THE HITACHI SCIENTIFIC INSTRUMENT NEWS

APRIL 1974
VOL. 17 NO. 2

目　次

展　望

U.D.C. 681.2:620.921.93

省エネルギ時代の計測器

酒井　馨*

世界的なエネルギ危機に直面し，通商産業省ではサンシャイン計画とともに産業構造審議会を設けて，日本の産業構造の方向づけを行うべく急いでいる。その一部門である計量計測機器調査委員会では，需要・供給構造，社会的ニーズへの対応，国際化への対応などに関し調査を進めている。

新時代に対応する計測器のあり方としては，

(1) 産業の近代化に対する先導的役割を果す。

(2) 消費電力，消耗材料が少なく，保守安全性のよい軽量簡便操作性・高信頼性の計測器を開発する。

(3) 新エネルギ産業が要求する新センサを開発する。

(4) 各種鉱工業プロセスにおける省エネルギ，安全管理用新計装システムを確立する。

などがあげられる。以上の項目のうち，例えば(2)については，永久磁石を用い，冷却水の使用を不必要なものとした日立高分解能核磁気共鳴装置のように既にその目的を達しているものもあるが，今後，一層本格的に上の各項目を見直してみる必要がある。ここでは，通商産業省のサンシャイン計画や産業技術審議会がまとめた「新エネルギ開発」に関する通産大臣への答申，科学技術庁の核融合技術開発計画など，国のエネルギ対策から予想される計測器の未来のビジョンについて定性的な私見を述べるが，未熟な点について諸賢の御指摘を切望する次第である。

1．従来のエネルギ対策の再評価と計測器

化石燃料に依存し過ぎた発電方式は各方面で反省検討され，水力発電，地熱発電，原子力発電方式などが見直されている。

1.1　水力発電ではピーク電力需要に対応する揚水式発電所，上下水道・かんがい用水供給用多目的ダム発電所などの建設，既存ダム再開発が急がれるが，計測の分野では特に目新しいものの要求は見られない。

1.2　地熱発電は今後日本では20MkW程度が可能と推定される。その開発のためには，300～400℃を目標とした高温地層の掘削法，掘削装置の開発，高温・高圧・腐食成分を含む地熱流体の測定方法の開発などが必要となる。分析の面からさらに具体的にいえば，この際に使用する蒸気に混存する腐食性ガス，例えば硫化水素，二酸化硫黄などの測定，低圧タービンのブレードに付着し効率低下の原因となるアルカリ土金属塩やシリカなどの測定が要求されよう。

1.3　従来形原子炉は現在2MkWにも満たないが，昭和60年には60MkW，できればそれ以上の出力を要求される。それには次の安全対策に伴う計測器が要求される。

* 日立製作所那珂工場 副技師長，理博

(1) 放射性ガス状廃棄物の処理では，最近BWRが希ガスのホールドアップ装置，PWRが閉回路ループを採用し，^{131}Xeなど短半減期の希ガスの放射能消滅策がとられるようになった。再処理施設や原子力船などでは長半減期の^{85}Kr，^{131}I，^{129}I，^{3}Hなどの分離除去を要し，深冷分離法，溶媒吸収法その他の方法がとられる。また，定常運転や事故時のヨウ素の放出については，活性炭やゼオライト吸着などの対策がとられる。以上の放射能を計測するのに，現状では$10^{-14}\mu$Ci/ccがせいぜいで，AECの新基準$4.2\times10^{-15}\mu$Ci/cc付近の計測は困難で，濃縮前処理を含めて高感度化の根本的対策が要求される。

(2) 放射性液体・固体状廃棄物の処理については，イオン交換法などによる濃縮物をセメントやアスファルト固化処理する方法があり，それらの投棄や処理過程での放射能計測がある。それに伴い，投棄場所選定などのための深海での潮流測定，水中のデータ伝送や位置標定技術の確立などが望まれる。それらの技術は海洋資源探索などとからみ，今後積極的に発展させるべき分野と思われる。

(3) 炉水中の核種（各種ヨー素，^{51}Cr，^{59}Mn，^{58}Co，^{59}Feなど）の計測は，最近各発電所で重要課題としてクローズアップされつつある。また，炉水が高純度を要求されることから，その導電率，pH，濁度などの測定のほかに，全鉄，全銅，ナトリウムイオン，塩素イオンなどの測定も要求され，それらの計測器本体およびその周辺部の仕様は火力プラント用よりはるかに厳しい。分析計としては液体クロマトークロメトリ，原子吸光法，吸光光度法などの適用が考えられる。

(4) 以上のほかに，FBR形原子炉などに用いる金属ナトリウム中の水素，酸素，炭素などの測定やその融解状態でのループ内の流量測定なども高い計測技術を必要とする。

以上の各例に見られる放射性同位元素の挙動を知るうえで，単に放射能のモニタのみに止まらず，高性能質量分析計や特殊なラジオガスクロマトグラフなどの開発も要望される。

2．新エネルギの開発と計測器

サンシャイン計画では前述の地熱発電のほかに，石炭ガス化・液化，太陽エネルギ，水素エネルギの利用などが対象となっており，地熱発電以外はクリーンエネルギという面でも注目される。**図1**はこれらの概念図である。以上のほかに，新しい核エネルギ利用の新形転換炉，高温ガス炉，高速増殖炉，核融合などの新技術の開発が望まれる。

2.1 石炭ガス化・液化は，代替石油として天然ガス，オイルサンド，オイルシェールなどとともに注目される技術で，低品位の非粘結歴青炭，褐炭を流体化し，クリーンエネルギ化して活用するものである。ガス化法には高カロリーガス化，低カロリーガス化，プラズマガス化などが，液化法には直接水添，乾留水添，抽出水添，合成液化などがある。これらの工業プロセスでは，ガス化炉，メタン合成炉，脱硫装置，水添装置などが用いられるが，それらの操業工程で発生する各種ガス状成分や粉じん，プロセス廃水成分などの計測が要求される。計測技術としては，各種ガ

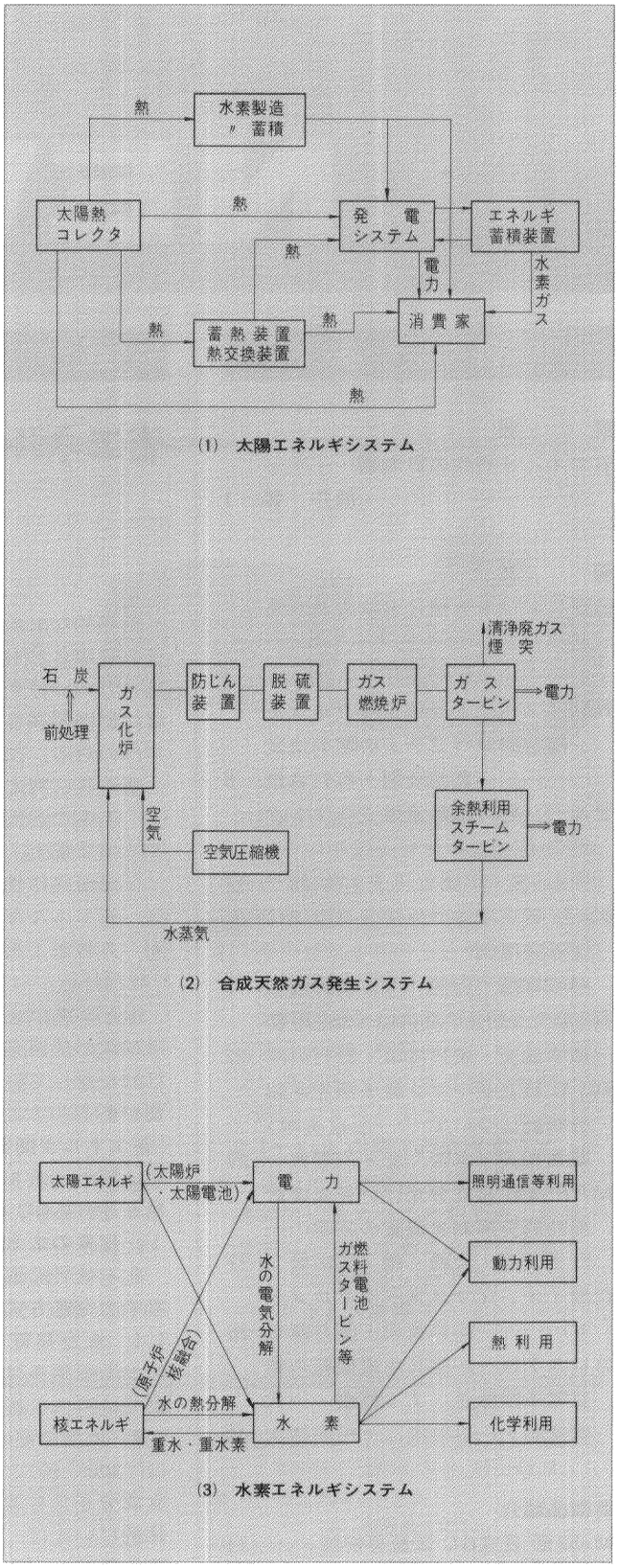


図1 新しいクリーンエネルギシステム概念図

スクロマトグラフ，水質分析計やダストモニタの適用でよいが，公害対策に伴なう計測管理システムとか，爆発や火災などの保安に伴う計測監視システムの確立が重要課題となる。なお，この工業プロセスでは，固体粉体の輸送やハンドリング技術が大きな隘路となることが予想され，それに伴う計量技術の確立も大きなテーマとなろう。

2.2 太陽エネルギおよび水素エネルギの利用

太陽エネルギ関係では大容量の太陽熱発電，高性能低価格の太陽電池，太陽熱を最大限に有効利用する冷暖房などの開発があげられる。また水素エネルギ関係では，太陽エネルギコレクタや核融合炉などを用いて2000℃以上の高温とし，水を直接熱分解するとか，各種の熱化学的サイクルを利用するとか，高温高圧電解，放射線分解などの方法により，水素を製造する。また水素の輸送・貯蔵などの技術も要求される。これらのプロセスはまだ固まっておらず，計測器に対する要求も流動的であるが，いずれにしても，爆発や火災などの保安管理は重要な課題であり，そのため，高圧容器，配管，バルブなどの漏洩検出器や圧力計，流量計などの信頼性が強く要求されよう。

2.3 新しい核エネルギの利用

核エネルギを有効利用するプルトニウム炉や高速増殖炉，発電コストの安い発電併用の高温ガス炉などの実用化は10年以内に達成できるものと推定されている。また，核融合の実用化は21世紀のエネルギといわれている。前者では各種の核種計測器，特に危険性の高いプルトニウムの検出が問題となろう。また，後者（核融合関係）では重水素やトリチウムの定量的測定とか，マイクロウェーブの吸収を利用するプラズマ密度計，輝線スペクトルのドプラシフトを利用するプラズマ温度計，中性子計装などの高度の計測技術が要求されよう。

3．省エネルギ形産業構造へ転換するための高効率エネルギの利用と節約

従来の我が国のエネルギ利用分野は欧米諸国に比べて，あまりにも鉱工業用エネルギ消費形であったが，これからは環境問題，国際経済の動向，国民のニーズなどを綜合的に検討したバランスのある産業構造のビジョンが確立されなければならない。それに伴い，鉱工業分野は今後一層高効率エネルギ利用や節約に関する諸技術の早急な確立が要求され，それに成功する企業のみが生き残ることにもなろう。

3.1 高効率エネルギの利用

各種エネルギは有限であるとの認識の下に，ＭＨＤ発電，燃料電池といったエネルギの直接電力変換方式とか，超高圧大容量送電技術，超電導送電など輸送面の効率化などの開発がなされよう。それに伴い，MHD発電では，超高温の測定，シード回収過程の分析などが，燃料電池では燃料や助燃剤用の流量計，分析計などが必要となろう。

3.2 エネルギ再利用のための新システム，新計測技術の開発

省エネルギに関連する新システムとして，火力・原子力発電所温廃水利用，ごみ焼却炉廃熱利用などにからんで，地域冷暖房システム，小規模発電システム，温水漁業・農業経営システムなどが次々に開発されるものと思われる。それらに用いられる計測器もコンピュータ制御用にマイクロコンピュータなどを内蔵してディジタル家住機器化する必要があるし，これらのシステムは小規模で操作性のよいものが望まれよう。

ごみ焼却などにからんで，固形廃棄物の材料の種類を簡単に弁別し得る計測技術，それらを仕分けし，さらに利用し得るものではそれらを溶解，融解などの前処理をする技術なども要求されよう。一方，ごみ焼却炉で多量に発生する塩化水素を塩化物との共存下で高精度で計測する技術や塩化水素，水分，二酸化硫黄，窒素酸化物との共存下でダストの粒度分布や重量の測定技術の開発なども既に要求されつつある。

3.3 節　約

産業分野ではエネルギ消費の少ない生産プロセスが必要となり，民生面では消費生活に必要な機器の開発や生産方法自体を省エネルギ化する工夫が必要となろう。それに伴う新計測システムの確立は，いうまでもなく，計測器自体，例えば，センサの固体化，集積化などによる本格的な省エネルギ形計測器の開発も強く望まれよう。また農産物その他の過剰生産物のスムースな流通化のための有効なシステムの開発なども必要となろう。さらには中古品の再生利用産業などまで生れつつある昨今，この方面の庶民の知恵は予想できない発展も考えられる。

4．結　言

省エネルギと計測器との結びつきは現在では必ずしも強いとはいえないが，この分野は極めて流動的であり，近い将来，何かのきっかけで，例えば公害計測や医用計測分野の発展のように，急速な発展がなされる可能性を内蔵しているように思う。その意味でわれわれは今後ともこの方面の情報に強い関心を常に寄せておく必要があろう。

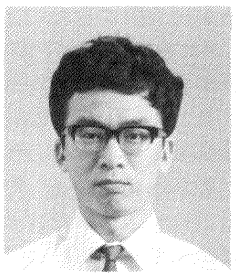
最後に，このテーマを考える機会を与えてくださった通商産業省 機械情報産業局計量課 姫野 瑛一 課長他関係各位，および，このテーマについて種々助言をいただいた当社日立研究所企画室 鈴木 敏孝 主任研究員，第11部 中島 史登 主任研究員に厚くお礼申しあげる。

報　文

U.D.C. 547.455/.458.03:535.343－14
543.422.4:535.243.25.084.2－973

低温における有機化合物の遠赤外スペクトル

日根野正和*　　吉永　弘**



1．はじめに

赤外線スペクトルは，有機化合物の構造に対して，直接的に多くの情報を与えるという点で非常に重要であり，かつ物理分析の一般的手段として，広く用いられていることは周知のことである。特にいわゆる普通赤外域（4,000～400cm^{-1}）においては，分光装置もほとんどの研究室で自由に使いこなすことができ，また基本的な分子の基準振動数，力の定数などの一般的な問題に関しては，理論的にも十分な研究がなされている。最近では，これら普通赤外域に加えて，内部回転振動，骨格変角振動，分子間相互作用などの研究のため，スペクトルの測定は400cm^{-1}以下の領域においても種々の有機化合物の遠赤外スペクトルの報告がなされている。また，一般的に，赤外線スペクトルの吸収バンドは，サンプルを低温にするとそのバンド幅が狭くなり，バンドがシャープになることが知られている。

他方，測定技術面からこの領域を考えると，広く用いられているGolay検知器に比べ，液体ヘリウム温度に冷却したGeボロメータを用いると，特に遠赤外域でS/Nがよくなり，精度のよいデータが得られることはすでに報告されている。常温で使えるGolay検知器に比べ，Geボロメータは素子を液体ヘリウム温度に冷却して使用しなければならないという不利な点はあるが，液体ヘリウムが自由に使用できるという状況下においては，よいデータを得るためには，むしろGeボロメータのほうがはるかに使いやすいということになる。幸いにして，われわれの研究室のある阪大吹田地区にはキャンパス内に低温センタがあり，液体ヘリウムの入手が容易であるので，遠赤外域のスペクトルの研究には，Golay検知器よりも液体ヘリウム温度に冷却したGeボロメータのほうが実用上便利が多い。このようなボロメータを有機化合物の遠赤外スペクトルの測定に応用すると，今まで見出されていなかった多くの吸収バンドが発見され，構造研究などに多くの有用なデータを与えることができる。

ここでは，サンプルを液体ヘリウム温度に冷却することにより，500cm^{-1}以下で各分子特有の非常に精度のよいスペクトルが得られることを糖類のスペクトルを実例として述べる。

2．糖類の低温測定

サンプルを低温に冷却すると吸収スペクトルのバンド幅が狭くなることはすでに知られているが，有機化合物では，相転移などに関係して，不連続に変化する特別のバンドを除けば，吸収バンドは温度を下げれば下げるほどシャープになる。

図1および**2**はサッカロース（いわゆる砂糖）の500～50cm^{-1}領域における遠赤外スペクトル[1]で，温度を常温→液体窒素温度→液体ヘリウム温度と変化させたときのスペクトルの変化の様子を示している。**図1**において，破線は常温，実線は液体ヘリウム温度におけるスペクトルを示す。また，**図2**においては，破線は常温，実線は液体窒

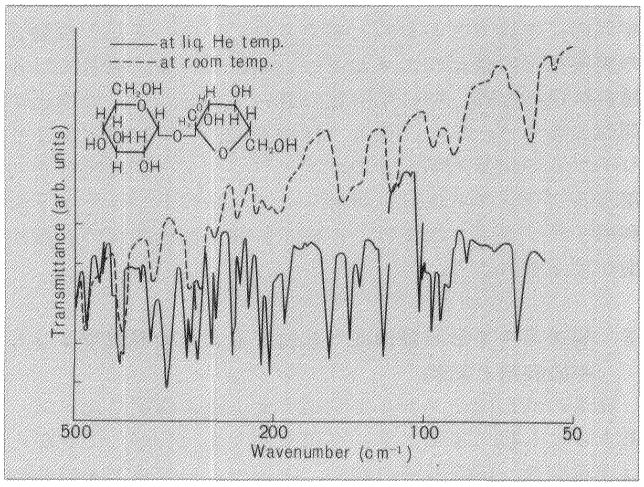


図1　サッカロースの液体ヘリウム温度における遠赤外スペクトル

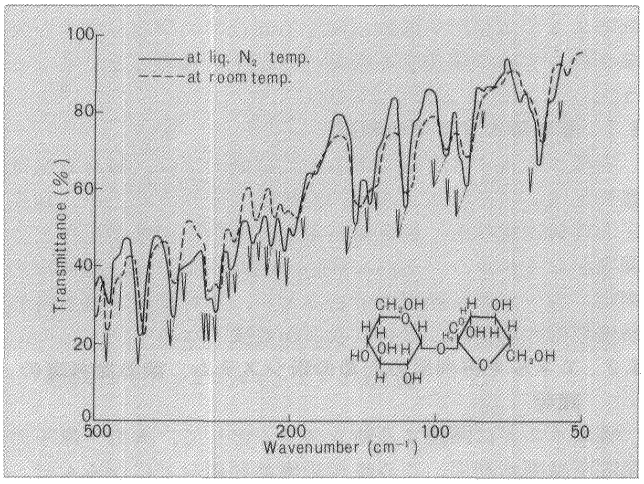


図2　サッカロースの液体窒素温度における遠赤外スペクトル

*　大阪大学 工学部 応用物理学教室
**　大阪大学 工学部 応用物理学教室 教授，理博

素温度におけるスペクトルであり，比較のため液体ヘリウム温度における吸収バンドのピークを示してある。これら2つの図からわかるように，例えば常温で143cm^{-1}に観測されたショールダをもったバンドは，液体窒素温度ですでに2本のバンドに別れ，液体ヘリウム温度になると154cm^{-1}と140cm^{-1}の完全に独立した2本のバンドに分裂している。吸収バンドのピークの位置は温度を下げるとともに高波数側にシフトしている。これは温度を下げれば下げるほど，力の定数の値が大きくなるためと考えられる。

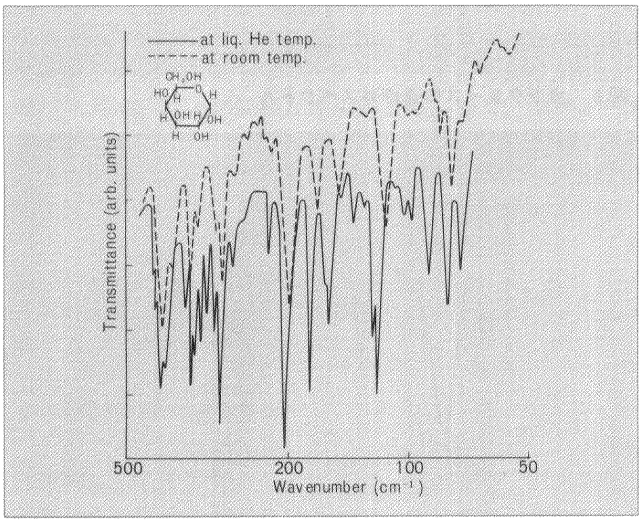


図3　ガラクトースの液体ヘリウム温度における遠赤外スペクトル

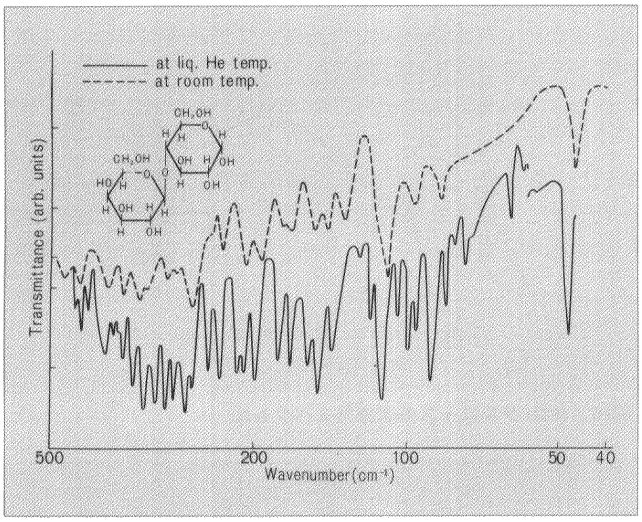


図4　ラクトースの液体ヘリウム温度における遠赤外スペクトル

また，**図3**および**4**はガラクトースとラクトースの500～50cm^{-1}領域における遠赤外スペクトル[2]で，それぞれ破線は常温，実線は液体ヘリウム温度におけるスペクトルを示す。ガラクトースの場合，常温のスペクトルで72.2cm^{-1}付近にみられるショールダが，液体ヘリウム温度では75.2cm^{-1}のバンドとして，また77.9cm^{-1}と82.6cm^{-1}のバンドはそれぞれ80.2cm^{-1}と89.5cm^{-1}にシフトして，はっきりと観測されている。さらに，114cm^{-1}のバンドは120cm^{-1}と，124cm^{-1}の2本のバンドに別れているのがわかる。また，ラクトースの場合にも，常温で45.7cm^{-1}と85.4cm^{-1}に見られたバンドが，液体ヘリウム温度に冷却することによりシャープになり，47.2cm^{-1}と89.3cm^{-1}にシフトしており，96.4cm^{-1}のバンドは96.0cm^{-1}と98.8cm^{-1}の2本に別れ，109cm^{-1}のショールダをもったバンドも112cm^{-1}と117cm^{-1}の2本に別れている。

このように，サンプルを液体ヘリウム温度に冷却すると，常温のときに比べてはるかによいスペクトルが得られることがわかる。

3．低温測定の方法

粉末サンプルの低波数領域の遠赤外スペクトルを得るには，ヒータで熱して柔らかくしたポリエチレン中にサンプル粉末を練り込んだ後，これを常温に冷やして固めて測定用試料を作製するが，糖類の場合には，ポリエチレンが柔らかくなる程度の温度ですでに分解してしまって，もとのサンプルのスペクトルが得られないものがある。このため，細かくくだいた粉末サンプルにわずかのヌジョールをしみ込ませた後，厚さ約300μmのポリエチレンシート上において，これを内径11.0mmϕの真空ライトパイプ中にセットした。遠赤外測定の場合は普通赤外域の場合に比べて，特にサンプルの濃度が大切で，わずかに濃すぎても，わずかにうすすぎてもなかなかよいスペクトルが得られないので，最初は注意を要するが，慣れるにしたがって量の調整をうまくできるようになる。今回の測定の場合は，500～30cm^{-1}領域で内径11.0mmϕの断面積に対し，サンプル粉末の10～80mgをそれぞれの波数域に応じてサンプル量を適当に変化させて測定した。

また，BeO，BeO＋ZnO，SrF_2＋LiF，BeO＋ZnO＋NaF＋KCl，TlCl＋TlI＋NaFの粉末フィルタを，それぞれ500，400，200，140，70cm^{-1}以上の高次光除去用クールドフィルタ[3]として，ブラックポリエチレンと組合せて，ライトパイプ内で用いた。検知器はポンピングをした液体ヘリウム温度に冷却したGeボロメータを用いた。[4] 液体ヘリウム温度におけるスペクトル測定用のデュワ，ライトパイプおよびサンプルホールダを**図5**に示す。二重デュワのうちの外側のデュワには液体窒素を入れて外界よりも温度を下げておき，内側のデュワに液体ヘリウムを入れその上部空間をロータリポンプで減圧して液体ヘリウムの気化温度を下げる。ライトパイプによって導かれた光は，クールドフィ

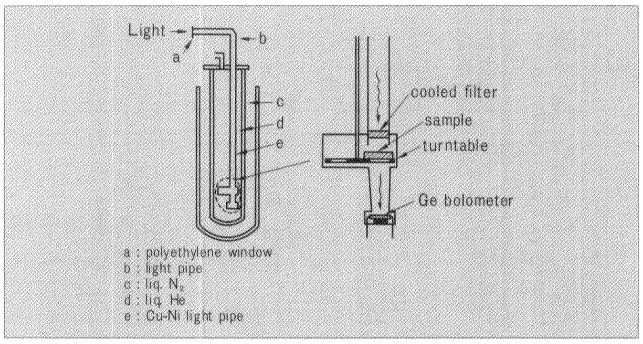


図5　液体ヘリウム温度におけるスペクトル測定用デュワ，ライトパイプおよびサンプルホルダ

ルタを通った後，サンプルを通ってGeボロメータに達する。素子から出た信号はプレアンプ，メインアンプを経てレコーダに記録される。

4．単糖類，二糖類の遠赤外スペクトル

糖類の遠赤外スペクトルが液体ヘリウム温度でうまく取れることはすでに述べたが，単糖類と二糖類はともに内部回転振動，骨格変角振動などを有するために，これらを500～50cm^{-1}領域で区別することは困難である。そこで，主として分子間相互作用によるバンドが観測されると考えられる50cm^{-1}以下に話を進める。

単糖類，二糖類のサンプルとして，β-D-グルコースとセロビオース，ガラクトースとラクトースおよびα-D-グルコースとサッカロースをそれぞれ組として用いた。二糖類のセロビオース，ラクトースおよびサッカロースは，単糖類のβ-D-グルコース，ガラクトースおよびα-D-グルコースをそれぞれの構成単位として含むので，これらの組合せはリング間相互作用を調べるのに最も適当な物質と考えられる。

図6～**11**はβ-D-グルコース，セロビオース，ガラクトース，ラクトース，α-D-グルコース，サッカロースの50～30cm^{-1}領域での液体ヘリウム温度における遠赤外スペクトル[5]で，その吸収波数も示してある。**図6**と**図8**からわかるように，β-D-グルコースとガラクトースにはこの領域で吸収バンドがなく，一方，**図7**と**図9**からわかるように，セロビオースには40.7cm^{-1}，ラクトースには47.2cm^{-1}

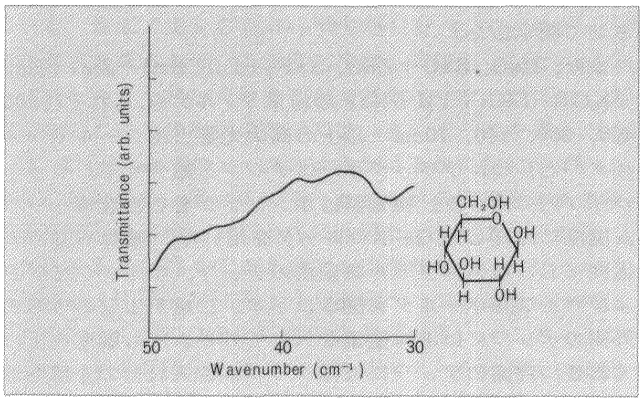


図6　β-D-グルコースの50～30cm^{-1}の液体ヘリウム温度における遠赤外スペクトル

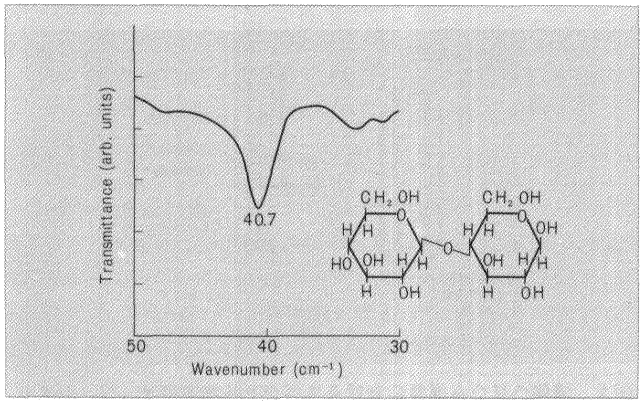


図7　セロビオースの遠赤外スペクトル

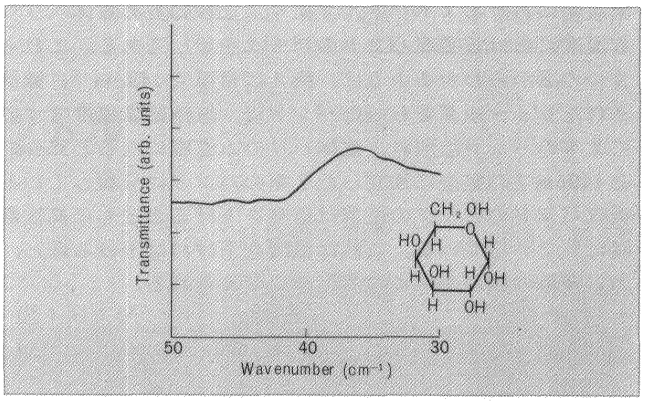


図8　ガラクトースの遠赤外スペクトル

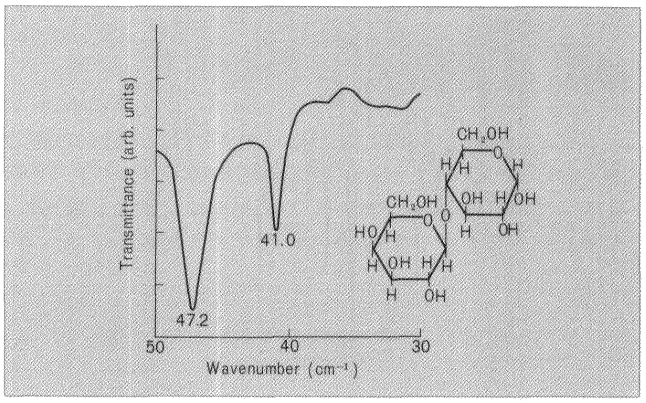


図9　ラクトースの遠赤外スペクトル

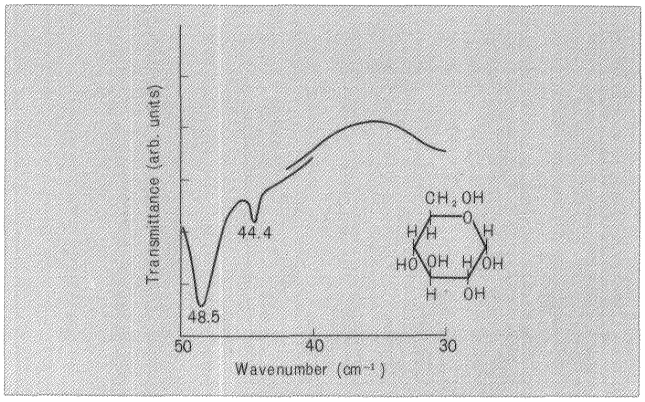


図10　α-D-グルコースの遠赤外スペクトル

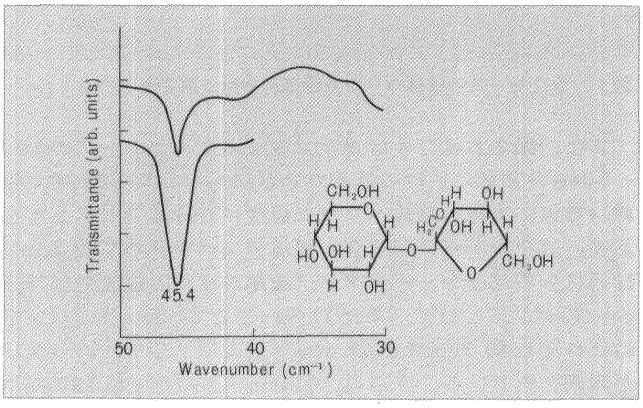


図11　サッカロースの遠赤外スペクトル

と41.0cm^{-1}に強い吸収バンドが観測されている。また，図10はα-D-グルコースのスペクトルで48.5cm^{-1}のバンドと44.4cm^{-1}の弱いバンドとがあり，図11のサッカロースのスペクトルには45.4cm^{-1}に強い吸収バンドが見られる。

糖類はその構造が複雑なので，遠赤外域における吸収バンドの位置を正確に理論的に予知することは困難であるが，上記の実験結果から次のことが考えられる。すなわち，セロビオース分子は2つのβ-D-グルコース分子から成るので，β-D-グルコースに出なくてセロビオースに出る40.7cm^{-1}のバンドはリング間相互作用による。また，ラクトース分子はガラクトース分子とα-D-グルコースから成るので，ガラクトースにもα-D-グルコースにも出る41.0cm^{-1}のバンドは，リング間相互作用によるもので，ラクトースの47.2cm^{-1}のバンドはα-D-グルコースの48.5cm^{-1}のバンドと同様のものであろう。さらに，サッカロース分子はα-D-グルコース分子とフラノースリングから成るので，サッカロースの45.4cm^{-1}のバンドはα-D-グルコースの48.5cm^{-1}のバンドと同様のものであろう。

単糖類と二糖類に関して得られた遠赤外スペクトルの実験結果は上記のように考えられる。

5．糖類試料の重水素化

前節で述べた遠赤外域における吸収バンドがリング間相互作用によるものであるとすれば，サンプルを重水素化しても，これらの領域におけるバンドはシフトしないか，もしくはシフトするとしてもごくわずかのはずである。このことは，これらのバンドがリング間相互作用によるものであることの必要条件ではあるが十分条件とはいえない。しかし，少なくともなにがしかの情報が得られるという興味から糖類のサンプルを重水素化することを試みた。サンプルには比較的水に溶けやすく50cm^{-1}以下にはっきりした吸収バンドをもつトレハロースとマルトースを選んだ。糖類では，CH結合の水素原子を重水素化するには合成の段階から手がけなければならないが，OH結合の水素原子を

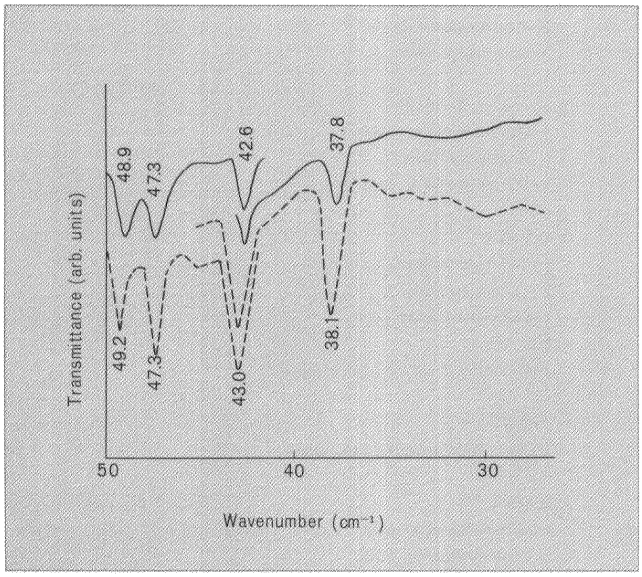


図12　重水素化トレハロースの遠赤外スペクトル

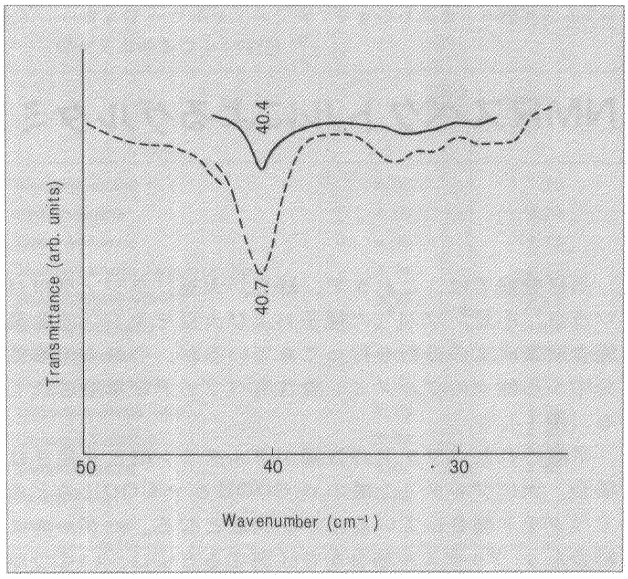


図13　重水素化マルトースの遠赤外スペクトル

重水素化することは比較的容易なのでこれを行った。もとのサンプルをバキュームライン内で重水に溶かすという手順を数回繰返して得たサンプルについて，その重水素化の程度はOH伸縮振動（～3250cm^{-1}）がOD伸縮振動（～2450cm^{-1}）にシフトしていることによって確かめた。図12および13に重水素化したトレハロースと重水素化したマルトースの50cm^{-1}以下での液体ヘリウム温度における遠赤外スペクトルを示す。破線はそれぞれの重水素化しないもとのサンプルのスペクトルである。図12からわかるように，トレハロースでは49.2→48.9，47.3→47.3，43.0→42.6，38.1→37.8cm^{-1}，また図13からマルトースでは40.7→40.4cm^{-1}とサンプルを重水素化しても吸収バンドはほとんどシフトしていないことがわかる。このことは少なくとも糖類の50cm^{-1}以下のバンドが，リング間相互作用によるものであるということを証拠づけている。

6．おわりに

糖類の遠赤外スペクトルで500～50cm^{-1}領域，さらに50cm^{-1}以下の領域において，サンプルを液体ヘリウム温度に冷却することにより非常に精度よいスペクトルが得られ，また，それらのスペクトルを用いて，今まで得られていなかった構造に対するいろいろな情報が得られることがわかったが，これらのことは糖類以外の有機化合物についても同様に興味深く，いろいろな研究ができるように思う。

このように，複雑なスペクトルが低温でシャープになり，遠赤外域で各分子特有の簡単なスペクトルが得られることは，分析など実用上非常に重要なことで，用途が大きいと思われる。

■参考文献

1）Hineno, M. & Yoshinaga, H.: Spectrochim. Acta **28A**, 2263 (1972).
2）Hineno, M. & Yoshinaga, H.: Spectrochim. Acta **29A**, 301 (1973).
3）Sakai, K. Nakagawa, Y.& Yoshinaga, H.: Japan. J. Appl. Phys. **7**, 792 (1968).
4）Nakagawa, Y. & Yoshinaga, H.: Japan. J. Appl. Phys. **9**, 125 (1970).
5）Hineno, M. & Yoshinaga, H.: Spectrochim. Acta **29A**, 1575 (1973).

U.D.C. 547.466.1－127.022:547.964]:543.422.25

NMRスペクトルによるグルタミン酸含有ジペプチドの配列決定

葛西隆則* 坂村貞雄**

当研究室では，これまで，緑豆,[1] 大豆,[2] ラジノクロバー,[3] ソラ豆,[4] 小豆,[5] ソバ[6] の種子および大豆モヤシ[7] の非蛋白能含窒素成文の分析を行ってきているが，それらの酸性区分中から種々のグルタミン酸含有ペプチドが単離されている（**表1**）。

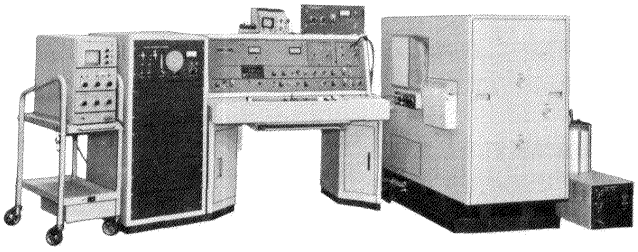
単離されたペプチドのN端がグルタミン酸と決定された場合，次にグルタミン酸の α-COOH と γ-COOH のどちらでペプチド結合しているのかが問題となる。α-グルタミル結合か γ-グルタミル結合かを区別する方法は，いくつか知られている。呈色反応としては，ピリドキサール試験,[8] Cu^{++} 処理後のニンヒドリン反応による方法,[9] 化学的な方法としては，PTC化後得られたPTC-ペプチドを切断する条件による区別,[10] ニンヒドリン反応により生ずるアンモニア量[11] あるいはクロラミンTとの反応後生ずる炭酸ガス量[12] による区別，無水酢酸 $-^3H_2O$ 処理によるグルタミン酸部分へのトリチウムとり込みの有無による区別,[13] また，マススペクトルで "minus-28" と "minus-27" のフラグメントの有無による区別[14] などがある。

呈色反応は明確な結果を与えない場合もあり，また数量的なデータを得ることができない。化学的な方法では，数量的にはっきりした結果が得られるが，操作が繁雑であり，また試料を分解してしまうため，単離されたペプチドが少量でかつ他の目的にも使用したい場合には不向きである。マススペクトルによる方法も有効であるが，誘導体調製の繁雑さおよび通常用いるエチルエステルではエチレン離脱による "minus-28" フラグメントが強くでてしまうなどの欠点がある。こうした理由からわれわれは α-グルタミル結合か γ-グルタミル結合かを簡単明確に区別でき，かつ試料も回収できるという方法を探していたが，NMRスペクトルを用いることにより希望する結果を得ることができた。[15] 以下その方法と結果を報告する。

1. 実験方法

1.1 α-および γ-グルタミルジペプチドの合成

実験方法はBuchananらが α-および β-アスパルチルペプチドの合成に用いた方法[16] によった。すなわち，グルタミン酸のN-Cbz化後無水酢酸で酸無水物とし，これにC端とするアミノ酸を反応させた後保護基を切り，得られた α-と γ-グルタミルペプチド混合物を Dowex 1×4 (formate) により分離した。必要な場合には，さらにセルロースカラムによる分離を行った。合成品はすべて元素分析および薄層クロマトグラフィにより純品であった。この方法では γ-グルタミル-β-アラニンがほとんど得られなかった



R-22形 日立高分解能核磁気共鳴装置

表1

緑豆種子[1]
- γ-Glutamylleucine
- γ-Glutamylmethionine
- γ-Glutamylmethioninesulfoxide
- γ-Glutamyl-γ-glutamylmethionine
- γ-Glutamylphenylalanine
- γ-Glutamyltyrosine

大豆種子[2]
- γ-Glutamylphenylalanine
- γ-Glutamyltyrosine

ラジノクロバー種子[3]
- γ-Glutamylphenylalanine
- γ-Glutamyltyrosine
- γ-Glutamylaspartic acid

ソラ豆種子[4]
- γ-Glutamylphenylalanine
- γ-Glutamyltyrosine
- γ-Glutamylaspartic acid

小豆種子[5]
- γ-Glutamyl-β-phenyl-β-alanine

ソバ種子[6]
- N^5-(4′-Hydroxybenzyl) glutamine

大豆モヤシ[7]
- α-Glutamylaspartic acid
- γ-Glutamylaspartic acid

* 北海道大学 農学部 助手，農博
** 北海道大学 農学部 教授，農博

PTC-：フェニルチオカルバミル-
Cbz-：カルボベンゾキシ-

ので，当教室の長谷川の合成したもの[17]を用いた。また，γ-グルタミルアスパラギン酸，α-およびγ-グルタミルロイシン，バリルグルタミン酸，グリシルグルタミン酸，イソグルタミンは混合酸無水物法により合成した。[18]アミノ酸はすべてL-形を使用した。α-グルタミルアスパラギン酸は阪大，芝教授よりいただいた。[19]α-およびβ-アスパルチルセリンは当教室の佐藤の合成したものを用いた。[20]

1.2　NMRスペクトルの測定

NMRスペクトルはR-22形日立高分解能核磁気共鳴装置（90MHz）により測定した。測定は内部標準としてDSSを用い，重水中および酸性（0.1N DCl中0.1m mole），塩基性（0.2N NaODlml中0.1m mole，グルタミン，イソグルタミンは，0.1N NaOD 1ml中0.1m mole）の条件で測定した。

2．結果および検討

グルタミン酸は水溶液中ではα-zwitter ionとして存在している。[21]γ-グルタミルペプチドも水溶液では同様な形をとっていると考えられる。一方，α-グルタミルペプチドでは，このような形はとり得ない（**図1**）。したがって，グルタミル残基のアミノ基のつけ根のCH（α-H）に注目してみると，このHは，γ-グルタミル結合の場合はグルタミン酸のα-Hに近いケミカルシフトを示すが，α-グルタミル結合の場合はより低磁場に共鳴することが予想される。実験結果は**表2**に示すように，実験した範囲内では予想どおりグルタミ残基のα-Hは，γ-グルタミル結合の場合はδ3.85より高磁場に，α-グルタミル結合の場合はδ3.90より低磁場にあらわれた。[15]

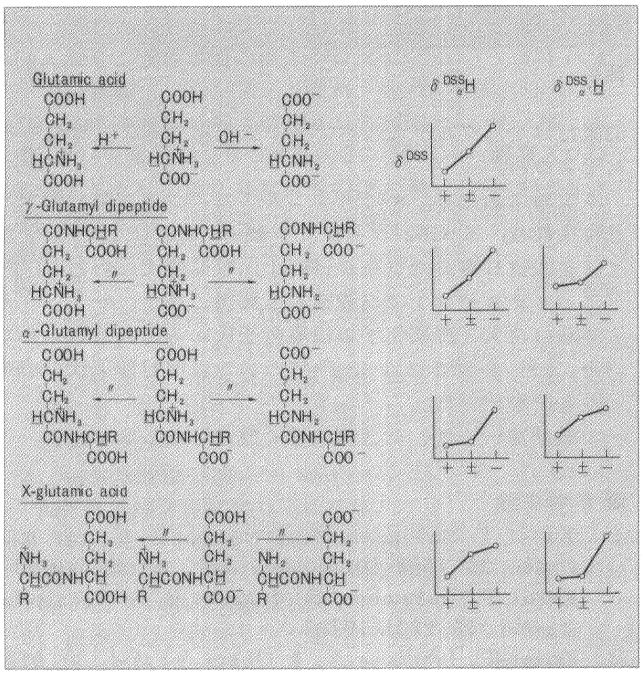


図1

次に，酸，塩基の影響についてであるが，グルタミン酸含有ジペプチドに実験条件のような酸，塩基を添加したときのアミノ基およびカルボキシル基の状態は**図1**に示したようになっていると考えられる。したがって，γ-グルタミル結合しているときのグルタミル残基のα-CHは，酸添加により低磁場に，塩基添加により高磁場にシフトするが，α-グルタミル結合の場合は，塩基による高磁場シフトのみを強く受けるのではないかと予想される。測定結果は，**表3**及び**4**のようになり，グルタミル残基のα-CHは，γ-結合の場合は，酸による低磁場シフト（**表3**コラムB　約0.3ppm）と塩基による高磁場シフト（**表3**コラムD 約0.6ppm）をともに強く受け，α-結合の場合は，塩基による高

表2　α-およびγ-グルタミルジペプチドのグルタミル残基のα-CHのケミカルシフト（$\delta^{DSS}_{D_2O}$）[15]

	$\delta^{DSS}_{D_2O}$ α-CH	
	α-	γ-
Glutamylleucine	4.02	3.78
Glutamylvaline	4.09	3.78
Glutamylalanine	4.01	3.78
Glutamyl-α-aminoisobutyric acid	3.94	3.82
Glutamylphenylalanine	3.93	3.70
Glutamylthreonine	4.16	3.81
Glutamylproline	4.00	3.80
Glutamylasparagine	4.02	3.78
Glutamylaspartic acid	4.13	3.75
Glutamyl-β-alanine	3.94	3.71
Glutamylglycine	4.07	3.82
Isoglutamine	4.02	
Glutamine		3.75

表3　γ-グルタミルジペプチドのグルタミルα-HおよびC端アミノ酸のα′-Hのケミカルシフト（δ^{DSS}）[15]

			A In DCl*	B (A)-(C)	C In D_2O	D (C)-(E)	E In NaOD*
γ-Glutamylglycine	Glutamyl	α-CH	4.13	0.31	3.82	0.62	3.20
	Glycyl	α′-CH	3.99	0.05	3.94	0.21	3.73
γ-Glutamylalanine	Glutamyl	α-CH	4.11	0.33	3.78	0.58	3.20
	Alanyl	α′-CH	4.35	0.09	4.26	0.16	4.10
γ-Glutamylvaline	Glutamyl	α-CH	4.10	0.32	3.78	0.57	3.21
	Valyl	α′-CH	4.24	0.06	4.18	0.14	4.04
γ-Glutamylleucine	Glutamyl	α-CH	4.10	0.32	3.78	0.59	3.19
	Leucyl	α′-CH	4.36	0.04	4.32	0.17	4.15
γ-Glutamylasparagine	Glutamyl	α-CH	4.10	0.32	3.78	0.59	3.19
	Asparagyl	α′-CH	**		**		4.50
γ-Glutamyl-α-aminoisobutyric acid	Glutamyl	α-CH	4.09	0.27	3.82	0.63	3.19
Glutamine		α-CH	4.10	0.35	3.75	0.55	3.20

*　試料 DCℓ. NaOD. の濃度は本文参照
**　DOH. シグナルと重なる。

表4　α-グルタミルジペプチドのグルタミルα-HおよびC端アミノ酸のα′-Hのケミカルシフト（δ^{DSS}）[15]

			A In DCl*	B (A)-(C)	C In D_2O	D (C)-(E)	E In NaOD*
α-Glutamylglycine	Glutamyl	α-CH	4.14	0.07	4.07	0.72	3.35
	Glycyl	α′-CH	4.05	0.18	3.87	0.12	3.75
α-Glutamylalanine	Glutamyl	α-CH	4.08	0.07	4.01	0.67	3.34
	Alanyl	α′-CH	4.48	0.25	4.23	0.10	4.13
α-Glutamylvaline	Glutamyl	α-CH	4.18	0.08	4.09	0.69	3.40
	Valyl	α′-CH	4.30	0.21	4.09	0.05	4.04
α-Glutamylleucine	Glutamyl	α-CH	4.12	0.10	4.02	0.67	3.35
	Leucyl	α′-CH	4.44	0.22	4.22	0.04	4.18
α-Glutamylasparagine	Glutamyl	α-CH	4.12	0.10	4.02	0.67	3.35
	Asparagyl	α′-CH	**		4.52	0.04	4.48
α-Glutamyl-α-aminoisobutyric acid	Glutamyl	α-CH	4.02	0.08	3.94	0.69	3.25
Isoglutamine		α-CH	4.08	0.06	4.02	0.67	3.35

*　試料 DCℓ. NaOD. の濃度は本文参照
**　DOH. シグナルと重なる。

磁場シフト（**表4** コラムD 約0.7ppm）のみを強く受けた。

次に，C端構成アミノ酸について考えてみると，C端アミノ酸のアミノ基のつけ根のCH（α′-H）のケミカルシフトは，**図1**のイオン化状態から考えると，α-グルタミル結合のほうが高磁場にあると予想され，実測値も予想どおりであるが（**表3**，**4**のコラムC），グルタミルα-Hの場合と異なり，グルタミル結合がα-かγ-かで間に線を引くことはできなかった。酸，塩基を添加した場合のα′-Hは**図1**から予想されるごとく，α-グルタミル結合では酸により低磁場シフト（**表4** コラムB 約0.2ppm）し，γ-グルタミル結合では塩基により高磁場シフト（**表3** コラムD 約0.15 ppm）した。

最後に，グルタミン酸がC端を構成している場合であるが，この場合はSheinblattによる通常のα-アミノアルカン酸をN端とするペプチドのNMRによる配列解析[22]がそのまま適用される。すなわち，**図1**に示すように，N端アミノ酸のα′-Hは塩基添加により高磁場シフトし，C端グルタミン酸のα-Hは酸により低磁場シフトするはずであり，実測により確かめられた（**表5**）。

以上の結果から，グルタミン酸含有ジペプチドは**図1**に示したように，グルタミン酸残基のα-Hが塩基により高磁場シフトし，もう一方の構成アミノ酸のα′-Hが酸により低磁場シフトすれば，α-グルタミルペプチド，α-Hが酸による低磁場シフト，塩基による高磁場シフトをともに受け，α′-Hが塩基による高磁場シフトを受ければ，γ-グルタミルペプチド，グルタミルα-Hが酸により低磁場シフトし，もう一方の構成アミノ酸残基のα′-Hが塩基による高磁場シフトを受ければ，グルタミン酸をC端に有するペプチドであるということがわかる。[15]

表5　グルタミン酸をC端にもつジペプチドのグルタミルα-HおよびN端アミノ酸のα′-Hのケミカルシフト（δ^{DSS}）[15]

			A In DCl*	B (A)-(C)	C In D_2O	D (C)-(E)	E In NaOD*
Glycylglutamic acid	Glycyl	α′-CH	3.86	0.02	3.84	0.53	3.31
	Glutamyl	α-CH	4.52	0.26	4.26	0.14	4.12
Valylglutamic acid	Valyl	α′-CH	3.86	0.05	3.81	0.68	3.13
	Glutamyl	α-CH	4.48	0.22	4.26	0.13	4.13

注）＊　試料 DCl, NaOD. の濃度は本文参照

この方法はグルタミン酸に限らず，アスパラギン酸，α-アミノアジピン酸などのα-アミノ-α，ω-ジカルボン酸を含むペプチドにも適用できるはずである。α-およびβ-アスパルテルセリンの水溶液，酸性および塩基性溶液中におけるアスパルチルα-Hのケミカルシフトは，**表6**のようになり，α-とγ-グルタミル結合の場合と同様，α-アスパルチル結合の場合は塩基による高磁場シフトを受け，β-結合の場合は，酸による低磁場シフト，塩基による高磁場シフトを共に強く受けた。

なお，α-グルタミルジペプチドかγ-グルタミルジペプチドかは，構成アミノ酸がL-形の場合はアミノ酸分析計によっても区別することができる。[15] KLA-2形 日立アミノ酸分析装置を用いた分析結果を**図2**に示す。図に示すように，1例（α-グルタミル-β-アラニン）を除き，α-グルタミルジペプチドはそのC端構成アミノ酸の溶出位置の後に溶出され，γ-の場合はその前に溶出された。試料が特に少量の場合は，この区別方法も有効であると思われる。ただし，多くのγ-グルタミルペプチドおよび数種のα-グルタミルペペプチドはほぼ同じ溶出時間を有しており，分析計の溶出位置だけからグルタミルペプチドを同定することはもちろんできない。

表6　α-およびβ-アスパルチルセリンのアスパルチルα-Hのケミカルシフト（δ^{DSS}）

	A In DCl	B (A)-(C)	C In D_2O	D (C)-(E)	E In NaOD
α-Aspartylserine	4.45	0.07	4.38	0.67	3.71
β-Aspartylserine	4.40	0.29	4.11	0.53	3.58

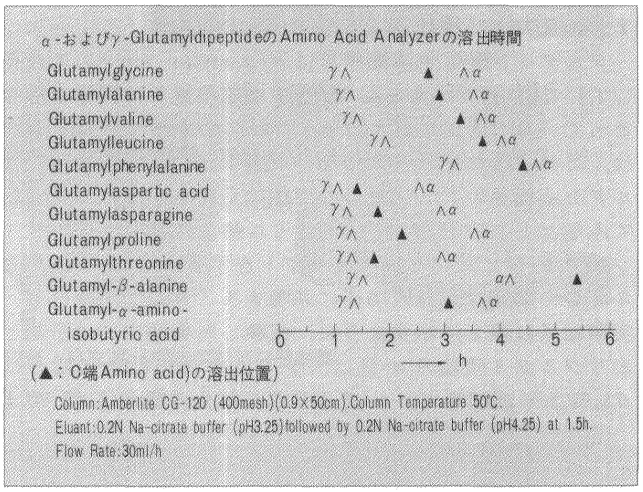


図2

本実験にあたり，α-グルタミルアスパラギン酸は阪大・芝哲夫教授，N-Cbz-グルタミン酸-α-およびγ-ベンジルエステルは日本コカコーラ(株)小山雅弘博士，α-およびβ-アスパルチルセリンは当教室の佐藤博二博士，α-アミノイソ酪酸は北大・農薬化学の田原哲士氏からそれぞれいただいた。また，γ-グルタミル-β-アラニンは河村静子氏の合成したものを用いた。

ご援助をいただいた各位に深く感謝いたします。

■ 参考文献

1）Kasai, T., Sakamura, S. & Sakamoto, R.: Agr. Biol Chem., 35, 1603(1971); *idem, ibid.*, 36, 967(1972); Kasai, T., Sakamura, S., Inagaki, S. & Sakamoto, R.: *ibid.*, 36, 2621(1972)

2）Kasai, T., Ishikawa, Y. & Obata, Y.: *ibid.*, 30, 979 (1966)

3）葛西隆則，上田真理子，坂村貞雄，酒田和彦：日本農芸化学会誌，47，583(1973)

4）葛西隆則，佐野実，坂村貞雄：日本農芸化学会講演要旨集，71 (1974)

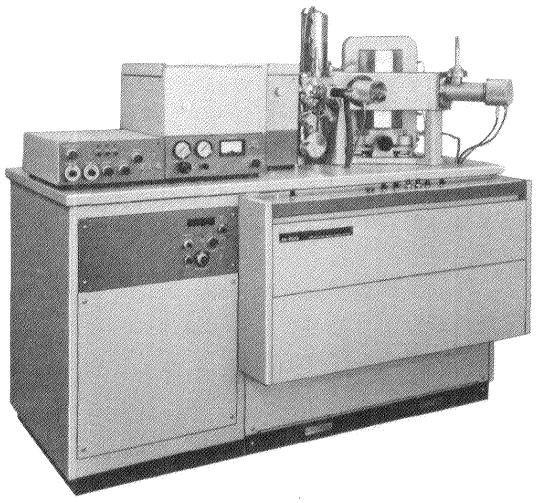
5）Koyama, M. & Obata, Y.: Agr. Biol. Chem., 30, 472(1966)

6) Koyama, M., Tsujizaki, T. & Sakamura, S.: *ibid.*, 37, No. 12 (1973)
7) Ishikawa, Y., Hasegawa, S., Kasai, T. & Obata, Y, : *ibid.*, 31, 490 (1967)
8) Kalyankar, G. D., & Snell, E. E.: Nature, 180, 1069 (1957)
9) Larsen, Olesen. P., & Kjaer, A.: Biochim. Biophys. Acta, 38, 148 (1960)
10) Sasaoka, K., Ogawa, T. & Fukuda, M.: Momoirs of the Research Institute for Food Science. Kyoto University, No. 32, 16 (1971)
11) Buchanan, D. L., Haley, E. E. & Markiw, R. T.: Biochemistry., 1, 612 (1962)
12) Fukuda, M., Ogawa, T. & Sasaoka, K.: Biochim. Biophys. Acta., 304, 363 (1973)
13) Ramponi, G., Cappugi, G. & Nassi, D.: Biochem. Biophys. Res. Commun., 41, 642 (1970)
14) Heijenoort, J. van., Bricas, E., Das, B. C., Lederer, E., et Wolstenholme, W. A.: Tetrahedron, 23, 3403 (1967)
15) Kasai, T. & Sakamura, S.: Agr. Biol. Chem., 37, 685(1973), *idem*, *ibid.*, 37, 2155(1973)
16) Buchanan, D. L., Haley, E. E., Dorer, F. E. & Corcoran, B. J.: Biochemistry, 5, 3240 (1966)
17) 長谷川静子：北海道大学農芸化学科 卒業論文 (1966)
18) Boissonnas, R. A.: Helv. Chem. Acta, 34, 874(1951); Sachs, H. & Brand, E.: J. Amer. Chem. Soc., 75, 4608 (1953)
19) Shiba, T., Yamakita, N. & Kaneko, T.: J. Inst. Polytech, Osaka City Univ., 5, series C, 144(1956)
20) 佐藤博二：北海道大学農芸化学科 修士論文 (1967)
21) 中村朝郎：日本化学雑誌, 86, 780 (1965)
22) Sheinblatt, M.: J. Amer. Chem. Soc., 88, 2845 (1966)

新製品紹介

吸着や分解のない高性能のGC/MS直結装置を装備
操作簡単で高感度をもつ本格的GC/MS装置

M-52形 日立GC質量分析計



このたび，日立では，新たにM-52形日立GC質量分析計を開発いたしました。M-52形は，直線昇温プログラマを備えたGC/MS専用のガスクロマトグラフを装備し，ルーティン分析，ならびに基礎研究の分野で要求される高感度，広い質量範囲をもつ本格的GC/MSシステムとして製作されたもので，薬学，有機化学，公害等，広い分野にご利用頂くことができます。

特　長

1．高感度の装置で，10ngできれいなスペクトルがえられます。
2．分解能は，最高M/△M 3,000(10%谷)で，GC/MSとしては充分な分解能です。
3．吸着や接触分解のない高性能GC/MS直結装置を採用しています。
4．デスクタイプで，全操作は座ったままで行うことができ，床面積は1.8 m^2のコンパクトな装置です。
5．直線昇温プログラマを備えたGC/MS専用のガスクロマトグラフを装備しています。
6．カラムは，日立製とPE製(990形用)が接続できます。
7．高速マスマーカ，バッチ形導入システム，全ガラス製加熱導入システム，データ処理装置等，豊富な付属装置を揃えています。

仕　様

■ガスクロマトグラフ

キャリアガス流路系：単式カラム，単流路，ダイヤフラム式自動調圧器，質量定流量制御
カラムオーブン：260×260×120mm 室温～350℃ 直線昇温速度：1, 2, 3, 5, 7.5, 10, 15, 20℃/min (8段切換) キャピラリカラムアダプタ，およびオンカラム注入部取付可能
GC検出器：全イオンモニタ
インタフェイスオーブン温度範囲 室温～350℃
GC/MS結合：ガラス製ジェットセパレータ，キャピラリカラム使用時は直接結合

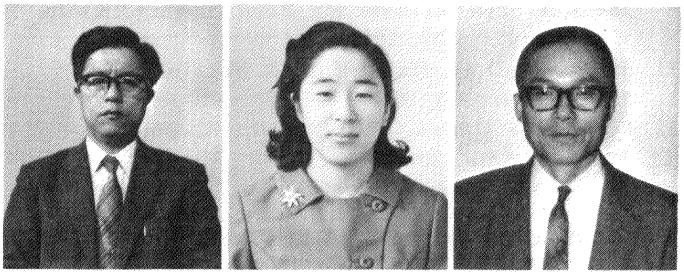
■質量分析計

質量範囲：M/e 1～500, ～750, ～1,500　3段切替
分解能：最高M/△M 3,000 (10%谷) (M/e 500レンジにて)
GC/MSの感度：分解能600 スキャン速度3 sec/mass decadeにて，メチルステアレート1×10^{-8}gを注入した時，親イオンピークのS/N比は10：1以上
直接導入時の感度：分解能600 スキャン速度3 sec/mass decadeにてコレステロールの気化速度2×10^{-10}g/secの時，分子イオンピークのS/N比は10：1以上
試料導入システム：直接試料導入装置；室温～400℃，間接導入装置；ガス溜容積0.3ℓ，全ガラス製グリースレスバルブ，温度調節範囲250℃ (Dption)，バッチ形導入装置；ガス溜容積0.5ℓ金属製，温度調節範囲；150℃ (Option)

U.D.C. 543.544.084.82－529:547.913.056

テルペン類の自動液体クロマトグラフィ

中山　充*　　平岡三津子**　　林　修一***



1．はじめに

液体クロマトグラフィは，今日，広範囲の化合物の分離および精製に利用されている。薄層クロマトグラフィやガスクロマトグラフィに比べて，この方法は古くから化学研究に利用されていたが，再現性に欠け，汎用性のある検出方法がなかったなどの理由から，さらに一層の開発が望まれていた。近年に至り，優れた充てん剤，脈動のないポンプあるいは高感度の検出器の開発などによって，自動液体クロマトグラフィさらに高速液体クロマトグラフィと変容し，急速な発展を遂げつつある。

液体クロマトグラフィは，常温における物質と固定相あるいは移動相液体との間の吸着・分配などを分離の原理としているので，不揮発性物質，高分子量物質あるいは熱に不安定な物質の分離・分析に非常に有利である。しかし，その分離は充てん剤および移動相液体の種類，流速，圧力などの因子と複雑にからみあっているので，未だ分離が予測できるほどの実験例も少なく，もちろん，体系化されているとはいえない。

天然物を取扱っているわれわれにとっては，純粋な物質の単離は構造解析以上に大きな仕事である。液体クロマトグラフィのモノおよびセスキテルペン類への適用を企図して，今回，移動相液体の種類と流速およびカラムの内径が分離に及ぼす影響とさらに定量性についても検討し，良好な成績を得たので報告する。[1)]

2．装置と試料

2.1　装　置

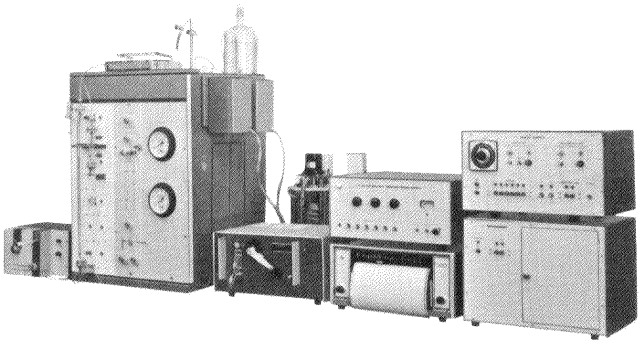
034形 日立耐薬品性汎用自動液体クロマトグラフを使用し，カラムは長さ50cmで，内径が6mmと9mmの2種類である。カラム温度は外套管に温水を流して31～35℃に保った。使用した充てん剤は日立ゲル井3010で，移動相液体はメタノールとn-ヘキサンの2種類である。また，検出器としては，LDC社製フレネル形示差屈折計および必要に応じて波長を選択できる124形 日立自記分光光度計を使用した。

2.2　試　料

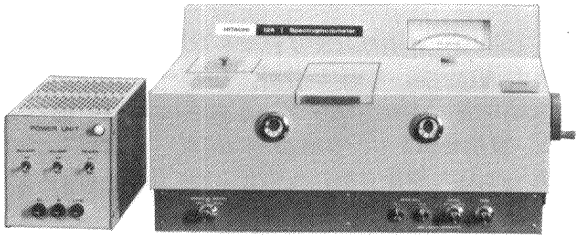
試料のテルペン類は市販品あるいは当研究室において天然から単離したものを使用し，ガスクロマトグラフィ（GLC），赤外線吸収（IR）および核磁気共鳴吸収（NMR）スペクトルの測定から単一化合物と認めた。

3．結果と考察

3.1　モノテルペン類



034形 日立耐薬品性自動液体クロマトグラフ



124形 日立ダブルビーム分光光度計

移動相液体の極性による分離の変化を検討する目的で，流速を60ml/hに固定し，メタノールおよびn-ヘキサンを使用して約30種のモノテルペン類をそれぞれ個別に測定した。その結果の一部が**表1**および**図1**，**2**である。

移動相液体に極性の大きいメタノールを使用した場合には，アルコール類（ピーク 2～9）が最初に溶出し，次いでカルボニル化合物およびエステル類（ピーク 10～13）が続き，最後に炭化水素類（ピーク 14～19）が溶出した。**図1**に見るように，同一官能基をもつ化合物類は保持時間が接近して群を形成している。この条件では，モノテルペンの混合物を官能基の種類別に分離することが可能である。

一方，n-ヘキサンを使用した場合には，炭化水素類が最も早く，カルボニル化合物およびエステル類がこれに続き，メタノールの場合に最初に溶出したアルコール類は最後であった。そのうえ，相互の保持時間がメタノールの場合に比べて短縮されたので，官能基別の分離も困難である（**図2**）。

*　広島大学理学部 助教授，理博・農博
**　広島大学理学部
***　広島大学理学部 教授，理博

表1　モノテルペン類の保持時間

No.	Compound	Solvent	
		Methanol t_R(min)	n-Hexane t_R(min)
1	Water	27.2	30.0
2	Linalool	34.6	32.9
3	Dihydrocitronellol	35.0	38.3
4	Nerol	35.4	41.5
5	*l*-Menthol	35.5	37.5
6	Isopulegol	35.8	35.5
7	Citonellol	36.0	40.4
8	Geraniol	36.2	41.5
9	Thymol	37.8	54.5
10	Camphor	44.8	36.5
11	*l*-Menthone	47.6	34.7
12	Linalyl acetate	48.0	32.6
13	Bornyl acetate	50.0	33.6
14	α-Pinene	56.0	30.1
15	β-Pinene	58.3	30.7
16	P-Cymene	59.0	32.2
17	α-Terpinene	64.4	31.0
18	β-Phellandrene	66.2	31.2
19	d-Limonene	66.8	31.1

Column: 50cm × 9mm; Hitachi. gel #3010
Flow rate: 60 ml/h, Temp.: 31.2℃
Press.: 0.8 kg/cm²(Methanol); 2.3 kg/cm²(n-Hexane)
Detector: LDC refractometer
Sample conc.: 0.01％（V/V）solution

しかし，アルコール類については，個々の保持時間がメタノールの場合よりも幾分開きを示し，なかでも芳香族のチモールについては，保持時間に極端な延長が見られた。これは，n-ヘキサンの場合に，充てん剤が芳香環に対して弱いながらも吸着現象を及ぼしているものと推定される。これに反し，メタノールの場合には，充てん剤と物質との間の吸着よりも物質と移動相液体との間の相互作用，例えば溶媒和などがより強く作用するものと推定される。

3.2　セスキテルペン類

セスキテルペン類はモノテルペン類に比べて炭素数が多いばかりでなく，炭素－炭素結合の多様性のために構造の変化に富み，熱・光などに対してモノテルペン類以上に敏感な化合物が多く，それだけに単離は容易でない。したがって，純粋な試料の入手は困難である。そこで，われわれの研究室で単離した6種のセスキテルペン類についてのメタノールによる液体クロマトグラムを示す（**図3**）。

図3に見られるように，官能基の種類による溶出順序はモノテルペン類の場合と同じであるが，溶出時間が幾合延長された。したがって，官能基別に分離することが可能である。

3.3　分離能と定量

カラムの内径と移動相液体の流速は，液体クロマトグラフィにおける分離のための重要な因子である。リナロール，チモール，α-ピネンおよびd-リモネンの混合物を調整し，内径6mmと9mmのカラムについて流速を120，60および30 ml/hと変えて，その分離を検討した。また，充てん剤量と注入量との関係についても検討した。[2] 最も優れた分離例が**図4**である。

さらに，この条件で*l*-メントール，*l*-メントン，α-ピネンおよびd-リモネンについて検量線を作成した。

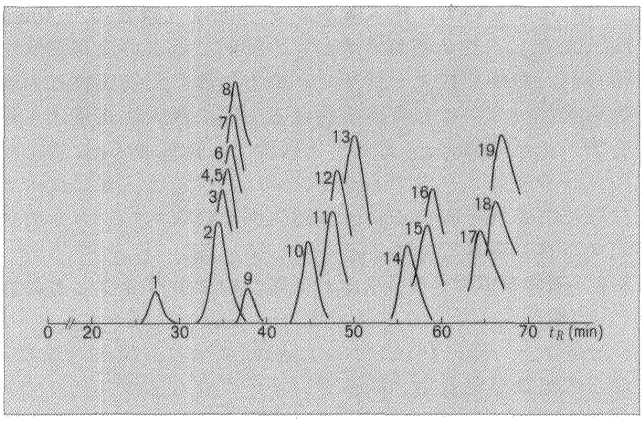


図1　メタノールによるモノテルペン類の分類

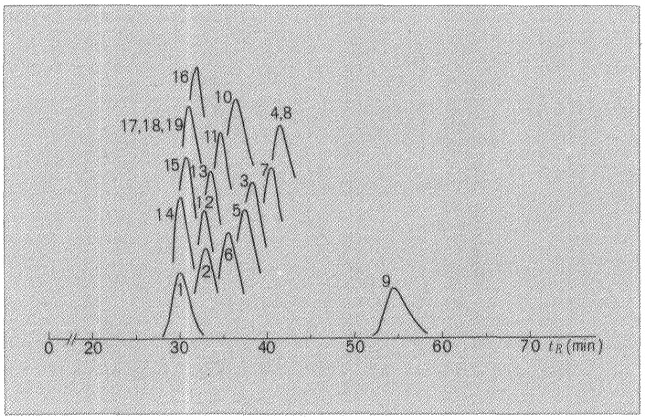


図2　n-ヘキサンによるモノテルペン類の分離

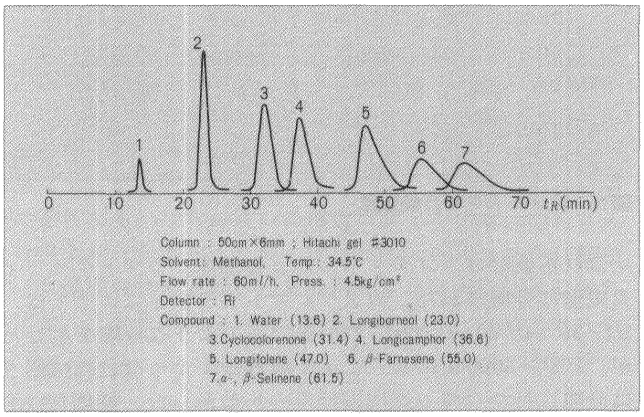


図3　メタノールによるセスキテルペン類の分離

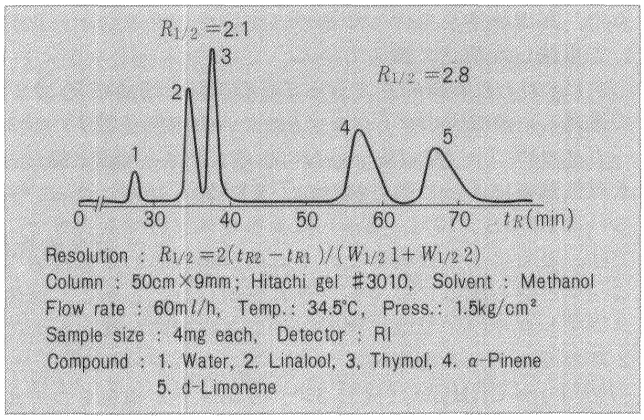


図4　モノテルペン類の液体クロマトグラム

これらにおいて，注入量が2.5～20mg（濃度 5～40mg/ml：ただし，注入容量0.5ml）の範囲ではよい直線関係が得られ，液体クロマトグラフィのもつ優れた安定性と再現性を実証した。この実験における1回の最大注入量は1化合物のあたり20mg，4種の化合物では総量80mgに達した。これは分取ガスクロマトグラフィにおける注入量に比べて，分取後の赤外吸収あるいは核磁気共鳴吸収スペクトルの測定が非常に容易であることを示している。

3.4 液体クロマトグラフィとガスクロマトグラフィとの比較

l-メントール，*l*-メントン，*α*-ピネンおよびd-リモネンから成る調整混合物の液体クロマトグラムとガスクロマトグラム（PEG-6000とSE-30）を**図6**に示す。

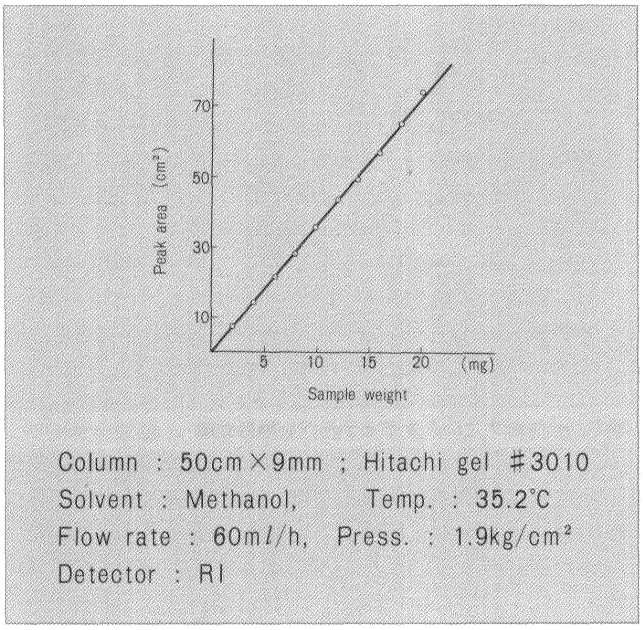


図5 ℓ-メントールの検量線

これら成分は，メタノールによる液体クロマトグラフィで完全に分離された。ガスクロマトグラフィによっては，SE-30（10%）の100℃の恒温で図のような分離を示したが，PEG-6000（10%）では昇温操作によらなければ個々に分離したクロマトグラムは得られなかった。液体クロマトグラフィは，ほぼ常温で操作ができ，分取が容易である点で，高温操作を条件とするガスクロマトグラフィと比較して卓越した利点を備えている。

次にわれわれの研究室で行っている苔類の精油研究において遭遇した液体クロマトグラフィのよい適用例を**図7**に示す。

カタウロゴケ（*Mylia taylorii*）のエタノール抽出部から水蒸気蒸留によって得た精油は，SE-30（10%，2m）あるいはDEGS（10%，2m）によるガスクロマトグラフィでは，ともに1主要成分とカラム内分解を思わせる複雑なピークとから成るクロマトグラムを示した。しかし，液体クロマトグラフィでは，図のように3成分に分離したので，2本の6mmカラムを直列につないでこれらを分取した。ピーク(1)が$C_{15}H_{24}O_2$（M^+：236）のジメチル基をもつアルコールであったのに対し，ピーク(3)は同じ$C_{15}H_{24}O_2$（M^+：236）のジメチル基をもつメチルケトンであることがわかった。[3]

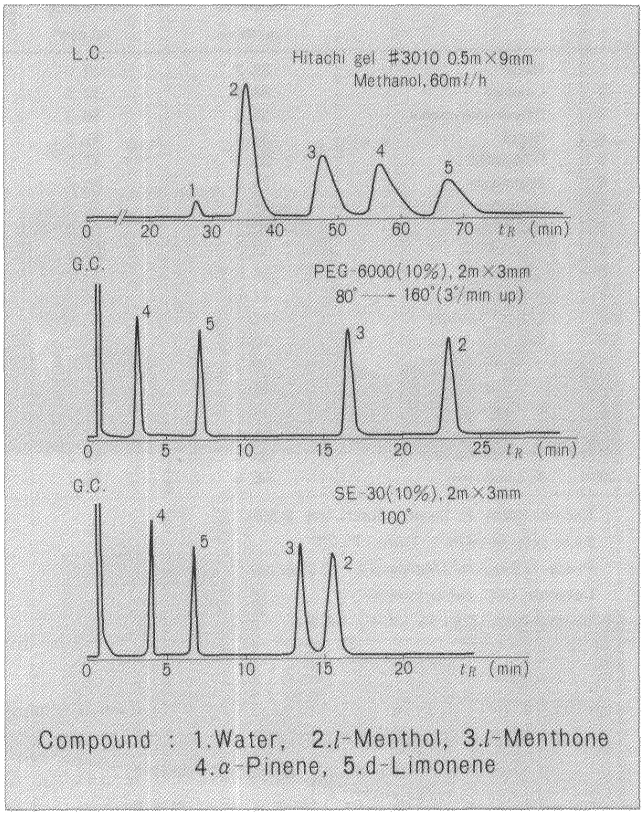


図6 液体クロマトグラムとガスクロマトグラムとの比較

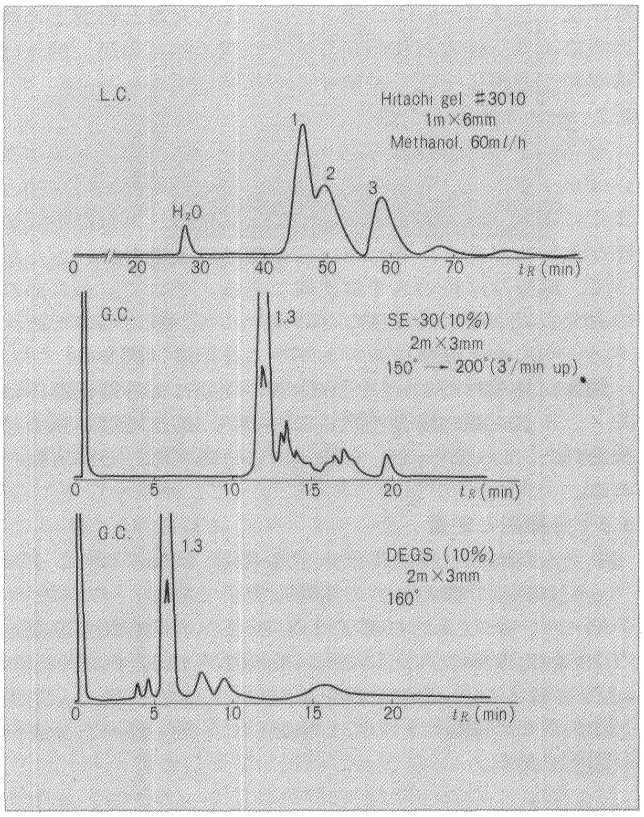


図7 カタウロコゴケのセスキテルペン

3.5　示差屈折計と紫外検出器の組合せによる分析

前節までの実験では，常に示差屈折計を検出器として使用したが，次に示差屈折計の後に紫外検出器を直列に接続し，2種の検出器の操作によって得た興味ある分析例を報告する。使用した紫外検出器は124形 日立自記分光光度計で，これにフローセル（セル容量 40μl）を取付けた。通常の液体クロマト用の紫外検出器では，波長が254mmに固定されているが，今回使用した光度計では任意の波長を設定することができる。**図8**および**9**に示差屈折計と紫外検出器によるクロマトグラフを示す。

図8は，ゲラニオール，ショウノウ，β-ピネンおよびd-リモネンの調整混合物の分析例である。**同図(a)**は示差屈折計によるクロマトグラムで，4成分がともに検出されている。(b)は波長を290nmに設定して紫外検出器で検出したクロマトグラムであり，また，(c)は220nmに設定して得たものである。290nmではショウノウのみが，また220nmではゲラニオール，β-ピネンおよびd-リモネンの3成分が検出できた。

図9は同様に，シトロネロール，ロンギボルネオール，α-とβ-イオノン，α-テルピネンおよびロンギフォーレンから成る調整混合物の分析例である。**同図(a)**は示差屈折計によるクロマトグラムで，α-とβ-イオノンが分離されていないが全成分が検出された。紫外検出器を用いた場合には，波長を265nmに設定すると共役二重結合をもつα-テルピネンとα-イオノンおよびβ-イオノン〔**図9(b)**〕，また，215nmに設定するとシトロネロール，α-イオノン，α-テルピネンおよびロンギフォーレンが検出された〔**図9(c)**〕。示差屈折計では，α-とβ-イオノンは1ピークとして検出され，混合ピークであることは検知できなかったが，紫外検出器でしかも特定波長を選択することにより，β-イオノンがα-イオノンの肩に検出され，混合物であることを示した。

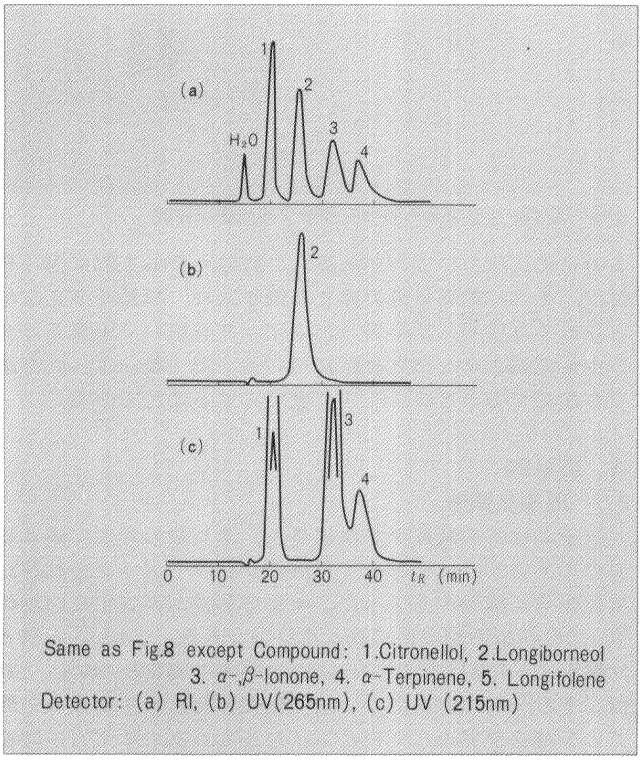


図8　示差屈折計と紫外検出器の併用によるクロマトグラム（その1）

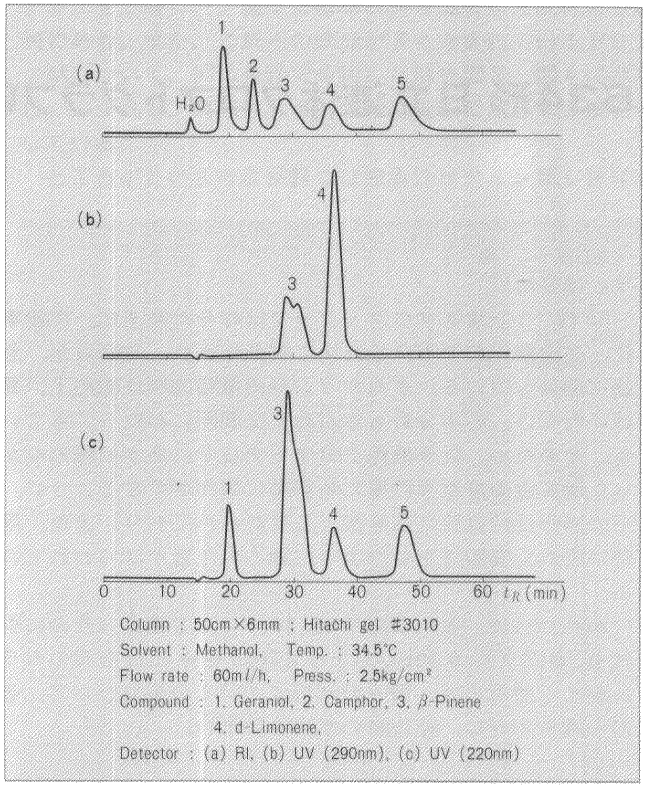


図9　示差屈折計と紫外検出器の併用によるクロマトグラム（その2）

一般に，示差屈折計は紫外検出器よりも感度が低く，また，紫外検出器では波長によって検出に差があることがわかった。しかし，示差屈折計が全成分の分離状態についての情報を得るのに優れているのに対し，紫外検出器は化合物の種類によって選択的に検出できるので，混合物中の特定成分の分析あるいはその成分の構造に関する予備的情報を入手し得る利点がある。これら両検出器の巧妙な組合せ使用は，有機混合物の定性・定量分析あるいは天然物を取扱う者にとって今後研究されなければならない一課題と考える。

4．おわりに

示差屈折計の出現によって，液体クロマトグラフィにおいて，広く化合物一般の検出が可能になった。

ポーラスポリマ充てん剤を用いて，モノおよびセスキテルペン類の分離を検討し，メタノールを移動相液体に用いることによって，共通の官能基をもつ化合物群に分離し得ることを知った。また，示差屈折計と紫外検出器の組合せ使用は，有機混合物の定性・定量分析あるいは化合物の構造予見に有利な一手法となり得ることを見いだした。

■ 参考文献

1）この報文の一部は文献[2]および“第17回香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会”（1973．10．岡山）に報告した。
2）中山　充，平岡三津子，松尾昭彦，林　修一：日化誌，1973，2314.
3）構造研究については後日発表する。

U.D.C. 543.544.084.82.004.14

634形 日立液体クロマトグラフによる応用例

藤原喜延* 岩渕 等* 浜野吉政*

1. はじめに

634形 日立液体クロマトグラフは昨今の高速化，高能率化，高分離化の要求にこたえて製品化され，発売以来，急速に伸長している。またカラム剤の飛躍的な性能向上，発達に伴ない，応用分野もきわめて広範囲にわたってきている。そのため，従来液体クロマトグラフにあまり縁のなかった研究者や分析専門家にも容易に操作ができるように，その操作性には特に気を配って設計されており，また，同時に優れた安定性をもつように細心の注意がはらわれている。

われわれは，先に本誌VOL.16, NO.4で紹介したのに引続き，日立ゲル #3010, および#3020を中心に市販のカラム剤をも使用して，種々の試料について分析したので，その一端を紹介し，使用者の便に供したい。

2. 実 験

2.1 装 置

装置は634形 日立液体クロマトグラフを用いた。これには，検出器に紫外光度計を付けたUタイプと示差屈折計を付けたRタイプの2種類があり，測定試料や測定目的によって選択できるようになっている。詳細については，本誌VOL.16, NO.1, 19(1973)を参照されたい。その流路系統図は図1のとおりである。

ポンプは往復ピストン方式で，液の吐出量はピストンのストロークを変えることによって，最高2.4ml/minまで任意に設定することができる。またポンプ内のデッドボリュームが極めて小さく，溶媒の交換が容易である。

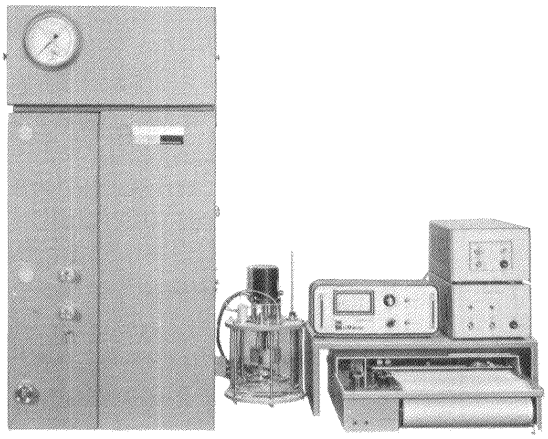
カラムは，内径2.1mmφと4mmφのステンレス製で，長さ50cm，25cmのものがある。分析によって直列に接続したり，単独で使ったりできるようなジャケットが付いているので，カラム温度を任意に設定することもできる。

試料の注入は，マイクロシリンジにより注入する方式と，試料管とバルブを組合せたサンプルインジェクタを使用する方法とで行うことができる。

2.2 充てん剤と充てん法

高速液体クロマトグラフィ用として開発され，吸着，分配クロマトグラフィに多く使われる充てん剤に日立ゲル#3010, #3020がある。カラムに充てんするには，パッカを用い，溶媒に懸濁した状態で詰めるスラリー充てん法を用いた。この場合，充てん剤の状態，懸濁される溶媒，充てん時の圧力，そしてカラム径などによって，充てん剤入りカラムとしての分離が微妙に影響されるので，充塡時，気泡などを混入せぬよう慎重に行う必要がある。

この湿式法に対して，アルミナやシリカゲルを充てんするのに乾式法というのがある。これはカラム上部に漏斗を付け，それに乾燥状態の充てん剤を入れ，振動を与えながら詰める方法で，詰め終ったらポンプを用いて溶媒でカラム中を充満させたのち分析に用いる。湿・乾いずれの方法でも注意することは，均一に充てんすることである。



634形 日立液体クロマトグラフ

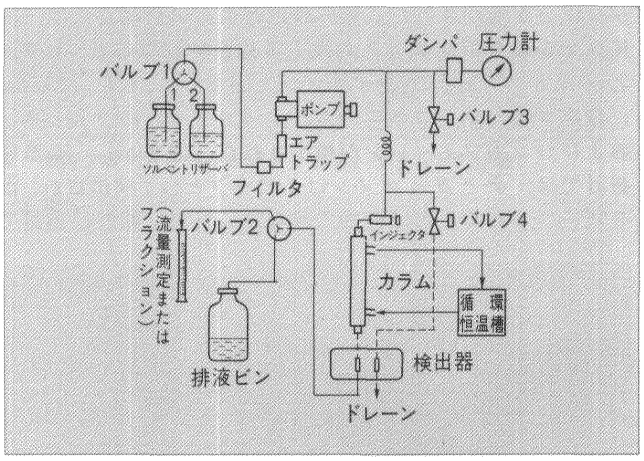


図1 634形 日立液体クロマトグラフの流路系統図

3. 応用例

3.1 医薬品関係

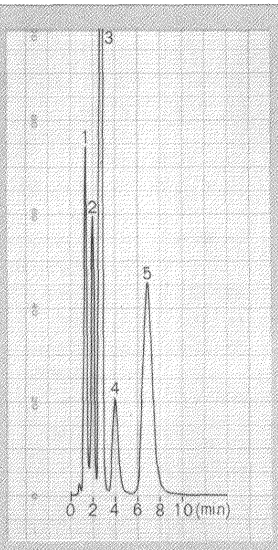
医薬品はその種類が非常に多く，また最も身近に接するものであるだけにこれまでも液体クロマトグラフを利用して分析する機会が多かった。また分析法が高速化されたので，その利用価値は更に高くなりつつある。しかし，試料と分離条件との相互関係はいまだに明確なものがない。それ故，それぞれの試料について実地に確認して，特定の分野での分離法を見出して行く方法がとられる。中でも水溶性ビタミン類については，比較的多く分析されており，それ

* (株)日立製作所 那珂工場 応用技術部

らを含有する実試料について分析した例もいくつかみられる。

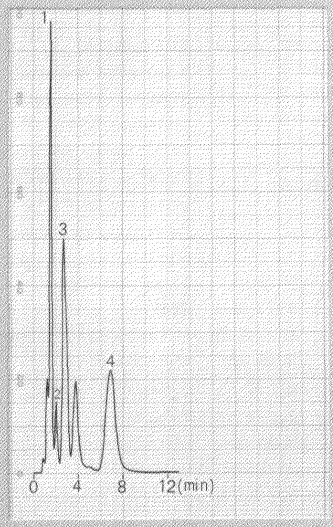
しかし，充てん剤は，主としてイオン交換樹脂を用いており，送液圧が高く，共存物質との分離，再現性などで良好なデータを得ることがむずかしい。ここでは，有機多孔質である日立ゲル＃3020を用い，水系の溶離液で水溶性ビタミンを分離した。**図2**は標準試料を混合した試料の分離例である。また，これらの成分が多く含まれているドリンク剤について，同じ条件で分析した例を**図3**～**図4**に示した。いずれも，再現性よく，比較的低圧で良好な分離を示している。

ところがこのような試料には脂溶性ビタミン類も含有さ



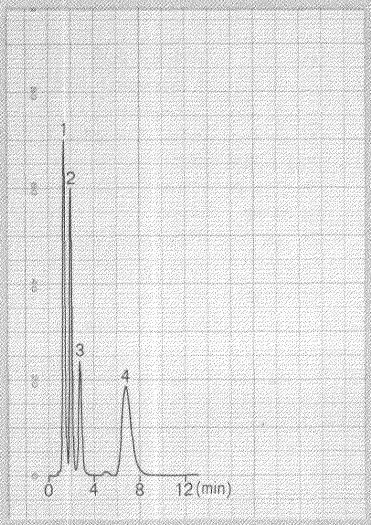
試　料　：水溶性ビタミン類混合物
1 Ribofravin phosphate,
2 Vitamin B_6,
3 Nicotinic acid amide,
4 Vitamin B_1,
5 Vitamin B_2
カラム　：2.1mm ID×500mm
カラム温度：50°C
充てん剤：HITACHI GEL ＃3020
溶離液　：0.005M KH_2PO_4
0.005M Na_2HPO_4
2.5% methyl alcohol
流速　：1.0ml/min
圧力　：35kg/cm²
検出器*：UV（254nm），0.16 AUFS

図2　水溶性ビタミン類の分析
HITACHI GEL ＃3020を使用し，水溶性ビタミン類を約8分で分析した例である。
＊ UV……紫外光度計
RI……示差屈折計
AUFS……Absorbance Unit Full Scale
RIUFS……Refractive Index Unit Full Scale（図3以降同じ）



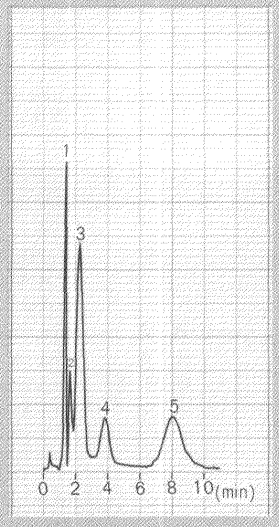
試　料　：市販品ドリンク剤 5μl
1 Ribofravin phosphate,
2 Vitamin B_6,
3 Nicotinic acid amide,
4 Vitamin B_2
測定条件：図2と同じ

図3　市販品ドリンク剤の分析（その1）
疲労回復，栄養，強壮に効能ありとして市販されているドリンク剤である。



試　料　：市販品ドリンク剤 10μl
1 Ribofravin phosphate,
2 Vitamin B_6,
3 Nicotinic acid amide,
4 Vitamin B_2
測定条件：図2と同じ

図4　市販品ドリンク剤の分析（その2）
疲労，食欲不振，二日酔などに効能ありとして市販されているドリンク剤である。



試　料　：脂溶性ビタミン類混合物
1 Caffeine,
2 (Unknown)
3 Vitamin D_2,
4 Vitamin E,
5 Vitamin A acetate
カラム　：2.1mm ID×500mm
カラム温度：50°C
充てん剤：HITACHI GEL ＃3010
溶離液　：25% hexane in methy alcohol
流速　：0.9ml/min
圧力　：17kg/cm²
検出器　：UV（254nm），0.08 AUFS

図5　脂溶性ビタミン類の分析
日立ゲル＃3010で脂溶性ビタミン類とカフェインを分離したもので，シリカゲルによる分離よりも安定した分析結果が得られる。

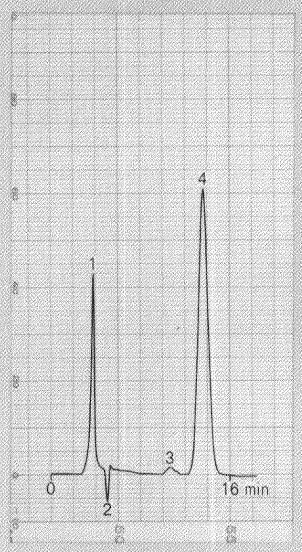
れているので，これらの成分を対象とした分析条件を選択し測定する必要がある。**図5**はその例で，これは日立ゲル＃3010を使用した。有機多孔質ゲルである日立ゲル＃3010では従来用いられていたシリカゲルなどと違って極めて再現性よく測定することができる。一方，UV吸収をもたない成分を分析する場合には屈折計を使用して測定すればよいが，**図6**にその一例を示した。この他，**図7～8**にはうがい液を日立ゲル＃3010で分析した例を示した。

3.2 化学工業関係

従来この分野で液体クロマトグラフが分析に使用されている例は少ない。しかし，高速液体クロマトグラフが発表されて以来，種々異性体などの分離が試みられている。それらは製造原料であったり，有機合成中間体であったり，広範囲におよぶ。これらははじめて分析される例も多く，今回

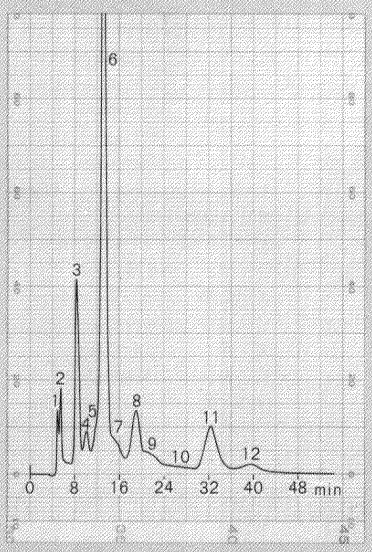
試　料　：標準品混合物
1 Glucuronic acid,
2 Taurine
カ ラ ム　：2.1mm ID×500mm
カラム温度：50℃
充 て ん 剤：HITACHI GEL ＃3020
溶 離 液　：Water
流　速　：0.7ml/min
圧　力　：40kg/cm²
検 出 器　：RI, ×4

図6　グルクロン酸とタウリンの分離
ドリンク剤中に含有されている2成分に注目し，検出器に屈折計を用いた。



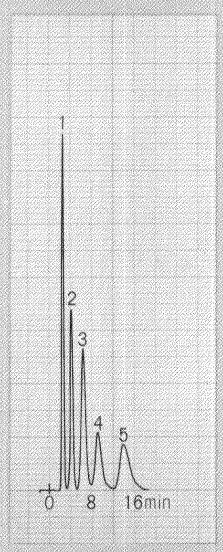
試　料　：含嗽(うがい)液
カ ラ ム　：2.1mm
ID×1,000mm
カラム温度：50℃
充 て ん 剤：HITACHI GEL
＃3010
溶 離 液　：7.5% water in
methyl alcohol
流　速　：1.0ml/min
圧　力　：40kg/cm²
検 出 器　：UV (254nm),
0.08 AUFS

図8　うがい液の分析（その2）
市販のうがい液を分析した例で，4個以上の成分が認められる。なお，2の部分は蛍光を発する成分があって，ペンが逆に振れていると考えられる。



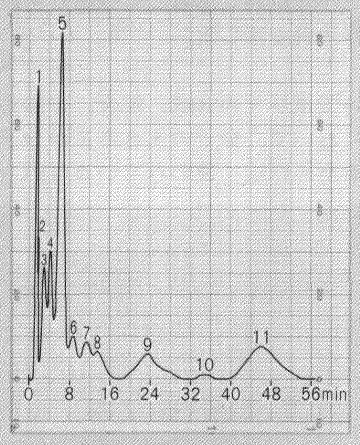
試　料　：含嗽（うがい）液
カ ラ ム　：2.1mm ID
×1,500mm
カラム温度：50℃
充 て ん 剤：HITACHI
GEL
＃3010
溶 離 液　：5% Water
in methyl
alcohol
流　速　：0.64ml/min
圧　力　：50kg/cm²
検 出 器　：UV(254nm),
0.64 AUFS

図7　うがい液の分析（その1）
日立ゲル＃3010で市販のうがい液を分析したもので，少くとも12成分が認められた。



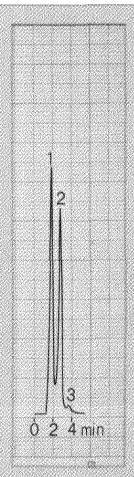
試　料　：標準品混合物
1 Dimethyl phthalate
(DMP), 2 Dibutyl
phthalate(DBP), 3
Butyl benzyl phthalate
(BBP), 4 Di iso-Octyl
phthalate(DOP), 5
Di n-Octyl phthalate
(DnOP)
カ ラ ム　：2.1mm ID×500mm
カラム温度：室温
充 て ん 剤：HITACHI GEL ＃3010
溶 離 液　：Methyl alcohol
流　速　：0.8ml/min
圧　力　：20kg/cm²
検 出 器　：UV (254nm),
0.16 AUFS

図9　フタル酸エステルの分析
プラスチックの可塑剤として広く使われている5成分をわずか16分で分析した例である。



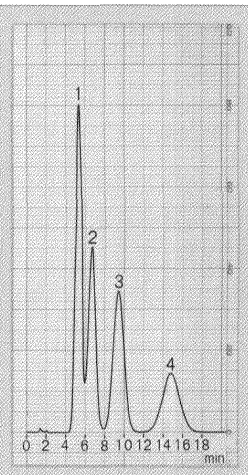
試　料　：ポリスチレンのメタノール抽出物
カラム　：4mm ID×500mm
カラム温度：室温
充てん剤：HITACHI GEL #3010
溶離液　：1% $N(CH_2CH_3)_3$
1% water
98% methyl alcohol
流　速　：2.2ml/min
圧　力　：15kg/cm²
検出器　：UV(254nm), 0.16 AUFS

図10　ポリスチレン添加物の分析
ポリスチレンをメチルエチルケトンに溶解し，メタノールでポリマ析出後上澄液を乾固し，残査をメタノールに溶解して測定したもので，11個以上のピークが認められる。



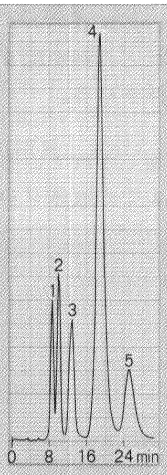
試　料　：標準品混合物
1 Phthalic acid, 2 Benzoic acid, 3 (Unknown)
カラム　：2.1mm ID×500mm
カラム温度：50℃
充てん剤：HITACHI GEL #3010
溶離液　：Ethyl alcohol
流　速　：0.5ml/min
圧　力　：12kg/cm²
検出器　：UV (254nm), 0.08 AUFS

図11　フタル酸と安息香酸の分析



試　料　：標準品混合物
1 n-Methyl p-hydroxy benzoate, 2 n-Ethyl p-hydroxy benzoate, 3 n-Propyl p-hydroxy benzoate, 4 n-Butyl p-hydroxy benzoate
カラム　：2.1mm ID×500mm
カラム温度：室温
充てん剤：HITACHI GEL #3010
溶離液　：20% water in methyl alcohol
流　速　：0.8ml/min
圧　力　：23kg/cm²
検出器　：UV (254nm), 0.08 AUFS

図12　パラオキシ安息香酸エステルの分析
日立ゲル#3010で，パラオキシ安息香酸のメチルエステルからブチルエステルまでを分離した例である。

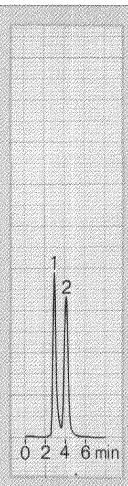


試　料　：標準品混合物
1 (Unknown)
2 (Unknown)
3 Cinnamic acid,
4 p-Nitrocinnamic acid,
5 p-Azidocinnamic acid
カラム　：2.1mm ID×1,000mm
カラム温度：室温
充てん剤：HITACHI GEL #3010
溶離液　：30% water in methyl alcohol
0.5% CH_3COOH
$N(C_2H_5)_3$ trace
流　速　：1.5ml/min
圧　力　：85kg/cm²
検出器　：UV (254nm), 0.16 AUFS

図13　桂皮酸誘導体の分析
感光性樹脂原料などに使用される類似した3種の酸を分離した例である。

試　料　：標準混合物
1 (Unknown)
2 (Unknown)
3 p-Aminophenol,
4 m-Aminophenol,
5 o-Aminophenol
カラム　：2.1mm ID×1,000mm
カラム温度：64℃
充てん剤：HITACHI Custom Ion-Exchange Resin #2612
溶離液　：0.2M KH_2PO_4
20% ethyl alcohol
流　速　：0.7ml/min
圧　力　：78kg/cm²
検出器　：UV (254nm), 0.08 AUFS

図14　アミノフェノールの分析
染料中間体として広く使用されているアミノフェノール類をイオン交換樹脂で分析した例である。



試　料　：標準混合物
1 α-Naphthol,
2 β-Naphthol
カラム　：2.1mm ID×500mm
カラム温度：50℃
充てん剤：HITACHI GEL #3010
溶離液　：Methyl alcohol
流　速　：0.7ml/min
圧　力　：10kg/cm²
検出器　：UV (254nm), 0.08 AUFS

図15　α-, β-ナフトールの分析
日立ゲル#3010で，短時間にα-, β-ナフトールを分離した例である。

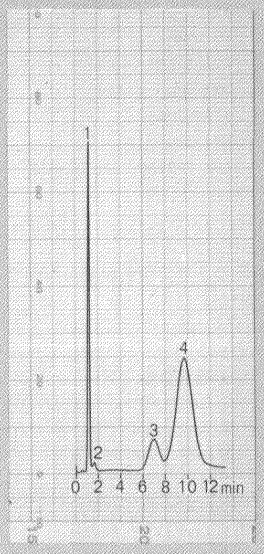
の実験では特にこれまで分離がむずかしいとされていた誘導体や異性体の分離に重点をおいた。それらの例を**図9～19**に示したが，今後ますますの活用が期待される。

3.3 食品関係

食品の中にも各種添加物が入れられ，加工されているがそれらの成分検定，量の検定など，これまでの液体クロマトグラフではむずかしかった試料でも幅広く分析が可能である。**図20～21**に着色料の例を示した。

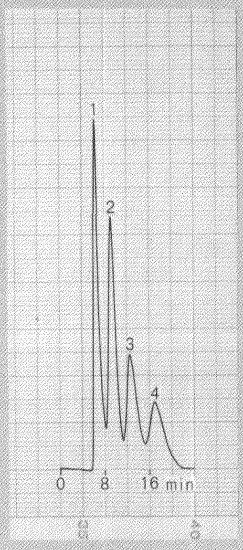
3.4 高分子関係

近年高分子関係においてポリマの合成，配合，分解の工程，または製品の検査において，分子の大きさとか分子量分布の諸問題を解決するために広く使われているGPC（ゲ



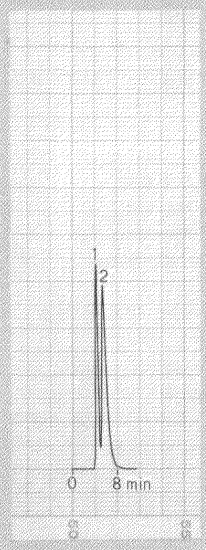
試　料　：標準品混合物
1 Hydroquinone, 2 (Unknown) 3 Anthraquinone, 4 z-Ethyl anthraquinone
カラム　：2.1mm ID×1,000mm
カラム温度：42°C
充てん剤：HITACHI GEL #3010
溶離液　：Methyl alcohol
流速　：2.1ml/min
圧力　：63kg/cm²
検出器　：UV（254nm），0.08 AUFS

図16　キノン類の分析
染料中間体として広く使用されているキノン類を日立ゲル#3010で分析した例である。



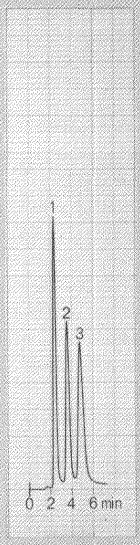
試　料　：標準品混合物
1 2-Naphthol-6-sulfonic acid（Schaffer's acid），2 2-Naphthol-3, 6-disulfonic acid（R-acid），3 2-Naphthol-6, 8-disulfonic acid（G-acid），4 2-Naphthol-3, 6, 8-trisulfonic acid（T-acid）
カラム　：2.1mm ID×2,000mm
カラム温度：50°C
充てん剤：Vydac AX
溶離液　：0.03M $NaClO_4$
流速　：1.1ml/min
圧力　：80kg/cm²
検出器　：UV（254nm），0.04 AUFS

図18　ナフタレンスルフォン酸の分析
染料工業で関係深いナフタレンスルフォン酸類をイオン交換樹脂で分析した例である。



試　料　：標準品混合物
1 Naphthalene-2, 6-disulfonic acid, 2 Naphthalene-2, 7-disultonic acid
カラム　：2.1mm ID×2,000mm
カラム温度：50°C
充てん剤　：Vydac AX
溶離液　：0.03M $NaClO_4$
流速　：1.2ml/min
圧力　：85kg/cm²
検出器　：UV（254nm），0.08 AUFS

図17　ナフタレンジスルフォン酸の分析
構造の似かよった2種の異性体を分離した例である。



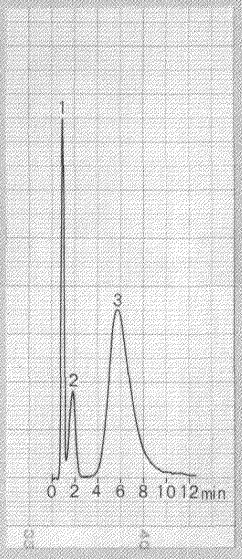
試　料　：標準品混合物
1 o-Toluidine, 2 m-Toluidine, 3 p-Toluidine
カラム　：2.1mm ID×500mm
カラム温度：室温
充てん剤：HS-Pellumina
溶離液　：20% chloroform in iso-octane
流速　：1.0ml/min
圧力　：10kg/cm²
検出器　：UV（254nm），0.16 AUFS

図19　トルイジン異性体の分析
染料中間体として重要なトルイジン異性体の分離を行った例である。

ル浸透クロマトグラフィ）も，高速液体クロマトグラフを用いて行うと極わめて有効なことが多い。**図22～23**にその例を示した。

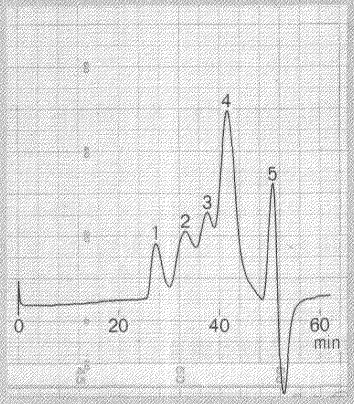
4 あとがき

本稿は，634形 日立液体クロマトグラフでの応用例の一部を紹介したにすぎないが，最近の高速液体クロマトグラフの進歩の状況から見てますます応用範囲が拡大し，充てん剤の開発と並行して分析対象の広がることが予想される。



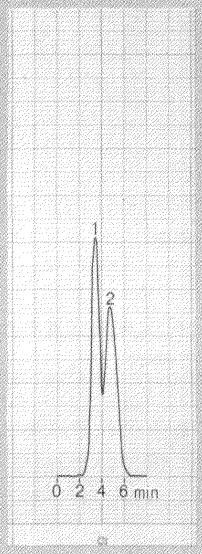
試　料　：標準品混合物
1 Tartrazine（略号 Y-4），
2 Amaranth（略号 R-2），
3 Sunset Yellow FCF（略号 Y-5）
カラム　：2.1mm ID×500mm
カラム温度：51℃
充てん剤：HITACHI GEL #3020
溶離液　：0.1M Na_2HPO_4
流　速　：1.9ml/min
圧　力　：35kg/cm²
検出器　：UV（254nm），0.32 AUFS

図20　色素類の分析（その1）
供試試料はいずれも食品添加物である。Y-4，Y-5は黄色色素，R-2は赤色色素であるが，色素の中で構造的に類似したものを分析した例である。



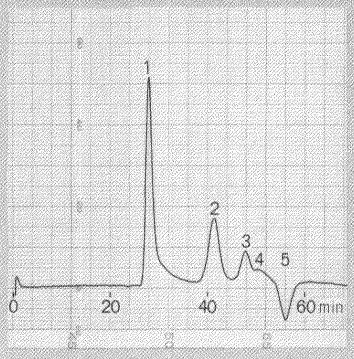
試　料　：標準品混合物
1 Polystyrene（MW 19800），
2 Polystyrene（MW 4800），
3 Polystyrene（MW 1000），
4 Polystyrene（MW 400），
5 Benzene
カラム　：4mm ID×2,500mm
カラム温度：室温
充てん剤：HITACHI GEL #3010
溶離液　：Tetrahydrofuran
流　速　：0.6ml/min
圧　力　：15kg/cm²
検出器　：RI，2×10^{-5} RIUFS

図22　GPCによる分析
日立ゲル#3010で，溶媒にTHFを使い，ポリスチレンの分析を行った例である。



試　料　：標準品混合物
1 Amaranth（略号 R-2），
2 New coccine（略号 R-102）
カラム　：2.1mm ID×500mm
カラム温度：51℃
充てん剤：HITACHI GEL #3020
溶離液　：0.1M Na_2HPO_4
流　速　：0.9ml/min
圧　力　：20kg/cm²
検出器　：UV（254nm），0.16 AUFS

図21　色素類の分析（その2）
構造の似かよった赤色色素2種を分析した例である。



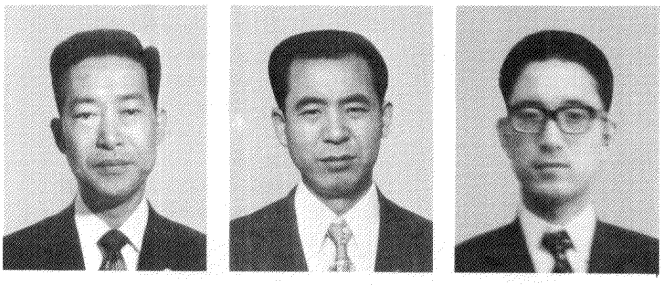
試　料　：市販品ポリマー
カラム　：4mm ID×2,500mm
カラム温度：室温
充てん剤：HITACHI GEL #3010
溶離液　：Tetrahydrofuran
流　速　：0.6ml/min
圧　力　：15kg/cm²
検出器　：RI，2×10^{-5} RIUFS

図23　市販品ポリマの分析
市販のポリマをGPCで分析した例で，5個のピークが認められた。

U.D.C. 543.422.5/.6:546-123]:666.76

原子吸光分析法の耐火物への応用(II)

蔵本辰夫* 岡村俊策* 野村高照*



508形 日立原子吸光分光光度計

3.3 Alについての検討

Al_2O_3の微量分析のレンガは，主として，ケイ石質，マグネシア質であるため，Fe，Ca，Mg，Kの影響について検討した。

3.3.1 共存元素によるAlへの影響

(1) Al 20ppmの基準液に，Fe，Ca，Mg，Kを**図9**のとおり含有量を変えて検液を作り，各元素を添加しない検液との吸光度を比較測定した結果，Mg，Kが共存元素として影響することがわかった。

3.3.2 Mg，KがAlに影響する限界調査

(1) **図9**の含有量を1/10に分取して吸光度を測定した結果，**図10**のとおり，Mg：4%，K：0.4%まで共存元素として影響しないことがわかった。

3.3.3

3.3.2の実験から，Al 20ppmの基準液にFe:0.5%，Ca：0.4%，Mg：4%，K：0.4%を含有した検液を作り，各元素を含有しない検液との吸光度を比較測定した結果，**図11**のとおり，Alはこれらの諸元素は影響しないことがわかった。

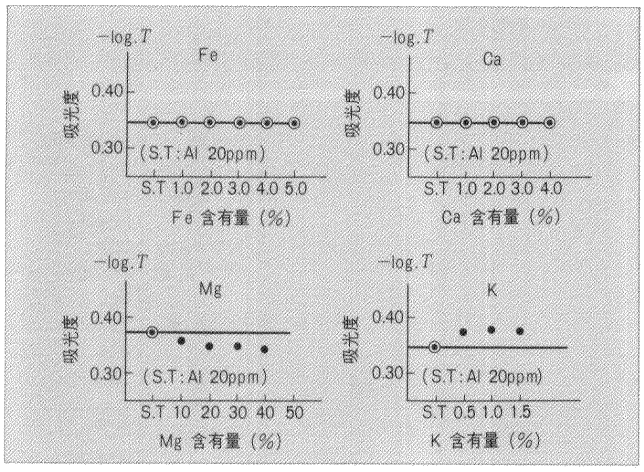


図9 共存元素によるAlへの影響

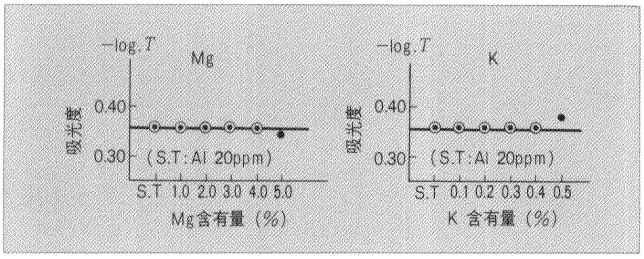


図10 Mg，KがAlに影響する限界調査

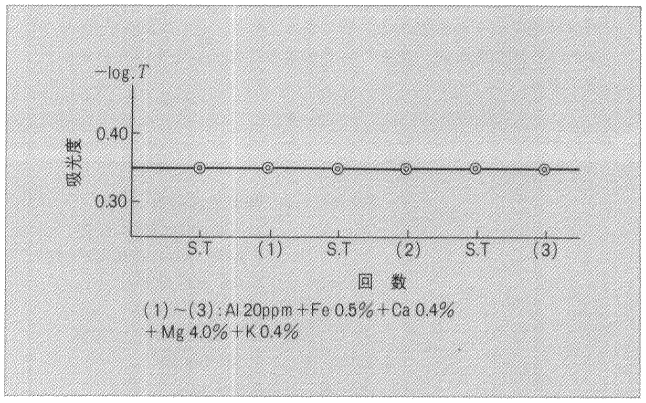


図11 Fe，Ca，Mg，Kの共存によるAlへの影響

3.4 Cr_2O_3についての検討

耐火物中に含まれる微量Cr_2O_3の分析法を確立するため，Al，Fe，Mn，Ca，Mgの影響について検討した。

3.4.1 添加試薬の影響について

(1) Cr 2ppmの基準液中に，添加試薬をそれぞれ加えて検液を作り，吸光度を測定した結果，**図12**のとおり，塩酸，ピロ硫酸カリウム，炭酸ナトリウムが，共存剤として影響することがわかった。

(2) Cr 2ppmの基準液中に，HCl，$K_2S_2O_7$，Na_2CO_3，を含有した検液を作り，吸光度を測定した結果，**図13**のとおり，HCl 4 ml（検液中）までは影響しないことがわかった。

(3) 以上の結果から，検量線は，**図14**のとおり，Crの基準液中に試薬を添加した状態で作成することにした。

* 新日本製鉄(株)設備技術センター 熱技術部

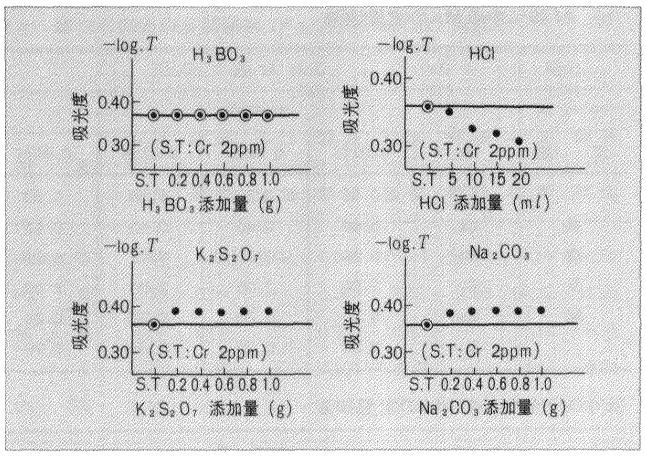


図12　添加試薬によるCrへの影響

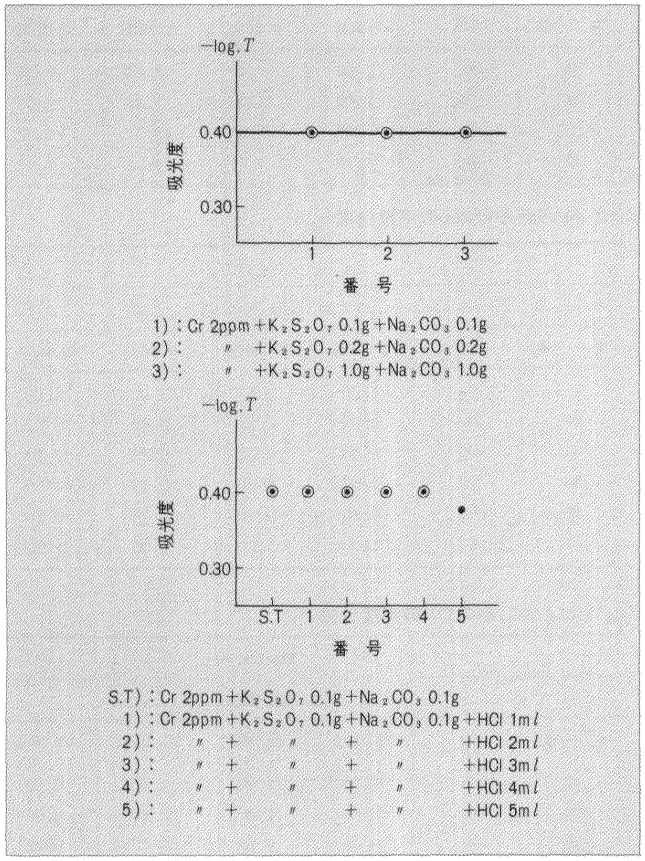


図13　HClと$K_2S_2O_7$とNa_2CO_3の関係

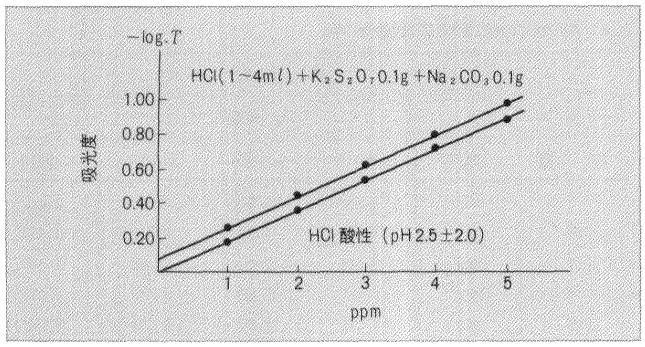


図14　検量線の作成

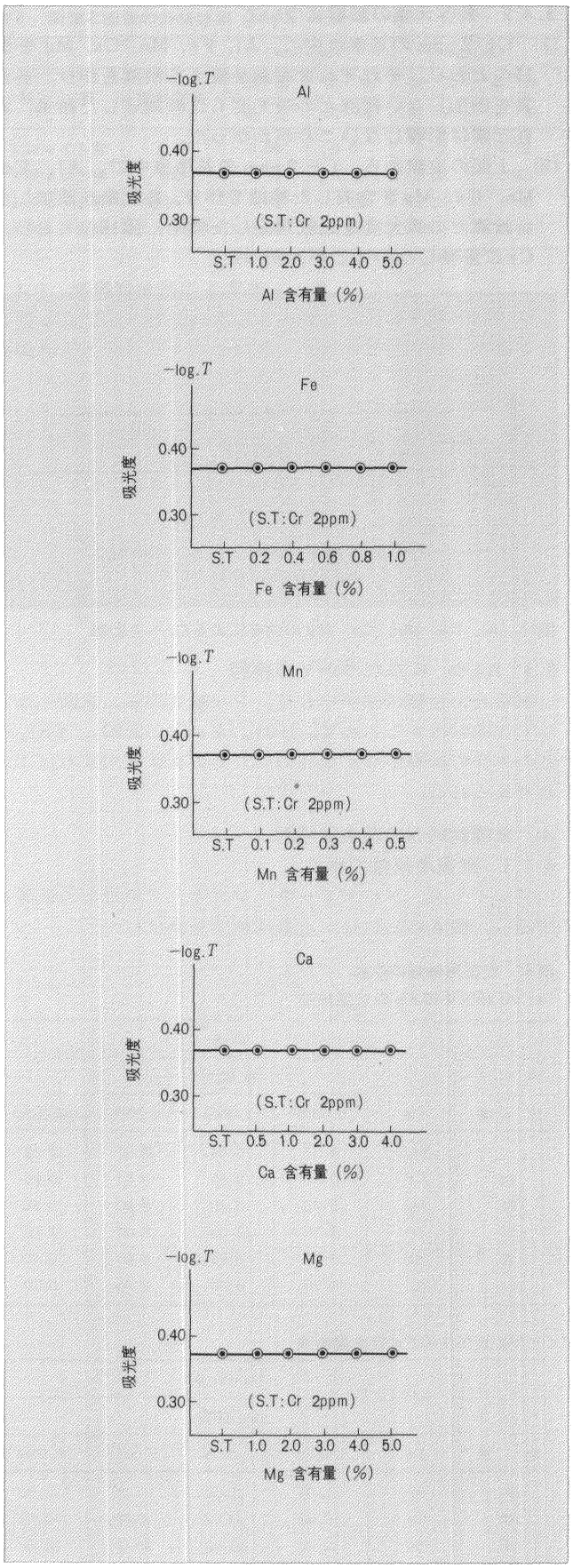


図15　共存元素によるCrへの影響

3.4.2 共存元素の影響について

(1) Cr 2 ppmの基準液中に，Al，Fe，Mn，Ca，Mgを図15のとおり，それぞれ含有量を変えて検液を作り，各元素を添加しない検液との吸光度も比較測定した結果，共存元素は影響しないことがわかった。

(2) 上記の実験から，Cr 2 ppmの基準液中に，Al，Fe，Mn，Ca，Mgを含有した検液を作り，各元素を添加しない検液との吸光度を比較測定した結果，図16のとおり，Crに影響しないことがわかった。

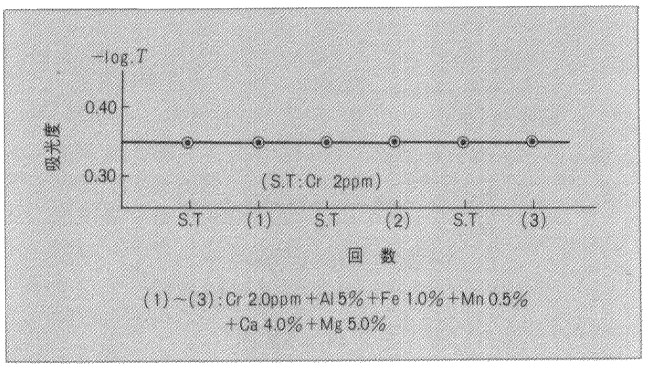


図16 Al，Fe，Mn，Ca，Mgの共存によるCrへの影響

3.5 Na_2O，K_2Oについての検討

試料を白金皿にはかりとり，フッ酸処理後，水酸化物として沈殿除去することで，SiO_2，Fe_2O_3，AlO_3，TiO_2などの共存の影響がなくなるので，そのまま適用すればよいと考えられる。

4．実際試料への適用性検討

4.1.1 定量用検液の作成

アルミナ系，ドロマイト系，マグネシア系などの試料を想定し，表4のとおり，定量用検液を作成した。

表4 定量用検液の作成

(a) Al 80%中のFeの定量検液

	Al 系				
ベース	Al 80%				
定量	Fe	0.50%	1.00%	1.50%	2.00%
共存元素	Mn	0.02	0.02	0.02	0.02
	Ca	0.40	0.40	0.40	0.40
	Mg	0.20	0.20	0.20	0.20
	Ti	2.00	2.00	2.00	2.00
	Na	0.20	0.20	0.20	0.20
	K	0.20	0.20	0.20	0.20

(a′) Mg 50%中のFeの定量検液

	Mg-Ca 系				
ベース	Mg 50%				
定量	Fe	1.00%	2.00%	3.00%	4.00%
共存元素	Al	1.00	1.00	1.00	1.00
	Mn	0.02	0.02	0.02	0.02
	Ca	30.00	30.00	30.00	30.00
	B	0.10	0.10	0.10	0.10

(b) Al 80%中のMnの定量検液

	Al 系				
ベース	Al 80%				
定量	Mn	0.01%	0.02%	0.03%	0.04%
共存元素	Fe	0.50	0.50	0.50	0.50
	Ca	0.40	0.40	0.40	0.40
	Mg	0.20	0.20	0.20	0.20
	Ti	2.00	2.00	2.00	2.00
	Na	0.20	0.20	0.20	0.20
	K	0.20	0.20	0.20	0.20

(b′) Mg 50%中のMnの定量検液

	Mg-Ca 系				
ベース	Mg 50%				
定量	Mn	0.02%	0.04%	0.06%	0.08%
共存元素	Al	1.00	1.00	1.00	1.00
	Fe	2.00	2.00	2.00	2.00
	Ca	30.00	30.00	30.00	30.00
	B	0.10	0.10	0.10	0.10

(c) Al 20%中のCaの定量検液

	Al 系				
ベース	Al 20%				
定量	Ca	0.10%	0.20%	0.30%	0.40%
共存元素	Fe	1.50	1.50	1.50	1.50
	Mn	0.02	0.02	0.02	0.02
	Mg	0.20	0.20	0.20	0.20
	Ti	0.50	0.50	0.50	0.50
	Na	0.20	0.20	0.20	0.20
	K	1.00	1.00	1.00	1.00

(c′) Mg 50%中のCaの定量検液

	Mg-Ca 系				
ベース	Mg-50%				
定量	Ca	10.00%	20.00%	30.00%	40.00%
共存元素	Al	1.00	1.00	1.00	1.00
	Fe	2.00	2.00	2.00	2.00
	Mn	0.02	0.02	0.02	0.02
	B	0.10	0.10	0.10	0.10

(d) Al 80%中のMgの定量検液

	Al 系				
ベース	Al 80%				
定量	Mg	0.20%	0.30%	0.40%	0.50%
共存元素	Fe	0.50	0.50	0.50	0.50
	Mn	0.02	0.02	0.02	0.02
	Ca	0.40	0.40	0.40	0.40
	Ti	2.00	2.00	2.00	2.00
	Na	0.20	0.20	0.20	0.20
	K	0.20	0.20	0.20	0.20

表5　新法と旧法の分析結果（Fe_2O_3, MnO, CaO, MgO）

材質	Fe_2O_3 (%)		MnO (%)		CaO (%)		MgO (%)	
	旧法	新法	旧法	新法	旧法	新法	旧法	新法
	比色	原吸	比色	原吸	容量	原吸	容量	原吸
Mg-Ca 質	1.43	1.33	0.02	0.042	24.24	25.00	67.69	66.00
Mg 質	0.10	0.09	tr	0.007	2.56	2.80	96.12	96.25
粘土質	0.54	0.50	〃	0.012	0.17	—	0.16	0.15
〃	0.78	0.75	〃	0.020	0.17	—	0.44	0.28
Mg 質	0.08	0.08	〃	0.003	1.22	1.40	94.37	95.00

表6　新法と旧法の分析結果（Na_2O, K_2O）

材質	試料符号	Na_2O (%)		K_2O (%)	
		旧法	新法	旧法	新法
		炎光	原吸	炎光	原吸
ドロマイト質	D-2	0.09	0.07	0.02	0.02
マグネシア質	140	0.10	0.10	0.02	0.03
シャモット質	SCK-4	0.58	0.65	1.59	1.68
マグ・クロ質	H-13	0.06	0.08	0.01	0.02

4.1.2　定量用検液によるチェック

表4の定量用検液に基づき各種元素の吸光度を測定し，検量線上にプロットした結果，**図17**のとおり良好であり，分析法として十分見とおしがついた。

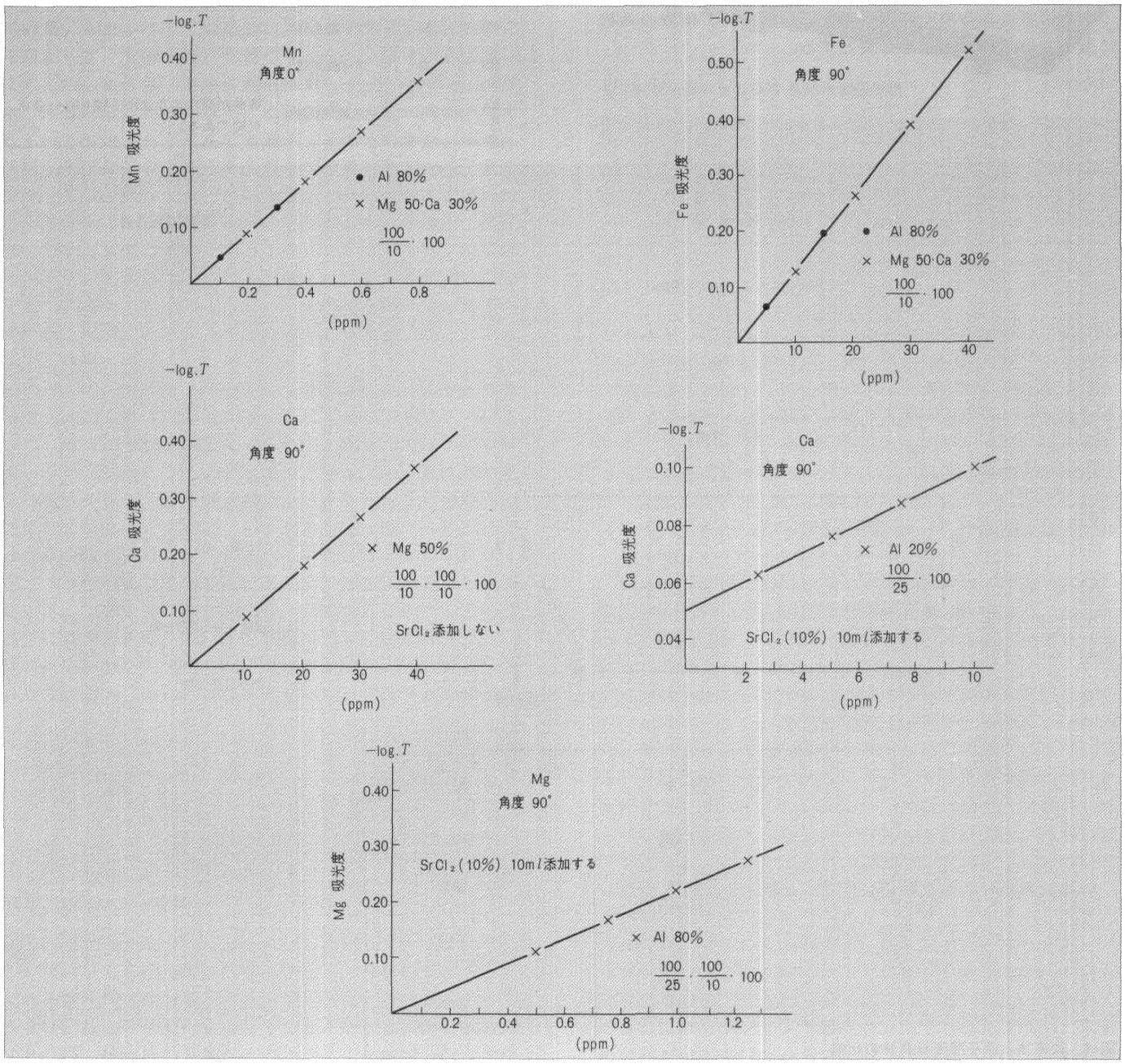


図17　定量用検液によるチェック

4.2 実際試料によるチェック

アルミナ質，ドロマイト質，マグネシア質の試料について，Fe_2O_3，MnO，CaO，MgO，Na_2O，K_2O を分析して旧法の分析法と比較した結果，**表5**，**6**のとおり良好な成績を得た。

5．まとめ

以上の諸結果をまとめると，次のとおりである。

5.1 Ca，Mg，Al，Cr，Fe，Mn，Na，K の原子吸光分析は，**表7**の手法により分析可能である。

5.2 原子吸光分析法の採用により，**図18**に示すように作業工程が短縮され，能率が向上する。(処理時間 1/3)。

5.3 微量含有成分については，精度が向上した。

5.4 問題点

希釈倍率による誤差要因が考えられるので，検液の希釈に当っては，特に注意を必要とする。

表7 妨害元素とその対策

元素名	妨害元素	対策 (1)	対策 (2)
Ca	高 Al Cr	沈殿分離	$SrCl_2$ 10ml 添加すると，Al 5%，Mg 8%（検液中）以下，マスク可能。 Mg 3%以下は，$SrCl_2$ 無添加でも分析可能である。
Mg	高 Al	沈殿分離	$SrCl_2$ 10ml 添加すると，Al 4%まで（検液中）分析可能である。
Al	Mg K	希釈法	Mg 4%，K 0.4%（検液中）までは影響がない。
Cr	HCl 濃度	希釈法	検量線は，Cr 標準液中に HCl(4ml 以下)，$K_2S_2O_7$(1.0g 以下)，Na_2CO_3(1.0 以下）を含む状態で作成する。
Fe	Si	フッ酸処理	——
Mn	Si	フッ酸処理	——
Na K	——	沈殿分離	事前処理により沈殿分離を行い分析可能である。

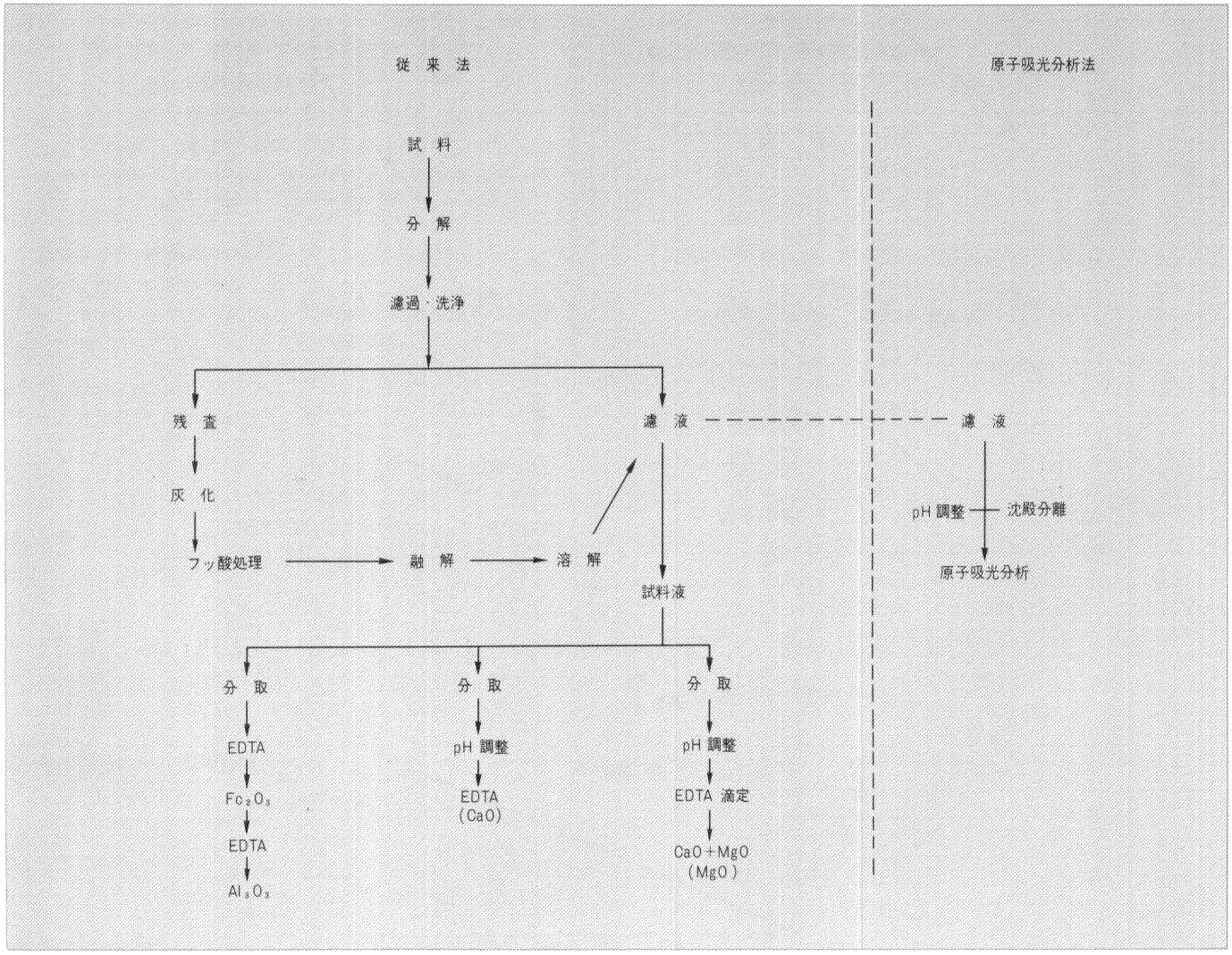


図18 従来法と原子吸光分析法の比較

注）ただし，アルカリ元素の処理時間は，変らない。

U.D.C. 543.422.6.:537.632.5]:546.49.064

501形 日立ゼーマン原子吸光水銀分析計について

小泉英明* 関貴和夫* 水野　智* 内野興一*

1. はじめに

水銀の毒性は実例を引くまでもなくあまりにも著名であり，その汚染に対しては当然厳しい規制が行われている。一方，クラーク数によれば，水銀は地球表面の構成元素のうち65番目(0.2ppm)であり，微量成分に属するが自然界に広く分布するとともに地域的変動の大きいことも知られている。したがって，人為的な汚染が予想されるか否かにかかわらず，水銀分析が必要になるケースはきわめて多い。このため，魚介類（厚生省暫定規準），あるいは排水，河川水（水質汚濁防止法）など，水銀濃度の測定が義務づけられているものはもちろんであるが，その他の食品，土壌，燃料，化学製品などあらゆるものが分析対象となる。また，究極的には人体にどれだけの水銀がとり込まれ，蓄積されたかが問題になるわけであり，毛髪やつめ，尿など生体試料の分析も非常に重要である。そして多くの場合，分析結果が早急に必要になっている。例えば，魚介類の場合には結果が出るまで出荷できないし，労働衛生関係では健康にかかわる問題であるから早ければ早いほどよいことはいうまでもない。

従来，水銀はJIS K 0102などで指定している還元気化循環法，あるいは加熱気化吸引法によって分析されている。いずれの方法も原子吸光法であるが，測定に先だって試料をいったん無機化する必要がある。すなわち，魚介類や毛髪は湿式灰化して無機物水溶液とし，排水なども有機物が含まれていることが多いため，過マンガン酸カリウムによる酸化分解を行う。還元気化法の場合はこのまま測定するが，加熱気化吸引法の場合はさらに有機溶媒に抽出して測定する。加熱気化吸引法の場合，JISなど公的なものにはあまり採用されていないが，脂肪分の少ない試料については試料を加熱して発生したガスを硫酸酸性の過マンガン酸カリウム溶液に通し，水銀を捕集してこの溶液から水銀を

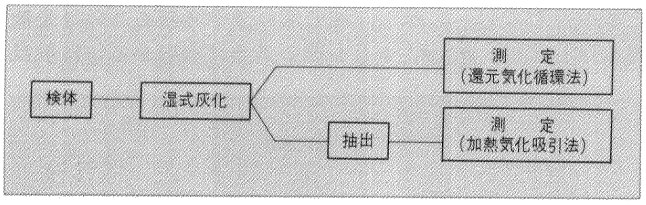
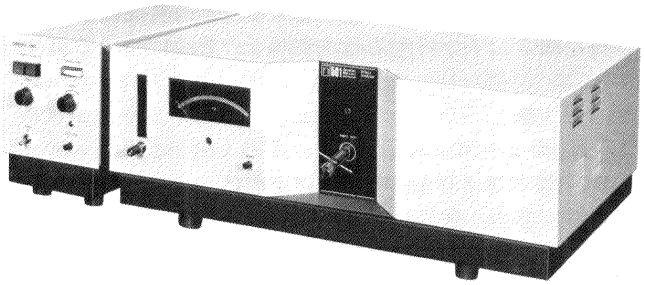


図1　従来の水銀測定法

抽出し定測定するという方法をとることもできる。いずれの方法にしても前処理操作を必要とし，分析結果が出るまでには数時間を要する。また，湿式灰化あるいは抽出時の振盪など数検体を並行して行うことができる操作と試料の加熱分解，抽出液の分離などのように1検体ずつ行う操作



501形 日立ゼーマン原子吸光水銀分析計

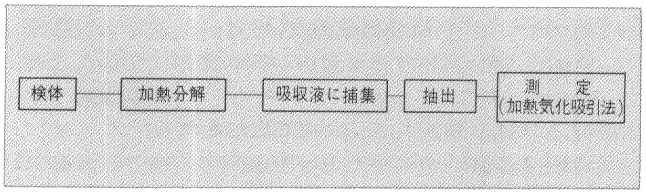


図2　加熱気化吸引法の一例

があるが，総合するといずれの分析法でも1日に分析できるのは同形試料で20検体，排水等で40検体程度である。

先に述べたように，分析すべき対象が非常に広範囲にわたっているため検体数が多く，従来の分析法では処理しきれない場合もある。また，迅速に分析できれば，さらに多くの試料を測定することによって，より広範囲の研究ができることがわかっている場合も少なくない。このような理由から，分析結果が一層早く得られる分析装置が最近，特に強く望まれている。

従来の分析法で時間を要するのは前処理の段階であり，前処理が済めば2分程度で測定が完了してしまう。したがって，前処理が省略されれば分析時間は大幅に短縮されることになる。

原子吸光法で測定するには試料から水銀蒸気を発生させなければならない。それには還元気化法と加熱気化法がある。薬品によって還元できるような試料形態にしなければ還元気化することはできないから，この方法では前処理を省略することはできない。また，後者の場合，試料を加熱して水銀を気化させるとき有機物も分解して煙や種々のガスを発生し，これによるバックグランド吸収が水銀の吸収に重複するため，従来の水銀分析装置における測光原理では水銀による吸収がかくされてしまう。このため，図2の方式では，発生した混合ガスから水銀だけを捕集するための化学的な方法によってバックグランド吸収を避けている。化学的な方法，すなわち前処理を行っているわけである。しかし，バックグランド吸収があっても測光原理的に水銀の吸収だけが選び出せるならば，このような化学的処理を行う必要がなくなり，分析時間は著しく短縮される。

* 日立製作所 那珂工場

水銀の吸収線のプロフィルは非常にシャープであるが，バックグランド吸収はそれに比べてはるかに広い。したがって，水銀の共鳴線は水銀および煙などによるバックグランド吸収を受けるが，水銀の共鳴線とわずかに異なる波長ではバックグランド吸収だけであり，前者から後者を差引けば水銀による真の吸収が求められる。ゼーマン効果によってこの2種類の吸収を測定するためのスペクトルを得て水銀の吸収だけが測定されるようにした装置が501形日立ゼーマン原子吸光水銀分析計である。この装置によって実試料を測定して分析作業の能率向上の効果について調べた。

1．原　理

(1) Hgのゼーマン効果

Hgの波長2,537Åの共鳴線は，$6^3P_1-6^1S_0$間の遷移に基く線である。核スピンをもたない偶数同位元素の場合には，$^3P_1$の準位が3つに分裂するゼーマン効果を示す。図3に示すように，3つに分裂したゼーマン成分のうち遷移における磁気量子数の変化Δmについて，

$\Delta m=+1$に対応する成分をσ^+

$\Delta m=0$　〃　π

$\Delta m=-1$　〃　σ^-

と呼び，分裂の大きさは，次式で表わされる。

$$\Delta\nu=1.4\,gH \quad\cdots\cdots(1)$$

ここに，H：磁束密度（K gauss），

g：Landeの係数

$\Delta\nu$：光の振動数の変化（G Hz）

磁場と平行な方向から観測すると，σ^+，σ^-のみが観測され，σ^+は右円偏光，σ^-は左円偏光である。磁場に垂直な方向から観測すると，σ^+，σ^-は磁場に垂直な振動面をもつ直線偏光であり，πは磁場に平行な振動面をもつ直線偏光として観測される。したがって，σ^+とσ^-あるいは，$\sigma^\pm$とπを別々に得るためには，分光器に頼る必要はなく，偏光手段を用いて分離することができる。

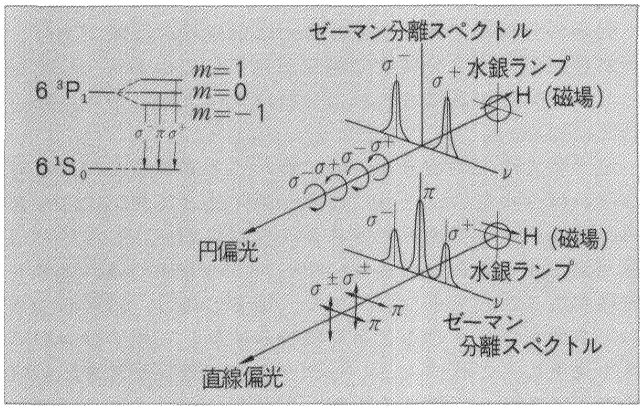


図3　水銀のゼーマン効果と観測方向の関係（偶数同位元素）

(2) ゼーマン効果による原子吸光法

ゼーマン効果による原子吸光法の基本原理は，光源に磁場を印加し，ゼーマン効果によって分裂させたゼーマン成分のうち，吸収線波長と一致するものを共鳴吸収に関与する光束とし，吸収線波長からはずれた成分を共鳴吸収されないので比較用光束とし，これら2つの波長の光を用いて，複光束方式の原子吸光を行うことである。[1),2)]

従来の2波長方式あるいは補正方法と大きく異なる点は，2つの光の波長が通常の分光器ではとうてい分離できないほど近接していること，および同一の光線しかも同一の原子から放射される光で，波長と偏りだけが異なったはじめから一対になっている光を光源として用いることである。

天然のHgは多くの同位体を含み，同位体効果と，核スピンに基くスペクトル線の広がりが大きい。[3)] 酸素雰囲気の1,000℃，1気圧の原子化炉内において，天然Hgの吸収線幅は上記の超微細構造による広がりのほかに，ドップラー広がり，ローレンツの広がりが加わって0.058Å程度に達すると考えられる。また，吸収線ピークの波長は，^{204}Hgの発光線にほぼ一致する。われわれは，天然Hgを封入したランプを光源とし，π，σを用いる方法を開発したが，天然Hgのゼーマン効果をおこした線プロフィルは複雑なので，問題を簡素化して，その中の1つの成分^{204}Hgに着目

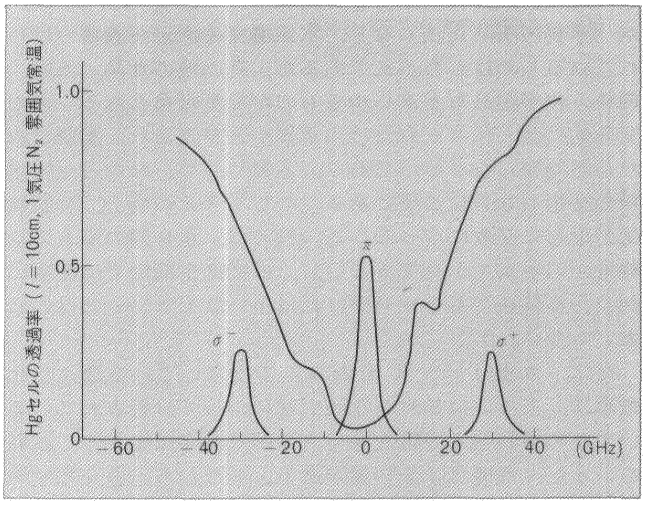


図4　Hgの吸収プロフィル[2)]と15KGの磁場によってゼーマンスプリットした204Hgの発光線

し話を進める。図4に示すように，光源に15KGの磁場を印加し，磁場と垂直な方向から光を取出した場合，πおよびσを得ることができる。πはほぼ吸収極大に位置する。σ^+，σ^-は，(1)式において$g=1.4$とすれば，$\Delta\nu=30$となり，吸収極大から0.064Å離れた位置にシフトする。したがって，πはHgによって共鳴吸収されるが，σ^+，σ^-は，ほとんど吸収されない。しかし，幅の広い分子吸収あるいは光散乱に関しては，σ^+，σ^-，πとも同じように吸収あるいは散乱

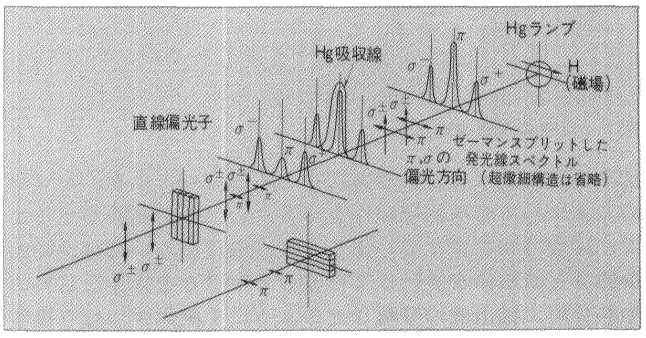


図5　測光原理

されると考えられる。たまたま，急峻な分子吸収が2,537Å付近に存在したとしても，σ^+とσ^-が吸収される量の平均は，ほぼπが吸収される量に等しいと考えることができる。したがって，σ^+, σ^-を比較光束とすることにより，極めて精度の高い補正が可能となる。**図5**に装置の測光原理を示す。

3．装　置

(1) 構　造

装置は，大別して，光源部，試料原子化部，受光部および電気信号処理部から構成される。その配列を**図6**に示す。

(a) 光　源

石英から成る小形の高周波無極放電ランプを用いている。このランプは，永久磁石のギャップ中に設置されており，発光線はゼーマン効果によって分裂している。磁場と垂直な方向に取出された光は，原子化炉内の吸収セルに導かれる。

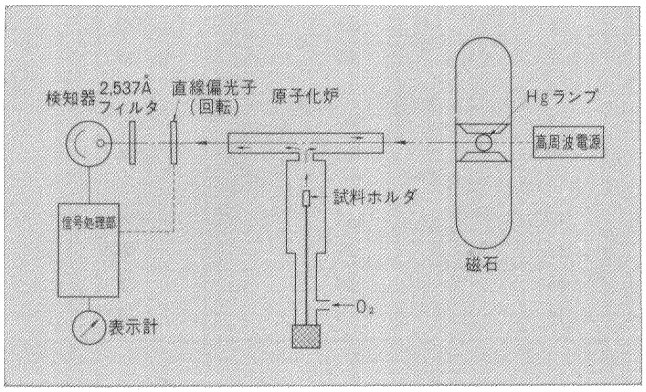


図6　501形 日立ゼーマン原子吸光水銀分析計の構造

(b) 試料原子化部

耐熱合金により作られた直熱形の炉を用いている。炉内温度は，比例制御方式によって一定化され常に900℃に保たれている。試料が炉内に導入されると同時に助燃ガスとキャリアガスを兼ね，酸素が0.5l/min送り込まれる。可燃性試料は瞬時にして燃焼し，含まれていたHgが原子化される。原子化されたHgは発生した煙とともに吸収セル部に送られ，ゼーマン原子吸収法により測定された後，捕集装置によって回収される。炉内に試料を導入するための試料ホルダは，先端に石英の小さなカップが着装されたものであり，液体試料の場合，10～50μlをマイクロピペットによってこのカップの中に測り取る。固体あるいは粉末試料の場合は，数10mgをカップに詰め，秤量したのちホルダに装てんする。

(c) 受光部

原理のところで述べたように，πとσは振動面が互に直交する直線偏光であるから，直線偏光子によって分離できる。

直線偏光子は同期モータによって回転しており，π，σが100Hzで交互に光電子増倍管に入射する。光電子増倍管の前には主波長2,537Åの干渉フィルタが設置されており，共鳴線以外をしゃ断している。

(d) 電気信号処理部

光電子増倍管には，次式で示す強度をもった光が入射する。

$$I\pi = \{I\pi_0 \exp(-lK\pi)\} \cos^2\theta \cdots\cdots (2)$$

$$I\sigma = \{I\sigma_0 \exp(-lK\sigma)\} \cos^2(\theta + \frac{\pi}{2}) \cdots\cdots (3)$$

ここに　θ：直線偏光子の回転角

$I\pi_0$, $I\sigma_0$：光源におけるπ, σの光強度

l：吸収部のセル長

$K\pi$, $K\sigma$：π, σの見かけ上の吸光に関する係数

光学的補正装置によって，$I\pi_0 = I\sigma_0$が成り立っている。

$K\pi = K$の場合，(2)，(3)式から明らかなように，$I\pi + I\sigma =$ const.となって，光電子増倍管の出力は，θによらず常に一定である。吸収セル内に多量の煙が存在し，$K\pi$, $K\sigma$が見かけ上大きくなっても，共鳴吸収がない場合，$K\pi = K\sigma$が常に成り立つから，交流信号は生じない。一方，Hgによってπが共鳴吸収される場合には，$K\pi > K\sigma$となって，交流信号が生じる。この信号をlog変換した後，同期整流し，Hgによる吸収信号としている。このとき，光電子増倍管の印加電圧は，$I\sigma$による信号が常に一定となるように制御されている。Hgによる吸収信号は，試料からHgが放出されている間積分され，積分値が指示計に表示される。試料の形態によって，Hg放出の状況が異なったとしても，積分値をとるので，精度の高い定量分析が可能となる。

(2) 測定法

サンプリングした試料を一定量，試料ホルダにとり，炉に挿入して測定を開始させると30秒後に測定値が表示される。指示計はng単位で目盛られており，水銀量が直読できる。(**図7**) 読取りを容易にするため積分値表示方式を採っており，静止した指示値を読取ることができる。標準液は通常$HgCl_2$で調整したものを使用する。安定剤としては$KMnO_2$およびH_2SO_4を加えておくことが望ましい。試料が有機物の場合でも，特別な標準物質を調整する必要はない。これは，V.Lindusら[4]の報告にもあるように，十分に酸素を供給した場合，300℃で血液，尿，卵などに含まれる水銀が完全に気化すること，あるいはRaynord J.Thomasら[5]の報告で魚肉が900℃で完全に分解することに基づいている。すなわち，本装置では炉温度が900℃であり，ほとんどの有機物試料から水銀を完全に気化することができるため，試料形態によらず水銀量を正しく求めることができる。

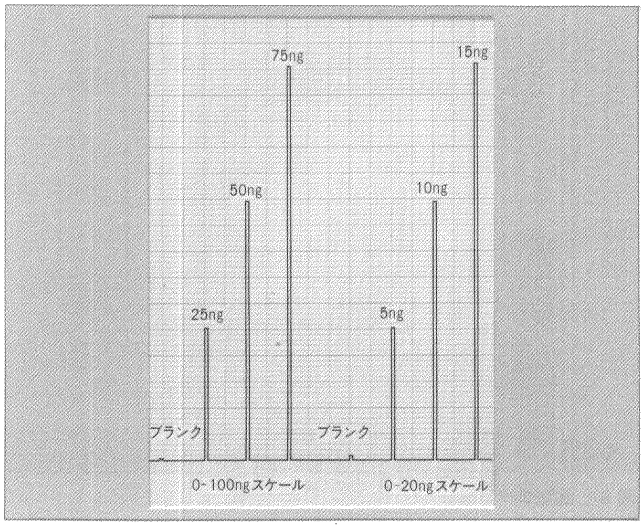


図7　濃度表示による測定

3. 実験結果

(1) 再現性および検出限界

水溶液試料について5回繰返して測定した結果が**図8**である。**図7**から標準偏差率を計算すると2.4%であり，かなりよい再現性といえよう。なお，試料の測りとりには，マイクロピペット10μl（エッペンドルフ社製）を使用した。

標準偏差率は，マイクロピペット10μlの標準偏差率をも含んだ総合値である。

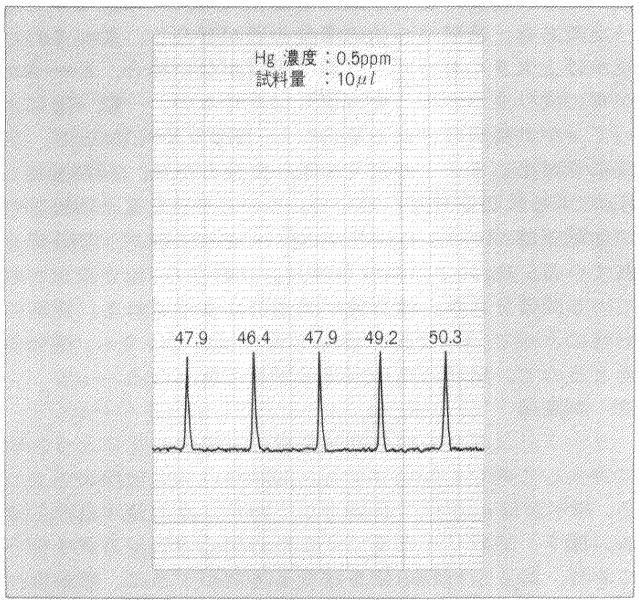


図8　低濃度における再現性および検出限界の測定例

(2) 絶対検出限界

図8より信号の$S/N=2$を与える水銀量を求めると，この場合0.2×10^{-9}gとなる。

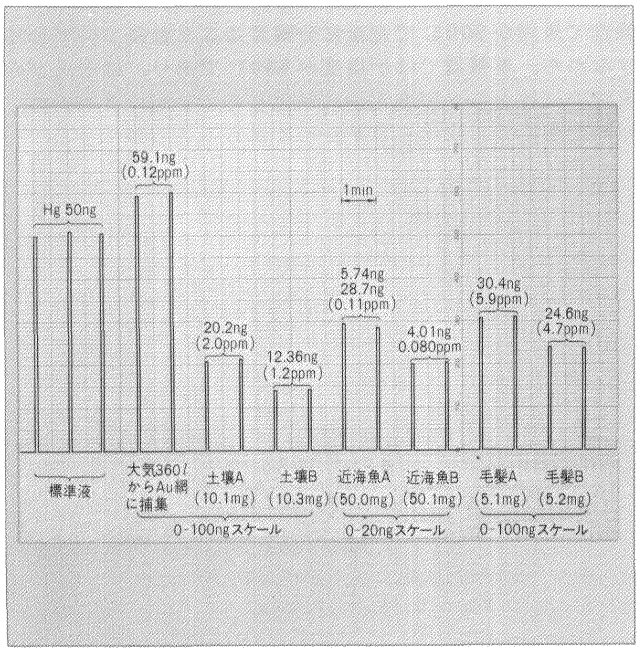


図9　測定例

(3) クロスチェックの結果

尿，14検体を本装置，および還元気化循環法によって測定した結果を**表1**に示す。本装置の場合，尿を直接マイクロピペットにより50μlとって測定した。還元気化循環法の場合は前処理を行った後測定した。

表1　尿の分析例　　単位　ppb

試料番号	M-501の結果	還元気化法の結果
1	94	115
2	40	56
3	2,090	2,060
4	430	461
5	110	123
6	116	129
7	80	98
8	10	11
9	240	231
10	120	124
11	141	154
12	29	38.5
13	18	23
14	5	15.5

(4) 実試料の測定

魚肉，土壌および毛髪を測定した結果を**図9**に示す。秤量した試料をそのまま測定するだけであり，1試料あたり約1分間で結果が得られた。

4. 実験結果の検討

水銀分析の対象となる種々の試料とそれらの濃度レベルおよび本装置で，これらを測定した場合の試料量と吸収値のオーダなどについてまとめたものが**図10**である。ほとんどの試料が前処理なしに測定でき分析時間が大幅に短縮される。

従来法ではやっかいな湿式灰化を必要とするこれら大多数の分析対象が何ら前処理なしに測定できる効果は非常に大きいといえる。本装置によれば，これらの分析対象を1日に100検体以上分析するのも容易である。また前処理不要によってその過程におけるコンタミネーションが排除されること，試薬が大幅に節約されるという効果もある。

ゼーマン原子吸光法による分析値の正確さに関しては，T. Hadeishiらの報告[2)]がある。NBSより出されている木の葉，魚肉など種々の標準物質を質量分析法，放射化分析法および原子吸光法（還元気化循環法）で分析した結果とゼーマン原子吸光法による結果を比較し，よい一致が見られている。また，われわれは尿分析に関して還元気化循環法との比較を行った。これらの結果よりゼーマン原子吸光法は他の分析法による結果とよく一致し，信頼性の高い分析法といえる。

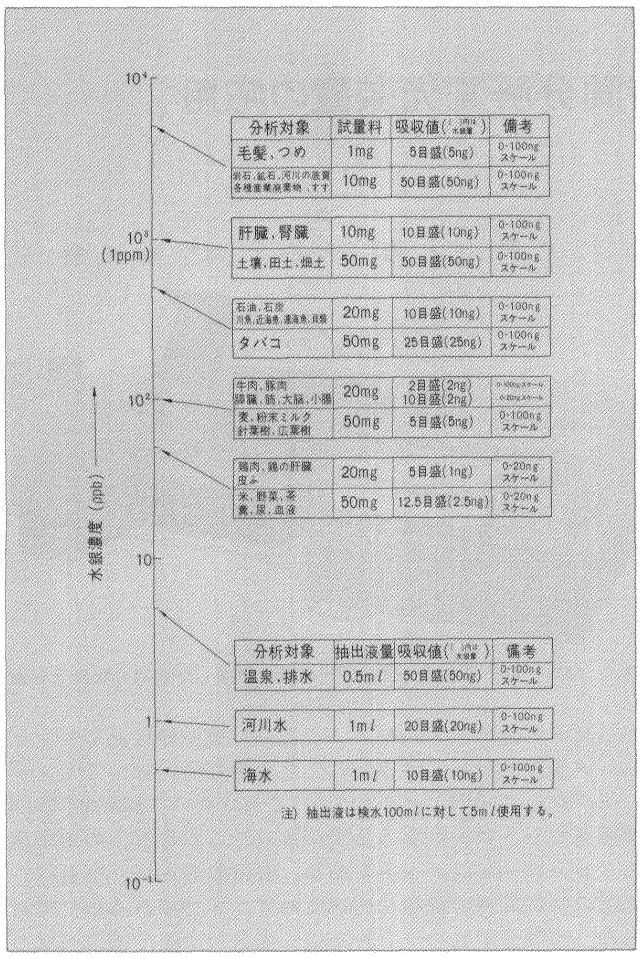


図10 分析法

5. 緒 言

光源にゼーマン効果を応用し，熱分解炉を用いる501形日立ゼーマン原子吸光水銀分析法の原理，構造および分析結果について述べた。

本装置の特長を要約すると次のとおりである。

(1) 魚介類，ヘドロ，毛髪などが前処理なしに分析できる。

(2) 前処理過程での水銀の散逸あるいは混入が全くないことから，より信頼性の高い分析結果が得られる。

(3) 分析結果が極めて短時間で得られる。

(4) 少量の試料で分析できる。

501形 日立ゼーマン原子吸光水銀分析計は日常分析はもちろん，特に緊急を要する鮮魚等食品検査，極めて多数の検体を扱う臨床検査における尿，血液などの分析に大きな偉力を発揮するものである。終りに，本装置の開発に当って，終始ご指導をたまわった米国，ローレンス研究所のT. Hadeishi 博士に厚く感謝の意を表する。

■参考文献

1) Hadeishi, T. & McLanghlin, R. D.：Science **174**, 404 (1971)

2) Hadeishi, T.：Appl. Phys. Lett. **21** 〔9〕, 438 (1972)

3) Mitchell, A. C. G. & Zemansky, M. W.：Resonance Radiation and Excited Atoms. Cambridge (1934)

4) Lidums, V. & Ulfvarison, U.：Acta Chemica, Scandinania, **22**, 2150-2156. (1968)

5) Thomas, R. J. Hagstrom, R. A. & Kuchar, E. J.：Anal. Chem. **44**, 3 (1972)

新製品紹介

輝度が2～4倍高く，低ノイズ 検出限界が5～10倍向上する PERKIN-ELMER 無電極放電管 ELECTRODELESS DISCHARGE LAMP

このたび，日製産業ではPERKIN-ELMERが新たに開発した無電極放電管4種，ならびに同電源を発売いたしました。

このEDLは，現在広く使われているHCLに比較して次の特長をもっています。

■特 長

1. 輝度が 2～4倍高くなっています。
2. 低ノイズのため，検出限界が 5～10倍よくなります。
3. 寿命は同等以上です。
4. 電源は，各々のEDLに共通に使用できます。

■内 訳

1. EDL用電源
2. EDL As, Se, Cd, Te

U.D.C. 535.243.25:535.372].004.14

MPF-4形 日立分光けい光光度計用時間分解測光装置の応用

野上太郎* 大西 靖* 福田健三*

1. 緒 言

超高速度現象を対象とした測定装置には，種々のものが存在するが，現象の性質により装置の方式は著しく異なったものとなる[1)8)]。すなわち，現象の速度がどの程度のオーダーのものかということ，単発現象か繰返し可能現象かということ，および指数関数的減衰を示すか否かということに左右される。

最近非常に要求の多いのが，けい光寿命の測定であるがこれは10^{-9}～10^{-7}秒の領域の現象であり，繰返し可能現象に属する。

MPF-4形 日立分光けい光光度計用時間分解測光装置は，このようなけい光寿命の測定を主たる目的とする装置で，指数関数的減衰を示すけい光，非指数関数的減衰を示すけい光の双方に適用可能である。

けい光寿命測定が可能な装置の中では，簡易形に属するものでありながら，過渡状態に関して極めて多くの情報を与えるというところから，はじめにそのような特長について説明し，その特長の原因となっている装置の方式について触れる。次にけい光寿命測定の例を，利点が最も良く生かされる場合を中心に述べ，最後にけい光寿命測定以外の応用例を示す。

2. 装 置[2)]

(1) 装置の特長

通常けい光寿命測定装置と呼ばれるものには，けい光の減衰波形を指数関数的なものと仮定し，数値的に減衰定数すなわちけい光寿命をとらえるものが多い。しかしながらMPF-4用 時間分解測光装置は，超高速度現象を低速度に変換して，チャートレコーダ上に再現することを可能にするため，変則的な減衰を示すけい光に対しても有効である。また，減衰波形ばかりでなく，時間分解スペクトル（スペクトルが刻々変化する様子を示したもの）をチャートレコーダ上に描き出すことが可能である。このようなところから，応用例で示すような2成分の共存する場合，エネルギー移動の存在する場合などには極めて有効である。さらには，測定時間の短いところから不安定な試料に対して有効な場合も存在する。

(2) 装置の方式[2)]

図1にMPF-4形 日立分光けい光光度計に時間分解測光装置を取付けた状態を示す。MPF-4の試料室の手前よりパルス光で試料を照射し，生じるけい光を分光した後，MPF-4の外部フォトマルの位置にセットされた受光部で検知する。装置の原理となるのが，繰返し現象の特性を生かした「サンプリング法[1)3)]」であり，検知器自身でサンプリング操作を行っている。このため検知器においてサンプリングを行う瞬間とパルス光源[4)]をトリガーする瞬間の時間関係をコントロールする必要があり，これを行うのが手前のコントロールユニットである。過渡波形を描く場合は，両者の時間関係が繰返しの都度わずかずつずれるわけであるが，時間分解スペクトルを描く場合は，1つのスペクトルについて前記の時間関係は固定され，MPF-4のけい光側モノクロメータの波長駆動が行われる。

図1 MPF-4形 日立分光けい光光度計に装着した時間分解測光装置

3. けい光寿命測定

(1) 2成分試料

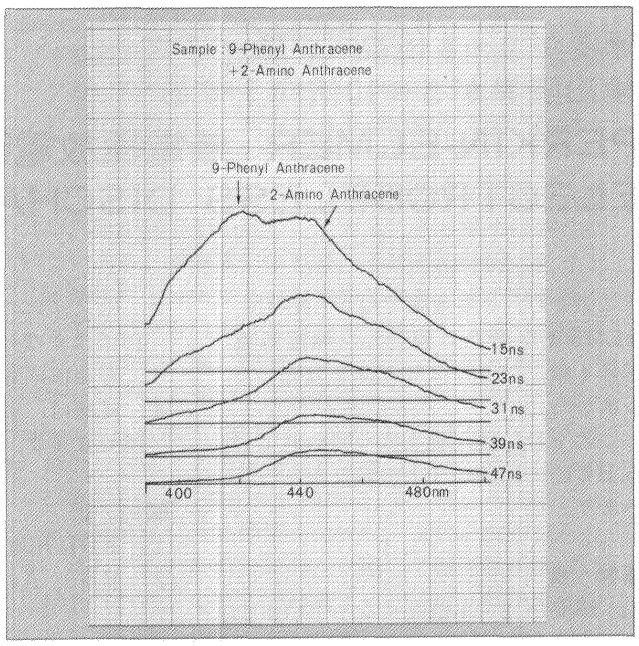


図2 2成分試料の時間分解けい光スペクトル

* 日立製作所那珂工場

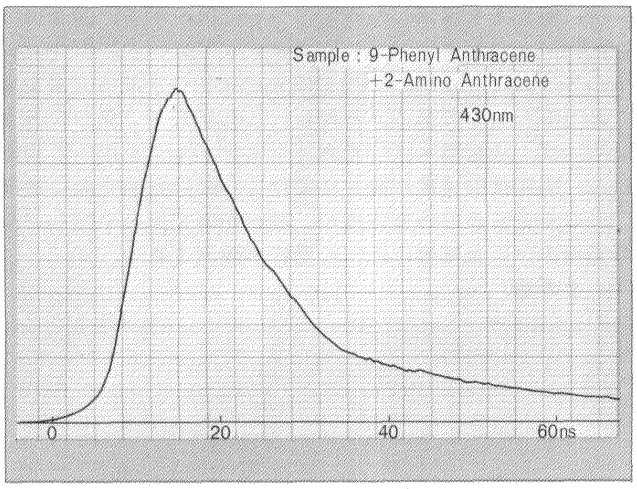


図3　2成分試料のけい光過渡波形

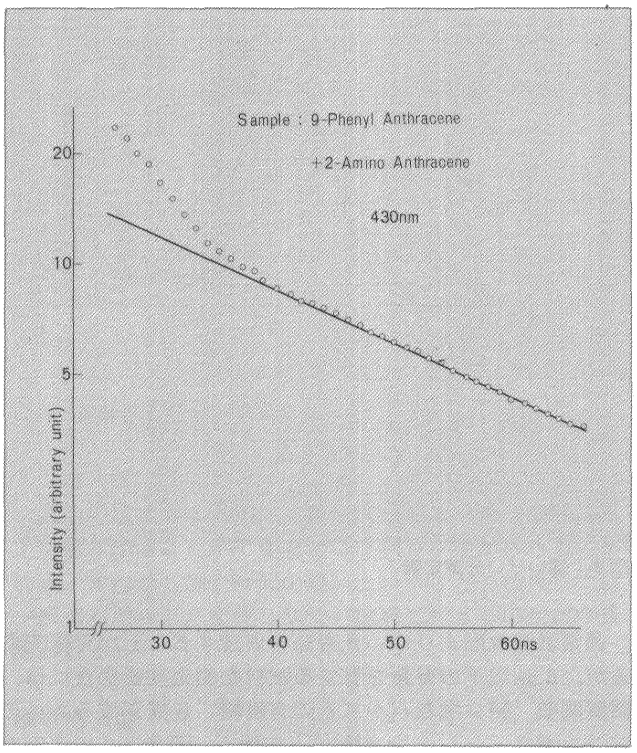


図4　2成分試料のけい光減衰特性

2成分以上が含まれることが予想される試料においては，時間分解スペクトルおよびけい光過渡波形により重要な情報の得られることが多い。**図2**は，故意に2成分を混合した試料の時間分解けい光スペクトルである。420nm近辺にピークを有する9-フェニルアントラセンとそれよりわずかに長波長にピークを有する2-アミノアントラセンより成り，単独で測定したけい光寿命は，それぞれ6.7nsおよび30nsである。短波長側（9-フェニルアントラセンのピーク）が速く減衰していることがわかる。

また，**図3**は同じ混合試料のけい光過渡波形であるが，これを解析することによっても2成分の存在を確認することができる。**図3**の縦軸をlogスケールに変換し，プロットすると**図4**のようになり，2成分系の減衰を示すことが明らかになる。すなわち，50ns以上においては，2-アミノアントラセンの減衰特性に従い指数関数的に減衰するが，初期においては，9-フェニルアントラセンの速い減衰が支配的である。

以上のことから，逆に複数の成分を含む未知の試料について測定を行い，得られた時間分解スペクトルあるいは減衰曲線より，各成分を識別することも可能であるといえる。特に後者は，2成分のけい光ピーク波長が全く同一でも，寿命が異なれば解析が可能であるという点に特長を有する。

(2)　錯体生成過程

エクサイマ，エクサイプレックスの生成過程[9)10)]の解析も，装置の長所を生かすことのできる応用分野である。**図5～7**にピレンのモノマーとエクサイマが共存する場合の測定例を示す。いずれもシクロヘキサンにピレンを溶解し，濃度を0.5×10^{-3} mol/lに調整した後N_2のバブリングによ

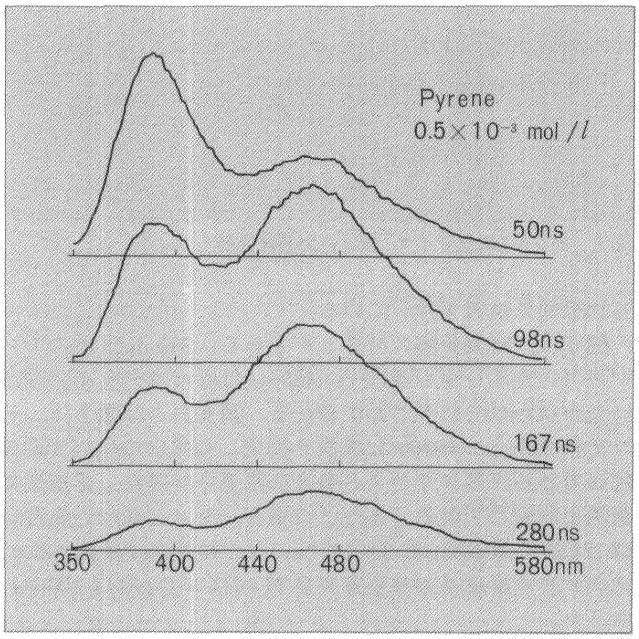


図5　ピレンの時間分解スペクトル

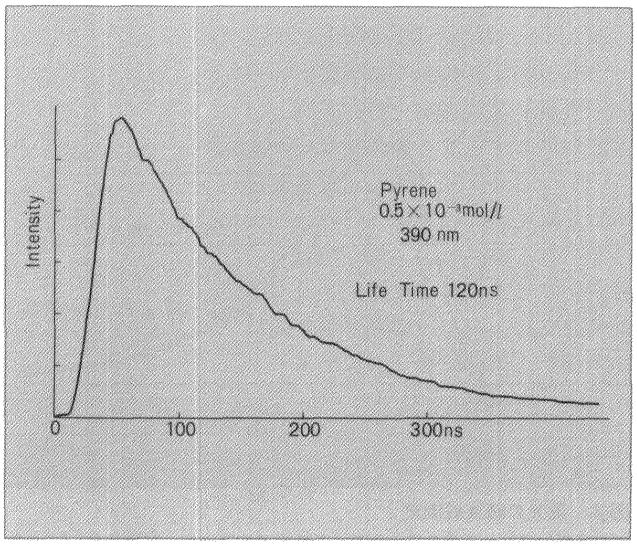


図6　ピレン（モノマ）のけい光過渡波形

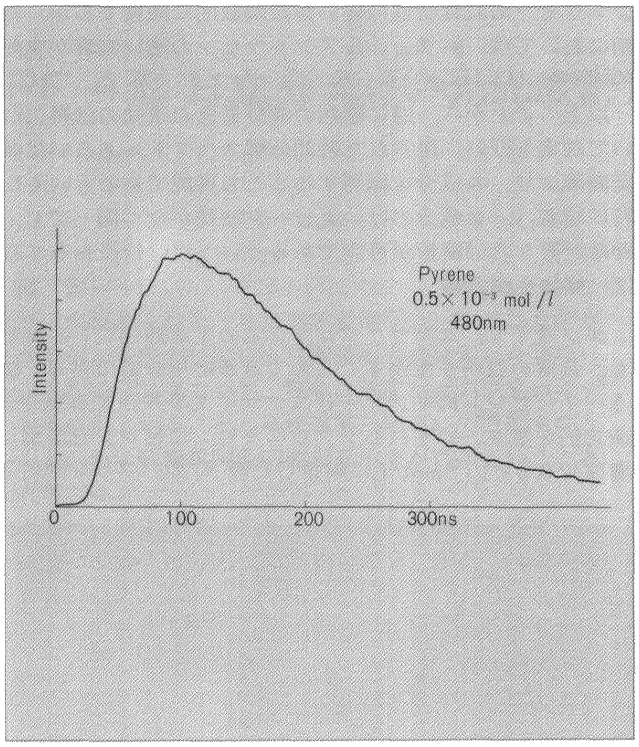


図7　ピレン（エクサイマ）のけい光過渡波形

る10分間の脱気を行っている。

図5は，時間分解スペクトルである。390nm付近のモノマのけい光より少し遅れて，480nm付近にエクサイマのけい光が現われていることがわかる。**図6**および**図7**は，それぞれ390nm，480nmに波長を固定した場合のけい光過渡波形である。エクサイマの場合に立上りが遅れ，非指数関数的に減衰している。またこの場合，モノマのけい光寿命は120nsであるが，0.3×10^{-4}mol/lの濃度まで希釈すると，エクサイマ形成はもはや存在せず，けい光寿命は300nsとなった。

(3) 偏光解消

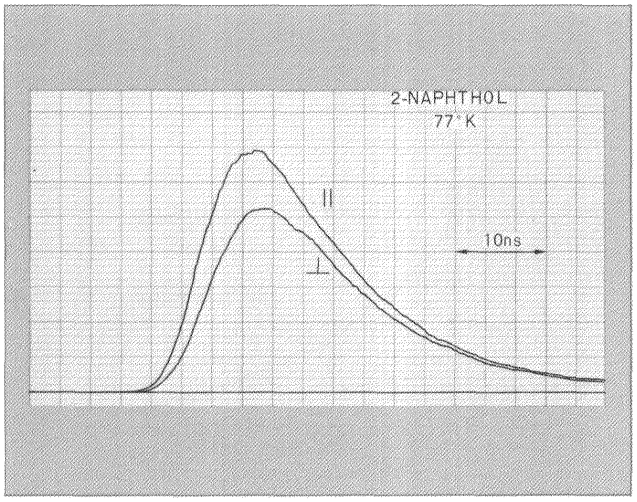


図8　偏光の過渡的測定
（イソペンタン＋エチルエーテル＋エチルアルコール、容積で5：5：2の混合溶媒）

次に偏光子を併用した測定について例を示す。**図8**は，EPA（イソペンタン＋エチルエーテル＋エチルアルコール）中の2-ナフトールのけい光の偏光過渡特性を液体窒素温度で測定したものである。ただし，この場合モノクロメータは用いず，励起側・けい光側ともにフィルタを用いて測定した。励起後偏光度が徐々に変化し，励起光偏光面に垂直（⊥）な偏光面のけい光強度が，励起光偏光面に平行（∥）な偏光面のけい光強度に近づく過程が観測される。

(4) その他

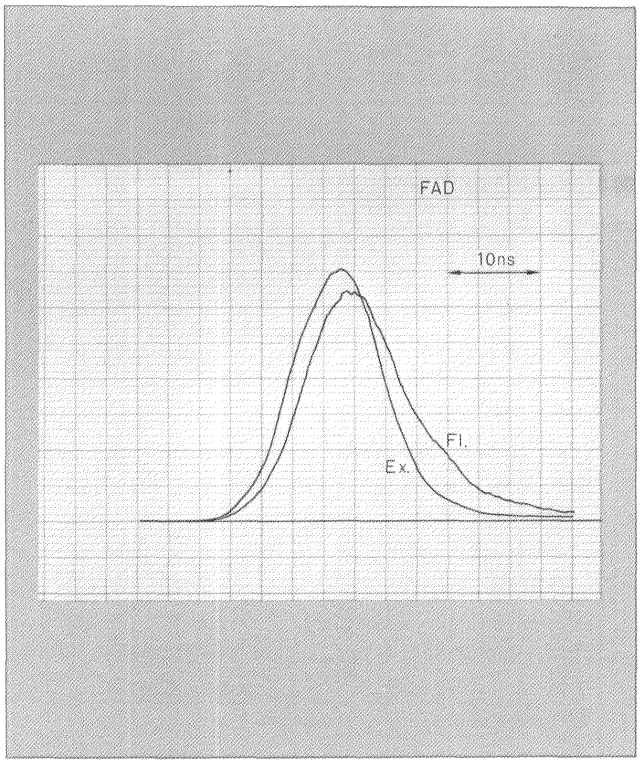


図9　速いけい光測定例

通常過渡波形よりけい光寿命を直読することが可能であるが，6ns以下の寿命を有する試料を測定する場合には，装置関数（特に励起パルス光の有限幅）を補正するためのデコンボリューション演算[5)6)7)]を行う。**図9**はこのような場合のチャート上の図形の一例である。励起パルス光波形とけい光波形が，同じ分解時間（4ns）で記録されている。試料は，フラビンアデニンジヌクレオタイドで，けい光寿命2.7nsが算出された。

4．発光測定への応用

前節までけい光寿命測定を中心に述べたが，再現性のよい現象であれば，発光への応用も可能である。**図10**はその一例であるが，立上り，立下りとも2ns以下のアバランシェトランジスタで発光ダイオードを点灯した場合の立上り波形である。立上り時間24nsを示している。同様にして，立下りの部分の過渡波形より，立下り時間70nsが得られた。

このほか，気体放電なども繰返し可能現象に類するものであり，測定可能な発光現象の1つである。

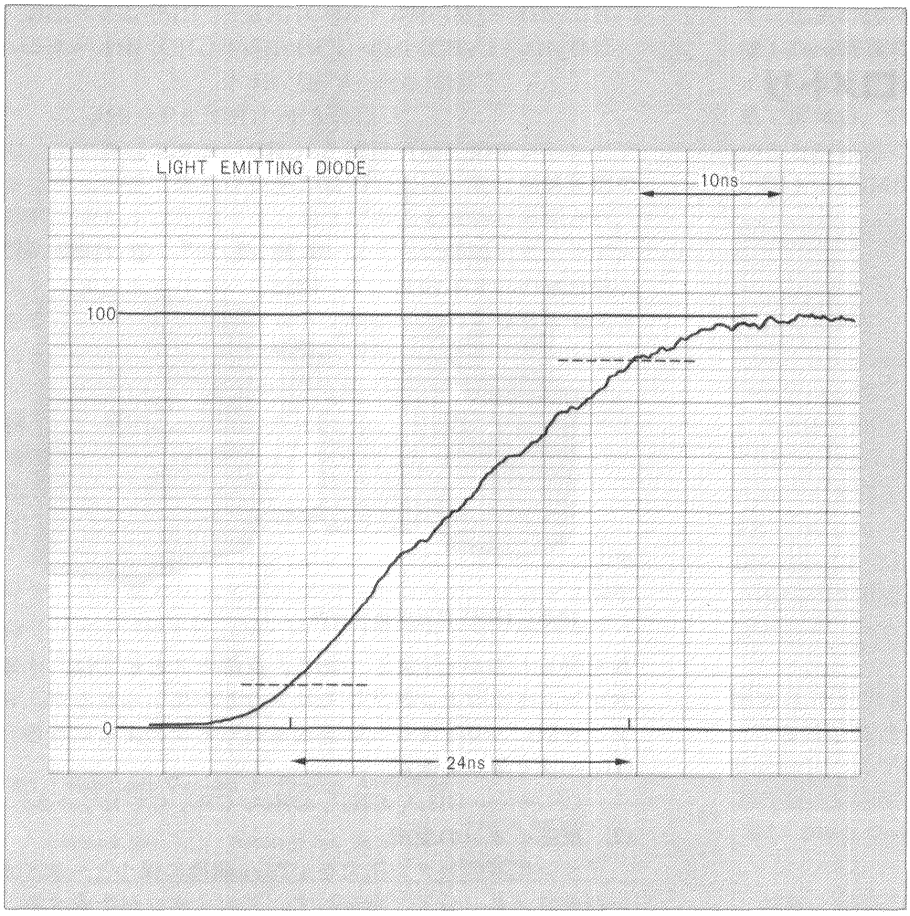


図10 発光ダイオード（立上り）

5. 結 言

以上の種々の応用例は，過渡波形および時間分解スペクトルをチャートレコーダ上に描き出すことができるという利点を生かしたものが中心であったが，もう1つの点，すなわち測定時間の短いということも軽視してはならない。特に生体試料の一部のものなど，変化しやすい試料に対する応用は今後是非とも試みるべきものと思われる。

■参考文献

1）南 茂夫，・内田照雄：分光研究，**19**，187（1970）
2）野上太郎，・大西 靖，・福田健二，・岡垣 博：第8回応用スペクトロメトリー講演要旨集，7（1972）
3）南 茂夫，・内田照雄：応用物理，**38**，789（1969）
4）内田照雄，・南 茂夫：分光研究，**20**，289（1971）
5）Demas. J. N. & Crosby, G. A.：Anal. Chem., **42**, 1010（1970）
6）Irvin Isenberg・Robert D. Dyson：Biophys. J., 1337（1969）
7）南 茂夫，・銭谷福男，・荒木 勉：第9回応用スペクトロメトリー講演要旨集，95（1973）
8）南 茂夫：応用物理，**9**，676（1967）
9）Stevens, B.：Spectrochim. Acta, **18**, 439（1962）
10）Kawaoka, K. & Kearns, D. R.：J. Chem. Phys, **45**, 147（1966）

次 号 予 告

JUNE 1974 Vol.17 No.3

U.D.C. 543.51:〔537.563:541〕:543.8

化学イオン化マススペクトロメトリ

田島英司* 望月康平*

1. 緒言

近年，有機質量分析の分野で注目されているイオン化のひとつとして化学イオン化（Chemical Ionization：以下「CI」という）法があり，特に米国において著しい発展が見られる。従来，質量分析において主として用いられてきた電子衝撃イオン化（Electron Impact Ionization：以下「EI」という）法に比べ，CI法で得られる質量スペクトルは単純で，しかも分子全体に特徴的なピークを示し，EIスペクトルとは異なる情報も得られる。特に，biomoleculeを取扱う有機化学一生物化学の分野でその有用性が認められ，最近では多くのCIスペクトルが測定され，今後の応用に大きな期待がもたれている。

このほど，われわれは日立製作所中央研究所の基礎開発を経て，CIイオン源を開発し，質量分析計に装着し，各種化合物のCIマススペクトルを得たのでここに報告する。

2. CIMSの原理および特長

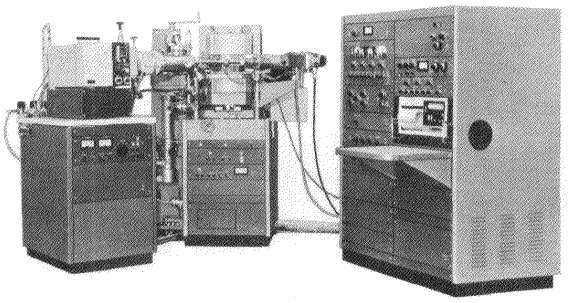
2.1 背景

CIは1Torr前後の圧力のもとにおけるイオン一分子反応を応用したもので，質量分析計を用いたこの種の反応に関する研究の歴史は古い。1925年のH. D. Smith. さらには1933年J. J. Thomsonらによる $H_2^+ + H_2 \rightarrow H_3^+ + H$ の反応過程の発見を発端とし，1950年ごろより主としてイオンの衝突断面の研究など多くの報文が現われている。しかし，これらの研究はイオン種から中性分子へのエレクトロントランスファ過程を伴う反応で，エネルギ的にはEI法に近く，かなりの余剰エネルギをもつものである。したがって，この結果生ずる新らしいイオン種はそれほど安定ではなく，さらに解離する。イオン種と異なる分子との反応は例えば $N_2^+ + O_2 \rightarrow O_2^+ + N_2$ のごとく，イオン化ポテンシャルの差により新らしいイオンが生ずるもので，これらはCIとはいえない。

1966年米国のM. MunsonとF. FieldはEIにより生成したイオンがさらに反応し，新らしい反応ガスイオンが生成し，そのイオンが二次的にプロトントランスファを行って，他の分子をイオン化するCI法を導入した。以来，彼等により系統的な研究が行われ，1969年EI法と共用できる質量分析計イオンに源が完成し，今日の発展を見るにいたった。

2.2 CIMSの原理

CIは反応ガスを電子衝撃して得られる反応（2次）イオンと中性有機分子とのイオン一分子反応により新らしいイオン種が生成されるもので，これらイオンのマススペクトルを得るものがCIMSである。反応ガスとしては，水素，メタン，イソブタン，アンモニアなどが用いられるが，メタンを例にとりイオン化の過程を追うと次のようになる。



RMU-6M形 日立質量分析計

(1) 一次イオンの生成

$CH_4 + e \rightarrow CH_4^+,\ CH_3^+,\ CH_2^+,\ CH^+,\ C^+,\ H^+,\ +2e$

(2) 反応イオンの生成

イオン化室のメタン圧力を1Torr前後に保つと一次イオンが中性メタン分子と衝突して，二次イオンが生成する。

$$CH_4^+ + CH_4 \rightarrow CH_5^+ + CH_3$$
$$CH_3^+ + CH_4 \rightarrow C_2H_5^+ + H_2$$
$$CH_2^+ + CH_4 \rightarrow C_2H_4^+ + H_2$$
$$CH_2^+ + CH_4 \rightarrow C_2H_3^+ + H_2 + H$$
$$C_2H_5^+ + CH_4 \rightarrow C_3H_7^+ + H_2$$
$$C_2H_3^+ + CH_4 \rightarrow C_3H_5^+ + H_2$$

このようにして生じた二次イオンが反応イオンとして試料分子と反応を行う。CH_5^+, $C_2H_5^+$, $C_3H_5^+$ で全イオン量の約95%になる。

(3) 試料イオンの生成

これらの反応イオンが試料分子（M）と反応し，①プロトン転移，②ハイドライドの引抜き，③アルキルカルボニウムイオンの転移，などの過程を経て試料分子（M）の疑似分子イオン（QM）$^+$として $(M+H)^+$, $(M-H)^+$ を生成する。

$$\left.\begin{array}{l} CH_5^+ + M \rightarrow (M+H)^+ + CH_4 \\ C_2H_5^+ + M \rightarrow (M+H)^+ + C_2H_5 \end{array}\right\} \cdots\cdots (1)$$

$$\left.\begin{array}{l} CH_5^+ + M \rightarrow (M-H)^+ + H_2 + CH_4 \\ C_2H_5^+ + M \rightarrow (M-H)^+ + C_2H_6 \end{array}\right\} \cdots\cdots (2)$$

$$\left.\begin{array}{l} C_2H_5^+ + M \rightarrow (M+C_2H_5)^+ \\ C_3H_5^+ + M \rightarrow (M+C_3H_5)^+ \end{array}\right\} \cdots\cdots (3)$$

この場合に生ずる主な反応は，①プロトン転移，②ハイドライド引抜きで，反応イオンはBrönsted酸およびLewis酸として作用する。それぞれの酸の強さはプロトンアフィニティ（P_A），およびおよびハイドライドアフィニティ（H^-A）によって現わされる。プロトン転移反応に対しては

* 日立製作所 那珂工場 電装部

$$\Delta H_f = \Delta H_f(MH^+) + \Delta H_f(CH_4) - \Delta H_f(M) - \Delta H_f(CH_5^+)$$
$$\Delta H_f = \Delta H_f(CH_4) + \Delta H_f(H^+) - \Delta H_f(CH_5^+) - \Delta H_f(M) + \Delta H_f(H^+) - \Delta H_f(MH^+)$$
$$\therefore\ \Delta H_f = PA(CH_4) - PA(M)$$

で，反応熱はメタン（CH_4）と試料（M）のプロトンアフィニティの差で表わされる。この反応は一般に発熱反応で，余剰エネルギは生成イオンおよび中性生成物に分配され，この余剰エネルギによりイオンはさらに解離してフラグメントイオンを生ずる。したがって，反応イオンの酸の強さを変えることにより，プロトン転移反応の発熱量を変えることができ，これは反応ガスの種類によりフラグメンテーションが変り，マススペクトルに差が生じることを示す。**表1**に一般に用いられる反応ガスのプロトンアフィニティを示す。

2.3 CIMSの特長

(1) 分子イオンの生成率が大きい

プロトン転移あるいはハイドライド引抜きの反応によるイオン化は関与するエネルギが小さいので，生成する疑似分子イオン（$M+H^+$，$M-H^+$）の量が大きく，偶数電子イオンなので安定であることから，フラグメンテーションが生じにくい。このためEI法では解離して現われにくい分子イオン（疑似分子イオン）が検出され易い。

表1 Reactant Gasses & Proton Affinities

Reactant Gas	Reactant Ion (M/e)	Proton Affinity	
		kcal/mol	eV
H_2	H_3^+ (3)	101	4.4
H_2+H_e	HeH^+ (5)	142	1.8
CH_4	CH_5^+ (17)	127	5.5
NH_3	NH_4^+ (18)	207	9.0
H_2O	H_3O^+ (19)	164	7.1
CH_4	$C_2H_5^+$ (29)	159	6.9
i-C_4H_{10}	tert-$C_4H_9^+$ (57)	195	8.5

(2) フラグメンテーションが簡単

プロトン転移は電子密度の高いヘテロ原子に起こり，安定な'Onium' ion形の疑似分子イオンが形成され，次に官能基が関与する中性分子の脱離が先行し，C－C結合の開裂は限定される。また，カチオンの反応系であるため，フラクメンテーションのメカニズムが通常の化学反応から類推し易い。

(3) 反応ガスによりスペクトルが変わる

反応ガスイオンの酸としての強度の差を利用して，マススペクトルを変化させ，分子イオンの確定，共役ケトンの有無，アルコールの区別，立体的効果，反応性の検討などに応用できる。

3. 装 置

CIMSとEIMSの大きな相違点は，EIにおいてはイオン化室が10^{-4}～10^{-6} Torrで作動させるのに対し，CIでは1 Torr前後にイオン化室を保つことにある。このため，イオン化室は気密性を高め，イオン化室周囲を強力な排気系で排気し，分析部の真空度は10^{-6} Torr以上の高真空に保つことが必要である。

図1にCIMSの概略図を示す。

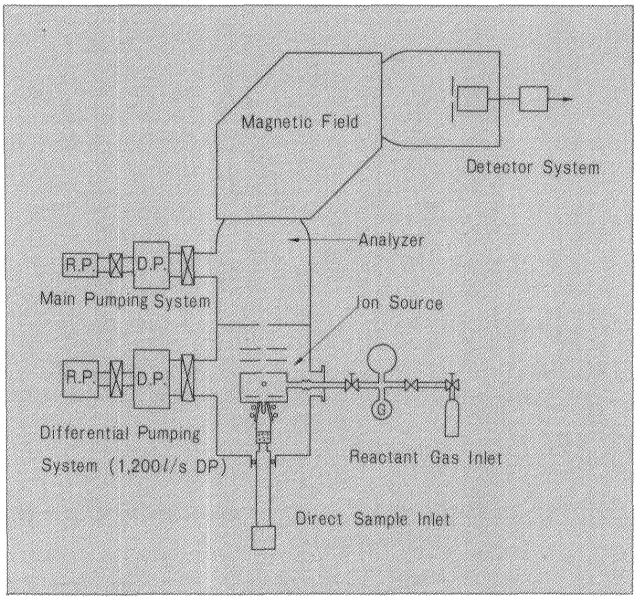


図1 Block Diagram of Chemical Ionization MS System

イオン化室の開口部は電子入射孔（0.3 mmφ），イオン出射スリット（0.05 mm×5 mm）のみで，電子トラップ電極はイオン化室内に設置し，ガスタイトなイオン源とした。直接試料導入部はテーパ摺合部を介してイオン化室に密着させ，エアロック方式により試料の導入を行った。この導入系から圧力測定用プローブを挿入することによりイオン化室の圧力を直接測定することができる。

反応ガスの導入系はそのまま高電位のイオン源に接続するとCI測定条件ではグロー放電を生起せしめるので，接続導入管先端のイオン化室壁にガスリークを設置することにより，ガス導入系を放電の誘起しない高い圧力で使用するようにした。これにより，導入系を高電位に浮かせる必要はなくなり，安全な操作ができるようになった。イオン化室の排気には1,200 l/sの拡散ポンプを装着し，イオン化室の圧力を約1 Torrに保ったとき，イオン源周囲圧力を約1～2×10^{-4} Torr以下に保った。反応ガスの導入を止めればこのイオン源はそのままEIの測定が可能である。その他はほとんどEIと同様である。

4. 測定例

4.1 反応ガス

図2にCI反応ガスのマススペクトルを示す。メタン（CH_4）では，CH_5^+（M/e：17），$C_2H_5^+$（M/e：29），$C_3H_5^+$（M/e：41）が顕著なピークであり，主として反応ガスイオンとしてふるまう。M/e：19はメタンに混入していた水のプロトネイトされたイオン（H_3O^+）で，同様に反応イオンとして作用する。イソブタン（C_4H_{10}）ではt-ブチルカルボニウムイオン〔$(CH_3)_3C^+$ M/e：57〕が主として反応にあず

かる。アンモニア（NH_3）ではNH_4^+（M/e：18），$NH_3 \cdot NH_4^+$（M/e：35）が反応にあずかる。**表1**に示したように，これらは，プロトンアフィニティ，ハイドライドアフィニティの差によるイオン化の反応にあずかるエネルギの差により，フラグメンテーションに相違を示す。

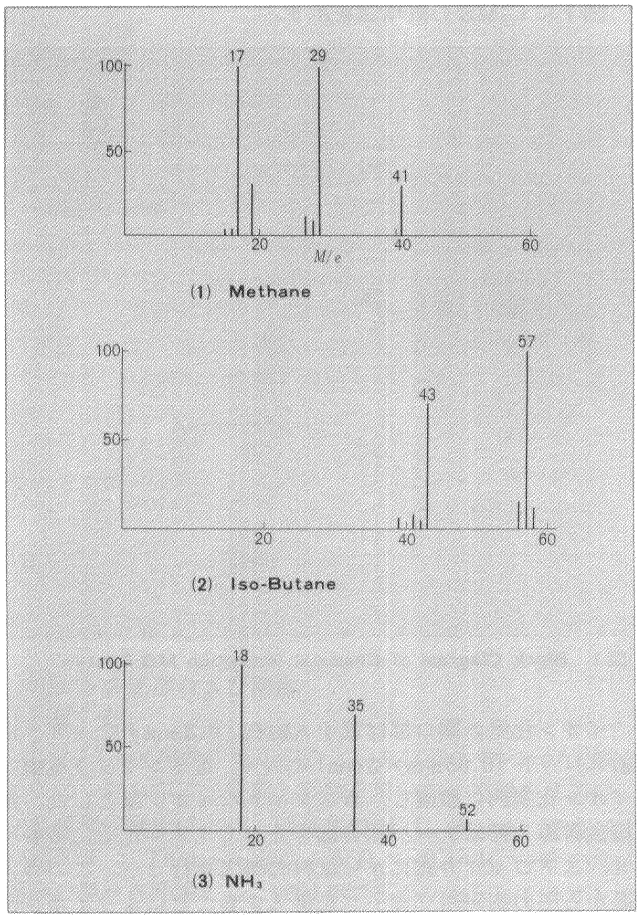


図2 CI Spectrum of Reactant Gases Only

4.2 EICOSANE $C_{20}H_{42}$

メタンを反応ガスとした場合の直鎖炭化水素の例として，EICOSANE（$C_{20}H_{42}$ M/e：282）を**図3**に示す。鎖状炭化水素についてはハイドライドの引抜きにより，$(M-1)^+$に疑似分子イオンが現われる。スペクトルから明らかに各炭素グループを示すピークが現われ，化合物の炭素数を明確に示す。EIではC_3，C_4グループがベースピークとなり，

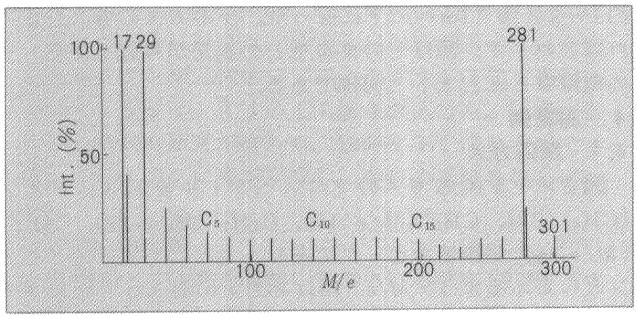


図3 CI Spectrum of Eicosane $C_{20}H_{42}$ (m. w. 282)
Reactant Gas：Methane

C_{10}以上で弱いピークとなり，分子イオンの強度は極めて小さい。

4.3 METHYL STEARATE $CH_3(CH_2)_{16}COOCH_3$

図4にメタン，**図5**にアンモニアを反応ガスとしたマススペクトルを示す。メタンではアルカン類のハイドライドの引抜きによる（M－1，M/e：297）と，カルボニル基へのプロトン転位による（M＋1，M/e：298）の2つの疑似分子ピークが特長である。M/e：327，M/e：339は，それぞれ$C_2H_5^+$，$C_3H_5^+$の転位ピークである。アンモニアではNH_4^+転位のピークがベースピークである。イオン化に関与するエネルギの差により，メタンの場合のほうがフラグメンテーションの多いことが明らかに示されている。 EIではMcLafferty転位によるイオンピーク（M/e：74）がベースピークとなり，低質量側のフラグメントピークが非常に多い。

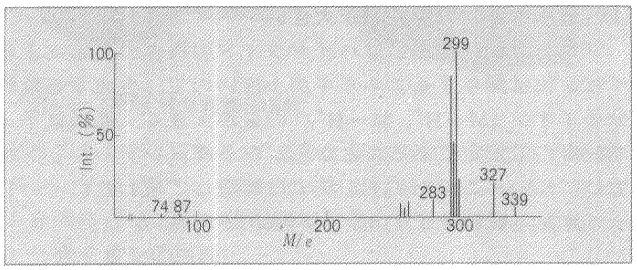


図4 CI Spectrum of Methyl Stearate (m. w. 298)
Reactant Gas：Methane

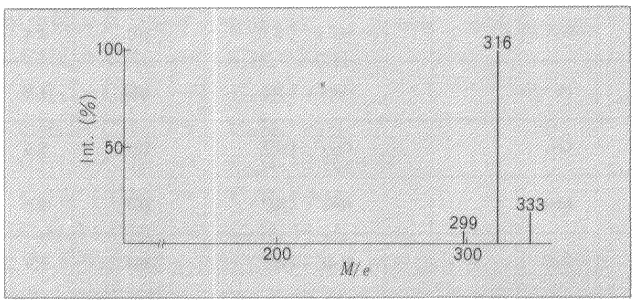


図5 CI Spectrum of Methyl Stearate (m. w. 298)
Reactant Gas：NH_3

4.4 アミノ酸

アミノ酸は蒸気圧が低く，EIでは転位イオンが多く，分子イオンの検出されないものが多いが，CIでは比較的簡単に測定できる。その例として，**図6**にメタンを反応ガスとしたVALINE（M/e：117），ISOLEUCINE（M/e：131）のスペクトルを，**図7**にMETHIONINE（M/e：149）のメタン，イソブタンによるスペクトルを示す。

アミノ酸のCIスペクトルは一般にプロトネイトされた疑似分子イオン（QM^+）の存在が大で，フラグメントとして，疑似分子イオンからH_2Oが脱離したピーク$(QM-18)^+$と，$COOH_2$の脱離したピーク$(QM-46)^+$が多くの場合特徴的なピークとなる。**図8**にそのフラグメンテーション過程を示す。

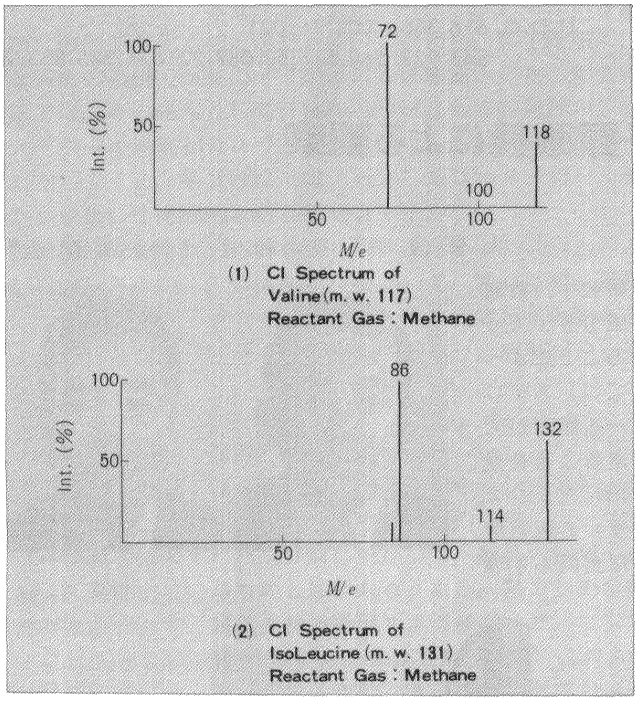


図 6

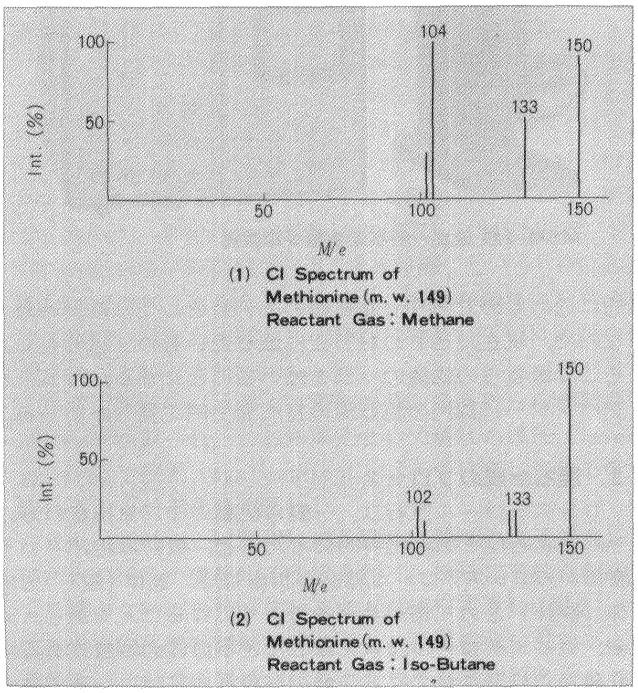


図 7

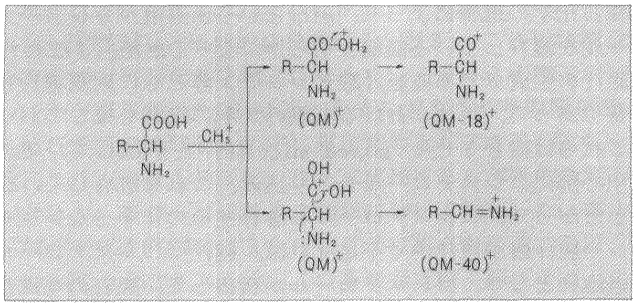


図8 Fragmentation Process of Aliphatic Amino Acid

4.5 生理活性物質

熱に不安定で，EIでは満足すべきスペクトルの得られない生理活性物質を測定してみた。**図 9** にEPHEDRINEの例をEI，CIメタン，イソブタンによるスペクトルで示す。

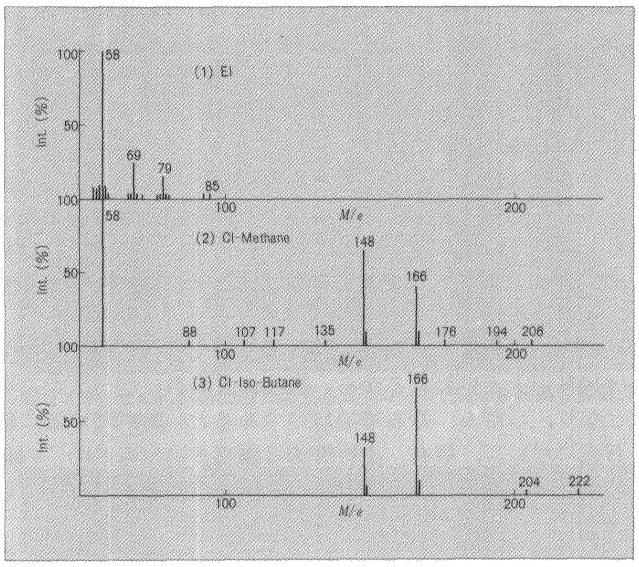


図 9　Ephedrineの一例

5. 緒　言

以上，CIMSにつき基礎的な測定を行い，不安定な微量物質に対し，CIMSが将来有用なアプローチのひとつであることを示すデータが得られたものと思う。今後はさらにGC－CIMSによる未知の微量代謝物の検出，反応論的研究など興味深い問題がとりあげられるであろう。また，ソフトな分析手法ということで，CIMSがEIMSと併用されるときも近いであろう。

終りに，CIMSにつき，いろいろご指導いただいた名城大学薬学部立松晃教授，田辺製薬発酵研鈴木真言氏，日立製作所那珂工場応技部菱田副技師長，電装部中島副技師長はじめ関係各位に感謝の意を表わします。

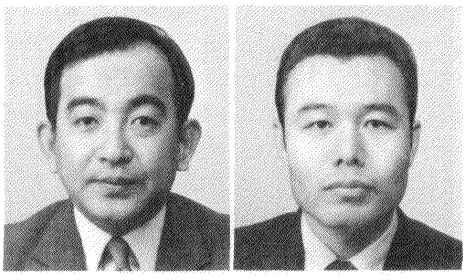
■参考文献

1) Munson, B.：Anal Chemi, **43** No. 13 28A (1971)
2) Fales, H. M. et al：Rev. Scientific, Inst, **42** No. 11 1578 (1971)
3) Milne, G. M. A. eta：J. Amer, Chemi, Soci, **92**：17 5170 (1970)　Amer,
4) Fales, H, M, etal：J, Amer, Chemi, Soci, **92**：6 1590 (1970)
5) 鈴木，立松：化学の領域 **27**－**10** 27 (1973)
（なお，本報告の一部を第8回有機マス討論会（1973年10月〔広島〕にて発表）

U.D.C. 616.366－003.7－021
547.922:548.51/.52.087.22:621.385.833.28

コレステロール胆石生成機転の走査電子顕微鏡による観察

大菅俊明* 三田村圭二* 松本健次**



1. はじめに

胆石症は遠くエジプトの昔から記載があるほど古く，ありふれた病気である。不思議なことに，胆石症はほとんどヒトに特有の病気といってよいくらいで，他の動物には極めてまれであり，ウシの胆石などは絵具の材料として画家に珍重されたという。

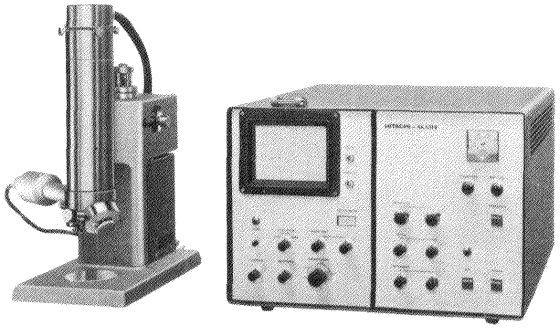
現在，胆石症のひん度は，日本では7％くらい，欧米では10％以上といわれるから，胆石保有者数はぼう大なものとなり，しかも，なお増加しつつあるといわれている。胆石症に対して，現在，手術療法は確立されたものの，内科的には無力であり，食餌療法の原則すら明らかになっていない。

なぜ胆石が発生するかという疑問は，100年以上も前から医学者の興味をひき，数多くのすぐれた業績が生れたが，それらは胆石生成という大きな物語の一面を説明したに止まるものが多かった。しかし，最近急速に研究の進展が見られ，筆者らも二三の知見を得ることができたので，その概要を報告する。

2. リスザルによるモデル胆石症

昔から胆石は中年肥満の女性で経産婦に多いといわれたが，今日の統計ではこのことは必ずしもあてはまらない。ヒトの胆石には2種類あり，主にコレステロールからできているコレステロール系石と，ビリルビンなどの色素からできている色素系石とに分けることができる。三宅らの成績によると，アメリカ人の胆石はコレステロール系石が大部分を占め，これと対照的に香港の胆石は色素系石が大部分である。日本人の場合はその中間で，コレステロール系石のほうがやや多いが，色素系石もかなり多かった。また，日本における過去と現在とを比較してみた中山らの成績では，コレステロール系石の占める比率が増加してきている。これらのことから，日本の胆石症は明らかに時代とともに変遷しており，コレステロール系石の増加は，生活習慣や食事内容の西欧化と関連しているものと思われる。

胆石の成因の理解が困難であった原因のひとつは，適当な動物に実験胆石症を作製することが困難であったことにある。細菌を胆嚢に感染させたり，胆道を縛って胆汁流を鬱滞させたりして，動物に胆石を作ろうと試みられてきたが，結局，1952年Dam教授らが作製したモデルが現在まで最も多く用いられてきた。Damらは必須脂肪酸欠乏食をハムスターに与えて，筋萎縮症の研究中にこのモデルを見出したのであった。1971年，筆者らはPortman教授と南米産のリスザル（Squirrel monkey）を使用して動脈硬化症を研究中，食餌成分を工夫することによってコレステロール胆石ができることを見出した。リスザルの胆石症は食餌も生理的に近いものであり，霊長類のモデルとしては最初のものなので，現在，ヒトの胆石症に最も近いものと思われる。そこで筆者らの成績の一部を述べることにする。なお，チンパンジーに数例の胆石症の自然発生例が見られている。



MSM-2形 日立一明石走査電子顕微鏡

3. 胆石生成のプロセス

コレステロール胆石は，一般に胆嚢の中に見出される。その生成過程を物理化学的に考えると，最初は胆汁という液相からコレステロール結晶が析出して，固体（胆石）と液体（胆汁）との二相が共存するようになることである。元来，コレステロールは水にほとんど不溶性の物質であるが，肝臓から排泄されてくる正常の肝胆汁中にはコレステロールがかなり多量（約100mg/dl）に溶存されている。近年の膠質化学の進歩によって，胆汁という水溶液がコレステロールを溶存している機構が明らかになってきた。すなわち，胆汁の主成分である胆汁酸とレシチンはともに両親媒性物質であって，生体における天然の洗剤の役割を果しており，これらは複合ミセル（mixed micelle）を形成して，その中心部にコレステロールをとり込み，これを溶存している。したがって，コレステロールを溶存するのに十分なレシチンや胆汁酸が胆汁中で不足すれば，胆汁はコレステロール過飽和となり，コレステロールが析出して，胆石の生成が始まることになる。

* 東京大学医学部 第1内科，医博
** 日製産業㈱ 日立理化学機器センター

リスザルにおける食餌性の実験胆石症の成立順序は3段階に分けて考えることができる。すなわち，第1段階で，食餌などの誘因が肝のメタボリズムに働きかける。第2段階では，その結果として肝臓から排泄される肝胆汁がコレステロール過飽和になり，コレステロール結晶が胆汁から析出してくる。第3段階では，析出したコレステロール結晶が成長して肉眼的な胆石に発育する。

第1段階の食餌の影響を調べてみると，一つのばあいとしてコレステロールや飽和脂肪が多いと，それは胆汁脂質（コレステロール，胆汁酸，レシチン）の組成比に影響を与え，肝胆汁はコレステロール過飽和となり，胆石がひん発するようになる。

4．胆石の形成と発育

胆石生成の第2段階では，胆汁の中からコレステロールが析出する。コレステロール過飽和胆汁の中で，コレステロール分子は凝集したり分散したりして，結晶の胚芽（embryo）を作っているものと思われる。もし，熱力学的な条件がととのって，結晶の析出を促すようになると，コレステロール分子は不溶性の核（nuclus）を形成する。このような核の形成には，同種の分子を核とする均質核形成（homogeneous nucleation）と，他種の分子や異物を核とする異質核形成（heterogeneous nucleation）とがある。

コレステロール胆石形成の場合に，過飽和胆汁の中からコレステロールが析出し，その結晶が成長して行くことは理論的に推測される。しかし，これまでに，実際にどのような形で結晶が析出し，成長し，組立てられて胆石になるかを示した成績はなかった。そこで筆者らはリスザル胆石症を用いて，肝胆汁と胆嚢胆汁を採取し，MSM-2形 日立-明石 走査電子顕微鏡（以下「走査電顕」という）や位相差顕微鏡で調べてみたところ，種々の形態を示すコレステロール結晶が見られ，結晶から結石に成長して行く過程を推測することができた。

まず，胆汁中には多くの菱形のコレステロール単結晶（約5μ）が見られ，これらが主として層状の成長（layer growth）や凝集（aggregation）によって成長している像を認めることができる（**図1**）。

また，これらとは別に，結晶成長の第3のタイプとして細片状の結晶が凝集して小塊を作り，さらにそれらが凝集して微小な結石を作っていることが観察できた（**図2**）。このものを位相差顕微鏡で眺めると一見車輪状に見える。おそらく，このタイプは，結晶が不規則な細片であることから，理想的な結晶条件ではなかったところに起きたものと思われる。凝集または層状に成長した結晶は一定の方向をもって重層し，板状の構造を作る（**図3**）。この板状構造は肉眼的な胆石の基本構造になっているが，この構造のいくつかが寄り集った30～100μ前後の大きさの非肉眼的微小結石をすでに肝胆汁の中に見出すことができる（**図4**）。

これらの微小結石は，さらに成長すると肉眼的な胆石になるが，筆者らはこれを3種類に分けて観察した。第1は胆石生成食餌開始後3か月目ごろに得られる若い石で，砂粒程度の大きさである。これを走査電顕で調べると，上に述べた板状の基本構造が不規則な方向に重なり合っている（**図5**）。

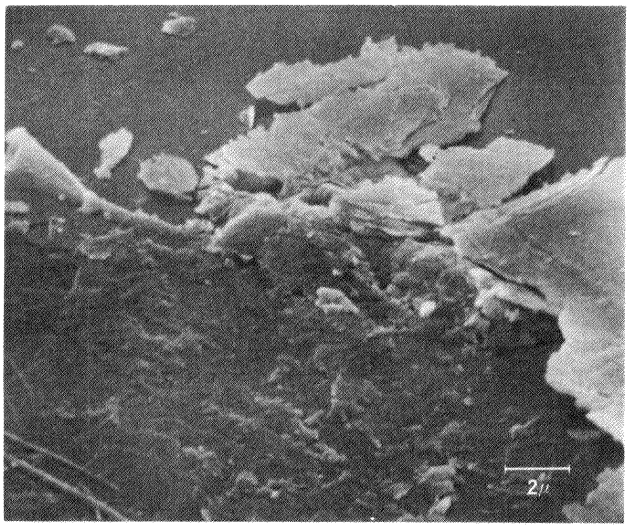


図1　リスザル胆石症の胆汁に見られるコレステロール結晶の重層像（×6,000）

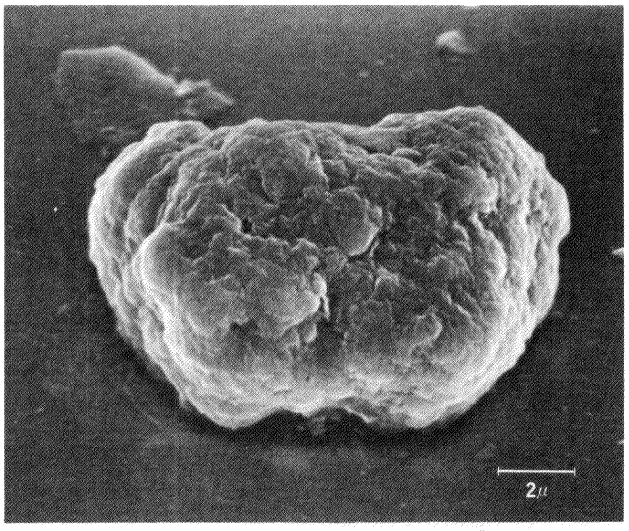


図2　コレステロールの細片状結晶で構成されている微小結石（×7,000）

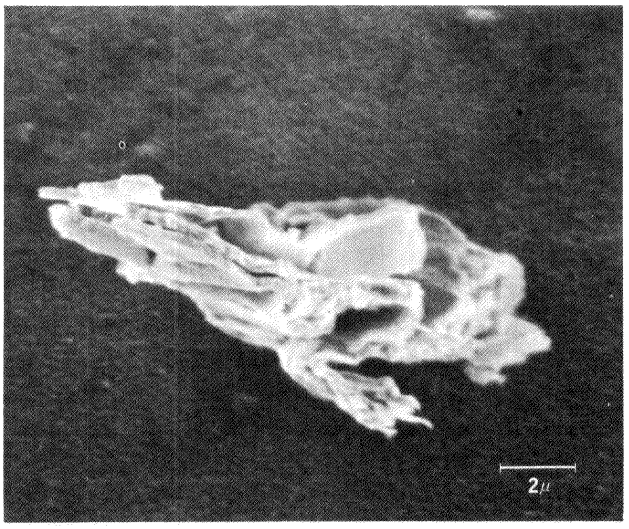


図3　コレステロール結晶の板状基本構造の重層像（×6,000）

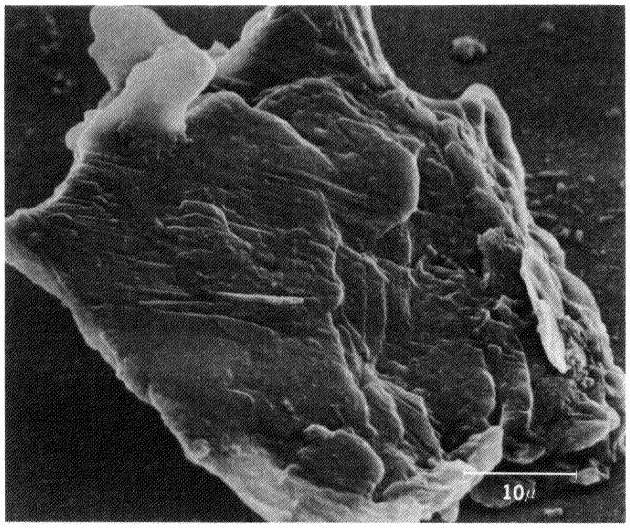


図4　肝胆汁に見られた微小結石
（×2,000）

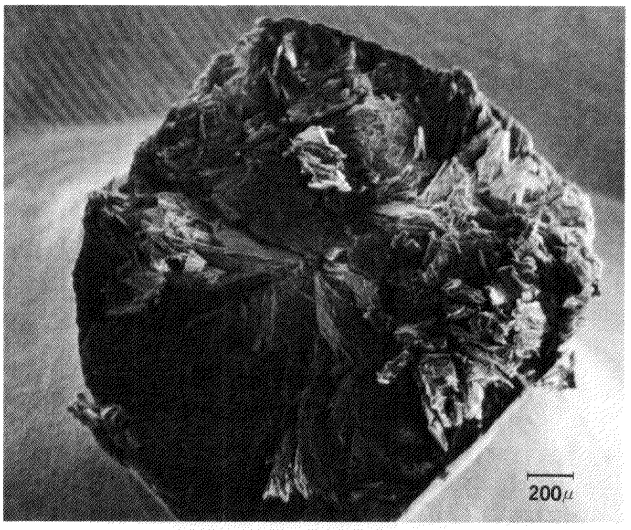


図6　胆石生成食餌6か月でできた球状の結石の割面
（中心部は空洞で、板状の結晶構造は中心から放射状に配列されている）
（×40）

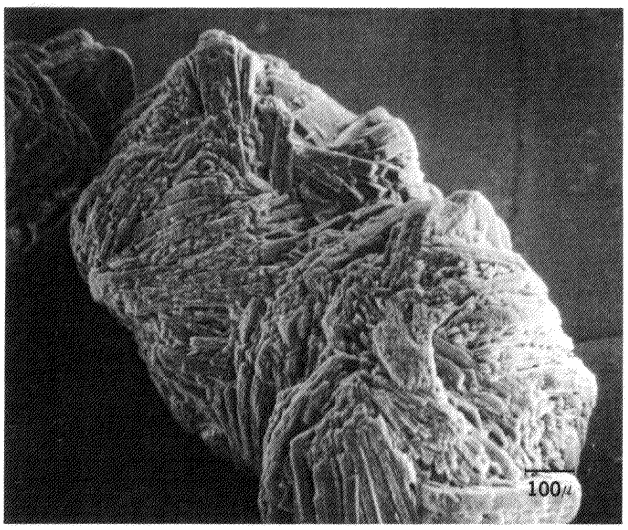


図5　胆石生成食餌3か月でできた砂状の結石
（板状構造の重層した層が不規則な方向に組合わされている）
（×80）

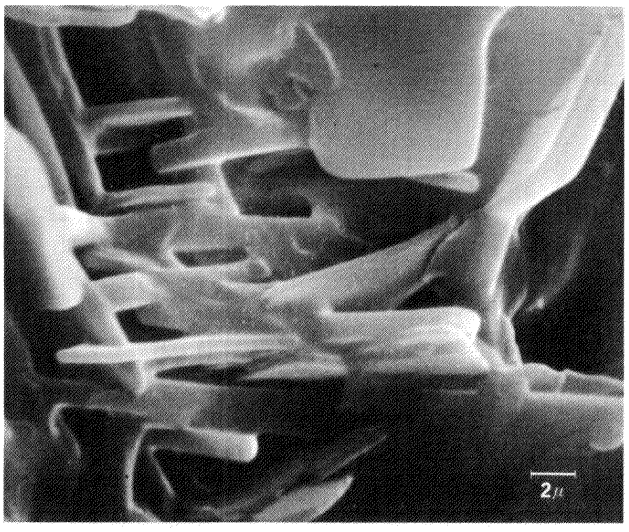


図7　図6の結石の表面の拡大像
（板状構造の多くは表面に垂直に配列している）
（×4,000）

2番目の胆石は，6か月以降に見られる中年の石で球状をしている（**図6**）。従来，胆石の成長様式については2説が対立していた。ひとつは胆石は中心から外方に向って成長するというのに対し，他のひとつは，最初に胆石の外殻が固って，だんだんと中心部に向って固化が波及して行くとするものである。リスザルの球状の胆石の割面を見ると，その中心部は空洞になっており，結晶は中心から外方に向って放射状に配列されている。また結石の表面においては結晶の方向は中心に向って垂直である（**図7，8**）。

胆石の中には，その中心部の近くにビリルビンを巻き込んでいる像が見られるが，中心部ではなく，また細菌の姿も中心部には見られないので，これらの胆石生成のスタートは異質核形成によるものではなかったと推測される。ただし，最も厳密な意味では，Caイオンなど見えない物質が核となった異質核形成の可能性は否定できない（**図9**）。

3番目の胆石は，9か月以上飼育した例から得られる多葉性または桑実状の結石で，その割面を見ると，一段と小さな結石の凝集によるものであることがわかる（**図10**）。

ここで興味深いのは，単結晶や結晶の凝塊の表面に溶解像が認められたことである。また，若い石と中年の石とを比較すると，前者の表面はいったん溶解したと考えなくては説明がつかない。これらの事実により，胆石は胆汁の中で溶解と成長を繰返しながら成長するものと考えられる。このことは，胆汁組成には日差変動があって，コレステロール過飽和と未飽和の間を変動していることや，腸肝循環（胆汁酸）の生理的なしゃ断が胆汁組成をコレステロール過飽和にしている事実によって支持されるものであろう。

また一方では，胆嚢の中では，胆汁は均等に混和されているわけではなく，層状に濃縮度の異なった胆汁が積み重なっているといわれている。また胆嚢壁は水分を吸収して胆

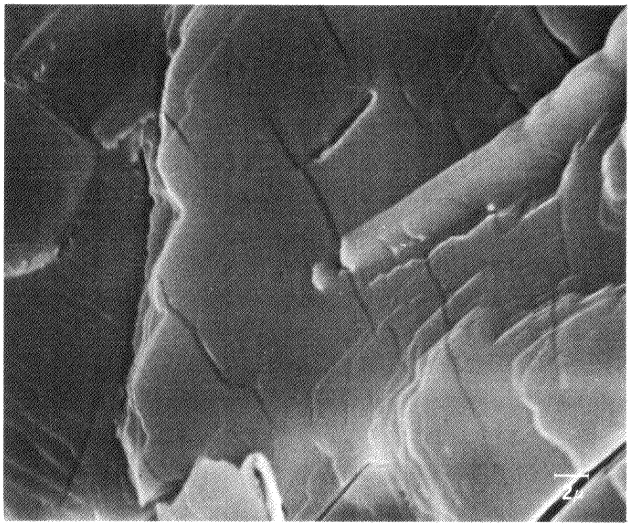


図8　図6の結石の内部の拡大像
（×3,000）

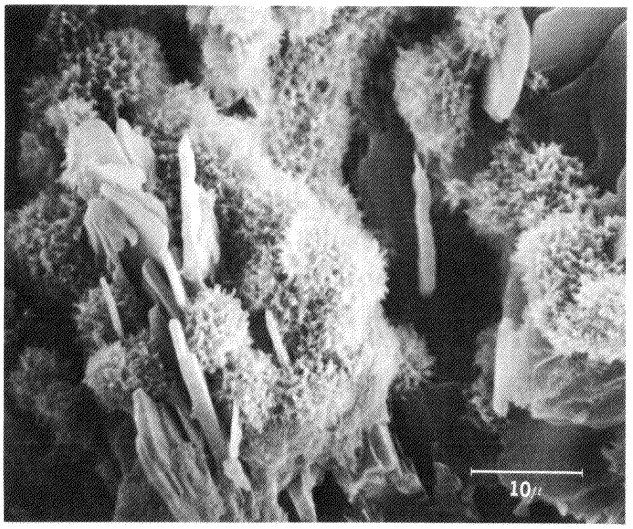


図9　胆石の内部に見られたビリルビンと思われる球状構造
（胆石の中心には存在しなかった）
（×2,000）

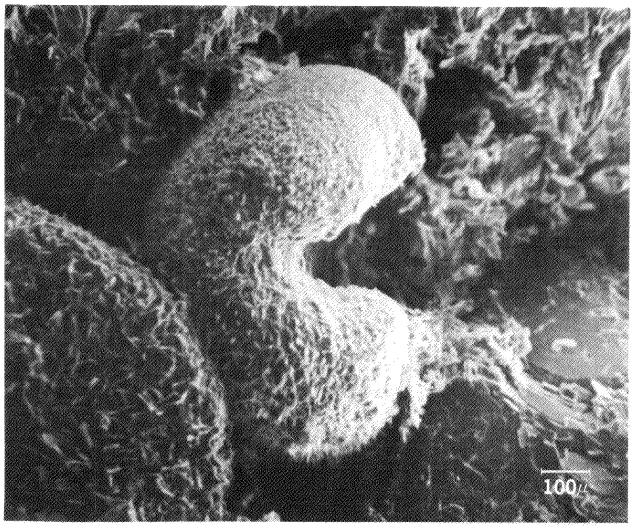


図10　胆石生成食餌9か月以上のものに見られた桑実状結石の割面の拡大像
（小結石の複合によったものと思われるが，その接着面にムチン様物質は見られない）

汁を濃縮しているから，当然，胆嚢内壁と胆嚢中心部では濃度差が生じることになる。このように胆嚢の中の環境は複雑であるから，その条件によっていろいろなコレステロール結晶が生れるものと考えられる。

5．肝臓と胆嚢の役割

以前から，胆石ができるためには肝臓が主役を演じており，肝臓から結石あるいはその核になるような物質が胆汁の中に排泄されているとする考え方があった。これに対して，胆嚢を重視する立場からは，胆汁はここで濃縮されるが，胆嚢の中の胆汁の環境が上に述べたように複雑なためにコレステロールの析出を促すことが多く，またそのためには胆嚢粘膜からのムチンの分泌が大事であるという主張もされてきた。鉱物学者の門をたたくと，薄い肝胆汁が胆嚢の中に流れ込み，そこで水分が吸収されて10倍以上にも濃縮されるようなシステムは，ちょうど人工結晶を作る操作に似ているらしい。生体がそのような装置をもっているならば，コレステロール結晶が析出してくるのは当然であるという。

実際，筆者らの走査電顕による観察でも，上に述べたように，正常食餌群でも，胆石食餌群でも，その肝胆汁あるいは胆嚢胆汁の中に多くのコレステロール結晶を観察することができた。したがって，コレステロール過飽和胆汁の排泄というのは，案外　普遍的な現象であって，必ずしも病的といえないかもしれない。問題は，なぜ，すべての例が胆石を発生しないのかということになろうが，筆者らの観察し得た結晶の溶解像，あるいは胆嚢の収縮による微小結石の排泄，あるいは胆道系の胆汁流による結晶の腸管内への排泄などがその理由の一部になり得よう。

リスザルにおける食餌性モデル胆石症の研究から，現在までに得られた成績を総合して考えてみると，食餌成分の変化による肝代謝の反応によって，肝胆汁はすでにコレステロール過飽和となっているから，胆石生成における肝臓の重要性は疑いない。また一方，その独特の機能によって胆嚢が胆石の生成に果たしている役割も無視できない。おそらくは，この肝臓の因子と胆嚢の因子との組合せが個々の症例において異なっていると思われる。逆にいえば，胆石症の成因は症例ごとに異なる複雑なものと考えられる。また，本稿で述べた実験胆石症の成立機序はヒトの胆石，ことに感染などを主体とせず，むしろ食餌などの誘因によってひき起される代謝異常性の胆石の成因に共通するものを多くもっていると思われる。

6．おわりに

胆石症の成因は臨床例やモデル胆石症における成績によって理解が深まってきている。しかし，胆汁の中からコレステロール結晶が析出し，どのように成長し，組立てられて肉眼的な胆石にまで発展して行くのかという最も直接的な過程は，今まで知られていなかった。筆者らは胆汁中の

結晶の成長過程をリスザル胆石症を用いて観察することができたが，そのためには走査電子顕微鏡が威力を発揮したことを付言しておく。

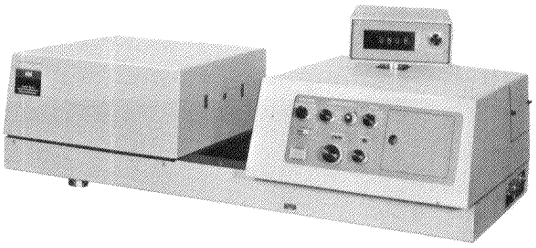
さらに最近，われわれは上記の知見にもとづいてヒトの胆石症についても観察したが，ほとんど同様の所見を得たこともつけ加えておきたい。

■参考文献

1) Osuga, T. & Portman, O. W.：Experimental formation of gallstones in the squirrel monkey Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 136, 722 (1971)
2) Ogata, T. & Murata, F.：Scanning electron microscopic study of cholesterol gallstones Tohoku J. Exp. Med. 104, 25 (1971)
3) Osuga, T. & Portman, O. W.：Relationship between bile composition and gallstone formation in squirrel monkeys. Gastroenterology 63, 122 (1972)
4) Osuga, T., Portman, O. W., Mitamura, K. & Alexander, M.：A morphological study of gallstone development in the squirrel monkey. Laboratory investigation (印刷中)
5) 大菅俊明：胆石の成因．高橋，織田編，Recent advances series 肝臓 '72，中山書店，東京 (1972)

新製品紹介

新しい分野を開く，完全開放の大形の試料室
多様な操作モードと，濃度直読，波長走査は全自動



808形 日立2光束複分光光度計

このたび，日立では，新たに808形日立2光束複分光光度計を開発いたしました。

808形は，2光束方式ならびに2台の分光器を採用した複分光方式による光度計で，あらゆる紫外可視吸収スペクトルの測定に適用できます。特に大形の試料室は，完全開放になっているため，従来困難であった大形の試料や，測定中に試料を反応させるなどの全く新しい分野にも適用できます。

応用例：試料室での滴定測光，酵素反応などの温度制御を必要とする測定，紫外可視の領域にわたり吸収をもつ試料の測定，ビーカなどの大形の試料セルを用いた測定，加水分解など，時間とともに反応の進む変化のリピートスキャン，高濃度試料の吸収ピークの部分拡大。

特　長

1．試料室は完全開放されており，外部光が照射しても測光値は狂いません。試料室の幅は 200mm 2光束の間隔は 180mm で試料室には蓋がなく，前後上下の4方向には制限がありません。
2．紫外可視の全波長域(190～850nm)を全自動で一気に記録できます。350nm での光源切替は，スキャン停止―光源切替―スキャン再スタートが全て自動で行われ，その間，出力の乱れや波長ズレはありません。
3．グレーティングプリズムの複分光方式です。迷光が少く，吸光度0－3が標準となっています。
4．ゼロサプレッションがついており高濃度試料の部分拡大ができます。
5．全波長域を一定のバンドパスで測定できます。所定のバンドパスに設定しますと，どの波長域でも同一の分解能がえられます。バンドパスは0.1～4nm の間で連続可変です。
6．波長走査速度は4段切替，および連続的に変えることができ，任意の速度にセットすることができます。波長は走査を止めたとき，自動的にロックされ，波長ズレは生じません。

〈編集後記〉

■本号の展望は，計量計測機器調査委員会のメンバーである筆者が，省エネルギ時代の国の政策との関連において，大きな可能性をもつ計測器の将来のビジョンについて私見を述べたものです。
■本号の報文では，日立が世界にさきがけて製品化したゼーマン水銀分析計について詳細に報告いたしました。
■超高速度現象の一つであるけい光の寿命測定を可能にした時間分解測光装置は，けい光分析の範囲を拡大するものと考えます。
■本ニュースへの，未発表または既発表の報文のご投稿を歓迎致します。その際は，日立製作所　那珂工場　応用技術部または日製産業(株)　精機企画室宛ご連絡下さい。

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) 501－5 3 1 1

THE HITACHI SCIENTIFIC INSTRUMENT NEWS
APRIL, 1974, Vol. 17 No. 2
発　行　昭和49年4月1日
(年6回　毎偶数月発行)
発行人　比良清一
編集人　野田　保　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