

THE HITACHI SCIENTIFIC INSTRUMENT NEWS

WINTER 1976
VOL.19 NO.4

目次

巻頭言

分析化学の機器化について……………後藤秀弘…1

報文

メタルブロック形フリーズレプリカ装置 (HFZ-1) の使用経験と今後の問題……………永野俊雄 鈴木二美枝…3

解説

酵素活性測定装置……………野村 靖
高畑藤也 金子紀夫 本川 忠…6

R-40形日立高分解能核磁気共鳴装置……………
青木信彦 安部勝信 藤枝邦美…9

170-70形日立ゼーマン原子吸光分光光度計について……………
……………小泉英明 保田和雄…13

日立血液化学分析装置 ハイスタット700形の開発……………
本川 忠 北川正敏 鈴木靖久…17

トピックス

S-700形日立電界放射形走査電子顕微鏡……………20

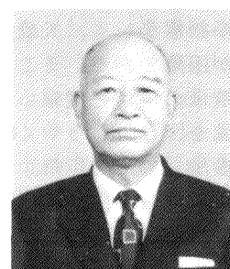
340形日立自記分光光度計……………20

巻頭言

U.D.C. 543.08 (0:82-4)

分析化学の機器化について

後藤 秀弘*



最近の約30年間、機器分析の進歩は顕著なものがあり、異常な分析化学の進歩をもたらし、ひいては科学全般の進歩に大きく貢献している。今その進歩の道程をたどるとか、先端を述べるなどは、私には不向きであるが、機器化の進歩を肌で感じ、ともに歩いた一人として裏話をして最近感じていることに及びたいと思い、筆を取った。

戦前は分析化学担当者は常に下積みになっていたことが多く、また管理者は分析化学を理解していないことが案外多かった。分析者自身も下積みに甘んじて勉強する人も少なく、自然に視野も狭い人が多かった。

戦後幾年も経ていない頃、東北地方のある工場から、定量分析用分光写真機を分析室に備えたがさっぱり活用できない、一度来て見てくれとの話があった。幸いなことに私の所では大戦直前の昭和15年春にツェイスのQU24型分光写真機とブルフィリッヒの光度計を輸入して使用していた。その頃分光写真機で定量分析を行っているのは我が国では極めてまれな時代であった。話によるとやはりQU24型で初めは写真がとれたのだが、この頃はとれなくなってしまうということであった。この工場は東北地方の中心に近いが、仙台からもその頃は朝早く出て夜遅くしか着かない不便な所であった。その時は、戦中の水害で鉄道が被害を受けたまま復旧していない状態だったため鉄道が使えず、バスで遠回りしてやっと行けるということであった。そこで、分光写真機を活用するにはちょっと見ただけでは、指導したり、十分に定量できるようにすることは困難であることを伝えて助手1人に少なくとも1カ月滞在して世話する必要があることを予め伝えてから出発した。翌朝工場に着き、幹部に会い人員の配置を聞いたところ、分光写真機の担当者は国民学校出身の街の写真屋のお弟子さんで、戦争中徴用工として来ていたのを思い出して話しをつけて採用したとのことである。何分にも写真を撮るのであるから写真撮影技術がなければ駄目なのでと大得意のようであった。色々伺うとこのQU24型機は東京で古物が出たので本社で買ってこちらに送ってきたものの由、これを受入れる分析関係者の中にもあまり分光分析の知識を有する人がいなかったためかと思われる。一応拝見すると付属部品もそろっており、定量分析が可能であるから本体からセットし直して調整し、担当者を十分指導するよう助手に依頼したが、写真屋さんではとてもと思ったので、分析係長をしている工業高専を出た人に加勢して貰うよう依頼した。

その後で、先生ついでに最近買ったばかりのX線装置も写真が撮れないから見てくれとのことで回って行ったら、X線回折装置で真空があがらないためか写真が撮

* 東北大学 名誉教授、理博



れないという。装置をよく見ると、ガラス管の配管が輸送途中かセットの途中でこわれたので、普通のゴム管で接続してあったから、高真空が得られないのであった。これはメーカーから技術者に来て貰ってガラスで配管して写真が撮れるようにして貰えばよろしいでしょうということになった。メーカーからセットに行った人も近くにガラス細工屋もないいうえに高真空用のゴム管も持ち合わせていなかったためにこのようなこととなったものと思われる。

さて、この後約1カ月過ぎて出張していた助手が帰任しての報告に、分光分析担当者に代数を教えたが、対数計算を教えるのに一番困った由。その頃、対数の計算法は中学校(現在の高校相当)の高学年で授業されるものであった。これなどは分析担当者の視野が狭く、分析についての管理者の理解もまた不足していたことによるためというべきである。

それから10数年を経ると写真定量は古くなり、いわゆるカントバックが開発実用化され、さらに計算機に連動して結果は直ちにタイプされる装置が欧米で採用されるようになった。しかし、我が国では分析法の切換えはやはりなかなかむずかしく、大改良しなければ欧米のように迅速な定量が困難である。そこで、私は迅速な機器化を提唱し、特に欧米の現状を視察して日本の機器化を促進する視察団の結成を図り、ようやく昭和36年春大手製鉄会社より1名ずつ参加して出発した。大製鉄会社の1人が出発に当り、分光写真機を発注する手配をして来たというので、それは最早時代遅れである、カントバックに計算機を連動する装置に変えなければ無駄になると申し、視察の途中から前記の発注を取止めるよう本社に電報を出すようなこともあった。

工場の分析室において分析操作を変えることはなかなか困難であることの事例はたくさんあるが、このくらいにして、ところで、用語も一度誤って使われるとなかなか改らないものだ。例えば、光度法と比色法である。原語でははっきり区別されているが、我が国では光度測定をしているのに比色法として取扱っていた人がたくさんあった。昭和26年にJISに光度法を吸光光度法として初めて採用して以来、JISでは光度法が用いられているが、当然のことである。比色法はJISにはないのであるが、JISの制定後も専門家の分析書でさえ比色法と光度法が混用されていた。驚いたことには、光度計を作っているメーカーが光度計を比色計と銘打って販売していたことがある。ある展示会で小さいメーカーであるが、「比色計」と書いた品を見つけたので、「これは比色計でなく光度計でしょう」と係員にいったところ、「そのとおりです」という返事、「それでは光度測定を比色測定と混同されるのでよくありません、光度計としてはいかがでしょう」といったが、「光度計とはなんだということになり、比色計でなければ売れません。ことに医学関係の方面では」との返事であった。売れなければ仕方な

いので引下がらざるを得なかった。これは本を書く分析指導者がうっかりしていたためと思われ、責任は十分にあるが、メーカーも売ることばかり考えず、正しい知識を普及させることも考えてほしいと思う。

新しい分析法の移行が困難である分析化学も10数年来異常なほど機器化が進み、迅速となり生産に貢献している。ことに、製鉄工場では、コンピュータ制御を行う場合に機器分析装置が組入れられて自動制御に役立っている。機器化により分析者の減員ができるということも普及を促進する一因となったと思われる。その頃、分析部門を配下にもつ管理者は「これからは分析は化学屋でなくなった、大学の精密機械かエレクトロニクスを勉強した卒業生を採用しなければならない」といつているのを聞いたことがある。これは大変なことになる、分析化学は化学の基礎の上に立っている。普通でさえこつこつと化学分析を行う人が少なくなってゆく時にと心配したものである。その後、近年環境問題がやかましくなると、その方へ分析従事者を配置転換する工場が多いと聞いている。また、分析室も機器化が進んだため、派手に見える機器に従事することを希望する者がふえて、地味な化学分析に従事することを嫌うので困っているということもたびたび聞くようになった。これは分析化学にとって重大な危機でないかと思う。

10数年前、鉄鋼協会の分析部会が発足した時、鉄鋼の中の硫黄の化学分析法が結果がよくないので、特別に硫黄の分析法の研究分科会を設置して専門に検討してもらい、2~3年後に一応の研究結果が出、それでよくなったと思っており、それでJISにも採用されたものと考えていた。ところが、最近になってもまだ硫黄の定量値が不確実であるという声がある。基礎となる標準値を得る化学分析法が不確実では事は重大なので、再び同分析共同研究会の中に硫黄の分析法検討小委員会を作り、検討されている。

硫黄の分析法の標準となる重量法は、面倒な操作が多くむずかしい方法であり、共存する元素の影響を受け易いもので微妙な方法というべきものである。このような分析法の検討に取組むことは特に努力を要することである。そのうえ、化学分析のベテランが少なくなった今日では、一層その感を深くする。一日も早く信頼できる方法が創案されるように切に祈るものである。

以上述べて来たように我が国の分析化学の研究は、現在先端を行っており、欧米と比べても決して遜色ないことはもちろんである。分析を実用している工場など分析室の分析法の転換は大変困難なものがあるとしても、指導者の指導よろしきを得て、偏ることなく、バランスのとれた進歩を希望してやまない。



報 文

日立メタルブロック形フリーズレプリカ装置(HFZ-1)の
使用経験と今後の問題

永野俊雄* 鈴木二美枝**

はじめに

凍結割断レプリカ法(freeze-fractured replica)が細胞膜系の膜内粒子の観察に欠くことのできない方法であることはよく知られている。この方法は、超薄切片法にやや遅れて Steere & Moor らにより1950年の終り頃開発されたものであった。ただ、当初は細胞を立体的に電子顕微鏡像としてとらえることと脱水・樹脂包埋・染色などを行わないという特長があり、この方法による電顕像と切片法による電顕像との比較などが主な目的であったようである。Brantonが1966年にこの方法で膜系の単位膜リビッド二重層の間が露出してその内表面像の電顕写真を発表して以来、膜内粒子の観察に最も有力な方法となった。

膜内粒子はフリーズレプリカ法以外では、ネガチブ染色法や特殊な部分ではランタニウムによって観察可能である。しかし、これらの方法では観察可能な部分が限られている。

我が国でこの方面の装置の開発は西占¹⁾により自作された。その後商品として日立製作所、日本電子より発売されている。技術的な詳しい吟味はKoehler²⁾により記載され、また日立より「フリーズレプリカ法の実技」という印刷物が発表されている。しかし、実際の手技はなかなか複雑でできた写真のどの段階が悪かったために、どうであったかというような解析はむずかしい。著者は約2年間日立メタルブロック形フリーズレプリカ装置HFZ-1形(以下「HFZ-1形」という)を使用した、その経験から、実際の手技や今後の問題について、このNewsを通じてお示しする。最近、われわれは「ブロック型凍結レプリカ法の実際」について日本電子顕微鏡学会和文誌に投稿したので、本文はそれと重複すると思うが了承していただきたい。また、装置部品の名称などについては、日立製作所発行「フリーズレプリカ法の実技」を参照していただきたい。

1. 細胞組織の前処理

組織を無固定無処理で凍結レプリカを製作することも可能で一つの試みであるが、ここでは通常広く行われている処理法について簡単に述べる。固定は緩衝グルタールアルデヒド(濃度 1.5~2.5%)を数分間~数時間行う。固定法も切片法と同じに細胞を機械的・浸透圧的な障害のないように注意する。次に25~30%緩衝グリセリンに1~2時間漬ける。これは凍害をなくするためである。グリセリン以外の凍害阻止剤は一般に用いられていない。

材料の保存は、固定、グリセリン処理後、凍結して液体窒素素内に入れておくのがよいと思われる。われわれは経験はないが、人工授精用の精液凍結容器がよいと思う。われ

われは現在はグルタールアルデヒド液内に保存している。長時間固定の影響は十分にわかっていないと思う。

2. 凍結法

凍結は急速に低温にすることが必要である。直接に液体窒素に入れると、その気泡によって組織が急速に凍結しない。そのために、通常は液体窒素で冷却液化したフロン12または22を用いる。これは組織や金属に対して気泡を作らず急速に凍結する。しかし、フロンは温度が下がるとアメ状となり、組織の回りに余分に残る。これは後で述べるようにフロンの気化に時間がかかり、よくない。粘度の少ない状態の温度で使用する。余分なフロンを濾紙などでふき取り、次に液体窒素に移す。

3. メタルブロック形の特長

真ちゅう製の熱容量の大きいブロックの中心に試料を入れて液体窒素温度に冷却し、そのまま真空蒸着器に移す。液体窒素は-196℃であり、実際の割断は-100~-120℃で行う。十分な真空になるまでの間は温度上昇はごく少ないので、外部より冷却を必要としない。この点は装置が簡単にできることが特長である。また、試料がいつでもブロックの中心部にあるのでコンタミネーションが少なく、また、シャドーイングに際してコールドトラップの作用をするので、熱による障害が少ない。このような原理によるため1回に使用する液体窒素の量も比較的少量で済む。

このHFZ-1形は冷却装置がないので、蒸着器外部より試料温度の調節が比較的困難である。また、試料を見ながら割断することができないし、割断は1回しか行うことができないことはマイクローム式装置と異なる。

このようなメタルブロック形装置はBullivantの考案によるものであるが、コンタミネーションの減少、熱障害の減少など、その原型よりも数々の改良が加えられている。

4. 蒸着器について

このHFZ-1形は一応どのような蒸着器にも組合せることができるが、電極の位置や支え台の引張り装置の調節など多少の改造が必要であり、實際上研究者が改造することは容易でない。また、この装置は日立製HUS-4蒸着器に適するが、この蒸着器は現在発売されていない。その代りのHUS-5蒸着器にうまく適合するかどうかは筆者は知らない。後に述べるような条件を満たし、HFZ-1形に適合するような蒸着器の発売が期待される。

真空度はできるだけ短時間に 10^{-6} Torrのオーダーになることが望ましい。これには、大形拡散ポンプと抵抗の少ないコールドトラップが必要である。ガラス製ベルジアでも

* 千葉大学 医学部 教授、医博

** 千葉大学 医学部、理博



十分にクリーニングしてあれば 10^{-7} Torrに到達する。油拡散ポンプ以外の高性能ポンプ(タービン式分子ポンプ)はBalzers社製に付属している。

真空計は 1×10^{-7} Torrまで測定可能なものが望ましい。電離真空計はフィラメントの断線など取扱いに注意が必要なので、ペニング式のほうが取扱いは簡単である。

蒸着用電極については熱発生を少なくして、白金やカーボンを短時間に蒸着する必要がある。このためにはカーボンの質(細くしても折れにくいこと、及び含気量の少ないこと)ばかりでなく、ばねの適当な強さとホルダの可動範囲が広いことが必要である。また、可動部の運動はスムーズで遊びのないことが望ましい。印加する電源は直流で大容量のコンデンサを結合するとスパークは静かとなる³⁾。

5. 温度計, ヒータ

HFZ-1形には銅—コンスタンタン熱電対と試料温度上昇のためのヒータが付いている。熱電対の起電力を読むためのmVメータの内抵抗が低いので、真の起電力が読み取れない。また、途中での端子による起電力も加算されている。内抵抗の高い電圧計が必要である。銅—コンスタンタン熱電対でなく、白金温度計のほうが温度差に対する抵抗の差が大きいので、より正確に温度が直読できると思う。白金温度計は、例えばMT-2形マイクロームの凍結切片製作装置に付いている。

6. 今後の問題点

(1) 両面レプリカ

本装置の小改造で両面レプリカ作製が可能である。既にちょうばん構造の試料台により試作実験されている。試料台だけを交換して片面レプリカと両面レプリカができるように希望している。また、エッチングを行わなくてもフレオンを使用するので、試料台の取外しが簡単にできることが必要である。むずかしい点は切断後両方の温度がほとんど等しいようにちょうばんの一方がブロックに密着することである。

(2) エッチング

エッチングとは、切断面より水分を昇華させることにより、その部分の体積が減少し、水分の少ない部分が突出して来ることである。このことにより細胞質内のフィラメントその他の表面構造が見える。また膜はリピッド二重層の中央で離れるため膜の自由表面は通常観察不能である。このことはフリーズレプリカ法の特徴の一つであるが、エッチングを深く行うことによって膜の自由表面を観察することが可能となった。この深エッチング法により、膜表面の各種レセプタ、膜表面への細胞化学的・免疫学的反応物の観察可能性を示すものであり、今後の発展が大いに期待される。

実際にエッチングの量を増加することは、そこで水が氷結することが起りやすく、技術的にむずかしい。水を昇華させるのに温度を単に上昇させるのではなく、高真空のもとに数分その切断面を露出することがよい方法ではないかと思う。Staehelinは -100°C のナイフを切断面に約2~3分間近づけることによって深いエッチングを行っている。ま

た、グリセリンの代りにオリーブオイルのエマルジョンに漬けて細胞表面のレプリカを作ることが試みられている⁴⁾。著者はHFZ-1形で深いエッチングについてまだ十分な経験がない。付属しているヒータは熱電対の近くにあるので、これを使用すると、すぐメータ上では温度上昇するが、試料温度はよくわからない。一つの試みは切断後、白金を蒸着する前にカーボンのほうの電極で、カーボン蒸着よりも低い温度に通電し、熱輻射によるエッチングの効果について検討している。

(3) レプリカ膜

大きい良質のレプリカ膜が取れる条件を確実に見つけることはむずかしいことである。ただ、切断された組織面が平滑であるほうが比較的大きいレプリカ膜が得られる。このためには、グリセリン濃度と切断時の温度と切断するナイフの角度、速度、温度などが関係する。切断時の温度が高すぎると鋭い膜の切断面が得られずに粘土細工のような鈍い像となる。カーボン補強のための蒸着時に、回転蒸着するのも一つのよい方法であろうと思われる。しかし、ブロック型で切断後カーボンの回転蒸着を行うことは、装置の改良、工夫が必要である。

■ 参考文献

- 1) 西占 貢: 科学 42: 431 (1972)
- 2) Koehler, J. K.: in Principles and Techniques of Electron microscopy. Vol. 2. P. 53. Van Nostrand Reinhold Co. New York (1972)
- 3) Watt, I. M.: 第8回 国際電子顕微鏡学会抄録 Vol.1, p.402. Canberra (1974)
- 4) 和泉真蔵, 中井栄一, 西占 貢: 第32回日本電子顕微鏡学会講演予稿集 P.15 名古屋 (1976)

(図の説明)

材料はいずれも2.5%緩衝グルタルアルデヒド固定及び30%グリセリン処理。液化フレオン22で凍結後、HFZ-1形を用いてレプリカを作製した。エッチングは行っていない。ハイドラ組織を消化し、水で洗じようした。電子顕微鏡写真はHU-11A形 100kVの電圧で撮影し、対物絞りは直径50mmを使用した。

図1 マウス胎子の精祖細胞

細胞質は切断されているが、核では核膜に沿って切断されて突出して見える。核膜のP面とE面が区別され、核膜孔(pore)の分布がわかる。細胞質でも一部のミトコンドリア(M)の膜が切断されている。矢印はシャドーイングの方向を示す。 $\times 16,000$

図2 マウス腎尿管基底部の細胞膜の陥入と、その陥入部細胞質内のミトコンドリア(M)

陥入した細胞膜のP面(P)(細胞質側の面で、その膜内粒子が多い)とE面(E)(細胞質の外側面で、その膜内粒子はEより少ない)とが明らかに区別できる。ミトコンドリア(M)は多く切断されているが、その膜(MpとMe)の細胞質面と外側面で粒子の分布が異なることに注意。矢印はシャドー方向を示す。 $\times 35,000$

図3 マウスのSertoli細胞結合部のフリーズレプリカ像

この写真は、すべて細胞膜のP面(P)とE面(E)を示し、細胞質は見られない。不連続な平行に走る線状の粒子は閉鎖結合の膜内粒子である。この粒子はP面では細胞膜の稜性に隆起した部分に、E面では凹みの中心に分布している。間げき結合(g)は粒子の集合として見られる。結合部以外のP面にも、小さい粒子が見られる(☆印)。矢印はシャドー方向を示す。 $\times 60,000$

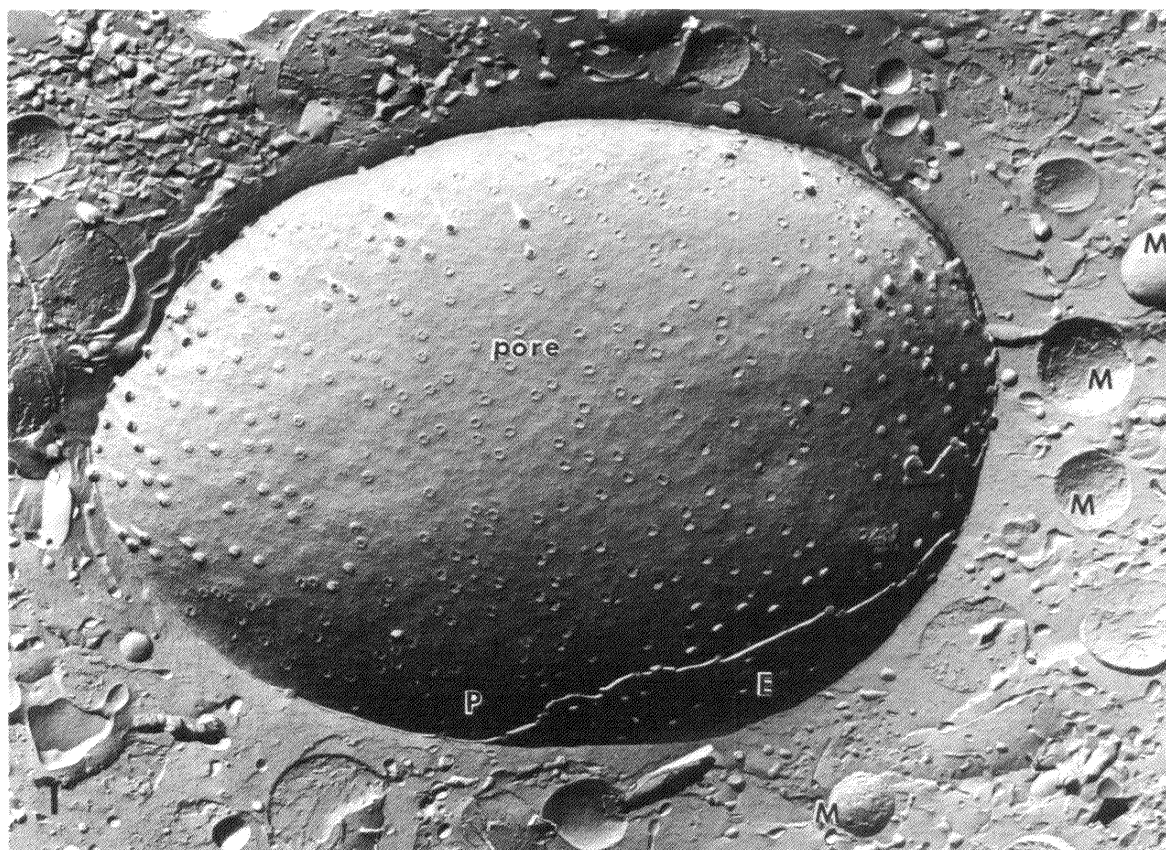


図1 マウス胎子の精祖細胞



図2 マウス腎尿管基底部の細胞膜の陥入とその陥入部細胞質内のミトコンドリア(M)

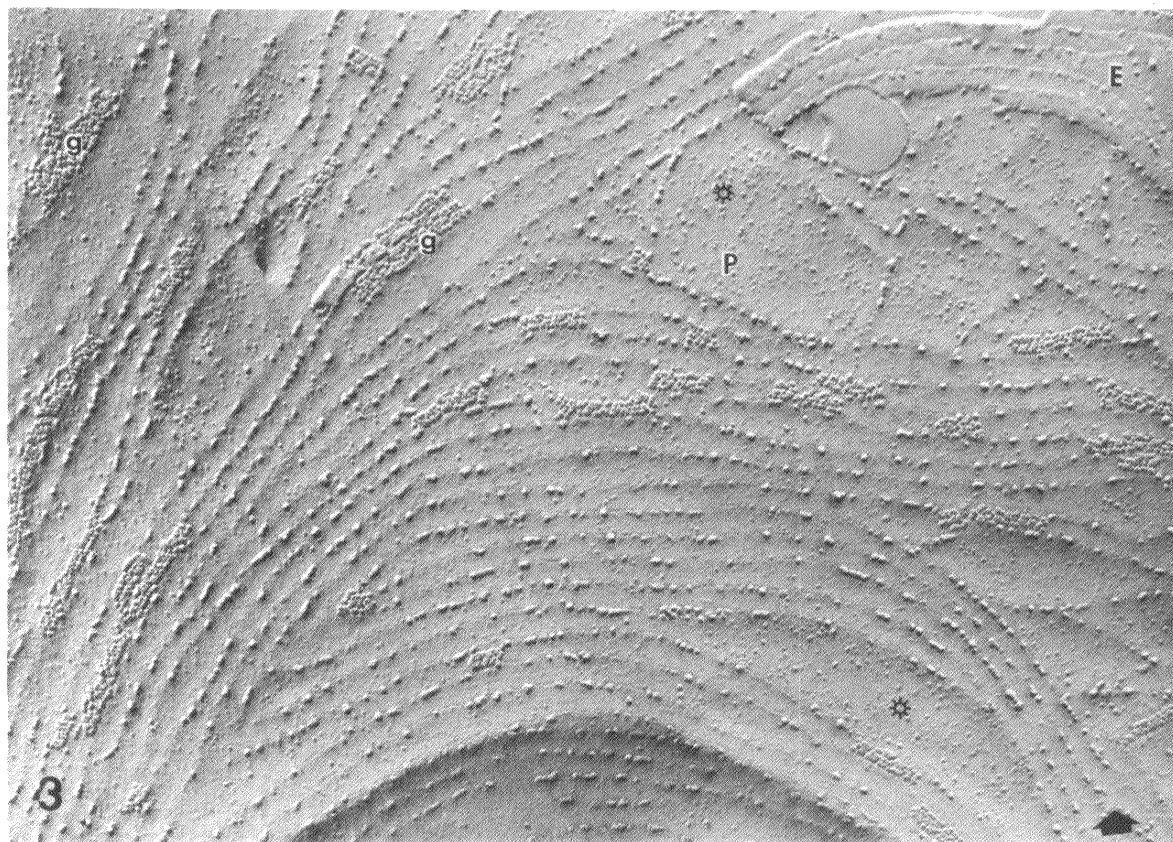


図3 マウスの Sertoli 細胞結合部のフリーズレプリカ像

解 説

U.D.C. 577.15.087.5:681.785.433.4.087.6

酵素活性測定装置

はじめに

生き物を化学反応の有機的集合体としてとらえようとするとき、必ずそこに酵素反応が存在する。生命現象はすべて、無数の酵素のなせる業の結果である。酵素活性を測定する装置を考えると、反応にあずかる化合物も、酵素ないしは酵素系も非常に広範囲であり、また測定の方法や目的によっても、装置の具備すべき要件は異なってくる。例えば、組織のスライスやホモジェネートを試料とした呼吸酵素系の実験で、ワールブルグ検圧法は非常に有力な測定法の一つであり、また、炭酸ガスの放出を伴う反応系でもこの方法は効果的な測定法である。なお、ミトコンドリアの電子伝達系の仕事にはよくポーラログラフィによる溶存酸素の測定が有効であり、また、同位元素を用いる方法もかなり使用されている。

しかし、吸光光度法による酵素活性の測定は、その応用

野村 靖* 高畑 藤也* 金子 紀夫* 本川 忠*

範囲の広さと、手軽さから、現在では最も広く用いられている測定手段であるといえよう。日立製作所では、種々の分光光度計ないしはその応用製品を開発し、色々な用途にご使用いただいているが、それらのうち酵素活性測定用に考案されたいくつかの代表的製品についてまとめてみる。

酵素活性の測定には、主として、透明な試料の場合、細胞の顆粒分画や細胞そのものなどの濁った試料を扱う場合、1日に1000以上の試料を測定する場合、ごく限られた数の測定しか行わない場合、さらには、反応のごく初期を測定したい場合などがあり、すべてを満たす装置を考案することはできない。例えば、研究的分野においては、最適な測定条件を定め測定ができるように、装置のパラメータをきめ細かく変更できるものがむしろ適合範囲が広く、また、反対に、ルーチンワークでは、定められた条件下での測定に重点がおかれるため、“つまみ”の数はできるだけ少ないほうが適合性がよいといえよう

一方、測定手法から、酵素活性の測定を分類すると、

* 日立製作所 那珂工場 光学装置設計部

(1) 酵素反応を逐次モニタし、その steady state から活性値を計測するいわゆる RATE ASSAY

(2) 一定時間反応させたのち、反応産物の増加量または基質の減少量を吸光分析するいわゆる END POINT

の2つに大別することができる。前者は反応しつつある溶液が、直接吸光度変化を伴うことが必須要件であり、応用範囲に限られるが、近年、酵素試薬が多量かつ容易に入手できるようになってきたことから、急速に普及しつつある方法である。また、後者は、多数の試料を測定するのに適し、応用範囲が前者に比べ広いのが特長である。

1. RATE ASSAY

RATE ASSAYのほとんどが、NADまたはNADPの酸化還元に伴う吸光度変化を測定する方法が採られているので、これに焦点をおいて話を進める。この系以外には、酸化還元色素を用いる方法、生成物である H_2O_2 をPeroxidaseで分解し、4-アミノアンチピリンとフェノールを酸化縮合させ、生じた赤色色素を測定する系など、また、アルカリ性フォスファターゼの基質として、p-ニトロフェノール磷酸を用いる場合のように、生成物ないしは基質が有色性の物質を用いるなど、種々の方法が考察されている。

1.1 ハード構成

吸光度法を用いて RATE ASSAYを行うには、分光光度計と恒温に保てるようにしたキューベットあるいはフローセル、及び分光光度計の出力の経時変化が測定できるもの、例えばレコーダがあればよい。

分光光度計では、 NADH_2 を測定する場合、340nmにおける吸光度で1.5まで測定できれば、ほとんどの目的に使用できる。特に分光光度計で注意しなければならないのは、ノイズ及び短時間内の変化である。 NADH_2 の分子吸光係数を6220とすると、反応液の1国際単位当りの吸光度変化は、 $6220 \times 10^{-6}/\text{min}$ となる。実際の測定においては、試料が、反応液で希釈されることになるので、この値を、希釈倍数で除した値が、試料1単位当りの吸光度変化量になる。例えば、RATE ASSAYが、普及しつつある臨床検査の領域では、測定範囲を広くとるため、試料対試薬比を1:29にとることが多い。この場合の試料1単位当りの吸光度変化は、 $0.00021/\text{min}$ となる。酵素活性を1単位まで測定するとすると、後述するアナログ処理を含めて、 2×10^{-4} の吸光度変化が測定できなければならない。 $\text{NADH}_2 \rightarrow \text{NAD}$ の方向で測定する場合、測定の初期条件を吸光度1付近に設定するが、この場合、ノイズレベルはノイズの原因にもよるが、吸光度0におけるノイズに比べて10倍程度に大きくなる。

以上をまとめると、

略号：

NAD……Nicotinamide adenine dinucleotide

NADH_2 ……Nicotinamide adenine dinucleotide reduced form.

IU……国際単位、定義された条件下で、 $1 \mu\text{mole}/\text{min}$ の反応をつかさどる酵素量。濃度の場合にはIU/l

“試料と試薬の比を1:29、反応測定時間を1分間とし、試料中の1単位までの酵素活性値を測定するには、Abs 1.0で 2×10^{-4} 、またはAbs 0で 2×10^{-5} 以下のノイズレベルである必要がある”

といえる。もしこの値が得られないならば、試料量を増すか、反応時間を長くするかしなければならない。実際アナログレコーダに書かれた線からその勾配を求める場合は、約1ケタのスムージングが期待されるし、よく設計された勾配計算機でも、ほぼ1ケタの改善が期待できることも付け加えておきたい。つい最近まで、“試料量対試薬比が1:5の測定系が主流であったことは、 2×10^{-4} のノイズレベルを得るのがいかに困難であるかを物語っている。

1.2 RATE ASSAY向き装置

以下に日立製作所が開発・発売している装置について簡単にそれらの特長をご紹介します。詳細については、各装置のカタログなどをご覧ください。

(1) 556形 日立2波長分光光度計と付属品(図1)

556形は、2つの異なった波長の光をほぼ同時に試料室の同じ位置を透過させ、近接したヘッドオンタイプの光電子増倍管で受光し、2つの波長での吸光度の差を出力できるようにしたもので、濁った試料や、流れつつある液体の観測には威力を発揮するものである。例えば、細菌のサスペンションや、細胞の顆粒分画などを試料とする測定では、ミキシングブランジャと恒温セルホルダ及びレコーダを接続すれば、1ml程度の試料サスペンションに0.3ml以内の試薬を流し、生じた吸光度変化を追いかけることができる。また、ラピッドミキシング装置とメモリスコープとを取付ければ、反応開始後わずか2.5msの吸光度変化を観測することができる。

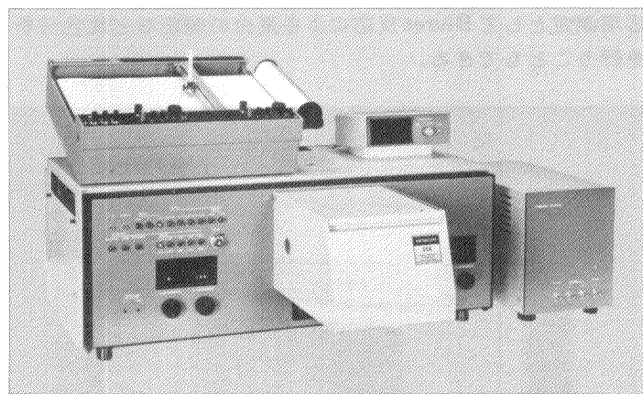


図1 556形 日立2波長分光光度計

(2) 200形 日立ダブルビーム分光光度計と付属品

測定試料を透明な溶液に限るならば、1波長(シングルビームまたはダブルビーム)測光の分光光度計に恒温フローセル及びレコーダを組合せたもので測定できる。試料と反応液を混和し、フローセルに吸引することにより、反応液を恒温に保ちつつ、その吸光度変化をアナログレコーダに記録することができるので、そのチャートからsteady stateの部分を判断し、 $\Delta\text{OD}/\text{min}$ を測定することにより、活性値を求めることができる。図2は、200形日立分光光

度計に恒温フローセルユニット（シッパセルユニット+シッパコントロールユニット+ポンプユニット）、アナログレコーダ及びエンザイム演算器とデジタルレコーダを組合せたものである。エンザイム演算器は、15、30または60秒間の吸光度変化分を測定し、一定数を乗算してデジタルレコーダにプリントさせるもので、測定開始までの時間、測定回数を可変にできるほか、レコーダ上に演算開始のタイミングをマークする機能を備えている。ルーチンワークのマニュアル手法にも、研究室での一般的な酵素活性値の測定にも使用できる応用範囲の広い装置である。

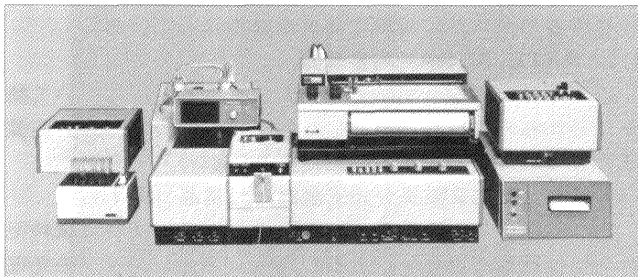


図2 200シリーズ日立酵素反応分析システム

(3) 703形 日立酵素反応速度測定装置 (図3)

703形 日立酵素反応速度測定装置（以下「703形」という）は、先の200形分光光度計（以下「200形」という）による酵素活性測定をさらにルーチン向けにするために、試料のサンプリング、プリインキュベーション、トリガの添加ならびにかくはん及び吸光度変化の測定と測定値の出力を自動化した装置である。図4に人血清中の glutamic oxaloacetic transaminase (GOT) を、703形と200形とで測定した結果の相関図を示す。703形では酵素活性値の測定の他に、応用測定として Biuret 反応による蛋白の測定など比色分析を行うこともできる。

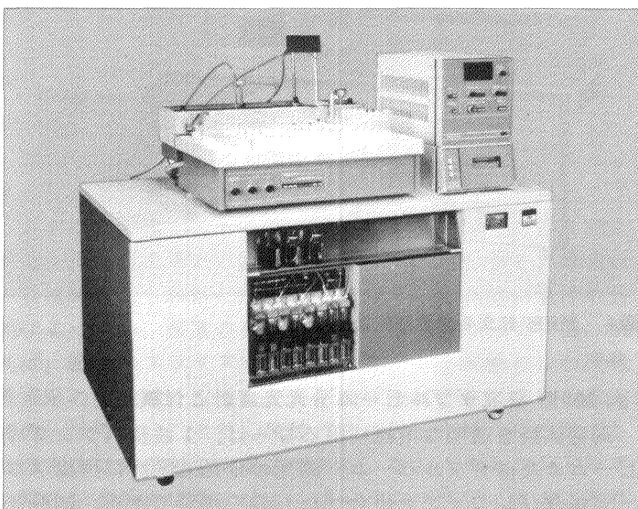


図3 703形 日立酵素反応速度測定装置

(4) 700形 日立ハイスタット (図5)

“いつでも、誰にも、すぐに”測定できるようにデザインされた700形ハイスタット（以下「700形」という）は、ス

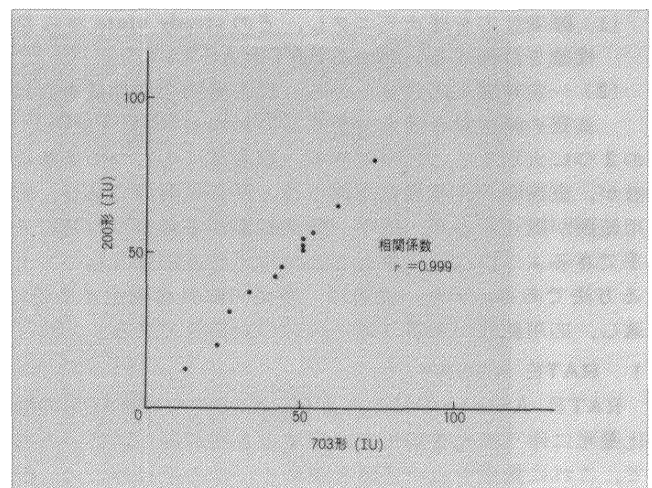


図4 200形日立分光光度計の測定値と703形 日立酵素反応速度測定装置の測定との相関図

Y軸 200形使用、X軸 703形使用、測定酵素 GOT、試料 患者血清

ッチといえは電源スイッチだけの臨床検査種目用測定装置である。ここに用いられている酵素活性値の測定は、試薬条件を適当に選ぶことにより、いずれの酵素に対しても、試料量、反応液量をそれぞれ、50 μ l、1.5mlと一定とし、測定の簡便化を図ったものである。また、操作を簡略化するために、トリガの添加操作が省略され、その代りに5分間のプリインキュベーションが設けられている（各種目共通）。このトリガを省略する方法は、遠心式自動分析装置の開発に伴い発達したものである。図6は、この装置で得た人血清 GOTを700形と200形とで測定した結果の相関図を示す。

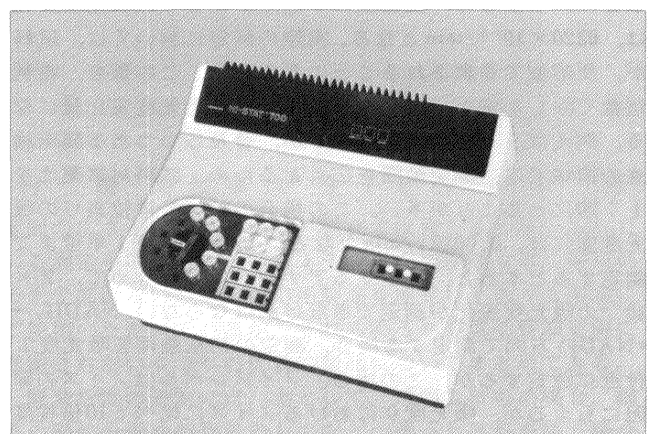


図5 700形 日立ハイスタット

2. END POINT 法

先のRATE ASSAYでは、反応液が直接観測できなければならないのに対し、ENP POINT法では、基質あるいは反応産物が測定できればよく、応用範囲がはるかに広い。また、測定法が、酵素以外の物質の分光分析と同様の手法でできるところから、多種目同時測定を行うようにした自動分析装置に採用されており、試薬も一般的には安価で安定であるため、ルーチンワーク向きといえよう。400形、

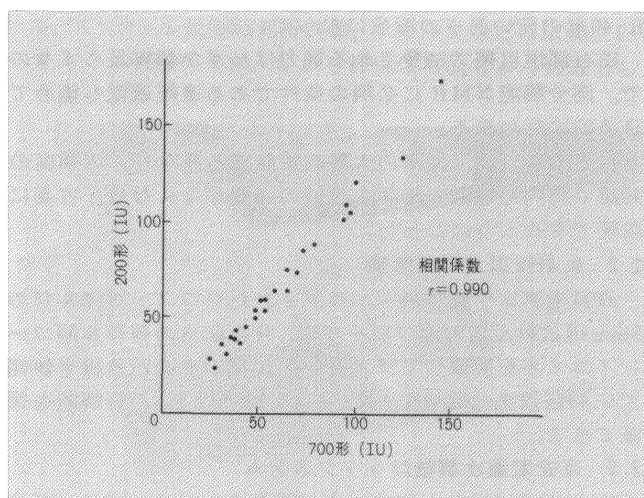


図6 700形 日立ハイスタットの測定値と200形 日立分光光度計での測定との相関図

Y軸 200形使用, X軸 700形ハイスタット使用
測定酵素, GOT; 試料 患者血清

500形及び716形自動分析装置では、すべてこの方法によっている。

END POINT法では、試薬ブランク値の安定度がRATE ASSAYに比べて特に重要であり、特にNADH₂を基質として用いる場合には注意が必要である。716形自動分析装置では、GOTの測定に使用しているが、NADH₂の分解を

防ぐため、NADH₂を含む試液のpHをアルカリとすることにより、少なくとも1日中は安定な試薬ブランク値を得ている。図7にRATE ASSAYとの相関図を示す。

以上、主としてRATE ASSAY用の装置について、それらの特長となる点について説明を試みたが、酵素活性測定に適した装置の選択に、ご参考になれば幸である。

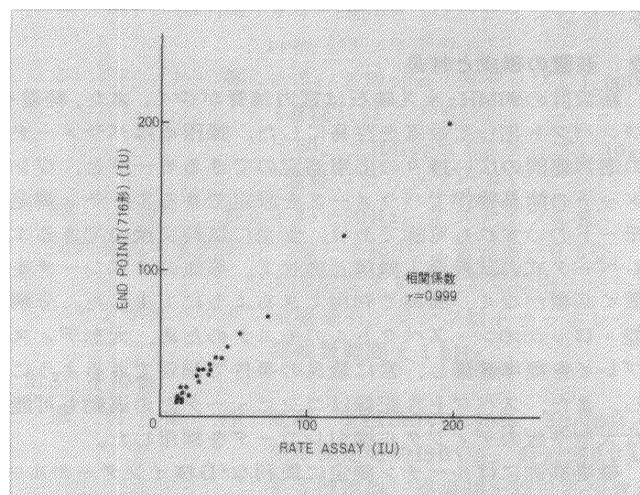


図7 ENP POINT法とRATE ASSAYとの相関図

RATE ASSAY; 光度計 716形に使用しているものと同タイプの光度計
END POINT; 716形自動分析装置
測定酵素, GOT; 試料 患者血清

U.D.C. 543.422.25.084

R-40形 日立高分解能核磁気共鳴装置

1. 緒 言

1956年、高分解能核磁気共鳴装置(以下「NMR」という)の化合物の構造解析への応用の道が拓かれて以来、多くの技術的改善がなされ、装置の多様化が進んだ。その中で、日立で初めて開発に成功したR-24形シリーズに始まる主にルーチン測定用の60MHz小形普及機種と、研究用の90/100MHzの大形多目的機種の2つの機種の流れが生まれた。後者においてはさらに、コンピュータ技術の進歩を背景に生まれたパルス・フーリエ変換法NMRの採用によって、従来測定が困難であった炭素核やその他の低感度の核種NMRが容易に測定可能となり、一層応用分野が拡大されつつある。その結果、多目的機種において従来用途の主流を占めてきた水素核測定と、それ以外の異核種測定との両立が困難となるケースも多く見られるようになってきた。

今回製品化したR-40形 日立高分解能核磁気共鳴装置、(90MHz,「以下「R-40形」という)は、前述のような状況に

青木信彦* 安部勝信* 藤枝邦美**

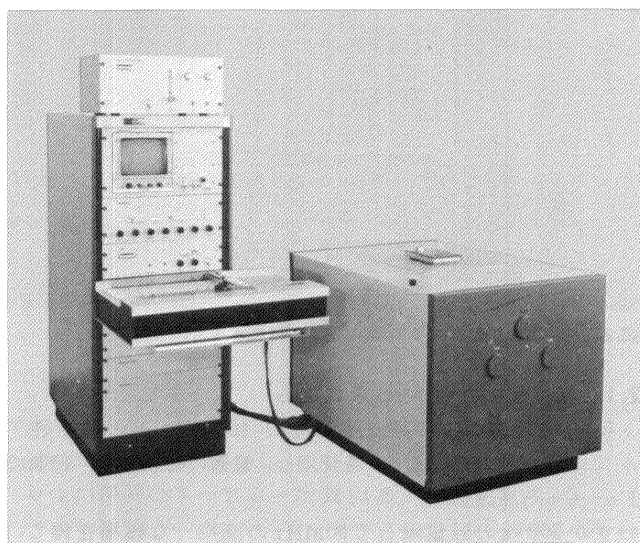


図1 R-40形 日立高分解能核磁気共鳴装置の外観 (操作部上方のユニットはオプションの試料温度可変コントローラ)

* 日立製作所 那珂工場 電子装置設計部

** 日立製作所 那珂工場 応用技術センター



ル、スペクトル強度の利得調整、フィルタなどは広範囲のパラメータが選択でき、しかも再現性可能なように設計した。

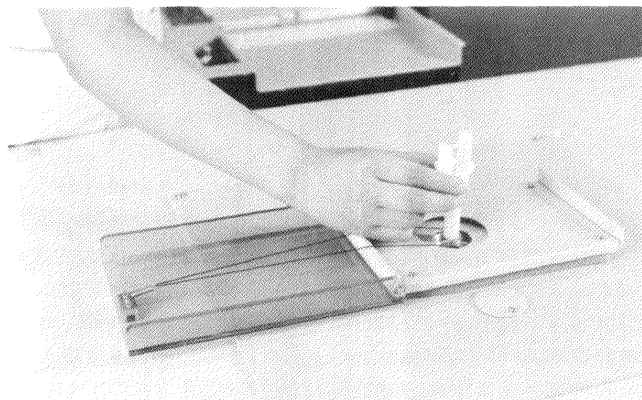


図4 R-40形NMR装置の試料導入部
カバーと連動して、試料の出し入れができる。

2.5 試料導入機構

従来、信号検出プローブへの試料の出し入れは破損による被害が大きいため、操作には細心の注意が要求された。この点を改良し、試料導入口の開閉ふたと連動した試料昇降ガイドに乗せるだけで、直接試料管に手を触れないで試料の出し入れができる試料導入機構を備えた。このことより、試料管破損のおそれが全くなかった。また、導入機構も簡単なエレベータ方式をとり、故障の起るおそれのない構造としてある。

2.6 付属装置

試料温度可変装置の他、50Hzのスピンスピン結合をデカップル可能なスピンドカップラを用意している。磁場掃引システムでスペクトルを得るが、シンクロトラッキング方式で H_2 を掃引し、周波数掃引と全く同質のデカップリングスペクトルを得ることができる。また、スイッチ切換でプロトン核間のINDORもできる。その他、三重共鳴装置、ケミカルシフト、デカップル周波数、スピニング回転数を直読できる特製のカウンタ、信号平均化装置などを特別付属品として用意してあるので、高度な測定も容易である。

3. 主な仕様

R-40形の主な仕様は以下のとおりである。

3.1 性能

共鳴核種：水素核
周波数・磁場：温度調節された永久磁石で、21,138 G 90MHz
分解能：0.4Hz、(アセトアルデヒドの四重線の半値幅)
感度：50以上(1%エチルベンゼンの四重線の最大ピークのS/N比)
再現性：0.1Hz以下(1H インターナルロック)
0.3Hz(2D インターナルロック)
分解能安定性：0.6Hz/10h(Y軸補正のみ)
積分精度：2%以下(5%エチルベンゼン)

3.2 機能

掃引方式：磁場掃引
ロックオン方式： 1H と 2D インターナルロックオン
記録計：X-Yデジタル掃引、
応答速度0.5秒フルスケール、
チャート525×280mm
スペクトル掃引幅：0.2～20ppm(ロックオン)、2～200ppm(ロックアウト)
シフト幅：±5、±10ppm(ステップ)、1,000Hz(連続)(ロックオン)
±50、±100ppm(ステップ)、10kHz(連続)(ロックアウト)
時定数：0.13～10Hz、7ステップ可変
試料温度可変装置：-50～+150℃、安定度±0.5℃、
温度精度±2%±1℃以内
スピンドカップラ：磁場掃引、シンクロトラッキング、
周波数範囲±1kHz

3.3 その他

据付条件：電源 単相100V±10%、50/60Hz、
標準測定時約150VA、最大260VA、
第3種接地 室温18～28℃の任意温度、変動幅2℃
大きさ・重量：操作部140×74×120cm、160kg、
磁石部74×110×80cm、約700kg

4. 測定例

装置の性能を示すスペクトルを図5～図9に示した。

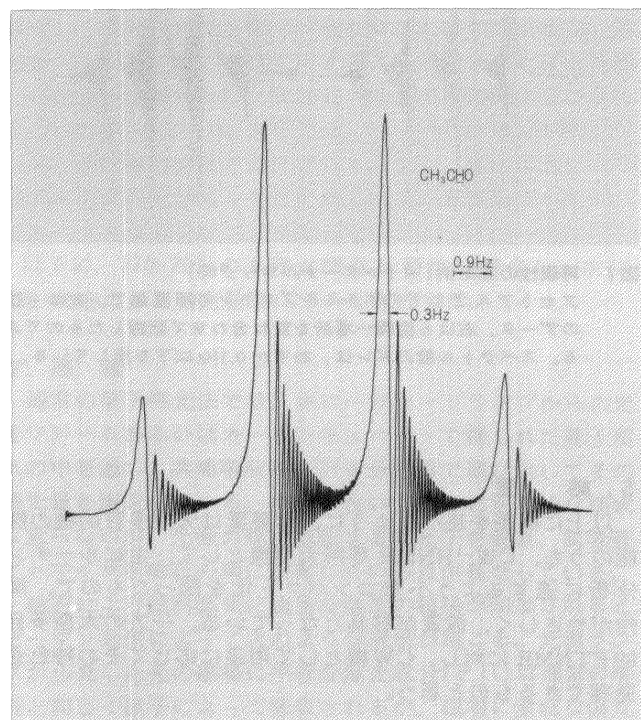


図5 分解能測定例(½幅で0.3Hzの分解能を示す)
試料：アセトアルデヒド(100%)、掃引幅/時間：18Hz/450s、
温度：35℃、ロック： 1H インターナル(-CH₃使用)。

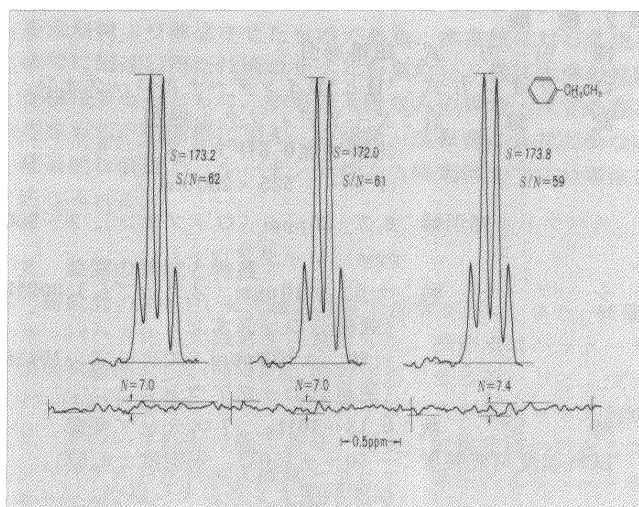


図6 感度の測定

試料は1%V/Vエチルベンゼンでメチレンジグナルを拡大したもので、S/Nは約59~62を示している。掃引幅/時間：5ppm / 450s。

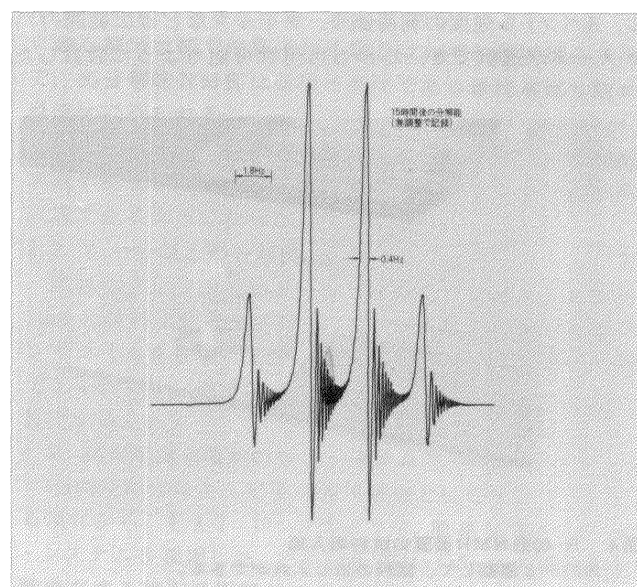
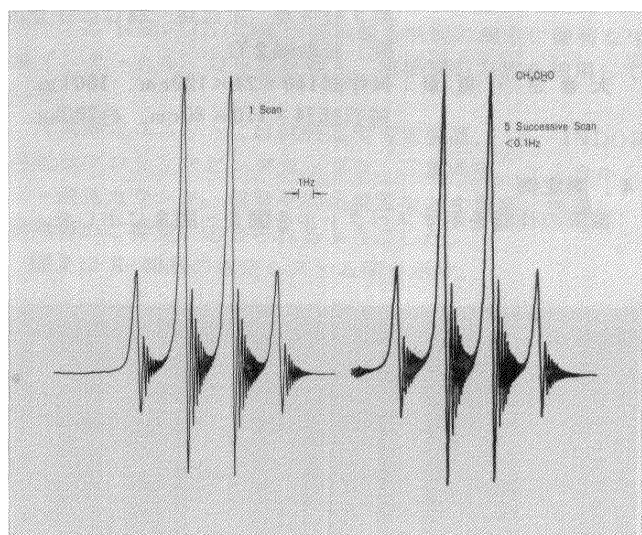


図8 分解能安定性

図7で示したものと同試料で、15時間放置後無調整で測定したスペクトルである。ほとんど分解能の低下がなくすぐれた安定性を示している。

図7 再現性の測定例(^1H インターナルロック時)

アセトアルデヒドのホルミルプロトンの四重線で、左は1回のデータ、右は5回同一場所を重ね合わせて記録したものである。スペクトル線のズレは、わずか0.1Hz以下を示している。

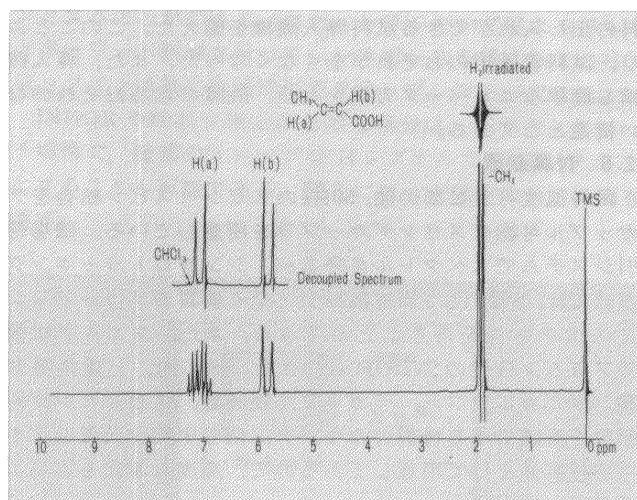


図9 スピンデカップリングの測定例

試料：トランス-クロトン酸、Ca. 10% CDCl_3 溶液
掃引幅/時間：10ppm/450s。

5. 結 言

以上に概要を述べたように、本装置は大型多目的機の機能のうち、CW- ^1H NMR 専用大型機として、主にルーチン分析に適するよう小形コンパクト化を図ったもので、操作がやさしく、設置が容易となっている。一方の大型多目的FTNMR に対し、CW機として用途に応じてその特色を発揮できるものと思う。

170-70形 日立ゼーマン原子吸光分光光度計について

小泉 英明* 保田 和雄**

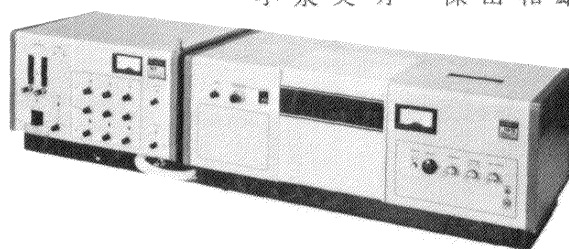
1. はじめに

原子吸光分析におけるバックグラウンド吸収（分子吸収、光散乱など）の補正の歴史は古く、Ballard らにより、すでに1954年に行われた記録がある¹⁾それは、Walsh によって原子吸光法が創始されたといわれている1955年よりも以前の事であった。²⁾³⁾ Ballard らは水銀ランプの共鳴吸収線（波長2,537 Å）を用いて水銀の濃度を測定する装置を完成していたが、⁴⁾水銀蒸気と共存していたベンゼン、アセトンの分子吸収を補正するために、水素ランプによる連続スペクトルを用いた。原子による共鳴吸収とバックグラウンド吸収を区別できないのは、従来の原子吸光法の本質に根ざすものであり、1954年以来現在に至るまで、連続スペクトルによる方法の他にもさまざまな補正法が研究されてきた。⁵⁾

近年バックグラウンド吸収補正の重要性が一般にも強く認識されるようになってきたのは、カーボンキューベットを用いた原子化装置が一般化してきたためである。カーボンキューベットを用いた分析は Lvov⁶⁾、Massmann⁷⁾ に始まり、高感度であることとフレームを用いずに済むことから、現在徐々にフレームによる原子吸光法にとって代りつつある。

カーボンキューベットを用いた原子化法は、一定時間、一定空間内に極めて高密度の原子蒸気を発生させることができるが、試料によっては同時に高密度の分子蒸気あるいは煙などの副産物が生成される。これらの熱分解生成物は強いバックグラウンド吸収を引き起すが、特に炭素管の中では熱分解生成物が不均一に分布し、かつ時間とともに分布と濃度が急激に変化する。そのため、従来の補正技術では精度の高い補正が困難であった。したがって、従来の補正法による場合には、バックグラウンドの小さな状態で測定できるように前もって目的元素を抽出するための化学処理を必要としたり、キューベット中で灰化を行う際の温度をかなり高くとる必要があった。試料中の目的元素を抽出するには、ある程度の熟練と長時間を必要とするだけでなく、汚染や損失による誤差が入り込みやすい。また、灰化温度を高くとることは、灰化段階で目的元素の散逸を招くので危険である。後で述べるように、実試料の分析の際には、例えば、尿中のCdを分析するときのように目的元素の散逸なしにはバックグラウンド吸収を軽減できない場合も多い。Hgの場合には、灰化過程のみならず乾燥過程においてさえHgが散逸してしまう。

Hgの分析において、バックグラウンド吸収を極めて正確に補正し、試料の前処理をなくす試みは、Hadeishiにより¹⁹⁸Hgの同位体効果とゼーマン効果を用いて行われた。⁸⁾⁹⁾



170-70形 日立ゼーマン原子吸光分光光度計

このHadeishiの先駆的な研究の後、この方法は天然水銀ランプによる一般的な方法へと拡張させられ、¹⁰⁾501形 水銀分析計として製品化された。¹¹⁾¹²⁾ この方法はさらに発展させられ、¹³⁾尿、血液中のCd、Pbの直接分析を可能にした。また、NBSの動物性標準試料（SRM-1577 Bovine Liver）を灰化せずに直接分析した場合にも正確な結果が得られることが確認された。¹⁴⁾¹⁵⁾

最近、我々はさらに新しい原子吸光法を見出した。¹⁶⁾¹⁷⁾ この方法は、原子と光のかかわりあいにおける最も基本的な性質である偏光とゼーマン効果を用いており、次の世代の原子吸光法であるといわれている。170-70形 日立ゼーマン原子吸光光度計（以下「170-70形」という）はこの原理に基づいて開発されたもので、試料蒸気に静磁場を印加し偏光を用いて測定する。測定用光束と参照用光束とは全く同一の波長と光路を有し、異なるのは偏光面の向きだけである。したがって、170-70形では、バックグラウンド吸収が正確に吸収線の波長で補正される。また、本法は理想的な複光束方式の光学系と等価であるので、光源強度が変動してもベースラインはドリフトしない。

以下に、170-70形の原理と構造を簡単に紹介し、次に170-70形による測定結果について報告する。

2. 原理

通常の原子吸光法では、ホローカソードランプからの光をフレームあるいはカーボンキューベットで得られた原子蒸気の中を通し、共鳴吸収線だけを分光器で選び出してその減光量を測定している。本法においてもこの基本的な構成は変わらないが、光源の後に回転する偏光子を置き、炭素管アトマイザを磁石の間に設置している点が異なっている。

磁石により試料蒸気に適当な強度の磁場が印加されると、ゼーマン効果によって次のような現象が起こる。光源ランプから発した光の磁場に平行な偏光成分(P_{||})は通常の場合と同じく原子によって吸収されるが、磁場に垂直な偏光成分(P_⊥)は原子によって吸収されない。¹⁸⁾ 磁場に対して平行な偏光成分と、垂直な偏光成分について、発光線と吸収線のプロファイルの関係を図1に示す。

* 日立製作所 那珂工場

** 日立製作所 計測器事業部

これは原子吸収にのみ特有な性質であって、分子吸収、光散乱などは、磁場中においても入射光の光の偏りには依

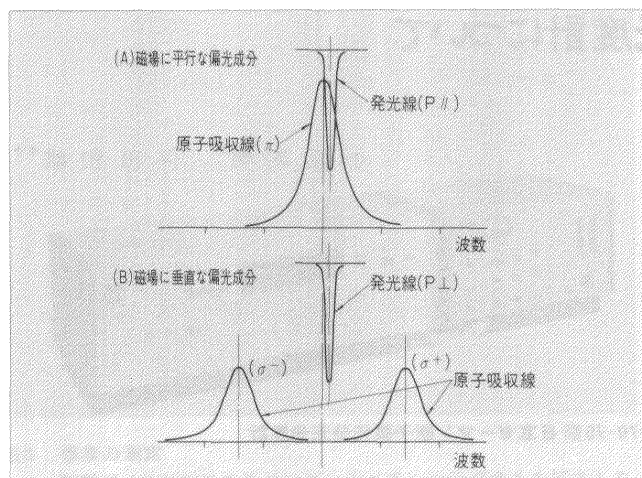


図1 ホローカソードランプの発光線プロファイルと磁場中の原子吸収線プロファイルとの関係

存しない。170-70形では偏光子を回転させることにより、ホローカソードランプの光のP $\perp$ 及びP $\parallel$ 成分を交互に試料蒸気の中を通して行っている。P $\parallel$ が入射しているときには、原子吸収とバックグラウンド吸収が重なったものが観測され、P $\perp$ が入射しているときにはバックグラウンド吸収だけが観測される。

3. 構造

図2に170-70形の構造の概略を示す。光源は従来のホローカソードランプをそのまま用いているが、点灯法は異なっている。すなわち、1.5kHzで正弦波状に変化する光強度を有する共鳴線が発せられる。この新しい高速輝度変調によって、高温のキューベットから発せられる妨害を完全に排除することができる。

偏光子には人工水晶の複像プリズムを用いており、これは1,800~10,000Åの波長の光に対して透明である。炭素管は永久磁石の間接きに設置されており、通常11kGaussの磁場が印加されている。

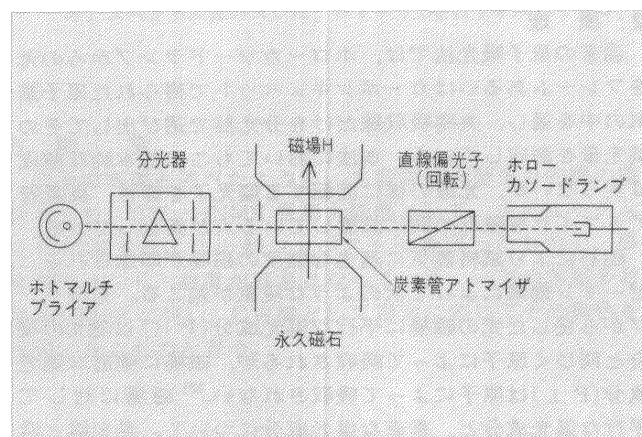


図2 170-70形日立ゼーマン原子吸光分光光度計の構造

炭素管は10V、300Aの電流により最高2,800℃に加熱することができ、通常原子吸光法が適用されているほとんどの金属を原子化することができる。磁石は水冷されており、炉からの輻射熱に十分耐え得る構造がとられている。炭素管の形状は2種類あり、一つはマスマン形、一つは試料用のカップ部分のあるものである。試料量はそれぞれ20 μ l、50 μ lまで入れられるが、溶液の場合には、乾燥過程を繰返すことにより100 μ l程度の試料導入も可能である。

本装置は、従来の複光束方式の原子吸光光度計や重水素ランプによる補正装置の場合のように煩雑な光軸調整や光量調整などが一切不要なので、従来の単光束方式の原子吸光光度計と同じように簡単に操作できる。

4. 実験結果

図3に、170-70形によるMnの分析例を示す。試料はエッペンドルフ社製マイクロピペットを用いて炉内に導入している。試料の導入時にはピペット先端のチップが光束をさえぎる。このとき、従来の原子吸光光度計では記録計のフルスケールをオーバーする信号が生ずるのが常であったが、170-70形では単なる減光によって信号が生ずることはない。

図3では、試料導入時にわずかなピークが現われている

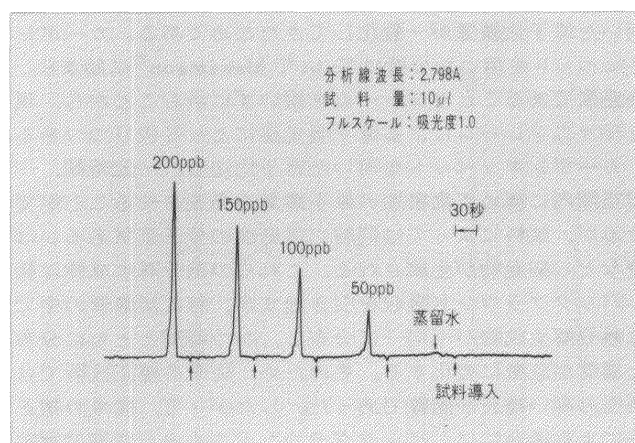


図3 Mnの測定

が、これはチップ表面で反射した光がわずかに偏向特性を生じるためであって、バックグラウンド補正系の誤差に基づくものではない。Mnの共鳴線(波長2,798Å)は図1における π, α^+ が複雑に分裂する異常ゼーマン効果を示すが、本法においては問題を正しない。図4は、波長3,281Åの共鳴線を用いて0.1ngの極微量のAgを測定した例であり、170-70形によって高い感度が得られることを示している。

図5にAsの分析例を示す。Asの共鳴線の波長は1,937Å及び1,972Åであって、通常分析される元素のうちで最も短波長側に位置する。したがって、光学系、特に直線偏光子の透過特性が問題となるが、170-70形では十分な感度が得られた。Asは炭素管アトマイザを用いて分析する際に色々と問題を生ずる元素の一つである。Asそのものは高い蒸気圧をもつにもかかわらず、一度、化合物を形成するとそれ

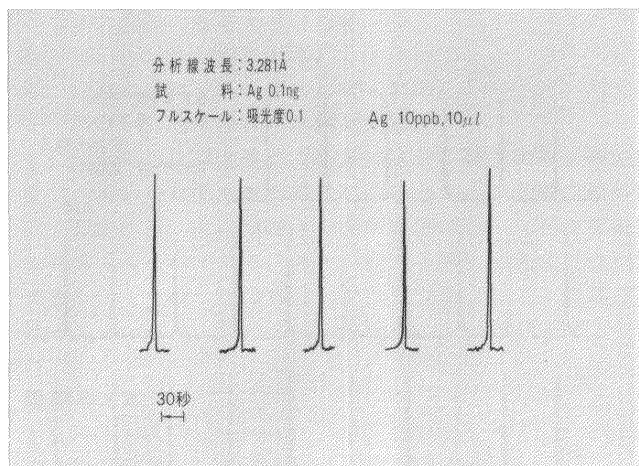


図4 低濃度のAgの測定

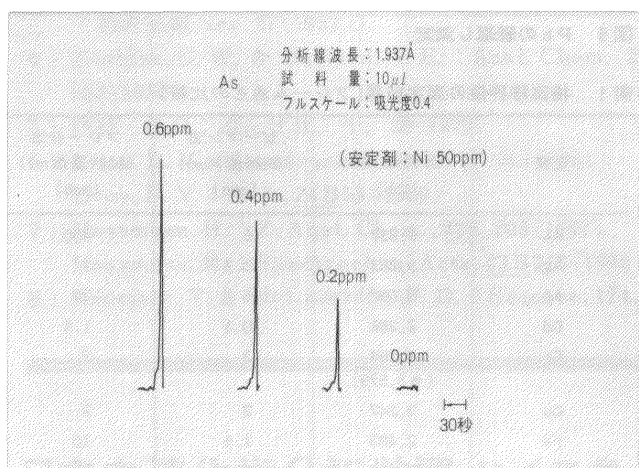


図5 Asの測定

を熱分解するために非常に高温を必要とする。しかも、As またはAs化合物のあるものは、蒸気圧が高く、灰化の温度に細心の注意を払わなければ灰化時にAsが散逸してしまう。Asの共鳴線は非常に短波長にあるので、光散乱の妨害が激しい。しかも、灰化温度を高くすると熱分解生成物の発生を抑えることが困難である。ところが、170-70形は大きなバックグラウンド吸収も精度よく補正できるので、灰化なしあるいは軽い灰化だけで直接原子化過程に移行できる。

原子吸収とバックグラウンド吸収の関係を詳しく調べたものが図6に示すデータである。この実験は、均一温度分布をもつように設計された炭素管と光源に磁場を印加する方式を用いて行われた。試料は尿にCdを添加したもので、乾燥、灰化過程を経ずに直接原子化した場合である。上方の点線が測定用光束(π)の吸収を示し、下方の点線が参照光束(σ^+)の吸収を示している。この測定では、炉の温度上昇の速度は比較的ゆるやかになるようにした。温度の上昇に伴い比較的蒸気圧の高い有機物によるバックグラウンド吸収が現われる。このとき π と σ^+ は同程度に吸収を受け、両者に差は見られない。さらに、温度が上昇するにしたがって、 π と σ^+ の吸収に差が生じ始める。この π と σ^+ の差が、Cdによる原子吸収に対応するものである。さらに温度が上

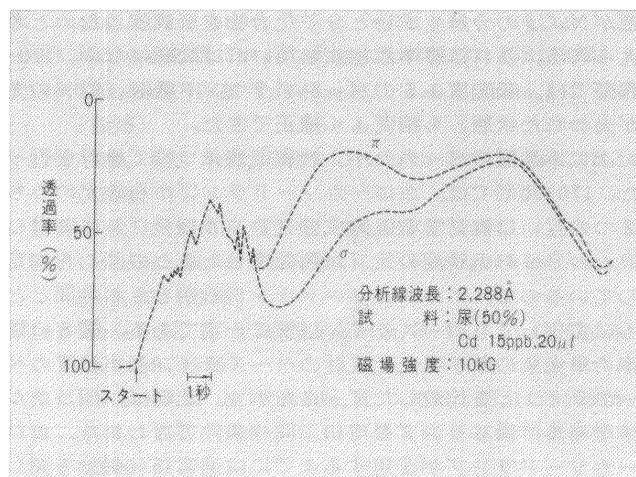


図6 尿中のCdの吸収とバックグラウンド吸収との関係

昇すると、 π と σ^+ の吸収の大きさは再び一致し、両者ともに強く吸収を受ける。この吸収は尿に含まれる塩類による分子吸収あるいは光散乱によるものと考えられる。図6から明らかなように、もし灰化を行った場合、温度の低い段階で生じるバックグラウンド吸収はある程度除くことが可能であるが、Cdが蒸発する温度の近辺及びそれ以上の温度で生じるバックグラウンド吸収を灰化によって除くことは不可能である。もし、このバックグラウンド吸収を除くに必要な灰化温度を設定するならば、当然Cdも蒸発し失われてしまう。したがって、このような試料を分析する場合には、灰化せずに直接原子化を行ってもバックグラウンド吸収の中から原子吸収だけを正確に得ることのできる170-70型が極めて有効である。

図7に10,000ppmのNaCl水溶液に含まれる0.1ppm程度のPbを測定した例を示す。NaClはPbの共鳴吸収線波長2,833Å近辺に強い分子吸収バンドをもつ。しかし、本装

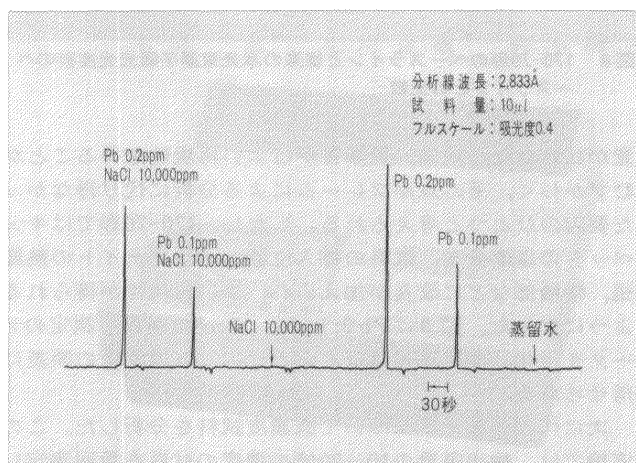


図7 バックグラウンド補正の効果

置では、NaCl 10,000ppm水溶液10μlを導入し、直接原子化した場合でもいかなる信号も生じない。得られた検量関係もよい直線性を示している。Pbの標準試料で得られた検量線より若干低い結果が得られているが、これは、Pbの濃度に10万倍にあたるNaClが共存しているために、Pbの一

部がNaClの分解生成物と分子化合物を形成するためと考えられる。これは標準添加法を用いれば問題はない。170-70型では、吸光度1.5のバックグラウンド吸収(97%の光が失われた状態)も精度よく補正できた。

次に本装置のベースラインの安定性について検討を行った。170-70形では、ホローカソードランプからの光のうち、2つの互いに直交する偏光成分(P_⊥及びP_{||})に着目し、P_⊥とP_{||}の光強度の比(対数変換したあとの差)を測定しているため、ホローカソードランプの明るさが時間とともに変化してもベースラインは常に一定である。図8に従来の単光束の原子吸光光度計のベースラインと本装置のベースラインとを比較したデータを示す。比較は、同じフルスケール、同じランプを用い、同一条件で行われた。ホローカソードランプが安定するまでには通常15~40分を要し、この間発光強度は大きく変動する。従来の装置では、光強度の変動が直接ベースラインに現われるが、170-70形ではそのようなことがない。

本装置の設計に当っては、特に測定の再現性の向上に注

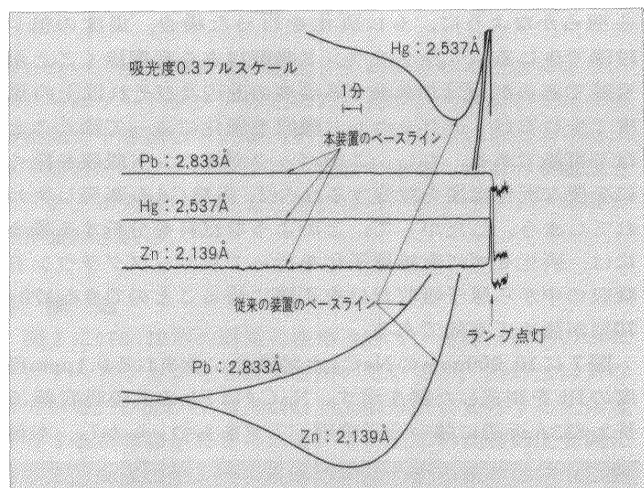


図8 170-70形のベースラインと従来の単光束原子吸光光度計のベースラインとの比較

意が払われた。従来、炭素管炉はよい再現性を得ることがむずかしく、その点がフレイムによる分析に代り得なかった要因のひとつと考えられる。しかし、170-70形ではキューベットの温度分布、試料の導入位置、グラファイトの熱膨張、接触部などに改良が加えられ、よい再現性が得られるようになった。図9にPb 0.1ppm, 10 μ lの繰返し測定データを示す。測定誤差はほとんどピペット操作上の誤差に帰せられる。

次に代表的な元素について低濃度試料を分析した。この実験では、検出限界の10~20倍の濃度の試料を数回測定し、S/N=2を与える試料濃度を検出限界とした。これを表1に示す。フレイムを用いた場合の検出限界の大半その目安として、複光束方式の原子吸光光度計による数値を比較のために並べて記した。フレイムによる分析では最低数mlの試料を必要とするが、170-70形では20 μ lの微量試料で分析でき、その場合でもフレイムに匹敵する感度が得られた。

また、新たに開発したホローカソードランプの高速正弦

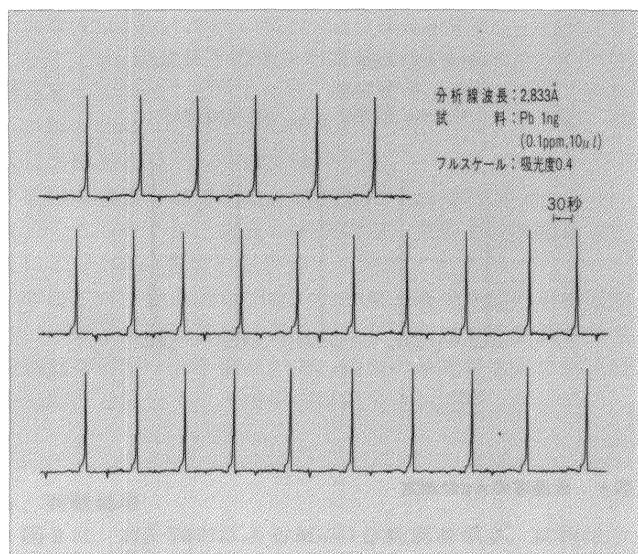


図9 Pbの繰返し測定

表1 検出限界値の測定結果(フレイム法との比較)

元素	分析線波長 (Å)	ゼーマン法 (試料量10 μ l) (ppb)	フレイム法 (試料量数ml) (ppb)
As	1,937	5	400
Ag	3,281	0.3	2
Al	3,092	6	20
Cd	2,288	0.1	1.5
Cr	3,594 (*3,579)	2	3
Cu	3,247	2	2
Fe	2,483	1.5	10
Mg	2,852	0.02	0.1
Mn	2,795	1.5	3
Ni	2,320	22	10
Pb	2,833	1.5	15
Zn	2,138	1	1

* 従来法ではこの波長を使用する。

波変調とバンドパスフィルタによる信号処理技術により、高温のキューベットから発せられる光による妨害を完全に除去することができた。

5. 結 論

以上、炭素管炉で原子化された試料蒸気のゼーマン効果を用いた170-70形の原理、構造及び測定結果について述べた。

結論として、170-70形の特長を要約すると次のとおりである。

- (1) 吸光度1.5に達する大きなバックグラウンド吸収も精度よく補正できる。
- (2) 鋭い線スペクトルを有するバックグラウンド吸収も精度よく補正できる。
- (3) 理想的な複光束方式と等価なため、光源の光強度が数倍変動してもベースラインは全くドリフトしない。
- (4) 原子化のときに高温を必要とする元素の測定において



も炉の発光の影響を受けない。

- (5) 高い再現性が得られる。
- (6) 微量の試料で高い感度が得られる。
- (7) 取扱い、測定操作が単純である。

170-70形は、以上述べた特長により、従来の原子吸光度計が用いられてきた日常分析はもちろん、多数の検体を扱う臨床検査、その他種々の分析分野において大きな威力を発揮するものである。また、従来の原子吸光法では測定できなかった新しい分析分野にも道が開けることが期待される。

■参考文献

- 1) Ballard, A., Stewart, D.W., Kamm, W.O. & Zuehlke, C.W. : Anal. Chem., 26, 921 (1954)
- 2) Walsh, A. : Spectrochim. Acta, 7, 108 (1955)
- 3) Walsh, A. : U. S. Pat. 2847899 (1958) (オーストラリア特許出願 Nov. 17 (1953))
- 4) Zuehlke, C.W. & Ballard, A.E. : Anal. Chem., 22, 953 (1950)
- 5) 内野, 小泉 : ぶんせき, 1, 29 (1975)
- 6) L'vov, B. V. : Spectrochim. Acta, 17, 761 (1961)
L'vov, B. V. : ibid., 24B 53 (1969)
- 7) Massmann, H. : Z. Anal. Chem., 225, 203 (1967)
Massmann, H. : Spectrochim. Acta, 23B 215 (1968)
- 8) Hadeishi, T. & McLaughlin, P. D. : Science, 174, 404 (1971)
- 9) Hadeishi, T. : Appl. Phys. Lett., 21, 438 (1972)
- 10) Koizumi, H. & Yasuda, K. : Anal. Chem., 47, 1679 (1975)
- 11) 小泉, 関, 水野, 内野 : Hitachi S. I. News, 17, 1453 (1974)
- 12) 小泉, 内野 : 日立評論, 56, 1037 (1974)
- 13) Koizumi, H. & Yasuda, K. : Spectrochim. Acta, 31B, 237 (1976)
- 14) Hadeishi, T. & McLaughlin, R. D. : Anal. Chem., 48, 1009 (1976)
- 15) Koizumi, H. & Yasuda, K. : ibid., 48, 1178 (1976)
- 16) 小泉, 大石, 内野, 保田 : 第3回日本化学会春季年会 (1976)
小泉, 大石, 内野, 保田 : 日本分析化学会, 分析化学討論会 (1976)
- 17) Koizumi, H. & Yasuda, K. : Spectrochim. Acta, in press.
- 18) Condon, E. V. & Shortrey, G. H. : "The Theory of Atomic Spectra", Cambridge University Press London (1970)

U.D.C. 616.15—073.5—71:681.785.433.4.087.9

日立血液化学分析装置 ハイスタット700形の開発

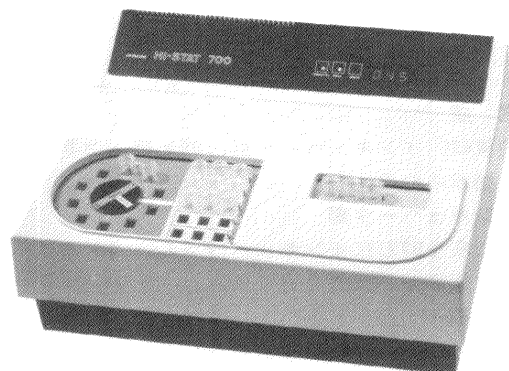
本川 忠* 北川正敏* 鈴木靖久*

1. はじめに

近年臨床化学検査では、自動化が進み自動分析装置が広く使用されている。多量の検体を短時間で処理する点に重点がおかれ、一時に多量の測定を行い、一検体当りの測定時間を短縮する方法をとっており、大病院や検査センターなど、多量の検体を有する所で非常な威力を発揮している。しかし、装置が大形になり、熟達した技師が装置をオペレートする必要がある。また、自動化が発達するにしたがい、これらの装置の有する弱点を補う装置が必要となってきた。日立では、「いつでも、誰でも、手軽に、少数検体を患者ごとに測定できる装置」を目標に、中・大病院における緊急・夜間の検査やベッドサイドでの検査、また、小病院や開業医での検査に適した装置として日立血液化学分析装置 ハイスタット700形を開発したのでここにご報告する。

2. 動作原理(図1参照)

光源より出た白色光は試料室を経て分光器に入射し、4



日立血液化学分析装置 ハイスタット700形

単色光に分かれ4個の検知器に到達する。測光には、2波長分光測光法を採用し、キュベットの形状により測光モードが自動的に選別される。

(1) Kineticsモード

試料室に1個のキュベットをセットすると、自動的に340nmと380nm用検知器からの信号が演算部に導かれ、

* 日立製作所 那珂工場

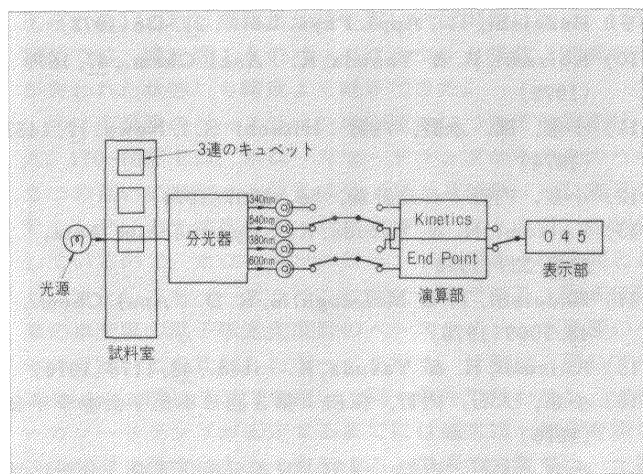


図1 日立血液化学分析装置 ハイスタット700形の機能ブロック図

Kinetics用回路が働き30秒間の酵素反応量が測定され、表示部に3桁のデジタル値で表示される。単位は国際単位あるいは濃度値である。

(2) End Point モード

試料室に3連のキュベットをセットすると、自動的に540nmと600nm用検知器からの信号が演算部に導かれ、End Point用回路が働く。まず、測定光束中には、盲検用キュベットがあり、この測定値を記憶する(自動零調整)。次に自動的に標準用キュベットが光束内に移動し、この測定値を記憶する(自動感度調整)。さらに、試料用キュベットが光束中に移動し、測定値が先に記憶された値とともに演算され、表示部に3桁のデジタル値で表示される。単位は濃度である。演算終了後キュベットは自動的に元の位置に戻る。

表示された値は、キュベットに貼られたラベル(キュベットの透光面ガード兼用)を測定前にはがし、このラベルに記入する。ラベルには、項目名、デシマルポイント及び単位が印刷されている。3桁の数値を記入すれば、濃度値が得られる。

3. 構成

本装置は、インキュベータ部、測光部、演算部及び表示部より構成される。

(1) インキュベータ部

試料温度を37℃にインキュベートし、インキュベート経過時間を表示する機能を有する。

(2) 測光部

光源、分光器及び試料室より成り、試料室は37℃に温度制御され、Kineticsモード/End Pointモードを自動選択する機能を有する。

(3) 演算部及び表示部

検知器からの信号を測光モードに応じて演算し、その結果を表示部に表示する。異常検体など高濃度試料の場合やKineticsモードで高単位試料で測定時にすでに反応が終了している試料の場合には、ABNORMALランプが点灯し、表示部の数値を消し、検体が測定不適であることを示す。

4. 分析手順(図2参照)

分析操作は、酵素グループ・一般化学分析グループ・膠質反応グループの3グループに統一されている。

HITACHI HI-STAT 700	 SOLUTION	 STANDARD	 SERUM	INCUBATION	MEASUREMENT
 GOPT LDH CPK HBD ALP BUN	 1.5ml	 50μl	5min		
 TBIL CA TP ALB (GLU)(CHO)	 1.5ml (3ml)	 50μl	10min		
 ZTT (TTT) HS (BLUOD)	 3ml (TTT)	 50μl (20μl)	10min		

図2 分析手順

5. 仕様

項目	モード	End Pointモード	Kineticsモード
血清量*		50μl	50μl
インキュベーション	時間	10min	5min
	温度	37°C	37°C
測定	時間	20s	30s
	波長	540nm/600nm	340nm/380nm
	方式	2波長分光測光	2波長分光測光
表示		3桁濃度	3桁国際単位/濃度

* ヘモグロビンのみ全血で20μl

6. 応用データ

図3に代表的な項目の再現性及び従来法との相関図を示す。酵素グループとしてLDH、GOT、BUN、一般化学グループとしてTP、GLU、CHOを示す。BUNは濃度表示であるが、Kineticsモードである。また、GLU及びCHOはEnd Pointモードであるが、酵素法である。

7. おわりに

本装置は、Kineticsモード及びEnd Pointモードともに2波長分光測光法を採用し、分析精度を向上させている。また、簡易操作を徹底させるため次の(1)~(5)の機能をもたせた。

- (1) 操作つまみ及びスイッチ類をなくした。
- (2) 項目選択操作を無用にし、しかも分析操作を統一した。
- (3) 自動零調整及び自動感度調整の機能をもたせた。
- (4) 試薬をあらかじめ測定キュベットに封入した。
- (5) インキュベーション時間経過表示をインキュベータにもたせた。

本装置は、多項目を一度に測定できるので患者ごとの検査が簡単にできる。以上のことから、本装置は、大・中病院の緊急・夜間の検査、ベッドサイドでの検査、自動分析装置のバックアップ検査や、小病院や開業医の検査に適しており、この分野の発展に寄与するものと信じている。

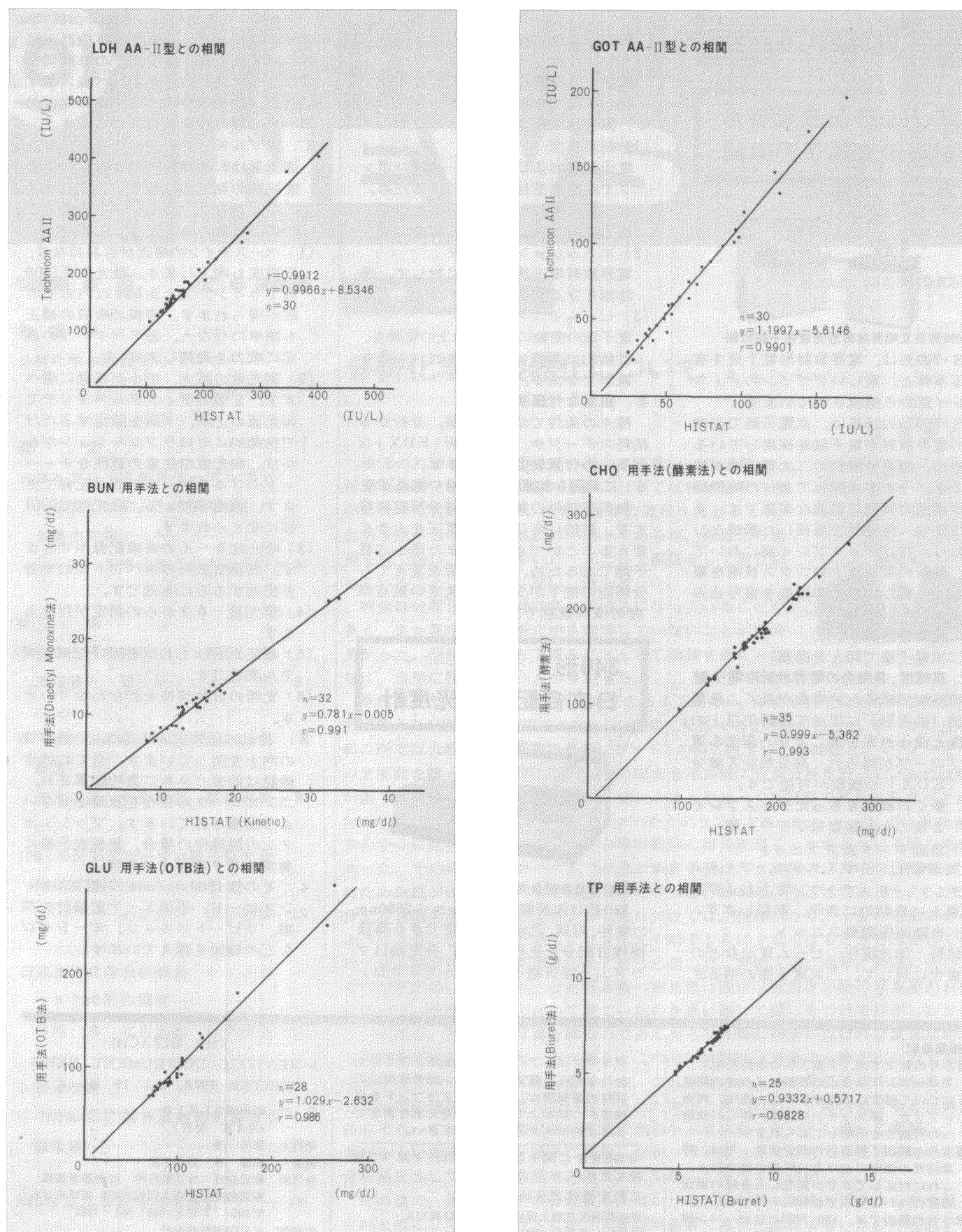
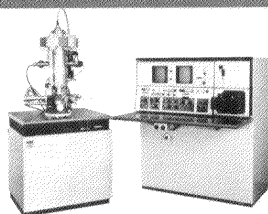


図3 各項目の相関図



Topics

S-700形 日立電界放射形走査電子顕微鏡



S-700形日立電界放射形走査電子顕微鏡

S-700形は、電界放射形電子銃を有する本体と、新しいデザインのディスプレイ部から構成されています。

S-700形の特長は、点電子源で高輝度の電界放射形電子銃を採用しているために、超高分解能の二次電子像が観察でき、今まで未開拓であった超微細表面構造の研究に最適な装置です。また操作性、保守性を重視した構成としており、特にディスプレイ部においては、最新のエレクトロニクス技術を駆使して、新しい多くの機能を盛り込みました。

1. 超高分解能

二次電子像で30Åを保証

2. 高輝度、長寿命の電界放射形電子銃

冷陰極であるため寿命が長く、熱電子銃（従来形）に比べて1000倍以上の輝度と微小点電子源により、超微小電子プローブが得られ、高分解能X線分析（EDX）や観察が可能です。

3. 多くの機能をもったディスプレイ

(1) 2個の大形観察用ブラウン管

(2) 自動データ表示ユニット

加速電圧、倍率スケール、フィルムナンバーをブラウン管上および写真上に自動的に表示、記録します。

(3) 自動画像調整ユニット

試料、加速電圧、ビーム電流などの変化に対して、二次電子像の明るさ、

コントラストは自動的に調整され、最適な条件で観察が可能です。

(4) フラッシュバックスキャン

画質の良い静止像を、大形ブラウン管で観察できます。

4. 保守性・安全性

(1) 超高真空

電子銃部および鏡体は、イオンポンプで超高真空排気をしているため、絞り類の汚れが少なく、また停電、断水に対する安全装置も万全です。

(2) エミッションリミッタ

電界放射電子流の変動に対して、冷陰極を守る安全装置です。

(3) ビームモニタ

電子流の変動による画像上の変動を、自動的に調整し、常にきれいな像を観察できます。

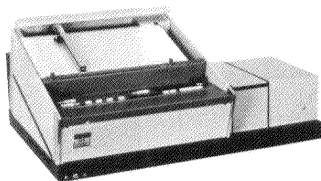
5. 豊富な付属装置

種々の条件で試料を観察、分析する試料ステージや、X線分析（EDX）など多くの付属装置があります。

6. 広範囲な加速電圧と大きい焦点深度

無蒸着試料の観察から高分解能観察まで、目的に応じて加速電圧を大きく変えることができます。また微小点電子源であるため、試料位置を変えても分解能の低下が少なく、大きい焦点深度の像が観察できます。

340形 日立自記分光光度計



340形日立自記分光光度計

340形は波長範囲190nmから2600nmの紫外、可視、近赤外を測定できる高級機種自記分光光度計です。分光器はプリズムと回折格子のダブルモノクロメ

ータを用いて迷光の減少を図ると共に、マイクロコンピュータを本体内部に組み込み波長走査、光学素子の自動切換えなどのコントロールと、ベースライン補正、透過率や吸光度の演算などのデータ処理の機能を持たせています。

1. ダブルモノクロメータ採用により

迷光量は0.0005%以下であり、高濃度試料の測定の信頼性が向上します。

2. マイクロコンピュータを分光光度計内部に組み込んだことにより

(1) ベースラインの補正が容易になり、平坦度も向上します。吸光度0（100% Tライン）で±0.002以内の平坦度が得られます。溶媒の吸収の補正も簡単に行なえ、差スペクトルの測定に威力を発揮します。

(2) 測光値の拡大、縮小が任意に選べます。2個のデジタルスイッチで測光値の上限、下限を設定するだけで自動的にゼロサプレッションがかけられ、測光値の任意の範囲をチャート上のフルスケールに表示記録できます。透過率で1%、吸光度で0.01毎に変えられます。

(3) 吸光度0～4の直接記録ができます。高濃度試料のスペクトルの全貌を把握するのに有効です。

(4) 吸光度－0.3からの測定が行なえます。

(5) 波長表示はLEDを用いたデジタル表示です。

(6) 光源の自動切換を行なわせています。

3. プッシュボタン方式により操作性の向上を図っています。全ての操作機能は前面パネルに集約配置され、コンピュータの存在を意識させないよう配慮されています。プッシュボタンの誤操作の場合、波長表示器に異常モニタ表示されます。

4. その他1200nm/minの速いスキャンスピード、平面X-Y記録計の採用、リピートスキャン、オートゼロなどの機能を備えています。

〈編集後記〉

■ 本号の報文では、千葉大学の永野先生に、フリーズレプリカ法の詳細と、今後の問題について報告して頂きました。就中、両面レプリカ、深エッチング法等、新しい技術への可能性を示唆しておられます。

■ 本号の解説「酵素活性測定装置」では、酵素活性の測定における試料側の諸条件と、これに対応して日立が開発した各種の測定装置についてそれぞれ解説いたしました。

■ 本号の解説では、170-70形日立ゼーマン原子吸光分光光度計について解説しました。

グラフアイトアトマイザの長所をフルに生かしながら、偏光とゼーマン効果を用いて試料の前処理なしにバックグラウンドを高精度かつ効率よく除去し、全元素を測定できるこのシステムにご注目下さい。

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
WINTER 1976, Vol. 19 No. 4

発行 昭和52年1月1日

(年4回発行)

発行人 湯川 清

編集人 岩橋 勲 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