

THE HITACHI SCIENTIFIC INSTRUMENT NEWS

AUTUMN 1978
VOL. 21 NO. 3

報 文

U.D.C. 543.422.5:57.014:[546.19+546.23].062.064

目 次

報 文

溶媒抽出、及びマトリックス効果
を利用した、炭素管アトマイザ
無炎原子吸光法による生体試料
中ヒ素、セレンの定量法……

……………石崎睦雄… 1

ジャイアントパンダから検出され
た回虫Baylisascaris schroederi
(Mcintosh, 1939) Sprent, 1968の
走査電子顕微鏡による観察……

……………菊地 滋

奥山義光 利岡静一 山本 久… 4

解 説

日立SEM用クライオシステムの
機能とその応用……………

……………斎藤 稔 大蔵昭光

清水 実 神田公正 永谷 隆… 8

高感度分光けい光光度計の応用分
野(650-10形日立分光けい光光
度計について)……………

野上太郎 嶺岸久子 岩渕 等… 11

イオン選択性電極……………

宮城宏行 進藤勲夫 菅原研之… 15

トピックス

H-500H/H-700H形日立超高真空

高性能電子顕微鏡…………… 10

日立X線自動計測システム…………… 7

S-3102形日立マイクロスケール…………… 18

557形日立2波長自記分光光度計…………… 14

高性能EDX定量分析システム

KEVEX社

7000/QUANTEX-RAY…………… 19

第29回ピッツバーグカンファレン

スに各種の日立理化学機器を出

品…………… 19

CLC-5形日立遠心クロマトグラフ… 20

溶媒抽出及びマトリックス効果を利用した炭素管 アトマイザ無炎原子吸光法による生体試料中ヒ素、 セレンの定量法

石 崎 睦 雄*

1. はじめに

生体中の微量元素、特にヒ素やセレンの分析法は、比色法や蛍光光度法などが一般に利用されているが、再現性や試薬の安全性などの問題から、満足すべき測定法が確立されていない現状にある。近年、生体中微量元素の測定

法として、炭素管アトマイザを利用した無炎原子吸光法による方法が広く活用されているが、ヒ素やセレンのような比較的低い温度で蒸散する元素は、炭素管中での灰化操作時に大部分蒸散してしまうことや、原子化時にこれら元素が完全に原子化される以前にその一部が蒸散してしまう可能性があるため、値バラツキ、生体試料中のこれら元素の測定は不可能視されていた。

著者は、これらの元素が、他の元素と熱に安定な化合物を生成する性質を利用して、炭素管内での他元素によるマトリックス効果で、灰化、原子化時でのヒ素及びセレンの蒸散を防ぎ、原子化時の感度の増大を図る方法、及び測定時に妨害する夾雑物と、これらの元素との分離のために、塩酸溶液中からの溶媒抽出、逆抽法を併せて検討し、頭初の目的にかなう方法を確立したので以下、ヒ素、セレンの順にその測定法を報告する。

2. ヒ素の定量法

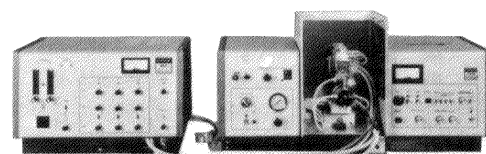
2.1 生体試料中ヒ素(As)測定法^{1,2)}

著者は、ヒ素が3価の状態、9 N以上の塩酸溶液中から定量的にクロロホルムに抽出され、さらに、水で完全に逆抽出されることに着目して、逆抽出液にマグネシウム塩溶液を用いてヒ素を逆抽出する方法を種々検討した。その結果、マグネシウム塩の種類は硝酸塩がよく、マグネシウム濃度として0.025%の条件のときに、マトリックス効果を最大に発揮し、灰化時及び原子化時のヒ素の蒸散防止、感度の向上を図ることができた。本法による回収率は95%以上、変動係数11%以下であった。また、試料1 gを用いての定量限界は0.1ppbであった。

2.2 装 置

原子吸光光度計：日立170-50形、同308形 アトマイザ：日立GA-2形、同HFA形

2.3 試料の前処理法



GA-2形 日立アトマイザ+170-50形
日立原子吸光分光光度計

* 茨城県衛生研究所 環境保健部

均一化した試料0.5~2g(血液:2ml)を磁製るつぽに精ひようし、50%硝酸マグネシウム溶液2mlを加え、よく浸潤させた後、電気乾燥器を用いて60℃、12時間乾燥後、電気炉で550℃、6時間灰化する。冷後、るつぽに10N塩酸5mlを加え、約50℃のホットプレート上で30分間加熱しヒ素を溶解させ、次いで分液漏斗に移し入れる。さらに10N塩酸5mlでるつぽを洗い、洗液を分液漏斗に移す。

表1 Operating Condition.

Atomizer	HFA	GA-2
Drying	100℃ 30s	Ramp Mode 0→to 30A(1.0A/s)
Ashing	900℃ 30s	120A 20s
Atomizing	2,400℃ 10s	300A 8s
Furnace	Tube type	Cup type

表2 Interference of various ions in the flameless atomic absorption analysis of arsenic

Interfering substance	Depressing effect added (μg)				
	2000	200	100	10	5
Al	0	---	---	---	---
Ca	0	---	---	---	---
Cd	0	---	---	---	---
Cu	0	---	---	---	---
Fe	0	---	---	---	---
Mn	0	---	---	---	---
Na	0	---	---	---	---
Ni	33	9	3	0	---
Pb	11	3	0	---	---
Sb	0	---	---	---	---
Se	---	---	---	5	0
Sn	0	---	---	---	---
Zn	0	---	---	---	---
BO ₃ ³⁻	0	---	---	---	---
CrO ₄ ²⁻	0	---	---	---	---
NO ₃ ⁻	0	---	---	---	---
PO ₄ ³⁻	0	---	---	---	---
SO ₄ ²⁻	0	---	---	---	---

As was determined after doing of operation of extraction and back extraction. As was taken 200 ng. As in 10N HCl

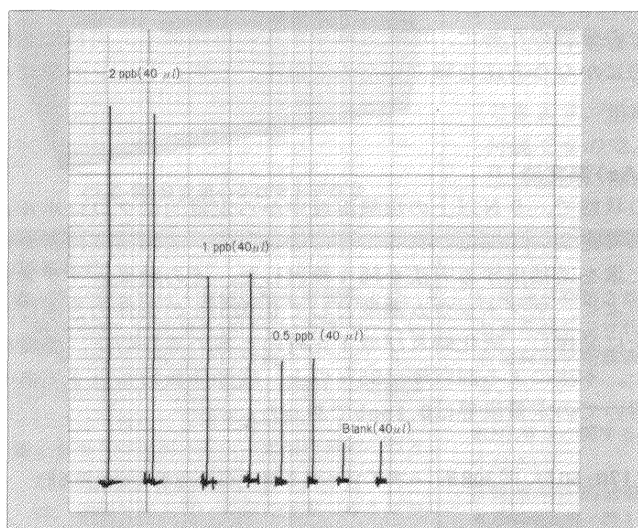


図1 Asの検量線 170-50+HFA

2.4 定量操作

上記ヒ素溶解液の入った分液漏斗に40%ヨウ化カリウム溶液1mlを加え、3分間放置し、5価のヒ素を3価に還元する。次いで、クロロホルム5mlずつで2回ヒ素を抽出操作後、クロロホルム層を合する。このヒ素抽出液から、0.025%マグネシウム液2mlでヒ素を逆抽出し、逆抽出液5~50μlを炭素管アトマイザ中心部の小穴に注入し、表1に示した条件で、乾燥、灰化、原子化を順次行い、ヒ素量を求めた。その結果を表3に示す。

3. セレンの定量法

3.1 生体試料中セレンの測定法^{3,4)}

セレンを日立GA-2形、及びHFA形などの炭素管アトマイザを用いて測定する場合、共存イオンによるセレンへの感度の増減作用により、正しい値は得られない。そこで、共存する陽イオンや陰イオンとの分離、及びセレンの濃縮を目的として、ジチゾン・四塩化炭素によるセレンの溶媒抽出法⁵⁾を利用する方法を検討した。その結果、セレンは0.5~6Nの塩酸溶液中で定量的に抽出され、大部分の夾雑物とセレンとを分離することができた。しかし、数種の金属イオン(Cu, Ag, Te, Hg, Bi)は、上記塩酸溶液中からのセレン抽出時に、セレンと同様な挙動を示し、ジチゾンキレートとして四塩化炭素にセレンとともに抽出され、これがセレンの原子化時に負の妨害を与えるため、これら妨害元素の分離法を検討した。その結果、セレンの溶媒抽出操作前に、試験液を陽イオン交換樹脂カラム内を流過させることで、これら妨害金属イオンとセレンとを分離させることができた。また、本法では、試料の灰化法として、酸素フラスコ燃焼法を利用したが、試料を灰化した後のセレン吸収液中に含まれる酸化性物質が、ジチゾンを酸化し、セレンとの錯化合物生成能を失わせるために、これを防ぐ目的で塩酸ヒドロキシルアミンを灰化液に加え、これらの物質を還元した。

次に、測定中の灰化、原子化操作時のセレンの蒸散を防ぐ方法を検討したが、ヒ素測定時のように逆抽出操作ができないため、炭素管内でセレンジチゾナートとマトリックス剤として用いる硝酸ニッケルとを合することを考え、その至適条件を検討した。マトリックス効果を利用するために用いる硝酸ニッケル溶液中のニッケル濃度と炭素管内への溶液の添加量を求めたが、セレンジチゾナート溶液20μlに対し、ニッケル濃度が0.1~5%溶液50μlを加えることで一定の測定値が得られたが、以後バックグラウンドの少ない0.1%ニッケル溶液をマトリックス剤として用いることにした。ニッケルによるマトリックス効果で炭素管中でのセレンは熱に安定であるため、次にこれらの最適原子化温度を検討した結果、2,400℃以上で一定の吸光度を示した。

以上のような諸条件を検討した結果、後述の定量法を立案した。実際試料を用いての回収率は93%以上、変動係数8%以下であった。また、試料1gを用いての定量限界は0.01ppmであった。

3.2 装置

2.2 と同一なものを使用した。

3.3 定量操作法

血液、試料1mlを木綿糸でつるした脱脂綿にしみ込ませ、電気乾燥器で60℃、12時間乾燥する。



表3 Analytical results of samples by proposed method

Sample	As added (μg)	Found (μg)					Mean (μg)	c. v. (%)	Recovery (%)
Apple 2.0 g	0	0.051,	0.053,	0.059,	0.051,	0.059	0.055	7.5	102
	0.10	0.165,	0.158,	0.146,	0.165,	0.150	0.157	5.5	
Spinach 2.0 g	0	0.031,	0.030,	0.028,	0.034,	0.036	0.032	10.0	96
	0.05	0.084,	0.081,	0.074,	0.083,	0.076	0.080	5.5	
Whitebait 0.5 g	0	0.080,	0.090,	0.096,	0.091,	0.093	0.090	6.7	99
	0.10	0.188,	0.194,	0.188,	0.178,	0.196	0.189	3.7	
Whale 0.5 g	0	0.048,	0.045,	0.053,	0.050,	0.050	0.049	6.0	100
	0.10	0.150,	0.150,	0.147,	0.146,	0.150	0.149	1.3	
Shrimp 0.5 g	0	3.15,	3.15,	3.25,	3.25,	3.20	3.20	1.6	98
	5.0	8.05,	8.20,	8.05,	8.05,	8.10	8.09	0.8	
Cuttle fish 0.5 g	0	4.36,	3.94,	4.10,	4.31,	4.04	4.15	4.3	101
	5.0	9.29,	9.35,	8.93,	9.19,	9.14	9.18	1.8	
Oyster 0.5 g	0	1.01,	1.04,	1.01,	1.07,	1.04	1.03	2.4	98
	1.0	2.06,	2.01,	2.02,	1.98,	2.00	2.01	1.5	
Pigs liver 2.0 g	0	0.010,	0.011,	0.008,	0.010,	0.009	0.010	11.4	95
	0.02	0.030,	0.026,	0.028,	0.032,	0.028	0.029	7.9	
Human's blood 2 ml	0	0.010,	0.008,	0.010,	0.009,	0.009	0.009	9.3	102
	0.05	0.063,	0.061,	0.060,	0.061,	0.054	0.060	5.7	
Human's blood 3 ml	0	0.021,	0.020,	0.018,	0.021,	0.020	0.020	6.1	100
	0.02	0.039,	0.042,	0.041,	0.038,	0.040	0.040	4.1	

肉及び臓器、試料1gを5 cm四方の和紙上に包み精ひょうし、電気乾燥器で60°C、12時間乾燥する。これら乾燥した試料を酸素フラスコ燃焼操作し⁶⁾、灰化する。0.01N塩酸20mlでフラスコ内を洗浄し、セレンを吸収させる。次いで、吸収液を太さ1 cm、長さ10cmの陽イオン交換樹脂カラム（アンバーライト IR-120, H形）内を流過させ、カラム溶離液を捕集する。さらに、蒸留水10mlでカラムを洗い、カラム溶離液は初めの溶離液に合わせ、内容50mlの三角フラスコ

表4 Operating condition

Atomizer	HFA	GA-2
Drying	100°C, 30s	Ramp Mode 0→to 30A (1.0A/s)
Ashing	600°C, 30s	100A, 30s
Atomizing	2,400°C, 10s	300A, 8s
Furnace	Tube type	Cup type

表5 Suppression effects on Se absorbance of diverse ions

Element	Added (μg)	Suppression of Se absorbance (%)	
		A**	B**
Cu	5.0	0	0
	50.0	10	0
Bi	50.0	0	0
Hg	1.0	0	0
	5.0	10	0
	50.0	40	0
Ag	0.1	0	0
	1.0	10	0
	5.0	30	0
	50.0	70	0
Te	5.0	0	0
	50.0	20	0

* Determined without treatment of cation with ion exchange resin.

** Determined after treatment of cation with ion exchange resin.

Se, O. 1 μg.

に移す。20%塩酸ヒドロキシルアミン1mlと、濃塩酸10mlを加え、煮沸するまで加熱し、6価のセレンを4価に還元する。冷後、0.01%ジチゾン四塩化炭素で、セレンを抽出する。抽出液20μlをマイクロシリンジで採取し、炭素管内に注入する。100°C、20秒間炭素管を加熱し、四塩化炭素を蒸散させる。次いで0.1%ニッケル溶液50μlを注入し、表4の操作条件でセレンの吸光度を測定した。その結果を表6に示す。

表6 Analytical results of samples

Sample	Se added(μg)	Found(μg)		Mean(μg)	Recovery(%)	C.V.(%)
Human blood	1ml	0	0.21, 0.20,	0.19	0.20	96
	1ml	0.5	0.19, 0.20 0.67, 0.67, 0.69, 0.70	0.69	0.68	
Tunny	1g	0	0.23, 0.23,	0.25	0.25	96
	1g	0.5	0.28, 0.26 0.71, 0.72, 0.71, 0.75	0.78	0.73	
Pig liver	1g	0	0.64, 0.60,	0.72	0.65	93
	1g	1.0	0.60, 0.68 1.60, 1.56, 1.52, 1.64	1.56	1.58	
Pig kidney	0.25g	0	0.42, 0.39,	0.37	0.39	97
	0.25g	0.5	0.39, 0.37 0.86, 0.88, 0.85, 0.90	0.88	0.87	

4. まとめ

以上述べた方法により、生体試料中のセレン及びヒ素を極めて簡単に、しかも、精度よく測定できた。炭素管を用いた無炎原子吸光法による生体試料中の微量元素の測定については、上述のように、測定対象元素にあわせた適切な前処理を施す必要があると考えられる。

参考文献

- 1) 石崎睦雄：分析化学, 26, 667 (1977)
- 2) 石崎睦雄, 片岡不士雄：産業医学, 19, 136 (1977)
- 3) 石崎睦雄：分析化学, 26, 206 (1977)
- 4) Ishizaki, M.: Talanta, 25, 167 (1978)
- 5) Mabuchi, H. & Nakahara, H.: Bull. Chem. Soc. Japan. 36, 151 (1963)
- 6) 勝村馨, 石崎睦雄, 上野清一, 笹本和博：食衛誌, 14, 137 (1973)

ジャイアントパンダから検出された回虫 *Baylisascaris schroederi* (Mcintosh, 1939) Sprent, 1968の走査電子顕微鏡による観察

菊池 滋* 奥山 義光** 利岡 静一*** 山本 久***

1. 緒言

1972年10月28日、中国復交記念のため成熟したジャイアントパンダの雌雄各1頭を中国より贈られ、東京都上野動物園にて飼育中、来園後17日目に雄から7疋の回虫が自然排泄された。その後駆虫剤投与により多数の排泄を見た。本回虫は、原氏ら(1976)により *Baylisascaris schroederi* (Mcintosh, 1939) Sprent, 1968と同定し、報告された(原氏らの論文に掲載されている走査電子顕微鏡写真は原氏の依頼により著者が観察撮影したものであることを付言しておく)。著者らは、これら虫体一部の分与を受け、走査電子顕微鏡により新たに観察を行ない、2、3の知見を得たのでその所見を報告する。

2. 材料と方法

新鮮な虫体頭部を先端より2~3mm、尾部は5mmのところより切断し、2.5%のグルタルアルデヒド液に2時間浸漬した後、1%オスミック酸で1時間固定した。次いでアルコール系列にて脱水した後、日立臨界点乾燥装置(HCP-1)で試料を乾燥し、真空蒸着装置の中で炭素と金の二重蒸着を施し、日立一明石MSM-4形走査電子顕微鏡で観察した。

3. 観察所見

頭部の中央に口が開き、1個の背唇と2個の亜腹唇に囲まれ間唇はない(図1)。各口唇の形態は小葉間の切込みが深く、小葉はやや幅狭くそれより後方は左右に広がる(図2)。背唇の左右両側に1個ずつ二重乳頭が存在する。各亜腹唇には外側腹方寄りに各1個の二重乳頭と背側寄りに大小の単乳頭が2個ずつそれぞれの間隔をおいて並ぶ。背唇及び亜腹唇の二重乳頭は盛上がり、一側は半円形の隆起部により囲まれ、その表面に細かい窪みが多数に見られる(図3)。亜腹唇2個の中央側のものは大きく楕円形に盛上がり、表面は細かな溝が刻まれており、Amphidial Poreと認められる。他の小形乳頭は突出し、中央に窪みが見られる(図4)。各口唇外縁と内縁との間には深い溝があり、内側縁から小歯が一行に並んで外方に向かって生じている。歯形は小さく三角形を呈し、根元は太く、中央はやや凹み、先端は尖っている。口唇外縁部の小歯の当るところには小さな窪みが一行に見られる(図5)。これは虫体が栄養物摂取のため、口唇外縁と内縁の間にある溝に宿主の腸粘膜を吸引または膠着させていわゆる一種の咀嚼運動をすることによって生じる痕とみなされる。頭端から0.5~0.85mm後方の側面に排泄孔が1個存在している。排泄孔は横に菱形を呈し、その中央は噴火口状の穴が見られる(図6)。

雄虫：体長35~80×0.8~1.75mm、肛門は尾端から0.52mmにあり、その前後は丘状に盛上がり、表面に歯状突起があ

る(図7-8)。前部の突起は5列並び、その数は200~215本、長さ3~8 μ (図9)。後部の突起は7列並び、前部に比べて短列で、突起は太く、数は190~200本、長さ5~10 μ である(図10)。乳頭は肛門前腹面の左右に1列ずつ並び、約65~70対(図7)、また肛門前の直中線上に跨がり二重乳頭1個が存在する(図9)。肛門後方には5対の乳頭があり、うち肛門寄りの2対は二重乳頭(対をなさない奇形がある)で、中央部の部には単乳頭3対が並び、その中間の1対は極めて小さいのが特徴的である(図7)。交接刺は2本あり、等長で円柱状を呈し、表面は輪線模様があり先端に裂状の小孔が開く(図11)。

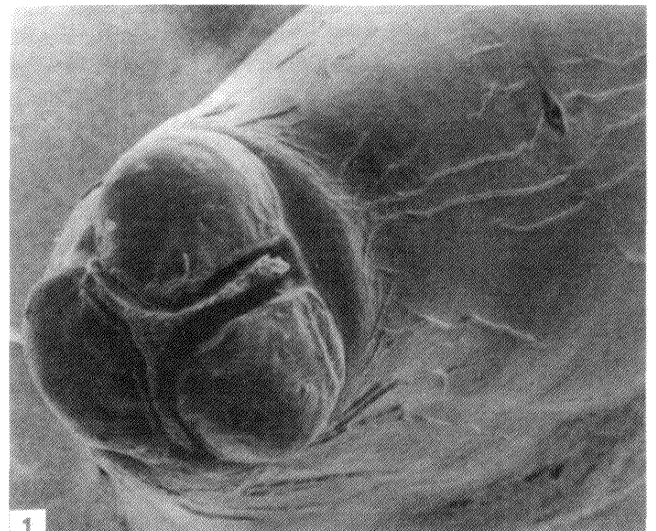


図1 3唇と排泄孔が下方に見える(側面) ×100

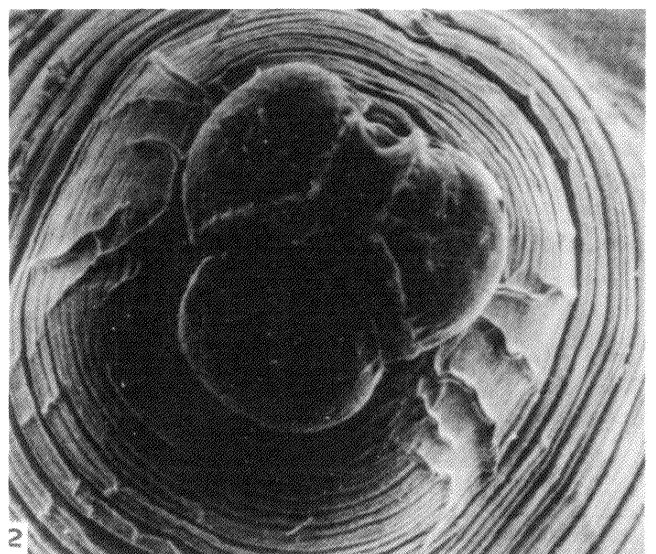


図2 頭部口唇(上面) ×100

* 横浜市大 医学部、医博

** 横浜市公衆衛生局

*** 独協医科大学、医博



図3 口唇二重乳頭の表面構造 ×5,000

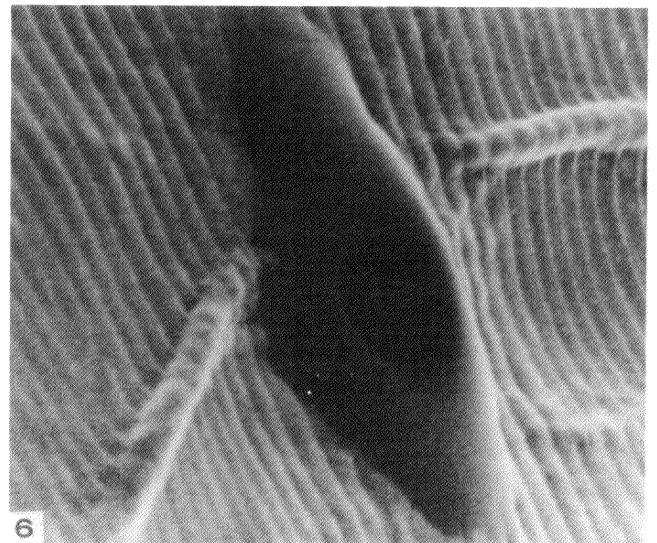


図6 排泄孔の拡大 ×1,000

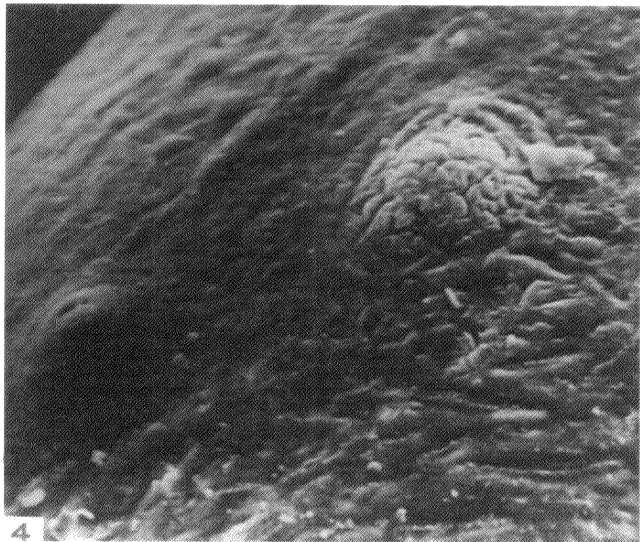


図4 垂腹唇にある単乳頭，内側の大きいほうがAmphidial pore ×40

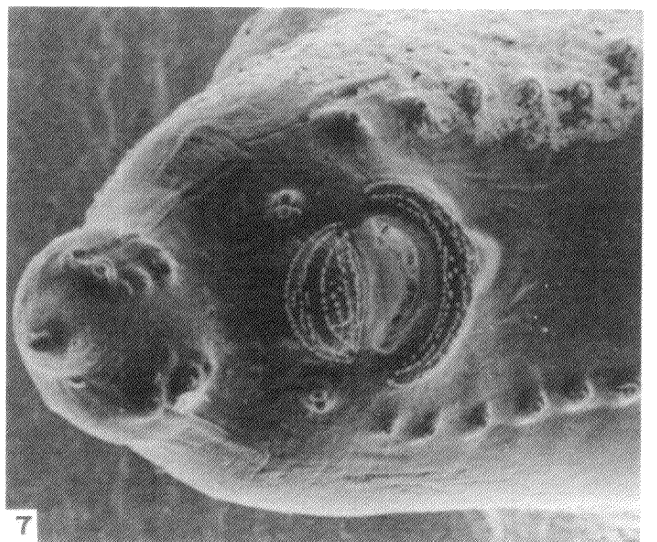


図7 雄虫の尾部腹面の乳頭配列と肛門前，および後部に生じている歯状突起 ×200

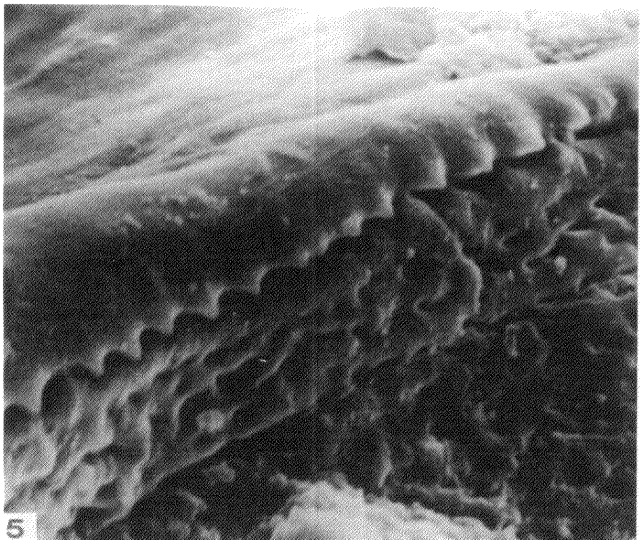


図5 小歯が口唇の内面より外方に向って一列に並ぶ ×5,000

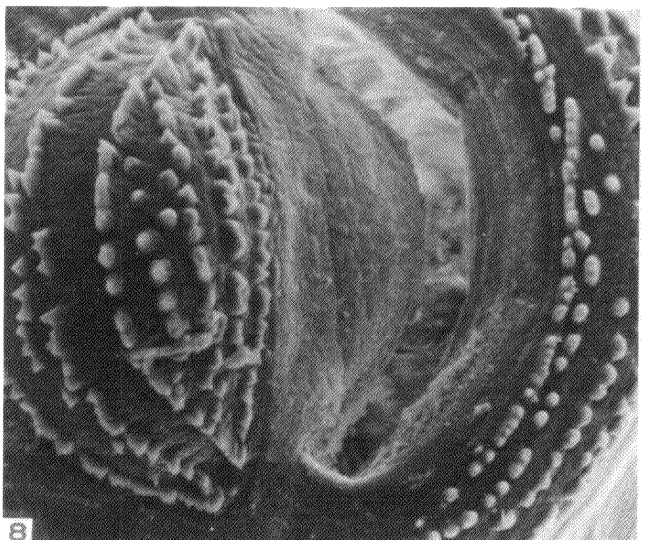


図8 肛門前後部の歯状突起 ×700

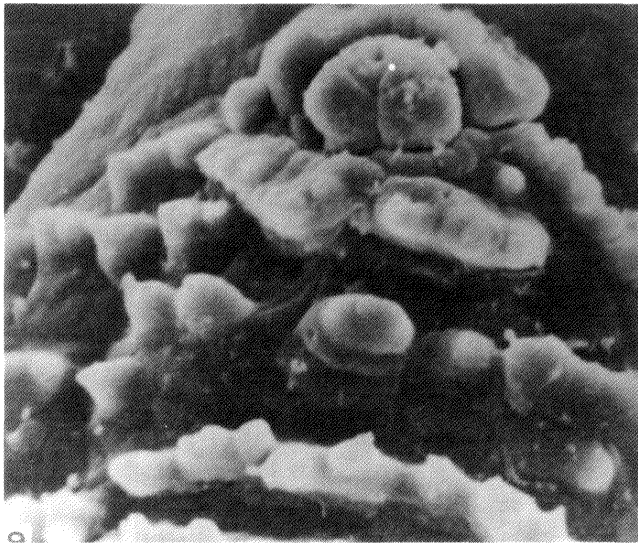


図9 肛門前齒状突起とその前部にある二重乳頭 ×2,000

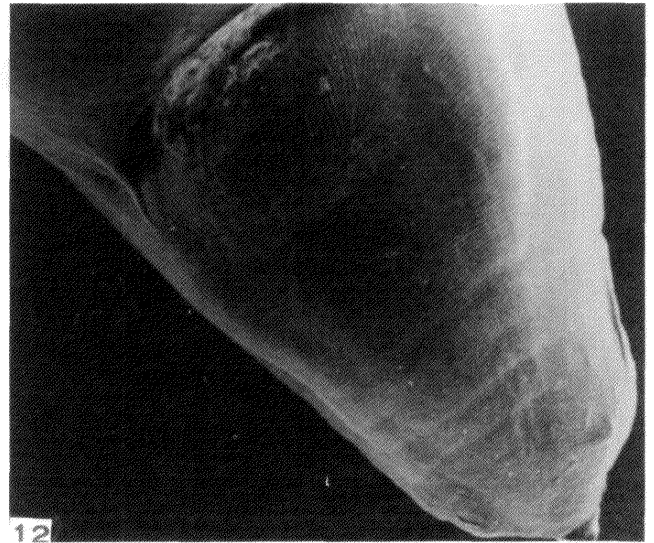


図12 雌虫の尾部と肛門 ×100

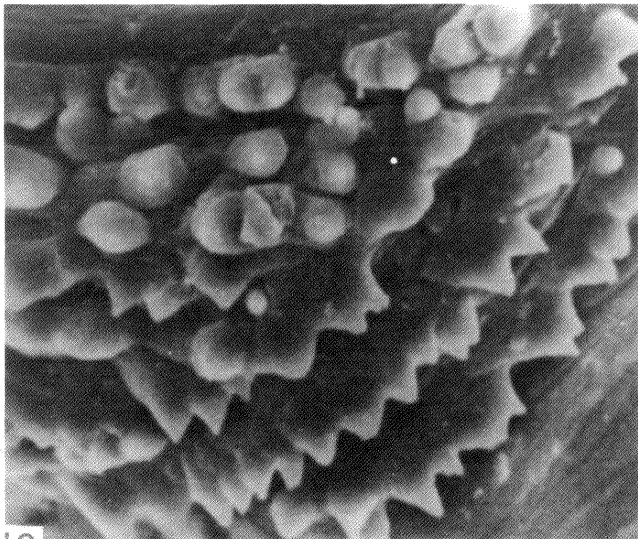


図10 肛門後齒状突起の配列 ×2,000

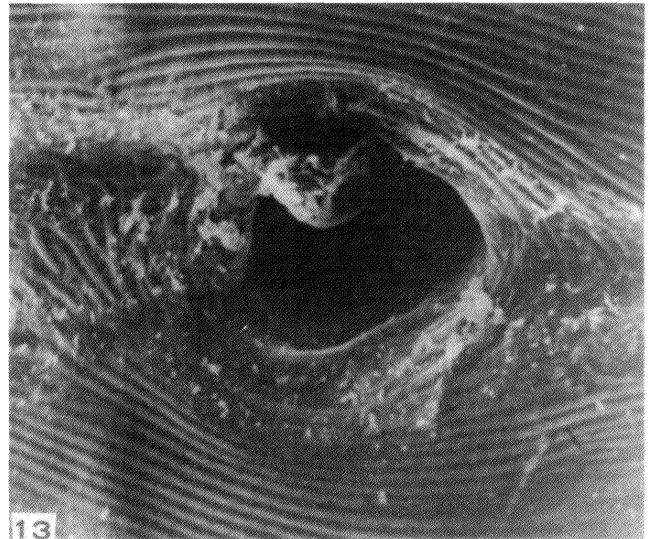


図13 陰門 ×400

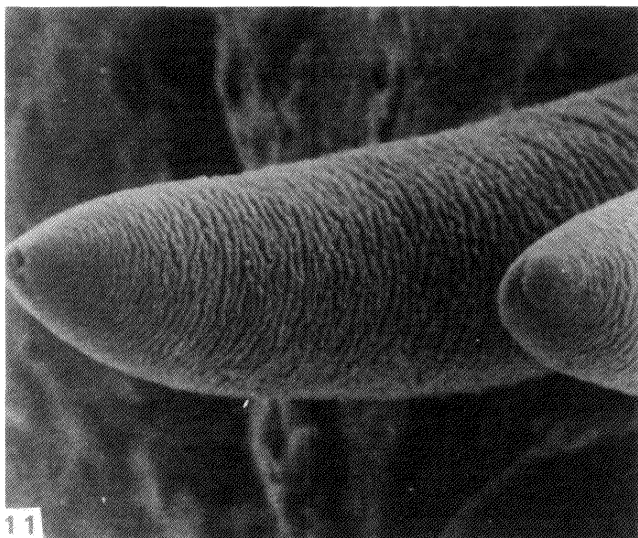


図11 交換刺の表面(2本) ×1,000

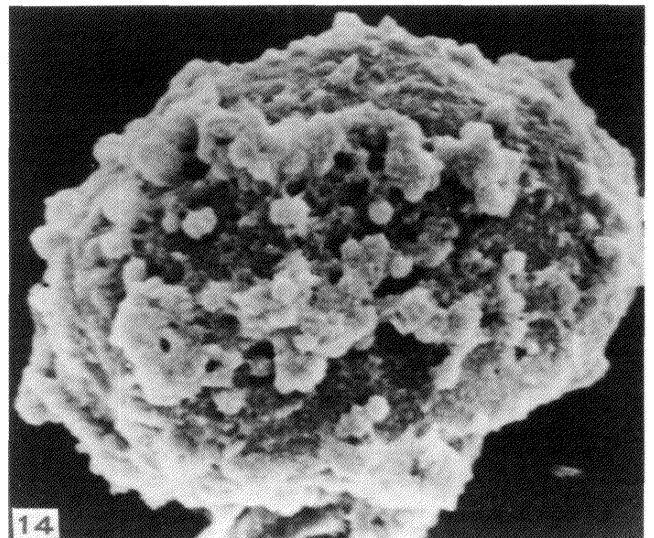


図14 虫卵 ×700



雌虫：体長120～150×3～4mm、尾部は次第に細長く、鈍円に終る。肛門は尾端より1～1.2mmにあり、開口直後の表面には指紋状の模様が見られる(図12)。陰門は体の前約1/3の腹面の位置に開く(図13)。また、尾端から0.35mmの位置に左右1個ずつの乳頭が存在する。虫卵は卵円形で大きさ0.072～0.083×0.05～0.056mm、岩石状の膜に被われ、表面に微小突起を有する(図14)。

4. 考 察

ジャイアントパンダより検出された回虫は、上述のように Mcintosh の報告している *Baylisascaris schroederi* (Mcintosh, 1939) Sprent, 1968の形態像とよく類似しているので、同種と判断された。しかしながら、Mcintoshの報告に記載されていない各口唇の二重乳頭、歯牙の形態、排泄孔及び肛門前二重乳頭の存在、肛門前後の歯状突起数及び形態などにつき新たに解明したので、これらの知見を増補する。

本回虫は、1939年6月ニューヨーク動物園で中国より移入後間もない未成熟のジャイアントパンダより数隻の回虫が排出されたのを Mcintosh (1939) が検査した結果、この回虫は *Ascaris* 属の新種で、*Ascaris schroederi* n. sp と命名したのが最初である。その後、Sprent (1968) がこの標本を再調査したところ、この種は *Ascaris* 属に入るべきでなく、*Baylisascaris* 属に変更するのが妥当と判断し、

Baylisascaris (Mcintosh 1939) と発表したもので、著者は Sprent の分類に従ってこの名称を用いた。

5. 結 論

1972年10月中国より我が国に贈られたジャイアントパンダより排泄された回虫の形態学的構造を走査電子顕微鏡により観察した結果、本回虫は *Baylisascaris schroederi* (Mcintosh, 1939) Sprent, 1968と同定した。なお、Mcintosh (1939)、の報告に記載のなかった2、3の知見を新たに増補した。

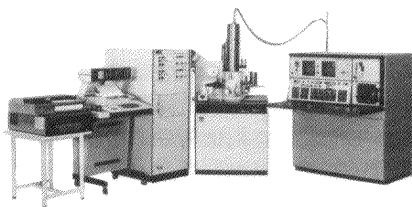
本観察に当り、虫体を分与下された日大農獣医学部教授故谷口博士ならびに原助手に厚く感謝申しあげる。

■参考文献

- 1) Mcintosh, A. (1939) : A new nematode, *Ascaris schroederi*, from a Giant Panda, Ailuropoda Melamoleuca. Zoologica, 24, 355～357.
- 2) Sprent, J.F.A. (1968) : Notes on *Ascaris* and *Toxascaris*, With a definition of *Baylisascaris* Gen. Nov. Parasitology, 58, 185～198.
- 3) 原幸, 辺見朝臣, 高木貞夫, 田辺興記, 谷口守男(1976) : ジャイアントパンダから検出された回虫 *Baylisascaris Schroederi* (Mcintosh, 1939) Sprent, 1968について. 東京獣医学雑誌, 23, 50～55.

Topics

X-560, マイクロコン による制御 日立X線自動計測システム



日立X線自動計測システム

X線マイクロアナライザは、微量部の元素分析手段として、近年ますます重要性を高めています。その応用分野は金属、鉱物などの材料関係からエレクトロニクス、半導体方面の物性研究

あるいは医学、生物分野まで幅広く利用されています。

日立X線自動計測システムは、X-560形日立微量部走査X線分析装置用として開発されたコンピュータシステムです。本システムは、分光器の駆動およびX線計測、定量計算へのデータ打ち出しを自動制御化した日立独自の高速自動計測システムで、X-560形の高精度、高感度のX線性能と相いまって分析能率を飛躍的に向上させることができます。

■特 長

(1) 簡単な操作手順

プッシュボタン操作で分光器の駆動からデータ打ち出しまでコンピュータが制御します。

(2) 定量／定性分析モード

定量分析モード：分光器の自動送りX線強度の自動計数を行い、計数データは定量計算システムにつながる形で打ち出されます。

定性分析モード：指定した範囲のみを低速で分光器駆動を行い、レコーダに定性分析のデータを表示します。

(3) 定量計算への接続

定量分析モードの打ち出しデータは日立定量計算システム(HITAC 10II/A)にそのまま入力できます。

(4) 高速分析

分光器の駆動はコンピュータによるプログラム制御ですので、分析能率は飛躍的に向上します。

(5) 使いやすい操作パネル

機能的に配置されたプッシュボタン、見やすい波長直読表示、テレタイプとコントロールパネルの一体化により操作は容易かつ確実です。

(6) 幅広い測定能力

① 1チャンネル当り最大15点(定量分析)、15範囲(定性分析)の波長値の入力が可能です。

② テレタイプからのワンタッチ指令で前回と同じ測定条件で再測定できます。チャンネル毎でもモード毎でも再測定が可能です。

③ 測定条件をテープにパンチしておけば、そのテープはテーブルとして再使用することができます。

④ 試料名、日付、測定条件など希望のコメントを入力できます。

解 説

日立SEM用クライオシステムの機能とその応用

斎藤 稔* 大蔵 昭光** 清水 実* 神田 公生* 永谷 隆*

1. はじめに

近年、走査電子顕微鏡（以下、「SEM」という）は、医学、工業、金属、電子工学などの広い分野で使用され、その応用分野は拡大の一途をたどっている。それに伴い、SEMに関連した応用技術も大きな発展を遂げ、数々の成果が得られている。その中で、最近、医学、生物分野で話題となっているひとつに、生物試料を水分を含んだままの状態急速凍結して、直接SEMで観察しようとする方法（凍結直接観察法）が注目されている。この方法は、複雑な試料処理過程から生じるアーティファクトや成分の流出などを避け、生に近い試料状態を維持しながらSEMで観察する方法である。

今回開発された日立SEM用クライオシステムは、SEM検鏡下で凍結直接観察を達成するための装置であり、試料を真空中に維持したまま観察すると同時に、試料の切断、蒸着などの試料処理機能も兼ね備えている。

2. 装置の構成

図1は、日立S-450形走査電子顕微鏡に取付けた本装置の外観写真である。本装置はクライオシステム本体と温度コントロールユニットから構成されている。クライオシステム本体はSEMの標準ステージのポートに装着され、冷却デューと直結している。温度コントロールユニットは、試料温度を -140°C 付近から室温まで変化させるためのものである。

図2は、クライオシステム本体の概略を示す構成図である。クライオシステム本体は、試料の切断や蒸着などを行うための試料処理室、試料を冷却するための冷却デュー部、試料の交換や蒸着源などを装着できる予備室、試料台の温度をコントロールするヒータ部、試料を切断するための冷却ナイフなどから構成される。

3. 装置の特長

(1) 冷却構造

試料ステージと冷却槽を直結した冷却効率のよい一体構造方式を採用した。これにより、試料処理から観察までの操作が確実かつ簡便な構造となっている。

(2) 霜付き防止の専用キャリアと予備室

本装置は、霜付き防止の専用キャリアと独立排気できる予備室とを備えており、試料凍結から観察までの霜付きを最少にする構造とした。

(3) 冷却ナイフと蒸着ユニット

凍結した試料の内部組織を観察したい場合は、冷却ナイフで試料を切断することができる。冷却ナイフは液体窒素の小型タンクに直結され、冷却した刃先で凍結試料を切断

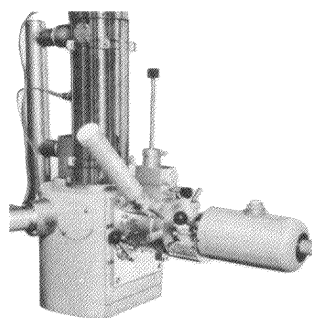


図1 日立SEM用クライオシステム

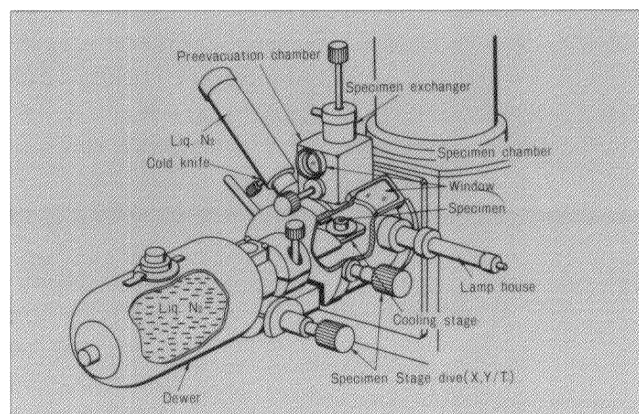


図2 クライオシステムの概略構成

することができる。

蒸着ユニットは着脱可能なタイプとして作られている。これを用いれば、冷却試料に対し直接金属の蒸着も可能であり、チャージアップ現象やコントラストの悪い試料の観察に対して効果的である。

(4) 温度コントロールユニット

試料温度は温度コントロールユニットで制御できる。冷却された試料表面の霜の除去や凍結状態から熱エッチングにより試料表面を露出させたりすることができる。試料の温度は試料台に密着した熱電対により常時測定される。

4. 観察方法

図3(a)は、冷却デューに直結されたクライオシステムの内部構成を示す。また、図3(b)は、試料準備から観察までの手順を示したものである。

(1) サンプルング

観察したい生の試料を試料台にセットする。

(2) 冷却

試料台を専用キャリアに収納し、液体窒素で試料を急速凍結する。凍結した試料を専用キャリアで試料処理室に挿入する。

(3) 切断

* 日立製作所 那珂工場 電装設備

** 日立製作所 計測器事業部

試料の内部組織を観察したい場合は、冷却ナイフで試料を切断する。

(4) 温度制御

温度コントロールユニットにより試料を加熱し、測定温度を確めつつ最適な観察温度にセットする。

(5) 金属蒸着

必要に応じて試料表面に金などを蒸着する。

(6) 観 察

冷却デュアをSEM試料室に挿入して観察を行う。

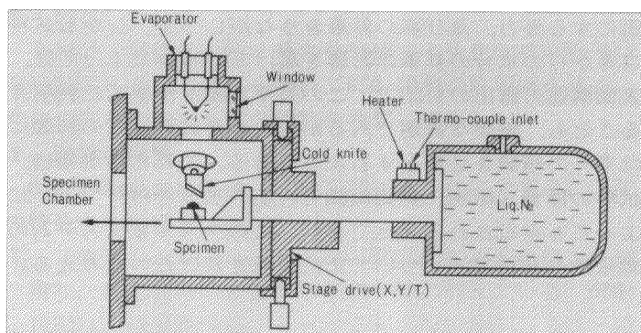


図3(a) 冷却デュアに直結されたクライオシステム

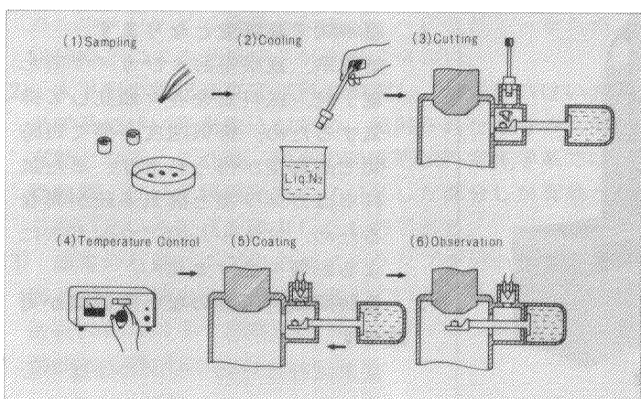


図3(b) クライオシステムの観察手順

5. 応 用 例

(1) メッシュ上の水滴の観察

図4は水の昇華の過程を示す例で、銅メッシュ上に水滴を載せ、液体窒素で急速凍結し、水滴の変化を温度に対応して観察したものである。また、図5は、図4を撮影したときの温度曲線で、(1)～(8)の▲印は撮影した個所である。図5を見ると、(1)(2)に示す -150°C ～ -80°C 付近では氷滴に変化は見られないが、(3)(4)(5)(6)と温度が上昇するにつれて、氷が激しく昇華して行く様子が観察される。また、図4の(7)は氷が昇華して下にメッシュが現われた瞬間である。

(2) 凍結切断したパンジーの茎

図6はパンジーの茎を冷却ナイフで切断した例である。このシリーズは、切断直後(1)～ 140°C から徐々に温度を上昇させ、茎切断面の形状変化を観察したものである。図4のメッシュ上の水滴と同様に 140°C ～ 90°C では、大きな変化は見られないが、 -55°C ～ -45°C では、茎内部の水が昇華し、(7)では内部構造が現われる。また、図7は、図6を撮影したときの温度曲線であり、(1)～(8)の▲印は図6の撮影個所に対応する。

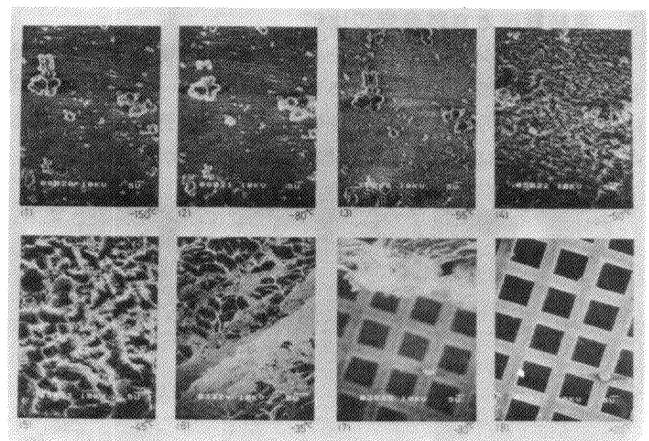


図4 メッシュ上の水滴の観察

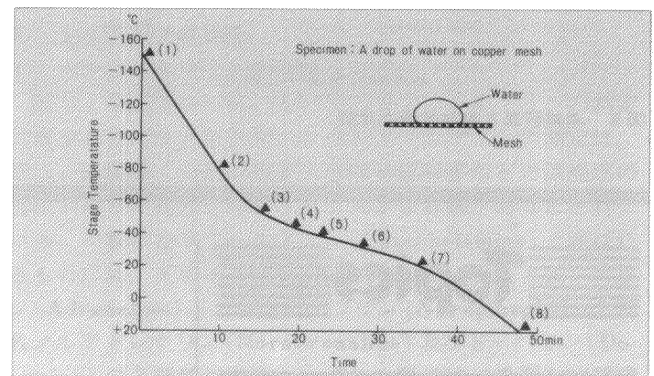


図5 図4の温度曲線

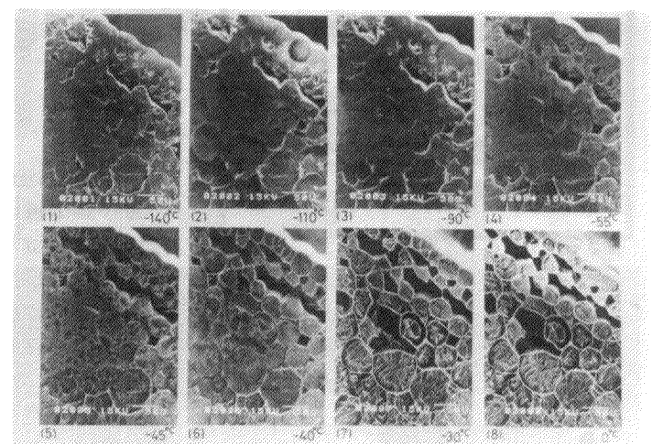


図6 凍結切断したパンジーの茎

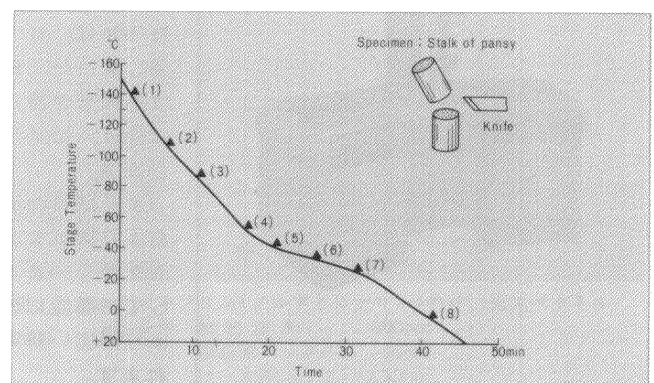


図7 図6の温度曲線

(3) 凍結観察と自然乾燥の比較

図8は、パンジーの花弁を凍結観察した場合と自然乾燥した場合の比較を示す例である。冷却温度 -145°C の写真は凍結直後の写真で、花弁は収縮のない状態で観察されるが、試料表面に僅かに霜が付着しているのが認められる。

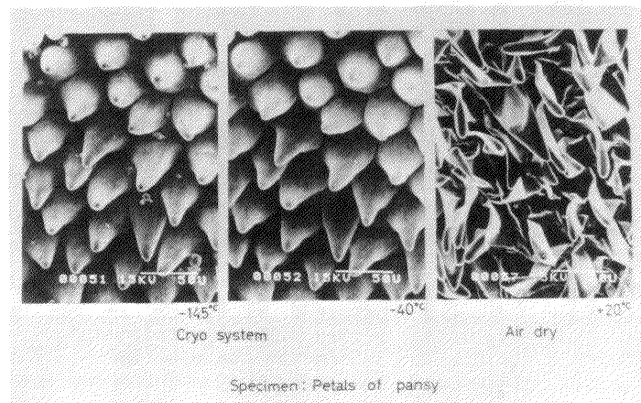


図8 凍結観察と自然乾燥の比較

冷却温度 -40°C の写真は、冷却温度を上げ、霜を昇華させて観察したものであり、表面構造が明瞭に観察できる。

右の写真は、同じ花弁を自然乾燥のみで観察したもので試料表面は大きな収縮が生じている。

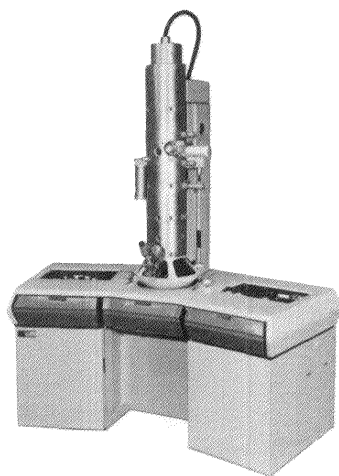
6 まとめ

本稿では、このほど開発された日立SEM用クライオシステムを概略紹介した。通常、この種のSEMの試料室の真空度 ($\sim 1 \times 10^{-6}$ Torr) では、厳密に冷却試料表面への霜の付着は避けられない。したがって、高倍率観察が要求される場合(ほぼ5,000倍以上)、この霜の付着を最少限にする努力、及び霜の昇華をうながしつつ、しかも試料自身からの水分の昇華の影響を避ける(場合によっては、表面構造の露出の目的で、この昇華現象を積極的に利用することも、重要な課題であるが)ための試料温度の制御には多くの経験が必要とするようである。これらの現象は、試料の種類(植物、動物組織その他の高分子材料など)によっても左右されるようであり、このクライオシステムの効果的な利用方法について更に開発を続けたいと考える。

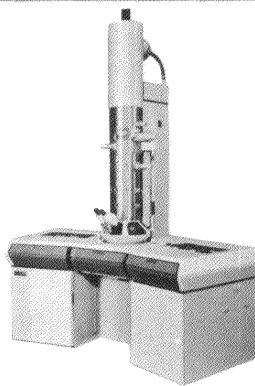
Topics

優れた性能に加え、超高真空化により試料汚染を少なくした

**H-500H, H-700H形
日立超高真空高性能
電子顕微鏡**



H-500H形
日立超高真空高性能電子顕微鏡



H-700H形
日立超高真空高性能電子顕微鏡

電子顕微鏡において真空度が低いと、鏡体内の残留ガス、アウトガスが試料表面に付着し、視野全体がボケ、正確な情報が得られなくなります。この現象は電子線を収束すると、より一層顕著になります。たとえば分子や原子領域の超微細構造の観察や、その部分を元素分析する場合は高真空化が不可欠となります。これを実現するために今回H-500H, H-700H形電子顕微鏡を開発しました。H-500H形, H-700H形は高真空を得るために排気系を2系統に分け、排気容量を約2倍に増やしています。

また試料の位置する周辺部には上下右より排気する方法を採用し、超高真空を得ています。従来の高性能電顕としての機能に加え、鏡体の高真空化により幅広い研究分野での活躍が期待されます。

■特長

1. 短時間で高真空となります。

結像系、観察室およびカメラ室と電子銃、試料室を各々独立して排気するため、排気速度が早く短時間で高真空が得られます。また試料室はカメラ室と排気系統が異なるため、フィルムのアウトガスによる影響を受けません。

2. 長時間試料汚染のない像観察が可能です。

従来試料は対物レンズのほぼ中心部にあるため排気抵抗が大きく、高真空にするためには多くの時間を要しました。

今回は対物レンズ部に排気孔を設け積極排気することにより、残留ガス、アウトガスの影響をなくし、試料汚染のない状態で長時間にわたる像観察が可能です。

3. 全自動化された排気系

ボタンを押すだけで系統的に自動操作する排気系はほとんど人手を必要としません。排気系は2系統が各々独立しており、シーケンスが簡単となり、高い信頼性を得ています。

4. 高性能、機能の多様性

H-500形, H-700形の特長をそのまま生かし、分解能はH-500H, H-700Hとも $1.4 \text{ \AA}$ を保証します。X線分析装置など各種装置も用意されています。

高感度分光けい光光度計の応用分野 (650-10形 日立分光けい光光度計について)

野上 太郎* 嶺岸 久子** 岩 渕 等**

1. はじめに

分光けい光光度計の利点は、高感度と選択性の高さであるが、650-10形 日立分光けい光光度計(以下、「650-10形」という)においては、これらの利点を最大限に生かすことを主眼としている。

今回は、高感度が特に効力を発揮する生化学の分野及び環境計測の分野に重点を置いて650-10形の応用例を述べ、今後の応用分野拡大の可能性を考察してみたい。

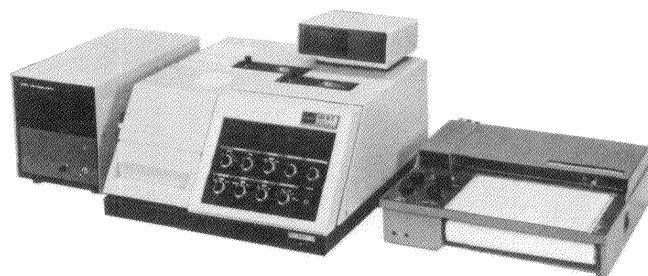
2. 装置の概要

650-10形においては、感度を高めるために光学系に下記の特長をもたせている。

- (1) メカニカルルーリング大口径無収差凹面回折格子を採用し、分光器内の光量ロスを最少限に抑えている。650-10形は、分光器内にミラーが存在しないから、ミラーによる反射ロスのおそれがない。また、回折格子がメカニカルルーリングで最適波長にブレースされているため、回折格子による光量ロスが非常に少ない。
- (2) 水平形の励起光束で試料を照射し、水平形のけい光側光学系にけい光を取込むため、照射された部分の大半が有効となる。これは、従来の鉛直形試料室光学系では、励起側・けい光側両光束のクロスした部分しか有効にならないという欠点を除去したものである。
- (3) 通常の石英バルブのキセノンランプを用いたまま有害オゾン除去機構を備えている。そのため、励起波長300nm以下で感度が低下するオゾンレスランプを使用する必要がない。

650-10形の第2の特長として、測定対象の試料の特性に応じた測定条件の設定を可能にするため種々の配慮がなされていることがあげられる。すなわち、バンドパスは、1.5~20nmまでの任意の値が選択可能である。また、スキャンタイプは、6段階の中から走査速度が選択可能で、バンドパス、レスポンスとの組合せを考慮するとあらゆる種類の試料について忠実にスペクトルを記録することができる。生化学などにおける温度変化を受け易い試料のために、セルホルダに循環水を流して恒温測定ができる構造になっている。さらには、生化学・医学の試料で試料量が少ない場合を考慮して、10mm角セルを使用しても、試料量が0.5ml以上あれば測定可能な構造になっている。そのため、洗浄の際に不便な従来のマイクロセルを使用する必要がない。

第3の特長としては、液体クロマトグラフ用フローセルを使用した場合の高感度、低散乱光レベルがあげられる。これは、試料位置で光束が小さいことと、流路の端面より光束を取出すことによる。



650-10形 日立分光けい光光度計

3. 生化学への応用例

(1) カテコールアミンの測定

医学・生化学の分野において、カテコールアミンの測定に対する要求は非常に高い。カテコールアミンの測定は、特に、循環器・内分泌疾患・自律神経障害などの諸疾患の病因や患者の状態を知るうえで大きな意義があるとされている。一般にカテコールアミン(Catecholamine)と呼ばれるものには、エピネフリン(Epinephrine)別名アドレナリン(Adrenaline)、ノルエピネフリン(Norepinephrine)別名ノルアドレナリン(Noradrenaline)及びドーパミン(Dopamine)の3種類がある。いずれも医学的に重要な物質であるが、これらの測定は、装置の感度が十分に高いことが要求され、正に650-10形の長所を最大限に生かす恰好の分野といえる。以下に示すデータにおいて、前処理は、いずれも一般に広く用いられているTHI法である。図1は通常の10mmセルを用いたノルアドレナリンの測定例、図2は同じ試料を検出限界付近まで希釈し、拡大してスペクトルを記録したものであるが、両図とも0.1ng/ml以下の濃度まで測定可能なことがわかる。

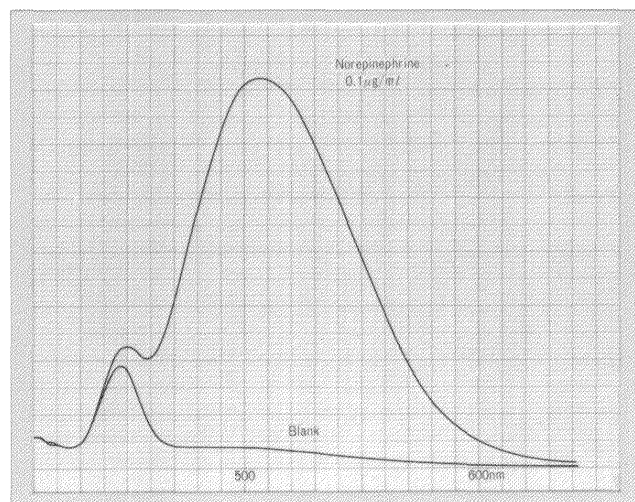


図1 ノルエピネフリン(ノルアドレナリン)のけい光スペクトル

測定条件 励起波長 390nm
励起側バンドパス 10nm
けい光側バンドパス 10nm
濃度 0.1 μ g/ml

* 日立製作所 那珂工場 光装設部

** 日立製作所 那珂工場 応用技術部

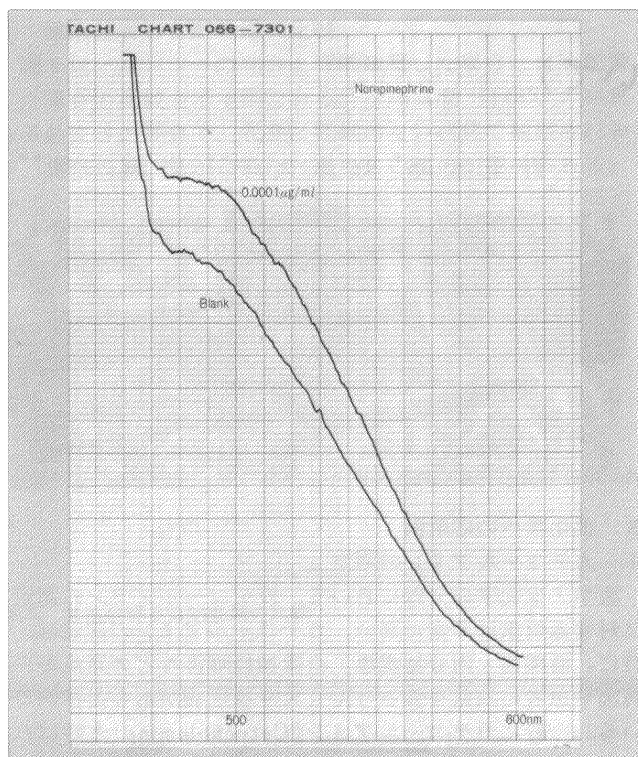
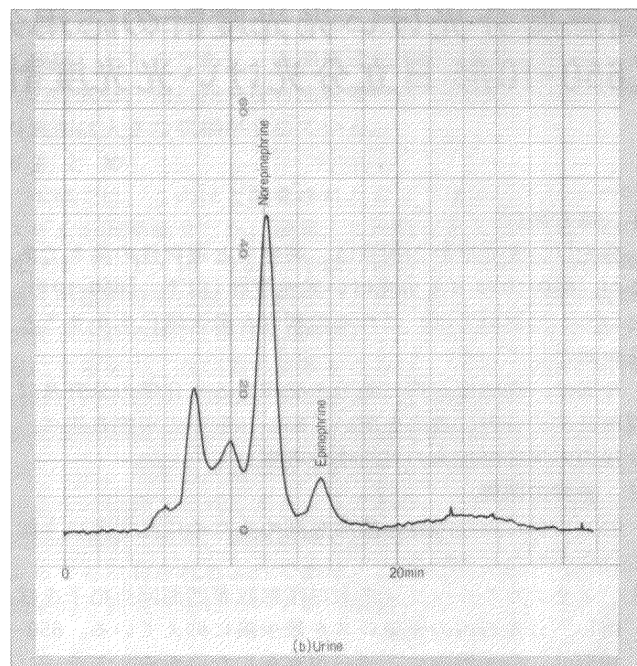


図2 低濃度のノルエピネフリン(ノルアドレナリン)のけい光スペクトル

測定条件 励起波長 390nm
励起側バンドパス 10nm
けい光側バンドパス10nm
濃度 0.1ng/ml



(b) 昼間尿の分析

測定条件 励起波長 420nm
けい光波長 520nm
励起側バンドパス 20nm
けい光側バンドパス20nm
Sens. Range 1
Sens. Fine Max.
PM Gain Norm
90 μ l ミクロフローセル使用

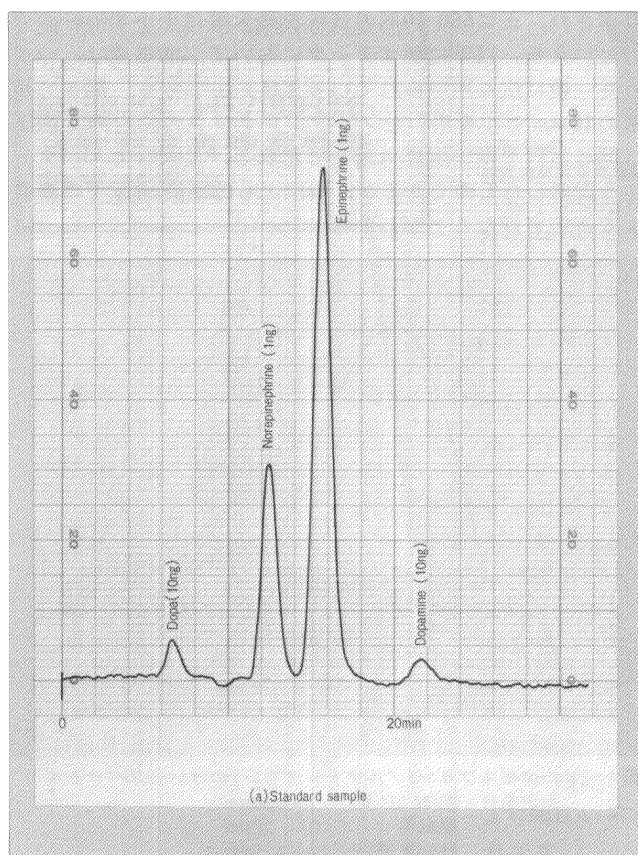


図3 尿中のカテコールアミンの分析例 (a) 標準混合試料

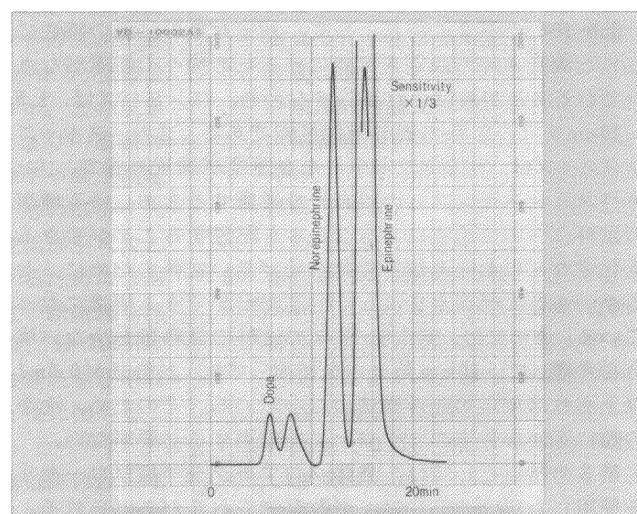


図4 マウスの副腎中のカテコールアミンの分析

測定条件 励起波長 420nm
けい光波長 520nm
励起側バンドパス 20nm
けい光側バンドパス20nm
Sense. Range 0.3
Sense. Fine Max.
90 μ l ミクロフローセル使用

(2) ヒスタミンの測定

ヒスタミンの測定例を図5に示す。オルトフタルジアルデヒドとアルカリ性で縮合して発けい光する特性を利用している。図5においては、励起光により劣化することを防ぐために励起側のスリットを極度に狭くして測定している。

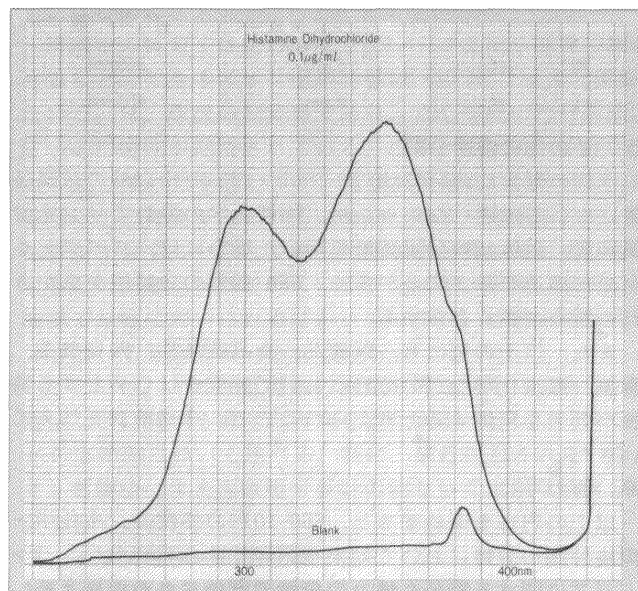


図5 ヒスタミン塩酸塩の励起スペクトル
測定条件 けい光波長 440nm
励起側バンドパス 2nm
けい光側バンドパス 10nm
濃度 0.1 μg/ml

(3) ポルフィリンの測定

コプロポルフィリンのけい光スペクトルを図6に示す。650-10形が、長波長領域においても高感度であるところから容易となったポルフィリン測定の一例である。

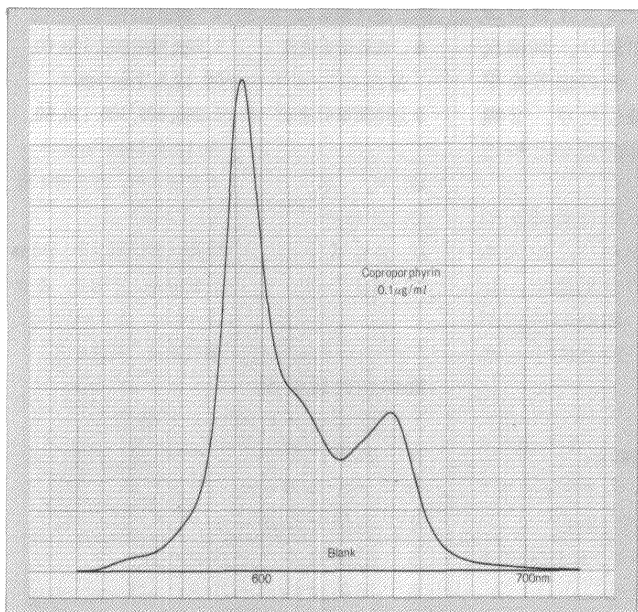


図6 コプロポルフィリンのけい光スペクトル
測定条件 励起波長 400nm
励起側バンドパス 7nm
けい光側バンドパス 7nm
濃度 0.1 μg/ml

4. 環境計測への応用例

(1) ベンゾ(a)ピレンの測定

近年発ガン性物質として問題となっているベンゾ(a)ピレンのけい光スペクトルを図7に示す。バンドパスを1.5 nmまで絞ることができるため、スペクトルの微細構造が忠実に記録されている。

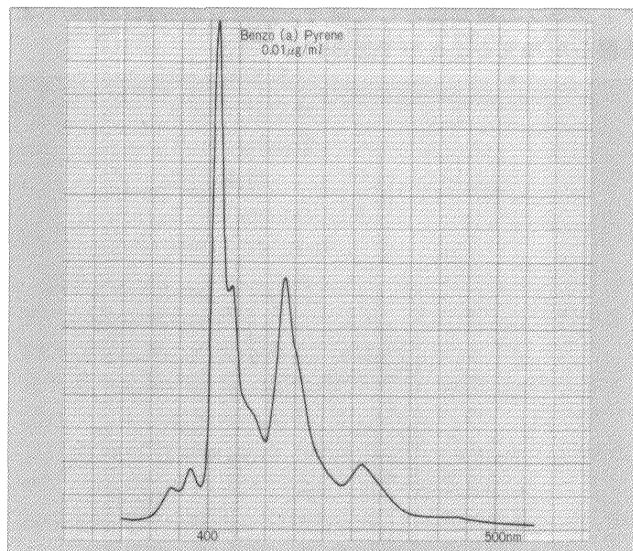


図7 ベンゾ(a)ピレンのけい光スペクトル
測定条件 励起波長 300nm
励起側バンドパス 10nm
けい光側バンドパス 1.5nm
濃度 0.01 μg/ml

(2) 中性洗剤の測定

飲料水に混在して問題となることの多い中性洗剤の励起・けい光スペクトルを図8に示す。励起波長が250nm以下であるが、十分な感度を示しており、飲水量などに混在する微量の中性洗剤の検出も可能であることがわかる。

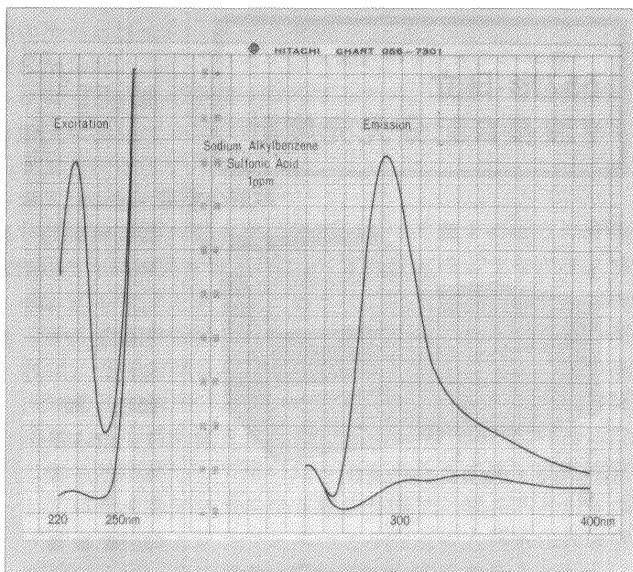


図8 中性洗剤の励起・けい光スペクトル
測定条件 励起スペクトル記録時のけい光波長 293nm
けい光スペクトル記録時の励起波長 226nm
励起側バンドパス 12nm
けい光側バンドパス 12nm
濃度 1 ppm

(3) 環境計測における液体クロマトグラフとの結合

図9に任意波長、任意バンドパスが選択可能であることのメリットを示すモデル実験の結果を示す。(A)に記録されているような芳香族炭化水素の混合物においても、波長・バンドパスを的確に選択すると、(B)のようにベンゾ(a)ピレンだけを記録することが可能である。今後、液体クロマトグラフの検知器として発ガン性物質の分析に用いられる機会が増えることが予想される。

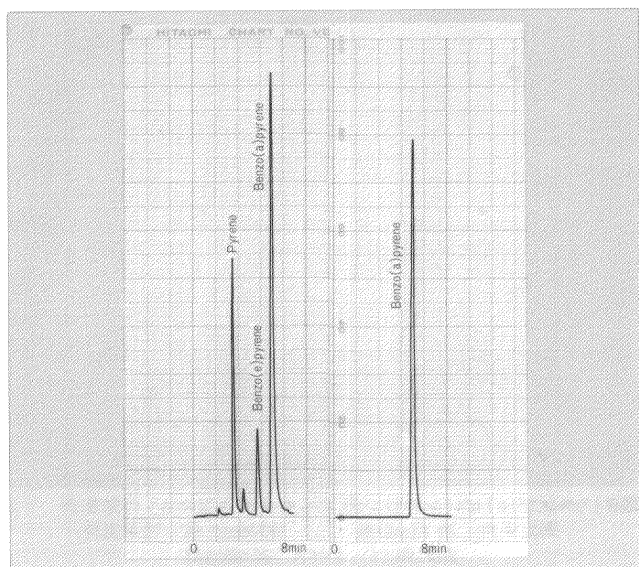


図9 環境計測における液体クロマトグラフとの結合

(A)の測定条件

	バンドパス	波 長
励 起	20nm	330nm
け い 光	20nm	420nm

(B)の測定条件

	バンドパス	波 長
励 起	8 nm	365nm
け い 光	8 nm	405nm

5. その他の応用分野

今回の報告においては、マイクロフローセル以外の付属装置については述べなかったが、物理化学の分野でリン光付属装置、固体試料付属装置を用いた場合には、スペクトルが微細構造を示す場合が多く、650-10形の分解能が生かされる機会が多く存在する。

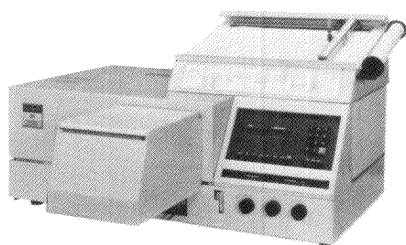
また、以上の他にも、医薬品、食品添加物、残留農薬、麻薬、鑑識化学などの分野において感度をはじめとする特長が効果を発揮すると考えられるので、今後検討を加えていきたい。

6. おわりに

以上の内容を要約すると、650-10形の感度は、生化学・環境計測の分野において効果を発揮するものであり、バンドパスに関する特長も種々の分野で有効であるといえる。今後は、各応用分野の要求に応じた付属装置の開発に力を入れていきたい。

Topics

557形 日立 2波長自記分光光度計



557形 日立 2波長自記分光光度計

2波長自記分光光度計に世界で初めてマイクロコンピュータを導入し、ダブルビーム測光、差スペクトル測光、2波長測光、高次微分測光などの広範囲な測光モードがさらに充実しました。

このため、混濁試料から多種混合試料に至るあらゆる試料の定量、定性測定が簡単にできます。また、マイクロコンピュータの記憶機能により、高速反応の測定結果を記憶し、その信号を平滑化し、レコーダに記録したり、2種の反応を記憶し、両反応の差をとることもできます。

さらに、ベースラインの自動補正や波長自動送りの機能が加わり、拡大スケールでの測定、波長の自動設定、レピートスキャンの回数、周期の設定が可能となり、操作性が一段と向上しました。

■仕 様

1. 波長範囲	190~900nm
2. 光 源	D ₂ ランプ(紫外域), W1ランプ(可視域)
3. 検 知 器	ヘッドオン形ホトマルチプライヤ
4. バンド幅	0~10nm連続可変
5. 100%ライン平坦性	±0.2%T以下
6. 測光スケール	0~3 ABS, 0~200%T (上記範囲を0.001ABS,

7. 波長軸拡大	または0.1%T間隔で、上限、下限任意設定可能)
8. 波長走査速度	1~20倍
9. 時間掃引速度	1.200, 600, 300, 120, 60, 30, 12, 6, 3 nm/min
10. 表 示	1.200, 600, 300, 120, 60, 30, 12, 6, 3 mm/min
11. 記 録 計	測光値4桁、波長値4桁
12. 外形寸法	X-Yレコーダ
13. 測定モード	幅910×奥行560×高さ530mm
	自記分光, 2波長, 微分(1~4次), 差スペクトル, 濃度直読, 高速反応

■特別付属装置

1. ラピッドミキシング装置
2. 薄層クロマトグラフ
3. ゲルスキャナ
4. 恒温セルホルダ
5. 低温セルホルダ
6. 反射試料ホルダ
7. 長光路セルホルダ
8. フローセル
9. サンプルシッパ
10. 励起光照射装置

イオン選択性電極

宮城 宏行* 進藤 勲夫** 菅原 研之**

1. はじめに

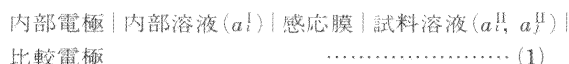
溶液中の特定イオンの濃度をpHメータと同じ原理で測定することのできるイオン選択性電極（以下、「イオン電極」という）は、取扱いが容易であり、これを用いた分析法は広い応用範囲が期待されている。近年、選択性や安定性などの点で優れた多数のイオン電極が開発され、今日では20種類以上の電極が知られている。¹⁾ イオン電極法には、選択性が十分でないことや測定対象が水溶液に限定されることなどの問題点が残されているが、イオン電極はすでに実験室で単独で用いられるばかりではなく、自動分析計のセンサとしても広く用いられている。²⁾

ここでは、イオン電極法の測定原理を簡単に説明し、膜電位などに関する最近の研究を紹介するとともに、いくつかの応用例について述べる。特に、最近注目されているイオン電極法による医療用分析計の例として血中電解質分析計を紹介する。

2. イオン電極の測定原理

2.1 膜電位とその測定方法

イオン濃度の異なる2種類の溶液をイオン透過性の膜で隔てると、膜の両側に電位が生じる。この電位は膜電位と呼ばれ、溶液と膜（感応膜）との間の界面電位差と膜内におけるイオンの拡散電位の和である。膜電位から未知試料中の特定イオンの濃度を知るために構成された電極がイオン電極であり、その膜電位は図1に示すような方法で測定される。イオン電極と比較電極から構成される電池は次のように表すことができる。



ここに a_i : 目的イオンの活量
 a_j : 妨害イオンの活量

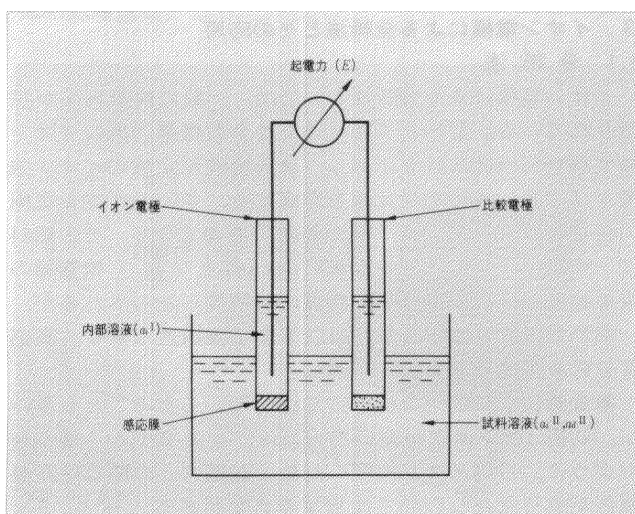


図1 イオン電極の測定原理

* 日立製作所 日立研究所 第7部分析研究室

** 日立製作所 那珂工場 光学装置設計部

(1)式で示される電池の起電力 E は、Nernstの式を拡張したNicoliskyの式で示される。

$$E = E_0 + \frac{2.303RT}{Z_i F} \log \left\{ \frac{a_i^II}{a_i^I} \right\} + \sum K_{ij}^{Pot} (a_j^II)^{Z_i/Z_j} \dots\dots (2)$$

ここに E_0 : 基準電位

R : 気体定数

T : 絶対温度

Z : 電荷

F : Faraday 定数

K_{ij}^{Pot} : 選択係数

基準電位 E_0 はイオン電極の内部電極と内部溶液及び感応膜と内部溶液との間の界面電位差、比較電極と試料溶液間の液絡電位差、比較電極の内部起電力などの和である。(2)式右辺第2項の係数 $(2.303RT/Z_i F)$ はNernst係数と呼ばれ、イオン電極の検出感度を示すもので、一価の陽イオンに対する理論値は59.16mV (25°C)である。実測値は多くの場合これより低くなる。選択係数 K_{ij}^{Pot} は i イオンを測定する際の j イオンの妨害の度合いを示すもので、値が小さいほど選択性が高いことを意味する。

ところで、(2)式から明らかなように、起電力 E は目的イオンの濃度ではなく、活量の対数と直線関係をもつ。活量 a_i は濃度 C_i と活量係数 γ_i との積($a_i = \gamma_i \cdot C_i$)として表されるが、活量係数は低濃度($<10^{-4}M$)では $\gamma_i = 1$ として取扱うことができる。しかし、高濃度では γ_i は無視することができず、一般には次に示すDebye-Hückelの式から活量係数を求めて補正する必要がある。

$$\log \gamma_i = \frac{A \cdot |Z_i| \cdot |Z_j| \cdot \sqrt{I}}{1 + B \cdot a_{ij} \cdot \sqrt{I}} \quad \dots\dots\dots (3)$$

ここに A, B : 誘電率と温度によって決まる定数

I : イオン強度

a_i : ここでは水和した i イオンの半径

活量係数の影響を少なくするため、実際には緩衝溶液を添加してイオン強度の変化をできるだけ少なくして測定する方法がとられる。

2.2 イオン電極の種類

イオン電極は感応膜の種類によって表1のように分類される。²⁾ 固体膜形電極にはpH電極などのようなガラス膜電極、フッ化ランタンなどの単結晶膜電極、ハロゲン化物などから成る無機塩膜電極などがある。これらの電極の選択性は、多くの場合、目的イオンと妨害イオンとの塩の溶解度積の比で説明できる。液膜形電極³⁾はイオン感応物質を溶解した有機溶媒を多孔膜(ミリポア膜など)に保持して、これを感応膜として用いたものである。イオン感応物質としては第4級アンモニウム塩や有機リン酸エステルなどのイオン交換体とクラウンエーテルなどの大環状化合物などが用いられ、特に後者は電気的に中性であることから、ニュートラルキャリアと呼ばれている。⁴⁾ ニュートラルキャリア形電極にはバリノマイシンを用いたカリウムイオン電極のように優れた選択性を示す電極⁵⁾が知られている。液膜形イオン電極は取扱いがやや不便であるため、感応物質

をポリ塩化ビニル (PVC) などの高分子膜に保持した電極も多数開発されている。⁶⁾ この種のイオン電極は、感応物質が膜内で移動できる状態で保持されているので、広い意味では液膜形イオン電極に含まれる。

特殊な電極として、ガス透過性の高分子膜とイオン電極を組合せたアンモニアなどのガス電極が市販されている。また、イオン電極の感応膜を酵素膜で被い、尿素などの基質を測定する酵素電極が知られている。

表1 イオン電極の種類

1. 固体膜形電極	
ガラス電極	H ⁺ , Na ⁺ , K ⁺ , Ag ⁺
単結晶電極	F ⁻
無機塩電極	Ag ⁺ , Cu ²⁺ , Cd ²⁺ , Pb ²⁺
	Cl ⁻ , I ⁻ , CN ⁻ , S ²⁻
2. 液膜形電極	
イオン交換液膜形電極	
	Ca ²⁺ , Cu ²⁺ , Mg ²⁺
	Cl ⁻ , NO ₃ ⁻ , ClO ₄ ⁻
ニュートラルキャリア液膜形電極	
	Li ⁺ , K ⁺ , Na ⁺ , NH ₄ ⁺
	Ca ²⁺ , Sr ²⁺ , Ba ²⁺
3. 特殊電極	
ガス電極	NH ₃ , CO ₂
酵素電極	Glucose, Urea

2.3 液膜形イオン電極の応答機構

液膜形イオン電極の膜電位と選択性を支配するパラメータについては Eisenman⁷⁾ の優れた理論的研究によって明らかにされた。これについては既にいくつかの詳しい解説があるので、ここでは最近 Morf⁸⁾ によって報告された新しい理論をご紹介します。

Morf は膜内のイオンの移動度が同種のイオンについてはほぼ等しいとみなし、膜電位を感応膜外側のパラメータのみで表わした。

$$E_M = (1 - \tau) \frac{RT}{Z_m F} \ln \frac{\sum k_m \cdot a'_m}{\sum k_m \cdot a_m} + \tau \frac{RT}{Z_x F} \ln \frac{\sum k_x \cdot a'_x}{\sum k_x \cdot a_x} \dots (4)$$

ここに τ : 陰イオンの輪率

k_m, k_x : 陽イオン及び陰イオンの分配比

a_m, a_x : 陽イオン及び陰イオンの活量

感応物質の種類により、(4)式のパラメータの寄与の度合いが異なり、膜電位はそれぞれ次のように表される。

(1) 解離している親脂質性イオン交換体

$$E_M = \frac{RT}{Z_m F} \ln \frac{\sum k_m \cdot a'_m}{\sum k_m \cdot a_m} \dots (5)$$

この場合には、膜電位は試料溶液側及び内部溶液側から感応膜へのすべての陽（または陰）イオンの分配比と活量との積の比に依存することとなり、選択性はイオン間の分配比に依存する。したがって、感応膜に用いた溶媒の種類によって選択性が異なることとなる。

(2) 荷電親脂質性リガンド

誘電率の低い感応膜中ではイオン交換体のようなリガンドとイオンが会合していることが考えられるが、このような場合には、膜電位は解離したイオンと会合体（錯体）との双方の分配比に依存する。

$$E_M = (1 - \tau) \frac{RT}{Z_m F} \ln \frac{\sum k_m \cdot a'_m}{\sum k_m \cdot a_m} + \tau \frac{RT}{Z_m F} \ln \frac{\sum K_{ms}^* \cdot k_{ms} \cdot a'_m}{\sum K_{ms}^* \cdot k_{ms} \cdot a_m} \dots (6)$$

ここに K_{ms}^* : 錯体 ms の安定度定数

したがって、選択性はイオン間の分配比、錯体の安定度定数及びその分配比に依存し、これらのパラメータは感応

物質とその溶媒の種類によって決定される。

(3) ニュートラルキャリア形リガンド

ニュートラルキャリアの例としてバリノマイシンの構造を図2に示した。このような環状化合物はその構造の中にイオンを包括できる細孔 (ionophore) を有し、その大きさに合ったイオン半径を有するイオンと安定な錯体を形成する。

ニュートラルキャリアを用いた場合の膜電位は次のように表される。

$$E_M = \frac{RT}{Z_m F} \ln \frac{\sum K_{ms}^* \cdot k_{ms} \cdot a'_m}{\sum K_{ms}^* \cdot k_{ms} \cdot a_m} \dots (7)$$

選択係数はニュートラルキャリアと目的とするイオン及び妨害イオンとの錯体間の安定度定数ならびにその分配比の差異に依存することとなり、主としてニュートラルキャリアの種類によって定まる。

以上紹介した液膜形イオン電極の膜電位の理論では、感応膜内におけるイオン移動度が考慮されていない。Graggs⁹⁾ らはPVC支持膜形カルシウム電極において、放射性同位元素 (⁴⁵Ca) を用い、目的イオンが感応膜を透過することを証明した。同様に、PVC支持ニュートラルキャリア形陽イオン電極でも陽イオンが透過し、その輪率がほぼ1に近いことが確かめられた。¹⁰⁾ 逆に、陽イオン感応膜内における陰イオンの移動度は著しく小さいことがわかった。このように、膜電位の理論及び応答機構に関する実証的研究は急速に進みつつあり、機構解明に役立っている。

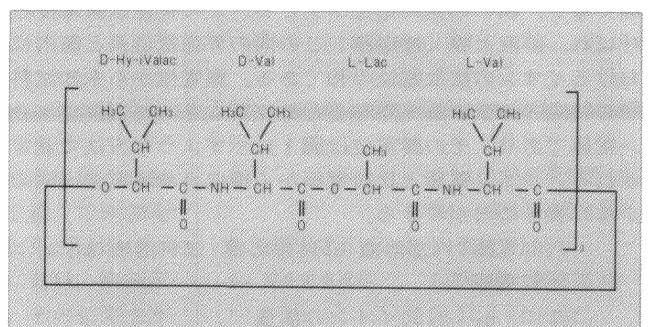


図2 バリノマイシンの構造

3. イオン電極による分析法とその応用

3.1 分析法

イオン電極による分析法としては、一般に検量線法が採用されている。目的とするイオンを含む標準溶液にイオン強度調整用緩衝溶液を添加し、試料溶液測定時のイオン強度とほぼ等しくして検量線を作成する。多くのイオン電極の検量線は $10^{-1} \text{ M} \sim 10^{-4} \text{ M}$ の範囲で直線となり、その傾斜は一価陽イオンでは $50 \sim 60 \text{ mV/decade}$ となる。検量線の直線範囲と検出限界は感応物質の溶解度に左右されるが、一部の固体膜電極では 10^{-7} M 以下まで直線性があり、高感度分析も可能である。

検量線法より簡便な標準添加法が用いられることも多いが、妨害イオン濃度が高い場合には、前記(2)式から明らかなように、目的イオン濃度の対数と起電力との間には直線関係が成り立たないので注意する必要がある。

試料の入った測定容器内に電極を挿入して測定する方法では、数秒～数分で一定の起電力が得られるが、低濃度の場合には応答時間が長くなる。試料溶液の混合状態がイオ

ン電極の応答速度を左右するので、溶液をよく攪拌することが重要である。

3.2 応用例

イオン電極はpH電極と同様に水溶液中のさまざまな金属イオン及び陰イオンを簡便に測定するのに適している。また、最近是有機イオンに感応する電極もいくつか開発された。¹¹⁾ イオン電極は河川水中のフッ素の測定装置など、環境計測器のセンサとしても採用されており、その信頼性はますます高くなっている。¹²⁾ 特殊な用途としては、終点指示用センサとしてイオン電極を用いた電位差滴定法が報告されている。¹²⁾ また、ガスクロマトグラフや液体クロマトグラフの選択的検出器としてイオン電極が用いられた。^{13), 14)}

イオン電極は広い用途があるが、中でもイオン電極法による臨床検査装置は従来法に比べて操作性や分析時間などの点で優れたものであり、今後の発展が期待されている。

4. イオン電極法による血中電解質分析装置

従来、血中電解質の分析には炎光光度法(Na, K)、クーロメトリ法(Cl^-)、滴定法(Ca^{2+})などが用いられてきた。一方、優れた選択性を有する液膜形カリウムイオン電極が開発されて以来、イオン電極を生体液中の電解質の測定に応用することが試みられた。この方法によれば、簡単な装置で同時に多成分の分析が可能となる。また、炎を用いないので病室や手術室でも使用できる装置を構成することができる。

イオン電極を用いた血中電解質分析装置としては、これまでに Na^+/K^+ 計、 $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{Cl}^-$ 計、 Ca^{2+} 計などが市販されており、それらの使用経験も報告されている。¹⁵⁾ 血中電解質分析計の例として、772形日立イオンメータ（以下「772形」という）及び702形日立電解質分析装置（以下「702形」という）を図3(a)(b)に示した。この装置には図4に示した小形のPVC支持液膜形 Na^+ 、 K^+ 、 Cl^- 電極とダブルジャンクション形比較電極が用いられている。試料の希釈や測定などの操作とデータ処理は内蔵されたマイクロコンピュータにより自動化されているので、オペレータは血清をサンプルにセットするだけでよい。必要な試料量は0.1mlであり、起電力のゼロ補正に要する時間を含めて約1分/検体の処理速度となっている。

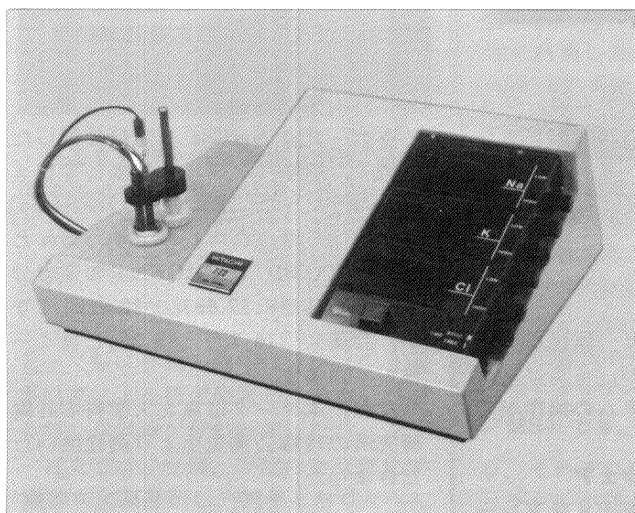


図3(a) 772形日立イオンメータ

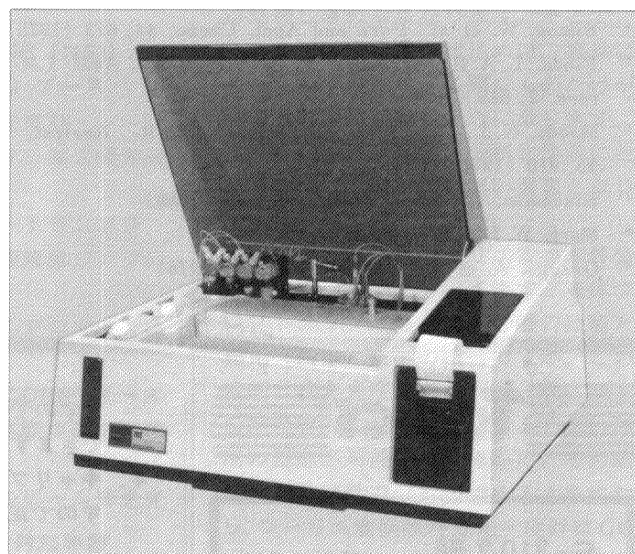


図3(b) 702形日立電解質自動分析装置

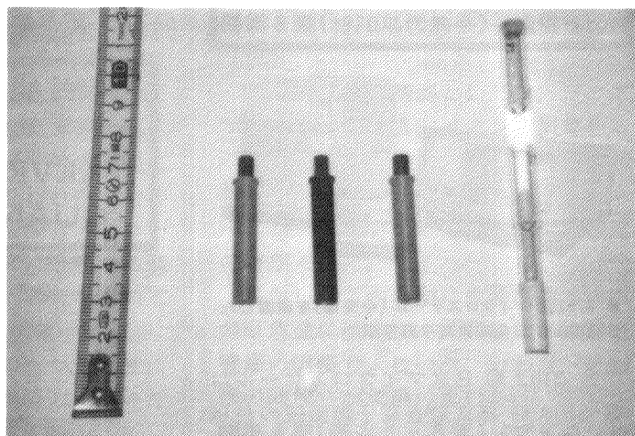


図4 772形、702形用電極

炎光光度法によるナトリウム、カリウムの測定値及びクーロメトリ法による塩素の測定値と702形による測定値との間には良好な相関性が確かめられており、イオン電極法が従来法と同様の信頼性を有することが明らかにされた。

血清電解質分析装置は緊急検査にも十分使用することができるので、今後は pO_2 、pH、 pCO_2 などの電極が付加され、有用な検査装置として発展することが期待されている。

5. おわりに

イオン電極法は取扱いが容易であり、同時多成分の分析ができ、しかも省エネルギー的な分析方法である。引続きイオン電極の選択性や安定性を改善する研究が進められているので、さらに優れた電極が開発され、それらの応用範囲も益々広がるものと考えられる。分析化学の実験室の半分以上のスペースを従来の分光光度計や原子吸光光度計に替ってイオンメータが占める日もそう遠くはないものと信じられる。

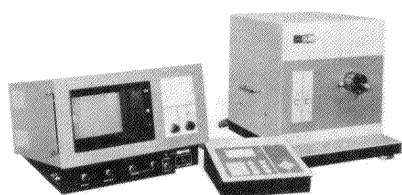
参考文献

- 1) Moody, G. J. & Thomas, J. D. R. 著、宗森信、日色和夫訳：「イオン選択性電極」、1、共立出版、(1975)
- 2) 石橋信彦：ぶんせき、1974-4、p209
- 3) Ross, J. W.: Science, 156, 1378 (1967)

- 4) Simon, W. et al : Pure and Appl. Chem., 44, 613 (1975)
- 5) Pioda, L. A. R., Stankova, V. & Simon, W. : Anal. Letters, 2, 665 (1969)
- 6) Moody, G. J., Oke, R. B. & Thomas, J. D. R. : Analyst, 95, 910 (1970)
- 7) Eisenman, G. : Anal. Chem., 40, 310 (1968)
- 8) Morf, W. E. : ibid, 49, 810 (1977)
- 9) Graggs, A. et al : Talanta, 23, 799 (1976)
- 10) Thoma, A. P. et al : Anal. Chem., 49, 1567 (1977)
- 11) 深町和美ほか : 分化, 24, 428 (1975)
- 12) 津田覚ほか : 同上, 23, 191R (1973)
- 13) 小島次雄, 一瀬之尉, 瀬尾義光 : 分化, 20, 20 (1971)
- 14) Schultz, F. A. & Mathis, D. E. : Anal. Chem., 46, 2253 (1974)
- 15) 青山尚美, 齊藤正行, 塙勇至 : Biomedical J., 2, 167 (1978)

Topics

S-3102 形 日立マイクロスケール



S-3102 形マイクロスケール (中央部) を装備した
S-310A 形 日立走査電子顕微鏡

S-3102 形 日立マイクロスケールは S-310A 形 日立走査電子顕微鏡の付属装置として開発されたもので、微小領域の 2 点間の長さを簡単に計測することができます。半導体配線パターン、半導体用マスク、粉体、微粒子、微結晶、その他、いろいろな分野の試料に対して、単に表面像を観察するだけでなく、注目する微小部の寸法を計測することが出来るため、研究部門から生産管理部門まで幅広く御利用いただけます。

■特 長

1. TV 像で観察しながら同時に 2 点間の長さの計測ができます。
明かるく見やすい TV 像が 50 倍から 45,000 倍の範囲で得られ、この TV 像上に表示される 2 つの測定点マークを用いて計測します。
2. 寸法はデジタルで瞬時に表示されます。
拡大像の倍率、試料の傾斜角を入力すると瞬時に 3 桁の有効数字でデジタル表示されます。
3. 試料の傾斜角補正機能をもってい

ますので傾斜した面の長さも直読できます。

4. キャリブレーション機能がありますので正確な測定ができます。
標準試料を用いることにより、キャリブレーション機能を用いて ± 5 % 以内の寸法計測が可能です。

高性能 EDX 定量分析 システム

KEVEX 社 7000 / QUANTEX-RAY



7000 / QUANTEX-RAY

KEVEX 定量分析システムは、マイクロコンピュータ内蔵の 7000 形アナライザーとミニコンピュータ・システムからなる最新のリアルタイム高性能定量計算システムです。

■特 長

1. 優れた操作性
カラーディスプレイと一体化された ASCII キーボードにより、ミニコンピュータを含めた全システムの操作ができます。
2. 会話方式のソフトウェア
次に操作すべき内容をディスプレイで質問してくる会話方式のため、専門

知識無しに容易に操作できます。

3. 迅速な定量分析

データ取込みから定量計算結果の打出しまで、5 ~ 20 分で実行します。

4. 高性能な各種処理機能

- データ取込みと演算の同時処理
- バックグラウンドの自動作成
- スペクトルピークの自動識別
- Si エスケープピークの表示と除去
- 重り合ったピークの自動分離
- 15 元素同時定量分析
- ルーチン分析のプログラム自動処理

5. 豊富なソフトウェア

MAGIC V, BENICE-ALBEE, HALL 等のマトリックス補正プログラムがあります。

■主な仕様

データ取込メモリ : 4 kW / 20 ビット
データ処理 : PDP-11 / 03 32 kW, デュアルフロッピーディスクシステム, タイプライタ

■測定例

オペレータの予め指定した元素について、全ピークの X 線強度リスト "UNKNOWN ANALYSIS RESULTS" および定量計算結果 "QUANTATIVE RESULTS" を打出します。

本データは SmCo5 を定量分析した一例で、標準サンプルとしましてピューアのサマリウム (Sm) とコバルト (Co) を使用して得られたものです。Sm と Co の ATOMIC PERCENT の定量分析値はそれぞれ 17.68% と 82.32% ですが、計算値の 16.7% と 83.3% と良く一致しています。

なお、本データは東北大学科学計測研究所の後藤公美先生より御提供いただきました。

SPECTRUM UNKN SAMP
NO. EV-04
AGE SEC AGE TIME

UNKNOWN ANALYSIS RESULTS

		CHLRS	MEAS	QTS SEC	PERCENT
		ENERGY	ENERGY		ERROR
1	CO (2-27) K ALPHA 1	5.900	5.900	75.82	1.2
2	CO (2-27) K ALPHA 2	5.910	5.910	37.81	0.9
3	SM (2-27) L ALPHA 1	5.830	5.830	45.46	1.5
4	SM (2-27) L ALPHA 2	5.810	5.810	4.096	18.5
5	SM (2-27) L N	5.390	5.390	0.4009	194.3

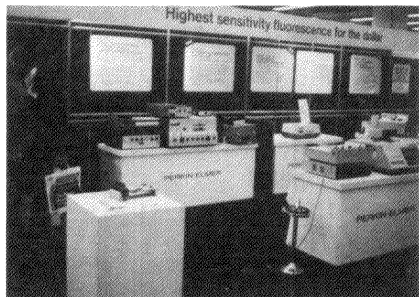
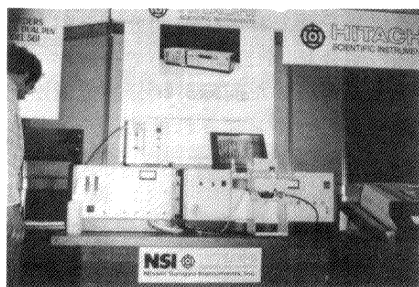
STANDARD FOR CO CO STANDARD
STANDARD FOR SM SM STANDARD

ACCELERATING VOLTAGE 10.0 KEV
INCIDENCE ANGLE 10.0 DEGREES
EFFECTIVE TAKE OFF ANGLE 10.0 DEGREES

QUANTITATIVE RESULTS
(ZAF CORRECTIONS VIA MADIC)

ELEMENT	WEIGHT PERCENT	ATOMIC PERCENT	PRECISION	K-RATIO	ITER
CO KA	85.58	62.32	1.10	0.0721	
SM LA	14.41	37.67	1.08	0.0887	2
TOTAL	100.00				

第29回ビッツバーグカンファレンスに、各種の日立理化学機器を出品



去る2月27日から3月3日まで、米国オハイオ州クリーブランドのコンベンションセンタにおいて、第29回ビッツバーグカンファレンスが開催されました。

このカンファレンスには、それぞれテーマ毎に多数の会場に分かれ、各国専門家による研究発表と、それに対する熱心な討論が行われました。

日立では、今回、下記の日立理化学機器を出品展示し、例年どおり大へん好評をいただきました。

■NISSEI SANGYO

INSTRUMENTS INC (NSI)

(日製産業の現地法人) ブース

- 100-60形日立分光光度計
- 170-70形日立ゼーマン原子吸光分光光度計
- 同上用オートサンプラ
- 635A-M形日立高速液体クロマトグラフ
- CLC-3形日立遠心クロマトグラフ

■PERKIN-ELMER CORP ブース

- R-600形日立高分解能核磁気共鳴装置
- 200-20形日立ダブルビーム分光光度計
- 340形日立自記分光光度計
- MPF-4形日立分光けい光光度計
- 650-10S/-10LC形日立分光けい光光度計

ビッツバーグカンファレンスの発足以来、すでに1/4世紀を経過しましたが、このカンファレンスが機器分析の発展にいかにか寄与したかは計り知れないものがあります。事実、分析機器メーカーは、このカンファレンスに合わせて製品の開発プランを立て、研究を進めています。

このカンファレンスの持つ重要性に鑑み、この機会にその発展のあとをたどってみたいと思います。

■第1期(1950年代後半～60年代後半) 〈アイディア実現の時代〉

第1期の10年間は、1955年頃に生まれたアイディアに基づく新しい分析機器の誕生が中心となって展開され、原子吸光、分光けい光、2波長分析、自動分析などに関連する装置が続々と開発されました。この時代の特長は、これを〈アイディア実現の時代〉としてとらえることができます。

■第2期(1970年前後)〈複合化の時代〉

1970年前後には、ミニコンピュータと分析装置を組合わせた機器が多く開発されました。組合わせによる新機能のアップがこの時期の特長で、〈複合化の時代〉といえます。

この時代を代表するものは、ガスクロマトグラフ/質量分析計システム(GC/MS)です。GCとMSとの結合により、それぞれのクロマト成分のマススペクトルが得られますが、そのままではデータが膨大すぎて、通常感覚で

は処理しきれなくなります。そこで、ミニコンピュータを組込めば、容易にデータが処理され、必要なものだけが測定者の手許に届くようになります。こうして、GC/MSは分析化学者にとって極めて身近な使い易い装置となりました。

同様なことが、フーリエ変換赤外分光光度計についてもいえます。液体クロマトグラフはもともと分離の技術と測光(検出)技術の結合ですが、この時期に分光光度計の技術が一段と向上したので、これまでよりも1桁低い濃度の測定が可能となりました。その結果、微量試料で分析ができるようになり、フーリエ変換赤外分光光度計はGC/MSと相補い、これと相並ぶ装置となりました。

■第3期(1970年代前半)〈低価格の時代〉

この時代は、機器としては、プラズマトーチ、ESCA、イオン選択電極などが台頭したものの、新しい機器分析装置の開発は一般に低調であり、どちらに指向するのかが判然としない混迷の時期でした。

しかし、この時期に生産技術そのものは急速に進歩し、「高級機の機能を普通の価格で」という、いわば〈低価格の時代〉が実現しました。

■第4期(最近2～3年)〈マイコン化の時代〉

最近数年間の顕著な動向は、マイクロコンピュータいわゆるマイコンの応用です。一時期前のミニコンピュータの時代には、質量分析装置や発光分析装置などの高級機にはコンピュータが組込まれてしまいましたが、低価格の装置では、価格の点がブレーキになって、コンピュータを組込むことができませんでした。それが、マイコンの出現で価格の障害が除かれ、分光光度計やガスクロマトグラフはもとより、天秤にいたるまでマイコンが組込まれるようになりました。

その結果、装置の信頼性が向上したことは分析化学の今後の発展につながる大きなメリットといえます。同時に、操作性も向上し、装置の取扱い、操作、診断が容易になり、また分析や測定条件の指示が一層的確に行われるようになり、未熟練者でも容易に測定ができるようになりました。

■現在及び近い将来 <高度技術の集合化の時代>

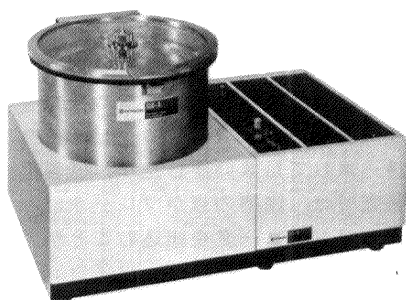
マイコン組込みによって制御と演算が結合されたことにより、例えば、分光光度計で高次微分が容易にできるようになり、大きい吸収帯の中に隠れた小さなピークなども確実に検出できるようになりました。その結果、食品中の色素の分析のように多成分系について分離なしで直接分析が可能となりました。

このようにマイコン組込みにより新しい機能が付加されたり、今まで忘れていた技術が改めて見直されるようになると、分析化学の分野は、今後ますます活発になり、発展するものと予想されます。

ビッツバークカンファレンスは、このような分析化学発展の母胎として最近の1/4世紀も長期にわたりたゆまぬ発展を続けてきたわけですが、今後も分析機器発展を支える世界組織として、一層その比重を高めることになると思います。

分離時間を短縮するとともに、多量の試料を効率よく処理できる。

CLC-5 日立遠心クロマトグラフ



CLC-5形日立遠心クロマトグラフ

遠心クロマトグラフは、従来のクロマトグラフィ管を使用する分取用カラムクロマトグラフィの不都合な点を改良するため、独得な盤状カラムを使用して、分離時間の短縮と多量試料の処理の要求を一挙に解決した新しい液体クロマトグラフです。

CLC-5形日立遠心クロマトグラフは、ご好評をいただいた CLC-3形の実績をもとに、顧客のご要求を集約して、操作性に重点をおき種々の改良をかさねた最新の装置です。

■特 長

1. クロマトグラフィ管を使用する、カラムクロマトグラフィの1/10以下の時間で分離ができます。分離時間が短縮されるだけでなく、数倍高い理論段数で分離ができます。
2. 試料によっては、一度に数g以上処理できます。充填剤の使用量は、スぺーサ(2mm, 3mm, 5mm)によって変えられますので、少量の試料も処理することができます。また特別付属装置として多量分取用分離盤も用意しています。
3. 充填剤の充填が容易です。充填剤はスラリーにした上で、遠心力を利用して充填します。装置自体が充填装置ですから、操作が容易で熟練は要しません。
4. 入手しやすい市販の充填剤も利用できます。遠心クロマトグラフ用として調製されたシリカゲル(富士ゲルKT2000シリーズ)を用意していますが、230~400メッシュのカラムクロマト用シリカゲル等も使用できます。
5. CLC-3形と比較して操作性が大幅に向上しました。分離盤の脱着、ボディカバーの開閉はワンタッチでできます。溶離液自動補給器は標準付属ですので、試料注入後、溶離液は自動的に補給できます。

■特別付属装置

1. CLC-5-UV形紫外吸収モニタ

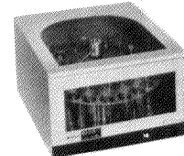
遠心クロマトグラフ専用開発した紫外吸収モニタで、主として波長254nmの吸収をモニタする装置です。この装置では光源(低圧水銀灯)から出た光はフローセルを通して蛍光板に放射され、蛍光を発生してCdsで検知され、分離成分をモニタします。



CLC-5-UV形紫外吸収モニタ

2. CLC-5-FC形フラクションコレクタ

このフラクションコレクタはステッピングモータの使用により通常のフラクションコレクタで多用されるマイクロスイッチを排除したシンプルな構造の装置です。分離成分を手動で分画できるほか、タイマによる時間分画、紫外吸収モニタの信号をとりこむことによる信号分画、および時間分画と信号分画の組合せ(全自動分画)で分画ができる上、接続した記録計に分画位置が自動的にマーキングされます。



CLC-5-FC形フラクションコレクタ

3. 分離盤

標準分離盤

(CLC-5-SD形セパレーションディスク, 3mmスぺーサ1本付)

多量分取用分離盤

(CLC-5-LD形10MMセパレーションディスク, 10mmスぺーサ1本付)

4. スぺーサ

2mmスぺーサ(5本1組), 3mmスぺーサ(5本1組)

5mmスぺーサ(5本1組), 10mmスぺーサ(2本1組)

<編集後記>

■本号の報文では、茨城県衛生研究所より、最近目覚ましい発展を遂げているフレームレス原子吸光分析法の応用例の一つとして、生体試料中のヒ素、セレンの新しい定量法について報告して頂きました。

■走査電子顕微鏡の新しい応用技術の一つとして最近注目されているクライオシステムは、試料を生に近い状態で観察できるほか試料処理機能も備えており、生物分野に広

い用途が期待されます。本号の解説は、去る6月20日より行われた日本電子顕微鏡学会第34回学術講演会における発表の要旨です。

本NEWSに関するお問合せは、下記へご連絡ください。

日製産業株式会社 精機部
東京都港区虎ノ門1丁目26番5号 第17森ビル
〒150 電話 ダイアルイン 東京(03)504-7211

THE HITACHI
SCIENTIFIC INSTRUMENT NEWS
AUTUMN 1978 Vol.21 No.3

発行 昭和53年10月1日
(年4回 発行)

発行人 湯川 清

編集人 菱田真三郎 岩井孝之

発行者 株式会社 日立製作所 計測器事業部

〒105 東京都港区虎ノ門1丁目26番5号第17森ビル

電話 ダイアルイン 東京(03)504-7866

印刷所 日立印刷株式会社