

SCIENTIFIC INSTRUMENT NEWS

HITACHI

SEPTEMBER 2001
VOL.44 No.1

目次

巻頭言

- マススペクトロメトリーに
携わって40年
大橋 守……………1

報文

- 誘導結合プラズマイオントラップ質量
分析法の評価
古田直紀……………3
珪藻類—自然が創ったミクロの造形—
南雲 保 鈴木秀和……………7

ラウンジ

- 水道と植物プランクトンの話
建部 修……………12

解説

- シリカ連続体を用いたHPLCカラム—
クロモリス
千田俊二 田中信男……………14

- 学会発表ミニファイル……………18

新製品紹介

- ・インテグレーションシステム
SEMEDXⅢ……………13
- ・クライアント&サーバシステムに対
応したクロマトデータステーション
「EZChrom Elite™」の紹介……………17
- ・UV Solutionsナビゲーション
プログラムの紹介……………20

トピックス

- ・第62回分析化学討論会……………13

お知らせ

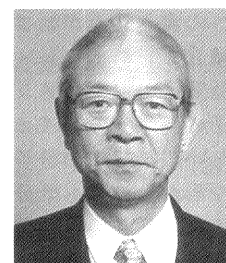
- ・新会社発足のお知らせ……………20

巻頭言

マススペクトロメトリーに携わって40年

My 40 years in mass spectrometry

大橋 守*



Hitachi Instrument News(1981, No. 9, pp. 7-12)に「In-beam EI Mass spectrometry of Thermally Labile and Involatile Compounds」の拙文を載せてから丁度20年が過ぎた。私が1962年Stanford大学Djerassi研究室で始めてマススペクトロメトリーに携わってから40年になろうとしている。MIT Biemann教授により天然物の構造研究にマススペクトロメトリーが導入されて、世界の天然物化学者であつといわせた時期であった。そして1970年代世界の主な研究室を席卷した不揮発性熱不安定物質のイオン化開発競争にIn-Beam法を引っ提げて参入できたことは大変幸せであった(このイオン化開発競争の詳細はJ. Mass Spectrom. Soc. Jpn., 47, 392(1999)に述べた)。この40年間のマススペクトロメトリーの進歩と発展はマススペクトロメトリーというscienceの一分野におけるパラダイムシフトと呼ぶのにふさわしいかもしれない。1962年に出版されたKuhnの“Structure of scientific Revolution”によれば“a paradigm shift in science occurs when a scientist or group of scientists change the way that other scientists think”とされている。本年3月の日本化学会春季年会の特別企画には「最先端質量分析がもたらしたパラダイム変換—天然物からプロテオームまで」がとりあげられた。新しい質量分析法の導入により天然物からプロテオームの分野のパラダイム変換がおこされたというより、マススペクトロメトリー分野でパラダイムシフトが起こったと解釈したい。よく知られていることだがマススペクトロメトリーにおけるParadigm shifter達の足跡を一瞥してみよう。

私がマススペクトロメトリーをはじめたのは、すでに1960年ごろまでに電子衝撃イオン化を主体とする質量分析法は確立しており、Organic mass spectrometryという分野が急速に発展しつつあった頃である。即ち19世紀末Goldsteinによる陽極線の発見、1910年代ThomsonやAstonによる同位体の発見と精密質量測定、1920年代、30年代のDempsterによる方向収束分析計や電子衝撃イオン化法の導入、そして1940年代CECにより180° Dempster型機種が市販されるようになって、石油成分の分析に一気にその適用範囲を広げることになった。同位体の分析から有機化合物の構造解析へ、すなわちMass spectroscopyからOrganic mass spectrometryへとパラダイムシフトがおこりはじめたのである。50年代にはMcLaffertyやBeynonらにより電子衝撃イオン化の物理化学やフラグメンテーションの一般則が確立す

* 神奈川大学 理学部教授 理学博士

る。1960年Biemannにより天然物の構造研究に適用されて大きな展開をみせはじめる。1970年代に入るとOrganic mass spectrometryのパラダイムは完成したように見えた。しかしその進化は激しく、1970年代には不揮発性熱不安定分子のイオン化法が模索され、1981年BarberによるFast Atom Bombardment (FAB) 法の開発で生体成分への適用の突破口が開かれ、90年代、FennらによるElectrospray, HillenkampらによるMatrix Assisted Laser Desorption Ionisation (MALDI) が導入されて、分子量数十万の生体高分子の質量が測定可能となった。Organic mass spectrometryの枠組みを越えて、Biological mass spectrometryへ巨歩を進め出したといえる。まさにパラダイムシフトが起こりつつあることを実感する。私の40年間はMass spectroscopyからOrganic mass spectrometryへのシフトの時期にはじまり、Organic mass spectrometryからBiological mass spectrometryへのシフトの時期に終わる大変幸せな時期を過ごさせて頂いたということになるのか。

最近少し気になる言葉を聞いた。構造生物学のマススペクトロメトリーは分子量が測定されれば十分で、有機分子のフラグメンテーションの解析を必要としないと。パラダイムシフトをOrganic mass spectrometryという地図を棄てて、新しいBiological mass spectrometryという地図への書き込みが始まったと解するのだろうか。量子力学が確立してニュートン力学が不要になったわけではあるまい。低分子のフラグメンテーションがよく見える眼鏡では高分子の釣鐘状分子イオンの分子量は見難いかもしれない。新しい眼鏡でこの分子イオンをはっきり見たとき、たとえ色や形が変っても低分子のフラグメンテーションも見えよう。新しい世代の研究者たちはこの新しい眼鏡をかけて成長し、この眼鏡によって構造生物学の諸問題を見極め、解決して、Biological mass spectrometryの地図に書き込むことになるが、そのときに古いOrganic mass spectrometryの地図にかかっている事柄を新しい地図にどのように書き写すかを確立することも新しい世代の研究者の仕

事であろう。さて2000年代現在進行形のパラダイムシフトはどのような眼鏡と地図を提供してくれるのであろうか。眼鏡と地図を創る第一線からの引退を目前にして、青春の気持ちそのままに新しい期待にわくわくしている作今である。

著 者 略 歴

大橋 守(1932年3月30日生)

[所属・専門]

神奈川大学理学部化学科・有機化学

[学歴・職歴]

1954年3月 名古屋大学理学部卒業
1954年6月 名古屋大学理学部研究補助員
1958年7月 名古屋大学理学部助手
1960年1月 東京教育大学理学部助手
1962年9月 理学博士(東京教育大学)
1962年9月 スタンフォード大学研究員
1964年10月 コロンビア大学研究員
1965年9月 東京教育大学復職
1969年9月 京都大学工学部助教授
1971年4月 電気通信大学教授
1980年10月 アメリカ政府FDA 客員科学者(至1981年9月)
1994年4月 理化学研究所国際フロンティア研究推進委員
(至2000年3月)
1997年3月 電気通信大学定年退官
1997年4月 電気通信大学名誉教授
1997年4月 神奈川大学理学部教授、現在に至る

[受賞歴]

1966年4月 日本化学会進歩賞受賞
1998年5月 日本質量分析学会賞受賞

報 文

誘導結合プラズマイオントラップ質量分析法の評価

Evaluation of Inductively Coupled Plasma-Ion Trap Mass Spectrometry

古田直紀*

1. はじめに

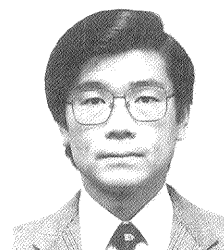
誘導結合プラズマ質量分析法(ICP-MS)は高感度分析及び同位体比測定が可能ことから工業、環境、生体分野で広く利用されている。しかし、四重極質量分析計(QMS)を用いたICP-QMSで超微量元素分析を行う場合、多原子イオンに起因するスペクトル干渉が深刻な問題となっている^{1,2}。このスペクトル干渉を軽減する方法として、クールプラズマを用いる方法、コリジョンセル又はリアクションセルをQMSの手前に設置する方法等、幾つかの方法が提案されてきた^{3,4}。クールプラズマを用いると、プラズマポテンシャルを低く抑えられるため、Arガスに起因する多原子イオンを低減することができるので、半導体試料等のきれいな試料には適しているが、高濃度のマトリックスが含まれている試料を導入すると、プラズマパワーが低いために試料を分解・イオン化することができない。これに対して、コリジョンセル及びリアクションセルでは、プラズマ出力が高いため、高濃度のマトリックスを含む試料を導入することができる。しかし、CaO等の試料中に含まれるマトリックスに起因する多原子イオン(金属酸化物イオン)については除去することができない。多原子イオンのスペクトル干渉を除去するための第3の方法として、イオントラップ質量分析計(3DQMS)をQMSの代わりに用いたICP三次元四重極質量分析法(ICP-3DQMS)が開発され⁵、最近、(株)日立製作所が世界に先駆けて国内向けに市販品を販売し始めた。ICP-3DQMSの特長は、プラズマパワーが高いので、高濃度のマトリックスを含む試料を導入することができ、また、Arガス起因の多原子イオンだけでなく、金属酸化物イオンも低減できる潜在能力があることである。

3DQMSとQMSの決定的な違いは、3DQMSではイオンを質量分析計内にトラップできることである。QMSでは、プラズマ中で生成されたイオンはイオンレンズ系を通して連続的に質量分析計に導入される。四重極の長さが23cmと仮定すると、イオンが質量分析計を通過するのに、1~50 μ s要する。しかし、3DQMSでは測定イオンをmsから秒単位で質量分析計内にトラップすることができ、またイオンが検出器に到達する前に、質量分析計内で衝突・解離・反応を起こすための最適な条件を見出すことができる。

2. ICP-3DQMSの装置

ICP中で生成されたイオンは、アインツェルレンズ、二重円筒型静電イオンガイド及び90度デフレクタ(偏向電極)を通して3DQMSに到達する⁶。バッファガスとして、純Heガスが3DQMSに導入されている。トラップされたイオン

は、パルスカウンティングモードで検出される。図1で示したように、3DQMSはリング電極と2つのエンドキャップ電極で構成されている。リング電極はこれらの電極に囲まれた領域内にイオンをトラップする役割を担い、この領域にトラップできるイオンの数はリング電極の大きさに依存する。半径(r_0)が大きければ、イオンはより多くトラップでき、 r_0 と z_0 には以下のような関係がある。



$$2z_0^2 = r_0^2 \quad (1)$$

Matthieuの式から得られるイオンの安定領域は以下の通りである⁷。

$$a_z = -16zeU/m(r_0^2 + 2z_0^2) \Omega_{\text{ring}}^2 \quad (2)$$

$$q_z = 8zeV_{\text{ring}}/m(r_0^2 + 2z_0^2) \Omega_{\text{ring}}^2 \quad (3)$$

3DQMSでは、交流電圧のみが使われているので、 q_z のみを考慮すれば良い。ラジオ周波数(Ω_{ring})は定数で、 V_{ring} の最大振幅は限定されている(V_{ring} は数kV)。広い質量範囲の測定が必要な有機分析の場合と異なり、無機分析では0-300amuの質量範囲を測定すれば十分なので、3DQMSの r_0 は有機分析の場合よりも大きくすることが可能である。リング電極の半径 r_0 を大きくすることによって、リング電極及びエンドキャップ電極に囲まれた領域にトラップできるイオンの数は10倍に増やすことができた(トラップ可能な最大イオン数：約 10^6 個)。質量分析計内でのイオンのトラップ及び放出は、 V_{ring} の振幅により制御できる。各 m/z について対応する V_{ring} の振幅値があり、ある V_{ring} が適用されたとき、その振幅で決まる m/z 以上のイオンが質量分析計内にトラップされる。トラップ後、 V_{ring} の振幅を大きくすると、イオンは質量分析計内からエンドキャップ電極の出口より質量の大きい順に放出され、検出される。

エンドキャップ電極は質量分析計内にトラップされたイオンを共振させる役割がある。各 m/z に対して、そのイオンを共振させるラジオ周波数 ω_{endcap} が1対1に対応するという特性を利用し、バッファガス(Heガス)とトラップされたイオンを衝突させる仕組みになっている。対応する ω_{endcap} がエンドキャップ電極に適用されると、質量分析計内に存在する目的 m/z のイオンが共振する。衝突は、 V_{endcap} の振幅及び適用時間によって制御することができる($V_{\text{endcap}} < \text{数V}$)。 V_{endcap} 及び ω_{endcap} を適用すると、対応する m/z を持つイオン

* 中央大学理工学部応用化学科、教授、理学博士

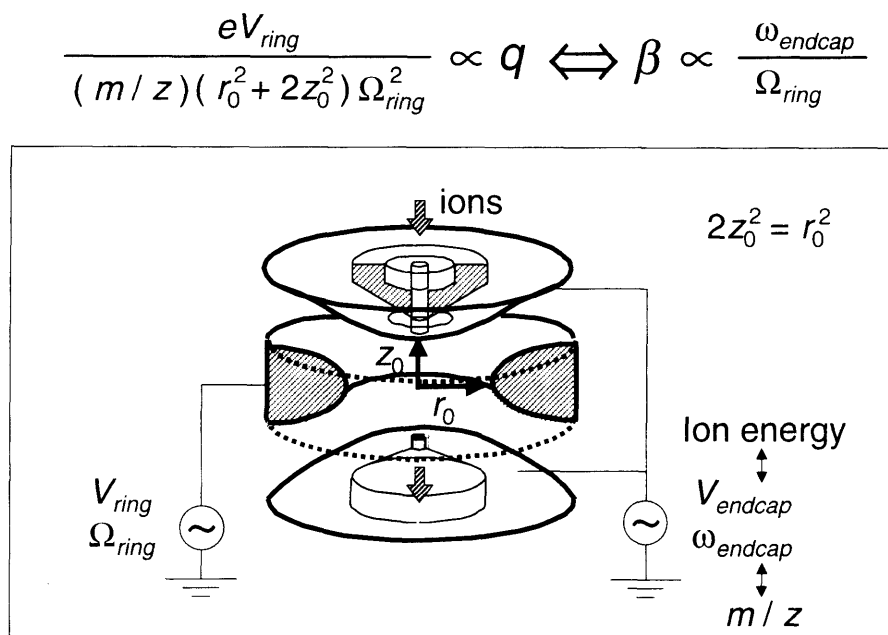


図1 3DQMSの原理

がHeガスと衝突し、目的成分と同じ m/z を持つ多原子イオンは解離又は反応して他のイオンとなる。

イオンレンズ系を通過したイオンは、3DQMSに導入される。この間3DQMSの入口は開き、出口は閉じ、 V_{ring} が適用されてイオンがトラップされる。FNF(filtered noise field)がエンドキャップ電極に適用され、目的以外の m/z を持つイオンが除かれる⁸。目的イオンがトラップされると入口は閉じられ、対応する V_{endcap} 及び ω_{endcap} を適用することにより衝突解離(CID: collision induced dissociation)又は反応を起こすことができる。CID又は反応を起こす条件は、 V_{endcap} の振幅、 ω_{endcap} の適用時間、また3DQMS内の圧力即ちHeガス流量を制御することにより最適化できる。Heバフファガスは、導入されてくるイオンの速度を減速させ、CIDや反応において非常に大切な役割を果たすので、イオントラップ中は常時導入し続ける必要がある。CID又は反応が起こった後、出口が開かれ、イオンは検出器によって検出される。

FNFは目的以外の m/z を持つイオンを除く役割がある。FNFを適用しなければ、3DQMSにトラップされたイオンはすべて検出器に放出され、全質量スペクトルが得られる。しかし、FNFがエンドキャップ電極に適用されれば、不必要なイオンを取り除き、目的のイオンのみをトラップすることができる。必要なイオンのみをトラップすると、トラップ効率が向上し単純な質量スペクトルが得られる。前述したように、各 m/z のイオンを共振させる高周波があり、その高周波を最適な振幅で適用すると、衝突が起こり多原子イオンは解離する。トラップ領域での衝突は、多原子イオンを解離させるだけでなく、活発な反応も引き起こす。最適条件下では、目的元素に干渉する多原子イオンを解離又は反応させて他の化学形態のイオンに変化させることにより、目的元素への妨害を除去できる。

3 ICP-3DQMSの評価

3.1 セレン(Se)の定量のための多原子イオン Ar_2 の除去

ICP-3DQMSを用いてSe(80)の検量線を作成した。 Ar_2 (80)起因の干渉は、単純にトラップ時間を最適化することにより除去できた。最適条件は、Heガス流量2.5ml/min、トラップ時間50ms、積算回数200回であった。このガス流量を用いた場合、3DQMS内の圧力は0.8Paと推定される。この条件下で、0~100pg/mlの濃度範囲で相関係数が0.999の直線性を持つ検量線が得られた。100pg/mlの標準溶液を用いて得られた検出限界は6 pg/mlで、繰り返し再現性は4~5%であった。次にSe(80)のダイナミックレンジを検討した。トラップ時間は、質量分析計内の飽和を防ぐため、濃度毎に4種類の異なる値に変化させた(100ms, 20ms, 0.2ms及び0.02ms)。その結果、20pg/ml~100 µg/mlの間で7桁の直線性が得られた。

3.2 HPLC-ICP-3DQMSを用いたSeの化学形態別分析

元素の毒性はその化学形態によって異なるため、化学形態別に分析することが重要である。化学形態別分析の必要性は高く、HPLC-ICP-MSは環境及び生体の分野で広く利用されている⁹。化学形態別分析に利用できる液体クロマトグラフィには様々な種類があるが、本研究ではイオンペアクロマトグラフィを用いた。カラムにはLiChrosorb PR18 逆相カラムを使用した。イオンペア試薬としては、陽イオン、陰イオン、中性種を同時に測定するために、ブタンスルホン酸及び水酸化テトラメチルアンモニウムの混合物を移動相に添加した¹⁰。試料注入量は100µl、移動相の流量は1.0ml/minとした。測定条件を最適化した後、8種類のSe化合物を含む100ng/mlの標準溶液を、HPLC-ICP-3DQMSを用いて測定した(図2)。HPLCは時々刻々変化する信号であるため、サンプリング周期を短くする必要があった。これに伴い、トラップ時間と積算回数を最適化した。濃度

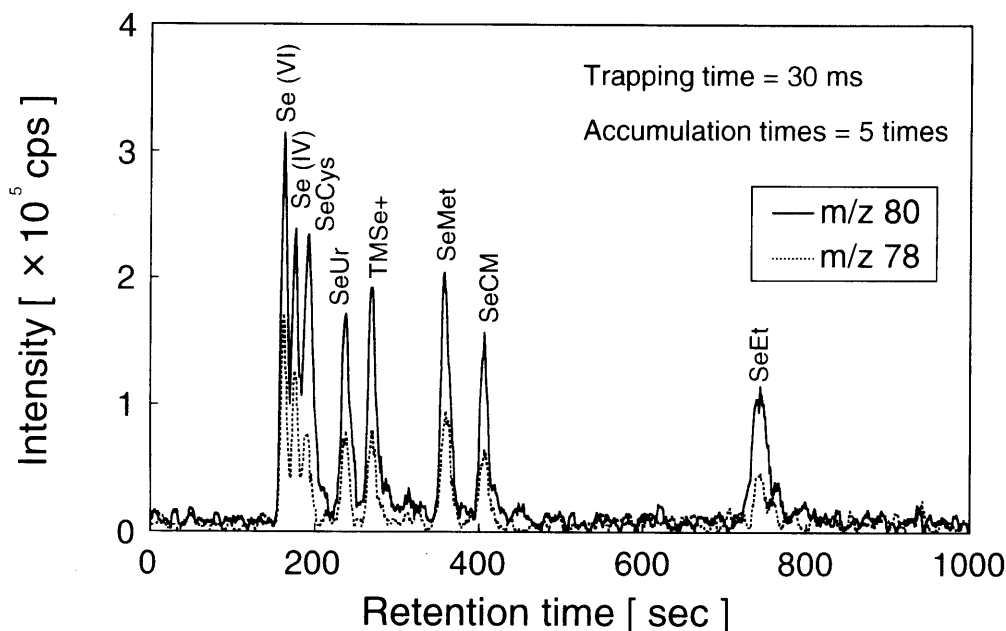


図2 Se化合物の混合標準溶液から得たHPLC-ICP-3DQMSのクロマトグラム

が十分に高ければ、サンプリング周期を短くすることに問題はなかった。1回の注入で、Se(80)とSe(78)の2つの質量数を交互に測定すると、得られた信号強度は、Se(80)とSe(78)の同位体存在比と一致した (Se(80):Se(78)=50:24)。この結果から、これらの信号がSeに由来するものと考えられるので、多原子イオンの干渉が除去されたと判断した。

3.3 鉄(Fe)の定量のための多原子イオンArO及びCaOの除去

多原子イオンArO及びCaOは、Feの同位体存在比が最大である質量数56に大きく干渉を及ぼすことが知られている。Ca100 μ g/ml, Fe100ng/ml及びブランク溶液を、ICP-QMSを用いて測定した。ブランクを測定すると、m/z 57にArOHに起因する信号が現れた。Ca100 μ g/mlを測定すると、m/z 57には更に大きな信号が現れ、これはArOH及びCaOHの総和によるものと考えられることができる。また、m/z 56に現れたArO起因の信号は約125ng/mlのFeに相当し、CaO起因の信号は約175ng/mlのFeに相当した。同じ溶液を、ICP-3DQMSを用いて測定した。試料は50msトラップされ、CIDは適用しなかった。ICP-QMSとICP-3DQMSで得られた質量スペクトルには顕著な違いが認められた。Feの信号はほぼ同じである一方で、ArOの信号はICP-3DQMSでは小さかった。また、Ca100 μ g/mlを測定したとき、m/z 56の信号が小さくなる代わりに、m/z 57の信号が大きく現れた。ArO起因の信号は約10ng/mlのFeに相当し、CaO起因の信号は約80ng/mlのFeに相当した。

次に、CIDの特性を追求した。同様の3種類の標準溶液を、CID時間を変えて測定し、Fe+ArO, CaO+ArO及びArOの信号をプロットした。CID時間を長くすると、Fe, ArO及びCaOすべてのイオンの信号強度が減少することが分かった。CaOに関しては、数百msで大きく減少し、

CaO+ArOの曲線はArOの曲線と重なった。このことは、CaOイオンが消滅したことを示唆する。CaOに対するCIDの影響を0~400msの間で更に詳しく評価した。CaO(56), CaOH(57), そしてCaO+CaOHの和をプロットした。CaOの信号強度は300msで無視できる程度まで減少した。また、CaOの信号強度が減少するに伴い、CaOHの信号強度が増加し、一方、CaO+CaOHの信号強度はほぼ一定に保たれていた。この結果から、m/z 56に干渉していたCa起因の多原子イオンCaOはHと反応してCaOHを形成することにより、m/z 56から消滅していることが分かった。

最後に、ブランク, Ca100 μ g/ml及びFe100ng/ml+Ca100 μ g/mlの溶液の質量スペクトルを測定した(図3)。トラップ時間は50 msに設定し、CID時間は300msとした。Ca100 μ g/mlを測定したときのm/z 56の信号強度は、ブランクを測定したときのものと一致したので、CaO起因の多原子イオン干渉はm/z 56から完全に除去されていることが分かった。前述の通り、CaOはCIDにより質量分析計内で反応してCaOHに形態を変化したことを裏付けるように、m/z 57には大きな信号が認められた。CIDを適用しないで得られたFe100ng/mlの質量スペクトルと比較して、CIDを300ms適用して得られたFe100ng/ml+Ca100 μ g/mlのFeの信号強度には差が見られなかった。Ca100 μ g/mlを測定した場合とFe100ng/ml+Ca100 μ g/mlを測定した場合は、m/z 57の信号強度が一致し、この結果もCaO起因の多原子イオンがm/z 56への干渉には寄与していないことを支持している。

4. まとめ

多原子イオン起因のスペクトル干渉を受ける元素の定量を行うために、ICP-3DQMSを評価した。Seについては、適当なトラップ時間を設定するだけでAr₂(80)に起因する多原子イオンは除去され、同位体存在比が最も大きい質量

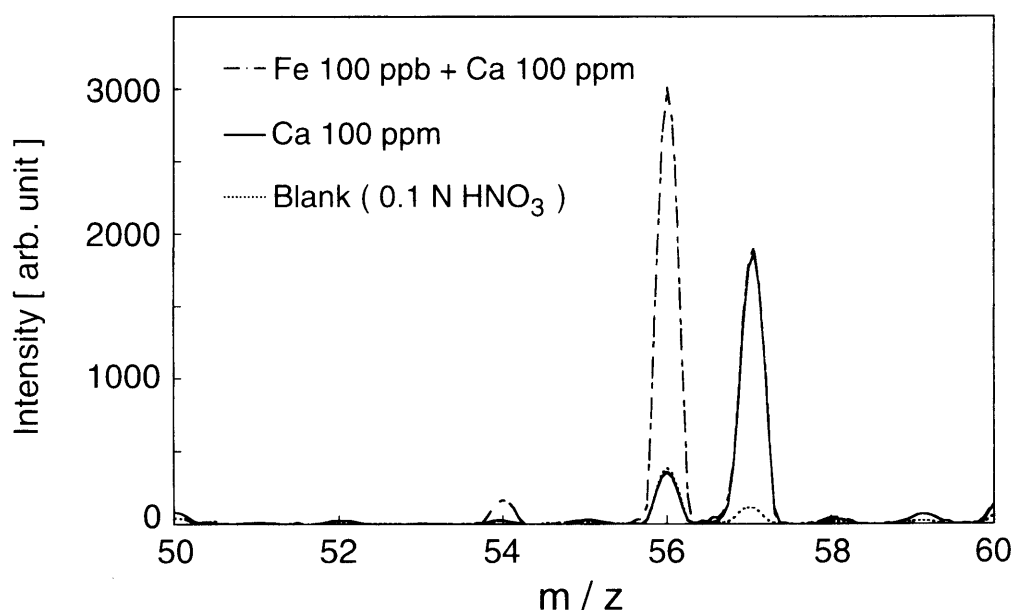


図3 CIDを適用したICP-3DQMSにより得られた鉄の質量スペクトル

数80を用いたSeの定量が可能となった。最適条件下でのSe (80)の検出限界は6 pg/mlで、濃度毎にトラップ時間を変えることによりダイナミックレンジは7桁の直線性が得られた。繰り返し再現性は、%RSDで4～5%であった。多原子イオンAr_nが除去できたため、HPLC-ICP-3DQMSを用いたSeの形態別分析は、m/z 78及び80の2つの質量数で測定することができた。多原子イオンCaO (56)のスペクトル干渉は、ICP-3DQMSを用いて、Fe (56)の感度を損なうことなく、3DQMSの質量分析計内に数百msトラップすることにより除去できた。CaO (56)は解離せず、トラップされると同時に反応してCaOH (57)を生成した。

参考文献

1. M. A. Vaughan and G. Horlick, *Appl. Spectrosc.*, 1986, 40, 434.
2. S. H. Tan and G. Horlick, *Appl. Spectrosc.*, 1986, 40, 445.
3. K. Sakata and K. Kawabata, *Spectrochim. Acta*, 1994, 49B, 1027.
4. S. D. Tanner and V. I. Baranov, in *Plasma Source Mass Spectrometry : New Developments and Applications*, eds. G. Holland and S. D. Tanner, Royal Society of Chemistry, Cambridge, 1999, p. 46.
5. C. J. Barinaga and D. W. Koppenaal, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, 1994, 8, 71.
6. Y. Takada, M. Sakairi and Y. Ose, *Rev. Sci. Instrum.*, 1996, 67, 2139.
7. J. F. J. Todd, in *Practical Aspects of Ion Trap Mass Spectrometry*, eds. R. E. March and J. F. J. Todd, CRC Press, Inc., New York, 1995, Volume I, Chapter 1, p. 3.
8. D. V. Kenny, P. J. Callahan, S. M. Gordon and S. W. Stiller, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, 1993, 7, 1086.
9. R. Ritsema and O. F. X. Donard, in *Sample Handling and Trace Analysis of Pollutants : Techniques, Applications and Quality Assurance*, ed. D. Barcelo, Elsevier Science, Amsterdam, 1999, Chapter 21, p. 1003.
10. J. Zheng, M. Ohata, N. Furuta and W. Kosmus, *J. Chromatogr. A*, 2000, 874, 55.

珪藻類—自然が創ったミクロの造形—

Diatoms - micro arts designed by nature -

南雲 保* 鈴木秀和**

約2億年前、地上に恐竜が闊歩していた頃、水中では奇妙な単細胞性の光合成生物が出現した。細胞が珪酸質という硬いガラス質で包まれた生物、珪藻類の誕生である。この生物群はそれからわずかな間に急激にその姿を進化させ、現在の多様な世界をつくりあげた。

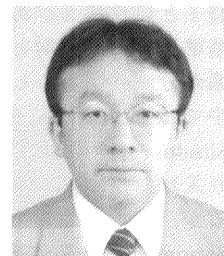
1. 珪藻とは

珪藻類は単細胞であるが、群体(糸状、板状、星状など)をつくるものもある。細胞質は箱の身と蓋のように重なる2片の珪酸質の殻(細胞壁)に包まれている。殻の形は様々で、さらにその殻には精巧で緻密な模様が刻まれている(図1)。この殻の形や模様の相違により種類が分けられている。細胞の大きさは大半の種が0.1mm以下で、1mmを越えるものはきわめて稀である。光合成色素としてはクロロフィルa, cを持つため黄褐色を呈するものが多く、ワカメやコンブといった褐藻類と同じグループに属し、クロロフィルa, bを持つ緑藻類とはその系統を異にする。

生育場所は、水のあるところなら熱帯から極地まで、様々な環境の海域や陸水域である。生活形は、プランクトン(浮遊)生活しているもの、岩や砂粒などの基物や他の生物(例えば水草や海藻、クジラの皮膚など)に着生して生活するものなど実に様々で、それぞれの環境に適応した殻の形態をしている。湖沼や海洋では、主要な一次生産者として食物連鎖にしっかり組み込まれていることは周知のことである。最近のデータによると、珪藻が海洋の生物生産量の40-45%を担っており、これは世界中の熱帯雨林の生産量よりも多いと見なされている(Field et al. 1998)。河川においては、水質汚濁の程度に応じて異なる種類が生育することから、水質判定の指標生物としても扱われている。

珪藻は水産養殖における対象魚介類(アワビ、サザエ、カニ、アユ等)の主要な餌としても重要な役割を担っている。特に減耗率の高い初期段階の稚魚や幼生に対する餌料価値は高く、その栄養面での研究も盛んである。珪藻は死んでもその殻は遺骸として残りそれが大量に堆積したのが「珪藻土」と呼ばれ、地球上の至る所に見られる。その珪藻土は住宅の壁材、プールや酒造の濾過材として、さらに意外なところで歯科の印象材として、珪酸質の殻の特質を生かした利用が成されている(南雲他 1999)。また地層中の種類組成を調べることによって過去の環境を推測することができる。

光合成生物として他の藻類と共通の仲間であると同時に、珪酸質という特殊な細胞壁を持った珪藻類。この生物群の



分類の研究の現状と展開、そしてそれに関わる顕微鏡の意義について報告する。

2. 珪藻の分類

珪藻は水圏において、今日最も多様に種が分化し、また生物量的にも繁栄した藻類である。珪藻の分類は、長い間珪酸質の殻の構造に基づいて行われてきた。他の多くの単細胞藻類と比べると珪藻の殻の形態はたいへん明瞭なため、珪藻類全体の種数を数え上げることなど一見易しそうにみえるかもしれない。しかし、実際は明瞭であるがゆえに、わずかに形態が異なる被殻間では、それらを同種としてとらえるか、異種としてとらえるか判断が難しい場合も多く、珪藻全体の種数を数え上げることが容易なことではない。その数は時代とともに増加する傾向にあり、1万2千種(Hendey 1964)あるいは、2万種(Werner 1977)とも、さらには10万種(Round et al. 1999)とも推定されている。これは、時代と共に詳細な植物相の調査がなされ、かつその際多くの新種が記載されたこと、また、走査電子顕微鏡(SEM)の発達により、従来は同種と考えられていたものが、微細構造に基づき別種とされる場合が増えたことも原

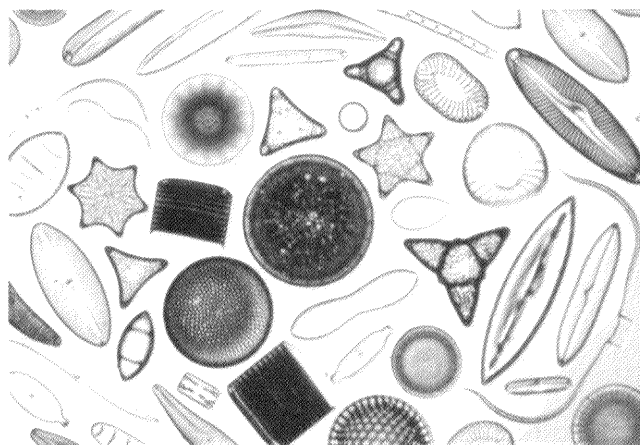


図1 多様な形態の珪藻類 光学顕微鏡

* 日本歯科大学生物化学教室 助教授 博士(水産学)

** 青山学院高等部 教諭

因している。さらに珪藻の種概念のとらえかたの違いが、その数を大きく増加させている(Mann 1999)。種の増加に伴うように、属の数も年々増加している。

1800年頃には記載された珪藻の属は数属しかなかったものが、1900年頃には約500属となり、現在ではその数は1000を越えている(Fourtanier & Kociolek 1999)。珪藻類の分類体系は、古くから全体を中心珪藻と羽状珪藻の2つに分けるものが採用された。中でもSimonsen(1979)の体系は、殻の構造中心が点か線か、有性生殖において配偶子に卵と精子という差異があるかどうか、という2つの形質を分類基準として珪藻綱を中心目と羽状目に大別したもので、体系が分かり易いこともあり、我が国における近年の出版物中ではしばしば紹介されてきた(出井・真山 1997など)。Simonsenの体系は目の分類形質として有性生殖の様式を取り入れた以外は、すべての分類階級で殻の構造を用いているが、そのほとんどは光学顕微鏡レベルの形質であった。Simonsenの分類体系が発表された後、1980年代は珪藻の分類学では電子顕微鏡が多用される時代となった。また、一時はほとんど忘れられていた珪藻の葉緑体の形や数の分類学的重要性を再認識する研究もCox(1987など)やMann(1989など)によって行われるようになった。

2. 珪藻の観察

2.1. 光学顕微鏡観察

珪藻を本格的に観察して分類するためには、細胞の内容物(原形質)を取り除き、珪酸質の殻を分解能の良い対物レンズを使って光学顕微鏡観察を行う(長田・南雲 2001)。

基本的には光学顕微鏡で詳細に観察することによって、大抵の場合種類の同定は可能であるが、類似した形質をそなえた種類を区別するには、電子顕微鏡による観察が不可欠である。

2.2. 電子顕微鏡観察

走査電子顕微鏡(SEM)による観察は、装置の分解能の試験に使われるほど種類によって多様な形態と微細構造を観察することができる(図2)。一般的には殻周辺の有機物を除去、洗浄した試料を少量試料台上で乾燥し、蒸着後観察する。しかし最近では、光学顕微鏡下でキャピラリーピペットを使って目的とする種類を拾い出し、さらに観察したい殻の方向付けや微針を巧みに操作し、殻の断面を観察することによって種類の形質をより明確に記載している(Nagumo & Kobayasi 1991a, b, Suzuki *et al.* 2001a, b)。

また高分解能走査電子顕微鏡を使用することにより、これまで観察が不可能であった新たな形質の確認が可能となり、珪藻類の種レベルではもちろんのこと、属あるいは科といった上位の分類階級での移属に関わるデータが得られる場合も多い。

透過電子顕微鏡(TEM)による珪藻の観察は、20世紀半ばから盛んに行われてきた。つまり電子顕微鏡の開発と普及に伴い、光学顕微鏡のレンズ性能を調べる検体として珪藻が用いられたように、微細な構造をもつ珪藻類が絶好の検体として用いられたためである。

珪藻の殻に刻まれた紋様は微小な孔で構成され(胞紋)、この孔はさらに薄い珪酸質の膜(薄皮)で覆われており、最近ではこの薄皮の形状が種類や属の違いによって異なることが確認されている(図3)。これらの情報は以前から示唆されていたが、最近では高分解能走査電顕によって得られた像と透過電子顕微鏡によって得られた像が同じ拡大率で対比することが可能となり、胞紋に張られた薄皮の位置が、殻の胞紋の外側か内側かなど珪藻の系統を考察するために重要な情報が得られている(図4)(Suzuki *et al.* 2001 a, b)。

さらに筆者らは弁当箱のように2つの殻が合わさっている被殻の構成要素を観察するために、数年前から1個の珪藻細胞をキャピラリーピペットで拾い、その個体をブリー

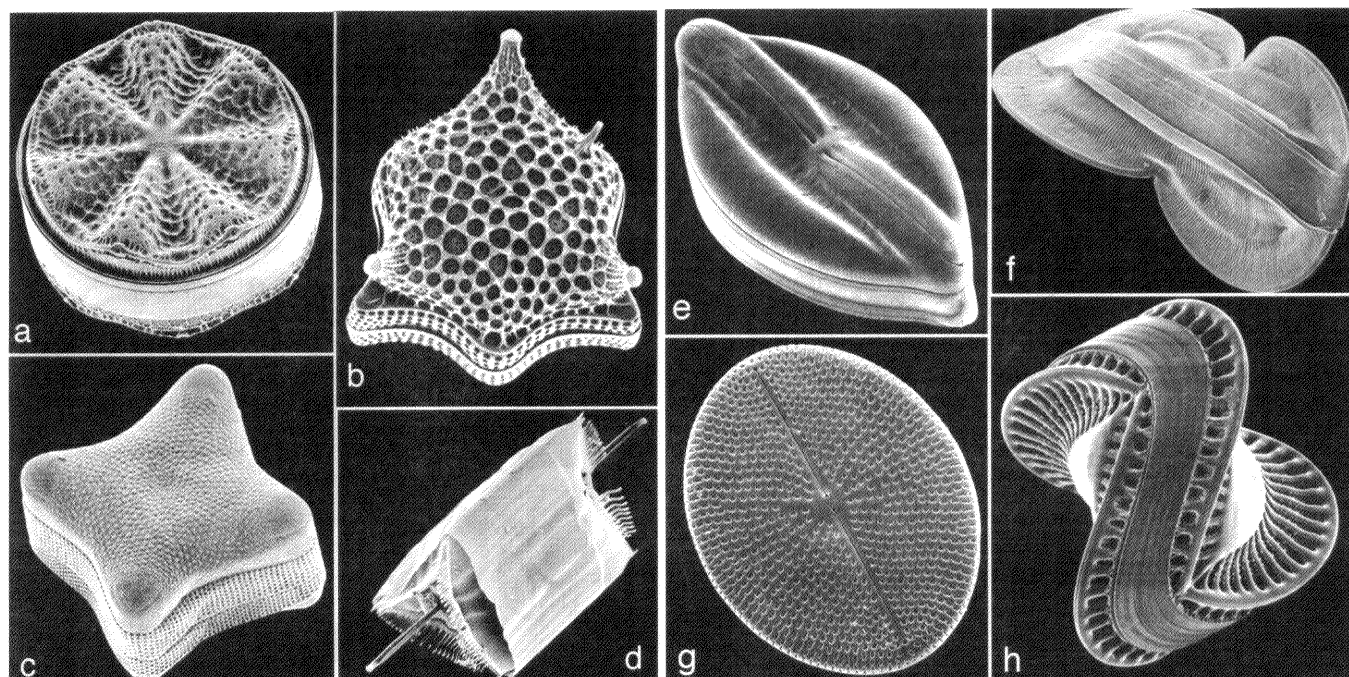


図2 多様な形態の珪藻類 走査電子顕微鏡 (SEM) a-d; 中心目珪藻 e-h; 羽状目珪藻

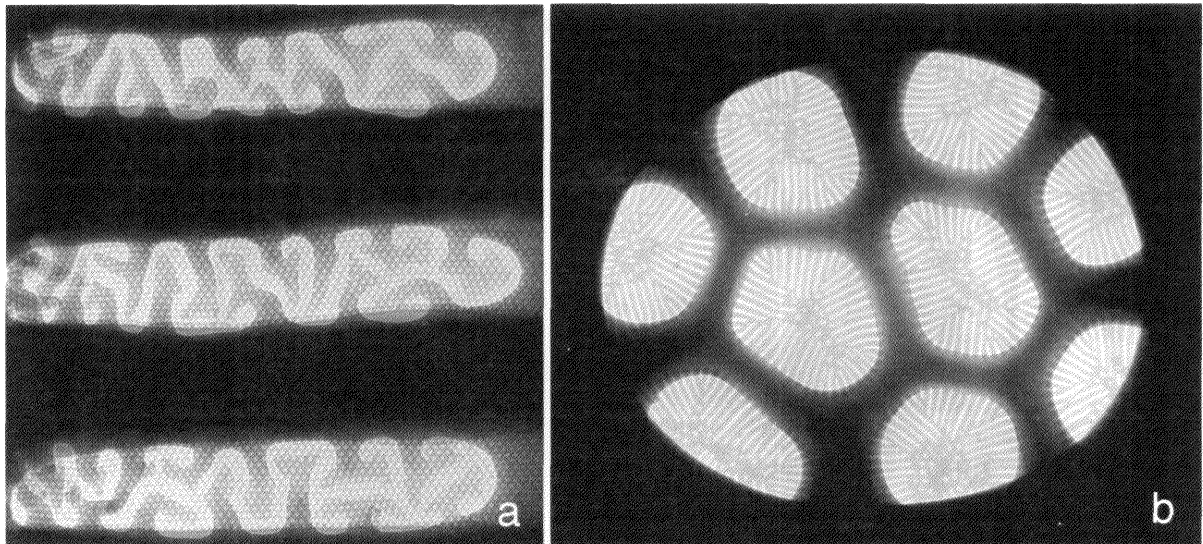


図3 胞紋を閉塞する薄皮の透過電子顕微鏡像 (TEM). a; ディプロネイス属ケイソウ. b; アクナンテス属ケイソウ.

チ処理を行い、頃合いを見計らって“豚のまつげ”で殻を分離する方法を考案した (Nagumo & Kobayasi 1990a, b)。この方法を使うと珪藻被殻を構成している2つの殻と殻に付随している部分 (殻帯) を失うことなく、電子顕微鏡の試料が作成できる (図5)。また珪藻の種類によっては、2つの殻の構造が異なっている場合もあり、従来から行われてきた酸を用いた被殻洗浄処理では、2つの殻を同時に観察できず種類の記載が不確定であった。しかしながら、ブリーチ処理をした個体の電子顕微鏡観察が行われることによって、新たな形質の記載が可能となった。この方法を有効利用したことによって、筆者らは着生珪藻の一種を新種記載した (Suzuki et al. 2001b)。

3. 新たな研究手法を求めて

上述したように、珪藻の殻は珪酸質でできた立体的な構造をしている。まさに自然がつくりあげた芸術といえるほ

ど微細な構造をもっている。この殻を破壊することなく、断面や殻内部の観察ができないかと長年考えてきた。その問題点を解決し、殻断面や内面の構造の観察を可能にしてくれる装置が近年開発された。集束イオンビーム加工装置 (FIB) がまさにそれである。筆者らを始め多くの珪藻研究者は殻の断面を観察するために、たびたび微針を使い光学顕微鏡下で目的とする部分を割るという方法を使う。しかしこの方法では、2つの殻を破壊することなく、断面を作ることとは不可能であった。しかしながら、FIB装置で断面を作り、走査電子顕微鏡で観察すると、これまで観察ができなかった情報を得ることができる (図6)。この手法は珪藻を始め、微細構造を持つ石灰藻や硬組織の研究分野における新しい研究手法として有効と思われる (鈴木他 2001)。

また近年性能が安定した低真空走査電子顕微鏡 (N-SEM) による観察も新たな研究手法の一つといえる。珪藻の殻は珪酸質でできているため、殻形態の観察は上述した従来の

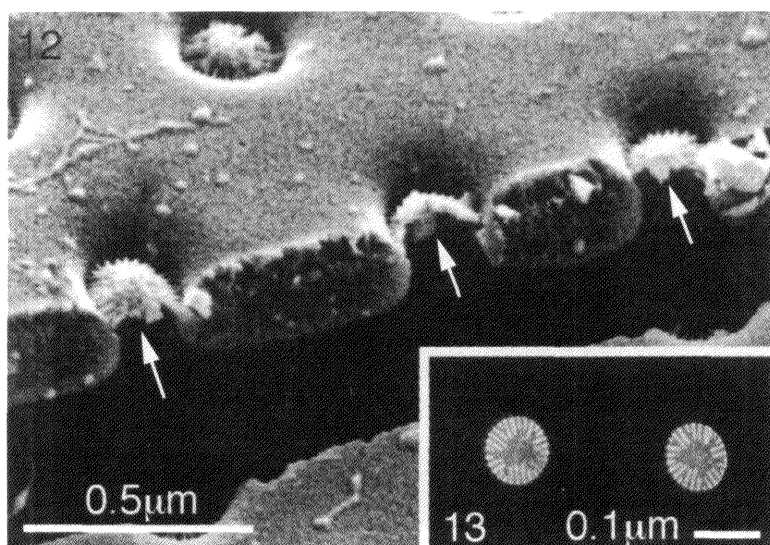


図4 胞紋を閉塞する薄皮 (矢印) の拡大 (Suzuki et al. 2001bより転載)

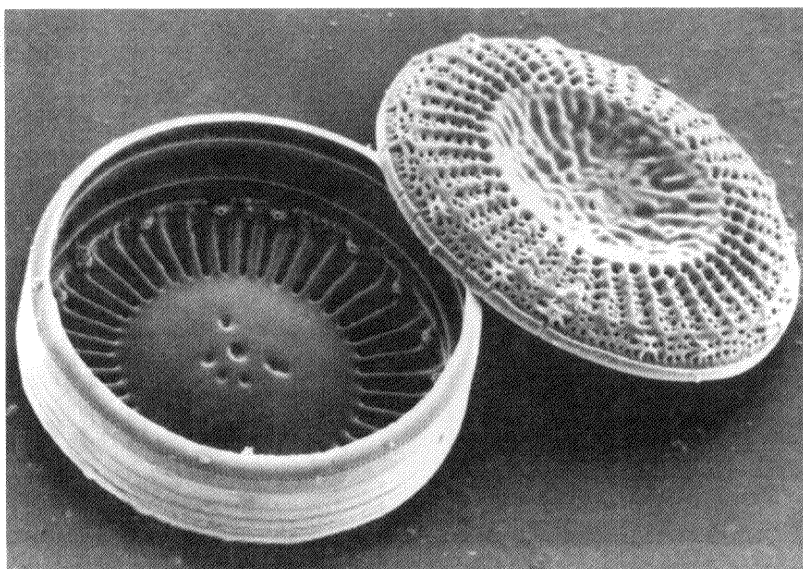


図5 ブリーチ法によって分離された珪藻被殻

方法によって比較的簡単であった。しかし、珪藻の生きた状態の観察には、臨界点乾燥装置(CPD)による試料作成や凍結乾燥といった時間のかかる方法に依存する必要があった。しかしながら、N-SEMは生きた状態での観察を容易にし、現在ある状態を短時間で観察することを可能にしたといえる(図7)。現在のところ分解能の更なる向上を期待したいところであるが、どのような種類がいかに基物に着生しているかなど、簡単に知ることができることは画期的な方法の一つといえよう。

4. おわりに

近年の分子生物学的技術の急速な発展により、様々な生物群の分子分類に関する研究が進んでいる。一方原点に戻って、生物のあるがままの姿を見ていこうという自然史的な研究も見直されつつある。そのような中で珪藻類を含めた微細藻類の分類学も新局面を迎えている。新世紀に入り、より一層の進展を見せた顕微鏡開発は、分類学の流れに新たな展開を起こし推進力となると期待される。

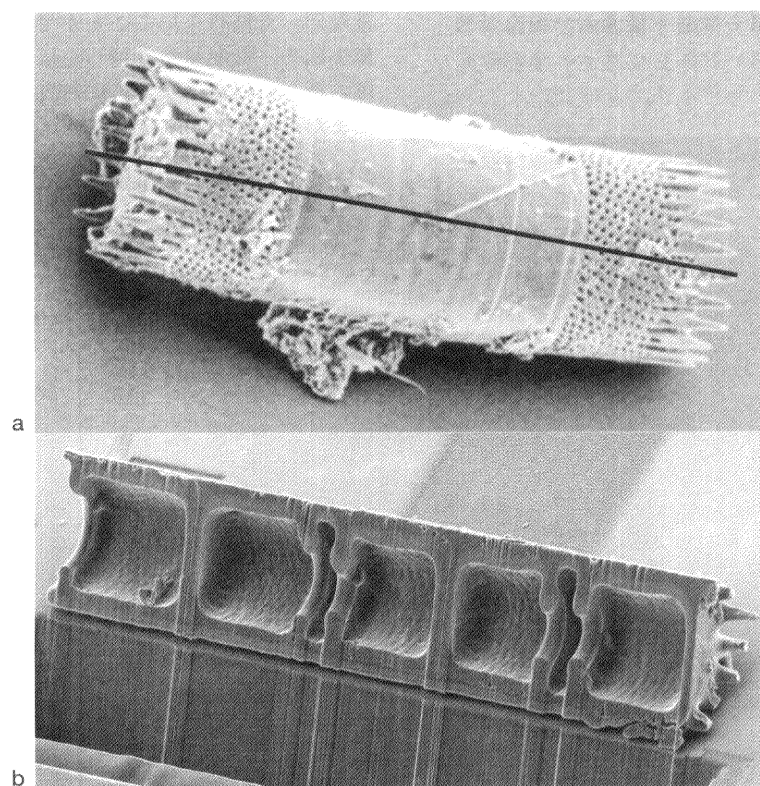


図6 集束イオンビーム装置(FIB)による加工。a;加工前。b;aの黒線部分で加工した縦断面

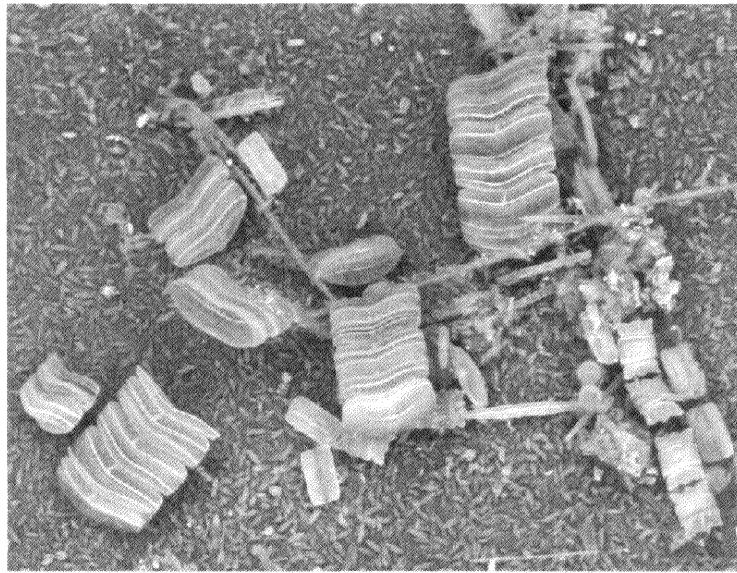


図7 アワビ養殖の浪板上に着生する珪藻

引用文献

- Cox, E. J. 1987. *Placoneis* Mereschkowsky : the re-evaluation of a diatom genus originally characterized by its chloroplast type. *Diatom Reserch.* 2 : 145-157.
- Fourtanier, E. & Kociolek, J. P. 1999. Catalogue of the diatom genera. *Diatom Reserch.* 14 : 1-190.
- Hendey, N. I. 1964. An introductory account of the small algae of British costal water. Part V. Bacillariophyceae (Diatoms). 317pp. 45pls. Fisheries Investigation ser IV. HMSO, London.
- Field, C. B., Behrenfeld, M. J., Randerson, J. T. & Falkowski, P. 1998. Primary production of the biosphere : integrating terrestrial and oceanic components. *Science.* 281 : 237-240.
- 出井雅彦, 真山茂樹. 1997. 珪藻綱 Bacillariophyceae. 151-179. 千原光雄(編) 藻類多様性の生物学, 内田老鶴圃, 東京.
- Mann, D. G. 1989. The diatom genus *Sellaphora* : separation from *Navicula*. *British Phycological Journal.* 24 : 1-20.
- Mann, D. G. 1999. The species concept in diatoms. *Phycologia* 38 : 437-495.
- 南雲保, 出井雅彦, 長田敬五. 1999. 珪藻の世界-観察と分類. 58pp. 国立科学博物館, 東京.
- Nagumo, N. and Kobayasi, H. 1990a. Three *Amphora* species of the section *Halamphora* found in Japanese brackish waters. 149-160. In : Proceedings of the 10th symposium on recent and fossil diatoms. Otto Koeltz Konigstein.
- Nagumo, T. and Kobayasi, H. 1990b. The bleaching method for gently loosening and cleaning a single frustule. *Diatom* 5 : 45-50.
- 長田敬五, 南雲保. 2001. 珪藻研究入門. 日本歯科大学紀要一般教育系. 30号 : 131-141.
- Round, F. E., Crawford, R. M. & Mann, D. G. 1990. The diatoms. 747pp. Cambridge Univ. Press, Cambridge.
- Simonsen, R. 1979. The diatom system : Ideas on phylogeny. *Bacillaria* 2 : 9-71.
- 鈴木秀和, 大石喜久, 檀紫, 南雲保. 集束イオンビーム(FIB)による微細藻類断面の観察. 藻類. 49 : 7-10.
- Suzuki, H., T. Nagumo and J. Tanaka. 2001a. Morphology of the marine epiphytic diatom *Cocconeis heteroidea* (Bacillariophyceae). *Phycological Research* 49 : 129-136.
- Suzuki, H., T. Nagumo and J. Tanaka. 2001b. A new marine diatom, *Cocconeis shikimensis* sp. nov. (Bacillariophyceae) from Japan. *Phycological Research* 49 : 137-144.
- Werner, D. 1977. Introduction with a note on taxonomy. 1-17. In Werner, D. (ed.) The biology of diatoms. Blackwell Scientific Pub., Oxford.

ラウンジ



水道と植物プランクトンの話

Conversation with water supply and microscopic phytoplankton

建部 修*

高度経済成長期以後、日本各地の湖沼や河川で水質汚濁が進み、窒素やリン等の栄養塩類が増加することによって水中の植物プランクトンが繁殖し、いわゆる富栄養化が進行しました。その結果として様々な生物障害が起きることはすでに知られています。

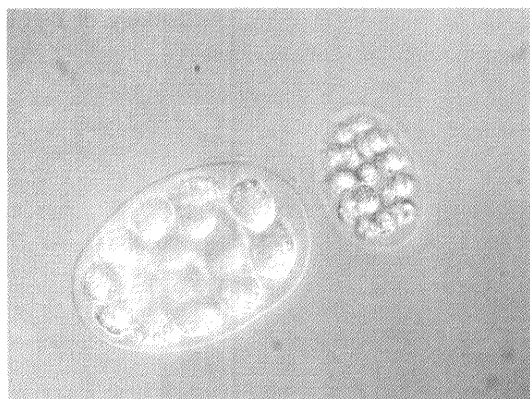
水道法第4条(昭和32年法律第177号)では水道により供給される水が備えられなければならない要件が述べられており、平成4年に改正された水質基準に関する省令(平成4年12月21日厚生省令第69号)では、46項目について適合しなければならない基準及び検査方法が定められています。その46項目を水質基準項目といいますが、「健康に関連する項目」と「水道水が有すべき性状に関連する項目」に分かれます。水道事業者では、この水質基準を遵守するために全力投球しているわけですが、先に述べましたように植物プランクトンが大繁殖すると、様々な生物障害が起きて、水質基準達成のために特別な苦勞を強いられるわけです。

生物障害には、1)色をつける、2)異臭味をつける、3)細胞が漏出する、4)ろ過池が詰まってろ過水が採れなくなる等のタイプがあります。なかでも問題なのは、水道水に異臭味がつくことです。水質基準46項目のなかにある「味」と「臭気」は異常でないことと規定されています。

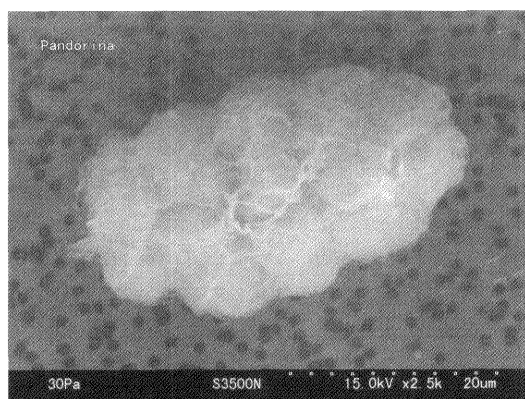
植物プランクトンが産生する臭気物質には、「かび臭」、「生ぐさ臭」、「藻臭・青草臭」等があります。かび臭関連物質として、ジオスミンおよび2メチルイソボルネオールがあり、何種類かの藍藻類と放線菌が該当します。生ぐさ臭に関しては2,4ヘプタジエナル、2,4デカジエナルが指標物質として黄金藻類の*Uroglena*(ウログレナ)、

Dinobryon(ジノブリオン)、*Synura*(シスラ)等が原因生物であることがわかっています。また、藻臭・青草臭関連では広く植物プランクトンが関与しています。写真で示した*Pandorina morum*(パンドリナ・モルム)という緑藻類も、細胞直径が6~12μmの細胞が8~16個、まれに32個集まって寒天質の膜のなかに大きな群体を形成する植物プランクトンです。各細胞が互いに押し合い重なり合って密集するので「桑の実」に似た卵形ないし球形の群体になり、クワノミモという和名が付いています。信州生まれの私は養蚕に欠かせない「桑の木」は馴染みが深く、甘酸っぱい桑の実を、口の周りを真っ黒にして食べ歩いたものです。ですから、顕微鏡の世界でこの*Pandorina morum*を観察していると、何となく親近感を覚えてしまいます。しかし、この藻類は水道界では案外嫌われ者で、貯水池が大雨で濁った後などに大繁殖することがあり、水面が緑色に変色して生ぐさい臭気を発するようになります。細胞の1つ1つに2本の鞭毛があり、細胞が集めた群体はゴムマリのようには回転運動をしながら泳ぎ廻ります。群体は透明の寒天質皮膜で覆われており、低真空SEMで観察するとあたかも羽衣を纏っているようです。消毒用の塩素にも比較的強いので、浄水場のろ過池を通り抜けることもあります。というわけで、植物プランクトン由来も含めて臭気物質を取り除くために水道施設では活性炭を注入して対処しますが、大規模浄水場では年に数千万円も余分な経費がかかります。

今回は臭気による障害例だけを述べましたが、最近では水道における生物障害対策として、湖沼内に特殊な曝気装置を沈めて、エアリフト作用による湖水の強制循環を行い、

*Pandorina morum* (クワノミモ)

写真左：光学顕微鏡、微分干渉装置による観察



写真右：S-3500Nによる低真空SEM観察

* 神奈川県内広域水道企業団浄水部水質試験所 水質第一係長

水質浄化と共に臭気障害の主要原因プランクトンである藍藻類の繁殖を抑さえる等の効果を上げています。しかし、人工的に湖水の性状を変えることによって植物プランクトンのような水中微小生物の生態系にも少なからず影響を及ぼしていることも事実です。人類も生物界の1構成種ですか

ら、十分な認識のもとに自然との調和を考え、必要最低限のアクションに留めるように心掛ける必要があります。これは自然に手を入れる場合のすべてについて共通です。たかが顕微鏡的なプランクトンと言わずに、立派な生物界の1構成員として謙虚にお付き合いしたいものです。

Topics

第62回分析化学討論会

2001年6月1日と2日の2日間に亘り第62回分析化学討論会が信州大学にて開催された。参加登録者は713名で

あり、口頭発表258件、ポスター発表116件、合計374件の発表が行われた。“自然と健康を守る分析化学”などがテーマに挙げられていたことから、環境関連の発表が多くみられた。元素分析関連の発表はICP質量分析装置を用いた研究が年々増加してきている。その中で、分子イオンのスペクトル干渉の抑制に関する発表は聴講者の多くに興味を与える内容であった。日立では

P-5000にて分子イオンArOの抑制を行い⁵⁶Feの高感度分析を行う方法とP-6000による陸水中の微量金属の測定について発表した。これに様々な方から活発なご意見・ご質問を頂いた。また、今年の8月には早稲田大学にて2001国際分析科学会議（ICAS2001）の開催が予定され、その場でもP-5000関連の発表を行う。（坂元秀之 記）

新製品紹介

インテグレーション システム SEMEDXⅢ

近年、顧客先ではSEMとEDXとを同時に併行して使うことが多くなってきた。従来は、機能的に単に独立したものを組合せていたため操作が煩雑になり、また、それぞれの装置に応じたノウハウの蓄積が必要であった。そこで、日立製作所、堀場製作所、オックスフォード・インスツルメンツ社の3社はそれぞれの得意技術を持ち寄り、「誰もが簡単な操作で、素早く鮮明なSEM像観察と正確なEDX分析ができる」SEM+EDX一体型の分析システムSEMEDXⅢ（図1）を発売した。

主な仕様

- (1) コンパクト設計
SEMとEDXを専用ラックに収納してコンパクトにまとめた。
- (2) インテグレーションによる簡易操作
SEM側から各種分析（点・面分析、多点分析など）が実行できる。
- (3) 一体操作
Hi-Mouse、オートカラム機能や

Ethernet通信により、相互のコントロールや観察・分析条件の読取りが可能。

(4) 分析レシピ機能

SEM条件とEDX条件を一括してひとつのレシピに保存・呼出しができる。

（浅野一弥・伊東祐博記）

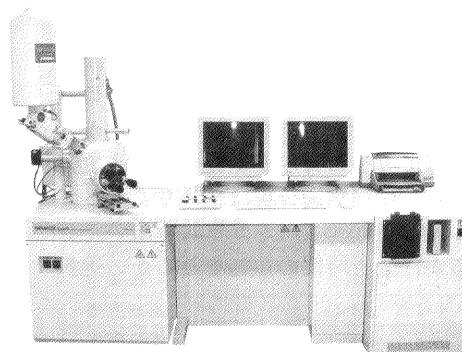


図1 SEMEDXⅢの外観

解 説

シリカ連続体を用いたHPLCカラムークロモリス

A silica-monolithic HPLC column (Chromolith™)

千田俊二* 田中信男**

1. はじめに

ヒトゲノムの解読終了をきっかけに、製薬企業の多くはいわゆる「ゲノム創薬」の概念に基づいた医薬品開発に着手し始めている。「ゲノム創薬」では、疾病に関連した遺伝子およびタンパク質の解明を通じて、その疾病に対する根本的な治療薬が開発されるだけでなく、個人の遺伝情報に基づいて、最小の副作用で最大の治療効果が上げられるような、いわゆる「テーラーメイド医薬品」の実現を目指している。このような流れの中で、製薬企業でも従来の少品種大量生産から多品種少量生産が求められるようになり、必然的に今まで以上に医薬品の研究開発・品質管理のスピードアップが望まれている。そのためには新薬もしくは新薬候補化合物のアッセイ・合成および分析の迅速化が必須であり、実際にそのために新しい概念に基づいた種々の技術が用いられ始めている。例えば、アッセイに関してはハイスループットスクリーニング(HTS)が候補化合物の迅速な絞り込みに有効な手段となりつつあり、また、多数の化合物を短期間で合成するにはコンビナトリアルケミストリーの手法が役買っている。これらと同時に、化合物分析における迅速化の要求もますます増大している。

現在、医薬品やその候補化合物の物理化学的もしくは薬理学的分析、さらには品質管理に最も頻繁に用いられている手段の一つに高速液体クロマトグラフィー(HPLC)がある。HPLCは高い分離・分析性能、再現性、選択性を有しており、医薬品、農薬、食品添加物といった低分子有機化合物をはじめ、ペプチド、タンパク質、核酸といった生体関連物質の分析にも数多く適用されており、化合物分析の迅速化はHPLC分析の高速化によってもたらされるといっても過言ではない。

しかしながら、HPLC分析の高速化に従来のシリカゲル粒子を高密度充填したカラムを用いる限り、根本的な問題が存在する。一般にHPLCにおける分析の高速化は、移動相の最適化を前提として、流速を増加するか、もしくはカラム長さを短くすることで可能となる。しかし前者ではカラム背圧の増加に伴う装置的な問題と理論段数の低下という分析の質的問題が発生する。後者では必然的に理論段数が低下する。これを解決するためにはこれまでのアプローチと同様に、さらにより細かい充填剤を利用することが考えられるが、それによってカラム背圧が上昇するため流速を下げざるを得なくなり、結局高速分析は望めなくなってしまう。極言すれば、粒子充填型HPLCカラムを用いた分析では分離効率をとるか、分析時間の短縮をとるかの選択



になってしまい、高性能を維持しつつ高速化を図ることは常にジレンマを伴う作業であった。この問題を根本的に解決できる可能性を持った充填剤がシリカ連続体である。

2. シリカ連続体

HPLCの高性能化と高速化を同時に実現させるには、細かい充填剤を用いることによる小さなカラム骨格と、圧力を低下させるための大きな流路が共存することが必要不可欠である。近年、中西、水口らは、連続的で周期的な網目構造を持つシリカ連続体を作成することに成功した¹⁾²⁾。このシリカ連続体はシリカ粒子充填型カラムにおける充填粒子に相当するシリカ骨格と粒子間隙に相当する貫通孔(マクロポアもしくはスルーポア)を持っている。重要な点はこの骨格のサイズが μm オーダーであり、従来の粒子充填型カラムの微粒子と同程度の小ささであるにもかかわらず、貫通孔すなわち流路のサイズは同程度の性能を有する粒子充填型カラムの流路よりはるかに大きいことにある。すなわち、このシリカ連続体を用いることによって、高性能でかつ高速分析が可能なHPLCカラムの作成が初めて実現されることになったのである³⁾⁴⁾。

図1は実際のシリカ連続体の走査型電子顕微鏡写真であるが、 μm オーダーのシリカ骨格と同じサイズの流路が周期的に存在していることが分かる。さらにこの骨格中に10nmオーダーのメゾポアと呼ばれる細かい孔が開いており、これが充填剤粒子の細孔に相当している。シリカ連続体を作成する時には、このシリカ骨格と2種類の孔(マクロポア及びメゾポア)の大きさはそれぞれ独立して制御することが可能であり、HPLCカラムとして最適なサイズに調整することができる。このようなシリカ連続体をピーク(PEEK、ポリエーテルエーテルケトン)樹脂で被覆・成型し、HPLCカラムとして開発されたものがクロモリス(Chromolith™)であり(図2)、ドイツメルク社が製造・販売している。クロモリスのスペシフィケーションを表1に示す。

3. クロモリス(Chromolith™)とその特性

クロモリスの特性のひとつはそのカラム背圧が著しく低

* メルク・ジャパン株式会社, Ph. D.
** 京都工芸繊維大学 教授, 理学博士

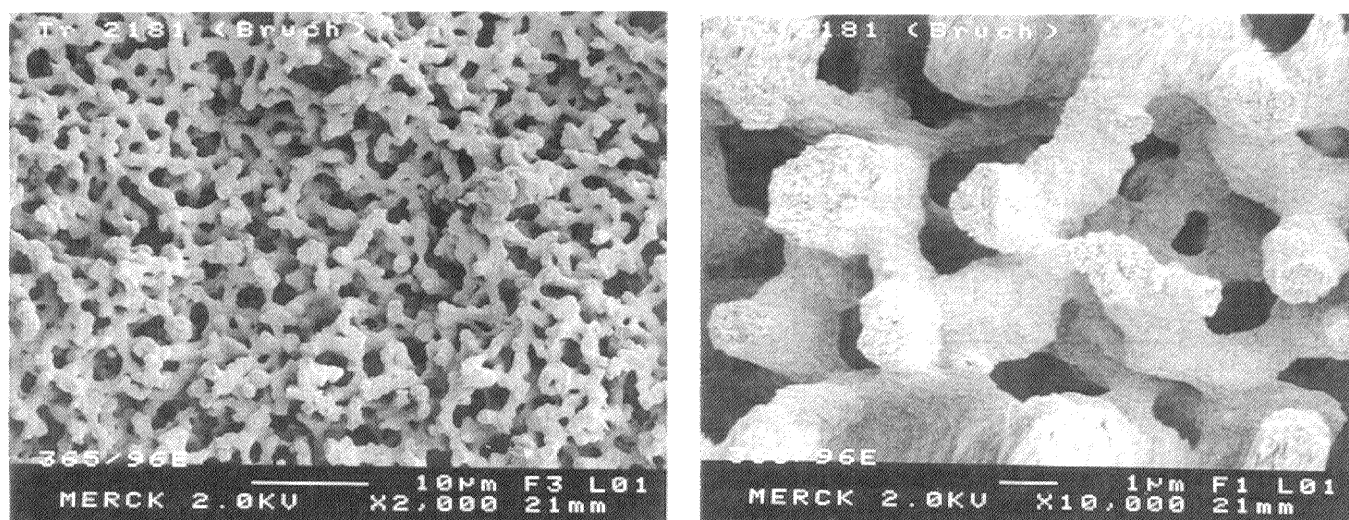


図1 シリカ連続体の走査型電子顕微鏡写真

いことにある。図3に示したように、従来の粒子充填型分析用カラムでよく用いられている流速(毎分1 ml前後)を長さ100mm・内径4.6mmのクロモリスに適用した場合、そのカラム背圧は60%アセトニトリル中でわずか10bar程度にしかない。このことは、例えば毎分9 mlという、今まで考えられなかった高流速でのHPLC分析がクロモリスを使用することで可能になることを意味している。実際にその流速でのカラム自体の背圧は100bar以下にとどまっている。もうひとつの特性は、流速の増加に伴う分離能の低下が小さいことにある。図4に示したように、従来の粒子充填型HPLCカラムでは、流速(正確には線速度)の増加に伴って、理論段高さが急激に増大する(つまり、理論段数が著しく減少する)が、クロモリスでは流速を増大することによる理論段数の減少が充分抑制されている。クロモリスの持つこれらの特性によって、従来の粒子充填型HPLCカラムでは不可能であった高流速での高分離能分析が現実なものとなった。図5にその一例を示す。5種類の β -ブロッカーの分析において、毎分1 mlの流速では約5分かかるが、毎分9 mlの高流速を用いることでわずか30秒程度で分析を完了し、しかも5成分の分離は充分保たれている。

クロモリスではさらには流速グラジエントというテクニックが使用できる。従来のグラジエントが溶媒の濃度を経時的に変化させることで分析時間の短縮と分離効率の上昇を図ったもの(溶媒グラジエント)であるのに対して、流速

グラジエントは溶媒の流速を経時的に上昇させて、保持時間の長い物質の溶出を早め、結果として分析時間の短縮を行なうテクニックである。図6では途中で流速を毎分5 mlに上昇させることで後半のピークの溶出を早めている。

クロモリスを使用する利点は高分離効率と高速性を両立させた分析にあるだけでなく、超高性能カラムを作成することにある。つまりクロモリスを何本か直列に接続して使用する方法である。クロモリスは非常に低いカラム背圧を持つので、仮に10本直結してもHPLCポンプやカラム自体の限界圧以下に保ったまま分析でき、同時に非常に高い理論段数が得られる。これによってこれまで困難であった化合物が分離できる可能性が出てきた。実際に長さ10cmのクロモリスを5本直結した例では、その直結カラムの理論段数は41,000にも達し、その時のカラム背圧は60%アセトニトリル中、毎分3 mlという流速で150barである。

4. クロモリスの今後の展開

クロモリスはまだ市販されて間もないこともあって応用例はまだそれほど多くはないが、少しずつ発表されつつある。例えば、Dearらはクロモリスを用いたLC/MSでチトクロームP450アイソザイムによる薬物代謝物の分析を行っており⁵⁾、Plumbらは血清中の薬物の直接分析にクロモリスを用いている⁶⁾。血清や尿といった「汚い」生体由来試料



図2 クロモリス (Chromolith™) の外観

表1 クロモリス(Chromolith™)のスペシフィケーション

シリカタイプ	高純度シリカゲル (全金属含有量<10ppm)
マクロポアのサイズ	2 μ m
メゾポアのサイズ	13 nm
メゾポアの全容量	1 ml/g
比表面積	300m ² /g
空隙率	>81%
表面修飾	C-18、エンドキャップ
表面炭素含量	17%
使用可能pH	pH2.0-7.5
耐圧	200 bar

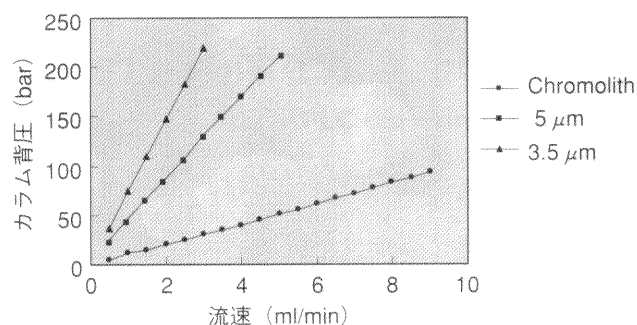


図3 クロモリスおよび粒子充填型カラム(粒径5および3.5 μ m)における背圧の比較(長さ100mm・内径4.6mmのカラム, 移動相として, 60%アセトニトリルを使用)

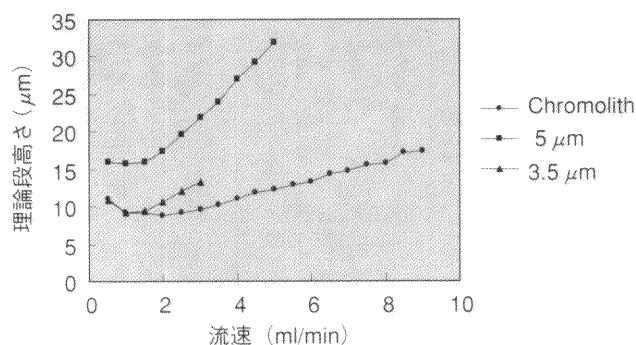


図4 クロモリスおよび粒子充填型カラム(粒径5および3.5 μ m)における流速と理論段高さの関係(長さ100mm・内径4.6mmのカラム, 移動相として, 60%アセトニトリルを使用し, アントラセンを用いて測定)

中の成分分析を行う際には, カラムの目詰まりによって背圧が増加したり, カラムの劣化が激しいという問題が生じる。クロモリスは低背圧に加えて, シリカ連続体という物理的耐久性が高く, また逆洗が可能な充填剤を使用していることで, これらの問題点を最小限に抑えることが可能である。したがって, 生体試料を直接分析するのに適していると考えられ, このような応用例が今後増えてくると思われる。また, ほとんど圧がかからないことから, 粒子充填型カラムのプレカラムとして, もしくはオンラインの前処理用カラムとして, 応用できるのではないかと考えるも出始めている。さらに, 現在市販されているものはC18で

修飾された, 内径4.6mmの分析用カラムだけであり, その他のサイズおよび化学修飾を施したカラムが求められている。特に分取用カラムがコンビナトリアルケミストリーの分野に, また内径1-2mmの(セミ)マイクロカラムがLC/MSに必須であり, これらの開発が急がれている。

クロモリスはまだ「発展途上」のカラムであることは否めず, またこのタイプのカラムにも圧力-性能-分離時間の制約が伴うことは当然であるが, クロモリスが従来の粒子充填型HPLCカラムとは一線を画した革新的なカラムであることは確かである。今後いろいろな応用例の増加と共にますますこのクロモリスの可能性が広がっていくこ

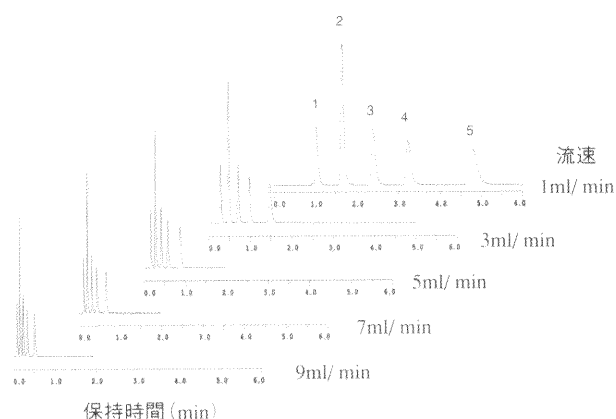


図5 5種類の β -ブロッカーの高流速分析(長さ100mm・内径4.6mmのカラム, 移動相として, 20%アセトニトリル-0.1%TFAを使用し, 試料はそれぞれ1)Atenolol, 2)Pindolol, 3)Metoprolol, 4)Celiprolol, 5)Bisoprolol)

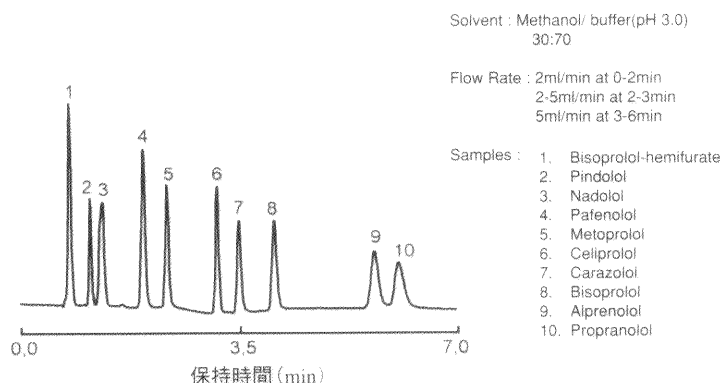


図6 流速グラジエントを用いた β -ブロッカーの分析

とを期待している。

参考文献

- 1) K. Nakanishi, and N. Soga, J. Am. Ceram. Soc., 74 (1991)2518.
- 2) H. Minakuchi, K. Nakanishi, N. Soga, N. Ishizuka, and N. Tanaka, Anal. Chem., 68 (1996)3498.

- 3) 田中信男, Chromatography, 20 (1999) 1.
- 4) 水口博義, ふんせき, 1999年7号.
- 5) G. Dear, R. Plumb, and D. Mallett, Rapid Commun. Mass Spectrom., 15 (2001)152.
- 6) R. Plumb, G. Dear, D. Mallett, and J. Ayrton, Rapid Commun. Mass Spectrom., 15 (2001)986.

著者略歴

千田俊二 (SENDA, Shunji)

1959年3月22日生まれ

1982年3月 東京農工大学農学部農芸化学科卒業

1984年3月 東京農工大学大学院農学研究科農芸化学専攻修士課程修了

1999年5月 デューク大学大学院細胞生物学科 博士号取得 (Ph.D.)

1999-2000年 新エネルギー・産業技術総合開発機構 研究員

2000年5月 メルク・ジャパン株式会社入社 現在に至る

田中信男 (TANAKA, Nobuo)

1945年11月30日生まれ

1968年3月 京都大学理学部化学科卒業

1973年3月 京都大学大学院理学研究科化学専攻博士課程修了 (理学博士)

1973-1979年 ペンシルバニア大学化学科博士研究員, ワシントン大学化学科博士研究員, ノースイースタン大学化学分析・応用・法科学研究所博士研究員

1979年4月 京都工芸繊維大学繊維学部助手

1991年4月 同教授 現在に至る

新製品紹介

クライアント&サーバシステムに対応したクロマトデータステーション「EZChrom Elite™」の紹介

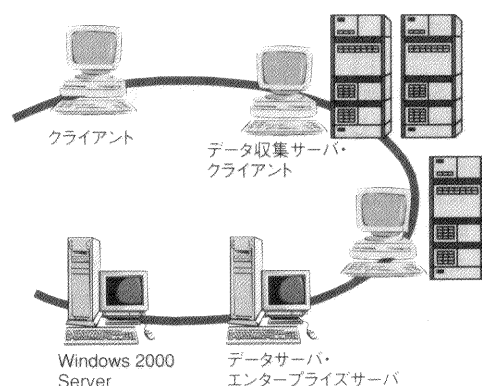
液体クロマトグラフ (LC) は分離・定量手段として必須のものとなっており, 製薬・化学分野において開発から品質管理にわたり様々な分野で用いられている。さらに, 品質管理への規制の強化からその使用台数は年々増加している。これら多くの液体クロマトグラフの管理を容易とするため, 測定条件やデータを集中して管理できるクライアント&サーバシステムに対応したデータステーションが求められている。

「EZChrom Elite™」はこの要求を満たすとともに, 製薬分野で求められている電子記録に対するFDAの規制「21 CFR Part 11」に容易に対応することが可能なデータステーションである。

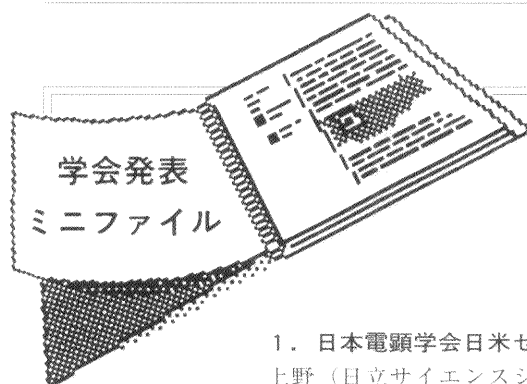
EZChrom Elite™の主な特長は以下のとおりである。

・ 7000シリーズの主なユニットを制御

- ・ 他社検出器のアナログデータ収集可能
- ・ フレキシブルなレポートレイアウト作成機能
- ・ 分析・解析条件のオーデットトレイルを自動作成
- ・ システム適合性確認機能
- ・ クライアント&サーバシステムに対応 (山田宣昭記)



EZChrom Elite™クライアント&サーバシステムの構成例



山田満彦 望月康平
(株式会社日立サイエンスシステムズ)

1. 日本電顕学会日米セミナー (2000・11/9, 京都)

上野 (日立サイエンスシステムズ), 他: Development of double tilt bulk specimen heating holder

2. MRS 2001 Fall meeting (2000・11/30, Boston)

上野 (日立サイエンスシステムズ), 他: Site Specific TEM specimen preparation using an FIB/STEM system.

電子顕微鏡による電子デバイス故障解析技術において、同一箇所から平面試料と断面試料を作製し、故障部を三次元的に解析する技術を開発した。試料作製にはFB-2000A形FIB加工観察装置を用い、試料の摘出にはFIBマイクロサンプリング法を用いた。また、故障箇所の探索と薄膜化に際してはFIB/STEMシステムを利用した。本法の開発により約0.1 μ mの位置精度での試料作製と、原子レベルの超微細構造解析が可能になった。図1は、本方法により薄膜試料を作製しHF-2200で観察したSiデバイスのトレンチ底部に発生した結晶欠陥の断面TEM観察例である。欠陥はSi (111)面に平行の基板内部に向かって成長している。

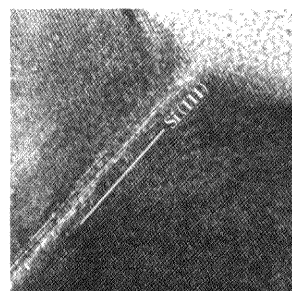


図1 トレンチ底部に発生した結晶欠陥の観察例

3. FIB 2001 meeting (2001・3/30, Oxford)

上野 (日立サイエンスシステムズ), 他: Site specific TEM specimen preparation using an FIB/STEM system.

4. 日本電顕学会第57回学術講演会 (2001・5/10~12, 福岡)

上野 (日立サイエンスシステムズ), 他: 2軸傾斜バルク試料加熱装置の温度特性電子材料への応用検討
石谷 (日立・計測器グループ) : FIBの特徴と加工技術

西村 (日立サイエンスシステムズ), 他: 低真空SEMによる微生物試料の観察

多持 (日立サイエンスシステムズ), 他: 信号検出特性の像コントラストに及ぼす影響

長沖 (日立・計測器グループ), 他: 透過電子顕微鏡H-7600の新機能開発

赤津 (日立・計測器グループ), 他: インレンズ形超高分解能走査電子顕微鏡S-5200形の機能と特長

岩田 (日立サイエンスシステムズ), 他: FIB機能付走査電子顕微鏡の開発

黒田 (日立サイエンスシステムズ), 他: FIBマイクロサンプリング法の不良箇所三次元構造解析への応用

中澤 (日立サイエンスシステムズ), 他: H-7600自動粒子検索システムとその応用

坂上 (日立サイエンスシステムズ), 他: 低加速電圧STEM像の生物組織観察への応用

鈴木 (日立サイエンスシステムズ), 他: SEMを用いた寸法計測における不確かさの見積もり

渡邊 (日立サイエンスシステムズ), 他: 低加速STEM像による半導体デバイス観察の試み

S-5200形超高分解能SEMに透過走査電子 (STEM) 像観察装置を装着し、加速電圧30kV程度の低加速STEM法により半導体デバイスの内部構造観察を試みた。集束イオンビーム加工観察装置 (FIB) を用いて厚さ約70nmに薄片化したメモリデバイス断面において、図2に示すようにゲート部の微細形状、多結晶シリコンの結晶粒、ゲート酸化膜が優れたコントラストで観察された。

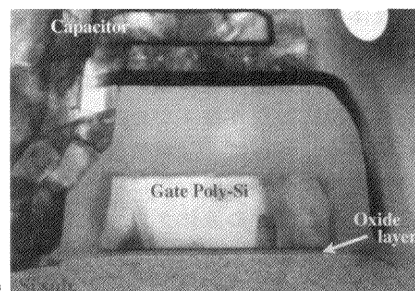
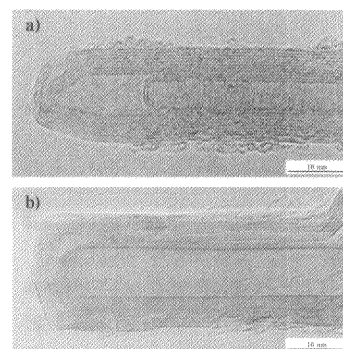


図2 メモリデバイスの断面STEM像 (加速電圧: 30kV)

矢口（日立サイエンスシステムズ），他：カーボンナノチューブの観察条件の検討

透過電子顕微鏡観察はカーボンナノチューブの構造評価手段として期待されているが、図3a)に示すように電子線損傷やナノチューブ表面に付着した残渣（ナノバブル）などで観察が困難なことがある。報告者らは、カーボンナノチューブを高温に保持することにより図3b)のように安定な観察が可能になることを見出し、日立ダイレクトヒーティングホルダを用いた観察手法を確立した。

図3 マルチウォールカーボンナノチューブの観察例
a) 試料温度：室温，b) 試料温度600℃



5. 日本電顕学会関東支部第25回講演会（2001・3/17，東京）

上野（日立サイエンスシステムズ），他：FIBピンポイント加工の現状

6. 第6回LCテクノプラザ（2001・2/1～2，東京理科大学）

甲田（日立サイエンスシステムズ），他：過ギ酸酸化法を用いるアミノ酸分析の問題

清水（日立サイエンスシステムズ），他：農薬分析における3Dデコンボリューションの適用

環境分野で頻繁に測定される農薬2種類について、ピークが重なった状態から各成分を3Dデコンボリューションにより分割し、各々のピークのスペクトルから定性が可能であることを確認した。図4

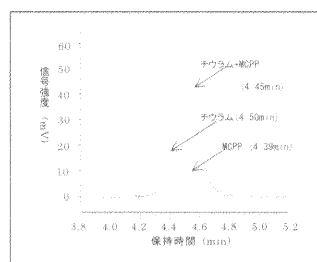


図4 230nmにおけるクロマトグラムと3Dデコンボリューション結果

7. 第62回分析化学討論会（2001・6/1～3，信州大学）

白崎（日立サイエンスシステムズ），他：MIP-MSによる陸水中の微量金属分析

坂元（日立サイエンスシステムズ），他：ICP-3DQMSにおける干渉因子イオン開裂方法の検討

プラズマイオン源質量分析装置で、測定対象成分に干渉するイオンは、プラズマガスや試料マトリクスに起因する。Feの測定を例に、マトリクス起因の干渉除去に、MS/MS法及び3DQMS内でのH2との反応を利用した方法を適用し、表に示したように良好な結果を得た。

表 Feの保証値，マトリクス（Ca）濃度と分析値（H2との反応による分析法）

	保証値 / $\mu\text{g/L}$	Ca濃度 / mg/L
JAC0031	6.9 ± 0.5	12.5
NIST 1643d	91.2 ± 3.9	31.04
SLRS-3	103 ± 5	6.2

	分析値 / $\mu\text{g/L}$
JAC0031	6.96 ± 0.2
NIST 1643d	89.17 ± 1.47
SLRS-3	102.60 ± 1.05

8. Separation Sciences 2001（2001・6/14～16，東京都立大学）

谷川（日立・計測器グループ）：環境分析における3DQMSの有効性

吉江（日立サイエンスシステムズ），他：GC/3DQMSによるMS/MSの環境分析への適用

夾雑物の多い系からの特定成分の大量分析手法として、MS/MSが有効である。廃油中のPCBsの分析を行い、良好な検量線の作成と定量、定性が可能であることを示した。図5

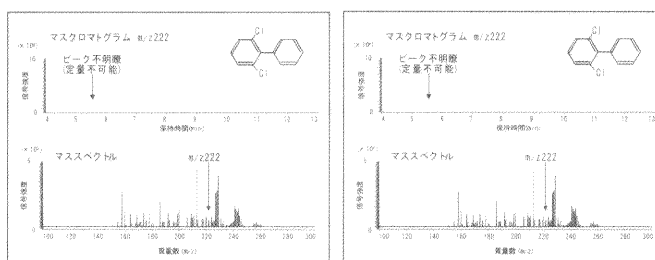


図5 廃油中のPCBsのMS/MS測定例

9. 研究論文，学術報告

上野（日立サイエンスシステムズ）：「透過電子顕微鏡の基本性能と材料への応用」材料科学，Vol. 37，No. 3（2000）

石川（日立サイエンスシステムズ）：「液体クロマトグラフィー・ソニックスプレー分析化学，Vol. 50，（2001）イオン化質量分析法による河川水中のダイムロンの分析」

新製品紹介

UV Solutions用 ナビゲーション プログラムの紹介

定型化された分析手順をユーザが簡単に自動化できるUV Solutions用ナビゲーションプログラムをこのたび発売した。

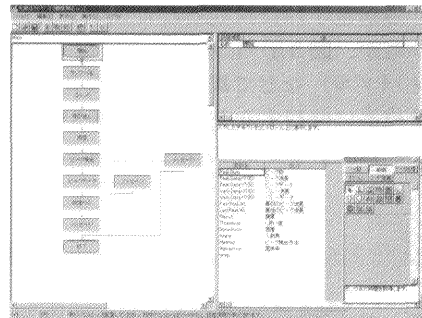
本プログラムは、従来の分析機器用

簡易言語プログラム (Hi-Softy) を発展させたものである。フローチャートを記入するように操作手順を示すボタンを画面上に配置することで、測定やデータ処理の自動化を可能にするものである。

主な特長は (1) 測定条件設定、測定、結果の保存、演算処理、結果印字までの操作手順を自由に構成可能、(2) 保存されたデータファイルを読み出して計算可能、(3) プログラム中に判定を含む計算式を組み込み可能なことである。これにより測定、データ処理、良品・不良品判定の手順を主とする、品質管理のルーチン業務の省力化に貢献

できる。

(江島佳定記)



ナビゲーションプログラム

新会社発足のお知らせ

株式会社日立製作所の計測器グループ、半導体製造装置グループと日製産業株式会社は2001年10月1日をもって事業統合し、新社名『株式会社日立ハイテクノロジーズ』としてスタートすることとなりました。また同時に計測器グループの医用検体検査装置の国内外営業の一本化も図り、従来株式会社日立メディコで行ってありました営業業務も新会社に移管されます。これまで日立計測器

事業部の時代から日立・計測器グループと変遷しながら、日製産業ともども非常に長い間、たいへん多くの皆様にお世話になってまいりました。その皆様のご厚情に対しまして、本紙面を借りまして心より御礼申し上げます。

今後新会社におきましては半導体製造装置やバイオ関連製品などのナノテクノロジー分野において、製造・販売・サービスまでの一体運営

とすることにより、市場競争力の強化向上を図り、同分野での世界トップ企業をめざしてまいります。新会社に対しましても、引き続き皆様のご支援を賜りたく、宜しくお願い申し上げます。

なお本誌に関しましては今後も継続して発刊させていただきます。内容等につきましてご意見ご希望等ございましたら編集委員会までお寄せいただきますようお願い致します。

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) 25-4811
関西支店 電話 大阪 (06) 4807-2511

本社 電話 東京 (03) 3504-7211
横浜支店 電話 横浜 (045) 451-5151
北陸営業所 電話 金沢 (076) 263-3480
中部支店 電話 名古屋 (052) 583-5841
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

〈編集後記〉

日本の経済状況に一向光が見えない中、イチローや佐々木のMLBにおける大活躍は連日マスコミで報道されています。まさに目を見張るものがあります。日本人として、少しばかり誇りを感じる事が出来る瞬間です。イチローらの活躍を聞きながら、編集を進めた本SI-NEWSの巻数は44となりました。小誌も44年の歴史を経てきたことになります。この間、電子顕微鏡、理化学機器はユーザのご叱責やご支援により、発展を遂げてまいりました。日製産業株式会社と株式会社日立製作所計測器グループが肩を組み、小誌をユーザとメーカーとを結びつけるささやかな手段として、皆様のお手元にお届けしてまいりました。今回、両社は2001年10月1日をもって事業統合して新会社日立ハイテクノロジーズとしてスタートを切ることになりました。小誌も模様替えの上継承される予定です。ここに、皆様の長年のご愛顧に

編集者一同御礼申し上げます。また今後も変わらぬご支援を賜りますようお願い申し上げます。

(加藤義昭 記)

■インターネットホームページ

○(株)日立製作所計測器グループ
http://www.hitachi.co.jp/Div/keisokuki

○日製産業(株)
http://www.nisseisg.co.jp

■本ニュースに関するお問い合わせは、下記、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)日立サイエンスシステムズ
テクノリサーチセンタ

〒312-0033 茨城県ひたちなか市市毛882番地
電話 (029) 273-2111(代)

○日製産業(株)

科学システム販売促進部

〒105-8717 東京都港区西新橋1-24-14
電話 (03) 3504-7811(ダイヤルイン)
FAX (03) 3504-7756

HITACHI
SCIENTIFIC INSTRUMENT NEWS
SEPTEMBER, 2001 VOL. 44 No. 1

発行 平成13年9月3日

発行人 横川 信幸

編集人 加藤 義昭

発行 株式会社日立製作所計測器グループ
〒100-8220

東京都千代田区丸の内1-5-1(新丸ビル)

電話 (03) 3214-3122(直通)

印刷 日立インターメディアックス株式会社