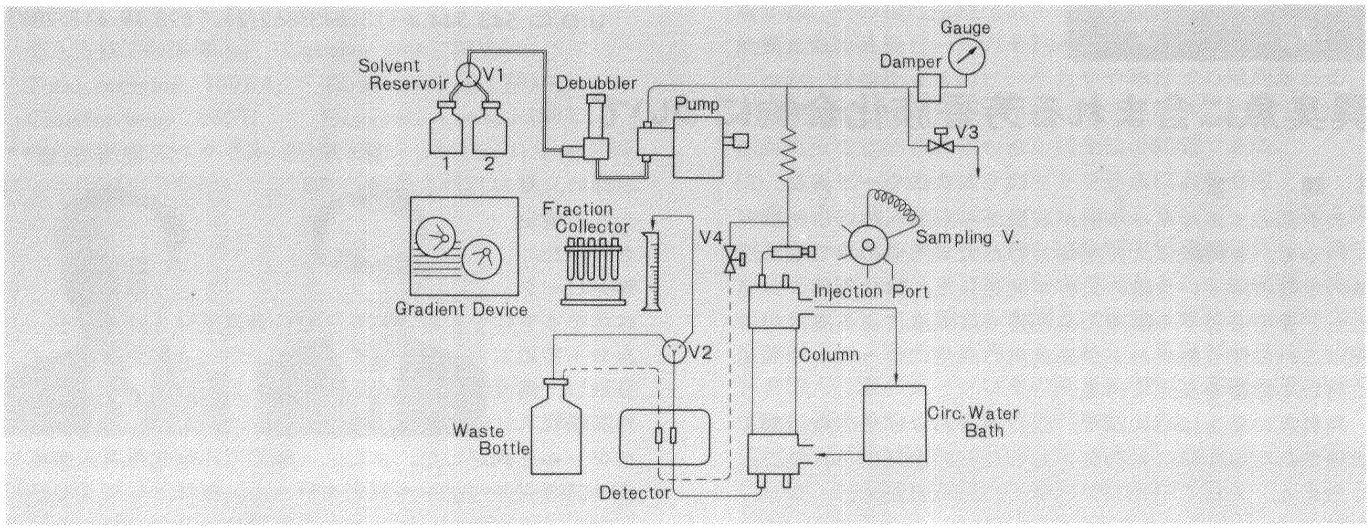
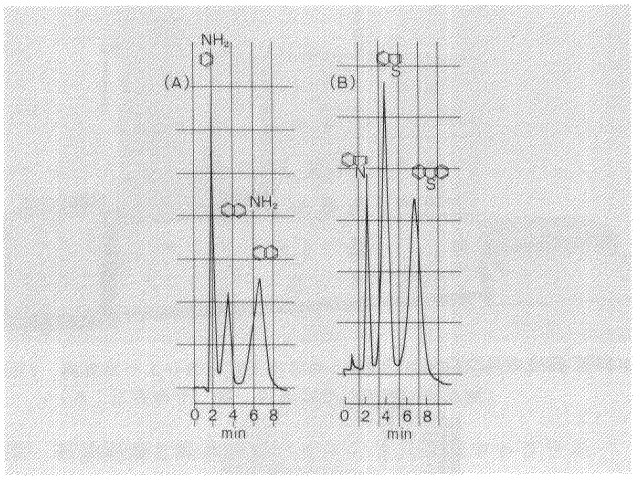
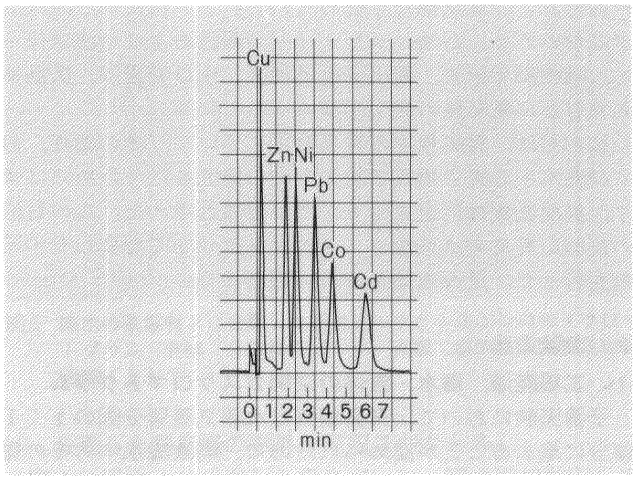


図4　高速液体クロマトグラフィの流路系



充てん剤：HITACHI GEL #3010

図5　ポーラスポリマによる高速分離例



検出器：クーロメトリ検出器

図6　重金属イオンの高速分離例

成など溶離条件の検討によって選択性を改善すれば，薄層形樹脂を用いたときと同程度の迅速化が可能であることを示すものである。

図6は，公害関連の重金属イオンをイオン交換LCで分離した例である。LCによる各種化合物の分離については数多く検討されているが，金属イオンについてはほとんど報告されていない。これは，従来の検出器では金属イオンの高感度検出が不可能であったためである。金属イオンの連続検出を可能にするため，LC用のクーロメトリ検出器を開発した。電解を高速化するため表面積の大きい電極を用いているので，応答速度は1s以下の性能をもっている。陽イオン交換樹脂を用い，重金属イオン6成分を7minで分離することが可能となった。このような金属イオンの高速分離はこれまで例がなく，公害関連の分析用としてもLCが非常に有効であることがわかる。

4. まとめ

LCはGCに比較し技術的におくれをとっていたが，上述のように精力的な研究が続けられており，目覚ましい進歩が期待される分野である。今後は，カラム充てん剤，検出器の検討が中心となり，さらに高速化の方向に進むものと考えられる。

カラム充てん剤については，これまで主としてポーラスポリマ，シリカゲルなど吸着形であった。液—液分配形のものは逆相クロマト法など限定されたものであった。固定相を安定化するため，固定液相成分を担体に化学的に結合する方法が検討されており，今後期待されるものの一つである。

検出器に関しては，GCにおける毛細管カラムの高性能が高感度検出器との組合せによって実用化されたことを考えると，薄層形充てん剤の性能を十分発揮するには，GCで用いられているFID相当の高感度検出器の開発がのぞまれる。

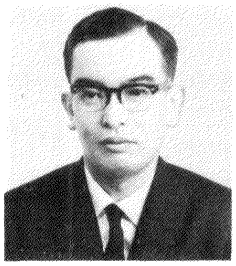
さらにLCに関する技術が進歩し，各種化合物に対する迅速分離が容易に実施できるようになれば，高速という形容詞は不要となるであろう。このようになってはじめて，LCの性能はGCと同等になったということができる。その時期は，そう遠くないものと確信している。

報　文

U.D.C. 543.544.4−13:543.862.2]:〔628.19:613.281〕

異臭魚に含まれる芳香族化合物について

緒方正名*　三宅与志雄**



1. 緒　言

わが国のエネルギー事情が石炭から石油へ移行した事実に伴って，亜硫酸ガスを主体とした大気汚染のみでなく，油の水質汚濁という海の公害が発生した。特に石油コンビナートを中心とする臨海工業地帯では廃液による海水の汚濁はこれに伴う悪臭および異臭魚の発生によって沿岸漁業に対して影響を与えている。

異臭魚の発生は昭和28年，四日市港およびその周辺部で漁獲された魚介類に鉱物臭をもったものが見出されたことに始まる。そして昭和34年以来その出現範囲も広くなり，伊勢湾北部の大部の漁区でそれが認められるようになった[1~4]。このような例は，秋田，埼玉，兵庫，和歌山，山口の各県および東京都にも認められている。特に瀬戸内海沿岸においても，石油コンビナートの新設および増設に伴って，昭和38年以来，岡山県水島地区，山口県岩国，広島県大竹などに異臭魚の発生が認められている。

私どもは，異臭魚中の異臭物質について，その毒性，および廃水中の異臭物質の除去方法の研究を行うためにはまず，異臭物質の同定を行う必要があると考えた。この目的のために異臭の成分をガスクロマトグラフで分取しその同定を行った。その成績をここに報告する。

2. 実験方法

(1) 工場廃液，海水，魚体の空間ガスクロマトグラム

予備実験において，異臭物質は水蒸気蒸留分画の1：1留分に集まることが認められたので，廃液海水中のその留分を集めてその10mlを共栓付きの50ml試験管に55℃に加温後振とうし，空間ガスをK-53形 日立ガスクロマトグラフに注入する。ガスクロマトグラフの条件は以下のごとくである。

充てん剤：1. 2. 3. Tris(cyano ethoxy) Propane (TCEP).

メッシュ：60～80　　カラム：3mm×2m

カラム温度：60℃（図7のみTCEP100℃
図8 ββTDPN 80℃を用いた。）

キャリヤガス：N_2ガス40ml/min

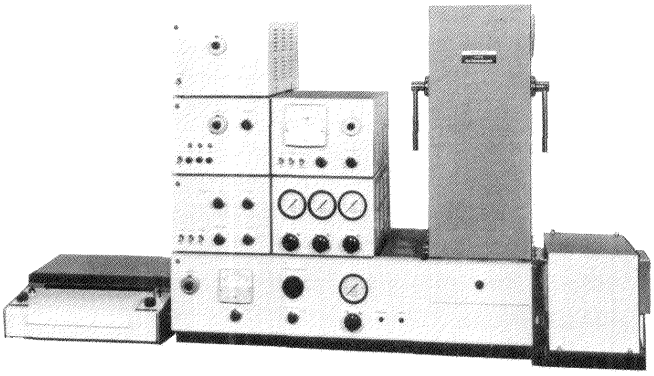
空気圧：1.5kg/cm^2

チャートスピード：10mm/min

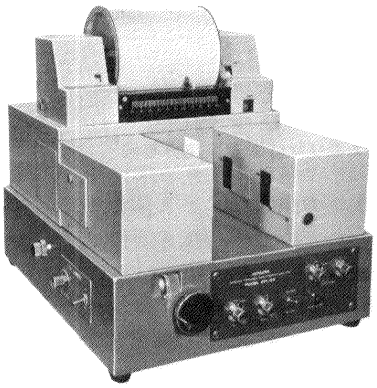
魚体の場合は，その重量1に対し蒸留水を0.5加えて後，前述の水蒸気蒸留を行う。魚体は可食部を用いる。

(2) ガスクロマトグラム分取および同定

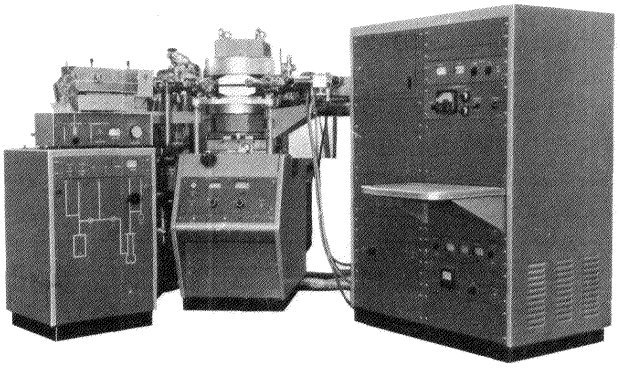
上述の水蒸気蒸留物を硫安で飽和後，55℃で加温振とうし，発生した空間ガスをガスクロマトグラフに定量採気管より注入する。異臭ピークはドライアイスアルコール（86%），冷却下（−68℃）に，採取管の中のガラスビーズ上に採集し，加熱下に発生したガスのガスクロマトグラフを再び行い，単一性の検定を行った。異臭ピークはエチルアルコールに分取し，紫外部吸収スペクトルを測定した。また，−68℃で四塩化炭素に分取し，赤外部吸収スペクトル測定を行った。担体としてDOPに−68℃で吸着させ，加熱ガスを質量分析計で分析した。そ



K53形 日立ガスクロマトグラフ



EPI-G_3形 日立赤外分光光度計



RMU-6E形 日立質量分析計

* 岡山大学 医学部 公衆衛生学教室 教授，医博
** 岡山県水産試験場

の条件は，以下のとおりである。

導入方法：間接導入，　Chamber volt：70V，

Total emission：100μA，　Target current：70μA，

Chamber temp：200℃，　Evaporation temp：180℃，

赤外部吸収スペクトルは日立EPI－G3形を用い，液体吸収セル中で測定を行った。また，質量分析計は日立RMU－6E形を用いた。

3．実験成績

(1) 正常魚および異臭魚の空間ガスのガスクロマトグラム

その成績は**図1**に示すごとく，異臭ボラには正常ボラに認められない新しいピークが出現した。この新しいピークはn-hexaneに対する相対保持比は7.61であり，異臭ピークと考えられる。

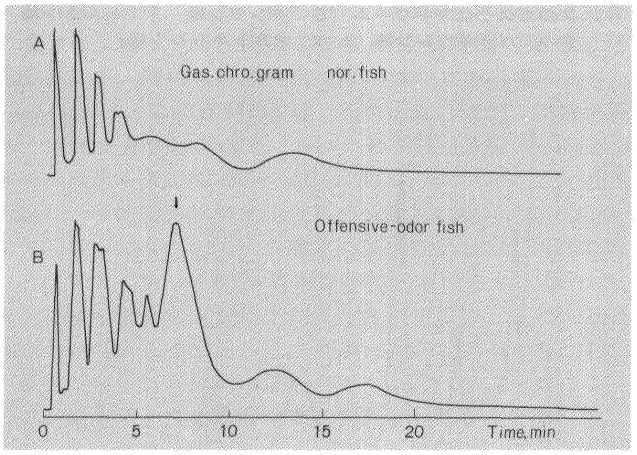


図1　異臭ボラよりの水蒸気蒸留物の空間ガスのガスクロマトグラム（A：正常ボラ，B：異臭ボラ，矢印は異臭峰）

(2) 石油廃液と廃水飼育ウナギのガスクロマトグラム

図2は廃水とその廃水中で2週間飼育後のウナギのガスクロマトグラムである。飼育によって天然ウナギは異臭を帯びるが，その異臭ウナギの空間ガスクロマトグラムでは天然ウナギのそれに認められない新しいピークが出現し，それは廃水中の多くのピークのうちの1つと同じ保持比を

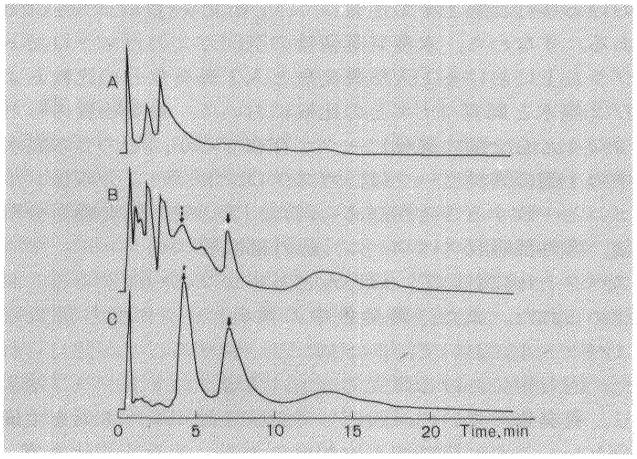


図2　正常ウナギ，廃水，廃水飼育ウナギよりの水蒸気蒸留物の空間ガスのガスクロマトグラム（A：正常ウナギ，B：廃水飼育ウナギ，G：廃水，矢印は異臭峰，実線の矢印はトルエン，点線の矢印はベンゼンと保持比が等しい）

有する。その相対保持比はヘキサンに対し7.61であり，天然異臭魚の異臭ピークのそれと一致する。

なお，保持比4.6のピークもやや移行する傾向がある。その保持比はベンゾールに等しかったが，このピークが天然異臭魚で認められるか否かは今後の問題である。

(3) 異臭ピークのガスクロマトグラムによる分取

廃水中のガスクロマトグラムによる異臭ピーク（**図2**実線矢印）をガラス玉を入れた試験管中で冷却分取し，再びガスクロマトグラフで単一ピークであることを確認した。そのガスクロマトグラムを**図3**に示す。異臭ピークの保持比はトルエンのそれと等しく，また，異臭ピークにトルエンを加えた際のピークはその高さを増加するのみであって，2峰に分かれることは認められなかった。

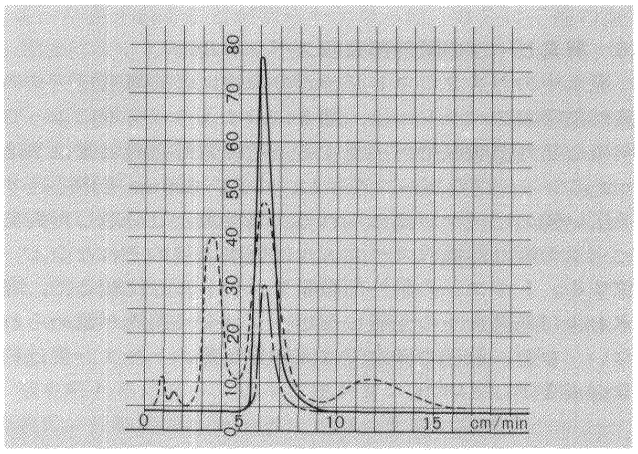


図3　廃水の蒸留物より分離した異臭ピークとトルエンのガスクロマトグラム（実線：分取異臭ピーク，点線：廃水の水蒸気蒸留物破線：トルエン）

(4) 分取した異臭峰の赤外部吸収スペクトル

図4に廃水より分取した異臭ピーク（**図2**実線矢印）の赤外部吸収スペクトルを示す。その吸収スペクトルはトルエンの四塩化炭素溶液の吸収スペクトルと全く等しい。

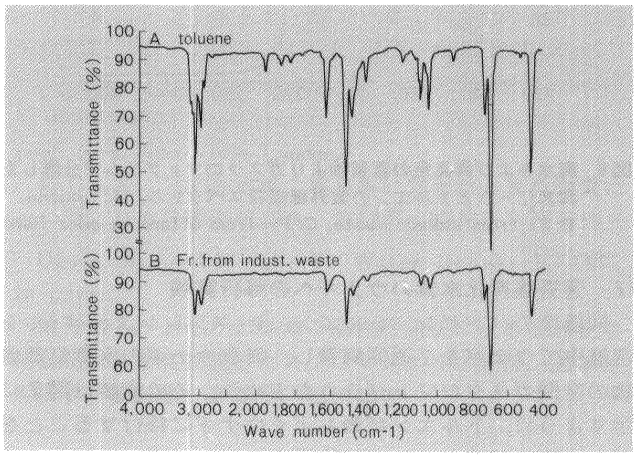


図4　廃水の蒸留物より分取した異臭ピークとトルエンの赤外部吸収スペクトル（A：トルエン，B：廃水の水蒸気蒸留物）

(5) 分取した異臭ピークのマススペクトル

図5に廃水より分取した異臭ピーク（**図2**実線矢印）のマススペクトルを示す。このスペクトルはトルエンのそれ[5]と全く一致する。また，トルエンの分子量は92であるが，

Base peak, Parent peakのM/e値はそれぞれ91, 92を示した。

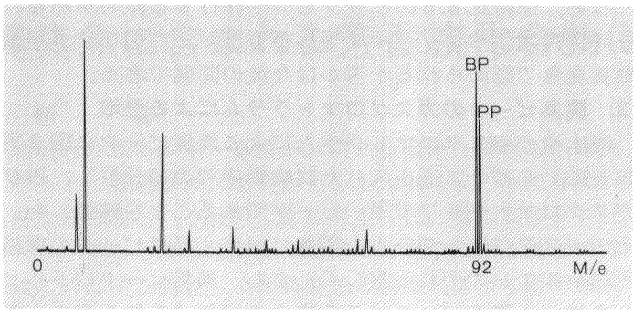


図5 廃水の蒸留物より分取した異臭ピークのマススペクトル
(BG：Bcak ground, BP：Base peak, PP：Parent peak)

(6) 異臭ピークの紫外部吸収スペクトル

廃水中のガスクロマトグラム分取法による異臭ピークの紫外部吸収スペクトルは，**図6**に示すように分取によって明確な紫外部吸収帯が出現する。その紫外部吸収帯は268 nmにシャープなピークを示し，また，620 nmを中心とする広い幅のピークが認められる。異臭魚より分取した異臭ピークの紫外部吸収スペクトルは廃水よりのそれと全く一致する。トルエンの紫外部吸収スペクトルと比較して，廃水および異臭魚から分離したピークは全く差異が認められない。なお，最近の測定では天然異臭魚のトルエン量は約5 ppmを示していた。

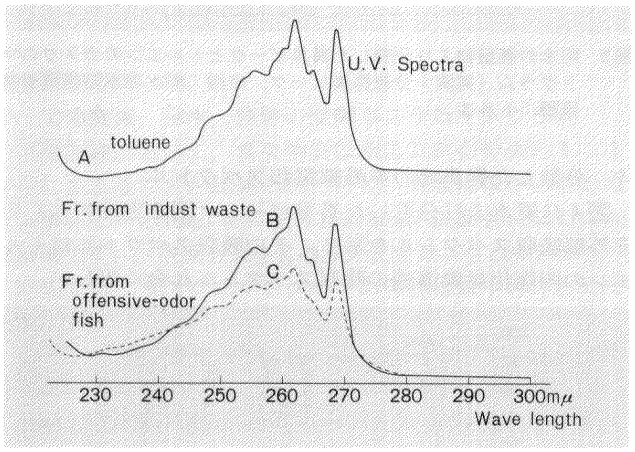


図6 廃水および異臭魚の蒸留物よりガスクロマトグラムで分離した異臭ピークとトルエンの紫外部吸収スペクトル (A: toluene, B: Fr. from indust. waste, C: Fr. from offensive-odor fish)

(7) 芳香族炭化水素のウナギへの移行実験

同濃度のベンゼン，トルエン，p-キシレン，o-キシレン混液中でウナギを1週間飼育し，異臭ウナギの水蒸気蒸留物の空間ガスクロマトグラムを求めた。その成績は**図7**に示すように，トルエンが最もよくウナギに移行することを示し，次いでp-キシレンが移行することが認められた。ベンゼンは，その程度は少ないが，明らかに移行する傾向が認められた。o-キシレンでも同じ結果が得られた。**図8**はオレフィン系ガソリンで飼育したウナギのガスクロマトグラムであり，芳香族化合物の他にオレフィン系油分の移行が認められた。

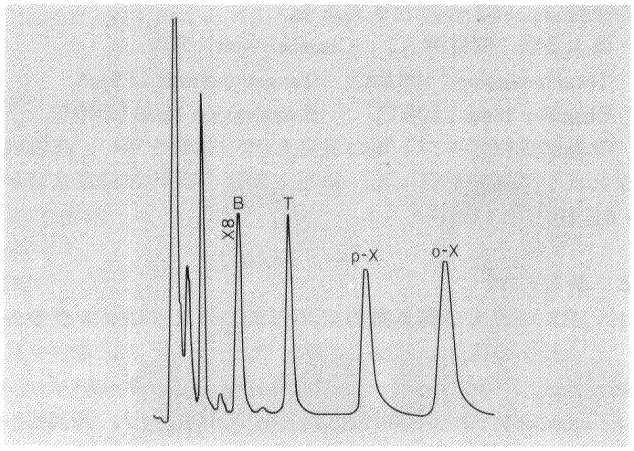


図7 芳香族炭化水素で飼育したウナギの水蒸気蒸留水よりの空間ガスのガスクロマトグラム (B：ベンゼン峰，T：トルエン峰，p-X：パラキシレン峰，o-X：オルトキシレン峰)

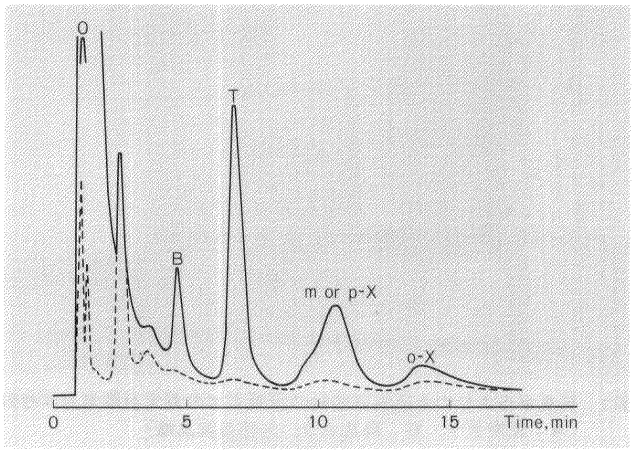


図8 オレフィン系ガソリン (30ppm) 飼育ウナギのガスクロマトグラム (—— 飼育ウナギ，------ 正常ウナギ)
(O峰の大部分はオレフィン系油分)

4. 考　　按

瀬戸内海工場地帯コンビナートの隣接海域に異臭魚の発生が認められているが，本研究はこの異臭物質の自然界における移行状態とその性質について研究を行った[6,7]ものである。すなわち，水蒸気蒸留物の空間ガスのガスクロマトグラム上における①天然異臭魚と人工異臭魚との比較および②廃水と飼育ウナギとの比較において，異臭物質のうち少なくとも2個の異臭ピークが存在するが，そのうち廃水中の1個の異臭ピークは，ガスクロマトグラフ分取後トルエンと一致することが認められた。次いで，異臭峰を分取後，紫外部吸収スペクトル，赤外部吸収スペクトル，マススペクトルにおいて，ほとんどトルエンと一致することが認められた。また，異臭魚中の異臭ピークは紫外部吸収スペクトルにおいて，トルエンと一致することが認められた。四日市における研究では主に薄層クロマトグラフ法より，異臭魚の臭いの原因として脂肪族飽和炭化水素を主成分とし，これに脂肪族不飽和炭化水素，芳香族炭化水素，チオフェン類化合物をあげている[3),4)]が，設置後比較的期間の短い石油コンビナート隣接海域においては，トルエンのごとき芳香族炭化水素が比較的重要な地位を占めるようで

ある。そしてp, n-ヘキサン可溶性成分としてはトルエンは定量されない。ガスクロマトグラムにおける空間ガスの異臭ピークは実験成績の項で述べたように，主としてヘキサンに対する保持比7.6を有するピークであるが，その他に飼育ウナギに対する移行率がほぼ前述の異臭ピークより低く，約50%である。かつ，天然異臭魚の一部に出現する保持比4.6のピークが存在する。このピークは廃水中ではベンゾールであることがガスクロマトグラフ分離後の紫外部吸収より証明された。

これは，石油廃水においてstripperに加熱蒸気を吹き込んだ後の分離水にこれらの成分の溶けこんだものが含まれているのが原因と推定される。臨海工業地帯の異臭魚は，口に含んだときに芳香族臭と思われる異臭を発する特徴があるが，その一部として沸点110℃付近のトルエンが含まれる可能性が存在する。異臭物質の脱臭法については別報に述べるごとく，活性炭による脱臭は短時間の処理で可能であるが，使用後に活性炭を再活性化する必要があり，running costに難点がある他，吸着物質の処理に問題がある。活性汚泥法はこの点においての問題は比較的少なく，芳香族炭化水素の開環の可能性があり，かつトルエン以外の飽和，不飽和脂肪族炭化水素の分解も可能である点から，恒久的な石油コンビナート廃水の処理装置としては理想的なものと考える。一方，異臭物質の性状が明らかになれば，異臭物質をある程度製造工程より除去することも今後の問題点の一つとなるであろう。異臭物質の毒性については，これを試食した人間に中毒がおこるか否かという点について公衆衛生学上最も重要な課題である。芳香族では気中より吸入する場合には，トルエンは芳香族炭化水素のうちでは急性毒性は高く比較的慢性毒性は低いが，経口毒性についての研究はほとんどないので，現在この点を中心として研究を行っている。また，トルエン以外の異臭物質についても，今後その構造を解析し，その毒性についての研究を行う必要があると考える。なお，岩国で捕獲された異臭魚には不飽和脂肪族化合物が証明されたが，その詳細は次報に述べる予定である。このような石油成分の魚類への移行は今後注目すべき問題であると考える。活性汚泥による異臭物質除去の研究[8]は紙面の関係上次報に報告の予定である。

5. 結　論

石油化学工場による廃水によって出現したと思われる異臭魚について，異臭物質の移行状態およびその構造および毒性を研究する目的で工場廃水による飼育ウナギのガスクロマトグラム，海域における囮ウナギのガスクロマトグラム，天然異臭魚のガスクロマトグラムにより異臭ピークを定め，またこれを分取してその成分を推定した。なお，ガスクロマトグラムは水蒸気蒸留物を55℃に加温振とう後の空間ガスをTCEPを支持体とするガスクロマトグラフで分析した。その成績は以下の通りである。

(1) 天然ウナギには正常ウナギに認められない異臭ピークの出現が認められ，それは廃水中の異臭物質と思われるピークとよい一致を示した。

(2) 工場廃水よりその飼育ウナギ（廃水で1週間飼育したウナギ）に異臭ピークの移行が認められた。

(3) 異臭ピークをガスクロマトグラフで分取した。廃水中の異臭ピークの相対保持比はトルエンと一致する。この異臭ピークとガスクロマトグラフ法で分取したものについてその赤外部スペクトログラムおよびマススペクトログラムは，トルエンのそれぞれと一致する。また廃水および天然異臭魚より分離した異臭峰の紫外部スペクトログラムは，トルエンのそれと一致する。それゆえ，以上の成績より瀬戸内海における異臭成分の一つとしてトルエンが含まれることが明らかとなった。さらに，他の測定法によって確認するとともに，他の異臭物質についても今後同定を行いたいと考える。

(4) 人工的にベンゼン・トルエン・キシレンの同濃度混液中でウナギを飼育した場合にはトルエンが最もよくウナギに移行し，次いでトルエン・キシレンおよびベンゼンが移行することがガスクロマトグラフで認められた。また，ベンゼンはその程度は少ないがウナギに移行することが認められた。

(5) オレフィン系ガソリン飼育ウナギでは芳香族化合物の他にオレフィン系油分の移行が認められた。（**図8**）

稿を終わるに当り，種々ご援助をいただいた当教室友国勝磨氏，日製産業㈱牧原正氏に厚く感謝の意を表わす。

■参考文献

1）三重県：異臭魚に関する特別研究報告書公害資料，No. 23号公害対策室，1頁，昭和39年

2）須藤輝行他：排水中の揮発性有機物試験法について，三重県衛生研究所報，150頁，昭和40年

3）吉田克巳，上住南八男：石油化学地帯の異臭魚問題(1)生活衛生，1−5，No. 4，11頁，昭和36年

4）吉田克巳・上住南八男・笠岡一男：石油化学地帯の異臭魚問題(II)，生活衛生，11−2，9頁，昭和42年

5）Slenhagen, E., Abrahamson, S., and F. W. Mclafferty F. W.：Atlas of mass spectral data 1, 189, Interscience publishers, New York, London.

6）緒方正名，三宅与志雄：異臭魚に含まれる異臭物質について，日本公衛誌第17巻，第12号，昭和45年12月15日

7）Ogata M., and Miyake Y.：Water Research, 1973 in press.

8）緒方正名，三宅与志雄他：活性汚泥法による石油化学工場廃水の異臭物質のガスクロマトグラフ分析，医学と生物学，第81巻，第5号，昭和45年

U.D.C. 543.544.4−14:543.426:547.466.06

アミノ酸のけい光分析
〔液体クロマトグラフへの応用〕

辻　章夫* 前田昌子** 鴈野重威*** 大西　靖****

液体クロマトグラフィの性能を向上させる方法として，検出法の感度の向上，改良がある。従来の比色法をけい光法に代えるのもその一つの方法であろう。

けい光法は，比色法に比べて原理的には10^2～10^3倍感度が高い。最近，性能のよいけい光光度計が市販されているので，生化学，臨床化学などの分野で，微量の生体成分の分析法としてけい光分析法が盛んに利用されるようになっている[1]。

アミノ酸分析についても，ニンヒドリン反応による比色法と同様に，アミノ酸に対して選択的なけい光反応が探究され，最近，二，三のけい光分析法が開発された。

すなわち，Guilbault[2] は，アミノ酸にアミノ酸酸化酵素を働かせるとH_2O_2を生成することを利用して，この反応に無けい光性の 4-Hydroxy-3-methoxy phenyl-acetic acid を基質とする Peroxidase を組合せたアミノ酸のけい光分析法を開発した。

Roth[3]は，アルカリ性でアミノ酸に O-phthal aldehyde を反応させると発けい光性になることに基くアミノ酸のけい光反応を報告している。

Udenfriend, Samejima ら[4]は，ニンヒドリンと phenyl aceto aldehyde を用いるアミノ酸のけい光定量法を確立しアミノ酸自動分析計に適用した。辻，前田[5) 6) 7)]は，アミノ酸またはアミノ糖をピリジンの存在下でピリドキサールと反応させてシッフ塩基とし，Zn^{2+}イオンのキレートにすると，励起極大波長（*Ex*） 390nm，けい光極大波長（*Em*） 480nmの青白色のけい光を発することを見出し，このけい光反応を利用して，アミノ糖，アミノ酸の微量けい光定量法を確立した。このけい光をアミノ酸自動分析計の検出部に適用する検討は，1972年4月の薬学大会[7]，国際分析化学会議[8]および第15回液体クロマトグラフ研究会[9]において報告された。以下その概要について紹介する。

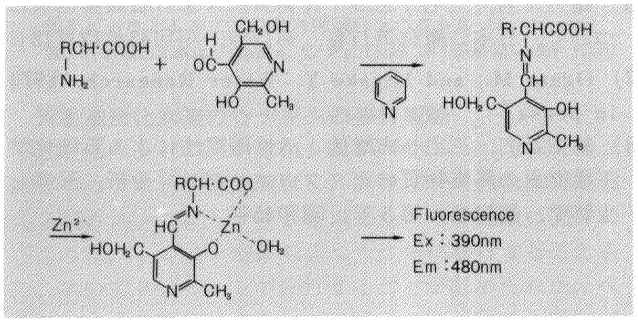
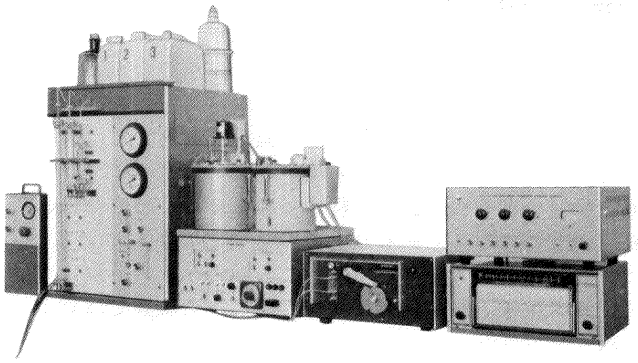
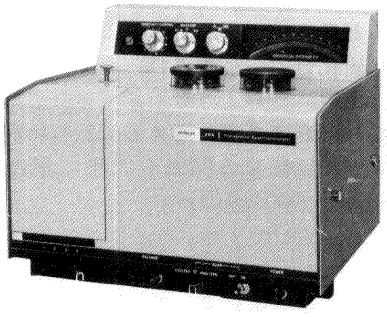


図1　けい光反応の機構

このけい光反応の機構を**図1**に示す。



034形 日立液体クロマトグラフ



204形 日立分光けい光光度計

このけい光反応は亜鉛キレートの生成に基くため，大量のクエン酸が存在するとその妨害を受けるので，通常の Moore-Stein 法によるアミノ酸分析には適用できない。しかし，有川ら[10]により開発されたZn^{2+}イオンを用いる Ligand exchange chromatography によるアミノ酸分析には適用することができる。以下に装置の概要，分析条件および分析例を示す。

*　昭和大学 薬学部 教授，薬博
**　昭和大学 薬学部
***　日立製作所 那珂工場 光装部 主任技師，理博
****　日立製作所 那珂工場 光装部

装置の概要

034形日立液体クロマトグラフを用い，**図2**に示すような流路系で行った。

検出部には，204形日立分光けい光光度計を使用し，溶出液を自動的に測定，記録するため，測定用セルに内径2mmの石英管フローセルを用い，光源は水銀ランプの輝線の365nmで励起し，けい光波長480nmで測定し，二次光側に散乱を防ぐためカットフィルタ（Y-42）を用いた。

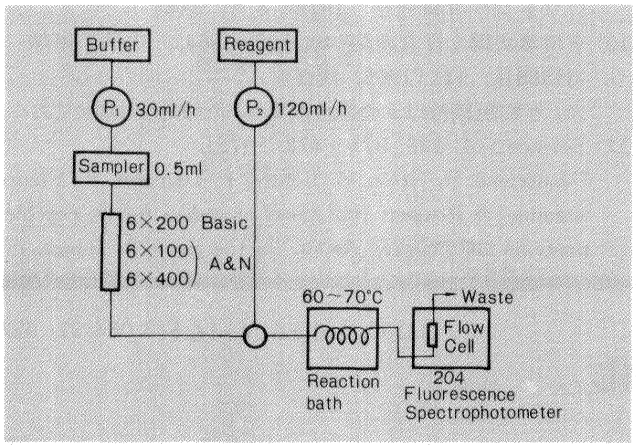


図2　流路系統図

アミノ酸の分析条件

アミノ酸の液体クロマトグラフィによる分析条件を**表1**に示す。

表1　アミノ酸の分析条件

	塩基性分析	酸・中性分析
カラム	6φ×200mm	6φ×100，6φ×450mm
樹脂	日立イオン交換樹脂#2613	同左
樹脂の高さ	200mm	100mm，440mm
カラム温度	55°C	55°C
溶離液	0.9MNa⁺，1.0mMZn²⁺，酸酸緩衝液 pH5.10	0.03MNa⁺，0.35MZn²⁺ 酸酸緩衝液 pH4.10
流速	30ml/h	30ml/h
プリカラムカット	—	30min
分析時間	70min	160min

検出部に用いるけい光法の試液には，塩酸ピリドキサール100mg，$Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ 1g，ピリジン20mlにメタノールを加えて全量1ℓとしたものを使用する。この試液はかなり安定で，夏期でも冷蔵庫に保存しておけば15日間ぐらいは使える。溶離液と試液との混合比は1：4になるように流速を設定し（溶離液30ml/h，試液120ml/h），反応時間10min（反応コイル1mmφ×33m），反応温度65°に設定した。

反応温度はアミノ酸によりやや異なり，**図3**に示すように反応時間10minで中・酸性アミノ酸では70～80℃で相対けい光強度が最高を示すが，塩基性アミノ酸では，65℃前後が適当と思われる。次に示したクロマトグラムは，反応温度65℃で得られたものである。

以上の条件で，蛋白質加水分解物中に含まれる標準アミノ酸混合物を分析したクロマトグラムの一例を**図4**，**5**に示す。

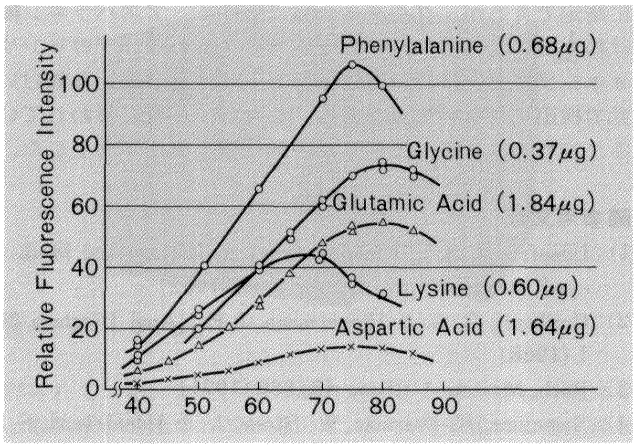
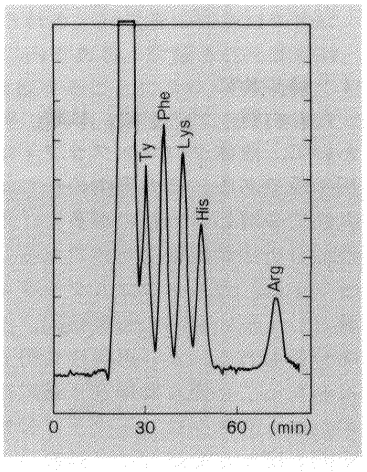


図3　反応温度（°C）

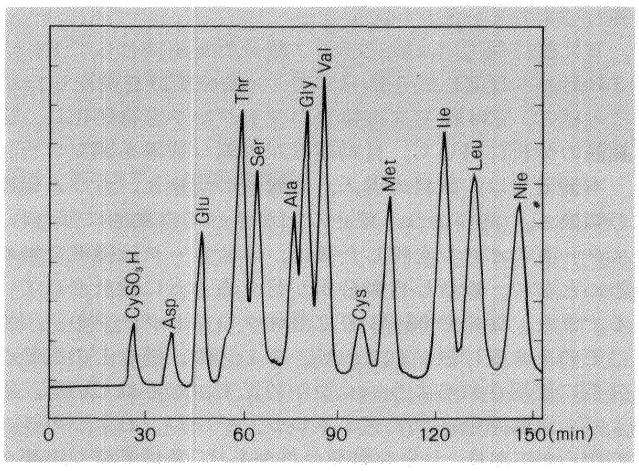
図4は各アミノ酸のピークは5nmole，**図4**は50nmoleでの分析例である。

アミノ酸の濃度とピーク高またはピーク面積の間ではよい相関性を示す。なお，グルコサミン，ガラクトサミンのようなアミノ糖もまたこの反応で発けい光性であり，同様



6φ×200mm Column
#2613Resin，55°C
5nmole
Ex365nm Em470nm×10−8，10mV

図4　塩基性分析



6φ×100＆6φ×450Column
#2613Resin，55°C
50nmole Ex365nm Em470nm×1−9，10mV

図5　酸・中性分析

に測定できるが，グルタミン酸に比べて，アスパラギン酸は約$\frac{1}{3}$の強度であり，また1級アミノ基のないプロリンやオキシプロリンはけい光強度0，トリプトファンも無けい光で検出できない欠点がある。しかし，一般に行われているニンヒドリン法に比べて20～50倍検出感度が向上した。

■参考文献

1) Udenfriend, S.："Fluones Assay in Biclogy and Medicine" Academie press, New York (1962)
2) Guilbault, G. G. & Hiesermann, J. E.：Anal Biochem **26** 1 (1968)
3) Roth, M.：Anal Chem. **43**, 880 (1971)
4) Samejima, K. Dairman, W. Stone, J. & Udenfriend, S.：Anal Biochem, **42**, 222, 237 (1971)
5) Maeda, M. Kinoshita, T. & Tsuji, A.：Anal Biochem, **38**, 121 (1970)
6) 辻 章夫，前田昌子：医化学シンポジウム **9**，(1969) Anal Biochem; in press.
7) 辻 章夫，前田昌子，鴈野重威，大西 靖：日本薬学大会第92年会 1972年4月，大阪 J. chromatography **77** 434～448 (1973)
8) Ganno, S.：International Congress on Analytical chemistry (Kyoto) Abstract p. 149 (1972)
9) 鴈野重威，大西 靖，辻 章夫，前田昌子：第15回液体クロマトグラフ研究会 1972年4月，京都
10) 有川喜次郎：日立評論 **46**, 708 (1964)，化学の領域増刊88号，111 (1969) 南江堂
尚，本稿脱稿後以下の報告が出されたのでつけ加えておく。
11) Science Vol 178. 871～872 (1972)
Udenfriend, S. Stein, S. Böhlen, P. Dairman, W. Fluorescamine; A Reagent for Assay of Amino Acids, peptides, proteins and primary Amines in the picomole Range.

U.D.C. 543.544.4-14:543.084.82-527

034形 日立液体クロマトグラフの自動化

渡部伸一* 鴈野重威**

1. はじめに

たん白質，アミノ酸，核酸，糖など，生体成分の分析において，液体クロマトグラフィは一般的であり，重要な分析手段である。その理由の一つは，これらの化合物は不揮発性で分解し易いものが多く，ガスクロマトグラフィなど他の分析法が困難なためである。しかし，液体クロマトグラフィは，ガスクロマトグラフィに比べ分析に長時間を必要とし，短いものでも数時間，長いもので10数時間を要する分析もある。よい再現性を得るためには，これら長時間にわたって必要な操作を正確に行わなければならない。このため，液体クロマトグラフ分析装置の自動化は，単に能率向上ばかりではなく，精度の点でも大きな利点を有し，強く望まれている。

日立製作所では，既にアミノ酸分析専用機としてKLA-3B形およびKLA-5形日立アミノ酸分析計を開発したが，このほど，034形日立液体クロマトグラフを自動化し，広範囲の分析に対して，自動運転が可能な装置を開発した。

本装置では，試料の導入，溶離液の切換え，カラム温度の切換え，洗じょう，停止などがすべて自動的に行われ，スタートのボタンを押した後は，オペレータは機械に触れることなく，繰返し自動分析が行えるように設計されている。また，従来の034形日立液体クロマトグラフの汎用性はそのまま受け継がれており，アミノ酸，糖などの広範な分析に使用されるよういくつかの工夫がなされている。例えば，流路系はすべてダイフロン，テフロンおよびガラスで作られており，十分な耐薬品性があり，多種多様な溶媒の使用が可能である。引火性溶媒に対しても，電気系統と流路系統を分離し，クロマトハウスには換気扇を設けて，引火性ガスを強制的に排気する装置や，ポンプの圧力安全スイッチを設けるなど，十分な考慮が払われている。検出器としては，200～700nmの任意の波長で測定できる多波長流動光度計を用い，かつ発色系流路を有しているので，多くの物質の検出が可能である。

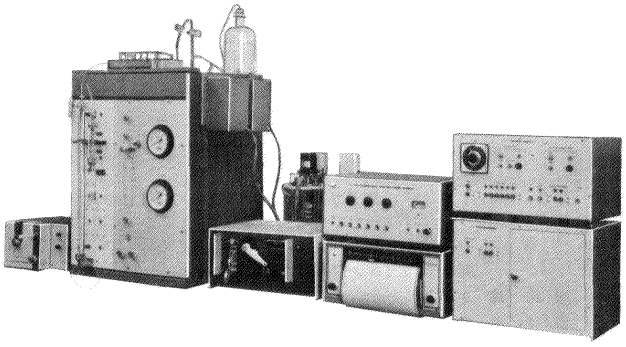


図1(a) 034形 日立全自動液体クロマトグラフ

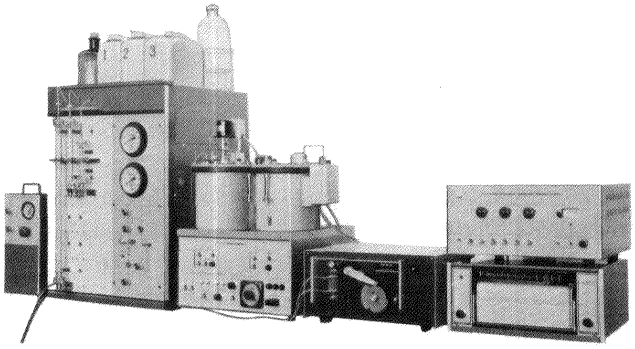


図1(b) 034形 日立液体クロマトグラフ

2. 装置の概要

034形日立液体クロマトグラフは，分析目的に合せて組合せられるいくつかのユニットから成っている。以下各ユニットについてその概要を説明する。

* 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

(1) クロマトハウス（図2）

034形 日立液体クロマトグラフの主要部で，カラム系，発色液系の2つの流路を有している。各流路に供給される試薬は，それぞれ耐薬品性微量定量ポンプで6方電動弁，2方電動弁を通って自動的に送液される。カラムパネルには，内径9mm,長さがそれぞれ400，100mm（標準付属）の他，200，300，500mm，また内径18mmで長さ500mmの分取用カラムを2本まで取付けることができ，分析に応じた

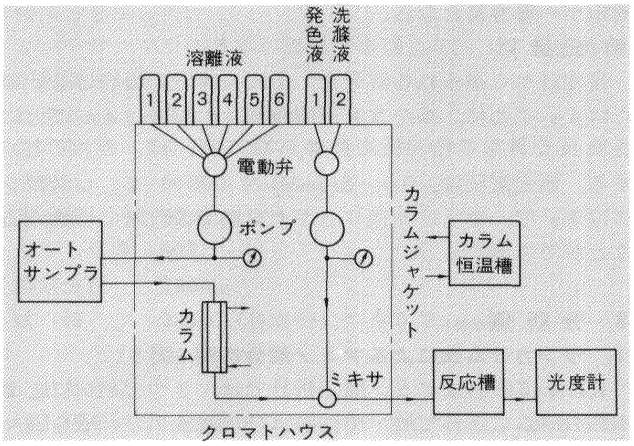


図2 クロマトハウスの全体流路図

カラムを使用することができる。カラムからの溶出液は，ミキサにより発色試薬と混合されサンプルの拡散を防ぐため内径0.5mmの細いテフロンチューブで反応槽に送られる。

(2) 電動弁

従来のアミノ酸分析では，2本のカラムを用い，酸・中性アミノ酸の分析には溶離液を2段階に切換えて分析していたが，本装置では，いわゆるワンカラム分析法で3段階の切換えを行って分析し，プログラムによって自動的に操作される。また，溶離液の切換えチャンネルは，6流路あるので，ステップワイズ法でグラジェント法の効果を得ることもできよう。なお，グラジェント装置は従来どおり付属することができるが，繰返し自動運転には不可能である。

発色系流路に対しては，2方電動弁が付属されており，分析が終了した後，発色液を洗じょう液に切換えて発色液流路と反応槽内を洗じょう液で置換えられるので，糖分析の場合のように，分析終了後，反応チューブ内の溶離液が結晶してチューブを詰まらせるおそれがある場合でも，トラブルを完全に避けることができる。

(3) オートサンプラ（図3，4）

液体クロマトグラフの自動化にはぜひとも必要な装置である。これは，試料の導入を自動的に行うもので，6検体までの試料をあらかじめ計量管に充てんしておき，プログラマの信号によって順次カラムに導入するものである。われわれは，KLA-5形 日立アミノ酸分析用として6チャンネルシークェンシャルオートサンプラ，24チャンネルオートサンプラを開発したが，034形オートサンプラは，これらの技術に加えて汎用性を考慮し，接液部はすべてテフロン，ダイフロン材を使用しているので，優れた耐薬品性を有しており，25kg/cm²の圧力での使用に耐えられるよう設

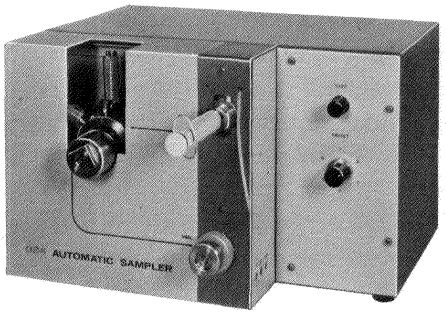


図3 オートサンプラ

計されている。また，万一漏れが生じた場合でも，流路系と電気系が分離されているので，引火性溶媒による危険を防止するように考慮されている。

オートサンプラの構造は，図4に示すように回転するベンブロックに6本の計量管が取付けられており，このベンブロックに密着した固定されたベンザには，計量管内の試料をカラムに導入するためのチューブと，計量管に試料を充てんするためのチューブとが接属されている。注入器で試料を吸引すると，“LOAD”の位置にある計量管に試料が充てんされ，同時に計量される。計量管の容量は0.5ml（標準）で，精度は±1％以内である。計量された試料は，ベンブロックが60°ずつ回転することにより，“ANAL”の位置に移動し，ポンプから送られる溶離液に押出されてカラムに直接導入される。

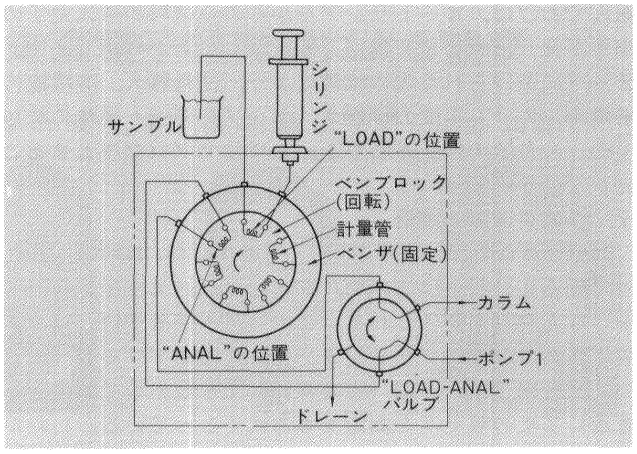


図4 オートサンプラの流路図

また，“LOAD－ANAL”バルブを設けたことにより，自動分析中でも，試料を追加充てんすることが可能である。このバルブを“ANAL”にしておくと，ポンプからの溶離液は，計量管を経由してカラムに連結されているが，“LOAD”にすると溶離液が計量管を経由せず，したがって，ベンブロックを回転しても，試料は計量管にとどまったままでカラムへは導入されないから，6検体のうち，例えば3検体の分析を終り，残りの3検体がまだ計量管内に充てんされていても，“LOAD－ANAL”バルブを“LOAD”にして，ベンブロックを動かし，空の3つの計量管に試料を追加充てんすることができる。これにより，1検体4時間以上かかる分析なら，1日に1回追加充てんすることにより，何検体でも装置を止めることなく昼夜連続して分析

ができるので非常に能率的である。

(4) 循環恒温槽

循環恒温槽は，カラム温度を室温から70℃までの任意の温度で一定に保つための装置である。ヒータで恒温槽中の水を温度制御し，これをカラムジャケットに循環させて，カラムの温度を制御する。設定温度は2点選ぶことができ，プログラマによってこれを切換えることができる。カラム温度は，クロマトグラフィのカラム充てん剤の吸着や分配分子ふるい効果などに大きな影響を与える。このため，分析結果のよい再現性を得るためには，温度制御の正確さが要求される。本装置は±0.2℃の精度で制御される。

(5) 反応槽

カラムからの溶出液は，ミキサにより発色試薬と混合し，反応槽の中で一定温度で反応させる。反応チューブは，アミノ酸分析用＝内径0.5mm，長さ30mと糖分析用＝内径1mm，長さ10mの2本が平行して巻かれており，分析目的に応じて選択することができる。設定温度は，室温から120℃まで任意に選ぶことができる。反応温度は，試料の発色率に関係し，ピークの高さに影響するので，恒温槽と同様±0.2℃の精度で温度制御を行っている。

(6) プログラマ

KLA-5形日立アミノ酸分析計で使用しているプログラマを034形日立液体クロマトグラフ用に改造したもので，パンチテープ方式を採用している。テープはエンドレスになっているので，1検体分のプログラム（最高12時間）を組んでおけば，オートサンプラからの全試料の導入完了の指示が発せられるまで何回でも繰返し分析が可能である。テープにあけられた穴の位置により，試料導入，溶離液の切換え，カラム温度の切換え，ポンプの停止，流路の洗じょう，全装置の停止を最小1min単位でプログラムすることができる。

(7) 多波長流動光度計

034形日立全自動液体クロマトグラフでは，長時間にわたって繰返し分析を行うので，安定したベースラインを得るような光度計が要求される。このため本装置では，重水素放電管およびタングステンランプの光源をダブルビームとし，回折格子によって一定の波長の光を取出して測定セルを通してその吸光度を測定する方式をとっている。したがって，ベースラインの安定性は，12時間に対して±1％以内に抑えることができる。測定波長は回折格子の角度をカムによって変えることにより選定される。このカムには，200～700nmの任意の1波長が選べるリニアカムと，200～700nmの内の3波長を4sごとに切換え，次に述べる記録計により同時測定ができる3波長カムの2種類あり，広汎な分析ができるようになっている。特に3波長で測定すれば，溶出位置の他に3波長の吸光度の比の情報も得られ，同定が一層容易となる。

(8) 記録計

光度計から送られる信号を，1波長固定の場合は2sまたは4sごとに，また3波長同時測定の場合は4sごとに各波長で異なる色（短波長から順に青，緑，赤）で打点する。測定電圧は，0～－5.5mV フルスケール，レスポンスは1sで，チャート送りもギヤ交換で3段階に切換えることができる。

3. 分析例

(1) ワンカラム法によるアミノ酸分析例（図5）

KLA-5形日立アミノ酸分析計では，3つのポンプと2本のカラムによって酸・中性および塩基性アミノ酸を別々に分析しているが，034形日立自動液体クロマトグラフでは，2つのポンプと1本のカラムで溶離液を3段階に切換えて分析するプログラムを採用し，良好な結果を得た。第1および第2溶離液で酸・中性アミノ酸を溶出し，第3溶離液で塩基性アミノ酸を溶出する。したがって，1つの試料を酸・中性アミノ酸分析用と塩基性アミノ酸分析用の2つに分ける必要がなく，実質的に試料が$\frac{1}{2}$でよいという利点がある。また，第3溶離液の切換え時に生ずるアンモニアの高原状ピークは，溶離液調製用の蒸留水にイオン交換水を用いることにより，実用上支障なく，満足できる程度に抑えることができた。

カラム　9φ×400mm
樹　脂　日立イオン交換樹脂#2611
溶離液　A　0.2N Na-Citrate 緩衝液
　　B　0.2N Na-Citrate 緩衝液
　　1：20後切換え
　　C　1.2N Na-Citrate 緩衝液

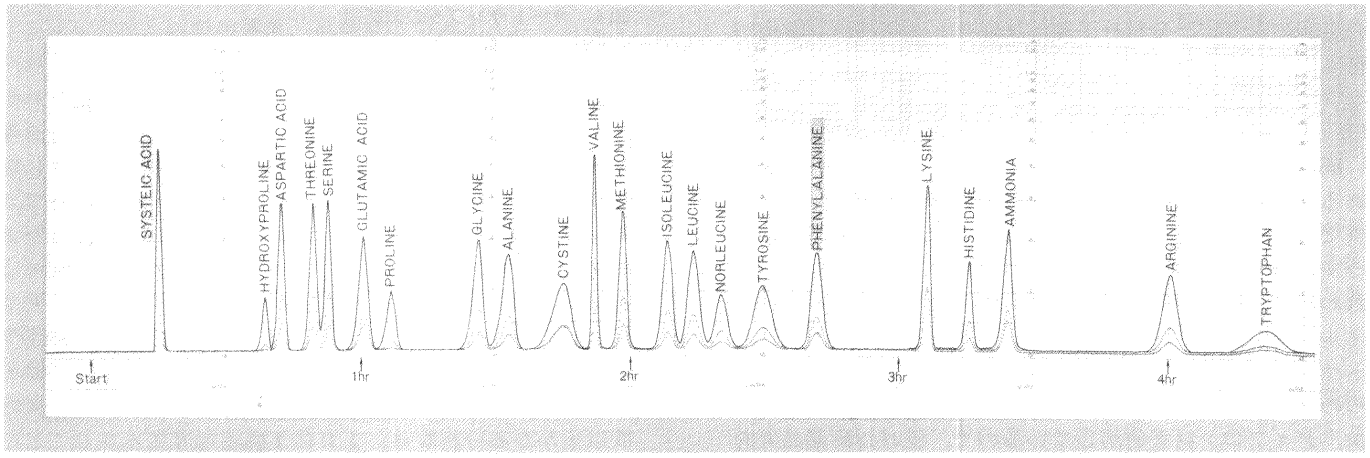


図5　ワンカラム法によるアミノ酸の分析例

	2：15後切換え
流　量	溶離液　60ml/h
	ニンヒドリン試薬　30ml/h
カラム温度	55℃
測定波長	440, 570, 640nm
試　料	0.5ml（各成分につき0.25μmole）

(2) **核酸ベースの分析例（図6）**

図6に核酸ベースのオートサンプラによる繰返し分析で3検体分を示した。

オートサンプラの6本の計量管を通じて，±3％の再現性が保証されている。

カラム	9φ×100mm
樹　脂	日立イオン交換樹脂#2612
溶離液	0.4M Potassium phosphate
流　量	90ml/h
カラム温度	60℃
測定波長	260nm
試　料	0.5ml（各成分につき0.2μmole）

4. おわりに

以上034形日立液体クロマトグラフについて，装置の概要を述べた。本装置によって，1本のカラムを用いたステップワイズ法に関して，全面的な自動運転が可能となり，また，その汎用性，高い再現性，安全性と合せて，広汎な分析を能率的に行えるようになった。しかし，グラジェント法およびカラムを2本用いる分析法に関しては，まだ，自動化の余地が残されており，また，装置自体に問題はないとしても，一般的な分析対象でまだ分析法が確立されていないものもあり，今後の課題として残されている。

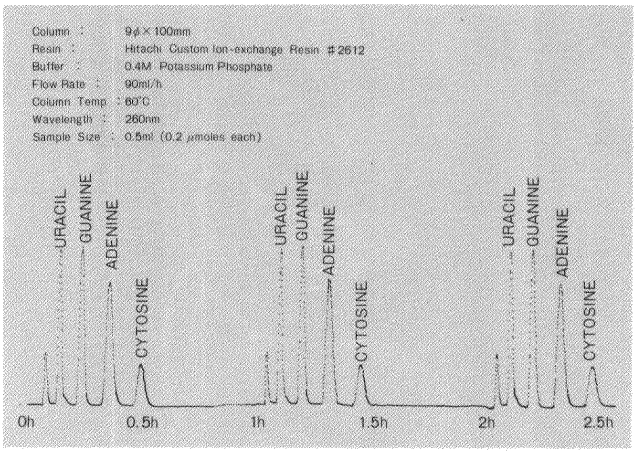
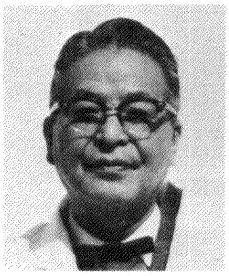
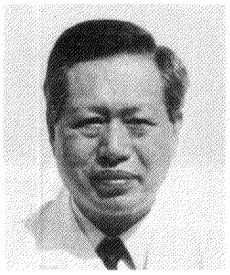
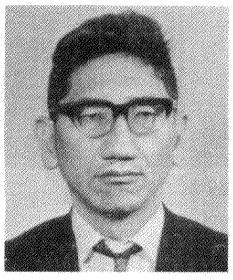


図6　核酸ベースの分析例

U.D.C. 57.086.3:591.69−974.21−513.2

イヌの糸状虫（Dirofilaria immitis）の走査電子顕微鏡による観察

菊池　滋*　林　滋生**　奥山義光***　松本健次****　山田満彦*****

1. 緒　言

イヌのDirofilaria immitis（以下「D.i.」という）はFilariidae科に科に属する線虫で白色糸状を呈し私共の材料で計測した虫体の大きさは，雄虫では15～19mm末部は数回コイル状に巻き，雌虫は21～30mm尾部は真直ぐで先端は鈍円である（**図1，2**）。D.i.はイヌの心臓（右心房，右心室）および肺動脈系の脈管内に寄生し，中間宿主はトウゴウヤブカ，ときにはアカイエカ，ヒトスジシマカなどにより伝搬されるが，その際ヒトを襲うこともあるので，D.i.幼虫が人体に侵入する機会もあり得る。わが国でもヒトに感染してある程度発育した例の報告が数例ある。

D.i.の詳細な記載は，Fülleborn (1912)，Orihel(1961)，板垣，久米(1959)らにより報告され，現在基本的なものとなっているが，走査電子顕微鏡（以下「走査電顕」という）の発明によって，従来不可能であった物体の表面の局所的構造についてさらに観察することができたので，虫体の解剖学的特徴やその機能分類などの解明に大きな手がかりが得られた。D.i.の走査電顕の応用については，Tulloch (1971)らが雄の成虫について報告しているのみで，日本に

SSM-2形 日立走査電子顕微鏡

*　横浜市立大学 医学部 講師，医博
**　横浜市立大学 医学部 教授，医博
***　横浜市衛生局
****　日製産業㈱ 日立理化学機器センター
*****　日立製作所 那珂工場 応用技術部

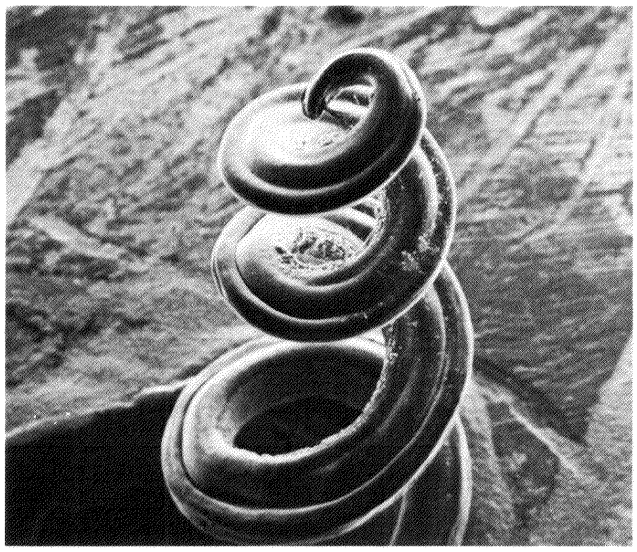


図1　雄虫の尾部　　倍率：×30

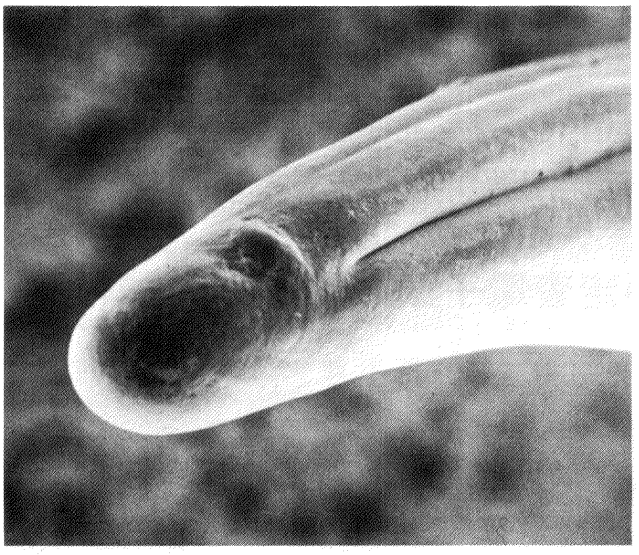


図2　雌虫の尾部　　倍率：×200

は現在報告がない。このほどわれわれはD.i.の雌雄成虫ならびに寄生部位の病変を走査電顕によって観察したので，その所見を報告したい。

2. 材料と方法

イヌは1972．10．29日剖検した。生前流血中にMicrofilaria（以下「m.f.」という）多数が見られ，浮腫が著しかった。D.i.成虫は右心房，右心室に48隻肺動脈幹およびその分枝動脈内に栓塞的に寄生し，腹水を併発していた。成虫は10％のフォルマリン水に固定されていたものを使用し，リン酸緩衝液で洗滌後2％の過マンガン酸カリ液で30分再固定し，70％，90％のエタノールアルコールで30分ずつ通し，最後に100％に入れておいた。また，70％，90％，100％のエタノールアルコールに30分位ずつ通し，最後に純アセトンに入れておいたものもある。次いで，材料を取出し，シャーレ内で空気乾燥した後試料台上に乗せ，10^{-5}Torrにおいて約100Åの炭素，続いて100－200Åの金の蒸着を行った。観察は日立SSM-2形走査電子顕微鏡を用い，電子加速電圧10kV，倍率は30～5,000倍で観察し，写真撮影を行った。

3. 成　績

D.i.の雌雄成虫の頭部，尾部，体表面の構造，寄生部位の右心室，肺動脈内膜の病変を観察した成績は次のようである。

虫体所見：体表Cuticuleには細い輪状の線条があり，雄虫後端の腹面には約20μ間隔で隆起線が形成されている（**図3**）。頭部の中心部はやや陥没し，極めて微小な口が開いている。口の周辺は渦巻状の横シワ模様が見られる。口を取巻いて内外2列の同心円上に4個ずつ計8個の乳頭と1対の感覚器官（Amphids）が存在する（**図4**）。雌虫の尾部は真直で先端は丸く，背側の中央部を縦に太い棒状の隆起が走り，末端近くで左右に分枝を出し，並行して尾端に終っている。棒状の隆起と体部との間はわずかのすき間によって区画されている。腹面でも背側同様に太い棒状の隆起が体の中央を走り肛門の直前部で終り，終末部は丘状に盛り上がっている（**図5，6**）。その直後に肛門が開く。肛門開口部はCuticuleの輪状構造が著明になり，肛門内壁口までこれが認められる（**図7**）。

雄虫の尾部はコイル状に巻き，背側は半円錐形を呈し，体の中央を走っている太い棒状の隆起が尾部で2つの分枝を出す。

尾部の乳頭は大きな乳頭が5対（左右5個ずつ，ときに4個の例がある），そのうち4対は肛門の前方，1対は後方にある。この後肛門乳頭の後方には微小な2対の小乳頭，さらに尾端近くにやや大きな1対の乳頭が存在している。肛門側乳頭は2対である（**図8**）。

左交接刺は先がとがり，側面に5μくらいの間隔で2本の縦線が先端まで走り，縦線の間は横シマ模様を呈している（**図8**）。右交接刺は幅が広く内面がくぼみ，左交接刺を包むような形になっており，生殖口に接してシワが存在する（**図9**）。

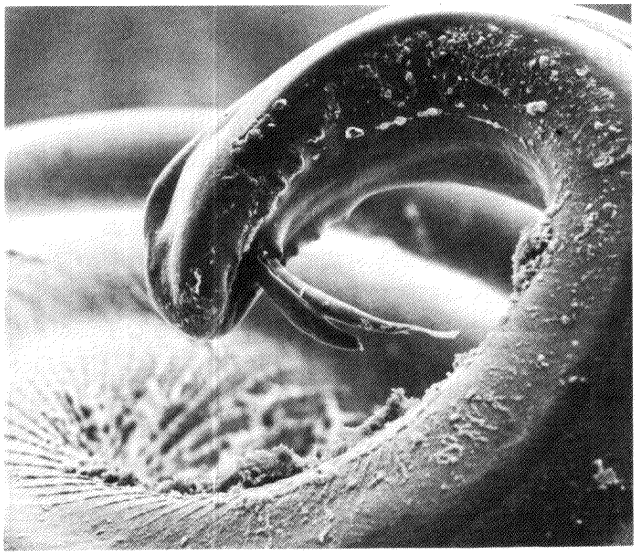


図3　雄虫後端の腹面は隆起線を形成　　倍率：×200

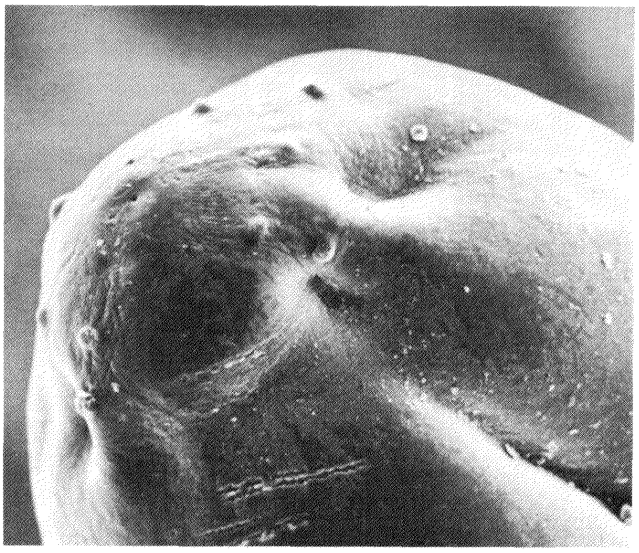


図4　口腔（中央部）8個の乳頭（1個はかくれている）1対の感覚器官
倍率：×500

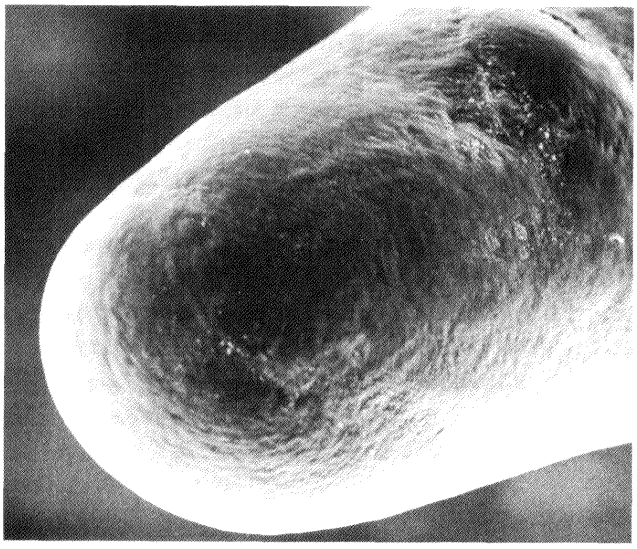


図5　肛門開口部（腹面）　倍率：×500

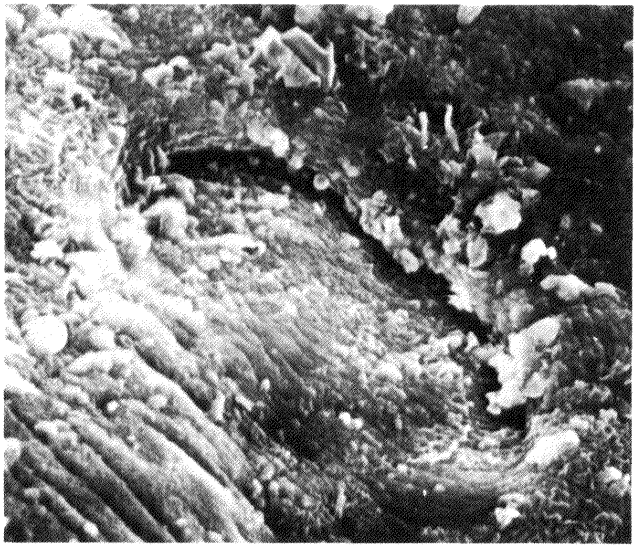


図6　肛門拡大　倍率：×5,000

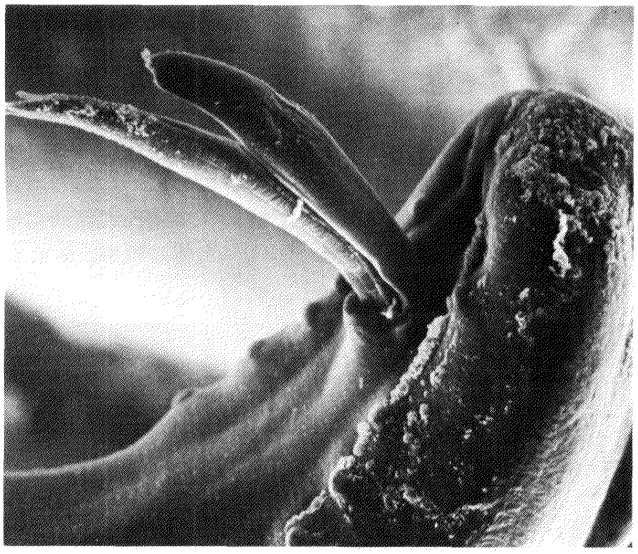


図7　雄虫肛門附近の乳頭と交接刺　倍率：×500

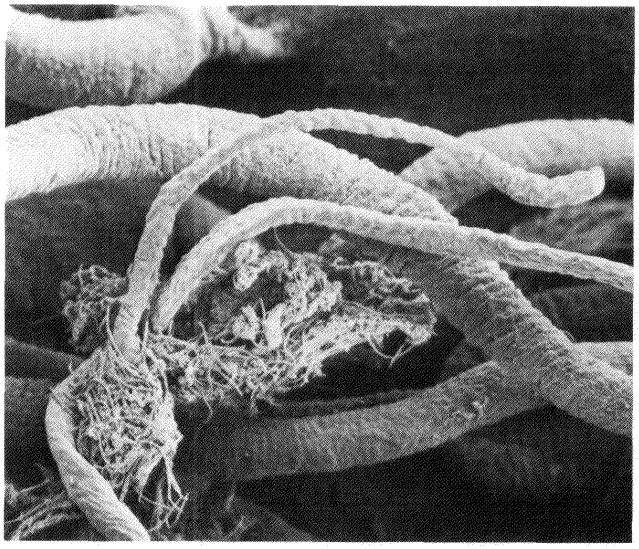


図8　犬肺動脈枝内の虫体栓塞　倍率：×500

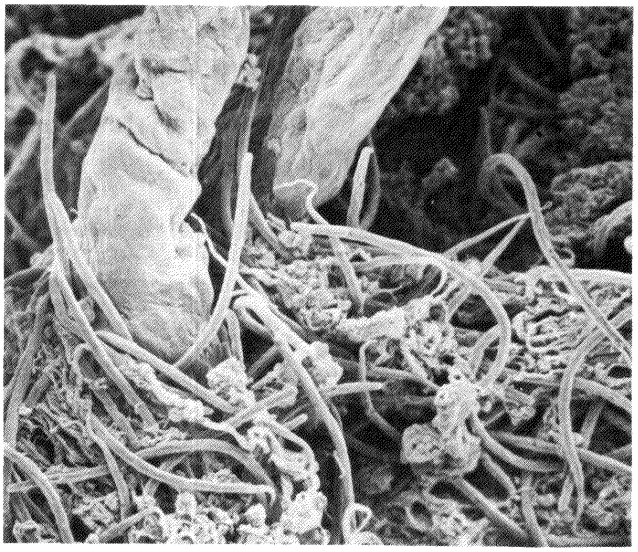


図9　犬肺動脈枝内のミクロフィラリア　倍率：×500

寄生部位の病変所見：

虫体は右心室，肺動脈幹および肺主要区域の動脈内に栓塞して見られた。栓塞虫体は成虫，幼若虫で多数のm.f.が凝固物とともに混在していた(**図10**)。右心室の内膜は粗糙となり，肺動脈では内膜炎を起し，壊死片，凝固物が付着し，また内膜の肥厚，増殖があり，その表面や空げき凝固物内に多数のm.f.が観察された。肺動脈内膜面の諸所に瘤状に突出したものが形成され，虫体や虫体の残骸，m.f.などが発見された(**図11～12**)。

図10　犬肺動脈枝の内膜炎とミクロフィラリア　倍率：×100

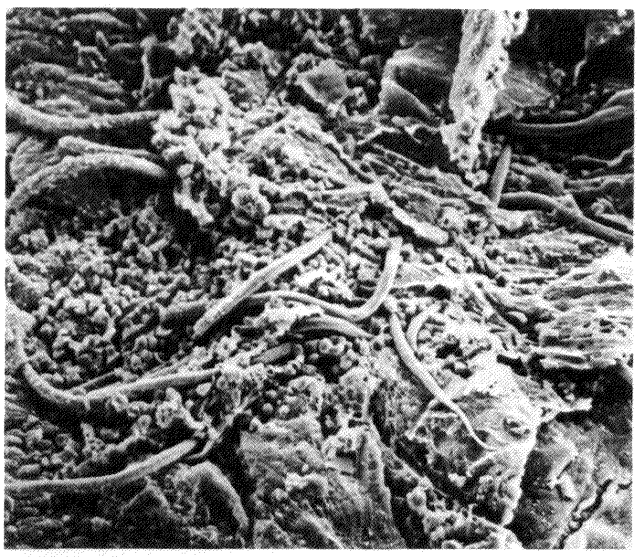


図11　犬肺動脈内膜炎と血液疑塊物内のミクロフィラリア　倍率：×500

4. 要　約

Dirofilaria immitis の走査電顕による観察所見では，Cuticuleに輪状の線条が密に並び，雄虫後体部の腹部ではさらに20μくらいの間隔で隆起線が形成されている。頭頂部の中心はややくぼみ，中央に口が開いている。口の周辺には2つの同心円上に4個ずつ計8個の乳頭が存在し，他に1対の感覚器（amphids）を備えている。

雌虫の体の背腹側にそれぞれ太い棒状の隆起が走り，背側では尾部付近で2つの分枝を出し，これらが並行して尾端に終り，腹側では分枝を出さず肛門直前で終っている。雄虫でも背側中央を太い棒状の隆起が走り，尾端付近で2つの分枝を出す。雄の尾部乳頭は大形乳頭が肛門前に4対，後方に1対あり，このさらに後方に小乳頭2対と尾端にやや大きい1対が見られ，肛門周辺には2対の乳頭が存在する。肛門を取巻いて少数の輪状のシワが見られる。

図12　肺動脈内の栓塞虫体を取り除いた後の内膜変化　倍率：×50

寄生部位の右心室の内膜は著しく粗糙で，肺動脈幹および分枝動脈血管には虫体の栓塞または虫体の残骸，ミクロフィラリアの存在が認められ，また，内膜表面は粗糙で，肥厚，増生の顕著な像が観察された。

終りに，本研究にご援助をいただいた日製産業㈱電装一課茂木忠一氏ならびに㈱日立製作所那珂工場応用技術部・理学博士永谷　隆氏，技師渡辺忠雄氏に深く感謝する。

■参考文献

1) Fülleborn. F.：Zur Morphologie der Dirofilaria immitis, Leidy 1856. Zentralbl. Bact. Parasit. 65：341－349, 1912

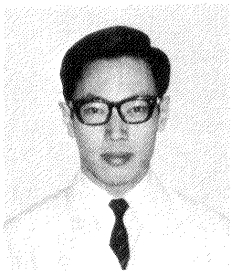
2) Orihel. T. C.：Morphology of the larval stages of Dirofilaria immitis in the dog. J. Parasit. 47：251－262, 1961

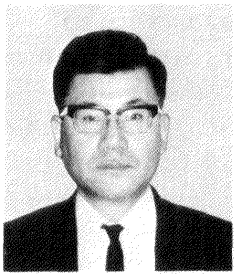
3) Tulloch, G. S., Pacheco, G., Anderson, R. A., and Miller, F. H. Jr.：Scanning Electron Microscopy of Adult Male Dirofilaria immitis. Canine Heartworm Disease, The current knowledge (Proc. 2nd Univ. Florida Symp. Canine Heartworm Dis., 1971)：113－115, 1972

U.D.C. 57.086.3:〔619:636.5:616-006.4-022.78〕

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

岡田幸助* 藤本 胖** 米原勝久***





1. はじめに

ヒナのマレック氏病は，末梢神経および内臓諸臓器・組織におけるリンパ細網系細胞の腫瘍性増殖を特徴としている病である[4]。この病は，ヘルペスB群のウイルスによって起こることが知られている[2]。一方，七面鳥ヘルペスウイルス（HVT）は，一見健常な七面鳥から分離され[15]，そのウイルス学的，血清学的性状はマレック氏病ウイルス（MDV）のそれと類似している。HVTはヒナに対して病原性がなく，ワクチンとして応用されつつある。

先に，われわれはMDVのCal-1株のType 1ならびにType 2 PPA（Plaque-producing agent），JM株およびHVTのFC-126株をヒナ腎細胞（CKC）およびウズラ線維芽細胞（QF）に培養し，電顕的観察を行った[11]。その結果，核内にさまざまな形態の未熟粒子を認めた。このほど，試料傾斜装置を用いてこれら未熟粒子の三次元的構造を検索したので，ここに報告する。

2. 材料と方法

2.1 ウイルスおよび細胞培養

Cal-1株のType 1およびType 2 PPAはBankowski博士（カルフォルニア大学）より分与された。また，JM株およびHVTのFC-126株はそれぞれ佐沢弘士博士（農林省・動薬検）および湯浅嚢博士（農林省・家衛試）から分与されたもので，いずれも最初Burmester博士（Poultry Reserch Branch, U.S.D.A., East Lansing, Mich., U.S.A.）から日本に分与されたものである。CKCおよびQFにおける培養方法は先の論文に詳しい[11]。

2.2 試料作製

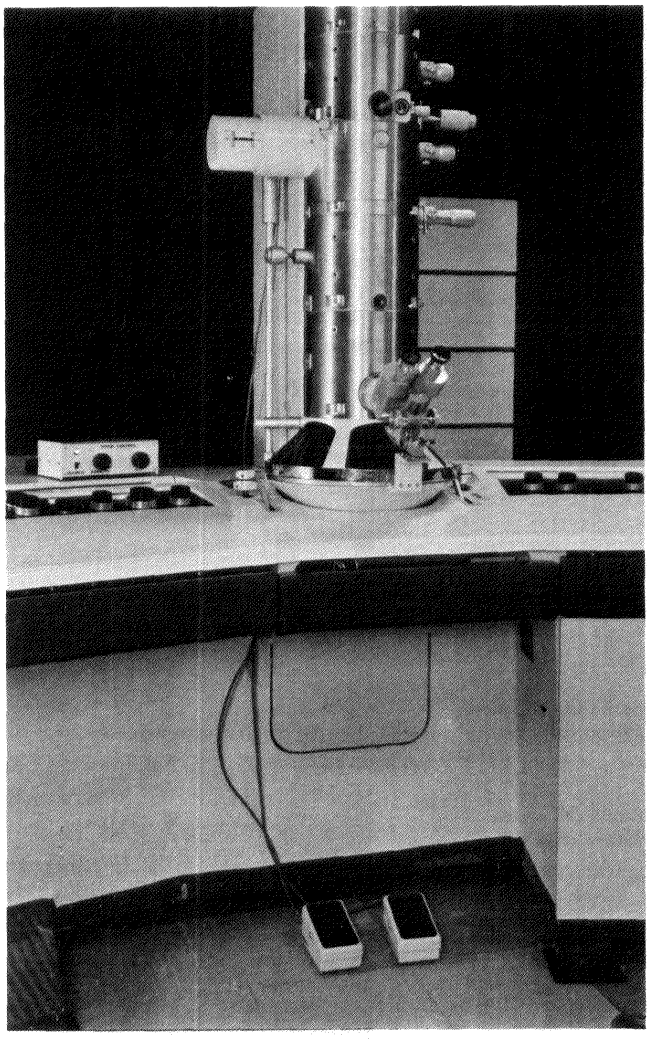
CKCおよびQF培養細胞にMDVおよびHVTを接種した後，5～11日目の最大のCPE（Cytopathic effect）を示した細胞をプラスチック・シャーレからはがし，3,000 rpm，10分間遠沈した。ペレットを6.25% glutaraldehyde（0.1Mカコジル酸ナトリウム緩衝液）で1時間固定した。次に，同じ緩衝液で洗じょう後，1%オスミック酸（0.1Mリン酸緩衝液，pH 7.4）で1時間再固定し，エタノールで脱水，Epon包埋を行った。超薄切片はPorter-Blum MT-1形Ultramicrotomeで薄切し，銅製150メッシュにすくい，酢酸ウランおよび鉛の二重染色を行った。

2.3 三次元的構造の検索

約100～500 nmの厚い切片を作製し，HU-12形日立電子顕微鏡にHK-6形全方位高角度傾斜装置を取付け，加速電圧125 kVで観察した。核内の同一未熟粒子をさまざまな角度（±35°）から撮影し，ステレオスコープで三次元的構造を観察した。

3. 結果

超薄切片では核内に次のような形態の未熟粒子が認められた。



HK-6形 日立全方位高角度傾斜装置を装着した
HU-12形 日立電子顕微鏡

* 北海道大学 獣医学部 比較病理学教室，助手
** 北海道大学 獣医学部 比較病理学教室，教授，獣医博
*** 日立製作所 那珂工場 応用技術部

(1) small nuclear particle

直径約30nm の球状物（おそらくは正二十面体）で，核内に散在して見られた。ときに無数の粒子が結晶状に配列して，核内に集塊を形作っていた。

(2) empty nucleocapsid

直径約90～100nm の六角形の capsid で，中には何も入っていなかった。

(3) cross-shaped capsid

capsid の中に1～5個，普通は4個の小形粒子が入っていた。この小形粒子は small nuclear particle とほぼ同じ形と大きさであった。これら小形粒子の存在で間げきが十文字に抜けているところから，Nazerian ら[8]によりこの capsid は cross-shaped capsid と呼ばれている。

(4) nucleocapsid with horseshoe-shaped core

capsid の中に馬蹄形の core と1～2個の小形粒子を入れるもの。

(5) nucleocapsid with peculiar-shaped core

capsid の中に1～2本の桿状物と，それらと直角に電子密度の低い何らかの構造物が交差しているもの。

(6) double shell nucleocapsid

capsid の中に中心の抜けた直径約50nm の core を入れたもの。

(7) nucleocapsid with dense core

capsid の中に電子密度の高い直径約50nm の core を入れたもの。

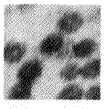
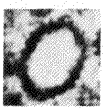
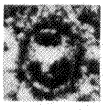
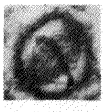
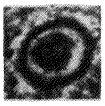
以上の粒子の出現比率を**表1**に，また，**図1～4**にcross-shaped capsid, nucleocapsid with horseshoe-shaped core, nucleocapsid with peculiar-shaped core および縦縞のある紙風船状 core をもった capsid の写真および模型を示した。

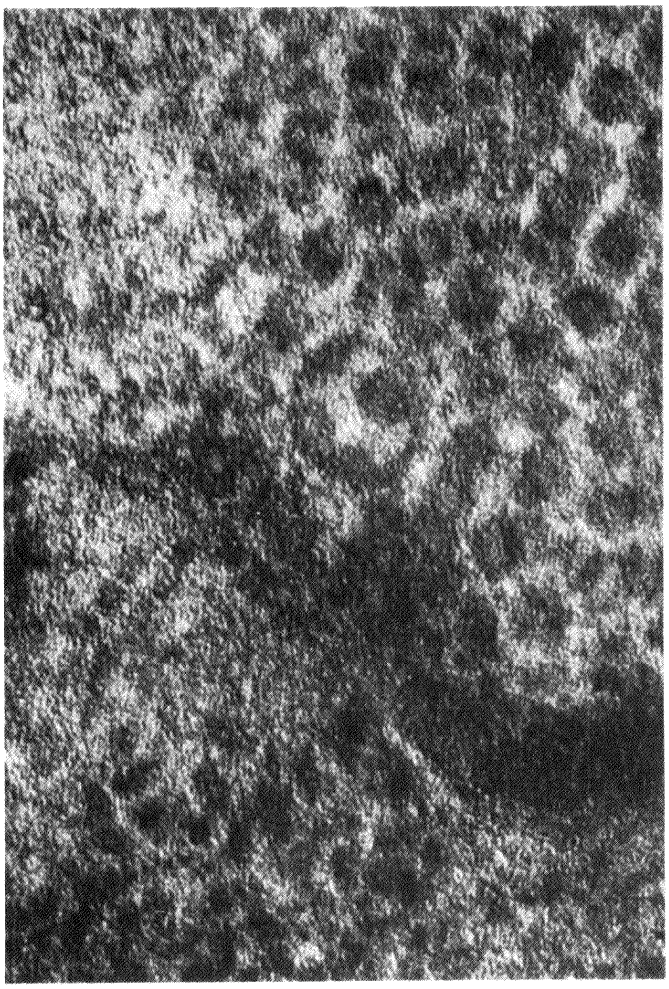
各種未熟粒子の三次元的観察の結果，cross-shaped capsid は6個の小形粒子を含んでいることがわかった（**図1**）。nucleocapsid with horseshoe-shaped core は2個の粒子の間に1個のドーナツ状リングがはさまったものであった（**図2**）。超薄切片で馬蹄形に見えた core はこのドーナツ状リングを斜断した像と思われた。nucleocapsid with peculiar-shaped core は2枚の円盤ないしドーナツ状リングが互いに直角に交差したものであった（**図3**）。またそれらリングの幅が広くなって縦縞のある紙風船のようになったものも見られた（**図4**）。

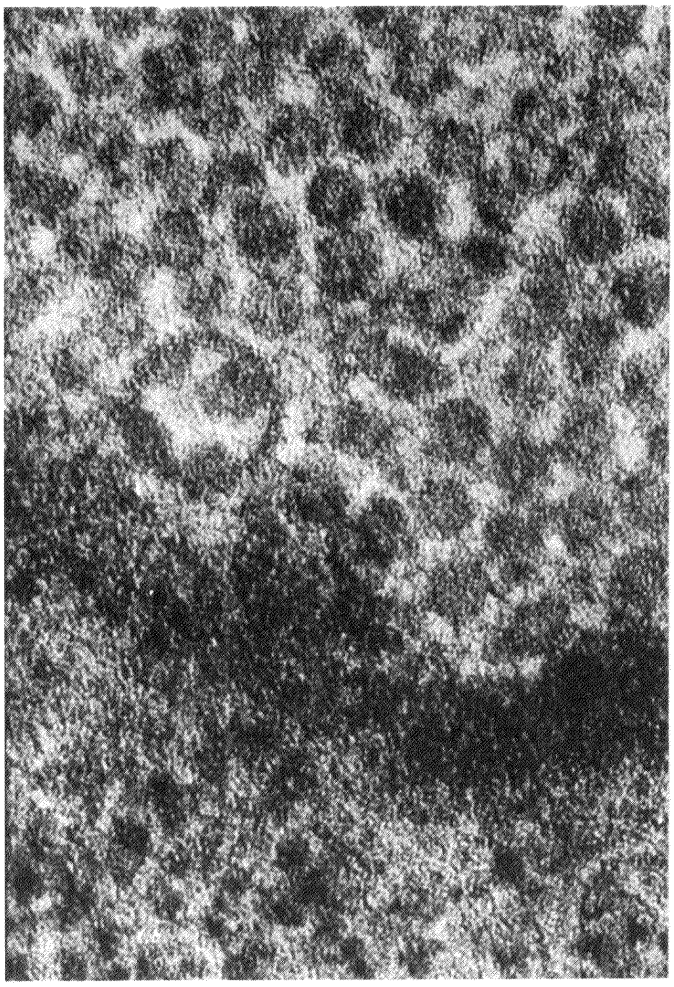
4. 論　議

small nuclear particle は MDV の他の株[2),12)] HVT[8)] および他のヘルペスウイルス[13)] に見られている。また in vivo でも Schwann 細胞の核内や[1)]，羽包の上皮細胞[7)]に見られており，著者らも JM 株接種ヒナのファブリシウス嚢の上皮性細胞でこれを観察した[5)]。今回はウィルス接種後の経時的観察を行っていないので，種々な形態の未熟粒子が

表1　核内における未熟粒子出現比率

Types of virus particles		Strain of virus and cell culture				
		Type 1 (Cal-1)	Type 2 (Cal-1)	JM		FC126-HVT
		CKC	CKC	CKC	QF	QF
small nuclear particle		+	+	+	+	+++
empty nucleocapsid		29 (10.7%)	38 (10.9%)	7 (16.7%)	46 (10.3%)	100 (24.8%)
cross-shaped capsid		5 (1.9%)	114 (32.8%)	0 (-)	9 (2.0%)	213 (52.7%)
capsid with horseshoe-shaped core		2 (0.7%)	23 (6.6%)	3 (7.1%)	11 (2.5%)	18 (4.5%)
capsid with peculiar-shaped core		46 (17.0%)	32 (9.2%)	3 (7.1%)	45 (10.0%)	28 (6.9%)
double shell nucleocapsid		83 (30.6%)	39 (11.2%)	14 (33.4%)	251 (56.0%)	17 (4.2%)
nucleocapsid with dense core		106 (39.1%)	102 (29.3%)	15 (35.7%)	86 (19.2%)	28 (6.9%)





−35°　←　×238,000　0°　0.1 μ

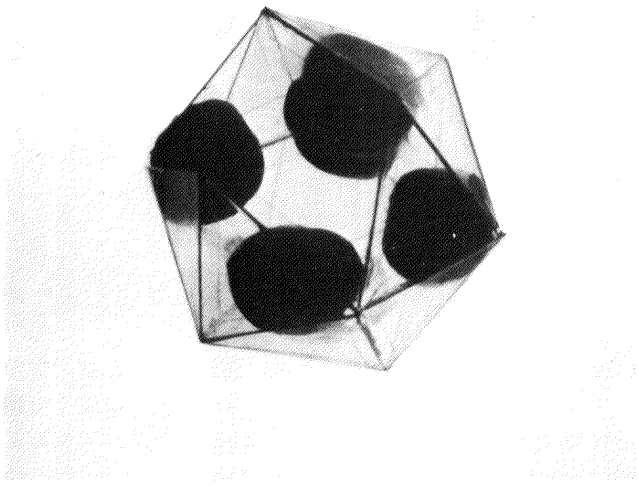
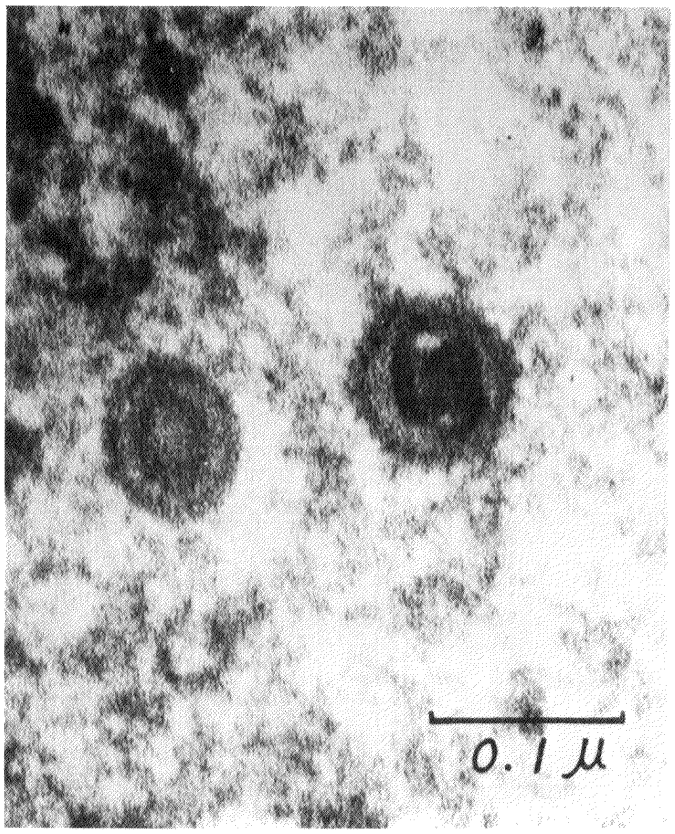
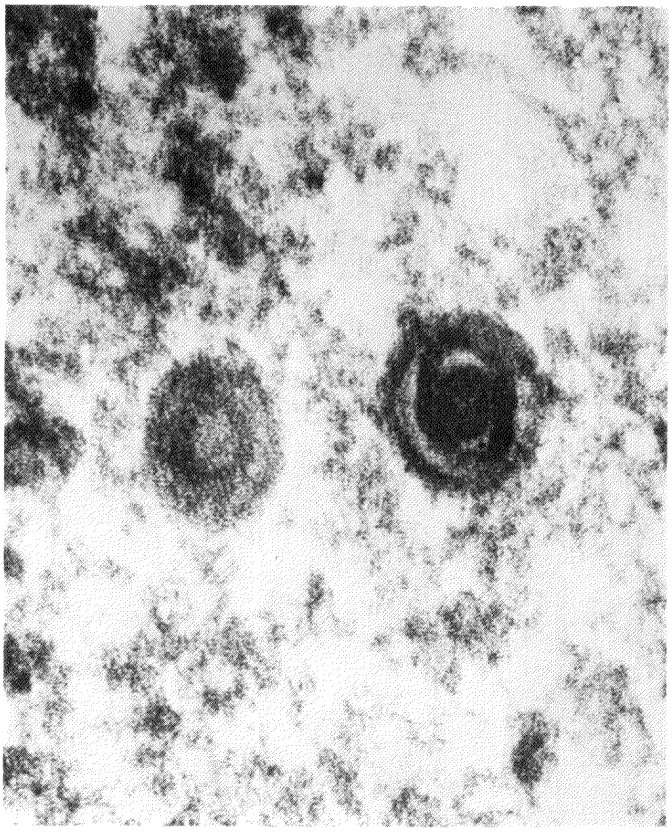


図1　cross shaped capsid の電子顕微鏡像とその模型図（周囲の粒子は Small nuclear particle）

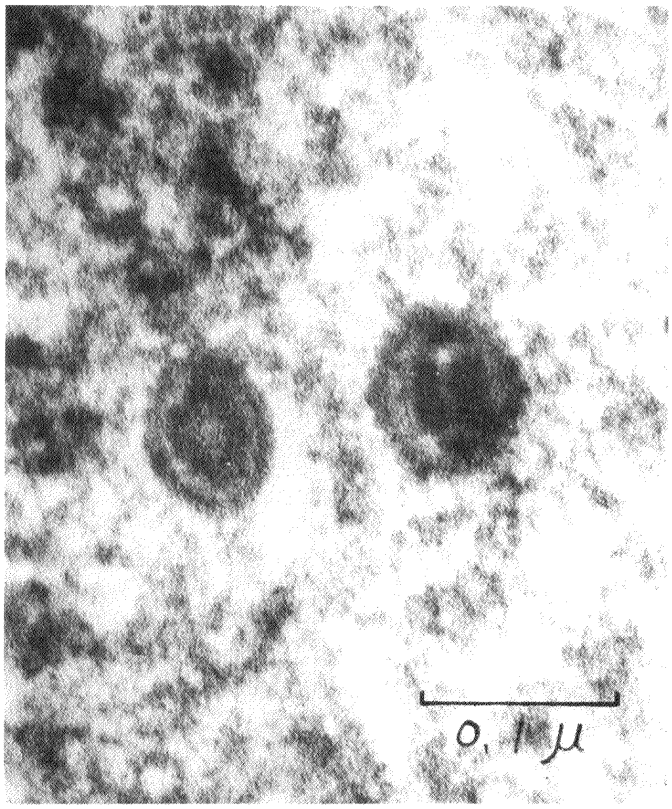
これらウイルスの成熟過程を示すものか，ある特殊な形態にすぎないのかは不明である。しかし，最大のCPEを示した材料を使用したので，そこには各種段階の成熟過程の粒子が含まれていると思われた。

small nuclear particle と cross-shaped capsid の中の小形粒子とがほとんど同じ大きさと形であることと，隣接して見られることから，cross-shaped capsid の形成は6個の small nuclear particle の周囲を capsomer が囲んで capsid を形成したものではないかと想像される。Nazerian ら[8]や Settnes [12]も small particle がおそらく core と関係するのではないかと想像している。cross-shaped capsid と類似の形態は犬ヘルペスウイルス[6]，鶏の伝染性喉頭気管炎ウイルス[14]，および馬流産ウイルス[10]などでも報告されているが，その意義について述べられていない。今回の三次元的観察によりそれぞれの未熟粒子の立体構造が明らかにされたが，cross-shaped capsid の中の6個の内4個がドーナツ状リングになったものが capsid with horseshoe-shaped core ではないだろうか。次の段階として残りの2個がさらにドーナツ状リングになり，それらが直角に組合さったものが peculiar-shaped core を作っ





0° ——→ +35°
−20° ↓ ×238,000



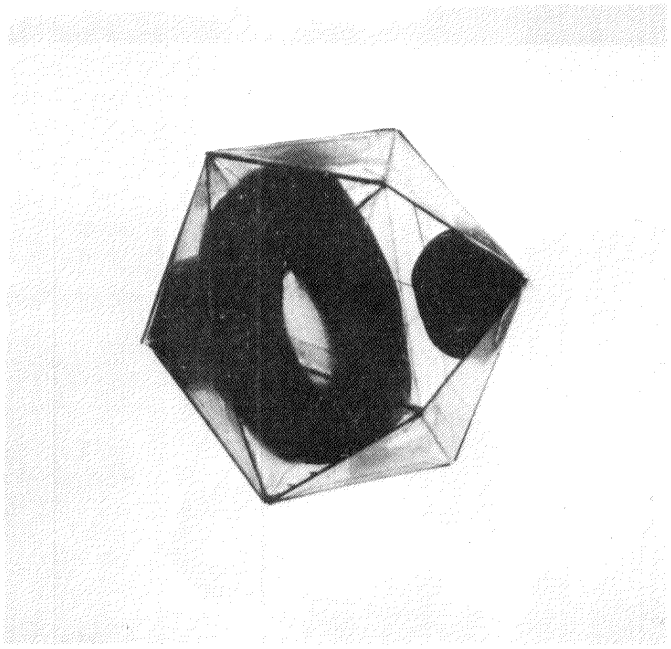
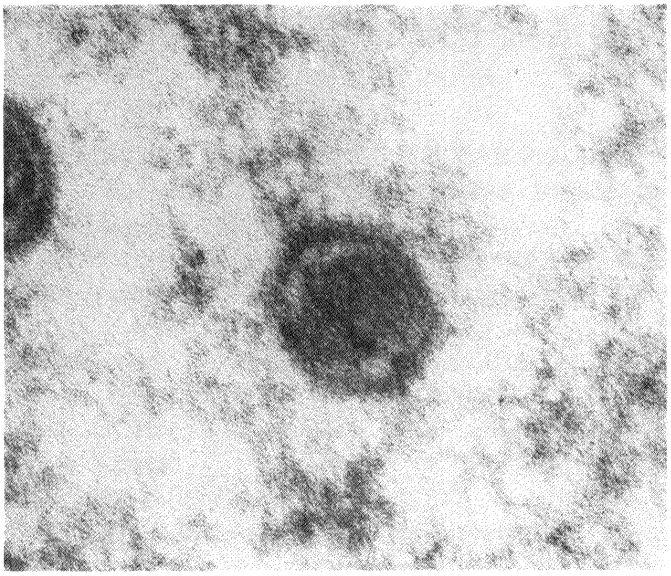


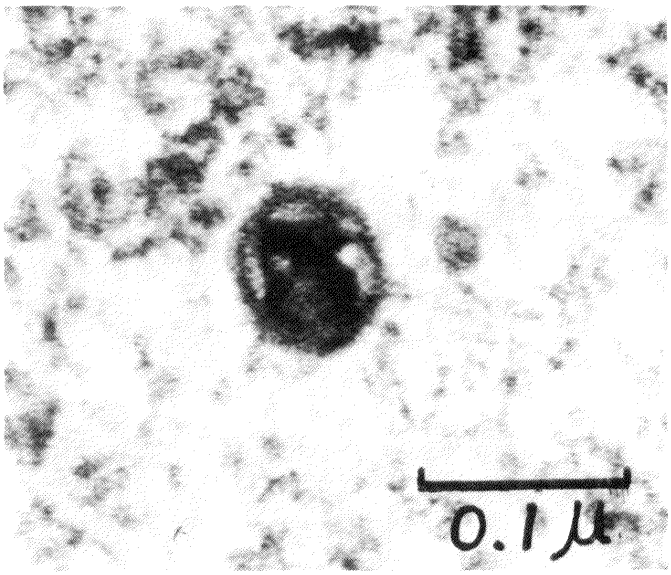
図2 nucleocapsid with horseshoe-shaped core の電顕像とその模型（実際は2個の小形の粒子はもっと接近している。）

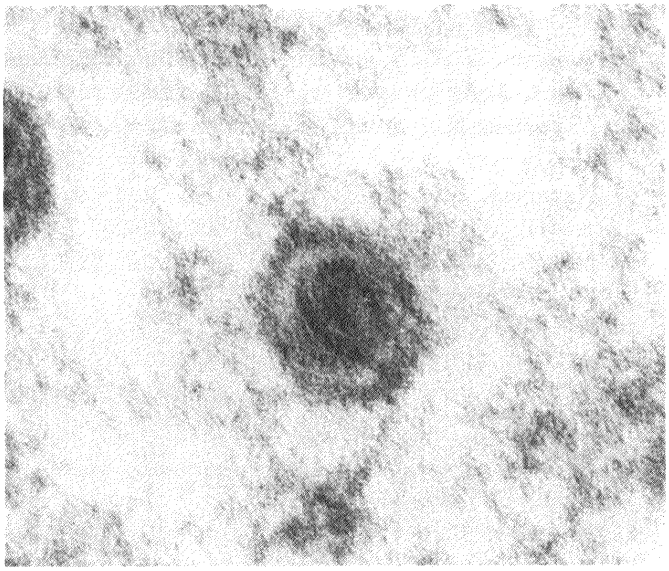
ているものと考えられないだろうか。次いで，リングの幅が広くなって縦縞のある紙風船様構造となり，遂には完全な球状の core になるものと思われる。これを超薄切片で見ると，double shell capsid または capsid with dense core として見えるものと思われる。

double shell capsid の電子密度の低い core が電子密度

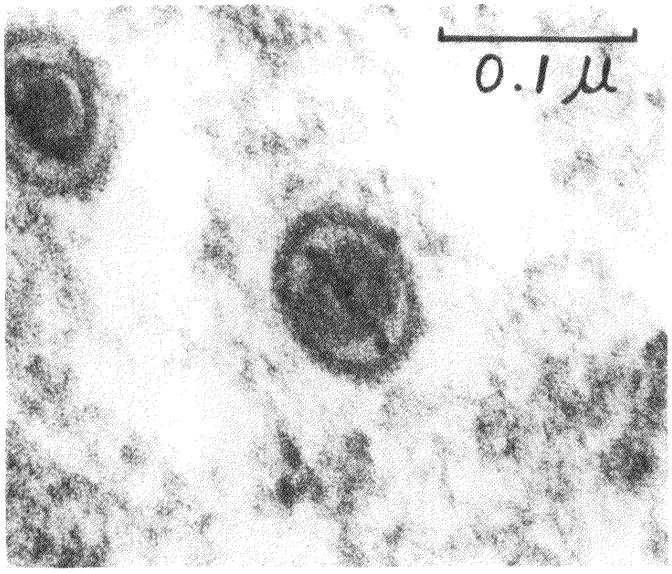


▲0°





▲-20°　　▼+35°



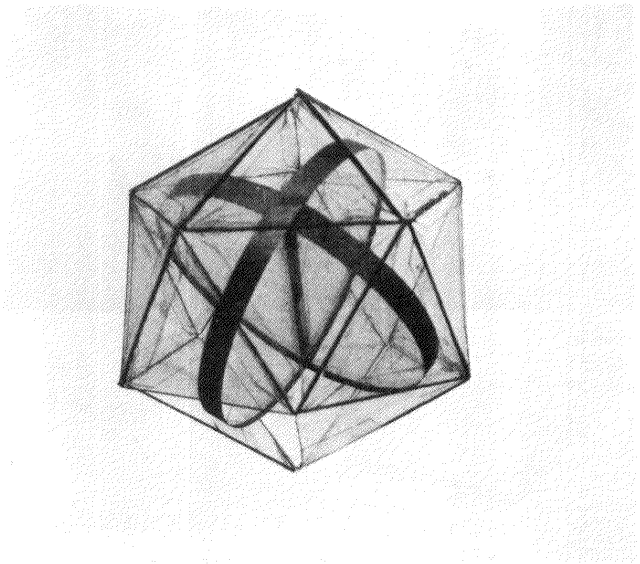


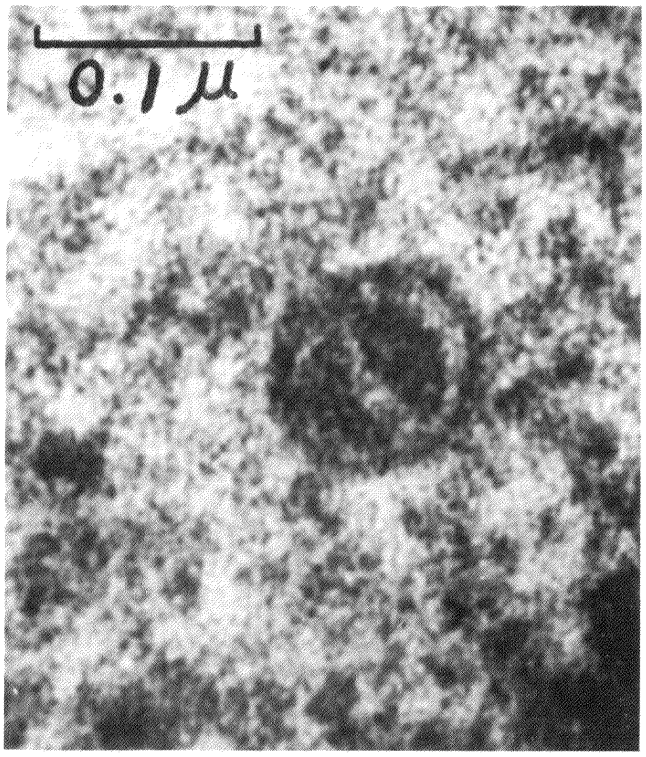
図3　peculiar-shaped core の模型図
超薄切片における nucleocapsid ×170,000

の高い core になるであろうという推察はすでになされている[9]，これら未熟粒子が，Darlington & Moss[3]が述べたごとく，内側核膜で budding を行い，成熟粒子になることはすでに観察した[11]。

5. まとめ

MDV および HVT を CKC または QF に培養して核内に見られた未熟粒子を試料傾斜装置を用いてその三次元的構造を検索した結果，small nuclear particle, cross-shaped capsid, capsid with horseshoe-shaped core, capsid with peculiar shaped core および double shell nucleocapsid の三次元的構造が明らかにされた。それらは互いに関連をもち，このウイルスのある成熟段階を示すもののように思われた。

最後に，本研究に対して材料を提供され，ならびに懇切なご指導をいただいた札幌医科大学微生物学教室・見上彪博士



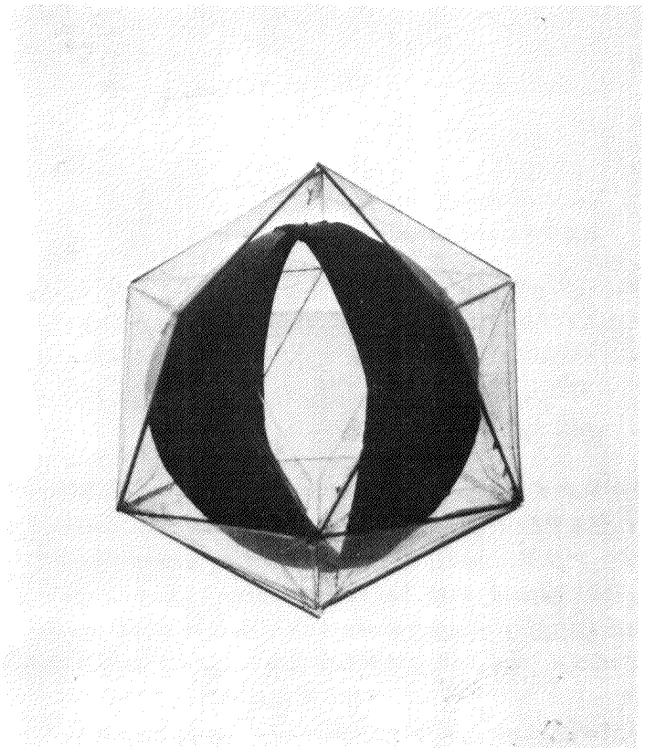


図4 peculiar-shaped core の模型図
縦縞のある紙風船様の core をもった capsid×1700

並びに北海道大学獣医学部放射線学教室・中西宥博士に深く感謝申しあげる。

■参考文献

1) Calnek, B. W., Ubertini, T. & Adldinger, H.K : J. natn. Cancer Inst., **45**, 341 (1970)
2) Churchill, A. E. & Biggs, P. M. : Nature, Lond., **215**, 528 (1967)
3) Darlington, R. W. & Moss, L. H., III : J. Virol., **2**, 48 (1968)
4) Fujimoto, Y., Nakagawa, M., Okada, K., Okada, M. & Matsukawa, K. : Jap. J. vet. Res., **19**, 7 (1971)
5) 藤本胖, 岡田幸助, 松井高峯, 柿畑耕司, 成田実, 見上彪, 小沼操 : 日獣誌, **34**, 学会号 (1972)
6) Johnson, G. R., Koestner, A., Kindig, O. & Shadduck, J. A. : Path. vet., **6**, 289 (1969)
7) Nazerian, K. : J. natn. Cancer Inst., **47**, 207 (1971)
8) Nazerian, K., Lee, L. E., Witter, R. L. & Burmester, B. R. : Virology, **43**, 442 (1971)
9) Nii, S., Morgan, C. & Rose, H. M. : J. Virol., **2**, 517 (1968)
10) O'callaghan, D. J., Hyde, J. M., Gentry, G. A. & Randall, C. C. Ibid., **2**, 793 (1968)
11) Okada, K., Fujimoto, Y., Mikami, T. & Yonehara, K. : Jap. J. vet. Res., **20**, **57** (1972)
12) Settnes, O. P. : Acta path. microbiol. scand., **78** B, 495 (1970)
13) Shipkey, F. H., Erlandson, R. A., Bailey, R. B., Babcock, V. I. & Southam, C. M. : Expl Molec. Path., **6**, 39 (1967)
14) Watrach, A. M., Hanson, L. E. & Watrach, M. A. : Virology, **35**, 321 (1968)
15) Witter, R. L., Nazerian, K., Purchase, H. G. & Burgoyne, G. H. : Am. J. vet. Res., **31**, 525 (1970)

U.D.C. 621.385.833.2

HS-9形 日立普及形電子顕微鏡

窪添守起* 佐藤 恒* 宮内恭一* 小内俊男* 福島竜一郎*

HS-9形日立普及形電子顕微鏡（以下「HS-9形」という）はHS-8形電子顕微鏡を基本として，特に性能と操作性の向上に重点を置いて新たに設計した装置である。分解能4.5Å，加速電圧75kV，自動真空排気および自動露出計を備え，レンズはズーム方式，焦点合せにはイメージワブラを採用した。

図1にそのブロックダイヤグラムを示す。

1. 主な改良点

(1) 加速電圧

最近は生物分野においても一般に高い加速電圧を使用する傾向にあるので，それに応じて最も応用範囲が広く，より使い易い加速電圧として75kVを選んだ。これによって，透過能，明るさ，分解能を向上させることができた。高圧発生装置は高周波コック クロフト ウォルトン方式で，従来のものよりさらに小形化し，高圧安定度は1×10^{-5}/minを得ている。電気系の全回路には信頼性の高い集積回路を採用し，ソリッドステイト化により，安定性に富んでいる。

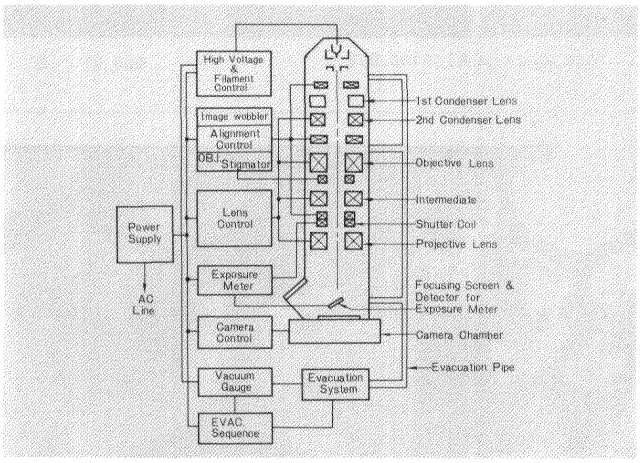


図1 HS-9形 日立普及形電子顕微鏡のブロックダイヤグラム

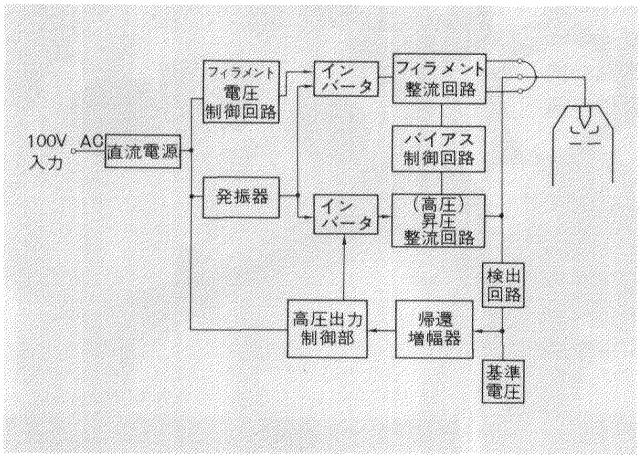
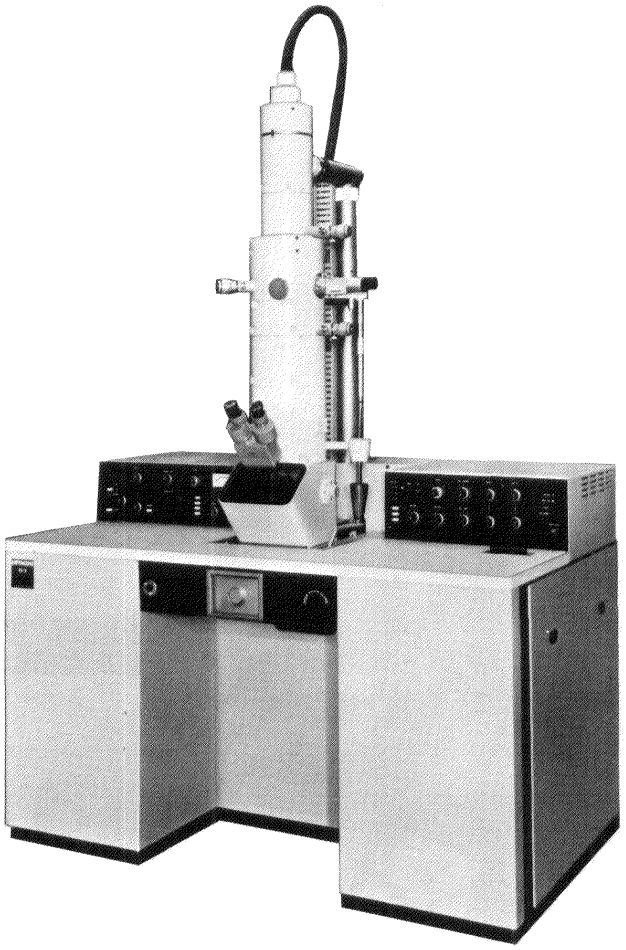


図2 高圧電源部ブロック図

*日立製作 所那珂工場 電装部



HS-9形 日立普及形電子顕微鏡

図2に高圧電源部のブロック図を示す。

(2) 形 像 系

対物レンズ，中間レンズ，投射レンズの3段拡大系で，電磁石励磁にして3個のレンズを効率よく組合せ，歪像収差および軸外色収差を補償している。倍率は，×500～×100,000まで12段のステップ切換にし，最も使用ひん度が高い×10,000前後の倍率を倍率可変範囲の中心においた。倍率表示は操作盤上で直読できる。また，プッシュボタンスイッチ“SCAN”（メッシュ像のことで視野選択用）を押せば広視野像が伝られ，120mmφの蛍光板いっぱいに投影して視野選択を容易にしている。**図3(A)**にスキャン像を，**同図(B)**にスキャン像中心部の対応拡大像の写真を示す。

各倍率において自動的に焦点が合うズームレンズ方式を採用しているので，像観察が容易であり，またイメージワブラ装置も加わって正確な焦点を迅速に合せることができる。

図4にズームレンズの効果，また，**図5**にイメージワブラ効果の例を示す。

その他，プッシュボタンスイッチ“SA”(SELECTED

AREA）を押し，制限視野絞りをそう入すれば，制限視野拡大像およびその電子回折像が観察できる。制限視野電子回折の制限半径は対物レンズの球面収差（Cs）と電子線波長（λ）によって決まり，HS-9形の場合，加速電圧が75kVであることと対物レンズの性能がよいので，制限視野回折にも有利である。すなわち，$Cs=1.6\text{mm}$・$\lambda=4.32\times10^{-2}$Å（75kV）であるから，回折斑点に対応する結晶面間隔（d）を0.8Åまでとるとすると制限視野の下限半径（R）は

$$R=Cs\left(\frac{\lambda}{d}\right)^3=2.5\times10^{-4}(\text{mm})\cdots\cdots(1)$$

となり，2,500Åが制限視野電子回折の限界となる。この値は大形高性能電子顕微鏡に匹適するものである。

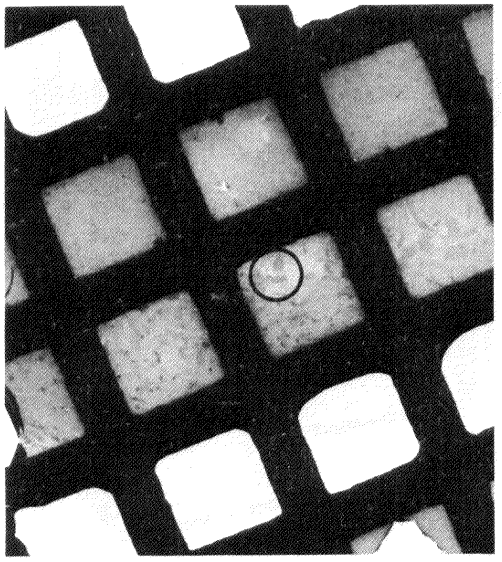


図3（A） スキャン像 倍率：×200 試料：生物切片

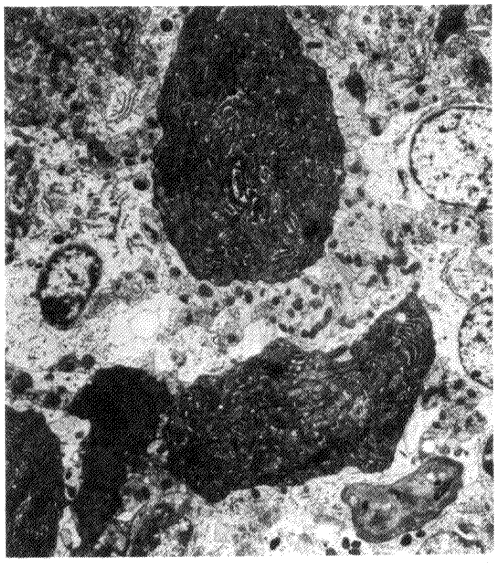


図3（B）スキャン像円内の拡大対応視野 倍率：×3000

倍率10万倍の像で焦点を合せ，焦点はそのままにして置き順次倍率を下げて行った場合の焦点変化を見た例で，1万倍から10万倍の領域では

$\Delta f=\pm1\mu\sim3\mu$

1万倍以下の倍率では

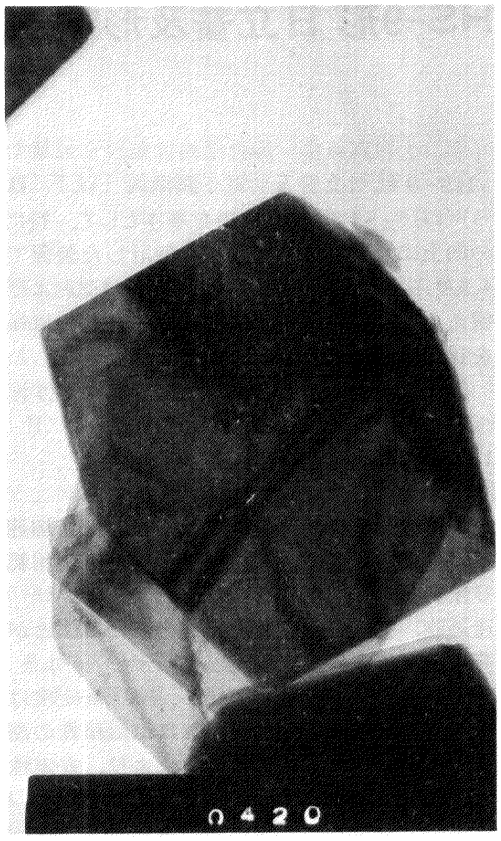
$\Delta f=\pm6\mu\sim10\mu$

で肉眼的には焦点変化が殆んど判らない。試料は焦点変化が判り易いMoO_3を用いた。

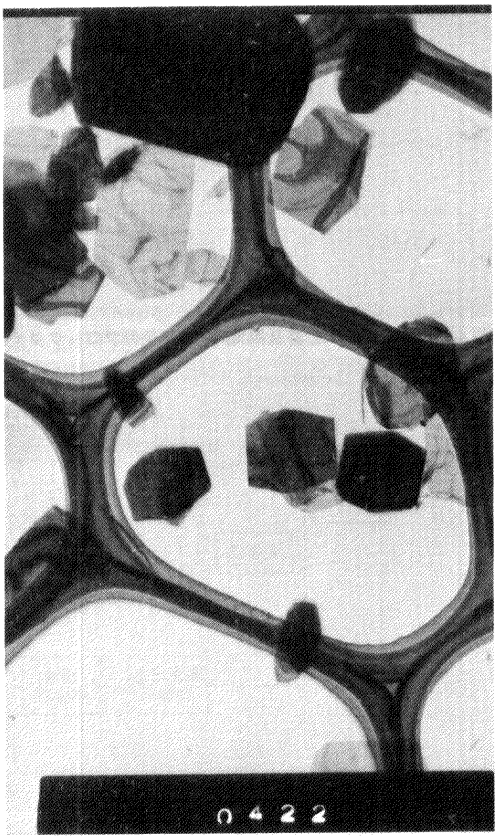
試料：MoO_3

写真引伸倍率：×1.5

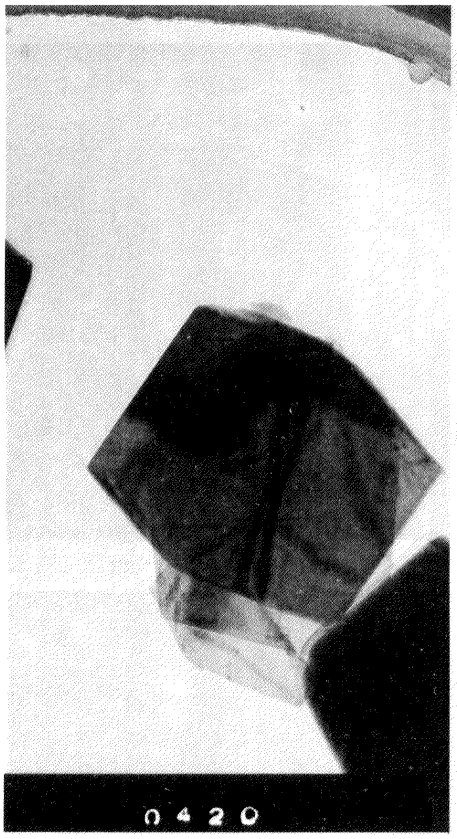
図4 ズームレンズの効果



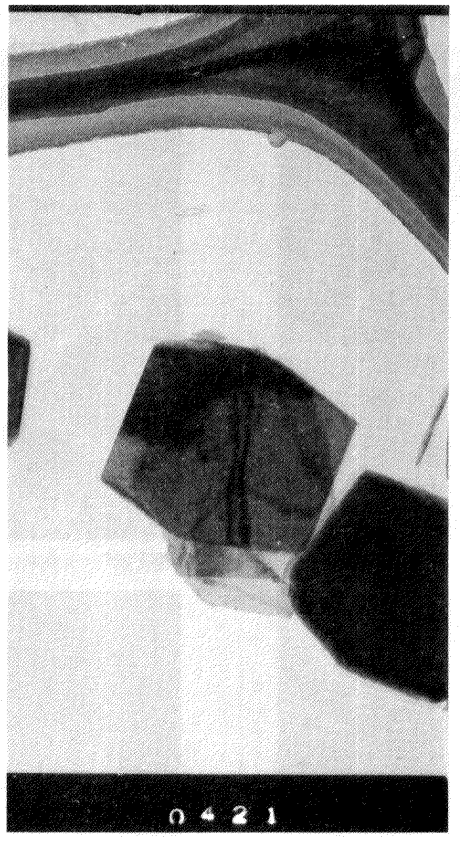
（A）×100,000



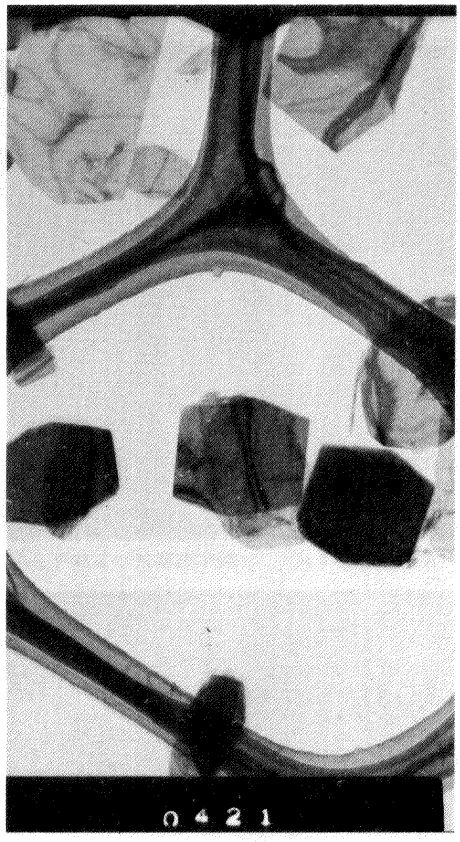
（E）×20,000



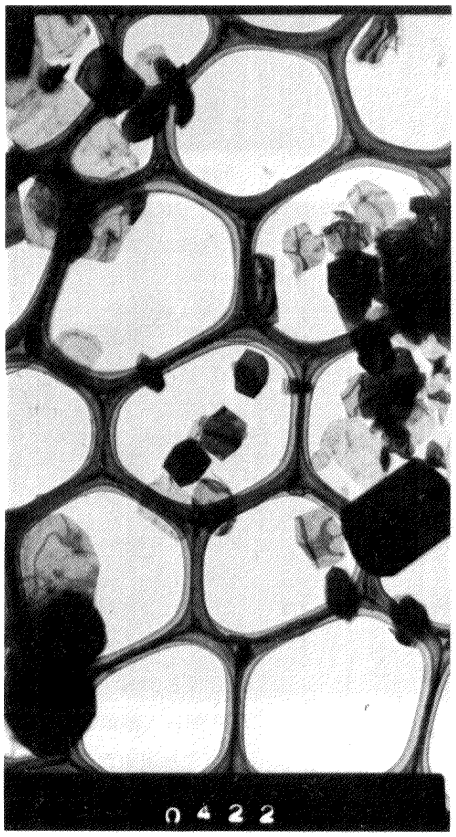
(B) ×70,000



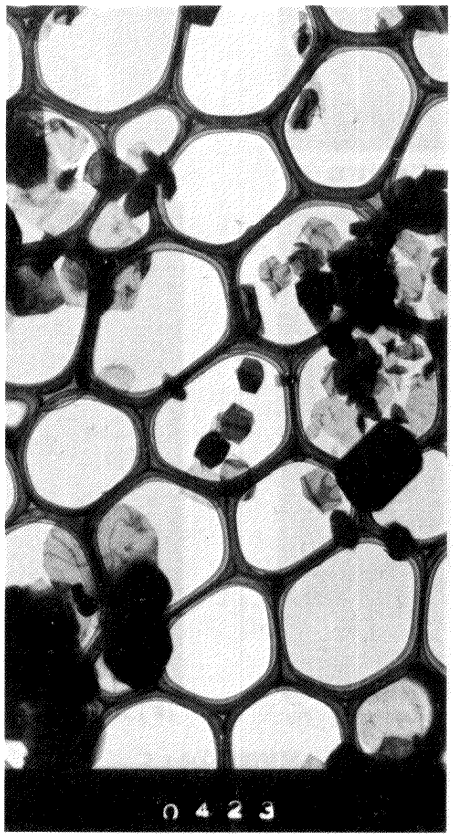
(C) ×50,000



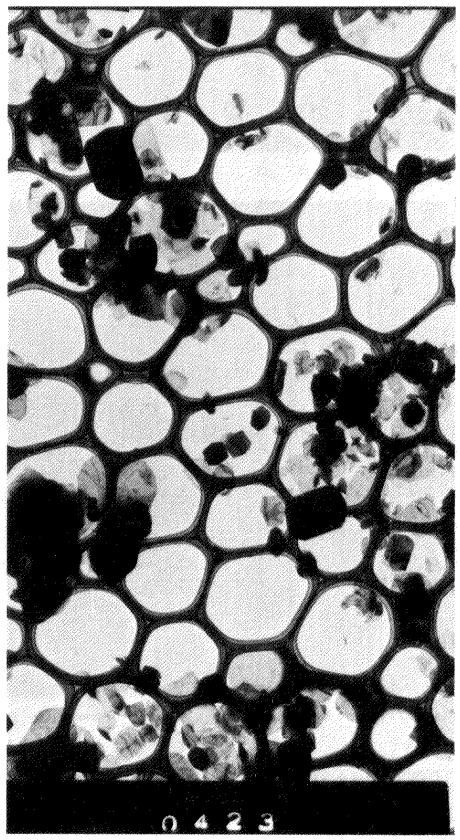
(D) ×30,000



(F) ×10,000



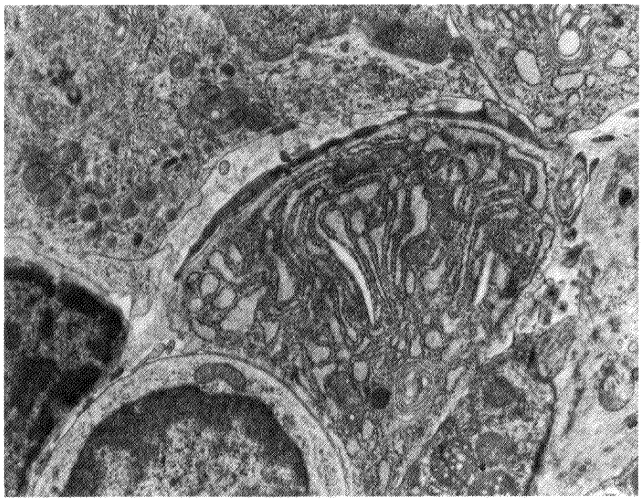
(G) ×7,000



(H) ×5,000

写真(A)(C)(E)はワブラーOFFの場合

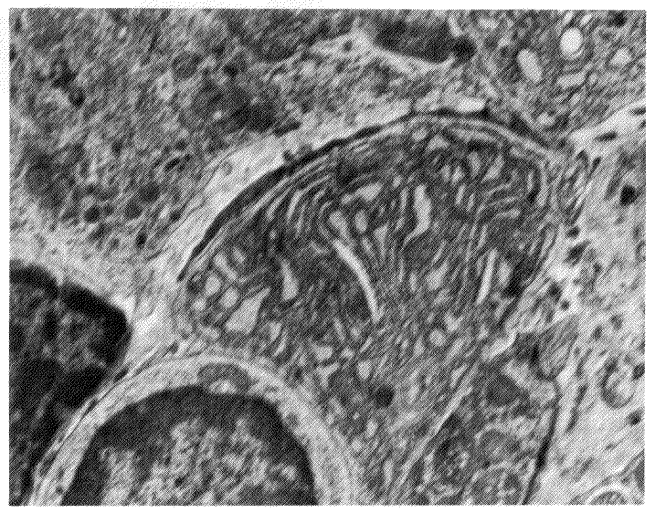
(A) ⊿f＝＋6 μ



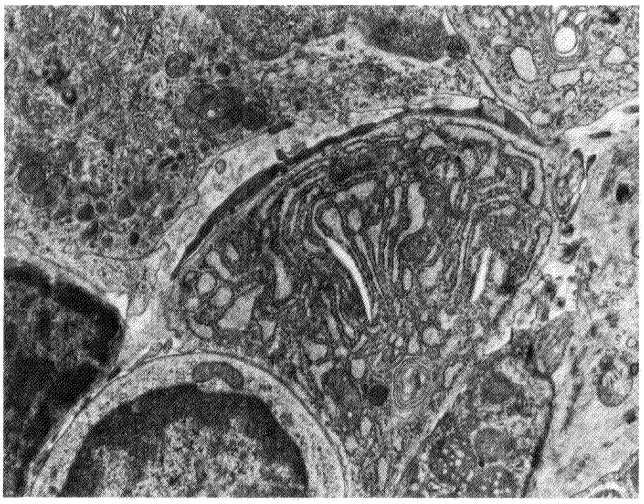
(C) ⊿f＝±0 μ

(E) ⊿f＝－6 μ

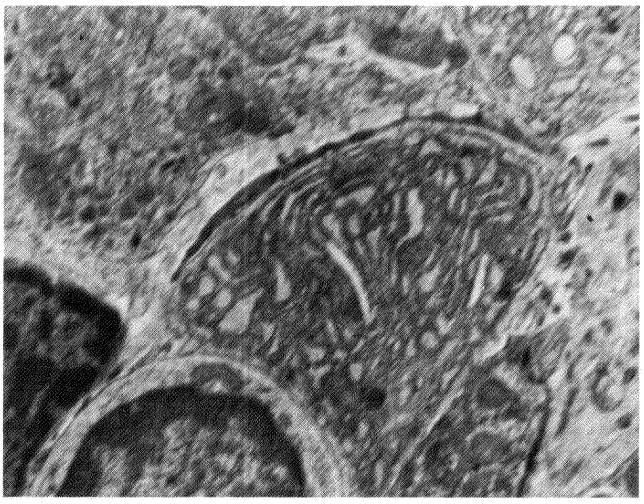
写真(B)(D)(F)はワブラーONの場合



(B) ⊿f＝＋6 μ



(D) ⊿f＝±0 μ



(F) ⊿f＝－6 μ

写真(A)は 6μ不足焦点の像で一見焦点が合っているように見えるが，ワブラーを働かせると (B) の如くボケが拡大される。また (E) (F) は 6μ 過焦点の像である。このボケが最小になるように焦点を合せば (D) のようになりワブラーを止めれば (C) の如く正焦点の像が得られる。

倍率：×10,000

試料：生物切片

図5 イメージワブラーの効果を示す例

図6にモード選択スイッチ部および倍率表示部を示す。

(3) 露出計と自動シッタ

露出時間の設定はプッシュボタンスイッチで，3秒，6秒の2段階に選択できる。信号検知器（この検知器は焦点合せ用スクリーンと兼用）を電子線軸上に置き，それぞれの露出時間に対応する明るさにメータの指示を合せる。露出計は，フィルム上部で電子流を直接露出計入力信号として検知するので，露光量の測定誤差がきわめて少なく，正確な露出ができる。通常電子顕微鏡用フィルムの黒化度1を得るのに加速電圧50～100kVで，2×10^{-11}Coulomb/cm^{2}前後とされているが，この露出計ではフィルム面上の標準電子線量を2×10^{-11}Coulomb/cm^{2}になるようにしてある。

フィルムの撮影位置までのフィード操作は，プッシュボタンを押し，呼出し信号を与えるだけでよく，後はシャッタレバーを引き露出が終了すると，中間レンズと投射レンズの間に置かれたシャッタコイルにより電子線を偏向する。それと同時に露出中点灯しているランプが消灯し，露出終了を知らせる。そこでシャッタレバーを戻せば，自動的にフィルムは送り出され二重露出を防止する。また，露出開始と同時にフィルム番号が記録される。

図7に露出計応用例を，図8にフィルムナンバリングの例

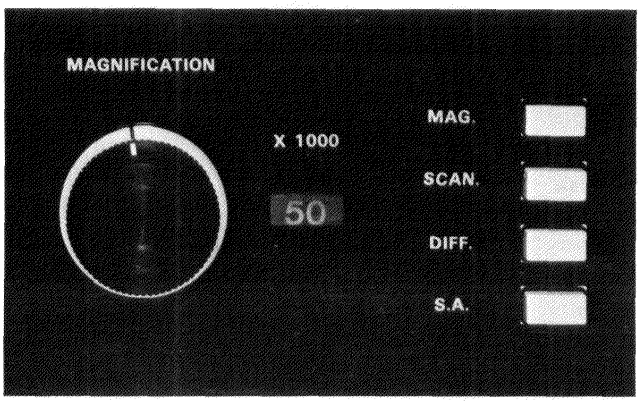
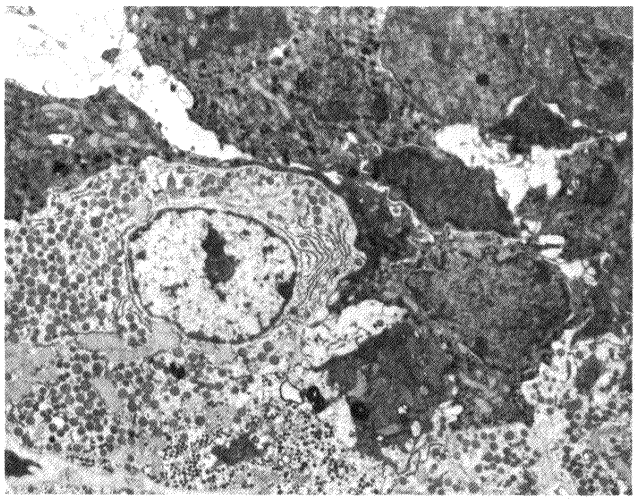
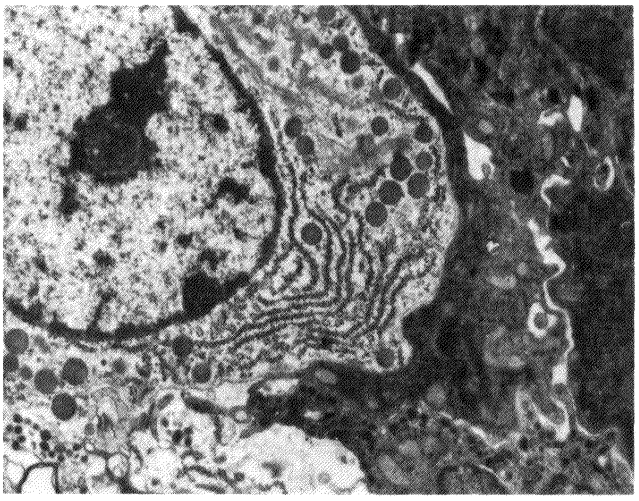


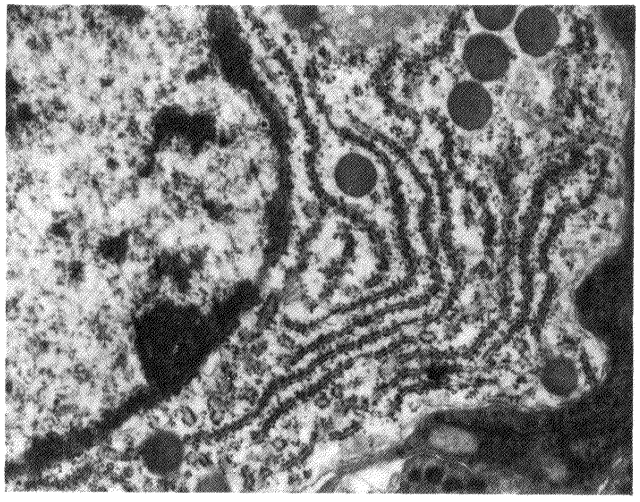
図6 モード選択スイッチおよび倍率表示部



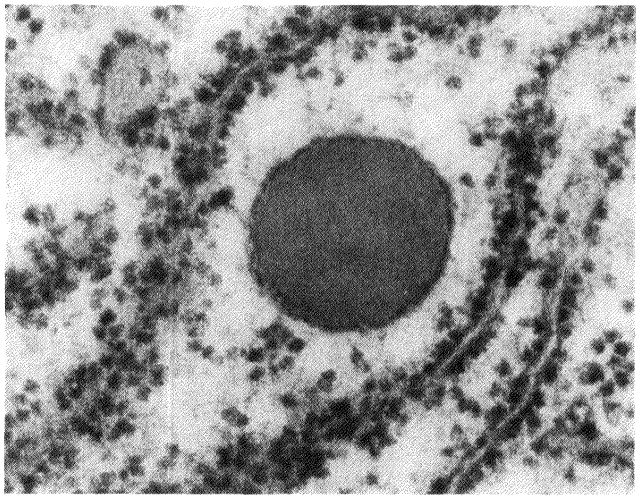
(A) 直接倍率：×2,000



(B) 直接倍率：×5,000



(C) 直接倍率：×10,000



(D) 直接倍率：×50,000

条　件：露出時間：3 sec.
電子線量：2×10^{-11} クーロン/cm^2
試　　料：生物切片・ネズミ脳下垂体
フィルム現像時間：4 min
現像液温度：20℃
印　画　紙：3号
写真引伸倍率：×1.5

図7 一定露出時間に対し倍率を変えた場合の露出計応用例

を示す。

(4) 性　能

HS-9形の理論分解能 d_{min} を次式によって求める。

$$d_{min}=0.6\lambda^{3/4}Cs^{1/4} \cdots\cdots(2)$$

ここに，Cs は球面収差，λ は電子線波長であるから，対物レンズの $Cs=1.6$mm，75kVの $\lambda=4.32\times10^{-2}$Å を代入すると，3.3Å となる。

このときの対物レンズの最適開口角 λ_{opt} は

$$\lambda_{opt}=1.4\lambda^{1/4}Cs^{1/4}=1\times10^{-2}\text{rad} \cdots\cdots(3)$$

となる。

実際の写真による試験では，パイロフィライトの結晶格子像 $d=4.5$Å が撮影され，容易に解像されている。

図9に生物試料による応用例を，**図10**に結晶格子像による分解能写真を示す。

以上，HS-9形の改良点を簡単に説明したが，応用分野が広く使い易い電子顕微鏡として，研究者各位のお役に立てば幸である。

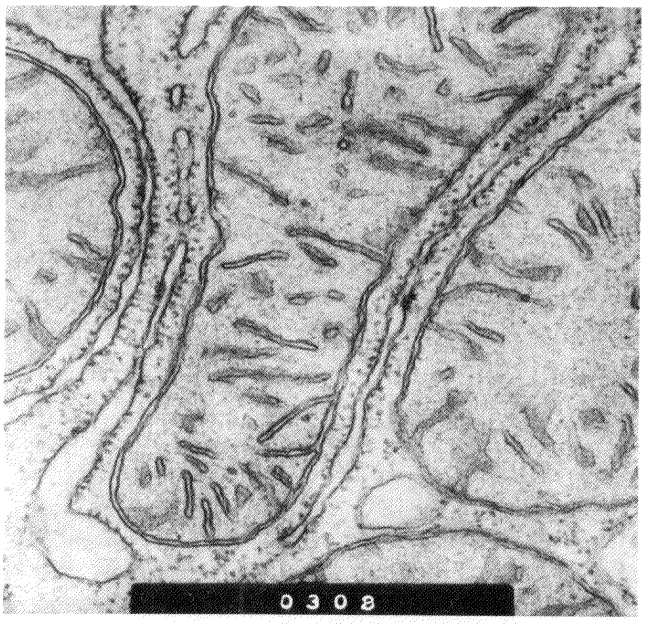


図8　フィルムナンバリング例　1枚撮り：80×80mm　倍率：×30,000

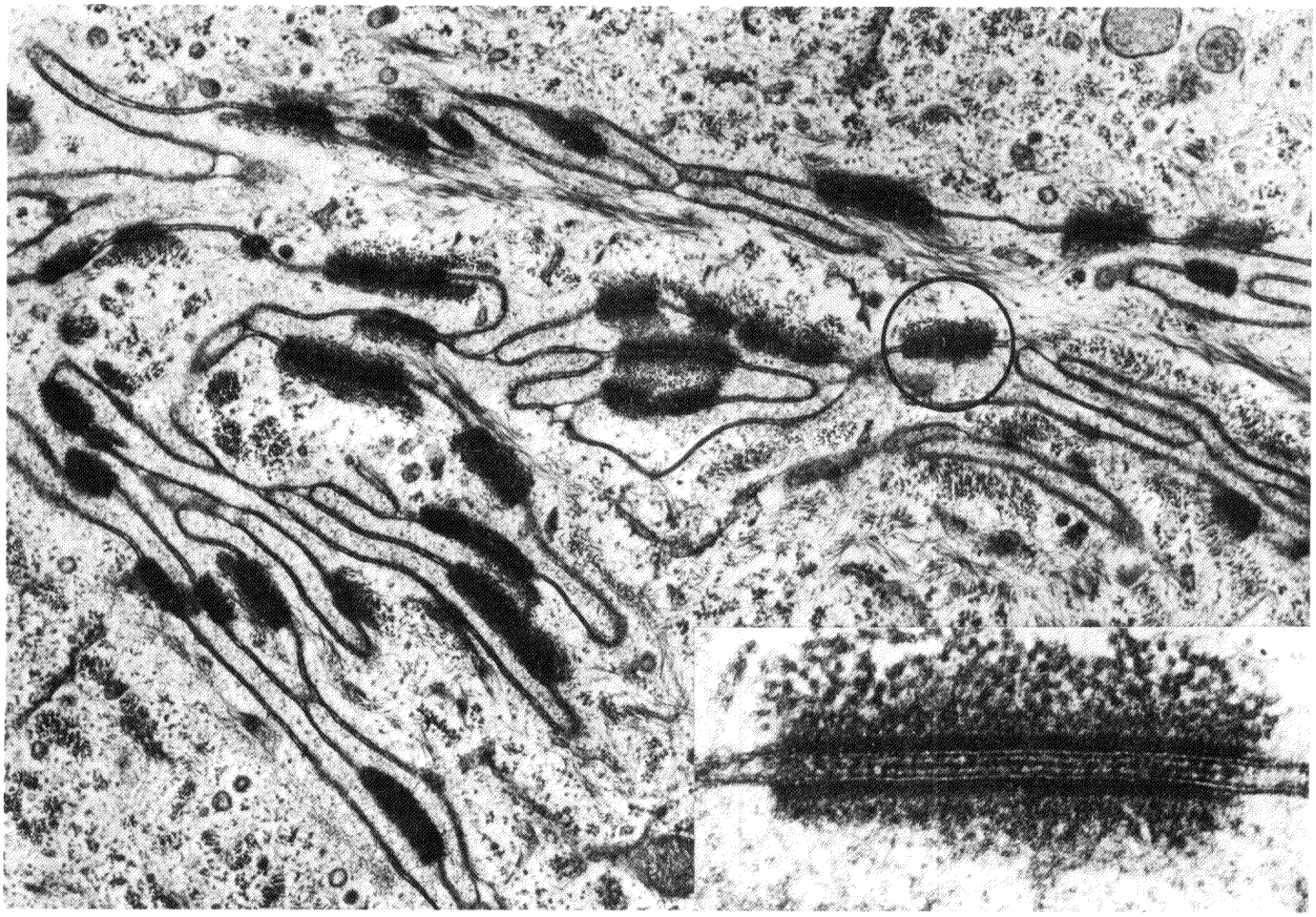


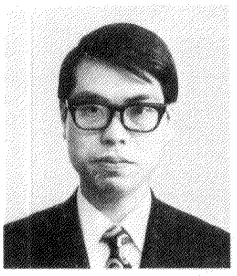
図9　倍率：×20,000　円内拡大像倍率：×100,000
試料：ウサギ舌上皮細胞

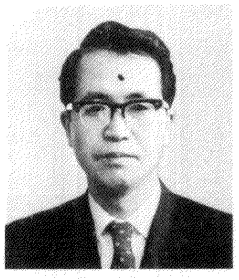
図10　倍率：×1,600,000　　試料：パイロフィライト結晶格子像　　d=4.5Å

U.D.C. 543.544.4−13+543.51]:〔547.279.3+547.379.3〕.06:635.25/.26

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

西村弘行*　水谷純也**





1. はじめに

質量分析（mass spectrometry）は，かなり微量の試料（10^{-7}g）で測定可能であり，化学構造の決定には必須のものとなっているが，機器分析のうちでは，開裂様式などの解析が最も遅れているものの一つである。しかし，新しいガスクロマトグラフ／質量分析計〔GC−MS（gas chromatography−mass spectrometry combination）〕（以下"GC−MS"という）の開発によって，食品成分や反応生成物の同定が，より微量でかつ容易に行えるようになってきたことは，研究に携わる者にとって喜ばしいことである。

著者らは，含硫化合物の天然物化学[1]，放射線化学[2),3)]，光化学[4]，さらにマススペクトル[5]に関する研究を行っており，GC−MSから受ける恩恵は非常に大きいものであった。含硫化合物は広く植物界に存在しているが，特に含硫アミノ酸として多量に存在しているものにユリ科（タマネギ，ニンニク，ニラなど），十字花科（キャベツ，ダイコン，レタスなど），マメ科（大豆，緑豆，エンドウなど）などの栄養食品があげられ，酵素作用によって，各種の食品香味を発現する。これらの食品香味の主要なものが含硫化合物（mercaptans, sulfides, disulfides 類その他）であることは，一般に知られている事実である。

ニンニク（*Allium sativum* L.）の利用は古く，古代エジプト，ギリシャなど地中海沿岸地帯に栽培されていたらし

*　北海道大学 農学部 助手，農修士
**北海道大学 農学部 教授，農博

く，日本でも，紫式部の源氏物語「帚木(ははきぎ)の巻」に極熱(ごくねつ)の草薬（ニンニク）を服用して嫌われる学者の娘の話が書かれている。ニンニクは，最近では食用として広く用いられているが，その薬効は，ニンニク成分である diallyl thiosulfinate($CH_2=CHCH_2S(\rightarrow O)SCH_2CH=CH_2$)がビタミン$B_1$と結合して腸内細菌によって分解されないアリチアミンが生成するために，体内で活性が持続するからとされている。もちろん，ネギやタマネギについても dialkyl thiosulfinate（R：methyl, n-propyl）が存在しているため同様の薬効が認められている。また，最近，キャベツ中の S-methyl-L-cysteine sulfoxide が過剰のコレステロールを抑える効果（anti-hypercholesterolemic effect）をもっていると報告されている[6]。

このように，含硫アミノ酸やその酵素作用によって発現する揮発性含硫化合物が興味ある生理活性をもっており，また食品香味の点でも重要であるために，天然物有機化学，食品化学，さらに生薬学，生理学などの分野で多く研究されている。これらの研究に，GC－MSが益々利用されることは明らかである。

この数年間，著者らがGC－MSを利用して研究して来た内容を具体的に述べよう。

2. ギョウジャニンニクの香味成分に関する研究[1]

北海道で一名アイヌネギと呼ばれるギョウジャニンニク（*Allium victorialis* L.）は郷土色豊かな山菜で，ニンニク同様，栄養価も高い。行者たちが雪解けの頃，山野で修業中食したところからこのような名称がつけられたそうである。英名ではコーカス（caucas），シベリア地方ではチェレムシャ（cheremsha）と呼ばれ，チエホフの「三人姉妹」に出てくる“ニンニクの香りに似たチェレムシャ”がおそらくギョウジャニンニクであるに違いない。

5月中旬にギョウジャニンニクの可食部である葉と茎，合わせて約10kgを野幌原生林より採集し，磨砕後フラスコに400gずつ入れ，40℃に保ちながら香気成分をドライアイス－エタノール寒剤で冷却したイソペンタン溶媒に捕集した。乾燥，濃縮後ガスクロマトグラフにかけて成分を分離した（**図1**）。さらにGC－MSで各成分の同定を試みた。標準化合物のマススペクトルおよびガスクロマトの保持時間の比較から，**表1**に示す成分が同定または推定された。なお，測定条件を**表2**にまとめた。

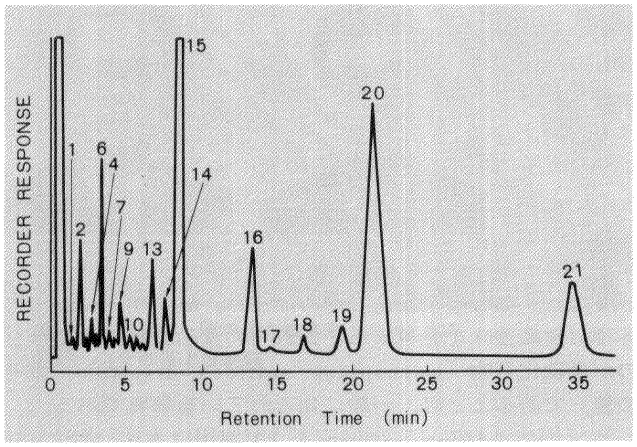


図1 ギョウジャニンニクの香気成分のガスクロマトグラム

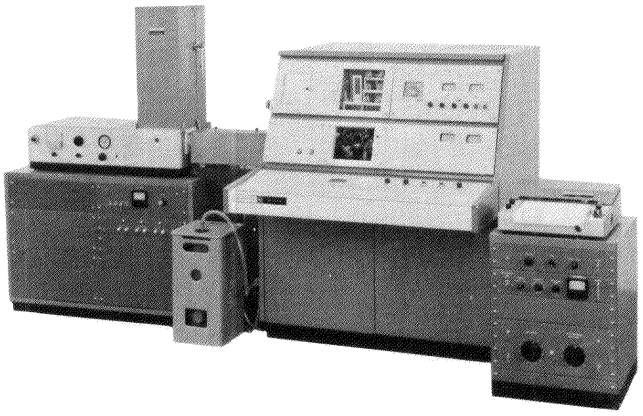
表1 ギョウジャニンニク中に同定された香気成分（図1の各ピーク）

Peak Number	Compound	Identification
2	Methyl allyl sulfide	MS, Rt, A
4	M^+94	MS, T
6	Dimethyl disulfide	MS, Rt, A
7	Methyl n-propyl ether	MS, T
9	Diallyl sulfide	MS, Rt, A
10	2-Methyl-2-pentenal	MS, Rt, A
13	Methyl n-propyl disulfide	MS, Rt, A
14	Methyl 1-propenyl disulfide	MS, T
15	Methyl allyl disulfide	MS, Rt, A
16	Dimethyl trisulfide	MS, Rt, A
18	n-Propyl ally disulfide	MS, Rt, A
19	1-Propenyl-containing disulfide	MS, T
20	Diallyl disulfide	MS, Rt, A
21	Methyl allyl trisulfide	MS, Rt, A

MS＝mass spectrometry; Rt＝gas chromatographic retention time; A＝authentic compound; T＝tentative.

表2 GCおよびGC－MSの測定条件

ガスクロマトグラフ（GC）
機　種：K-53形 日立ガスクロマトグラフ（水素炎イオン化検出器）
カラム：2m×3mmφステンレスカラム
液　相：20％ Reoplex 400
担　体：C-22（60～80メッシュ）
カラム温度：120°C
注入口温度：180°C
キャリアガス流量：30ml/min
GC－MS
機　種：K-53形 日立ガスクロマトグラフを直結したRMS-4形 日立質量分析計
イオン化ポテンシャル：80eV
イオン加速電圧：3,000V
イオン源温度：200°C
イオン源圧力：3×10^{-6}mmHg



K53形 日立ガスクロマトグラフ＋RMS-4形 日立質量分析計

ギョウジャニンニクの香気は，強いニラ臭とニンニク臭，弱い漬物臭，それにわずかながら催涙性がある。ガスクロマトグラフで各々の成分を分画し，官能テストで調べた結果，ニラ臭はピーク15のmethyl allyl disulfide（M^+120），

ニンニク臭はピーク20のdiallyl disulfide (M^+146)，漬物臭はピーク6と21のdimethyl disulfide (M^+94)とmethyl allyl trisulfide (M^+154)であった。また，催涙性に寄与する物質（おそらくthiopropanal S-oxideで，前駆体はS-(*trans*-1-propenyl)-L-cysteine sulfoxideと考えられる）を直接的には同定できなかったが，1-propenyl基をもつdisulfideが見つかったことは興味深い。Brodnitzら[7]によって，タマネギから1-propenyl基をもつdisulfidesが多く見つけられているが，ニンニク系植物（ニンニク，ニラ，ギョウジャニンニクなど）からはまだ見つかっていない。Methyl 1-propenyl disulfideとmethyl allyl disulfideのマススペクトルを比較して，**図2**に示した。前者はm/e 73 ($CH_3CH{=}CHS^+$)が基準ピークで，後者はm/e 41 ($CH_2{=}CHCH_2^+$)が基準ピークである。これらのことは，それぞれの構造をよく説明している。なお，これら香味成分の前駆体と，酵素による生成機構について現在検討中である。

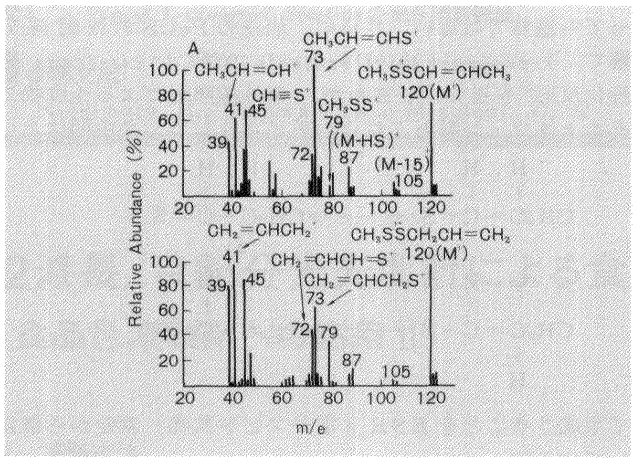


図2　ガスクロマトピーク14(A)と15(B)のマススペクトル

3. 含硫アミノ酸の放射線化学に関する研究[2),3)]

北海道はタマネギ（札幌黄）の主要生産地であるが，貯蔵中や輸送中に発芽や腐敗による損失が大きく，価格安定の面でも深刻な問題となっている。

そこで近年，γ-線照射によるタマネギの発芽抑制に関する研究が各所で行われるようになり，著者らもその一端を担っている。しかし，収穫時期，収穫後の照射時期と発芽抑制や，タマネギ成分に及ぼすγ-線照射の影響などの問題があり，現在これらの基礎研究を進めている。

大線量照射によって当然香味が劣化するが，特にタマネギ中に多量に存在する含硫アミノ酸は放射線感受性が高く，香味に影響する含硫化合物が生成すると考えられる。タマネギ系食品（タマネギ，長ネギ，アサツキなど）中の含硫アミノ酸は，主にS-alkyl-L-cysteinesおよびそれらのsulfoxides (alkyl: methyl, n-propyl, 1-propenyl)で，またこれに関連してニンニク系食品（ニンニク，ニラ，ギョウジャニンニクなど）では，S-allyl-L-cysteineおよびそのsulfoxideとして多量に存在している。

そこで，化学構造上興味のあるS-alkyl-L-cysteine sulfoxides (alkyl: n-propyl, allyl, 1-propenyl)を合成して，それらの水系における放射線分解を行った。より単純化するために溶存酸素のない条件下でγ-線照射（20mM濃度，1Mrad）を行い，それらの揮発性成分をガスクロマトグラフにかけた（**図3**）。

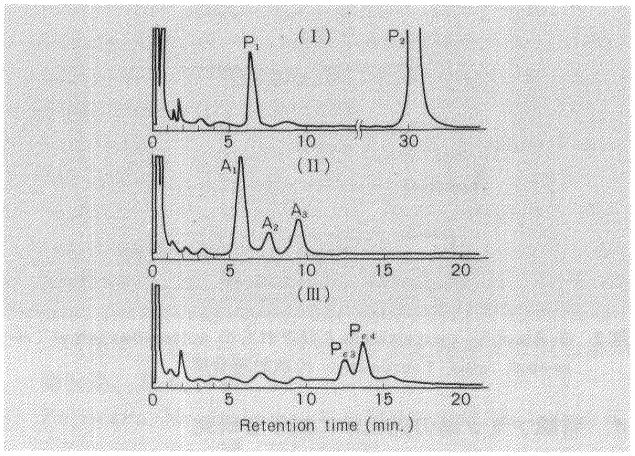


図3　無酸素水溶液中，γ-線照射されたS-alkyl-L-cysteine sulfoxideからの揮発性生成物のガスクロマトグラム（20mM濃度，1Mrad）
(I) S-n-Propyl-L-cysteine sulfoxide
(II) S-Allyl-L-cysteine sulfoxide
(III) S-(*cis*-1-Propenyl)-L-cysteine sulfoxide

標準化合物との各種機器分析の比較により，S-n-propyl-L-cysteine sulfoxide $CH_3CH_2CH_2S(\rightarrow O)CH_2CH(NH_2)COOH$ (PCSO)からdi-n-propyl sulfide (P_1)とdi-n-propyl disulfide (P_2)が，S-allyl-L-cysteine sulfoxide $CH_2{=}CHCH_2S(\rightarrow O)CH_2CH(NH_2)COOH$ (ACSO)からallyl alcohol (A_1)，n-propyl allyl sulfide (A_2)およびdiallyl sulfide (A_3)が生成し，S-(*cis*-1-propenyl)-L-cysteine sulfoxide $CH_3CH{=}CHS(\rightarrow O)CH_2CH(NH_2)COOH$ (PeCSO)からは*cis*, *cis*-di-1-propenyl sulfide (Pe_3)と*cis*, *trans*-di-1-propenyl sulfide (Pe_4)が主生成物であった。Pe_3とPe_4のマススペクトルをdiallyl sulfideと比較して**図4**に示す。さらに，生成機構として，水からの水和電子（e_{aq}^-）やOHラジカルなどが関与する機構を一部**図5**にまとめた。

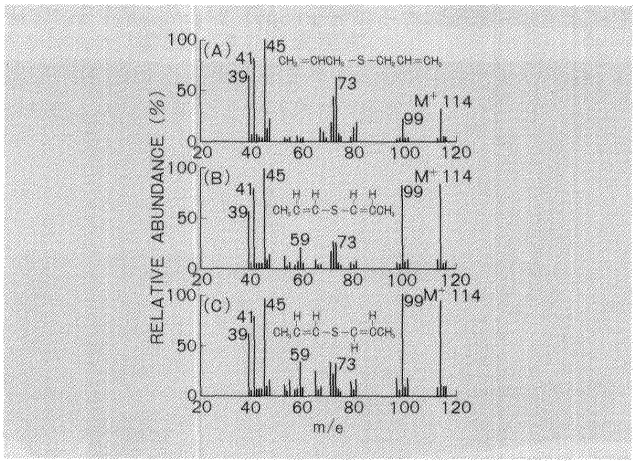


図4　Diallyl sulfide(A), *cis*, *cis*-di-1-propenyl sulfide(B), *cis*, *trans*-di-1-propenyl sulfide(C)のマススペクトル

GC-MSの開発により，実験のスケールも今までの1/10で足りるようになり，さらに微量な生成物までも同定できるようになってきた。

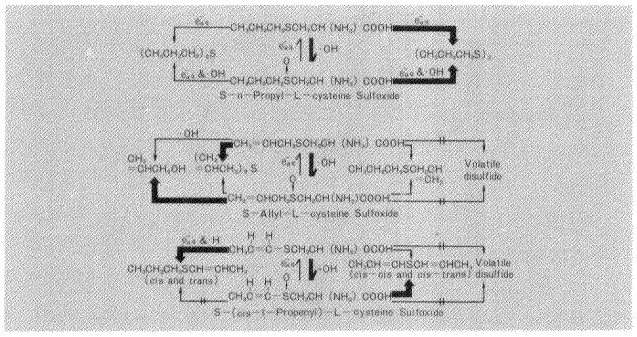


図5 S-Alkyl-L-cysteinesおよびそれらのsulfoxides(alkyl：n-propyl, allyl, 1-propenyl)の放射線分解

4. 含硫アミノ酸の光化学に関する研究[4)]

食品の多くは，貯蔵や輸送中さらに店頭販売などで日光にさらされ，しばしば変質することがある。ビールや牛乳が日光によってそれぞれ特有の日光臭（含硫化合物）を生ずることはよく知られている。また，紫外線照射により包装食品の殺菌を効率よく行うことも知られている。放射線による殺菌の場合と同様，これらの食品の成分変化を常に注意しなければならない。著者らは，食品の変質機構や食品の香味発現の機構を解明する目的で，放射線の場合と比較して上記含硫アミノ酸の光分解を行っている。

S-alkyl-L-cysteines (alkyl: n-propyl, allyl, 1-propenyl) の放射線分解と光分解による生成物を比較すると，S-置換アルキル基がn-propylやallylでは両者とも類似しているが，S-(*cis*-1-propenyl)-L-cysteine(PeCS)の場合は，両者に大きな差がある。この点に関してGC－MSを利用しての興味ある結果を述べる。

合成したPeCS 20mM水溶液を，酸素のない条件下で紫外線照射（低圧水銀灯，2,537Å）を行った。揮発性生成物のガスクロマトグラムを**図6**に示す。また，GC－MSによる結果と標準化合物の比較から，それぞれのピークを**表3**に示すように同定した。前記の**図5**に示したように，PeCSのγ-線照射からはn-propyl 1-propenyl sulfide

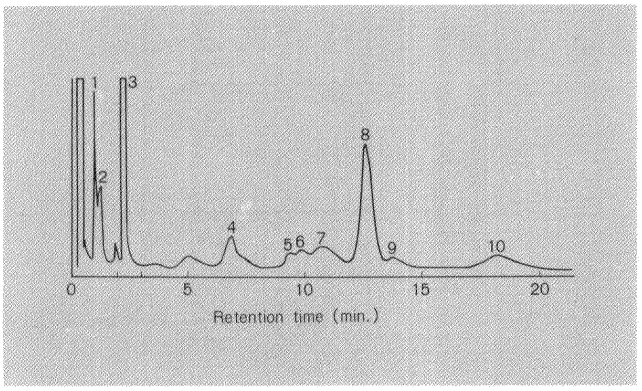
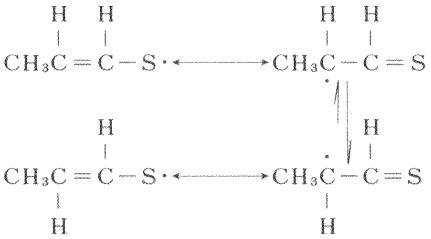


図6 無酸素水溶液中，紫外線照射されたS-(*cis*-1-propenyl)-L-cysteineからの揮発性生成物のガスクロマトグラム（20mM濃度，2537Å，20時間照射）

表3 S-(*cis*-1-Propenyl)-L-cysteineの紫外線照射による揮発性生成物（図6の各ピーク）

Peak Number	Compound
1	Propionaldehyde
2	n-Propyl mercaptan
3	1-Propenyl mercaptan
4	3-Methyl thiophene
5	n-Propyl 1-propenyl sulfide
6	2, 5-Dimethyl thiopene
7	2-Methyl-2-pentenal
8	2, 4-Dimethyl thiophene
9	Di-1-propenyl sulfide
10	3, 4-Dimethyl thiopene

(*cis*と*trans*) およびdi-1-propenyl sulfide(*cis-cis* と *cis-trans*)が主生成物で，紫外線照射の場合の主生成物であるチオフェン類は全く検出されなかった。このような結果は，GC－MSがなければそう容易には得られないといっても過言ではない。さらに，前述のPeCSの放射線分解で，1-propenyl thiyl radicalsの新しい*cis-trans* 異性化反応[3)]を見つけてきたが，紫外線照射による生成物であるチオフェン類もこれらのチイルラジカルを中間体として生成することをESR（電子スピン共鳴）測定から推定している[4)]。



5. 含硫化合物のマススペクトルに関する研究[5)]

一般に，二重収斂形（RMU-6または7）のものより単収斂形質量分析計(RMS-4またはRM-50)のほうが準安定イオンピーク(metastable ion peak)が検出され易く，著者らも，この利点を利用して，含硫化合物のフラグメンテーションを研究している。以下に，食品香味成分として興味があり，十分報告されていない1-propenyl 基を持った含硫化合物の例を紹介する。Di-1-propenyl sulfideとn-propyl 1-propenyl disulfideのMSフラグメンテーションをそれ

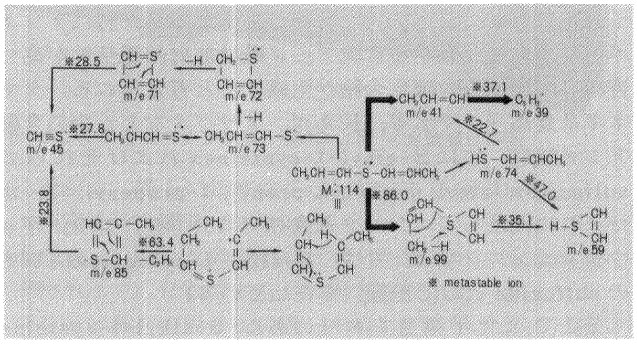


図7 Di-1-propenyl sulfideのMS開裂機構

ぞれ図7と図8にまとめた。特に，特徴的なフラグメントはm/e 45，m/e 59とm/e 99であるが，これはallyl 基をもつ含硫化合物の場合との違いによる。

以上，食品香味成分の質量分析の概要を述べてきたが，香味成分の前駆体として重要な含硫アミノ酸とその関連化合物のマススペクトルについては，別の機会に譲ることにする。

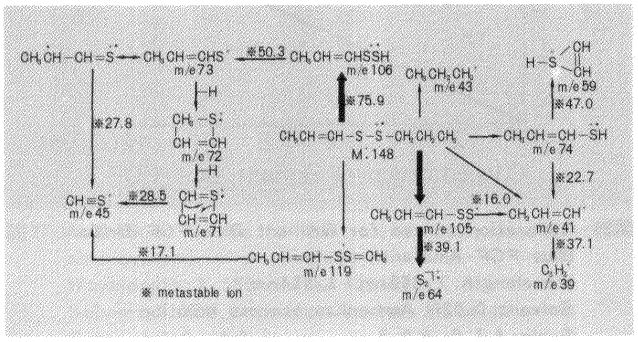


図8 n-Propyl 1-propenyl disulfideのMS開裂機構

■参考文献

1) Nishimura, H., Fujiwara, K., Mizutani, J., & Obata, Y.：J. Agr. Food Chem., **19**, 992 (1971)
2) Nishimura, H., Kawakishi, S., & Namiki, M.：Agr. Biol. Chem., **34**, 609 (1970); Nishimura, H., Mizutani, J., Obata, Y., & Namiki, M.：Tetrahedron, **27**, 307 (1971); Nishimura, H., Asahi, A., Fujiwara, K., Mizutani, J., & Obata, Y.：Agr. Biol. Chem., **35**, 1831 (1971); Nishimura, H., & Mizutani, J.：Agr. Biol. Chem., **37**, 213 (1973)
3) Nishimura, H., & Mizutani, J.：J. C. S. Chem. Comm. 738 (1972)
4) Nishimura, H., Hanzawa, T., & Mizutani, J.：Tetrahedron Letters, **343** (1973)
5) Nishimura, H., Tahara, S., Okuyama, H., & Mizutani, J.：Tetrahedron, **28**, 4503 (1972)；西村弘行，小池説夫，水谷純也：農芸化学会北海道支部例会講演要旨集，P. 6, (1972. 12)
6) Fujiwara, M., Itokawa, Y., Uchino, H. & Inoue, K.：Experientia, **28**, 254 (1972)
7) Brodnitz, M. H., Pollock, C. L., & Vallon, P. P.：J. Agr. Food Chem., **17**, 760 (1969)

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

〔食品色素製剤への応用 II〕

神蔵美枝子*

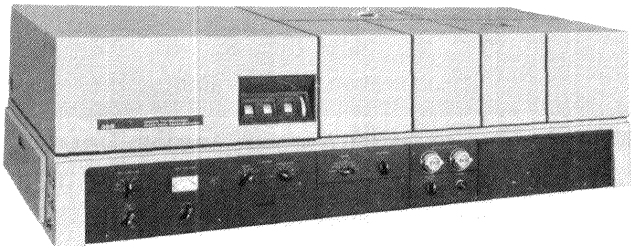
1. 実験方法
1.2 試料，試薬
1.2 装　置
2. 実験結果および考察
2.1 λ_1およびλ_2の決定ならびに検量線の作成
2.1.1 食用赤色2号（Amaranth）と食用赤色102号（New Coccine）の混合系
2.1.2 食用黄色4号（Tartrazine）と食用黄色5号（Sunset Yellow FCF）の混合系
2.1.3 食用赤色2号（Amaranth）と食用黄色4号（Tartrazine）の混合系

2.1.4 食用赤色2号（Amaranth）と食用黄色5号（Sunset Yellow FCF）の混合系

食用赤色2号中に含まれる食用黄色5号の測定条件は，$\lambda_1$555.5nm，$\lambda_2$484nmが決定され（図22），両波長を用いての検量線は，分析成分：妨害成分の比が0～2：1において直線性を示した（図23）。また，食用黄色5号中に含まれる食用赤色2号の測定条件は，$\lambda_1$358nm，$\lambda_2$534nmが決定され（図22），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において直線性を示した（図24）。

2.1.5 食用赤色2号（Amaranth）と食用青色1号（Brilliant Blue FCF）の混合系

食用赤色2号中に含まれる食用青色1号の測定条件は，$\lambda_1$360nm，$\lambda_2$584nmが決定され，両波長を用いての検量線は，分析成分：妨害成分の比が0～2：1において直線性を示した（図25）。また，食用青色1号中に含まれる食用赤色2号の測定には，$\lambda_1$680nm，$\lambda_2$521.5nmを用いることができる（図26）。



356形 日立2波長/自記分光光度計

*国立衛生試験所 食品添加物部 第3室長

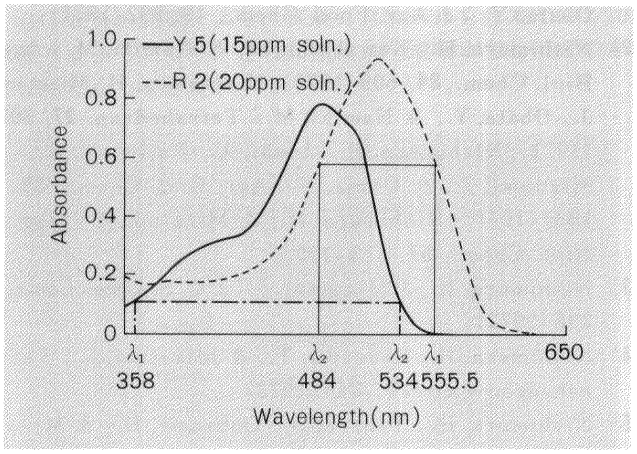


図22 Absorption spectra and selection of λ_1, λ_2 for Amaranth (R 2)-Sunset Yellow FCF (Y 5) system
Solvent: 0.02N Ammonium acetate solution

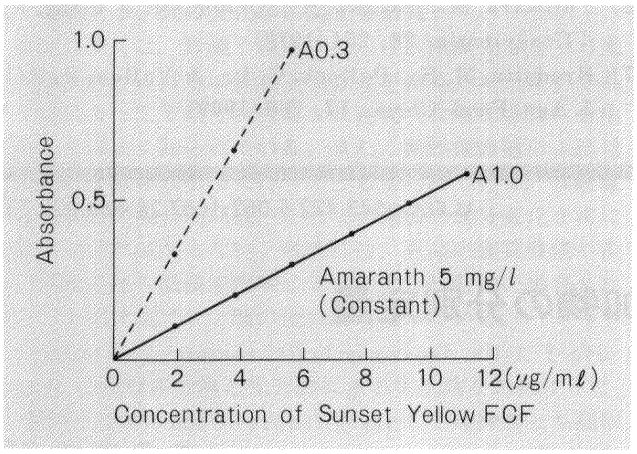


図23 Calibration curves for Sunset Yellow FCF (Sunset Yellow FCF-Amaranth system)
Wavelength: λ_1 555.5nm. λ_2 484nm
Solvent: 0.02N Ammonium acetate solution
Scale: A 1.0, A 0.3
Band pass: 1.0nm

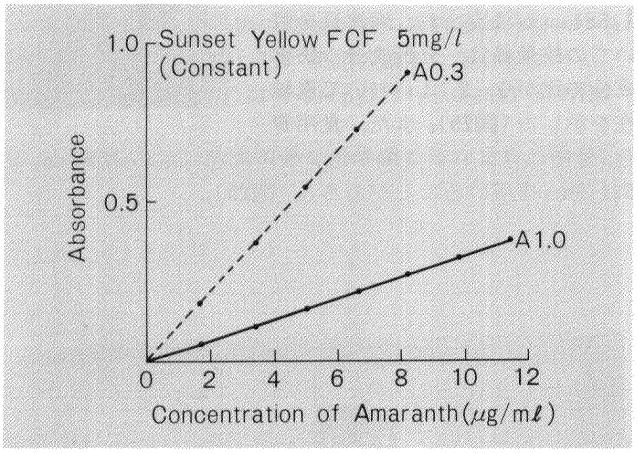


図24 Calibration curves for Amaranth (Amaranth-Sunset Yellow FCF system)
Wavelength: λ_1 358nm. λ_2 534nm
Solvent: 0.02N Ammonium acetate solution
Scale: A 1.0, A 0.3
Band pass: 1.0nm

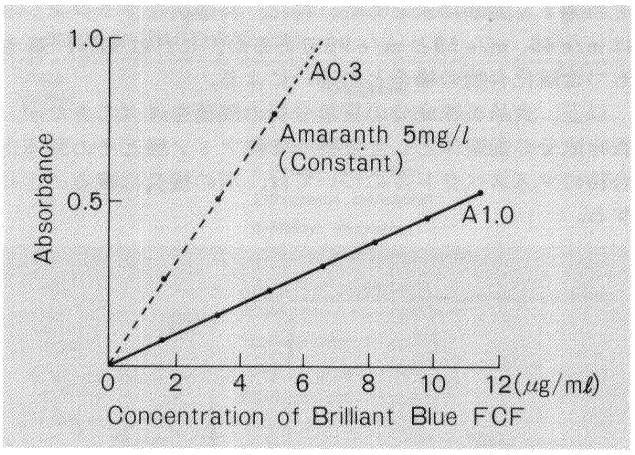


図25 Calibration curves for Brilliant Blue FCF (Brillant Blue FCF-Amaranth system)
Wavelength: λ_1 360nm. λ_2 584nm
Solvent: 0.02N Ammonium acetate solution
Scale: A 1.0, A 0.3
Band pass: 1.0nm

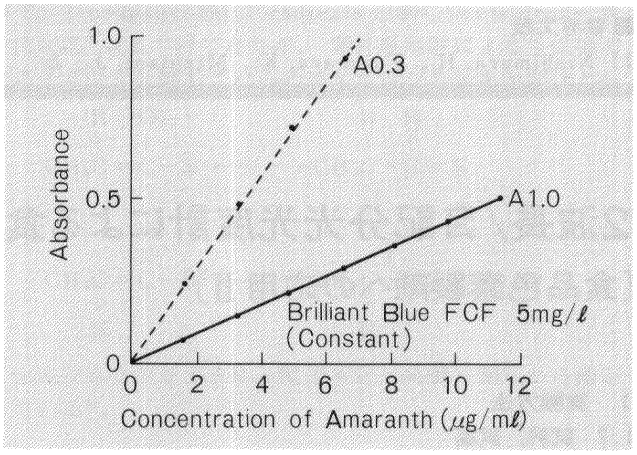


図26 Calibration curves for Amaranth (Amaranth-Brilliant Blue FCF system)
Wavelength: λ_1 680nm. λ_2 521.5nm
Solvent: 0.02N Ammonium acetate solution
Scale: A 1.0, A 0.3
Band pass: 1.0nm

2.1.6 食用赤色3号 (Erythrosine) と食用黄色4号 (Tartrazine) の混合系

食用赤色3号中に含まれる食用黄色4号の測定には，λ_1 560nm，λ_2 428nmが決定され，分析成分と妨害成分の比が0～2：1において直線性を示した（**図27**）。また，食用黄色4号中に含まれる食用赤色3号の測定には λ_1 560nm，λ_2 530nmが決定された。また，分析成分と妨害成分の比が0～1.6：1において直線性を示した（**図28**）。

2.1.7 食用赤色3号 (Erythrosine) と食用赤色105号 (Rose Bengale) の混合系

食用赤色3号中に含まれる食用赤色105号の測定には λ_1 469nm，λ_2 551.5nmを（**図29**），食用赤色105号中に含まれる食用赤色3号の測定には λ_1 565nm，λ_2 515nmが用いられる（**図30**）。

以上，いくつかの混合系について λ_1 および λ_2 の波長選

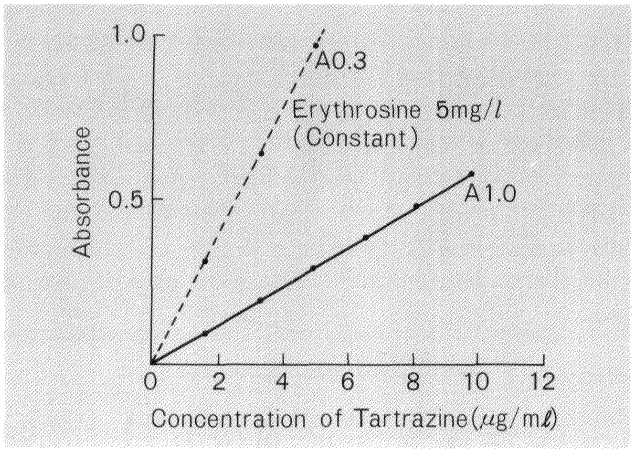


図27 Calibration curves for Tartrazine (Tartrazine-Erythrosine system)
Wavelength: λ_1 560nm, λ_2: 428nm
Solvent: 0.02N Ammonium acetate solution
Scale: A 1.0, A 0.3
Band pass: 1.0nm

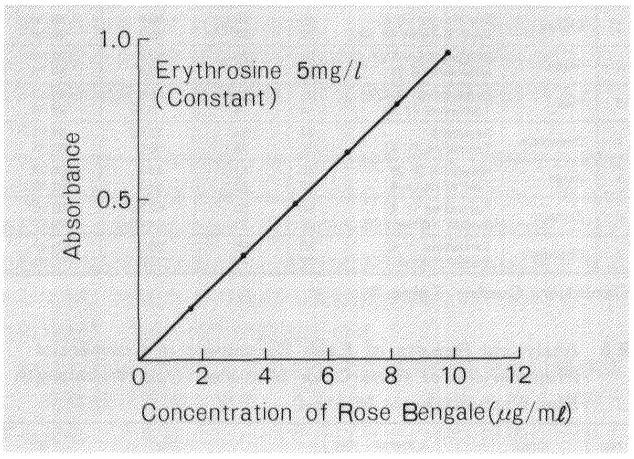


図28 Calibration curvefor Erythrosine (Erythrosine-Tartrazine system)
Wavelength: λ_1 560nm, λ_2 530nm
Solvent: 0.02N Ammonium acetate solution
Scale: A 1.0
Band pass: 1.0nm

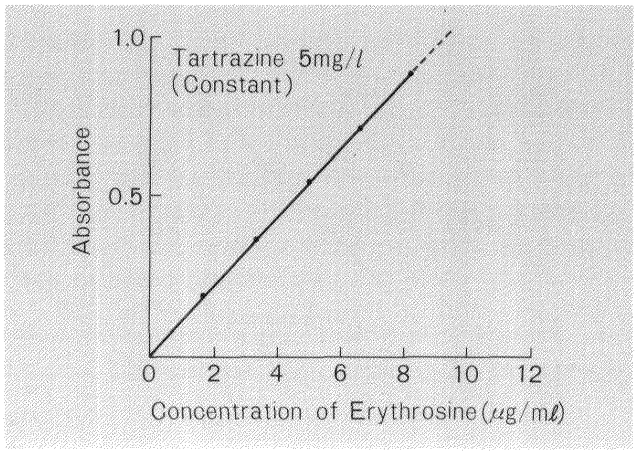


図29 Calibration curve for Rose Bengale (Rose Bengale-Erythrosine system)
Wavelength: λ_1 469nm, λ_2 551.5nm
Solvent: 0.02N Ammonium acetate solution
Scale: A 1.0
Band pass: 1.0nm

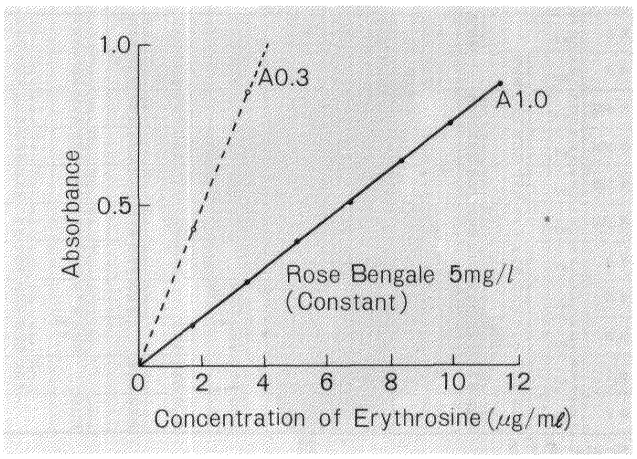


図30 Calibration curves for Erythrosine (Erythrosine-Rose Bengale system)
Wavelength: λ_1 565nm, λ_2 515nm
Solvent: 0.02N Ammonium acetate solution
Scale: A 1.0, A 0.3
Band pass: 1.0nm

定方法ならびに精密決定方法および検量線の作成方法について記した。本研究においては食用色素11種についてそれぞれの組合せ系110組を想定し，各成分の分析に適するλ_1およびλ_2を決定したので，それらの結果を**表2**に示す。また，それぞれの組合せ系における測定結果から，相関係数ならびに最小二乗式 $y=ax+b$ を応用しての計算に必要な a および b をまとめて一覧表とした（**表3**）。**表2**に示す条件で，分析成分：妨害成分の比が0～2.5：1の範囲においてBeerの法則に従った。また，相関係数0.993～1.000を得た。

λ_1およびλ_2の選定にあたっては，いくつかの波長が考えられる場合がある。たとえば，食用黄色4号中の食用赤色104号（Phloxine）の測定にはλ_1 585nm，λ_2 550nmの組合せ，λ_1 560nm，λ_2 538nmの組合せ，λ_1 330nm，λ_2 493nmの組合せが考えられる。これらの波長を用いての検量線は

表2 Reference Wavelength (λ_1) and Measuring Wavelength (λ_2) for Two-Component System

Analyte \ Interfering component		R 2	R 3	R102	R104	R105	R106	Y 4	Y 5	G 3	B 1	B 2
R 2	λ_1		410	465	420	517	583.25	360	358	676	680	663.5
	λ_2		562.25	547	570	565	520	479.25	534	524	521.5	522
R 3	λ_1	510.5		483.5	548	565	582	560	441.75	675	679.5	661.5
	λ_2	532		530	526	515	529	530	520	526	526	526
R 102	λ_1	555	542.25		554.5	567.75	589	570	419	682	680	669.5
	λ_2	484	501		500	500	505	540	524	506	525	506
R 104	λ_1	501.5	496	472.25		558.5	582	560	344	670	674.75	655.25
	λ_2	540	542.5	540		539.75	537	538	537	538	538	538
R 105	λ_1	490	469	458.75	504		578	560	344	665.75	670.25	650
	λ_2	550	551.5	550	554		548	550	537	548	548	548
R 106	λ_1	478.75	380	401	440	450		590	600	656.5	662	640
	λ_2	560	558.5	566	567	578.5		570	570	566	566	566
Y 4	λ_1	580.75	560	561	570	581.5	601		523	355	530	676.5
	λ_2	430	428	430	428	428	428		430	466	425	425
Y 5	λ_1	555.5	546.25	545.5	560.5	573.75	595.50	350		550	700	672.5
	λ_2	484	482	465	482	482	482	485		421	484	480
G 3	λ_1	360	650	374	655	660	496	442.3	523		355	588.5
	λ_2	584	630	569.5	630	630	591.5	412	430		432.3	624
B 1	λ_1	360	650	374	655	660	660	446	525	603		588.5
	λ_2	584	630	569.5	630	630	635	407	405	641.5		628
B 2	λ_1	390	650	374	655	660	450	493	535.5	641.6	652	
	λ_2	584	630	569.5	630	630	604	330	340	602	596	

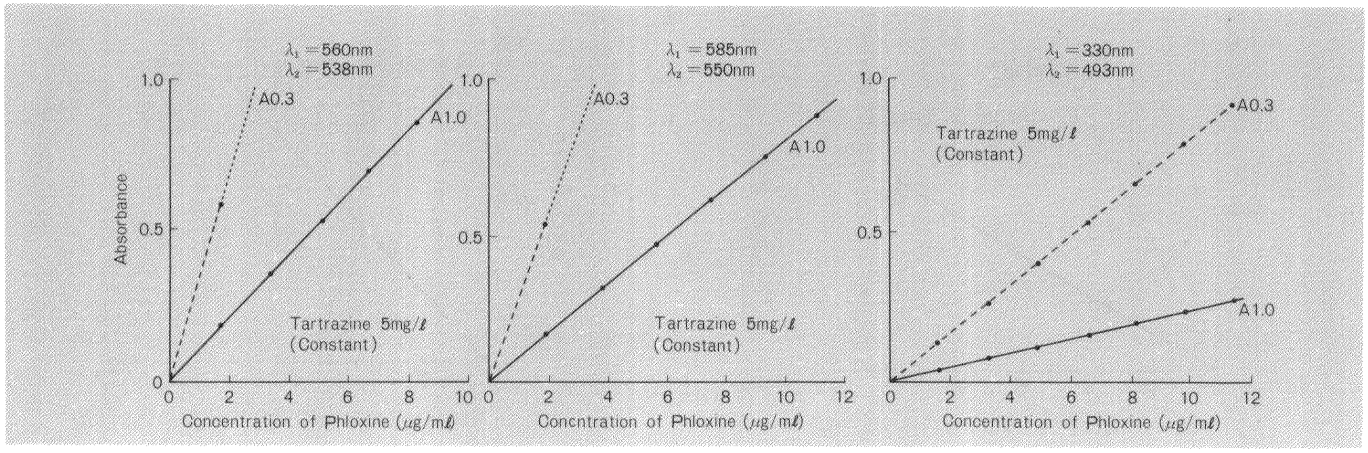


図31 Calibration curves for Ploxine with different λ_1 and λ_2 (Phloxine-Tartrazine system)
Solvent: 0.02N Ammonium acetate solution Scale: A 1.0, A 0.3 Band pass: 1.0nm

表3 Results Calculated by Calibration Equations for Two-Component System of Food Colors (Dual-Wavelength spectrophotometric Method)

Analyte \ Interfering Component		R 2	R 3	R 102	R 104	R 105	R 106	Y 4	Y 5	G 3	B 1	B 2
R 2	a	1	1.59	1.59	0.83	1.99	1.99	2.88	31.66	14.26*1	4.51	3.29
	b		0.03	0.03	−0.01	−0.29	−0.32	0.18	0.20	−0.24	−0.20	−0.10
	r*2		1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
R 3	a	3.75		7.93	8.49	7.73	7.73	10.70	9.73	11.49	11.63	11.72
	b	0.24		0.18	0.19	0.20	0.21	0.37	0.34	0.31	0.06	0.22
	r*2	1.00		1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
R 402	a	1.75	1.46		2.45	3.34	3.34	2.15	2.62	3.90	3.59	4.28
	b	0.01	−0.16		0.05	−0.26	0.05	0.11	0.01	−0.08	0.16	−0.27
	r*2	1.00	1.00		1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
R 104	a	6.59	6.69	10.66		9.17	9.17	10.34	11.14	12.53	12.26	12.20
	b	1.93	3.94	1.00		2.26	1.43	0.93	1.08	0.33	0.67	0.83
	r*2	1.00	1.00	1.00		1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
R 105	a	8.81	9.86	10.56	6.39		9.37	9.99	6.42	10.20	10.27	10.18
	b	0.02	0.15	−0.09	0.44		0.78	−0.87	0.04	0.05	−0.08	0.16
	r*2	1.00	1.00	1.00	1.00		1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
R 106	a	15.31	16.46	19.80	18.44	9.74		14.03	16.61	19.32	19.47	6.11
	b	1.29	0.58	−1.29	0.83	0.79		1.83	0.77	0.67	0.82	0.35
	r*2	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00		1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Y 4	a	5.16	5.91	5.75	5.87	5.89	5.76		5.11	4.09	5.25	5.32
	b	0.14	−0.23	−0.14	−0.03	0.17	−0.01		0.06	−0.38	0.06	0.09
	r*2	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00		1.00	1.00	1.00	1.00
Y 5	a	5.18	5.54	4.41	5.70	5.77	5.66	4.62		5.15	5.76	5.39
	b	0.18	−0.05	0.16	−0.38	0.06	−0.28	0.24		0.04	−1.4	−0.03
	r*2	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00		1.00	1.00	1.00
G 3	a	4.42	8.46	2.78	9.46	11.01	5.30	3.72*1	0.83		3.28*1	6.86
	b	−0.19	0.39	−0.11	0.55	0.47	0.04	0.00	−0.24		−0.36*1	0.31
	r*2	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1	1.00	1.00
B 1	a	4.67	9.10	2.65	11.64	13.49	12.37	1.87	3.32	4.38		10.11
	b	−0.08	0.48	0.13	0.32	0.20	0.34	−0.41	−0.39	0.72		0.72
	r*2	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00		1.00
B 2	a	3.89	1.72	2.15	2.03	2.32	28.12*1	1.93	2.49	1.99	2.60	
	b	0.89	−0.09	−0.47	−0.00	0.12	−0.23	0.02	−0.22	0.03	0.19	
	r*2	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	

Scale: A 1.0
*1 Scale: A 0.3
*2 Correlation Coefficient $y = ax + b$; y: Absorbance
x: Concentration

図31に示すとおりで，スケールA 1.0，0.3において，いずれの組合せの場合にも，0～8 μg/mℓ の範囲で直線性が得られた。測定に用いる λ_1，λ_2 は実験の目的によって相違するものと考える。すなわち，食用黄色4号中に存在する食用黄色104号が低濃度である場合には，高い ΔA が得られる条件が要求されるため，前二者の条件が適当である。逆に高濃度の混合系では，後者の波長を用いることが適切であろう。本研究においてはすべての組合せ系において ΔA の値が最も高く得られる λ_1，λ_2 を選び，また，紫外域に測定波長を選ぶことは色素の変化も考えられるので避けた。

2.2 各種混合系における各成分の分別定量

現在，配合色として実際に使用されているもののうち2種混合系の7組の配合色を調製し，2.1で得た λ_1 および λ_2 を用いて各成分の分別定量を行った。その結果93～103.92%の回収率が得られた（**表4**）。

表4 Analytical Results of Each Component in Artificial Preparations of Food Color Mixtures (Dual-Wavelength Spectrophotometric Method)

No.	Color	Composition		Added (mg)	Found (mg)	Recovery (%)
1	Cherry	Erythrosine (R 3)	68	68	66.8	98.24
		Rose Bengale (R 105)	32	32	30.4	95.00
2	Grape	Brilliant Blue FCF (B 1)	20	20	19.9	99.50
		Amaranth (R 2)	80	80	75.8	94.75
3	Pink	Erythrosine (R 3)	95	95	88.8	93.47
		Tartrazine (Y 4)	4	4	3.72	93.00
4	Chocolate	Amaranth	34	34	33.90	99.71
		Tartrazine (Y 4)	85	85	86.0	101.18
5	Azuki	Amaranth (R 2)	43	43	43.1	100.23
		Tartrazine (Y 4)	32	32	32.8	102.50
6	Tomato	Tartrazine (Y 4)	60	60	62.35	103.92
		Sunset Yellow FCF (Y 5)	25	25	24.80	99.20
7	Chocolate	Tartrazine (Y 4)	95	95	98.3	103.47
		Sunset Yellow FCF (Y 5)	72	72	72.6	100.83

Condition: Confer Table 2

表5 Analytical Results of Each Component in Commercial Preparations of Food Color Mixtures (Dual-Wavelength Spectrophotometric Method)

No.	Color	Labeled (%)		Found (%)			
1	Strawberry	R 2	Y 5	λ_1 358 nm	R 2	λ_1 555.5 nm	Y 5
		72.93	27.87	λ_2 534	72.71	λ_2 484	28.23
2	Golden Orange	R 102	Y 4	λ_1 570	R 102	λ_1 561	Y 4
		46	40	λ_2 540	45.99	λ_2 430	37.65
3	Sakura Beni	R 104	R 105	λ_1 558.5	R 104	λ_1 504	R 105
		45	5	λ_2 539.75	44.40	λ_2 554	3.46
4	Tamago Iro	Y 4	Y 5	λ_1 523	Y 4	λ_1 350	Y 5
		64	6	λ_2 430	61.75	λ_2 485	4.91
5	Beni SS	R 104	R 102	λ_1 472.25	R 104	λ_1 554.5	R 102
		7	63	λ_2 540	7.22	λ_2 500	45.24
6	Green Iro	Y 4	B 2	λ_1 676.5	Y 4	λ_1 493	B 2
		68.8	31.2	λ_2 424	56.45	λ_2 330	43.83
7	Melon Green	Y 4	B 1	λ_1 530	Y 4	λ_1 446	B 1
		21.3	8.7	λ_2 425	21.35	λ_2 407	8.20
8	Ume Beni	R 104	Eosine	λ_1 462	R 104	λ_1 554	Eosine
		96.8	3.2	λ_2 541	100.6	λ_2 505	3.18

2.3 市販食用混合色素製剤に対する応用

現在市販されている混合色素製剤のうち2種混合の試料を選び，2.1で決定した λ_1，λ_2 を用いて各成分の測定を行ったところ，**表5**に示すような結果を得た。すなわち，表示の69.20～140.48%の数値が得られた。このことは，表示割合が必ずしも厳密に守られていないか，あるいは配合方法がかなり重要なファクタとなるため，混合の技術に問題があるのではないかと考えられる。

む す び

食用色素の各種組合せ110組の場合についてのλ_1およびλ_2を決定し，これらの波長を用いて検量線を作成した。その結果，分析成分と妨害成分の割合が0～2.5：1の範囲で検量線は直線性を示し，相関係数0.993～1.000を得た。本法を2種混合系の7組の配合色について応用したところ93～103.92％の回収率を得た。さらに，市販食用混合色素製剤に適用させたところ，分析結果は表示された色素の重量に対して69.20～140.48％の数値を示した。このことは，配合製剤の場合には表示が必ずしも守られていないということがいえよう。

本法はクロマトグラフ的手段を用いず，2種混合製剤の各成分の分析法として十分応用できるものと考える。

終りに，本研究に際し御協力いただいた日立製作所 小森律夫氏ならびに嶺岸久子氏に感謝する。なお，本研究は東京都立衛生研究所 遠藤英美氏ならびに鳥取大学工学部 佐々木英人氏との共同研究による。

U.D.C. 535.651.4:〔535.243.25:535.241.62〕

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〕

小森律夫*　松本孝一*

1. はじめに

最近色彩管理の気運が高まり，これに伴い表色の手段として自記分光光度計を用いて試料の分光反射率を測定し，これを物理量（三色刺戟値）に変換する方法が注目されている。

ところで，近年カラー時代を反映してか，図柄や印刷文字などの微小面部を測色したい場合が生じてきた。例えば，商品価値を高めるため，色の按分や模様，色調の統一などの配慮が必要となるが，一般的にみて微小面が対象となる。また文様，絵画などの色彩印刷技術の向上のためにも，“色の再現性”，“画一性”が問題となる。

われわれは323形 日立自記分光光度計用積分球付属装置に，光束絞り機構を装着して1×6mm程度の微小面積光束を得ることに成功したので，以下その測定結果について述べる

2. 積分球付属装置について

図1に323形 日立自記分光光度計，**図2**に積分球付属装置（以下「積分球」という）および試料室部に装着したときの外観を，**図3**にはその構造および光学系を示す。

分光器からの光は，セクタミラーにより試料側および対

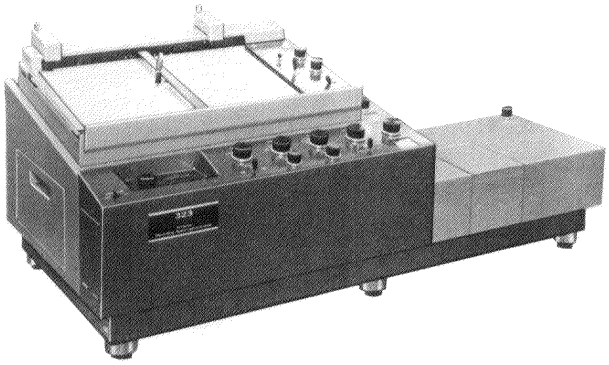


図1　323形 日立自記分光光度計

*(株)日立製作所 那珂工場　応用技術部

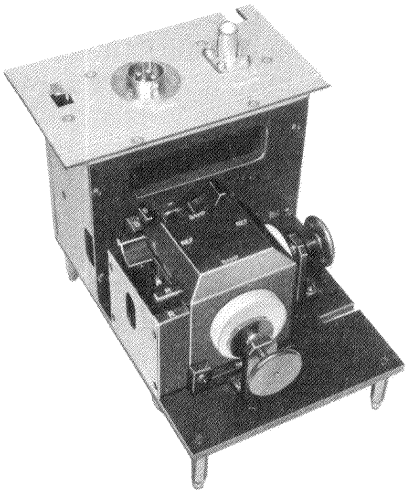


図2(a)　日立積分球付属装置

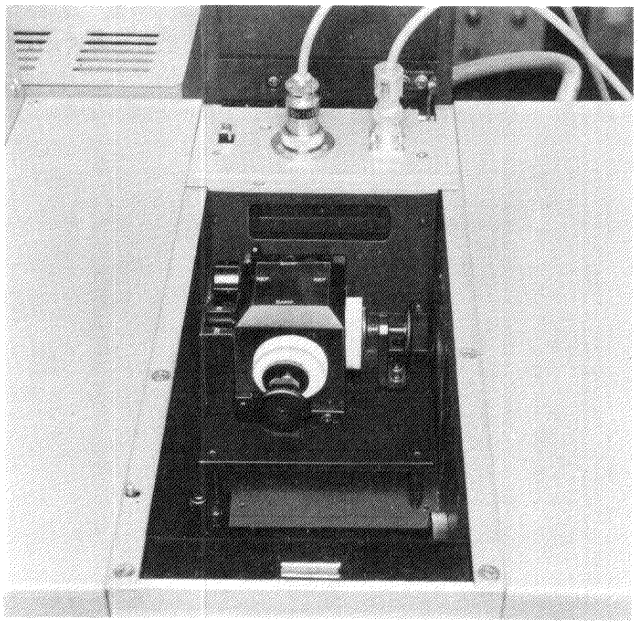


図2(b)　323形 日立自記分光光度計の試料室部に装着した積分球付属装置

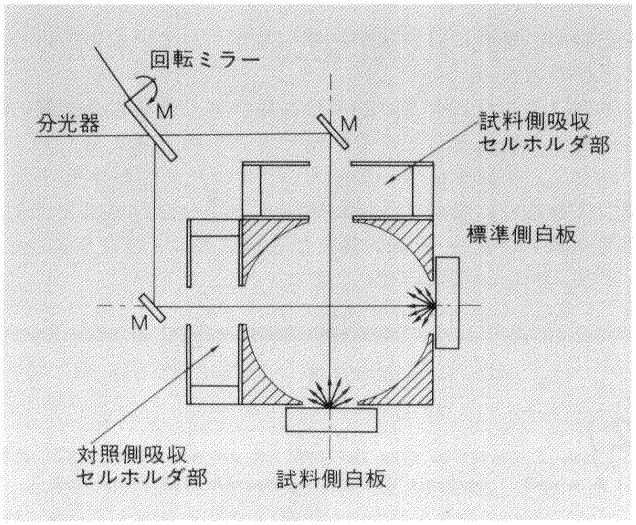


図3　積分球付属装置の構造および光学系

照側の2光束に分けられ，それぞれ積分球の試料セルおよび対照セルに入射し，積分球内に入る。入射光は球内で積分され（測定波長210～2,500nm），下部に設置されている光電子増倍管により検知される。また，**図3**から明らかなように，積分球の特質を生かすため対照側白板と試料側白板が取付け可能となっているので，試料側白板の代りに試料を設置すれば反射率測定が可能となる。

試料側白板位置でのビームは8×8mm（標準測定）なので，試料および対照吸収セルホルダ部にそれぞれ光束絞り機構を設置すれば，1×6mm程度の微小光束が得られ，白色マスクを各白板位置に取付ければほぼ同面積の試料面の測定ができる。

積分球の内径が小さいので，測色専用機（307形日立カラーアナライザ）の測定値と同じとはいかないが，無光沢試料では積分球の寸法に関係がないからほぼ同一の結果が得られる。**図4**に，紫色，緑色，赤色紙（無光沢紙）の反射スペクトルを測定した結果を示す。また，**図5**に307形日立カラーアナライザで測定した結果を示すが，±1％程度の差でよく合致している。

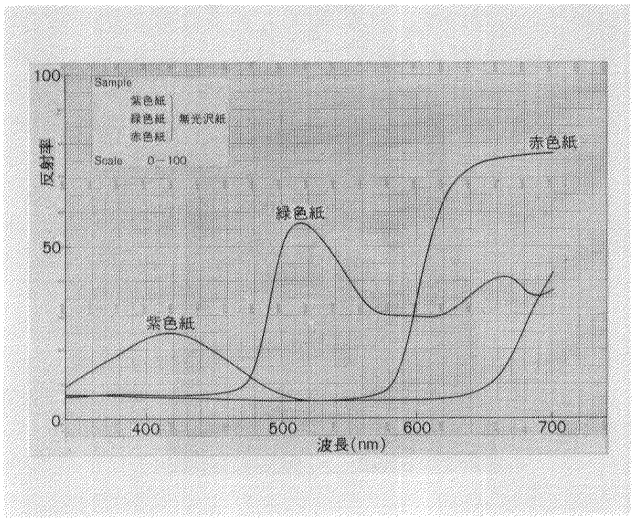


図4　各色紙（無光沢紙）の反射スペクトル―標準測定―

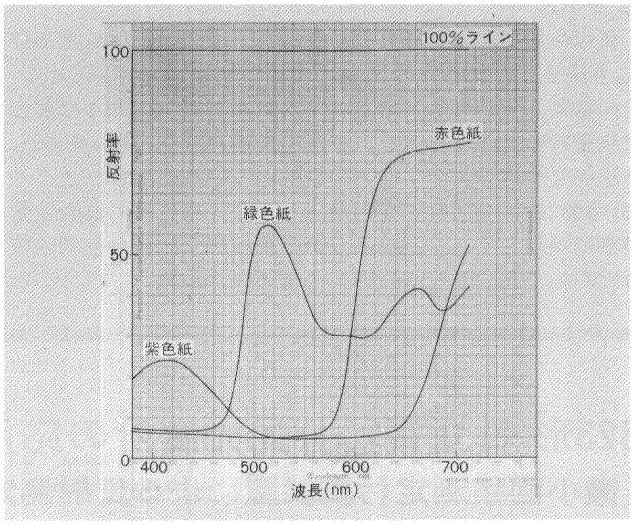


図5　各色紙（無光沢紙）の反射スペクトル

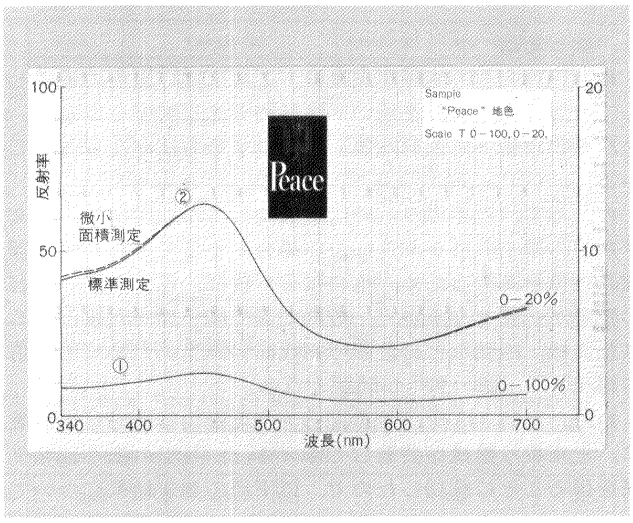


図6　"Peace"の箱地色の反射スペクトル

次に，**図6**"Peace"（タバコ）の箱の地色部分を323形用積分球で標準測光（光束8×8mm）と微小面積測光（約1×6mm）で比較した結果を示す。

①にはフルスケール0－100％における反射スペクトルを，②にはフルスケール0－20％（5倍拡大）にした場合を示す。点線は微小面積測光に切換えて同一試料面を測定したが，短波長側で0.2％程度の差できわめて良好である。微小面が正しく測色されていることがわかる。

3. 測定例

積分球入口（吸収セル装着部）に光束絞り機構を差込むだけで，簡単に微小面積が得られる。

そこで切手の図柄，縁部を測定した結果を**図7**，**8**に示した。

図7は日常，われわれが用いる切手の地色の一部を測定したもので，標準測光モード（8×8mm）ではとても測定できない面積であるが，光束絞り機構を用いた場合は反射スペクトルの"かたち"や主波長の位置が明かである。5円と15円切手は反射スペクトルの"かたち"はほぼ同形であ

り，濃淡が色感覚の差として感じられているのがわかる。

また，**図8**には20円切手の松の図柄の縁部細線の反射スペクトルを実測した結果を示す。この枠幅は約1.2mmであるが，この程度であれば測色が可能であることがわかる。

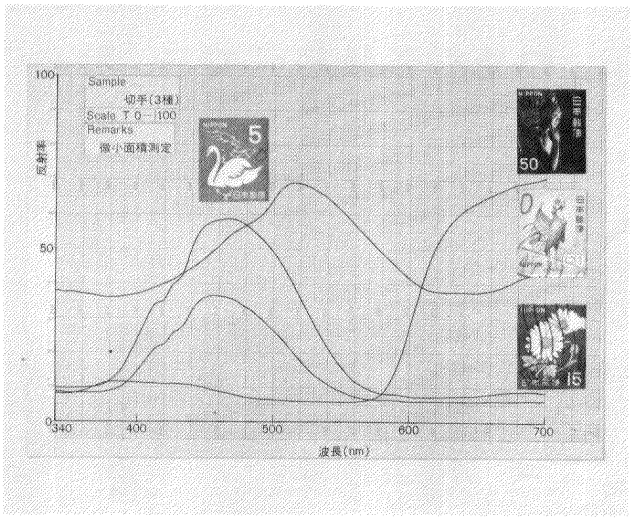


図7　各種切手の反射スペクトル

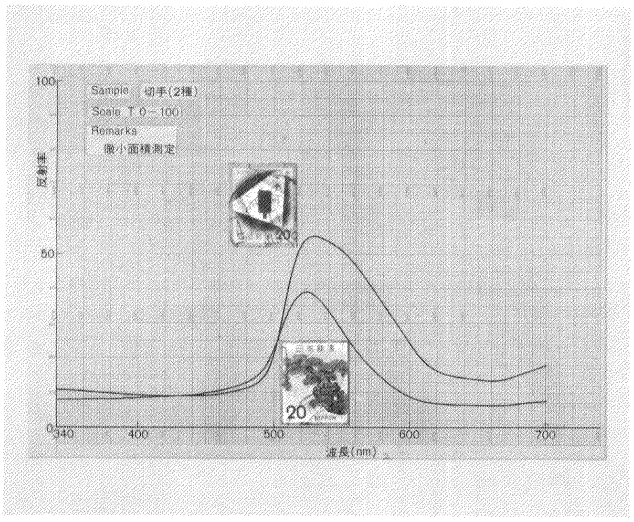


図8　各種切手縁部の反射スペクトル

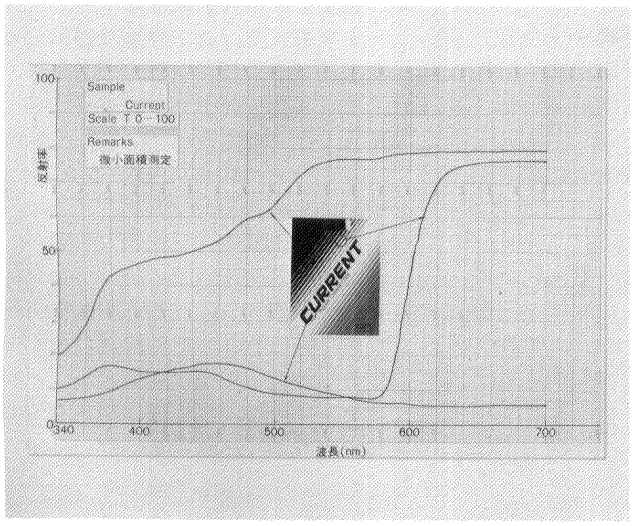


図9　"CURRENT"の微小部の反射スペクトル

次にタバコの包装紙の微小部の測定例を示す。**図9**には"CURRENT"（タバコ）の赤色線と黄色線とを測定したが，正面左上の4本目の赤線とそれに狭まる黄線とが選別測色できることがわかった。この間隔は約1.5mmで，記録からみて近接せる他色の影響を受けていない。確認のため，広面積の赤色，黄色部の反射スペクトルを測定したところよく合致した。CURRENTの文字は太さが約2mmであるが，楽に測定ができる。

図10には"わかば"（タバコ）の上部細線部（緑色）と"**か**"の文字の一部の反射スペクトルを示す。主波長の位置が異なり色の性格が異なる。

以上のことから，表紙の装飾や品格に影響を及ぼす微小部分の色彩管理に有用であることがわかる。

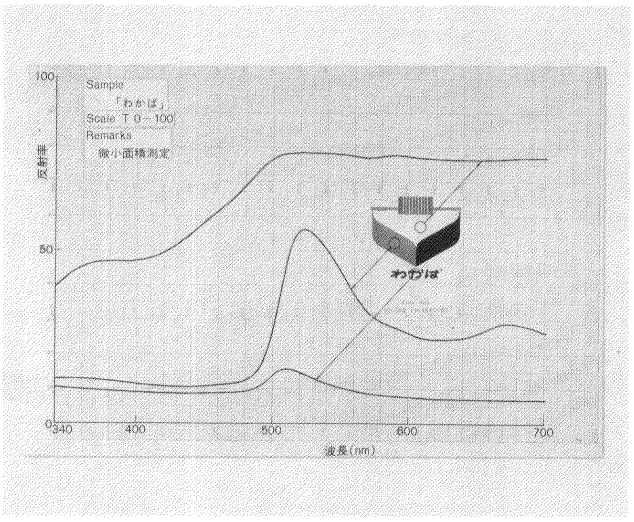


図10　"わかば"の微小部の反射スペクトル

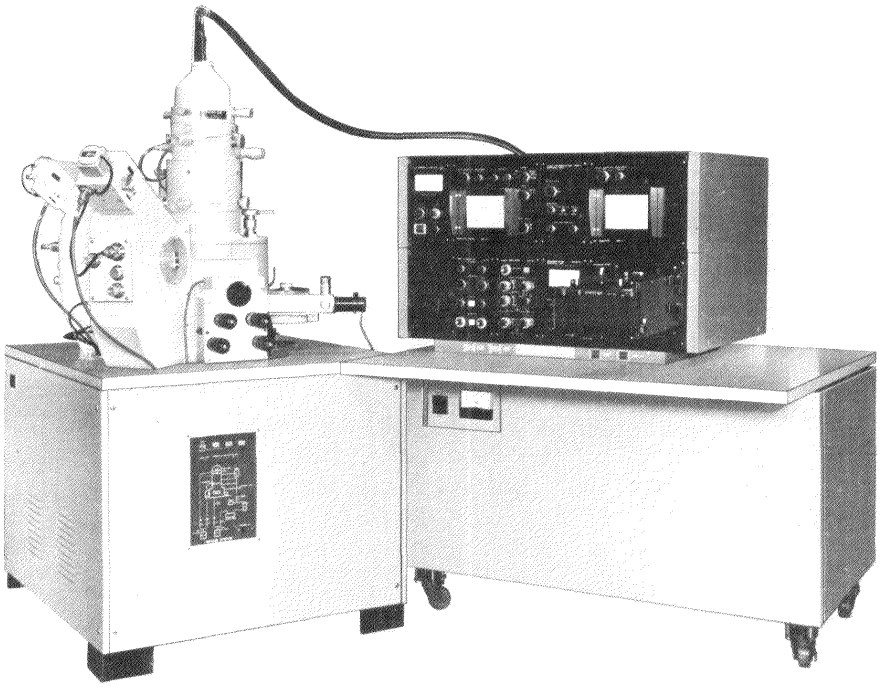
4. 結　言

従来，測色の場合は，色の均一面（単色面）をもつ試料（20×20mm程度）だけしか測定できなかったので対象が限定されていたが，本装置を用いれば微小面積が測色でき，その裕度が拡大され，柄物などの部分測色に役立ち，色彩管理に有用であることが確認された。

新製品紹介

観察と分析が同時にできる本格的走査電子顕微鏡

HSM-2B形 日立走査電子顕微鏡



このたび，日立では，新たにHSM-2B形日立走査電子顕微鏡を開発いたしました。

HSM-2B形は，従来のHSM-2A形の分解能を向上させると共に，ディスプレイ装置をモジュラー形式に一新し，特別付属装置として，分散形X線分光器が3チャンネルも可能となり，同時に非分散形X線検出器も取付けられるほか，新しい付属装置を多数取揃えましたので広用分野が一段と広くなりました。

■特　長

1．高分解能

2次電子像モードで100Åを保証します。

2．高範囲の倍率

視野選択の楽な12倍から200,000倍まで連続可変です。しかも，あらゆる条件（加速電圧，ワーキングディスタンス）での倍率が直読できます。

3 歪のない低倍率像

大形の偏向コイルを使用し，また，ワーキングディスタンスを58mmまで長くできますので，歪のない低倍率像が得られます。

4．3段縮小レンズ系の採用

3段縮小レンズ系を採用していますので，無理なく充分な縮小率が得られますしさらに鏡体は二重シールドを施してありますので，磁気防害の影響を受けません。

5．3元素同時分析が可能

完全集中直進形X線分光器2台で$_{4}$Beから$_{92}$Uまでの元素の分析ができ，3台を装着すれば，3元素を同時に定性・定量分析ができます。さらにこれに加えて非分散形X線検出器も取付可能で，これにより，高感度の元素分析も行なえます。

6．ポイントフィラメント使用可能

ポイントフィラメントの使用により，明るい像が得られます。

7．画調コントロールが標準装備

ガンマコントロール・微分回路などにより，広範囲なコントラストでの観察ができます。

8．安定な電子銃

ユニークな電子銃により，輝度が高く，長時間のX線分析において特に重要となるきわめて安定な電子ビームが得られます。

9．セルフクリーニング絞り

セルフクリーニング形固定絞りを使用していますので，電子線通路のコンタミネーションが少なく，クリーニングの頻度が大幅に少なくなっています。

10．すぐれた操作性

- ビームスポット観察用の蛍光板を備えていますので，ビームスポットを見ながら完全な軸調整ができます。
- 同時に4個の試料が装塡できますので，排気操作なしにきわめて短時間で試料交換ができます。
- ラピッドスキャンモードがありますので，フォーカス合せ，非点補正，視野移動など，動きのある像も明確に追うことができます。
- 加速電圧を変えてもフォーカスが変わりません。
- 試料微動装置のZ移動が連続的にできますので，歪の少ない低倍率像が得られます。
- わずらわしい真空排気が押ボタン操作一つで自動的に行なえます。
- 対物レンズ用可動絞りはクリックストップ方式で，真空外より容易に4個選択できます。

11．モジュラー形ディスプレイ

モジュラー形式のディスプレイ装置は富豊なアクセサリーを自由に組込め，種々のモードで観察できます。

12．異なる倍率の同時観察が可能

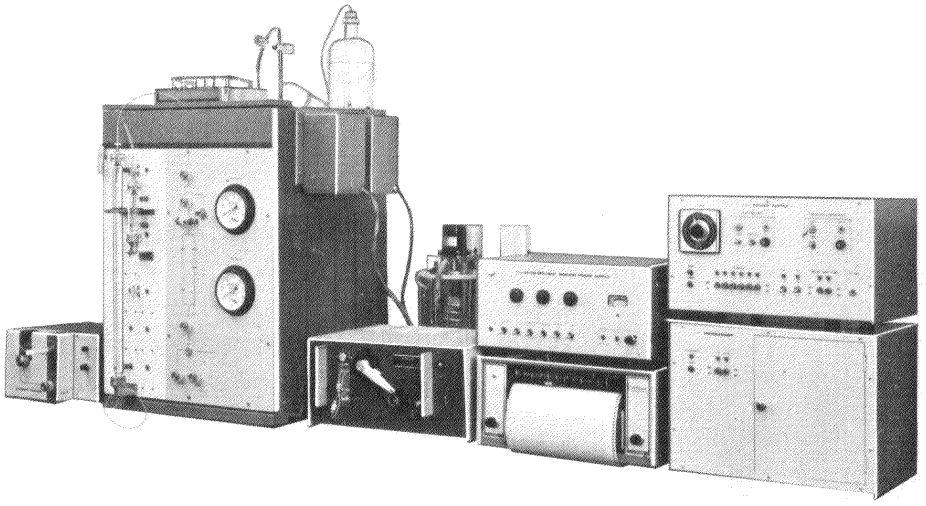
低・高倍率像同時表示装置（日立特許）を装備すれば，低倍率像で広視野を，高倍率像でその特定の微小部分を拡大して同時に観察することができますので，視野選択や焦点合わせにきわめて有利です。

分析操作を完全自動化し 完全耐薬品化した 034形 日立全自動液体クロマトグラフ

このたび，日立では，034形日立全自動液体クロマトグラフを開発いたしました。

034形は，プログラムテープをプログラマにセットしこの信号により分析操作を全て自動的に行います。接液部は，全て耐薬品材で構成され，また，流路系と電気系が分離されていますので，安全対策は完璧です。

自動形，2機種のほか，手動形，3機種を取り揃えていますので，最適のものをお選びいただけます。



034-2UA形 日立全自動液体クロマトグラフ

■特　長

1. 完全な自動分析ができます

プログラムテープにより，分析スタートから6種類までの緩衝液切換，カラム温度切換，発色系流路の洗浄，記録および停止までを全て自動的に行います。またオートサンプラにより，6検体までの試料の連続分析ができます。

2. 完全耐薬品性の流路構成です

接液部は，全て硬質ガラス，テフロンまたはダイフロンなどの耐薬品材で構成されています。したがって硫酸や塩酸などの鉱酸溶液や有機溶媒でも使用できます。

3. 流路系と電気系を分離した安全構造です

クロマトハウス内から発火源となる電気系を分離してあります。なお，スイッチオンと同時に強力な換気扇が始動して，常時クロマトハウス内の換気を行います。したがって引火性溶媒でも安心して使用できます。

4. 分析対象の広い多波長流動光度計です

200～700nmの任意の3波長を同時に連続的に測定できますので，吸収特性の異った物質の検知と定量ができます。

5. 安定な耐薬品微量定量ポンプです

テフロンVパッキングシールの2個のポンプとバルブを同軸上に連動させた合理的な駆動方式で所要の一定量を正確にカラムに送液します。

6. 各種の分析目的に応じられるビルディングブロック方式です

分析目的に応じた自由な組合せ方式により，ステップワイズ法および単一組成溶離法に基づく有機酸，核酸，糖，アミノ酸などの連続分析ができます。また手動に切換えれば，グラジェント法によるヌクレオチドの分析や，2本のカラムを用いるアミノ酸の生体分析もできます。

■各機種の概要

自動形　034-2UA

034-2U形を自動化したもので，単一カラム，段階溶出法による分析で6検体までの試料を自動的に分析します。（1検体の場合のみカラム温度切換ができます。）

自動形　034-2AA

034-2A形を自動化したもので，KLA-5形の技術がそのまま生かされ，専用機に匹敵する分析が行えます。

手動形　034-2U

紫外，可視域で吸収を有するもの，または発色試薬で発色可能な試料の分析ができます。

○アミノ酸，色素，核酸塩基，有機酸，糖など

手動形　034-2A

ワンカラム法により，分離した溶出液をニンヒドリンで発色させ，3波長(440, 570, 640nm)で同時測定します。

○アミノ酸

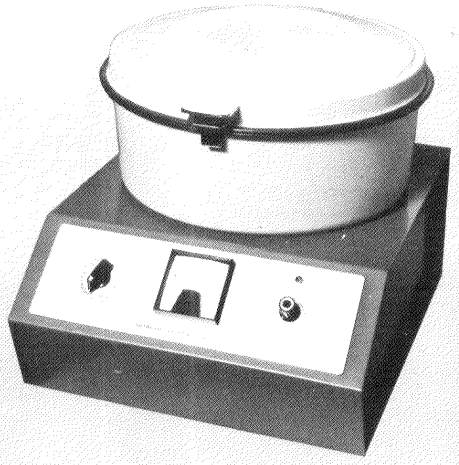
手動形　034-2N

試料そのものが紫外および可視域に吸収を有する場合の分析に用いられます。段階溶出法，グラジエント溶出法ができます。

○核酸塩基，ヌクレオシド，ヌクレオチド，医薬品，染料など

インダクションモータを採用した
静かでタフな卓上形

03P形 日立卓上遠心機



このたび，日立工機(株)では新たに03P形日立卓上遠心機を開発いたしました。

03P形は日立超遠心機シリーズ（80P形，65P形，55P-2形），日立冷却遠心機シリーズ（20PR形，18PR-3形，5PR形）に続く卓上形シリーズの最初の機種で，臨床検査，ルーチンワーク用にメインテナンスフリで使い易く，インダクションモータの採用により従来の問題点を解決した。ユニークな遠心機です。

■特　長

1．騒音がありません

インダクションモータの採用により，静かに回転し騒音がありません。

2．メインテナンスフリーです

カーボンブラシを使用していませんので，交換の必要がありません。

3．ノーバランスで運転できます

試料入り15ml管1本分（約30g）ものアンバランス量が許容できますのでバランスは，目分量で充分です。

4．回転数の調節が不要です

負荷により回転数を調節する必要がありません。負荷の大小にかかわらず，回転数は一定です。

■仕　様

最高回転数	2,800RPM (50Hz) 3,000RPM (60Hz)
容　量	別記バケットの通り
駆動用モータ	100Wインダクションモーター
調　心	自動調心
速度制御	フィードバック方式 IC回路
ブレーキ	電気ブレーキ
回転精度	±150RPM以内
タイマー	電気タイマー 0～30分 Free
ローターの冷却	空冷式
電　源	100V 2 A (50Hz) 100V2.5A (60Hz)
寸　法 (mm)	440(巾)×570(奥行)×420(高さ)
重　量	28kg

バケット

バケットは，つぎの5種類をそろえています。いずれか1式を本体と同時にご注文ください。

バケットの種類	内　訳		価　格
Aアセンブリ	15×8ALバケットクミ 15底ゴム 15ガラスチューブ	4セット 50個 50本	¥15,000.
Bアセンブリ	15×6ALバケットクミ 15底ゴム 15ガラスチューブ	4セット 50個 50本	¥10,000.
Cアセンブリ	10×10ALバケットクミ 10底ゴム 10ガラスチューブ	4セット 50個 50本	¥20,000.
Dアセンブリ	50×2ALバケットクミ 50底ゴム 50ガラスチューブ	4セット 10個 10本	¥20,000.
Eアセンブリ	50ALバケットクミ 50底ゴム 50ガラスチューブ	4セット 10個 10本	¥10,000.

■価　格

本　体　¥120,000

〈編集後記〉

■前号にて，本ニュースの索引(Vol.12～15)を作成した旨お知らせしましたところ，早速多数お申込みをいただきまして有難うございました。バックナンバーのご請求は，可能な限りお受けいたします。

■本ニュースの掲載区分，「報文」については次のようにご了解いただきたいと思います。すなはち，「報文」(ORIGINAL PAPERS)は，本来未発表のものを掲載するのが建前でありますが，本ニュースの性格上，未発表のもの並びに，学会誌，協会誌，国公立試験研究機関の研究報告等に投稿中または既発表のものを含むものとしております。

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
APRIL, 1973, Vol.16 No.2

発　行　昭和48年4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

Printed in Japan NM-S(H)