

SCIENTIFIC INSTRUMENT NEWS

HITACHI

SEP.
VOL.38

1995
No.1

目 次

巻 頭 言

化学分析と分析化学 ……後藤克己 -1

報 文

スロースキャンCCDカメラ内蔵分析電子顕微鏡を用いた臨床診断への応用

……………高野邦雄 -3

ヒトにおけるカフェイン代謝物の分析と遺伝的多型性

……………横井 毅, 鎌滝哲也 -7

MIP-MSを用いた生物試料中のセレンの同位体希釈分析

……………吉永 淳, 森田昌敏 -11

解 説

亜鉛メッキ鋼板の断面観察(FIB-TEMシステムの応用)

……………上野武夫, 矢口紀恵, 松本弘昭,
小池英巳, 坂 公恭 -16

P-4000形ICP発光分析システムの水質分析などへの応用

……………平野義博, 松井 繁, 原田勝仁 -18

学会発表 ミニファイル……………14

新製品紹介

P6000形MIP-MS元素分析装置……………24

S-3200N 日立走査電子顕微鏡 ……24

技術資料 新刊紹介

テクニカルデータ最新版ダイジェスト
……………22

トピックス

・'95分析機器展開催……………2

・Pittcon'95開催……………10

・第4回環境化学討論会開催……………10

・第56回分析化学討論会開催……………10

・第51回日本電子顕微鏡学会……………10

・H-3000形超高压電子顕微鏡完成……………17

・第2回クロマトグラフィーシンポジウム開催……………17

展示会のお知らせ

・第6回北京分析測試學術報告会・展覧会……………6

巻 頭 言

化学分析と分析化学

Chemical Analysis and Analytical Chemistry

後藤 克己*



私の先生は化学分析と分析化学の違いをよく口にし、“君は分析者ではなく分析化学者になりなさい。”とっておられた。天秤と分光器くらいしか道具がなかった時代のことであるから、現在なら分析と分析科学というところであろう。しかし、どうもわが国には分析と分析科学を混同している人が多いように思える。私は今まで何回か公害の調査にかり出されたが、調査か研究か区別のつかない仕事も多かった。次に述べるのは水質汚染にかかわる私のささやかな仕事である。これを研究と呼んでもらえるだろうか。

1966年4月のこと、カナダ国立研究所への留学を終えて帰国すると、北海道庁からの要請で洞爺湖の調査の仕事が待っていた。“酸性の強い鉱山廃水が流入したため、洞爺湖が酸性化し、魚がとれなくなったという訴えがある。調査してほしい。”というわけである。

洞爺湖が鉱山廃水の影響を受けるようになったのは、強酸性の鉱山廃水で汚染された川をせき止め、その水を洞爺湖に落とすことによって発電を始めたからである。1939年のことである。

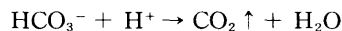
洞爺湖の水の量は、発電所を通じて流入する水の約20年分に相当する。このため、漁業関係者は発電所建設後20年で洞爺湖の水質は発電所放流水と同じになると考えていたらしい。

関係機関の協力を得て実際に調査してみると、発電所建設以来30年近くになろうというのに湖水のpHは6.7～7で、水質にそれほどの異常があるとは思えない。そうすると、一部の人のいう“発電所は洞爺湖にそれほどの悪影響を及ぼさない。”という説も嘘ではないように思える。近くには昭和火山という活火山もあり、そちらの影響のほうが大きいという人もある。

さて、いろいろと思い悩み、湖水の分析データを眺めているうちに、洞爺湖のアルカリ度(HCO_3^- の濃度を表すと考えてよい)が非常に小さいことに気がついた。支笏湖や然別(しかりべつ)湖のアルカリ度が0.8ミリ当量/ℓ(meq/ℓ)くらいなのに、洞爺湖のアルカリ度は、わずか0.03 meq/ℓで、やっと測定にかかる程度なので

* 富山大学名誉教授 理博

ある。どうも



という反応によって永い間に湖水のアルカリ度が失われてしまったらしい。

ここで中和滴定のことを思い出した。 HCO_3^- を酸で滴定するとき、中和によって生じた CO_2 が大気中に放出されるならば、pHは、 HCO_3^- が残っている間はほとんど変化せず、 HCO_3^- がなくなる寸前から急に低下するはずである。すなわち、湖に酸が流入した場合、pHよりも先にアルカリ度に変化が認められるはずである。

ちょっとわき道にそれるが、 HCO_3^- が少なくなると、水の緩衝作用がなくなり、ちょっとしたことでpHが変化する。このような水のpH測定は非常に難しい。pHメーターの指示が落ち着かず悩まされたものである。最近、雨や霧のpHが問題にされているが、果たしてpH測定がうまくできているかどうか気になるところである。指示薬を使ってpHを測定する人もあるが、指示薬を加えただけでpHが変わってしまうおそれがある。

あとは中和滴定の応用問題である。洞爺湖がピーカー、発電所がビュレットである。ピーカー内の滴定と違うのは、絶えず HCO_3^- を含んだ正常な水が湖に流れ込んでいることと、流入した水の分だけ湖水が出て行くことだけである。昭和新山の麓にある温泉も十分に HCO_3^- を含んでいるから、昭和新山の活動が洞爺湖の酸性化の原因になっているとは考えられない。また、湖水はよく混合されているので、一部の人が考えるように、発電所を通じて流入した水と湖水とがそっくり入れ替わるわけではない。

pHよりもアルカリ度のほうが重要ということになれば昔のアルカリ度のデータがほしい。しかし、発電所建設前のデータは見あたらず、1955年と1957年にそれぞれ一度ずつ0.26 meq/lという値が測定されているだけであった。それでも貴重なデータである。昔の洞爺湖のアルカリ度を0.8 meq/lと仮定すると、この0.26 meq/lという値から、それまでの鉱山からの酸の排出量が計算できる。その結果1966年ころの半分という結論が得られた。発電所ができたときには鉱山は一つしかなく、あとで二つになったことを考えると妥当な結論である。

このような計算の結果、発電所建設以来のアルカリ度の変化が推測できた。アルカリ度と CO_2 濃度がわかるとpHが計算できる。過去のpHの測定値は、湖水中の CO_2 が少し過飽和になっていると仮定して求めた曲線のまわりに分布するではないか。そのまま酸の流入が続けば、近い将来、湖水のpHが急激に低下することは疑いない。残念なことに、このような結論に到達したころには、pH低下がかなりはっきりと認められるようになっていた。もし、湖水のアルカリ度を発電所建設当初から継続的に測定していたら、少なくとも15年は前に洞爺湖の酸性化を予測できたはずである。かえすがえすも残念なことをしたと思っている。

幸か不幸か鉱山が廃山に追い込まれ、廃山にあたっていろいろな公害防止対策がとられ、洞爺湖は死の淵からよみがえった。その後、有珠山が噴火し、湖に大量の火山灰が降った。このころには公害対策のおかげで湖水の水質はかなり快復していた。世間には有珠山の噴火のおかげで洞爺湖の水質が快復したと考える人がいるようであるが、決してそうではない。

これらの結果を「Water Research」に発表したところ毎日のように別刷請求の手紙が舞い込んだのも楽しい思い出である。もし、洞爺湖の酸性化が中和滴定の問題であることに気がつかなかったら、この仕事は単なる調査に終わっていたに違いない。ちょっとしたことがきっかけになって研究らしいことができたことをわかっていただければ幸いである。

筆者略歴

1929年 札幌市生まれ
1952年 北海道大学理学部化学科卒業
1953年 北海道大学工学部助手
1961年 同助教授
1973年 富山大学理学部(当時文理学部)教授
1995年 定年により富山大学を退職
受賞
1991年 日本分析化学会賞
1993年 環境庁長官表彰(地域環境保全)

Topics

'95分析機器展開催

1995年9月5日(火)～8日(金)の4日間、
日本コンベンションセンター(幕張メッセ)

において'95分析機器展が開催された。

日立では《Touch & Feel ふれて感じる日立の技術》をテーマにし、LaChrom分析情報システム、GC-3 DQMSシステム、LC-QMSシステム各種分光光度計などを展示実演した。

(松平俊次 記)

報 文

スロースキャンCCDカメラ内蔵分析電子顕微鏡を用いた臨床診断への応用

An Application of Analytical Electron Microscopy with Slow-Scan CCD Camera in Clinical Diagnosis

高野 邦雄*

(平成7年6月13日受理)

1. はじめに

電子顕微鏡は、広く臨床研究に用いられているが、日常的な臨床診断のために利用されることは極めてまれである。その理由として、いくつか挙げられるが、主として「試料作製の煩わしさ」、「診断資料作成に長時間を要する」および「電子顕微鏡の診断に至る必要例が少ない」などが考えられる。確かに従来の方法では、試料の採取から電子顕微鏡写真の完成まで、どんなに急いでも3日間が必要である。また、それぞれの過程において専門的技術を要するため、だれでも気軽に取り組むことは困難であった。そのため臨床研究の目的は別として、臨床診断の目的としては、従来の方法は普及しなかったのではなかろうか。こうしたもろもろの煩わしさを可及的に解消するため、スロースキャンCCDカメラ内蔵分析電子顕微鏡による迅速臨床診断法を開発したので紹介する。この方法の最も優れた特徴は極めて短時間で電子顕微鏡像の観察とX線元素分析が可能なことである。また電子顕微鏡の技術をほとんど持ち合わせていない初心者でも、数時間のトレーニングで試料採取から診断に必要な電子顕微鏡像およびX線元素分析まで約2時間ですべての過程を終了させることができる。熟練者であれば、さらに短時間で完了させることが可能である。この方法の骨子は、徳安法^{1)~3)}による凍結超薄切片法による試料作製とスロースキャンCCDカメラ内蔵分析電子顕微鏡の使用である。

2. 凍結超薄切片の作製

微細構造観察のための凍結試料作製法については、すでに多くの研究者による報告があるが、特殊な機器や技術の必要もなくだれでも安定した試料作製ができる徳安法を用いる。詳細は原著論文^{1)~3)}を参照するとして、当研究室で行っている手法の概略は、次のとおりである。

(1) 試料を0.05 Mカコジル酸緩衝液 (pH7.4) にて調整した4%パラホルムアルデヒドおよび0.5~1.0%グルタルアルデヒド混合液中で0.5 mm角に細切する。細切試料を同固定液中で15~20分間固定する。

(2) 固定された試料を直ちに2.3 M蔗糖液 (PBS) 中に30%PVP(ポリビニールピロドン, Sigma, MW 10,000)を加えた混合液中に15~30分浸す。

(3) PVPが浸透した試料をクライオ・ウルトラ・ミクロ

トームの試料台に付け、液体窒素素中に入れ凍結させ、80~100 nmの凍結超薄切片をつくる。

(4) 凍結超薄切片をテフロングリッドに載せる。室温にもどし濾(ろ)紙とドライヤーで乾燥させる。

以上で、試料作製過程はすべて終了する。この間90分もあれば十分である。

3. スロースキャンCCDカメラによる電子顕微鏡像の観察

3. 1 スロースキャンCCDカメラ (Slow-Scan Charge Coupled Device Camera) とは

電子顕微鏡用試料(超薄切片)を透過した電子線量を単結晶YAGあるいは粉末蛍光体シンチレーター上で光子量に変換し、光ファイバーでCCDセンサーに伝達する。350 kHzでCCD信号を読み取り、14ビットA/Dに変換し、デジタル画像を作成し、16ビットのDMA転送可能なコンピュータへ転送する。コンピュータへ取り込まれたデータは直ちにCRT上に画像として表示される。ガタン社ではSSC (Slow-Scan CCD Camera) 用の画像の取り込み、さらに画像処理のためのソフトとしてDigital Micrographを提供している。このソフトはアップル・コンピュータ社製マッキントッシュで対応し、初心者でも簡単に操作できる。

3. 2 スロースキャンCCDカメラを電子顕微鏡的臨床診断に用いる利点

(1) 感度が蛍光板や従来のEMフィルムに比べて著しく高いため、未染色の超薄切片からでも容易に電子顕微鏡像を観察することができる。したがって、電子染色の必要はない。凍結超薄切片の電子染色は、一般の樹脂包埋超薄切片の場合と異なり技術的に困難であり^{4),5)}、また鏡体汚染のおそれもあるので、未染色のまま観察できることは大きな利点である。

(2) CRT上で簡単に画像の観察および画像処理ができる。また処理されたそれぞれの画像をハードディスクおよびフロッピーディスク上に保存できる。

(3) CRT上の画像は数秒でプリンタにハードコピーができる。またフロッピーディスクから高性能なプリンタへのコピーも可能である。

(4) EMフィルムの現像や印画紙上への焼き付けの必



* 長崎大学 歯学部 教授、医博

要がないので短時間で電子顕微鏡像が得られる。

4. X線元素分析の医療診断への応用

金属イオン代謝異常による疾患や外部より体内に取り込まれた金属の蓄積などによって引き起こされる種々の疾病を診断するためには、X線元素分析は有効な方法である。この目的のために従来から多くの方法や観察結果が報告されてきた^{6)・7)}。また日本電子顕微鏡学会や日本臨床電子顕微鏡学会でも研究班を設け、より良い方法の改善と応用について研究を重ねている。しかしながら、日常の病理診断のためには、この応用はなかなか普及していないのが現状である。その大きな原因は、前記したように「電子顕微鏡試料作製の煩わしさ」と「診断資料の作成に長時間を要する」によるものではないかと考えられる。分析電子顕微鏡を用いたX線元素分析において重要なことは、試料作製過程における必要外の元素を可及的排除することである。このため未固定試料を未包埋で元素分析試料を作製することが理

想であるが、技術的な問題が伴いだれでも簡単にはできない。その点、徳安法による凍結超薄切片の作製とスロースキャンCCDカメラを内蔵した分析電子顕微鏡を用いることにより、難題の多くが解消されることが期待される。すなわち、試料作製においては、アルデヒド系固定剤による短時間の弱い固定と樹脂包埋を行わないため、比較的理想的に近い試料が短時間で作製可能である。一方、電子顕微鏡像観察とX線元素分析はスロースキャンCCDカメラによる画像の瞬時のプリントと相対する部位のX線元素分析結果のプリントアウトにより、従来よりも大幅な時間の短縮と精度の高い元素分析結果が得られる。

5. 観察結果とまとめ

電子顕微鏡を用いた臨床診断の目的のため、日常手軽に應用できるルーチンワークとして凍結試料作製方法とスロースキャンCCDカメラ内蔵分析電子顕微鏡の使用方

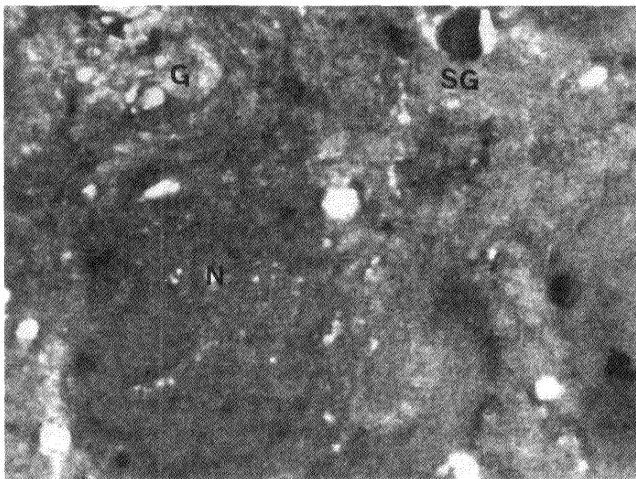


図1 唾(だ)液腺腫瘍(しゅよう)が疑える患者から摘出した病理診断試料：複雑に分葉した核，ゴルジ層板および分泌顆粒などが識別できる。N：核 G：ゴルジ装置 SG：分泌顆粒

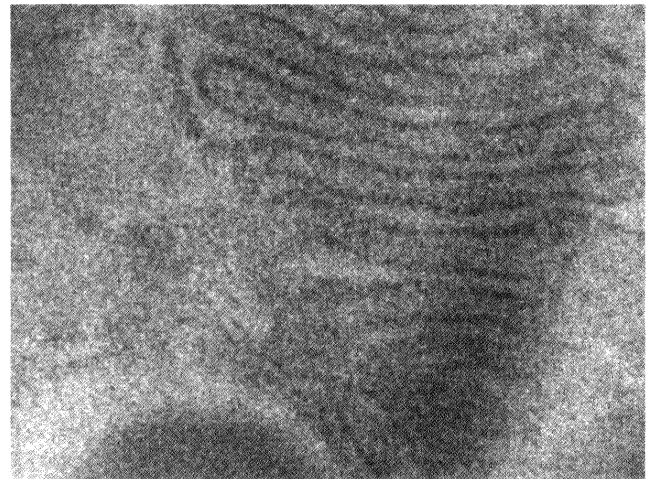


図3 図2と同試料の粗面小胞体の拡大：固定の影響で小胞体膜はネガティブになっているため観察されないが、リボソームは明瞭に認められる

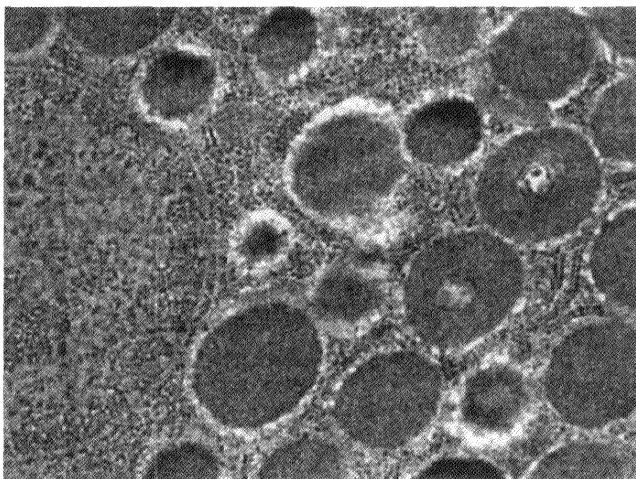


図2 スナネズミ耳下腺腺房細胞：2%パラホルム-0.1%グルタルアルデヒド固定，樹脂包埋の超薄切片，未染色；核，核膜，粗面小胞体などの細胞小器官および分泌顆粒などが詳細に識別される

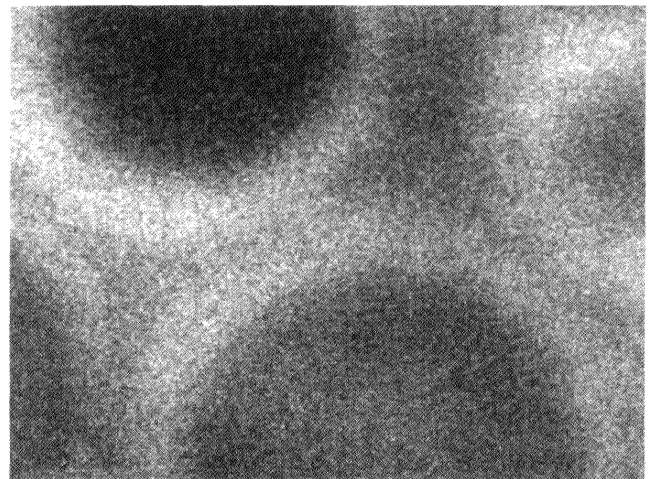


図4 図2と同試料の分泌顆粒の拡大：スナネズミ耳下腺腺房細胞における特異な二重構造が明瞭に認められる

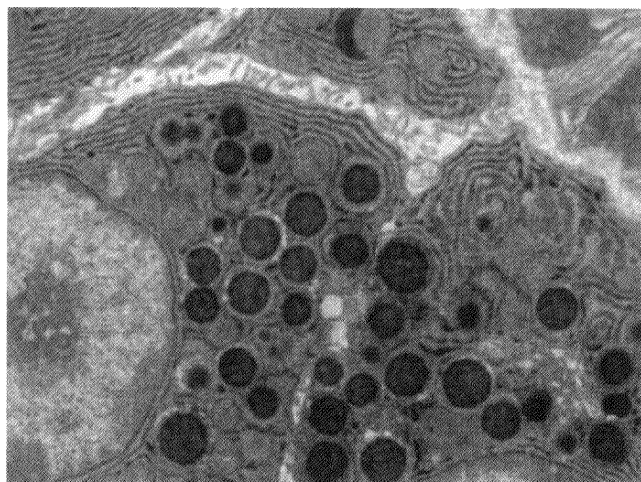


図5 スナネズミ耳下腺腺房細胞における内因性ペルオキシダーゼの局在検出のための組織化学反応結果、未染色：反応陽性部位と陰性部分が明確に識別される

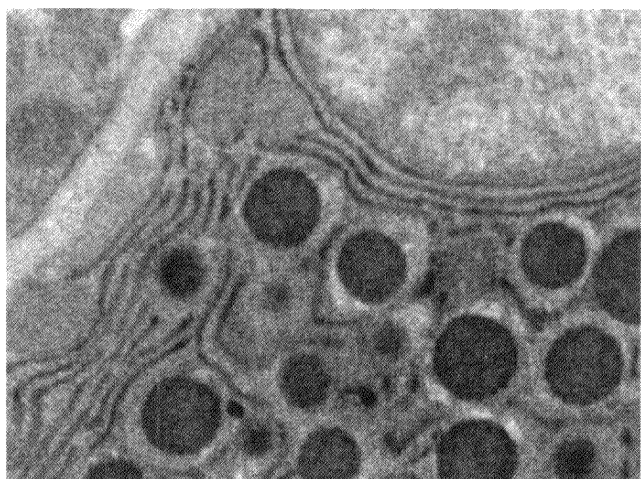


図6 図5と同試料の拡大：反応陽性である核膜、粗面小胞体および分泌顆粒に染色切片以上のコントラストが得られる



図7 図6の一部の強拡大：ミトコンドリアの膜系や細胞膜などの構造も拡大を上げることによって明瞭に観察することができる

について記述した。スロースキャンCCDカメラの最も有効な利点は、新鮮試料の超薄切片を未染色のまま観察でき、しかも極めて短時間で電子顕微鏡像を取得可能であり、さらに画像処理およびフロッピーディスク上に保存が容易にできることである。したがって、この方法は作業時間を従来よりも極端に短縮することができると同時にデータの保存・整理が簡単であるため臨床診断への応用として必要な諸条件を備えているといえる。

図1は、電子顕微鏡観察のための技術をあまり修得していない大学院生が患者から採取した病理診断用試料から、本方法で得た画像である。未染色でもこのように十分なコントラストが得られる。さらに、必要に応じ凍結超薄切片法によって作製された試料を用いて免疫細胞化学的反応を行う場合でも^{8),9)}、本方法では煩わしい電子染色の必要性がなく、また画像処理によって、反応部位を明確に表示できる。

オスミウム酸を用いないアルデヒド固定液のみを使用した未染色超薄切片からどれだけのコントラストが得られるかスナネズミ耳下腺を材料として試みた実験で得られた画像が、図2～4である。オスミウム酸を用いていないので膜系は明瞭でないが強拡大でも十分に耐えうる画像が得られた。図5、6は、スナネズミ耳下腺における内因性ペルオキシダーゼ活性部位を酵素組織化学的方法で観察したものである。膜系の構造はEMフィルムを用いた通常の電子

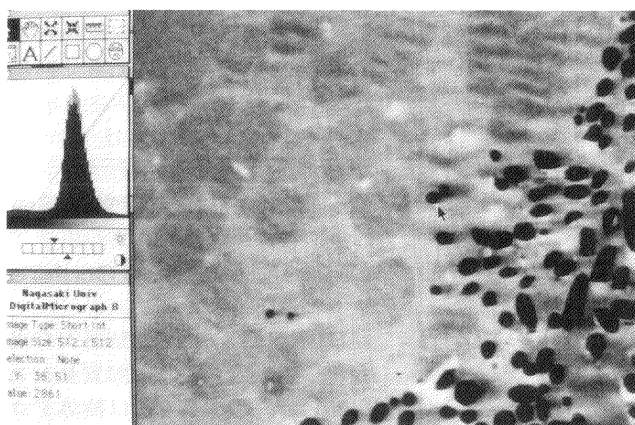
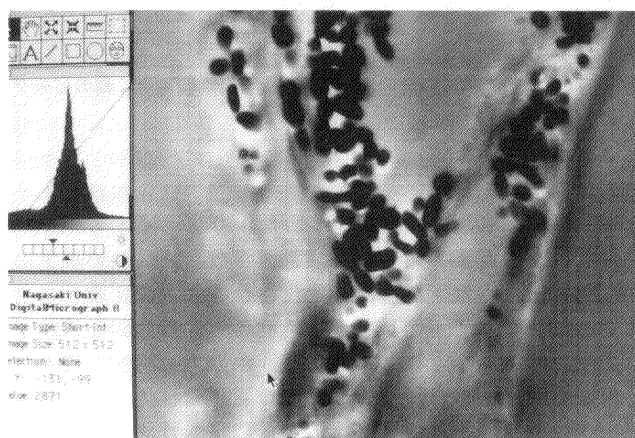


図8および図9 凍結包埋超薄切片法で作製したマウス網膜中の色素細胞：CRT上にDigital Micrographソフトによって表示した画像を直接撮影したもの

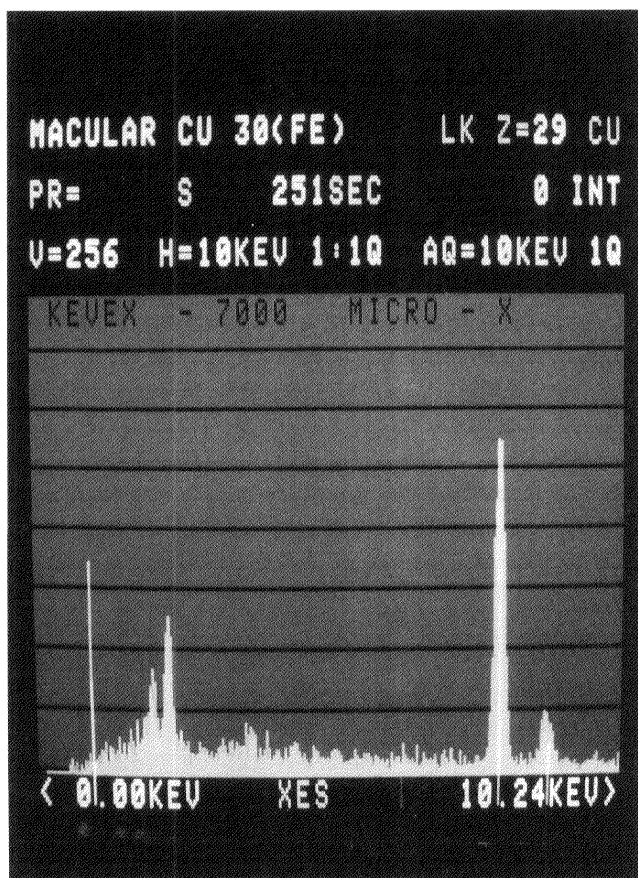


図10 図9の色素顆粒部分のX線元素分析結果：顆粒中に銅のピークが認められる

顕微鏡像に比べれば不明瞭であるが、図7に見られるように拡大を上げることによりミトコンドリアの膜系も明瞭に識別できた。スロースキャンCCDカメラは、一個の画素にディテクトした電子線量は平均化され同じ電子密度として表示されるため、分解能はEMフィルム上の微細な銀粒子に感光させる場合と異なり劣るが、強拡大の画像を得ることにより微細構造を観察することができる。

マクラマウス (Macular Mouse) はメンケス (Menkes) 病のモデルマウスとして、銅イオン代謝異常の解明のために用いられている。マクラマウスの眼球壁の色素顆粒内の銅イオン量を測定するため本方法を用いてX線元素分析を

行った¹⁰⁾。図8、9は凍結包埋超薄切片法で製作した眼球壁細胞をスロースキャンCCDカメラを通しDigital Micrographによりコンピュータに取り込んだ画像のCRT上の様子である。凍結超薄切片法とは液体プロパン中で急速凍結した試料を凍結したまま-40℃で樹脂包埋する方法である¹¹⁾。図10は図9の色素顆粒部分をX線元素分析結果で、顆粒内に銅沈着が認められた。

参考文献

- 1) Tokuyasu, K.T. : A technique for ultracryotomy of cell suspensions and tissues. *J. Cell Biol.* 57 : 551-565, (1973)
- 2) Tokuyasu, K.T. : Application of cryoultramicrotomy to immunocytochemistry. *J. Microscopy (London)* 143 : 139-149, (1986)
- 3) Tokuyasu, K.T. : Use of poly (vinylpyrrolidone) and poly (vinyl alcohol) for cryoultramicrotomy. *Histochem. J.* 21 : 163-171, (1989)
- 4) Tokuyasu, K.T. : A study of positive staining of ultrathin frozen sections. *J. Ultrastruct. Res.* 63 : 287-307, (1978)
- 5) Tokuyasu, K.T. : Adsorption staining method for ultrathin frozen sections. *Proceedings of the 38th Meeting of Electron Microscopy Society of America* (ed. by G.W. Bailey), pp. 760-763. Claitor, Baton Rouge.
- 6) 水平敏知, J.C. Russ. : 分析電子顕微鏡, pp. 160-208. 日本メディカルセンター, (1978)
- 7) 入江 宏, 森 亘, 森 武三郎, 斉藤 司. : 分析用電子顕微鏡の臨床医学への応用, *The Hitachi Scientific Instrument News* 28 : 1-6, (1985)
- 8) Tokuyasu, K.T., Dutton, A.H. and Singer, S.J. : Immunoelectron microscopic studies of desmin (skeleton) localization and intermediate filament organization in chicken cardiac muscle. *J. Cell Biol.* 96 : 1736-1742, (1983)
- 9) Tokuyasu, K.T. : *Immuno-cryoultramicrotomy. Immunolabeling for Electron Microscopy* (ed. by J. M. Polak and I.M. Varndell) pp 71-82, Elsevier, Amsterdam. (1984)
- 10) 高野邦雄, 三島一晃, 雨宮次生. : 網脈絡膜内色素顆粒の元素分析について, *臨床電顕誌*, 第27巻, 増刊号, S170, (1994)
- 11) 高野邦雄. : 未発表



第6回北京分析測試學術報告会・展覧会

(The Sixth Beijing Conference and Exhibition on Instrumental Analysis)

期日(展示会) : 1995年10月24日(火)~28日(土)

会 場 : 北京国際貿易センター

出 展 品 : 日立では液体クロマトグラフ, 原子吸光光度計, 超遠心機などの出展を予定している。

U.D.C. [612. 461. 17 : 543. 544. 4. 084. 82] : [547. 857. 4 : 612. 015. 34] : [575. 17 : 577. 152]

ヒトにおけるカフェイン代謝物の分析と遺伝的多型性

Analysis of Caffeine Urinary Metabolites for the Study of Genetic Polymorphism of Drug Metabolism in Man

横井 毅*, 鎌滝 哲也**
(平成7年7月5日受理)

1. はじめに

日本人は酒を飲むと赤くなるヒトが多いが、白人で酒に弱いヒトは非常にまれである。これは、日本人では45%のヒトがアルコールの代謝物であるアセトアルデヒドを代謝する酵素の欠損者であるが、白人ではこの欠損はまれであることが原因である¹⁾。

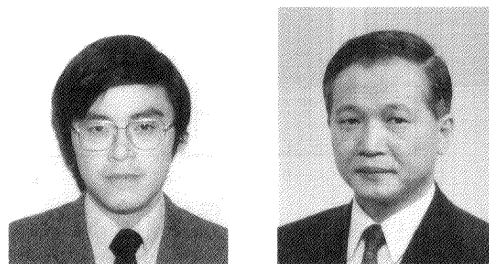
アルコールの場合と同様に、薬物を同条件で同量、複数のヒトに投与した場合、その薬物の血中濃度に大きな個体差が認められ、一部の患者に異常反応(副作用・効き過ぎ)が起きることは比較的古くから臨床の場で知られていた。その主な原因が、薬物代謝能力の遺伝的な差異に基づくものであることが明らかにされ始めてきた。一般にある薬物に対して代謝能の低いヒトをpoor metabolizer (PM)、高いヒトをextensive metabolizer (EM)と言う。遺伝的因子により何らかの副作用が発現するヒト、いわゆるPMは全人口の10%にも達すると言われている。

特別な薬物を投与することなく個々人の薬物代謝能力を予知する、すなわちPMかEMかを判定し、その結果が薬物代謝酵素の遺伝子診断と完全に一致する系の開発が期待されている。ごく一部の薬物代謝酵素については、PMを判定する遺伝子診断法が確立されている²⁾。本稿ではこの分野における研究について、特別な薬物ではないカフェインをプローブとして用いて、ヒトにおけるその代謝物の分析法について述べるとともに、その代謝にかかわっているN-アセチル転移酵素(NAT)の遺伝子診断への適用について紹介する。

1985年ごろから現在まで、ヒトにおけるカフェインの代謝経路の分析法、同定法についてのいくつかの報告がある^{3,4)}。カフェインの代謝物は、尿中排泄率が高く、抽出も容易であり、またHPLCによる検出も比較的容易であるが、筆者らは、多くのカフェイン代謝物を容易に短時間で同定するためにフォトダイオードアレイ検出器を用いている。本稿の内容は分析法としての先進性には乏しいが、その分析結果から遺伝多型の研究へと展開しているので、紹介したい。

2. カフェイン代謝物の分析方法

ボランティアによるカフェインテストは以下の方法で行った⁵⁾。試験日前夜から試験実施時間までの8時間以上はお茶、コーラ、かぜ薬などのカフェイン含有物を摂取しない。開始時にインスタントコーヒー2杯を飲ませる。こ



れはカフェイン110 mgを含有する。カフェイン含有物以外の水、食物の摂取は自由にする。4時間後に排尿して膀胱を空にし、その後、1時間の蓄尿の一部を採取した。ヒトでのカフェイン代謝物の尿中排泄量は、経時的に採尿した結果4～5時間後に最大になり、各代謝物の相対含量は変化しないことをあらかじめ確認している。採取した尿は代謝物の安定化のためにpH3.5に調整した。採取後すぐにこの操作をできない場合は、速やかに凍結保存した。

その後、硫酸アンモニウムで飽和とし、クロロホルム/2-ブロパノール(95:5 v/v)で抽出した。有機層を分取し、窒素気流下で乾燥後、0.05%酢酸溶液に溶解し、0.45 μmのフィルターを通した後、HPLC用の試料とした。HPLCは日立L-7100形ポンプとL-7400形紫外外部吸収検出器を280 nmで使用し、同時に日立D-6500J形フォトダイオードアレイ検出器を用い、210～400 nmを測定した。カラムは通常のC18の逆相カラムを使用するが、17種類の代謝物を一斉に分析するため、理論段数が高い必要がある。このため、粒子径4ミクロン、30センチ長カラムを用い、移動相は、A液:5%メタノール-0.05%酢酸とB液:70%メタノールを用い、溶離の条件は以下のとおり行った:0% B(0～8 min), 0～3% B(8～13 min), 3% B(13～18 min), 8% B(21～25 min), 8～26% B(25～34 min), 26% B(34～52 min), 26～100% B(52～63 min), 100% B(63～70 min), 100～0% B(70～77 min), 0% B(77～93 min)。カラム温度は30℃とし、流速は0.6 mL/minで行った。内部標準物質としてアセトアミノフェンを用いた。カラムからの溶出は、5-アセチルアミノ-6-アミノ-3-メチルウラシル(AAMU), 5-アセチルアミノ-6-ホルミルアミノ-3-メチルウラシル(AFMU), 3-メチル尿酸(3U), 7-メチル尿酸(7U), 7-メチルキサンチン(7X), 1-メチル尿酸(1U), 3-メチルキサンチン(3X), 3,7-ジメチル尿酸(37U), 1-メチルキサンチン(1X), 内部標準アセトアミノフェン(IS), 1,3-ジメチル尿酸(13U), 3,7-ジメチルキサンチン(37X, テオプロミン), 1,7-ジメチル尿酸(17U), 1,7-ジ

* 北海道大学薬学部 代謝分析学講座、助教授・薬博・医博

** 北海道大学薬学部 代謝分析学講座、教授・薬博

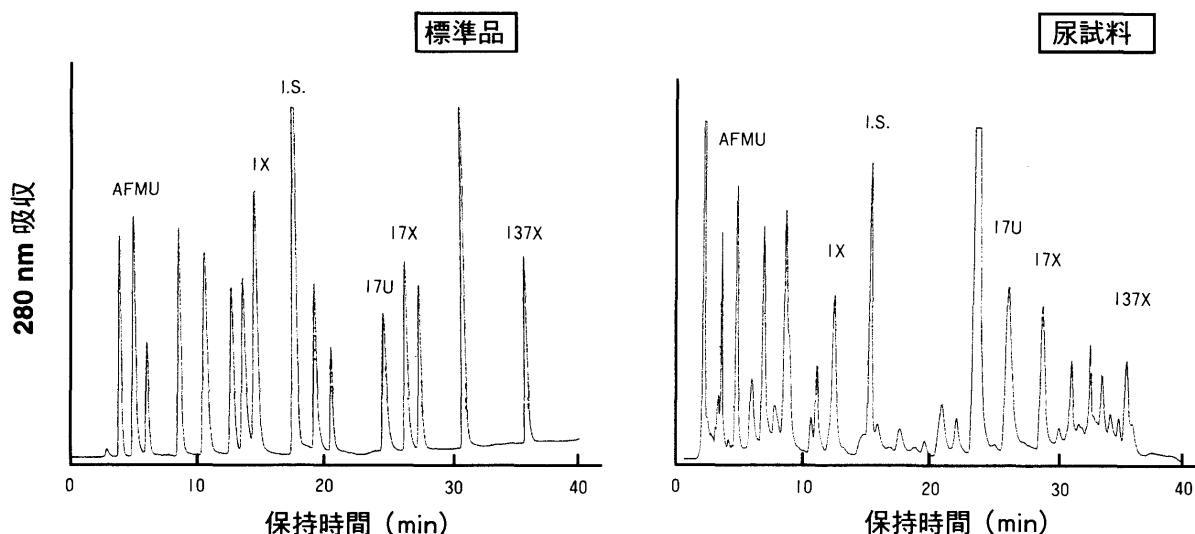


図1 ヒト尿中カフェイン代謝物のHPLC分析チャート

メチルキサンチン (17X), 1, 3-ジメチルキサンチン (13X, テオフィリン), ベータヒドロキシエチルテオフィリン (BHET), 1, 3, 7-トリメチル尿酸 (137U) の順であり, 最後に1, 3, 7-トリメチルキサンチン (137X, カフェイン) が溶出される。代表的なヒト尿試料のHPLCチャートを図1に示す。

尿中のカフェインおよびカフェイン代謝物は, 吸収スペクトルと保持時間を標品と比較することにより同定した。未変化体であるカフェイン (137X) の溶出される付近には, 生体成分が混入しやすい。したがって, 各ピークについてフォトダイオードアレイ検出器で紫外外部吸収波形を測定し, 標品の吸収波形と照合することにより確認を行った。すべての代謝物の定量は, 標品からモル吸光係数を求めることにより行った。

3. カフェイン代謝にかかわる酵素と同定方法

ヒトにおけるカフェインの推定代謝経路を図2に示す。各ステップにおける矢印の太さは, その反応の相対的な量を示す。カフェイン (137X) は3位の脱メチルを経て, さらに1XまたはAFMUへと代謝される経路が, ヒトにおける主たる経路である。1X生成反応はチトクロームP450の分子種の一つであるCYP1A2によって, 17XからAFMUへのアセチル化反応はNATによって触媒される。1Xから1Uへの反応はキサンチンオキシダーゼ (XO) が触媒している。その他の反応にはチトクロームP450の分子種であるCYP1A2, CYP2E1, CYP3A4, CYP3A5, CYP2A6などの関与が証明, または示唆されている。

個々の反応を触媒する酵素の同定にはさまざまな方法がある。一般には, 精製酵素を用いて, それぞれの化合物を基質とした反応が起こるかどうかを検討する。特異的な抗血清がある場合には, ヒト肝試料と *in vitro* でそれぞれの化合物を基質として反応させる。この反応に抗血清を加え, 反応の阻害程度を測定する。さらに, 個々の酵素に特異的であることが明らかにされている阻害剤・活性化剤を用いて確認する方法も行われる。最近, 大腸菌, 酵母, カイ

コの細胞, サル腎臓由来のCOS細胞やヒトリンパ芽球細胞に, ヒトの薬物代謝酵素の遺伝子を導入・発現させたものが多数報告されており, 一部は市販されている。これらの発現酵素を用いて, 個々の代謝経路を同定することができる。しかし, 発現系の差異, 電子伝達の良否などにより, かなり異なった結果になることがあるため, 慎重な検討を要する。

4. カフェインテストによるNAT活性測定

NATは, 薬物のアミノ基, ヒドラジン基をアセチル化する酵素で, 抗結核薬であるイソニアジド (INH) のほかにサルファ剤, プロカインアミド, フェネルジンなどのアセチル化を触媒する。このアセチル転位酵素活性に遺伝的多型が存在することが明らかになったのは約30年前であり, 患者のINHの血中濃度から, それぞれrapid acetylatorであるEMとslow acetylatorであるPMに分類された⁶⁾。EMでは投与されたINHのうち3%が未変化体のままで排泄され, 残りはN-アセチル体などに代謝されてから排泄される。一方, PMの場合は30%もINHのままで排泄される。このため, 多発性神経炎などが副作用として知られている。

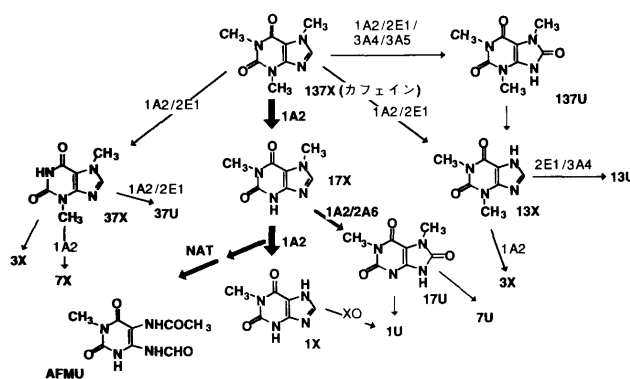


図2 ヒトにおけるカフェインの推定代謝経路

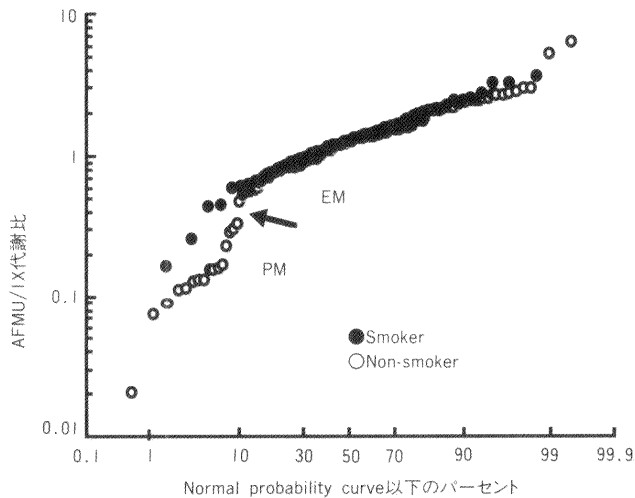


図3 カフェインテストで判定した日本人におけるNATの多型性分布

しかし、N-アセチルINHがアセチルヒドラジンに加水分解される割合がEMで高く、このアセチルヒドラジンが肝障害の原因になるという報告もある。なお、PMの割合は白人・黒人で約50%，日本人で約12%，中国人で約22%という人種差が報告されている。

われわれは、前記のカフェインテストを225人の日本人について行った。カフェインテストをもとに、NATの活性を図3に示すようにAFMU/1Xのモル比で計算した。XO活性は一般に低く、個体差も非常に少ないために、1XをNATの活性の計算に用いることができる。図3の縦軸はNATの活性の指標を、横軸はプロビットプロット法に従って、代謝能の高いヒト順にプロットした。代謝比は喫煙者で 1.4 ± 0.8 、非喫煙者で 1.4 ± 0.9 であり、喫煙による差異は認められなかった。また、ともに代謝比0.4付近に変曲点が認められることから、これよりも低い値のヒト(9%)はPMであると考えられた。

ヒトにおけるNATの代謝能を知るために、現在でもINHを使用する場合がある。カフェインテストであれば、特別な薬物を投与することなく、尿中代謝物の測定のみで、痛みや副作用の可能性を伴わずに、判定を行うことができる。また、紙面の都合上割愛するが、CYP1A2やXOの活性の判定も同時に行うことができる。また、NATのみの判定であれば、採尿後、30分以内に終了することができる。

5. NATの遺伝子型とその判定法

NAT遺伝子は1992年にDeguchiらによって単離され、その全塩基配列が報告された⁷⁾。ヒトのNAT遺伝子は2種類あり、多型性を示すのは一方のNAT2遺伝子であり、NAT1遺伝子には多型性がないことが明らかにされた⁸⁾。さらに、NAT2の290個の蛋白質に翻訳される遺伝子の塩基配列部分(エクソン)の3か所に、制限酵素Kpn I、Taq IとBam HIの3種類によって認識されるDNAの多型性が見いだされ、それぞれM1、M2、M3として図4に示す。図上には遺伝子を増幅するPCR (polymerase chain reaction) 反応で増幅後、制限酵素で処理後の電気泳動模式図を、下に

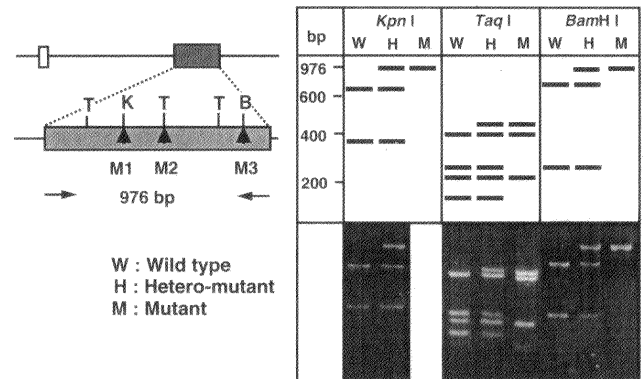


図4 ヒトNAT遺伝子型の診断方法

表1 NAT遺伝子の遺伝子診断とカフェインテストの相関

遺伝子型	検体100件	表現型	代謝能(AFMU/1X)
W/W	62	EM	1.50
W/M1	3	EM	0.94
W/M2	17	EM	1.01
W/M3	8	EM	0.68
W/M2M3	1	EM	0.80
M2/M2	4	PM	0.17
M2/M3	4	PM	0.12
M3/M3	1	PM	0.13

は実際の写真を示す。PCRの詳細は他の成書を参照していただきたい。これらの多型性はいずれも酵素活性の著しい低下を伴うため、これらの遺伝子変異を判定すれば、*in vivo*の代謝能を推定できると考えられた。

カフェインテストのボランティア100人の末梢血からDNAを抽出し、遺伝子を増幅するPCR反応後、遺伝子変異を検索した。その結果、表1に示すように、各個人におけるカフェインテストの判定と遺伝子診断結果は一致した⁹⁾。最近急速にpopulationの遺伝子解析が進み、現在までに18種類のNAT遺伝子の変異が報告されている。特に黒人種に多くの変異が報告されている。また検討した範囲では、黒人種などで報告されているような多種類の変異は、現在まで日本人には認められず、当初の報告の3種類のみである。この研究からNATのPM、EMの判定には、カフェインテストによる尿中代謝物分析を行うか、血液(0.1 ml程度)または毛髪(2本程度)を使用して遺伝子診断するか、状況に応じた選択ができるようになった。

6. おわりに

薬物代謝酵素の多型性の研究は、薬の副作用の発現を予知し、防止するという極めて社会的な目的がある。このために、さまざまな多型性の遺伝子診断のための基礎的研究を積み上げていく段階であるが、こうした研究において、*in vivo*と*in vitro*の相関を多くのヒトで、かつ多くの薬物代謝酵素について検討する必要がある。このためにもカフェインは、今後も良いプローブの一つとして用いられると考えられる。本稿では紙面の都合上紹介できないが、CYP2D6、CYP2C19、

CYP1A2のチトクロームP450分子種においても、多型性の研究は最近長足の進歩を遂げた。近い将来には、ヒトに不利益な副作用をもたらす多型性について、出生後早い時期に遺伝子診断を行い、個々人により安全な薬の投与が可能になる時代が来ると思われる。

参考文献

- 1) Smith, M. et al., Hum. Genet., 34: 251 (1971)
- 2) Wolf, C. R. et al., Lancet, 1: 1452 (1990)
- 3) Grant, D. M. et al., Biochem. Pharmacol., 36: 1251

(1987)

- 4) Tang-Lie, D. D. et al., J. Pharmacol. Exp. Ther., 224: 180 (1983)
- 5) Nakajima, M. et al., Cancer Epidemiol., Biomark. & Prevent., 3: 413 (1994)
- 6) Evans, B. A. P., Ann., NY. Acad. Sci., 123: 178 (1965)
- 7) Deguchi, T. et al., J. Biol. Chem., 265, 12757 (1990)
- 8) Ebisawa, T. et al., Biochem. Biophys. Res. Commun., 177, 1252 (1991)
- 9) Yokoi, T. et al., Proc. Jpn. Cancer Assoc., 94, 134 (1993)

Topics

Pittcon'95開催

ピッツ・コン (Pittcon) '95が3月5日(日)から10日(金)まで6日間にわたって開催された。発表件数1,925件、登録人員3万1,000人で、昨年以上に盛会だった。特に今年はプログラム編成がよくて、新しい息吹をとらえやすかった。分野別に見ると、環境分析、バイオアナリシスが群を抜いて多かった。また分析のトレーサビリティを反映してか、試料の前処理に関する発表も多く、この3者が上位3位までを占めた。質量分析は、その様子を変え、かつての分光光度計、原子吸光のように急速発展をとり始めた。臨床化学の分野にも進出し、光分析からイオンの分析へ歩み出したといっても過言ではなからう。一方、センサーに関する発表も多く、オフラインからオンラインへと分析化学の改革が進み始めたといえよう。

当社は電子顕微鏡、液体クロマトグラフ、原子吸光光度計などを展示した。特に液体クロマトグラフは以前と様子が変わった。分析のソフトウェアはどこもほぼそろい、ハードウェアが悪ければ論議の対象にもならない状況になった。(保田和雄 記)

第4回環境化学討論会開催

工業技術院筑波研究センターにおいて第4回環境化学討論会が'95年6月13

日(火)～15日(木)の3日間開催された。参加者は、約400人。口頭発表は、特別講演を含めて79件、ポスターセッションは48件であった。発表は、有機分析関連が主体で無機分析関連は全体の5分の1であった。

有機関連では、環境水、土壌、大気中の農薬やダイオキシン類の分析法の確立、およびその分布挙動に関する発表が目をつけた。無機関連では、単なる元素分析からLCとICP-MSを組み合わせるなどした分子種分析を試みる発表が多かった。いずれも人の健康を維持するうえで重要な発表であり、議論の内容も深いものであった。

日立からは「GC/3DQMSを使用した農薬の微量分析」、「グラファイト炉原子吸光法による環境水中のPbの分析」について発表した。両方とも分析精度の向上をテーマとしたものであり、この分野が直面する課題でもあることから活発な討論がなされた。研究発表と並行してワークショップが開催され、日立はP-4000形ICPを紹介した。

(仲村弘子 記)

第56回分析化学討論会開催

'95年5月11日(木)から12日(金)まで第56回分析化学討論会が大阪工業大学60周年記念館で開催された。

約830人の参加を得て、主題講演、一般講演、ポスター発表を合わせ353件、特別講演、ミニシンポジウム、新技術・新製品紹介講演を合わせて32件の発表・討論があり、盛会であった。特に、海外から中国科学院生態環境研の倪哲明教授が招かれ、原子吸光法に関する招待講演があった。

日立関係者からもHPLC、ミセル動電クロマトグラフィー/MS、原子吸光法、ICP、MIP-MS、LC-MS、不活性ガス融解法に関するものなど11件の発表があった。また、付設展示会には日立グループよりHPLC「LaChrom」とFTIRの出品があり、好評であった。

(伊藤正人 記)

第51回日本電子顕微鏡学会

第51回日本電子顕微鏡学会講演会展示会が'95年5月24日(木)から3日間、堺市のリーガロイヤルホテル堺で開催された。日立グループは、「素顔のままのナノワールド」をテーマに新製品S-3200 N形走査電子顕微鏡を中心に、画像の記憶、再生、処理の機能を備えた最新形画像処理装置3式を含む周辺機器多数を展示した。

今回の学会では、透過電子顕微鏡におけるフィルタリングイメージ法(注参照)に多くの関心が集まっていた。この方法は、今後の透過電子顕微鏡にとって重要な要素になっていくものと思われる。

また、恒例の写真コンクールでは、日立計測エンジニアリングのグループが入賞した。

注：透過電子顕微鏡においては、入射電子線と試料との間で、相互作用をおこし、いろいろなエネルギーの電子線が発生する。その電子線のうち、特定のエネルギーのものを用いて結像させる方法のことをいう。

(北沢告一 記)

MIP-MSを用いた生物試料中のセレンの同位体希釈分析

Isotope Dilution Analysis of Selenium in Biological Materials by Microwave Induced Plasma Mass Spectrometry (MIP-MS)

吉永 淳*, 森田 昌敏**

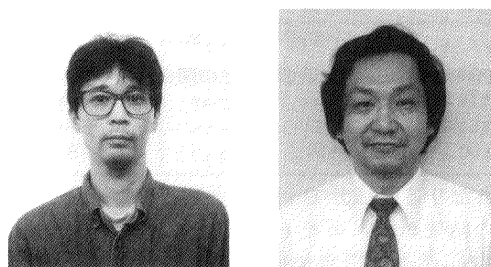
(平成7年6月30日受理)

1. はじめに

ある試料に含まれる金属元素などの濃度は、通常既知濃度の標準物質を用いて作製した検量線に基づいて測定される。同位体希釈質量分析法は検量線を用いることなく、極めて正確な定量値を求める方法である。自然界に存在する元素の多くは質量数の異なる複数の安定同位体混合物であり、その相対存在比はいくつかの例外を除いてほぼ一定の値をとる。同位体希釈法では、人工的に相対存在比を変えた元素(スパイク)を未知濃度の目的元素を含む試料に添加し、その結果変化した安定同位体比を測定することにより、試料中の目的元素の濃度を算出する方法である。詳しくは成書¹⁾にゆずるが、測定するのは試料とスパイクの質量と、同位体「比」であり、回収率が100%でなくてもよい、感度のドリフトなど分析装置側の要因がキャンセルされる、などの理由により、正確な分析値が得られる。

筆者らが所属する国立環境研究所では「環境標準試料」を作製、配布している。これは天然の環境試料から調製した、均一性のある試料で、いくつかの化学成分(元素、有機金属など)の含有量を保証したものである。環境標準試料は、環境試料の化学分析の「正確さ」を評価するために用いられる、一種のものさしである。したがってその調製、特に成分の含有量を定める過程はたいへん重要である。できあがった均一性のある試料(通常粉体である)をわれわれ自身の手で分析するだけでなく、国内外の信頼できる機関に依頼して分析してもらう。その結果を集計して、ある許容誤差範囲内に分析値が集束した場合に限り、その成分の含有量を保証し、「保証値」とする。しかし保証値は真値ではない。真値は神のみぞ知るもので、人間の手の届くものではないからである。信頼できる分析手法と分析装置を用いた経験豊富な分析者による分析値を集めることで、限りなく真値に近い値を定めるしかない。同位体希釈分析による「正確な」分析値は、このような場面で極めて有用である。

セレンは最近水質規準に新たな項目としてつけ加えられた元素であるが、それ以前からも人間の健康との関連が取りざたされることの多い元素でもある。欠乏症、過剰症が中国で報告されているほか、軽度の欠乏状態でガン、心臓病のリスクが高まるといわれている²⁾。また水銀やカドミウムの毒性を見事に抑えることが動物実験によって判明し



ている³⁾。このようにセレンは、医学、保健学、栄養学、毒性学などの分野で「ホット」な元素である。そこでわれわれは新しい環境標準試料「頭髮」中のセレンに保証値を定めるべく、MIP-MSを用いた同位体希釈分析について検討を行った。近年注目を集めている分析法であるICP-MSでは後述するようにブラズマガスに用いられているアルゴンの干渉によりセレンを感度良く測定できないが、MIP-MSを用いることで極めて良い結果が得られた。

2. MIP-MSの同位体比測定精度に関する実験

同位体希釈分析の精度は、質量分析装置の同位体比測定精度で決まる。同位体比を測定する場合、2つのマスに飛び込むイオンを同時に計測の方が精度が良くなることは明らかである。しかし四重極のMSでは、2つのマスの間を高速でスキャンしながらイオンを計測することで近似的な同時計測を行う。したがってスキャン条件が精度に大きな影響をもつと考えられる。セレンの標準液(100 ppb)を用いて、滞在時間、1マス当たりの積分時間と、精度との関係を調べた。なお積分時間と滞在時間との関係は、(滞在時間)×(スキャン回数)=(積分時間)である。設定した条件のもとで⁸⁰Se/⁷⁸Se比を5回測定し、その相対標準偏差をもって精度とした。

滞在時間は短すぎても長すぎても精度が低下する傾向があった。滞在時間が長ければ長いほど2つのマスの計測の同時性が失われることになる。反対に短ければ短いほど同時計測に近くなるわけだが、速すぎるスキャンは電気的なノイズを引き起こし、精度が低下するものと考えられる。結果として1 msecの滞在時間が最適と考えられた。

積分時間が長くなると精度は良くなっていくが、ある時点からは精度の向上は頭打ちになる(図1)。1マス当たり6秒積分以上になると、同位体比測定精度は0.3%程度ではほぼ一定である。ところで積分時間を長くすれば当然1試料当たりに必要な分析時間も長くなる。装置の汚染を最小限にすること、迅速に分析できることがMIP-MSによる同位体希釈分析の特長の1つであること、そして同位体希釈分析では3ケタの有効数字がとれればよいことを考慮して、

* 国立環境研究所 化学環境部 研究員、博士(保健学)

** 国立環境研究所 地域環境研究グループ 統括研究官、工博

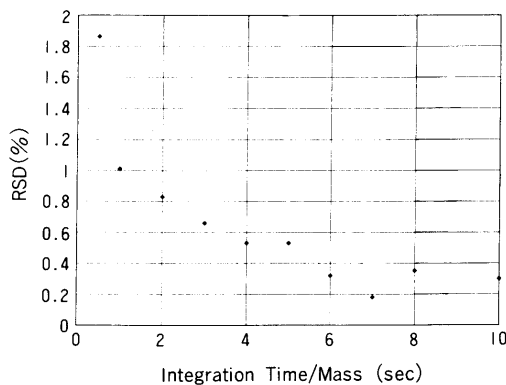


図1 積分時間と同位体比測定精度との関係

1マス当たり3秒積分で十分と判断した。

以上の結果から、スキャン条件を(滞在時間1 msec) × (3,000スキャン) = 3秒積分、と設定した。この条件では同位体比測定精度が約0.5%, 1試料当たりの分析時間は約10分である。

3. 同位体比測定の正確さについての検討

地球上のどこからとってきたセレンであっても、天然のものであればすべて同位体組成は同じはずである。高純度金属セレンを硝酸にとかし、MIP-MSで測定してみると、国際的にコンセンサスの得られている値⁴⁾から少しずれる(表1)。しかもそのずれは同位体のペアのマスの間隔に比例して大きくなり、しかもその方向も一致している。この表から重い同位体ほどイオンが多く検出器に届いていることがわかる。これはmass discriminationとよばれる現象で、どの質量分析装置にも多かれ少なかれ観察される、いわばクセのようなものである。このクセを把握し、適切に補正しないと、分析結果には系統誤差が含まれることになる。

mass discriminationの度合いは、いつも一定ではなく、日をかえると少しずつ異なることも判明した(表1)。mass discriminationの原因は、イオン源から検出器にいたるイオンの通り道のあらゆるところにありうる。日が変わると、装置、特にイオンレンズやインタフェースの微妙な状態も変化するためだと考えられる。したがって分析をする日には、まず標準液の同位体比を測定し、その日の補正係数を求める必要がある。ただしこの係数の日内変動は、同位体比測定精度の範囲内なので、あまり頻繁に標準液を測定す

表1 MIP-MSで測定した高純度金属セレンの同位体比と真値

	$^{76}\text{Se}/^{78}\text{Se}$	$^{77}\text{Se}/^{78}\text{Se}$	$^{80}\text{Se}/^{78}\text{Se}$	$^{82}\text{Se}/^{78}\text{Se}$
測定値-1	0.387	0.321	2.121	0.380
測定値/真値	0.98	1.00	1.02	1.04
測定値-2	0.383	0.319	2.144	0.389
測定値/真値	0.97	0.99	1.03	1.06
真値	0.394	0.321	2.086	0.367

注: 測定値-1, -2は別の日に測定したものの、真値は文献⁴⁾より。

る必要はなく、各分析日の最初、中間、最後の3回ぐらいで十分であると判断した。

4. マトリックスの影響

ICP-MS, MIP-MSなどの分析においては、目的元素以外に試料に存在する主成分元素(マトリックス)の影響に気をつけねばならない。マトリックスの影響には大きく分けて2つの問題がある。1つはマトリックス効果と呼ばれるもので、マトリックスが共存すると目的元素からのシグナルが抑制(時に増強)される現象を指す。もう1つがマトリックスに由来する分子イオンが目的元素のm/zに重なるために、目的元素の存在量を高めに見積もってしまうことである。目的元素のレベルが低い場合に特に問題となる。実試料の場合、常にマトリックスの共存下で分析することになるので、どちらも同位体希釈分析の正確さに大きな影響を与えうる問題であり、詳細に検討した。

セレンの100 ppb標準液にナトリウム、リン、カリウム、カルシウムをそれぞれ0, 50, 100, 200 ppm添加した溶液を調製してm/z=78, 80におけるイオンカウントを測定し、 $^{80}\text{Se}/^{78}\text{Se}$ を求めた。なお添加した元素は生体試料のマトリックスとなるものを選んだ(たとえばナトリウムは血清、尿などの、カリウム、リンは臓器などの、カルシウム、リンは骨や歯などのマトリックスとなる)。その結果、リンを除く3元素でマトリックス濃度に依存するセレンからのイオンカウントの低下が観察された。例えばナトリウムが200 ppm共存すると、ナトリウムが0 ppmのときのイオンカウントの約40%まで低下した。リンがマトリックス効果を表さなかったのは、この元素のイオン化ポテンシャルが高いので、MIP内であまりイオン化していないためであると考えられる。一方、 $^{80}\text{Se}/^{78}\text{Se}$ 測定値はマトリックスの種類、濃度にかかわらずほぼ一定の値をとった。マトリックス効果が両同位体に均等に影響を与えたためであると考えられる。 $^{80}\text{Se}/^{78}\text{Se}$ の精度はマトリックスが共存するとやや

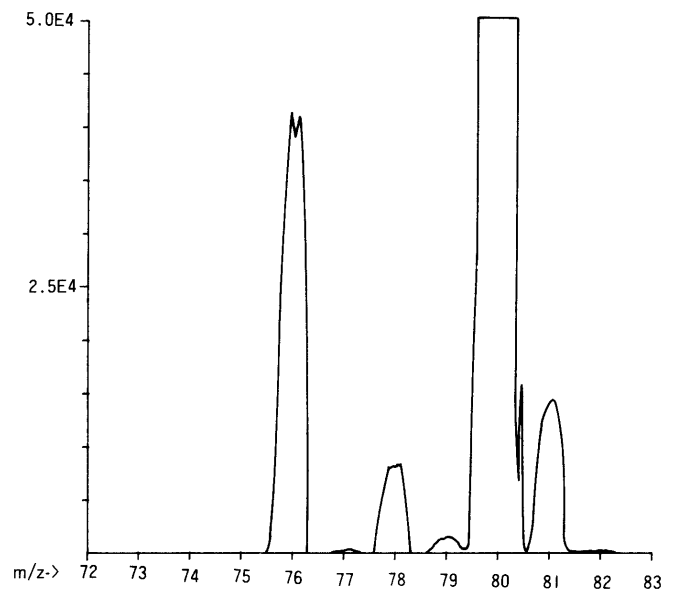


図2 ICP-MSに蒸留水を導入したときのm/z=72-83のバックグラウンドスペクトル。縦軸はイオンカウント(cps)

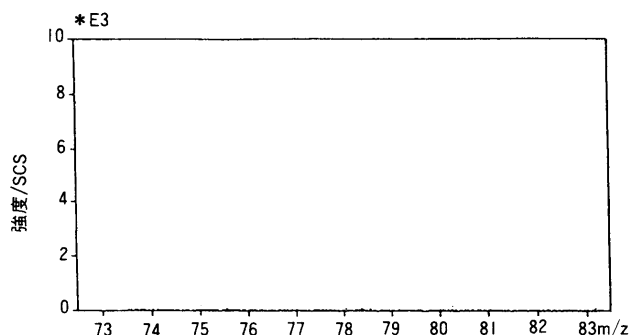


図3 MIP-MSに蒸留水を導入したときの $m/z=72-83$ のバックグラウンドスペクトル

悪化する傾向があった。マトリックスが存在しない場合の精度が0.3%程度に対し、～1%程度まで悪化した。しかし精度の悪化とマトリックス濃度には関連がないこと、精度を悪化させるマトリックスとさせないものがあること、などからMIPと質量分析部との間のインタフェースに塩が析出し、イオンビームが不安定になるためと考えている。

アルゴンをプラズマガスとして用いるICPでは、多量に存在するアルゴンに由来する分子イオン ($^{40}\text{Ar}^{36}\text{Ar}^+$, $^{40}\text{Ar}^{38}\text{Ar}^+$, $^{40}\text{Ar}_2^+$) の重なりにより、主要なセレンの同位体の分析が妨害を受け(図2)、分析が困難である。ところが窒素をプラズマガスとして用いるMIPの場合、この領域に分子干渉がない(図3)。しかし試料が多量のイオウを含む場合、 $^{32}\text{S}^{16}\text{O}_3^+$ が生成し、 ^{80}Se に干渉を与える。イオウ1,000 ppmの標準液をMIPに導入すると、 $m/z=80$ に微小なピークを生ずる。このピークのカウンタ数から、1,000 ppmのイオウはセレンとして0.2 ppb相当の $^{32}\text{S}^{16}\text{O}_3^+$ を生ずることがわかった。イオウも生物試料に多く含まれる元素の一つであるが、それに由来する分子干渉は、セレンの存在量に比べて無視できうるものと判断された。

以上の結果からマトリックスの存在は、セレンの同位体比測定の精度をやや悪化させるが、正確さには影響をあたえないと結論できる。

5. 実試料の天然同位体組成

4項ではセレンに干渉を与えるマトリックスとしてイオウを、それに由来する分子イオンの代表として $^{32}\text{S}^{16}\text{O}_3^+$ を考慮したが、実際の試料ではマトリックスはより複雑である。どのような分子イオンが生じるのかすべてを予見することは不可能であり、セレンの同位体に干渉を与える可能性を排除できない。しかしすでに述べたように、分子干渉は同位体希釈分析の正確さに重大な影響を及ぼす。そこで同位体希釈分析を行おうとする試料中のセレンの同位体比と標準液のそれとを比較し、一致すれば干渉はないと考えるのが最も実用的な検証法である。表2にヨーロッパ共同体のCommunity Bureau of Reference (BCR) から発行されている「ブタ腎臓」、「頭髪」中セレンのMIP-MSで測定した同位体組成を標準液のそれとともに示した。この評価からも明らかなように両者は測定誤差の範囲内で一致をみている。標準液の測定値に比べ、標準試料の方がバラツキがやや大きいのはセレン濃度が低いこと(特に頭髪)、マトリックスが存在すること、が原因であると考えられる。このほ

表2 BCR標準試料中セレンの同位体比(スパイク未添加試料)

	$^{76}\text{Se}/^{78}\text{Se}$	$^{77}\text{Se}/^{78}\text{Se}$	$^{80}\text{Se}/^{78}\text{Se}$	$^{82}\text{Se}/^{78}\text{Se}$
ブタ腎臓	0.377 ± 0.003	0.317 ± 0.008	2.153 ± 0.030	0.395 ± 0.009
頭髪	0.408 ± 0.014	0.311 ± 0.004	2.169 ± 0.041	0.399 ± 0.011
標準液	0.385 ± 0.003	0.321 ± 0.003	2.152 ± 0.014	0.389 ± 0.003
真値	0.394	0.321	2.086	0.367

表3 同位体希釈MIP-MSによる生物標準試料中セレンの測定値と保証値の比較

	単位	測定値 ^a	保証値
仔ウシ血清 (NIST 1598)	ng/g	45.2 ± 1.4	42.4 ± 3.5
ヒト尿 (NIST 2670)	μg/mL	0.461 ± 0.002	0.46 ± 0.03
仔ウシ肝臓 (NIST 1577a)	μg/g	0.709 ± 0.025	0.71 ± 0.07
ブタ腎臓 (BCR No. 186)	μg/g	10.5 ± 0.06	10.3 ± 0.5
頭髪 (BCR No. 397)	μg/g	2.02 ± 0.02	2.00 ± 0.08

注：a n=3. 平均値±標準偏差。

か「ヒト尿」、「仔ウシ肝臓」といった標準試料でも同様の結果が得られ、このような生物試料のセレンの同位体希釈分析において、少なくとも実用上は分子干渉が問題とならないことが判明した。

6. 標準試料の分析

BCR発行の「ブタ腎臓」、「頭髪」、アメリカNational Institute of Standard and Technology (NIST) 発行の「ヒト尿」、「仔ウシ肝臓」、「仔ウシ血清」といった標準試料中のセレン濃度を同位体希釈MIP-MS法にて測定した(表3)。 ^{78}Se をエンリッチしたスパイクを適量添加して酸分解し、その結果変化した $^{80}\text{Se}/^{78}\text{Se}$ を測定し、セレン濃度を算出したものである。測定値はどれも保証値と極めてよく一致し、また3回測定のパラツキも、もともと濃度の低い試料を除けば、1%以下である。いままで述べてきたとおり、MIP-MS同位体比分析精度が0.5%程度であるから、標準試料の分析精度が1%以下というのは期待どおりである。この分析結果は、同位体希釈MIP-MS法が非常に高い精度と確度で生物試料中のセレンを定量できることを示したものである。しかも分析操作はスパイク添加と酸分解だけという単純なものであることもつけ加えておくべきであろう。

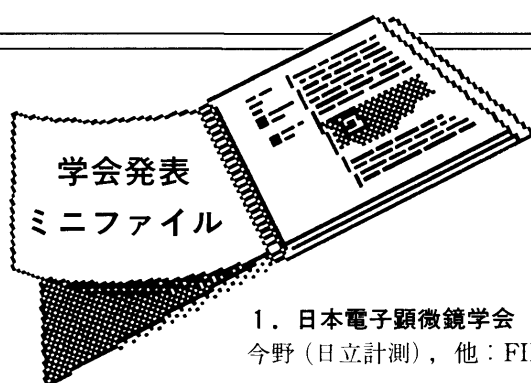
この方法を使って、国立環境研究所が新たに調製した標準試料「頭髪」のセレン分析を行った結果は、保証値決定に大きな役割を果たすものと考えている。

7. おわりに

本稿は日立計測エンジニアリングの白崎俊浩氏、日立製作所計測器事業部の大石公之助氏との共同研究の結果を要約したものであり、両氏に深く感謝する次第である。

参考文献

- 1) Heumann K.G., In Adams F., Gijbels R., Van Grieken R. eds "Inorganic Mass Spectrometry" Wiley & Sons, New York, pp. 301 (1988) など
- 2) Levander O.A., In Mertz W. eds "Trace Elements in Human and Animal Nutrition" Academic Press, Orlando (1986)
- 3) 永沼 章：トキシコロジーフォーラム, 8, 528 (1985)
- 4) IUPAC, Pure & Appl. Chem., 63, 991 (1991)



1. 日本電子顕微鏡学会 第51回学術講演会 (1995.5.24(水)~26(金), リーガロイヤルホテル堺)
今野 (日立計測), 他: FIBを用いたAP-FIM用 TIP加工の検討

FIB装置によるアトムプローブ電界イオン顕微鏡 (AP-FIM) の試料作製を試みた。AP-FIMは材料の組成を原子レベルで分析できる手法として注目されているが、試料を鋭い先端を有する針状に加工する必要のあることが実用面での隘(あい)路となっていた。一般的な電界研磨法に加えてFIB装置による仕上げ加工を併用することにより、実用的な針状試料をうまく再現作製することが可能であることがわかった。

西村 (日立計測), 他: チルドSEMによる食中毒原因菌 (*Bacillus Cereus*) の直接観察

SEMによる生物試料観察法は、一般に前処理 (固定, 脱水, 乾燥, コーティングなど) を必要とするため、迅速な観察を要求される用途には不向きとされてきた。今回は、低温試料ステージを備えた低真空SEM (チルドSEM) を用いて、食中毒原因菌 (*Bacillus Cereus*) の増殖過程の迅速観察を試みた。試料温度 -10°C 、試料室圧力 $30\sim 70\text{ Pa}$ における前処理を一切省略した直接観察では、コロニーや菌の形態が顕著な変形なく観察され、下痢型と嘔吐型菌の成長過程の違いがとらえられた。

田谷 (日立), 他: γ フィルタTEMの試作

中沢 (日立計測), 他: γ フィルタTEMによる厚切り切片の観察

エネルギーフィルタを用いて透過電子を選別し、エネルギー損失のない電子や特定のエネルギーの電子で結像すると色収差のない高いコントラストの観察像が期待できる。今回は、 γ 形エネルギーフィルタを中間レンズと投射レンズの間に組み込んだTEM (最高加速電圧 125 kV) を試作し、アルデヒド単独またはアルデヒド-オスミウム二重固定を行ったカイワレダイコンの葉の切片試料 (厚さ $50\text{ nm}\sim 1\text{ }\mu\text{m}$) の観察を試みた。加速電圧 100 kV におけるエネルギー損失のない電子で結像したゼロロス像では、厚さ約 $1\text{ }\mu\text{m}$ のアルデヒド-オスミウム二重固定した切片の細胞内貯蔵物質の脂肪球などを明瞭に観察できた。

森本 (日立計測), 他: SEM/SPM複合システムの応用

上野 (日立計測), 他: 汎用電子顕微鏡による金属・合金蒸着粒子形成過程のその場観測

中川 (日立計測), 他: 直接試料加熱による多結晶SiC合成過程のSEM像観察および分析

矢口 (日立計測), 他: 分析電顕用簡易形試料反応装置とその応用

鈴木 (日立計測), 他: 高感度YAG反射電子検出器の特長とその応用

小林 (日立), 他: Bio-TEMの性能向上と新機能

中村 (日立・中研), 他: HAADF-STEM像の計算機シミュレーション(2)

和田 (日立計測), 他: SEMによる飯の観察方法の検討

柿林 (日立・中研), 他: ホローコーン照射暗視野TEM像による3次元観察技術

(1) Si結晶中析出Cu微粒子の3次元分布観察

常田 (日立・中研), 他: ホローコーン照射暗視野TEM像による3次元観察技術

(2) 微粒子の3次元分布再構成法の検討

2. 第56回分析化学討論会 (1995.5.11(木)~12(金), 大阪工業大学)

白崎 (日立計測), 他: プラズマイオン源質量分析法におけるイオン源の評価

同位体比による補正とCsイオン信号強度による規格化によってプラズマ中での各種元素のイオン

化率の計測方法を確立した。ICP法によるArプラズマ、MIP法によるN₂プラズマとも質量分析したときの各元素の信号強度は図1のとおりであり、イオン化率は同レベルといえる。

伊藤（日立），他：グラジエント溶出法を用いた逆相クロマトグラフィーにおける相関リテンションピークの同定方法

平野（日立），他：高温炉原子吸光法の灰化段階における化合物の形態について

沖（日製産業），他：電気加熱高温炉原子吸光法によるニッケル基耐熱合金中のセレンの定量

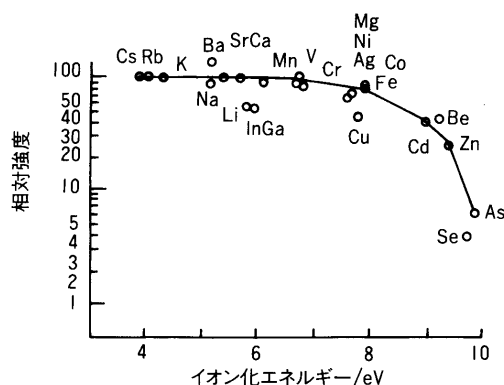


図1 種々の元素のイオン信号強度

3. 第4回環境化学討論会 (1995.6.13(火)～15(木), 工業技術院筑波研究センター)

河原井（日立計測），他：GC/3DQMSを使用した農薬の微量分析

米に残存する極微量の農薬の分析を試みた。規制値が低く、しかも試料分解液中の主成分による干渉が大きいので、分析し難いとされていたメトリブジンをはじめ5成分も、Florisilカラムを用いて前処理することによって高い分析精度が得られた（図2）。

仲村（日立計測），他：グラファイト炉原子吸光法による環境水中のPbの分析

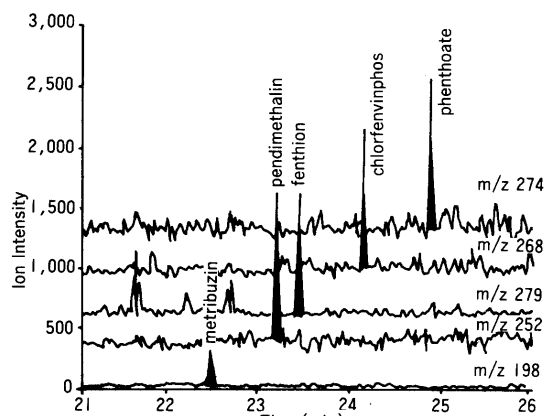


図2 玄米のマスクロマトグラム (各成分とも0.05 ppm添加)

4. 第2回クロマトグラフィーシンポジウム (1995.6.29(木)～30(金), 今池ガスホール)

甲田（日立計測），他：イオン交換法によるアミノ酸分析の緩衝液組成

従来、蛋白質構成アミノ酸と遊離アミノ酸とは異なる条件で別々に分析されてきた。日立カスタムイオン交換樹脂を用いて両者を一斉分析するための条件を見つけ出し、血清、飼料など実試料に適用し、測定時間を短縮できた（図3）。

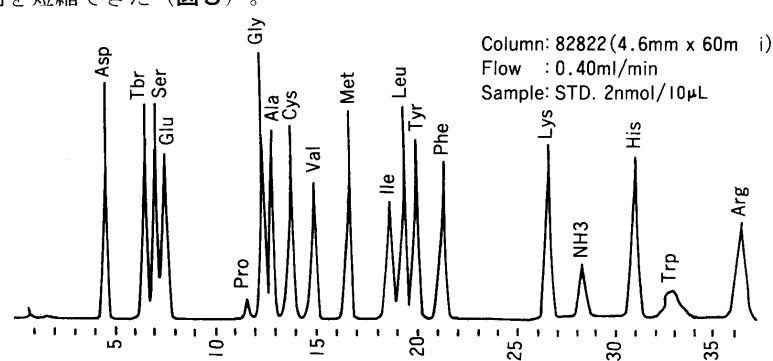


図3 L1緩衝液による標準アミノ酸の測定例

解 説

亜鉛メッキ鋼板の断面観察 (FIB-TEMシステムの応用)

Cross Sectional TEM Observation of The fine Structure of a Galvanized Steel (An Application of FIB-TEM System)

上野 武夫*, 矢口 紀恵*, 松本 弘昭*

小池 英巳**, 坂 公恭***

(平成7年6月12日受理)

先端材料を中心に、材料の複合化による機能の向上や新機能の開発が急速に進められている。導電性のよいものと悪いもの、硬いものと軟らかいもの、もろいものと粘りのあるものなど、その組み合わせは多岐にわたっている。それらの材料の透過電子顕微鏡 (以下、TEMと略す) 観察には薄片化処理が必要であるが、従来の化学研磨法、電解研磨法、ミクロトーム法およびArイオンを用いたイオンミリング法などでは均一な薄膜の作製が困難になってきている。最近、そのような複雑な構造や組成の材料から均一なTEM薄膜試料を作製することを目的とし、TEMとの試料ホルダの共用化を図った集束イオンビーム (FIB) 加工観察装置が製品化された。これは、約30 kVの高電圧で加速されたGaイオンを用いて試料表面をエッチングすることにより、TEM観察に適した薄膜を作製するシステムである。当初、電子、半導体分野に限られていた応用^{1), 2)}も、最近では、金属、セラミックスなどへも応用されるようになった³⁾。

ここでは、その一例として亜鉛メッキ鋼板への応用例を紹介する。加工にはFB-2000形FIB加工観察装置、観察には、H-9000NAR形300 kV高分解能分析電子顕微鏡を用いた。図1はFIBにより薄膜化した試料の低倍率像である。加工領域は幅約5 μm 、深さ20 μm である。この場合は亜鉛メッキ層と鋼板界面の観察が目的なので試料は傾斜しながら加工し、亜鉛の表面に近い方は厚く残してある。また、奥の界面 (矢印) の近くは応力緩和のため一部切除してある。図2は界面の高分解能透過像観察例である。鋼板 (Fe) と、メッキ層 (Zn-Fe) にそれぞれ約0.2 nmと約0.6 nmの結晶格子像が鮮明に観察されている。

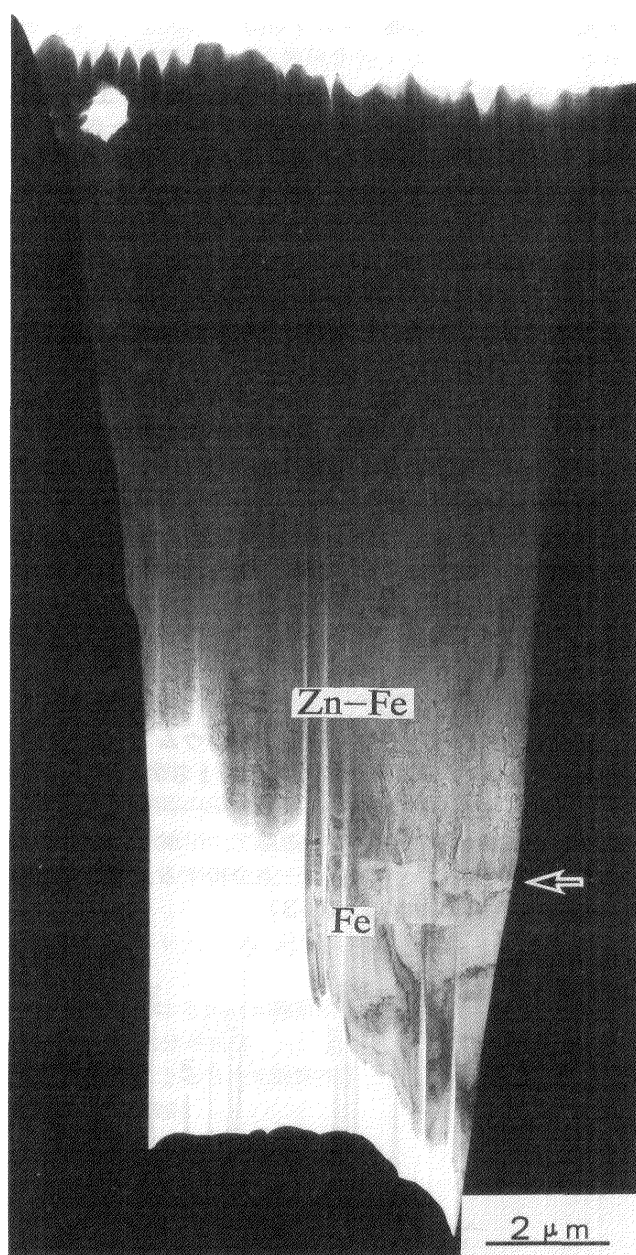


図1 FIB加工した亜鉛メッキ鋼板断面の透過像

* 日立計測エンジニアリング㈱
** ㈱日立製作所 計測器事業部
*** 名古屋大学 大学院教授

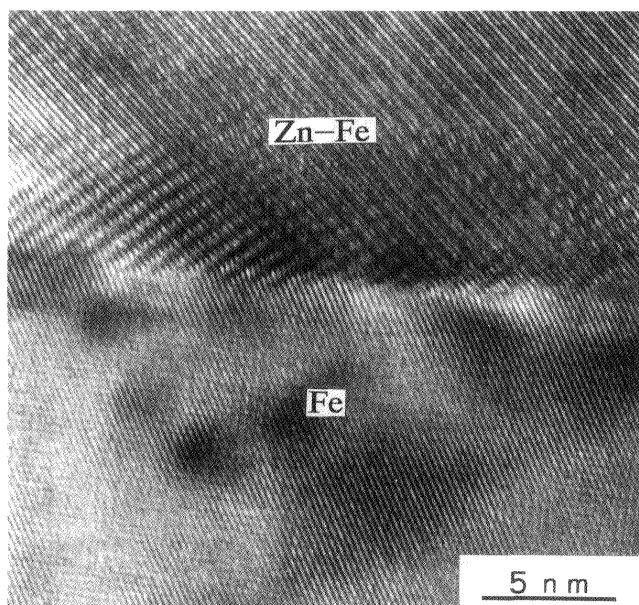


図2 亜鉛メッキ鋼板のメッキ層界面の高分解能透過像

参考文献

- 1) T. Ishitani et al. : J. Vac. Sci. Technol. B9, 2633 (1991)
- 2) J. Szot et al. : J. Vac. Sci. Technol. B9, 2633 (1991)
- 3) 酒井, 他 : 第53回応用物理学関係連合講演会予稿集, P.18. (1992)

Topics

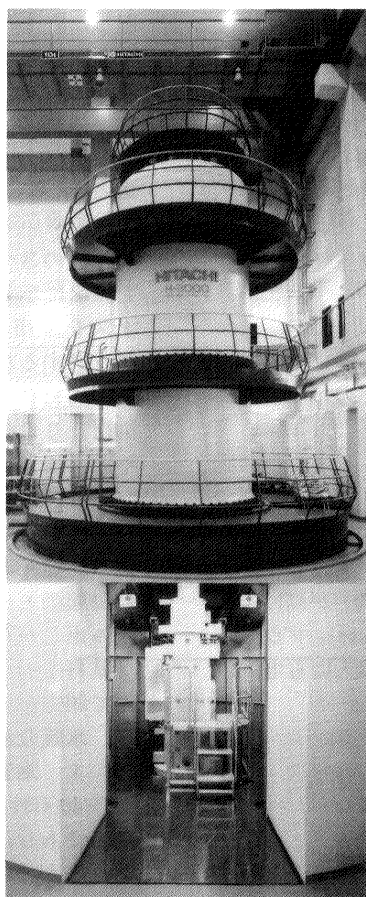
H-3000形超高压電子顕微鏡完成

大阪大学超高压電子顕微鏡センター殿に納入したH-3000形超高压電子顕微鏡完成披露式が、さる6月20日(火)大阪大学において盛大に行われた。

本電子顕微鏡は、大阪大学殿ご指導のもと、4年半にわたり設計製作を進めてきた計測器事業部始まって以来の超大型システム製品である。

重さ140t、高さ14m、外径6.5mで、最大加速電圧3.5 MV、格子分解能0.14 nmを有する世界最大級の電子顕微鏡システムである。当日は、独・マックスプランク金属物理研究所、A. Seeger教授、仏・パリ高等研究院、B. Jouffrey教授、米・カリフォルニア大学、K. Krishnan博士、中国・科学アカデミー物理研究所、李教授、東京大学、石田教授らのご列席とご講演のほか、関係者約100人がその完成を祝った。

今後は、新材料の研究、LSIデバイスの構造解析、電子線照射研究、生物試料の立体観察などに利用され、21世紀



に向けての材料科学の研究にブレイクスルーを与えることが期待される。

(松井 功 記)

第2回
クロマトグラフィー
シンポジウム開催

さる6月29日(木)から30日(金)まで、第2回クロマトグラフィーシンポジウムが名古屋市(今池ガスホール)で開催された。

一般・依頼・招待講演を含め45件の発表があり、登録者数は約200人であった。テーマは、光学異性体の分割法やキャピラリー電気泳動などに関するものが多く、活発に討論が行われた。

日立グループからは、イオン交換法によるアミノ酸分析に関する依頼講演を受け、テクノリサーチセンタの甲田が発表を行った。

また、主催者側からクロマトグラフィーに関するインターネットの利用法について発表があり、実機を使ったデモンストレーションも同時に行われ関心を集めていた。

(甲田公良 記)

P-4000形ICP発光分析システムの水質分析などへの応用

Application of Model P-4000 ICP-AES System for Analysis of Water

平野 義博* 松井 繁* 原田 勝仁*
(平成7年6月15日受理)

1. はじめに

誘導結合プラズマ (ICP) 発光分析法は、多元素の高感度分析が可能であることから、工業材料、食品、医学、環境などのさまざまな分野で使用されている。ICP発光分析法は、金属類を測定する他の方法である原子吸光分析法やプラズマ質量分析法に比べて、共存物の影響を受けにくく、スループットも高いという特長がある。ICP発光分析装置は、従来は大型で高価な装置であったため、主に大学や研究機関において研究用として用いられていた。しかし近年は、水道水、環境水、排水などの水質基準の改正に伴い、各地の水道局や浄水試験場、環境分析センターなどにおいてルーチン分析用に用いられる機会も多くなっている。

水質分析などのルーチン分析に用いる装置は、共存物の影響やスループットの点ばかりでなく、新しい装置に慣れていない分析担当者であっても、すぐに分析が行えるような優れた操作性が要求される。当社では、このようなニーズにこたえ、特にルーチン分析に適した小型卓上のP-4000形ICP発光分析装置 (以下P-4000形と略す) を開発した。本装置は、40 MHzの高周波電源、大型分光器などの新技術の採用により、1クラス上の高感度・高性能を実現している。ここでは、P-4000形の概要と、水質分析に適したシステム、および組成の複雑な試料にも対応するための、フローインジェクションシステムと最適分析線支援ソフト (エキスパートシステム) について紹介する。

2. P-4000形ICP発光分析装置

装置の外観を図1に示す。本装置は卓上型のコンパクトな設計で、特に水質分析や工場の品質管理などのルーチン分析を指向した装置である。装置の特長としては以下の点が挙げられる。

(1) 40 MHz高周波電源

ICPの電源には国内初の40 MHz高周波電源を採用した。40 MHzの高周波プラズマは、従来の27 MHzの高周波プラズマに比べて信号/バックグラウンド比 (S/B比) が高くなり、その結果として検出感度が向上する。さらに、プラズマが安定して点灯するため、有機溶媒試料の導入にも有利となる¹⁾。

また、従来真空管を用いていた電源回路をトランジスタ化した。真空管の寿命による煩わしい交換作業と経費が必要であったが、今回開発した電源ではこのようなメンテナンスが不要となり、また電源部自体も小型化することができた。

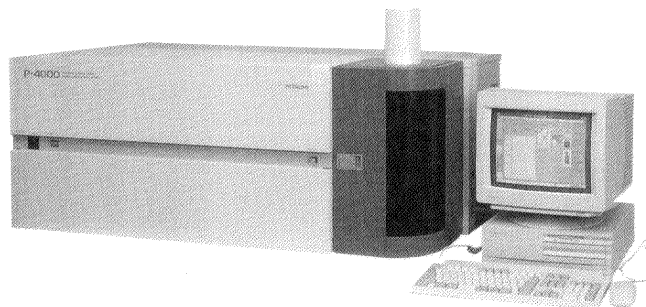


図1 P-4000形ICP発光分析装置の外観

(2) 大型分光器

分光器には、ツェルニターナマウント方式で焦点距離650 mmと、卓上型では最大クラスの明るい大きな分光器を採用した。これら新技術の採用により、小型の卓上サイズにもかかわらず、1クラス上の中型の装置と同等の感度を実現している。

(3) 操作画面

装置の操作は、パーソナルコンピュータを用いて行う。画面には、操作性に優れた日本語のMicrosoft® Windows® **を採用している。操作画面は条件設定画面、結果画面、モニタ画面の3つから構成されている。一例としてモニタ画面を図2に示す。画面は、一目で理解できるようにグラフィックスを多用しており、主な操作はマウスでアイコンをクリックするだけで行える。

さらにP-4000形ではほとんどの操作がコンピュータ制御により自動で行われる。たとえばプラズマの点火・消火やガス流量コントロール、高周波のインピーダンスマッチングなどは、従来はそれぞれのメーターを見ながら手動で行っていたが、P-4000形ではすべて自動化されている。毎回の測定元素や条件が固定されているルーチン分析では、自動起動モードの設定により、装置の電源投入後は条件の読み出しからプラズマ点火まで自動で行われるので、あとは試料をセットしてスタートボタンを押すだけの簡単な操作で測定ができる。

3. 水質分析への応用

3.1 水質分析システム

P-4000形は特に水質分析などのルーチン分析に適した装置であり、その機能をさらに拡張するための特別付属品をそろえている。水質分析に適したシステム構成を図3に示す。

水道水、排水などの水質基準では、多くの金属について $\mu\text{g/l}$ レベルの高感度分析が必要であり、そのためには超音波ネブライザーが有効である。これは、超音波により試

* 日立製作所 計測器事業部 科学システム本部
** Microsoftは、米国Microsoft Corp.の登録商標です。
Windowsは、米国Microsoft Corp.の登録商標です。

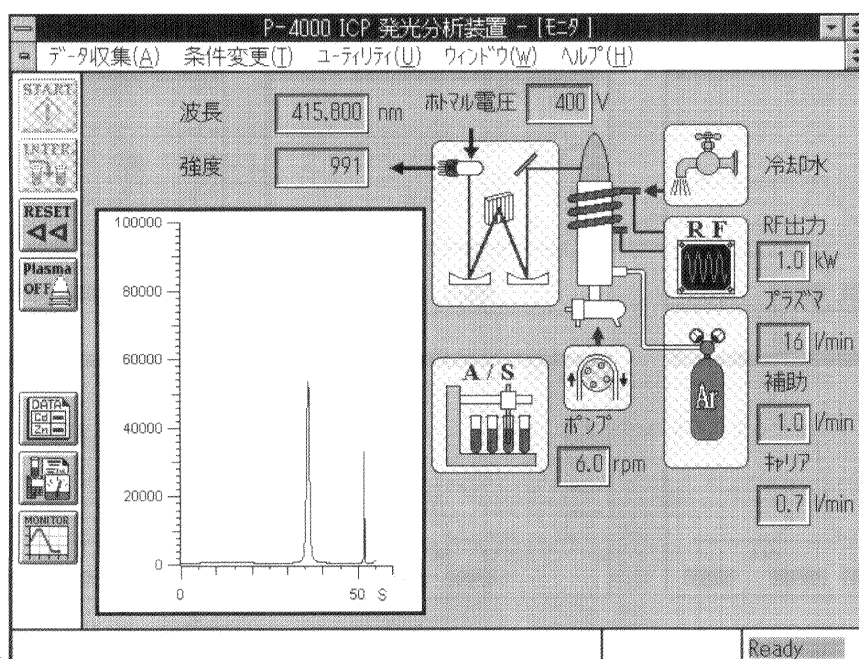


図2 操作画面の例 (モニタ画面)

料を微細な霧にしてICPに導入するもので、標準ネブライザーと比較して多くの元素について約10倍の感度向上が得られる。

また、As, Se, Sbの測定には原子吸光法と同様の水素化物発生法が適用できる。これは、試料に試薬を混合して金属元素の水素化物のガスを発生させ、これをプラズマに導入するものである。溶液試料の直接導入に比べて数十倍から百倍程度の感度向上が得られる。

さらにルーチン分析には欠かせないオートサンプラもそ

ろえており、ペリスタルティックポンプと組み合わせて、多試料の連続測定が自動で行える。

3.2 測定例

排水基準の9元素について、超音波ネブライザーによる一斉分析を行ったときのスペクトルプロファイルを図4に示す。図4では、ブランク、基準値の $\frac{1}{5}$ 濃度、および基準値濃度の標準液を測定している。P-4000形ではフォトマルチプライアの印加電圧、波長スキャンモード、バックグラウンド位置などを各元素（各波長）ごとに別々に設定でき

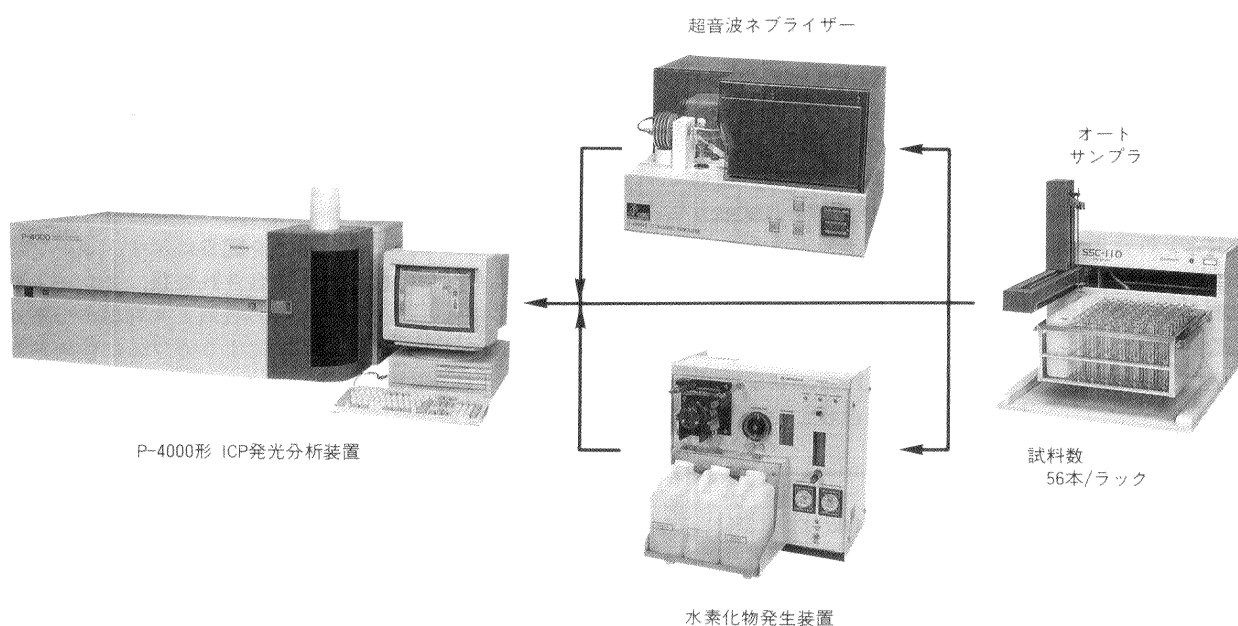


図3 水質分析システムの構成

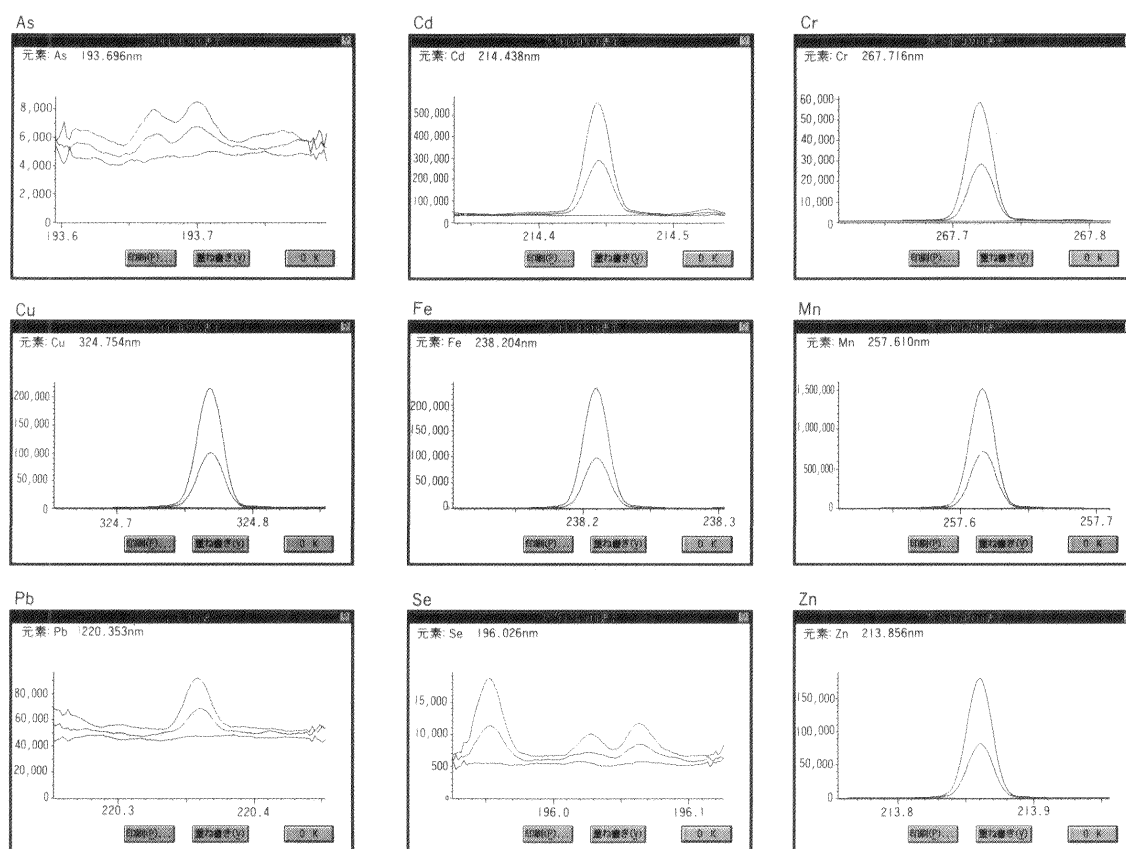


図4 排水基準の金属のスペクトルプロファイル

るので、 $\mu\text{g}/\text{l}$ から mg/l のレベルの元素を一度に測定することができる。排水基準の9元素の測定では、一検体当たり要する時間は10分以下である。

ICP発光分析装置は波長精度が重要であり、波長ずれを防ぐために連続通電・連続通気による恒温槽を採用している装置も少なくない。P-4000形はプラズマの安定性が高く、また波長校正も自動で行われるので装置起動後すぐに測定を開始でき、測定していない間は電源とガスを止めておくことができる。表1は装置の安定性を見るため、1時間ごとに装置の電源を入れ、水道水一検体を測定し、電源を切る操作を繰り返した結果である。その操作を5回繰り返したときのデータの変動係数(CV値)は1~2%程度であり、安定したデータが得られている。このようにP-4000形は断続的に使用する場合でも連続通気や連続通電を必要としないので、ランニングコストを低く抑えることができる。

表1 水道水の繰り返し分析結果

時間	0 : 00	1 : 00	2 : 00	3 : 00	4 : 00	平均 ($\mu\text{g}/\ell$)	CV (%)
定量値 ($\mu\text{g}/\ell$)							
Al	243	248	244	248	252	247	1.5
Fe	334	346	348	345	342	343	1.6
Mn	50	52	50	52	52	51	2.1

4. フローインジェクションシステム

各種の水質分析試料のうち、排水、海水、あるいは河口付近の河川水などは、NaやKなどの塩濃度が高いものがある。これらの試料を超音波ネブライザーに導入すると、塩類の析出により装置を汚染してしまうため、高感度の測定ができないという不都合がある。このような試料を分析するには、溶媒抽出法や、キレート樹脂を用いて共存塩類を分離する前処理が必要となる²⁾。今回、この前処理を自動で行い、ICPに導入するフローインジェクション前処理装置を開発した。

本装置はキレート樹脂を用いたカラムにより試料を分離濃縮するもので、その流路図を図5に示す。ポンプにより吸引された試料は緩衝液と混合された後、キレート樹脂のカラムに導入され、目的元素の吸着と共存塩の分離が行われる。次にバルブの開閉制御によりカラムに溶媒液が流され、目的元素がICPに導入される。バルブの制御とデータの取り込みはP-4000形本体のコンピュータにより制御される。本システムによる海水の分析例を図6に示す。ICPへの直接導入に比べてPbの信号は約20倍になり、海水中の $\mu\text{g}/\text{l}$ レベルの測定が可能であることがわかる。

5. 最適分析線支援ソフト

P-4000形は水質分析に限らず、工業材料の品質管理などにももちろん適用できる。このとき、マトリックス組成の複雑な試料の分析では共存元素の発光による影響があり、

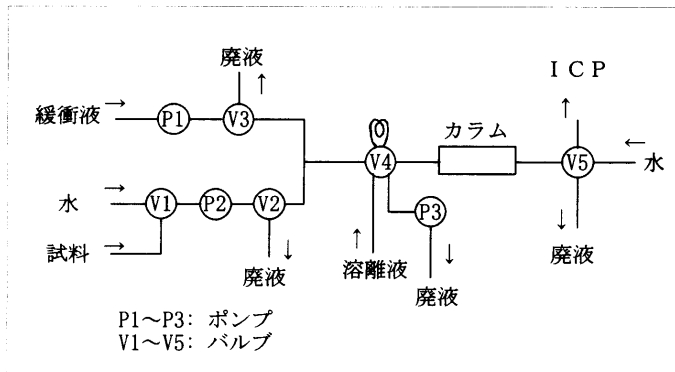


図5 フローインジェクション前処理システムの流路図

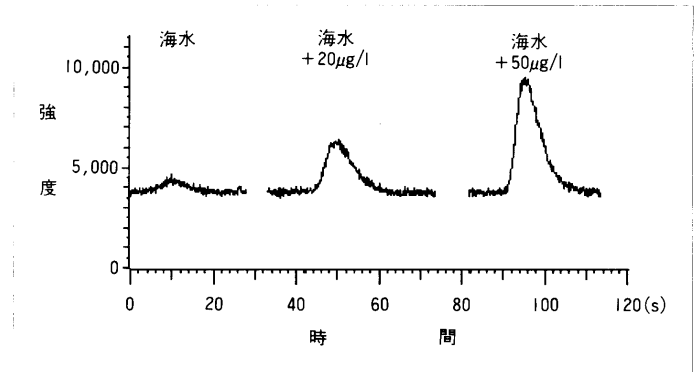


図6 海水中Pbのピークプロファイル

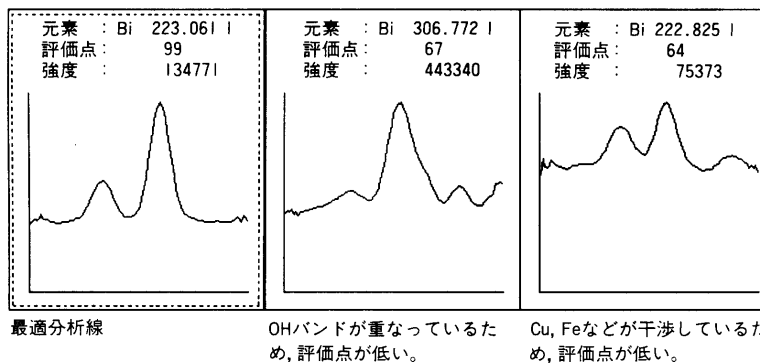


図7 Biの最適分析線判定結果

各試料において最適な分析線を選択する必要がある。この作業は分厚い波長表や実測データのピーク形状から判断するため、かなりの労力と専門知識を必要とする。P-4000形には、本体標準機能として分析線選択モードを備えており、マトリックスの単純な試料ではこの機能で十分対応可能である。一方で複雑なマトリックスを持つ試料に対しては、より強力な解析機能を持つソフトウェア（エキスパートシステム）をオプションとしてそろえている。

本システムの適用例として、Biの分析線の判定結果を図7に示す。このソフトウェアは実測スペクトルの発光強度、ピーク形状、ベースライン形状などのデータと発光線データベースを用いて、ファジィ推論を行う。これにより各分析線に対して評価点が与えられ、最適な分析線が自動判定される。さらに、共存元素濃度が既知の場合には、データベースに基づいて図8に示すような合成プロファイルを作成することができる。この機能により、実測スペクトルにおける近接線の影響を詳しく知ることができる。

6. まとめ

以上に説明したように、P-4000形ICP発光分析システムは水質分析に最適な感度と優れた操作性を備えており、これまでICPを使ったことのない分析担当者でも簡単に操作できる装置である。本装置は、高感度分析のための超音波ネブライザーや水素化物発生装置、共存塩の分離のためのフローインジェクションシステム、さらにより複雑な試料での分析線選択を行うエキスパートシステムをそろえており、多様な分析に対応ができる。

参考文献

- 1) 大和田章, 平野義博, 松井 繁: 1994年分析機器と解析システムに関する東京討論会, 講演要旨集, p119
- 2) 原口, 他者: ICP発光分析法, 共立出版, p81 (1988)

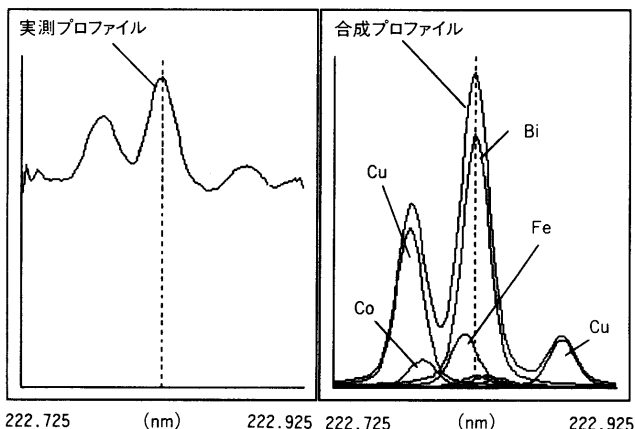
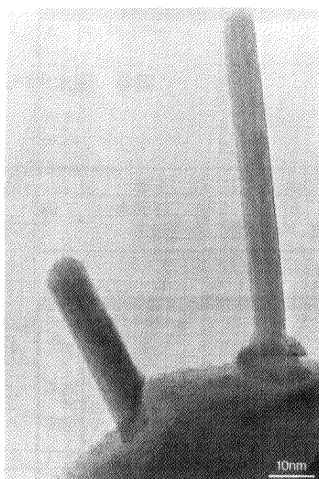


図8 Bi 222.825 nmの分析線に対する合成プロファイル



テクニカルデータ 最新版ダイジェスト

1. TEMによるSi-W-Oウィスカの合成 (TEM No.75)



高温下で材料を合成し、TEM観察するための試料加熱装置を用いてSi-W-Oウィスカの成長過程の観察を試み、微細構造を鮮明にとらえた。装置の構造、材料の合成法からデータの解析までの詳細が述べられている。

図1 シリコン結晶の表面に成長中のウィスカの観察例

2. 亜鉛めっき鋼板のFIBによる断面TEM試料作製とそのTEM観察および分析 (FIB No.2)

「硬軟試料でも薄膜加工できる」というFIBの特長を生かし亜鉛めっき鋼板のTEM試料作製に適用した。従来の作製法では困難な界面観察に成功し、亜鉛めっき層と鋼板の双方の鮮明な格子像を得た。

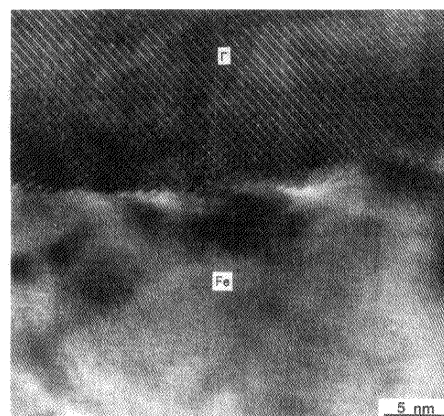


図2 Γ 相Fe-ZnとFeとの界面近傍の高分解能像

3. ナチュラルSEMによる飯米の観察 (SEM No.80)

水や油を含むサンプルをチルド帯温度に保って、その自然な姿をSEM観察するためのクールステージが開発された。長時間にわたって微細構造の変化がなく極めて安定した像が得られることを飯米の観察で実証した。

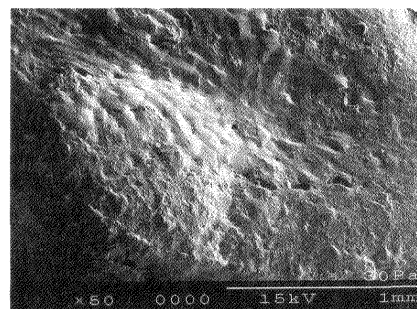


図3 チルドSEMによる飯米の観察

4. 脱塩システムを用いたカテコールアミン類の分析例 (MS No.60)

液体クロマトで分離するのに移動層としてリン酸バッファが最適であってもリン酸塩は質量分析計に適さないため、分離度を犠牲にしてもほかの化合物を用いてきた。脱塩シス

テムによってこの問題が解決された。ノルアドレナリンとその代謝成分の分析例が紹介されている。

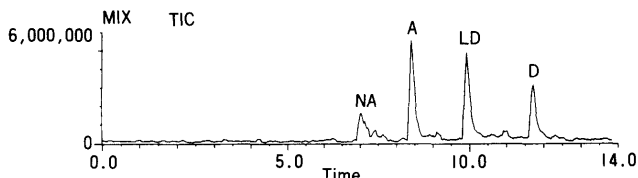


図4 カテコールアミン類のマスキロマトグラム

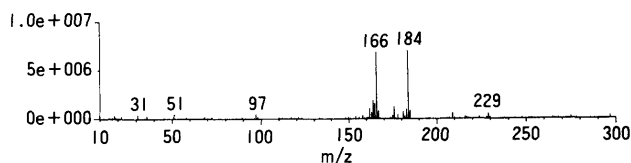


図5 アドレナリンのマスキロマトグラム

5. 溶媒抽出法による環境水の分析 (ICP No.36)

定量限界以下の濃度を分析するため有機溶媒抽出法を採った。有機溶媒試料の測定にも効果的な40 MHzトーチのP-4000形を用いて

海水中のクロム、マンガンなど6元素を分析し、好結果を得た。

元素: Cu 324.754nm

元素: Zn 213.856nm

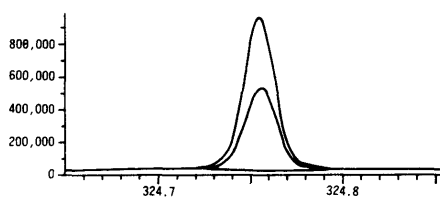
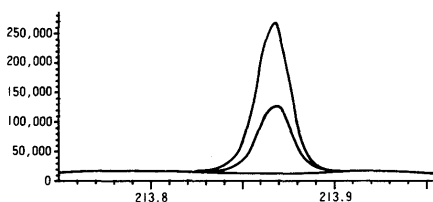


図6 発光スペクトルの一例



6. ICP発光法によるミネラルウォーターの分析 (ICP No.37)

7. 硫酸コバルト——リン酸アンモニウムをマトリックスモディファイヤに用いた河川水中の鉛の分析 (AA No.84)

8. ミネラルウォーター中のBaの分析 (AA No.85)

9. HPLCによる食品の生体液アミノ酸分析 (LC No.130)

LaChromシリーズは、汎用液体クロマトグラフであるが4液グラジエント機能があり、専用のアミノ酸分析計用の市販溶離液を用いた生体液アミノ酸各種成分の一斉分析が可能である。トマトを例にして分析法が詳しく述べられている。

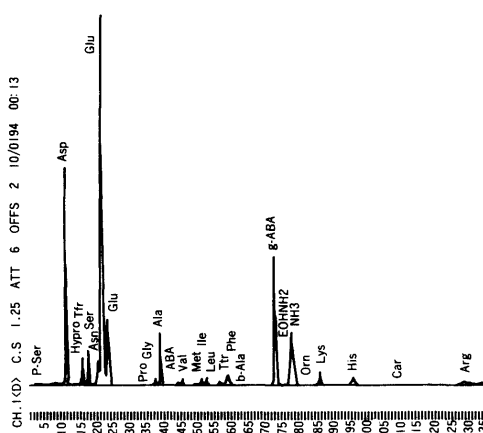


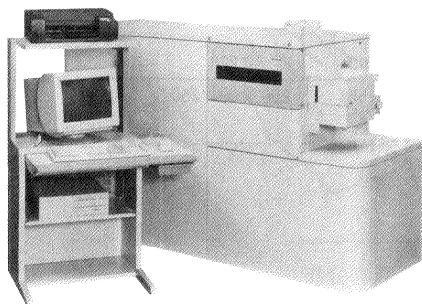
図7 トマト果汁中の生体液アミノ酸

10. アミノ酸光学異性体の一斉分析 (LC No. 131)

11. 非還元糖を含む糖の分析 (LC No.132)

新製品紹介

P-6000形 MIP-MS元素分析装置

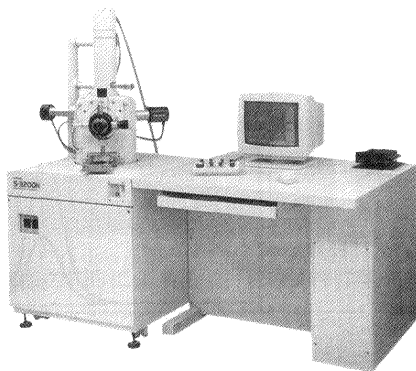


プラズマをイオン源とした質量分析装置は、その高感度・多元素迅速測定という特徴によって急速に普及が進んでいます。P-6000形は前モデルであるP-7000形と比較して一層の高感度化と同時に小型化・低価格化を図った装置です。窒素プラズマであるMIPの特徴を生かして、水系サンプルだけでなく有機溶媒系サンプルの直接測定や、セレ

ンの同位体比分析などICPをイオン源とした質量分析装置では不可能な測定を行うことも可能です。また真空排気系にはターボポンプを採用し、データの安定性の向上や、メンテナンス頻度の減少を図っています。

S-3200N 日立走査電子顕微鏡

S-3200Nは、マウス主体のオペレーションを実現したデジタルナチュラルSEMです。



CRT表示言語を日本語にするとともに、高精細デジタルメモリの搭載により、CRT上の任意の部分のデジタルズームが可能になりました。

また、電子光学系を中心に、新たな自動化機能を搭載、X線取り出し角35°を実現するスーパーコンニカル対物レンズを開発しました。

〈主な仕様〉

1. 分解能: 3.5 nm (高真空モード)
5.5 nm (低真空モード)
2. 加速電圧: 0.3~30 kV
3. 倍率: $\times 20 \sim \times 300,000$
4. 最大試料寸法: $\phi 150\text{mm}$

お詫び

前号、VOL.37 No.2, 24ページのTopics「クロマトグラフィー国際シンポジウム開催」の記事の中で、主催者に関する記述に誤りがあり、主催者である液体クロマトグラフ研究会および関係者の方々に多大なご迷惑をおかけいたしました。ここに深くお詫び申し上げます。

日製産業株式会社

北海道支店 電話 札幌(011)221-7241
東北支店 電話 仙台(022)264-2211
筑波支店 電話 土浦(0298)23-7391
北関東営業所 電話 大宮(048)653-2341
西関東営業所 電話 八王子(0426)43-0080
千葉営業所 電話 千葉(043)247-4151

本社 電話 東京(03)3504-7211
横浜支店 電話 横浜(045)451-5151
新潟営業所 電話 新潟(025)241-3011
北陸営業所 電話 富山(0764)24-3386
中部支店 電話 名古屋(052)583-5841
豊田営業所 電話 豊田(0565)28-5191
関西支店 電話 大阪(06)366-2551

京都営業所 電話 京都(075)241-1591
四国営業所 電話 高松(0878)62-3391
中国支店 電話 広島(082)221-4514
九州支店 電話 福岡(092)721-3501
沖縄出張所 電話 那覇(0988)78-1311

〈編集後記〉

- 本号では巻頭言に、富山大学名誉教授後藤克己先生に「化学分析と分析化学」と題して、先生の年々のご研究経験から蘊蓄(うんちく)のある興味深いお話をご投稿いただきました。
- 長崎大学歯学部高野邦雄先生には、門外漢にも分かりやすく興味を魅かれる「スロースキャンCCDカメラ内蔵分析電子顕微鏡の臨床診断への応用」についてご執筆いただきました。
- 北海道大学薬学部横井毅先生、鎌滝哲也先生には、「ヒトにおけるカフェイン代謝物の分析と遺伝的多型性」をご執筆いただきました。HPLCのシステムが薬の副作用の発現を予知し、防止するという研究の手段に使われています。
- 国立環境研究所吉永淳氏、森田昌敏氏には、

「MIP-MSを用いた生物試料中のセレンの同位体希釈分析」と題して、生物標準試料の保証値を求める新しい分析法をご執筆いただきました。

- 本ニュースに関するお問い合わせは、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。

- 日立計測エンジニアリング株式会社
テクノロジーサーチセンター
〒312 茨城県ひたちなか市市毛882番地
電話 ひたちなか(029)273-2111(代)
- 日製産業株式会社
科学システム販売促進部
〒105 東京都港区西新橋1-24-14
電話 東京(03)3504-7811(ダイヤルイン)
FAX (03)3504-7756

HITACHI
SCIENTIFIC INSTRUMENT NEWS
SEP. 1995 VOL.38 NO.1

発行 平成7年9月12日
発行人 大林 秀仁
編集人 塚田 勝男
発行所 株式会社 日立製作所 計測器事業部
科学システム本部技術部
〒100 東京都千代田区丸の内1-5-1
電話 東京(03)5223-4745(直通)
印刷所 日立印刷株式会社