

THE HITACHI SCIENTIFIC INSTRUMENT NEWS

OCTOBER 1974

VOL.17 NO.4/5

目 次

巻 頭 言

自動分析機器の功罪……神原 周 … 1

報 文

Freeze Etching の問題点——

Etching 時間による像への影響

塩野 裕 小川良彦 飯田広夫 … 3

生物試料へのイオンエッチングの

応用……山田満彦

水谷 隆 藤田恒夫 服部 晃 … 7

走査電子顕微鏡による、硫化水素

ガス吸着除去のための吸着剤の

観察……

棚田成紀 坊木佳人 和田正夫 … 12

迅速濃度測定装置の臨床検査への

応用……大川義栄

野上有信 横瀬泰三 小森律夫 … 17

日立ゲル3010の分離特性に関する

一考察……

……妹尾節哉 高萩英邦 … 22

634形 日立液体クロマトグラフに

よる家庭用品の分析……

藤原喜延 岩淵 等 浜野吉政 … 26

新製品紹介

HCP-AUTO 形 日立自動臨界面点乾

燥装置……25

次 号 予 告 …… 11

巻 頭 言

U.D.C. 543.08.004.1

自動分析機器の功罪

神 原 周*



1. はじめに

功罪などというと、よほど罪深いことでもしているようで聞き捨てならぬと受取られるかも知れないが、ここはまあ、余りにしないで、読み進んでいただきたい。

いろいろ重宝な自動分析機器、観察測定装置などが次々と開発や市販され、確かに非常に便利になったが、どうもじっくり落ち着いた心のこもった分析をやる人がだんだんと減ってゆき、とんでもないデタラメをやるような事件も起り、まことに困ったことである。これは機器を使うほうの人間に責任があり、機器メーカーに文句をいう筋ではないが、機器分析の中には事実いろいろな落とし穴があるので、そのことに眼を向けていただくために、この欄を借りて平素の所懐の一端を述べようと思う。

2. 自動分析機器の発達

近ごろいろいろな自動分析機器や自動測定装置が発達し、その恩恵は測り知れないものがある。これら機器・装置の進歩・発達は今後ますます大きな力をもって続けられ、精確な結果が立ち所に得られるようなより完備した便利なものが続々と商品化されるであろう。それらが余り高価なものとならず、多くの機関で容易に購入し、設置できるように普及されることを願ってやまない。それら新鋭の機器について政府も特別の予算措置、税制上の優遇措置などを考え、あるいは国・公・私立の大学、研究所などでもそれらを安く利用できるリース制度の普及もその発達、普及に役に立つであろう。

今後わが国の産業は知識集約型のものに大きく変るものと予想され、研究投資はいよいよ大形化し、巨額なものになるであろう。その投資効率を高めるためにも、高価な自動分析、測定装置などに対しては電子計算機とともに税制その他の面で手厚い保護、育成を考える必要がある。

3. 使う人間のしつけと腕

一方、そのような便利な道具が普及すればするほど、分析者、測定者は横着になり、細心の注意を払わなくなり、巧緻な装置をまるまる信用し、それにまかせきりになる傾向がひどくなる。その中にどんな落とし穴があるかを考えてみようもしない。それから起るさまざまな錯誤はまことに困ったことである。

* 東京工業大学 名誉教授、化学品検査協会 理事長、
日本環境測定分析協会 会長、工博



私自身、現在化学品検査協会、日本環境測定分析協会の要職を引受け、社会的な注目の的に立たされているので、その責任の重大さを痛感するとともに関連分野の作業の中で知らぬ間にそのような錯誤が入ってくるのではないかと深くおそれている。

全部の方がそうであるわけではなく、むしろごく少数のまれな例が大きく目立つのであろうが、最近分析に従事する人の中にはどうも分析の仕事には不適格な性格の人はいっているのではないかと思わざるを得ない。これは、一般に心のゆelmi、人間的しつけの不足といった点にその原因があるのではないかと思うが、戦後の教育の偏向・弱体化、社会全体の粗雑さなども影響し、じつくりと根気よく分析の仕事に打込む人を育てることが非常に困難になっている。

しっかりした分析をやるには、折り目正しい人間としてのしつけがその出発点となる。そのようなしつけをしっかり身に付けずにどんな立派な機器をあてがっても、その結果はかえってよくない。世間が忙しくなり、便利になり、どこに行っても自動天秤が手軽に使えるのはよいにしても肝腎の天秤が正確であるかどうかという初歩的な、しかし最も重要な点のチェックに気を配るという心がまえができていない。甚しい場合は、自動天秤の皿に錆がこびり付いていても平気である。天秤の皿を錆びさせるなどはもってのほかで、分析屋の風上どころか仲間にも入れたくないのだが、そうばかりもいっておられない。上の人もやかましく叱りつける親切心もなく、親身になって教え込む暇もない。そうした環境では、いたずらに年月を重ねたところで使い馴れた装置の操作だけはうまくなるが、分析の腕が磨かれるところまではとても行かない。

4. カラーテレビのようなもの

近ごろの重宝な自動分析機器はカラーテレビのようなものだと思う。スイッチを入れればすぐきれいな画面が出てくるし、いやになればスイッチを切ればすむ。テレビの原理や構造について勉強する必要もなければ、うつし出される映像の語りかけるものについてじっくり考え、それを自分の頭の中にたたみ込み、身につける労力もいらず、またそんなことをやっている時間のゆとりもない。映像は次々と待たなしにうつり変って行く。少しぐらいの画面の調整はあちこちのつまみをやたらにひねっているうちになんとなくきれいな色になってしまう。少し面倒な故障が起ればすぐ電気屋さんのごやっかいになる。

新鋭の分析機器もこれによく似ている。どんな試料でも使用書に書いてあるとおりの手順で、一定の個所にほうり込んでボタンを押さえれば、後はほとんど自動的に分解し、測定し、その結果を計算し、最終の分析値がタイプされて表示されて出てくる。まことに重宝この上なく、このような機器がなかった時代には考えも及ばなかった大仕事を手がけることもでき、また短時日のうちにはとうていこなせきれなかったぼう大な試料を扱うこともできる。ところが、その試料の採取、予備的な分離精製の技術などが稚拙であったり、あるいは多少の手抜きがあった場合でもとにかく最終の分析値は表示される。機器の中のどこかに

故障が起き、それが最後の数値に影響を与えているときでも、その故障を発見することは極めてむずかしい。分析系統は正常に動いていても、計算、表示系統が狂いを出すと誤算した結果がもっともらしく表示される。最近のテレビ文化、漫画文化で育った人たちはその過程にどんな誤りが含まれていようが、それらに疑いを抱くことはほとんどない。自動的に羅列された結果はすべて正確なものとしてのみこみ、それを報告すれば仕事が片づいた気である。その中には、作為的にデータを書き直すとか、でっちあげるといような「悪意」は全く含まれてはいない。それだけに分析者自身はなんの反省も自覚もなく全く平気であるが、その結果が時によっては大きな社会問題を引き起こすことさえおきてくる。

5. よりよい方向へ

このような問題を少しでもよりよく、是正してゆくには気の長い根本的な軌道修正が必要であろう。分析者の心がまえ、しつけといっても子供のときからの教育が問題であり、各家庭、それが集合した社会全体の姿勢から正してゆかなければならない。さらに、具体的な自動分析機器の故障の早期発見、調整法などについても掘り下げた研修が望ましく、メーカー側で実施する研修も単なるお得意へのサービスというだけでなく、人間的鍛錬の面も重視してほしい。

また、いろいろな段階でクロスチェックすることも考慮に入れなければならない。経費、人員、整備する分析室の面積などの点で許されるならば、異なる原理によりあるいは異なるメーカーの作った数種の自動分析機器により必ず定期的にクロスチェックする組織を組むことも、知らぬ間にまぎれこむ錯誤を事前に発見し、排除するのに有効な手段である。

いま、具体例を詳しく記述している余裕はないが、メーカー側でも無作為に誤差がまぎれこむことを自動的に感知し、排除するような機能を備えた自動分析機器を研究、開発していただきたい。

なにも人間不信に軽率に味方するわけではないが、あらゆる方面に注意を払い、できる限りの手を打ち、自動分析機器が無実の罪による非難を受けないようにする努力を続けることは、自動分析機器や機器分析全体の信頼度、効果をより高めるのに大きく寄与するに違いない。

Freeze Etchingの問題点 —Etching時間による像への影響—

塩野 裕* 小川 良彦** 飯田 広夫*

1. はじめに

生物試料における Freeze Etching および Freeze Fracture などの Freeze Replica 法は、Artifact の発生が少ない試料作製法として、今日広く用いられている。しかしこの Freeze Replica 法においても、次の理由により Artifact の発生することが考えられる。

(1) 試料作製時によるもの

(a) 試料を凍結するとき、物質や密度の差によって生ずる膨張、収縮などの影響

(b) 試料内の水分の結晶化および氷晶化を防ぐために用いるグリセリンなどが試料に及ぼす影響

(2) Etching 蒸着時によるもの

(a) Etching 段階における過度の加熱によるもの

(b) 金属およびカーボン蒸着時の輻射熱による影響

などがあげられよう。われわれは、強制加熱方式による Freeze Etching 装置において、Etching 段階での問題点として、Etching 時間による像への影響を検討したのでここに報告する。

2. 使用した試料と装置

(1) 試 料

Clostridium botulinum type C Stockholm 株を1夜37℃で培養し、2%-glutaraldehyde で1時間固定、洗浄したのち、30% glycerin に浮遊させ、4℃に1夜放置したものを用いた。以下の操作手順は、「日立フリーズ・レプリカ装置講習会テキスト」(〔7〕p.26~30)(以下「講習会テキスト」という)に従った。

(2) 装 置

HFZ-1 と FE-1 形日立フリーズ・レプリカ装置を HUS-4 真空蒸着装置に取付けて使用した。

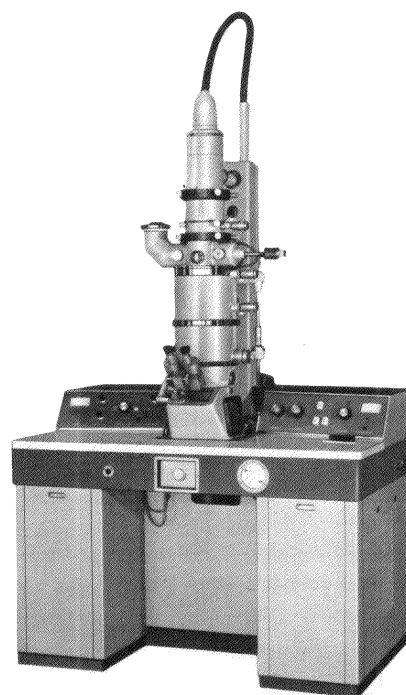
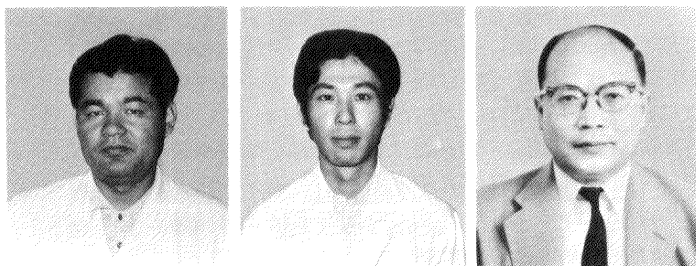
試料の観察は HS-8 形日立電子顕微鏡で行った。

3. Etching point の決定

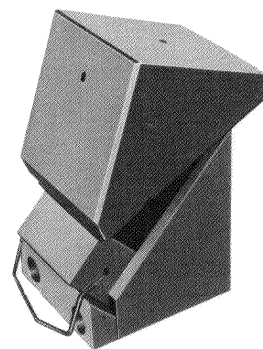
Etching point (EP) の決定は Freeze Etching において最も重要なことのひとつであり、初めて装置を使用する場合には、あらかじめ求めておかなければならない。

この EP は真空度によって異なるが、強制加熱による装置では、試料の Cutting point (CP, 2.5~3.0mV, -120~-140℃) からの加熱速度によっても影響される(加熱速度と EP の関係については別の機会に報告する)。

ここに示す EP の決定手順は、常法と異なり「講習会テキスト」の試料作製操作に準じて行った。すなわち、図1



HS-8形 日立電子顕微鏡



HFZ-1形 日立フリーズレプリカ装置

* 北海道大学医学部 細菌学講座

** 北海道大学医学部 中央研究部電子顕微鏡室



に示すように、(1) 真空度が 10^{-6} Torr領域、温度表示が $3.7\sim 3.9\text{mV}$ ($-150\sim -160^\circ\text{C}$)になっていることを確かめてから、ヒータ電流を徐々に上げて加熱する。(2) 温度表示がC Pになったら約1min待つ(試料をCuttingする際、大量の霜が飛ぶため、一時真空が低下するので、真空が回復するまで待つ必要がある)。(3) さらにヒータ電流を徐々に上げ、 $3\sim 3.5\text{min}$ をかけ、EP level(EL 2.0mV 、約 -100°C)まで到達させる。(ELは真空度によって影響される。この実験は 1×10^{-5} Torr付近で行った)。ELに達したら、ヒータ電流のつまみを加減して温度表示を一定に保っておく。この温度指示がEL点に達した時点では、霜は飛ばない。(4) ELに達してから約1.5minくらいすると試料台の回りの霜が飛び始める。続いて試料表面の霜が昇華する。この点をEPとした。ELに達してからEPに要する時間をEtching時間とした。

4. Etching 時間と像の関係

Freeze FractureおよびFreeze Etchingにける、Etching段階の種々の点、図1のA、B、C、D、EおよびFの点のレプリカ膜を作製し、像の比較を行った。

(1) Freeze Fracture 像

破断面は平滑で氷晶は認められず、試料は不鮮明である(図2、3)。

(2) A 点の像

氷晶や氷晶跡が認められる。試料はあまり鮮明とはいえない(図4、5)。

(3) B 点の像

A点の像とほぼ同様であるが、氷晶がA点より大きいようである(図6)。

(4) C 点の像

氷晶が大きく明りょうに認められるようになるが、試料はまだ不鮮明でEtchingされていないようである(図7)。

(5) D 点の像

氷晶が昇華したことを示す像(氷晶跡)が多く散在する中に、種々の大きさの氷晶が残っている。このことはEtch-

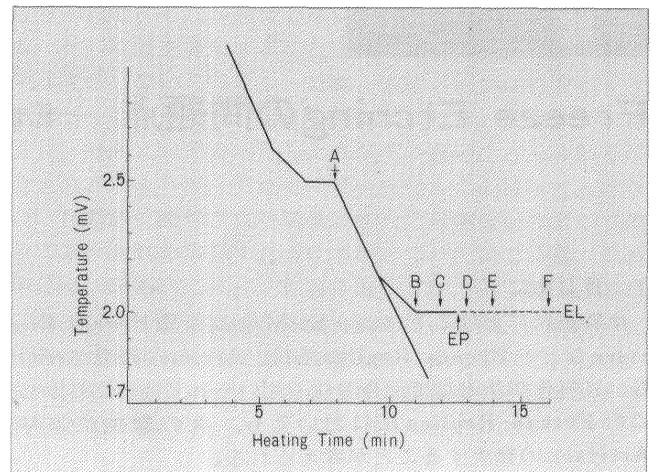


図1 EPの決定手順

ingが始まったことを示しており、試料像にも起伏が現われ鮮明になり、ほどよいEtchingが起っているようである(図8)。

(6) E 点の像

氷晶は見られず、氷晶跡だけが認められる。その氷晶跡は多少崩れかけた像を示した。試料表面は像の起伏がさらに大きく鮮鋭となっている(図9)。

(7) F 点の像

氷晶跡が崩れていたり、あるいは氷晶跡が消失して滑らかな面となった像を示した。試料表面は起伏が増し、ところによっては菌体の最外表面の像に乱れが認められた。(図10、11)

図2～図11のスケールは、いずれも $1\mu\text{m}$ である。

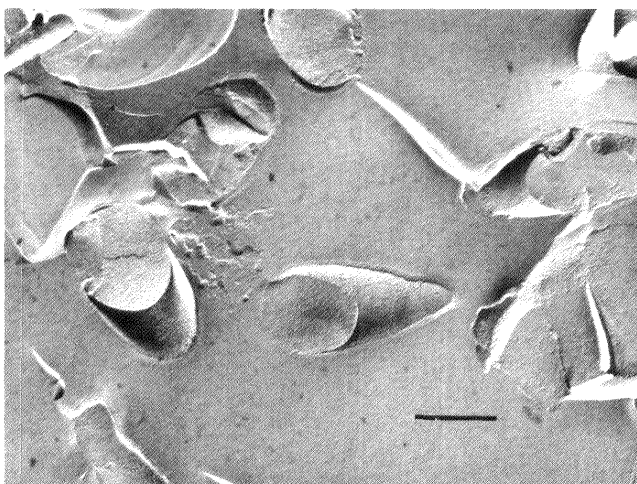


図2 *C. botulinum* type C のFracture像
破断面は平滑で、氷晶は認められない。



図3 *C. botulinum* type C のFracture像
破断面は平滑で、氷晶は認められない。



図4 *C. botulinum* type C のA点の像
Freeze Etching における試料破面点では、小さな氷晶が認められる。



図5 *C. botulinum* type C のA点の像
Freeze Etching における試料破面点では、小さな氷晶が認められる。

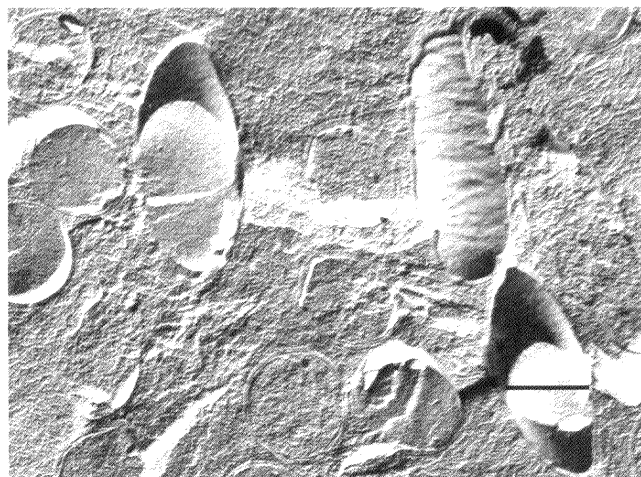


図6 *C. botulinum* type C のB点の像
Freeze Etching における Etching level 到達点の像は氷晶が多少、大きく成長している。

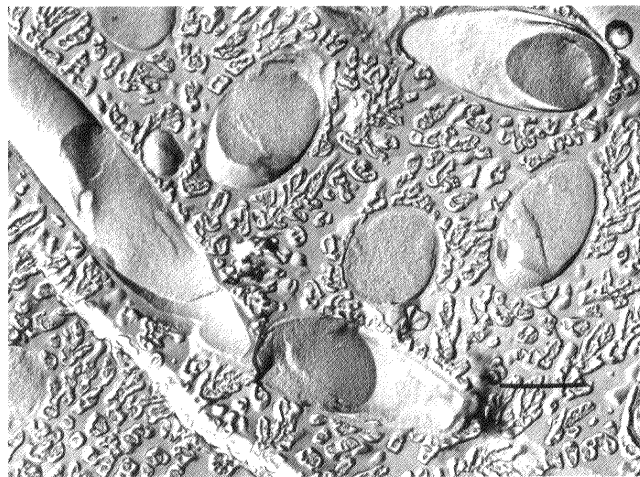


図7 *C. botulinum* type C のC点の像
Freeze Etching におけるEL、到着後1分の像。氷晶が大きく明りように認められ、試料はまだ Etching されていない。

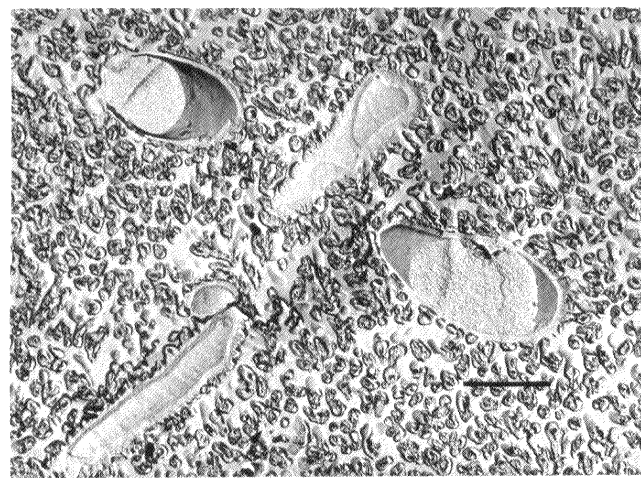


図8 *C. botulinum* type C のD点の像
EL 到達2分後の像。氷晶が昇華したことを示す像が認められ、さらに氷晶跡に小さな氷晶が残っている。

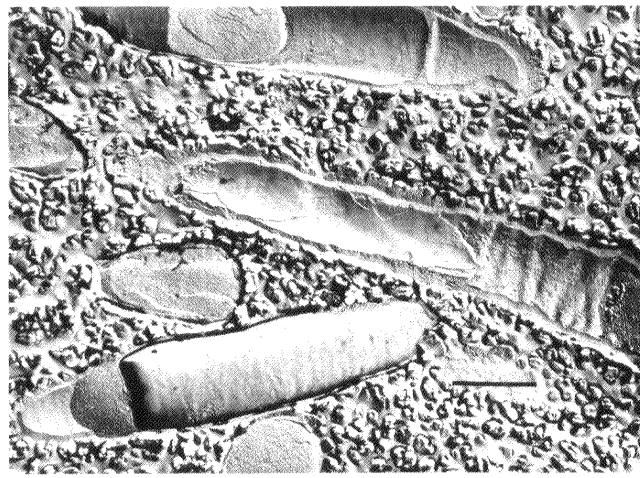
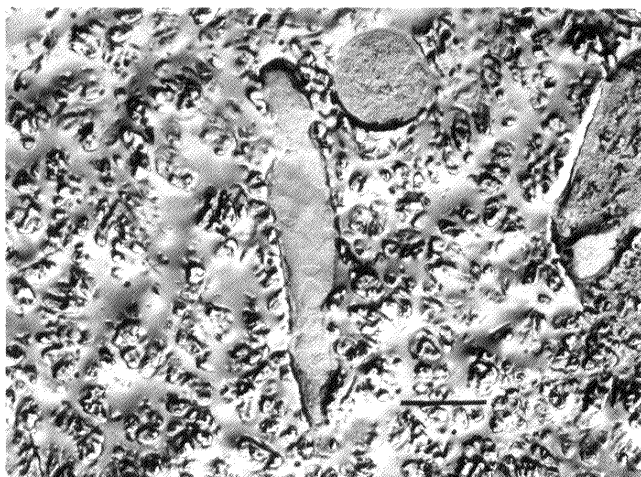


図9 *C. botulinum* type C のE点の像
EL 到達3分後の像。氷晶跡が多少崩れかけている。

図10 *C. botulinum* type CのF点の像

E.L.到達5分後の像。氷晶跡が崩れているのが明りょうに認められる。

図11 *C. botulinum* type CのF点の像

E.L.到達5分後の像。氷晶が消失して滑らかな面となった。しかし、菌体最外表面に像の乱れが認められる。

5. 考察ならびに結語

細菌細胞を用い、常法と異なるEP決定法により、Etching時間とEtchingの程度および像への影響を検討した。その結果、この実験条件において細胞内に氷晶は認められないが、細胞以外に認められる氷晶はdramaticな変化を示した。Fracture像には氷晶は認められないが、CP点(A点 $-120 \sim -140^{\circ}\text{C}$)以後に氷晶が見られる。その氷晶の大きさは、A点 $10 \sim 50\text{nm}$ 、B点 $20 \sim 100\text{nm}$ 、C点 $50 \sim 400\text{nm}$ 、と時間とともに(温度上昇とともに)氷晶は大きくなっている。しかし、D点の氷晶は小さくなり、氷晶はすべて氷晶跡の内に入って観察される。この氷晶跡の大きさは $50 \sim 400\text{nm}$ とC点の氷晶とほぼ同値を示した。以上のことより、液化フレオンにより急速凍結した試料内には電子顕微鏡レベル以下の微細な氷晶が存在するが、温度上昇に伴い氷晶が成長するものと考えられる。

しかし、真空度との関係によって成長中の氷晶はやがて昇華してゆくため、氷晶跡を残すのみとなる。根井・浅田¹⁾は急速凍結された試料中の氷晶は、常圧下において温度上昇に伴い成長することを報告しているが、このことと一致する。

EP到達後は、氷晶は認められず、氷晶跡のみが見られるようになる。さらに時間の経過に伴い氷晶跡が崩れ、やがて消失してしまう。これは、たとえヒータ電流を調節して温度表示を一定の値で停止させていても、実際の試料表面の温度は徐々に上昇していると考えられる。試料像においてもこの温度上昇に伴う影響が現われることが示された。すなわち、EP到達以後の像は鮮鋭となり、やがて像に乱れが見られるようになった。この現象はEtching段階における過度の加熱によるArtifactの発生が起ることを示すものであろう。

以上のことより、(1) Freeze Etchingを行うために、液体窒素温度まで冷却した試料は必要以上に温度を上昇させないほうがよいといえよう。(2) Freeze Etching装置(強制加熱方式)の使用にあたっては、EPの測定は特に正確に求めることが重要であるとともに、試料作製におい

てEtching条件を十分に守ることにより、過度の加熱によるArtifactの発生を抑えることができる。

参考文献

- 1) 根井外喜男・浅田 実：低温科学，生物篇，30，45—63．(1972)

U.D.C. 57.086.3:537.534.8:621.385.833.28

生物試料へのイオンエッチングの応用

山田 満彦* 永谷 隆* 藤田 恒夫** 服部 晃***

1. はじめに

走査電子顕微鏡は、物体の表面形態を立体的に観察できるものであるが、極めて広範囲な分野の研究に用いられるようになってきた現在、表面形態ばかりでなく、その内部構造をも立体的に観察したいという要求が高まってきた。

物体を、加速されたイオンで照射すると、表面から原子がはじき出されて、物体の表面が侵食される。原子の放出は、イオンの種類と速度エネルギー、および被照射物体の原子の種類と結合エネルギーに依存している。したがって、イオン侵食によって試料の局所的な緻密性や、物質構成の差が現われてくることになる。

走査電子顕微鏡は、物体表面の微細構造を極めて高い分解能（熱電子銃形 100 Å、電界放射形 30 Å）で観察でき、侵食前後の表面構造を調べるのにつけての観察装置であるため、イオン侵食の研究は、最近の走査電子顕微鏡の発達とともに、にわかに活況を呈してきた。

2. 生物試料への応用

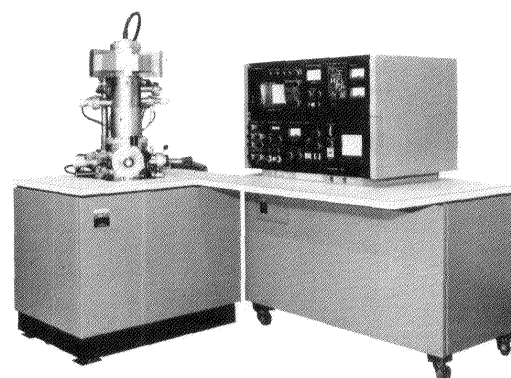
イオン侵食を生物試料（動物の細胞など）の微細構造の研究に応用しようという試みは、1968年ごろから、主としてイギリスの研究室ではじめられている。従来、生物組織や細胞の微細構造の研究には、試料をプラスチックに包埋し、これを超薄切片として透過電子顕微鏡を用いて調べたり、あるいは試料を割ったり切ったりして、走査電子顕微鏡を用いて剖面や断面を観察する方法が用いられてきたが、細胞の表層を“ひとかわ”はがして、深層を立体的に見たいという欲望は充たされない。

Lewis¹⁾らは、赤血球の内部構造が従来の方法では不明であることに着目して、赤血球の表面を、アルゴン・水素・酸素などのイオンを用いて侵食することを試みた。彼らの装置は、高真空（ 10^{-6} Torr）中における高周波放電（13.5 MHz）を用いたものであった。結果として彼らは、赤血球に内在する特殊なラジエータ状の稜線構造を認め、赤血球の中くぼみの円板構造を支持する構造ではないかと想像している。

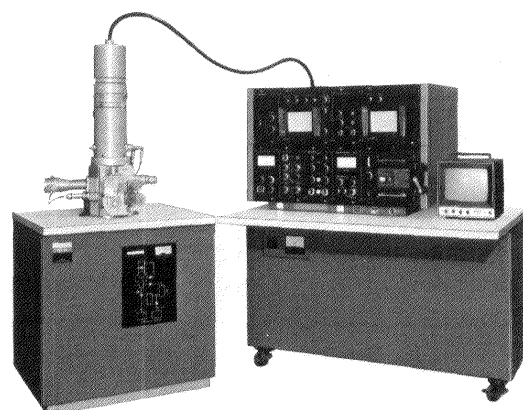
最近Hodges²⁾らは、動物の培養細胞とニワトリの赤血球を用いて、同様な方法で実験を行い、細胞表面が多孔性あるいは蜂の巣状に侵食されることを見たが、これらの構造は、細胞に内在する構造や物質分布を反映するものではないという、極めて悲観的な結論に達した。

Fulker³⁾らは、P.T.F.E.（テフロン）とウシの膀胱上皮とをモデルとして用い、イオンが一定方向から試料を照射する従来の方法では、円すい柱の立ち並ぶ針の山のような

な“構造”が掘り出されることを指摘した。これは、イオン侵食に抵抗性の高い表面構造、ないし付着物の



HFS-2形 日立電界放射形超高分解能走査顕微鏡



HHS-2R形 日立走査電子顕微鏡

下に円すいが形成されるもので、何ら内部構造と関係のないものである。そこで彼らは、試料に回転と傾斜を加えつつ、イオン照射を行うことにより、膀胱上皮細胞に内在する構造（張原繊維と思われる索状物など）を掘り出すことに成功した。

筆者らは、これらイギリスの学者たちの経験と議論を参考にしながら、極めて簡単なイオン侵食装置を考案し、ヒトの赤血球、白血球および精子で、若干の所見を得ることができたので紹介する。

* 日立製作所那珂工場 応用技術部

** 新潟大学 医学部 第三解剖学教室 教授、医博

*** 新潟大学 医学部 第一内科学教室

3. 原理および装置の構造

1~10⁻²Torrに排気された真空容器内に、2枚の向い合った極板を設置し、10⁻³~1A程度の電流を流せば、グロー放電を生ずることが知られている。今回の実験に用いた装置は、このグロー放電中の陽光柱プラズマやCrooks暗部に存在する陽イオンの空間電荷層から、電極電圧によりイオンを引出し加速して、試料をスパッタするものである。図1に装置の概略を示すが、円筒容器は下部排管より排気され、レギュレータにより5~10⁻³Torrの任意の真空度に調節できる。また、Ar、O₂などのガス導入や、さらに、放電電圧、電流、真空度およびエッチング時の温度測定も可能である。

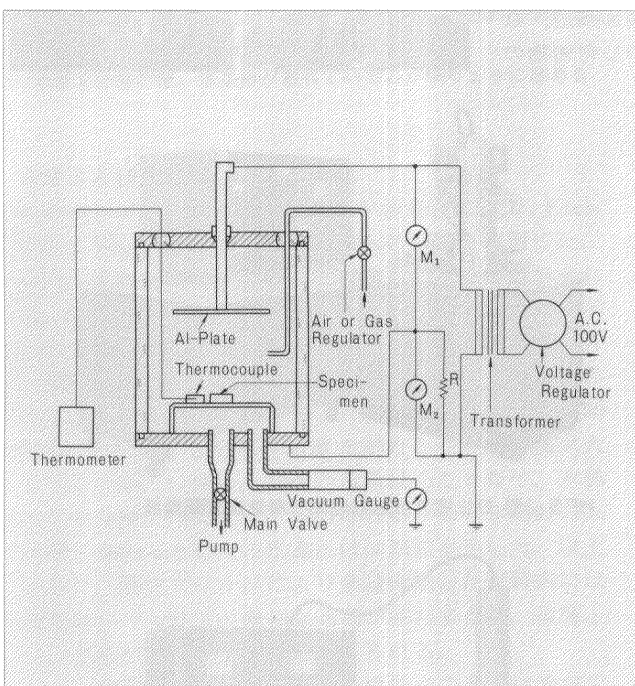


図1 イオンエッチング装置の概略

4. 試料および試料作成法について

赤血球試料は、健康なヒトの静脈より採取した血液を、グルタルアルデヒド(1% 0.1Mリン酸緩衝液でpH7.4にしてある)中に滴下して固定し、水洗後、アセトンによる脱水ののち、スライドガラス小片上で、二酸化炭素による臨界点乾燥を行った。

精子試料は、健康な20歳代の男子、および不妊症の男子の射精液を、上と同じ固定液に滴下して固定し、同様に水洗・脱水後、臨界点乾燥で処理したものである。

また、白血球試料は、慢性顆粒細胞性白血病の患者の静脈より採取したもので、1%グルタルアルデヒドで固定したのち1%OsO₄で後固定を行い、アミルアセテートを通じて空気乾燥を行った。

これらの試料を放電装置の中に入れ、真空度5×10⁻¹~5×10⁻²Torr、放電電圧450~700V、放電電流5~20mAで、1~3時間エッチングを行った後、試料を取り出して蒸着

装置の中に入れて金パラジウム蒸着を100Å程度施し、HFS-2形日立電界放射形走査顕微鏡およびHHS-2R形日立走査電子顕微鏡で観察した。

5. 結 果

赤血球のそのままの走査電子顕微鏡像は、図2に示すように比較的滑らかな表面の、中くぼみの円板状である。ところが、この赤血球をイオン侵食すると、図3に示すように、多孔性の海綿状をなしている。孔は細胞中央のくぼみの部分に特に多いようで、周辺の隆起部は、イオンに対する抵抗性がやや強いようである。

次に精子であるが、図4に正常なヒトの精子の頭の走査電子顕微鏡像を示す。精子の頭は、しゃもじの頭の形をした核を芯にしている。核の前半部には、尖体という帽子がかぶっている。尖体には、精子が卵子に侵入する際に、周囲の粘液その他の物質を融かす融解酵素が含まれている。また、核の後半部は、漏斗状の核後帽という板をかぶっている。尖体も核後帽も薄い細胞膜の層と形質膜とで覆われている。図4では、こうした細胞質の層と膜の下にある尖体と核後帽の区別が不明確である。また、頭の後には、長い尾が続くのであるが、その前方の中節と呼ばれる部分は少し太くなっていて、これは精子の動力源であるミトコンドリアが、尾にらせん状に巻付いているためである。中節の後は尾の主節で、これは縦走する繊維束と、これを取巻く輪走繊維とを主体とし、さらに全体を少量の細胞質と形質膜が覆っている。イオン侵食によって、形質膜と細胞質の表層部とが除去され、一応内部の構造が現われた像が得られた。図5では、尖体と核の表面(あるいは、それがさらに侵食を受けたかと思われる面)が現われている。表面は粗い顆粒状を呈するが、その粗さが、尖体と核後帽では異なっている。

図6は不妊症患者の精子で、正常と異なる形の核後帽がイオン侵食のために明確に認められる。また、正常な精子ではあり得ないことであるが、核後帽の傍らに、細胞質の一部、おそらくはミトコンドリアかと思われる構造物が付着しているのが露出して見られる。尾の中節では、図7,8に示すように、らせん状に巻き付いているミトコンドリアが露出していると判断される。

図8は、イオン侵食を行う前のヒトの白血球の走査電子顕微鏡像である。イオン侵食の結果、いくらかのものは迷路のように表面の細胞質が残っており、多くの他の細胞は明らかに表層が取除かれ、たくさんの顆粒が現われている。この顆粒には、細胞によって大きいもの(0.3~0.7μm)と小さいもの(0.1~0.3μm)とがある。大きい顆粒を含む細胞は、図9に示すようなもので、好酸球あるいは好塩基球と思われ、さらに核に相当する大きな塊が見られる。小さな顆粒の細胞は、図10に示すもので、好中球の顆粒に相当すると思われるものが現われている。

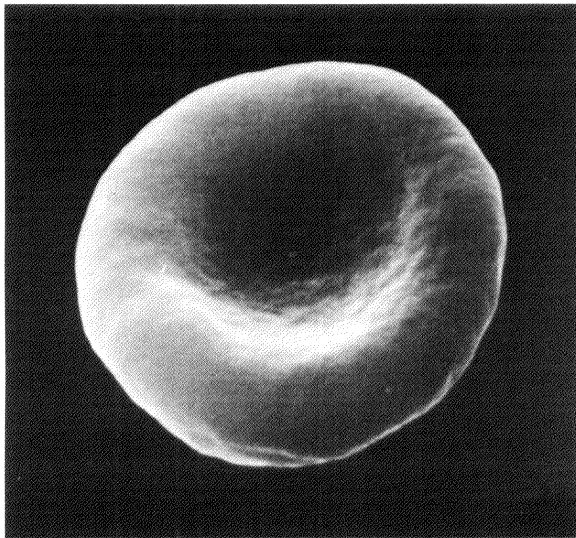


図2 ヒトの赤血球

×15,000

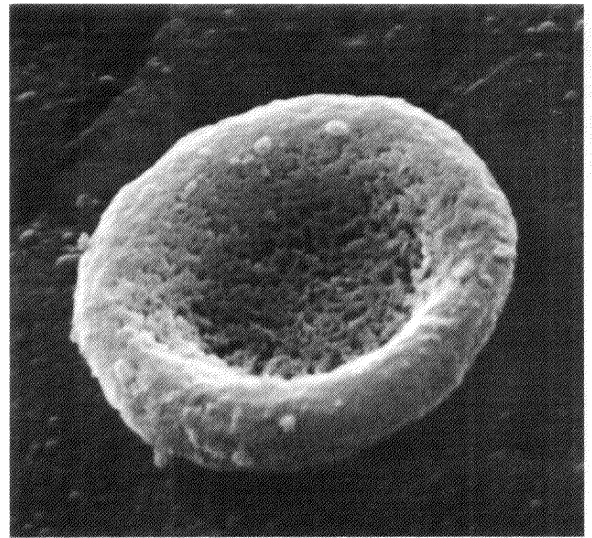


図3 イオンエッチングを行った赤血球

×15,000

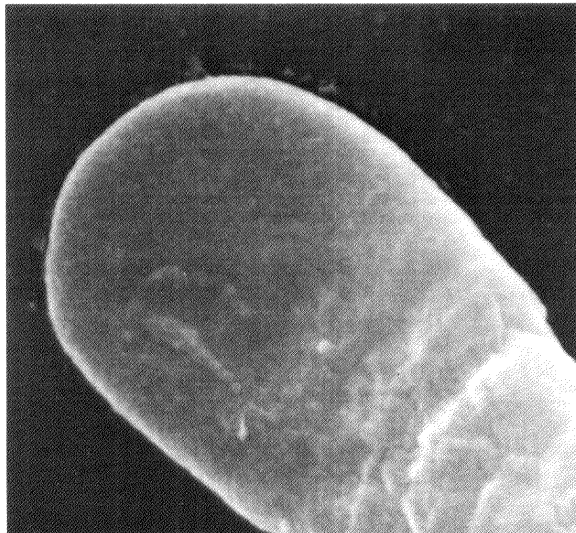


図4 正常な精子

×35,000

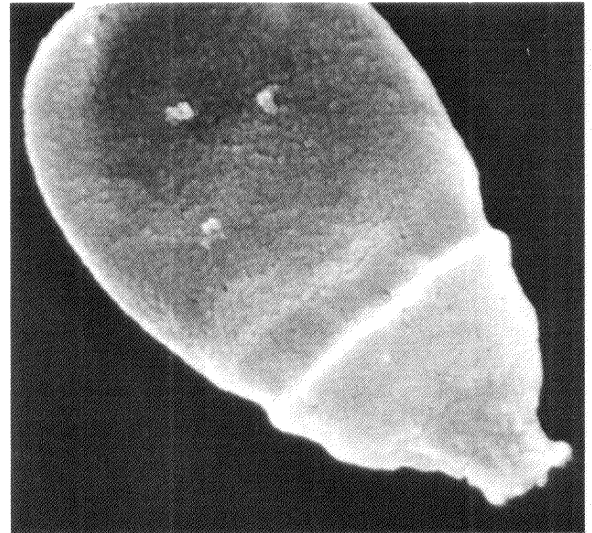


図5 イオンエッチングを行った正常精子

×35,000

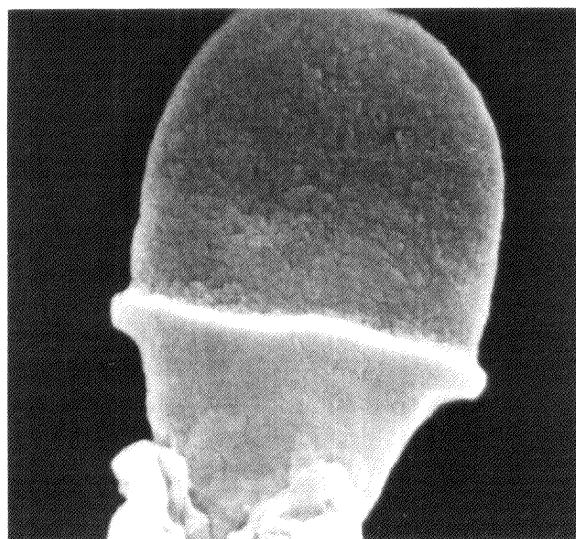


図6 異形精子のエッチング像

×35,000

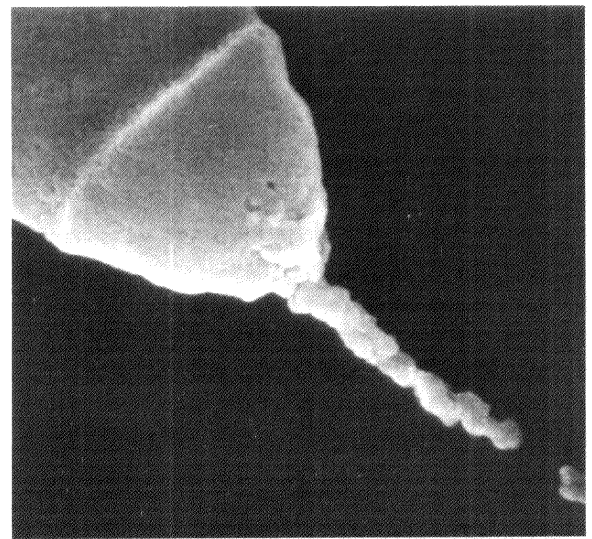


図7 イオンエッチングを行なった尾の中節

×35,000

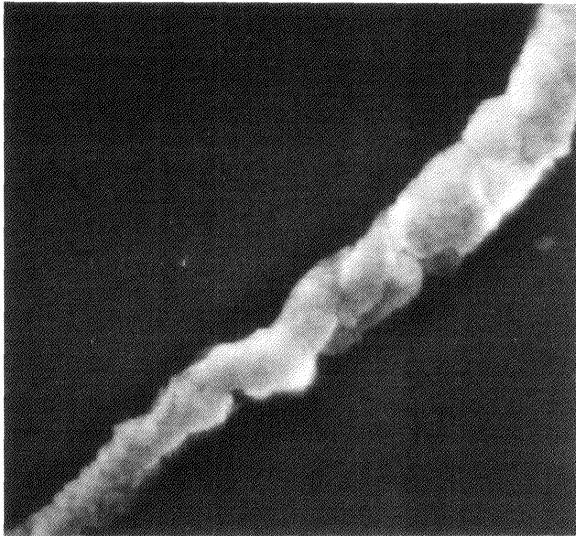


図8 イオンエッチングを行なった尾の中節の高倍率像
×65,000

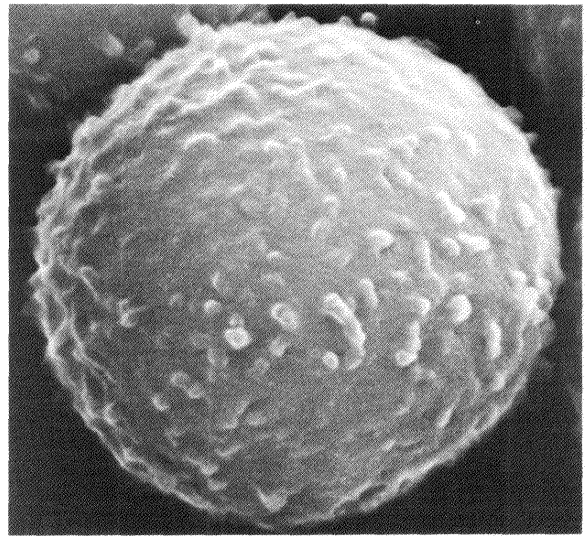


図9 エッチング前の白血球 ×15,000

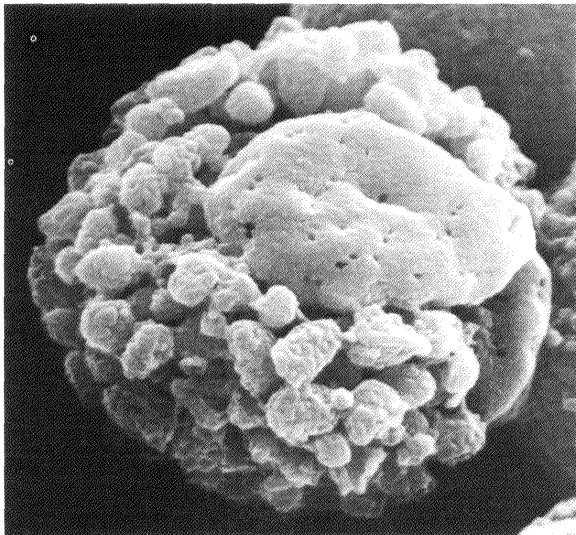


図10 3時間エッチング後の白血球(好酸球あるいは好塩基球)
×15,000

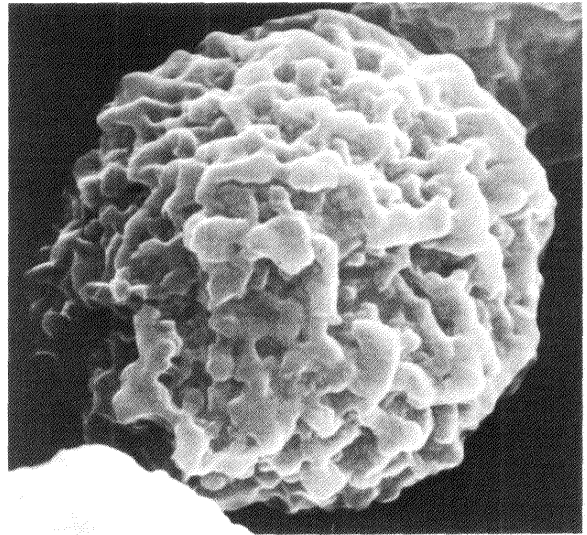


図11 3時間エッチング後の白血球(好中球) ×15,000

6. 考 察

以上に示したように、生物試料のイオン侵食の実験モデルとして、赤血球、精子および白血球を選び、低速度・不揃い方向のイオン照射によって、前掲のFulkerらのように試料を回転することなく、生物学的に検討の対象となり得る侵食像を作ることができた。

今回の実験で得られた赤血球の多孔性像を、赤血球内の物質の分布や疎密の構築に直ちに結び付けることは困難であるが、Lewisらの示した構造より、機械的因子の少ない、より生物的な像であるように思われる。この推定が正しいか否かは、何しろ赤血球に内在する構造が未知なので、判定はすこぶる困難といわなければならない。

そこで、内在する構造既知であるところの精子での所見が、意味をもつことになる。精子の場合は、細胞内のいろいろな小器官が欠落したり、変形したりしている異形精子は、正常人でも、かなりのひん度で出現するが、種々のカテゴリーの不妊症患者で、種々のタイプの異形精子が高頻

度に出現する。そこで、皮をかぶった表面像ばかりでなく、皮をはいて内部構造を露出した像も検討できれば、精子の異形性の分析に、大きな武器となるのである。

白血球では、好酸球、好塩基球の大きい顆粒や、また、好中球の小さい顆粒を掘り出すことに成功したと思われるが、おそらく、ミトコンドリアと思われるものも混在している。核では、 OsO_4 で処理したので、他の部分よりイオン衝撃に対する抵抗が高いと思われる染色質(クロマチン)が細胞の中に残っている。核の部分に見られる細孔は、核膜孔に担当して染色質のない部分と思われ、そこが深く侵食されている。

なお、ここに掲げた写真の多くは、Archivum histologicum Japonicum 76 (1974)に発表された英文論文中的ものと重複している。これについては同誌の編集者の許可を得ていることを付記する。



- 1) Lewis, S. M., Staurt P. R. and Osborn T. S. ; The use of radio frequency sputter ion etching and scanning electron microscopy to study the internal structure of biological material, scanning electron microscopy /1969 : 241—48 (1969)
- 2) Hodges, G. M., M. D. Muir, C. Sella and A. T. P. Car-teaud; the effect of radio frequency sputter ion etching and ion beam etching on biological material, a scanning electron microscope study, J. Microsc.:445—451(1972)
- 3) Fulker, M. J., L. Holland and R. E. Hurely: Ion etching of organic materials. In: (ed. by) O. Johari and I. Corvin: scanning electron microscopy/1973 : 379—386(1973)
- 4) 藤田恒夫, 永谷隆, 服部晃: 生物試料へのイオンエッチングの応用; 表面処理ジャーナル別冊(昭48)
- 5) Fujita, T., Nagatani, T. & Hattori, A. ; A Simple Method of Ion-Etching for Biological Materials. An Application to Blood Cells and Spernutozoa; Arch. histol. jap., Vol 36, No. 3(1974) p 195—204

次 号 予 告**JANUARY 1975 Vol. 17 NO.6****巻 頭 言**

ある海外技術協力……………
……………大阪大学
微生物病研究所 教授 深井孝之助

報 文

イオンマイクロアナライザによる二酸化ウランの2次イオン像の観察……………
……………日立製作所 那珂工場 平原義治 柴田 淳
日本原子力研究所 柴 是行

七面鳥ヘルペスウイルスの電子顕微鏡による立体的観察(Ⅱ)……………
北海道大学 獣医学部 岡田幸助
日立製作所 那珂工場 米原勝久

Linear Integration Methodの変法について……………
北海道大学 医学部 塩野 裕

SEMにおける波長分散形X線分光法について……………日立製作所 那珂工場
原 行・大高 正 熊田隆雄

高周波プラズマ発光分析用データ処理システムとその分析例……………
日立製作所 那珂工場 高島洋平

新製品紹介……………



U.D.C. 541.183.56:546.221.1]:[537.533.35:621.385.833.28]

走査電子顕微鏡による、硫化水素ガス吸着除去のための吸着剤の観察

棚田 成紀* 坊木 佳人* 和田 正夫**

硫化水素ガスは無色の有毒ガスであり、中西¹⁾によれば、血液毒ならびに粘膜、中枢神経を侵す作用があるといわれ、また、奥²⁾、鯉沼³⁾、梶原⁴⁾らは少量の硫化水素ガスでも長時間の作用として中毒様症状をもたらすと報告している。

このように硫化水素ガスは人体の健康に及ぼす直接あるいは間接の多くの悪影響を及ぼすばかりでなく、特異な悪臭を放ち、不快感・嫌悪感を与えるため、1971年6月悪臭防止法、1972年5月悪臭防止法施行令がそれぞれ公布され、アンモニアガス、メチルメルカプタンガス、硫化メチルガス、トリメチルアミンガスとともに悪臭5物質として法令でその規制基準が定められている。

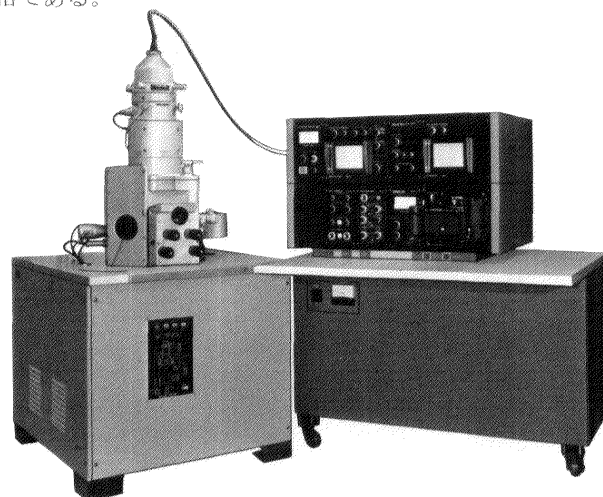
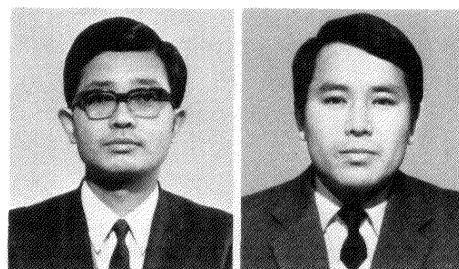
硫化水素ガスの規制基準は地域によりいくぶん異なるが、悪臭防止法施行規則(1971)によると、一般に0.02~0.2ppmの範囲内と規定されている。

これまでに悪臭に対する防止対策として、工場や事業場では種々の脱臭装置が工夫され、例えば、排ガス吸収装置、ガス洗浄装置、アルカリ液吸収、空気酸化法などが行われており、さらに光化学的な除去法も考案されている。除去法を湿式法と乾式法とに分類した場合、湿式法の短所としては、一般に高電圧、電気機器を使用している工場や事業場では好ましくないことがあげられる。また、乾式法のうち吸着除去法を適用しようとするれば、ガス吸着能が高く、吸着速度が速く、かつ吸着の持続時間の長い吸着剤を得ることが急務とされる。

本報告では、硫化水素ガス吸着量の多い吸着剤の特性を明らかにする一連の研究のうち、吸着剤としてはケイ酸塩5種、活性炭5種、ゼオライト5種の計15種を選出し(他の17種の吸着剤についてはここで述べない)、これら15種の吸着剤の比表面積、pH、硫化水素ガス吸着熱、走査電子顕微鏡写真の結果と硫化水素ガス吸着量との関係を検討する。吸着の自由エネルギー変化量、吸着のエントロピー変化量、吸着速度論的な結果および吸着の持続時間に関する各項なども興味深いが、これらは別の機会に述べることにする。

吸着剤はすべて200-400メッシュの粒度のものを使用し、硫化水素ガス吸着量は石英スプリングバランスを用いたB.E.T.装置により求めた。比表面積はアルゴンガスを吸着ガスとして液体窒素温度でB.E.T.法により求めた。吸着剤表面のpHはニシケータを使用して求めた。活性炭表面のpHはスラリー状のpHを求め、記してある。吸着熱は吸着平衡時の積分吸着熱を算出した。走査電子顕微鏡観察はHSM-2B形日立走査電子顕微鏡を用い、加速電圧20kV、

ワーキングディスタンス10mm、試料台傾斜角20°で行った。撮影倍率は600倍または1,200倍で、図16と図17のみが6,000倍である。



HSM-2B形 日立走査電子顕微鏡

表1 15種吸着剤の特性

番号	吸着剤の記号	吸着剤	硫化水素ガス吸着量 ($\times 10^4$ mg/kg, 30°C 50 mmHg)	比表面積 (m^2/g)	pH	吸着熱 (cal/mol)
1	Si-1	合成ケイ酸マグネシウム	2,375	428.6	6.8	-1074.4
2	Si-2	"	2,050	324.5	6.6	-1060.1
3	Si-3	"	1,458	72.0	5.6	-285.4
4	Si-4	天然ケイ酸アルミニウム	0,300	37.7	6.2	-71.5
5	Si-5	シリカゲル	0,000	44.5	6.4	-
6	C-1	活性炭(W社)	3,880	1,209.0	8.4	-1103.7
7	C-2	"(K社)	3,880	495.0	9.9	-906.6
8	C-3	"(W社)	3,724	586.0	7.3	-899.1
9	C-4	"(T社)	2,520	204.0	5.1	-342.2
10	C-5	骨炭(W社)	0,880	81.7	9.5	-179.6
11	Z-1	ゼオライト	10,290	525.6	8.6	-717.1
12	Z-2	"	9,310	352.6	6.0	-532.2
13	Z-3	"	9,000	85.0	5.8	-336.8
14	Z-4	"	5,700	9.5	6.2	-260.7
15	Z-5	"	1,380	3.0	6.8	-276.0

* 徳島文理大学 薬学部、薬博

** 日立製作所 那珂工場 応用技術部

結果および考察

吸着剤を3群に分けて表1に記載した。まず、1群がケイ酸塩5種であり、図1-aから順に図2、図3、図4、図5-aと行くにしたがい、硫化水素ガス吸着量が低下している。吸着剤表面の微細構造に注目した場合、図1-aと図2とは差が明らかではない。しかし、硫化水素ガス吸着量が極端に相違する吸着剤の表面構造の差、すなわち図1-aと図5-aの差は明らかである。図5-aのほうが図1-aに比べて、粒子が固く結合し、個々の粒子は大きく、それらが集合して一つの大きな粒子を形成しており、粒子の塊は密なる粒子の結合である。図1-bと図5-bとの比較はこのことを支持している。表1の比表面積の大きさの順位は硫化水素ガス吸着量の多い順位とほぼ一致している。また、1群吸着剤表面のpHは5種ともやや酸性に傾いているが、硫化水素ガスは酸性ガスであるから、吸着剤と硫化水素ガスとの相互作用を極性の点から注目すれば、吸着剤表面のpHが塩基性である（例えば、図11の吸着剤）ほうが有利であると思われる。この点を改良する目的で、例えば、1%水酸化ナトリウム水溶液中で1群の吸着剤を処理したのち、十分水洗を行った吸着剤で硫化水素ガスの吸着量を測定した結果、吸着剤表面のpHは期待どおり塩基性に傾いたが、硫化水素ガス吸着量は期待に反して処理前の吸着量に比べて低下した。次に表1の吸着熱に注目すると、硫化水素ガス吸着量の多い吸着剤ほど吸着熱は大きい。しかし、いずれの吸着剤の吸着熱も数kcal/mol以下の値であるから、物理吸着が支配的で、化学吸着はほとんど起っていないといえる。このことは2群、3群の吸着剤についてもいえることで、本報で使用した吸着剤のすべてが、吸着熱のオーダーからいって30℃以下の吸着では簡単な再生処理で反復使用が可能であるといえる。

次に2群の活性炭5種についてであるが、1群の場合と同様に、吸着剤表面の微細構造に注目した場合、図6と図7とは差が明らかではない。しかし、硫化水素ガス吸着量が大きく相違する図6の吸着剤と図9の吸着剤の差は明らかである。ただし、図10だけが原料を動物質とする骨炭であるから、並列的な写真の比較をここでは行わない。さらに2群で吸着量の最も多い図6の吸着剤は、1群で吸着

量の最も多い図1-aの吸着剤に比べて硫化水素ガス吸着量が約1.5倍であった。この理由のひとつは、比表面積が大きいこと、もうひとつは吸着剤表面がやや塩基性に傾いているため、酸性ガスである硫化水素ガスを吸着させるのに有利であることなどがあげられよう。2群で使用した使用済み活性炭を1%水酸化ナトリウム水溶液中で処理すれば、吸着能はほぼ元どおりに再生された。

さらに3群のゼオライト5種については、まず図11と図15とは幾何学的に美しい形状を有しており、一見、吸着剤表面の微細構造が発達していないかのように見えるが、比表面積が図1-aの吸着剤よりも大きい点は注目すべきである。3群の場合には、図11、図12、図13、図14、図15とそれぞれの間に形状の差違が認められる。3群の特長のひとつとして、1群、2群に比べ粒子の大きさがそろっている点があげられよう。3群で吸着量の最も多い図11の吸着剤は1群で吸着量の最も多い図1-aの吸着剤に比べて硫化水素ガス吸着量が約4.5倍であった。この理由のひとつは、吸着剤表面の極性がやや塩基性に傾いているために酸性ガスである硫化水素ガスを吸着させるのに有利であったためと思われる。

1群、2群、3群のうち、最も硫化水素ガス吸着量の多かった吸着剤は図11で示されたものであり、吸着量をさらに増長させる目的で図11の吸着剤を1%水酸化ナトリウム水溶液中で処理したのち、十分水洗を行い乾燥させ、200~400メッシュに粒度をそろえた吸着剤表面を図17に示した。図16は図11と同一の吸着剤であるが、図16のほうは6,000倍の写真である。また、図17の吸着剤は図16の吸着剤の約1.2倍の硫化水素ガス吸着量を示した。すなわち、図17の吸着剤は図1-aの吸着剤に比べて硫化水素ガス吸着量が約5.5倍であった。図17の吸着剤表面のpHは8.6と図16の吸着剤表面のそれと等しく、走査電子顕微鏡の写真においても顕著な差違は認められない。図17の吸着剤のほうが図16の吸着剤よりも硫化水素ガス吸着量が多かった理由については検討中である。

本稿を終えるにあたり、徳島大学公衆衛生学教室の福井忠孝教授のご指導とご鞭撻に深甚なる謝意を表する。

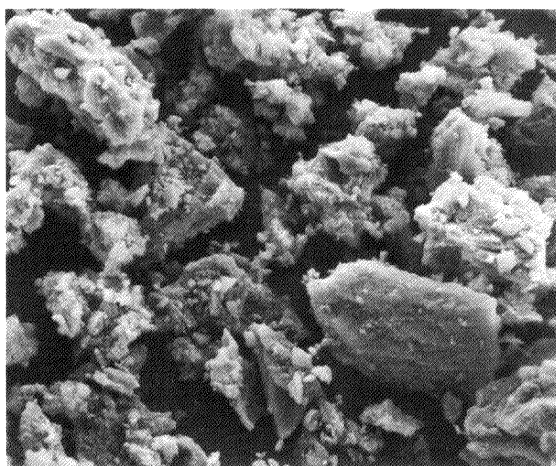


図1-a ×360

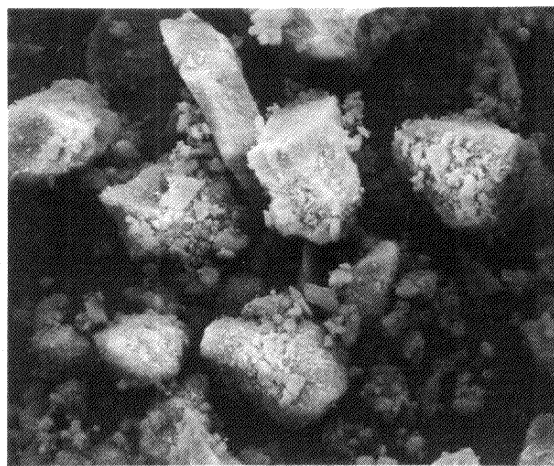


図2 ×360

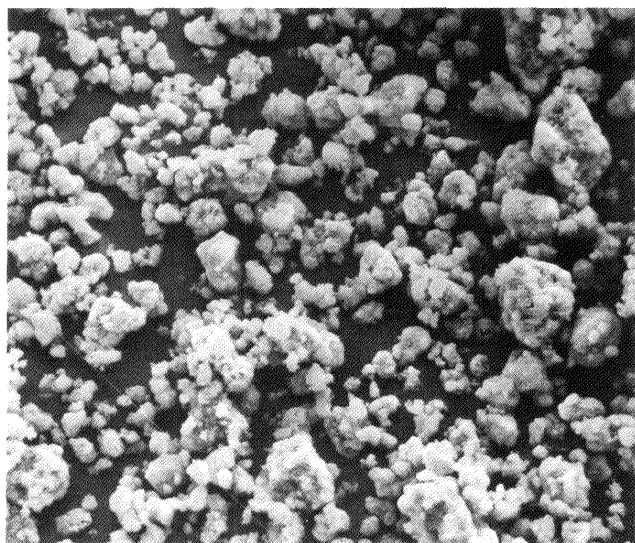


図 3 ×420

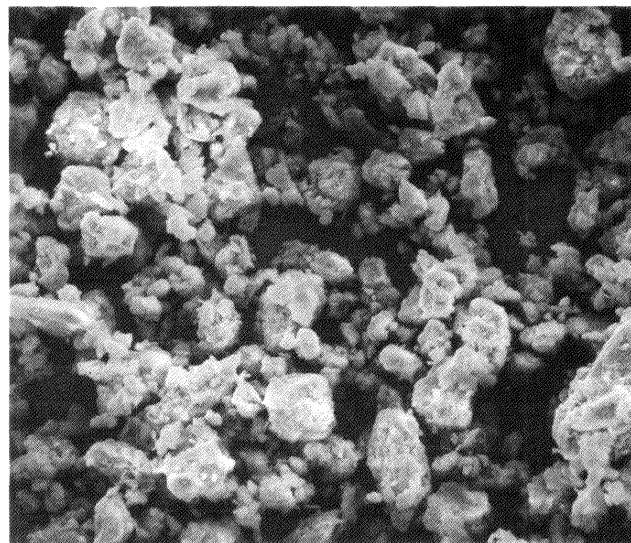


図 4 ×420

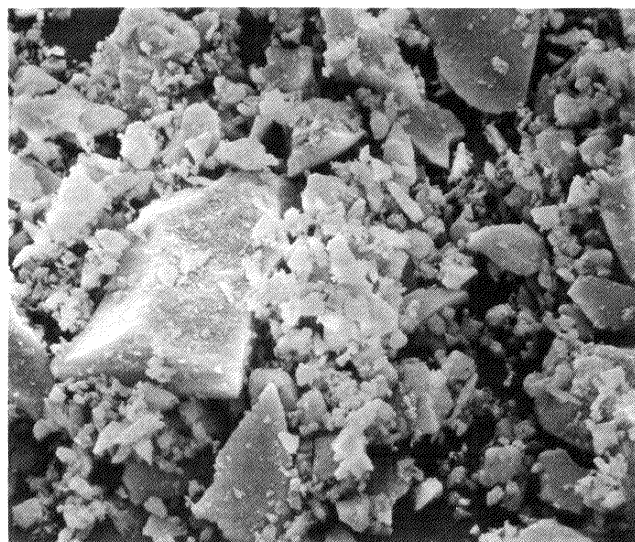


図 5-a ×420

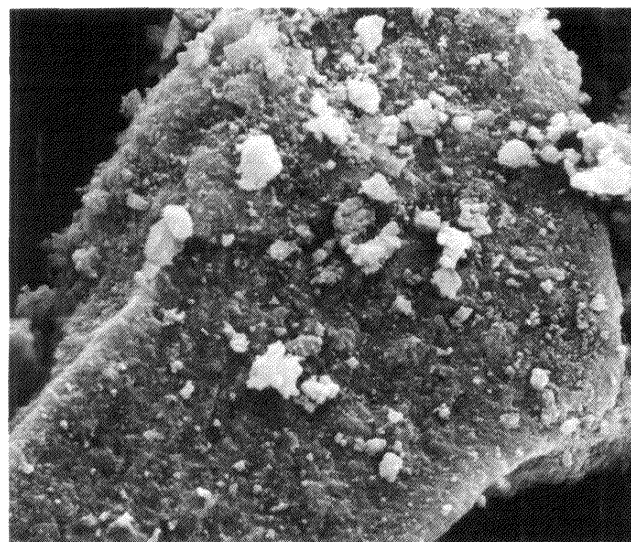


図 1-b ×840

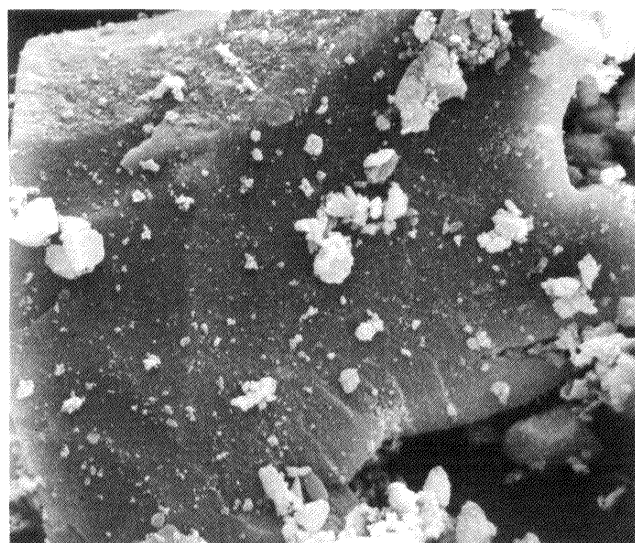


図 5-b ×840

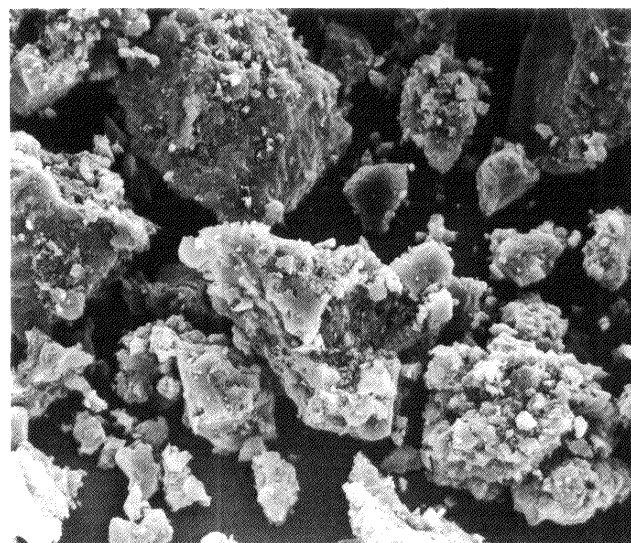


図 6 ×420

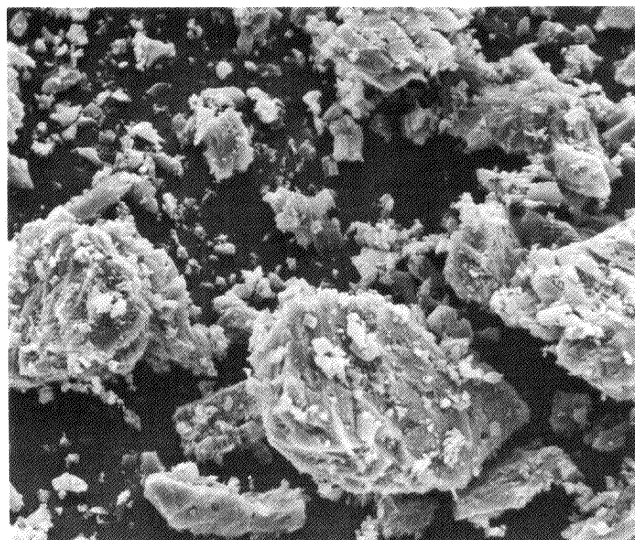


図 7 × 420

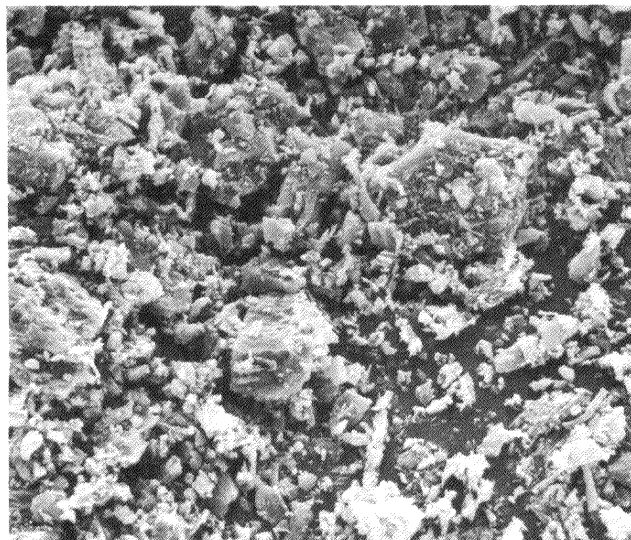


図 8 × 420

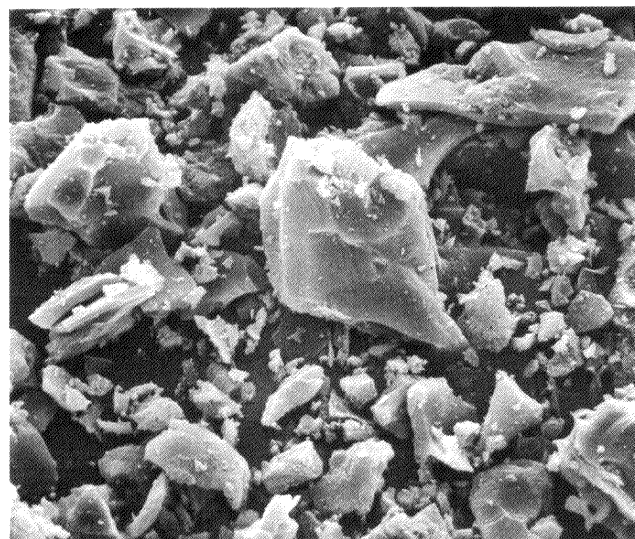


図 9 × 420

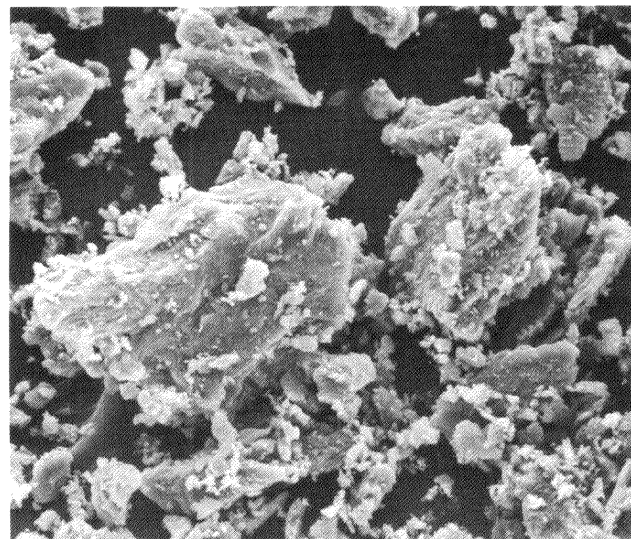


図10 × 420

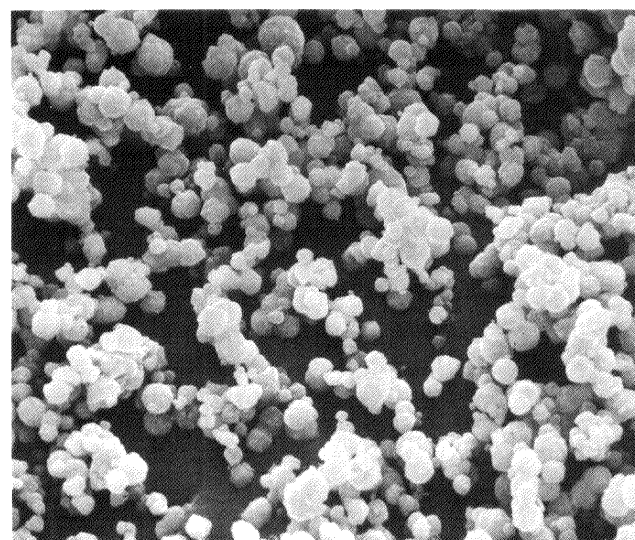


図11 × 840

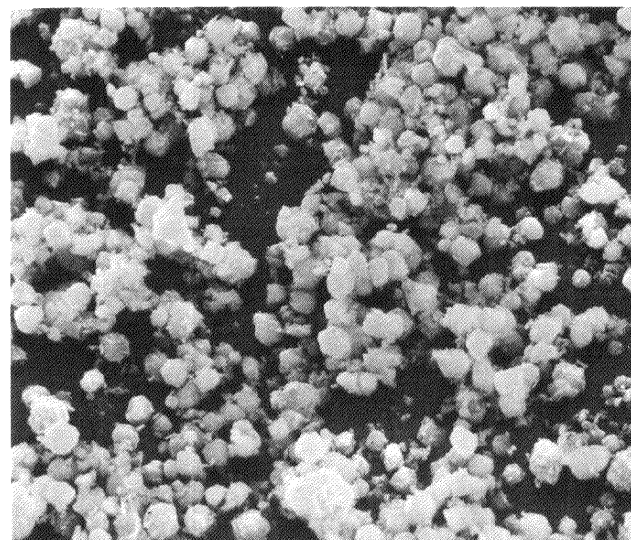


図12 × 840

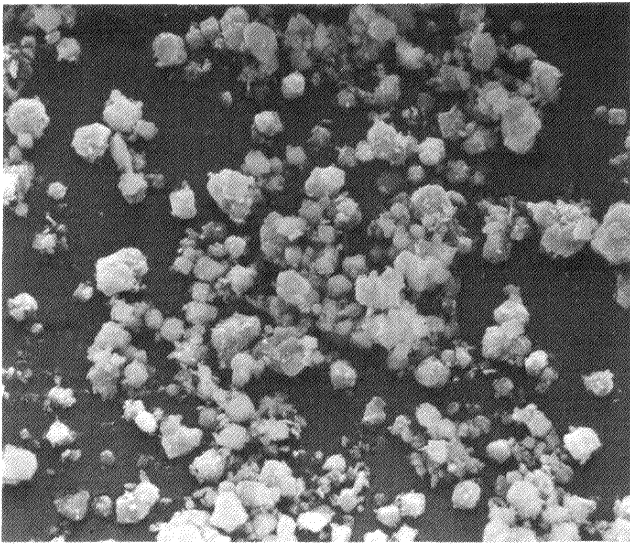


図13 ×840

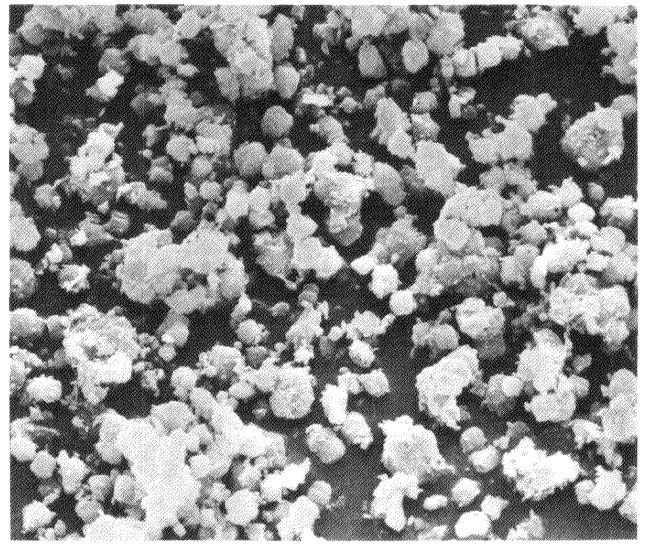


図14 ×840

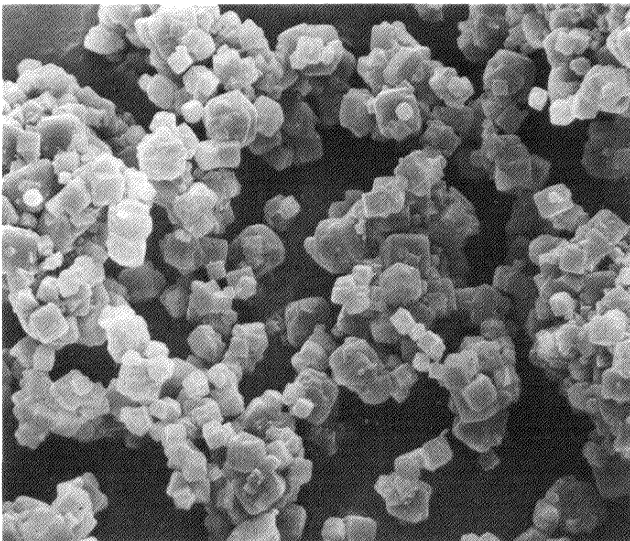


図15 ×840

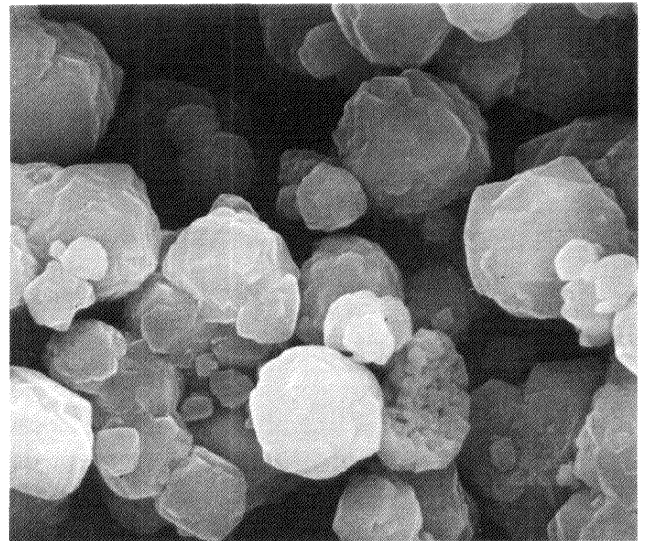


図16 ×4,200

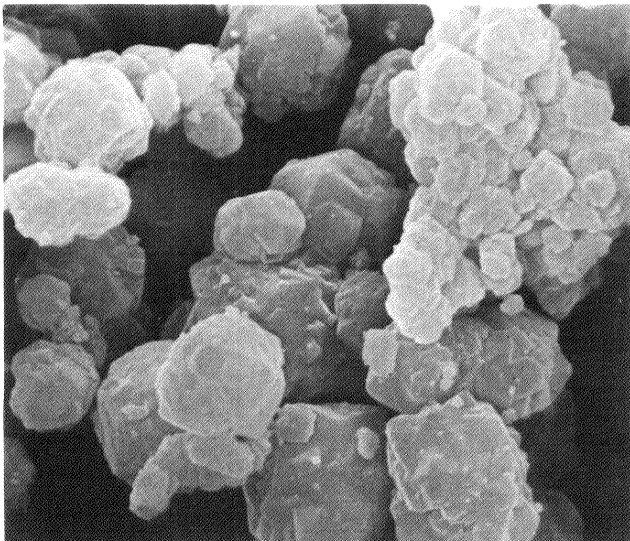


図17 ×4,200

■参考文献

- 1) 中西 武：四国医誌，16，911（1960）
- 2) 奥 勤一：国民衛生，12，931（1935）
- 3) 鯉沼卯吾：診断と治療，臨時号，307（1931）
- 4) 梶原三郎：労働衛生，291，東洋書館（1951）

迅速濃度測定装置の臨床検査への応用

大川 義栄* 野上 有信* 横瀬 泰三** 小森 律夫**

はじめに

今日、臨床検査における機器の進歩はめざましく、なかでも臨床化学分野での自動分析装置の普及には目を見張るものがある。最近の一般的傾向として、ほとんどの中・大病院に積極的に導入され、日常検査に大きな成果をあげている。しかし、いかに高価な機器を導入したところで、その能力が十分に発揮できなければ利用価値はなくなる。一般に、地方病院にあっては経済的にはもちろんのこと、検体数または検査室の規模などからみて、それらの導入には十分慎重であることを要する。

このような理由から、著者らはむしろ部分自動化、いわゆる発色後の自動化を推進し、日常検査に対処すべきではないかと考え、近時発売された156形日立デジタル2波長分光光度計用迅速濃度測定装置（以下「迅速装置」という）を用い、主として迅速比色の検討と、あわせて濁りを生ずる試料の測定について検討し、その有用性につきいくつかの知見が得られたので、ここに報告する。

1. 2波長測光法の原理

図1のように光源Lからの光は2つに分けられ、2つの分光器 M_1 , M_2 によって任意の異なる波長 λ_1 , λ_2 の2つの単色光に分光される。これらの光は1つの吸収セルの同一場所に交互に照射され、吸光度差 $\Delta A_{\lambda_2 - \lambda_1} = A_{\lambda_2} - A_{\lambda_1}$ を検知する。Beerの法則は、一般に吸収スペクトルの任意の波長で成立しており、したがって、2つの波長 λ_1 , λ_2 における吸光度の差 ΔA も濃度に比例することは明らかである。2波長測光は測定成分の吸収スペクトルの λ_1 を基準として、これと λ_2 間の吸光度差を測定するものである。

2. 迅速濃度測定装置

図2に迅速装置の外観とブロックダイアグラムを示した。従来の測光法では、試験管を使用する場合、屈折や反射、散乱により測定値に再現性が得られなかった。2波長測光では2つの波長 λ_2 , λ_1 の光を同一位置に交互に照射し、吸光度差を測定するものであるから、それぞれの影響を両波長で同じように受けるので、互いに消去され、再現性が非常によくなり、市販試験管をセルとして十分に使用できる。図2(b)に示すようにラックに装着された試験管は連続的に測定光を横切り、1本の試験管あたり2.5sの速さで濃度がプリンタに印字される。発色操作もその試験管内でできるので、移し替えの手間も省ける。

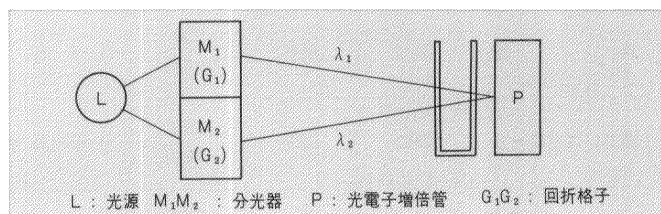


図1 2波長分光光度計の原理図

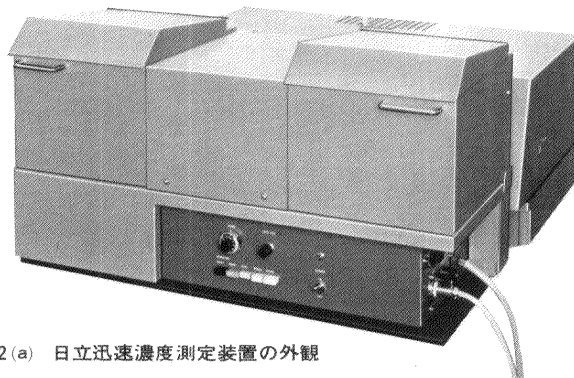


図2(a) 日立迅速濃度測定装置の外観

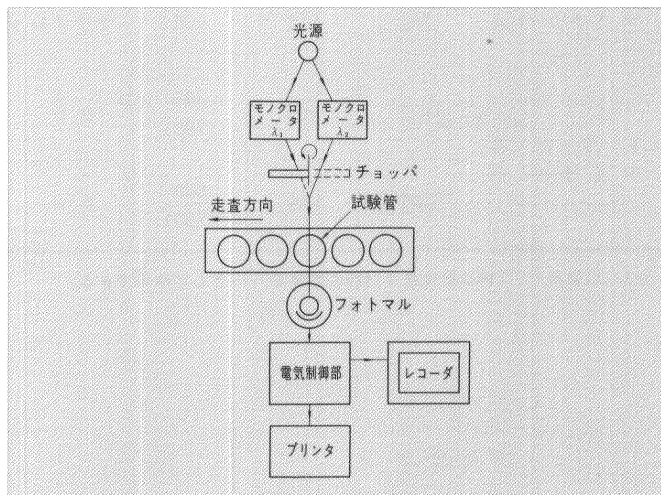


図2(b) 日立迅速濃度測定装置の機能系統図

* 水戸赤十字病院 検査部

** 日立製作所郡珂工場 応用技術部



3. 実験材料および方法

3.1 血清試料

当院の外來および入院患者血清

3.2 検討項目

トランスアミナーゼ (GOT, GPT), アルカリホスファターゼ (ALP), 無機リン (IP), カルシウム (Ca), マグネシウム (Mg), 血糖 (GLU), 尿酸 (UA), クレアチニン (CR

E), 中性脂肪 (TG), 総コレステロール (CHO) の 11 項目について, 従来の比色法と迅速装置を用いて同一サンプルを測定した場合を比較検討した。表 1 にその結果を示した。なお, 各測定項目の測定方法 (発色法) を併記した。また, 図 3(1)(2)には吸収スペクトルと検量線および相関性を示した。

表 1 測定項目と 2 波長の選定および従来法との比較

試 料		波 長 (nm)		測 定 法	実 測 例			
		λ_2	λ_1		相 関 係 数	回 帰 直 線	検 体 数	試験管径 (mm)
アルカリ フォスファターゼ	ALP	500	600 (700)	フェニール リン酸法	0.993	$Y=1.0x-0.65$	88	12
血 糖	GLU	630	530 (750)	O T B 法	0.997	$Y=1.1x-1.7$	140	15
総コレステロール	CHO	625	780 (780)	リーベルマン法	0.991	$Y=1.1x-2.8$	95	12
クレアチニン	CRE	520	600 (650)	Folin-Wu 法	0.998	$Y=1.1x-0.05$	74	12
トリグリセライド	TG	410	500 (600)	アセチル アセトン法	0.996	$Y=0.93x-6.4$	47	15
尿 酸	UA	710	600	タングステン 酸法	0.995	$Y=0.94x+0.33$	61	15
無 機 リ ン	IP	680	600	モリブデン ブルー法	0.993	$Y=0.99x-0.03$	67	15
カルシウム	Ca	570	700 (700)	O C P C 法	0.964	$Y=1.0x-0.05$	60	15
マグネシウム	Mg	515	600	マグネシウム レッド法	0.982	$Y=1.0x-0.07$	38	15
トランス アミナーゼ	GOT	505	600 (750)	R. F 法	0.994	$Y=0.75x+2.7$	75	15
	GPT	505	600 (750)	R. F 法	0.997	$Y=1.3x-3.3$	83	15

注) λ_1 波長 () 内は吸光度 0 付近の波長で, λ_2 として使用できる。

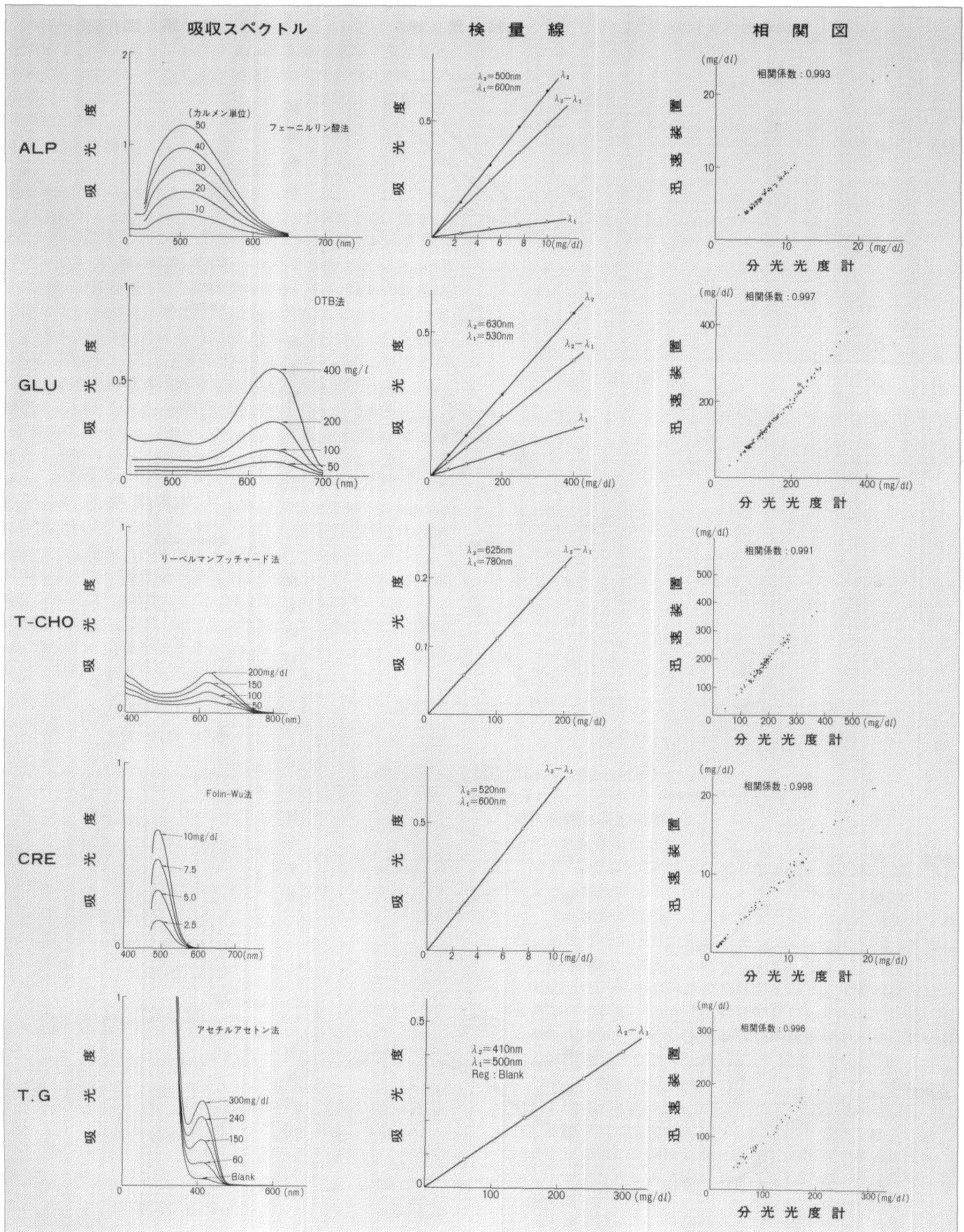


図3-1) 測定物質の吸収スペクトル

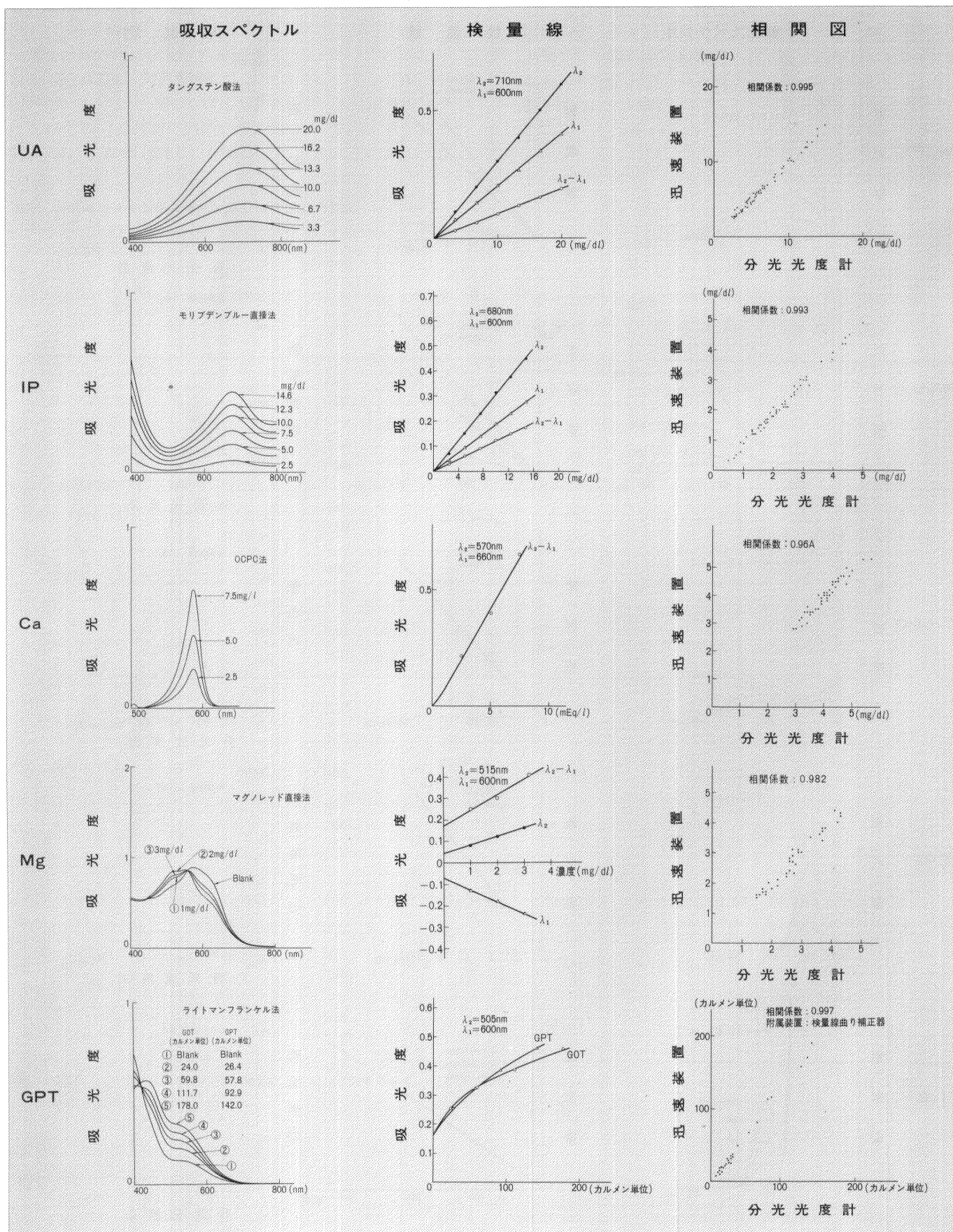


図3-(2) 測定物質の吸収スペクトル

3.3 濁りの消去

点滴直後の患者血清の血糖（オルト・トリジン硼酸法）を測定すると“濁り”を生ずる。2波長測光は“濁り”を消去できるので、その効果を通常の分光光度計と比較した。血糖の発色液（血清）にデキストランを添加し、実験的に混濁させた。

3.4 測定波長 λ_2 , λ_1 の選定

迅速装置で測定する場合、測定項目ごとに吸収スペクトルを取り、 λ_2, λ_1 を選定する。

以下にアルカリホスファターゼを例に説明する。図4(a)にはアルカリホスファターゼの吸収スペクトルを示した。2波長測光は $\Delta A = A_{\lambda_2} - A_{\lambda_1}$ を測定するので、 λ_2, λ_1 間の吸光度の差を得ることが前提となる。 λ_2 は従来の比色法で用いている波長に選び、 λ_1 はその周辺に求める。この場合、適当な ΔA を得るためには、600～650nm に選ぶのがよい。同図(b)には λ_2, λ_1 におけるそれぞれの検量線を示した。2本の検量線が直線であることを確認すれば、その差である ΔA もまた直線となることは明らかである。

“濁り”を生ずる試料での λ_2, λ_1 の選定の場合には両波長を近接させることが必要となる。“濁り”によるバックグラウンドのため、通常の方法では吸収が実際値に対して高値を示す。図5には血糖測定においてブドウ糖 100mg/dl の透明試料と、これにデキストランを添加し混濁させた場合および点滴直後の患者血清の吸収スペクトルを示した。混濁するサンプルは全体的に高い値を描いている。2波長測光は波長 λ_1 を基準として ΔA を測定するので、 ΔA_T , ΔA_N が測定されるが、図5から明らかなように、ほぼ等しく“濁り”の影響が除去されていることがわかる。従来法では約2倍の高値 (A_T/A_N) を示している。

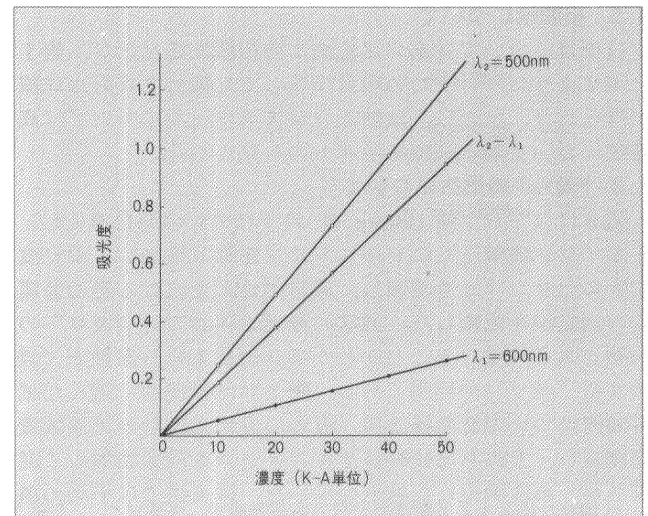


図4(b) 検量線

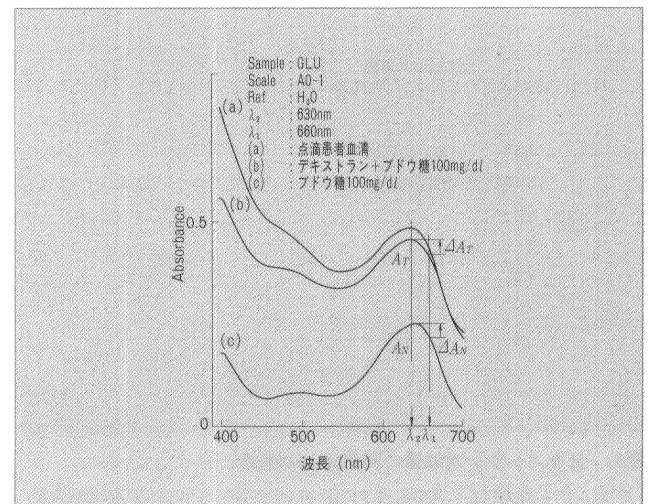


図5 血糖の吸収スペクトル

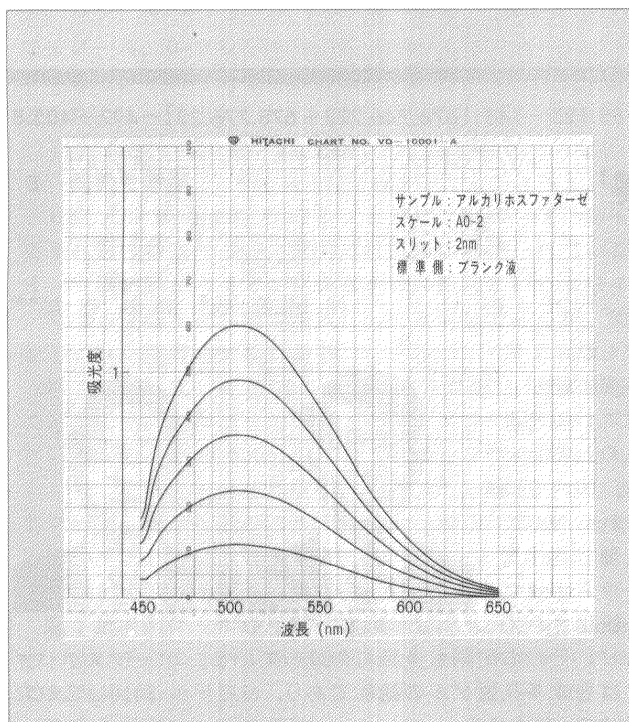


図4(a) アルカリホスファターゼ

4. 結果および考察

4.1 迅速性について

従来の比色法で濃度または単位を求めるためには、下記のような操作が必要である。

- (1) 発色試料を吸収セルに移し替えるかまたは吸引させる。
- (2) 比色計の目盛を読み取り、その値をノートに記入する。
- (3) 検量線から濃度または単位を読み取る。

そのため、比色の操作に時間がかかる。日常検査では大量の試料を測定するので、疲労により能率が低下し、このため測定用メータの目盛の読み取りや検量線からの数値の算定に誤差を生ずることもあった。

しかし、迅速装置を用いれば、

- (1) 1検体当たり約2.5sで測定できる。(100検体連続)。
- (2) 濃度直読で自動的にプリントアウトできる。
- (3) 発色に用いた試験管をセルとして使用できる。
- (4) コレステロール測定時のように粘性の高い試料でも測定できる。

という利点があり、迅速性に関して満足できる結果が得られた。

4.2 相関性について

11項目について従来の比色法との相関性を見たが、表1に示すように、いずれの項目についても極めて良好な成績が得られた。ただし、血糖とコレステロールについては高濃度において若干高値を示すものも見られた。

4.3 “濁り”の消去について

図6にはブドウ糖 100mg/dl のそれぞれの発色液（オルトリジン 硼酸法）にデキストランを適宜添加し、濁り度を変えたサンプルを調製し、通常の分光光度計と迅速装置での測定値を比較した。通常の分光光度計では“濁り”の影響を大きく受けることがわかる。斜線部は日常検査で経験する“濁り”の範囲である。表2には無差別に選んだ試料50例について発色操作後、直ちに分光光度計と迅速装置で測定し、そのあと試料にデキストランを同量添加して混濁させ、再度測定した結果を示した。従来法では平均の誤差は43.7%、迅速装置では1.5%で約1/30に低減できる。

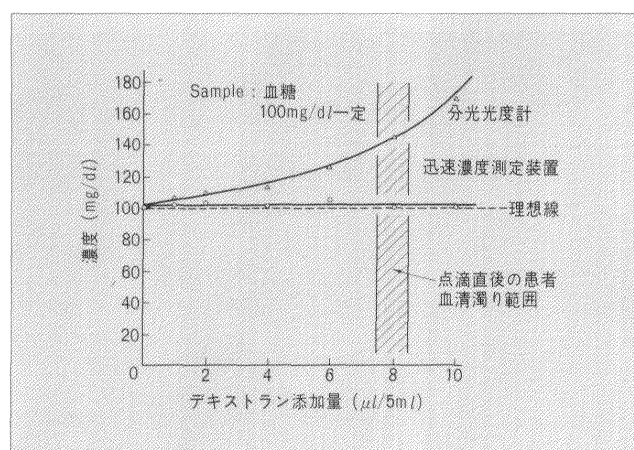


図6 デキストラン添加量と測定値との関係

また、当然のことながら血糖濃度が低いほどその影響は大きかった。従来の測光法では対照液が基準となるが、混濁試料では試料と全く同一の“濁り”の対照液を用意するのは不可能に近く、したがって対照液と測定試料の間に濁りの差を生じるのは避けられず、正確な測定値が得られなかった。2波長測光によれば濁りの影響を著しく軽減できる。

表2 156形および101形の混濁試料測定結果

Sample: GLU

156形+迅速			101形		
正常試料	混濁		正常試料	混濁	
133 mg/dl	134 mg/dl	+0.8%	132 mg/dl	192 mg/dl	+45.5%
166	168	+1.2	168	120	+32.5
227	228	+0.4	228	272	+21.4
187	186	+0.5	186	140	+27.7
179	180	+0.6	180	128	+28.1
93	96	+3.0	96	36	+38.8
95	96	+1.0	96	52	+55.1
149	152	+2.0	152	196	+32.4
143	143	0	143	192	+33.3
185	188	+1.6	188	104	+10.9
N=50 平均誤差率 1.5%			N=50 平均誤差率 43.7%		

5. まとめ

迅速装置を用いて発色後の自動化、2波長測光の応用として濁りを生ずる試料について比較検討し、満足できる結果が得られた。装置に操作上やや複雑な点もあるが、迅速比色に伴う省力化に役立ち、検体数の比較的少ない（1項目あたり50～60検体程度）施設においては、本装置の能力が十分に発揮し得るものと考えられる。

最後に本実験に終始ご協力いただいた水戸日赤病院・検査部の太田 明、山崎美子、柳井美智子の各氏に深く感謝の意を表する。

U.D.C. 541.183.123-148:[678.746.222+678.776.22]-492-405.8

日立ゲル 3010の分離特性に関する一考察¹⁾

妹尾節哉* 高萩英邦**

1. はじめに

液体クロマトグラフィの高速化・自動化は、高性能な定流量送液ポンプや検出器の発達に負うところが多いが、現在までのところ、その発展に寄与した最も大きな要因はその目的に合った新しい充てん剤の開発によるといえるであろう。

1969年 Kirklandらによって開発された表面均質多孔質担体（Controlled Surface Porosity Support）と、この担体の表面に固定相液体をコーティングしたり化学的に結合させた分配用あるいはイオン交換用の充てん剤は、現在

でも欧米で最も多く使用されていると考えられる。一方、国内ではこれらの充てん剤と共にポラスポリマも汎用されて



おり、その応用例も多数にのぼっている。ポラスポリマとは合成多孔質ゲルの総称であり、日立ゲル 3010はこれに属する。

日立ゲル 3010の特色は、

* 三共株式会社 生産技術研究所 主任研究員、薬博

** 三共株式会社 生産技術研究所

- (1) 有機溶媒、無機溶媒あるいは酸性、アルカリ性のいずれの溶媒を用いて溶離しても充てん剤が劣化することがない。
 - (2) 表面積が大きいので、かなり多量の試料を導入してもオーバーロードなどの心配がなく、分取用に用いるのも好適である。
- などがあげられるであろう。

短所としては、溶媒によって膨潤、収縮が生じ（水を加えると収縮する）、特に収縮した場合にはクロマト管の上端に間隙を生ずることがあるので、水を含む溶媒を移動相に用いる場合には、あらかじめ水を含んだ溶媒を用いて充てんするなどの注意が必要であろう。

特色の (1) でも述べたように、日立ゲル 3010 は酸性、アルカリ性の溶媒を用いて溶離した場合、充てん剤が劣化するなどの不都合が生じないばかりでなく、選択性の高い分離も期待できるが^{2)~4)}、ここではメタノールを移動相の基本溶媒とし、これに水や *n*-ヘキサンを加えてクロマトグラフィを行うとき、試料の溶出がいかなる変化をするかについて検討した結果を紹介する。

2. 実験条件

実験に用いた液体クロマトグラフは自作したもの⁵⁾で、送液ポンプは協和精密機製ダブルプランジャ形 WU-2 を、検出器には日立—パーキンエルマー製 139 形分光光度計に内径 1 mm、層長 10 mm のフローセルを装着したものをを用いた。

カラムは内径 5 mm、長さ 50 cm のガラス製のクロマト管に日立ゲル 3010 をスラリー法で充てんして用いた。

用いた試料はベンゼン、安息香酸、安息香酸メチル、安息香酸エチル、安息香酸 *n*-プロピル、安息香酸 *n*-ブチル、アニリン、*N*-メチルアニリン、*N,N*-ジメチルアニリン、フェノール、*O*-クレゾール、2,3-キシレノールおよびアニソールで、それぞれ 0.1% の濃度のメタノール溶液を試料とした。

3. 結果と考察

日立ゲル 3010 はポリスチレンとジビニルベンゼンより成る多孔質の球状ゲルで、質的には従来から使われているイオン交換樹脂からイオン交換基を除いた（というよりイオン交換基を導入する前の基質）ものと同じであるが、架橋度の高い、硬質のゲルである。

筆者らは日立ゲル 3010 の分離特性を見出し、移動相溶媒の選択の指標となるものを探すため、中性の試料として主として安息香酸のエステル類を、アルカリ性の試料としてアニリンとその *N*-メチル置換体を、また、酸性のものとしてフェノール類を選び、極性の異なる溶媒で溶離したときの保持時間あるいは質量分布比 (Capacity Factor: k') の大小とその変化を比較してみた。

図 1 はメタノールを移動相溶媒とし、ベンゼン、安息香酸およびそのエステル類を分離したときのクロマトグラムである。

溶出の順序は、安息香酸、ベンゼン、安息香酸メチル、安息香酸エチル、安息香酸 *n*-プロピル、安息香酸 *n*-ブチル

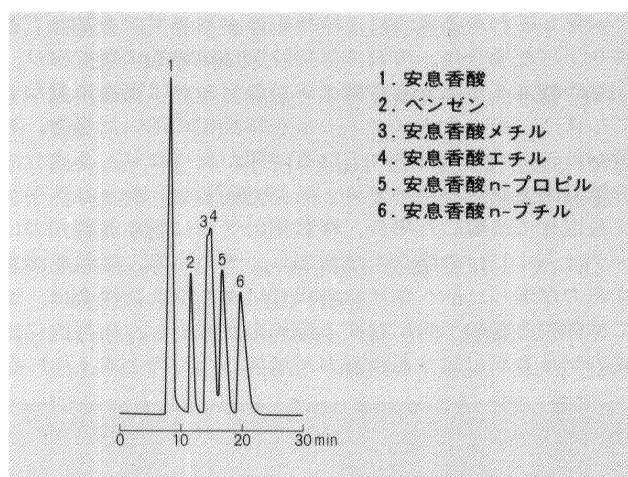


図 1 ベンゼン、安息香酸および安息香酸エステル類の分離 (1)
カラム：500×5 mm, I.D., ガラス製、日立ゲル 3010
移動相：メタノール 流速：1.2 ml/min 温度：室温

で、これは側鎖のアルキル基が長くなるほどゲルとの親和力が増して、カラム内に保持されている時間が長くなっていることを示している。

始めに述べたように、日立ゲル 3010 はスチレン系の合成ゲルであり、その表面の極性は移動相のメタノールより小さいと考えられるので、溶質のゲルに対する親和性は、側鎖のアルキル基の長さが長くなるほど大きくなり、その親和力の差によって分離されるのであろう。

一方、ベンゼンのゲルに保持される力はこの分子の π 電子とゲルを構成しているスチレンやジビニルベンゼンの π 電子との相互作用であろう。安息香酸がベンゼンより早く溶出するのは、カルボキシル基がゲル表面より移動相のメタノールにより大きい親和力を有するためか、あるいは安息香酸分子のカルボニルの立ち上がり (E 効果) によりベンゼン環の電子密度が減少し、ゲルの表面との親和力がベンゼンより小さくなったためであろう。

図 2 はメタノールに *n*-ヘキサンを加えて溶離したときのクロマトグラムであり、図 3 は水を加えて行ったときのクロマトグラムである。

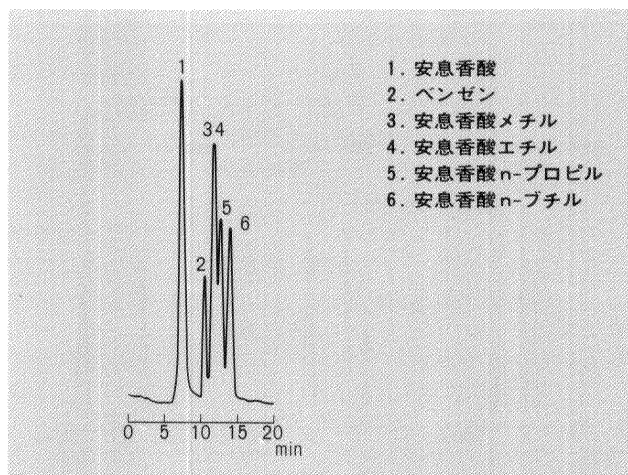


図 2 ベンゼン、安息香酸および安息香酸エステル類の分離 (2)
移動相：メタノール/*n*-ヘキサン=95/5 他の条件は図 1 に同じ

一見してわかるように、移動相に *n*-ヘキサンを加えて極性を下げた場合は、溶質の保持時間は総体的に短くなり、安息香酸メチルと安息香酸エチルのピークは完全に重なってしまう。逆に含水メタノールを移動相に用いた場合、溶質がカラム内に保持されている時間が長くなり、各成分の分離は向上される。メタノールより極性の小さい *n*-ヘキサンを混ぜて溶離した場合、移動相のゲルに対する親和力はメタノールだけの場合より増加し、その結果、試料を溶出する力が増し、*n*-ヘキサンの代りに水を加えた場合は、逆に移動相溶媒のゲルに対する親和力が減少し、相対的に試料のゲル表面に対する吸着力が増加したものと考えられる。

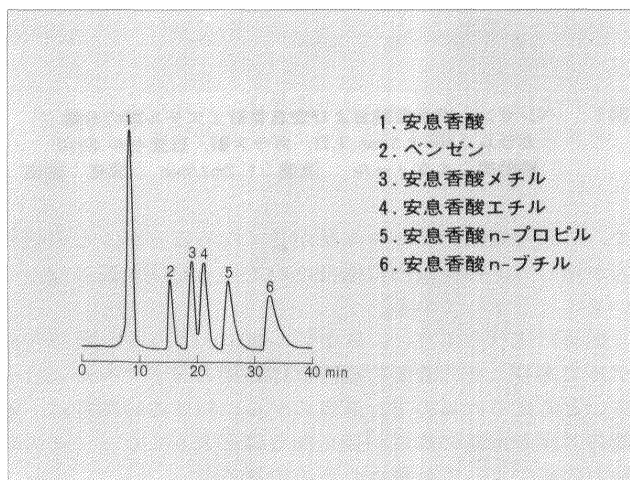


図3 ベンゼン、安息香酸および安息香酸エステル類の分離 (3)
移動相: メタノール/水=95/5 他条件は図1に同じ

図4、図5はアニリンとその誘導体、フェノールとその誘導体について上記の場合と同様の実験を行ったときのクロマトグラムである。

溶出順序は、安息香酸のエステルのそれから予想されるように、置換メチル基の数が多くなるほど溶出が遅れ、アニリン類ではアニリン、N-メチルアニリン、N,N-ジメチルアニリン、フェノール類の場合はフェノール、*o*-クレゾール、2,3-キシレノールおよびアニソールの順である。移動相のメタノールに水や *n*-ヘキサンを加えてクロマトグラ

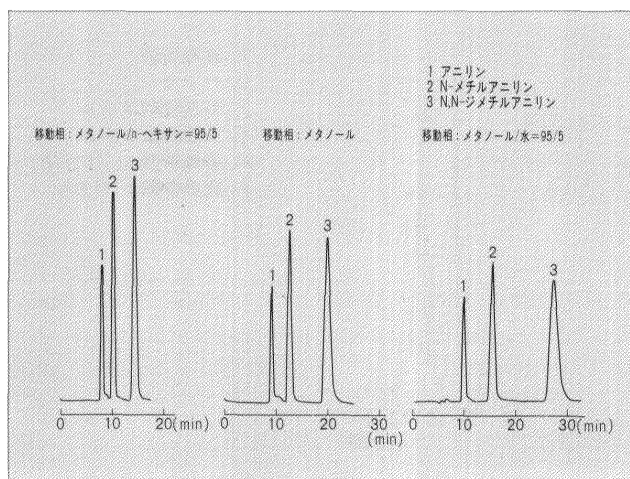


図4 アニリン類の分離 (移動相を除いた分離条件は図1に同じ)

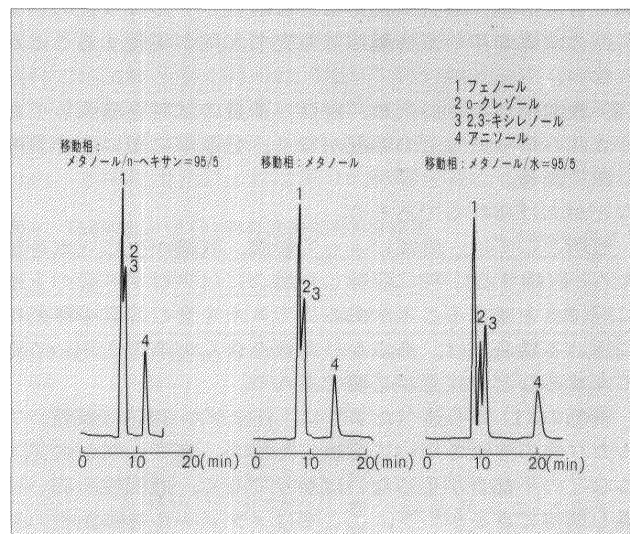


図5 フェノール類の分離 (分離条件は図4に同じ)

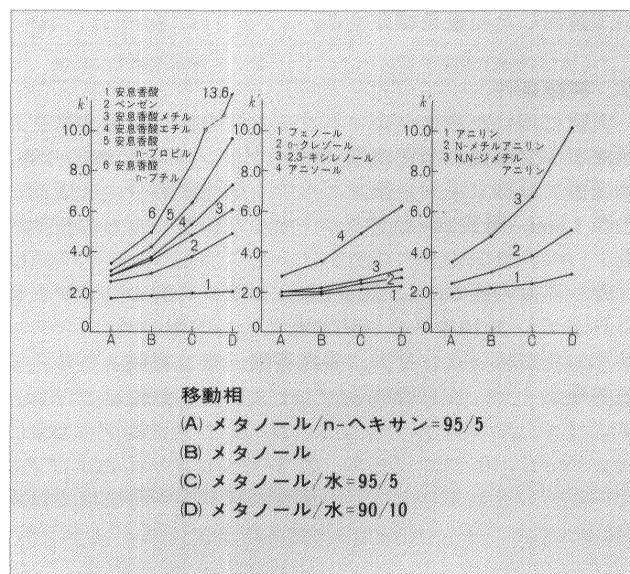


図6 質量分布比 k' と移動相溶媒の極性の関係

フィを行ったときの溶質の保持時間の変わり方も安息香酸およびそのエステル類の場合と同様の傾向を示す。

以上の結果をまとめて、溶出時間の代りに質量分布比 (k') で比較したものが図6である。

4. 日立ゲル 3010の分離機構

最後に日立ゲル 3010の分離機構 (様式) に一言触れたい。

筆者らは高速液体クロマトグラフィーをあくまで物質の分離や精製に利用する立場にあり、興味の対象もいかに効率よく分離するかという点にあるが、分離機構に対するある程度の知識は分析条件を選び出す場合必須であると思うからである。

日立ゲル 3010のように官能基をもたないポリスチレン-ジビニルベンゼンに Amberlite XAD-2樹脂がある。この樹脂の場合は Van der Waals 力による吸着とされているので^{6)~9)}、日立ゲルの場合にも同じように Van der Waals



力あるいは疎水結合による吸着現象と考えてもよいのではないだろうか。

日立ゲル 3010 の場合、分配クロマトグラフィであるとする考えもある。これは移動相溶媒のうち疎水性の強い部分（例えば、メタノールの場合はメチル基の部分であり、これに *n*-ヘキサンを加えた場合は *n*-ヘキサン自体）がゲルの表面に配向ないしは吸着されて、固定相液体の役割を演ずるという考え方であり、このように考えて都合よく分離を説明できる点も少なくないが、筆者らはあえて前者の吸着によるという考えを支持したい。

■ 参考文献

- 1) J. Chromatog. Sci., in press.
- 2) 高萩英邦, 妹尾節哉ほか：第16回液体クロマトグラフ研究会 (1973) 発表
- 3) 妹尾節哉, 高萩英邦ほか：日本薬学会第94年会 (1974) 発表
- 4) Grieser, M. D. et al: Anal. Chem, **45**, 1348 (1973)
- 5) 高萩英邦, 妹尾節哉ほか：日本化学会第29秋季年会 (1973) 発表
- 6) Gustafson, R. L. et al: Ind. Eng. Chem. Prod. Res. Develop. **7**, 107 (1968)
- 7) Pietrzyk, D. J.: Talanta, **16**, 169 (1969)
- 8) Paleos, J.: J. Colloid Interface Sci., **31**, 7 (1969)
- 9) Wilks, A. D. et al: Anal. Chem. **44**, 676 (1972)

新製品紹介

試料を入れて、ボタンを押すだけ
あとは、ブザーが乾燥終了を指示する

HCP-AUTO形 日立自動臨界点乾燥装置

このたび、日製産業(株)では、日立工機(株)が新たに開発したHCP-AUTO形日立自動臨界点乾燥装置を発売し、去る5月23日より3日間 大阪日生会館にて開催された第30回日本電子顕微鏡学会に出品展示し、大きな関心を集めました。

HCP-AUTO形はご好評を頂いているHCP-1形の実績をもとに、顧客のご要求を集約して、新たに完成した臨界点乾燥装置の決定版です。

チャンバの温度制御、ガスの排出など一連の操作を自動化しており、試料を挿入してボタンを押せば、自動的に試料の臨界点乾燥を行うことができます。

この装置は、走査形電子顕微鏡の試料前処理装置として不可欠のものです。

■ 特 長

1. 自動乾燥ができます。
臨界点乾燥操作で長時間要する操作を省略してあります。すなわち、チャンバの加熱→臨界状態→チャンバの温度制御→ガスの自動排出→乾燥完了（アラームを発する）の一連の操作を自動化しています。

2. 強力な冷却機能

強力なサーモジュールを採用することにより冷却能力が向上したため、液化ガスの注入不足による乾燥失敗はなくなりました。

3. キャップはワンタッチ着脱

キャップはワンタッチ着脱となっているので、キャップ操作が迅速化できるため、酢酸イソアミル等の揮発による試料のダメージは最少限に抑えられます。

4. キャップのシールは自緊式です。

チャンバ内の圧力が高くなる程、キャップのシール機能を増す構造となっています。

5. チャンバの温度が常に指示されていると共に、チャンバの温度を自動制御します。

温度指示付温度調節計を使っています。臨界点乾燥に必要な温度が直ちに読み取れます。チャンバは任意温度でコントロールされます。

6. ガスの排出量は任意設定でき、しかも自動制御されています。

チャンバの高圧ガスを圧力調整器で一定の低圧にし、その後に流量計を接続しているので、ガスの排出



量は一定にコントロールされます。排出量の設定は任意調節できます。この機能によって、手動による高圧操作を安全かつ簡単に行えます。

■ 仕 様

適用ガス	炭酸ガス（ドライアイス含む）、フレオン（フレオン13、フレオン23、フレオン116） 亜酸化窒素
チャンバ容量	93 ml
チャンバ材質	ステンレス
使用圧力	150 kg/cm ²
安全装置	スプリング式安全弁 (180 kg/cm ²) サーモスタット (55℃)
温度指示調節計	-20～+40℃任意設定可能、温度指示付
加熱方式	サーモモジュールおよびファン（冷却能力一室温より12degree以下）
排出ガス流量調節	0～4 l/min 任意調節可能、一定流量に自動調節

U.D.C. 543.544.084.82.004.1: [615.26+668.5]

634形 日立液体クロマトグラフによる家庭用品の分析

藤原喜延* 岩 渕 等* 浜野吉政*

1. 緒 言

高速分析用液体クロマトグラフが市販されてから数年を経過し、最近では、医薬とか製薬、食品の分野ばかりでなく、化学工業、高分子関係方面にも広く使用されており、応用分野が急速に拡大しつつある。そのため、測定対象物質も極めて広範囲にわたり、中でも、高沸点物質、不揮発性物質、さらに熱的に不安定な物質を容易に分析し得る点で、液体クロマトグラフの適性がよく知られるようになってきた。

このような特長から、われわれは、身の回りで広く利用されている化学薬品（不揮発、不安定なものが多い）を含んだ家庭用品について分析を試みた。これらの試料に含まれる成分が与えるクロマトグラムは、液体クロマトグラフの有用性をよく表わしていると思われるので、その概略について報告する。

2. 実 験

専用の低压方式のグラジエント方式を付属した 634 形高速分析用液体クロマトグラフを使用した。〔詳細は本誌 Vol. 16, NO. 1, 19頁(1973)〕 充てん剤は日立ゲル 3010である。

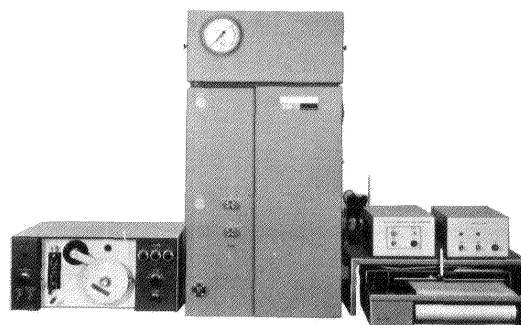
3. 応用例

3.1 標準品混合試料の分析^{1), 2), 3)}

家庭用品は極めて種類が多く、それぞれに使用されている化学薬品も、当然のことながら多種にわたっている。したがって、個々の用品ごとに、含有を予想される成分を混合し、これを標準品試料として、分離条件の検索、供試試料中の成分の定性定量を行うことになる。図1に示したものは、消炎鎮痛剤中に含有されることの多い成分の標準品をグラジエント溶離法にて分析したものである。図中メントールは、紫外吸収(254nm)をもたないので、屈折計を用いて測定した結果より、その溶出位置を示した。一方、殺菌剤とか防虫剤などを使用している用品も多くあるが、例として、それらの標準品を混合し、分析した結果を図2に示す。

3.2 消炎鎮痛剤の分析

市販の消炎剤を供試試料として分析したものである。図3は、貼布剤を細かく切り、メタノールに浸漬放置して抽出を行い、このメタノール抽出液について分析したものである。その結果、サリチル酸メチル、サリチル酸グリコール、チモールなど多数の成分が認められた。また、図4はエアゾール式の製品で、薬液を試験管内に噴射し、底にた



634形 日立液体クロマトグラフ

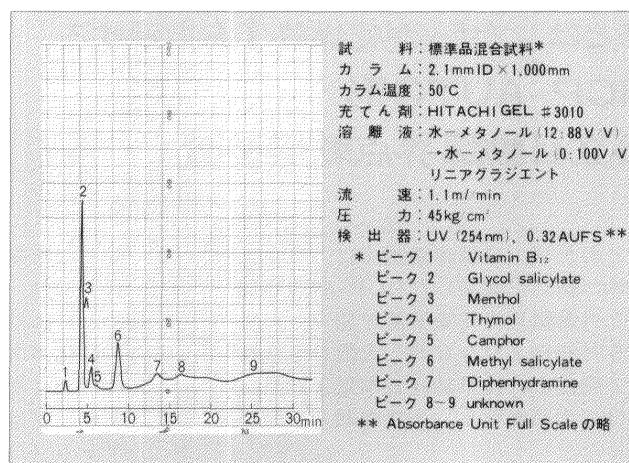


図 1

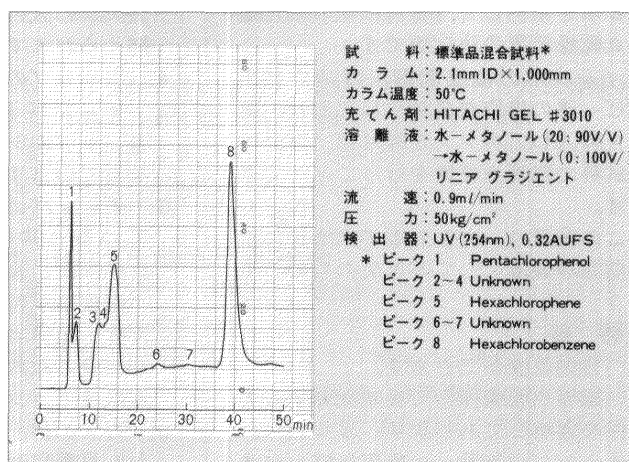


図 2

まった液を供試試料とした。この製品はサリチル酸メチル、サリチル酸グリコールを多く含有していることがわかる。

* 日立製作所那珂工場 応用技術部

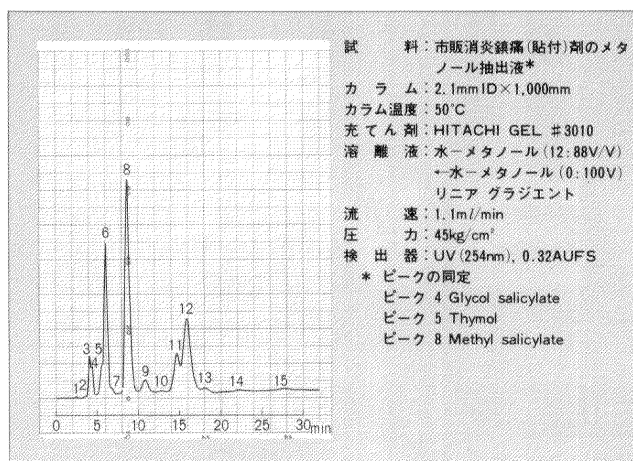


図3

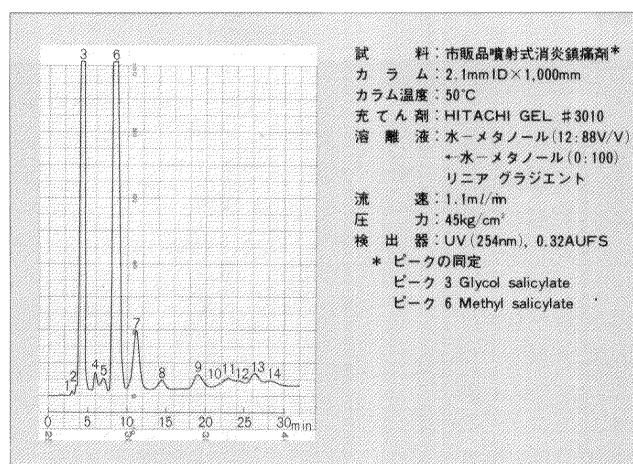


図4

3.3 殺虫剤の分析

殺虫剤には、それぞれ効能や目的の違うもの、例えば、ゴキブリ用、白アリ用、ウジ・ハエの駆除用など、多種類のものが、その含有成分も大きく異なることが予想される。図5はエアゾール式のゴキブリ用殺虫剤を分析したもので、薬液を試験管の中に噴霧し、底にたまった液1μlを供試試料とした。図6は木材や家具類を食害する白アリ、羽アリなどの駆除および予防を目的とした薬品を分析した

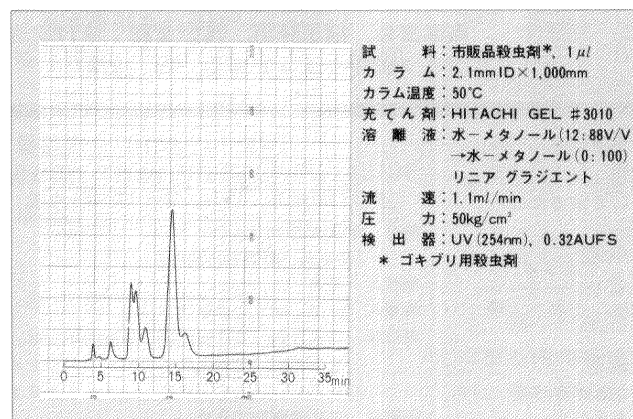


図5

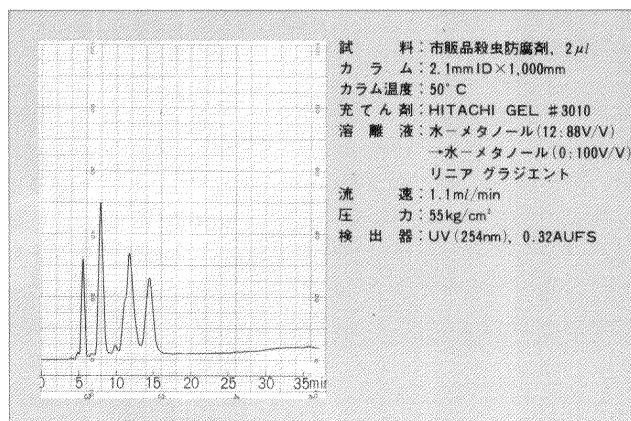


図6

もので、これもエアゾール式であり、2μlを供試試料とした。

3.4 歯磨の分析

歯磨には、治療を目的とした薬用歯磨とか、口臭予防、殺菌予防、ヤニ取り用などの各種があり、それぞれの成分配合比に工夫を加え、効果を高めるものになっている。図7は口臭予防歯磨の例、また、図8は愛煙家向けのヤニ取り歯磨を分析したものである。いずれの場合も、供試試料にはメタノール抽出液を使用した。

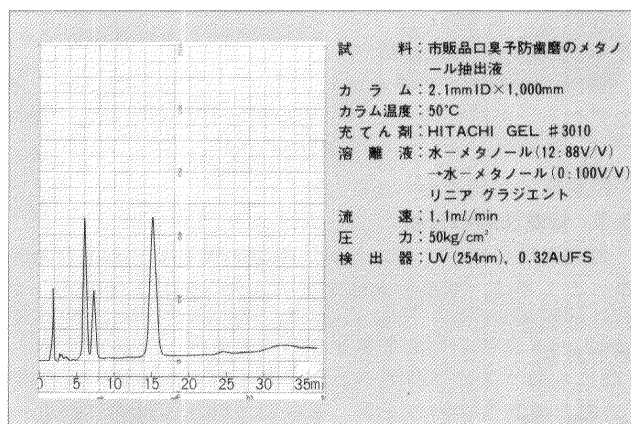


図7

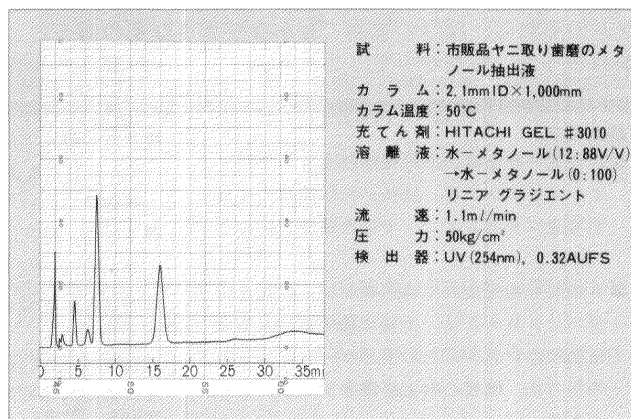


図8

3.5 整髪料の分析

整髪料には、男性用と女性用、スプレータイプとリキッドタイプあるいはチックタイプ、整髪用と栄養補給用などがあり、目的、用途、性状によって、豊富な種類が市販されている。こうした分類が組成を大きく変えるものであれば、その成分組成の差は著しいものと予想される。図9はリキッドタイプの整髪料を分析したもので、液10 μ lを供試試料とした。分類を異にしたものは、クロマトグラム上にも、大きな差異を見ることができる。

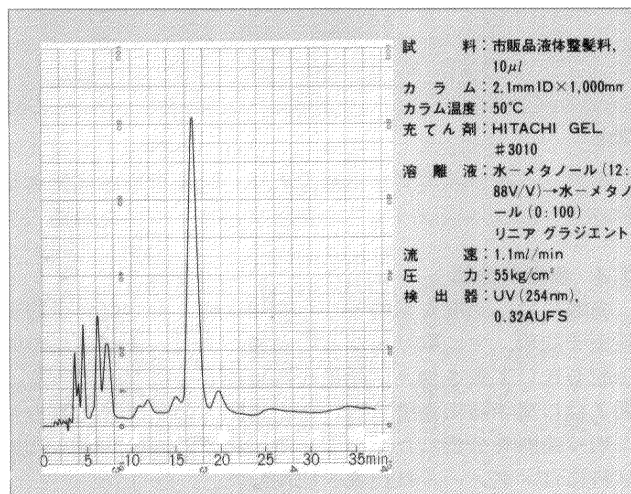


図9

3.6 シャンプーの分析

図10は市販されているシャンプーにアセトンを入れ、そのアセトン可溶性成分について分析したものである。最近では、香料など多くの化学薬品類も使用されるので、多くの微量成分が認められる。

3.7 合成洗剤の分析

合成洗剤についても、目的、用途の異なるものが多種類ある。ここでは、家具とか住宅用の洗剤 (図11) を選び、その分析例を示した。アセトン可溶性成分について分析したものである。

4. 緒言

634形 日立液体クロマトグラフを使用し、家庭用品を分析した例についてその分析結果を紹介したが、クロマトグラムの形状は、類似の製品でもかなり大きな差のあることがわかった。したがって、これらのデーターが製品の品質

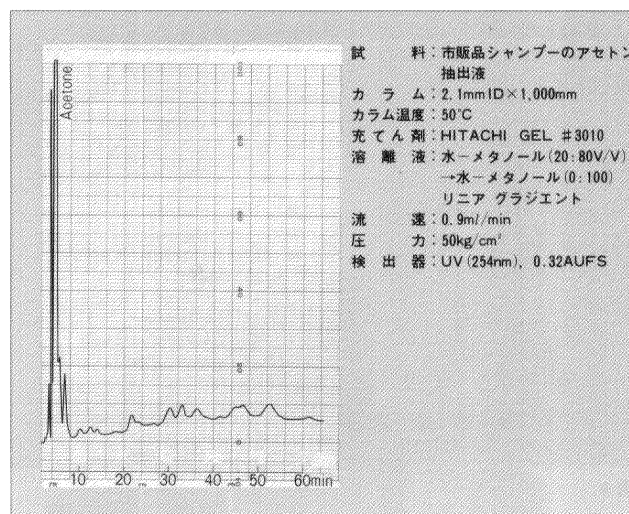


図10

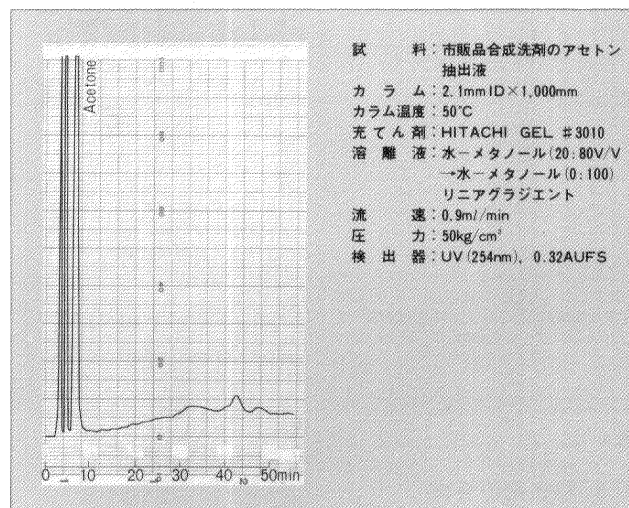


図11

管理、各種試験、応用研究などの実際面に発展する足がかりとして参考になれば幸いである。

参考文献

- 1) 新田進治: 化学と薬学の教室, 41, 27 (1973)
- 2) 奥田吉則: フレグランスジャーナル, 1, 3, 34 (1973)
- 3) 渡部伸一, 藤原喜延, 塚田勝男, 鴈野重威: 第17回液体クロマトグラフ研究会講演要旨集, 54 (1974)

編集後記

■走査電子顕微鏡の試料処理技術としてのイオンエッチングは、試料の内部構造の観察を可能にする方法で、今後の発展が期待されます。

■2波長分光光度計に迅速濃度測定装置を組合せたシステムは、手軽に採用頂ける部分自動化のシステムとして、ルーティン分析の省力化、精度の向上に寄与するものと考えます。

■本号の報文では、三共(株)生産技術研究所より、日立ゲル3010の分離特性、ならびに分離機構について詳細に報告して頂きました。

■本号は、都合によりNo.4(8月号)とNo.5(10月号)の合併号といたしました。ご了承下さい。

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) 501-5311

THE HITACHI
SCIENTIFIC INSTRUMENT NEWS
OCTOBER, 1974, Vol.17 No.4/5

発行 昭和49年10月1日
(年6回 毎偶数月発行)

発行人 湯川 清

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