技術の日立

HITACHI

THE HITACHI SCIENTIFIC INSTRUMENT NEWS

WINTER 1982
VOL.25 NO.4

● 目　次 ●

報　文

U.D.C. 582. 28. 086. 13. 086. 3:621. 385. 833. 28

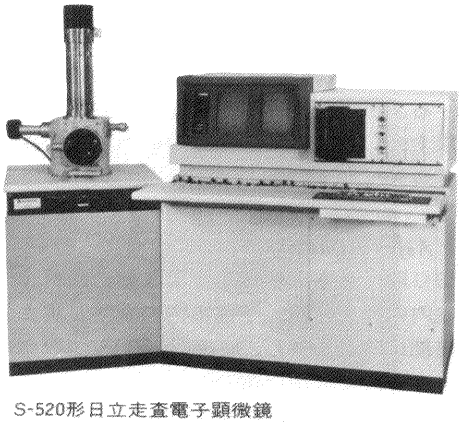
クライオ走査電顕によるかびの観察

久能　均*　和田　正夫**

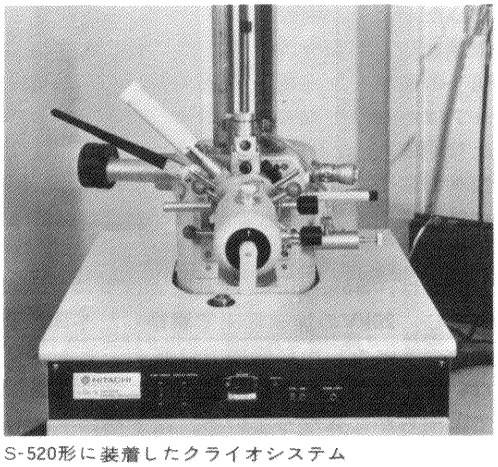
（昭和57年9月1日受理）

1. はじめに

走査電子顕微鏡（SEM）の生物学領域への応用は多岐にわたっており，とくに最近は様々な使い方が工夫され，ますます応用範囲が広がっている感がある。生物試料のSEM観察の成功，不成功は，試料作成の過程によって決まると言っても過言ではない。SEMが生物試料に応用されるようになってから，実に多くの試料作成法が検討されてきた。化学固定法，凍結乾燥法，凍結法，灰化法などである。これらの方法の中で，それぞれの研究者ができるだけartifactを少なくする方法を研究し，各々の試料に対して独自の方法を考案してきた。これらの方法には，いずれもちょっとした油断で簡単にartifactをひきおこす落とし穴がかくされているが，そのうちで凍結法が最もartifactが少ない方法であることは衆目の一致するところである。



S-520形日立走査電子顕微鏡



S-520形に装着したクライオシステム

凍結法すなわちクライオSEM法は十数年前に考案され，しばらくの間各種の生物試料に応用されていたが，そのうちに下火になってしまった。最近この方法が再び見直され，多くの研究者が興味を示すようになってきたようである。金子ら[1]が本誌25巻にクライオシステムによる植物細胞の観察を紹介してい

*　三重大学　農学部　植物病学研究室　農博, Ph.D.
**　日立製作所　那珂工場　応用技術センタ

るのも最近の研究動向の一面であろう。

カビは高等動植物と比べて，非常にもろい面をもっているので，試料作成に際して，高等生物の方法をそのまま応用できないことがある。クライオSEMによるカビの観察は，すでにFukutomi[2]が紹介しているが，本法によるカビ観察のコツについてはあまり知られていない。

著者らは，今回数種のカビの凍結試料作成法および観察法を検討したので，失敗例も含めてその概要をとりまとめてみる。

2. 装置と材料

日立走査電子顕微鏡S-520クライオシステムを使用した。

黒カビ(*Aspergillus terreus*)，イネいもち病菌(*Pyricularia oryzae*)，イネごま葉枯病菌(*Helminthosporium oryzae*)，ナシ黒斑病菌(*Alternaria kikuchiana*)を実験に用いたが，いずれも，ポテト・グルコース・寒天培地で1週間培養したものである。

3. 方法と結果

いずれの菌にも共通的な実験条件は以下の通りである。

i）菌叢が生育している寒天培地をカミソリ刃で適当な大きさに切り取り，振動を与えないようにして試料台にのせる。

ii）実験に先立ち，試料ステージを液体窒素によって，約−100°Cまで冷却する。実験中常にこの低温が保たれるように，液体窒素を随時補充する。

以上の二点以外は，各々の菌の試料作成と観察条件は少しずつ異なっているので，各項で具体的に説明することとする。

1）*Aspergillus*

切り取った寒天培地を室温状態の試料台に直接のせ，予備室内に挿入した。予備室内の真空が高まった時に直ちに鏡筒部に試料を移し，加速電圧5kVで観察した。**図1**に示すように，全体像は何とかつかめるが，チャージアップが激しい。同じような試料を作り，予備室内で金蒸着をほどこしたが，チャージアップはいくらか軽減されたものの，依然として明瞭な像を得ることができない（**図2**）。次に，同一の試料を加速電圧3kVで観察してみると，チャージアップはかなり少なくなり，一応全体像をとらえることができた（**図3**）。しかし，倍率を4000倍まであげてみたところ，個々の胞子にかなりの収縮が見られた（**図4**）。したがって，試料作成過程のどこかの段階で収縮がおこったと考えざるを得ない。

図5は，Shigemitsu et al.[3]がタンニン酸固定した後に金蒸着し，20kVの加速電圧で観察した本菌の胞子である。**図3**と比べるとたしかに解像力は高く，チャージアップも全くない像である。しかし，胞子の連なりの様相は**図3**と**図5**では明らかに異なっている。胞子柄の上に形成された無数の胞子の集合像は，**図5**では球状であるが，**図3**では円筒状になっている。どちらが本来の胞子着生状態を示しているのであろうか。本菌の分生胞子を固定液につけると，直ちに大多数の胞子が胞子柄から離脱して液面に浮いてくることが肉眼でも分かる。このことからも，**図5**の胞子着生状態は本来の姿ではないことが理解される。**図3**は，多少チャージアップしたり，胞子が収縮したりしてはいるが，本来の胞子着生状態に近い様相を示していると考えられる。

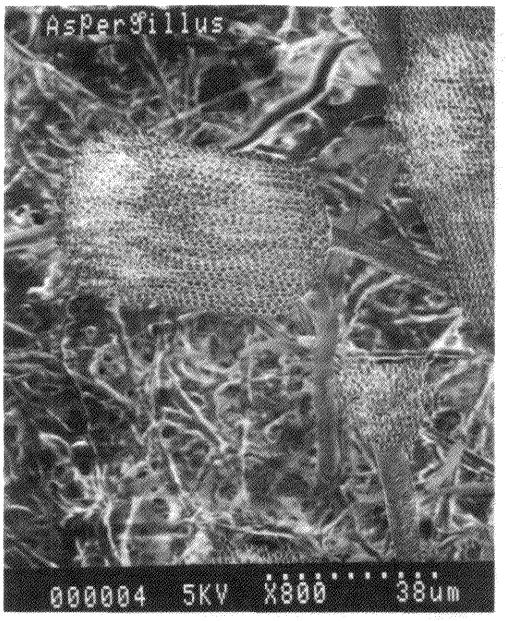


図1 *Aspergillus terreus*
室温状態の試料台に試料をのせ，直ちに観察。金蒸着なし。加速電圧5kV。

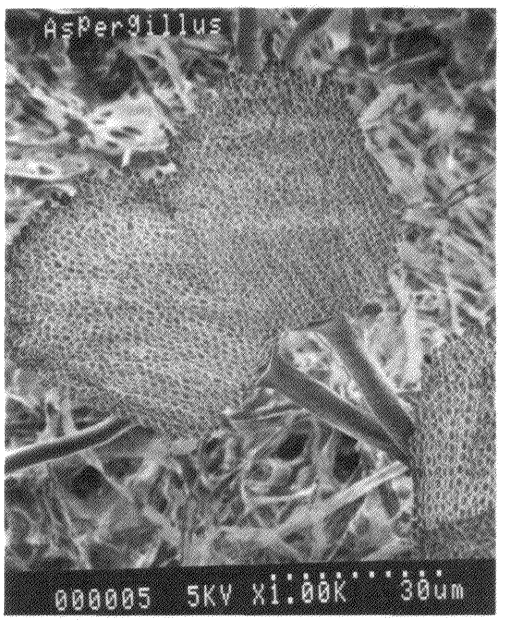


図2 *A.terreus*
図1の試料に金蒸着して観察。加速電圧5kV。

2）*Pyricularia*

図6は，*Aspergillus*の場合と同じように，室温状態の試料台に試料をのせて，そのまま観察したものである。試料は全体にひどく収縮変形している。室温状態の試料台を用いた場合には，試料は予備室に入れて排気後，試料ステージで凍結することになるが，予備室での排気過程で収縮を

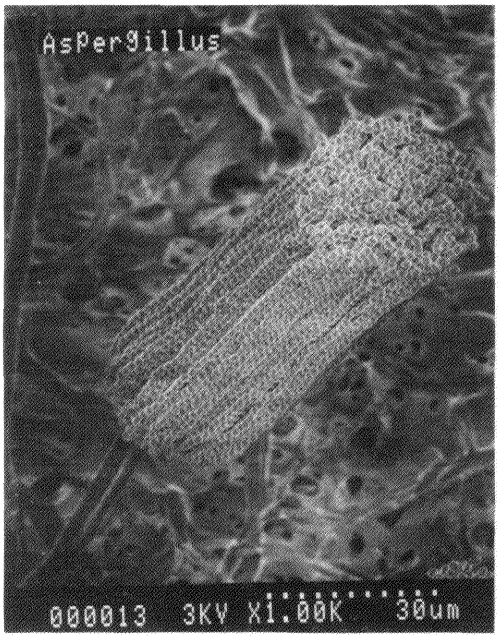


図3 *A. terreus*
図2の試料を加速電圧3kVで観察。

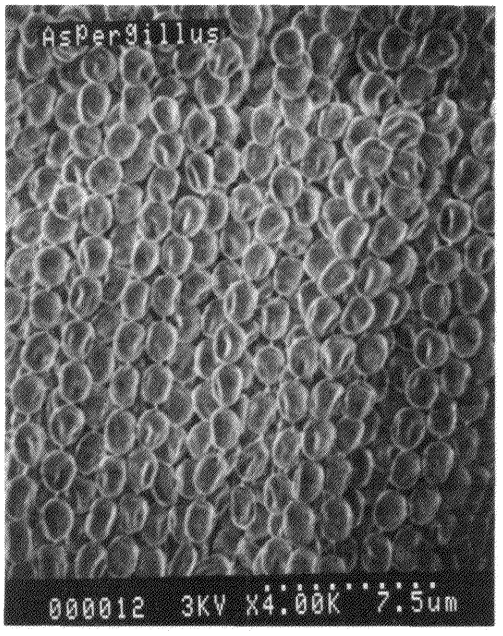


図4 *A. terreus*
図3と同条件で観察。ただし倍率4000倍。

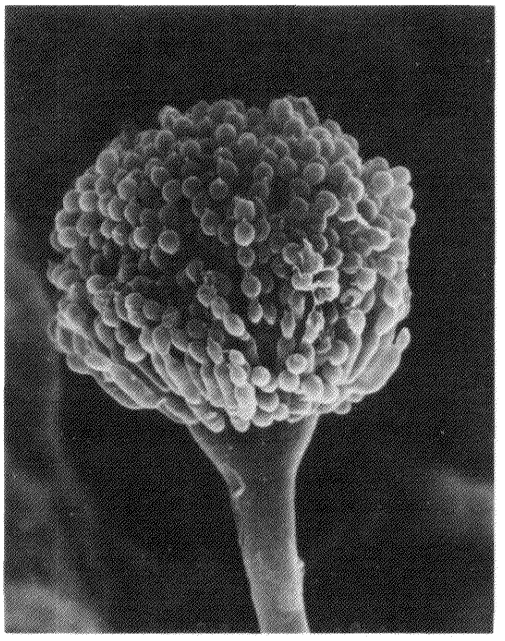


図5 *A. terreus*
タンニン酸固定後，加速電圧20kVで観察。

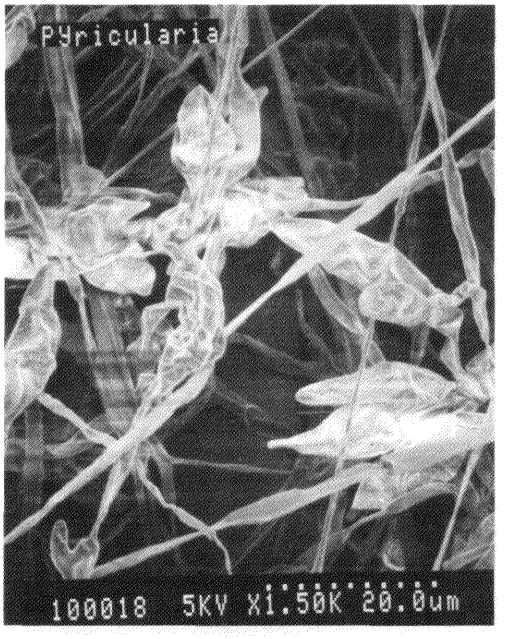


図6 *Pyricularia oryzae*
室温状態の試料台に試料をのせ，金蒸着せずに直ちに観察。加速電圧5kV。

ひきおこしやすいのではないかと考えた。そこで，試料台をあらかじめ，液体窒素を入れた発泡スチロールの箱の中に置き，試料台それ自身を充分冷却した。冷えた試料台の上に試料をのせ，直ちに予備室で排気して観察した。**図7**に見られるように，たしかに試料の収縮はほとんどなくなっていたが，全体にチャージアップがひどく，まともな像は得られなかった。同じ試料に金蒸着をほどこし，加速電圧3kVで観察してみたが，チャージアップが多少おさまっただけでやはり安定した像は得られなかった。**図7**，**8**から判断すると，菌自身の収縮はほとんどないので，チャージアップは菌叢の下の寒天培地が原因ではないかと考えられた。寒天培地はかなりの厚みをもっているので，このようなやり方では充分凍結されていない可能性がある。この可能性をチェックするために，室温状態の試料台に試料をのせ，

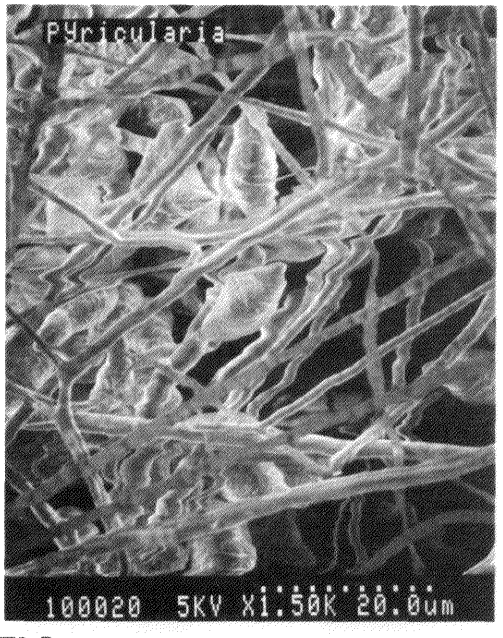


図7 *P. oryzae*
液体窒素であらかじめ冷却した試料台に試料をのせ，金蒸着せずに観察。 加速電圧 5 kV。

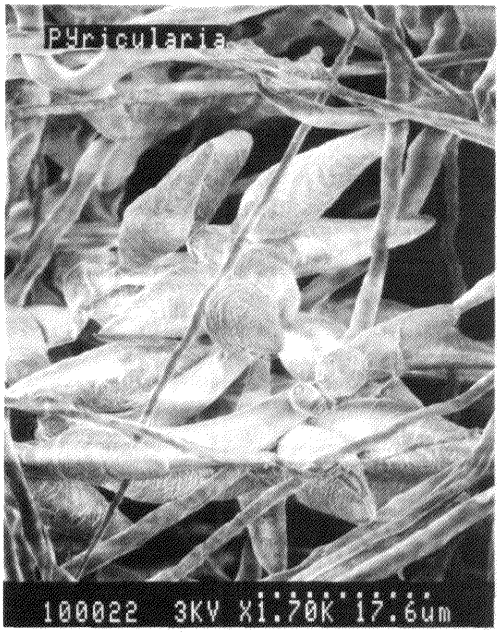


図8 *P. oryzae*
図 7 と同条件で，金蒸着した後に観察。ただし，加速電圧 3kV。

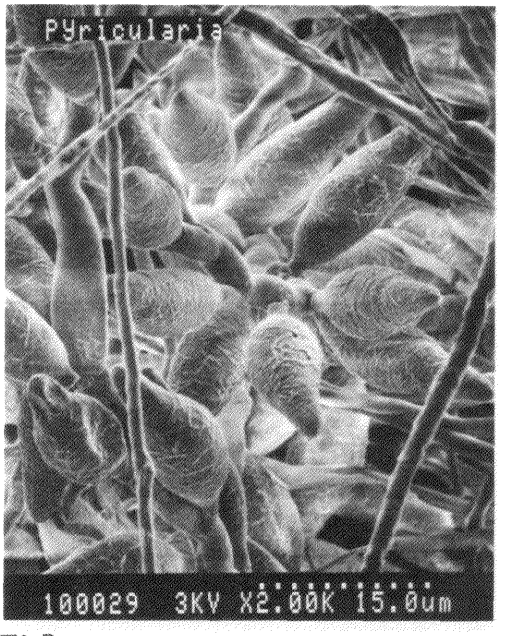


図9 *P. oryzae*
試料を試料台にのせ，液体窒素につけて，試料を予備凍結し，金蒸着した後に観察。加速電圧 3 kV。

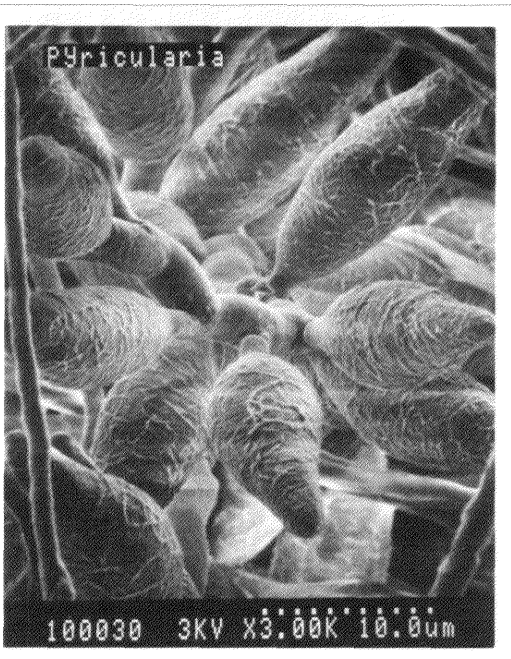


図10 *P. oryzae*
図 9 と同条件で観察。ただし，倍率3000倍。

予備室に挿入する前に，試料をのせた試料台を液体窒素に約20秒浸漬して予備凍結を行った。この試料を予備室に入れ，金蒸着をほどこして加速電圧 3 kVで観察した像が**図 9** である。 **図 7，8** と比べるとはるかに安定した像である。胞子の着生状態もよく，表面構造もよく保存されている。これを3000倍で観察するとかなりよい写真がとれたが，やはり多少のチャージアップが現われた。

3）*Helminthosporium*

本菌では，主に金蒸着の効果を検討した。試料を液体窒素に浸漬して予備凍結を行い，金蒸着なしで観察したのが**図11**であり，金蒸着をしてから観察したのが**図12**である。両者から明らかなように，凍結だけでは，たとえ充分な予備凍結をしてもチャージアップを防ぐことはできず，金蒸着が不可欠であることが分かった。

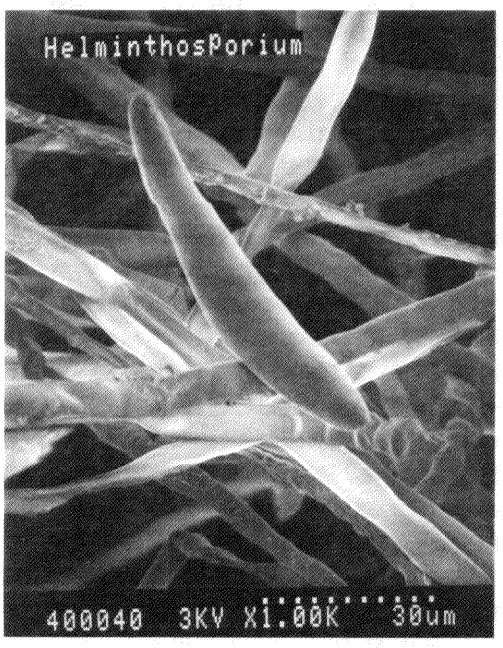


図11 *Helminthosporium oryzae*
図9と同条件で予備凍結し，金蒸着せずに観察。加速電圧3kV。

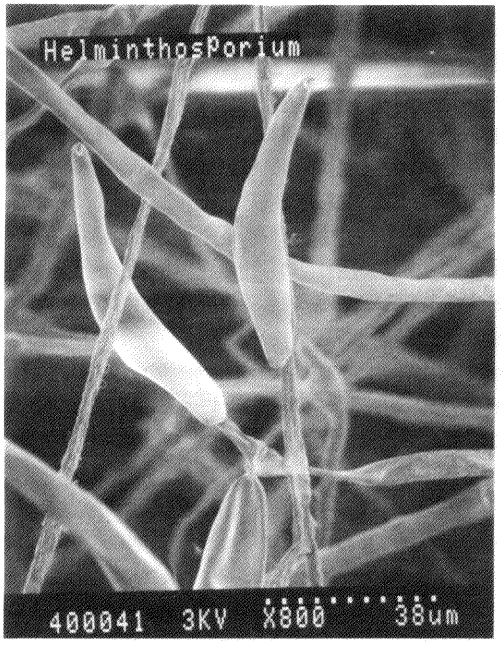


図12 *H. oryzae*
図11の試料に金蒸着して観察。加速電圧3kV。

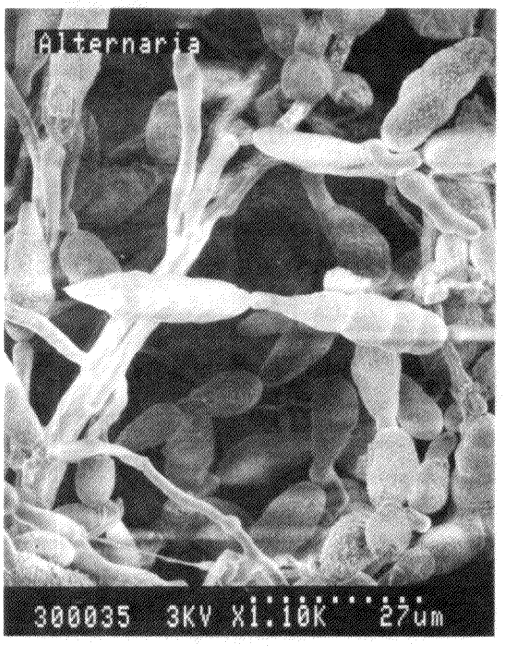


図13 *Alternaria kikuchiana*
図9と同じように試料を作り，金蒸着せずに観察。加速電圧3kV。

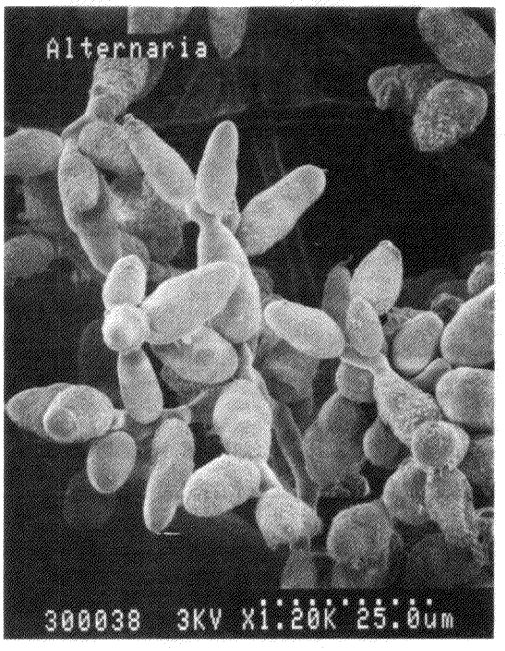


図14 *A. kikuchiana*
図13の試料に金蒸着して観察。加速電圧3kV。

4）*Alternaria*

本菌は，今回の供試菌のうちで最も細胞壁が厚く，しかも細胞壁外層にメラニン様色素が沈着している菌である。本菌も*Helminthosporium*と同じような条件で観察したが，このような細胞壁の厚い菌でも金蒸着をほどこさないと，安定した像が得られないことが明らかになった（**図13, 14**）。

4. 結　論

今回の実験結果から得られた結論をとりまとめると次のようになる。

i）試料を試料台にのせたまま，液体窒素で充分に予備凍結する必要がある。

ii）凍結だけではチャージアップを防ぎきれないので，安定した像を得るには金蒸着をした方がよい。

iii）加速電圧は3～5kVが適当であるが3kVの方がチャージアップは少ない。ただし，当然のことながら解像力は劣る。

5. おわりに

金子ら[1]のクライオSEMによる植物細胞の観察と比較すると，カビの場合には，はるかにartifactが入りやすいことが分かる。カビの研究の場合には，寒天培地に生育している菌や，他の生物体上で生育している菌を扱うことが多いが，寒天培地などの基盤となる物体の含水量が高い時には特に予備凍結を充分に行う必要がある。

本実験に用いた菌を細胞壁の薄い順にならべると，*Aspergillus*, *Pyricularia*, *Helminthosporium*, *Alternaria*の順になる。とくに*Alternaria*はきわめて厚く，しかも色素沈着した細胞壁をもっているが，それでも金蒸着は不可欠である。図3，9，12，14を比較してみると，細胞壁が厚いものほど安定した像が得られやすいように見える。これは単に細胞壁の厚さだけではなく，細胞の含水量にも関係する可能性もあるので，この点はさらに検討する必要があろう。

一般に，胞子は胞子柄から離脱し易い状態にある。したがって，固定液を用いて化学固定をする場合には，液につけただけで胞子は胞子柄から離脱してしまう。そのために，化学固定法では胞子の着生状態を正確にとらえることは難しい。図1，2，3，5を見くらべると，凍結法は化学固定法に比べて解像力は乏しいが，胞子着生状態をとらえるには向いている方法と見なすことができる。図10が示すように，充分な凍結と蒸着によってチャージアップをかなり防ぐことができたとしても高倍率の観察は難ちい。したがって，胞子の表面構造の詳細は化学固定法に頼らざるを得ない。つまり，それぞれの方法には一長一短があり，目的によって使い分ける必要があるということである。また，ここで扱ったわずか4種類のカビでさえ，きれいな像をとらえるためには，試料作成と観察の条件を個々の菌について検討しなければならなかった。大まかな方法は本稿で示したやり方でよいと思われるが，細かい点は個々の菌について検討した方がよいであろう。

このように書いてくると，非常に面倒なように思えてくるが，それぞれの試料作成には長くても10分くらいしか要しないので，鏡筒が充分冷却されていれば，ごく短時間で試料観察が完了する。他のSEM試料作成法と比べると，その簡便さは雲泥の差である。

参考文献

1）金子康子・松島久・和田正夫・山田満彦 Hitachi S. I. News 25(1), 10(1982)

2）Fukutomi, M. Proc. Eigth Int'l Cong. Ele. Micros, Canberra Vol.2, 562(1974)

3）Shigemitsu, H., H. Kunoh and S. Akai Mycologia 70, 935(1978)

Topics

超大形日立生化学自動分析装置

血清中のコレステロールや各種酵素など最大32項目を，1時間300検体分析できる臨床生化学検査用「超大形日立生化学自動分析装置」を開発した（図1）。

本シリーズでは，マイクロコンピュータによって制御された分析ユニットの組合せにより，処理能力が32項目，300検体/時の736-60形と，その姉妹機である24項目，300検体/時の736-50形，32項目，150検体/時の736-40形の3機種から構成されており，最近の医療の進歩に対応し，より信頼性の高い検査結果を効率的に得るようにした新製品である。

■特　長

(1) 最大32項目，300検体/時の高い処理能力

(2) データの信頼性確保

(a) レート（反応速度）分析法の採用

(b) 検体ブランクの補正

(c) 血清情報（濁り，溶血など）の測定

(d) 精度管理のCRT（Cathode Ray Tube表示）

(3) 血清量（3～10μl），試薬量（50～350μl）の微量化

(4) 検体ごとの項目選択機能付加によるランニングコストの低減

(5) ユニット方式の採用によるダウンタイムの低減

■仕　様

項目＼形式	736-60形	736-50形	736-40形
同時分析項目	32	24	32
処理能力（検体/時）	300		150
方式	ターンテーブル ディスクリート形		
血清量（μl/項目）	3～10		
試薬量（μl/項目）	300		
測定条件	反応時間：7.5分 反応温度：37°C		
光度計	多波長光度計による2波長測光		
分析法	比色分析・レート分析		

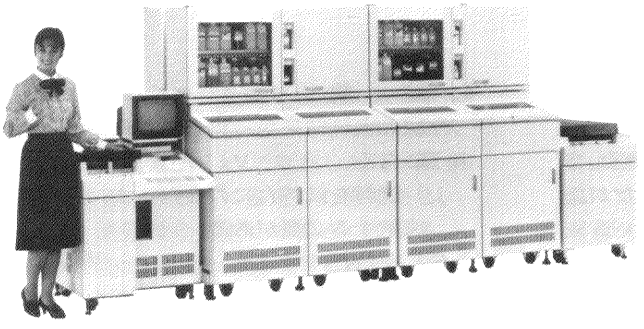


図1　超大形日立生化学自動分析装置（736-60形）

U.D.C. 541. 182. 4. 087. 22. 084-973:621. 385. 833. 28

クライオ SEM によるエマルジョン粒子の観察

山口 道広* 吉田 広一* 田中 宗男* 和田 正夫** 山田 満彦** 永谷 隆**

（昭和 57 年 7 月 23 日受理）

1．はじめに

医薬品や食品，化粧品などの分野で広く利用されているエマルジョンは，水や油のように互いに溶解し得ない物質の一方を，界面活性物質を介して他方へ均一に分散させた系として知られている。このようなエマルジョンは，一般に多量の水や油などの液状物質で構成されていることから，その微細な構造を電子顕微鏡で観察しようとすると，種々の前処理が必要となってくる。しかしながらそのような前処理は，処理の過程で試料の変形や変質，破壊などが生ずる可能性が有り，真の形状を観察しているかどうか，観察者にとって常に危惧するところではないだろうか。近年，この様な問題点を解決する手法が幾つか開発されてきており，試料を瞬間的に凍結させて観察するクライオ SEM も一つの有効な手法である。特にこの手法は，水を多量に含む生体試料などに威力を発揮すると言われており，筆者らも生体試料と同じように水などの液状物質を含むエマルジョンに適用することを試みた。特に筆者らが興味を覚えたことは，クライオ SEM が割断装置をもつことから，エマルジョン粒子を割断し，粒子内部の構造が観察できるのではないかということである。エマルジョン粒子が外観的に球状を呈することは，よく知られている事実であるが，粒子を割断し，その内部を観察したという事例は今までに無かったように思う。この一文は，従来のクライオ SEM に新たにコールド・トラップ（後述）を装着することによって，幸運にもエマルジョン粒子の割断面が極めて迅速かつ鮮明に観察することが出来た結果を述べたものである。

2．試料と観察方法

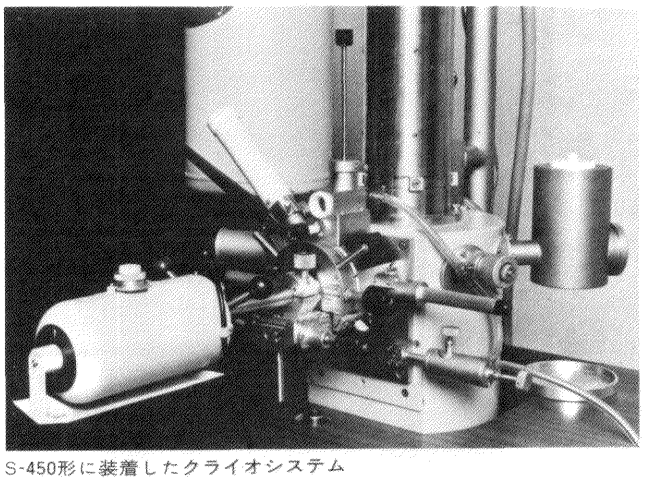
2.1 観察に供した試料

表 1 に示すように，観察試料は水中油型（O/W 型）エマルジョン（E_1，E_2，E_3）と油中水型（W/O型）エマルジョン，および非イオン性界面活性剤（POE-15 モル-オレイルエーテル）～高級アルコール（セトステアリルアルコール）～水の 3 成分で生成するリオトロピック液晶（LC）である。

筆者らは，これまで高級アルコールの添加による O/W 型エマルジョンの安定性を検討してきた結果[1)~5)]，安定なエマルジョンは，高級アルコールが関与するリオトロピック液晶相に粒子が均一に分散した系であり，特にリオトロピック液晶相は系を粘稠にし，クリームのような状態に維持する働きをもつことを見出した。

クライオ SEM 観察の前に，光学顕微鏡で試料を観察してみると，**図 1**（A），（B）となる。（A）は試料 E_1 の偏光顕微鏡写真であるが，エマルジョン粒子が光学的に強い異方性を示し，粒子が高級アルコールの結晶であることが予想できる。又（B）は試料 LC の位相差顕微鏡写真であるが，粒子相を除いた外相部に相当し，粘稠性が高くゲル

S-450形日立走査電子顕微鏡



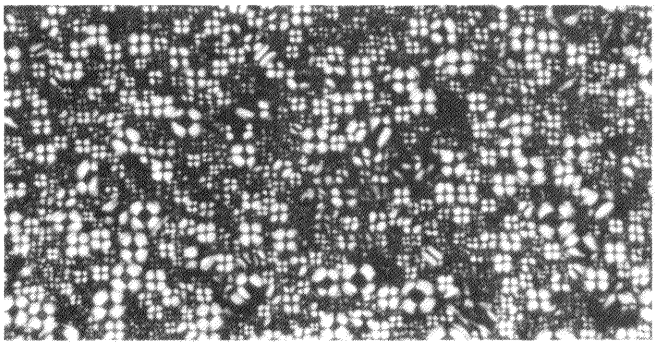
S-450形に装着したクライオシステム

表 1 観察に供した試料

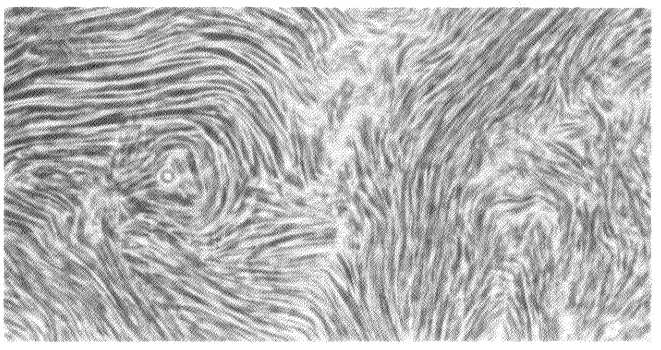
*1 Sample		Water	*2 Surfactant	*3 Cetostearyl Alc.	Liquid Paraffin
O/W 型	E_1	65 w%	5 w%	30 w%	0
	E_2	65	5	25	5
	E_3	65	5	20	10
LC		30	30	40	0
W/O 型		省		略	

＊1 エマルジョンの調製：70℃でラボミキサーにより70V 1min. 攪拌後，30℃まで攪拌冷却
＊2 POE-15 moles Oleyl ether (nonionic surfactant)
＊3 Cetyl Alc.：Stearyl Alc. ＝ 6：4（混合物）

＊ 株式会社 資生堂 研究所
＊＊ 日立製作所 那珂工場 応用技術センタ

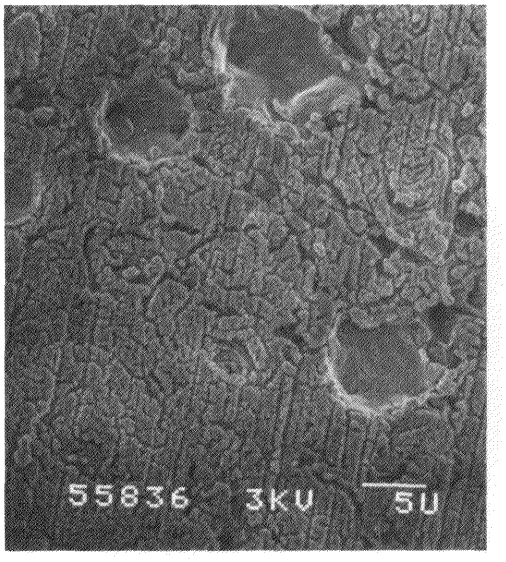


(A) 試料 E_1 の偏光顕微鏡写真（×400）

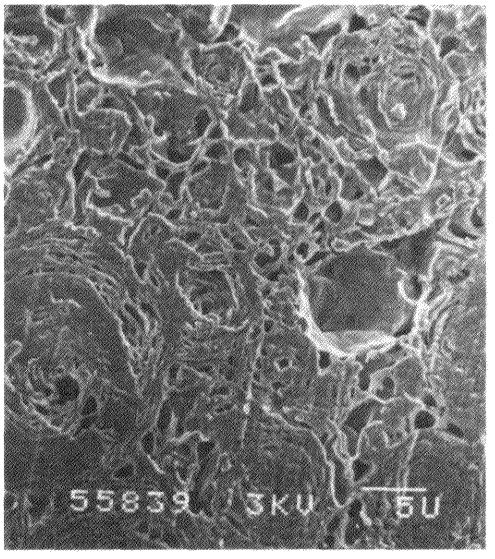


(B) 試料 LC の位相差顕微鏡写真（×400）

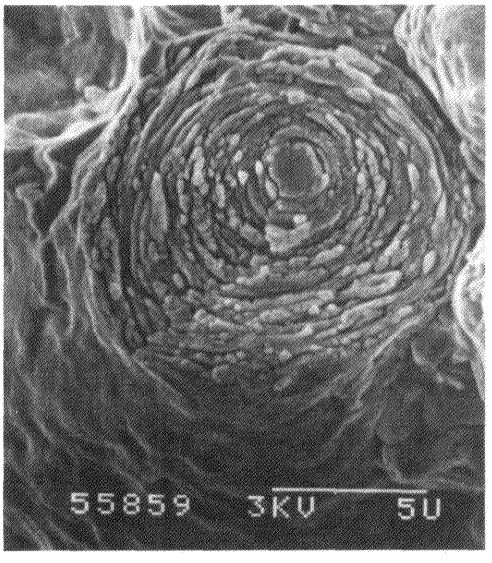
図1　光学顕微鏡による観察



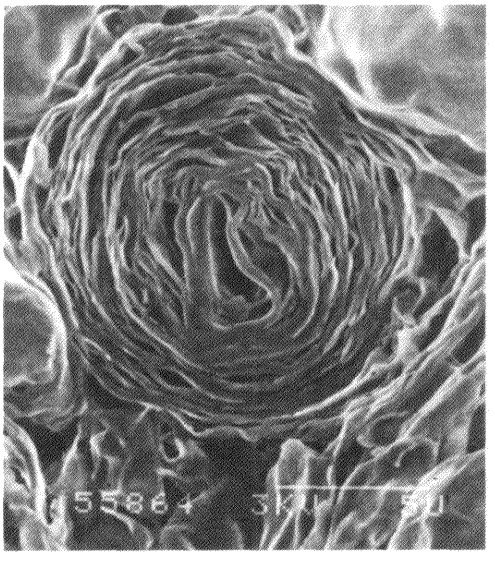
(A) −130℃



(B) −90℃



(C) −70℃



(D) −50℃

図2　ヒータで加温する過程で得られる試料 E_1 の観察像（コールド・トラップ装着せず。）

様を呈している。

試料 E_1 から，高級アルコールの一部を等方性の液体である流動パラフィンで置換したE_2，E_3の場合は，置換量に伴い，粒子の光学的異方性の強度が減少した。

W/O 型エマルジョンについては，処方が複雑なことから詳しい組成は省略するが，O/W 型エマルジョンとは逆に，水相が粒子を形成する系である。

2.2 観察方法（日立-S450）

従来のクライオ SEM は，筆者らの試料に対して，凍結割断直後に多量の霜の付着がみられ，鮮明な像を得るためには，試料をヒータで加温しなければならなかった。**図 2** は試料E_1の割断直後（A;−130℃）から，ヒータにより加温する過程で得られた観察写真である。加温後約 2 時間ではじめて観察可能な像（D;−50℃）が得られ，割断直後は鮮明な像が得られず，観察がほとんど不可能であった。又，加温し過ぎると内部の微細な構造が変形し，癒着したような状態となってしまい，良好な視野は仲々得にくくなってしまった。いずれにしても割断直後の霜の付着を防ぐことが肝要であり，筆者らはこの問題をコールド・トラップを装着することによって解決することが出来た。

観察に至るまでの試料の調製過程を**図 3** に示す。約50mg の試料をアルミ製の試料ホールダにのせ，液体窒素に約30秒間浸す。凍結した試料は速やかに試料ステージにセットし，予め液体窒素で冷却したナイフで割断する。割断後試料を試料室内へ挿入すると，割断が正常に行われていれば，挿入と同時に鮮明な割断面が観察できた。恐らく，冷却ナイフによる割断直後からコールド・トラップが働き，従来生じていた霜がすべてトラップされてしまうものと考えられる。

コールド・トラップは，鏡筒内の試料ステージ近傍へ接近させた銅板と連結しており，液体窒素で約 −150℃ に冷却する。又，試料ステージは，熱伝導用の銅線部分を細くすることによって，−100℃ 以下には冷却しないように工夫した。両者の温度差によりトラップが有効に働くものと思われる。この温度差を一定に保つように液体窒素を補給してやれば，同一試料を長時間に亘って観察することが出来，納得のいく視野を観察することが可能となった。

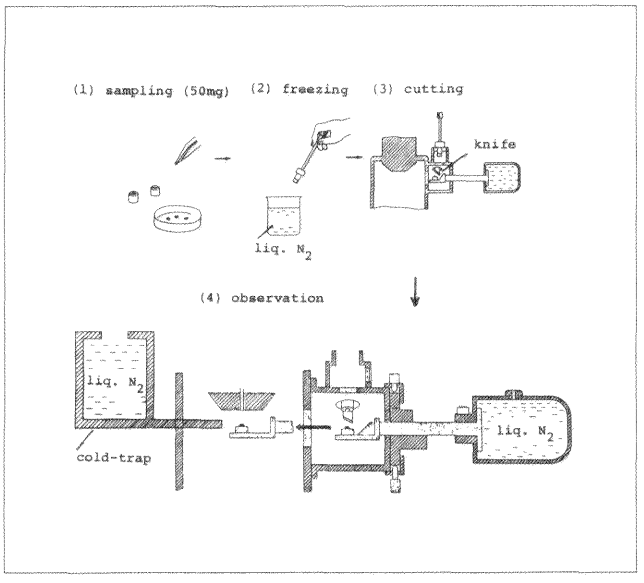
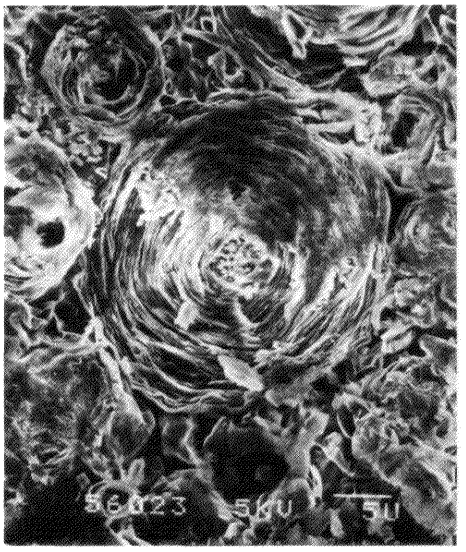


図 3　試料の調製過程



（A）クライオ SEM 観察

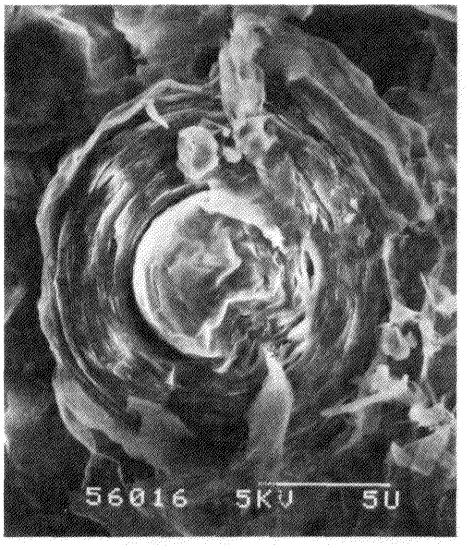
（B）TEM 観察　100kV，×50,000

図 4　試料 E_1 の割断面

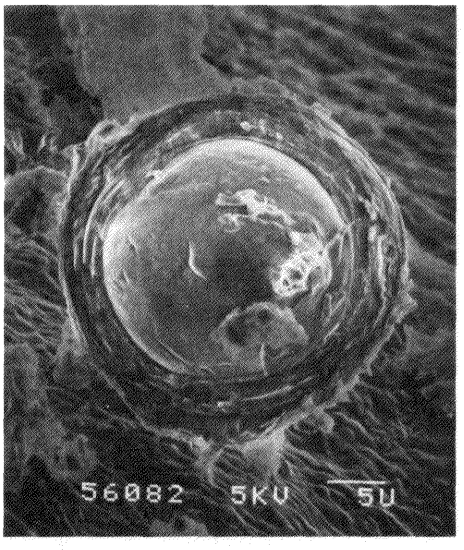
3. 結果と考察

3.1 試料 E_1 のクライオ SEM および TEM 観察

図 1（A）でみられた光学的異方性粒子の割断面をクライオ SEM で観察すると**図 4**（A）が得られ，ヌオスミウム酸で固定し，エポキシ樹脂に包埋後ミクロトームで約500Å の薄片にした試料を TEM（日立 HU-12A）で観察すると（B）を得た。SEM および TEM のいずれの観察からも，粒子の中心から薄層状の結晶物が共心的に成長していることが判る。（A）では，割断面の一部がつぶれたような状態がみられるが，これは割断時にナイフの刃で押しつぶされたためであろうと考えられ，ナイフの刃形や材質，或いは



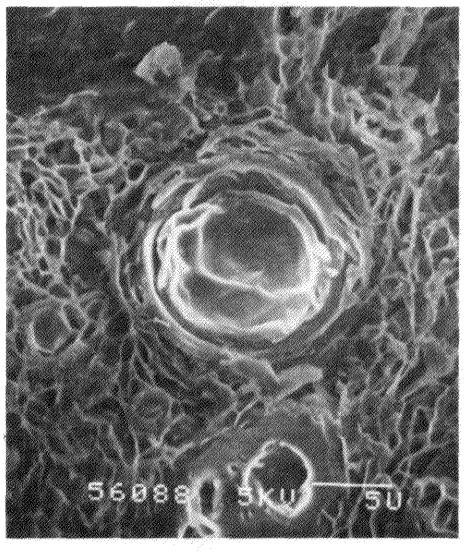
(A) 試料 E_2



(B) 試料 E_3

図5 流動パラフィンで置換した試料の割断面

(A) 約−80℃



(B) 約−60℃

図6 試料 E_3 を加温した時の変化

試料の凍結温度などが起因しているようである。SEM の観察結果は，TEM に比べ，凍結状態ではあるが，立体感を示し，より生の状態に近いと言えるであろう。

3.2 E_2，E_3 のクライオ SEM 観察

試料 E_1 の高級アルコールの一部を，流動パラフィンで置換した E_2，E_3 のクライオ SEM 観察を図5（A)(B）に示す。E_1 の場合と異なり，流動パラフィンが存在すると，粒子の中心部が平滑となるようである。恐らくこの平滑部が流動パラフィンであり，粒子の外殻部は E_1 の場合と同じように，薄層状に結晶成長した高級アルコールで形成されていると考えられる。

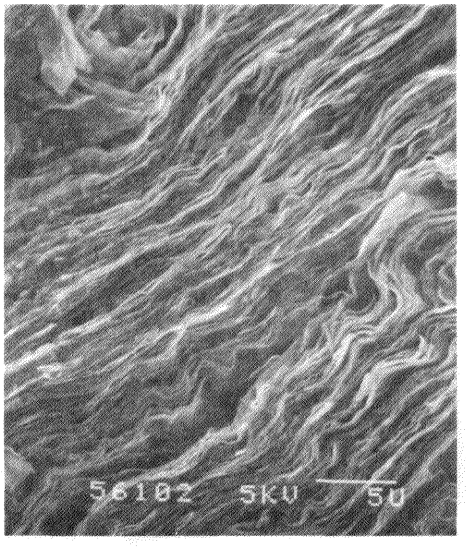
又，流動パラフィン置換量の多い E_3 の場合，試料ステージの温度を高めると，約−60℃付近で図6（A)(B）に示すように，粒子の中心部が窪んだような状態となる。恐らく共筒内の真空下（10^{-5} Torr）で，流動パラフィンが気化・トラップされたためであろう。

3.3 LC 相のクライオ SEM および TEM 観察

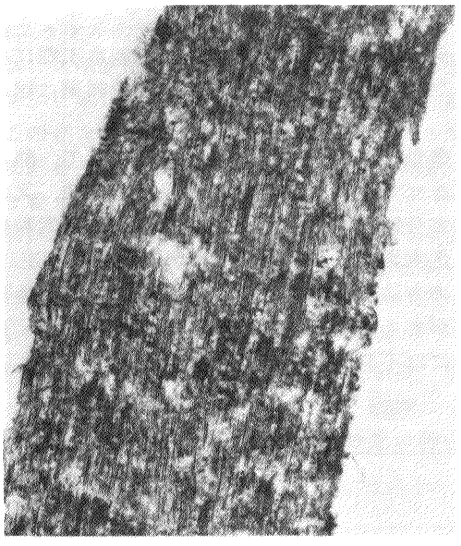
光学顕微鏡で観察した LC 相〔図1（B)〕をクライオ SEM，およびオスミウ酸固定エポキシ樹脂包埋法で観察してみると，それぞれ図7（A)(B）の結果を得た。いずれの観察結果からも，LC 相が層状（ラメラ）の構造をとることが判り，特に TEM 観察(B)からは，層間隔が凡そ 100Å であり，多少小さめの値であるが，X 線回折から得た値とほぼ一致するようである。

3.4 W/O 型エマルジョン粒子のクライオ SEM 観察

これまでの O/W 型とは逆に，水相部が粒子を形成する W/O 型エマルジョン粒子の割断面を図8に示す。水の結晶状態についての詳しい知見はもち合わせていないが，図8



(A) クライオ SEM 観察



(B) TEM 観察 100kV, ×50 000

図 7 試料 LC の割断面

の割断面は，ある冷却条件下で生成した水の結晶化状態を示すものと考えられる。

4. 結　論

液状物質を含む試料を，クライオ SEM で観察することは，これまで述べてきたように，より生に近い状態で観察できる有効な手段であるが，筆者らが新たに考案したコールド・トラップの装着は，従来以上に迅速かつ鮮明な画像を得ることを可能とした。特に本研究で得た観察結果から，これまで観念的に理解していたエマルジョン粒子の内部構造が，より具体的に明らかとなり，又これまで筆者らが得ているX線回折などの他の物理データとも良く対応することが判った。実際の化粧品などで用いられているエマルジョンは，組成が複雑であるが，その粒子内部の構造は基本的には今回得た結果と大差ないと推察される。特に筆者ら

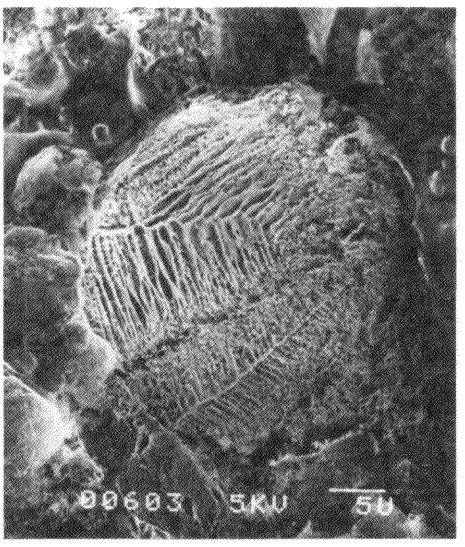


図 8 W/O 型エマルジョン粒子の割断面

が検討してきた，高級アルコールの役割が，エマルジョン粒子の外殻部を薄層状にとり囲み，外相部は活性剤～高級アルコール～水で生成されたリオトロピック液晶で構成されているという予想を十分に裏付ける結果である。

5. おわりに

コールド・トラップの装着が，クライオ SEM の性能を向上させたことは，これまでに述べてきた結果で明らかであるが，更に向上を図るためには幾つかの点で改良が望まれるところである。

例えば，

(1) 凍結割断時のナイフの形状や材質

(2) ナイフの侵入角度や侵入力

(3) 試料の冷却温度，冷却時間（液体窒素に浸す時）

(4) 試料ステージとコールド・トラップの温度差（温度差が小さいと，霜の再付着が予想される。）

などではなかろうか。

最後に，この研究を進めるに当り，日製産業の増山正穂氏，および日立製作所那珂工場の原行一氏，神田公生氏の各位にご協力頂いたことを，この紙面をお借りして厚くお礼申し上げる。

参考文献

1) Fukushima, S., Yamaguchi, M. and Harusawa, F. : J. Colloid and Interface Sci., **51**, 548 (1975)

2) Fukushima, S., Takahashi, M. and Yamaguchi, M. : J. Colloid and Interface Sci., **57**, 201 (1976)

3) Fukushima, S. and Yamaguchi, M. : J. Colloid and Interface Sci., **59**, 159 (1977)

4) Fukushima, S. and Yamaguchi, M. : Yukagaku, **29**, 106 (1980)

5) Fukushima, S. and Yamaguchi, M. : Yakugaku Zasshi, **101**, 1010 (1981)

U.D.C. 543. 422. 5:665. 73:546. 19. 064

ナフサ及び分解油中の微量ヒ素の測定

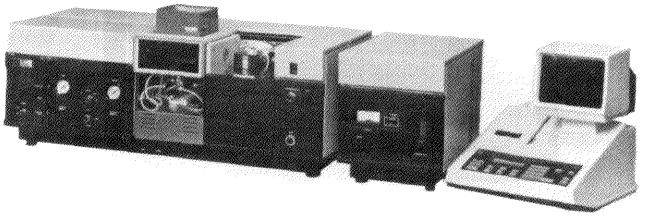
杉村　喜昭*

（昭和57年9月30日受理）

1. はじめに

中東・東南アジア系ナフサに比べ，中国産ナフサには多量のヒ素（数百～千数百ppb）を含有するものがあるが，このヒ素は各種触媒に対し，著しく活性を低下させる触媒毒となる。

このヒ素分の多いナフサを含む材源から，BTX，各種溶剤類を作るための分留工程におけるヒ素の分布，反応工程における触媒層通過前後のヒ素濃度とその経時変化，原料油の使い分け等の知見を得る目的で，製造工程に出入りする各種ナフサ留分中の微量ヒ素の測定を頻繁に試みる必要があった。



180-80形日立偏光ゼーマン原子吸光光度計

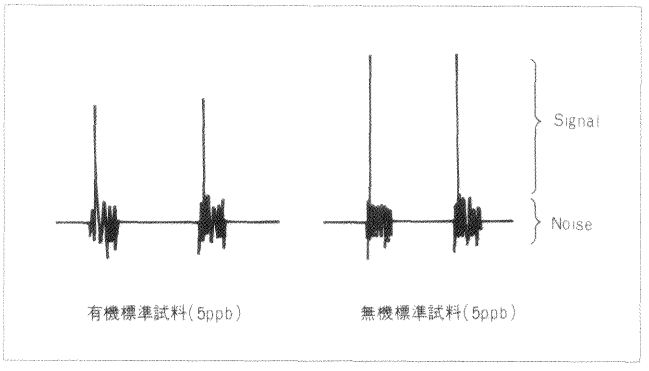


図1　有機・無機ヒ素標準試料の検出限界

従来，微量ヒ素分析は，前処理方法として，酸水素炎で燃焼酸化させ苛性ソーダ溶液に吸収する方法，又は濃硫酸と濃硝酸で分解酸化抽出する方法で，有機ヒ素を無機ヒ素とし，ヒ化水素発生工程を経て吸光光度法で測定していた。

これらの方法は長時間を要し，しかも安全衛生面においても問題があることから，頻繁に行なうRoutine Testとしての目的には不具合である。

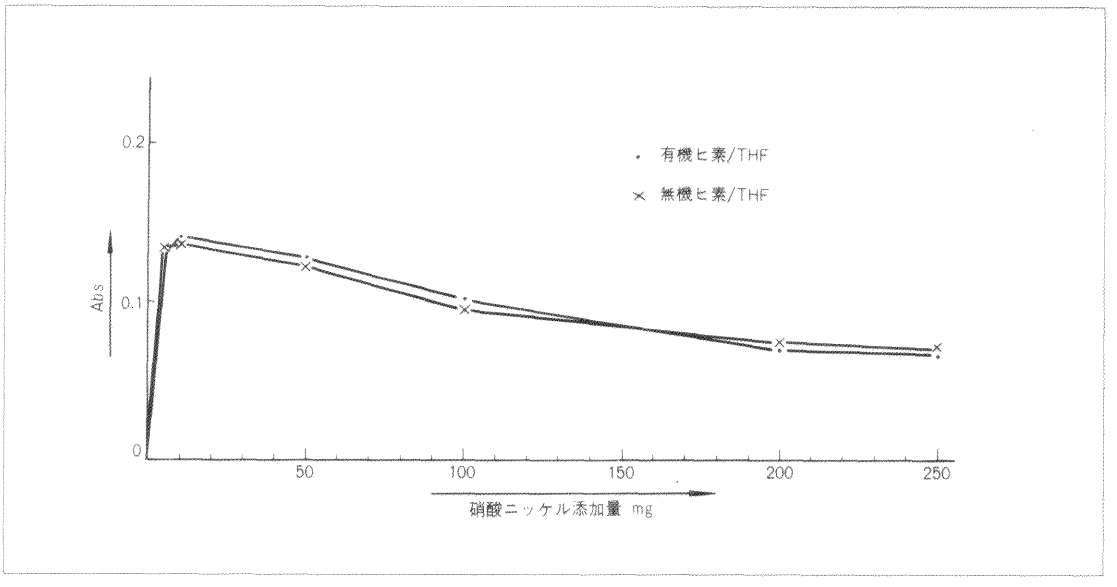


図2　硝酸ニッケル添加効果

* 三菱石油株式会社　水島製油所　試験課長

そこで，ヒ素を簡単かつ迅速に測定できる分析方法を確立する目的で，日立180-80形ゼーマンフレームス原子吸光光度計による迅速法を検討したところ，良好な結果が得られたので，ここに報告する。

2. 装　置

2.1 日立180-80形原子吸光光度計

2.2 180-0340グラファイトアトマイザー用光温度制御付属装置

2.3 056形日立卓上記録計

2.4 As-ホローカソードランプ(日立製)

2.5 マイクロピペット（エッペンドルフ社製）

3. 測定結果の要約

3.1 検出限界

コンピューターに内蔵された分析条件をもとに，有機・無機ヒ素標準試料を用いて，適宜テトラヒドロフラン(THF)で希釈し，S/N＝2とした場合の検出限界を求めたところ，約2.5pbが得られた。(尚、この場合硝酸ニッケルを250mg添加した)

測定結果は**図1**のとおりである。

3.2 硝酸ニッケルの添加効果

フレームレス原子吸光法により，石油中のヒ素を直接測定する場合，ヒ素化合物の形態によって吸光度に差が生じるので，この差を解消する方法として，硝酸ニッケルの添加が有効であると報告されている[1]。この為，硝酸ニッケルの添加量を変えて測定を行ない，検討をすることにした。

有機ヒ素25ng/mℓTHF溶液，無機ヒ素25ng/mℓTHF溶液を調製して，これらの各々の溶液中に，硝酸ニッケルの添加量を0～250mgまで変えて測定した。

測定結果は**図2**のとおりである。

この有機，無機ヒ素THF溶液の測定結果から，ヒ素の形態差による違いは特にみられなかったが，硝酸ニッケルを10mg程度添加することにより，最も増感効果が得られることが判った。

表1　調製試料

1	25ng/mℓ無機ヒ素THF溶液 25ng/mℓ有機ヒ素THF溶液	25ng/mℓ As 25ng/mℓ As
2	25ng/mℓ無機ヒ素＋ナフサ10mℓ THF溶液 25ng/mℓ有機ヒ素＋ナフサ10mℓ/ THF溶液	約25ng/mℓ As 約25ng/mℓ As
3	20ng/mℓ無機ヒ素＋改質ナフサ10mℓ/THF溶液 20ng/mℓ有機ヒ素＋改質ナフサ10mℓ/THF溶液	約20ng/mℓ As 約20ng/mℓ As
4	20ng/mℓ無機ヒ素＋分解油A5mℓ/THF溶液 20ng/mℓ有機ヒ素＋分解油A5mℓ/THF溶液	約45ng/mℓ As 約45ng/mℓ As
5	20ng/mℓ無機ヒ素＋分解油B5mℓ/THF溶液 20ng/mℓ有機ヒ素＋分解油B5mℓ/THF溶液	約20ng/mℓ As 約20ng/mℓ As

※ 分解油Bは分解油Aを一段水添後分留して取り出した中間留分。

3.3 硝酸ニッケル添加量と灰化温度

標準有機，無機ヒ素の各々25ng/mℓTHF溶液では，10mgの硝酸ニッケル添加が最も感度が良い事が判ったが，実際には，油試料の種類及び試料採取量が異なった場合，硝酸ニッケルの添加量を変える必要性も生じ，同時に灰化温度にも影響があると思われる。

この為，25ng/mℓ有機，無機THF溶液，及びナフサ，分解油中に有機，無機ヒ素を添加して調製した試料（**表1**参照）を用いて，灰化温度を800-1800℃，硝酸ニッケル添加量を0-250mgに各々変えて測定を行なった。測定結果は**図3**，**4**のとおりである。

図3においては，硝酸ニッケルの添加量は少なめに，灰化温度は低く設定した方が，感度上有利な傾向がみられる。

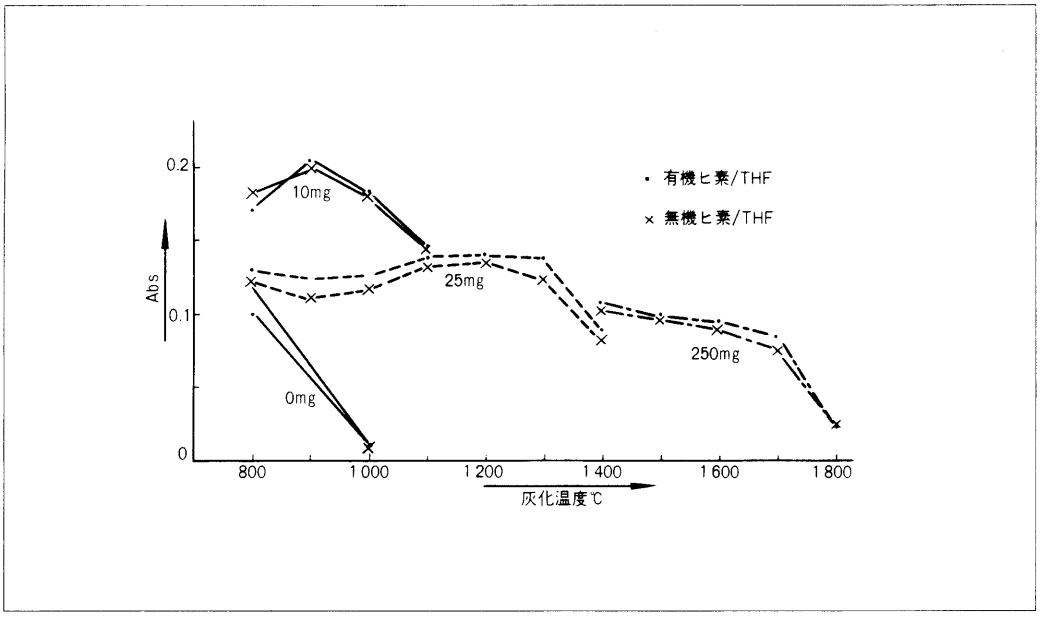


図3　硝酸ニッケル添加量と灰化温度-1

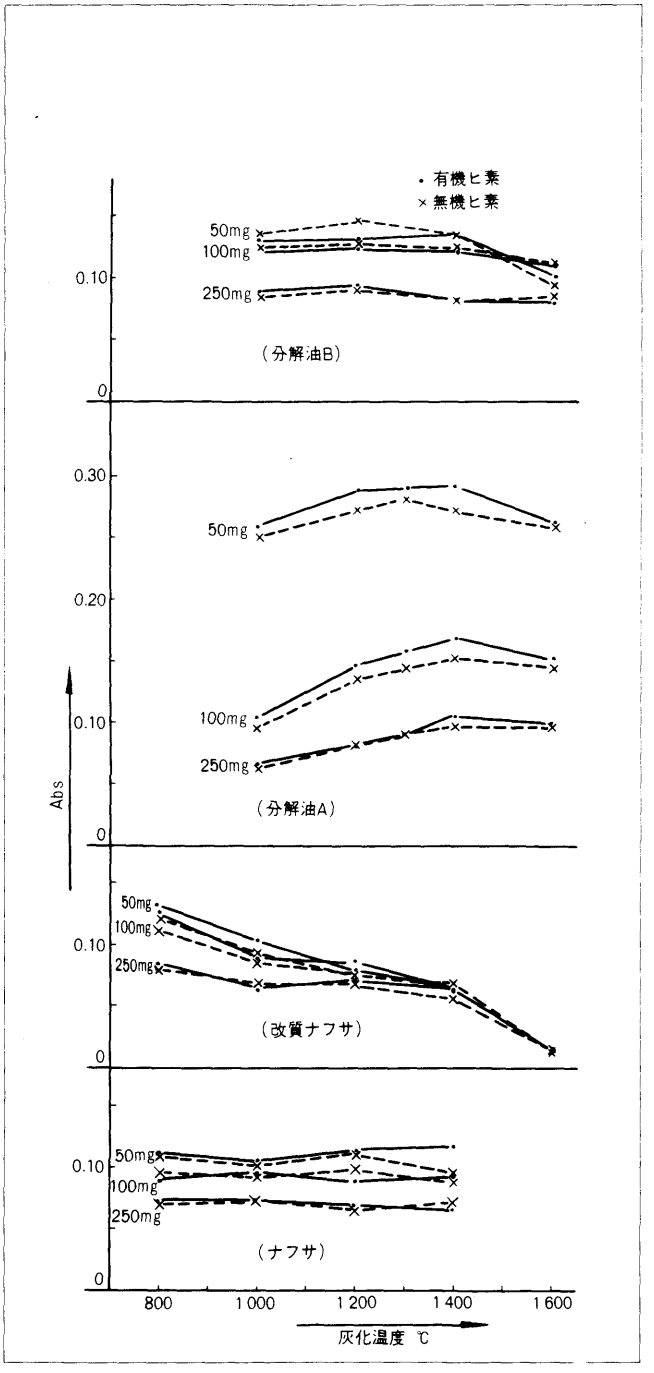


図4 硝酸ニッケル添加量と灰化温度-2

しかし，文献[1]によれば，ヒ素とニッケルが安定な化合物を作るに十分なニッケル量が不足している場合には（例えば10mg），灰化温度が高くなると，揮散し，結果として感度低下を招くと言われている。又，添加する硝酸ニッケルを多くする程，灰化温度を高く設定する事が可能であるが，全体的に感度が悪くなる傾向がみられる。これは，キュベット内において，ニッケルの妨害による感度低下が起きているものと言われている。

又，**図4**にみられる様に，測定する油種によっても最適灰化温度は異なる。ただし，便宜上，大きく分けてナフサ系と分解油系の試料に区別して灰化温度を設定することとした。

以上の測定結果等（ヒ素レベルの高い，沸点の高い試料のデータをも，配慮して）から，硝酸ニッケルの添加量は，油種に関係なく一律50mgとし，灰化温度は有機物の完全分解を配慮して，分解油系試料の場合は1300℃，ナフサ系試料は800℃とした。

更に，原子化温度を設定する為，有機ヒ素，無機ヒ素の各標準溶液を使用して，2400～3000℃まで原子化温度を変えて測定を行なったところ，各温度における大きな吸光度差は生じなかったが，高温になる程，感度は若干上がる傾向がみられた。

一方，キュベットの消耗等を考えると，低い温度程良く，結局，コンピュータに内蔵されている原子化温度2800℃を採用した。

3.4 実試料の測定

(1) 標準試料による検量線の直線性

試料を定量する場合，検量線の直線範囲が問題となる。この為，無機ヒ素をTHFで適宜希釈して検量線用試料を調整し，測定を行なった。

測定結果は**図5**のとおりである。

この測定結果より，ヒ素として400-500ng/50mℓTHFまでは，直線性があることが確認出来た為，この範囲に入るように試料とTHFの比率を変えて調整し，標準添加法により測定を行ない，吸光光度法との比較を行なった。

測定結果は，**表2**のとおりである。

(2) 累積濃縮法による検量線の直線性

前処理操作を行なわずに，直接，極微量のヒ素を測定し，定量下限を下げようとする場合，400ng/50mℓTHF以下の溶

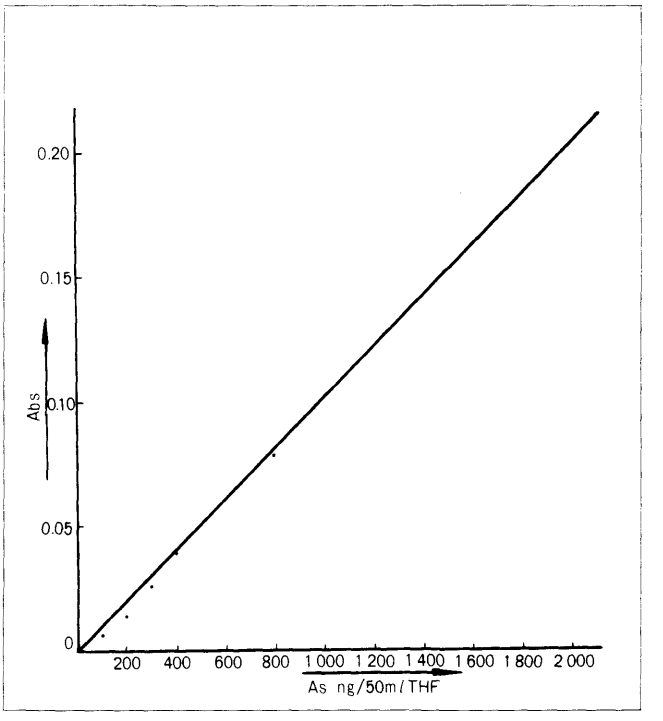


図5 標準無機Asによる検量線
(10 Samplmg 硝酸ニッケル50mg添加)

表2

	フレームレス原子吸光法(ppb)	吸光光度法(ppb)
分解油	212	——
〃	1,000, 1,000	950, 1,000
〃	50, 53	54, 52
〃	114	112
〃	10, 8*	8, 8
ナフサ	55	57
〃	23	34
〃	200	190

※S/N＝2～3であった。

液についても，直線範囲に入れる必要がある。

この為，試料注入操作を，マイクロピペット(10μℓ)で2～3回繰り返して注入（試料注入後，乾燥行程を行ない，再度試料を注入する事を繰り返す。*）測定する方法を用いて，検量線の測定を行ない直線性をみた。

＊ なおキュペットの機構上，30μℓ1回注入は不具合と考えた。

測定結果は，**図6**のとおりである。

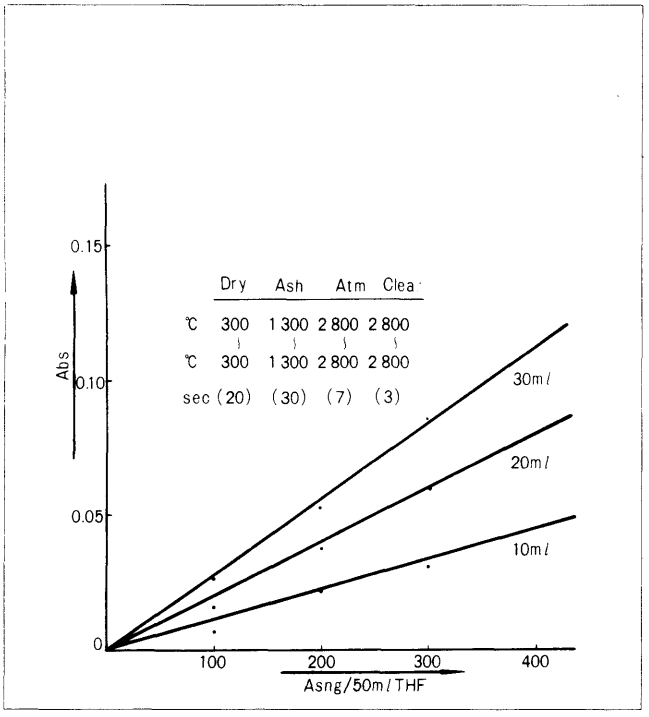


図6 累積濃縮法による検量線
（硝酸ニッケル50mg添加）

この測定結果から，試料注入量が多くなる程，感度は上がる傾向がみられ，低濃度試料の測定には有利な方法であると云える。

なお4回以上の注入は，時間がかかり，迅速法の趣旨にはそぐわなくなること，注入回数を取り違える恐れが出てくること，**図6**での直線性が悪くなる傾向がみられることにより，当面考えないことにした。

又，THFを使わず10μℓ試料のみを直接注入測定する方法は，硝酸ニッケルの溶解，分散性に不安があり，今回は検討の対象外とした。

30μℓ注入する方法により，改質ナフサ，分解油B（いずれも水添油）に無機ヒ素を添加調製した試料を，標準添加法により測定を行なった。

測定結果は，**表3**のとおりである。

表3

	測定値(ppb)	計算値(ppb)	回収率(%)
改質ナフサ＋無機ヒ素	5.3	5.4	98.1
〃	2.3	2.7	85.2
〃	0.4	1.5	26.7
分解油B＋無機ヒ素	1.8	2.4	75.0
〃	0.7	1.2	58.3

4. 定量限界

3項の測定結果より，試料採取量10μℓ，即ち1回注入による定量下限は，実試料測定時における検量線，S/N＝2とした場合の試料のピーク高さ，および化学分析値との比較から，8ppbが定量下限であると判断した(**表2**)。

又，試料注入操作の3回繰り返し，即ち30μℓ注入した場合の定量下限は，実試料に無機ヒ素を添加した試料を用いて測定した検量線，S/N＝2とした場合の試料のピーク高さ及び回収率から，3ppbが定量下限と判断した(**表3**)。

5. 分析精度

分解油（8ppb As-比色法）のTHF溶液，及び改質ナフサ(4ppb As-比色法)のTHF溶液に，硝酸ニッケルの50mgを添加して，標準添加法により各々5回繰り返し測定を行なった。

測定結果は，**表4**のとおりである。

表4

試料	分解油（8ppb As）	改質ナフサ（4ppb As）
採取量	10μl	10μl×3
1	7	4
2	7	4
3	6	4
4	7	5
5	7	4
$\bar{x}$	6.8	4.2
$\delta n-1$	0.447	0.447
CV%	6.58	10.64
許容差(ppb)	1.7	1.7

油中の微量ヒ素を，測定する化学分析法の精度（2回の測定値は，相対誤差10%/1～5ppb以内）と比べても，原子吸光法は遜色のない精度と考えられる。

6. 結　論

6.1　実試料を用いてフレームレス原子吸光法と吸光光度法との比較を行なった結果から，10μℓ即ち1回の注入量では，約8ppbが定量限界と判断した。

6.2　定量限界をさらに下げる為，試料注入操作を3回繰り返す，即ち30μℓ注入（累積濃縮法）した結果からは，3ppbが定量限界と判断した。

6.3　測定時間は，従来より行なっていた吸光光度法の約8時間に比べ，前処理操作がなくなった為，約1時間に短縮された。

6.4　吸光光度法に比べ，安全衛生面において格段と有利である。

7. む す び

180-80形を使用して，気づいた点は次のとおりである。

(1)　フレーム法に比べ，高感度である。従って，低濃度測定における分析時間は，フレーム法に比べ短くてすむ（分析用試料調製，約30分，測定，約30分）。

(2)　試料注入操作の熟練度により，精度が左右される。

(3)　グラファイトキュベットの使用経時変化，およびロットによる多少のバラツキを考慮すると，標準添加法による測定が望ましい。

微量分析の分野において，原子吸光分析は完全に定着しており，JIS法の各測定項目についても，吸光光度法と同等ないし置き換えられているものもある。

今回の測定結果等を考えてみても，このようにめざましく発展している装置（特に光温度制御付属装置が威力）を使ってならではの，定量下限となった感もある。

1ppbの有無を問題にする場合には，従来どおり吸光光度法で確認しているが，表題の方法においても，定性的には1ppbの有無の感触は得られているので，今後，さらに定量限界1ppbと表現し得るよう検討したい。

8. 参考文献

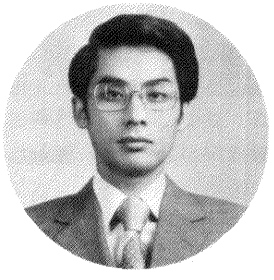
(1)　中本好一：アロマティクス　34（1982）

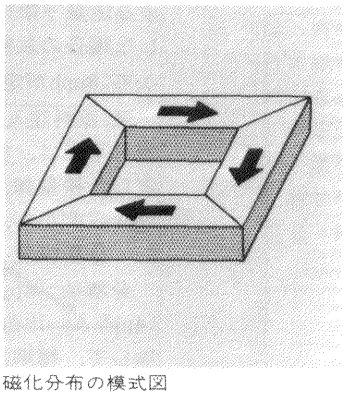
Topics

日立製作所中央研究所 外村　彰主任研究員が第28回仁科記念賞を受賞

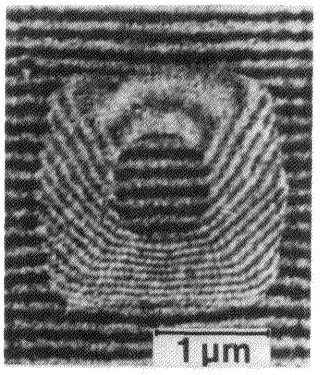
さる12月6日，日立製作所中央研究所の外村　彰主任研究員は，第28回仁科記念賞を受賞しました。

仁科記念賞は，原子物理学の分野で優秀な成果を収めた研究所に，仁科記念財団から毎年贈呈されるもので，この分野では最も権威ある賞であり，企業の研究者が受賞する例は，きわめてまれです。





磁化分布の模式図



ドーナツ状磁性体の干渉顕微鏡像

受賞の対象となった研究成果は，「電子線ホログラフィ法の開発とその応用」です。

これまでの磁場観察には，光学顕微鏡あるいは電子顕微鏡が使われていましたが，観察精度は光学顕微鏡が1000分の1ミリ，電子顕微鏡でも1万分の1ミリが限度でした。しかし外村主任研究員が開発した電子線ホログラフィ法の観察精度は，電子顕微鏡の20倍。磁力線の姿を20万分の1ミリ単位で正確にとらえることができるという画期的な観察法です。

電子顕微鏡は，電子線を物体に当て，その強さの情報だけで形状や明暗を識別しますが，電子線ホログラフィは，物体を通った電子線と通らなかった電子線をプリズムで集め，二つの線の位相から立体像を合成。電子線の強さと位相の二つの情報が得られ，合成された立体像に特定の角度でレーザー光線を当てると，位相情報だけがシマ模様で検出でき，磁力線の状態を鮮明に観察できるというものです。

また，この電子線ホログラフィは，これまで仮説とされていた「アハラノフ・ボーム効果」の実証を可能にしました。

外村主任研究員は，「磁気もれのない磁石をつくり，そこに電子線を通して実験した結果，磁場が存在しない磁石内外の空間を通った電子線にも位相が生じた」ことを確認。「アハラノフ・ボーム効果」を，世界で初めて実証しています。

U.D.C.〔543. 426:681. 785. 452〕:546. 791. 064

超微量ウランの蛍光定量 (10ppt Levelのウランの定量)

川島　敏*　嶺岸　久子**

(昭和57年10月18日受理)

1. はじめに

微量ウランの定量法としては，放射化分析法[1-2]および蛍光光度法[3-7]などが知られている。これまで，検出感度の点では，放射化分析法が優れているとされていたが，最近，レーザ励起蛍光あるいはリン光分光光度法[8-10]（例えば，Laser-induced flnorescence exitation, LIFE)が開発され，固体蛍光によるウランの分析感度が著しく向上した。

すなわち，Kaminsry[8]らは，レーザパルス光源蛍光光度計を用い，ウラニル水溶液について，H_3PO_4などの蛍光増感剤(Enhancer)を用い，10pptrから100ppmウランの定量を試みている。Perry[9]らは，アルゴンレーザを励起光源とする分光蛍光光度計を組立て，フッ化カルシウム(CaF_2)を捕集剤とし，水溶液中のウランを濃縮分離後蛍光光度法（LIFE)によりウランを定量する方法を報告しており，検出感度は10^{-5}ppbと報告されている。

また，Johnston[10]らは，色素レーザを光源とする蛍光光度法(Selective exitation of probe ion luminescence, SEPIL)により，CaF_2を捕集剤とする濃縮分離操作で検出感度0.4pptが得られた報告している。

この様に，レーザ光源の利用と濃縮分離の操作により，ウランの蛍光光度定量の分析感度はppbレベルからpptレベルへと飛躍的に向上したが，必ずしも汎用的な定量法とはいえない。

著者らは，日立650-60形分光蛍光光度計により，NaF-炭酸塩(U)の蛍光スペクトルを検討し，必要に応じ化学分離は行うが，特に濃縮操作をすることなしに10pptレベル以上のウランを定量することが出来ることを見出したので以下に報告する。

2. 実　験

装置および実験器具

蛍光スペクトル測定装置：日立650-60形分光蛍光光度計

NaF系フラックス溶融用白金皿：24mm ϕ

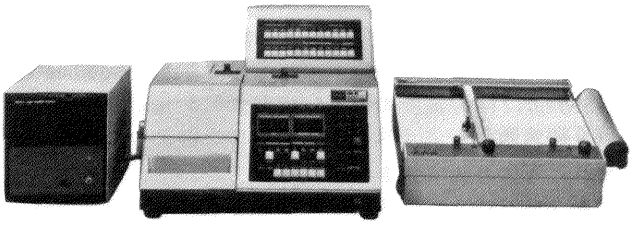
試薬：NaF　関東化学製特級

：$NaKCO_3$　関東化学製特級

ウラン標準溶液：U_3O_8(特級品)を乾燥後HNO_3に溶解，原液とし，必要に応じて希釈し，標準溶液（例えば，1ngU/ml，0.1N HNO_3溶液）とした。

イオン交換樹脂：Dowex 1×8 陰イオン交換樹脂，100～200メッシュ

化学分離操作：SiO_2，Al_2O_3など無機材料は，HF-HNO_3混酸あるいはアルカリ溶融などにより水溶液とする。有機材料あるいは無機-有機複合材料は，灰化後酸またはアルカリ溶融により溶液とし，必要に応じて，陰イオン交換によりウランを化学分離する。



650-60形日立分光光度計

NaF-炭酸塩(U)溶融体の調製：ウランを含む希硝酸溶液を白金皿にとり，蒸発乾固する。これに予め調製しておいたNaF-$NaKCO_3$フラックス（例えば，2g）を加え，メッケルバーナなどにより溶融し，NaF-炭酸塩（U）溶融体を作製する。

分光蛍光光度測定：上記蛍光光度計により，励起光についてはSLIT 10nm, Filter UV-D25あるいはコーニング9863，蛍光側では，SLIT 10nm, Filter UV-39にセットし，励起光（280nm or 365nm）を試料に照射し，蛍光側の波長をスキャンし，蛍光スペクトルを求めた。

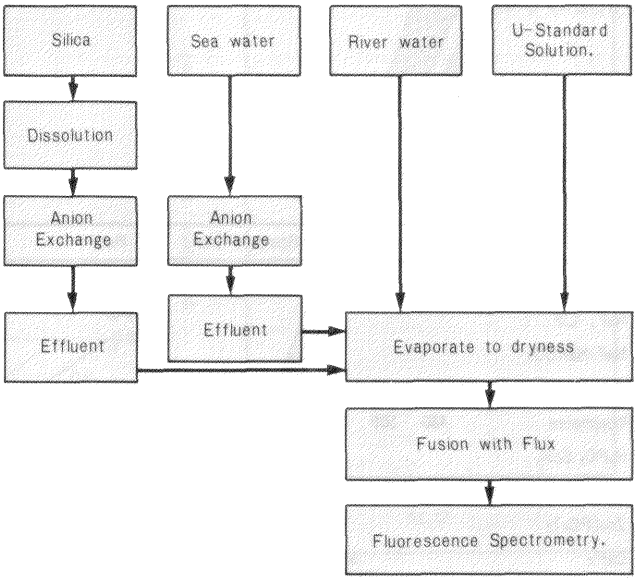


図1　ウランの定量分析法
Analytical Scheme for Determination of Uranium by Fluorescence Spectrometry.

*　日本通信技術株式会社 材料開発部
**　日立製作所　那珂工場 応用技術センタ

4th微分スペクトルを求めるに当っては，

励起光側 SLIT 15nm，Filter（前出），

蛍光側 10nm，FILTER（前出）

$\Delta\lambda$＝5nm， SCAN SPEED 30nm/min

などの条件とした。

実験の概略を**図1**に示す。

3. 結果と考察

3.1 NaF-炭酸塩(U)溶融体の蛍光スペクトル

これまでに報告されたウランの蛍光スペクトルは，つぎの二つに集約される。

すなわち，アルカリフッ化物系をホストとするウランの蛍光にみられる，555nmを中心とした蛍光スペクトル[11]を示すグループとウラニル塩水溶液などにみられる500nmおよび520nmに相対強度の大きい蛍光スペクトルを示すグループとである。

それらをまとめて**表1**に示した。

微量ウランにより活性化されたNaFおよびLiFがウラニル塩の蛍光よりも強い蛍光を示すことを見出したのは，NicholsおよびSlattery[11]であるが，中西[12]は，NaFビーズ(U)によるウランの蛍光による定量法を検討し，蛍光スペクトルにみられるピークの相対強度を報告している。

そのほか，アルカリフッ化物をベースとした$NaKCO_3$溶融体(U)などに関した数多くの報告[3-5),7),13-14)]がなされており，波長555nmにおける蛍光強度からppbレベルの微量ウランを定量する技術は略々確立されているといえる。

一方，ウラニル塩の水溶液[8]やリン酸塩(U)[6),15)]の示す蛍光スペクトルは，蛍光バンドの位置が前者のNaF(U)系のそれに比し，低波長側にシフトしており，相対強度も異なる。

Kaminskyら[8]は，ウラニル水溶液にリン酸(10%とする)を加え，蛍光の増感を行い，100ppmから10ppt におよぶ微量ウランを定量出来るとしているが，特殊な装置を必要とし汎用的でない。

表1 ウランの蛍光スペクトルのピーク
Fluorescence Spectra of Uranium

Host	Peaks of Emission Spectra (nm)						Ref.
NaF System	510	535	555	578	602	620	Nichols[11]
NaF, LiF							3-5)
NaF-$NaKCO_3$							7)
NaF-Na_2CO_3							12-14)
Phosphates	480	500	520	540	570	600	
H_3PO_4 Soln.							Kaminsky[8]
$M(UO_2)_2(PO_4)_2nH_2O$							Sugitani[6]
$Zn_3(PO_4)_2$							
CaF_2			521.25				Johnston * *[10]
CaF_2			530				Perry * *[9]

* SEPIL：Selective excitation of probe ion luminescence.
* * LIFE：Laser-induced fluorescence excitation.

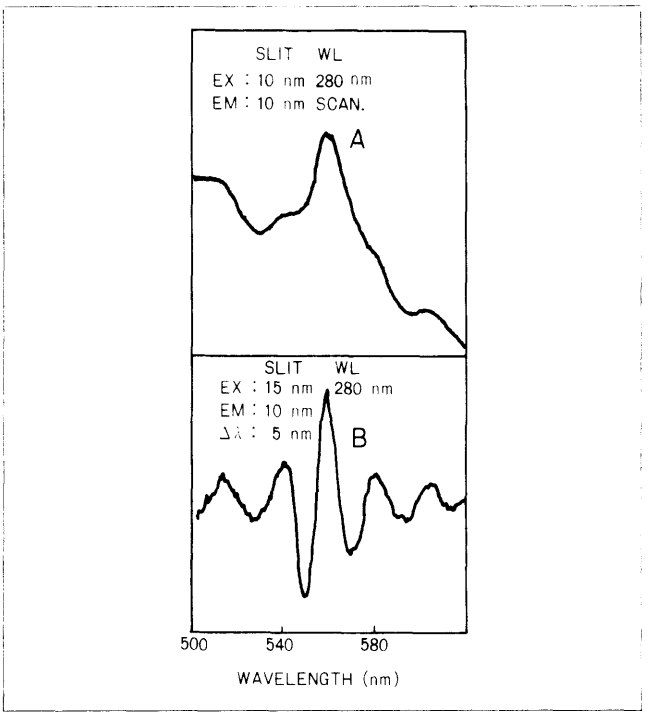


図2 ウランNaF-炭酸塩溶融体の蛍光スペクトルと4次微分スペクトル
Fluorescence spectra of uranium in fused fluoride-carbonate mixture. U：0.1 ng, A：Normal spectrum and B：4-th derivertive spectrum.
(FILTER：EX：UV-D25, EM：UV-39)

さらにPerryら[9]およびJohnstonら[10]は，CaF_2にウランを共沈させ，熱処理したCaF_2(U)にレーザ光を照射し，発光される蛍光スペクトル(例えば，521.25nmあるいは530nm)から超微量ウラン（pptレベル）を定量できるとしているが一般的でない。

著者らは，NaF-$NaKCO_3$(U)溶融塩の蛍光スペクトルを検討し，励起光の波長および溶融塩の調製法により多少スペクトルを異にするが，蛍光のピークは，510，535，555，578，602および620(いずれもnm)に観測され，555nmが支配的であることを確かめた。

図2に，0.1ngウランをドープしたNaF-$NaKCO_3$溶融体の蛍光スペクトル(A)およびその4次微分スペクトル(B)を示す。

3.2 蛍光スペクトルに影響を及ぼす因子ホストについて

ウランの蛍光スペクトルは，溶融体つまりホストの種類により若干異なる。これまでに，NaF，LiF，Na_2CO_3およびK_2CO_3などアルカリフッ化物-アルカリ炭酸塩の複合塩をホストとする研究がなされており，Na(Li)F量が増大するにつれて蛍光強度は増大するが，溶融温度が高くなり，白金の混入による妨害の問題が生じてくる。

結局，ここでは，NaF：$NaKCO_3$＝1：9（重量%）として，種々の検討を行った。

溶融塩調製条件

ウラン水溶液の蒸発乾固条件，溶融条件などを検討した。ウラン水溶液の蒸発乾固は，70℃～80℃で行うのがよく，急激な蒸発乾固は，蛍光強度のバラツキを生む。

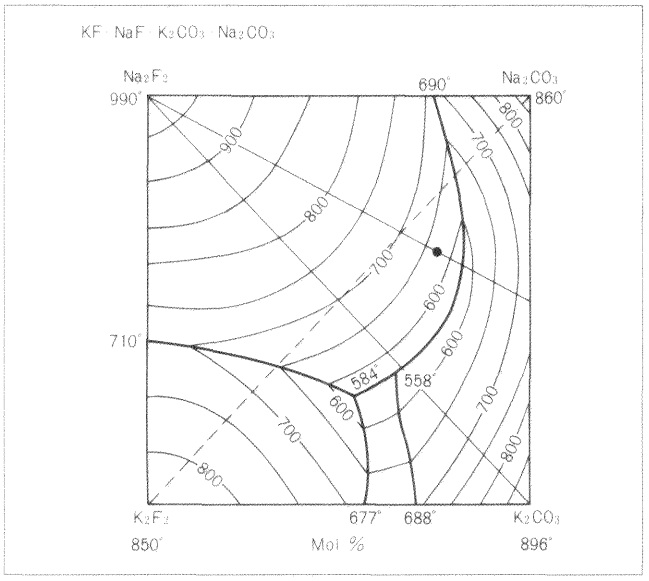


図3 NaF-NaKCO₃の状態図　Phase diagram of NaF-NaKCO₃ 1863.-K_2F_2-Na_2CO_3-Na_2F_2 and K_2F_2-Na_2CO_3-K_2CO_3; reciprocal salt pairs, ternary systems.
R.N.Nyankovskaya, Doklady Akad. Nauk S.S.S.R.,83, 420(1952)

溶融温度，溶融時間は，溶融塩の組成により異なる。**図3**から明らかな様に，NaF-NaKCO₃＝1：9（重量%）はモル比で1：3に相当し，融点は630°C程度である。この温度は，メッケルバーナなどによって容易に達成され，数分でウランは溶融塩中に移行する。

同溶融体を冷却すると固化するが，その際冷却速度により，蛍光強度は大きく変化する。一般に急冷する程蛍光強度は増大するが，バラツキが大きくなる。

鉄板上で白金皿を急冷(冷却速度Ⅰ)する場合，溶融固化試料の面内の位置による変動は，変動係数で6%程度であり，試料間の蛍光の変動も略々同程度(6～7%)である。

それらの一例を**図4**に示した。

溶融塩の入った白金皿をアスベスト上で空冷（冷却速度Ⅱ）する場合は，蛍光強度は，冷却速度Ⅰのそれに比し若干減少するが，蛍光強度の変動は少なくなる。

ウラン0.2ng～0.8ngについて，冷却速度Ⅰで溶融固化した試料について得られた蛍光スペクトルの一例を**図5**にかかげた。

励起光によるスペクトルの変化

蛍光波長さ555nmとし，スリット幅を5nmとし励起光をSCANしながら，励起スペクトルを求めた。その結果，励起光の波長ピークは280nm付近にあることがわかり，ウランの定量には，励起光の波長を280nmに固定した。しかし，励起光の波長を280nm→400nmとすると，若干異なった蛍光スペクトルが観測される。

3.3 検量線

NaF-NaKCO₃(U)溶融塩による蛍光スペクトルは，溶融

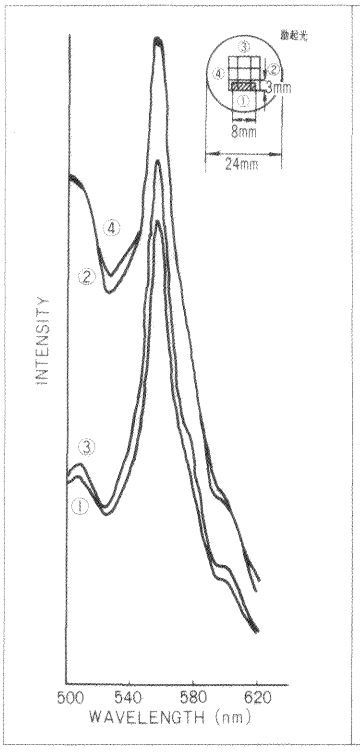


図4 ウラン溶融固化試料の測定位置によるスペクトルの変化
Local variation in the fluorescence of uranium in the melts. 0.5 ng U respectively.

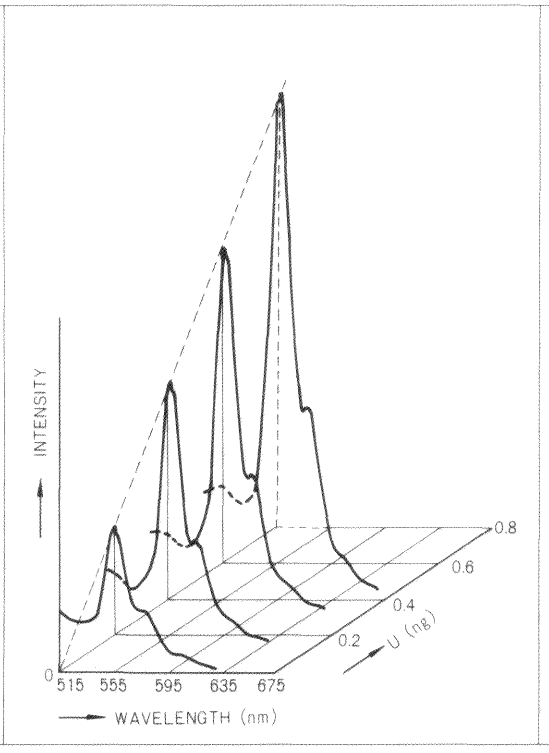


図5 ウラン溶融固化試料の蛍光スペクトル
Fluorescence spectra of uranium in fused fluoride-carbonate mixture.

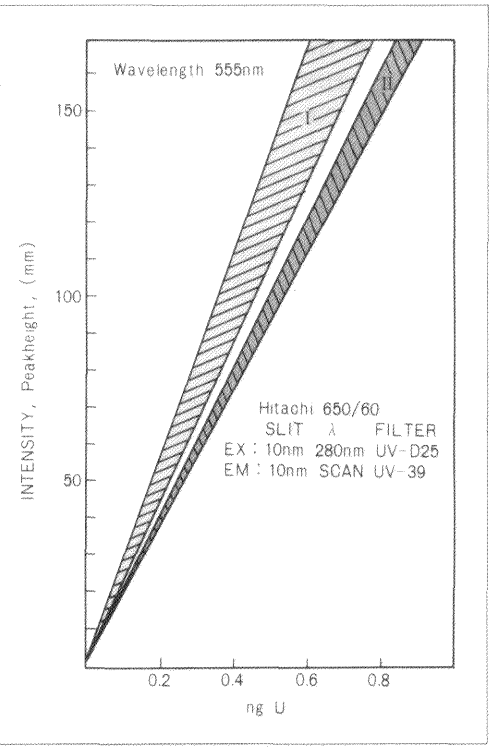


図6 ウランの検量線
calibration curves

塩の組成，溶融条件を一定にすれば，ウランの量にのみ依存する。

ウラン0.1～0.8ngについて，冷却速度IおよびIIにおいて作製した試料について測定した分光蛍光スペクトルの，555nmピークにおける蛍光強度のウラン濃度依存性を**図6**に示した。

3.4 超微量ウランの定量-応用例

高純度シリカ中のウランの定量

VLSIパッケージの材料として，ウランフリーの高純度材料の開発が望まれているが，高純度シリカ（天然および合成）は有力な候補材料である。シリカA（高純度合成石英約1g）およびシリカB（天然溶融石英約0.03g）の2種類について，分析法を検討した。いずれも，陰イオン交換操作によるウランの分離を必要とする。

海水中のウランの定量

海水を直接蒸発乾固し，フラックスによる溶融を行い，蛍光スペクトルを求めると異常なスペクトルが観測され，定量ができない。海水0.0mℓおよび0.2mℓを採取し，7N HNO_3溶液とし，陰イオン交換を行った溶離液を蒸発乾固した試料について，フラックスによる蛍光分析を行ってはじめて正確な分析ができる。

河川水中のウランの定量

河川水1mℓを蒸発乾固し，フラックスによる蛍光分析を行うと蛍光強度が弱く，正確な定量ができない。この場合，10mℓ程度の河川水を採取することにより，定量できる。その一例を**図7**に示した。

以上の分析例を**表2**にまとめた。

4. おわりに

以上，NaF-$NaKCO_3$(U)溶融体に紫外線を照射し，分光蛍光度測定を行うことにより0.1ngレベルの超微量ウランの定量が可能であることを示した。

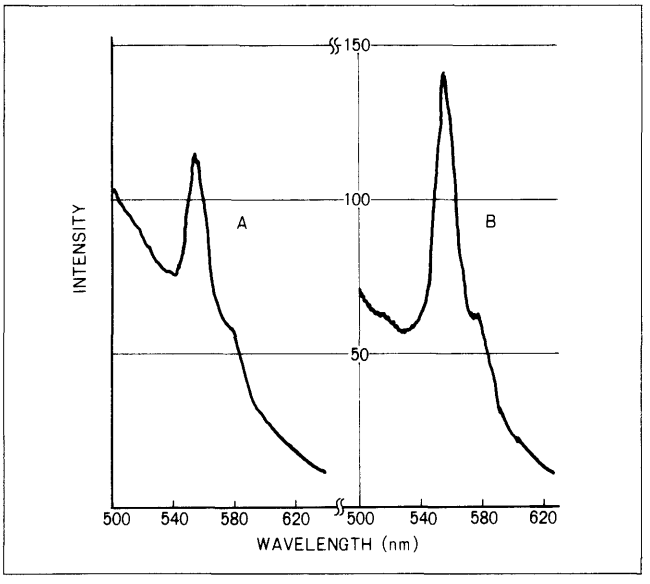


図7 河川水中のウランの蛍光スペクトル
Fluorescence spectra of uranium.
River water samples, A(10mℓ) and B(20mℓ).

表2 蛍光法によるウランの定量結果
Determination of Uranium By Fluorescence Spectrometry.

Samples	Amount of sample	Uranium		N.B.
		found (ngU)	Concentration (ppb)	
Silica				
A	1.19g	1.15	0.96	Synthetic S.
B	53.6mg	0.63	11.8	Fused S.
Sea water				
A	0.1ml	0.45	4.5	Oarai, Japan
B	0.2ml	0.63	3.2	
River water				
A	10ml	0.37	0.037	Naka, Japan
B	20ml	0.67	0.034	Kuji, Japan

これは，必要に応じ，予めウランの化学分離を行うことにより，1～10g程度の試料で，100～10pptレベルのウランを定量することができることを示唆するものである。

同分析法により，高純度シリカ，海水および河川水中のウランの分析を行い，1ppb, 3ppbおよび0.04ppb（40ppt）などの値を得た。

参考文献

1) H.Hamaguchi, G.W. Reed and A.Turkevich : Geochimica et Cosmochimica Acta, **12**, 337(1957).
2) G.W. Reed, H.Hamaguchi and A. Turkevich : Ibid., **13**, 248(1958).
3) G. R. Price, R.J. Ferretti and S. Schwartz : Anal. chem. **25**, 322(1953).
4) 青山安雄，日化誌, **82**, 336(1961).
5) 赤石準，矢部明，JAERI-memo 3622(1969)
6) 藤波雅久，長島弘三，杉谷嘉則，分析化学，**28**, 618 (1979).
7) 本間中八郎，黒沢賢，川島泉，山脇正隆，田中尚武，研究実用化報告, **29**, 1557(1980).
8) R. Kaminsky, F.J, Purcell and E. Russavage, Anal, Chem : **53**, 1093(1981).
9) D. L, Perry, S. M, Klainer and H. R, Bowman, F. P. Milanovich, T. Hirschfeld and S. Miller, Ibid., **53** 1048(1981).
10) M. V. Johnston and J.C, Wright, Ibid., **53**, 1050(1981).
11) E. L, Nichols and M.K, Slattery, J. Opt. Soc. Am., **12**, 449(1926).
12) Masaki Nakanishi, Bull, Chem, Soc, Japan, **23**, 61, (1950).
13) C. J. Rodden, Anal, Chem., **25**, 1958(1953).
14) F. A, Centanni, A.M, Moss, M.A, Desesa, Ibid., **28**, 1651(1956).
15) Y. Sugitani, K.Kato and K.Nagashima : Bull. Chem. Soc. Jpn., **52**, 918(1979).

U.D.C.〔543. 544. 42. 084. 83:543. 38〕:632. 951:547. 564. 3'118. 5'22. 064

熱イオン化検出器付きガスクロマトグラフィによる排水中有機リン系農薬の迅速定量法

竹原　裕子*　平塚　豊*

（昭和57年10月22日受理）

1. 緒　言

「水質汚濁防止法」ならびに「廃棄物の処理および清掃に関する法律」で排出が規制されているパラチオン，メチルパラチオン，EPNおよびメチルジメトンの分析には，これらを試料溶液からn-ヘキサンで抽出した後濃縮し，ガスクロマトグラフィまたは吸光光度法で定量するという方法が用いられている。しかしこれらの方法は，i）前処理に時間がかかる，ii）低濃度試料の場合は抽出による回収率が必ずしも良くない，iii）濃縮時の加熱操作により分解の恐れがあるなどの問題点があった。上記のような欠点をなくし，また迅速に分析するには，水試料を直接ガスクロマトグラフに注入して定量することが最も望ましい。しかし油溶性の有機リン系農薬は，排水中に懸濁する油分に高濃度に分配されて偏在している可能性がある。そのため通常は，濃縮を兼ねてn-ヘキサン抽出等の前処理が行われている。それに対して著者らは溶媒抽出とは逆に，試料にアセトンを添加して，有機リン系農薬の水層（水-アセトン層）への分配率を上げることによって試料の均一化を図り，水試料を直接ガスクロマトグラフに注入して定量する方法を検討した。簡便な前処理法の検討，水溶液試料において良好な分離が得られるカラム充填剤の選択，リンに対して高感度な熱イオン化検出器の採用により，20分以内に，有機リン系農薬を排出規制の$\frac{1}{10}$の濃度（0.1mg/ℓ）まで定量できる迅速な分析法を確立した。

2. 実験装置

実験には，日立製163形ガスクロマトグラフを使用した。検出器は日立製熱イオン化検出器で，リン，窒素を含む化合物を，以下の原理により高感度に検出する。即ち，ガスクロマトグラフのカラム出口ノズルジェットとコレクター間に配したアルカリビーズ（R_b塩）に直接電流を流して加熱することにより，ビーズ周囲のH_2をHプラズマに変える。H_2はカラム分離後の試料と共に少量，ジェットより放出される。リン，窒素を含む試料成分は，Hプラズマ中でCN，PO_2などのラジカルを生成し，さらにアルカリビーズのR_b原子から電子を受けて陰イオンとなり，コレクターへ移動，その電流が検出される。

なお，アセトン添加後の試料水の混合には，超音波洗浄器（超音波工業製，USC-35Z40S形，出力35W，周波数41 kHz）を使用した。

3. 結果および考察

3.1 前処理法の検討

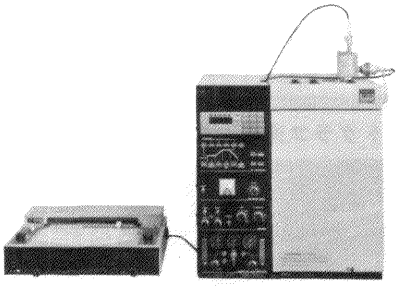
試料水中に油分が懸濁している場合を想定し，鉱，植物油が共存した場合の有機リン系農薬の試料水層への分配率を求めた。分配係数は以下の方法により算出した。即ち，有機リン系農薬を濃度100mg/ℓになるように各種油に溶解し，その5mℓと1g/ℓ Na_2SO_4水溶液50mℓを分液ロート中で5分間混合する。上記$NaSO_4$は，実試料中に最大1g/ℓ程度共存する可溶性塩類の代替である。静置して2層に分離後，油層および水層の有機リン系農薬の濃度を，3.4項のガスクロマトグラフ測定条件で定量し，次式により分配係数を求めた。結果を**表1**に示す。

$$\text{分配係数}(K_c)=\frac{C_I}{C_{II}}$$

但しC_I：水層中の農薬濃度
C_{II}：油層中の農薬濃度

なお，有機リン系農薬の水層への分配率を上げる手段として，試料水に等量のアセトンを添加することを試みた。上記の1g/ℓ Na_2SO_4水溶液を水-アセトン（1：1$\frac{V}{V}$）溶液（Na_2SO_4含有）に変え，同様の方法で求めた分配係数を，同じく**表1**に示す。

有機リン系農薬の溶解性が良い植物油の共存は，農薬の水層への分配を低下させるが，アセトンの添加により水層



熱イオン化検出器を装着した163形日立ガスクロマトグラフ

表1 有機リン系農薬の分配係数

溶媒		分配係数（K_c）†		
		パラチオン	EPN	メチルジメトン
水（1g/ℓ Na_2SO_4含有）	大豆油	<0.001	<0.001	
	米ぬか油	<0.001	<0.001	
	ケロシン	0.002	0.004	
	スピンドル油	0.002	0.001	
水-アセトン（1：1$\frac{V}{V}$）（1g/ℓ Na_2SO_4含有）	大豆油	0.02	0.01	3
	米ぬか油	0.04	0.05	3
	オリーブ油	0.02		4
	ケロシン	0.07	0.02	3
	スピンドル油	0.3	0.2	＞5
	真空ポンプ油	0.6		＞5

† $K_c=\frac{C_I}{C_{II}}$　但しC_I：水層または水-アセトン（1：1$\frac{V}{V}$）層中の農薬濃度
C_{II}：油層中の農薬濃度

* 日立製作所　生産技術研究所

への分配係数が10倍以上向上する。ところで，排水汚濁防止法に基づく油分の排出規制濃度は，鉱物油5mg/ℓ，動植物油15mg/ℓである。水-アセトン層への農薬の分配率を0.01としたとき，仮りに排水中に100mg/ℓの油分が共存したとしても，油分への分配による試料水（水-アセトン層）中の農薬濃度の低下率は1％にすぎない。これはガスクロマトグラフによる定量の際の，マイクロシリンジを用いた試料採取のバラつきに比べて無視できる誤差といえる。そこで前処理法としては，試料に等量のアセトンを添加後，超音波照射による混合を行い，懸濁物質を遠心分離除去することとした。

3.2 ガスクロマトグラフ充塡剤の検討

水-アセトン混合液（1:1$\frac{V}{V}$）にパラチオン，メチルパラチオン，EPN，メチルジメトンを夫々1mg/ℓ含む標準試料を1μℓガスクロマトグラフに注入し，各種充塡剤について分離性能を検討した。ポリマービーズ充塡剤のうちクロモソルブ101，ポラパックQは使用限界温度の点で不適当，テナックスGCはパラチオン，メチルパラチオンの分離が不可能であった。分配形充塡剤のうちsilicon OV-1を用いた場合は溶媒のテーリングが大きく，低濃度のメチルジメトンピークが消失してしまうが，silicon DC-QF1 では良好な分離が得られた。なお，水試料を直接注入する方法を採用したことにより，水溶性塩類も同時に注入されることになる。不揮発性物質が注入口付近に残留するため，カラム先端5cmまで石英ウールを充塡しておき，時々取換える必要がある。

3.3 ガスクロマトグラフ検出器条件の検討

熱イオン化検出器（FTD）は炎光光度検出器（FPD）に比べ，リンに対して高感度ではあるが，炭化水素との選択比が劣る。しかし，ノズルジェット（アルカリビーズ）への印加電圧を切断すれば，炭化水素の感度のみ極端に低下する。FTDガス流量，ビーズ電流，ノズルジェット印加電圧を変えて有機リン，有機窒素，炭化水素の相対検出感度を求めた結果を**表2**に示す。表中の感度値は，条件1-ノズルジェット電圧－200V（標準的な条件）におけるリン1moleの感度を100とした時のP，N，CH各1mole当りの相対感度で示した。

著者らが採用したガスクロマトグラフ分離条件では，メチルジメトンの保持時間が短く溶媒ピークのテーリング上に重なり，十分なS/N比が得られない。そのため検出器条件の設定においては炭化水素との選択比を重視する必要があり，窒素化合物との選択比を多少犠牲にして，条件2－ノズルジェット印加電圧0Vという条件に決定した。なお，ノズルジェット印加電圧0Vで作成した検量線は，印加電圧-200Vの場合に比べて低濃度で飽和してくる傾向があるが，0.1～数10mg/ℓでは完全な直線が得られた。

表2 有機リン系農薬，有機窒素，炭化水素の感度に与える熱イオン化検出器条件の影響

検出器条件		化合物	相対感度† ノズルジェット電圧－200V	相対感度† ノズルジェット電圧－0V
1	H_2:10mℓ/min	パラチオン	100	20
	Air:100mℓ/min	カフェイン	0.7	0.2
	ビーズ電流:1.5A	n-アイコサン	5×10^{-2}	4×10^{-3}
2	H_2:4mℓ/min	パラチオン	100	25
	Air:100mℓ/min	カフェイン	2	1
	ビーズ電流:1.7A	n-アイコサン	8×10^{-3}	6×10^{-4}
3	H_2:3mℓ/min	パラチオン	75	13
	Air:75mℓ/min	カフェイン	2	1
	ビーズ電流:1.7A	n-アイコサン	4×10^{-3}	3×10^{-4}

† 条件1-ノズルジェット電圧－200VにおけるP1moleの感度を100とした時のP，N，CH各1mole当りの相対感度

3.4 確立した方法および実試料の測定結果

以上の検討結果をもとに，排水中の有機リン系農薬の分析法を以下のように決定した。即ち，試料水50mℓを200mℓのビーカーに正確に採取し，等量のアセトンを添加後，さらに水-アセトン混合液（1:1$\frac{V}{V}$）を加えて正確に100mℓとする。これに3～5分間超音波を照射して混合し，その一部または全部を遠沈管に移し，5分間遠心分離（3000～4000 RPM）する。マイクロシリンジを用いて水-アセトン層の1μℓを分取し，ガスクロマトグラフィーで定量を行う。ガスクロマトグラフ測定条件は以下のとおり。分離カラム：2％silicon DC-QF 1（担体:80～100メッシュ Gaschrom Q）を3mmφ，2mガラスカラムに充塡。注入口および検出器温度:250°C。カラム温度:210°C。キャリヤーガス流量：He40mℓ/min。検出器条件：$H_2$4mℓ/min, He7.5mℓ/min, Air100mℓ/min，ビーズ電流1.7A，ノズルジェットに印加電圧なし。

上記条件で得られた有機リン系農薬4成分のガスクロマトグラムを**図1**に示す。試料に等量のアセトンを添加するため2倍に希釈されることになるが，排水中の0.1mg/ℓの有機リン系農薬を検出可能である。

2種の工場排水（めっき排水および生活排水）に各種有機リン系農薬を1.0mg/ℓ，大豆油を100mg/ℓになるように添加した試料を作成し，確立した方法を用いて5回の繰返し測定を行った。得られた結果を**表3**に示す。

また，めっきスラッジ，活性汚泥スラッジの溶出液にパラチオンを1.0mg/ℓになるように添加し，本法により定量したところ回収率96～105％と良好な結果が得られた。廃棄物有害性の判定に本法が適用可能と考えられる。

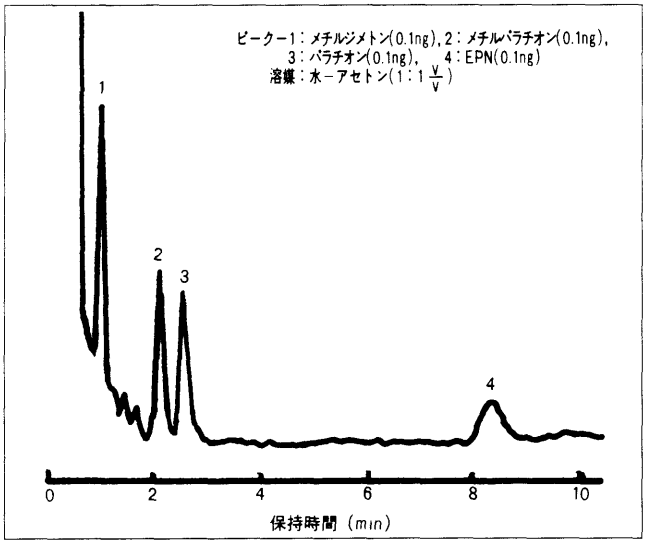


図1 有機リン系農薬のガスクロマトグラム

表3 大豆油100mg/ℓを含む工場排水中の有機リン系農薬の分析結果

有機リン系農薬添加量(mg/ℓ)		工場排水1		工場排水2	
		回収率(%)†	C.V.(%)	回収率(%)†	C.V.(%)
メチルジメトン	1.0	102	8.7	97	5.3
メチルパラチオン	1.0	100	3.4	101	4.9
パラチオン	1.0	100	4.6	99	4.5
EPN	1.0	106	6.8	100	2.7

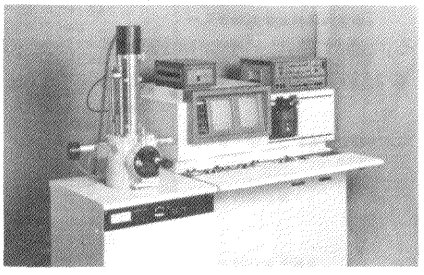
† 5回くり返し測定の平均値

4. 結 言

排水試料に等量のアセトンを添加し，懸濁油中に偏在する有機リン系農薬の水層への分配率を上げ，水試料を直接ガスクロマトグラフに注入し，高感度FTDを用いて定量する迅速分析法を確立した。本法の定量下限は排出規制濃度（1 mg/ℓ）の$\frac{1}{10}$，1 mg/ℓの有機リン系農薬について回収率99～106%，変動係数は2.7～8.7%であった。なお分析所要時間を20分程度に短縮できた。

Topics

表面像と表面下像を同一視野で同時観察 Therma Wave社 101形 熱波顕微鏡



S-520形日立走査電子顕微鏡に装着した101形熱波顕微鏡

電子ビームを断続的に試料の表面に照射することにより，試料表面に周期的な加熱が起り，熱波が試料表面下に拡散します。この時試料表面下に熱的な境界，障壁，あるいは熱電導度の異なる状態が存在すれば，熱波の伝播に影響が現れます。この信号を超音波を媒体として検出し，電子ビームの試料面上走査と同期させて走査像としてCRT上に表示することにより，試料表面下の熱波顕微鏡像が観察されます。

電子ビームが試料面上を走査している時の反射電子像や二次電子像も得られますので，試料表面の微細構造と，超音波検知熱波像による表面下像を同一視野でしかも同時に観察できます。

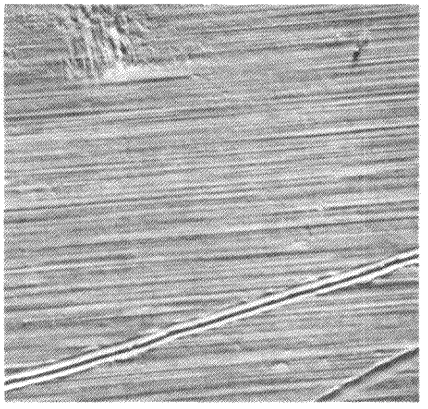
■用 途

1. 半導体関連試料の非破壊分析

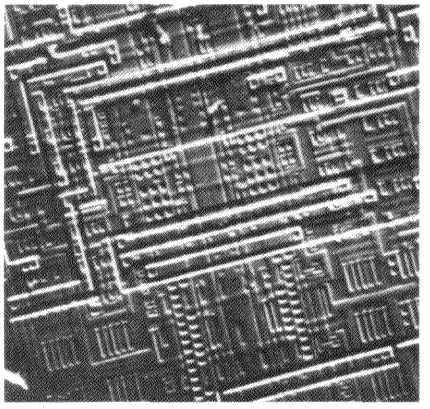
- マイクロクラック，はがれの検出
- ボンディングの良否判定
- ダイアタッチの良否判定
- ドーパント領域の検出と評価
- エピ層その他薄膜の膜厚・膜質評価
- マスクの重ね合わせの支援手段

2. 金属材料分野における表面下観察

- 表面直下の結晶粒界の観察
- 表面直下の種々のストレス解析



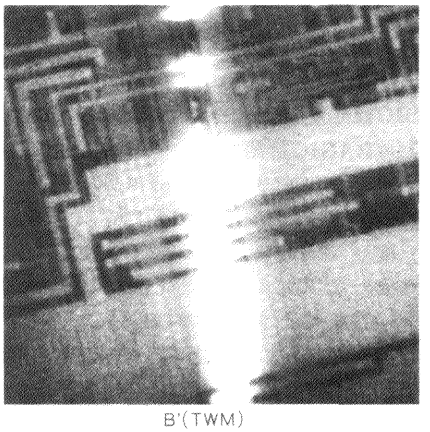
A(RE)



B(RE)

A'(TWM)

AA'；ステンレスの反射電子像と表面下結晶粒像



B'(TWM)

BB'；半導体デバイスの反射電子像と表面下マイクロクラック像

■仕 様

(1) 変調周波数：64kHz～2048kHz

(2) 解像度：試料の熱伝導度，密度，比熱，変調周波数により異なる。Si基質で3μ，GaAs基質で1μ。

(3) 深度：熱波波長に依存。通常表面直下から5μまで。

(4) 構成：
超音波検知トランスデューサープリアンプ。
データコントロールユニット
ビームブランカー電源ユニット

(5) SEMとの組み合わせ
静電形ビームブランカーをもつ走査電子顕微鏡。

U.D.C. 681.785.423.2.087.9:681.322-181.48

解　説

228形日立ダブルビーム分光光度計とその応用（パーソナルコンピュータを内蔵した分光光度計・その2）

小森　律夫*　合田　淳子*　田島　活利**　秋友　信雄*　根本　勲*　遠山　恵夫*

（昭和57年10月5日受理）

1. はじめに

先号では紙面の関係上，228形ダブルビーム分光光度計の応用例についてのみ述べ，本機の大きな特長であるユーザープログラマブルについては割愛させていただいたので，今号でこれについて報告する。

2. ユーザープログラマブルについて

先に228形ダブルビーム分光光度計（以下228形と略す）の諸機能については詳しく述べたので省略する。先号にて説明したように通常の測定には従来の分光光度計として用いるが，本機の特色は伝統的な機能の固定化に対して，融通ある自在性をもたせたところにある。パーソナルコンピュータはその内部にマイクロコンピュータを持ち，ユーザー個人が独自に希望のプログラムを組むことができるもので，プログラム言語としてBASIC言語を使用している。プログラムを作成する上で，機械語に比べて人間の使用する言語により近いものである。BASIC言語では人間とコンピュータがプログラムを1行ずつ伝えたり返事をしたりする仕組みになっており，プログラムの間違いの発見や修正が容易にできるという利点がある。

図1には本装置のメモリマップを示す。機械語の他にBASIC言語が使用でき，特にCRTへの表示やキー入力操作などはBASIC言語でプログラムされている。光度計制御用のプログラムを3つのBankに分けて同じアドレスに配置し，Bank切替方式により交互にプログラムをアクセスしている。

電源が入ると，まずBASICのイニシアライズが実行される。これにより分光光度計は波長の校正や，ベースラインの自動補正を自動的に行い，共通フラグ，共通プログラムエリアに現在の測定条件や基本的な演算サブルーチンを格納する。

これらの信号処理は全てオペレーティングシステムによって時系列的な並列処理により行われる。BASIC言語で作成したプログラムは，実行を一度停止して，プログラムを変更したあと，もう一度再スタートさせることができる。また，一旦停止されても，共通フラグ，共通プログラムエリアの内容を読み出したり（PEEK命令），メモリの内容を書きかえたり（POKE命令），あるいは基本的な演算プログラムを実行（EXEC命令）させることが可能である。しかもこれらの命令は全てBASIC言語でプログラムができるように工夫されているのでユーザーが独自にプログラムを作成できるようになった。

本装置で公開している共通フラグは37項目で，例えば現在の測光モードは&H6DB0番地に格納され，その数字が，0であれば透過率，1ならば吸光度測定である。この番地の内容を書きかえるには，BASIC言語のPOKE命令で実行できる。

また，公開している共通サブルーチンは19項目で，その一例としてCRT画面を記録計にハードコピーする場合は&

228形日立ダブルビーム分光光度計

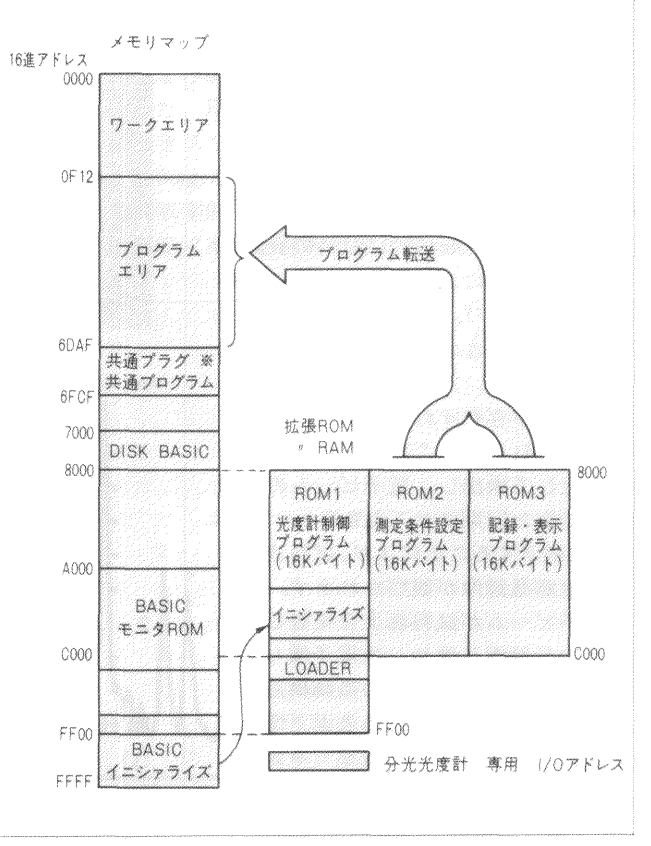


図1　228形のメモリマップ

*　日立製作所　那珂工場
**　日立製作所　横浜工場

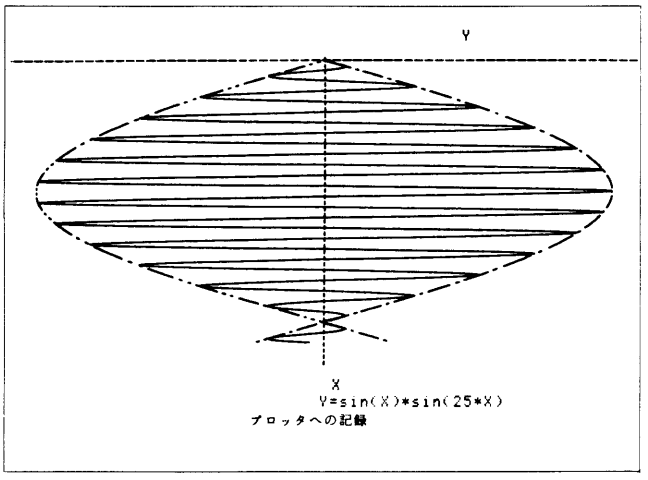


図2　Y＝Sin(X)＊Sin(25＊X)の図形

H6EF1番地以降の機械語サブルーチンを実行すればよい。この場合，BASICプログラムではEXEC＆H6EF1と命令すればよい。更に，パーソナルコンピュータの機能を効果的にするため，ミニフロッピーデスケットやプリンタ，CRTなどが必要となるが，本装置では，これらはいずれも標準内で内蔵している。

ユーザープログラマブルな状態においては，測光値，現在の波長値および通電直後からの経過時間の3種のデータは，ユーザー関数としてあらかじめ作成されており，ユーザープログラムの上では測光値や波長は，その他の変数と同様に扱うことができる。例えば測光値はUSR 9 (1.0) と定義されているから，PRINT 30＊USR 9 (1.0)，1/USR9 (1.0) と命令すれば測光値を30倍した値，および測光値の逆数がCRTに表示される。**図2**には，Y＝Sin(X)・Sin(25X)の図形を，グラフィックプリンタ上に画いた例である(CRTは画面サイズが12インチ，分解能は640×200点でグラフィックタイプ)。そのサンプルプログラムを**図3**に示したが，比較的簡単な作成手順で，このような作画が実行できる。

3.　6価クロムの分析

ジフェニルカルバジド法による6価クロムの検量線の作成に於いて，定量演算用プログラムのcorrelationを選び，相関図を求めることができる。**図4**に示すようにCRT画面上に相関図作成のための表が現われる。試料をセットし，濃度値を入力すると(60個まで入力可能) CRT画面上の表に書きこまれ，かつ記録計上に吸光度と濃度が印字される。"Graph"キーを押せば**図5**のようにCRT画面上に一次直線

```
10 A1=500
20 A2=100
30 A3=0
40 GOSUB 8000
50 A1=500
60 A2=1200
70 A3=4
80 GOSUB 8000
90 A1=10
100 A2=-1200
110 GOSUB 8000
120 A1=990
130 A2=0
140 A3=2
150 GOSUB 8000
160 A1=500
170 A2=0
180 A3=0
190 GOSUB 8000
200 A3=5
210 FOR I=1 TO 1100
220 A1=INT(SIN(I/325)*450*SIN(I/13))+500
230 A2=1
240 GOSUB 8000
250 NEXT
260 FOR J=-1 TO 1 STEP 2
270 A1=500
280 A2=-1100
290 GOSUB 8000
300 A3=J+2
310 FOR I=1 TO 1100 STEP 2
320 A1=INT(J*SIN(I/325)*450)+500
330 A2=2
340 GOSUB 8000
350 NEXT I
360 NEXT J
370 A1=700
380 A2=-1200
390 A3=0
400 GOSUB 8000
410 OPEN"O",#1,"LPT0:"
420 PRINT#1,"Y"
430 CLOSE#1
440 A1=500
450 A2=1300
460 GOSUB 8000
470 OPEN"O",#1,"LPT0:"
480 PRINT#1,"X"
490 PRINT#1,"
                    Y=sin(X)*sin(25*X)"
500 CLOSE#1
510 END
8000 A4=INT(A1/256)
8010 POKE &H6E7F,A4
8020 A4=A1-A4*256
8030 POKE &H6E80,A4
8040 IF A2<0 THEN A2=256^2+A2
8050 A4=INT(A2/256)
8060 POKE &H6E81,A4
8070 A4=A2-A4*256
8080 POKE &H6E82,A4
8090 POKE &H6E83,A3
8100 EXEC &H6F10
8110 RETURN
```

ペンを紙面中央に移動する。
X軸を点線で書く。
ペンをy軸の左側まで移動する。
Y軸を破線で書く。
ペンを原点まで戻す。
実線記録モードにする。
y = sin(x) · sin(26x) を記録する。
y = −sin x を2点鎖線
y = sin x を1点鎖線で
記録する。
"Y" を記入するためペン位置を移動
"Y" を書き込む
"Y = sin(X) ＊ sin(25 ＊ X)" を記入するためペン位置を移動
"Y = sin(X) ＊ sin(25 ＊ X)" を書き込む。
Yの前にスペースを30個入れることを忘れないでください。
プロッタ制御用サブルーチン

図3　Y＝Sin(X)＊Sin(25＊X)のサンプルプログラム

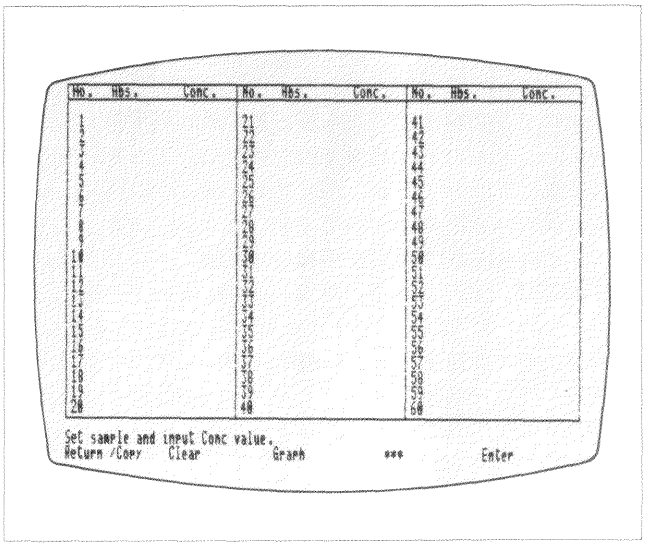


図4 CRT上の作表

回帰検量線が作画される。またハードコピーもできる。この場合，Abs.＝k・conc＋BのkおよびB値，相関係数が同時に印字され，さらに

$$Conc = k' \cdot Abs. + B'$$

の式も表示されるので，この値（k′, B′値）をConcentration（×k）モードで入力すれば作図され，この検量線を再生させて何時でも使用できる。

またAbs.モードで測光値を次々に印字し，取込んだデータの平均値，標準偏差，CVを求めて印字するプログラムを図6に示した。クロム濃度1.125ppmの試料をその都度発色させ（31回分）繰り返し分析精度をチェックした例を図7に示した。〔a〕には，試料を吸収セルホールダに装着したあと試料室を閉じ，PRINT（PF4）キーを押すと，現在の測光値（吸光度）を印字する様子を示した。〔b〕にはSTS（PF5）キーを押すとそれまで取込んだ値の平均値，標準偏差，CVが打ち出されることを示す。

4. おわりに

最近，研究の高度化にともない分析技術も多岐にわたり，かつ品質管理も厳密さを要求されつつあり，このような時勢に対応するためには，能率化，省力化などの方策を考える必要がある。

228形はパーソナルコンピュータ制御の自記分光光度計でユーザー自身が，その分析に最も適したプログラムを組むことにより，成果を上げることができる。幸いOAなどの普及により，パーソナルコンピュータに対する関心は高く，自在に操つる研究者の人口は増加の一途である。今後，一層の活用を期待する。

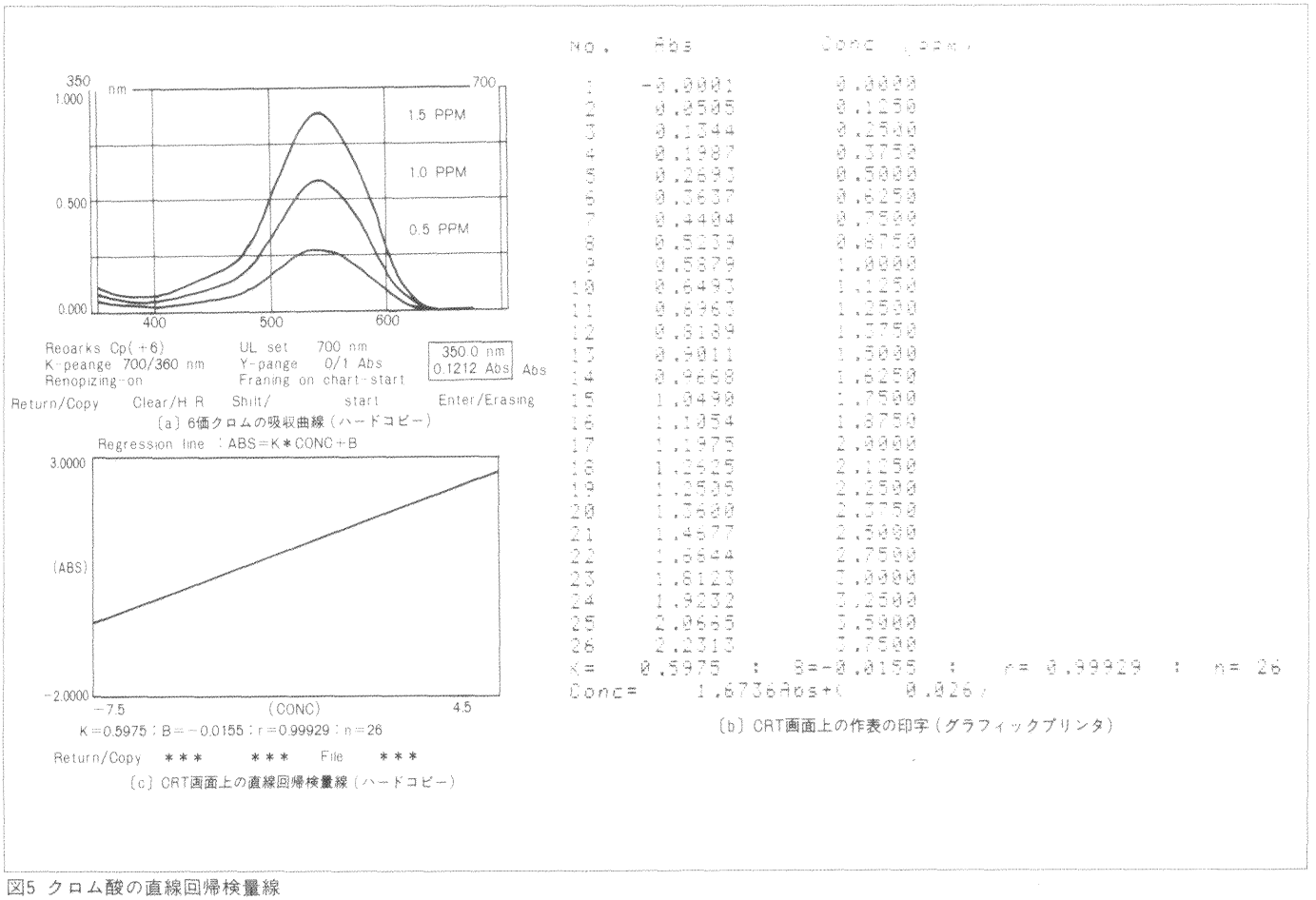


図5 クロム酸の直線回帰検量線

```
10 WIDTH40
20 A1=PEEK(&H6DD7)
30 A2=PEEK(&H6DD3)
40 POKE &H6E71,2
50 EXEC &H6EF6
60 CLS
70 CONSOLE 0,24,1
80 FOR I=1TO10
90 KEY I,"***"
100 NEXT I
110 DEFUSR9=&H6F00
120 POKE &H6E85,7
130 LOCATE 10,8,3
140 W=USR9(1.02)
150 PRINTUSING"    ###.# nm";W
160 LOCATE 10,10,3
170 KEY(4)OFF
180 D#=USR9(1.0)
190 PRINTUSING"    ##.####Abs";D#
200 ONKEY(4)GOSUB 2000:KEY(4)ON
210 KEY 4,"PRINT"
220 ONKEY(5)GOSUB 3000:KEY(5)ON
230 KEY 5,"STS"
240 FOR J=0 TO 300
250 NEXT
260 ONKEY(1)GOSUB 4200:KEY(1)ON
270 KEY 1,"END"
280 GOTO 110
290 END
2000 GOSUB 4000
2010 OPEN"O",#1,"LPT0:"
2020 PRINT#1,USING"##.####Abs";D#
2030 CLOSE#1
2040 EXEC &H6EF6
2050 GOSUB 4100
2060 N=N+1
2070 DD#=DD#+D#
2080 WD#=WD#+D#^2
2090 RETURN
3000 IF N<>0 THEN 3020
3010 RETURN
3020 M#=DD#/N-1
3030 SD#=(WD#/(N-1)-M#^2)^0.5
3040 CV#=SD#/M#*100
3050 GOSUB 4000
3060 OPEN"O",#1,"LPT0:"
3070 PRINT#1," "
3080 PRINT#1,USING"Number of samples  :#### ";N
3090 PRINT#1,USING"Mean value         :##.##### Abs";M#
3100 PRINT#1,USING"Standard deviation :##.##### ";SD#
3110 PRINT#1,USING"       CV          :####.### ";ABS(CV#)
3120 EXEC &H6EF6
3130 CLOSE#1
3140 GOSUB 4100
3150 RETURN
4000 POKE &H6DD7,232
4010 POKE &H6DD3,236
4020 POKE &H6E85,4
4030 EXEC &H6F00
4040 RETURN
4100 POKE &H6DD7,A1
4110 POKE &H6DD3,A2
4120 POKE &H6E85,4
4130 EXEC &H6F00
4140 RETURN
4200 STOP
4210 RETURN
```

※1　例⑥　※1参照のこと。

228形を作動状態に設定

ユーザ関数の設定　；例⑤

……ユーザ関数により波長を読み出す。　；例⑤

……ユーザ関数により測光値を読み出す。　；例⑥

……※1

プロッタに測光値を印字する。　；例⑤，⑥

統計演算のための下計算

平均値(M#)，標準偏差(SD#)，cv(CV#)の算出

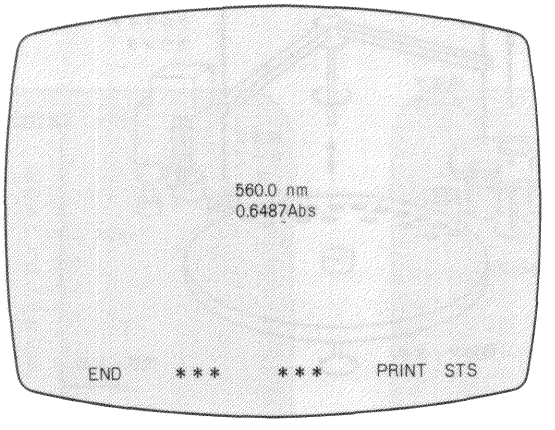
プロッタに統計結果を印字する。

※1

図6　統計演算のプログラム
(平均値，標準偏差，CV)

```
0.6486Abs
0.6485Abs
0.6487Abs
0.6484Abs
0.6487Abs
0.6484Abs
0.6486Abs
0.6490Abs
0.6491Abs
0.6487Abs
0.6497Abs
0.6490Abs
0.6483Abs
0.6495Abs
0.6493Abs
0.6492Abs
0.6490Abs
0.6488Abs
0.6491Abs
0.6492Abs
0.6476Abs
0.6487Abs
0.6483Abs
0.6493Abs
0.6489Abs
0.6489Abs
0.6493Abs

Number of samples  :  27
Mean value         : 0.64878 Abs
Standard deviation : 0.00058
       CV          :   0.089
```



〔a〕現在の測光値の表示

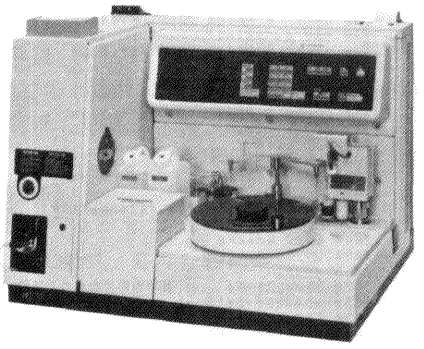
図7　ジフェニルカルバジド法による繰り返し精度の統計演算(クロム酸)

750形日立炎光光度計

内野　興一*

（昭和57年9月21日受理）

ナトリウム，カリウム，あるいは塩素イオンなど電解質は，人間の体内で体液のコントロールや浸透圧の維持に関与しており，その濃度は疾病の診断，治療法の決定に重要な指標となるとされている。このため，電解質は臨床検査室において日常的に分析されているが，分析すべき検体数は増大の一途にあり，能率の良い，しかも精度の高い装置が望まれている。750形日立炎光光度計はこのような要求に応えるために開発されたものである。本装置は炎光光度計とクロライドカウンタを一体にして，ナトリウム，カリウムと塩素イオンの分析を同時化することにより，測定時間および作業量を半減化している。また，平均値校正法によ



750形日立炎光光度計

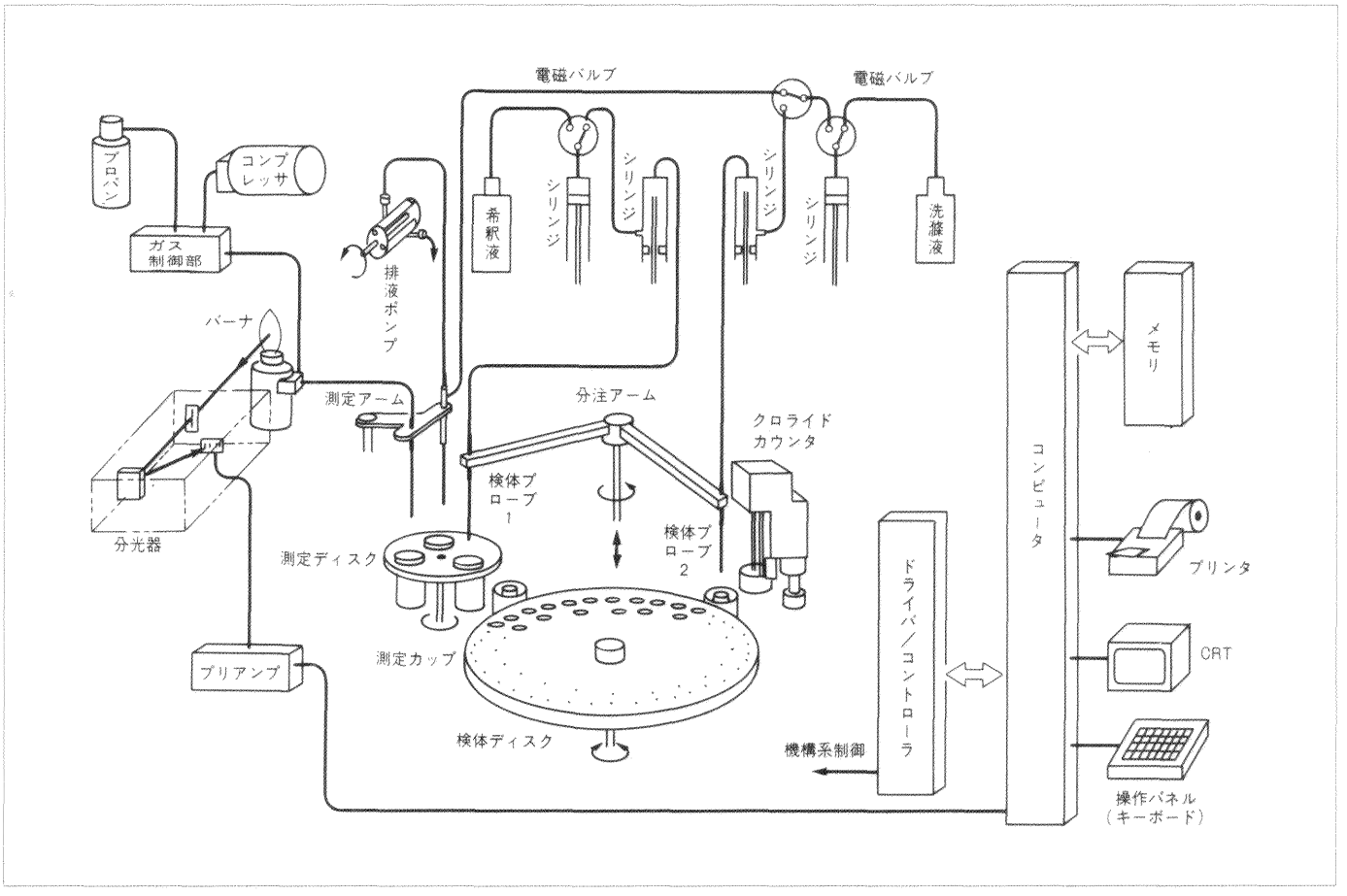


図1　動作原理

* 日立製作所　那珂工場　応用技術センタ

る分析値の正確度向上，正常値範囲外検体自動再測定機能による分析値の信頼度向上，あるいは管理検体の定期的測定と統計演算機能による精度管理など，分析精度を高レベルに保つための新技術が盛り込まれている。これらについて以下に詳しく述べる。

1. 動作原理

動作原理を**図1**に示す。ナトリウム，カリウムなど金属元素は炎光光度法で測定され，塩素イオンは電量滴定法で測定される。すなわち，分析計として炎光光度計とクロライドカウンタを備えている。検体ディスクにセットされた検体はプローブ1によって一定量が採取され，希釈液とともに測定ディスクの希釈カップに移される。この液はバーナに導入され，炎光法によって分析される。測光方式はセシウム内部標準法である。一方，検体プローブ2によって彩取された検体はクロライドカウンタに移され，塩素イオンが分析される。これらサンプリングシステムの動作，および濃度演算はコンピュータによって実行される。

測定シーケンスは**図2**に示す通りである。まず，ブランク液および標準液によって検量線が作成され，管理検体と通常検体が測定される。標準液は3回測定して近似した2つの値の平均値によって検量線が作成され，20検体毎に再校正が行なわれる。緊急検体の測定が必要になった場合は測定を中断させ，それらを割込ませる。緊急検体の測定が終了すると，前に中断した通常検体の位置に自動的に戻り，測定が続行する。そして，セットされた全検体の測定が終了すると正常値範囲をはずれた検体について再測定が行なわれる。

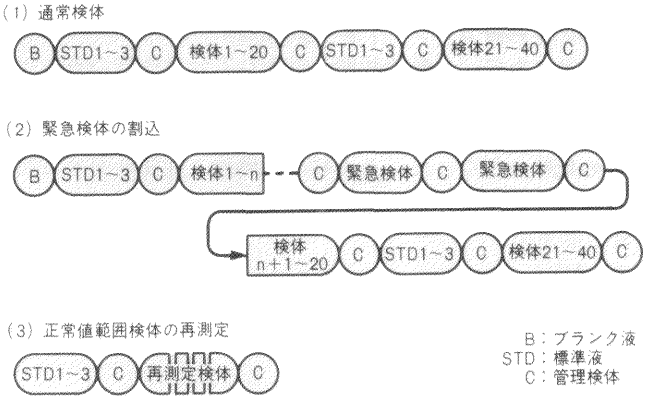


図2 測定シーケンス

2. 機 能

本装置における分析パラメータの入力，分析結果の読み取り，あるいは装置状態の確認など，すべての操作はCRTディスプレイとの対話によって行なう。

(1) 分析パラメータの設定

分析パラメータ画面を**図3**に示す。設定したいパラメータに＊マークを合わせると画面の下段に選択範囲が示されるので，その数字を入力する。**図3**ではSAMPLE(分析項目）の選択を行なおうとしているところであり，選択範囲は血清中のナトリウム，カリウムなど5種類であることが示されている。分析項目のほか，STD VALUE(標準液濃度）あるいはNORMAL RANGE（正常値範囲）などについてパラメータを設定できる。いったん入力したパラメータは書き替えない限りそのまま保持される。たとえば，正常値範囲は施設によって多少差異があるが，装置を据え付けたとき設定すれば以後，設定操作は不要である。

(2) 測定およびその結果

検体をターンテーブルの定められた位置に装填し，測定開始キーを押すと，まずターンテーブルが1回転する。この間に検体の装填されている箇所の検索が行なわれ，測定シーケンスが組み立てられる。すなわち，管理検体の有無によって統計演算の要否が決まり，通常検体装填位置によって測定のスキップ，および終了が決まる。測定結果の表示例を**図4**に示す。これはプリンタによって記録することができる。

3. 測定例

ナトリウム，カリウムおよび塩素イオンについて従来機種との相関を**図5**に示す。これは実際の血清を30検体測定

＊＊＊ ANALYTICAL PARAMETERS ＊＊＊

DATE		：27. 02. 1982	
＊ SAMPLE		：SERUM	
STD VALUE	Na	：	150.0 mEq/l
	K	：	5.00
	Cl	：	100.0
NORMAL RANGE	Na	：	138－149 mEq/l
	K	：	3.7－4.9
	Cl	：	99－107
SAMPLE NO.	ROUTINE		1201
	EMERGENCY		61

SAMPLE ：■ 5 ：Li
1 ：SERUM (Na, K) 2 ：SERUM (Na, K, Cl)
3 ：URINE (Na, K) 4 ：URINE (Na, K, Cl)

図3 分析条件の表示

＊＊＊ ANALYICAL RESULTS ＊＊＊

SAMPLE NO.	CONCENTRATION (mEq/l) Na	K	Cl
BLANK	0.0	0.00	0.0
STD 1	150.0	5.00	100.0
STD 2	150.9	4.96	101.1
STD 3	150.3	4.97	100.7
	△ 0.3	△0.01	△ 0.4
CONT 1	141.5	4.11	99.3
1201	144.6	3.84	100.8
1202	143.8	3.99	107.2
1203	139.4	3.95	102.4
1204	124.7L	4.51	101.5
			5：28

図4 分析結果の表示

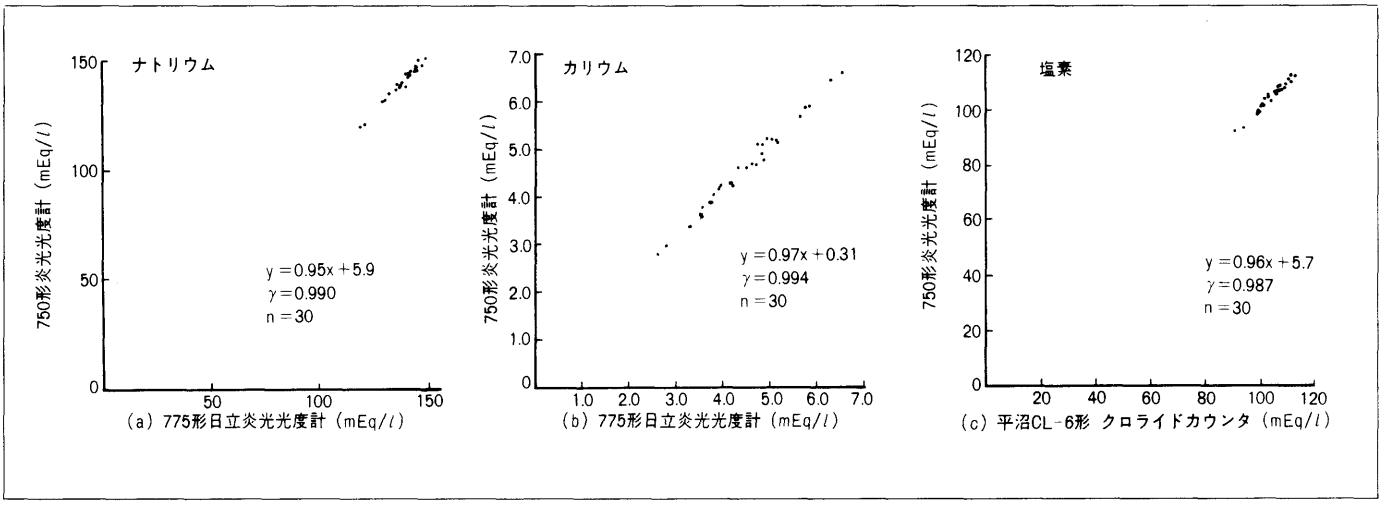


図5 測定値の相関

表1 リチウムの分析値 単位：mEq/ℓ

lot No	検体名	表示値	測定値
LTD-163	モニトロールI	0.44～0.57	0.53
PTD- 63	モニトロールII	1.7～2.0	1.84
1115128	バリデイト	0.00	0.03
045-030	ハイランドI	0.5～0.7	0.69
045-015	ハイランドII	1.7～2.1	1.96
16	パソノルムH	0.78～0.86	0.85
16	パソノルムL	……	0.00
144	セロノルム	……	0.02
58	オートノルム	……	0.03

して得られたものである。いずれも相関係数は0.99前後であり，良い一致がみられた。次に標準血清についてリチウムを測定した結果を**表1**に示す。表示値と良く一致した。

4. むすび

血清，あるいは尿の中のナトリウム，カリウムおよび塩素イオンの同時分析システムを開発して分析時間の短縮をはかるとともに，自動化範囲を拡大して分析作業の省力化をはかった。また，従来機種による分析値との相関を調べるとともに，リチウムについては標準血清を測定して表示値との比較を行なった。その結果，機能・性能両面で当初の目標を達成していることが確かめられた。

〈編集後記〉

■ 新年あけましておめでとうございます。本ニュースは，1958年1月の創刊以来，本年をもって26年目を迎えることができました。これも，ひとえに，日立科学機器に対する顧客各位のご愛顧の賜物と，厚く御礼申し上げますと共に，本ニュースに原稿をご執筆頂きました諸先生方に，厚く御礼申し上げます。

■ 本ニュースは，日立理化学機器をお買上げ頂いた方々には，全てお送りすることになっています。もし，貴殿のお近くに，受取っておられない方がありましたらご一報下さい。直ちに新規に名簿に登録し，以後継続的にお送り致します。

■ 日立理化学機器による報文のご投稿を歓迎致します。

■ 本ニュースに関するお問合せは，下記へ，または，日製産業株式会社の上記各事業所へご連絡ください。

○株式会社 日立製作所 那珂工場 応用技術センタ
茨城県勝田市市毛882番地
〒312 電話 水戸(0292)73－2111(代)

○日製産業株式会社 マーケティング部
東京都港区虎ノ門1丁目26番5号第17森ビル
〒105 電話 東京ダイヤルイン(03)504-7187

THE HITACHI
SCIENTIFIC INSTRUMENT NEWS
WINTER 1982 Vol.25 No.4

発行 昭和58年1月1日(年4回発行)
発行人 鵜沼伸充
編集人 永谷 隆 岩井孝之
発行所 株式会社 日立製作所 計測器事業部 科学機器部
〒105 東京都港区虎ノ門1丁目26番5号第17森ビル 電話ダイヤルイン 東京(03)504-7866
印刷所 日立印刷株式会社

Printed in Japan YF-TF(H)