

THE HITACHI SCIENTIFIC INSTRUMENT NEWS

AUTUMN 1975
VOL.18 NO.3

目次

巻頭言

分析機器の恩恵と反省…山本勝巳…1

報文

油臭魚のガスクロマトグラフィと…

石油成分の赤外分光測定…

緒方正名 三宅与志雄 吉良尚平…2

日立イオンマイクロアナライザの
オンラインデータ処理システム

…田島芳男 加藤義治

早川 肇 西脇耕治 柴田 淳

長島直之 平野徳郎 服部忠鉄…6

GC 質量分析計によるマスフラグ
メントクロマトグラフィとマス

クロマトグラフィ…

…秋森伯美 千徳一夫…9

556形日立2波長自記分光光度計
とその応用例(1)…

本川 忠 小森律夫 黒石忠文…12

日立ケミカラム(ガラスキャピラ
リカラム)とその応用…

広田邦男 高田芳矩 秋森伯美…15

トピックス

走査電子顕微鏡における試料の動
的観察——マイクロマニプレー

タの応用——…18

日立グリムランプ…11

400/500形日立自動分析装置用

紫外光度計 平面サンブラ

項目切換装置…18

H-500形日立高分解能電子顕微鏡

通商産業大臣賞並びに

日刊工業新聞社賞を受賞…19

日本電子顕微鏡学会 第31回学術

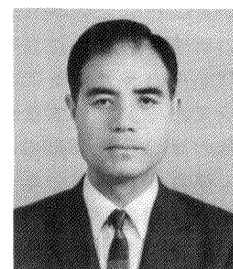
講演会 日立関係講演題目…20

巻頭言

U.D.C. 543.08.001.8

分析機器の恩恵と反省

山本勝巳*



戦後間もなく学生生活を過した筆者などは、手製の光電比色計やポーラログラフ、また初期のベックマン形の分光光度計のブロックダイヤグラムや光学系などを非常な興味をもって見聞きしたものである。いうなれば、私は今日までの理化学測定機器発展の流れの時代に生きてきたものといえるし、そのはかり知れない恩恵を受けてきたものである。そういった立場から、この機会にもう一度機器分析の現況を見直すのも大切なことではないかと思っている。

最近、手許に送られた科学研究費総合研究における「金属錯体反応の機構」研究班になるシンポジウムの講演要旨「金属錯体反応の機構」——その方法論と実験例——を見る機会があった。また、その前年の「錯体化学研究の方法論的諸問題」研究班の研究シンポジウムの講演要旨も興味深く目を通していた。分析化学の研究分野に隣接する、あるいは半ば同じ研究分野とも思われるこのフィールドの研究手段は全く機器分析の手法そのものである。それらは可視紫外外部吸収、赤外吸収、ラマン効果、旋光分散法と円偏光2色性法、X線回折法などの分光学的方法、磁性測定、NMR、ESR、NQR、メスバウアー効果など磁性の関与する諸測定のほか、ポーラログラフィをはじめとする各種の電気化学的方法など、まさに多彩かつ貧欲なまでにいろいろな方法を駆使している。

そういった研究方法から得られる知見は、結晶状態と溶液状態を問わず、物質の構造から電子状態、溶液中に存在する化学種の溶存状態や平衡、さらに高速な反応系まで含めた諸種の化学反応速度や機構にまで立入っている。分子の立体構造、コンフォメーションにも有効な情報を提供している。実際これらの多くの機器なくしては一日も研究の進展はおぼつかないであろう。

先日うかがった武内次夫日本分析化学会前会長の同会第16回通常総会に引続いての特別講演での紹介によれば、1977年9月、日本で開催される第26回国際純正応用化学連合会議の分析化学のシンポジウムの話題として、次のような主題が考えられているという。(1)物質のキャラクタリゼーションにおける方法論 (2)分析化学のシステム化(コンピュータを用いる分析化学) (3)配位化学の応用 (4)機器分析化学、特に原子吸光分析、電気化学分析、クロマトグラフィ、質量分析など。

まさに、分析化学は機器の提供する情報による知見を加えて、古典的な定性、定量分析をこえて状態分析、物質の構造、反応の機構にまで新しい分析対象領域を開発したものといつてさしつかえあるまい。

化学分析のもつ物質分離という直接的なものから、そのもつ性質を信号化して

* 茨城大学 理学部 教授、理博



認識、情報を得る間接的方法となり、物質を総体として認識し、それらの構成物質の機能を知り、分子や結晶の知識が深まり、化学反応の解析が進んで、新しい分析化学のパターンが生まれているのであろう。こういった現状からするならば、分析化学の指向はおのづから明らかとも思われる。

ひるがえって、そういった化学情報による知識はどこまで行きつくのであろうか。物質構造や反応性に関する膨大な知識が定量的に、合理的に体系化されて究極的にどこまで行きつくのか。化学結合は厳密に理解されるのだろうか。われわれの取扱う元素や化合物は個性的であり、そこにこそ化学の妙味がありはしないだろうか。電子1個を失って自身は不活性ガスの電子配置をとり、一価イオンとなって周期律表の第1族に分類されるナトリウムイオンとカリウムイオンはしょせん別個のものである。そんなことを思うと、最近のナトリウムイオンを捕える有機試薬の話はまた興味深い分析化学の対象に思える。案外そんなところにも華々しい機器分析の動向とやらはらに化学の興味は尽きない。EDTAに代表されるアミノポリカルボン酸の配位子群の研究がおびただしい分析化学への寄与をなし、尽きない利益を与えていることを思うと、化学の妙味はつるばかりである。そしてまた分析対象の拡大は、そこに新たな機器の登場をうながすのであろう。

筆者らも自記分光光度計、ラビッドスキャン分光光度計など各種の分析機器を利用しているが、そんな時に時おり経験するのは、得られた実験データの解析の際に実験に協力を願った学生諸君の誤りなどである。自分でかなり使用経験のある機器については、こんなはずがないと思って学生諸君と話し合うとたいていの場合になんらかの誤りを気づくことが多い。経験の浅い機器については場合によって全く見逃すことがある。筆者らは幸い恵まれた地の利があるので大事にいたらぬことが多いし、電話一つでなんらかのヒントをいただいて大助かりであるが、機器の検出感度や分解能になぞらえたわれわれ研究者自身のデータに対す

る検出感度、分別能力が不鋭敏になると、全く機器に使われることになる。そろそろいいことである。

こんな次第で膨大な、多数の高価な分析機器を使いこなすことは不可能に近い。いきおい、スペシャリスト的傾向はやむを得ない。“Analytical Chemistry”誌上に見られる機器に関する報文に、いわゆる「分析化学者」以外の方による、なにがしか自分の研究を推進し、好ましい解析手段を得るための必要に応じての機器の改良であったりする論文が多いという。分析化学が方法論的な立場を主点とするとき、機器に使われない立場、機器を使いこなす立場がいかに強調されても、過ぎるということはあるまい。

詳しい現状は知らないが、たいていの大学の分析化学の講義の中には「機器分析」という講義題目が見られる。分析化学の講義には機器を避けて通ることはできない。毎年講義の始めに触れることであるが、「機器分析」と銘うった内容には大学の講義もあれば、学会、メーカーなどによる各種の「機器分析講習会」、あるいは本誌にも見られる新しい「機器の紹介」といったものが考えられる。そこで学生諸君に前置きして新しい機器の説明や使用法はそれぞれ向きにお願いし、筆者はいつも機器分析らしからぬ講義を始めるのを常としている。努めてわれわれの日常触れる化学現象や、機器によって得られる情報がどのような法則によって物性の信号として現われているのかという原理的なものに触れたいからである。

幸い学生諸君は頭も柔らかいし、ことにTV時代、情報化社会に育った人たちである。実験に当たっても、こちらの気持とはうらはらに、高価な繊細な機器におっくうがらずに取組んでくれる。また、大学で使用した機器は彼等の頭に焼付いていて、将来、機器を購入する場合には、一度使用した経験のある機器を購入するというのが大方の卒業生の共通のパターンである。

このような現状からすれば、案外、分析機器の円滑な進歩発展の芽ばえはこれらの三位一体の有機的な結果に期待されるべきかも知れない。

報 文

U.D.C. 543.544.4.084.83:547.532/.534.064:597

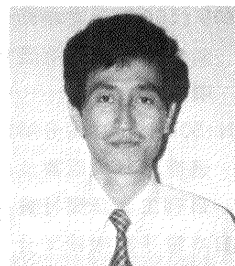
628.394.12:665.6/.7]:639.2.052

油臭魚のガスクロマトグラフィと石油成分の赤外分光測定

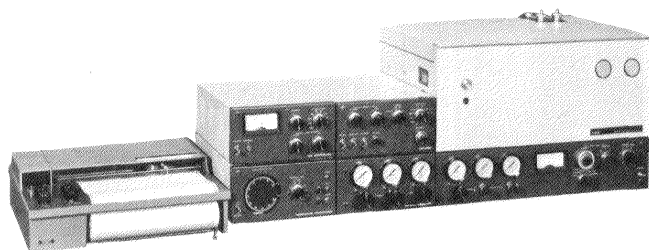
1. 緒 言

石油工業の発展に伴って、石油工場廃水による海洋汚染及びそれに伴う油臭魚の発生は重大な問題となっている。前報¹⁾において私どもは工場廃水を原因とする油臭魚について報告を行った。さらに、タンカーからのビルジ水及びバラスト水で沿岸海域は常時汚染されており、特にジュリアナ号の座礁事故の際は原油による甚大な海洋汚染が認め

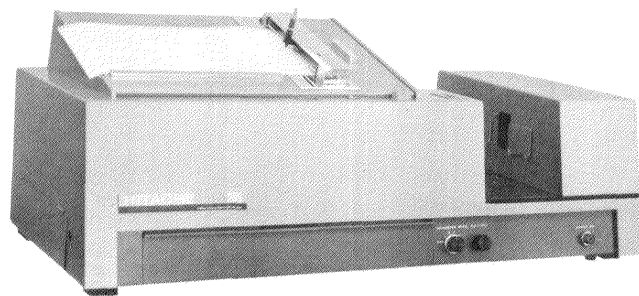
緒 方正 名* 三宅与志雄* 吉良 尚 平*



* 岡山大学 医学部 公衆衛生学教室



063形 日立ガスクロマトグラフ



285形 日立赤外分光光度計

られた²⁾。今回は、原油と油臭魚の発生の関係を明らかにするために、原油中の石油成分の移行とその推移について実験的に飼育した魚を用いて研究を行った³⁾。また、石油成分の特性や環境中における変化についても検討した。その成績をここにご報告する。

2. 実験材料ならびに実験方法

2.1 実験Ⅰ・原油飼育による油臭魚のガスクロマトグラフ分析

魚の飼育：水54 l を入れた水槽に原油(サウジアラビア石油)45gを油膜を作るように静かに注ぎ、エアレーションしながらウナギ(130~180g、油浮遊水中で6匹、清浄水中で4匹)を飼育した。

検 水：ウナギの飼育槽底部の油水10mlを硫酸15gとともに50mlルアロック注射筒に入れ、必要に応じて0.05ppmのメチル n -プロピルケトン0.2%カーボワックス懸濁液5.0mlを内部標準物質として加えた後、加熱によって生じた空間ガスをガスクロマトグラフ付属のガスサンブラ(2.0ml)に注入した。

魚 体³⁾：ウナギ肉を細かく砕き、天秤で正確に測定して、あらかじめ10mlの空気を入れたルアロック注射筒に加え、100℃沸騰水中で5分間加熱した。得られた空間ガス量を補正のため測定した後、五酸化リンで脱水し、ガスサンブラ(2ml)に導入した(試料の重量はほぼ0.4g付近とした)。

検量線の作成は以下のごとくである。正常ウナギの肉を細かく砕き、重量を測定した後、Benzeneの例では、Benzene、Toluene、 m -Xylene、 o -Xyleneの一定混合液を添加した。一定混液は以下のように調整した。すなわち、Benzeneの検量線については、Toluene、 m -Xylene、 o -Xyleneの等量混液とBenzeneの比が63:1となるような混液を作り、Toluene、 m -Xylene、 o -Xyleneの検量線についても同様の方法で混液を作成した。以下、ウナギ肉と同様に、ガスクロマトグラフに導入し濃度対ピーク面積図を作成する。計算は、ピークの面積より検量線を用いて濃度を算出した後に空間

ガス10mlに対する補正値を導入し、ウナギ肉1g当りの成分量に換算した。

2.2 実験Ⅱ・芳香族成分の魚体よりの消失

Benzene (1,800ppm)、Toluene (600ppm)、 m -Xylene (180ppm)、 o -Xylene (180ppm)を含む海水中で10日間飼育したウナギをこれらの成分を全く含まない海水中に移して飼育し、5日間隔で取り出して実験Ⅰと同じ条件で処理を行い、魚肉中のこれらの成分の推移を測定した。

2.3 実験Ⅲ・油除去剤の魚への移行

魚の飼育：油除去剤を20 l の淡水に溶解して300ppm(W/V)とし、飼育槽を金網で上下の2部に分ち、その下部に5匹のウナギを13日間飼育した。

魚 体：ウナギのミンチ肉を100g採取し、2-NのKOH含有エタノール中で100℃1時間加熱処理したものを、 n -Hexane 100mlで3回抽出し、3回水洗後芒硝で脱水する。その後Hexane層を3~5mlまで濃縮し、Almina及びシリカゲルカラム〔あらかじめ220℃で4時間焼き活性化したSilicagel(ワコールゲルC-200)16gを下層におき、その上層に同じようにして活性化したAlmina(ブロックマン)8gに5%の割合に H_2O を加えたものを入れて調整したもの〕に流して100mlの n -Hexaneで石油成分を溶出させる。それを3~5mlに濃縮したものをガスクロマトグラフに5 μ l注入した。

2.4 実験Ⅳ・石油成分の泥土より魚への移行

魚の飼育：泥土は1968年に石油工場廃水口付近より採取し、凍結保存していたものを用いた。80 l 容量ポリバケツの底に上記の泥土を約5cmの厚さに敷き、海水60 l を入れてウナギを5尾4日間飼育した。使用した泥土の n -Hexane可溶成分は0.98mg/g(乾泥)であった。

魚 体：飼育後のウナギ肉質部の石油成分を実験Ⅰと同様に分析した。

● 実験条件

使用機器：主に、063形 日立ガスクロマトグラフを使用した。

実験Ⅰ

充てん剤：(10%) $\beta\beta$ -Thiodipropionitril
($\beta\beta$ -TDPN) メッシュ60~80

カラム：ステンレスカラム ϕ 3mm $\times$ 2m

カラム温度：80℃

ギャリヤガス： N_2 , 40ml/min

チャートスピード：10mm/min

注) 検水及び重油エマルジョン(1,000ppm W/V)は、加熱後の空間ガス量30ml、感度(attenuation)は 1×16 である。魚肉は、空間ガス量2.2ml、感度(attenuation)は 1×256 である。

実験Ⅱ・Ⅲ

充てん剤：液相 $\beta\beta$ -TDPN (10%)

カラム：ガラスカラム ϕ 3mm $\times$ 2m

カラム温度：65℃

ギャリヤガス： N_2 , 40ml/min

チャートスピード：10mm/min

実験Ⅳ

充てん剤：Silicon OV-17 2%

カラム：ステンレスカラム ϕ 3mm $\times$ 2m

カラム温度：80 $\rightarrow$ 300℃ 10℃/min 昇温プログラム使用



キャリアガス：N₂ 40ml/min

実験V・赤外線吸収スペクトル^{3),4)}

一定重量の重油 (M. Co. 製) を四塩化炭素で1,000ppm (W/V) に希釈したものを使用した。吸収スペクトルは、285形 日立赤外分光光度計により測定した。セルは Spacer 0.2mm, Tl 有窓板 KR-S-5 を用いた。測定条件は、パラメータモード：2 (スキンスピード 6 min), %T スケール：×1 である。

3. 実験成績

3.1 原油による油臭魚のガスクロマトグラフ

原油飼育群及び清浄水飼育群のウナギ肉のクロマトグラム及び芳香族化合物の測定値を比較すると、各ピークが飼育水中の原油により影響を受けたかどうか推定できる。ウナギが、飼育中に原油の影響を受けたと推定されるクロマトグラム上のピークのうち、芳香族炭化水素によるピークは、Benzene, Toluene, m-またはp-Xylene, o-Xyleneに相当する retention time をもつピークである (図1)。なお、飼育水及びウナギ肉に含まれる原油成分中の脂肪族炭化水素は、この充てん剤 $\beta\beta$ -TDPN では主として Benzene の前に現われる。

さらに、原油がウナギに与える影響を推定するために、ウナギの飼育期間と、ガスクロマトグラム中の Benzene, Toluene, m-またはp-Xylene, o-Xylene の各成分濃度との関係を解析した。飼育期間と移行濃度 (平均値) との関係を図2に示す。ピークの増大は、Tolueneが最も多く、次いで、o-Xylene, m-またはp-Xylene, Benzeneの順となり、原油成分のウナギへの移行を示しているものと考えられる。飼育水中の Benzene, Toluene, m-またはp-Xylene, o-Xylene の濃度 ($\mu\text{g/g}$) に対する筋肉中のそれらの比は、Toluene

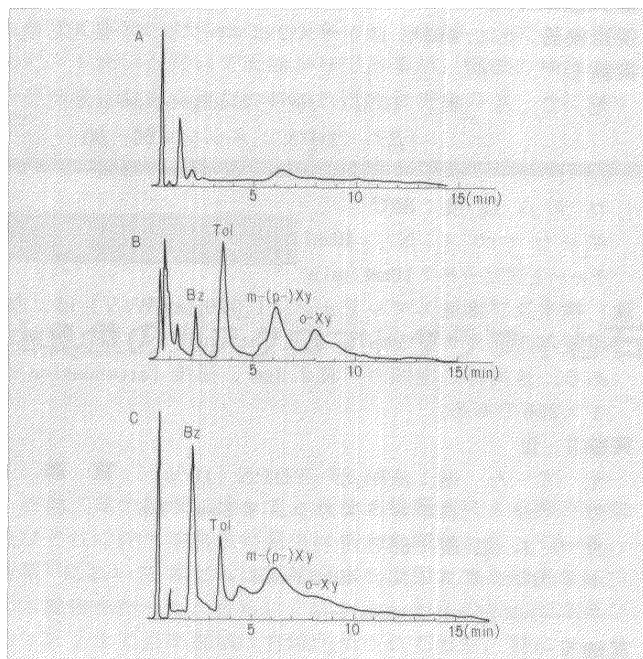


図1 浮遊原油中で飼育したウナギ肉の空間ガスのガスクロマトグラム
(A：正常ウナギ筋肉 B：浮遊原油飼育ウナギ筋肉
C：ウナギ飼育部の飼育水 Bz：Benzene Tol：Toluene
m-(p)-Xy：m-or p-Xylene o-Xy：o-Xylene)

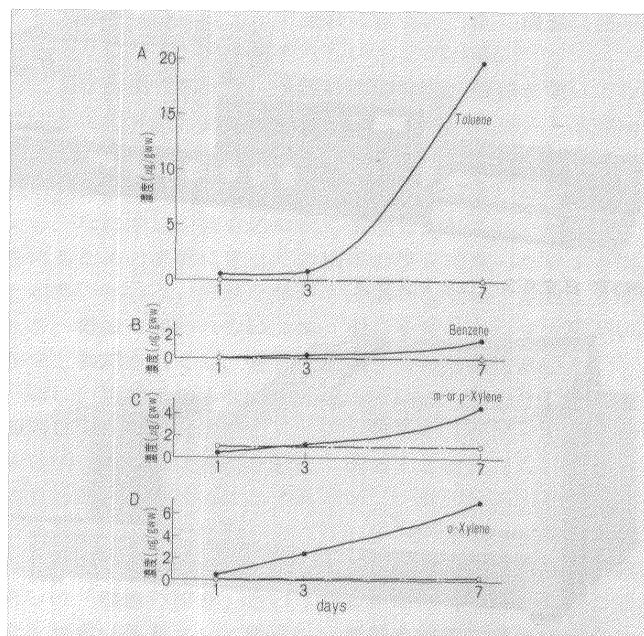


図2 浮遊原油飼育ウナギ筋肉のガスクロマトグラム中の芳香族化合物の時間変動 (実線は浮遊原油、1点鎖線は清浄水飼育ウナギ筋肉中濃度は算術平均)

の場合を100とすると、m-またはp-Xylene 27.81, o-Xylene 25.56, Benzene 15.05の順であった。Benzene, Toluene, m-Xylene, o-Xyleneの同定はガスクロマトグラフ質量分析器で行った。また、6名のパネリストによる官能テストにおいて、試育1日後のウナギすべてに異臭が認められた。

3.2 芳香族成分の魚体よりの消失

石油成分の魚体からの離脱を経時的に観察すると、清浄水中で Benzene では35日間, Toluene では40日間, m-およびo-Xyleneでは50日間の飼育で痕跡程度まで離脱することが認められた。その半減期は Benzene 8.2日, Toluene 8.5日 m-及びo-Xylene 11.6日であった。これらの値を用いて芳香族炭化水素の魚体への吸収係数、排出係数が推定された。

3.3 油除去剤の飼育実験

現在使用されている油除去剤 (G, C, K, P, M, Y, N 及び S) 8種類の等容量混合液 (濃度 300ppm) でウナギを飼育し、筋肉のガスクロマトグラムを測定した。その成績は図3(A)~(D)に示すとおりである。すなわち、油除去剤に現われるピークのうち、retention timeの比較的短いピーク魚への移行が認められた。それは、パラフィン類であれば、C₁₁~C₁₆に相当するピークである。

3.4 石油成分の泥土より魚への移行

いずれのウナギの肉質部にも泥土中の Toluene を主とする芳香族炭化水素の移行が認められている (図4)。

3.5 赤外線吸収スペクトル

蒸留重油の赤外線吸収スペクトルは図5に示すごとくである。蒸留C重油では2,930cm⁻¹の他に1,460cm⁻¹の吸収が認められる。なお、原油、蒸留A, B重油も同じような吸収スペクトルであった。一方、水素添加脱硫重油では、2,930cm⁻¹に比べ1,460cm⁻¹の吸収が極めて低いという特徴が認められた。

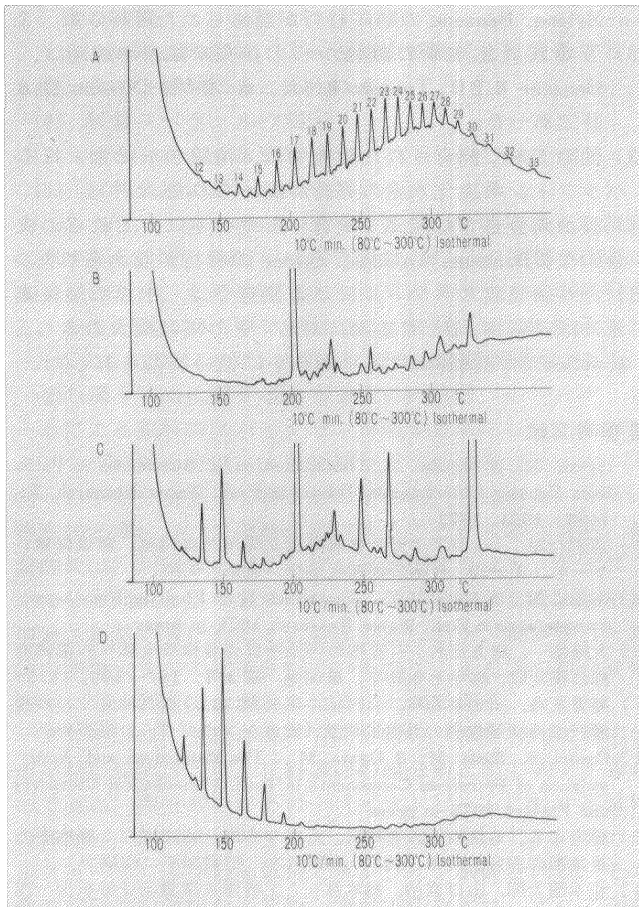


図3 油除去剤で飼育したウナギ肉のガスクロマトグラム
(A：パラフィン標準物質、数字はカーボン数 B：対象ウナギ肉 C：油除去剤で飼育したウナギ肉 D：油除去剤の各ガスクロマトグラム)

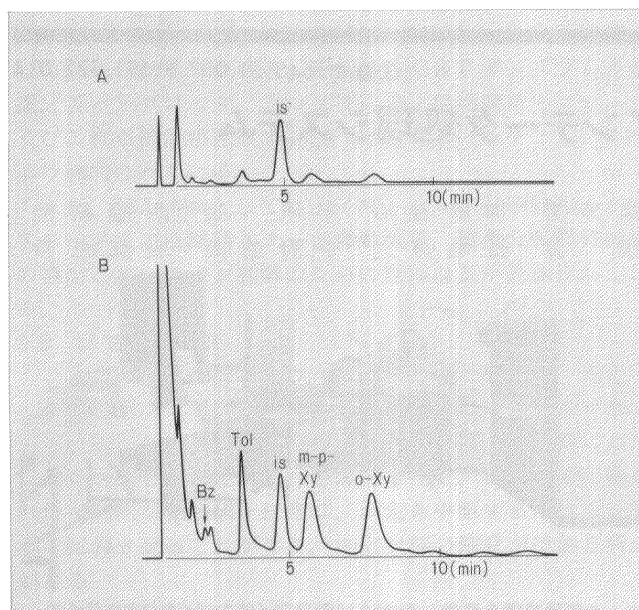


図4 汚染泥中で飼育したウナギのガスクロマトグラム
A：正常ウナギ B：汚染泥土飼育ウナギ Bz：Benzene
Tol：Toluene m-p-Xy：mまたはp-Xylene o-Xy：o-Xylene
is：内部標準（メチル-n-プロピルケトン）

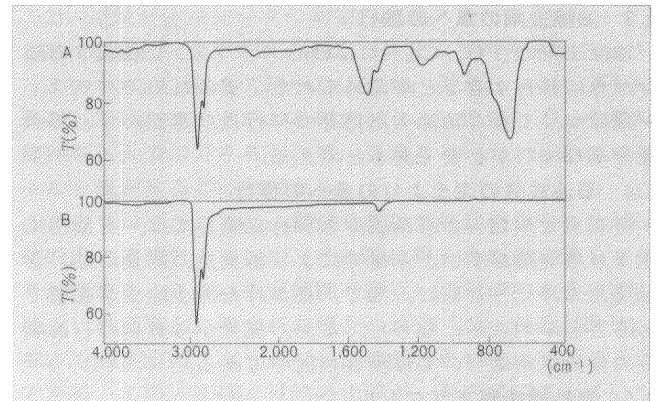


図5 蒸留C重油(図A)及び水素添加脱硫重油(図B)の赤外部吸収スペクトル

4. 考 案

4.1 原油飼育による油臭魚のガスクロマトグラフ分析

石油成分の魚体への移行に関して、私どもは、芳香族炭化水素、オレフィン系炭化水素とパラフィン系炭化水素を対象としてきた。現在までの分析法としては、ガスクロマトグラフ法による魚体中の石油成分の定量には、(1) 魚肉の直接加熱によるガスクロマトグラフ法³⁾ (2) 魚肉の水蒸気蒸留物のガスクロマトグラフ法¹⁾ (3) 魚肉のアルカリ分解を行い、カラム分割後のガスクロマトグラフ法の3法を用いてきた。これら3方法のうち、(1)法は沸点の低い芳香族化合物の定量に便利である。(2)法は芳香族化合物のほか、脂肪族化合物の一部の定量に利用できる。(3)法は、脂肪族化合物の定量、特にパラフィン系化合物の定量に有効である。その他、魚肉中の脂肪族を中性脂肪、脂肪酸、フェノール類を抽出法によって分別後定量する方法がある。この方法は、沸点の低い石油成分、特に芳香族炭化水素の定量には適当でないが、脂肪族炭化水素の分別・定量には有力な方法であると考えられる。現在これらの方法を総合した系統的な石油成分の定量法を検討中である。

油臭魚について、私どもは、岡山県水島海域で捕獲された油臭魚中の芳香族炭化水素、特にTolueneをガスクロマトグラフ分析法、質量分析法、赤外及び紫外吸収分析法で同定し、石油工場排水との因果関係を明確にした¹⁾ また、岩国における油臭魚より、ガスクロマトグラフ法によって、脂肪族のうち、過塩素酸水銀処理によって消失するオレフィン類の存在を認めた⁵⁾ 今回は、油除去剤の成分のうち、芳香族炭化水素の他にパラフィン系炭化水素の魚肉への移行が確認された。パラフィン類は異臭が比較的少なく、その毒性は比較的低いといわれているが、魚類に移行する石油成分の1つと考えられ、今後問題になる物質である。

4.2 芳香族成分の魚体よりの消失

魚体内における芳香族成分の推移について、その半減期は、Benzene 8.2日、Toluene 8.5日、m-及びo-Xylene 11.6日であった。これらの成分はすでに報告したように、酸化酵素の活性の弱い⁶⁾ ことによって代謝産物として排泄されずに蓄積され、成分自身のエラよりの拡散が魚体よりの消失の主な経路であることが推定される。



4.3 油除去剤の魚への移行

油除去剤のうち、 C_{13} ～ C_{16} の n -パラフィンに相当する部分が魚に移行することが認められた。そのため、パラフィン類ばかりでなく油除去剤自身の移行及び毒性について今後詳細な検討が必要であると考ええる。

4.4 石油成分の泥土よりの魚への移行

現在まで魚類への石油成分の移行に関しては、石油汚染水よりの実験が多い。本研究により油臭魚の防止には、含油廃水の浄化とともに、油で汚染された泥土除去が必要であることが明らかになった。なお、泥土から魚への石油成分の侵入経路については現在検討中である。

4.5 赤外線吸収スペクトル⁷⁾

重油類は単一の成分ではなく、主成分はパラフィン系炭化水素と環状炭化水素である。そのため、すべての成分を単独の方法で測定することは困難である。松本等⁸⁾によれば、赤外線吸収スペクトルでは $2,925\text{cm}^{-1}$ の極大は $-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_3$ の伸縮振動で $1,460\text{cm}^{-1}$ の極大は変角振動に基づくという。しかし、重油類のうち脱硫重油を除いては、これらを相互に判別できるようなパタンの差異は認められなかった。

なお、各種石油類について判別及び定量を行うための方法として、ガスクロマトグラフ法⁷⁾、蛍光光度法^{7) 9)}、液体クロマトグラフ法があるが、私どもの経験では、いずれの方法においても、複数の石油類が混在している場合には極めて困難であり、さらに検討が必要である。

5. 結 論

ガスクロマトグラフによる油臭魚中の石油成分及び赤外線吸収スペクトル法による石油類の分析について検討を行い、以下の成績を得た。

(1) 浮遊原油で魚類を飼育した場合は、Toluene, m -Xylene

o -Xylene, Benzene の順に移行が認められた。

- (2) 芳香族炭化水素の魚体からの消失日数の半減期は、Benzene 8.2日, Toluene 8.5日, m -及び o -Xylene 11.6日であった。
- (3) 油除去剤で飼育された魚肉中に、油除去剤に含まれるパラフィン系炭化水素の移行が認められた。
- (4) 石油成分を含む泥土で飼育したウナギに、これらの成分のうちBenzene, Toluene, Xyleneの移行が認められた。
- (5) 赤外線吸収スペクトルによる測定では、水素添加脱硫重油は蒸留A, B, C重油に対し、その吸収極大のうち、 $1,460\text{cm}^{-1}$ が $2,930\text{cm}^{-1}$ より明らかに低い特徴を有した。

■ 参考文献

- 1) Ogata, M., & Miyake, Y., : Identification of Substances in Petroleum Causing Objectionable Odour in Fish, Water Research 7, 1493-1504, 1973
- 2) 滝沢行雄：ジュリアナ号の座礁事故と環境汚染問題，環境保健レポート，7-12 日本公衆衛生協会，東京，
- 3) Ogata, M., & Miyake, Y., : Compound from Floating Petroleum Accumulating in Fish, Water Research 1975 in press
- 4) 大崎紘一，緒方正名：石田等の汚染物質の魚体や生体への蓄積過程の推定式，医学と生物学，第90巻，第3号，157-160，1975
- 5) 緒方正名，三宅与志雄，吉村広：油臭魚における石油成分の移行瀬戸内海環境改善の基礎的研究（総合シンポジウム）昭和48年
- 6) Omori, S., Ikeda, M., & Ogata, M., : The Metabolism and Accumulation of Petroleum Components in Fish, Physiological Chemistry and Physics 1975 in press
- 7) 緒方正名，吉良尚平，吉村広，三宅与志雄，吉田好江：廃水中の重油類の測定法（第1報），工業用水，昭和50年（印刷中）
- 8) 松本龍太郎，山口直治，鈴木良一：工場排水微量油分析法—四塩化炭素・赤外分光分析法（案），日本学術振興会，製鋼第19委員会提出資料
- 9) Keizer, P.D., Gordon Jr & D.C. : Detection of Trace Amounts of oil in sea Water by Fluorescence spectroscopy, Journal of the Fisheries Research Board of Canada 30, 8, 1039-1046, 1973.

U.D.C. 543.51.087.9:681.322.014

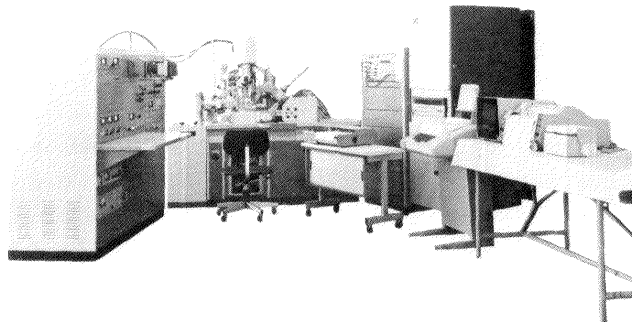
日立イオンマイクロアナライザのオンラインデータ処理システム

田島芳男¹⁾ 加藤義治²⁾ 早川 肇²⁾ 西脇耕治³⁾
柴田 淳⁴⁾ 長嶋直之⁵⁾ 平野徳郎⁶⁾ 服部忠鉄⁶⁾

1. はじめに

イオンマイクロアナライザ（以下「IMA」という）は、固体試料の表面分析やその深さ方向の元素分布測定が手軽にでき、かつ感度も優れているなどの特長があり、各方面で活用されている。特に最近では、分析手順の省力化、高信頼化の要求に沿うものとして、データ処理装置の必要性が高まってきた。

日立IMA-2形用データ処理装置は、このような要望を満たすために製品化したもので、ミニコンピュータによるオンライン制御の機能を持ち、測定プロセスの自動制御と



データ処理装置を装着したIMA-2形日立イオンマイクロアナライザ

これに続くデータ処理を一貫して行うことができ、その結果はグラフや表として入手できる。以下にこの装置の概要につき報告する。

1) 日立製作所 那珂工場 計測システム部 2) 日立製作所 那珂工場 応用技術部
3) 日立製作所 那珂工場 光装部 主任技師 4) 日立製作所 那珂工場 電装部 主任技師
5) 日立製作所 半導体事業部 主任技師，理博 6) 日立製作所 那珂工場 電装部



2. 主な機能

データ処理の内容は、これを測定目的により区分すると、大要、次の3種類にまとめられる。

- (1) 質量スペクトルの測定
- (2) 深さ方向の分布分析
- (3) 試料表面に沿った線分析

このうち、(1)の内容は、通常の質量分析装置による測定に準ずるもので、測定すべき質量数(M/e)の範囲を指定することにより、その範囲内のすべてのスペクトルを記録する。測定結果のアナログ記録には、横軸に M/e 単位のスケールが入るので、スペクトル解析に要する時間が節約できる。

(2)の深さ方向に関する分布測定の内容は、一次イオンビームによる試料のスputtering現象を利用して、sputtering時間の経過による被測定元素の強度変化を深さ方向への分布分析として得るものである。この場合、分布状態を16元素について同時に測定することが可能である。測定結果は、付属するディスプレイ装置またはX-Yプロッタに分布曲線として表示させる。同時に表示可能な曲線は、複雑さを避けるために4元素までとしたが、測定された元素の情報はすべて記憶されているので、4元素の組合せを変更して、何度でも表示させることができる。

(3)の場合は、上記の深さ方向分析の、深さ方向に対応する座標に距離をとり、試料表面の線分析として表示するものである。線分析のための一次イオンビームに対する試料の移動は、試料ステージのX、Y2軸について、内蔵のパルスモータにより1 μ m単位でオンライン制御される。その他の同時測定可能な元素数、表示方法などは、すべて(2)の場合と同じである。

3. 構成

3.1 ハードウェア

データ処理装置のハードウェアは、ミニコンピュータ HITAC-10 II (8k語)、磁気ドラム (65k語)、入出力機器として、テレタイプライタ、蓄積形のCRTディスプレイ装置、X-Yプロッタ、プログラム読込用高速テープリーダー及びこれら機器相互間やIMA本体を結ぶインタフェースにより構成されている。

また、IMA本体としては、イオンパルス計測回路、パルスモータによる試料ステージ微動機構、質量分析部の磁場の検出とオンライン制御のための回路などが追加されている。

3.2 ソフトウェア

ここで採用したソフトウェアのひとつの特長は、測定データの収集プロセスと、その表示・記録のプロセスが独立していることである。このために、例えば、長時間にわたり深さ方向分布測定を続行中の場合にも、それまでに得られた中間的な測定値を任意に、測定を中断することなく表示・記録させることができ、測定状態の確認ができる利点がある。

ソフトウェアを構成する各種のプログラムは、大きく分けると測定プログラムと表示・記録プログラムとになる。

測定プログラムはつぎの3種類に分けられる。

- (1) 質量スペクトルの測定

- (2) 連続ピークデータの測定 (連続スキャン)

- (3) 指定ピークデータの測定 (ステップスキャン)

このうち、(1)は2で述べたように、従来、レコーダ上に記録していたスペクトルを磁気ドラムに記憶して、必要な範囲を拡大表示できるもので、正確なスペクトルのプロフィールを観測することができる。

(2)のプログラムでは、質量分析計を任意の指定した M/e 範囲内で連続スキャンし、その間に得られた測定値をすべて記憶する。これは指定範囲で繰返し測定ができるので、繰返しの回数と、線分析の場合の試料ステージの移動や、深さ方向測定のスputtering時間とを対応させることができる。この方法は、目的の元素が、事前に定まっていな場合、予想される範囲のデータをすべて収集した後、ディスプレイ表示などにより結果を検討できる特長がある。

(3)の方法は、目的の元素が定まっている場合には、あらかじめ M/e を指定し(最大16個所まで)その位置を重点的にステップスキャンで測定するものである。この方法も繰返し測定ができるので、深さ方向分析、線分析のいずれにも使用できる。

記憶可能なデータエリアは大略30k語であるから、10元素につき、深さ方向分析を行う場合を例にとれば、繰返し測定可能な回数は1,400回となる。

一般に、測定したデータは、まずCRT上に表示して確認した後に必要なデータだけをプロッタに記録するのが能率的である。

表示、記録する方式を指定するプログラムには、上記(1)~(3)のほか主としてつぎのものがある。

- (4) プロファイルの表示
- (5) インデックス表示
- (6) マスクロマトグラム表示
- (7) バーグラフ表示

(4)のプロファイル表示は、スペクトルのプロファイルを忠実

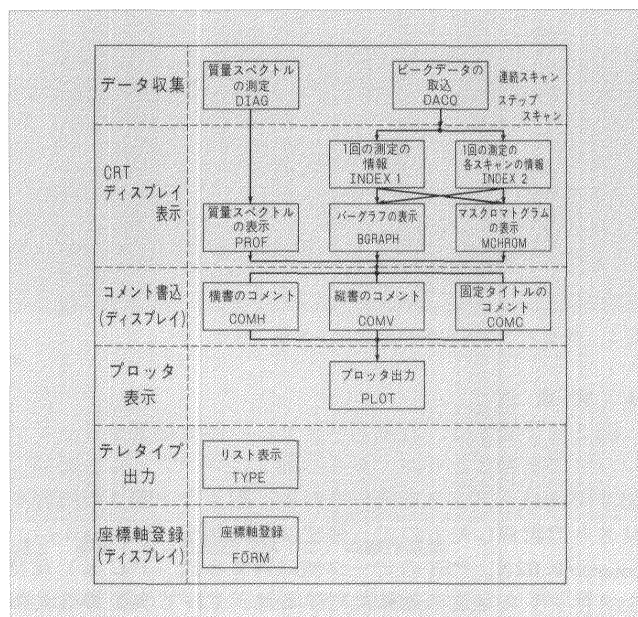


図1 データ処理プログラムの関連図



に表示するもので、(1)の質量スペクトル測定のプログラムと併用できる。(5)は一連の測定値をテレタイプライタにより数字で出力できるので、測定内容を詳細に確認する場合に有効である。(6)は、深さ方向分布曲線などを得るために使用するもので、各元素に対応するスペクトル線のピーク強度を時間（深さ）または試料の移動距離の関数として曲線表示できる。(7)のバーグラフ表示は、質量スペクトルのピーク強度を線の高さで表示するもので、表示の際の強度の処理方法により、測定値そのまま、ひとつの指定したピークに対する比として他のスペクトルを規格したもの、または測定全範囲のスペクトルの総和に対して規格したもの（全イオン強度比）の3種を選択して表示できる。

強度スケールは、いずれの表示方式の場合も、アナログ表示として、直線表示及び対数表示（目盛上7桁）が可能である。図1にプログラムの関連図を示す。

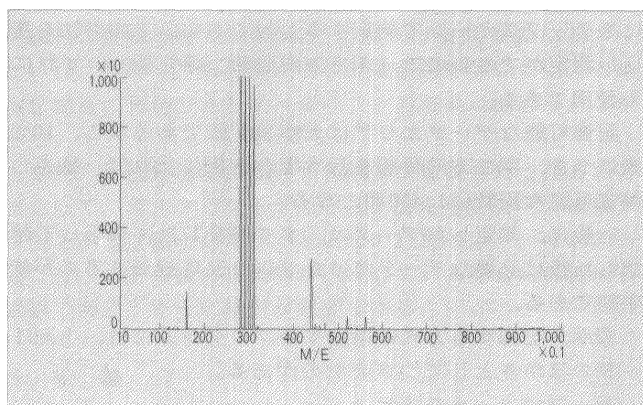


図2 質量スペクトルの記録

強度は20msecあたりの計数値を示す。試料：Si

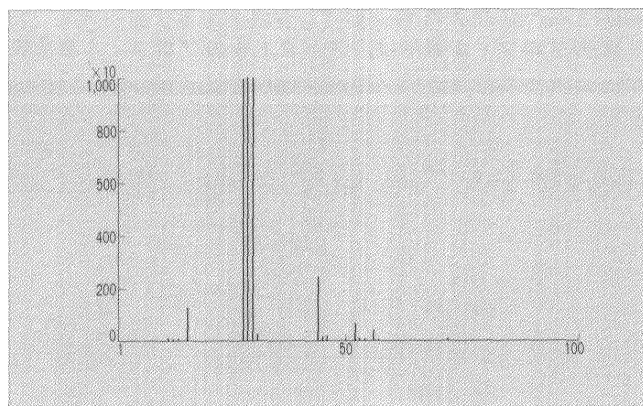


図3 質量スペクトルのバーグラフ表示 試料：Si

4. 測定例

図2及び図3は、質量スペクトルの測定結果をX-Yプロッタに記録したものである。図2はプロフィールを記録し、図3ではバーグラフで表している。図4は、図3の内容をリストで記録したもので、強度は絶対強度（Intensity）、counts/0.02S、 ^{28}Si のピーク値に対する比（PC%）及び全スペクトル強度の総和に対する比（TIPC%）の3とおりに表示されている。図5は半導体素子を深さ方向に分析した結果の4元素について分布曲線をX-Yプロッタに

HITACHI IMA-2 DATA PROCESSING SYSTEM

**

Page 1

Sample : F1 S1

M/e	Intensity	PC(%)	TIPC(%)
12	135	0.10	0.08 :
13	70	0.05	0.04 :
14	85	0.06	0.05 :
16	1289	1.01	0.78 :
27	43	0.03	0.02 :
27.5	71	0.05	0.04 :
28	127507	100.00	77.67 : *****
28.5	468	0.36	0.28 :
29	17943	14.07	10.93 : *
29.5	32	0.02	0.01 :
30	11970	9.38	7.29 : *
30.5	31	0.02	0.01 :
31	224	0.17	0.13 :
32	55	0.04	0.03 :
44	2476	1.94	1.50 :
45	169	0.13	0.10 :
46	114	0.08	0.06 :
50	45	0.03	0.02 :
52	703	0.55	0.42 :
53	103	0.08	0.06 :
54	45	0.03	0.02 :
56	431	0.33	0.26 :
57	54	0.04	0.03 :
58	39	0.03	0.02 :
72	52	0.04	0.03 :

図4 図3の測定結果のテレタイプライタによるデジタル表示

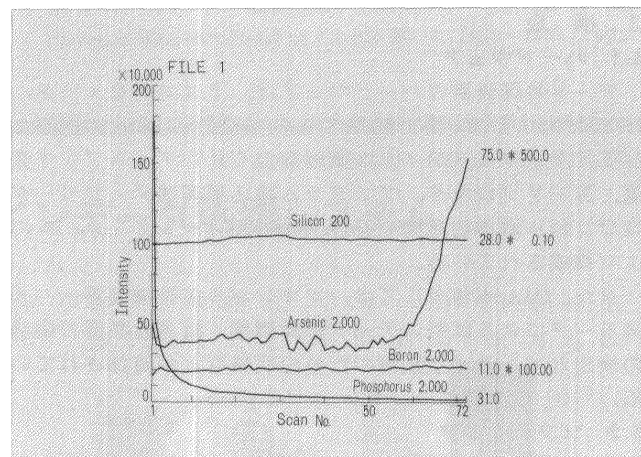


図5 半導体素子（Si）の深さ方向分布分析結果

4元素（ ^{28}Si 、 ^{75}As 、 ^{11}B 、 ^{31}P ）を同時に測定している。

より記録したもので、横軸の数字は直接には反復測定回数を示すが、72回目の測定は、深さとして1.2 μm に対応する。図中の元素名に続く数字は1回当たりの計数時間を4msの倍数で示している。曲線右端の数字はM/eで、これに続く数字は左端の強度スケールに対する表示倍率を表している。

以上IMAのオンライン、データ処理の概要を記したが、このような処理の手段は、測定の能率化や省力化に加えて測定の精度向上にも貢献するものと考えられる。

U.D.C. 543. 544. 4.084.83:543.51]:543.852:591.05—31

GC質量分析計によるマスフラグメントグラフィとマスキロマトグラフィ

秋 森 伯 美* 千 徳 一 夫*

1. はじめに

近年、医薬品、環境汚染物質及びその生体代謝物の研究は、社会的にも緊急の検討課題となっている。これら代謝物質など生化学の分野における複雑な混合物の分析には、薄層クロマトグラフィ (TLC)、ガスクロマトグラフィ¹⁾ (以下「GC」という) などが応用されるが、いずれも分離手段として用いられるのに対し、ガスクロマトグラフを直結した質量分析計 (以下「GC-MS」という) は分離と同定が同時にできる分析機器として重要な地位を占めつつある。そして、今日のGC-MSの著しい普及の要因をなすものとして、検出感度と分離能力の飛躍的向上をもたらしたマスフラグメントグラフィ、また高分離能と対象成分の認識を容易にしたマスキロマトグラフィがあげられる。ここでは、原生動物より抽出した脂肪酸に対するマスフラグメントグラフィとマスキロマトグラフィの適用例について述べる。

2. マスフラグメントグラフィ

2.1 マスフラグメントグラフィの原理

マスフラグメントグラフィは、質量分析計 (以下「MS」という) を質量数の選択検出器として動作させ、選択した質量数のイオンによるガスクロマトグラムを作成する方法である。本方法を実施する場合、多数の質量数を選択し、同時に記録することによって、より多くの情報を得る目的で多重イオン検出器²⁾ (以下「MID」という) が用いられる。

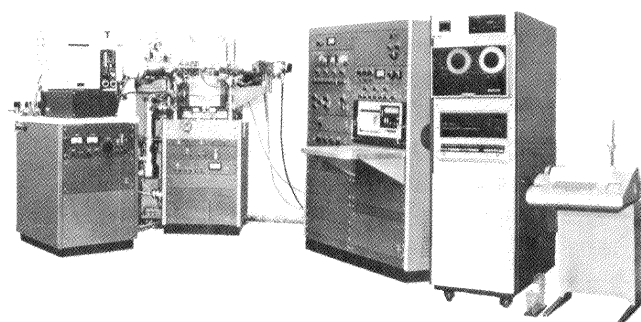
図1にM9900形日立MIDの外観を示す。また、図2のMIDの概略図によって、その動作原理を簡単に紹介する。

磁場偏向形MSにおいて、イオン源を出て、コレクタスリットを通過し、検出器に到達するイオンの質量数 (m/e) は次式で与えられる。

$$m/e = KB^2/V \dots\dots\dots(1)$$

ここに m : 質量数
 K : 装置による定数
 B : 磁場強度
 V : イオン加速電圧
 e : 電荷数

したがって、磁場強度 B をある値に固定し、イオン加速電圧 V を変化させることにより、電圧値に対応して m/e の



002形 日立データ処理装置を装着したRMU-6MG形 日立GC質量分析計

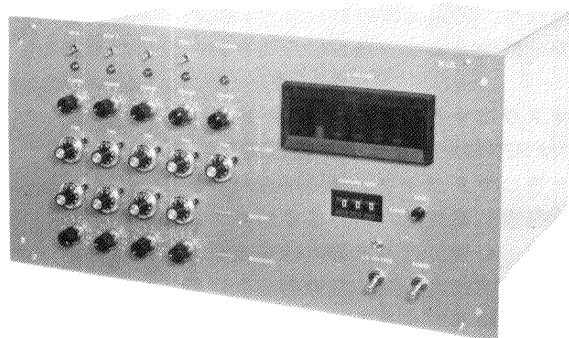


図1 M9900形 日立多重イオン検出器 (MID)

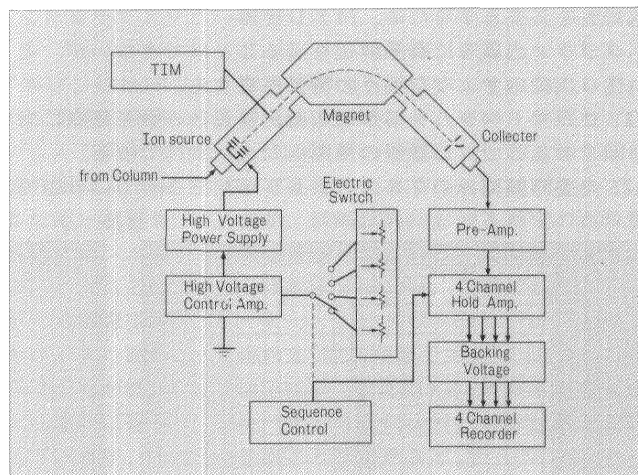


図2 多重イオン検出器 (MID) の動作原理

異なる任意のイオンを検出器に到達させることができる。いま、標準のイオン加速電圧 V_1 のとき、選定したい m_1/e のイオンが検出器に達するように磁場強度を固定し、さらに

* 日立製作所 那珂工場 応用技術部

選択したい m_2/e 、 m_3/e 、 m_4/e のイオンが検出器に達するようにイオン加速電圧 V_2 、 V_3 、 V_4 を設定し、この設定電圧をイオン源に電子スイッチによってシーケンシャルに印加する。一方、この電圧切換と同期して検出器に達する m_1/e 、 m_2/e 、 m_3/e 、 m_4/e の各イオンの強度変化をそれぞれ独立した増幅器を経て記録できるようになっている。従って各イオンの信号は必要に応じて増幅度、バッキング電圧を調節することが可能となり、共存試料の影響を受けないので、超微量分析が可能となる。

図3に原生動物から抽出した脂肪酸の $m/e284$ ($C_{17:0}$)と $m/e268$ ($C_{16:1}$)のイオンによるマスフラグメントグラムを示す。また、図4に示したTIMによるクロマトグラムのピーク(保持時間約14.5minに現われている)と比較して分離能の飛躍的向上が理解されよう。

2.2 マスフラグメントグラフィの特長

本法の特長を次に列挙する。

- (1) 検出器の時定数はイオン加速電圧の切換時間を考慮すればよく、pico-gramオーダの検出感度を期待することができる。
- (2) 選択する質量によって、GCの分離が不十分であっても分離分析ができる(高分離能である)。
- (3) GCで用いられるエレクトロンキャプチャ検出器(ECD)と異なり、特定元素の存在などの制約が不必要である。
- (4) 安定同位元素でラベルした化合物の分析ができる。

3. マスクロマトグラフィ

3.1 マスクロマトグラフィの原理と特長

マスクロマトグラフィは、小形コンピュータを組み込んだデータ処理装置を用いて、GCからの流出成分がすべて出終わるまで、全質量範囲あるいは指定した質量範囲をコンピュータの指令によって、数秒の走査を繰返し、各走査ごとに得られるマススペクトルをすべてデータ処理装置に記憶させ、その後、各成分に特有の質量数のイオンによるクロマトグラムを描かせる方法である。したがって、磁場の高速走査を必要とするため、MIDを用いたマスフラグメントグラフィのように高感度化を図ることはできないが、その代り次に示すような種々の特長を有する。

- (1) クロマトグラムを描かせる選択質量数の数を任意に増減できるので、分離能の飛躍的向上が期待できる。
- (2) 走査時間刻みのマススペクトルが記憶されているので、

一回の測定で種々の選定質量数による解析結果を得ることができる。

- (3) あらかじめプログラミングされた種々のフォーマットに従って、マススペクトルのデータが整理できる。

4. 測定例

ここに紹介する測定例は原生動物の生体膜から抽出した脂肪酸に関するもので、原生動物が外界温度の変動に対して生活を維持するために、どのような生体組織の対応を図るかを解明するうえに興味深いものである。

使用した装置は日立RMU-6MG、M9900形MID及び002形データ処理装置である。

図4にGC-MSのTIMによって得られたガスクロマトグラムを示す。このクロマトグラムのピークにはマススペクトルで同定した脂肪酸の構造を記入してある。ここで保持時間14.5minのピークはGCで分離されていない。しかし、図3のマスフラグメントグラムからは $C_{17:0}$ と $C_{16:1}$ の混合物であること、また、その混合比を求めることも可能である。図5に繰返し走査時(5s周期)のマスクロマトグラムを示す。縦軸はイオン強度、横軸は走査回数、チャートの右端には選択した質量数を示した。先に示した図3のマスフラグメントグラムはGC-MSのマススペクトルから $C_{17:0}$ 、 $C_{16:1}$ の2成分に注目して求めたものであるが、図5のマスクロマトグラムからも同じく2成分からなることが明らかにされる。

5. あとがき

原生動物の生体膜から抽出した脂肪酸を用いてGC-MSの有用性をマスフラグメントグラフィとマスクロマトグラフィの両面から紹介した。両方法ともに、GCのカラム条件を変えずに、その分離能力を一挙に数百倍以上も向上させるという新しい技術を提供するもので、今後さらに新しい応用分野の発展が期待される。また、マスフラグメントグラフィは超微量分析を必要とする分野、すなわち環境汚染物質、医薬品の代謝経路の解明ばかりでなく、生体の異常代謝物質の測定による臨床診断^{3),4)}など、医学研究への応用が急速に展開されるであろう。

終りに当り、貴重な試料をご提供いただいた岐阜大学医学部 野沢義則助教授に感謝の意を表する。

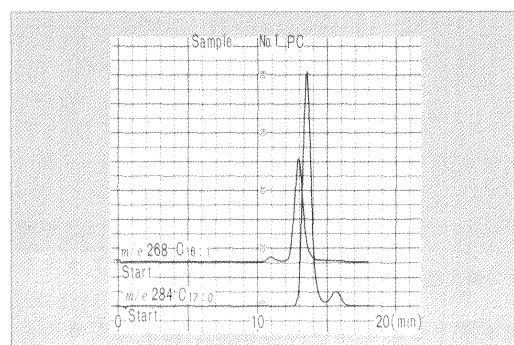


図3 $C_{17:0}$ ($m/e284$)、 $C_{16:1}$ ($m/e268$) によるマスフラグメントグラム

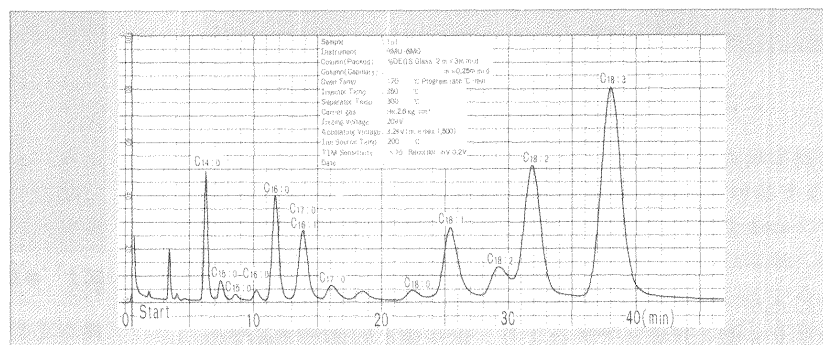


図4 原生動物の生体膜より抽出した脂肪酸のTIMによるクロマトグラム

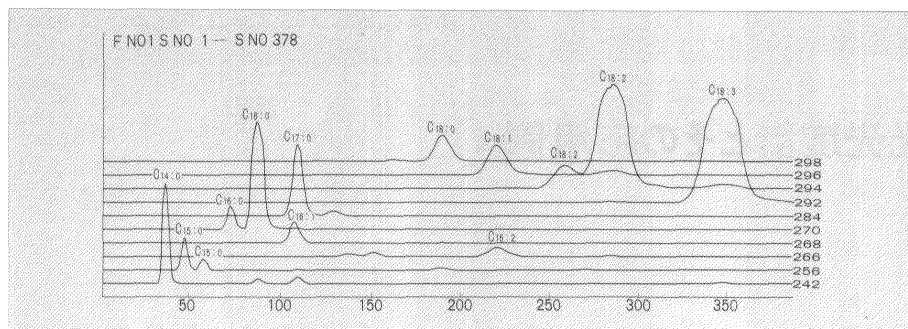


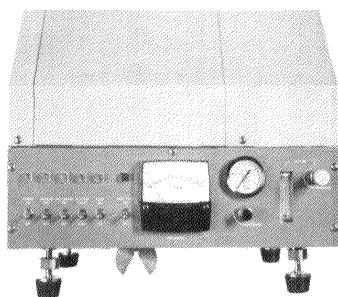
図5 原生動物の生体膜より抽出した脂肪酸マスキログラム

参考文献

- 1) 広田邦男 他, 日立評論, **56**, (1974) 1049
- 2) Hammar, C. & Hessling, R.: *Anal. chem.*, **43**, (1971) 298
- 3) 松本 勇, “ライフサイエンスとGC-MS” BMS 談話会要旨集, 昭和50年2月
- 4) 馬場茂雄, “S I トレーサー法による薬物代謝の研究” BMS 談話会要旨集, 昭和50年2月

Topics

発光分光分析用 固体試料用光源として最適 日立グリムランプ



従来、発光分光分析用光源として、アーク、スパーク、プラズマジェット及びプラズマトーチなどがあり、各分野において活用されています。特に、固体試料の分析に対しては、アーク、スパークが主に用いられていますが、これらの光源は、電流が大きいこと、原子の気化が熱によることから分別蒸溜(金属により蒸発速度が異なること)という現象をさけることが不可能でした。また、同一試料でもその履歴により検量線が異なるという現象がありました。

日立グリムランプは、¹⁾²⁾³⁾最近、固体試料用光源として注目されているもので、数Torrのアルゴン雰囲気中でアルゴンイオンによるスパッタリングを利用して金属を原子化し、アルゴンのグロー放電プラズマ中に導入し発光させるものです。この光源は、従来のアーク、スパーク光源に比較して次のような特長をもっています。

特長

1. スパッタリングを利用しているため、熱的要素が少なく、分別蒸溜が起らない。
2. 試料の履歴の影響が比較的少ない
3. 減圧下の放電のため、スペクトル線幅が狭い
4. 自己吸収が少なく、高濃度域まで直線性の良い検量線が得られる
5. 放電が安定なため、精度が良い

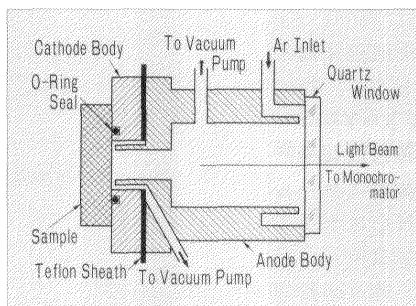


図1 グリムランプ構造図

構造

図1に示すように、アルゴンはInletからランプ内に導入され、別個に作動する2基の真空ポンプによって排気されます。試料と陽極管部の間は、0.3mmのギャップとなっているため、試料表面の圧力は、陽極管空洞部に比べ本質的に低い圧力となります。このことは、アルゴンのグロー放電が、陽極管空洞部において最も安定であり、また試料におけるスパッタリングは圧力が低いほど効果的に行われ、より感度に寄与するという条件を満足しています。また、試料と陽極部、陰極と陽極管部の間げきも0.3mmに設定されていることにより、異常放電(放電がいろいろな場所でおこること)を防ぎ、放電及びスパッタリングが陽極管の陰極に近い内径

内でのみおきるように限定しています。

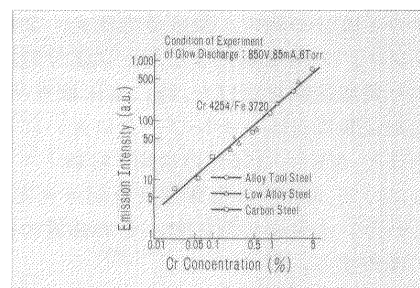


図2 クロム検量線

測定例

測定例として、鉄鋼試料中のクロムの検量線を図2に示します。データよりわかるように、工具鋼、普通鋼、低合金鋼の3種の試料に対し、1本の検量線を引くことができ、良好な直線性を示しています。従来の発光分析では、検量線が高次の曲線となっているためコンピュータなどによる補正計算が必要でしたが、このグリムランプでは、ほとんどの検量線が直線となるため、補正計算は不要です。その例として、従来測定困難とされていた銑鉄などにおける炭素の分析において、10%前後まで直線性のあることが確認されています。鉄鋼試料における測定の再現性は直接信号において、CV値で3%、内標準積分法では、1%でした。

また、このグリムランプは、粉体を銅粉末(他の粉末でも可)と混合した後、加圧成型(赤外用KBr錠剤成型器を使用)することにより、粉体試料も測定することができます。⁴⁾

参考文献

- 1) Grimm, W.: *Spectrochim. Acta* **23B**, 443 (1968)
- 2) Jäger, H.: *Anal. chim. Acta* **60**, 303 (1972)
- 3) Boumans, P. W. J. M.: *Anal. chem.*, **44**, 1219 (1972)
- 4) Massmann, H.: *Spectrochim. Acta* **27B**, 65 (1972)



U.D.C. 681.785.434.2.087.6:543.422

556形 日立2波長自記分光光度計とその応用例(1)

本川 忠* 小森 律夫* 黒石 忠文*

1. はじめに

日立では、混濁試料測定のために考案された2波長分光測光法を装置に採用し、1968年、356形日立2波長自記分光光度計(以下「356形」という)を発表し、さらに1971年、156形日立デジタル2波長分光光度計(以下「156形」という)を発表した。その間、ソフトの開発に努力し、多成分混合物中の1成分の測定、微分分光測光、2波長薄層クロマトグラフィ、2現象測光など、生化学分野はもとより一般分析へと使用範囲を広げた。特に臨床検査向の156形付属迅速濃度測定装置はルーチンワークに大いに利用されている。このほど、356形・156形の技術・経験・ユーザの意見などをもとにして、556形日立2波長自記分光光度計(以下「556形」という)を開発したので、その装置の内容・応用例について報告する。

2. 機能

556形は、自記分光測光と2波長分光測光の両機能を備え、さらに2波長走査測光、微分分光測光の機能も有し、特に自記分光測光の機能を向上させたものである。X-Yレコーダを標準とし、レポートスキャンを内蔵、光源自動切換、最大1200nm/minの波長走査の機能を有する。測光スケールは最大拡大A0-0.01濃度が直読できるCONCスケールがある。主な付属装置は、恒温セルホルダ、低温セル、励起光照射装置、薄層クロマト装置などがあり、種々の研究に応用できるようにした。

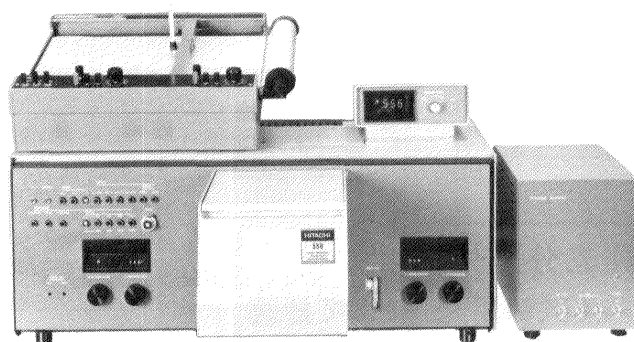
3. 構造

自記分光測光の場合は、図1(a)に示すように λ_1 モノクロメータの白色光はシャ断され、 λ_2 モノクロメータからの単色光がチョッパで2光束にされたのち、試料と標準を照射する。2波長測光、微分分光測光の場合は、図1(b)のように λ_2 モノクロメータからの単色光のうち、標準側単色光はシャ断され、 λ_1 、 λ_2 両モノクロメータからの単色光が交互に同一光路を通り、試料を照射する。

4. 測定例

1枚のチャート上に900~190nmの波長範囲のスペクトルを描くことができる。350nmで光源の自動切換が行われる。図2の1は100%ライン、同じく2はホロミウムの吸収スペクトルである。

図3はパン酵母懸濁液の吸収スペクトルである。試料の濁りを消去する目的で標準側に濾紙を12枚重ねてセットし



556形 日立2波長自記分光光度計

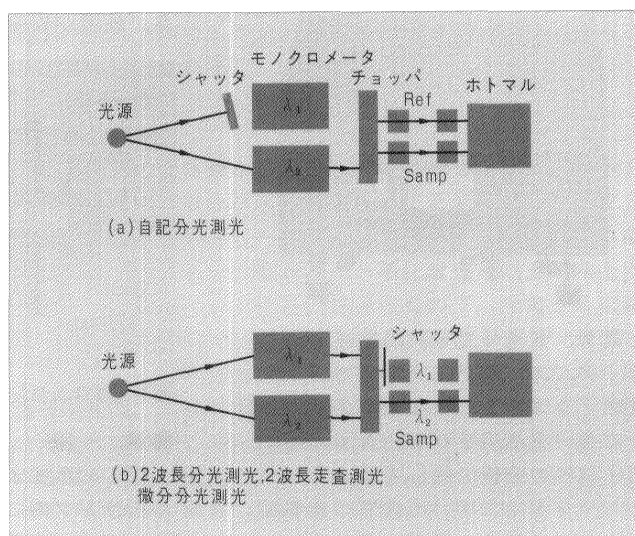


図1 光学系ブロック図

た。10枚以上重ねた濾紙を透過する微弱光も検知可能である。

図4はチトクロムCの差スペクトルである。同図の1は酸化型試料のベースライン、2は試料を還元した差スペクトルである。還元・酸化型チトクロムのきれいな差スペクトルが得られる。

図5はアスピリンが熱分解し、サルチル酸に変化する過程を示すもので、レポートスキャンにより連続測定した。80℃に保温するため恒温セルホルダを使用した。

図6の1は過マンガン酸カリウムの吸収スペクトルを示す。吸収ピーク位置及び中間を10倍拡大したのが同図の2、3で、任意の吸収位置での拡大が可能である。

図7の1、2、3は食品着色剤R102、R104とその混合物の吸収スペクトルを示す。R104、混合物の二次微分スペ

* 日立製作所 那珂工場

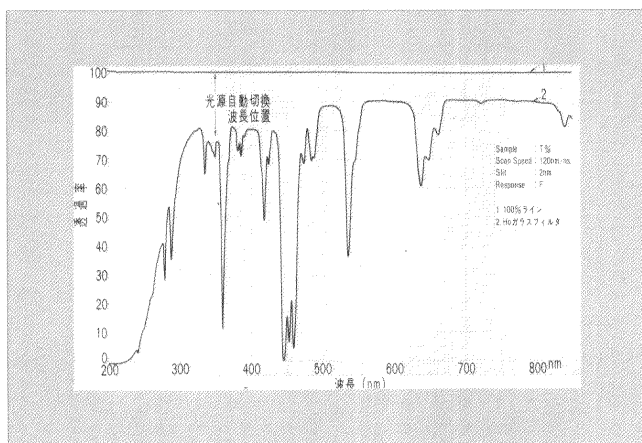


図2 全波長吸収スペクトル

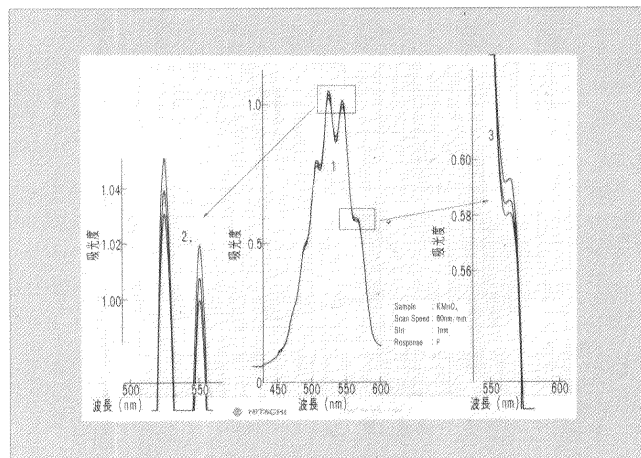


図6 吸収スペクトルの部分の拡大

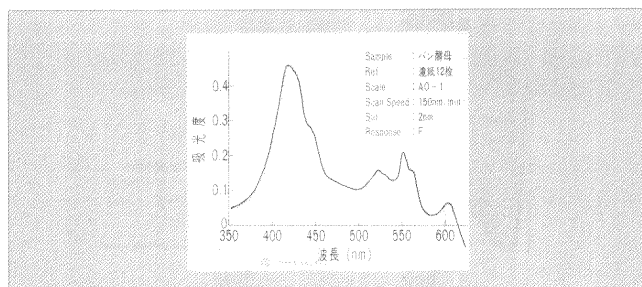


図3 混濁試料の吸収スペクトル

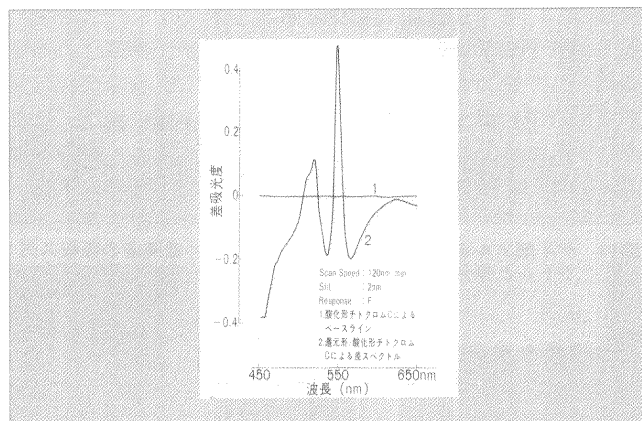


図4 差スペクトル

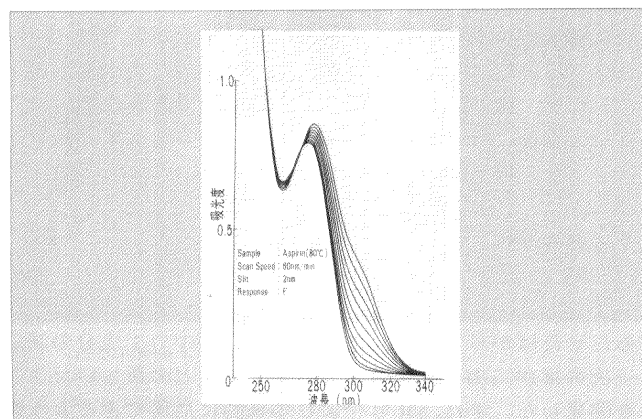


図5 レピートスキャン

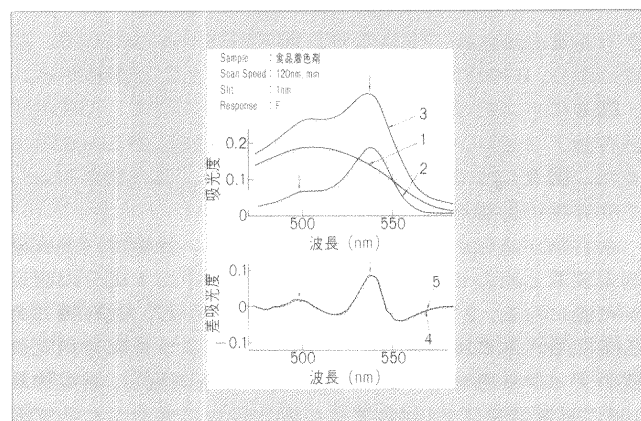


図7 二次微分スペクトル

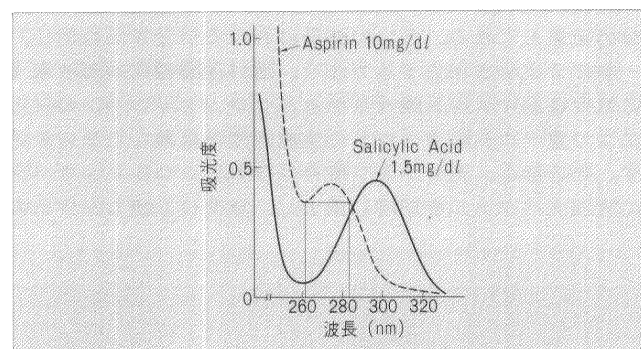


図8 アスピリン及びサリチル酸の吸収スペクトル

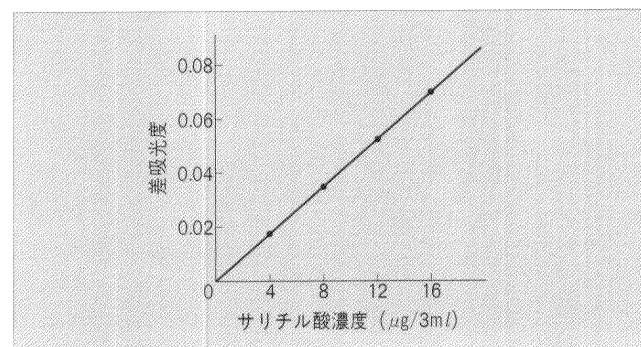


図9 サリチル酸の定量

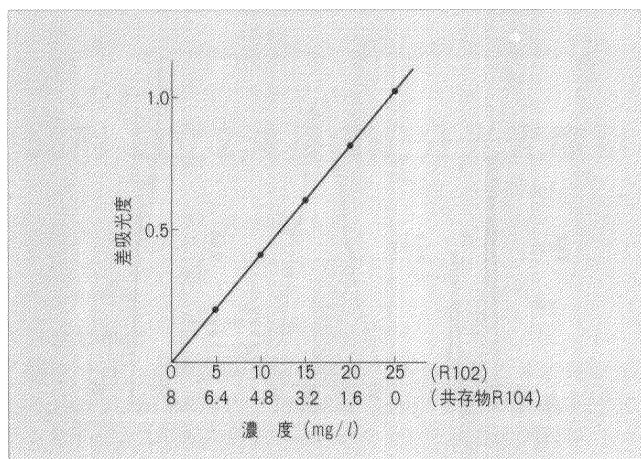


図10 食品着色剤(R102)の定量

クトルをとると4、5になり、両スペクトルは重なる。これにより、R102の影響がキャンセルされたことがわかる。

図8にアスピリンとサリチル酸の吸収スペクトルを示す。共存物アスピリンの吸収の等しい2波長261, 282nmを選ぶ。また、図9にサリチル酸の検量線を示す。混合物を測定して共存物の影響がないことがわかる。

共存物が吸収の等しい2波長をもたないときは、多成分測定装置と組合せることにより、混合物中の1成分の測定が可能になる。2波長480, 540nmにセットし、共存物である食品着色剤R104の吸収値が等しくなるよう多成分測定装置のゲインを合せる($k=9.5$)。混合物を測定し、測定物R102の定量結果はR104の濃度が変化したにもかかわらず図1のように良好である。

また、多成分測定装置を用いれば、3種混合試料の1成分の定量もできる。2つの波長における信号を係数倍し、一挙に2成分を消去する方法で、図11、図12に硝酸溶液下における過マンガン酸カリウムとクロムミョウバンの反応により重クロム酸カリウムの生成過程を追跡したものを示す。この場合、過マンガン酸カリウムとクロムミョウバンの吸収スペクトルを同時に消去し、重クロム酸カリウムの

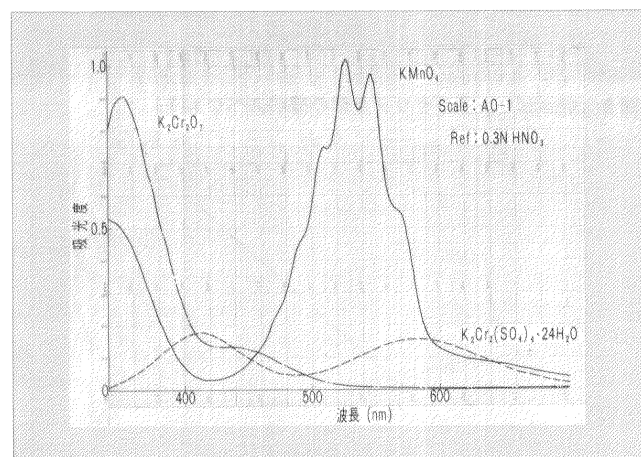


図11 過マンガン酸カリウム、クロムミョウバン及び重クロム酸カリウムの吸収スペクトル

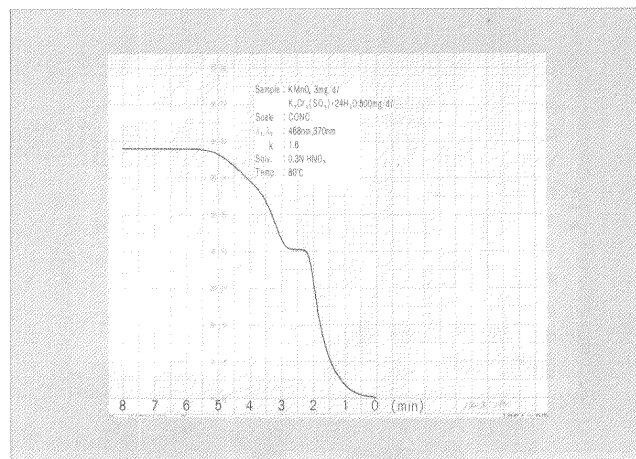


図12 重クロム酸カリウム生成物の反応追跡

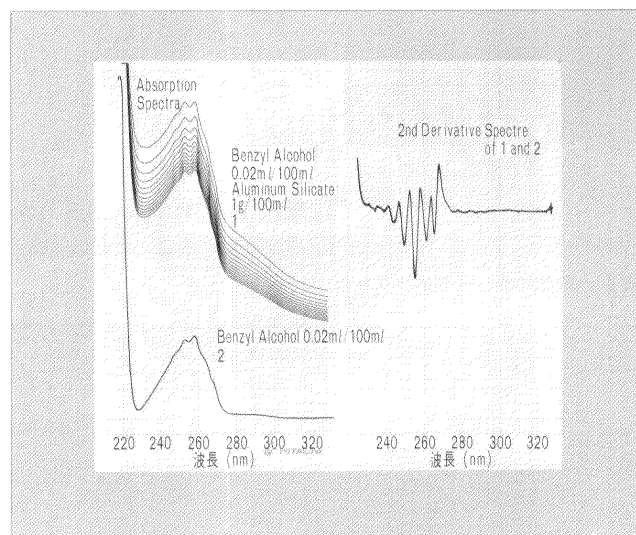


図13 ケイ酸アルミニウム、ベンジルアルコール混濁液の吸収スペクトルと微分スペクトル

吸光度差を測定するものである。

556形には豊富な付属装置が準備されているが、その代表的なものに微分測光装置がある。図13にはケイ酸アルミニウムとベンジルアルコールの混合液(混濁試料で、時々刻々、吸収スペクトルが変化する)の吸収スペクトルと、二次微分スペクトルの対比を示した。従来の測定では、バックグラウンドによるみかけの吸光度の変化のため測定不能であったが、微分スペクトルでは「静止」できるので測定が可能となる。微分測光はバックグラウンドの除去や「吸収スペクトルの肩」の識別などに有用である。

5. おわりに

556形は356形に比べて自記分光測光の性能を向上させ、レポートスキャン、X-Yレコーダ、光源自動切換の機能をもたせたばかりでなく、さらに、混合物中の1成分の測定、一次のほか二次・三次微分スペクトルなどの新しいソフトを開発した。また、556形をより効果的に活用できるよう各種特別付属装置を充実させた。



U.D.C. 543.544.4.084.83 : [666.173.532.66]

日立ケミカラム(ガラスキャピラリカラム)とその応用

広田 邦男* 高田 芳矩** 秋 森 伯 美***

1. はじめに

ガスクロマトグラフィ(以下「GC」という)は、簡便に多成分の同時分析ができる分離分析法として便利に使用されている。とりわけ、すぐれた分離能を有するキャピラリカラムを使用するとこの用途は一段と広いものになる。

ガラスキャピラリカラムは従来のステンレス鋼製キャピラリカラム(ゴーレイカラム)と異なり、ガラスそれ自体比較的不活性な物質であるので、試料の吸着や分解などが起りにくいという特長を有している。そのため、石油化学をはじめ、従来は困難とされていた生化学、天然物化学の分野にまでその対象を拡げている。

さらに、キャピラリカラムは質量分析法、MSとの結合を容易にし、GC-MS用分離カラムとしても注目を浴びている。

2. 装 置

2.1 ガラスキャピラリカラム

一般に、ガラスキャピラリカラムは内径0.2~0.5mmのガラス毛细管でできており、内面には目的成分を分離するための固定液相が塗布されている。長さは用途により異なるが、高速分離の場合は数メートル、成分数が多く高分離能が必要とされる場合には数十メートルのものが使用される。

図1にカラムの外観を示したが、その径が10~20cmのらせん状に巻かれている。

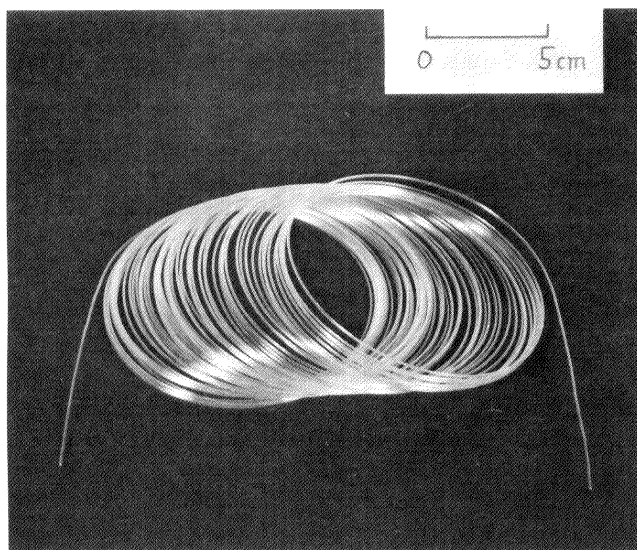


図1 ガラスキャピラリカラム

* (株)日立製作所 日立研究所 第11部

** (株)日立製作所 日立研究所 第11部、工博

*** (株)日立製作所 那珂工場 応用技術部

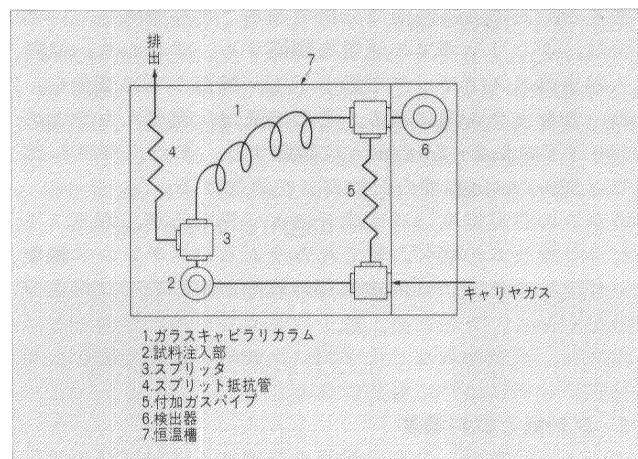


図2 ガス流路図

2.2 ガスクロマトグラフ(GC)

ガラスキャピラリカラムを取付けた装置の流路図を図2に示す。試料注入部で注入された試料は分割され、その数十分の一から数百分の一の試料がカラム内に導入される。一方、カラム出口では付加ガスを追加して検出器に達するまでに分離された成分の再混合及びピークの拡がりを防いでいる。

2.3 GC-MS装置

GC-MS装置は、RMU-6MG形日立質量分析計を使用する。GCとMSの結合部にはキャリアガスセパレータを用いなくてカラム流出ガスのすべてをイオン化室に導入する方法をとっている。

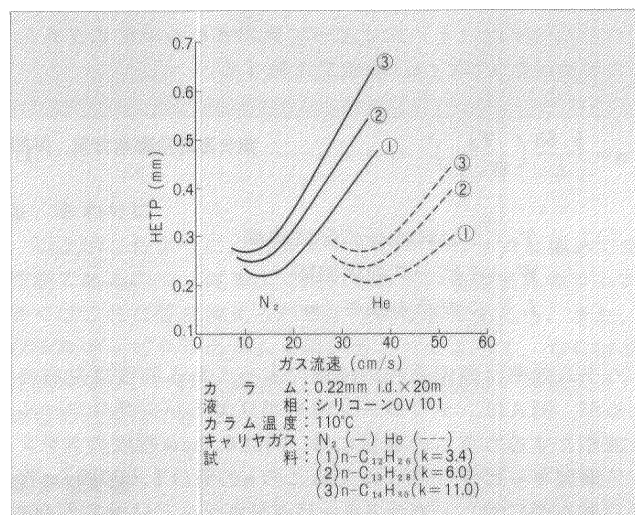


図3 キャリヤガスの影響

3. 分 析

3.1 測定条件

はじめに、キャリアガスを選定する。キャリアガスには一般にヘリウム、窒素、アルゴンなどが多く用いられるがキャリアガスはカラム効率、保持時間などへ影響を与えるのでその選定は重要である。図3にヘリウムと窒素についてn-炭化水素を試料として測定した結果を示した。これはヘリウムのほうが窒素ガスよりも分析時間を $\frac{1}{2}$ に短縮できるか、あるいは低温で分析できることを意味している。

次に、キャリアガスの流量を調節する。すなわち、試料注入器出口のスプリッタで数十：1～数百：1に2分し、その一方をカラム内に送る。その流量は、充てんカラムの1/100以下の0.2～2ml/minに調節する。また、カラム出口では30ml/min程度の付加ガスを追加する。

カラムの設定温度は測定成分により異なるが、ガラスキャピラリカラムの場合、充てんカラム及びステンレス鋼製キャピラリカラムより固定液相の膜厚が薄いので試料成分の溶出が早く、そのため、数十度低くできる。このことは生体試料、天然物質など化学的に比較的不安定で変化し易い物質の分析には特に有利になる。

3.2 試料量と試料濃度

キャピラリカラムの高分離能を発揮するには試料のオーバーロードを避ける必要があるが、分離効率を損なわずに注入できる試料の量は極めて少なく、内径0.25mmのキャピラリカラムの場合は $10^{-2}\mu\text{l}$ (液体)程度である。この量は1.0 μl のマикроシリンジでも正確に注入することは困難なので、スプリッタが用いられる。

また、試料濃度が低い場合、特に数十ppm以下の試料では、上記の一般的な方法では分析が困難なので、内径が0.5mm以上の大口径のカラムを用いるかあるいはスプリットレス試料注入方法のような特殊な方法が必要である。スプリットレス試料注入方法では、カラムの温度を下げて試料を注入して溶媒を速かに流出させ、その後カラムの温度を上げて分析する方法¹⁾がよいと考えられている。

4. カラムの特性

4.1 カラム効率

カラム効率は(1)式によって算出される単位長さあたりの理論段数n(段/m)の値で比較する。

$$n = \frac{5.55}{L} \left(\frac{T_R}{W_{A/2}} \right)^2 \dots\dots\dots (1)$$

ここに T_R : 試料成分の保持時間
 $W_{A/2}$: ピークの半値幅
 L : カラム長さ(m)

カラム効率は固定液相の種類によってある程度は左右されるが、例えば、シリコン油やポリエチレングリコールを液相とするカラムの場合には、内径0.3mm程度のステンレス鋼製キャピラリカラムではこのnの値は1,000段/m程度であるのに対し、ガラスキャピラリカラムでは通常2,000～3,000段/mであり、ガラスキャピラリカラムによればは

るかに高いカラム効率が得られる。

4.2 ステンレス鋼製キャピラリカラムとの比較

ステンレス鋼製キャピラリカラムと比較して、ガラスキャピラリカラムの利点は分離効率がよいことと、それ以上に、化学的に比較的不安定な物質の吸着や分解が起きにくいという点にある。生体試料、天然物質を測定するとこのことは明らかになる。このことは、ペパーミント油の分析を例にとりてすでに報告されているので²⁾ここでは省略する。

4.3 充てんカラムとの比較

PCBを測定し、図4にガラス製充てんカラムでの測定結果と比較して示した。充てんカラムでは十数個のピークが現われているにすぎないが、ガラスキャピラリカラムによると四十数個のピークが現われ、分離効率のよさをはっきり示している。

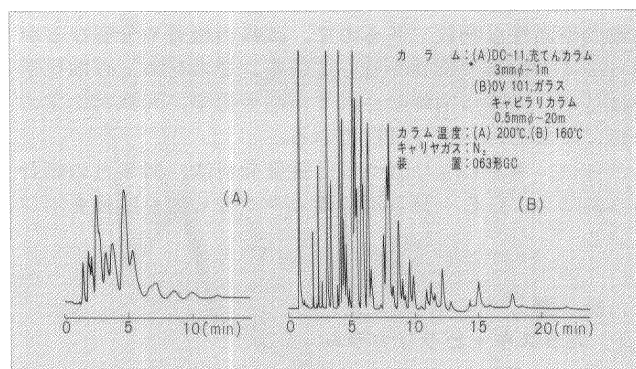


図4 PCBの分析

4.4 液相の種類と対象成分

毛細管内面に塗布された固定液相により種々のガラスキャピラリカラムが市販されている。各カラムとその対象成分について表1に示したが、目的成分によりカラムを選定する必要がある。

表1 カラムと対象成分

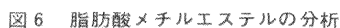
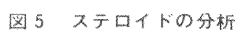
固 定 液 相	対 象 成 分
シリコン油 OV-101	炭化水素 (比較的高沸点成分)
シリコン油 SF-96	炭化水素
ポリエチレングリコール-20M (PEG-20M)	極性物質 (アルコール、ケトン、アルデヒドなど)
メトキシ PEG 750	極性物質 (香料など)

5. 応用例

5.1 代謝物質

代謝物質など生化学における複雑な混合物の分析にはGCが広く利用されている。目的成分が揮発しない場合には揮発性の誘導体に変えるが、組成が複雑でかつ化学的に不安定な成分を多く含む場合には、分離効率のよい、不活性なガラスキャピラリカラムが有効に用いられる。

図5にステロイド、図6に脂肪酸、また図7に植物精油の一種のテレピン油の分離例を示したが、いずれも分析時間が短く、しかも分離能の高いことを示している。



自動車排ガスにはかなりの含酸素有機物（アルコール類

5.3 高速分離への応用

図9 B・T・Xの高速分離



以上示したように、ガラスキャピラリカラムは極めて高性能であるので、従来広く用いられている充填カラムの多くはこれに置き換えられるようになるであろう。また、ガラスキャピラリカラムを用いることによって、GCは高性能になり、一段と高速化されてその用途は一層拡大されるものと期待できる。

- 1) Grob, K, Grob, G : J. Chromatogr Sci., 7, 584 (1969)
- 2) 色摩信義ほか：本誌, 17(1), 28 (1974)

Topics

走査電子顕微鏡における試料の動的観察 —マイクロマニプレータの応用—

1. はじめに

走査電子顕微鏡 (SEM) は焦点深度が深く、複雑な形状の試料表面の立体的な観察が可能であるため広範囲な分野に応用されている。しかし、一方では試料の表面形態と、その内部構造との関連を明らかにしたいという要求も高まって来ている。

SEMにおいて、生物試料の内部構造を観察するためには観察を行なう前にあらかじめ切断、切断、エッチングなどの処理を施す方法が工夫されているが、内部構造の表面形態との直接的な対比という訳にはいかない。そこで表面構造をSEMで観察しながら試料に種々の操作を加えることのできるマイクロマニプレータが望まれ、開発された。

ここでは、日立HHS-2R形SEM用に開発した簡単なマイクロマニプレータ (HH-SM3) の内容と応用例について紹介する。

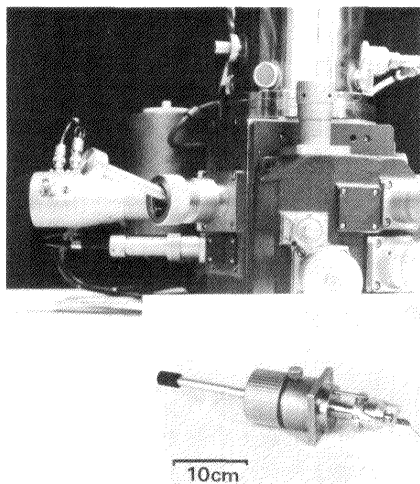


図1 HH-SM3形マイクロマニプレータおよび日立HHS-2R形SEMに取り付けた状態

2. マイクロマニプレータとその関連技術

マイクロマニプレータは、図1に示すように真空外から操作できるリンケージと手による操作をジョイスティック方式 (X

軸・Y軸の要素を一本の棒で合成動作させる機構) で動き量を1/15に減少する機構とから成っている。また、触針としてはタングステンチップ (化学研磨、先端曲率 $0.5\mu\phi$ 程度) を使用するが、任意に交換可能である。

実際にマイクロマニプレータを操作する場合針先の動きに追従して動的な観察を行うためテレビ走査装置を併用することが便利であり、さらに試料に操作を加える前後の比較や繰り返し観察するためのメモリシステムやビデオテープレコーダなどを装備すれば、一層効果的な操作を行うことができる。

一方、非導電性試料 (生物試料など) をSEMで観察しながらマイクロマニプレータを用いて試料に操作を加える場合、従来の金蒸着法では帯電現象を生じ安定な観察が不可能となる。そこで、試料内部まで導電性をもたせることが必要となるが、この方法として導電染色^{1), 2), 3)}法 (タンニン・オスミウム法) が最も優れている。これは通常の試料作成の過程において固定から脱水に移る段階で試料全体をオスミウムで染色することにより導電性を持たせるもので、この方法は高倍率で安定性に優れ、試料ダメージが少なく、試料の長期保存が可能であるなどの長長を備えている。

3. 実験例⁴⁾

図2は、オオムギの葉を2%グルタルアルデヒドで固定したのち導電染色法で処理して臨界点乾燥を行った試料で、マイクロマニプレータで操作を加える前の表皮に白くコントラストのついている領域が観察されるが、この領域の表皮をマイクロマニプレータを用いて裏返して内側の細胞壁を観察することによって表面像と内部構造との関連を明らかにすることができた。さらに、この内部構造物に対して元素分析を試みて、この球状の内部構造物がケイ素 (Si) で構成されていることが確認できた。

ここでは生物試料に対する実験例について紹介したが、マイクロマニプレータの他の分野への応用⁵⁾ (高分子・半導体関係など) も、きわめて有効である。

参考文献

- 1) Takuro Murakami; Archivum Histologicum Japonicum, Vol. 36 No. 3, 189~193 (1973)

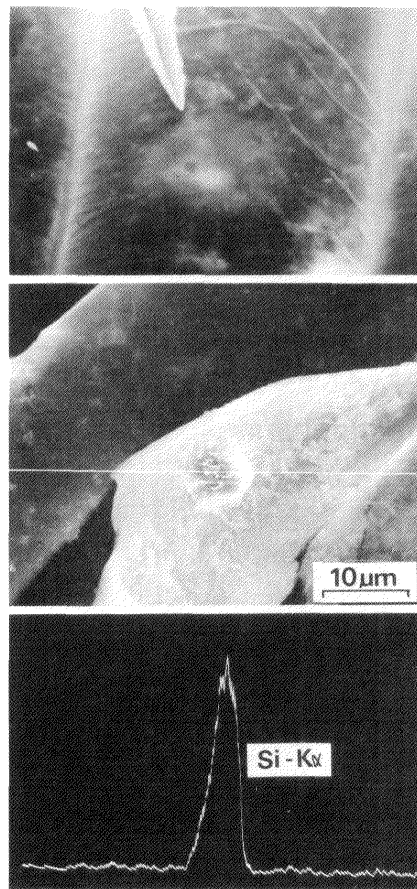
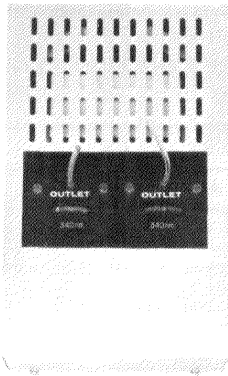


図2 実験例
試料：オオムギの葉
(三重大学・久能先生ご提供による)

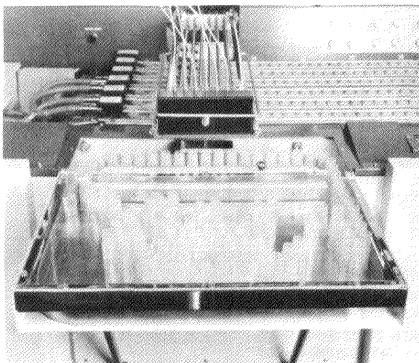
- 2) 渡部, 村上; 日本電顕学会第30回学術講演会予稿集 (1974)
- 3) 渡部, 他; 第3回医学生物学のためのSEMシンポジウム講演要録
- 4) 久能, 他; 日本植物病理学会講演要旨予稿集 (1975)
- 5) 渡部, 山田, 永谷; マイクロビームアナリシス第141委員会 第3回研究会資料, 69~75 (1975)

さらに機能の拡大を可能にする400・500形日立自動分析装置用紫外光度計平面サンプラ項目切換装置

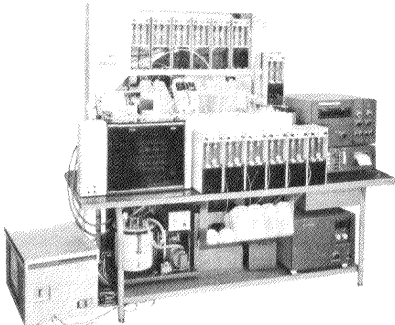
400・500形日立自動分析装置は、発売以来各方面で多数ご使用いただいております。その間、ユーザ各位より種



紫外光度計



平面サンプル



項目切換装置

々の助言をいただき、その機能を一層高度に発揮させるために、現在まで次の付属装置を発表してまいりました。

1. 項目名印字装置
2. HILAS用付属装置(インタフェイス)
3. A/G比計算装置
4. GOT・GPTカーブ補正装置
5. 逆特性演算器

このたび、さらに紫外光度計、平面サンプル、項目切換装置を新たに開発いたしましたので、ご紹介いたします。従来のものに加えてこれら8種類の付属装置の組合せにより、400・500形はさらに多様な機能を備えた自動分析装置としてご使用いただくことができま

す。

■紫外光度計

この装置は、UV法に基いて、GOT、GPTなどの酵素活性値を反応速度の大きさから求めるための340mmのフィルタ光度計です。

この装置は、原則として検体プランク法で使用されます。すなわち、自動分析装置のA、Bの2チャンネルの反応ラインを用い、AチャンネルはBチャンネルよりも遅らせて酵素反応をはじめ、所定時間後、消費されたNADHの吸光度を同時に測定し、前者から後者を差し引いた値を出力とします。このような方法で消費されたNADHの量の差、すなわち酵素の活性値を測定することができるようにしたものです。

この光度計は、ダブルビーム光度計で、両光路系には電気的特性も含めて同一の性能をもたせてあるので、ドリフトやノイズが少ないうえ、高い活性値まで出力に正比例して精度よく測定することができます。

■平面サンプル

本装置は、標準形であるゴンドラ式サンプルの代りに用いられます。サンプルチェンに設置された試料容器は水平面で移動し、順序よく供給されます(図2)。サンプルチェンは最大100個まで連結でき、10個ごとに配置されている朱色リング部から容易に脱着することができます。

標準の試料容器をそのまま装着することができ、既納自動分析装置にも取付けることができるので、互換性があります。また、試料容器の取扱いが上面から簡単にできるので非常に使い易くなっています。

■項目切換装置

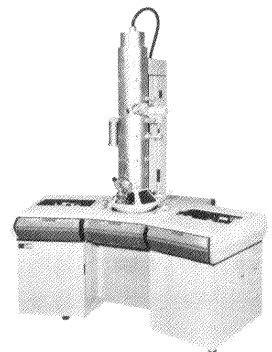
この装置は500形装置の付属装置です。最大6項目の測定項目をあらかじめ3グループに分け、順次2項目ずつ切換えて測定することができます。1個のつまみの3位置の設定により、それぞれに対応するピペッタを選択し、それぞれの流路を切換えたり、それぞれのディスペンサを切換えたりすることができます。ディスペンサ及びその試薬容器は500形装置本体の後部に固定された枠体に設置され、ピペッタ及

びその試薬容器は本体の前部に設置されています。先の切換用のつまみはノズル移動機構上部に設けられています。

つまみを定められた位置に設定しないかぎりピペッタやディスペンサは動作しないので、設定誤りがなく、短時間に項目切換を行うことができます。

反応温度を変更したり、フローセル長を変更することも特殊仕様によって行うことができます。また400形装置にも応用することができます。

**H-500形日立高分解能
電子顕微鏡
通商産業大臣賞 並びに
日刊工業新聞社賞を受賞**



H-500形 日立高分解能電子顕微鏡

日立製作所では、日刊工業新聞社主催の「第5回機械工業デザイン賞」に応募した41点の製品の中から、H-500形日立高分解能電子顕微鏡が、通商産業大臣賞、並びに日刊工業新聞社賞の入賞製品のひとつに選定され、去る7月9日ホテル「ニューオータニ」の贈賞式において、賞状桶および副賞50万円をそれぞれ受賞いたしました。

本賞の選定に当たっては、H-500形が汎用機種として世界で初めて1.4 Åの分解能を可能にした、短時間に安定で明るい格子像が蛍光板上で直接観察できる、100倍から800,000倍の倍率をもつ、試料交換は自動的にできる、操作性はダイヤル類が機能別、使用頻度別に整理され扱い易い、豊富なアタッチメントにより幅広い分野に応用できるなど多くの優れた特長をもち、機能・性能・品質とも極めて高度の技術水準にあるものと評価されました。



日本電子顕微鏡学会 第31回学術講演会 日立関係講演題目

去る5月22日から5月24日まで日本都市センターで行われた日本電子顕微鏡学会第31回学術講演会の演題のうち、日立製作所ならびに日製産業関係の演題は次のとおりです。

分類	区分	No.	演題	氏名
A 鏡体と電子工学	電子銃(1)	A-6-II	LaB ₆ 熱陰極	細木茂行 大塚道夫 岡野 寛(日立・中研)
	電子銃(2)	A-9-II	FE電流雑音 解析(I)	外村 彰 山本恵彦 福原 悟 岡野 寛(日立・中研)
		A-10-II	FE電流雑音 解析(II)	山本恵彦 福原 悟 岡野 寛(日立・中研)
		A-11-II	FE電流特性の真空度依存性	戸所秀男 山本恵彦(日立・中研)
		A-12-II	FE電流特性に及ぼすハイドロカーボンの影響	市橋幹雄 菰田 孜(日立・中研) 齊藤尚式(日立・那珂)
	像形成(1)	A-16-II	収束電子線照射による高分解能観察	松田 強 永田文男 菰田 孜(日立・中研)
	像形成(2)	A-18-II	格子像の強度分布	永田文男 松田 強 菰田 孜(日立・中研)
	微量分析	A-21-II	微小粒子のX線元素分析とその応用	野村節生 松田 強 菰田 孜(日立・中研)
		A-22-II	Transfer-net 法による反射電子情報の検出	永谷 隆 山田満彦(日立・那珂)
		A-23-II	Auger Electron Microanalysis 法の特長と問題点	岡野 寛 早川和延 川瀬 進(日立・中研)
B 医学・生物学	凍結法(2)	B-82-III	臨界点乾燥法の検討	福澄房子 大隅正子(日女大・生物) 肥高 洋 永谷 隆(日立・那珂)
	分析	B-86-III	凍結超薄切片によるX線局所分析の試み	山田英智 石川善律(東大・医・解剖) 浅井孝行 米原勝久 岡村定彦 福岡孝寿(日立・那珂)
B 医学・生物学	泌尿器(2)	B-37-I	カドミウム中毒腎のX線微量分析	河合清之 京野洋子(労衛研) 渡部忠雄(日立・那珂) 酒井俊男(明石製作所)
C 材料への応用	付属装置	C-1-II	電顕内文書応力印加装置とその応用	石川 潔(日立・那珂中研分室) 藤田広志(阪大・工) 森 博太郎(名工大・金属) 田端横造(阪大・超高压電顕)
		C-3-II	電顕用超高温加熱装置とその応用	石川 潔(日立・那珂中研分室) 小松正雄(阪大・超高压電顕) 角田直人 藤田広志(阪大・工)
	高分解能像	C-5-II	無機化合物結晶の電顕格子像とコンピュータシミュレーション像	堀内繁雄 松井良夫(無機材研) 永田文男(日立中研)
	電子線応用分析	C-17-II	絶縁物微小偏析物に対する定量分析の試み XMAとIMAの適用	鈴木 叶 中村一光 永谷 隆(日立・那珂)
D 共通(非生物・生物)	蒸着膜	D-1-I	蒸着薄膜の粒状性の検討	岡田正和(広大・水) 加藤 勝(日製産業・SIセンタ) 安達公一(東大・工)
		D-3-I	高融点金属の簡単な蒸着法とその応用	加藤 勝(日製産業・SIセンタ) 中塚秀樹(明石・相模工場)
	イオンスパッター(1)	D-6-I	スパッタ蒸着法の検討I(蒸着粒子とSEM像への効果)	加藤 勝 松本健次(日製産業・SIセンタ) 赤堀 宏(日製産業・企画) 齊藤 実(日立・那珂)
		D-7-I	スパッタ蒸着法の検討II(試料の材質形状に対する処理法)	野地二三夫 松本健次 加藤 勝(日製産業・SIセンタ) 赤堀 宏(日製産業・企画)
		D-8-I	スパッタ蒸着法の検討III(生物試料への応用法と効果の検討)	高田準三(慈恵医大・泌尿) 鈴木昭男(慈恵医大・付属研) 赤堀 宏(日製産業・企画) 米原勝久(日立・那珂)
	イオンスパッター(2)	D-9-I	イオンスパッタ法の検討	北原昭勝 鶴田忠正 米原勝久 岡村定彦(日立・那珂)
	チャージ	D-14-I	SEMにおける導電染色法と関連技術	渡部忠雄 永谷 隆(日立・那珂) 久能 均(三重大・農)
	画像処理	D-16-I	走査電顕の自動画調方式	斉藤康示 山田満彦(日立那珂) 奥村正秀(日立・中研)
		D-17-I	X線分析法における画像メモリ表示システムへの応用	山田満彦 渡部忠雄 原 行一(日立・那珂)
	凍結法	D-25-I	凍結超薄切片作成法の改良と検討	米原勝久 浅井孝行(日立那珂) 山田英智(東大・医・解剖) 石川善律
		D-26-I	フリーズレプリカ法の改良と検討	岡村定彦 米原勝久 浅井孝行(日立・那珂)
B 医学・生物学	細菌(1)	B-110-III	緑膿菌の細胞壁及び原形質膜の微細構造	大山昭夫 伊藤富由 谷村英紀(関西医大・微生物) 米原勝久(日立・那珂)
	細菌(2)	B-116-III	細菌のラセン小体(Spirosome)の存在と超微構造	川田十三夫 増田邦義 吉野和広(徳大医・栄養・衛生) 米原勝久(日立・那珂)

〔編集後記〕

- 本号の巻頭言は、山本先生にお願いしました。最近における機器分析の動向と将来の展望ならびに、機器分析に当たっての基本的な態度について貴重な意見を頂きました。
- 本号の報文では、緒方先生に、前回(Vol. 16 No. 2 1973年4月)に続いて、油臭魚に関する分析結果、ならびに種々の問題点について報告して頂きました。
- 日立IMA-2形用データ処理装置は、3つの機能について豊富なソフトウェアを用意しており、分析手順の省力化、信頼性の向上

に大きく寄与するものと考えます。

- ガラスキャピラリカラムは、ゴーレカラムとガラスカラムの特長を併せ備えており、GC-MS 対分離カラム、高速分離用カラムとしても広い用途を持つことにご注目ください。

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 精機部
東京都港区芝西久保桜川町2 第17森ビル
〒150 TEL (03) 501-5311

THE HITACHI
SCIENTIFIC INSTRUMENT NEWS
AUTUMN 1975, Vol. 18 No. 3

発行 昭和50年10月1日
(年4回 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 T F L (03) 501-7201
印刷所 日立印刷株式会社