

氏 名	宮 原 景 吉 みや はら けい きち
学位の種類	薬 学 博 士
学位記番号	論 薬 博 第 145 号
学位授与の日付	昭 和 50 年 7 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 5 条 第 2 項 該 当
学位論文題目	封管法による超微量窒素分析の研究

論文調査委員 (主 査) 教 授 宇 野 豊 三 教 授 岡 田 壽 太 郎 教 授 大 崎 健 次

論 文 内 容 の 要 旨

有機化合物中の窒素定量法は窒素を最終的に、①窒素ガスとして測定するもの、②アンモニアとして測定するもの、③その他の（窒素）化合物として測定するものの三通りに大別することができる。本法は①に属するもので、大量のキャリアーガスおよび充てん剤などを使用しないので試料中の窒素の絶対量を測定するのに最も有用と考えられ、Kirsten が考案した真空ビュレットを用いる超微量炭水窒素定量法を端緒とするもので、その後 Kirsten-穂積によって窒素のみの定量に改変された。しかし、この測定方法を分析室で実用化に持ちこむためには、まだいろいろ測定装置に改良の余地があり、精度と正確さの難点や操作の煩雑さが残されていた。

そこで著者はこの技術を常用分析法として利用するために新型窒素計を考案し、これに付随する新しい補正法や操作法を確立し、かつ目盛管のアルカリによる溶解の問題を解決して、操作や保守が簡単でしかも 0.5~0.03 mg の試料を用いる超微量領域において、マイクロ法と同等以上の分析精度と正確さを得ることができた。次いで湿式分解によらない溶液中の総窒素の定量、ならびに昇華性、吸湿性および液体試料のはかりとりに銅はくカプセルおよび薄肉毛管アンプルを用いる方法を案出するなどして、新しいガス測容法を完成した。

1) 封管法用超微量窒素計

著者の考案した封管法用超微量窒素計は、封管分解によって生成された窒素を捕集した細管を計内にそう入できるようになっていて、計内には水を充てんし、計の底部に設けられたキャップのゴムパッキングを通して、注射器により細管中に水を注入し、細管中の窒素を追い出し、これをいったん目盛管の下部に上昇させ、以後水準びんを操作して窒素を測容するものである。これによって迅速正確な窒素の測容が可能になった。

2) 窒素計内の毛管現象によるガス圧の上昇

これまで窒素計を用いるガス測容において、毛管現象によるガス圧補正を行なったり、考えた人はあま

りおらず、ウルトラマイクロ分析ではあいまいな補正しかなされていなかった。また Kuck はデシミリグラム分析において、大気圧における窒素体積を読み取るために側管付き窒素計を用いたが、このものはレベル合わせ後に2つのメニスカスがずれたり、側管中に液のつまりが生じたりして再三のレベル合わせが必要であった。著者は、マイクロ分析においてこの値は無視できるが、ウルトラマイクロ分析においては無視できない大きさとなることを計算によって明らかにし、その量 ΔP を次式のごとく導き、

$$\Delta P = 2\alpha \left(\frac{1}{r_2} - \frac{1}{r_1} \right) - \rho g \frac{r_2}{3}$$

ここに r_1 : 水準びんの内半径, r_2 : 目盛管の内半径, α : 表面張力 (空気と接する水の場合: 7275 dyne/cm, 20℃において), g : 重力の加速度, ρ : 水の密度。

この式によって求めた圧力を水銀柱に換算して補正を行なった。その結果超微量窒素計による測容においてこの値は無視できないことを実験によって確認し、分析操作の簡略化と分析結果の正確さを達成することができた。

3) 温度の局部変化による窒素計内のガスの挙動

一般に窒素計内の窒素の温度は目盛管の外側につるした温度計によって決定されている。しかしながら温度の局部変化、たとえば加熱炉の開放による温度上昇の影響などを無視することができない場合には、直接アルカリ溶液の温度を測定して窒素の温度とみなす方式などが見受けられる。しかしながらこれでこの問題が解決したとは考えられない。微量分析、超微量分析を問わず温度の局部変化は避けるべきであるが、著者は特に超微量分析においてより正確な分析結果を得るために、温度の条件を徹底的に追求した。その結果温度の局部変化による影響を実用上無視できる水ジャケット付き窒素計を考案してこの問題を解決した。

4) センチミリグラム窒素定量法

50 μg 前後の試料を用いるこの領域では、通常窒素ガスの総量は数 μl 程度となるので、減圧拡大法によってこのガスを測定する試みがなされている。しかしこの方法にはまだ操作の煩雑さが残されていた。著者は1)で述べた新型窒素計をさらに微量化してセンチミリグラムスケールの窒素分析を迅速正確に行なうことができた。

試料ボートに銅箔を使用し、これにより封管中に生成する窒素酸化物の還元と余剰酸素の吸収を行ない、内容積約 1ml 燃焼管を用いることにより、から試験値を 0.02 μl 以下となし得た。分析結果は、窒素含有量 66.64% にいたる標準試料について標準偏差, $\hat{\sigma}$: 0.226% ($n=77$) であった。

5) ガラス毛管径の恒常性

ガラスは化学的に安定な材料と考えられ、理化学実験用器具として繁用されている。しかしすべてのタイプのガラスは多少とも水、酸、アルカリ塩類溶液および大気中の水分、二酸化炭素その他の物質により侵食作用を受けることが知られており、ガラス工学の分野ではガラスの化学的耐久性の問題について研究がなされている。一方元素分析の立場から、主として窒素計に関するこの問題は、これまでほとんど無視されている現状であった。本法では窒素計内に水を使用するが、管の内径が小さくなるにつれて侵食の厚さの単位体積に与える影響は大きくなることから、超微量窒素計に関する毛管径の恒常性について定量的に追求した。実験に使用したガラスは、ソーダ石灰ガラス (並質, A 社), アンブル (無色, N. E. 社),

二級硬質（A社），一級硬質（N社），一級硬質（A社），ヒートロン・P（F社），パイレックス（No. 7740），透明石英の8種類である。その結果，著者の窒素計では数年間にわたって目盛補正の更新を必要としないが，従来のマイクロデュマ法の規模の縮小によるデシミリグラム用窒素分析では濃厚アルカリ溶液による目盛管の侵食により，すくなくとも2～3ヶ月に1回，センチミリグラム用では1ヶ月1回およびミリグラム用では6ヶ月に1回の目盛補正が必要であることを明らかにした。

なお，並質ガラスは他の硬質ガラス類にくらべてアルカリによる侵食が最も少ないため，目盛補正の頻度をより少なくするためには，目盛管に並ガラスを用い，他の複雑な構造の部分をパイレックス製とし，中間ガラスによる接続によって窒素計を製作するとよい。

6) 封管法による溶液中の総窒素定量

水溶性混合液体試料中の総窒素定量には湿式分解による方法のみが試みられている現状であり，なかでもケルダール法は最も広くこの目的のために利用されている。著者は本法を水溶液あるいは有機溶媒などによる混合液体試料中の総窒素定量に利用することを試みた。方法は，試料溶液 0.5～1.0 ml を封管に分注または，はかりとり，凍結乾燥または蒸発乾固したのち封管分解を行なうものである。

本法は水溶液あるいは有機溶媒などによる混合液体試料中の数 p.p.m. までの総窒素の定量が可能であり，飲料食品の稀釈水溶液，生化学におけるりん脂質成分の N/P 比率あるいは，近紫外部，280 nm 付近に吸収をもたない合成ポリペプチドの溶液濃度の決定および特に透析後の溶液の濃度の決定などに有効に利用できた，

7) 昇華性および吸湿性試料の取り扱い

昇華性および吸湿性の大きい試料の取り扱いには，アルミニウムはく製カプセルの使用が広く行なわれている。しかし封管法では，封管内にアルカリ吸収液を引き込み，窒素を毛管の先端に押し詰めて捕集するので，アルミはくは使用できない。

著者らは，これらの試料の取り扱いに銅はくカプセルを使用する方法を考案した。銅はくは，パネル配線用の厚さ 0.035 mm のものを，溶解研磨によって厚さ 0.015～0.020 mm となし，これを熱処理したものを使用する。この方法により，常温解放状態で 300 μg につき約 80 $\mu\text{g}/\text{min}$ の揮散性を示す物質あるいは約 30～60 $\mu\text{g}/\text{min}$ の吸湿増量を示す物質の取り扱いが可能となった。

8) 液体試料の取り扱い

超微量分析における液体試料の扱いは，種々の報告が見受けられる。しかし，これらを封管法超微量窒素分析に適用するには，まだ若干の難点が残されていた。

著者らは，これらの試料を超硬質ガラス製の薄肉アンプルに封入して，揮散を皆無ならしめ，かつ燃焼管内でこれを容易に破壊して加熱分解を行ない得る2つの新しい簡易法を考案した。

これによって，エチルエーテル程度の蒸気圧の極めて高い試料のはかりとりと分析が完全な揮散防止のもとに不揮発性試料と何ら変らない安易さで正確に実施出来るようになった。またこの方法を昇華性の極めて大きい試料の取り扱いに適用可能となし，封管法超微量窒素分析における揮発性液体および固体試料のはかりとりおよび取り扱いに関する一つの新しい方法を確立することができた。

論文審査の結果の要旨

試料中の窒素の超微量分析法としては真空ビュレットを用いる キルシュテン-穂積の方法があるが、これを常用分析に使用するには、精度と正確さの問題、操作の煩雑等がある、なお測定装置に改良の余地があり、また根本的に検討すべき点が残されていた。

宮原はこれらの点に着目して先ず実用分析に適する封管法用超微量窒素計を考案した。また毛管現象によるガス圧の上昇が従来から無視されていたが、これが超微量分析では無視し得ない値となることを実験的に確かめ、圧力を水銀柱に換算して補正し、より正確な分析結果を得ることができた。

窒素計内の窒素の測容に当っては窒素計の温度の局所変化が結果に大きく影響するのでこれを避けるために水ジャケット付き窒素計を考案しこの問題を解決した。

また測定に用いるガラス毛管は酸、アルカリ、水等により侵食を受けその径の変化することを知られているが、著者は種々のガラスを用いて実験した結果、並ガラスが他の硬質ガラスに比し、アルカリの侵食が最も少ないことを知り、窒素計の目盛管に並ガラスを、他の部分にパイレックスガラスを用いる等その材質についても詳細な検討を行っている。

数 μl の窒素の測容には通常減圧拡大法が用いられているが操作の煩雑さを免れ得ない。著者は前記の窒素計を更に微量化すると共に試料ボートに銅箔を使用することにより生成する窒素酸化物の還元と余剰酸素の吸収を行ない操作を簡便化すると同時に精度をあげることに成功している。

著者の考案した窒素計を用い溶液中の微量の窒素の測定を行ない数 ppm までの総窒素の定量を可能とし、また昇華性あるいは吸湿性の試料について銅箔カプセルを使用する新しい方法を考案して試料の取扱いを容易にした。液体試料についても超硬質ガラスの薄肉アンブルに封入することにより、エチルターテル程度の高い蒸気圧を有する試料のはかりとりを完全な揮散防止のもとに行ないうる方法を考案し、その超微量窒素分析法を確立した。

以上本研究は元素分析の進歩に貢献するところ大である。

よって、本論文は薬学博士の学位論文として価値あるものと認める。