

巻頭言

微生物が変える人間社会 — 解決困難な医療問題にせまる, XDRTBと 放線菌二次代謝産物CPZen45

Human society which has been changed by microbiology
— an approach to the medical problem being difficult to solve ; XDRTB
and CPZen45 by the second metabolic product of Streptomyces.



財団法人 微生物化学研究会 理事長
医学博士

野々村 禎昭

微生物は地上や、海中に存在し人間社会に影響を及ぼしている。病原菌の出現はしばしば歴史を変えるような影響を与えた。中世の度重なるペストの流行は欧州人の三分の一を殺し、各国の発展、衰退に大きな影を落とした。一方我々人間もこれら微生物を利用して人間社会を変えてきている。人類史の早い時期に酵母によるアルコール発酵の酒類の生産は微生物が人類とともに歩んできた好例である。では現代では実際にどのように微生物を我々は利用しているのであろうか。微生物は体内で種々の代謝産物を作り体外に出している。これを二次代謝産物と呼ぶが、この産物の中に我々の疾病との戦いを助けてくれる抗生物質が含まれていることを初めて示したのが1928年アオカビ(真菌類)からのフレミングによるペニシリンの発見であった。10年後のフローリー、チェインに依る再発見で初めてペニシリンは使用可能となった。1942年のワックスマンの放線菌からの抗結核薬ストレプトマイシンの

導入で抗生物質の時代といわれる怒涛のような開発によってウイルス疾患を除く殆どの感染症が解決したかと思われた。

このような人間の試みに菌類も抵抗する。ある抗生物質の作用機序に関係する菌の遺伝子に変異が生じ、感受性が失われる耐性菌の登場である。とくに抗生物質の乱用は耐性菌の出現を加速してしまった。ここで我々の財団が現在関係している一つの例をお話しよう。

結核は第二次世界大戦前は最も恐ろしい病気の一つであった。私自身山梨の田舎へ疎開している時、同級生のお姉さんが結核だということで、その家の前を通るとお姉さんがよく家の前にでていた。子供心にも美しい人だなあとと思っていたが頬の色が透き通るように白く、これが結核の印だと教えられそばへ寄ってはだめ、と言われていた。戦後ストレプトマイシンが我が国にも導入され、予防医学的にも日本は非常によく努

C O N T E N T S

■巻頭言

- ・微生物が変える人間社会
— 解決困難な医療問題にせまる,
XDRTBと放線菌二次代謝産物
CPZen45 野々村禎昭 ……………1

■報 文

- ・NanoLC/ESI-MS/MSを用いる
タンパク質の高感度分析
森 大/眞野成康 ……………3

- ・高分子材料におけるガスバリア性評価の
最前線 ~食品分野からディスプレイ・太陽
電池・燃料電池分野へ~ 大谷新太郎 ……9

■解 説

- ・Empower™2および日立LCドライバの紹介
山田宜昭 ……………16
- ・日立卓上顕微鏡Miniscope®+
新機能のご紹介 平島小百合 ……18
- ・新型自動滴定装置COM-1700シリーズの紹介
小滝修一 ……………22

- 学会発表ミニファイル ……………25

- 液体クロマトグラフ質量分析計
／超高速液体クロマトグラフ
アプリケーションノートミニファイル ……29

- テクニカルデータ発行ミニファイル ……30

■新製品紹介

- ・Waters® Empower™2対応
日立HPLCドライバ発売 ……………31
- ・色彩分析ソフト ……………31
- ・U-4100 ACC ラインアップの充実 ……32

力し日本でも結核は姿を消したかに思われていた。最もストレプトマイシンに対する耐性菌も登場するが我々の財団で発見されたカナマイシンがこの耐性菌を抑えカナマイシンの世界的な利用が資金をもたらし、50年前財団法人微生物化学研究会が創立された。耐性結核菌は次々と現れたが抗生物質も新たに作られ、2006年までは抗耐性菌薬によって結核菌は殆ど世界的に抑えられ、結核は過去のものである、と信じられていた。

2006年WHOによって重大な報告がなされる。東ヨーロッパ特にバルト3国を主にいかなる抗結核薬にも効かない結核菌が出現した。これを超薬剤耐性結核菌(Extensive Drug Resistant Tuberculosis, XDRTB)と言う。これは6-8剤の抗結核薬に抵抗するものであった。2007年診断規準が甘くなり、4剤に抵抗性のあるものとなって、急速に患者数が増加した。ロシア3000、インド、中国1500、が多く、東ヨーロッパ、アフリカが続く。我が国も2006年で17、現在は調査中であるが2-30の患者は完全に隔離されている。これは重大問題であり、戦前の結核が占めた位置にXDRTBはついてしまったのである。あの結核の恐怖が今一度再現しようとしている。世界中でこのXDRTBに対する戦いが始まった。

我々の研究会も多剤耐性抗結核薬を探している時、ある放線菌の二次代謝産物の中から一つ有望なものを発見、これを切断、合成付加をやっている時、たまたま非常に良い化合物が得られた(CPZen45)。丁度10剤の抗結核薬に耐性のXDRTBの菌種を維持していた関西の病院附属の研究所との共同研究で我々の化合物がXDRTBに有効であることが動物モデル実験からわかった。

さてこれからが大変である。先ず世界中で患者数が1万たらずでは市場価値は全くない。ヒトに対して薬にするためには臨床試験(治験)をしなければ成らないが、合衆国は公的には患者数0、西欧もイギリスで1(アフリカからの入国者)では多くの治験用病院を持っている欧米で治験が出来ない、とすると開発は非常に困難である。こんなに金にならないものに製薬会社は乗ってこないし政府も精神的には賛同すると言うが、真に一緒に考えてくれない。この時合衆国の3つのグループが耐性結核菌、XDRTBも含んで、それらへの新薬を創造することをめざし非営利的なチームを造っていた(NIH、イーライリリー社、イドリー社)。NIHは勿論合衆国の日本の厚生労働省の研究機関に当たるが科学研究費の総体を押えているので文部科学省の役割も担っている。イーライリリー社は大きな製薬会社で、慈善事業に熱心である。イドリー社は抗結核

薬に特化したベンチャーである。ここからの呼びかけで我々もともに歩むこととした。抗結核薬は30年前にリファンピシンが導入され、10年前にキノリン系が導入されてから(我が国ではまだ認可されていない)、その後一つも出ていない、と言う問題があり、合衆国側は多剤耐性菌でもCPZen45を使いたいと言う希望がある。一方我々はこれに反対で多剤耐性には今でも効く抗生剤があり、我々のものを治験などに使い、認可されても広く使いだすと、CPZen45に対する耐性菌が出現してしまい現在治療不可能のXDRTB患者が取り残されてしまう。先ず解決の目途のないXDRTBを対象にしてXDRTB患者を治療し、その上で他の結核患者に使うべきだと言う考えである。この辺が中々意思疎通を欠き交渉は時間がかかっている。現在回復の望みが絶たれている患者さんのことを思うと早くヒトに使えるようにしたいと思うが、電話会議一つにしても時差の問題、英語で完全にお互いの意思を伝えることの難しさを痛感している。

さる10月28日我々の研究会内で日米合同の記者会が行われ、一般紙に比較的詳しくXDRTBとCPZen45の問題が記事となった。引き続いてNewsweekがXDRTBのことを載せやっと思間的にも理解が始まった。この機会に多くの方の理解が得られ、XDRTBとの戦いへの熱い関心と御支持を頂きたい。結核菌が引き起こした超多剤耐性菌の出現と放線菌が作り出し我々の操作によるCPZen45の戦いの物語は今に至ったのである。

著者略歴

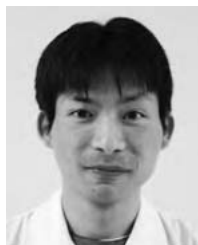
野々村 禎昭

1960年 3月	東京大学医学部医学科卒
1961年 4月	医師免許取得
1965年 3月	東京大学生物系大学院医学博士課程修了、医学博士取得
1965年 5月	東京大学医学部薬理学教室助手(江橋研究室)
1968年 9月	合衆国ロックフェラー大学院大学助手(パラダイ研究室)
1970年 9月	帰国、東京大学医学部復職
1974年 4月	同助教授
1983年 4月	東京大学医学部第一薬理学教室教授
1995年 3月	同定年退職
1995年 4月	東京大学名誉教授
同	帝京大学医学部教授
2000年 3月	同定年退職
2001年 3月迄	1995年より協和発酵株式会社東京研究所顧問
2002年 7月	財団法人微生物化学研究会理事長
	現在に至る。

NanoLC/ESI-MS/MSを用いるタンパク質の高感度分析

Highly Sensitive Protein Analysis by NanoLC/ESI-MS/MS

森 大* 眞野 成康**



森 大



眞野 成康

1. はじめに

近年、疾患メカニズムの解明やバイオマーカー探索を目的として、血液、尿、組織切片などの生体試料中プロテオームの解析が盛んに行われている。それらの生体試料中には発現量の大きく異なる多種多様のタンパク質が混在しており、新規バイオマーカー候補分子を含め、興味の対象となるタンパク質は極めて微量である場合が多い。したがって、生体試料中のプロテオーム解析には、感度や特異性のみならず、高い分離能と広いダイナミックレンジを有する分析法が求められる。

現在、プロテオーム解析には次の2つの方法が主に用いられている。1つは、二次元ゲル電気泳動法¹⁾によりタンパク質を分離した後、変動の認められたスポット中のタンパク質をゲル内にて酵素消化し、質量分析して得られた情報をもとにデータベース検索して、タンパク質を同定する方法である²⁻⁵⁾。質量分析にはMALDI-TOF MS及びESI-MSの両者が用いられるが、分析の迅速性から前者がファーストチョイスとして汎用される。この場合、数百から数千種類のタンパク質の量的変動を視覚的に同時に把握できるものの、染色法のダイナミックレンジは 10^2 程度に留まる。もう1つは、タンパク質混合物を分離せずにそのまま酵素消化した後、nanoLC/ESI-MS/MSにより得られた情報をもとにデータベース検索し、タンパク質を解析する方法である⁶⁾。この場合、量的変動の解析には安定同位元素標識法などを駆使する必要があるものの、LCの多次元化による高分離能が期待でき、 $10^3 \sim 10^4$ 程度の比較的広いダイナミックレンジを確保できる。

そこで本稿では、NanoFrontierLDを用いる生体試料中タンパク質解析の高感度化に関する検討結果について紹介したい。

2. 移動相組成とスプレーニードル位置の関係

ESIでは、試料溶液を含むキャピラリー先端に高電圧を印加したときに生じる静電噴霧によって試料分子がイオン化する。そのため、移動相組成はイオン化効率に大きく影響する。逆相分配モードによるペプチド

のLC/ESI-MS分析では、残存シラノールの影響によるピークのブロード化を防ぐため、通常移動相に酢酸あるいはギ酸を添加する。また、(1)極性溶媒である、(2)表面張力の低い揮発性溶媒である、(3)イオンと溶媒和しにくい溶媒である、の3つの条件を満たす移動相を用いる必要があることから⁷⁾、水/メタノール混液あるいは水/アセトニトリル混液が汎用される。メタノール及びアセトニトリルの沸点は、それぞれ64.7℃及び81.8℃、表面張力はそれぞれ22.60dyn/cm及び29.04dyn/cmであり、両者の物性は異なる。また、逆相分配クロマトグラフィーにおける溶出力も異なるために同じペプチドの溶出時の有機溶媒比率も異なることになる。したがって、両者を用いる時の静電噴霧現象の様相は異なることが予想されることから、まず各溶媒を用いた時のスプレーニードル先端からイオン導入口までの距離が各種ペプチドの検出感度に与える影響につき検討を加えた。

還元アルキル化したウシ血清アルブミン(BSA)のトリプシン消化物10fmolにつき、移動相として(A)ギ酸/水/メタノール(0.1:98:2, v/v/v)及び(B)(0.1:2:98, v/v/v)を用い、(B)濃度を45分間で0%から75%まで増大させるリニアグラジエント溶出法によりnanoLC/ESI-MS分析した。カラムには、50 μ m i.d.×50mmのサイズで先端径3 μ mのフューズドシリカキャピラリーにTSKgel SuperODS(2 μ m, 110Å)を充填したものを使用し、流速を100nL/minに設定した。また、アセトニトリル系の移動相の場合には、移動相として(A)ギ酸/水/アセトニトリル(0.1:98:2, v/v/v)及び(B)(0.1:2:98, v/v/v)を用い、(B)濃度を45分間で0%から35%まで増大させて同様に分析した。代表的なペプチドとして、aa 35-44の3価イオン(*m/z* 417.21)、aa 184-197の2価イオン(*m/z* 874.36)、

* 東北大学 大学院薬学研究科 病態分子薬学分野 大学院博士課程後期3年の課程(博士課程)2年 薬学修士
 ** 東北大学病院 教授・薬剤部長、東北大学 大学院薬学研究科 病態分子薬学分野、東北大学 大学院医学系研究科 医療薬学分野 薬学博士

aa 267-285の3価イオン(m/z 749.99), aa 319-340の3価イオン(m/z 820.07), aa 402-412の2価イオン(m/z 653.36), aa 508-523の3価イオン(m/z 627.65), 及びaa 588-597の2価イオン(m/z 554.26)を選択し, 各ペプチドのピーク強度とニードル先端位置との関係を図1に示した。メタノールを用いた時, ニードル先端からイオン導入口までの距離を2.5mmにすると各ピーク強度が最大となり, 質量分析計に効率的にイオンを導入できることが判った。一方, アセトニトリルを用いた場合は, ニードル先端からイオン導入口までの距離を5.0mmとした時に最も良好な結果が得られたものの, 全体的にメタノールを用いる方が各ペプチドのピーク強度が強くなることが明らかとなった。先にも述べたように, 逆相分配クロマトグラフィーではアセトニトリルの方が溶出力が強く, そのため全体的に移動相中の有機溶媒濃度が低くなる。したがって, メタノール及びアセトニトリルに比べ, 沸点と表面張力ともにより高い水(沸点;100℃, 表面張力;73.0dyn/cm)の割合が増大するため, 静電噴霧による液滴の微細化

が起こりにくくなることが原因と考えられた。

次に, 移動相中に添加する酸の種類と濃度がペプチドの検出感度に与える影響につき検討を加えた。移動相(A)水/メタノール(2:98, v/v)及び(B)(98:2, v/v)各々に対して種々の濃度の酢酸あるいはギ酸を添加し, 各移動相条件下で同一のBSAのトリプシン消化物をnanoLC/ESI-MS分析した。その結果, 酢酸及びギ酸のどちらを用いた場合においても0.05%の濃度の酸を添加した時, ピーク強度が最大となるペプチドが最も多く認められた(図2)。また, 特に酢酸添加の方がイオン化効率がより良好である傾向が認められた。このことから, ペプチドの残存シラノールとの相互作用の抑制には, 一定濃度以上の酸の添加が必要である一方, 高濃度の酸の存在は逆にイオン化を抑制する可能性が示唆された。

3. グラジエント勾配及びスキンスピードの検討

NanoLC/ESI-MS/MSを用いるプロテオーム解析では, 通常2価以上のペプチド由来のピークを自動的に

選択し, それをプリカーサーイオンとしてMS/MS分析を繰り返す。すなわち, まずMSスキャンを行い, MSスペクトル上で強く検出された2価以上のイオンにつき, その強度順にプリカーサーイオンとして選択して順次MS/MSスキャンする。次のMSスキャンでは, 既に選択したイオンを除く2価以上のイオンを同様に強度順にプリカーサーイオンとして選択し, MS/MSスキャンする。このサイクルを繰り返すことにより, 1回の分析で膨大な種類のペプチドのMS/MS分析が可能となる。しかしながら, タンパク質が微量であるほど生じるペプチドイオンの強度が弱くなるため, MS/MS分析の対象となる確率が低下する。つまり, 発現量の極端に異なる多種多様のタンパク質が混在する試料の場合, 微量タンパク質ほど解析が困難となる。その対策として, (1)グラジエント勾配を小さくしてペプチドのピーク幅を広げる, あるいは(2)スキンスピードを速くすることが有効と考えられる。どちらの場合も, 1分析中のMS/MSスキャン回数を増大させることにより, 微量タンパク質由来のペプチドを

MS/MSスキャンの対象として選択する確率の向上が期待できる。しかしながら, 前者の場合, 噴霧液中の試料分子の濃度が低下するため, ペプチドのピーク強度が低下し, 逆にプリカーサーイオンとして選択され難くなる可能性も考えられる。また, 後者の場合, アイソレーション時間の短縮に伴うMS/MSスペクトルのバックグラウンドの増加や, CID時間の短縮に伴うフラグメンテーション効率の低下が懸念され, これらによるMS/MSスペクトルの質の低下の可能性が考えられる。そのうえ, イオン蓄積時間あるいは積算回数短縮に伴うピーク強度の低下も考えられる。そこで次に, グラジエント勾配の最適化を試みるとともに, アイソレーション時間, CID時間, イオン蓄積時間, 及び積算回数がタンパク質同定数に与える影響につき検討を加えた。

まず, 抗アルブミン抗体及び抗IgG抗体で処理したヒト血清のトリプシン消化物(50ng=平均分子量を50,000と仮定して1pmol相当)を用い, 移動相として(A)酢酸/水/メタノール(0.05:98:2, v/v/v)及び

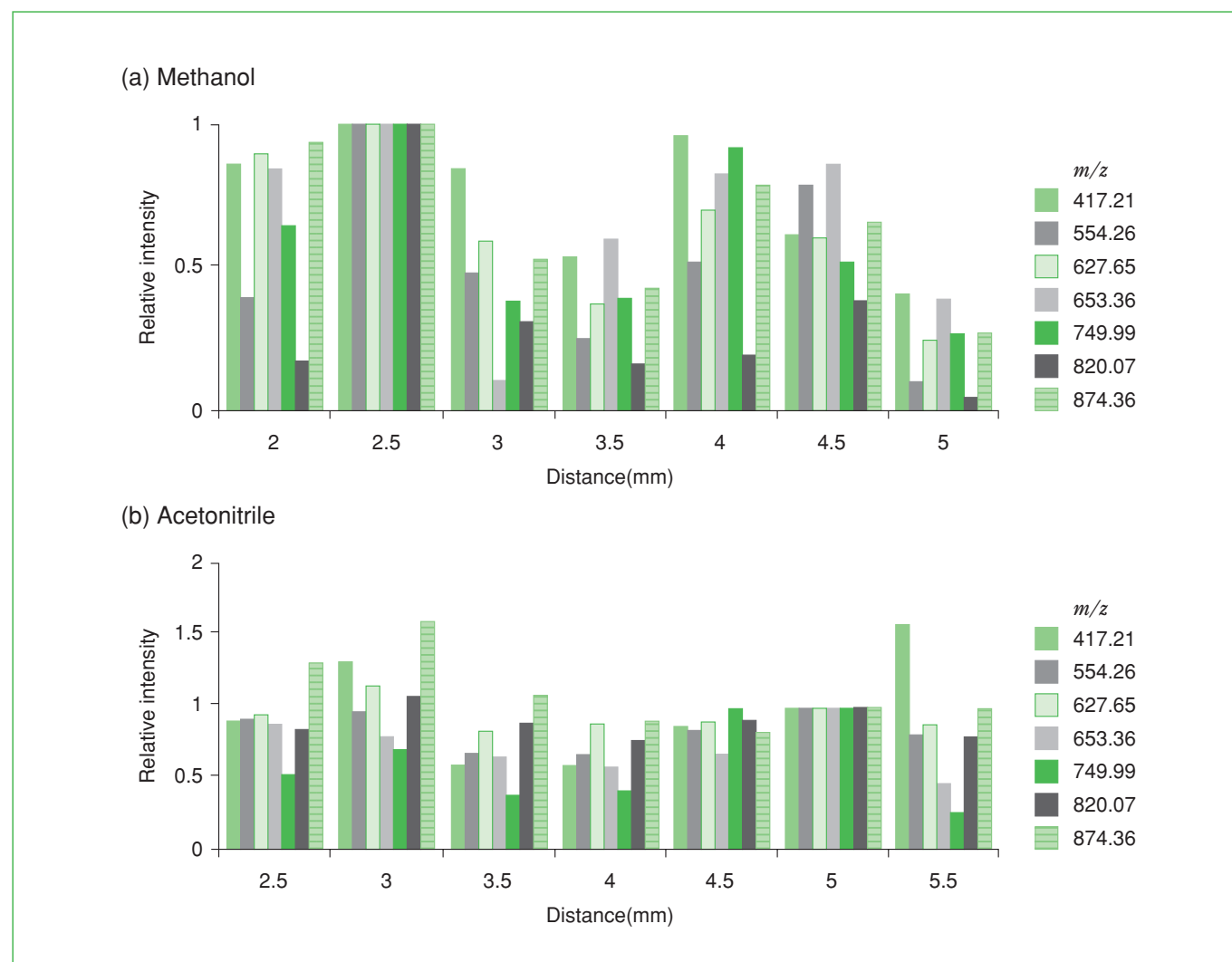


図1 各ニードル位置におけるBSAのトリプシン消化物の相対ピーク強度。
各ペプチドについてメタノールの場合はdistanceが2.5mm, アセトニトリルの場合はdistanceが5.0mmの時のピーク強度を1とした。

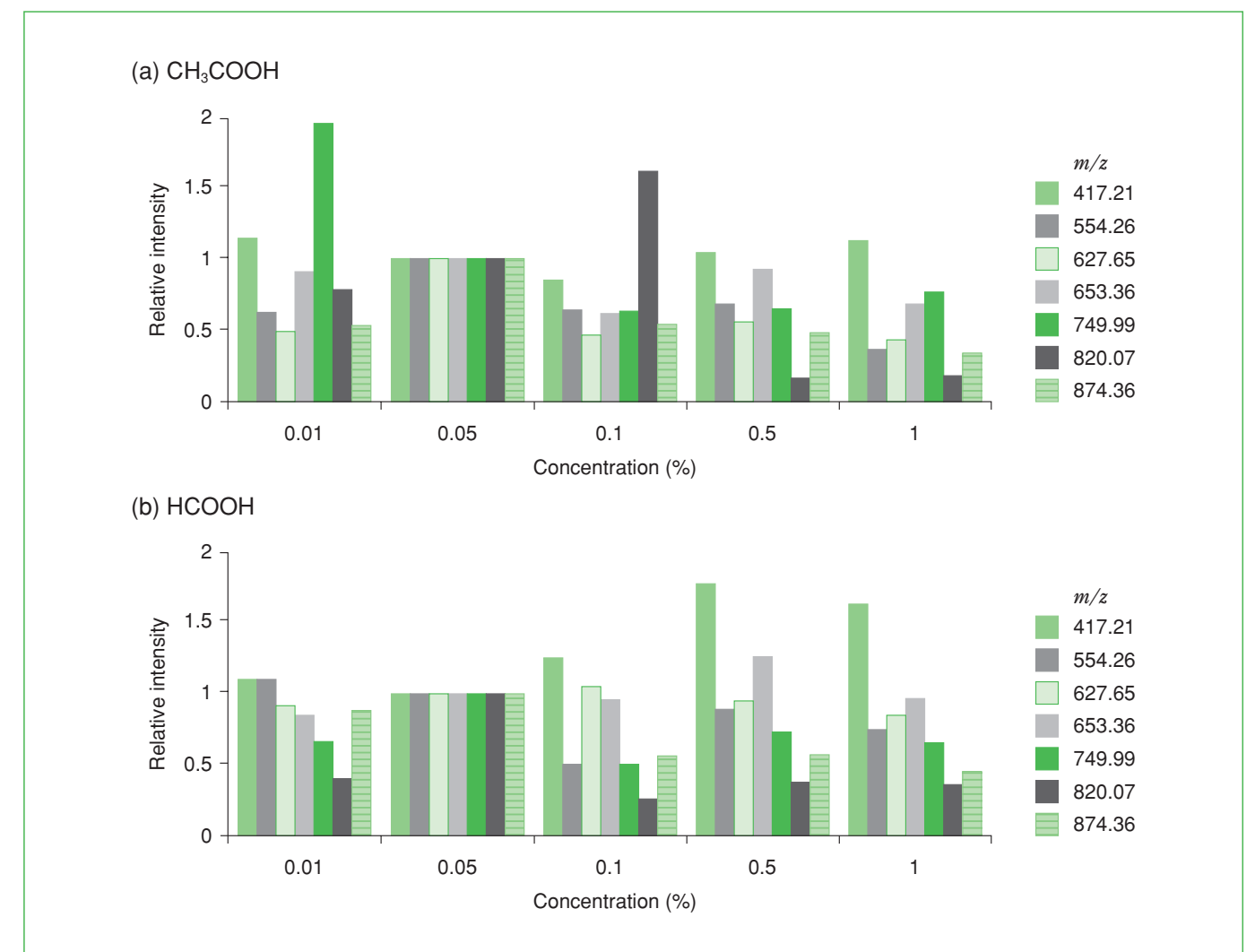


図2 移動相中の各有機酸添加濃度におけるBSAのトリプシン消化物の相対ピーク強度。
各ペプチドについて酢酸あるいはギ酸の濃度が0.05%の時のピーク強度を1とした。

(B) (0.05 : 2 : 98, v/v/v)を用いて(B)濃度を0%から75%まで増大させるリニアグラジエント溶出法により, nanoLC/ESI-MS/MS分析した。カラムには50 μm i.d. \times 50mmのサイズで先端径3 μm のフューズドシリカキャピラリーにTSKgel SuperODS(2 μm , 110Å)を充填したものを使用し, 流速を100nL/minに設定した。測定データをMASCOT検索に付し, プリカーサーイオンの選定数及び同定タンパク質数を求めた。各グラジエント勾配条件における結果を比較したところ, グラジエント勾配の低下に伴ってプリカーサーイオンの選定数は増大したものの, 同定タンパク質数は0.8%/min(90分間で(B)0 \rightarrow 75%)のグラジエント勾配の時, 最大となることが判明した(図3)。

次に, アイソレーション時間の影響を検討した。移動相(B)濃度を90分間で0%から75%まで増大させるリニアグラジエント溶出法(グラジエント勾配: 0.8%/min)にて, 先と同様の試料をnanoLC/ESI-MS/MS分析した。結果を図4に示したが, アイソレーション時間はプリカーサーイオンの選定数にほとんど影響せ

ず, 同定タンパク質数はアイソレーション時間を2.5ミリ秒とした時に最大となることが判明した。続いて, CID時間及びCID高周波電圧の影響を精査した。その結果, いずれのCID高周波電圧においても, CID時間2.5ミリ秒の時に最も同定タンパク数が少なく, 質の高いMS/MSスペクトルを得るには5ミリ秒以上のCID時間が必要であることが判った。また, CID高周波電圧を $(0.665 \times m/z + 87)\text{mV}$ 以上に設定すると, CID時間5ミリ秒及び10ミリ秒のどちらにおいても同定タンパク質数は徐々に低下した(図5)。ついで, イオン蓄積時間の影響につき検討を加えた。その結果, イオン蓄積時間の増大に伴ってプリカーサーイオン選定数は若干減少したものの, 同定タンパク質数は逆に増加する傾向が認められた(図6)。さらに, 積算回数の影響についても同様に検討したところ, イオン蓄積時間の結果と同様に, 積算回数の増大に伴ってプリカーサーイオンの選定数は減少し, 逆に同定タンパク質数は増加した(図7)。

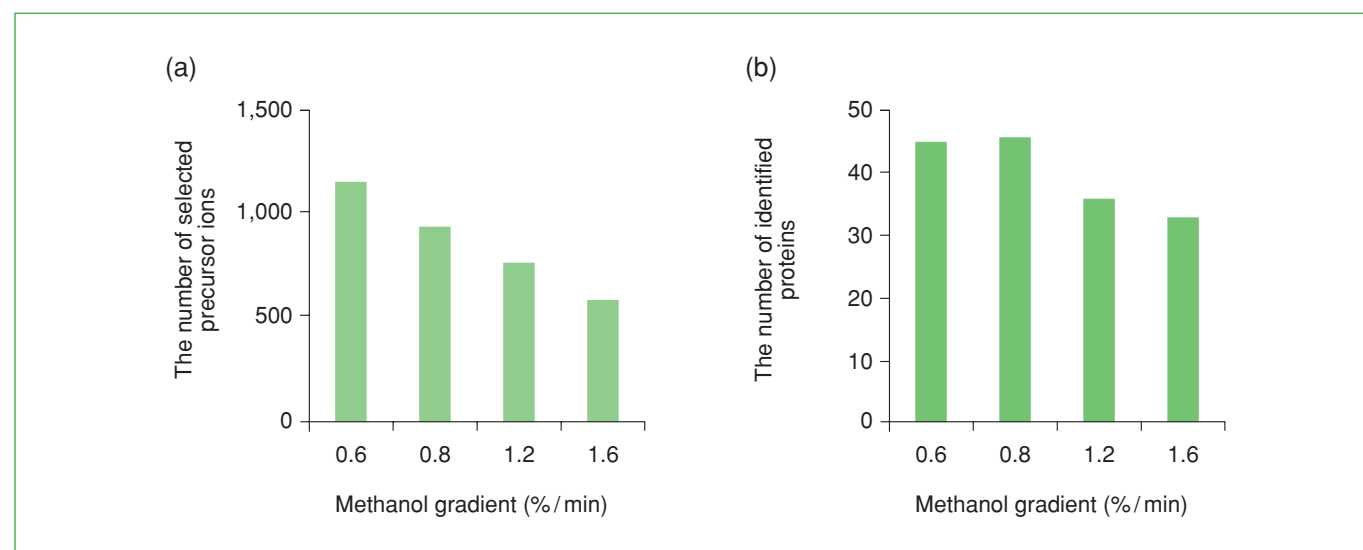


図3 各メタノール濃度勾配におけるヒト血清中タンパク質のトリプシン消化物のプリカーサーイオンの選定数及び同定タンパク質数。グラジエント勾配と分析時間の関係は以下のようになる。

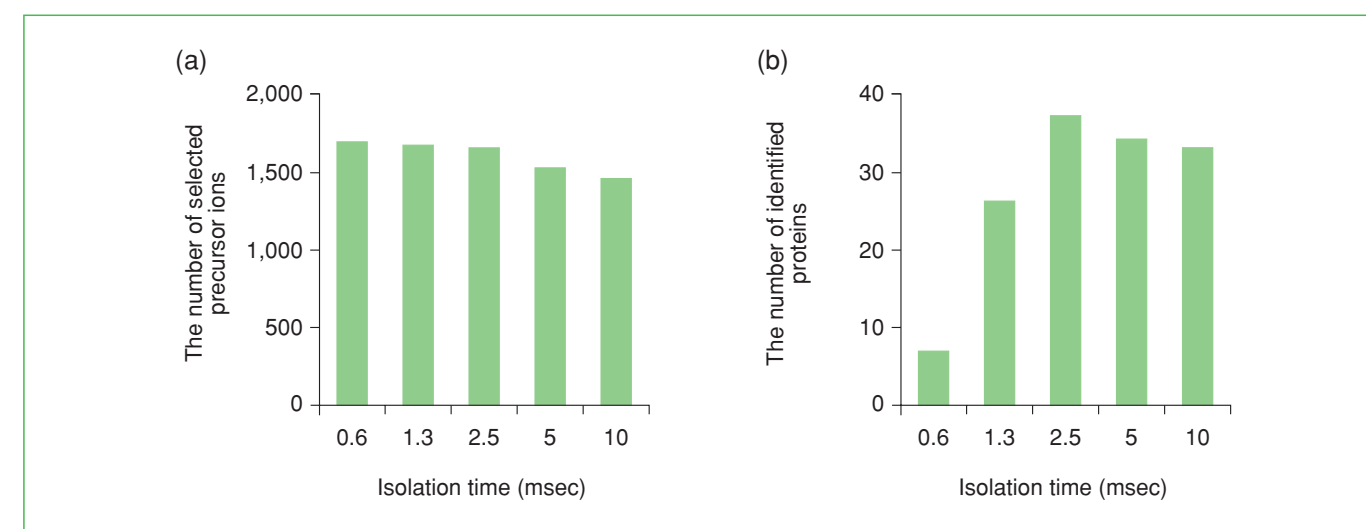
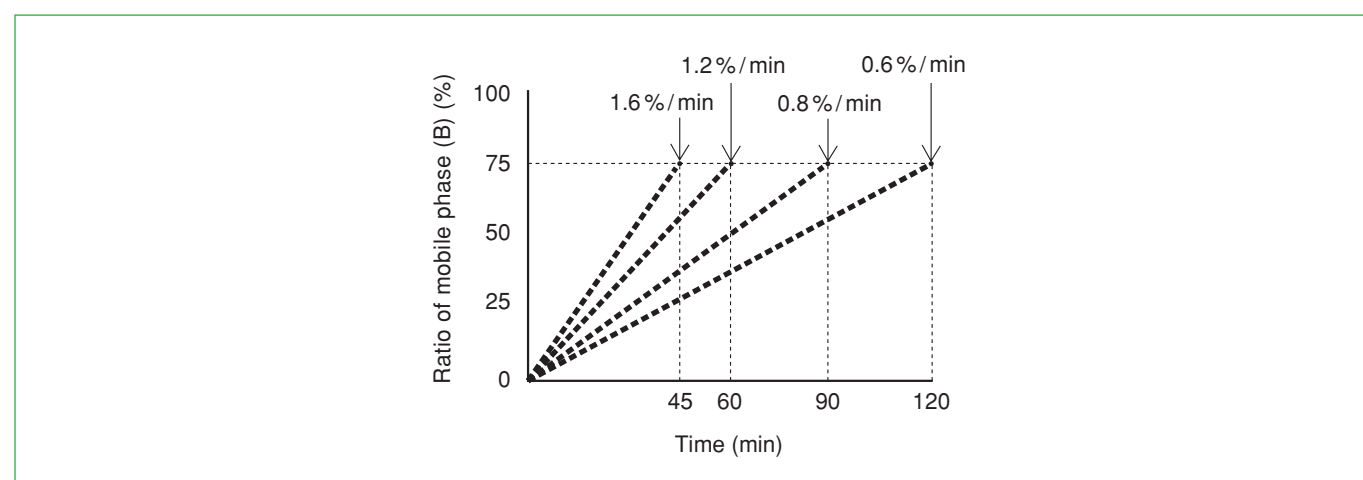


図4 各アイソレーション時間におけるヒト血清中タンパク質のトリプシン消化物のプリカーサーイオンの選定数及び同定タンパク質数。

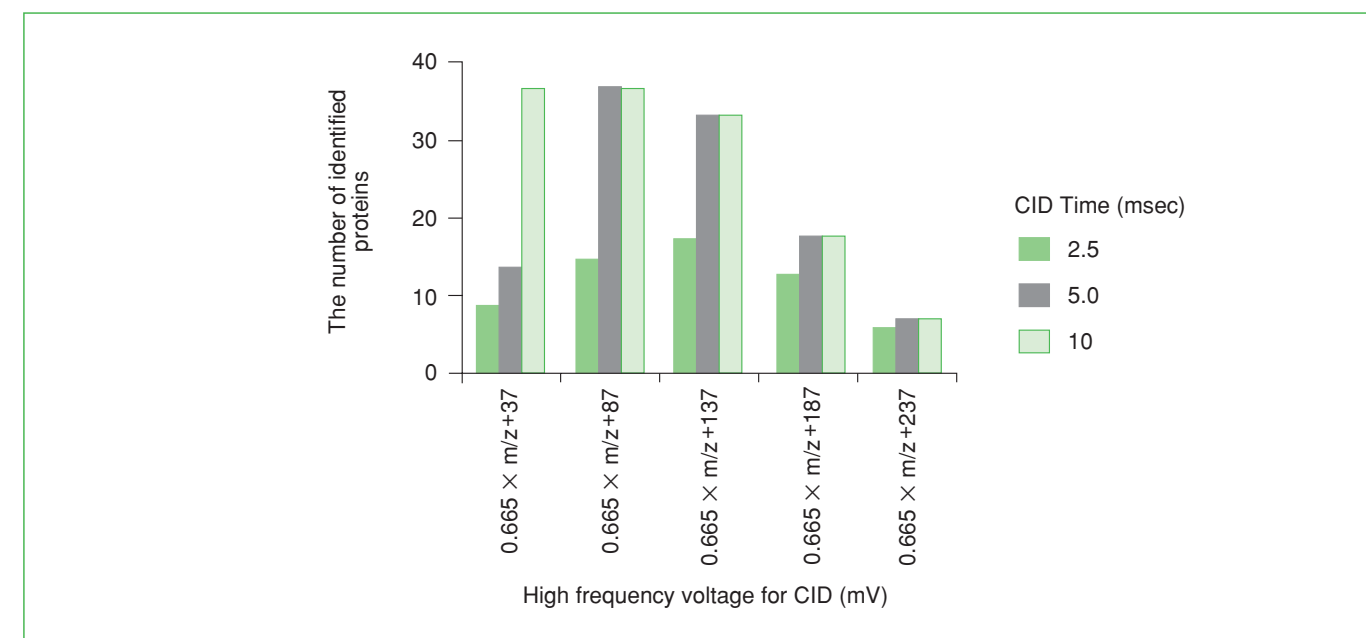


図5 各CID時間及びCID高周波電圧におけるヒト血清中タンパク質のトリプシン消化物の同定タンパク質数。

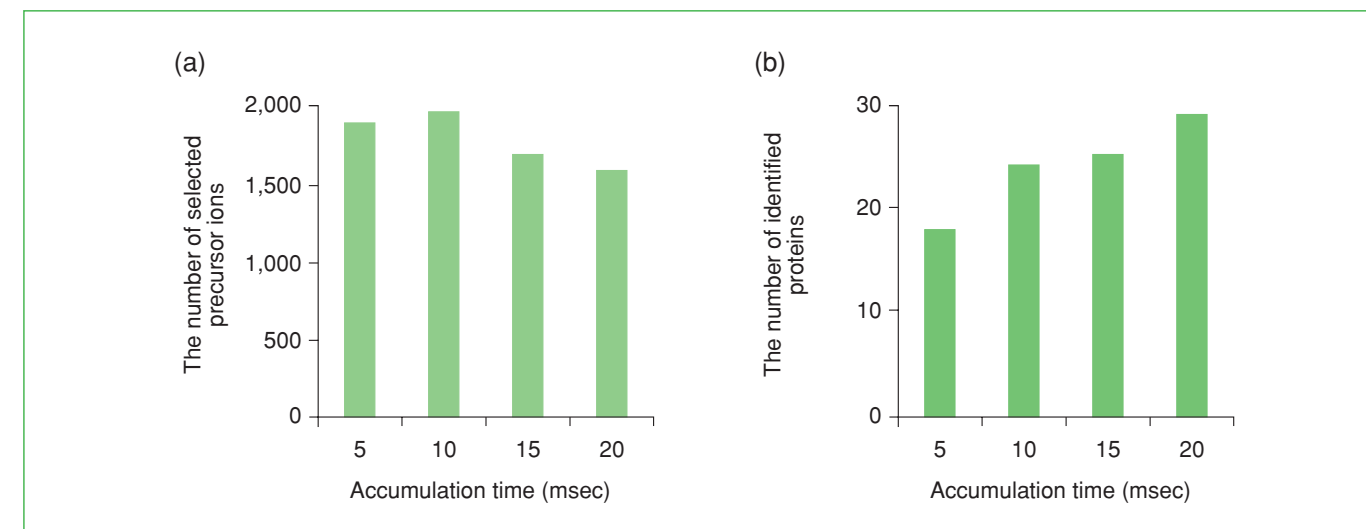


図6 各イオン蓄積時間におけるヒト血清中タンパク質のトリプシン消化物のプリカーサーイオンの選定数及び同定タンパク質数。

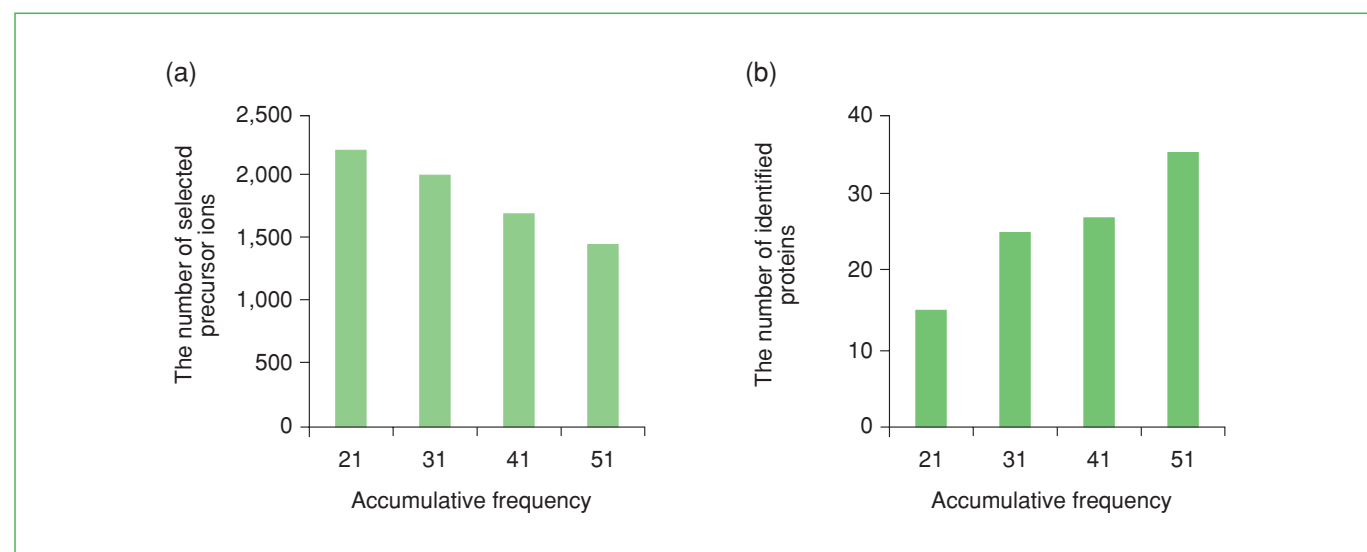


図7 各積算回数におけるヒト血清中タンパク質のトリプシン消化物のプリカーサーイオンの選定数及び同定タンパク質数。

4. おわりに

NanoLC/ESI-MS/MSを用いるタンパク質の高感度分析には、ペプチドの検出感度の向上のみならず、効率的なMS/MS分析を実行するための条件の最適化が極めて重要である。本稿で紹介した種々の検討から、移動相組成とスプレーノード位置は、質量分析計におけるイオンの取り込み量に大きく影響することが明らかとなった。また、MS/MS分析の効率化を目的として検討したグラジエント勾配、アイソレーション時間、CID時間、イオン蓄積時間、及び積算回数は、いずれの場合も生体試料中の微量タンパク質の同定に影響することが明らかとなった。今後、こうした基礎的検討結果をもとに、効率的なプロテオーム解析法の構築に取り込みたい。

参考文献

- 1) P. H. O'Farrell, *J. Biol. Chem.*, 250, 4007-4021 (1975)
- 2) W. J. Henzel, T. M. Billeci, J. T. Stults, S. C. Wong, C. Grimley, C. Watanabe, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90, 5011-5015 (1993)
- 3) M. Mann, P. Højrup, P. Roepstorff, *Biol. Mass Spectrom.*, 22, 338-345 (1993)
- 4) P. James, M. Quadroni, E. Carafoli, G. Gonnet, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 195, 58-64 (1993)
- 5) J. R. Yates III, S. Speicher, P. R. Griffin, T. Hunkapiller, *Anal. Biochem.*, 214, 397-408 (1993)
- 6) M. Mann, M. Wilm, *Anal. Chem.*, 66, 4390-4399 (1994)
- 7) F. Giorgianni, A. Cappiello, S. Beranova-Giorgianni, P. Palma, H. Trufelli, D. M. Desiderio, *Anal. Chem.*, 76, 7028-7038 (2004)

高分子材料におけるガスバリア性評価の最前線 ～食品分野からディスプレイ・太陽電池・燃料電池分野へ～

Advance in gas barrier testing for polymer material
～Extension to display, solar battery and fuel cell fields from food packaging field～

大谷 新太郎*

1. はじめに

ガスバリア性試験は、高分子膜が気体の透過を遮断する特性を利用して開発された製品のガスバリア性を求める評価方法である。このような評価を必要とする産業分野は多岐にわたり、樹脂・バリア性樹脂コーティング・2次加工フィルム分野、食品・製薬包装分野、ペットボトル・容器分野及び有償分析センターがあり、最近新たに注目を集めているのがディスプレイ関連部材分野、太陽・燃料電池分野である。

従来の評価目的は、食品の酸化、腐敗防止包装のバリア性試験である。ガスバリアのよいフィルムで包装されたポテトチップスは酸化が遅くなり、より賞味期限を長期に設定できる。近年では液晶保護膜・有機EL膜用ガラス基板代替フィルム及び封止材料の酸素・水蒸気遮断性、燃料電池の電解質膜の酸素透過性及び太陽電池の主要部材であるバックシートの水蒸気遮断性、自動車車体・橋梁の塗装膜や化粧品容器の酸素遮断性、製薬包装の水蒸気遮断性等あらゆるところで、ガスバリア性評価の重要性が増している。

また、フィルム形状でのガスバリア性を基礎として最終製品形状でのトータルバリア性評価も重視されている。例えばPETボトル、牛乳・ジュース・酒・ワインの紙パック、カップめん容器、コンタクトレンズ等の酸素バリア性評価、菓子袋や電子材料包装への湿気の侵入、頭髪用シャンプー袋からの水分漏出に対応する水蒸気バリア性の評価等である。特殊な分野として自動車のプラスチックガソリントankの酸素ガスバリア性測定の実例もある。

このように原材料の品質保証テストだけでは不十分であり、原料の受け入れから完成品までの各段階で、バリア性を完全に把握することが重要である。

そのためJIS, ASTM, ISO等の標準条件のみならず製品が置かれている環境に対応した試験温度領域や広範囲な湿度雰囲気下における迅速で正確なバリア性評価が要求されている。

(株)日立ハイテクトロジーズでは米国MOCON社ガスバリア性試験装置を1973年から継続販売しており、現在約750台が稼働し、主に樹脂メーカーや2次加工メーカー及び食品包装分野で活躍している。後述するが

最近では電子・電気業界からの引き合いが活発になってきている。

本報告ではガスバリア性試験装置で世界標準機として広く認知されている米国MOCON社製品について、長年の技術サービスによって蓄積された経験と装置周辺のアタッチメント開発実績を踏まえ、ガスバリア性評価の最新動向について述べる。



大谷 新太郎

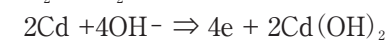
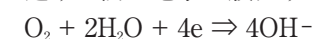
2. 装置の概要と測定原理

ここではMOCON社酸素透過率測定装置OXTRANシリーズ、水蒸気透過率測定装置PERMATRANシリーズ、最新超高感度水蒸気透過率測定装置AQUATRANについて簡単に紹介する。

2.1 OXTRANシリーズ

クーロメトリック法としてJIS-K7126-2, ASTM-D3985, ISO-14633-2等で規定される等圧法に準拠し、検出下限値0.001cc/m²/day～上限値40,000cc/m²/day(測定面積の縮小5cm²や希釈酸素5%の使用を含む)と広範囲な測定に対応する。単位としてcc/m²・day・atmやmL/m²・24hr・Mpが使用されている。図1に酸素透過率測定装置の概念図、図2に透過曲線を示す。

高分子膜の使用形態は単一層膜、多層膜、表面処理膜の3つに大別され、膜の片面にテストガスとなる酸素ガスが約10cc/minで流れている。反対面にはキャリアガス窒素が約10cc/minで流れ、ポリマー中のフリーポリュームを拡散し、透過してきた酸素分子をクーロックス検出器へ運ぶ。次式の酸化還元反応を用いたこの方法はクーロメトリック法と呼ばれている。検出器に運ばれた酸素1分子は陰極面で反応して、次式の通り4個の電子を放出する。



このように酸素1分子は4個の電子に変換される。酸素1モルは4ファラデーに相当するので、酸素1モルから3.86 X 10⁵アンペア・秒が発生する。24時間あたり1ccの酸素が検出器を通過すると1.99 X 10⁻⁴アンペ

* (株)日立ハイテクトロジーズ MOCONテクニカルコンサルタント
有限会社ホーセンテクノ

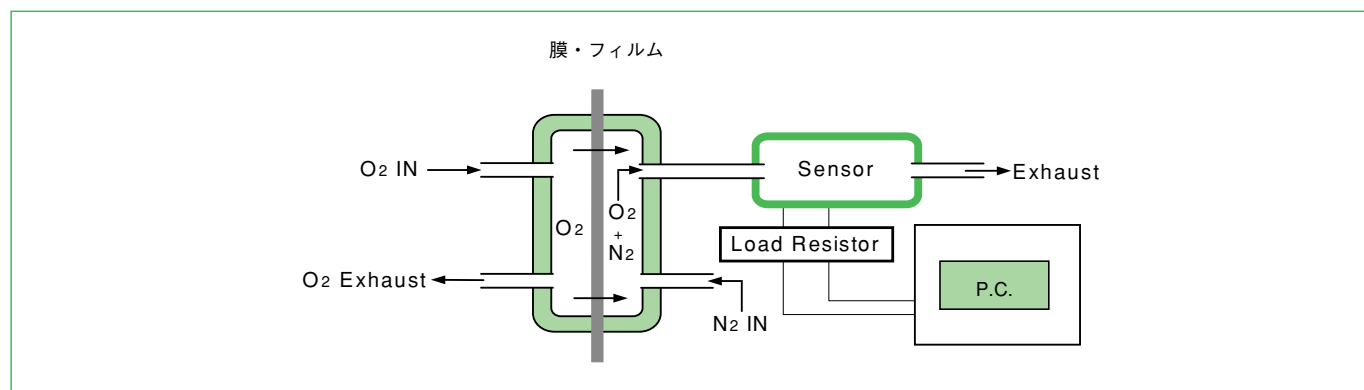


図1 酸素透過率測定装置の概念図

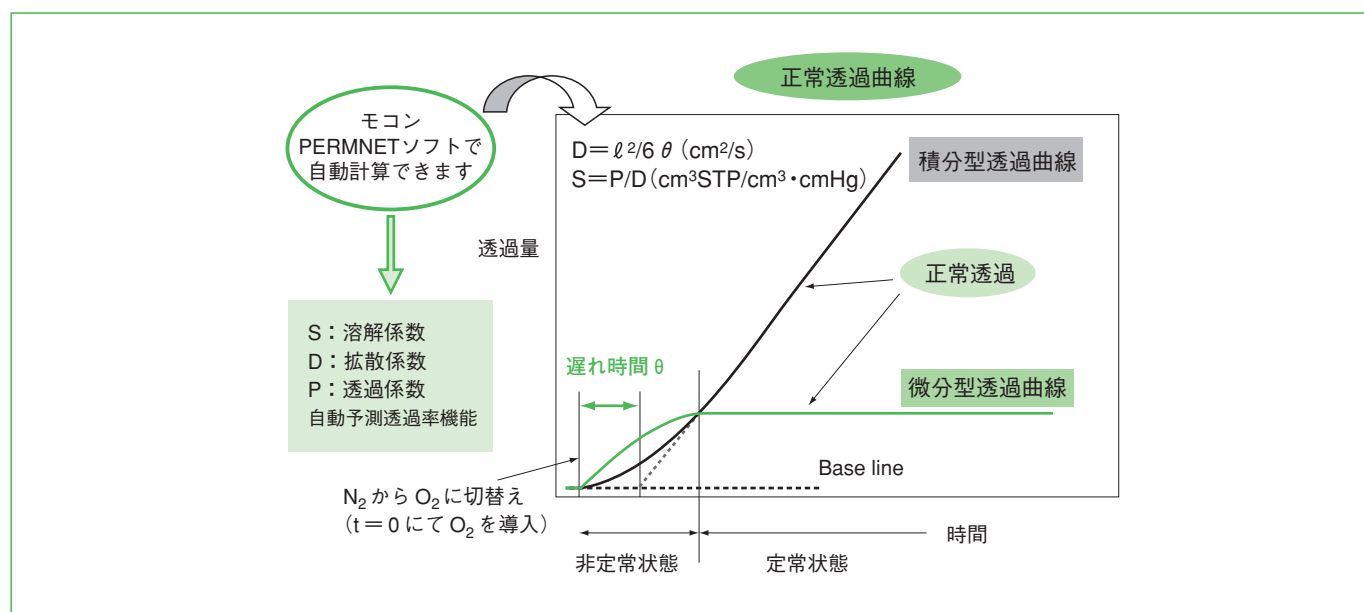


図2 透過曲線の概念図

アの電流量が得られ、検出器から出力された電流は負荷抵抗で電圧に変換される。

JIS-K7126-2での測定温度は23℃、湿度は0%RHとなっているが、製品使用状況によって、いろいろな測定条件が選択されている。

測定温度：5℃～50℃（オプションで-20℃～200℃の実績あり）

測定湿度：Dry (0%RH), 35～90%RH（オプションで20～100%RHの実績あり）

2.2 PERMATRANシリーズ

赤外線法（IR法）としてJIS-K7129B, ASTM-F1249-80, ISO-115106-2等の等圧法に準拠し、検出下限値0.005gm/m²/day～上限値2000gm/m²/day（測定面積の縮小5cm²や高流量の使用を含む）と広範囲な測定ができ、従来法であるカップ法（重量法）とのデータ互換性もよい。

測定方法は膜厚12～2000μmの片面は水蒸気（90%RH）約20cc/minが流れ、反対面にも約20cc/minの0%

RH乾燥窒素がキャリアガスとして流れている。膜を透過してきた水蒸気分子はキャリアガスによって赤外線検出器部へ運ばれ、選択的波長フィルターによって水蒸気のみ赤外線検出器で検出され、電圧に変換されるようになっている。

JIS-K7129Bでの測定温度は40℃、測定湿度は90%RHとなっており、多数のユーザーはこの使用条件で測定されている。最近ではディスプレイ関連で85℃、85%RHの要求条件が寄せられており、技術的には可能であるが実験は未だなされていない。

測定温度：5℃～50℃

測定湿度：35%RH～90%RH, 100%RH

2.3 AQUATRAN

電解電極法を用いた最新型クーロメトリック方式“AQUATRACE”を搭載した超高感度水蒸気透過度測定装置としてMOCON社の技術の粋を結集して開発され、超ハイバリア領域が測定できる装置として2007年秋上市された。2008年10月時点全世界で21台が使用さ

れており（内2台は日本）、順調に稼働中である。図3にAQUATRAN超高感度水蒸気測定装置の外観を示す。

有機EL関連ではガラス代替用保護フィルム関連メーカー、封止材樹脂メーカーにおいて、特に本装置への関心が高い。

測定方法は片面に水蒸気（90%RH）が約20cc/min流れ、反対面にも約20cc/minの0%RH乾燥窒素がキャリアガスとして、極微量有機物除去用チャコールフィルター・乾燥剤を通過して流れている。ここでも膜を透過してきた水蒸気分子はキャリアガスによってAQUATRACE検出器へ運ばれ、検出器内の電極間で、五酸化リンに吸収される。このとき水分子1個につき2個の電子が電極間で発生する。ここでファラデーの法則から電流値が透過した水分子の絶対量として換算される。検出器セル内では水分子はなくなり、副産物として、水素と酸素が生じるのみである。

本装置は昨年秋に日本国内で新発売されたもので、JIS, ASTM, ISOにはまだ規定されていない。



図3 AQUATRAN超高感度水蒸気測定装置

検出下限値0.0005gm/m²/day（0.5mg/m²/day）

測定温度：10℃～40℃

測定湿度：35%RH～90%RH, 100%RH

3. 各種製品におけるガスバリア性要求レベル

製品用途によってガスバリア性の要求レベルは大きく差がある。数値が小さくなるほどガス遮断性がよくなり、食品賞味期限の長期化やディスプレイ製品の寿命を延ばすことができる。最近の水蒸気バリアフィルムに関して、2008年夏時点で測定装置の検出下限値である5 x 10⁻⁴g/m²/day近辺、または測定装置の検出下限値を超えたブラック領域の超ハイバリアフィルムが数社で試作されてきた。

参考までに各分野で必要とされている要求レベルは、例えばポテトチップス包装材の品質管理上の酸素ガスバリア性は1.0cc/m²/day以下、水蒸気バリア性は1.0g/m²/day以下でないと包装材として出荷できない。

液晶膜では5 X 10⁻³～1 X 10⁻³g/m²/day近辺、有機EL関連（基板及び封止材を含む）では5 X 10⁻⁶g/m²/day程度と考えられているが、実証の困難な未知の領域であるため数値のみが先行しているのが現状である。

次に各種部材のガスバリア値をフィルム形状表1と容器形状表2で区別して示した。ガスバリア値は参考値である。

3.1 フィルム編

幾つかの代表的な高分子が、およそどのくらい酸素と水蒸気を通すかということを表1に示した。

表1 各種部材のガスバリア値 フィルム編

部材の構成	酸素透過度 cc/m ² ・24hr・atm			水蒸気透過度 g/m ² ・24hr 40℃ 90%RH
PETベット 25μm	50	23℃	65%RH	25
ONY延伸ナイロン 15μm(ポリアミド)	75	25℃	90%RH	134 25℃ 90%RH
低密度ポリエチレンLDPE 30μm	6000	25℃	90%RH	18 25℃ 90%RH
EVOH 30μm 32mol%	0.2	20℃	65%RH	-----
SiOX/LLDPE 60μm	0.2	30℃	70%RH	0.05
エポキシ樹脂(熱硬化) 200μm	23	23℃	70%RH	30
アクリル樹脂 25μm	250	23℃	0%RH	360
かつおけずりぶし PVA/PE/EVA	0.15	23℃	65%RH	2.3

PET：Polyethylene Terephthalate ポリエチレンテレフタレート

ONY：Nylon (Polyamide) ナイロン(ポリアミド)

SiOx：シリカ蒸着

LDPE：Low Density Polyethylene 低密度ポリエチレン 高圧法による。

LLDPE：直鎖状の低密度ポリエチレン。

PVA：Polyvinyl Alcohol ポリビニールアルコール

EVOH：Ethylene Vinyl Alcohol Copolymer エチレンビニールアルコール共重合体

EVA：Ethylene-Vinylacetate Copolymer エチレン・酢酸ビニール共重合体

表 2 最終製品形状のガスバリア値 容器編

容器の種類	酸素透過度 cc/pkg/day・atm	温度℃ 湿度%RH
PETボトル ボディー 500mL (緑茶)	0.030	23 In90 Out50
PETボトル キャップ部 500mL (緑茶)	0.009	23 In90 Out50
サラダオイル ボディー 500mL	0.0062	25 In85 Out55
美容液チューブボディー 15g	0.0021	24 In80 Out55
目薬容器ボディー 15mL	0.0032	25 In85 Out55
紙バック 250mL (キャップ含む製品形状)	0.043	25 In65 Out40
スパウトパウチキャップ部	0.015	26 In90 Out40

表示23, In90, Out50は温度23℃, 容器内部湿度90%RH, 容器外部湿度50%RHを示す。

3.2 容器編

容器のバリア性はいろいろな形状があり、容器表面積を正確に求めることが困難であるため、1製品当りと表示される。

表2は実際の製品を購入し測定したもので参考ガスバリア値である。

例えば美容液チューブ15gと目薬容器15mLのガスバリアを比べると美容液チューブの方が約1.5倍バリア性がよいことが判る。バリア性の劣る容器に製品を入れると、製品安定性が劣り有効期限が短くなる。

4. 超ハイバリア水蒸気透過度測定方法について

先に述べたが有機EL関連部材では $5 \times 10^{-6} \text{g/m}^2/\text{day}$ が目標要求値である。

ハイバリアフィルム評価技術については現在次の方法が一般的である。

4.1 カップ法による評価法

カップ法は図5－①に示すように、従来からある重量法で無水塩化カルシウムをアルミ製カップに適量入れ、試験フィルムをカップ上に封ろう材でシールした後、風袋重量を天秤で測定し、次に恒温恒湿槽(40℃, 90%RH)内にカップを置き、カルシウムへの吸湿度を重量変化で定期的に見ていく方法である。天秤の秤量分解能から一般に測定下限値は $1.0 \text{g/m}^2/\text{day}$ 程度であり、ハイバリアの要求検出感度に達しない。

4.2 差圧法(圧力法)による評価法

差圧法は圧力差を気体の全圧差で計測する方法で、図5－②に示す通り、フィルム両面に圧力差を持たせて測定するためフィルムにストレスが加わりやすいこと、リーク量の正確な検証方法が難しいこと、等圧法に比べて試験時間が一般的に長く、特にハイバリア材料では透過速度が極度に低いので測定時間が長くなることから、結果値の再現性に改善の余地が残り、異なるサンプル間の相対的比較として使用されるケースが多い。

4.3 感湿センサー法による評価法

測定下限値が $0.1 \text{g/m}^2/\text{day}$ で、この方法も要求検出感度に達しない。

4.4 モコン法による評価法(等圧法)

等圧法は圧力差を特定気体の分圧差で計測する場合を言い、フィルム両面を同圧とする方法のため不要なストレスがサンプルにかからず自然な状態で再現性のよい測定ができる。

1) 赤外センサー法

測定下限値は $0.005 \text{g/m}^2/\text{day}$ で液晶関連に使用可能であるが、有機EL関連には感度不足である。

2) クーロメトリック法(9-11項を参照)

AQUATRANは測定下限値が $5 \times 10^{-4} \text{g/m}^2/\text{day}$ である。検出器単体としては $5 \times 10^{-6} \text{g/m}^2/\text{day}$ の感度があるとされているが、システムとしての装置ではいろいろな要素により、感度保証はされていない。

図4はAQUATRANで測定した水蒸気バリア性 $5.5 \text{mg/m}^2 \cdot \text{day} \cdot \text{atm}$ のフィルム測定データを示す。

4.5 カルシウム腐食法による評価法

カルシウム法は金属Caが水蒸気に触れると、徐々に腐食した個所に光が透過するようになる性質を利用したもので、表面にカルシウム膜を塗布したフィルムをCCDカメラで撮影し、腐食部の面積から腐食度を判別、水蒸気ガス透過度を算出する方法である。

一般に検出感度がよいと言われているが酸素ガス、水蒸気両方に反応するので、試験手順はかなり難しいと考えられる。また測定に1000時間以上が必要とされ、加えて金属Caをフィルム上に平坦かつ正確な厚さに塗布するための技術力を必要とすることもあって、一般に普及するまでには到っていない。

図5に各試験法の概略図を示す。

5. 評価の信頼性

測定結果の信頼性はお客様への品質保証の原点であり、規定通りの製品を常に提供しているかを問われる。

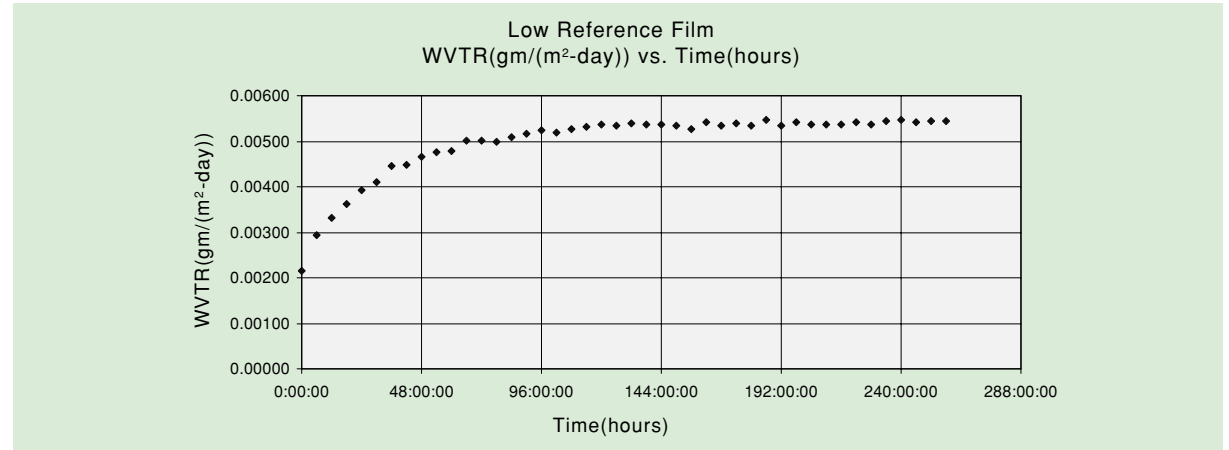


図4 AQUATRANで測定した水蒸気バリア性 $5.5 \text{mg/m}^2 \cdot \text{day} \cdot \text{atm}$ のフィルム測定データを示す。

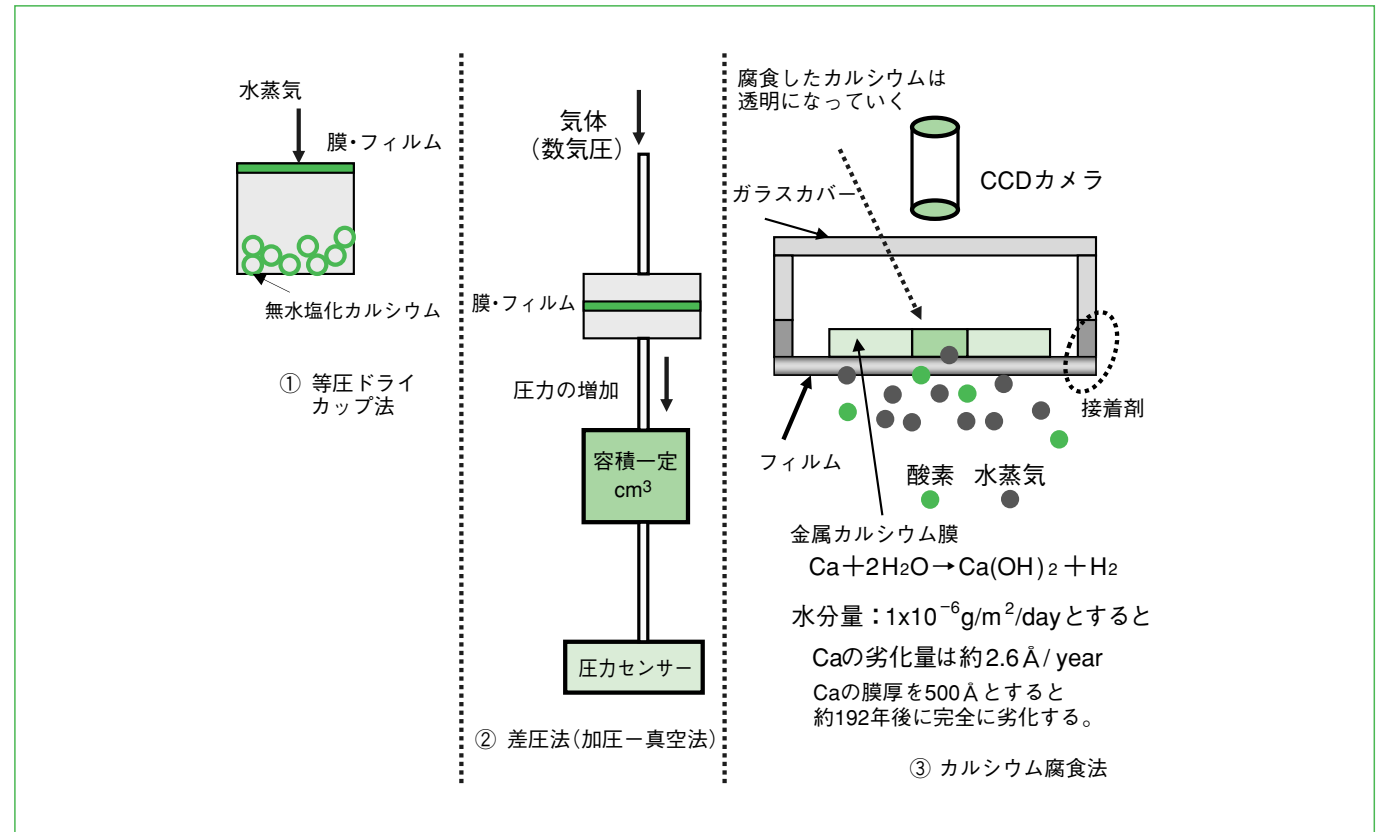


図5 各試験法の概略図

ガスバリア性における信頼性は下記に示される要素によって決定される。

5.1 装置の校正がなされ、測定結果が検証されていること。

校正には温度、湿度が特に重要な要素であり、精度と再現性が確保されていなければならない。MOCON社ではNISTで認証された標準フィルムを提供しており、装置に簡単に取付けられるので校正時のヒューマ

ンエラーは最小限に抑えられ、且つ公的認証に基づいた校正ができる。

水蒸気透過度試験に用いられるNISTトレーサブルフィルム保証値と保証精度を次に示す。

NIST#2 $3.2 \text{g/m}^2/\text{day} \pm 5\%$

NIST#4 $0.036 \text{g/m}^2/\text{day} \pm 5\%$

*NIST：National Institute of Standards & Technology 米国国立標準技術局

5.2 システムリーク率(ゼロレベル)が確定されていること。

装置のシステムリークは校正部品やサンプルとセル間の接触面等から必然的に生じるもので、完全に除去することは非常に困難であるが、正しいリーク率が確定され自動的に差し引くことができれば、測定精度は大幅に改善される。

5.3 測定温度、湿度の正確性

温度制御に関しては各装置メーカー共、精度よく測定する機能が充実備わっているが、湿度制御は湿度発生方式が種々あり、その方式により精度に大きな誤差を生じる。

湿度依存性の強いEVOH、NYLON等は湿度制御が大きくバリア値に影響する。MOCON社湿度コントロール方式は2圧力法で湿度発生飽和槽と試験槽であるサンプル測定セル温度は同一であり、非常に精度のよい湿度制御ができるようになっている。

6. 包装材料と製品形状での測定方法

フィルム形状での測定は1972年から始まり、代表的な高分子材料のバリア値は文献等に数多く発表されているが、製品形状でのトータルバリア値は測定手法の標準化がされておらず、また企業事情もあり公表されているのは僅少である。しかし真の製品寿命の設定には最終製品形状でのガスバリア値を知ることが必須であることは言うまでもない。

6.1 フィルムシート形状での測定ポイント

ハイバリア(1.0cc/m²/day以下)測定にはフィルム取付け時に用いるグリースのバリア性確保、テストガス透過方向、予備状態調節条件の認識、アルミ蒸着やシリカ蒸着のベースフィルムへの湿度影響の把握、ゼロレベルの差引き方法、サンプルのトリミングの仕方等が重要である。これらに無頓着であると測定精度に影響する。

6.2 容器(パッケージ)形状での測定ポイント

試料容器とパッケージアダプター間の接続には5分間型エポキシ樹脂接着剤の使用が一般的である。しかし容器と接着剤との親和性、エポキシ樹脂からのガス透過、2液混合時の樹脂内での気泡の発生、接着強度を得るための相当な固化時間の確保、測定終了後、試料容器とアダプターを離脱させるための労力と危険性等多くの課題があった。

これを解決した1例として球栓式ペットボトルアダプターを図6に示す。

接着剤を使用しないので、測定時間の大幅な短縮、測定精度のアップに加え、環境にやさしい測定法が確立された。

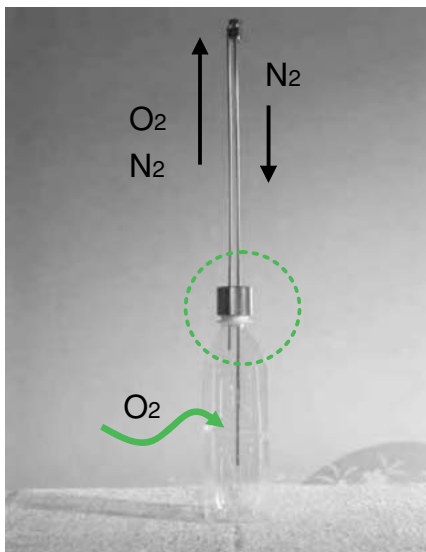


図6 球栓式ペットボトルアダプター使用例

7. 有機EL、太陽・燃料電池関連部材におけるガスバリア性評価について

有機EL、太陽・燃料電池関連分野における関連部材の性能評価が、急速に拡大している。ここでは特化してガスバリア性評価の現況について述べる。

7.1 有機EL(Organic Electro-Luminescence)

発光体の有機物は酸素や湿気の影響により、少しずつ劣化して輝度が低下する。例えば、テレビに求められる寿命は7,000hr/year X 5年=35,000hr以上である。従ってこの空気を遮断する封止材料・封止技術の開発で重要なツールがガスバリア性試験装置である。

有機EL成分を保護する部材である封止樹脂、ガラス基板、ガラスキャップの代替材料として耐湿性の高い材料の開発が長寿命化への重要な方向となっている。高温高湿保存試験条件として、60℃ X 90%RH X 500hr以上がある。

7.2 太陽電池(Photovoltaic Battery)

主要部材として封止樹脂、発電部分のセルを保護する保護フィルム(バックシート)があり、パネル全体は密封状態で電気絶縁された構造体である。モジュールの機能を20年以上保持するために絶縁システムとしての長期の信頼性が要求される。

ここで問題となるのは封止樹脂及びパネルの裏面を風雨から守るバックシートの耐湿性である。封止樹脂は主にEVA、バックシートはフッ素樹脂フィルム・PETフィルム・アルミ箔・シリカ蒸着フィルムを構成材料とした複合フィルムの使用が主流となっている。

フッ素樹脂フィルムは耐候性に優れているが、水蒸気バリア性の低いのが欠点である。その代替構成材料の開発が進んでおり、加速評価試験法として85℃ X

表3 電気・電子関連材料のガスバリア性

特 性	ガラス	PET(2軸延伸) 25μm	エポキシ樹脂 (熱硬化) 200μm	PEN(2軸延伸) 25μm
Tg(℃)	660	67		113
Tm(℃)		258		269
吸水率(%)	-----	0.3	0.4～0.5	0.2
酸素透過率cc/m ² /day	-----	55 23℃ 0%RH	23 23℃ 70%RH	35 23℃dry
透湿度g/m ² /day	-----	23 40℃ 90%RH	10 40℃ 90%RH	

PET：Polyethylene-terephthalate PEN：Polyethylene-naphtalete
エポキシ樹脂における熱硬化の場合、硬化温度と硬化時間によって、多少バリア値が変わる。

85%RH X 72～168hrが確立しつつある。

7.3 燃料電池(Fuel Battery)

自動車や小型情報機器に使用される固体高分子型燃料電池の電解質膜は高分子膜を用いている。そこでセル効率をアップするには水素イオンの伝導性がキープポイントとなり高分子膜厚さを減じる必要がある。しかし余りに薄い膜はかえって、発電効率が低下する。水素と酸素透過の測定はセル効率における陽極と陰極の構造設計に関係するので、電解質膜と電極の改良を進めるためMOCONガスバリア試験装置が必要とされている。

表3は電気・電子関連材料のガスバリア性を示す。今後、新しいガスバリア性評価分野としてこれまでに以上に脚光を浴びていくことは間違いない。

8. おわりに

製品評価を正確かつ迅速に実施することは、開発のスピードアップと品質管理のコスト低減に直接寄与する重要なファクターである。従来から新技術や新手法が随時導入されており、評価試験装置の性能や測定技術向上も目覚ましいが、近年特に注目されている新たな分野であるディスプレイ関連部材、太陽電池・燃料電池部材のガスバリア性評価において、更なる評価技術の革新、装置の性能向上特に超高感度化と測定時間短縮が強く要望されている。

このような市場要求に応えられるガスバリア性試験装置を提供できるよう、装置本体のみならず、周辺装置やアタッチメントも含め改良、開発に最大限の努力を続けていく所存である。

参考文献

- 1) 永井一清：気体分離・透過膜・バリア膜の最新技術 シーエムシー出版 2007.4
- 2) 技術情報協会編：有機ELの長寿命化へ向けた封止技術 2007.3
- 3) 技術情報協会編：ディスプレイ用ガスバリア形成技術と測定、評価法 2006.2
- 4) Michelle Stevens MOCON,Inc.：New Trends Technologies in permeation Analysis 2007.11
- 5) 猪狩恭一郎 バリヤー材料技術研究会：軟包装材料の技術と開発 2004.8

Empower™ 2 および日立LCドライバの紹介

Empower 2 software and Hitachi Liquid Chromatography driver

山田 宣昭*

1. はじめに

Empower™ 2 ソフトウェアはWaters® Corporation (以下Waters®社)のクロマトグラフィーデータ管理ソフトウェアです。Waters®社のクロマトグラフィーデータ管理ソフトウェアは、いち早くリレーショナルデータベースを採用したこと、米国の電子記録・電子サインのレギュレーションである21 CFR Part11のフルサポートを実現したことから世界的に確固な地位を築きました。Waters®社の最新ソフトウェアであるEmpower™ 2 は液体クロマトグラフ用データ管理ソフトウェアとして製薬分野をはじめとして広く使用されています。日立ハイテクノロジーズでは、Empower™ 2 ソフトウェアと日立LCを組み合わせて使用可能とするためのドライバを開発し販売開始いたしました。合わせてお客様にトータルでのシステムサポートを提供するためにEmpower™ 2 ソフトウェアの販売も開始いたしました。Empower™ 2 および日立LCドライバを販売することにより、より多くのお客様に日立LCをご使用いただけるものと考えております。

2. Empower™ 2 ソフトウェアの特長

(1) リレーショナルデータベースによるデータ管理

Empower™ 2 ソフトウェアにはリレーショナルデータベースとして高いシェアを持つオラクル(Oracle)が組み込まれています。このため膨大なデータから分析日、分析者、サンプルID番号などにより必要なデータを瞬時に抽出することができます。

(2) フレキシブルな報告書作成

レポートフォーマットはEmpower™ 2 ソフトウェアで自由にカスタマイズ可能です。また結果レポートには最終結果を算出するための計算式を組み込むこともできます。さらに、複数のクロマトグラムの同時レポート、結果のサマリーレポートなどの用途に合わせた特殊なレポートも、他のソフトウェアを使わずにEmpower™ 2 ソフトウェアで作成することができます。

(3) さまざまなアプリケーションに対応

Empower™ 2 ソフトウェアでは紫外光検出器や蛍光検出器などで得られるクロマトグラムデータの解析



図1 Empower™ 2と日立HPLCを組み合わせたシステム概観

処理に加え、ダイオードアレイ検出器で得られる3次元データの解析処理も行えます。また、システム適合性試験やGPC解析などを行うオプションも有しており、さまざまなアプリケーションをEmpower™ 2 ソフトウェアひとつでサポート可能です。

(4) 規制遵守

Empower™ 2 ソフトウェアではGMP/GLP/GCPや21 CFR Part11などの規制に適合するシステム構成を簡単に設定することを可能とするシステムポリシー設定インターフェースを備え、システム管理者の負担を軽減します。また各ユーザに適合したセキュリティ/アクセス権を付与する機能、規制要件に適合した変更来歴を自動的に記録するオーデットトレイル機能や電子署名の機能を有し、ユーザの電子記録/電子サインへの規制遵守をサポートします。

(5) ネットワーク対応機能

Empower™ 2 ソフトウェアはシングルのワークステーション(パーソナルライセンスで対応)、小規模なグループで行うネットワーク(ワークグループライセンスで対応)、ラボや企業全体のネットワーク(エンタープライズで対応)など、お客様のニーズに合わせたシステム構成を構築することができます。ネットワークシステム上で運用するとマルチユーザに対して適切なユーザインターフェースを提供でき、データを一括し

てデータベースサーバで管理することが可能となり、ユーザ管理やシステムの生産性を最大限に高めます。

3. 日立LCドライバの特長

(1) Empower™ 2 ソフトウェアと日立LCのシームレスな接続

日立LCドライバはEmpower™ 2 ソフトウェアが装置制御用に提供している汎用インターフェースであるOIP(Open Interface Portal)を利用し、Empower™ 2 ソフトウェアと日立LCシステムのシームレスな接続を実現します。

(2) 日立LCシステムをEmpower™ 2 ソフトウェアから直接制御

日立LCシステムの条件はEmpower™ 2 ソフトウェアで設定可能です。設定された装置条件はEmpower™ 2 ソフトウェアの装置メソッドとして管理されます。条件の設定はユーザフレンドリなグラフィカルユーザインターフェースで簡単に設定可能です。

(3) DADを含む検出器データをEmpower™ 2 ソフトウェアで収集

日立LCシステムの検出器で収集されたデータはデジタルデータとしてEmpower™ 2 ソフトウェアに転送され、Empower™ 2 ソフトウェアのデータとし

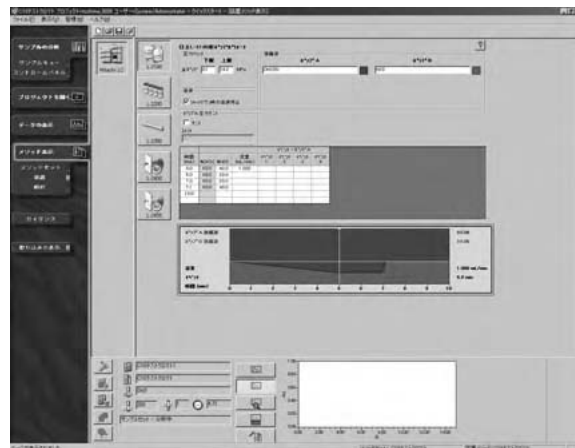


図2 日立LCドライバの装置条件設定画面

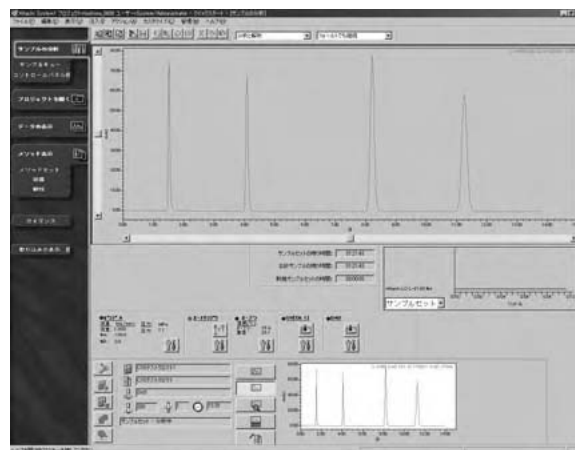


図3 Empower™ 2と日立LCドライバによるデータ収集画面

て管理されます。DADの三次元データを含め、Empower™ 2 ソフトウェアの豊富なデータ解析、データ管理機能をフルに利用可能です。

(4) システムの動作状況をEmpower™ 2 ソフトウェアで確認

接続された日立のLCシステムのユニット動作状況(ステータス)はEmpower™ 2 ソフトウェアのデータ収集画面で確認可能です。圧力遷移データやカラムオープンで収集される室温のデータ、動作エラーなどもEmpower™ 2 ソフトウェアにより管理、保存されます。

(5) Empower™ 2 ソフトウェアの豊富な機能を利用可能

接続された日立ユニットは全てEmpower™ 2 ソフトウェアにより制御されます。ユニットの条件はEmpower™ 2 ソフトウェアの装置メソッドとして管理され、収集されたデータはEmpower™ 2 ソフトウェアのデータとして管理されます。従って来歴管理機能などレギュレーションに対応するさまざまな機能をそのまま利用可能です。また、データ解析用のEmpower™ 2 ソフトウェア用オプションも組み合わせて使用可能です。

4. サポート体制

(株)日立ハイテクノロジーズおよび(株)日立ハイテックフィールドディングはWaters®社より認証を受けており、Empower™ 2 ソフトウェアと日立LCを組み合わせたシステムの導入およびIQ/OQ作業を含めた据付、Empower™ 2 ソフトウェアを運用しておられるお客様への日立LC追加導入、追加導入した装置およびドライバのIQ/OQ作業を含めた据付サポートを提供可能です。

表1 日立LCドライバのサポートユニット

LaChromUltra (LCU)	
種 別	ユニット
ポンプ	L-2160U(イソクラ, 2液高压Gr)
オートサンプラ	L-2200U(冷却ラック含む)
カラムオープン(注)	L-2300(カラムセレクトバルブ含む) L-2350(オプションバルブ含む。タイムプログラム不可)
検出器	L-2400U(UV), L-2420U(UV-VIS) L-2485U(FL), アナログインプットデバイス(AID)
DAD	L-2455U
LaChrom Elite (LCE)	
種 別	ユニット
ポンプ	L-2100(イソクラ, 4液低压Gr, 2液高压Gr) L-2130(イソクラ, 4液低压Gr, 2液高压Gr)
オートサンプラ	L-2200(冷却ラック含む)
カラムオープン	L-2300(カラムセレクトバルブ含む) L-2350(オプションバルブ含む。タイムプログラム不可)
検出器	L-2400(UV), L-2420(UV-VIS), L-2485(FL) L-2490(RI), アナログインプットデバイス(AID)
DAD	L-2455

(注) 既存LCE用のバルブ制御をサポート。LCUの溶媒選択バルブ、カラムセレクトバルブサポートは次期バージョン

* 株式会社日立ハイテクノロジーズ
バイオ・分析システム営業本部 マーケティング部

日立卓上顕微鏡Miniscope®+ 新機能のご紹介

Hitachi tabletop SEM (TM-1000) and some new functions

平島 小百合*

1. はじめに

材料の表面情報を得る手段の一つに走査電子顕微鏡(以下SEM)がある。中でも低真空方式のSEMは、非導電性試料や含油・含水試料の前処理を簡略化し、迅速な観察が可能であるため、研究・検査をはじめとする多くの分野で活用されている。SEMの利用分野の拡大にともない、高性能・多機能なSEMが多く使用される一方で、光学顕微鏡のように身近に置いて手軽に使用・導入できる卓上型SEMの需要も高まっている。そのような需要に応えるため、光学顕微鏡のように使いやすく、低価格で購入しやすいというコンセプトに基づき、観察倍率最高1万倍、低真空観察に限定するなど、最も必要とされる性能・機能を充実させた卓上顕微鏡「Miniscope®」TM-1000を2005年4月に発売した¹⁾。

2007年より、順次Miniscope®に新たな機能を追加し、その適用範囲を広げたので、本解説ではその機能と特長を紹介する。

2. Miniscope®の特長

本装置の主な特長を以下に述べる。

1. 非導電性試料を金属コーティング無しで観察可能
2. 熟練や専門知識を必要とする各種設定を省略し、自動化機能を充実
3. 卓上設置方式で、ユーティリティはAC100V、接地極(アース)付コンセント(5A)のみ
4. 形態観察と組成情報の同時観察
5. ノートパソコンでの操作画面をデジタルカメラのモニター様式に簡易化

図1に卓上顕微鏡Miniscope® TM-1000の装置外観を示す。本体寸法は478mm(W)×564mm(D)×513mm(H)、81.5kgと小型・軽量化を実現している。また、真空排気系はメインポンプとしてターボ分子ポンプ(本体内蔵)、粗引き用にダイアフラムポンプ(外付け)を用いた環境に配慮したドライシステムを採用している。



図1 卓上顕微鏡Miniscope® TM-1000装置

本装置は光学顕微鏡のような使いやすさに近づけるため、試料室真空圧力を低真空(数Pa[標準モード]と数十Pa[帯電軽減モード])に保つ低真空観察法を採用している。これにより試料前処理が省略でき、観察・操作の簡便化が図れる。以下に低真空観察法の原理を簡単に述べる。

2.1 低真空観察法

通常、SEMの試料室は高真空雰囲気となっているため、生物試料のように水分を含み柔らかく壊れやすい試料を観察する場合、観察する前に次のような化学処理を行わなくてはならない。①化学固定(著しい形態や構造の変化が起こらないよう化学的に処理すること)→②脱水(固定が終了した試料中の水分をエタノール・アセトンなどに置換すること)→③乾燥(形状の変化を最小にするため、脱水後の試料を有機溶媒に置換し乾燥させる)。

また、電子線照射時の帯電現象を防ぐために、非導電性試料は金属コーティング(試料表面に薄く金属を被覆させ、導電処理を行う)をする必要がある。このような前処理には時間がかかり、専門知識と熟練度を要する事が多い。また金属コーティングは、X線分析など他の評価の妨げにもなる。

近年、これらの試料前処理を行わずに(または簡略化して)観察できる「低真空観察法」が開発された^{2)~4)}。低真空観察法は、安定した電子線を得るために電子銃・電子線通路を $10^{-4} \sim 10^{-3}$ Pa程度の高真空に保ち、

試料室のみを数Pa~数十Pa程度に設定できる方式である。図2に非導電性試料を高真空中で観察した時の帯電現象とその防止方法(低真空観察法)を示す。通常、高真空中で非導電性試料表面に電子線(Ib)を照射した場合、電子(⊖)は移動できないため(図2-a)のように照射部位にとどまり、照射部位とアース間に存在する静電容量C(コンデンサ)に電荷が蓄積されて電位Vsが変化する。試料表面に多くの電荷が蓄積されるとVsが高い電位となり、入射電子が異常に偏向されて像が不規則に動いたり、異常なコントラストを生じるなどの像障害が生じる。これを帯電現象(または、チャージアップ現象)と呼ぶ。一方、(図2-b)のように試料室を低真空雰囲気にする低真空観察法では、試料に照射される入射電子の一部が残留ガス(Ⓜ) (主に窒素ガス)と衝突してそれを電離($N_2 + e^- \rightarrow N_2^+ + 2e^-$)し、その際に生じた正イオン(Ⓜ⁺)によって試料表面の負電荷が中和され帯電現象が低減される。これにより²⁾非導電性試料も導電コーティングを施さずに観察できる。

また、試料が低真空中に置かれることで、水分の蒸発が抑制されることから、高真空雰囲気での観察に比べて長い時間水分蒸発による形状変化を抑えることができる。

低真空観察を実現するため、検出する信号は、後段

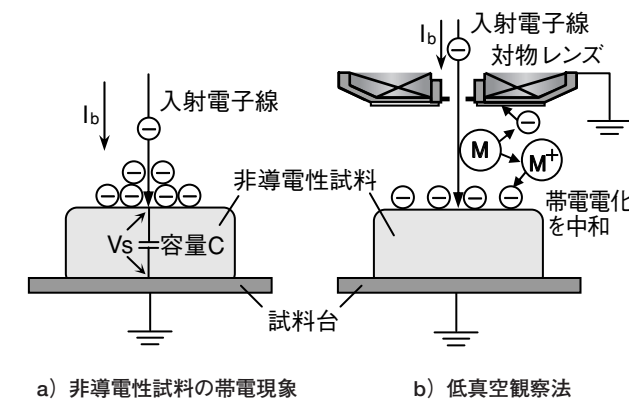
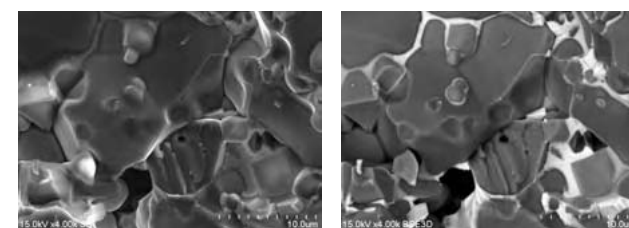


図2 非導電性試料における帯電現象とその防止



a) 二次電子像 b) 反射電子像(組成像)
(試料：ケイ酸塩鉱物、加速電圧：15kV)
(S-3400N*による観察データ：*熱電子放出型SEM)

図3 二次電子像と反射電子像の違い

加速電圧を必要とする二次電子信号ではなく、反射電子信号を用いている。このため、試料の表面形態のみでなく、試料を構成する物質の密度(平均原子番号)を反映した組成像も同時に観察できる(図3-b)。高輝度(白くみえる)部分は低輝度(黒くみえる)部分に比べ重い元素が多く含まれる。高輝度(白)には、ビスマス、中輝度(グレー)には、アンチモン、クロム、マンガンの酸化物、低輝度(黒)には、酸化亜鉛が含まれている。

2.2 応用例

Miniscope®で観察した応用例を示す(画像データ中の「L」は、帯電軽減モード(数十Pa)での観察を示す)。

図4は、食器用スポンジのネット部分を前処理なしで観察したデータである。繊維の束は金属コーティングを施してもコーティングむらがでやすいため、チャージアップしやすい試料の一つである。Miniscope®ではチャージアップせずに観察できている。

図5は、日焼け止め乳液(SPF50)を前処理なしで観察したデータである。SPF(Sun Protection Factor)はUVB(波長200nm~280nm)の防止効果を表しており、SPF値が大きいほど防止効果が高い。このUVBの散乱剤として酸化チタンが使用されている。図で輝度の高い粒子状の部分には重元素であるTiが存在している可能性が高いと考えられる。EDX分析(本解説の3.新機能の紹介「SwiftED-TM」)を使用結果からも、Tiが検出された。

図6はパセリの葉に寄生している「うどんこ病菌」を前処理なしで観察したデータである。菌糸と胞子の状態が明瞭に観察できる。

図7はヤマイモ(生)の断面を前処理なしで観察した

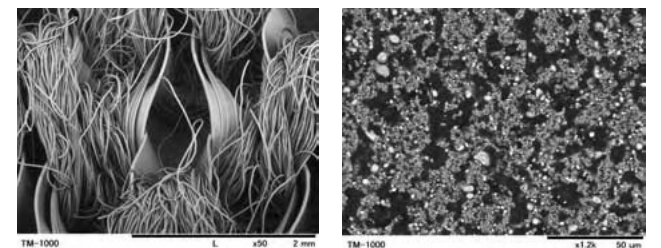


図4 食器用スポンジのネット 図5 日焼け止め乳液(SPF50)

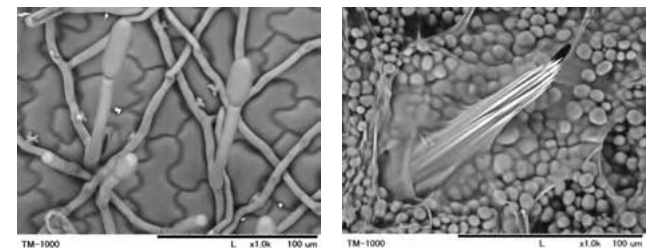


図6 うどんこ病菌 図7 ヤマイモのアク

* 株式会社日立ハイテクノロジーズ 先端製品営業本部 営業技術部

データである。中央の針状結晶はアク(シュウ酸カルシウムの結晶)である。

3. 新機能の紹介

発売当初、本装置は形態観察のみであったが、元素分析や三次元モデル表示・計測など新たな機能を追加したので、以下に紹介する。

◆SwiftED-TM(エネルギー分散型X線元素分析装置(以下EDX))(2007年8月～)

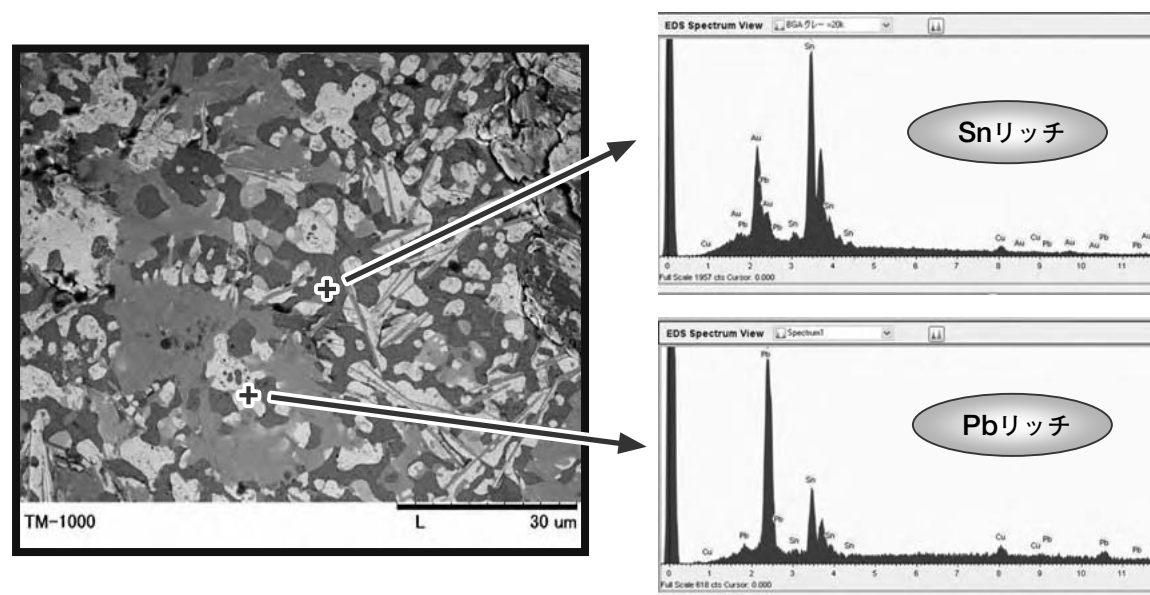
SwiftED-TMはMiniscope®本体に装着して使用するEDX(英国オックスフォードインストゥルメンツ社製)で、Na～Uまでの元素が分析可能である。図8に装置外観を示す。またSwiftED-TMの主な特長を下記に述べる。

1. 卓上で使えるコンパクトサイズ

液体窒素を使用せず、X線検出素子を2段のベルチ



図8 SwiftED-TM装着の本体外観写真



試料：鉛ハンダ(×2.0k)

図9 ハンダの分析例

ェ素子で急速冷却する方式を採用。このため、卓上で使用でき、電源投入後約15分で元素分析が行える。

2. 非導電性試料もコーティング処理なしで分析が可能

低真空方式を用いているため、非導電性試料も金属処理を施さずに分析を行える。

3. ワンモニターで形態観察と元素分析が可能

観察画面と分析画面を並べることで、形態観察しながら元素分析を行える。

図9にハンダの分析例を示した。Miniscope®の画像で輝度の低い部分はSnの含有量が多く、輝度の高い部分はPb含有量が多いことがスペクトルからもわかる。

◆影付観察(2008年12月～)

本装置は検出器が4分割されている高感度反射電子検出器を採用している。発売当初、組成情報が強調された像(図10)のみが観察可能であったが、ハードおよびソフトの改良を行うことで、凹凸のみを強調した凹凸像(図11)や組成情報と凹凸情報を合わせた影付像(図12, 図13)も観察できるようになり、目的に合わせて画像選択できるようになった。

◆3D-VIEW(2009年1月～)

3D-VIEWは3次元表示に必要な反射電子画像取得を行う“3D Image キャプチャー”と3次元表示・計測を行う“3D Image-Viewer”ソフトウェア(図14)で構成されている。前者の“3D Image キャプチャー”

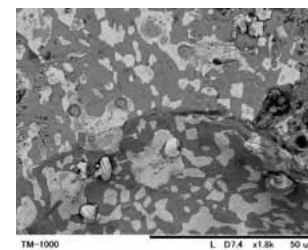


図10 組成を強調した像

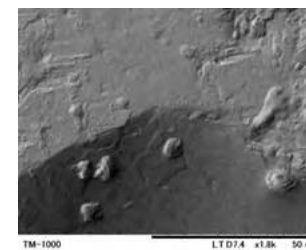


図11 凹凸像

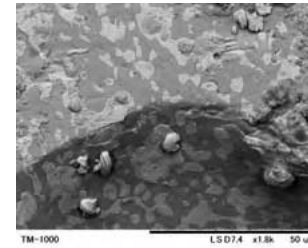


図12 影付1

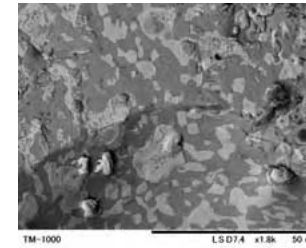
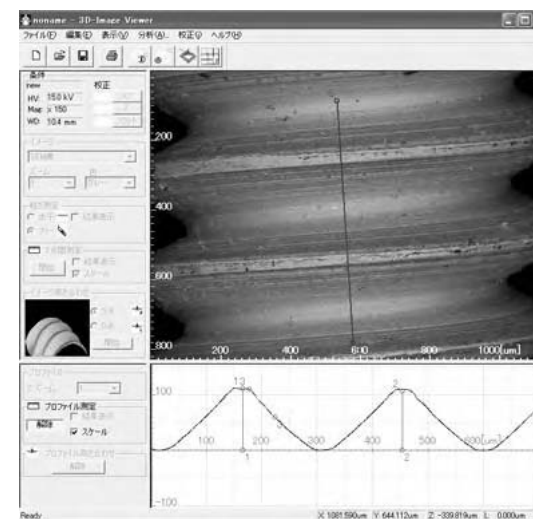
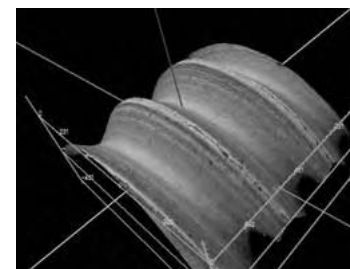


図13 影付2



a) 3D-Image Viewer メイン画面



b) 3次元モデル表示

図14 3D-VIEWの3D-Image Viewer

は、本装置操作画面の専用メニューから実行し、4分割高感度反射電子検出器の各素子を自動的に切り替えて4方向の画像を取得する機能である。このため、試料を傾斜させて視差画像を得る操作が不要なため、視差画像の位置あわせなど熟練を要する難しい操作は必要ない。後者の“3D Image-Viewer”は、PCモニター上で試料の鳥瞰図や3次元モデル表示(図14-b)を行うとともに、試料の高さ・角度・長さなどの測定やプロファイル上での表面粗さ測定を行える。また、表示された3次元画像の回転や傾斜・ズームが可能であり、これらを動画として記録することができる。

4. おわりに

卓上顕微鏡Miniscope®は、最高1万倍までの観察範囲で特に操作性を極めて向上させた低真空専用SEMである。

今回、光学顕微鏡並みに簡単に使える形態観察装置にとどまらず、EDXによる元素分析や画像からより多くの情報(組成情報、凹凸情報、3次元モデルなど)を得ることが可能となった。

身近に置いて気軽に観察できるMiniscope®は、スクリーニングや不良解析装置として、また理科離れをふせぐ教育ツールにと幅広い分野で活用されることが期待される。名古屋大学博物館では本装置の常設展示を行い、子供たちを対象とした観察会を行っている(名古屋大学博物館URL <http://www.num.nagoya-u.ac.jp/index.html>)。

参考文献

- 1) 平根賢一：S. I. News Vol. 48 No. 2 15～17 (2005)
- 2) V. N. E. Robinson：J. of physics E：Scientific Instruments, Vol. 8, 640 (1975)
- 3) G. D. Danilatos：Advances in Electronics Electron Physics, 71, 109 (1988)
- 4) A. N. Farley and J. S. Shah：J. of Microscopy, 158, 3, 379 (1990)

新型自動滴定装置COM-1700シリーズの紹介

New Model Automatic Potentiometric Titrator COM-1700 Series

小滝 修一*

1. はじめに

滴定は容量分析法に分類される古典的測定法であるが、実用的な定量方法として品質管理分析および研究開発に広く使用されている。近年、種々の機器分析法、例えば液体クロマトグラフィーなどの最新鋭の機器分析が採用され、古典的な分析法が軽視される傾向も見られるが、滴定ではビーカ、ビュレット、標準液および指示薬さえあれば誰にでも比較的簡単に測定できることから、飲料水の硬度、食品中の塩化物イオン、メッキ中の金属イオンおよび石油化学の定量分析などあらゆる分野に使用されている。

滴定は、一般に指示薬を用いた目視による終点検出によって行われるが、測定者による個人誤差をとまなうことが多い。一方、自動滴定装置では電気化学センサを用いた終点検出と高精度な電動ビュレットを用いて測定を行うため、個人誤差のない高精度な測定が可能となる。

このたび、既販の自動滴定装置COM-1600の機能を飛躍的に向上させた自動滴定装置COM-1700シリーズを開発したので紹介する。

2. 自動滴定装置COM-1700シリーズの構成と特長

自動滴定装置は大別して操作キーおよび測定結果を表示または印字する機能を有する演算制御装置(以下滴定装置本体)、本体の制御によって稼動するビュレットおよび試料と標準液を攪拌し滴定を実行するスターラで構成されている(図1参照)。

滴定装置本体は、従来のCOM-1600と比較して5.6インチのカラー液晶とキーパネルの構成を7.5インチのカラータッチパネルへ変更し、画面の見やすさと操作性を向上させた。さらにUSBメモリの対応および58mm幅感熱紙タイプのプリンタを標準内蔵仕様としながら小型化した。また、オプションの装置を追加することにより、同時に4種類滴定ができるようになった。

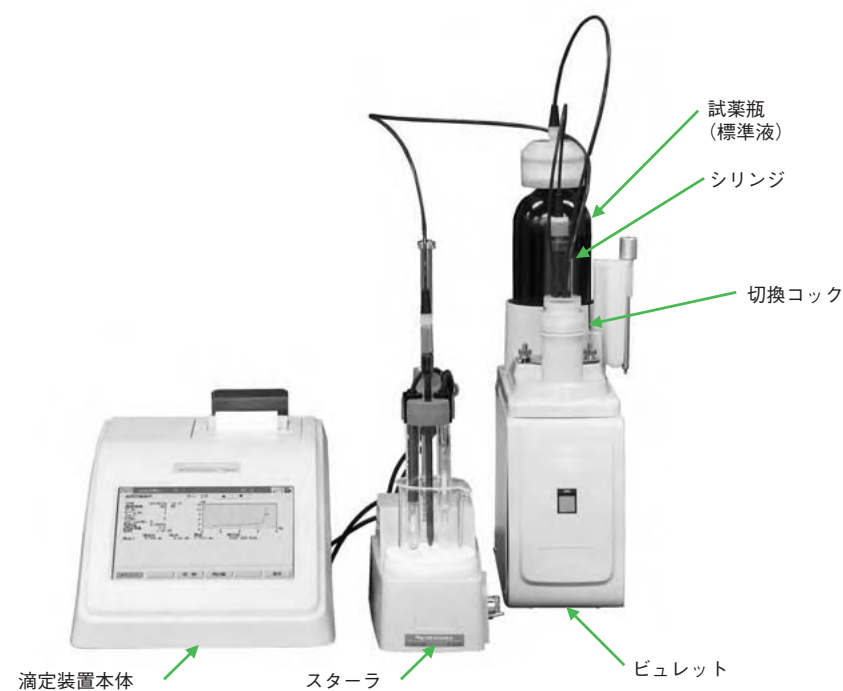


図1 自動滴定装置の原理構成

* 平沼産業株式会社 設計部

ビュレットはシリンジの長寿命化と標準液交換作業性を大きく改善した。以下に改良した内容を説明する。

3. ビュレットの特長

(1) ビュレットの原理

ビュレットは図2のように、ステッピングモータによりギヤを介して送りねじを回転させることによりプランジャを上下に移動させる。切換コックは、シリンジより試薬瓶(標準液：以下標準液)またはビュレットチップ側に流路を切り換える。プランジャが下方へ移動するときは、切換コックを標準液側へ流路を切り換えてシリンジ内に標準液を充填させる。プランジャが上方へ移動するときは、切換コックをビュレットチップ側へ流路を切り換えてシリンジ内の標準液をビュレットチップより一定量吐出させる。この吐出量は滴定装置本体よりステッピングモータを制御することにより行う。

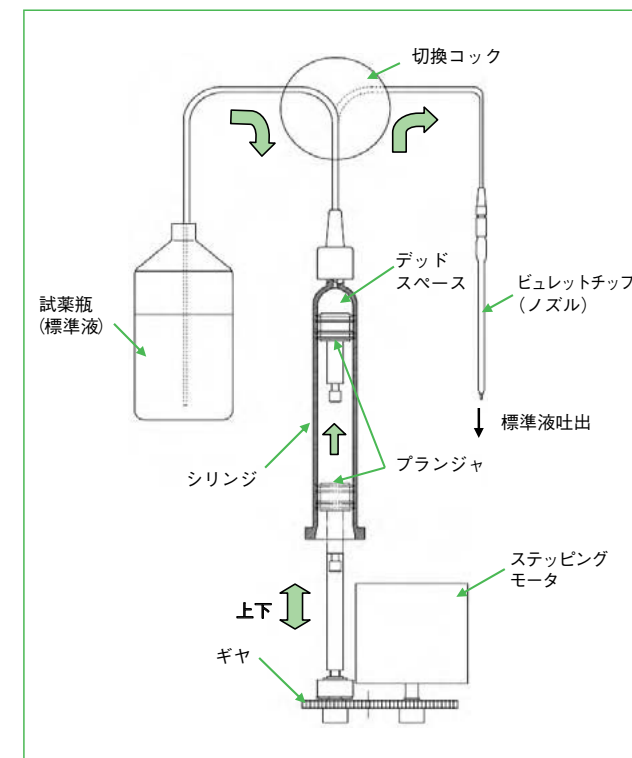


図2 ビュレットの原理

(2) 従来のビュレット

従来のビュレットは図3のように測定終了後のプランジャ待機が下限位置で固定されている状態、つまり標準液がシリンジ内に充填されている状態であったため、シリンジが標準液による影響を受けて寿命が短くなることがあった。一般的な標準液には高アルカリ性試薬や過マンガン酸カリウムなどがあり、高アルカリ性試薬の場合はガラス溶解によるシリンジ(ガラス製)の内壁表面侵食、過マンガン酸カリウム場合は、分解生物である二酸化マンガがシリンジ内壁に強く付着

する。この状態でプランジャがシリンジ内を上下移動するとプランジャは磨耗し、液漏れの原因となっていた。

また、従来のビュレットは図2のようにシリンジ上部にデッドスペースがあり、標準液交換するには、ビュレットよりシリンジを取り外した後、図4のように押し棒を取り付け、プランジャを移動させて吸引および吐出を数回繰り返す作業が必要であった。

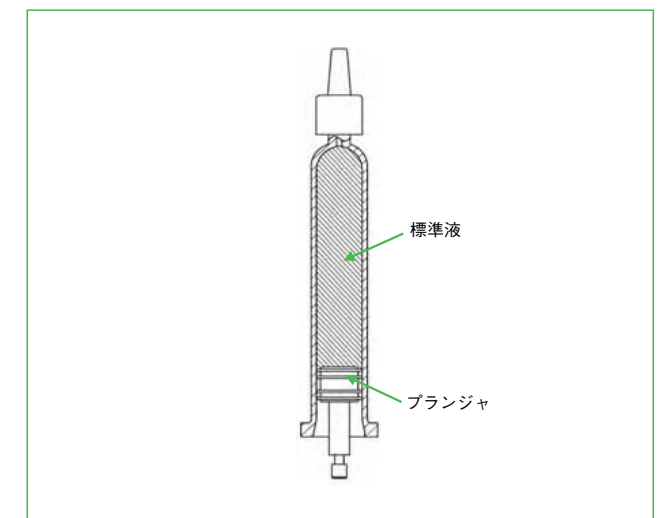


図3 従来シリンジの待機状態

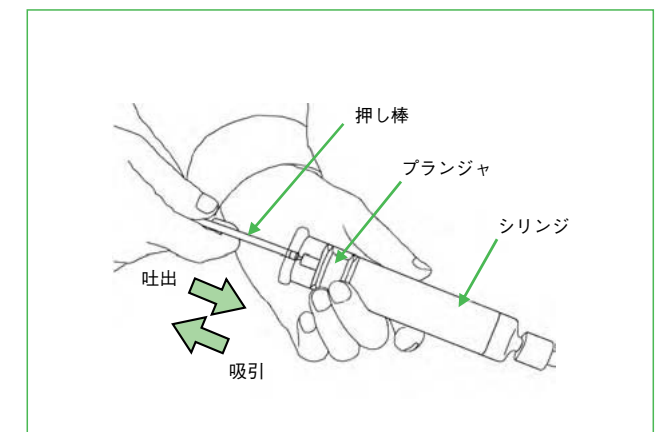


図4 従来シリンジの標準液交換

(3) 新形ビュレット

新形ビュレットのシリンジは、図5のようにヘッド部形状が円錐状であるプランジャに合わせたシリンジヘッド部形状とし、従来のようなシリンジ上部に大きなデッドスペースがない構造とした。そのため、以下の従来シリンジの欠点を大きく改良することができた。

1) プランジャ上限位置待機によるシリンジ長寿命化

新ビュレットは、測定終了後にプランジャを上限位置に待機させることができるようにして、シリンジ長寿命化を図った(図5参照)。

シリンジ内の標準液はシリンジヘッドとプランジャヘッド間のわずかな残量標準液だけになり、従来シリ

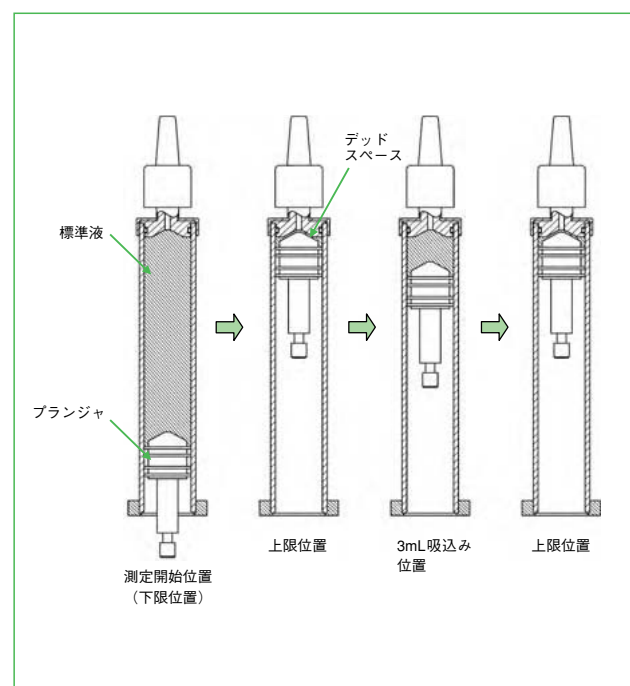


図5 新シリンジ

ンジのような標準液によるシリンジの内壁表面侵食および固着が抑えられ、結果的にシリンジの長寿命化が実現した。

2) 試薬交換作業の飛躍的な向上

新形ビュレットは、シリンジを取り外しての吸引、吐出作業が一切不要になり、シリンジ内標準液の交換作業を飛躍的に向上させることができた。

ビュレットに装着した状態で試薬瓶の標準液を交換し、キーを押すだけで自動で上限位置に移動してその位置からプランジャを一定量の上下移動を設定回数繰返すことにより標準液を交換することが可能となった(図5参照)。

ここで、新シリンジ内の標準液交換試験を行った結果を下記に示す。

【測定条件】

弊社標準の新ビュレットB-1700-20(20mLシリンジ)を使用して、シリンジ内に純水が充填されている状態から、1M塩酸標準液にシリンジ内およびビュレットチップまでの流路を置換する。

プランジャの上下1回往復移動させたときのビュレットチップから吐出した塩酸を1mL分取し、0.1M水酸化ナトリウムで滴定した結果を図6に示す。

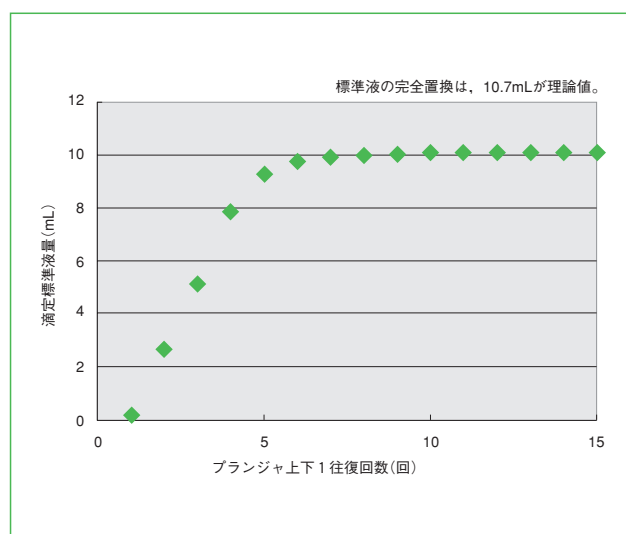


図6 測定結果

5. まとめ

新型自動滴定装置COM-1700シリーズは、本体のカラータッチパネルの採用、USB対応や感熱プリンタの標準装備など仕様充実を図り、またビュレットは従来品と比較して作業性や使いやすさの向上を図りながら小型化した製品である。その他ソフト面でも、従来品と比較して向上させた自動滴定装置となっており、手分析からの自動化の促進や買い替えなどに最適な装置である。今後も顧客満足向上をめざし開発を進める。

学会発表 ミニファイル

1. 日本分析化学会関東支部若手の会(2008/6/30～7/1 東京)

佐々木(日立ハイテクノロジーズ)他：超高速LCを用いたキノロン剤分析の高速化

2. 日環協関東支部セミナー(2008/7/3～4 栃木)

山本(日立ハイテクノロジーズ)他：ジフェニルカルバジドとノビアス固相充填カラムを前処理に用いるRoHS関連試料中6価クロムの高感度分析

【要旨】近年RoHS指令に対応するため、表面処理に多く用いられてきた6価クロムを使用する「クロメート被膜処理品」に代わって、毒性の少ない「3価クロム化成被膜処理品」が主流となってきている。そこで、3価クロム化成処理品の沸騰水抽出液に含まれる微量の6価クロムを高感度に測定する手法を開発した。微量の6価クロムをジフェニルカルバジドの錯体とし逆相系固相充填カラムノビアスRP-OD1(日立ハイテクノロジーズ)に抽出し、溶出液をU-1900形日立分光光度計やZ-2010形日立偏光ゼーマン原子吸光光度計により測定することで、微量6価クロムを定量する手法を開発した。

表 3価クロム化成処理品中6価クロムの測定結果

試料名	Abs.	抽出液中 Cr(VI)濃度 ($\mu\text{g/L}$)	Cr(VI)濃度 面積換算値 ($\mu\text{g/cm}^2$)	回収率 (%)
blank	0.000	ND	—	—
サンプル1(鉄3価黒色クロム化成処理品)	0.012	2.3	0.005	—
サンプル1+Cr(VI)10 $\mu\text{g/L}$	0.066	12.2	—	99.4
サンプル2(アルミ3価クロム化成処理品)	0.004	0.7	0.001	—
サンプル2+Cr(VI)10 $\mu\text{g/L}$	0.061	11.3	—	105.7
サンプル3(アルミ上のクロメート処理品)	0.009	1.6	0.003	—
サンプル3+Cr(VI)10 $\mu\text{g/L}$	0.064	11.8	—	102.0
サンプル4(鉄ねじ3価クロム化成処理No.1)	0.135	25.0	0.050	—
サンプル4+Cr(VI)10 $\mu\text{g/L}$	0.189	34.9	—	99.1
サンプル5(鉄ねじ3価クロム化成処理No.2)	0.072	13.3	0.027	—
サンプル5+Cr(VI)10 $\mu\text{g/L}$	0.128	23.7	—	104.8

3. 第35回BMSコンファレンス(2008/7/6～9 福島県)

鈴木(日立ハイテクノロジーズ)他：新型NanoFrontier eLDの紹介(企業新技術発表)

【要旨】新型NanoFrontier eLDは、日立グループが開発したハイスループットな小型電子捕獲解離(Electron Capture Dissociation: ECD)デバイスQuECD®を搭載している。

ECDは従来のCIDでは苦手とされていた糖鎖付加やリン酸化などの修飾部位の同定を容易にすることができる。図は、配列中に3つのチロシン残基を含むーリン酸化および二リン酸化ペプチドの

ECDスペクトルである。スペクトル情報からそれぞれのペプチドのリン酸化を受けているチロシン残基を同定できていることがわかる。ECDによる解離ではリン酸基がアミノ酸上に保持されているため、このペプチドのようにリン酸化を受ける部位の候補が複数ある試料においても修飾部位を同定できる。さ

らに、検出系のTOF/MS部の改良による測定分解能の向上と、測定スループットの向上によって、より信頼性の高いデータを取得できるようになった。これらによりNanoFrontier eLDは低分子試料の測定からプロテオーム解析における新たな情報の取得等、幅広い分野に利用可能となった。

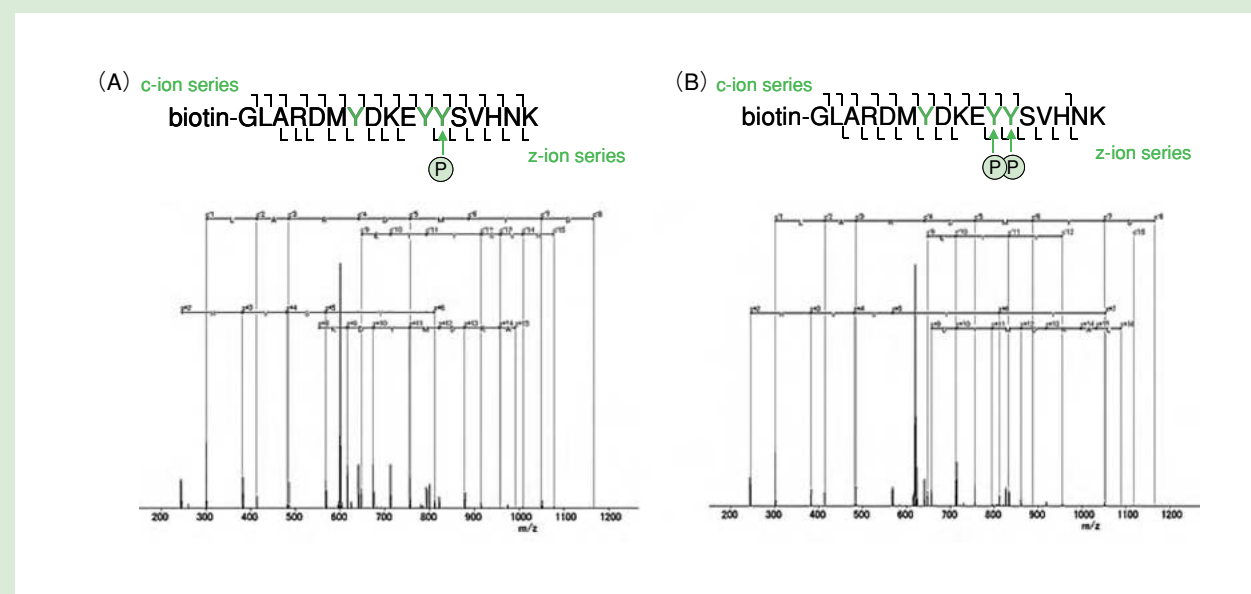


図 配列中に3つのTyr残基を持つリン酸化ペプチド(A)と二リン酸化ペプチド(B)のECDスペクトル

4. 日本分析化学会第57年会(2008/9/10~12 福岡県)

坂元(日立ハイテクノロジーズ)他：紫外線照射による有機ヒ素化合物の分解挙動の検討 —その2—

【要旨】水素化物発生/原子吸光法を用いて全ヒ素を分析する場合、水素化物を生成しないヒ素成分(アルセノベタインなど)を含有する試料は分析結果が低値を示す。これを抑制するには、ヒ素の化学形態を水素化物が生成する形態にあらかじめ統一する必

要がある。そこで、前処理法として紫外線照射法を取り上げ、ヒ素化合物の分解に関する検討を行った。今回は酸化試薬と共存させる水酸化ナトリウム濃度などを詳細に検討した。検討は、HPLC-水素化物発生-偏光ゼーマン原子吸光光度法により行った。

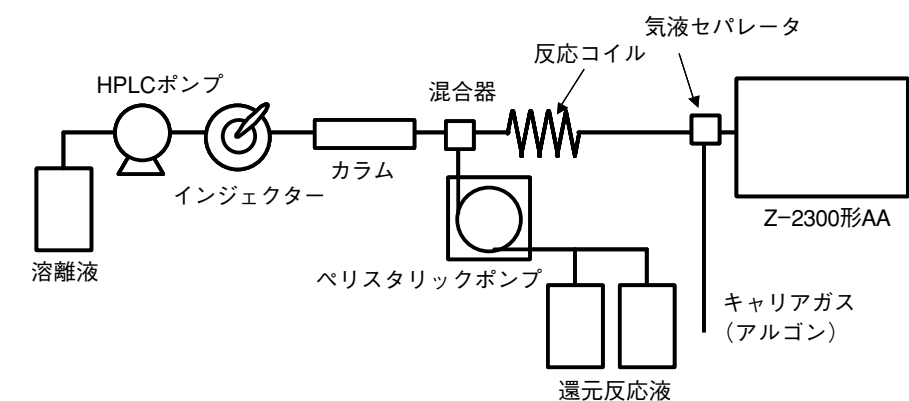


図 HPLC-水素化物発生-偏光ゼーマン原子吸光光度計のシステム

米谷(日立ハイテクノロジーズ)他：水素化物発生法における砒素の前処理の検討

橋本(日立ハイテクノロジーズ)他：電子捕獲解離(Electron Capture Dissociation)を用いたリニアイオントラップ飛行時間型質量分析計によるペプチド解析

堀込(日立ハイテクノロジーズ)他：分光蛍光光度計を用いた絶対法による蛍光量子収率測定方法の検討

井上(日立ハイテクノロジーズ)他：陽イオン交換樹脂を用いた植物由来遊離アミノ酸一斉分析法の検討

5. 第214回液体クロマトグラフィー研究懇談会例会(2008/7/18 千葉県)

小林(日立ハイテクノロジーズ)他：新しい高速ECD技術 QuECDの特長と分析例

6. 第19回新薬創製談話会(2008/9/16~17 京都府)

渡邊(日立ハイテクノロジーズ)：最新のメタボローム分析技術およびタンパク質分析技術に関して

7. 東京コンファレンス(2008/9/3 千葉県)

河原井(日立ハイテクノロジーズ)他：絶縁油中の低濃度PCBs分析におけるHPLCクリーンアップ法の検討

鈴木(日立ハイテクノロジーズ)他：超高速LCを用いたキノロン剤の高速分析

8. JAIMAコンファレンス(2008/9/5 千葉県)

山本(日立ハイテクノロジーズ)他：ジフェニカルバジドとノビアス固相充填カラムを前処理に用いるクロマト被膜中の6価クロム高感度分析

液体クロマトグラフ質量分析計／超高速液体クロマトグラフ アプリケーションノートミニファイル

日立ハイテックが発行している液体クロマトグラフ質量分析計，および超高速液体クロマトグラフの“アプリケーションデータシート” の紹介です。

題目	nanoLC/ESI-LIT-TOF MSを用いた定量的プロテオミクスによる卵巣癌由来培養細胞のタンパク質発現解析		
機種	液体クロマトグラフ質量分析計 NanoFrontier LD		
シートNo	NF/AN-013	発行日	2008年 3 月
要約	質量分析法によってタンパク質の発現プロファイルの定量的な比較を行うためには，安定同位体による標識を行い，同位体ピークの比より試料間の存在比を定量するなどいくつかの方法が確立されています。安定同位体を用いる方法は，変動を非常に鋭敏に検出できますが，試料によってはその前処理操作による誤差が問題となることがあります。また，標識試薬は高価で，一般にやや煩雑な操作を要します。本稿では，新しいユーティリティーを用いて，試料を標識なしで分析したマスキロマトグラムからペプチドあるいはタンパク質の存在量を定量し，発現差異解析を行った例について紹介します。		

題目	タンパク質リン酸化解析へのアプローチ		
機種	液体クロマトグラフ質量分析計 NanoFrontier LD		
シートNo	NF/AN-014	発行日	2008年 4 月
要約	3 種類の固定化プロテアーゼ(トリプシン,LysC,V8)を用いて消化した試料をそれぞれMS測定し，解析結果を組み合わせたところ，タンパク質同定におけるカバー率は向上しました。また，汎用的なトリプシン消化では検出できなかったリン酸化ペプチドが検出可能となりました。本稿では，MSでの構造解析における複数プロテアーゼの有効性について紹介します。		

題目	電子捕獲解離を用いたリン酸化プロテオーム解析		
機種	液体クロマトグラフ質量分析計 NanoFrontier eLD		
シートNo	NF/AN-015	発行日	2008年 3 月
要約	ペプチドおよびタンパク質の修飾部位を決定するためには分子を解離させてその生成イオンを検出するタンデム質量分析法が有効です。一般的には不活性ガスとの衝突で得られる衝突誘起解離(CID)法が使用されていますが，修飾基の脱離が優先してしまい修飾部位を決定することが困難です。本稿では，新しい解離法である電子捕獲解離(ECD)法を搭載したNanoFrontierを用いて，リン酸化プロテオーム解析におけるECDの有効性を検証したので，それについて紹介します。		

題目	日立ナノフロー HPLCのご紹介		
機種	NanoFrontier nLC		
シートNo	NF/TN-002	発行日	2008年 7 月
要約	NanoFrontier nLCは，ナノ流量で高精度かつ安定したグラジエント送液を実現したナノフロー HPLCです。日立独自のDEGS(Dual Exchange Gradient System)を採用し，MSと組み合わせることで，微量な生体成分などを高感度かつ高精度に分析可能になりました。本稿では，NanoFrontier nLC の原理と特長，そして応用例について紹介します。		

詳細の情報は下記のアドレスにアクセスいただければ，ご覧いただけます。
http://www.hitachi-hitec.com/science/apli/apli_ms.html

9. 第5回茨城地区分析技術交流会(2008/10/31 茨城県)

出口(日立ハイテクノロジーズ)：液体クロマトグラフィー質量分析(LC-MS)による糖鎖，糖ペプチド分析
三浦(日立ハイテクノロジーズ)他：水素化物発生法におけるヒ素の前処理方法の検討
井上(日立ハイテクノロジーズ)他：植物由来遊離アミノ酸一斉分析法の検討
橋本(日立ハイテクノロジーズ)他：電子捕獲解離(Electron Capture Dissociation)を用いたリニアイオントラップ飛行時間型質量分析計によるペプチド解析

10. China-Japan-Korea Symposium on Environmental Analytical Chemistry (2008/11/2～5 中国)

Yong Tian(Northeastern University他)他：Arsenic speciation with high performance liquid chromatography hyphenated to hydride generation atomic absorption Spectrometry
Gui-Lan Huang(Tsinghua University他)他：Optimization of the separation of steroid hormones on an ultra high-speed liquid chromatographic system by using uniform design

11. Separation Sciences 2008

河原井(日立ハイテクノロジーズ)他：メタクリレート系逆相充填剤を用いた絶縁油中PCB分析法の検討
井上(日立ハイテクノロジーズ)他：陽イオン交換樹脂を用いたS-メチルメチオニンスルフォニウムおよびテアニンを含む遊離アミノ酸一斉分析法の検討

12. The 33rd International Symposium on High Performance Liquid Phase Separations and Related Techniques(2008/12/2～5 京都)

松崎(日立ハイテクノロジーズ)他：Comparison of detection methods for analysis of saccharides by HPLC

【Summary】 Reflective index (RI) detector and some derivatization methods have been generally used for analysis of saccharides with high performance liquid chromatograph (HPLC) because saccharides have neither UV chromophores nor fluorescence. Though RI detection is a convenient method, it is sometimes not satisfactory in terms of low sensitivity, incompatibility with gradient elution and frequent requirement of preparative separation. A new universal detector, charged aerosol detector (CAD) has been recently developed and it offers high sensitivity and compatibility with gradient elution. On the other hand, post-col-

umn derivatization methods realize specific selectivity, high sensitivity and reproducibility because of selective reaction of target compounds and reagents after column restricting influences of contaminants. We applied the phosphoric acid-phenylhydrazine method as derivatization for analysis of saccharides.

We studied RI, CAD and post-column method for analysis of saccharides. Detection limits of sucrose standard were 450ng with RI; 3.3ng with CAD ; and 4.5ng with the post-column method. Application data of saccharides in foods with each detectionmethod will be presented.

13. 31回日本分子生物学会年会・第81回日本生化学会合同大会(2008/12/9～12)

橋本(日立ハイテクノロジーズ)他：電子捕獲解離(Electron Capture Dissociation)を用いたリニアイオントラップ飛行時間型質量分析計によるタンパク質及びペプチドの解析

テクニカルデータ発行ミニファイル (バックナンバー紹介)

日立ハイテックが製品別に発行しているアプリケーションデータシート“TECHNICAL DATA”のご紹介です。

題目	超高速液体クロマトグラフ “LaChromUltra” のご紹介		
機種	超高速液体クロマトグラフ LaChromUltra		
シートNo	LC/AN-001	発行日	2008年9月
要約	超高速液体クロマトグラフ「LaChromUltra」は、高いパーミアビリティのカラムを搭載することにより、移動相の送液圧力が比較的低い分析条件で運転することができる超高速液体クロマトグラフです。汎用の分析から高圧力の分析までの高い運転信頼性が確保されており、高分離分析から高速分析まで幅広く適応できます。粒径2 μ m充填剤を用いる高性能カラムの能力を最大限に引き出すため、システム最大圧力を60MPaに強化し、検出・収集スピードを10msまで高速化するなど各モジュールの性能を向上することにより、従来の液体クロマトグラフでは到達し得なかった高速・高分離性能を実現しました。		

題目	固相抽出を前処理に用いる3価クロム化成処理品に含まれる6価クロムの吸光光度分析 Analysis of Cr(VI) in Trivalent Chromate Coating Film by diphenylcarbazine method with solid phase extraction		
機種	U-1900形日立レシオビーム分光光度計、U-2900/2910形日立ダブルビーム分光光度計、U-3900/3900H形日立分光光度計 Model U-1900 Ratio Beam Spectrophotometer, Model U-2900/2910 Double Beam Spectrophotometer, Model U-3900/3900H Spectrophotometer		
シートNo	UV-VIS No.144	発行日	2008年12月
要約	近年RoHS指令に対応するため、表面処理に多く用いられてきた6価クロムを使用する「クロメート皮膜処理品」に代わって、毒性の少ない「3価クロム化成皮膜処理品」が主流となっています。この防錆皮膜に含まれる6価クロムは沸騰水により抽出し、ジフェニルカルバジド吸光光度法にて測定されます。しかし、含有する6価クロムは微量であり、これを定量するために高感度分析法の必要性が高まっています。 そこで、3価クロム化成処理品の沸騰水抽出液に含まれる微量の6価クロムを高感度に測定するため、固相抽出を前処理に用いる高感度分析法を検討しました。微量の6価クロムをジフェニルカルバジドの錯体とし逆相系固相充填カラムNOBIAS RP-OD1E(日立ハイテクノロジーズ)に抽出し、溶出液をU-1900形日立分光光度計により測定することで、微量の6価クロムを定量できます。今回は簡便に測定を行うことが出来るよう簡易試薬：水質測定試薬セットNo.31 LR-Cr6+(共立理化学研究所)をジフェニルカルバジド試薬として用いました。		

題目	バイオディーゼル燃料(BDF)混合軽油中の脂肪酸メチルエステルおよびトリグリセリドの測定 Analysis of Fatty acid methyl ester and Triglyceride in Bio Diesel Blended Fuel		
機種	L-2000形日立超高速液体クロマトグラフ Model L-2000 Series High Performance Liquid Chromatograph		
シートNo	LC No.203	発行日	2008年11月
要約	近年、注目されているバイオディーゼル燃料(BDF)は、食用油や廃油にメタノールを加え、メチルエステル化し軽油に近い物性に変換したもので、主にディーゼル車に使用される燃料です。精製が不十分であるとトリグリセリドが残留し、自動車部品の耐久性低下や部材の劣化につながることから、その品質管理上主成分の脂肪酸メチルエステル(Fatty Acid Methyl Ester; FAME)およびトリグリセリド(TG)の含有量を把握することが重要です。経済産業省では、石油以外の新燃料に対応するため、軽油規格を改正し、FAMEおよびトリグリセリドの含有量規格を設けました。規格値は、FAMEは、5質量百分率以下、トリグリセリドは、0.01質量百分率以下です。試験方法には、HPLC-RI検出法が採用されています。 ここでは、告示法に準拠しFAMEおよびトリグリセリドを測定した例を紹介します。また、BDF混合軽油の測定に応用した例も紹介します。		

題目	超高速液体クロマトグラフを用いたキノロン剤の分析 Analysis of Quinolone Antibacterials by Ultra High-Speed Liquid Chromatograph		
機種	日立超高速液体クロマトグラフ Hitachi Ultra High-Speed Liquid Chromatograph		
シートNo	LC No.204	発行日	2008年12月
要約	キノロン剤は動物用医薬品として畜水産物に用いられる合成抗菌剤ですが、多量の投与や出荷直前の投与によって食品に残留してしまうことがあります。輸入した水産加工食品からキノロン剤の一種であるエンロフロキサシンなどが検出された事例がありました。これらを受けて、厚生労働省はキノロン剤11成分が食品に残留していないかどうかを検査する方法(食安発第1130004号)を通知しています。 今回は超高速液体クロマトグラフを用いて、これらキノロン剤11成分の高速分析を行いました。通知法と比較して、測定時間を約1/4に短縮することができましたのでご紹介します。		

ここでご紹介しているアプリケーションデータの詳細をご希望の場合は下記のアドレスよりお申込みいただき、S.I.navi(会員制サイト)にご入会いただければ直接インターネットで参照することができます。

<http://www.hitachi-hitec.com/sinavi/>

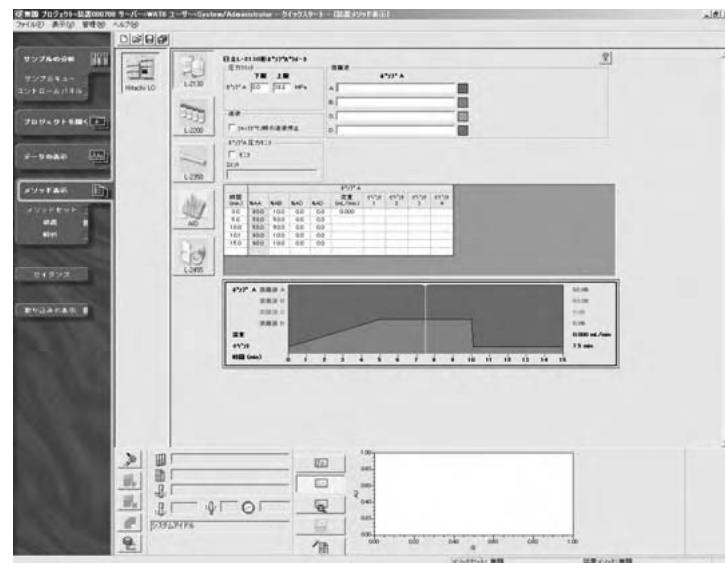
新製品紹介

NEW PRODUCTS

Waters® Empower™2対応 日立HPLCドライバ発売

Waters®社クロマトグラフィデータソフトウェア Empower™2より日立HPLCシステム LaChromUltraおよびLaChrom Eliteの制御が可能となりました。Empower™2上より分析条件の設定や装置制御が可能であり、DADを含む検出器データはデジタル信号として、Empower™2に取り込むことが可能です。

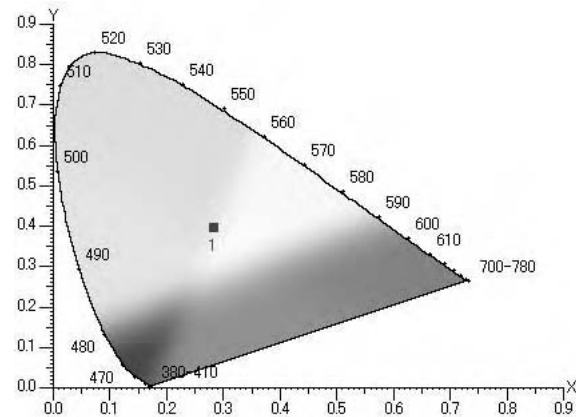
これにより、Empower™2が持つ豊富なデータ処理機能に加えて、製薬メーカー等で要求されている装置条件やデータの来歴管理機能などレギュレーション対応機能について有効活用することができます。



色彩分析ソフト

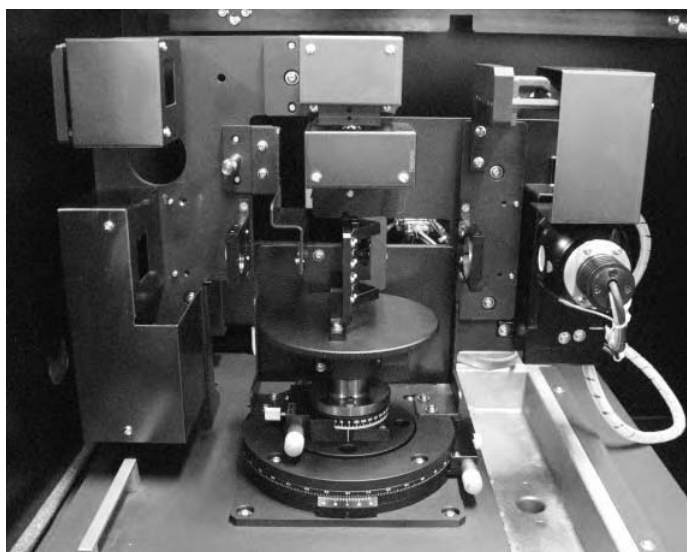
色を評価する場合、目で見える方法もありますが一様な評価は困難です。そこで数値化を行って評価する必要があります。その数値化は紫外可視分光光度計で反射率や透過率を測定し、現在発売中のオプションパッケージプログラム(色彩モード)を使用し可能です。本プログラムでは、数値だけでなく、さらに色度座標のどの位置になっているかを表示することができるプログラムです。色度座標は右図のようなXYZ系だけでなく、L*a*b*表色系、ハンターLab表色系でも表示することができ、どの色の試料が視覚的にもわかります。

本プログラムの対応機種：U-4100, U-3900



U-4100 ACC ラインアップの充実

U-4100形分光光度計は主に液晶や携帯電話などAV機器の部品や各種光学素子評価に使用されています。試料は大きさ・形状が多種多様です。それに応じて、いろいろな測定要求があります。そこで、従来ACCに加え、特に要望が多い右記の付属装置を発売いたします。



- ・液晶用プロジェクタや照明器具の反射特性評価用に3.5mm角までの微小試料の角度を変えて(20~60度)測定できる微小試料用角度可変絶対反射付属装置
- ・DVDやブルーレイなどの使用されているピックアップレンズやカメラ付携帯電話用レンズなどの透過率測定用に微小サンプル透過付属装置
- ・液晶テレビなどの偏光試料測定用の偏光試料ホルダー
- ・固体試料だけでなく、液体試料も低ノイズで測定可能な検知器付属装置など



株式会社日立ハイテクノロジーズ

北海道支店	札幌	(011) 707-3347	本社(サポートセンタ)	東京	(03) 3504-7211	四国営業所	高松	(087) 814-9911
東北支店	仙台	(022) 264-2219	中部支店	名古屋	(052) 219-1881	中国支店	広島	(082) 221-4511
筑波支店	土浦	(029) 825-4801	関西支店	大阪	(06) 4807-2511	九州支店	福岡	(092) 778-3005
			京都営業所	京都	(075) 241-1591			

分析機器に関する各種お問い合わせは…

お客様サポートセンタ 電話(03)3504-7211

受付時間 8:50~11:50 12:45~17:30(土・日・祝日および弊社休日を除く)

本ニュースは会員制情報検索サイト「S.I.navi」でもご覧になれます。

ご入会は無料ですので、下記URLにアクセスください。

<http://www.hitachi-hitec.com/sinavi/>

＜編集後記＞

世界同時の信用不安に端を発した経済不況で、閉塞感が蔓延しています。一方で、これまでのシステムの変革の好機と捉える、前向きな動きも多く聞かれます。

身近な話題として、食品分野でも、残留農薬、食品偽装等に象徴されるように、信頼が崩れかけていると感じられます。この信頼の回復に向けて、内閣府に設置された「食の安全委員会」の活動など、積極的な施策も展開されてきています。「食の安全」に代表される広い分野での信頼性の確保に対して、計測はその根拠を担保する重要な役割を担っています。

弊誌では、信頼性をより高める計測に関する情報をさらに充実していきたいと考えております。本号では、食、健康、各種材料

に関する報文、解説等を掲載しました。各分野でご参考になれば幸いです。今後もより、皆様のお役に立つ情報のご提供に努めて参りますので、ご意見、ご提案等お寄せいただきたく、御願いたします。

私事になりますが、今回を持ちまして、編集人を退任いたします。2年という短期間ではありましたが、この間弊誌をご愛読戴き、厚く御礼申し上げます。(望月 記)

■インターネットホームページ

URL: <http://www.hitachi-hitec.com/science/>

■本ニュースに関するお問い合わせは、右記、または、(株)日立ハイテクノロジーズの上記各事業所へご連絡ください。

○(株)日立ハイテクノロジーズ 事業管理部

〒105-8717 東京都港区西新橋1-24-14

電話(03)3504-7811 FAX(03)3504-7756

○(株)日立ハイテクノロジーズ

那珂アプリケーションセンタ

〒312-0057 茨城県ひたちなか市石川町11-1

電話(029)354-1970(代)

HITACHI SCIENTIFIC INSTRUMENT NEWS

March, 2009 VOL. 52 No. 1

発行 2009年3月16日

編集人 望月 康平

発行人 岡田 務

発行 株式会社日立ハイテクノロジーズ

〒105-8717

東京都港区西新橋1-24-14

電話(03)3504-7811(ダイヤルイン)

印刷 日立インターメディアックス株式会社