



目 次

分析機器解説シリーズ(9)・・・・・・・・・・・・・・・・	2
発光分光法による微量重窒素の定量	
新設機器紹介・・・・・・・・・・・・・・・・	9
角度分散型 X 線分析装置の整備状況	
昭和 59 年度中央分析センター機器の利用状況・・・・・・・・	12
お 願 い・・・・・・・・・・・・・・・・	14
・謝辞ならび別刷の寄贈について	
お 知 ら せ・・・・・・・・・・・・・・・・	15
・角度分散型 線分析装置の設置	
・センター委員の交替	

分析機器解説シリーズ(9)  
 発光分光法による微量重窒素の定量

農学部 福德康雄、吉田瑞樹、池田元輝、山田芳雄

近年ライフサイエンス分野において、安価な安定同位体(SI)化合物の供給、SI分析機器の発明、改良普及を背景にして、SI利用の機運が高まってきている。利用されるSIとしては、 $^2\text{H}$ (D)、 $^{13}\text{C}$ 、 $^{15}\text{N}$ 、 $^{18}\text{O}$ 、 $^{34}\text{S}$  などがあるが、ここでは発光分光分析法による $^{15}\text{N}$ の定量法について述べる。

発光分光法による $^{15}\text{N}$ の定量法は、窒素分子を高周波無電極放電により励起発光させ、窒素分子に特異的な発光スペクトルを得、それを適当なモノクロメーターで分光して、質量数の異なる $^{14}\text{N}$ 、 $^{14}\text{N}^{15}\text{N}$ 、 $^{15}\text{N}$ の各分子に対応するスペクトルのband headの強さを観察し $^{15}\text{N}$ の存在率を測定するものである。一般には2nd positive systemに属するスペクトル群のうち同位体効果の大きい振動量子数変化(2-0)遷移が使用される〔1〕。振動量子数変化(2-0)のスペクトルのband headはそれぞれ $^{14}\text{N}_2=2976,8$ 、 $^{14}\text{N}^{15}\text{N}=2982,9$ 、 $^{15}\text{N}_2=2988,6$ である。

放電管の作成には、管内の空気を除去するために図1のような真空装置が用いられる。

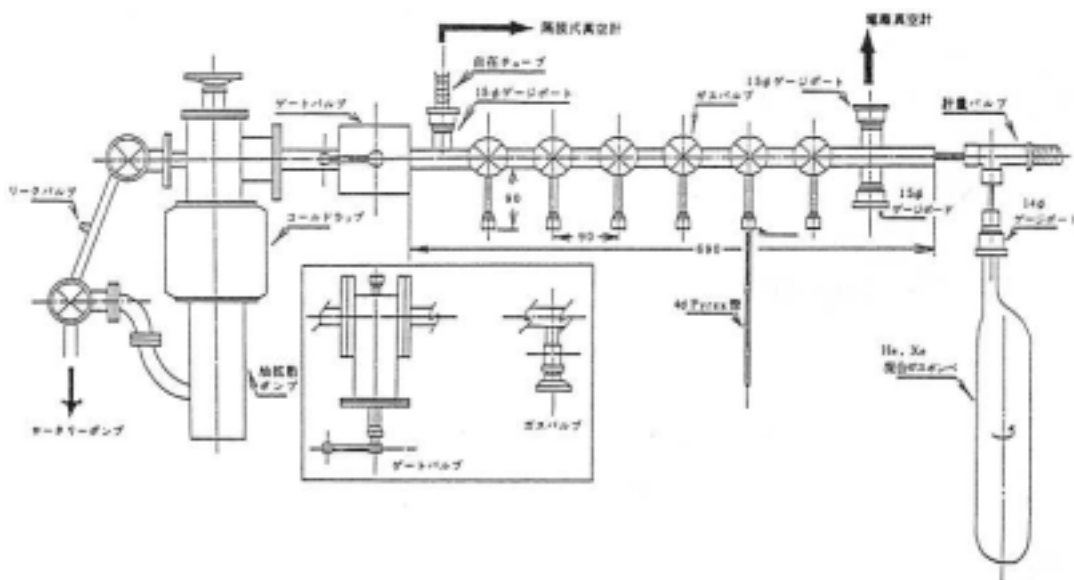


図1 放電管作製用真空装置

同装置で到達真空度  $10^{-4}$  pa (  $10^{-6}$  Torr ) が容易に得られる。又希ガス導入部 ( He、e の混合ガスポンプ、計量バルブ、ゲートバルブ ) と導入ガス圧をモニターする隔膜式真空計を備えており、後述するように、試料放電管に封入されている窒素量の推定が難しい時に使用すると便利である。ガス化法として Rittenberg 法と Dumas 法があるが、Rittenberg 法は試料がアンモニア態窒素に限定されるので、前もってケルダール分解により試料をアンモニア態に変える必要がある〔2〕。一般に  $^{15}\text{N}$  の定量をしたい試料はアンモニウム塩、硝酸塩、アミノ酸、蛋白質、核酸などのさまざまな形態をしており、これらの微量の試料を取扱うには、封管内で窒素ガスを発生させる Dumas 法が適切である。この場合試料の酸化剤として線状 CuO が、試料の分解時に発生する水分、二酸化炭素、酸素などの吸収剤として粒状 CaO が使用される。試料が硝酸態の場合には更に還元剤としてグルコースなどを添加する〔3〕。なお放電管用の Pyrex 管はクロム硫酸などで洗浄後 560 で熟したものをうい、CaO、CuO は使用前にそれぞれ 900 3 時間 560 30 分加熱して不純物、二酸化炭素、水分を取除いておく。又真空装置に放電管を取付けた後管内壁の吸着ガス類を取り除く事も必要である。放電管は封じた後、試料の形状に応じて 560 で 30 分~3 時間加熱し試料のガス化を行なう。外径 4mm、内径 2mm、長さ 10cm の放電管の場合、発光に必要な試料の量は N I A - 1 型  $^{15}\text{N}$  アナライザー ( 日本分光 ) で分析して、2~8  $\mu\text{gN}$  であり、希ガス { He、 $10^3$  pa ( 10 Torr ); e、30pa ( 0.2 Torr ) } を共存させると最少必要量 0.2  $\mu\text{gN}$  まで発光範囲を広げることができる。これは、Xe が管内壁に吸着して窒素の吸着を防ぎ、一方 He が励起補助剤として働くからであると考えられている〔4〕。

発光分光法は質量分析法に比べて装置が安価であり、分析操作が簡易である。また先に述べたように分析に必要とされる試料の量が数  $\mu\text{g}$  程度で十分であるなどの利点を有する。しかしながら、その反面測定精度が低いという欠点がある。従って発光分光法の普及においては、特に利用頻度の高い自然存在率 ( 0.366 atom%  $^{15}\text{N}$  ) 付近において、測定精度をあげることが要求される。発光分光法において、自然存在率付近において大きな測定誤差を主に引き起こすのは、 $^{14}\text{N}^{15}\text{N}$  band head の back ground の取り方である。通常自然存在率付近の測定では、 $^{14}\text{N}^{15}\text{N}$  の band head を高増幅するため、大きなノイズが生じ、back ground が不明瞭となる。Back ground の取り方については、これまでいろいろ補正法が考案されているが、どれも一長一短である〔5-8〕。加うるに Dumas 法において

は封管内の CuO、CaO からの放出ガスも back ground のノイズを大きくする原因となる〔2、6〕。高周波によるおだやかなガス化によって、これらの難点を解決する方法も考察されているが、同法は放電管の作り方が煩雑であり、かつ時間がかかる〔9〕。我々は簡便な方法で上記の難点を解決する精度の高い分析法を確立した〔10〕。その方法は次の通りである。

従来の方法で放電管を作成し（図 2 B）、その中央に Capillary を設ける（図 2 A、C）Capillary は管内の圧力が低いので、ガスバーナーの炎を管の片側に少し強く当てるだけで簡単にできる。また管の肉厚は Capillary の部分でも変わらないので管自体の機械的強度はそこなわれない。この Capillary（図 2 A、b）からと残りの部分（図 2 A、a）からの発光強度及び発光スペクトルを比較すると、前者は後者に比べ、発光強度が 9 倍ほど高く、 $^{14}\text{N}^{15}\text{N}$  band head の back ground が低く、ノイズのないスペクトルが得られる（図 3 b）。Pyrex ガラスは近紫外において透過率が急激に低下する〔2〕。しかしながら、改良法においては、ガラスの管径がほとんど変わらないので、この発光強度の増加は、透過率の増加によるものではなく、Capillary での電流密度の増加による窒素分子の励起率の増加によるものと考えられる。ノイズのない低い back ground が得られるのは、発光強度が強いため、光電子増倍管の電圧を適正な範囲に維持できるからであろう。

分析誤差には、a) 発光強度の時間的な変化による誤差、b) 分析機器の電氣的な時間的変動などに由来する誤差、及び c) 1 試料から数点の放電管を作成した時の誤差がある。

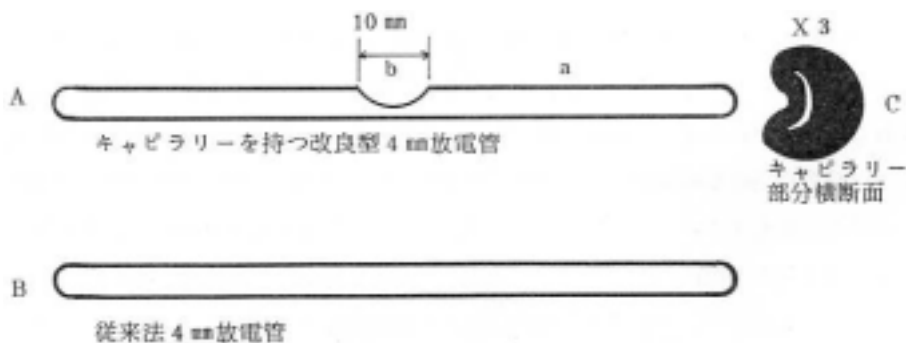


図 2 外径 4 mm、長さ 10 cm の試料放電管

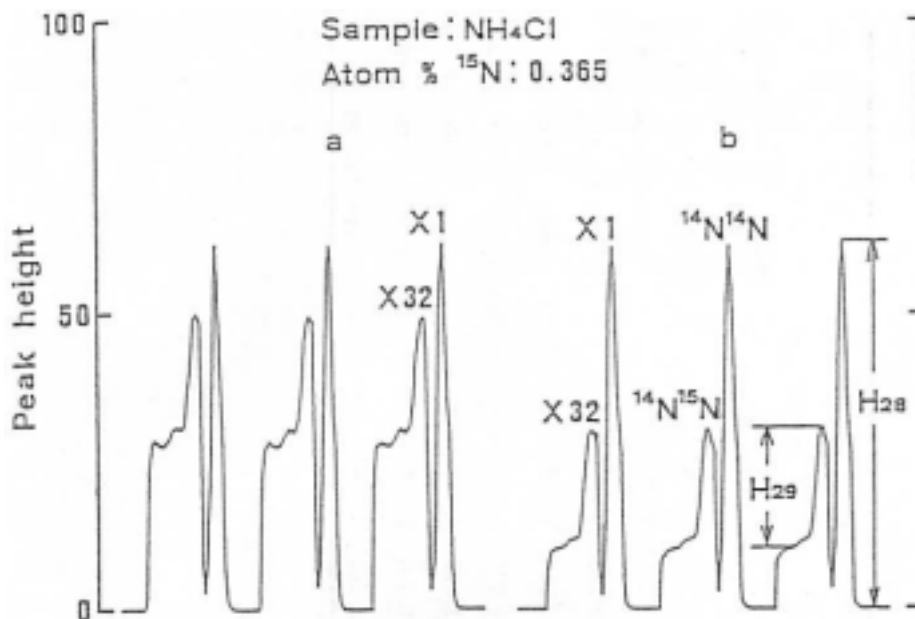


図3 <sup>14</sup>N<sup>14</sup>N、<sup>14</sup>N<sup>15</sup>Nピークの測定記録の一例  
 a = 図2 A - aからの発光スペクトル  
 b = 図2 A - bからの発光スペクトル  
 X 1、X 32 = 増幅率  
 H<sub>2a</sub>、H<sub>2b</sub> = ピーク高

この中で a ) による誤差は 10 回の測定繰り返しで、相対標準偏差 1.5% 以内である。b ) による誤差は、測定のごと、濃度既知の標準放電管を使用して、測定値 - 質量分析値曲線を作成し補正する方法を用いれば回避することができる。c ) の誤差は、一連のサンプル放電管の作成、分析、定量操作によって起こるものであり、back ground の取り方が大きく影響する。この誤差は、分析精度を大きく左右するものであるが、従来法では back ground が不明瞭なため自然存在率付近の測定において、測定値が 5 ~ 10% 高くなるといわれている [11]。しかしながら改良法では、相対標準偏差が 1% 以内と、測定精度がよくなっている (表 1)。

表 2 は質量分析値と発光法による測定値を比較したものである。32 倍増幅 ( 2atom% <sup>15</sup>N 以下 ) では、直線回帰式、 $y = 0.9836 - 0.1581 ( \quad = 0.9999 )$  にあてはめて、真の <sup>15</sup>N 値 ( 補正值 ) を得た。8 倍増幅 ( 1 ~ 10atom% <sup>15</sup>N ) では、2 次回帰式、 $y =$

表1 発光分光分析法による測定値の分析精度

試料	質量 分析値 (atom% <sup>15</sup> N)	発光分光分析法による測定値 (atom% <sup>15</sup> N)										平均値	S.D.	RSD
		放電管 No.												
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
NH <sub>4</sub> Cl	0.365	0.530	0.528	0.528	0.528	0.527	0.526	0.526	0.526			0.527	0.001	0.3
	0.603	0.791	0.792	0.777	0.778	0.780	0.782	0.783	0.774	0.779		0.782	0.006	0.8
	0.694	0.882	0.881	0.885	0.870	0.884	0.879	0.883	0.887	0.875		0.881	0.005	0.6
	0.795	0.996	0.986	0.988	1.002	0.985	1.000	0.989	1.003	0.985	0.990	0.992	0.007	0.7
	0.889	1.083	1.080	1.092	1.089	1.085	1.082	1.092	1.083	1.076	1.085	1.085	0.005	0.5
	0.991	1.153	1.161	1.156	1.156	1.155	1.155	1.172	1.163			1.159	0.006	0.5
アルブミン		0.540	0.534	0.535	0.533	0.532	0.538	0.540	0.535	0.532	0.535	0.535	0.003	0.6
プロリン		0.540	0.538	0.538	0.542	0.537	0.537	0.544	0.536	0.538	0.541	0.539	0.003	0.5

S.D. = 標準偏差

RSD = 相対標準偏差 (%)

φ

表2 質量分析値と発光分光分析法による測定値の比較

質量分析値 (atom% <sup>15</sup> N)	増幅率	発光分光分 析法による 測定値 (atom% <sup>15</sup> N)	補正値 (atom% <sup>15</sup> N)	偏差	相対 誤差 (%)
0.365	× 32	0.530	0.363	-0.002	0.5
0.603		0.775	0.604	+0.001	0.2
0.694		0.874	0.701	+0.007	1.0
0.795		0.970	0.796	+0.001	0.1
0.889		1.07	0.894	+0.005	0.6
0.991		1.16	0.983	-0.008	0.8
1.19		1.37	1.19	0	0
1.39		1.56	1.38	-0.01	0.7
1.58		1.77	1.58	0	0
1.78		1.97	1.78	0	0
1.98		2.18	1.99	+0.01	0.5
0.991	× 8	1.23	0.998	+0.007	0.7
1.39		1.65	1.39	0	0
1.98		2.27	1.97	-0.01	0.5
2.95		3.29	2.95	0	0
3.93		4.28	3.92	-0.01	0.3
4.91		5.28	4.91	0	0
6.87		7.21	6.88	+0.01	0.1
8.86		9.08	8.86	0	0
9.85		9.99	9.85	0	0

補正値は増幅率 ( × 8 ) においては  $y = 0.266 \times 10^{-3} X^3 + 0.9059 - 0.1299$  ( = 0.9998 )、増幅率 ( × 32 ) においては  $y = 0.9836 - 0.1581$  ( = 0.9999 ) により求めた。

$9.266 \times 10^{-3} X^2 + 0.9059 - 0.1299$  ( = 0.9998 ) に当てはめて、真の <sup>15</sup>N 値を得た。この条件で発光分光値の補正値は質量分析値と、 ±0.01atom%<sup>15</sup>N 以内でよく適合している。

以上発光分光法による <sup>15</sup>N の定量法について述べたが、我々は同法を、薄層クロマトグ

ラフ法で分離したアミノ酸の<sup>15</sup>Nの定量に応用し、植物のアミノ酸代謝の研究に活用している。今後ライフサイエンス各分野において<sup>15</sup>Nの利用は増加するであろうが、我々の考案した分析方法が、発光分光法による<sup>15</sup>Nの定量法の今後の普及の一助になれば幸いである。

〔文献〕

- 1) 熊沢喜久雄：重窒素利用研究法、熊沢ら編、学会出版センター、P17 (1979)。
- 2) R.Fiedler, G.Proksch : Anal . Chim . Acta , 78 , 1 ( 1975 )。
- 3) 熊沢喜久雄、米山忠克、狩野広美：土肥誌、45、382 (1974)。
- 4) J.A.Goleb, V.Middelboe : Anal . Chim . Acta , 43 , 229 ( 1968 )。
- 5) J.P.Leicknam, V.Middelboe, G.Proksch : Anal . Chim . Acta , 40 , 487 ( 1968 )。
- 6) H.Perschke, G.Proksch, E.A.Keroe, A.Muehl : Ana1 . Chim . Acta , 53, 459 ( 1971 )
- 7) 熊沢喜久雄：分析、9、43 (1975)。
- 8) J.D.S.Goulden, D.N.Salter : Analyst , 104 , 756 ( 1979 )。
- 9) 山室成一：ライフサイエンスのための安定同位体利用技術、日本アイソトープ協会、P51 (1983)。
- 10) Y.Fukutoku, M.Yoshida, M.Ikeda, Y.Yamada : Ana1 . Chim . Acta 投稿中。
- 11) 狩野広美、米山忠克、熊沢喜久雄：土肥誌、45、549 (1974)。



## 角度分散型 線分析装置の整備状況

理学部 岡 崎 篤

センターニュース Vol.2、No.4 (60年3月号)で紹介した本装置、すなわら単結晶自動 線回折計 (CAD-4) と集中法粉末 線回折計とは、予定通り3月に設置が終り、現在調整の段階である。それぞれについて、簡単に状況を報告する。(上記ニュースの記事を参照されたい。)

### 1. 単結晶自動 線回折計

主に中央分析センターと岡崎研(世話講座)のメンバーを対象とする“測定”の講習が、3月、4月に行われ、オペレータ(町田光男)を中心に、膨大な測定マニュアルのかなりの部分をマスターした。すでに標準試料などについて各種の測定を行い、満足す

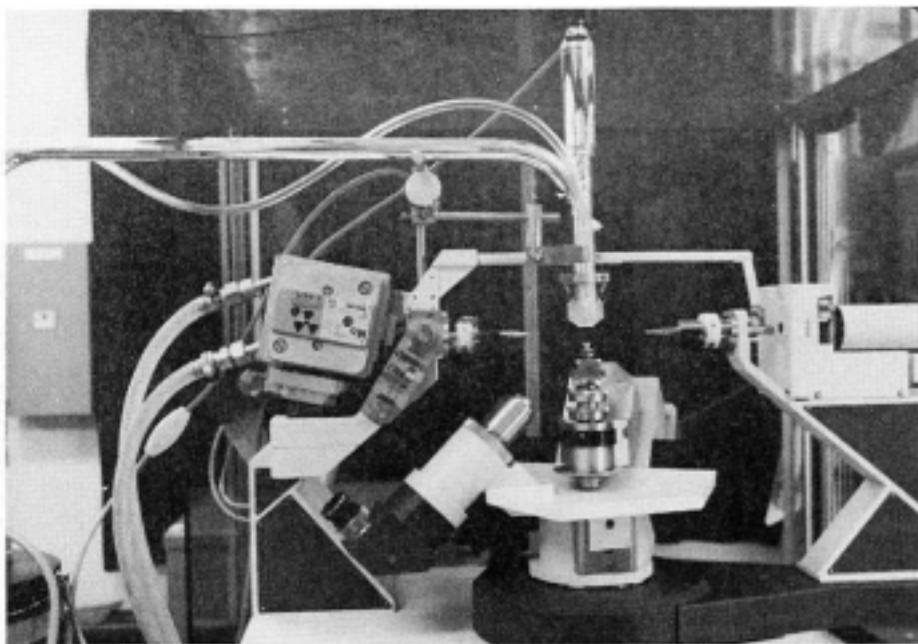


図1. CAD-4回折計ゴニオメータ部。試料上方のガラス部分が低温アタッチメント

べき結果を得ている。従って構造決定用の強度データ収集はいつでも行える状態であり、随時申し込みの受け付けが可能である。

“構造決定”の講習（オペレータを含む少人数を対象）は6月に行われる予定であるが、CAD-4の出力をUNICSシステムの入力形式に合わせるプログラムが上田幾彦先生から提供されたので、九大大型計算機を利用して構造決定をされるユーザーにとっては、現在事実上すべての準備が完了したと云える。

低温・高温アタッチメント（いずれもガス吹付け式）とそれぞれの温度コントローラについてもテストを終了した。図1に、低温アタッチメントを取付けたCAD-4回折計を示す。

コンピュータ（ソフト）のトラブルなどで若干ロスタイムがあったが、全体として順調に整備が進んでいる。また性能はカタログ記載の仕様通りまたはそれ以上であり、ユーザーの期待に充分応えるものと思われるので、大いに利用して頂きたい。試料（例えば直径0.3mm程度の球）の作製用器具もセンターに一応用意してあるので併せて利用して頂きたい。

## 2. 集中法粉末 X線回折計

この装置は、他の Stoe 社製品同様、組立て、測定とも操作が容易で期待通りのものである。高温アタッチメント（最高 1300K）は本年度購入できることになった。また低温アタッチメントは、エネルギー分散型 X線分析装置付属の冷凍横（最低 10K）を共用する予定で、目下、試料ホルダー、真空外筒などを工作中である。いずれも秋には利用できる見込み。図 2 に、この装置の室温実験での構成を示す。

解析用ソフトを含めたテストが終り次第、講習会、測定責任者の登録、一般利用と進む予定である。

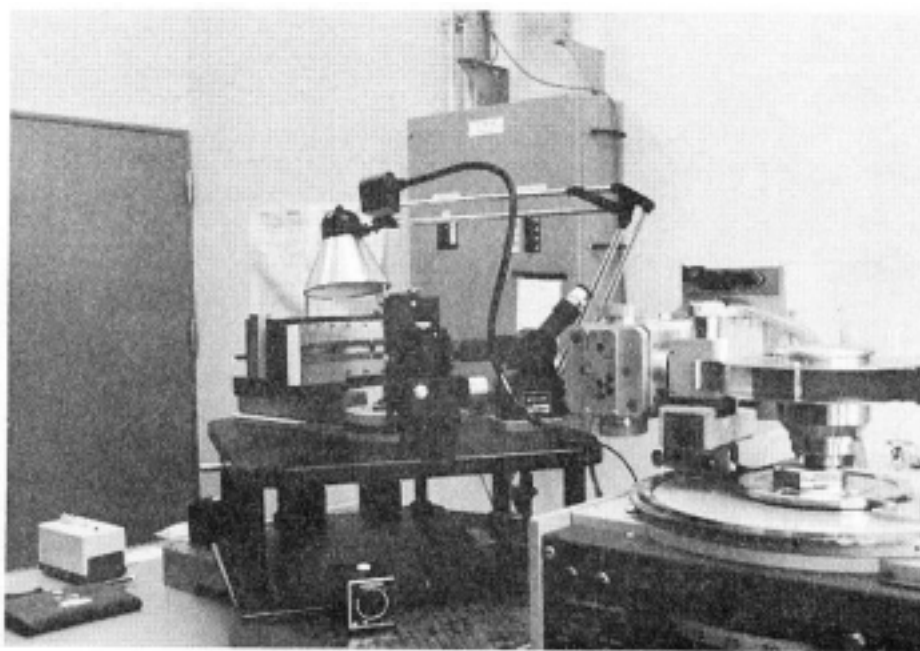


図 2. 集中法粉末 X線回折計。右側の島津 X線回折計と X線源を共有している。

昭和 59 年度 中央分析センター機器の利用状況  
中央分析センター（筑紫地区）

装置名	所属	件数	時間
イスカ・スキャンニング・オーブ・X線表面分析装置	センター	17	286.5
走査電子顕微鏡		11	58.5
蛍光線分析装置		31	53
エネルギー分散型線回折計		5	26.9
島津線回折計		49	286.4
質量分析計（RMU - 6E）		0	0
核磁気共鳴吸収装置（R - 24）		0	0
自記分光光度計		0	0
赤外分光光度計（IR - 440）		7	39.5
回折格子遠赤外分光光度計		0	0
磁気天秤		0	0
示差走査熱量計		3	15
雰囲気中液体急冷装置		96	192
引上げ法単結晶作成装置		0	0
直読式動的粘弾性測定装置		0	0
ラバープレス	18	54	
核磁気共鳴吸収装置（JNM - FX100）	生・化	52	49.5
多核種用 FT 型 NMR		101	78.8

中央分析センター工学分室（箱崎地区）

装置名	所属	件数	時間	装置名	所属	件数	時間
線回折計（ADG - 302）	センター	114	173	分光けい光光度計	工 分	44	142
線回折計（JDX - 5S）		0	0	レーザーラマン分光光度計	合・5	3	8
フーリエ変換赤外分光光度計		222	470	円二色分散計	電子・5	184	400
原子吸光分光装置		3806	296	発光分析装置	冶・2	37	109
熱天秤（TG - 30）		90	171	熱天秤（RG）	応・1	0	0
示差熱分析装置（DTA - 30）		39	96	示差熱分析装置（高温型）		0	0
双子型恒温壁熱量計		0	0	示差走査熱量計	応・2	160	618
微量水分測定装置		3276	287	走査型電子顕微鏡	応・1	258	439
シンクログラフ		8	8	イオンコーティング装置		169	47
マイクロフォトメータ		26	24	光透過式粒度分布測定器	応・3	80	80
ガラスキャピラリー作成装置		1	1	繰り返し反射干渉計	電気・4	0	0
表面張力測定装置		1	2	直読式自動旋光計	合・4	0	0
線発生装置		0	0	表面積測定装置	応・3	20	50
ゼーマン水銀分析計		0	0	精密分留装置	応・4	9	50
NMR（R - 24B）		応・4	3870	323	シンクログラフ	合・4	400
NMR（R - 24B）	合・5	1768	690	Nox 標準ガス発生装置	合・5	0	0
NMR（R - 20）	合・2	265	200	精密天秤	応・4	439	40
NMR（R - 600）	合・1	307	109	磁化率測定装置	合・2	19	77
NMR（WH - 90）		12	18	プラズマデポジション装置	応・2	144	1005
ESR（JESME - 3）	合・2	163	691	超伝導温度測定装置	材 開	11	50
赤外分光光度計	合・5	38	25	デバイシエラーカメラ	応・1	0	0
二波長分光光度計	工 分	0	0	質量分析計	応・4	0	0
ストップフロー分光光度計	合・4	0	0				

## お 願 い

### 謝辞ならびに論文別刷の寄贈について

中央分析センターの機器を利用して行った研究の成果を学会誌等に発表される場合には、論文にその旨ご記入いただくと共に（文例下記）、その論文の別刷1部を当センターにご寄贈いただくようお願いします。

文例（実験の項または論文末尾に記入）

（本研究における） の測定（分析）には、九州大学中央分析センターの  
（装置）を利用した。

The measurement of  
The analysis  
in Center of Advanced Instrumental Analysis,  
Kyushu University.

} were performed using

We are indebted to Center of Advanced Instrumental Analysis,  
Kyushu University for { the measurement of .  
the analysis .

## お 知 ら せ

### ・角度分散型X線分析装置の設置

上記の装置（単結晶自動 線回折計および集中法粉末 線回折計）が3月中旬に中央分析センター（筑紫地区）の結晶解析室に設置されました。装置の仕様、利用方法、講習会等につきましては、本センターニュースの新設機器紹介をご覧ください。

### ・センター委員の交代

センター委員に交替がありましたのでお知らせします。

新委員：吉田直亮教授（応力研） 任期：昭和60年4月～61年3月

旧委員：北島一徳教授（応力研）