

巻頭言

環境エネルギー革命と分析機器

Revolution on Environment & Energy
and its Concerned Analytical Instruments



早稲田大学 理工学術院 教授
工学博士

逢坂 哲彌

環境関連でCO₂などの温室効果ガスの排出削減が地球規模の重要課題であり、新政権での鳩山首相の演説では1990年比で25%の削減目標が出されている。これに関連して、自動車は今までの動力源のガソリンを使用したエンジンから電池を用いたモーターへの大きな変換を迫られている。まずは、トヨタ自動車がHEV (Hybrid Electric Vehicle) を世に出し、エンジンと蓄電池により燃費性能を向上させ環境への貢献を果たしてきている。この延長線上で、プラグインHEVやピュアEVへの転換が世の中の環境への配慮要求が高まっているため強く求められており、EVのためのより効率的な電池の開発が加速されている。いま蓄電池が自動車産業のキーデバイスの一つとなる時期に差しかかっている。トヨタ自動車はまずはニッケル水素電池でHEVを実現してきたが、次世代のEVの実現にはエネルギー密度がより高いリチウムイオン二次電池の使用が必須と考えられ、各社その開発に全力を挙げている状況である。自動車用動力源としての蓄電池

となるとその投資額も大きくなり、各社社運を賭けた取り組みとなっていることを窺い知ることができる。

リチウムイオン二次電池の採用は、そのエネルギー密度の高さだけではなく、長期安定性や充放電のスペックの可変性——即ち用途に応じた電池特性の調整が可能であること——という魅力から検討されている。今後の電池によって起こる社会的な変革としては、まずはリチウムイオン二次電池の安全性確保により自動車用電源として蓄電池が社会的にさらなる重要な位置を占めるようになり、さらには大型発電電源に関連した、マイクログリッド、スマートグリッドという太陽電池等の自然エネルギー利用による電力システムの展開のために蓄電池の利用の拡大が控えている。この状況のイメージを図に示しているが、今後は、自動車用電源のみならず、自然エネルギーを使いこなすこのようなターゲットをも含めた電池開発が重要であり、まさに電源の産業革命的な時期の幕開けであると予想される。

それでは、リチウムイオン電池を効率よく最大にそ

C O N T E N T S

■巻頭言

- ・環境エネルギー革命と分析機器
逢坂哲彌 ……………1

■報 文

- ・白金ブルー染色を用いたパラフィン切片標本の低真空SEM観察 稲賀すみれ ……………3
- ・イオン液体を用いた電子顕微鏡試料作成 桑畑 進 ……………8
- ・Analysis of capsaicinoids in foods using LaChromUltra System
Jaeho HA Hye-Young SEO
You-Shin SHIM Hyun-Jin NAM ……………13

■解 説

- ・最先端太陽電池における発電効率向上のための各種部材の光学特性評価
堀込 純 和久井隆行 栗田浩二 ……20
- ・高速液体クロマトグラフシステム
糖(リン酸-フェニルヒドラジン法)
分析システムの医薬研究への新展開
中川裕章 松崎彩子 鈴木裕志
石川昌子 橋本 誠 吉岡信二 ……25
- ・日立超高分解能FE-SEM SU8000の特長と応用 武藤 篤 ……………29

■学会発表ミニファイル ……………33

■テクニカルデータ発行ミニファイル ……35

■新製品紹介

- ・超高速液体クロマトグラフLE-2200U形オートサンブラの紹介 ……37
- ・LCカラムの紹介 ……………37
- ・nanoEBAC® NE4000
日立微小デバイス特性評価装置の紹介 ……38
- ・FB2000形日立集束イオンビーム加工観察装置の紹介 ……38
- ・卓上顕微鏡Miniscope® TM3000の紹介 ……39
- S.I.naviのご紹介 ……………40

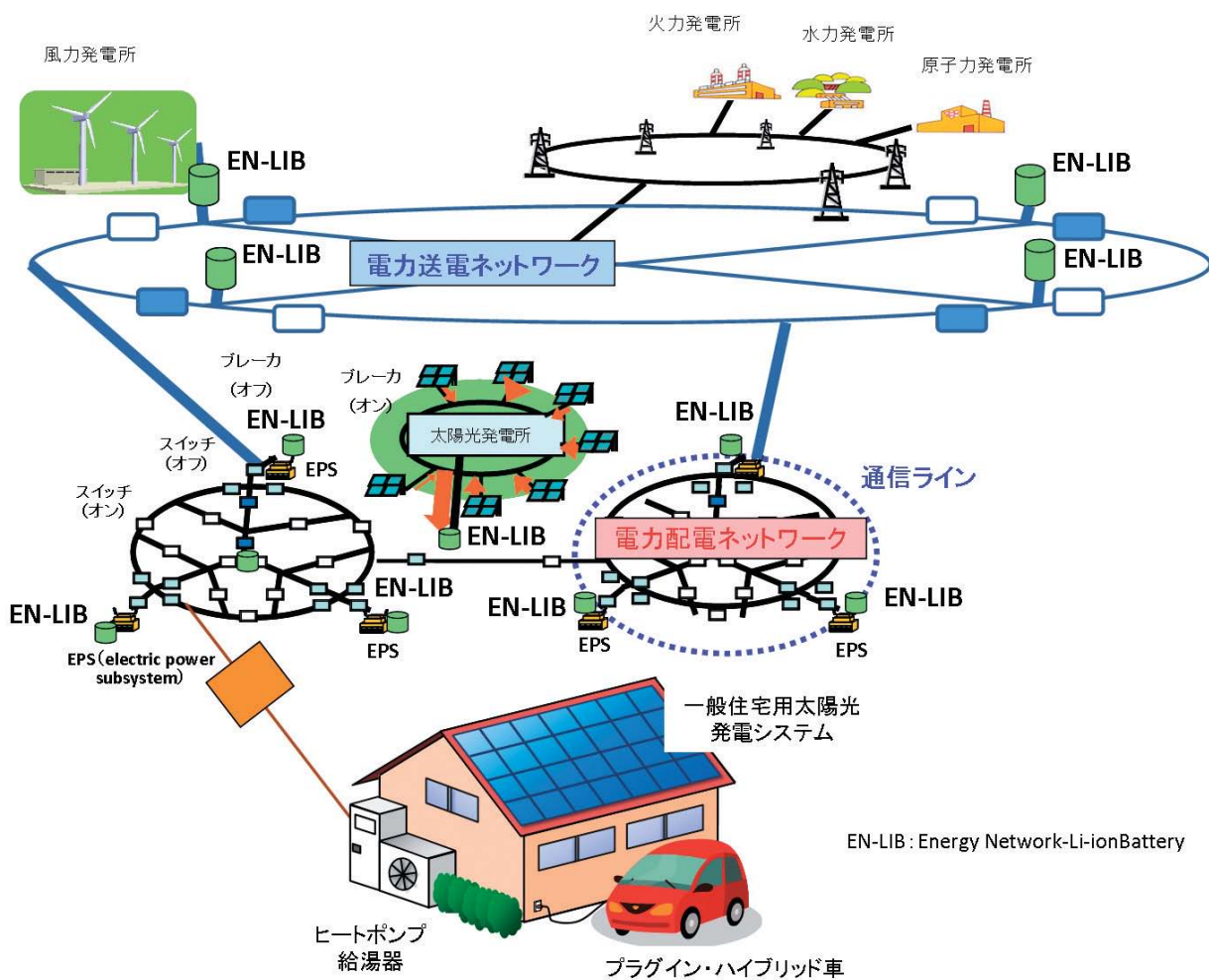


図 定置用大型Liイオン2次電池の適用例

の機能を出させるためには、どうすべきであろうか？ブレークスルーも基礎技術の積み重ねが必要であり、基本的な電極と電解液の界面設計が重要になり、また、電池材料のさらなる改良開発が必要になってくると思う。

このような研究開発の場合は、特に界面を細かく、できるならその場観察で分析でき、何がより高効率な電池開発のキー・ファクターとなるかを素早く測定できる分析技術は欠くことのできないツールとなる。もちろん、リチウムイオン電池のさらなる向上を目指した新しいSn系やSi系負極電池材料、 LiFePO_4 や LiNiCoMn 複合酸化物などの正極材料、さらに最終的には Li/O_2 電池のような遠いターゲットまで、これからの開発研究は常に新しい分析法との組み合わせからのチャレンジが必要である。今まで以上に分析法の本分野への開発は重要となり、従来の解析法に加えた新しい測定プロトコルなり、測定システムなりの提案と考え方がより重要なキー・アナライザーになってくるであろう。

そのような意味合いで、本エネルギー材料開発等への分析機器およびその新たな分析法提案に期待したい。

著者略歴

逢坂 哲彌 (おおさか てつや)

早稲田大学理工学術院教授。現在理工学術院総合研究所所長。1974年早稲田大学理工学研究科博士後期課程修了(工学博士)。1986年より現職。電気化学会会長、日本磁気学会会長、エレクトロニクス実装学会会長を歴任。ナノ電気化学分野で国際的に活躍し、マテリアルサイエンス分野で最も論文引用頻度の高い研究者の一人として認められている。

白金ブルー染色を用いたパラフィン切片標本の低真空SEM観察

Low vacuum scanning electron microscopy for paraffin sections stained with platinum blue

稲賀 すみれ*

1. はじめに

近年、低真空方式の走査型電子顕微鏡(低真空SEM)の開発によって、油や水を含む様々なサンプルを煩雑な前処理無しに迅速に観察することが可能となり、今や幅広い分野で低真空SEMが活用されている^{1, 2)}。しかし、低真空SEMがそのまますぐに医学生物学領域の研究や病理検査などにも利用できるかと言うと実際にはそう簡単ではなく、やはり目的に応じた何らかの工夫や前処理が必要である。

その先駆けとして、1993年にTanaka(田中敬一鳥取大学名誉教)らによって「白金ブルー(platinum blue)」を用いた染色法が、生物試料のための反射電子シグナル増強法として開発された³⁾。筆者は、1995年より白金ブルー染色の応用研究に加わり、これまで様々な生物試料を用いて検討を行ってきた。そして、含水状態のままではせいぜい数千倍でしか観察出来なかった細胞や染色体の微細構造を、クールステージを装着した反射電子検出型の低真空SEM(日立S-2360N, S-3200N)を用いて、 -10°C 、270 Pa(水の飽和蒸気圧)の条件下で高倍観察($\sim \times 20,000$)することが可能になった^{4, 5, 6)}。また、白金ブルーがSEM領域ばかりでなく、透過型電子顕微鏡(TEM)領域においても酢酸ウラニルに代わる一般的な電子染色剤として有用であることを見いだした⁷⁾。さらに、白金ブルーで染色された試料は青い色を呈するため、他の電子染色剤と違って光顕でも観察可能であることから、動物組織の光顕用パラフィン切片標本への応用を試みたところ、白金ブルーの細胞組織特異的な染色特性が明らかとなり、反射電子シグナルの増強効果と相俟って、低真空SEM下において光顕を超える高い分解能でパラフィン切片を観察できることが分かった⁸⁾。

本稿では、筆者らが最近開発した白金ブルー染色を用いたパラフィン切片標本の低真空SEM観察法について、日立卓上顕微鏡Miniscope[®] TM-1000による観察像とともに紹介する。

2. 白金ブルーとは

白金ブルーは、アミドまたは環状アミドが白金に配

位した「錯体complex」と称される化合物で、濃青色のアモルファスな水溶液である。白金錯体には濃青色、紫色、褐色、黄色を呈するものが知られているが、青色を呈する白金錯体は、20世紀の初めにドイツ人の化学者Hofmannらによって初めて合成され‘Platinblau’と命名された。1960年代になって、シスプラチンおよび、シスプラチンとピリミジン(ウラシルまたはチミン)から合成された白金ブルーの制癌作用がRosenbergらによって明らかにされ、以来今日まで抗癌剤としての白金錯体の研究開発が盛んに行なわれている。また、1970年代初めには、癌細胞をTEMで研究するための電子染色剤としてもシスプラチンや白金ブルーが用いられており、Hayatの電子顕微鏡技術のテキスト「Basic Techniques for Transmission Electron Microscopy」(1986)にも、核酸を含む構造物を選択的に染色する方法として紹介されているが、それらの手順は煩雑で超薄切片の染色に数日(3～5日)を要するためか、一般的には普及していない。

一方、1993年に紹介されたTanakaらの白金ブルー染色法は³⁾、あらかじめシスプラチンとチミジンから合成した濃青色で液状の白金ブルー $[\text{Pt}_4(\text{NH}_3)_8(\text{C}_6\text{H}_{13}\text{O}_5)_4]^{+5}$ をpH9に調整し、試料を10分程度浸漬するだけなので手順は非常に簡単であり、低真空SEM観察における反射電子シグナル増強法として極めて効果的である。Tanakaらの白金ブルーは、使用に際して研究者自身で作製しなければならないのが難点であったが(白金ブルー作製方法の詳細は、田中敬一著「タマシの翅はなぜ玉虫色か」(講談社ブルーバックス、1995)に詳しく紹介されている)、2008年に日新EM株式会社(東京)によって商品化(商品名: TIブルー)され、現在では容易に入手出来る。

図1は、白金ブルー原液をマイクログリッドへ載せ、TEM(日立H-7650)で直接観察したもので、直径が1 nmの以下のほぼ均一な極めて小さい粒子状の外観を呈し、凝集化も結晶化も認められない。

* 鳥取大学医学部 医学科 機能形態統御学講座
ゲノム形態学分野 助教 (医学博士)

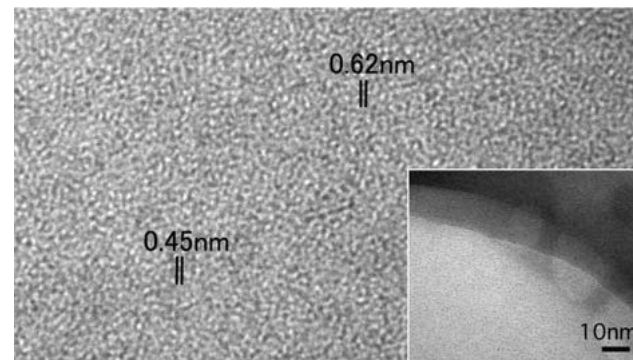


図1 白金ブルー原液のTEM観察像。

3. パラフィン切片標本の低真空SEM観察法

1) 標本の準備と白金ブルー染色法

組織を通常の方法で固定(10%ホルマリン, 4%パラフォルムアルデヒドなど), 脱水, パラフィン包埋し, 薄切切片(厚さ5~8 μm)を作製してスライドガラスに貼付ける。キシレンで脱パラ後, エタノール下降系列を経て蒸留水に通す。白金ブルーの原液(pH3)にアンモニア溶液を少量添加してpH9に調整した白金ブルー染色液(TIブルー染色キット: 日新EM社)を, 水気を軽く切ったスライドガラス上の組織切片にマウントして, 室温で10~15分間染色する(染色効果はpHと染色時間にある程度依存する)。染色後のスライドガラスを蒸留水に1~2分浸して切片を洗う。

2) 観察法

水洗後の組織切片が載ったスライドガラスは, 水気を切り(切片は完全に乾燥させなくても良い)そのままカーボンテープで試料台に接着固定して低真空SEMの試料室に挿入する。観察に用いた日立卓上顕微鏡Miniscope®は試料室が広く, 76 mm×26 mmの汎用サイズのスライドガラスを小さくカットする必要がない。また, 低真空であっても厚さ数ミクロンの薄い切片は数分のうちに試料室内で乾燥してしまうので, 実

際には真空乾燥状態で観察することになる(濡れたままだとドリフトの原因になることもある)。しかし, 切片が白金ブルーで十分染色されていれば乾燥による収縮も軽減され, 帯電軽減モードに設定することで非導電性のスライドガラス上にもかかわらずほとんど障害なく良好な画像が得られる。40~50倍程度の低倍では光顕と同様に切片全体を俯瞰的に観察することができるので, 任意の場所を選んでさらに最高10,000倍までの任意の倍率にズームアップして詳細な観察を行なう(真空度30 Pa, 加速電圧15 kV)。

3) 組織切片の観察像と白金ブルーの染色特性

図2は, 白金ブルーで染色したラット舌組織切片の同一部位の光顕像と低真空SEM像である。本稿では白黒写真で示してあるが, 実際には光顕下では青色の濃淡像として, 低真空SEM下では輝度の差による明暗像として観察される。すなわち, 組織切片の場合, 低真空SEM下では白金ブルー染色によって全体の反射電子シグナルが一様に増強されるのではなく, 細胞や組織の染色性と形状に依存した三次元像となる。低倍像では, ラット舌の粘膜上皮組織と筋組織が明るくみえるのに対し, 粘膜下組織は暗くみえている。これは, 明るくみえる(反射電子シグナルの放出量が多い)細胞や組織ほど白金ブルーとの親和性が強く, 濃く染まるということを示している。

さらに詳細に見てみると, 図3は, 舌組織切片の一部分をやや拡大して観察したもので(直接倍率250倍), 血管(動脈, 静脈), 神経組織, 筋組織, 線維性結合組織および各種の細胞の断面像が認められる。これらの中で, 特に明るく目立って見えるのが肥満細胞(mast cell)である。肥満細胞を拡大して観察すると(図4), 光顕像では細胞質が濃い青色に染まって見えるだけであるが, 低真空SEM像では特徴的な小さい顆粒の一粒一粒が明瞭で立体的に観察できる。さらに, 動脈, 末梢神経線維および横紋筋線維の断面像を拡大して観

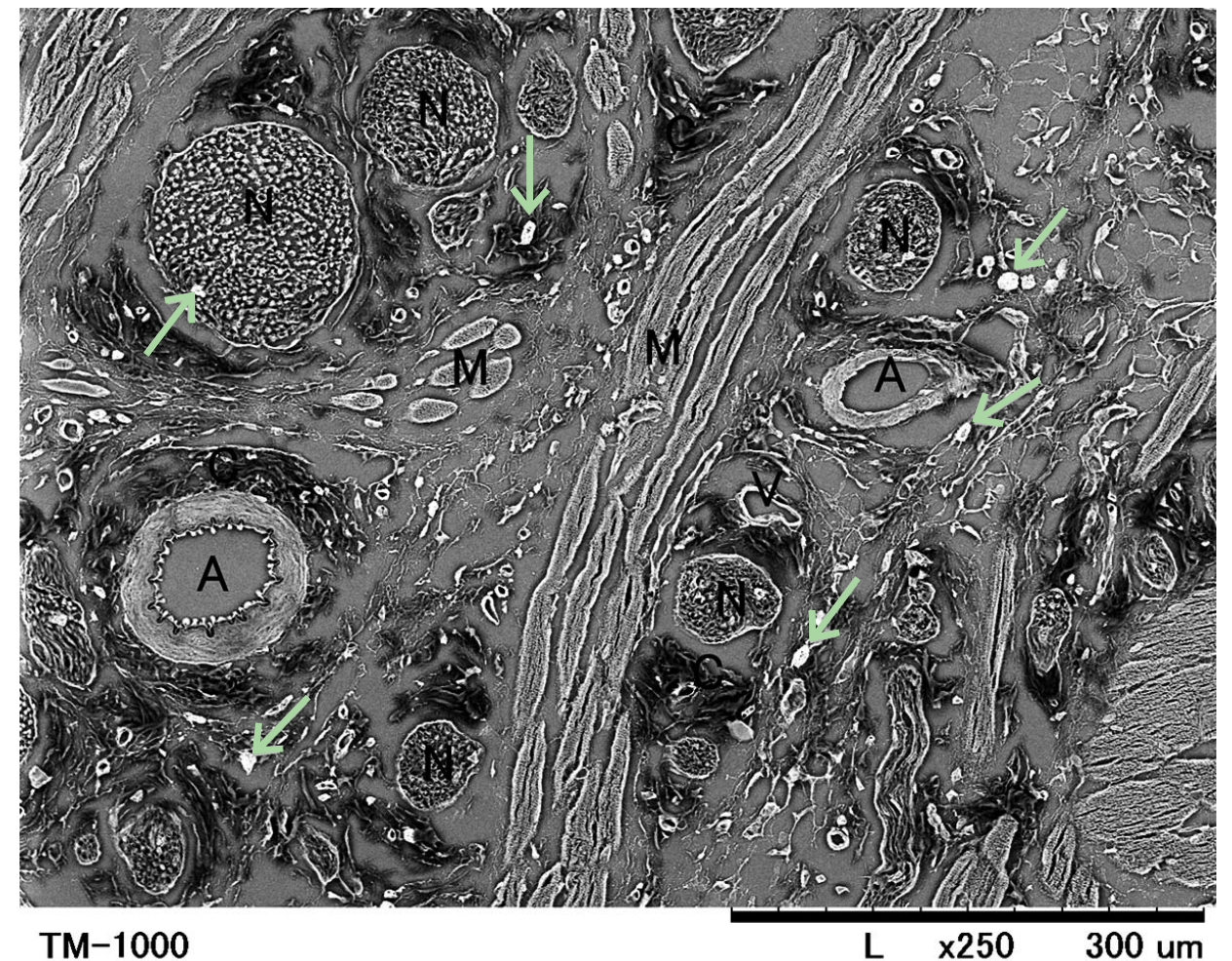


図3 舌切片の一部をやや拡大した低真空SEM像。
A: 動脈, V: 静脈, N: 神経組織, M: 筋組織, C: 結合組織。矢印は肥満細胞。

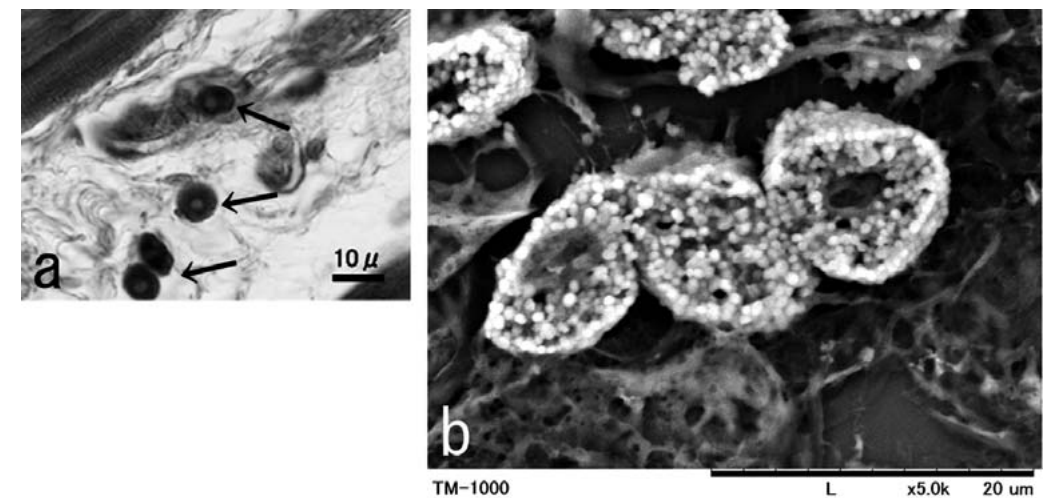


図4 結合組織中に観察された肥満細胞の光顕像(a)と低真空SEMによる拡大像(b)。

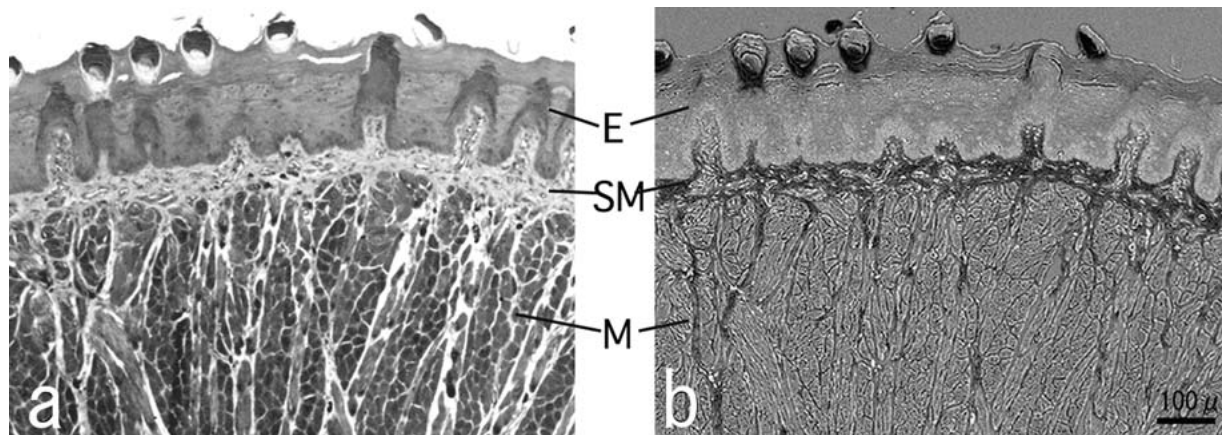


図2 低倍で観察したラット舌パラフィン切片の光顕像(a)と低真空SEM像(b)。
E: 粘膜上皮組織, SM: 粘膜下組織, M: 筋組織。

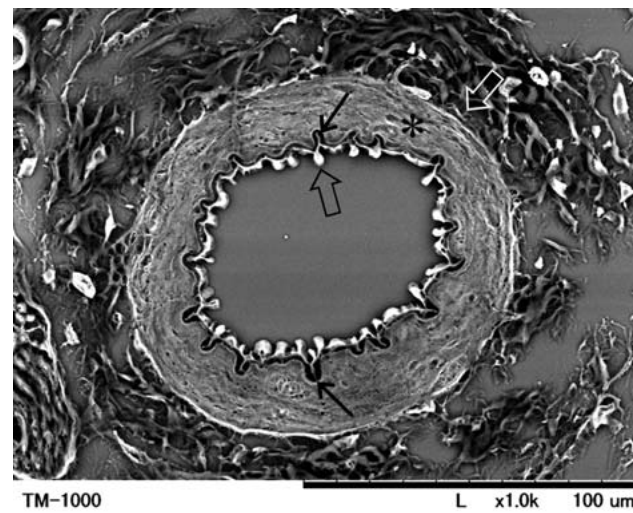


図5 動脈横断面の低真空SEMによる拡大像。
大矢印：内膜の内皮細胞，小矢印：内弾性板，
＊：中膜の平滑筋層，白矢印：外膜

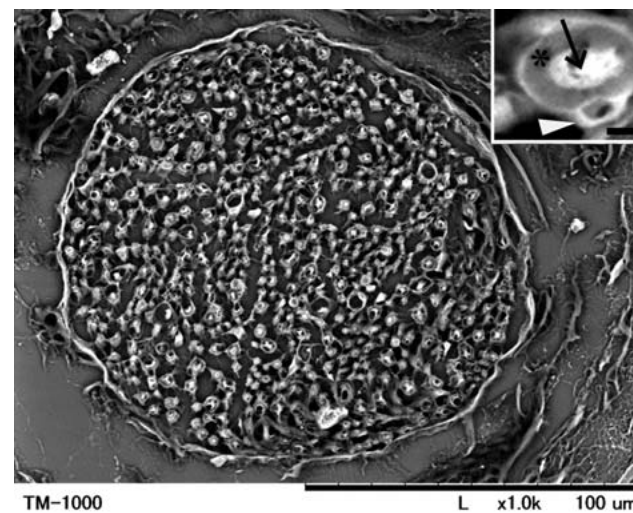


図6 末梢神経線維横断面の低真空SEMによる拡大像。
挿入図は有随神経線維の拡大像。矢印：軸索，
＊：ミエリン鞘，矢頭：シュワン細胞

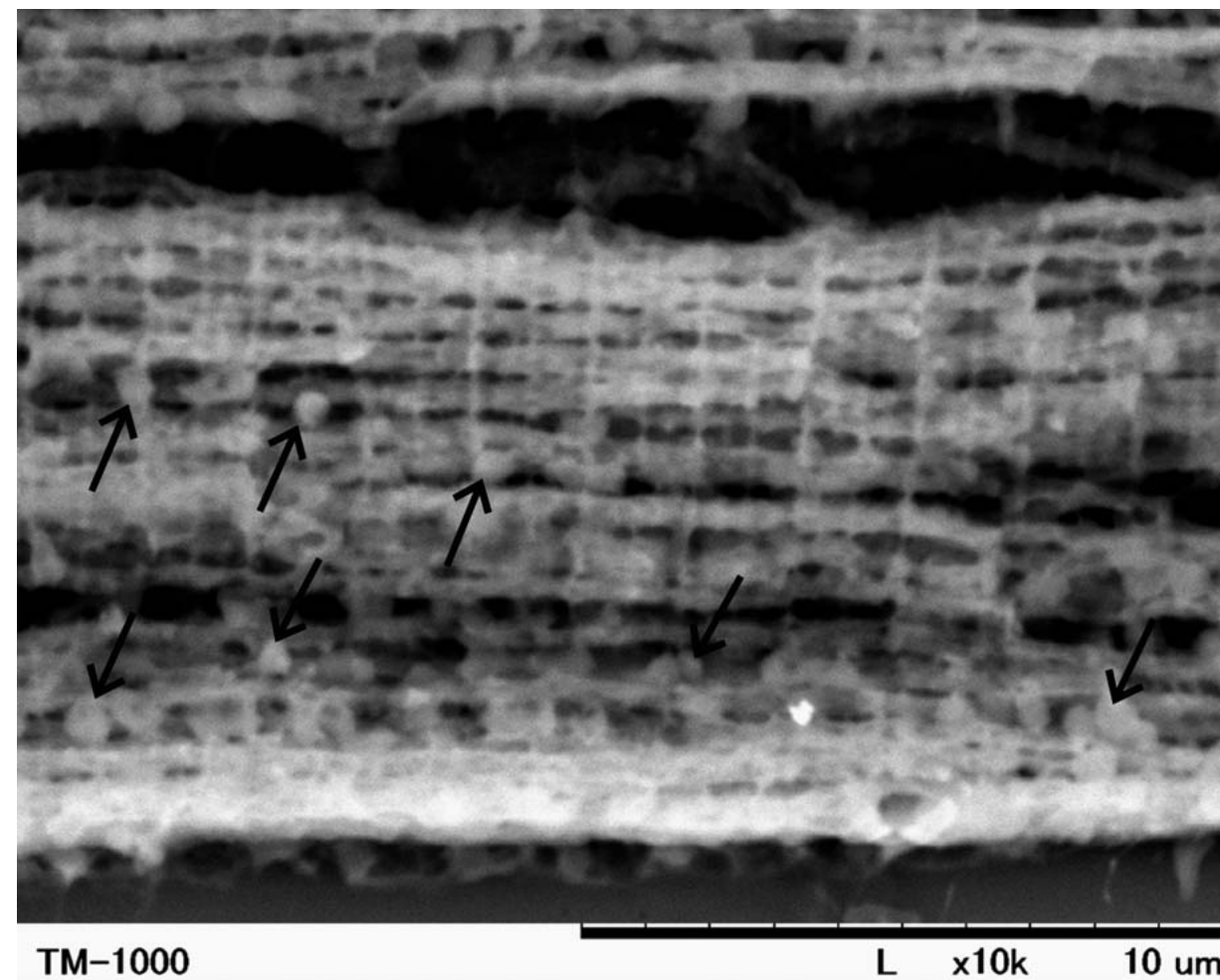


図7 横紋筋の縦断面の低真空SEMによる拡大像。
特徴的なバンド構造と球状のミトコンドリア(矢印)。

察したものを図5-7に示す。動脈の横断像(図5)では、血管壁の三層構造が異なったコントラストを呈し明瞭である。最内層である内膜の内皮細胞は最も明るく(白金ブルーに強く染まる)、内弾性板は最も暗く(染まらない)みえている。内弾性板には弾性線維が密に存在しているにもかかわらず透けて何も無いかのように暗くみえるのは、相対的にシグナル放出量が少ないためと考えられる。中膜の平滑筋層はそれらの中間の明るさ(中程度に染まる)を示し、膠原線維からなる外膜はやや暗い(やや染まる)。同様に末梢神経線維の横断像を高倍で観察すると(図6)、それぞれの軸索とシュワン細胞は比較的明るくミエリン鞘はやや暗くみえる。神経線維を少しずつ束ねている神経内膜(薄い結合組織)には小さな血管や肥満細胞も認められる。横紋筋線維の縦断像を10,000倍に拡大して観察すると(図7)、筋原線維の特徴的なバンド(横紋)構造だけでなく、筋原線維の間に球形のミトコンドリアが明瞭に認められる。

これらの観察結果から、舌組織にみられる細胞および組織を白金ブルーの染色強度(染色特性)に従って以下のように大まかに3つのグループに分類した。

- 1) 強く染まる(光顕下では濃青色，低真空SEM下では最も明るい)：肥満細胞，上皮組織(重層扁平上皮，血管内皮)など。
- 2) 中程度に染まる(光顕下では淡青色，低真空SEM下では明るい)：筋組織(平滑筋，横紋筋)，神経組織など。
- 3) 染まりにくい(光顕下では無色，低真空SEM下では暗い)：線維性結合組織(弾性線維，膠原線維)など。

このように、白金ブルーの染色特性は、単なる“反射電子シグナル増強効果”だけでなく“細胞組織特異的な染色効果”をもたらしており、細胞や組織の識別と立体像での形態解析を容易にすることによってパラフィン切片観察における低真空SEMのパフォーマンスを向上させている。

4. おわりに

従来は金属コーティングを施さなければSEMでは観察出来なかったスライドガラス上のパラフィン切片を、白金ブルーの染色特性を利用することによって低真空SEMで直接観察できる簡単で新しい方法を紹介した。本法によって通常の光顕像では得られないパラフィン切片の高分解能観察が可能となり、透過電顕像につながる詳細な情報が得られることが示された。筆者らは、現在、腎生検標本の迅速診断法への実用化をめざして研究を行なっているが、今後、様々な細胞組織学的研究および病理診断などに本法を応用されることが期待される。

参考文献

- 1) Robinson, V. N. E. : J. Microsc. 103 : 71-77 (1975)
- 2) 平島小百合 : S. I. News Vol. 52 No. 1 : 18-21 (2009)
- 3) Tanaka K., Inagaki K. : J Electron Microsc. 42 : 255 (1993)
- 4) Tanaka K., Inaga S., Iino A. : Recent advances in microscopy of cells, tissue and organs (Motta P., ed), Antonio Delfiro Editore, Rome : pp. 31-35 (1997)
- 5) Tanaka K., Inaga S., Iino A., Ushiki T., Saito S. : Arch. Histol. Cytol. 61 : 337-342 (1998)
- 6) Inaga S., Tanaka K., Iino A. : Arch. Histol. Cytol. 65 : 415-423 (2002)
- 7) Inaga S., Katsumoto T., Tanaka K., Kameie T., Nakane H., Naguro T. : Arch. Histol. Cytol. 70 : 43-49 (2007)
- 8) Inaga S., Hirashima S., Tanaka K., Katsumoto T., Kameie T., Nakane H., Naguro T. : Arch. Histol. Cytol. 72 : 101-106 (2009)

イオン液体を用いた電子顕微鏡試料作成

Specimen preparation microscopy using ionic liquid

桑畑 進*

1. はじめに

カチオン(プラスイオン)とアニオン(マイナスイオン)が静電力で強く引き合うことで結晶化している「塩」は、常温では固体で、その融点は高いといわれている。たとえば、NaClの融点は801℃であり、高温で熱しないと液体にならない。しかし、有機化合物の塩で融点が低く、常温でも安定な液体状態であるものが1992年に報告された¹⁾。イオンのみで構成されている液体ということで、イオン液体(ionic liquid)とよばれており、多くの研究者が、この液体の正体を明らかにする研究と、応用する研究を行っている。筆者は、イオン液体が真空中においても全く蒸発しない性質に着目し、真空中で試料を観察する電子顕微鏡でイオン液体を観察してみた。すると、驚くような結果が得られ、そこから、新しい電子顕微鏡の観察法についてさまざまなアイデアがわき出てきた。ここでは、イオン液体の持つ面白い性質と、その性質を利用した電子顕

微鏡観察法の開発について解説する。

2. イオン液体ってどんな液体？

常温でも液体状態の「塩」であるイオン液体は、塩化アルミニウムをベースに用いたものが1940年代から研究されているが、それらは加水分解されやすい不安定なものであった。1992年に安定な有機塩のイオン液体が報告されて以来、さまざまなイオン液体が合成されており、現在では数百種類にもおよんでいる。代表的な5つのイオン液体の構造式を図1に示す。それぞれには、名称と本稿で使う略号も示しておく。カチオン分子の形は非対称であり、アニオン分子には電子求引性の高いふっ素が置換されている。このようなイオンの組み合わせだと、カチオンとアニオンの静電



桑畑 進

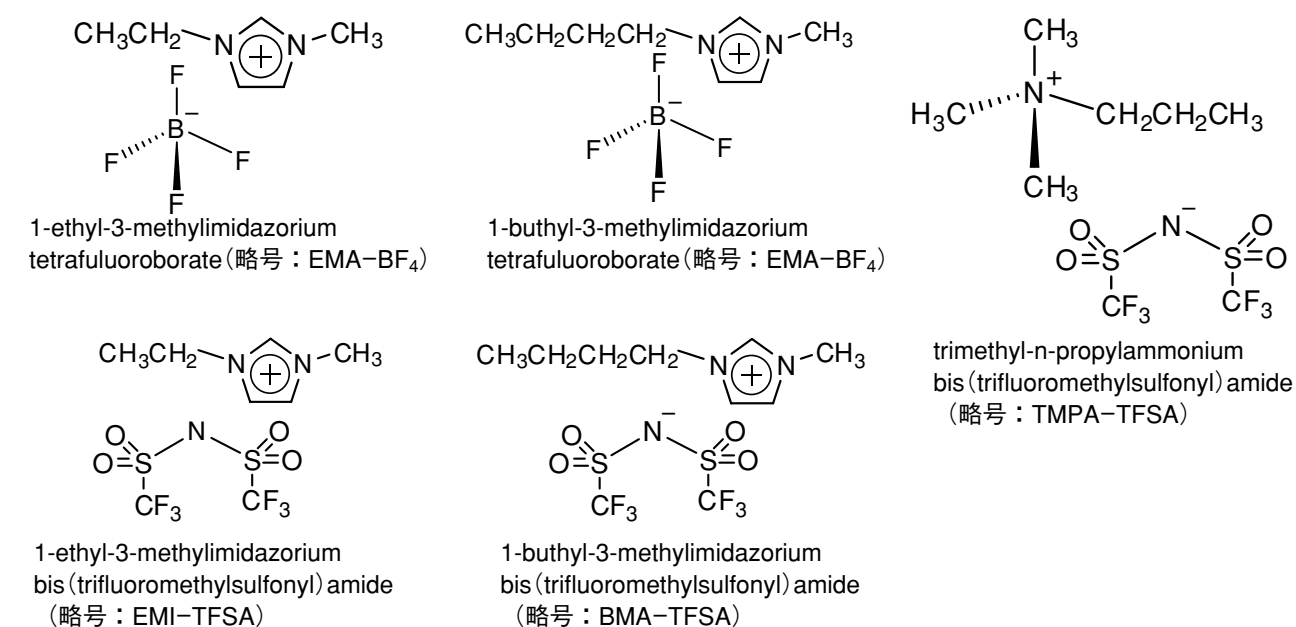


図1 代表的なイオン液体の構造式。

* 大阪大学大学院工学研究科／科学技術振興機構，CREST

引力が弱められることにより融点が大きく下げられるために、常温でも液体状態を保つことができるのである。その一例として、図2(上)にBMI-TFSAの写真を示す。

イオン液体は、それが発見されるまで人類が扱ってきた水や有機溶媒とは全く異なる液体であるゆえ、「第三の液体」といわれることもある。そして、これまでの液体とは全く違う、興味深い性質を持っている。その中でも最も面白い性質は、蒸気圧が限りなく0に近いということである。すなわち、熱しても真空中でも蒸発しない。有機溶媒といえば、ベンゼン、トルエン、エーテル、ガソリンのように、沸点が低く蒸発し

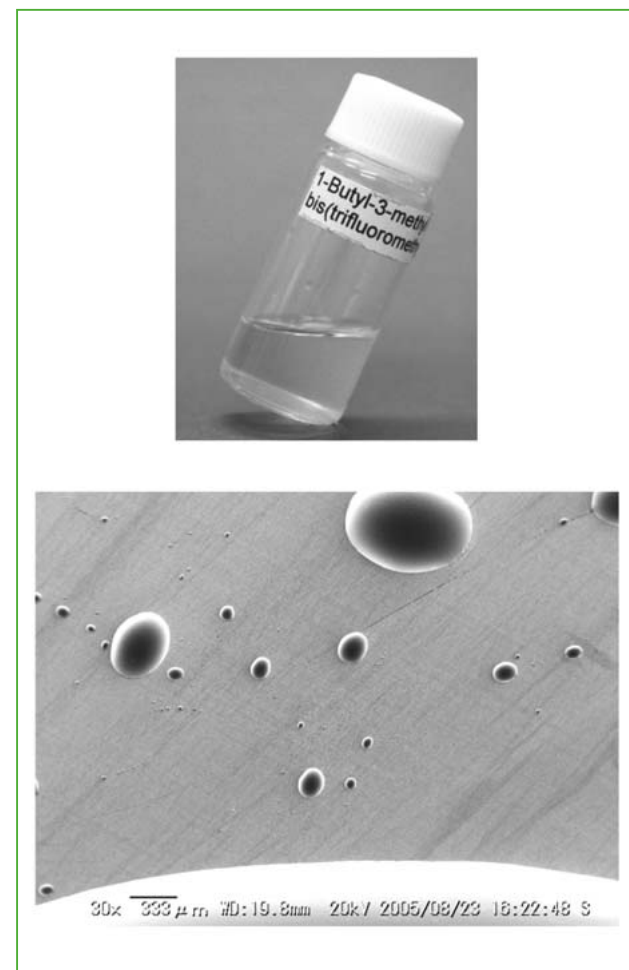


図2 BMI-TFSAの写真(上)とそのSEM画像(下)。

やすいものが多く、大気を汚す物質として嫌われる。蒸発しないイオン液体を溶媒に用いて種々の化学合成を行えば、大気を汚さずに反応が行えるということから、エコ・フレンドリーな溶媒として注目され、そのような研究も数多く行われている。また、十分に高いイオン伝導率を有するので、蒸発しない電解質としても使うことができ、それを利用した太陽電池²⁾や燃料電池³⁾などの種々の電気化学デバイスの開発も行われている。筆者らも、蒸発しないという性質に大いに注

目した。そして、真空中の中に入れても蒸発しないなら、真空技術とイオン液体の組み合わせで何か面白いことはできないかという思いから、イオン液体を電子顕微鏡の真空チャンバに入れるという行為へとつながったのである。

3. 電子顕微鏡で観ることができた！

イオン液体を電子顕微鏡で観ようという発想は、著者が研究室に走査型電子顕微鏡(SEM)を購入することがきっかけで産まれた。その顕微鏡は、イオン液体中で行う電気化学反応に使用する電極を観察するために購入したのである。つまり、イオン液体を使った研究プロジェクトのために購入したのである。その顕微鏡を研究室で使い始めてから、なぜか、真空中でも蒸発しない「イオン液体」と、試料を真空中の中に入れて観察する「電子顕微鏡」とのつながりが、頭の中でグルグルと回っていた。そんな折に、鳥本教授(名古屋大)とディスカッションした。「イオン液体は、SEMの真空試料室に入れても大丈夫だね」「それを観たらどうなるのだろう？」と筆者。「観ることができるのでは？伝導性もあるし」と鳥本教授。「いや、伝導性といってもイオン伝導性。電子線を照射する電子顕微鏡で観るには、電子伝導性がないとダメでは？」といった、ああでもない、こうでもないという議論を、昼食の時間をはさんで2時間くらい行った。ひとり考えているときには、他にも色々仕事がある身ゆえ、すぐに実験しようとはならないが、2人で色々予想を立てると、実際はどうか、2人の相反する考えのどちらが正しいかを実証したくなり、実験したい気持ちがふつふつとわき出てきた。そして、鳥本教授が筆者の研究室に来た時に、実験を行った。

図2(下)に、BMI-TKSAの液滴を試料台に乗せたものを観察したSEM画像を示す。絶縁性の試料をそ

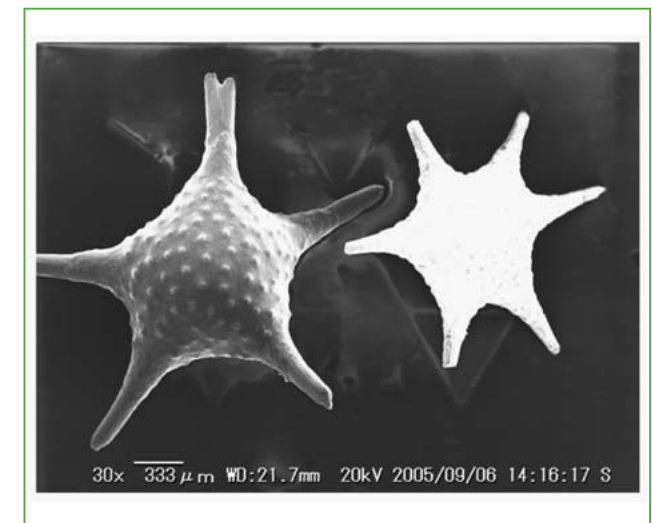


図3 何も処理していない星の砂(炭酸カルシウムが主成分)(右)とイオン液体を浸み込ませた星の砂(左)のSEM画像。

のまま観察すれば、試料が帯電して真っ白に映るのに対して、写真のように全ての液滴は黒く観察され、イオン液体が帯電しないことを示す画像が現れ、たいへん驚いた。他のイオン液体を観察しても、全て帯電しなかった。なぜ電子線を照射しても帯電しないのか？パルスラジオリシス等の実験により、イオン液体中では電子はイオンによる溶媒和によって安定化されるため、液中を移動することが可能であるとの結果が得られており、その現象が電子顕微鏡観察でも現れているのだろうと考えている。とにかく、真空中に液体を入れることができ、それを電子顕微鏡で観察しても帯電しないということから、色々な利用法のアイデアが頭に浮かんできた。

4. 絶縁性試料を観察できるようにする

多孔質な炭酸カルシウムである有孔虫の殻である「星の砂」は、そのままをSEM観察すれば、絶縁性ゆえ帯電して真っ白な画像となる(図3右)。星の砂にイオン液体であるEMI-TFSAを浸み込ませ、余分な液

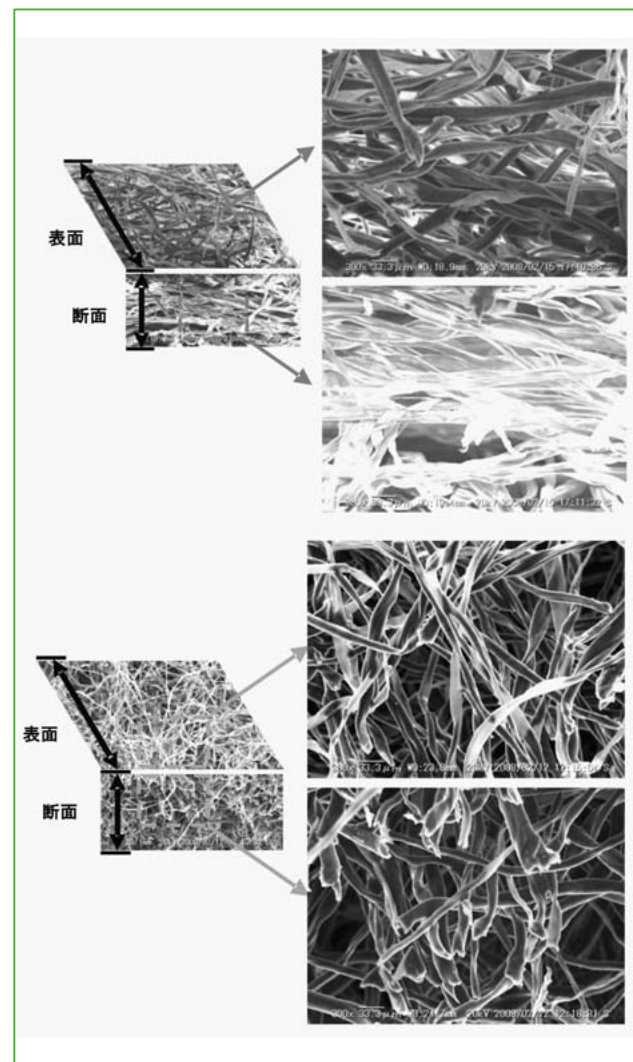


図4 表面に金蒸着した脱脂綿(上)と繊維表面にイオン液体をコートした脱脂綿(下)のSEM像。

体を拭き取り試料台に固定したものが左の画像である。星の砂は帯電することなく、凹凸のある表面の構造が観察できた^{4, 5)}。つまり、サンプルをイオン液体で濡らすことにより、サンプルの帯電を防止して電子顕微鏡観察を可能としたのである。

浸み込ませることにより伝導性を付与する方法に加えて、絶縁試料に塗布する方法も開発した。試料表面へのイオン液体の塗布量をできるだけ少なくするために、アルコールのような適当な溶媒にイオン液体を溶かし、それを塗布して溶媒を蒸発させれば良いことを見出した⁶⁾。図4は、表面に金蒸着した綿(上)と、0.1 M BMI-TFSAのエタノール溶液に綿を浸して出した後、空气中でエタノールを蒸発させた綿(下)の表面と断面のSEM像である。金スパッタだと金が内部まで充分に入り込めないため断面の像は帯電しているのに対し、後者の試料では全ての繊維表面にイオン液体がコートされており、断面の画像にも帯電は全く見られなかった⁷⁾。

乾燥状態と濡れた状態で形態が全く異なる、生体試料などのSEM観察にも利用できる。一例として、わかめを選んだ。図5の上の画像は、金蒸着した乾燥わかめの断面のSEM像である。わかめを水中で膨潤させ、それをBMI-BF₄浴に移して2時間浸漬した後、真空乾燥を1時間施すことで水とイオン液体とを置き

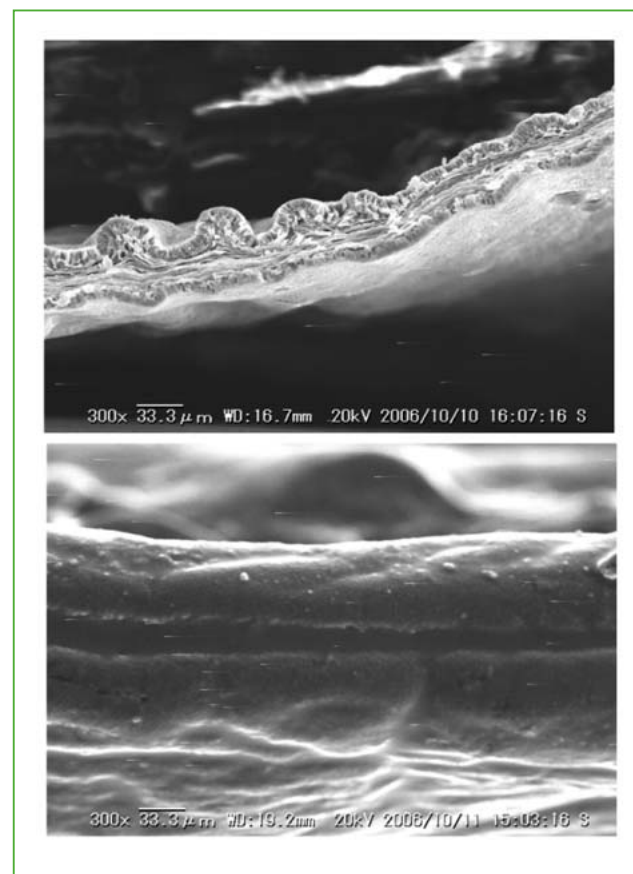


図5 金蒸着した乾燥わかめ(上)とイオン液体を含んで膨潤したわかめのSEM画像。

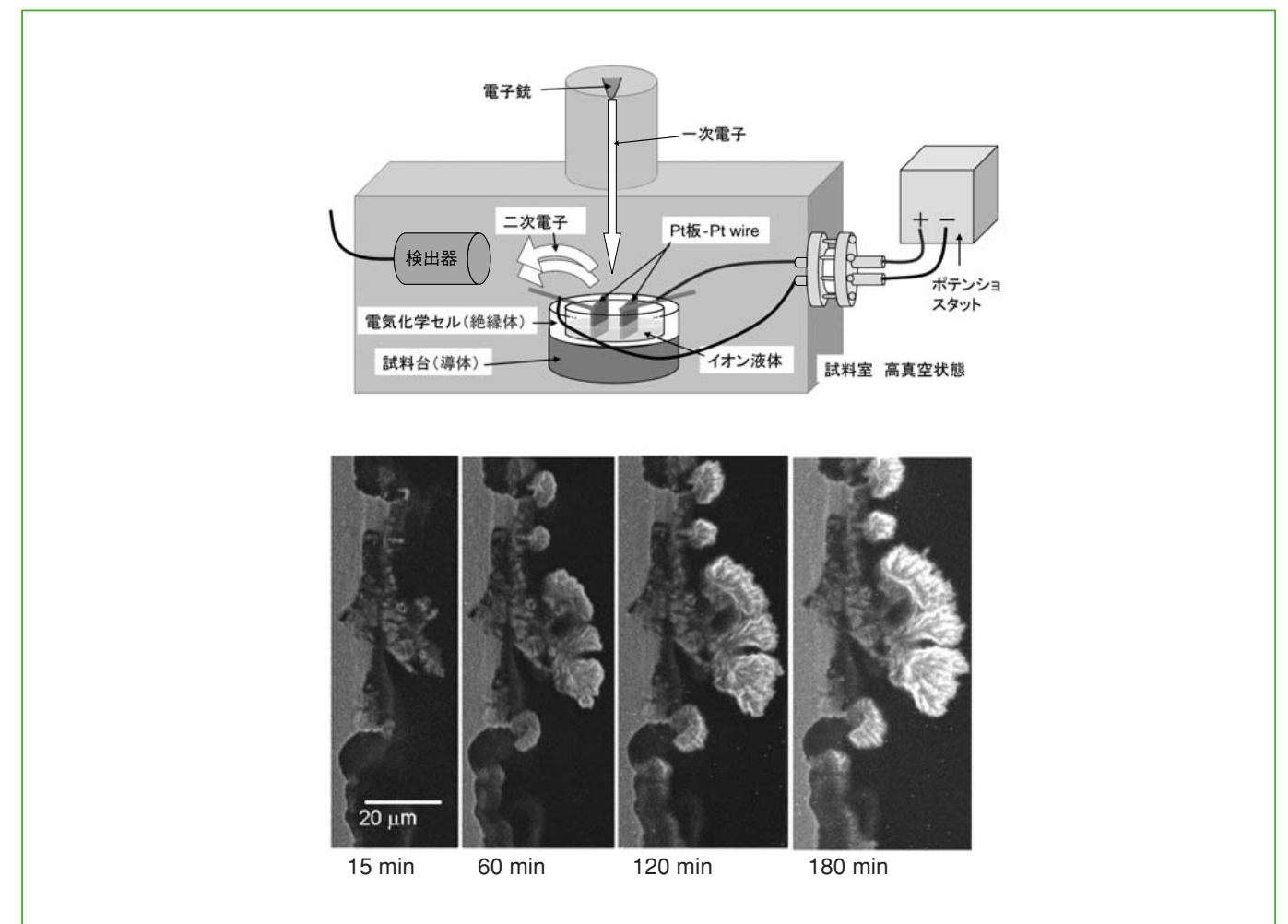


図6 イオン液体を用いた電気化学反応観察用SEM装置(上)と、20 mM Ag-TFSAを溶かしたBMI-TFSAからの銀析出によるデンドリマー成長のSEM観察(下)。

換えた。その断面をSEM観察した画像を図5の下に示す。乾燥わかめの数倍の厚みがあり、膨潤した状態のままでわかめを観察することができた⁶⁻⁸⁾。

5. 化学反応をSEMで観察する

真空チャンバ内のイオン液体中で種々の化学反応を行うことができることから、反応を行いながらその場で電子顕微鏡観察が行うことが可能となる。そこで、反応の開始や終了が容易に行える電気化学反応を行いながら、反応のその場観察を行うことを試みた。それを行うため、図6の上図に示すようにSEMの真空チャンバ内に電気化学セルを入れ、電極に電圧を印加できるようにSEMの改造を行った^{9, 10)}。具体的な反応として、Ag-TFSAを溶解したBMI-TFSAの電解還元による電極表面への銀の析出反応を行った。観察時にイオン液体が邪魔にならないように、イオン液体の表面から約1 μmまでの範囲で反応が起こるように工夫した電解セルを作製し、図6の下図に示すように、銀のデンドリマー成長をリアルタイムでSEM観察することに成功した⁹⁾。また、導電性高分子であるポリピ

ロール膜を真空チャンバ内のイオン液体中で酸化還元することにより、イオンの出入りによる膜厚変化の観察とEDXによる膜中のイオン量の変化を検知することができた¹⁰⁾。

6. 透過型電子顕微鏡(TEM)への導入

上述した鳥本教授と筆者の最初のランチ・ディスカッションの時、「もしイオン液体をSEM観察したときに帯電するなら、絶縁性試料に導電性を付与する方法である金の蒸着(スパッタ)をしたら良いのでは？」というアイデアが鳥本教授からでてきた。その実験をやったところ、イオン液体が黄色や赤色に変色した。液体の中で、金がどのような状態になっているののだろうかを知りたく、透過型電子顕微鏡(TEM)に初めて(金蒸着を施した)イオン液体を入れた。この場合も、イオン液体は帯電せずに電子ビームを透過させるので、中に存在する金を観ることができ、図7上図の画像が見られた¹¹⁻¹³⁾。驚いたことに、数ナノメートルの金の粒子が安定に存在していた。すなわち、イオン液体に金属蒸着を施すだけで、誰でも簡単に金属ナノ粒子を

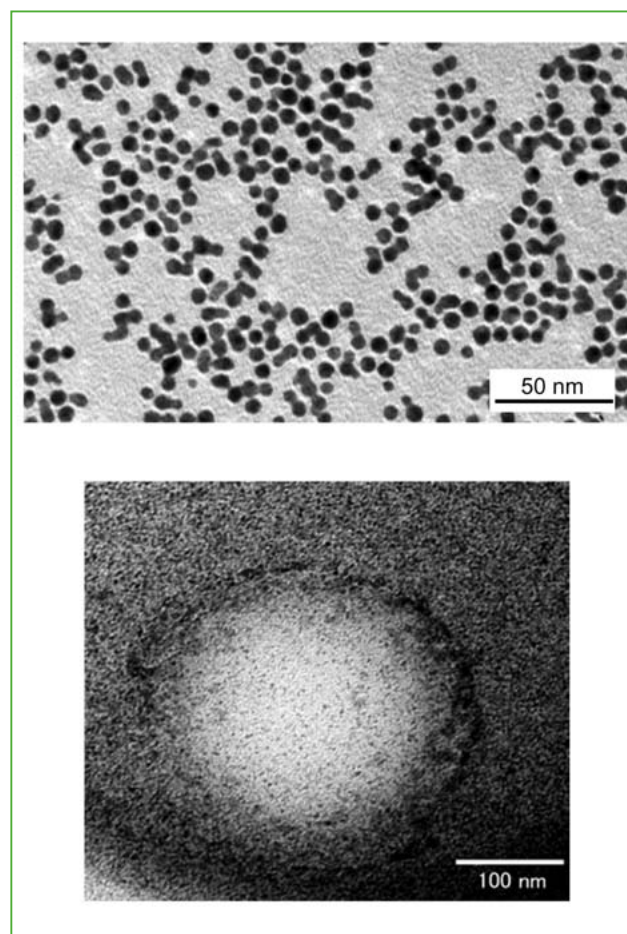


図7 金スパッタリングを施したEM-BF₄(上)とBMI-BF₄中に浮遊しているホスファチジルコリンのリポソームのTEM像。

合成する手法を開発したのである。この方法をさらに拡張して、合金のナノ粒子を合成する方法¹⁴⁾や、金属イオンを溶解したイオン液体に電子線を照射することで金属ナノ粒子を合成する方法も開発した¹⁵⁾。また、合成した金属ナノ粒子を電極に固定して電極触媒に用いると、高い活性を示すことも見出した^{16, 17)}。

生体試料等をTEM観察する場合、試料台に試料を乗せて完全に乾燥させたため、上記のわかめ同様、試料は乾燥して試料台にこびりつき、本来の形とは異なる変形したものを観察してしまうことがある。そのような試料をイオン液体に浮遊させて観察できれば、本来の形を観察できる可能性がある。それを試してみた一例を図7下に示す。これは、脂質で形成されたリポソームであり、細胞膜のモデルとなる脂質集合体である。本来の形が球形であることは知られているが、通常のTEM観察では、一部あるいは全部が崩れている画像しか得られない。それに対して、イオン液体中に分散させた状態でTEM観察すると、このように球形のものが観察され、本来の形を観察することができた^{7, 18)}。

7. 終わりに

これまで人類が使ってきた通常の液体は、全て真空中で蒸発する。よって、真空中では、全ての物質は完全に乾燥してしまい、まさに無味乾燥状態の世界になってしまう。電子顕微鏡は乾燥した固体状態のものを観ることができず、化学反応や生物反応などが起こる可能性は全くなかった。しかし、真空中でも蒸発することがなく、かつ、電子ビーム照射で帯電しないイオン液体を真空中に導入すると、真空の世界がウェットになり、今まで観ることができなかった世界が観られるようになってきた。ごく最近研究により、植物、動物組織、細菌、細胞など、あらゆる生体試料にイオン液体を適用すると、得られる画像は乾燥状態のものとは全く異なる、本来の形状を観察できるようであることが明らかになりつつある。これらの方法をこれからも発展させることで、世界に新顕微鏡観察技術を発信していきたいと考えている。

参考文献

- 1) J. S. Wilkes, M. J. Zaworotko; *Chem. Commun.*, 965(1992).
- 2) P. Wang, S. M. Zakeeruddin, P. Comte, I. Exnar, M. Gratzel, *J. Am. Chem. Soc.* 125, 1166(2003).
- 3) H. Nakamoto, M. Watanabe, *Chem. Commun.*, 2539(2007).
- 4) S. Kuwabata, A. Kongkanand, D. Oyamatsu and T. Torimoto; *Chem. Lett.*, 35, 600-601(2006).
- 5) 桑畑 進, 鳥本 司, 表面科学, 28, 322(2007).
- 6) S. Arimoto, M. Sugimura, H. Kageyama, T. Torimoto and S. Kuwabata; *Electrochim. Acta*, 53 6228-6234(2008).
- 7) 桑畑 進, 鳥本 司, 中澤英子, 顕微鏡, 44, 61(2009).
- 8) 桑畑 進, 溶融塩および高温化学, 51, 142(2008).
- 9) S. Arimoto, H. Kageyama, T. Torimoto, S. Kuwabata, *Electrochem. Commun.*, 10, 1901(2008).
- 10) S. Arimoto, D. Oyamatsu, T. Torimoto, S. Kuwabata, *Susumu, ChemPhysChem*, 9, 763(2008).
- 11) T. Torimoto, K. Okazaki, T. Kiyama, K. Hirahara, N. Tanaka, S. Kuwabata, *Appl. Phys. Lett.*, 89(24), 243117/1(2006).
- 12) 岡崎健一, 桑畑 進, 鳥本 司, 触媒, 49, 630(2007).
- 13) O. P. Khatri, K. Adachi, K. Murase, K. Okazaki, T. Torimoto, N. Tanaka, S. Kuwabata, H. Sugimura; *Langmuir*, 24, 7785(2008).
- 14) K. Okazaki, T. Kiyama, K. Hirahara, N. Tanaka, S. Kuwabata, T. Torimoto, *Chem. Commun.*, 637(2008).
- 15) A. Imanishi, M. Tamuraa and S. Kuwabata, *Chem. Comm.* 1775(2009).
- 16) K. Okazaki, T. Kiyama, T. Suzuki, S. Kuwabata, T. Torimoto, *Chem. Lett.*, 38, 330(2009).
- 17) T. Tsuda, T. Kurihara, Y. Hoshino, T. Kiyama, K. Okazaki, T. Torimoto, S. Kuwabata, *Electrochemistry*, 77, 693(2009).
- 18) T. Torimoto, T. Tsuda, K. Okazaki, S. Kuwabata, *Adv. Mater.*, web-published.

Analysis of capsaicinoids in foods using LaChromUltra System

Jaeho HA* Hye-Young SEO You-Shin SHIM Hyun-Jin NAM

Introduction

Capsaicin has been recognized for many years as the pungent principle of capsicum. In a few studies, it has become clear that other structurally similar components, capsaicinoids, also contribute to the pungency of red pepper⁽¹⁻³⁾. Among them, capsaicin (CAP) is the most abundant heat principle of capsicum and its heat pungency is almost twice as much as that of homocapsaicin (HCAP), homodihydrocapsaicin (HDHC), or nordihydrocapsaicin (NDHC)⁽⁴⁻⁵⁾.

Because the chemical properties and solubility of capsaicin are virtually the same as those of the accompanying capsaicinoids, the natural capsaicin was considered to be an individual substance for a long time. The first separation of the natural substance into capsaicin and dihydrocapsaicin was carried out by paper chromatography⁽⁶⁾. To date, about

20 natural capsaicinoids have been identified in the fruits of red pepper, although even this number can hardly be considered as final (**Table 1**).

The relative contents of the components depend on the species and sort of red pepper may vary within rather wide limits. For example, in the Japanese sort of pepper known as “Santaka” the ratio of capsaicin to dihydrocapsaicin is 70:30, where in the Cayenne species, this ratio is 47:53.

The obtaining of natural capsaicin on a commercial scale is usually based on the infusion of crushed dry pepper fruits with 80-95% ethyl alcohol. Some of the large scale production can be achieved using



Jaeho HA

Table 1. Characteristics of capsaicinoids

Capsaicinoids	Abbrev.	MF	MW	Scoville heat units	Structure
Capsaicin	CAP	C ₁₈ H ₂₇ NO ₃	305.4	16,000,000	
Dihydrocapsaicin	DHC	C ₁₈ H ₂₉ NO ₃	307.4	15,000,000	
Nordihydrocapsaicin	NDHC	C ₁₇ H ₂₇ NO ₃	293.2	9,100,000	
Homodihydrocapsaicin	HDHC	C ₁₉ H ₃₁ NO ₃	321.5	8,600,000	
Homocapsaicin	HC	C ₁₉ H ₂₉ NO ₃	319.4	8,600,000	
Nonivamide	PAVA	C ₁₇ H ₂₇ NO ₃	293.4		

(Reference : Wikipedia, 2009)

* Food Analysis Center, Korea Food Research Institute 516, Baekhyeon, Bundang, Seongnam, Gyeonggi, 463-746, Republic of Korea

diethyl ether, acetone, chloroform and the various concentration of alcohol from 50 to 85%.

Capsaicinoids are characterized by a high biological activity and their pharmacological, neurological and dietetic effectiveness is well known⁽⁷⁾. It has been reported that capsaicin is a highly selective agonist for the transient receptor potential vanilloid receptor 1 (TRPV1; also known as VR1). Toxicity studies with pure *trans*-capsaicin was performed by a few scientist, indicating that pure *trans*-capsaicin does not alter the duration of cardiac action potentials, and causes only very minimal organ toxicities⁽⁸⁾. Other researchers have conducted the experiments of the effect of capsaicin on the herpes simplex virus (HSV), showing that when the onset of treatment was delayed until after intravaginal virus challenge, primary genital skin disease severity was significantly reduced⁽⁹⁾. In animal models, capsaicin was shown to be rather effective against HSV. However, it was noxious when applied to the mucous membranes and caused an unpleasant burning sensation⁽¹⁰⁾.

Kang *et al.*⁽¹¹⁾ have made a report that capsaicin can suppress obesity-induced inflammation by modulating adipokine release from and macrophage behavior in obese mice adipose tissues. Moreover, capsaicin suppressed not only macrophage migration induced by the adipose tissue-conditioned medium, but also macrophage activation to release proinflammatory mediators. Capsaicin may be a useful phytochemical for attenuating obesity-induced inflammation and obesity-related complications. In the view point of analytical method for capsaicinoids in foods, many trials have been made to extract and to analyze the capsaicinoids from food matrix, even though relatively multifarious, the quite successful

results have been achieved to date. The analytical method of capsaicinoids in foods has been developed in many ways, including spectrophotometric and chromatographic technologies such as gas chromatography, liquid chromatography coupled with mass spectrometry (**Table 2**).

Analysis of capsaicinoids in such foods as chilli, paprika, chilli oil is considered to be relatively simple due to simple method of sample preparation, including solvent extraction, filtration by syringe-type membrane filter, and analysis by chromatographic techniques. In the meantime, some of the foods such as *Gochujang* (one of the traditional foods in Korea), *Kimchi* and chilli sauce have to follow the multi steps, including extraction, purification, filtration and analysis.

Recently analytical method of capsaicinoids in *Gochujang* by high performance liquid chromatography (HPLC) has been endorsed as type II and by gas chromatography as type IV in the 30th section of the CODEX Alimentarius Committee on Methods of Analysis and Sampling, Balatonalmadi, Hungary, 9-13, March 2009. Since then the needs for capsaicinoids analysis has been rapidly increased in Korea as well as in many Asian countries. Moreover, Korea government tries to establish the criteria of hot taste label based on concentration of capsaicinoids in foods, instead of scoville heat units. This kind of implementation has been bringing out the necessity of analysis of capsaicinoids in foods to be more effective and rapid than conventional method.

Meanwhile, manufacturing *Gochujang* requires many pretreatment processes to remove such impurities as interfere with analysis before the content of capsaicin is determined, since the raw materials of

Gochujang include soybean, wheat flour, glucose, and sugar. It has been reported that the concentration of capsaicinoids in *Gochujang* varieties ranges from 10 mg/kg to 100 mg/kg; varieties of mild taste contain from 10 mg/kg to 30 mg/kg and strong taste are characterized by a content higher than 70 mg/kg, reaching about to 100 mg/kg⁽¹²⁻¹³⁾. Therefore, the effective analytical method of capsaicinoids in foods such as *Gochujang*, *Kimchi*, and snacks using chromatographic technology has been a challenge due to their complex matrix and interferences in the raw materials.

Analytical method of capsaicinoids has been studied and developed for the chilli and chilli pepper since these have frequently been used as a food ingredient and raw material. Most of difficulties in the analysis are related with the method of sample preparation to remove the interferences, separation of individual capsaicinoids and analysis time.

Ha *et al.*⁽¹⁴⁻¹⁵⁾ have performed the gas chromatographic analysis of capsaicin in *Gochujang* and foods. For the gas chromatographic analysis of capsaicinoids in foods, the sample preparation not only follow the multi-step to remove the interferences in foods but also requires a large consumption of solvent during sample preparation, resulting in environmentally unfriendly, time consuming, and high cost (**Figure 1**).

With some advantages of high performance liquid chromatography (HPLC) over chemical analysis, its application to the analysis of capsaicinoids has

frequently been proposed⁽¹⁵⁻¹⁷⁾. Even though sample preparation for HPLC analysis may be simple and convenient, the interfering substances extracted with capsaicinoids hinder the chromatogram and can easily be absorbed into the column-packing materials, increasing pressure in the system and shortening the column life.

Some of the researches have performed to detect the extremely low concentration of capsaicinoids in self-defense weapon using liquid chromatography-mass spectrometry and -tandem mass spectrometry⁽²⁾.

Recently ultra high performance liquid chromatography (u-HPLC) method has been adopted in many areas of food analysis due to its rapid analysis and remarkably excellent separation. U-HPLC method has been known to be economical and environmentally friendly due to extremely rapid analysis. In concomitant with the fast analysis, the consumption of solvent for mobile phase can be reduced up to 5 to 10-fold in savings.

Therefore, our study is focused to develop the analytical method for the capsaicin content in foods, especially *Gochujang*, using u-HPLC (LaChromUltra System, Hitachi-High Technologies Corporation, Japan) and to validate the new method according to single laboratory validation, including linearity, limit of detection (LOD) and limit of quantitation (LOQ), accuracy, precision, repeatability, and applicability.

Table 2. Analytical instruments for the quantification of capsaicinoids in foods

Instrument	Stationary phase	Mobile phase	Detector	Foods	Reference
Spectrophotometry	N.A.	N.A.	UV/VIS at 590 nm	Hot pepper	I.Perucka <i>et al.</i> Food Chemistry 71, 287-291, 2000
Gas chromatography	medium polar capillary column (0.25 mm×30 m)	Helium	FID	Gochujang	Ha, J <i>et al.</i> , J.AOAC Int. 92(2), 387-391, 2008
Liquid chromatography	C18 (4.6 × 15 cm)	Acetonitrile/ 1% Acetic acid in water (6:4)	UV 280 nm FLD280/325	Rep pepper oleoresins Hot pepper	AOAC 995.03, 2005

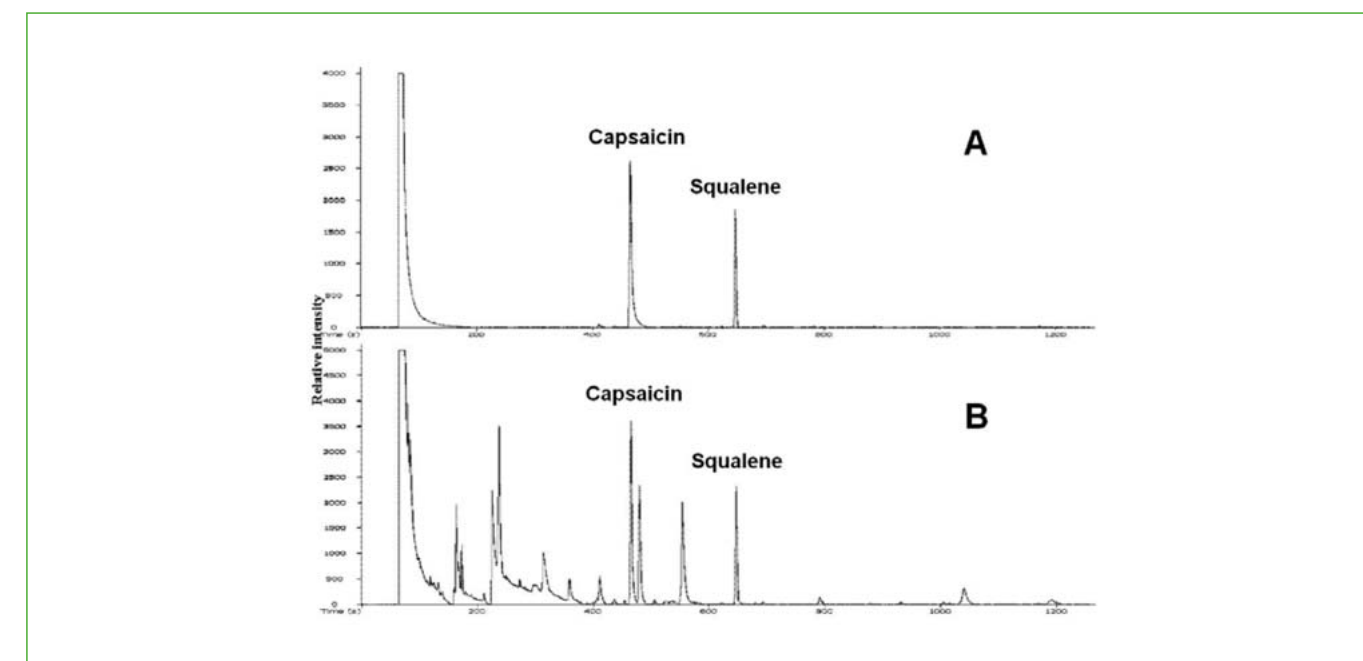


Figure 1. Chromatograms of capsaicin in standard (A) and *Gochujang* (B) by GC method.

Experimental

Material

Gochujang were purchased from the super market in Seongnam city, Korea, and stored at below 4°C in an air-tight container prior to analysis. All other samples for the applicability were also purchased from the super market in Seongnam city, Korea and should be mixed thoroughly so as to be a homogeneous mixture prior to analysis.

Sample Preparation

Accurately weigh ca 5 g *Gochujang* into 250 mL boiling flask. Add 50 mL 95% ethanol and several glass beads, and attach flask to reflux condenser. Gently reflux it for 5 hours and let it cooled. Filter 1 mL solution through a 0.20 µm syringe filter into small glass vial. Use it for LC analysis⁽⁹⁾.

Chromatographic conditions

Analysis of capsaicinoids was performed using LaChromUltra L-2000 U Series apparatus (Hitachi-High Technologies Corporation, Japan), including an eluant reservoir, HPLC pump, an autoinjection system of 2 µL injection at a fixed volume. Liquid chromatographic separation of the analytes was achieved using LaChromUltra C₁₈ (2 µm, 2 mm i.d. × 50 mm L, Hitachi-High Technologies Corporation, Japan). The column was equilibrated at a flow rate of 0.6 mL with a mobile phase consisting of acetonitrile-distilled water (40:60, v/v) containing

1% (v/v) acetic acid at 40-°C. L-2485U Fluorescence-Detector (Hitachi-High Technologies Corporation, Japan) under the condition of *Ex.* 280 nm, *Em.* 325 nm was used and the autosampler injection volume was set at 2 µL.

Reagents

Capsaicin (CAP) and *dihydrocapsaicin* (DHC) were purchased from Sigma (St. Louis, MO, USA). Ethanol (ACS reagent grade), acetonitrile (chromatographic grade), acetic acid (ACS reagent grade) were used.

Calibration Graph

Calibration graph for u-HPLC were based on peak area prepared by injecting 2 µL of the 0.1 0.5, 1.0 2.5 and 10.0 µg/mL solutions prepared through the dilution of capsaicin and dihydrocapsaicin stock solutions (1000 µg/mL) with 95% ethanol.

Method validation

The method validation has been carried out based on FDA guidance for bioanalytical validation (2001) and ICH Q2B Guideline using *Gochujang*.

Results and Discussions

Comparison of elution time

by conventional HPLC with u-HPLC

The comparison of chromatograms of capsaicinoids standard by conventional high performance

liquid chromatography (c-HPLC) and ultra high performance liquid chromatography (u-HPLC) was represented in **Figure 2**. The typical c-HPLC requires a considerable amount of analysis time (around 25 minutes) and solvent consumption for successful chromatographic analysis. However, u-HPLC requires a short analysis time (around 6 minutes) for the achievement of the same chromatographic analysis as c-HPLC. Therefore, it can be considered that u-HPLC method has been economical and environmentally friendly due to extremely rapid analysis. Because of the fast analysis, the consumption of solvent for mobile phase can be reduced up to 5-fold in saving.

Linearity

To determine the linearity, 5 different concentrations of capsaicin standards were used in a working range from 0.1 to 10.0 µg/mL for ultra high performance liquid chromatograph (u-HPLC)

method. Each solution was injected 3 times. Regression analysis revealed a good relation (correlation coefficient (r)=0.9997 for capsaicin and 0.9999 for dihydrocapsaicin). The graph showed a negligible intercept, which was calculated by the least-square method's regression equation (**Figure 3**).

Limit of detection (LOD)

and limit of quantitation (LOQ)

The limits of detection (LOD) and limits of quantitation (LOQ) values were estimated at an SD/b ratio of 3 and 10, where SD and b stand for the standard deviation of the intercept and slope of the regression line, respectively. LOD was 0.054 µg/mL for capsaicin and 0.053 µg/mL for dihydrocapsaicin. LOQ was 0.163 µg/mL for capsaicin and 0.160 µg/mL for dihydrocapsaicin (**Table 3**).

Recovery and accuracy

In order to study the accuracy of the methods, recovery experiments were carried out with the standard spiking a sample at three levels. The results were given in **Table 4**. The average recoveries obtained were quantitative (91.1-94.8% for capsaicin, 91.4-97.0% for dihydrocapsaicin), indicating good accuracy of u-HPLC methods.

Applicability

To apply the analysis method to various *Gochujang* products, chilli oil, *Kimchi* and snack containing a different amount of capsaicin, were analyzed with u-HPLC methods. The results showed that u-HPLC method can be applicable to the wide variety of foods containing chilli power and obtain the good separation without hindrance of interferences in foods as shown in **Table 5** and **Figure 4**.

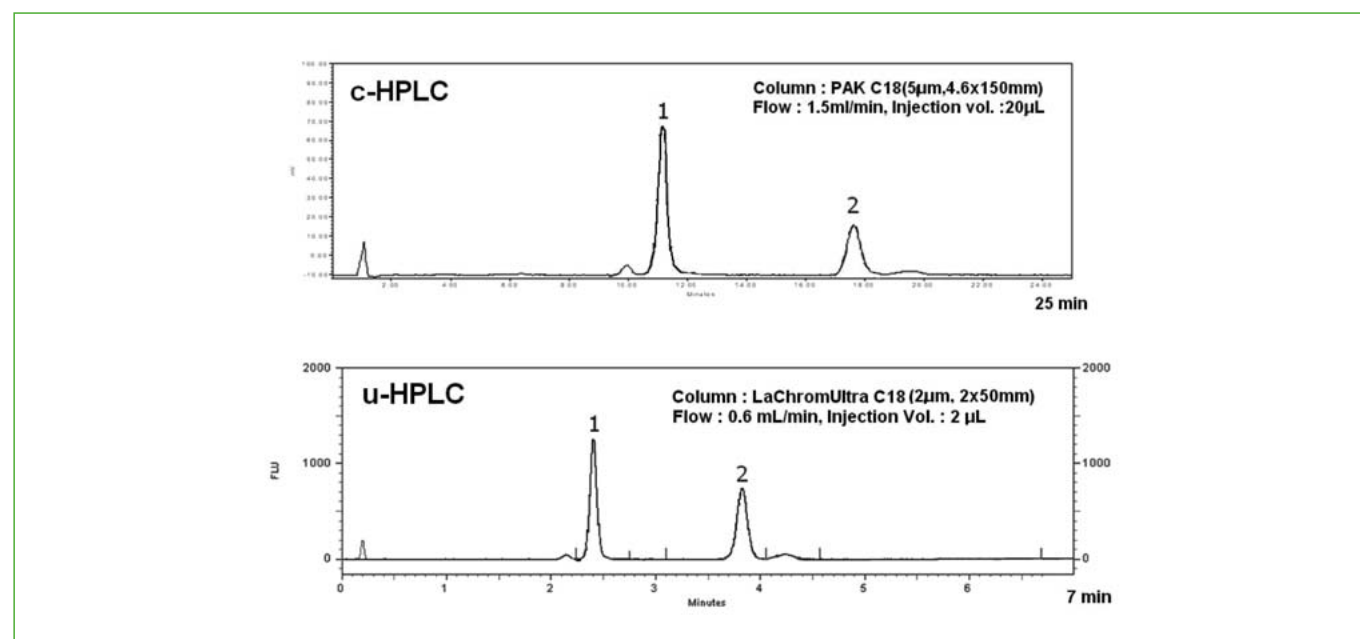


Figure 2. Comparison of chromatograms of capsaicinoids standard by c-HPLC (upper) and u-HPLC (lower). Key : 1. Capsaicin, 2. Dihydrocapsaicin.

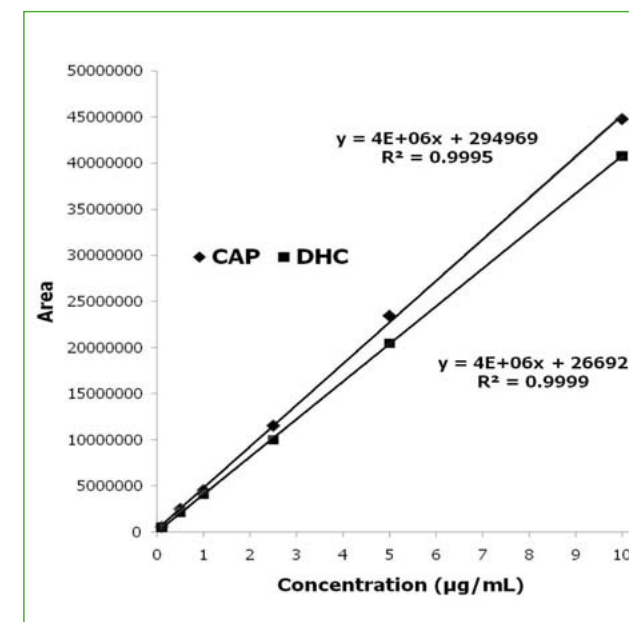


Figure 3. Calibration graph of capsaicin and dihydrocapsaicin by u-HPLC method.

Table 3. Calibration and sensitivity data of capsaicinoids

Component	Linear range (µg/mL)	R ²	LOD (µg/mL)	LOQ (µg/mL)
Capsaicin	0.10 - 10.0	0.9995	0.054	0.163
Dihydrocapsaicin	0.10 - 10.0	0.9999	0.053	0.160

Table 4. Intra- and Inter-day precision and accuracy data of the developed method for the determination of capsaicinoids in *Gochujang*^a

Components	Spiked amount (μg/g)	Intra-day (CV%)	Inter-day (CV%)	Recovery (%)
Cap	19.7	3.07	13.12	94.0
	39.4	4.51	4.53	94.8
	98.4	2.42	3.27	91.1
DHC	8.8	6.51	9.79	97.0
	17.5	5.81	5.18	93.4
	43.8	5.00	6.63	91.4

^a : sample weight 5.0 g, concentration of capsaicin and dihydrocapsaicin was 29.3 and 15.1 mg/kg, respectively.

Table 5. Applicability of the u-HPLC methods to various foods

Foods	Capsaicin	Dihydrocapsaicin
<i>Gochujang 1</i>	16.3±0.06	15.7±0.03
<i>Gochujang 2</i>	35.8±0.05	22.6±0.02
<i>Gochujang 3</i>	95.0±0.06	44.4±0.07
<i>Gochujang 4</i>	28.5±0.9	14.6±0.6
<i>Chilli oil</i>	290±0.5	146±0.5
<i>Kimchi</i>	2.29±0.15	1.30±0.06
<i>Snack</i>	4.50±0.02	3.64±0.06

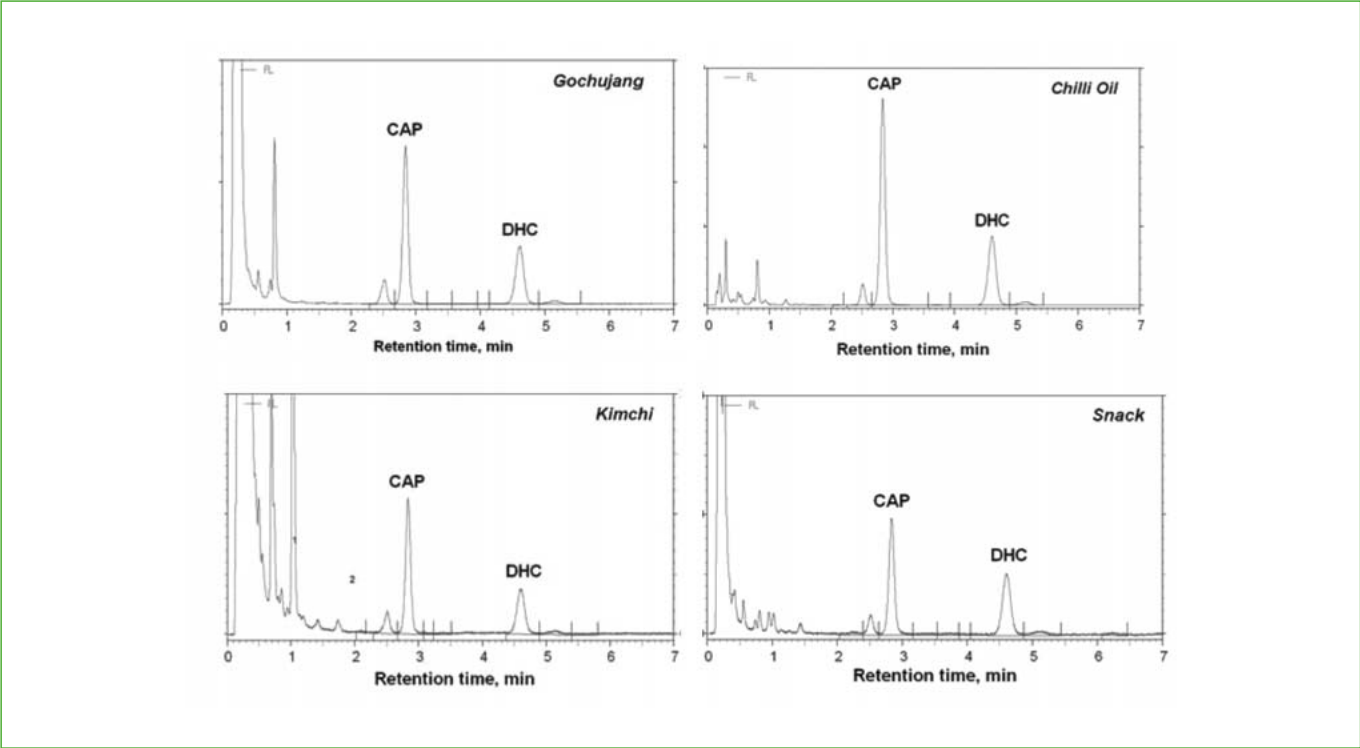


Figure 4. Separation of capsaicinoids in various foods using u-HPLC.

Conclusions

For the analysis of capsaicinoids in foods, the u-HPLC method using LaChromUltra System (Hitachi-High Technologies Corporation, Japan) was validated in terms of precision, accuracy, and linearity according to FDA and ICH guidelines, and good results obtained within acceptable criteria.

Benefits of LaChromUltra System for capsaicinoids analysis in foods are reducing the analysis time to about 1/4, reducing the volume of solvent to about 1/10, remaining high resolution, good separation and easy handling.

It seems that LaChromUltra System can offer significant improvements in speed, sensitivity, and resolution compared with conventional HPLC, this bodes well for future applications in the analysis of capsaicinoids as well as in the analysis of food components.

Acknowledgement

We especially thank Hitachi-High Technologies Corporation for its financial support and also appreciate the technical advice received from Analytical Systems Design Department, Naka Division.

References

1. Todd, P. H., Bensinger, M. G. & Riftu, T. (1977) *J. Food Sci.* 42, 660-665
2. Reilly, C. A., Crouch, D. J. and Yost G. S. (2001) *J. Forensic Sci.* 46, 502-509
3. Altinkurt, T. (1980) *Eczacilik Bull.*, 22, 22-28
4. Iwai, K., Suzuki, T. and Fujiwake, H. (1979) *J. Chromatogr.* 172, 303-311
5. Chiang, G. H. (1986) *J. Food Sci.* 51, 499-503
6. Legin, G. Ya. (1996) *Pharm. Chem. J.* 30, 60-68
7. Perucka I. and Oleszek W. (2000) *Food Chem.* 71, 287-291
8. Chanda S., Mould A., Esmail A. and Bley K. (2005) *Reg. Tox. Pharm.* 43, 66-75
9. Bourne N. Bernstein D.I. and Stanberry L.R. (1999) *Antimicrob. Agents Chemother* 43, 2685-2688
10. Mundinger T.A. and Efferth T. (2008) *Molecular Medicine Report* 1, 611-616
11. Kang J. Kim C. Han I. Kawada T. and Yu R. (2007) *FEB Letters* 581, 4389-4396
12. Kim K.S., Park J.B. and Kim S.A. (2007) *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr* 36, 759-765
13. Oh H., Shon S. and Kim J (1999) *Korean J. Food Sci. Technol.* 31, 1570-1576
14. Ha J., Han K., Kim K., and Jeong S. (2008) *JAOAC*, 91: 387-391
15. Hawer, W. and Ha J., Hwang, J. and Nam, Y. (1994) *Food Chem.* 49, 99-103
16. Hoffman, P. G., Lego, M. C. and Galetto, W. G. (1983) *J. Agricu. and Food Chem.* 31, 1326-1330
17. Saria, A., Lembeck, F. and Skofitsch, G. (1981) *J. Chromatogr.* 208, 41-46

最先端太陽電池における発電効率向上のための各種部材の光学特性評価

Evaluation of Solar Cell Components using UV-VIS-NIR Spectrophotometer

堀込 純* 和久井 隆行* 栗田 浩二*

1. はじめに

太陽電池は、太陽の光エネルギーを電気に変える観点から、発電過程における燃焼による温室効果ガスを発生しないクリーンなエネルギーとして注目されている。太陽電池の原理は約1世紀前に発見され、1954年に単結晶タイプのシリコン太陽電池で約6%の変換効率が達成されて以来、電力への適用が認知されてきた¹⁾。

近年、様々な最先端技術を採用することで、初期の太陽電池の変換効率に比べて性能が飛躍し、同じ単結晶タイプのシリコン太陽電池において、約20～25%の変換効率が得られるようになった。また、単結晶タイプ以外にも多結晶タイプや薄膜タイプ、アモルファスタイプのシリコン太陽電池、シリコン以外の半導体を用いた方式、有機色素を用いた方式など様々な方式の太陽電池が研究開発されている。

太陽電池の研究開発においては、コスト・信頼性・寿命及び発電効率が開発課題となっている。その中でも、高効率化のためには、太陽光を無駄なく発電に用いることが重要視され、どのタイプの太陽電池においても、太陽電池部材の光学特性の向上が課題とされている^{1) 2)}。

本稿では、U-4100形分光光度計を用いて、太陽電池の高効率化に用いられる各種部材に関して、光学特性を評価した例を紹介する。

2. 太陽電池部材の測定例

2.1 反射防止膜の測定

多くの方式の太陽電池において、発電効率を高めるために太陽電池の表面に反射防止膜が用いられている。これは、太陽光を反射光として逃さず効率良く半導体の発電層に吸収させるためである。

5°正反射付属装置を用いることにより、試料に対して垂直に近い入射角における反射防止膜の効果の確認を行うことが可能である。図1に5°正反射付属装置の光学系を示した。5°正反射付属装置は、V-N法と呼ばれる光学系の採用により、サンプルの同一箇所における透過率と反射率の測定ができる。そのため、ムラのある試料など、同じ位置で透過率、反射率の測定が必要な場合に適している。また、同一箇所を測定できるため、鏡面性の試料に対して、透過、反射率の測定結果から正確に試料の吸収率を求めることが可能である。

今回、可視領域用と近赤外領域用の反射防止膜付き基板の反射スペクトルを測定した結果を図2に示す。反射防止処理をすることで、いずれも反射率が低い波長域が存在し、この波長域では反射光としてのロスが小さいことがわかる。

U-4100形分光光度計は、プリズム・グレーティング分光器の最適な光学系により、低い反射率の領域でもノイズが小さく正確なスペクトルの測定が可能である。

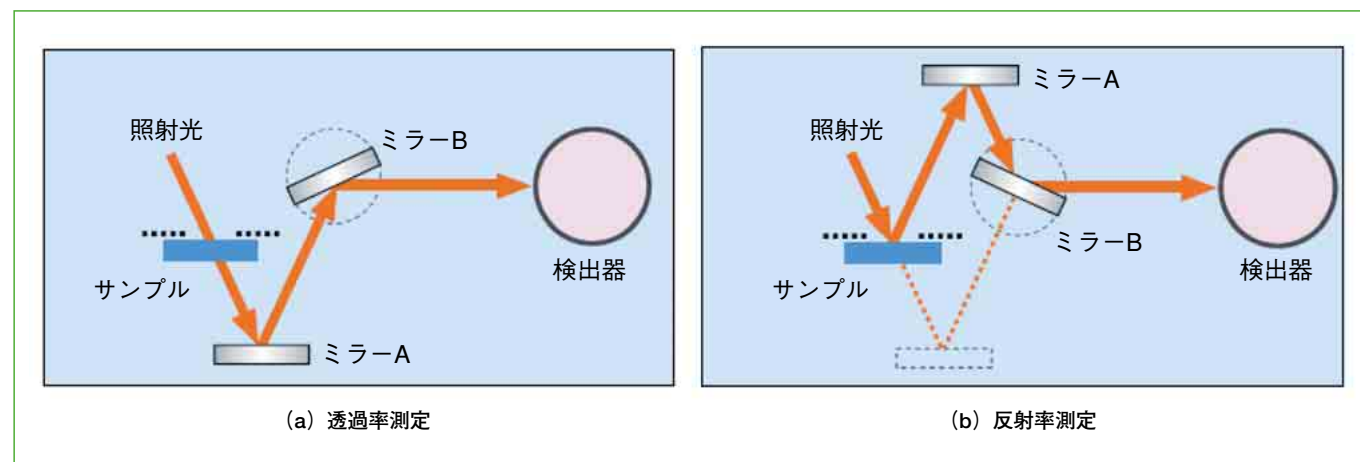


図1 5°正反射付属装置の光学系
V-N法と呼ばれる光学系の採用により、サンプルの同一箇所における透過率と反射率の測定ができる。

* 株式会社日立ハイテクノロジーズ 那珂アプリケーションセンタ 分析システムグループ

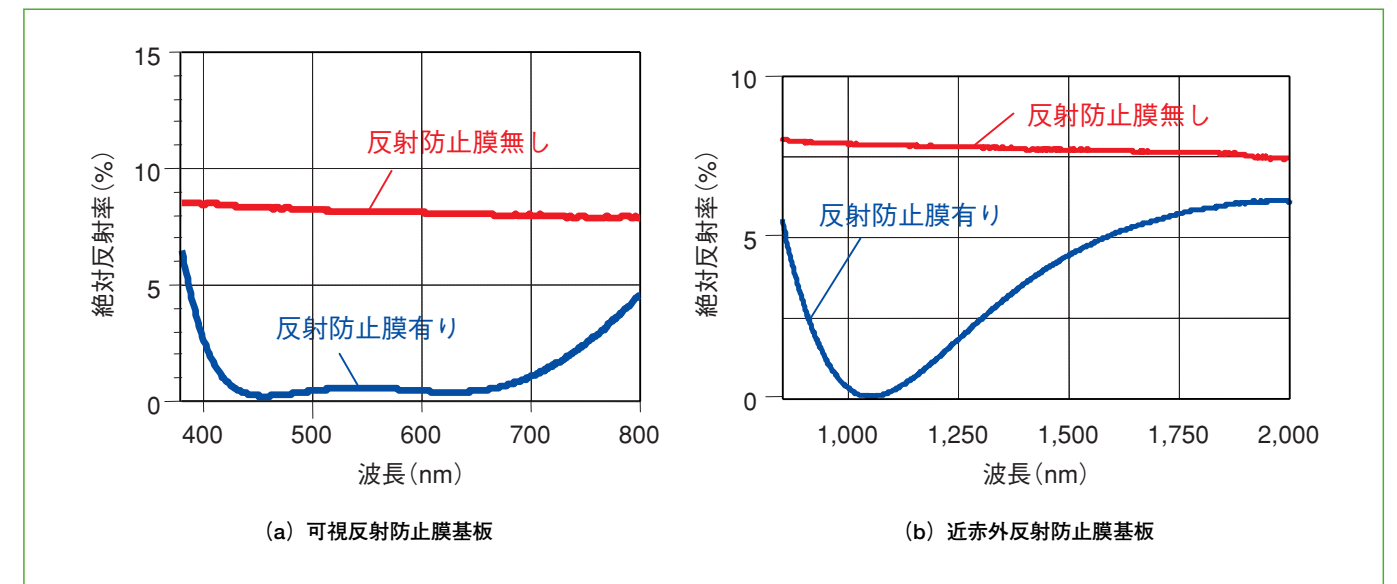


図2 反射防止膜の5度正反射スペクトル
反射防止処理により、反射光としてのロスが低減されていることがわかる。

2.2 透明導電膜付き基板の測定

薄膜シリコンタイプの太陽電池では、電極として、透明導電膜を使用している。この透明導電膜には、電気を取り出すための導電性と光の透過性の二つが求められる。

太陽光は時間や季節によって、入射する角度が変化する。そのため、光の透過性の評価には、入射角を変えた評価が重要である。ここでは、角度可変絶対反射

付属装置(10-60度)(PN:134-0116)を使用して、透明導電膜付き基板における入射角を20～60°に変えた時の透過スペクトルと反射スペクトルを測定した。なお、0°透過スペクトルは、ガラスフィルタホルダ(PN:134-0207)を5°反射スペクトルは、5°正反射付属装置(絶対)(PN:134-0102)を用いた。測定結果を図3に、得られたスペクトルから可視光透過率、可視光反射率、日射透過率、日射反射率を算出した結果を

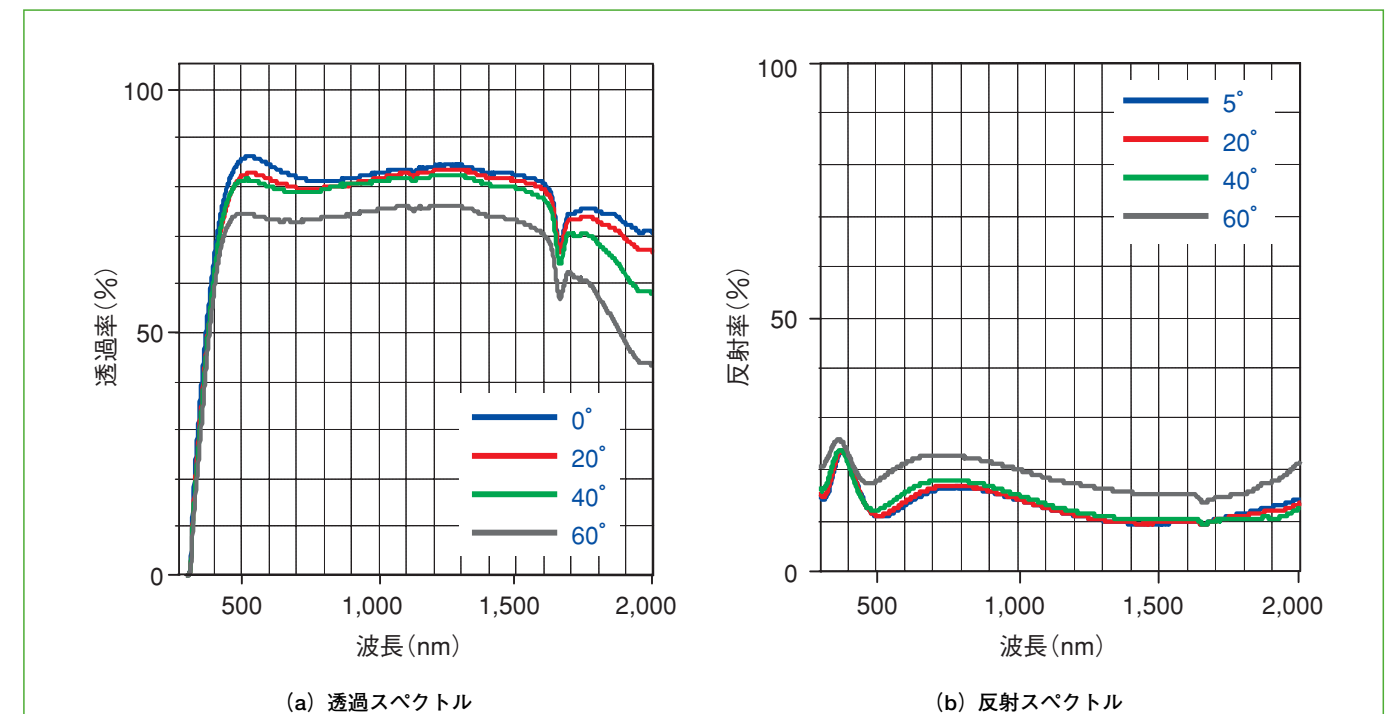


図3 透明導電膜基板における入射角を変化させた際の測定結果
入射角度に依存した透過率や反射率の評価が可能である。

表1 透明導電膜基板における入射角を変化させた際の透過率と反射率の評価

可視光透過率			日射透過率		
0°	85.2%	80.0%	5°	11.8%	14.0%
20°	82.0%	77.9%	20°	12.2%	14.2%
40°	80.7%	76.9%	40°	13.8%	15.1%
60°	73.9%	70.5%	60°	19.6%	20.2%

表1に示す³⁾。これらの演算は、オプションパッケージを用いることで算出可能である。可視光透過率と可視光反射率は、可視光領域における透過率と反射率の指標であり、試料を眼で見た際の総合的な透過特性と反射特性を反映している。一方、日射透過率及び日射反射率は、太陽光の波長分布における透過率と反射率の指標であり、太陽光線下における総合的な透過特性と反射特性を反映している。

その結果、日射透過率は入射角が増加するに従い減少し、日射反射率は増加する傾向が確認された。このように、角度可変絶対反射付属装置(10°ステップタイプ)を使用することにより、入射角を変えた透過特性と反射特性の測定を定量的に行うことが可能である。

2.3 テクスチャ構造を持つガラスの測定

2.3.1 全方向への透過率測定

太陽電池の発電効率を高めるために、単結晶シリコンの受光面やガラスパネルなどにテクスチャ構造と呼ばれる微細なピラミッド構造を形成している(図4)。この構造を形成することにより、発電層に入射した光が透過、反射、散乱などを繰り返し、その結果、フラットな表面よりも、多くの光を発電層に導くことができ、発電効率を高めることが可能となる^{4) 5)}。

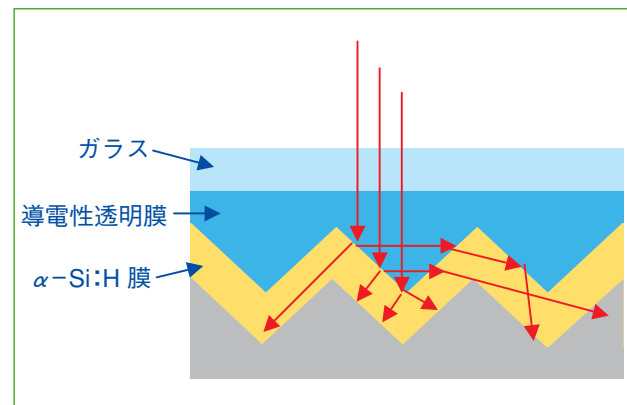


図4 テクスチャ構造を持つ太陽電池の構造例
薄膜に微細なテクスチャ構造を持たせることで、光閉じ込め効率を向上させ、発電効率を向上させる。

このような構造体では、光を拡散させる性質と、高い透過特性が求められるが、透過率を正確に測定するためには、試料を積分球に密着させて設置することが必要である。透過ホルダ(密着)を用いることにより、積分球に密着させ、拡散透過を含めた透過率測定が可能となる(図5)。

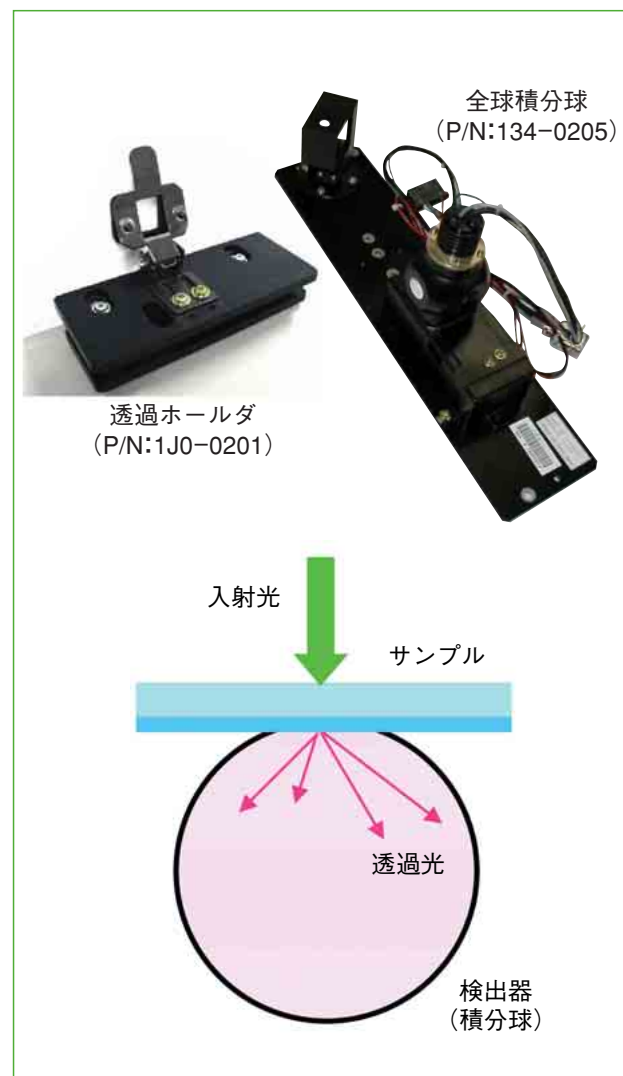


図5 拡散透過を含めた透過率測定
全球積分球と透過ホルダ(積分球密着)を用いることで、テクスチャ構造のガラス基板など、拡散された透過光を正確に測定可能となる。

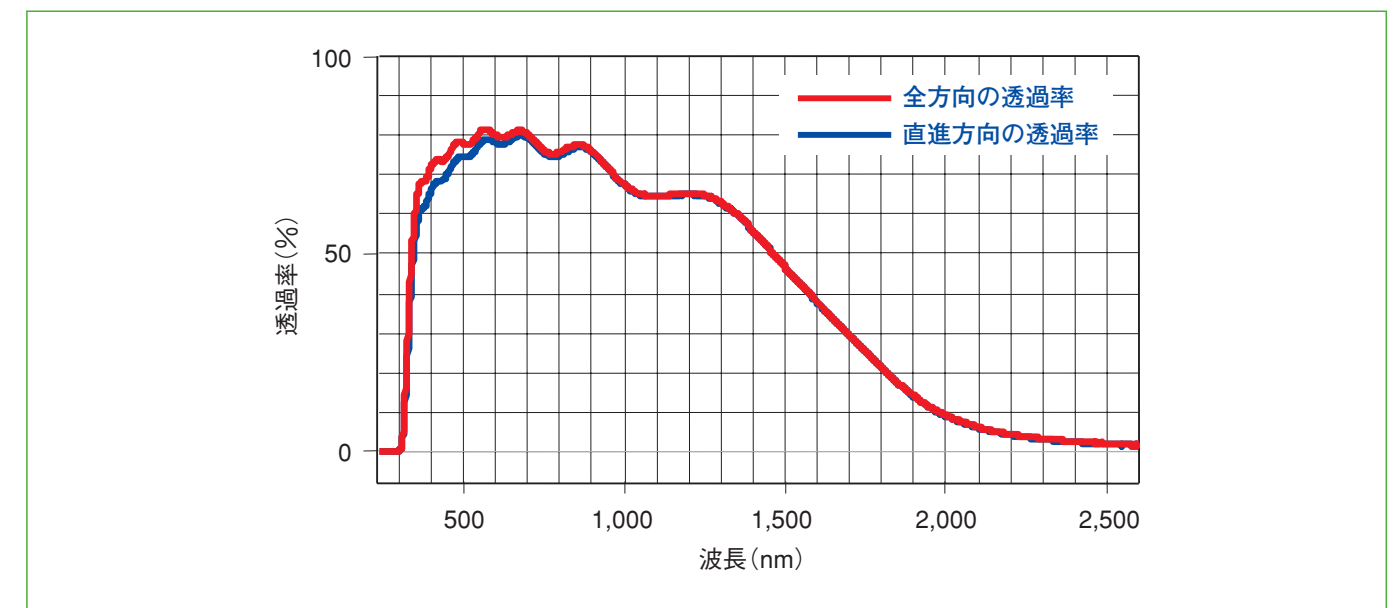


図6 濁り処理のされた透明導電膜基板の透過スペクトル
積分球に試料を密着させることにより、拡散透過成分を含めた透過率を正確に測定できる。

図6に、光を拡散させる構造を持つガラスパネルの透過率を測定した結果を示す。試料を積分球に密着させた場合と離れた場合の2種類を測定した。その結果、試料を密着させ測定することにより、高い透過率が得られ、拡散透過を含めた測定が可能であることが確認された。積分球に試料を密着させることにより、拡散透過を含めた透過率を正確に測定可能となる。

2.3.2 拡散透過光の角度分布測定

テクスチャ構造を有する試料では、拡散透過光の角度分布の評価が重要である。角度可変絶対反射付属装置(任意可変タイプ)は、積分球を搭載した検出器を、

試料位置を中心に角度を変えることが可能なため、拡散透過の広がり分布を測定することが可能である。特にこの装置は、ミラーなどを用いずに拡散透過光を直接積分球で検出することができるため、微弱な検出光領域で正確に測定が可能である(図7)。

3種類のガラスパネルにおいて、拡散透過光の角度分布の測定を行った結果を図8に示す。ガラスAが最も高い方位角度まで透過光を拡散させていることが分かる。積分球を搭載した検出器を移動させ、検出された光量を測定することにより、拡散透過光の拡がり分布を測定することができる。

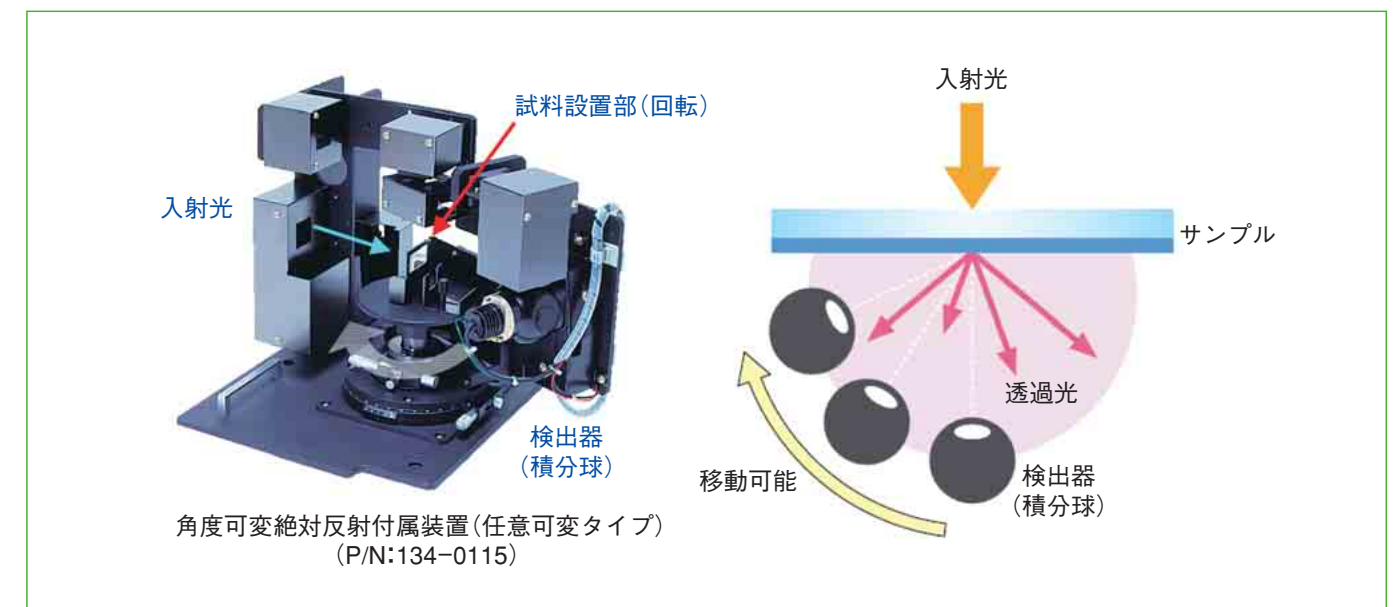


図7 拡散透過光の角度分布測定
積分球可動式の角度可変絶対反射付属装置を用いることで拡散透過光の角度分布を測定できる。

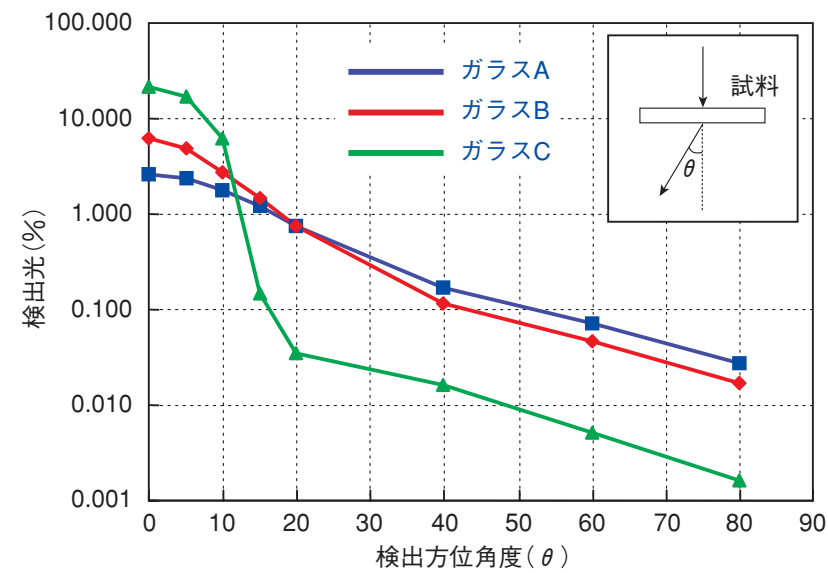


図8 拡散透過光の角度分布測定
ガラスAが最も高い方位方位角度(θ)まで透過光を拡散させていることが分かる。

3. まとめ

太陽電池の高効率化に用いられる各種部材に関し光学特性の評価を紹介した。

太陽電池は、様々な最先端技術により、低価格化や信頼性・寿命・発電効率の向上がなされている。これら最先端部材の様々な測定ニーズに対し、U-4100形分光光度計は、豊富にラインナップされているアクセサリを用いることで、柔軟に対応可能である。日立分光光度計は、最先端部材の光学特性評価というアプローチから太陽電池の技術革新に貢献する。

参考文献

- 1) 太陽電池2008/2009, 日経BP社(2008)
- 2) トコトンやさしい太陽電池の本, 日刊工業新聞社(2007)
- 3) JIS R3106 板ガラス類の透過率・反射率・放射率・日射熱取得率の試験方法, 日本規格協会(1998)
- 4) 材料の化学と工学, vol46, No.1(2009)
- 5) シャープ技報 第70号(1998)

高速液体クロマトグラフシステム 糖(リン酸-フェニルヒドラジン法)分析システムの医薬研究への新展開

New Application for Medical Research of Sugar Analytical System
using Phosphoric Acid and Pphenylhydrazine

中川 裕章* 松崎 彩子* 鈴木 裕志* 石川 昌子* 橋本 誠* 吉岡 信二**

1. はじめに

糖は栄養素や甘み成分として多くの食品に含まれているほか、木材・紙・蟹の甲羅などの構造材料、細胞表面の情報伝達など多くの種類や役割を持っている。糖類は一般に特異的な紫外・可視吸収や蛍光を持たず、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)では検出が難しい物質の一つである。一般に示差屈折計(RID)が用いられるが、検出下限が数 μ gと感度が低いこと、糖に限らず多くの物質を検出すること、移動相組成を変化させるグラジエント分析ができないことなどの欠点がある。蒸発光散乱検出器(ELSD)やコロナ荷電粒子検出器(CAD)¹⁾など数ngと高感度で検出できる装置も開発され利用されているが、糖以外の物質も検出されるため用途が限られる。糖類の末端がヘミアセタール基を生じ還元性を示す化学的特徴に着目し、選択的に標識化して検出しやすくすることが広く行われる。HPLCでも分析前に標識化するプレカラム標識法、カラムで糖類を分離してから標識化するポストカラム

標識法のいずれでも多くの方法が提唱されている^{2, 3)}。一般的にプレカラム標識法はシンプルなHPLCシステムで分析でき、ポストカラム標識法は成分分離後に自動的に標識するため再現性が良い。日立ハイテクノロジーではリン酸とフェニルヒドラジンをを用いたポストカラム標識法を糖(リン酸-フェニルヒドラジン法)分析システムとして販売している(図1)⁴⁾。

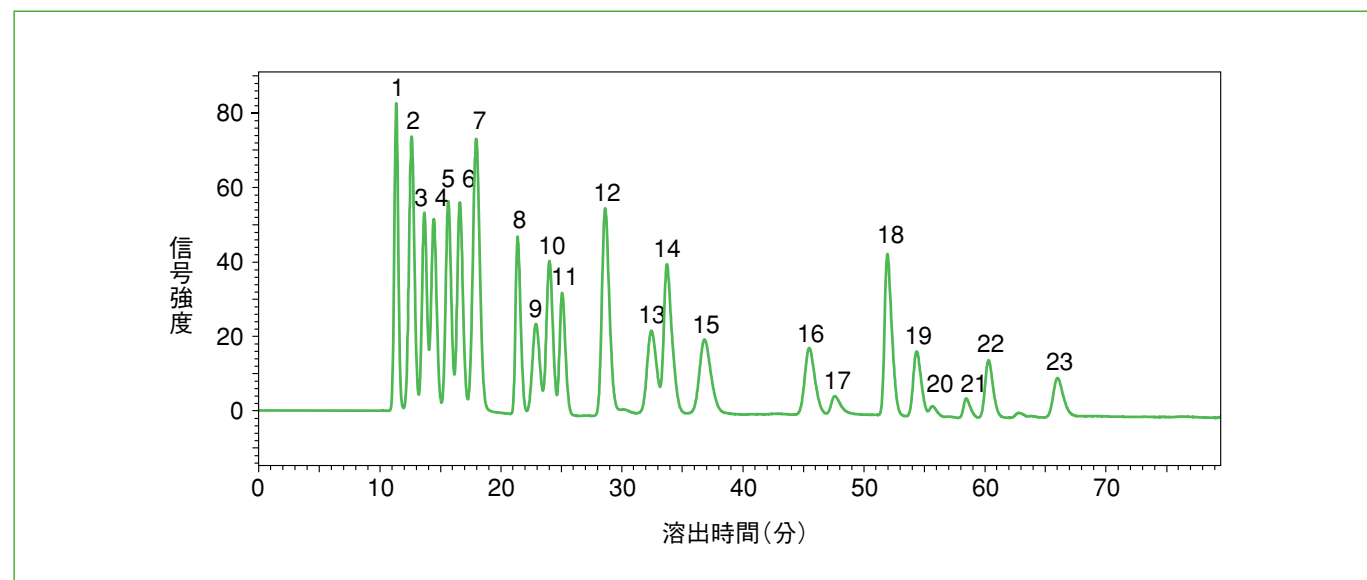
2. 糖分析システムの反応機構

糖(リン酸-フェニルヒドラジン法)分析システムは食品などの品質管理に良く使われており、アプリケーションの糖の種類も増えてきた。23種類の糖を一斉分析した結果を図2に示す⁵⁾。この中でシクロデキストリン類も検出されているが、シクロデキストリンは環状に糖が結合しており末端のヘミアセタール構造が無く、本法では検出できないはずである。そこで各種の糖の蛍光強度を整理し、反応機構を考察した。図3に



図1 糖(リン酸-フェニルヒドラジン法)分析システム

* 株式会社日立ハイテクノロジーズ 那珂アプリケーションセンタ 分析システムグループ
** 株式会社日立ハイテクノロジーズ 事業開発センタ 微量分析装置開発プロジェクト

図2 糖標準品の分析例⁵⁾

1, キシロース 2, アラビノース 3, フルクトース 4, アロース 5, マンノース 6, グルコース 7, ガラクトース 8, スクロース
 9, ニゲロース 10, マルトース 11, コージビオース 12, メリビオース 13, マルトトリオース 14, ラフィノース 15, パノース
 16, マルトテトラオース 17, α -シクロデキストリン 18, スタキオース 19, マルトペンタオース 20, β -シクロデキストリン
 21, γ -シクロデキストリン 22, マルトヘキサオース 23, マルトヘプタオース

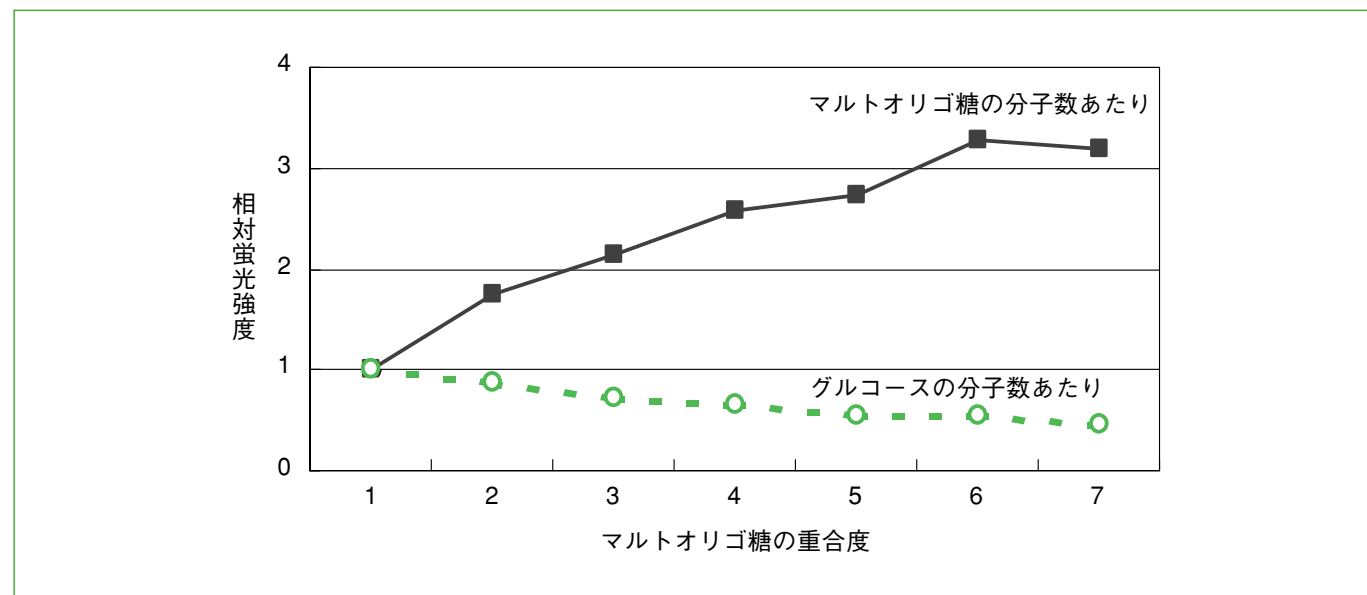


図3 マルトオリゴ糖の発色強度⁵⁾
 重合度はオリゴ糖を構成するグルコースの分子数。実線がマルトオリゴ糖の分子数あたりの蛍光強度、破線がグルコースの分子数あたりの蛍光強度を示す。

グルコースが α 1,4のグリコシド結合でつながったマルトオリゴ糖の発色を示す。重合度はグルコースの数を示す。何れのオリゴ糖もフェニルヒドラジンと反応する末端は一つなので、オリゴ糖分子数あたりの蛍光強度は同じと予想されるが、実際にはオリゴ糖の重合度が上がるにつれ蛍光強度は増し、グルコース分子数あたりの蛍光強度はほぼ同じである。これらのことから、リン酸-フェニルヒドラジン法では、反応溶液にリン酸を用いて150℃まで加熱するため、グルコース間のグリコシド結合が切断を伴うと考えられる。

3. 糖タンパク質解析研究への応用

タンパク質は生体を構成する重要な成分であるが、その多くには糖鎖がついて糖タンパク質となっている。糖鎖は細胞と他の細胞・微生物・ホルモン・毒素などとの相互作用役立っており、タンパク質の機能発現をコントロールしている。DNAシーケンサが発明され、網羅的遺伝子解析(ゲノミクス)を行うことで生物の全てが解明できると期待されたが、遺伝子発現とタンパク質の発現にはギャップがあり、タンパク質の網羅的解析(プロテオミクス)が必要とされた。質量分

析装置(MS)などでプロテオミクスの研究が進むと、今度はタンパク質の働きを理解するためには結合している糖鎖も解析する必要がでてきた。近年薬として大きく伸びているタンパク質医薬品も糖鎖がついているものが多い。抗体医薬で使われる免疫グロブリンや、造血ホルモンのエリスロポエチンなども糖タンパク質であり、その糖鎖構造が生理活性に大きく影響することが知られている。また、数多くの疾患などで変化することが知られており、腫瘍マーカーの半分程度は糖鎖構造が関与していると考えられている。

これらの研究には糖鎖構造と、タンパク質のどのアミノ酸に糖鎖が結合しているかという2つの情報が必要になる。糖タンパク質を酵素で分解して糖ペプチドとし、MSで分析することが一般的であるが、糖ペプチドはペプチドに比べてMS感度が低く精製する必要がある。HPLCで精製を行うとき、糖ペプチドとペプチドが判別しにくいという欠点があった。しかし、糖(リン酸-フェニルヒドラジン法)分析システムでは結合している糖も検出できるため、糖ペプチドのみが容易に分析でき精製の効率化が図れる。図4にペプチドと糖ペプチド混合物のHPLC分析での紫外(UV)検出とポルトカラム法分析の比較を示す。フェチュインと

いう糖タンパク研究に良く使われるタンパク質と、抗体医薬としても使われる免疫グロブリンをそれぞれ酵素で分解し、ペプチドと糖ペプチドにしてHPLCで分析したものである。上のクロマトグラムはUVで検出したものでありペプチドを検出するため、どれが糖ペプチドのピークかわからない。下のクロマトグラムはリン酸-フェニルヒドラジン法で糖のみを検出したもので、糖ペプチドの溶出が良くわかる。従来糖ペプチドの分析には糖に特異的に結合するレクチンやセルロースなどが使われてきたが、糖鎖やペプチドの構造による精製能力の違いが懸念され、またHPLCで分離したものは全てのフラクションをMS分析などでチェックすることもあったが、手間と時間がかかり感度も低かった。リン酸-フェニルヒドラジン法では糖ペプチドの溶出が高感度でモニターできるので、HPLCによる精製条件も容易に検討でき、糖ペプチド分画を効率的に精製できる。この様にして精製したフェチュイン由来の糖ペプチドをNanoFrontierでMS分析した結果を図5示す⁶⁾。純度が高い糖ペプチドが得られることにより、糖鎖の構造とその糖鎖がどのアミノ酸に結合しているかの解析が容易になる。

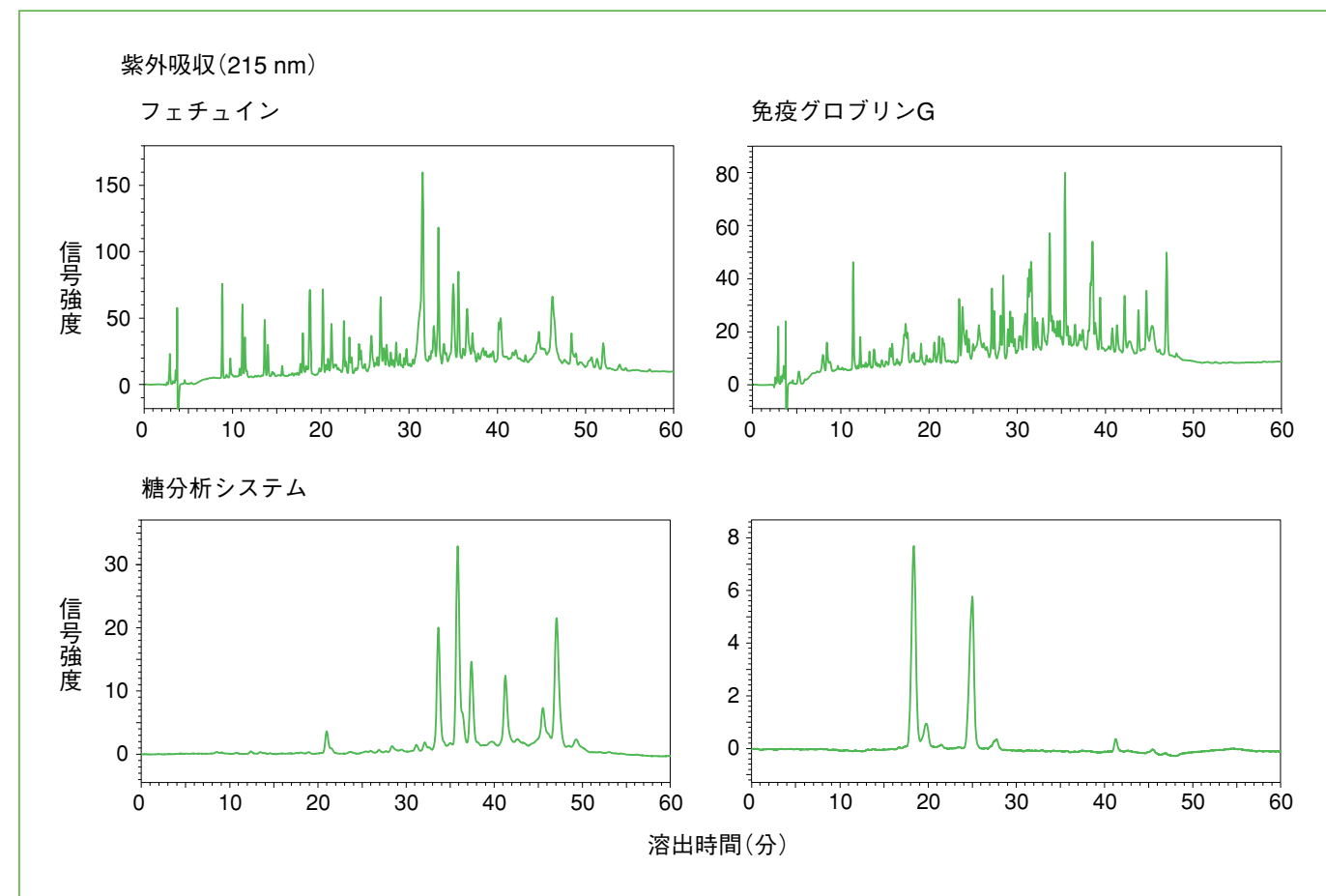


図4 糖ペプチド分析例⁵⁾
 左がフェチュイン、右が免疫グロブリンの酵素分解物のクロマトグラム。
 上はUV検出、下は同じ条件で分離し、リン酸-フェニルヒドラジン法で検出したもの。

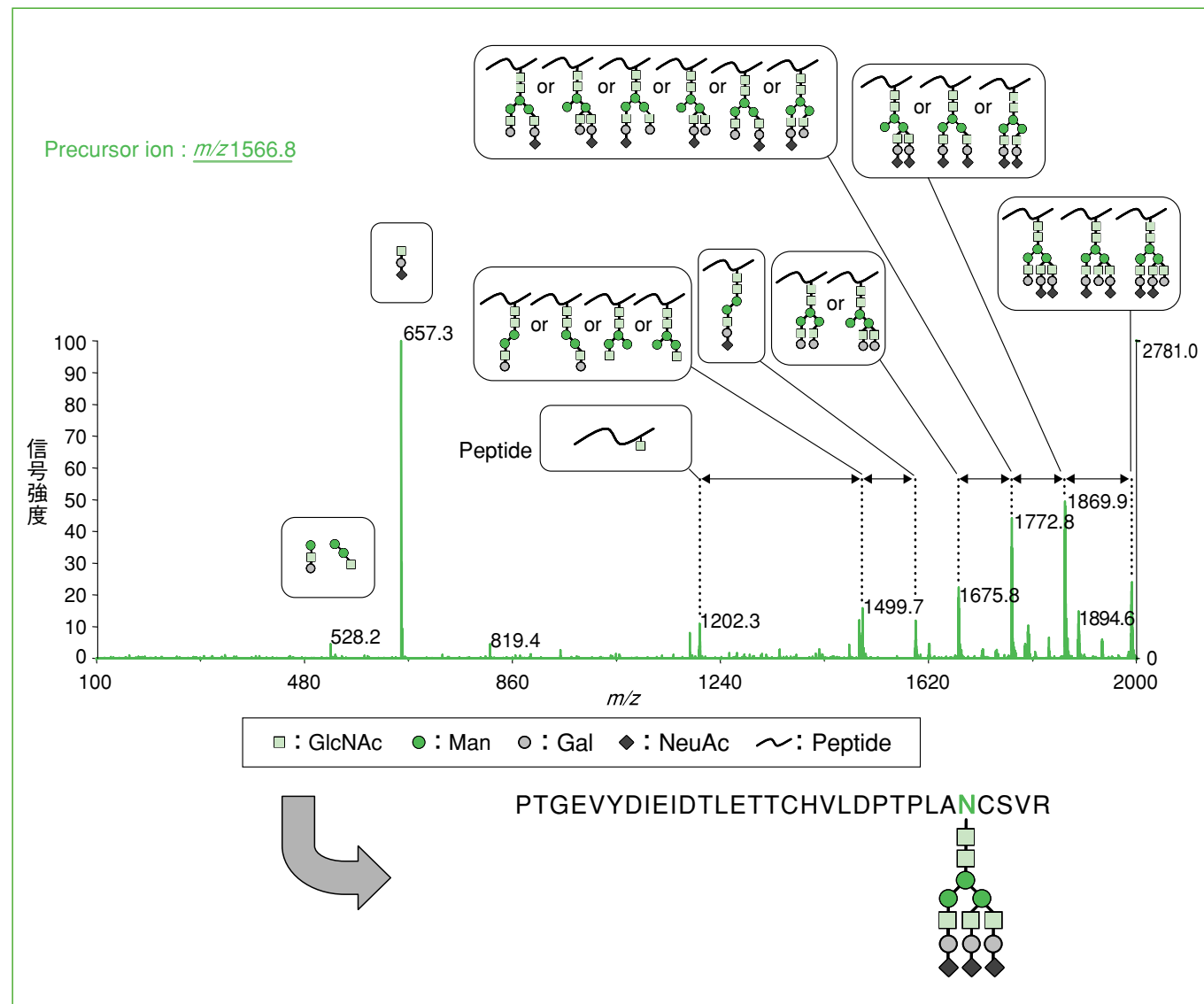


図5 精製した糖ペプチドのMS分析例⁶⁾
精製した糖ペプチドをNanoFrontierで分析した例。フラグメンテーション解析より、糖鎖構造とペプチドの両方の情報が得られる。

4. おわりに

糖(リン酸-フェニルヒドラジン法)分析システムは糖を選択的に高感度で検出でき、食品中の糖成分の品質管理に主に用いられてきた。遊離している糖のみでなく、他の成分に結合している糖でも遊離させて反応することが解ったことから、医療分野で注目されている糖タンパク質糖鎖解析にも有用であることを示した。また生薬中の有効成分でも配糖体も、本システムでも検出できることを確認している。

この様に、糖分析システムは従来の食品分野のみならず、製薬分野その他製品の品質管理などへの利用が期待できる。

参考文献

- 1) 千田正昭ほか：Chromatography, Vol. 27 No. 3, p119-124 (2006)
- 2) S. Honda：J. Chromatogra. A, Vol. 720, p 183-199 (1996)
- 3) F. N. Lamariほか：J. Chromatogra. B, Vol. 793, p15-36 (2003)
- 4) 浜野吉政ほか：特許2846059号
- 5) H. Suzukiほか：Anal. Sci., Vol 25, p1039-1042 (2009)
- 6) 橋本誠ほか：第82回生化学会大会, 4p-777 (2009)

日立超高分解能FE-SEM SU8000の特長と応用

HITACHI SU8000 Ultra High Resolution FE-SEM with a Triple Electron Detector System

武藤 篤*

1. はじめに

走査電子顕微鏡(SEM)は、試料表面の微細構造を観察する装置として、エレクトロニクスをはじめとする各種産業における研究、開発から品質管理の現場で幅広く活用されている。

特に超高分解能電界放出形SEM(UHR FE-SEM)は、微細化の進む半導体デバイスやナノテク材料など、高分解能観察を必要とする分野の解析ツールとして広く使用されている。

FE-SEMで取得される信号には、試料凹凸や組成、結晶性や電位などの物性を示すものなど、多種の特性を持ったものが存在し、通常ではそれらが混在した状態で検出されている。近年、先端材料分野では多角的な材料評価を目的として、これらの信号を選別取得することで正確な解析に活用するニーズが高まっている。

このような要望に対応するため、超高分解能と多様な信号検出能を併せ持つ、SU8000形FE-SEM(以下SU8000)が開発された(図1)。

2. SU8000の特長

2.1 信号検出のバリエーション

SU8000には、最表面微細構造の観察に有効なUpper検出器、凹凸の強調に有効なLower検出器に加え、新たにTop検出器が搭載されている。図2にそれらの検出系の模式図を示す。

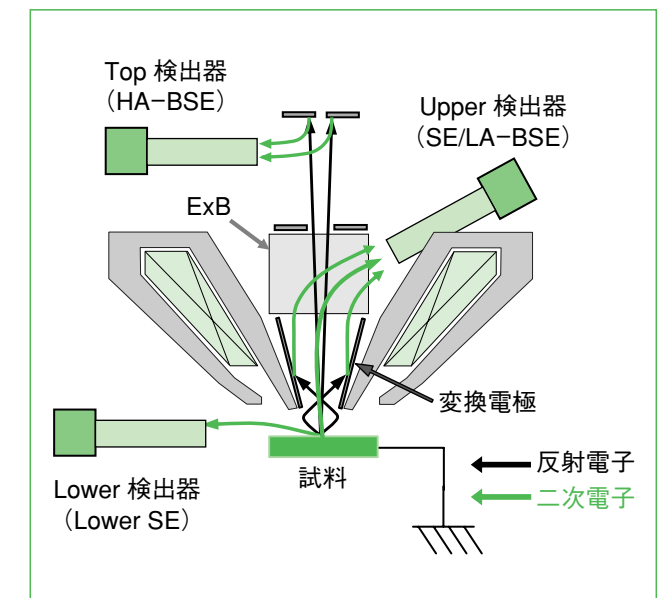


図2 SU8000信号検出系
(リターディング未使用時)

組成像の観察には反射電子像が幅広く用いられているが、SU8000では、Top検出器で高角度反射電子(HA-BSE)、Upper検出器で低角度反射電子(LA-BSE)の検出が可能である。HA-BSEは凹凸情報を含まず、純粋な組成や結晶情報を可視化できるのに対し、LA-BSEは凹凸情報を含む組成や結晶情報が得られる。この二つの検出器を使い分けることで、試料の組成だけでなく、同時に凹凸状態や結晶情報などを取得することができる。

図3は金グレイン表面の(a)HA-BSE像、(b)LA-BSE像、(c)Lower像、(d)二次電子像である。図3(a)のHA-BSE像では金のチャネリングコントラスト(結晶情報)が強調されているのに対し、(b)のLA-BSE像ではチャネリングコントラストに加え試料の輪郭が強調されている。また、(c)のLower像では金グ



図1 日立ハイテクノロジーズ社製
超高分解能FE-SEM SU8000

* 株式会社日立ハイテクノロジーズ 那珂アプリケーションセンター
先端解析グループ

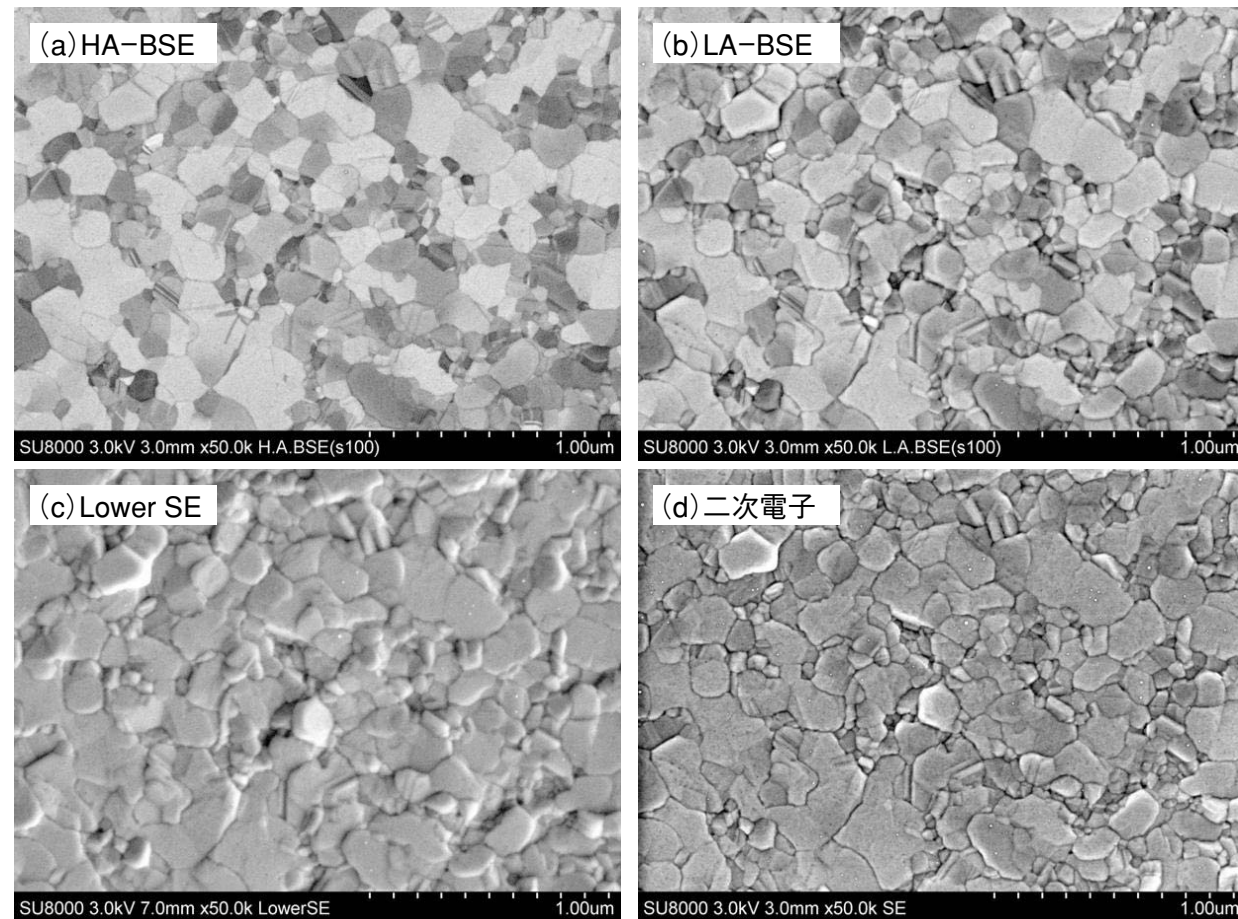


図3 各信号による金グレイン表面のSEM像(加速電圧3 kV, 倍率5万倍, 全て同一視野)
(a)HA-BSE像, (b)LA-BSE像, (c)LowerSE像, (d)二次電子像

レインの凹凸が、(d)の二次電子像ではエッジコントラストにより微細な凹凸が確認できている。SU8000では、このように多様な情報を選別して取得することができる。

2.2 極低加速電圧観察における信号選択

SU8000ではリターディング機能を標準搭載しており、500 V以下の極低加速電圧観察が可能である。図4に示すように、リターディングは試料に負の電圧(リターディング電圧)を印加し、一次電子を試料直前で減速させる手法で、これにより一次電子は試料と対物レンズの間の電界で減速され、照射電圧(V_i)に相当するエネルギーの電子線が試料に照射される。リターディング機能を用いると、一次電子は対物レンズ磁場内を高加速電圧で通過するため、レンズ収差を抑えることができ、照射電圧($V_i = V_{acc} - V_d$)まで減速しても、リターディングを行わずに同電圧で観察した場合と比べて高分解能を得ることが可能となる。また、照射電圧は100 Vまで下げることができ、ビームダメージの低減や試料最表面の微細構造観察を可能とする。

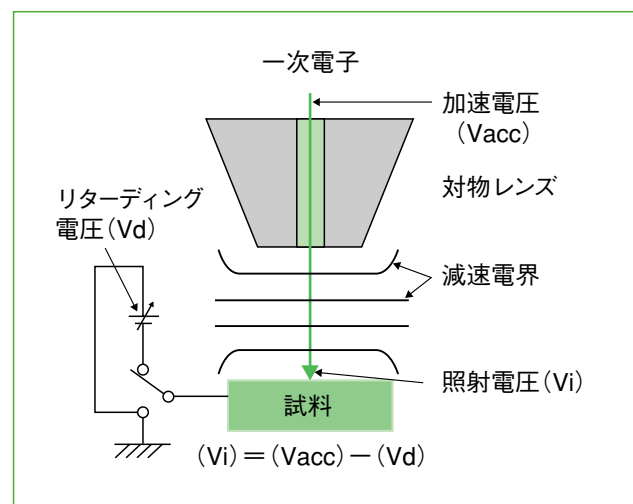


図4 リターディングの原理

従来、リターディングでは、試料から発生する電子がリターディング電圧により大半が上方に加速されるため、信号弁別は困難と考えられていたが、SU8000では検出系の新規開発によりTop検出器とUpper検出器を使い分けることで、低エネルギー電子、高エネルギー

電子の弁別が可能となり、異なる像情報を得ることができるようになった^[1]。

図5にリターディング機能を用いて、照射電圧100 V、倍率5万倍でポリシリコンを観察した例を示す。(a)のTop像では、ポリシリコン表面に付着している有機物残渣が高コントラストで確認されている。これはポリシリコンと有機物の導電性が異なるために電位コントラストが得られていると考えられる。一方、(b)のUpper像では、ポリシリコンの微小な凹凸が明瞭に観察されている。

3. 応用例

3.1 ペンタセンの極低加速電圧観察例

図6はリターディング機能を用い、照射電圧100 V、倍率3万倍でSi基板上に製膜されたペンタセン薄膜を観察した画像である。ペンタセン($C_{22}H_{14}$)は、有機薄膜トランジスタへの応用が期待されている材料であり、ベンゼン環が五つ結合した低分子化合物で、約1.5 nmのステップ構造を形成しつつ分子が垂直に並ん

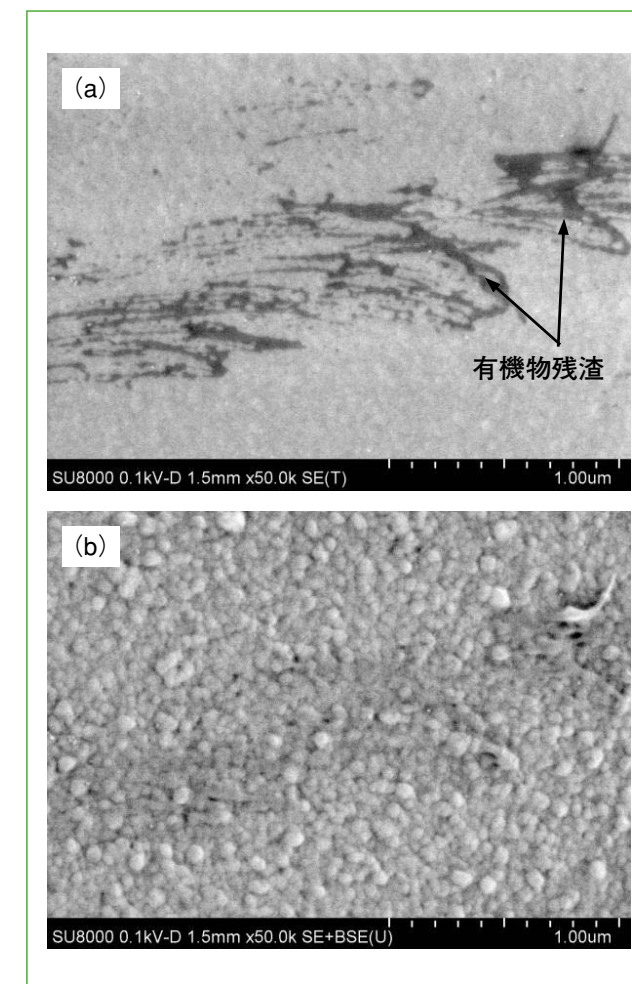


図5 ポリシリコン表面の極低加速電圧観察例(照射電圧100 V, 倍率5万倍)
(a)Top像 (b)Upper像

で成長することが知られている^[2]。(a)のUpper像では、ペンタセンのシート状の薄膜が積層している様子が鮮明に観察されている。この視野のTop像(b)を観察すると、各シートに対応して、濃淡の画像が観察されている。これは、電位コントラストによってペンタセンのステップ構造を捉えたもので、基板からの高さに相当する微妙な電位差が明瞭に捉えられている^[3]。

3.2 MuGFET (multi-gate field effect transistor) の観察

SU8000の信号選択機能を用いてMUGFET (multi-gate field effect transistor)を観察した例を図7に示す。(a) (b)のSE像には、ゲートとフィンの接合部の形状や、ゲート側壁の微細な凹凸(矢印)が明瞭に観察されている。また、(c)のHA-BSE像には、ゲート底部に存在する金属残渣が高いコントラストで確認されている。

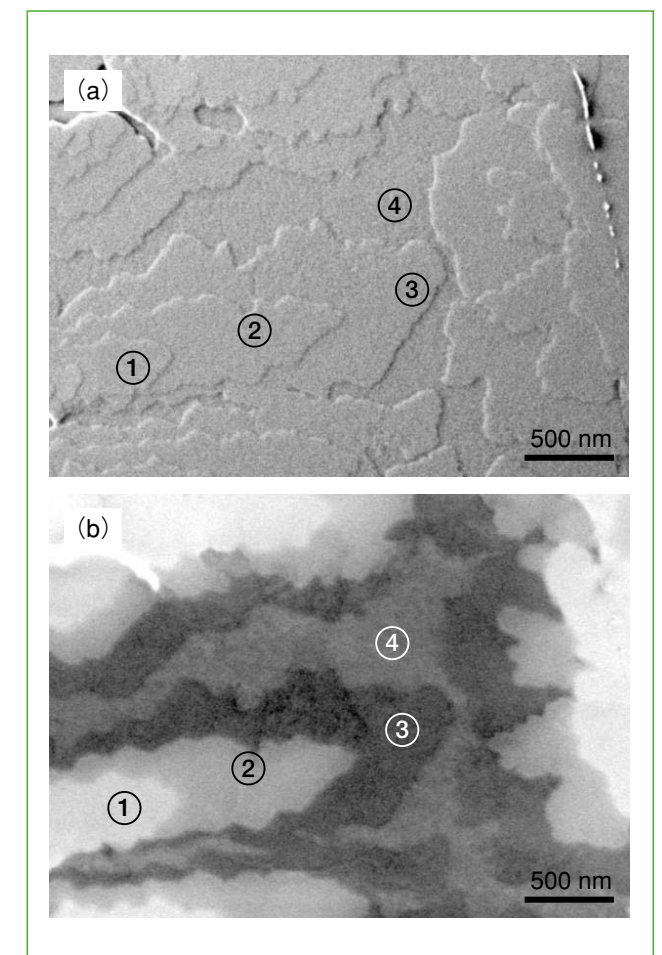


図6 ペンタセンの極低加速電圧観察例
(照射電圧100 V, 倍率3万倍)
(a)Upper像 (b)Top像
図中の①から④は各ステップに対応している
試料ご提供：日立製作所 基礎研究所 橋詰 富博 様

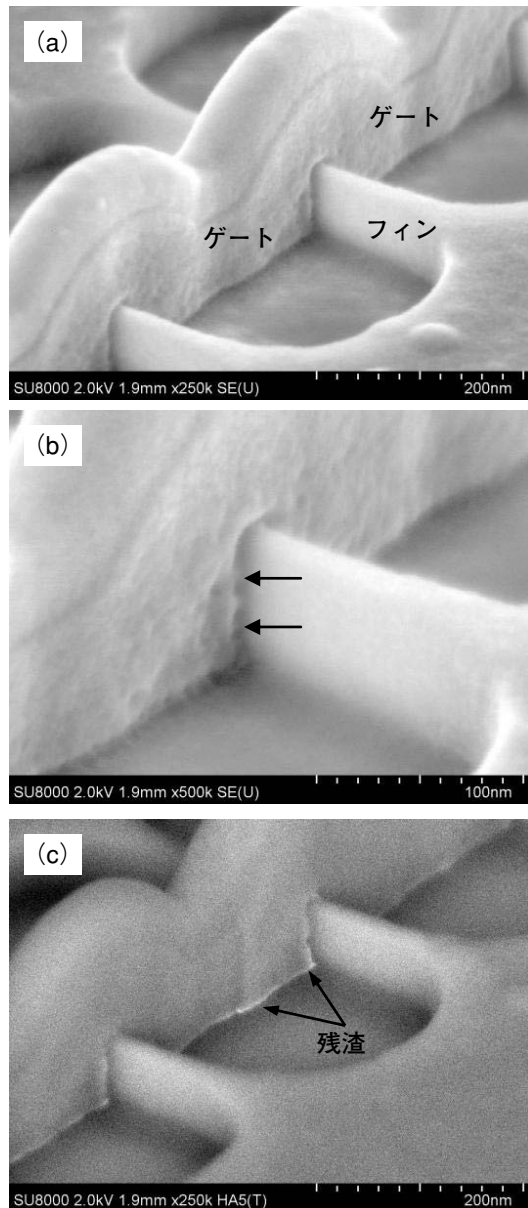


図7 MuGFETの高分解能観察例(加速電圧2 kV)
 (a)二次電子像(25万倍)
 (b)二次電子像(50万倍)
 (c)HA-BSE像
 試料ご提供: IMEC

4. 終わりに

SU8000は高分解能観察に加えて、多様な信号取得の能力を有したFE-SEMである。特に極低加速電圧領域での信号選択が可能となったことで、試料最表面の電位差やナノメータオーダの微細凹凸の評価にSEMを適用する可能性を示した。

微細化とともに、複合化、多様化の進む半導体デバイス、ナノテク材料の解析ツールとして、SU8000のさらなる貢献が期待される。

参考文献

- [1] A. Miyaki et al. Microscopy and Microanalysis 15 (Supplement 2), 662-663 (2009)
- [2] I. Yagi, et al. Thin Solid Films 467, Issues 1-2, 168-171 (2004)
- [3] 竹内ほか, “極低加速電圧SEM法における像情報の検討”, 日本顕微鏡学会第65回学術講演会発表要旨集 (Vol144, Supplement1), 137 (2009)

学会発表 ミニファイル

1. 2009 China-Japan-Korea Symposium on Environmental Analytical Chemistry (2009/9/1~2 千葉県)

H. Sakamoto(日立ハイテクノロジーズ)他: Determination of total arsenic in environmental sample with decomposition by UV-Irradiation using hydride generation atomic absorption spectrometry

【Summary】 It is well known that the sensitivity of arsenic measurement by hydride generation atomic absorption spectrometry (HG-AAS) depends on its chemical form. The measurement of the concentration of total arsenic often results in considerable errors in a sample containing various arsenic compounds. Therefore, the arsenic compounds need to be reduced to a homogeneous form. The optimum conditions for ultraviolet irradiation as a pretreatment have been investigated in this study. The main aspects examined were reagent concentrations and time of exposure to ultraviolet radiation. The sample

was mixed with $K_2S_2O_8$ and NaOH, and ultraviolet light was irradiated using a UV reactor (Model WA-UVR, KYORITSU CHEMICAL-CHECK Lab., Corp.). This pretreatment method was applied to the analysis of total arsenic in a standard reference material (The Japan Society for Analytical Chemistry, JSAC0302). Analytical results were in good agreement with the certified values. The recovery of each of the five arsenic compounds tested (methylarsonic acid, dimethylarsinic acid, trimethylarsine oxide, arsenobetaine and arsenocholine) was about 100%.

2. 日本分析化学会第58年会(2009/9/24~26 北海道)

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微量蛍光体の量子収率測定方法の検討

佐々木(日立ハイテクノロジーズ)他: 超高速LCポストカラム法による有機酸分析の迅速化その2

坂元(日立ハイテクノロジーズ)他: HPLC-水素化物発生-原子吸光度法を用いたヒ素及びセレンの形態分析の検討

米谷(日立ハイテクノロジーズ)他: 紫外線照射処理を用いた水素化物発生法による海産物中ヒ素の分析

蛭田(日立ハイテクノロジーズ)他: 絶縁油中低濃度PCBs分析のための簡易前処理方法の検討

蛭田(日立ハイテクノロジーズ)他: メタクリレート系固相充填剤を用いた絶縁油中低濃度PCBs分析の簡易前処理方法

【要旨】 2003年にPCBを未使用としていた重電機器の絶縁油中より、低濃度のPCB汚染が確認された。汚染が疑われる重電機器は650万台以上存在するといわれ、これら进行分析しPCB廃棄物か否かを確認する必要がある。メタクリレート系固相充填剤NOBIAS RP-SG1(日立ハイテック製: SG1と略す)を用いて検討を行ったところ、PCBと絶縁油成分を分離できることを見いだした。SG1固相抽出法による簡易前処理法を最適化し、高精度分析が可能となった。

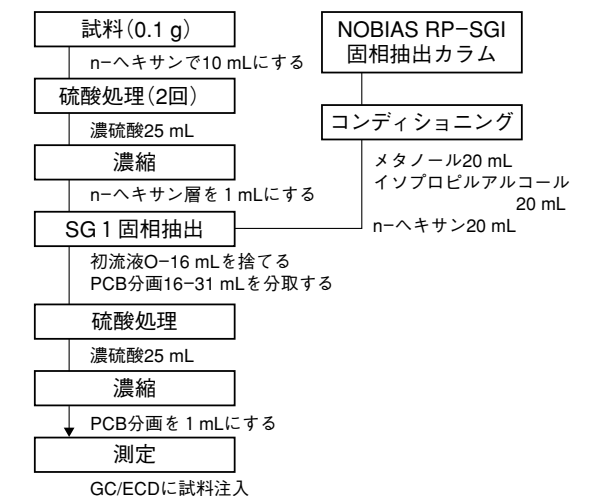


図1 NOBIAS RP-SG1 固相抽出操作フロー

3. 日本生化学会第82回大会(2009/10/21~24 兵庫県)

橋本(日立ハイテクノロジーズ)他: 電子捕獲解離及び衝突誘起解離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糖ペプチドの解析

中川(日立ハイテクノロジーズ)他: 糖ペプチドのHPLCの分離中での特異的検出

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LCを用いたカプサイシン類の分析 Analysis of Capsaicinoids 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.207	発行日	2009年 9 月
要約	カプサイシンは、唐辛子に含まれる辛味成分であり、健胃、殺菌、体脂肪燃焼などの効果があることが知られています。唐辛子中に含まれる天然のカプサイシン類の主要成分として、カプサイシン、ジヒドロカプサイシンが存在します。辛味の感じ方には個人差が大きいことから、HPLCにて各成分の含有量を測定することは、香辛料の辛味成分含量の客観的な指標になります。 ここでは、超高速LCを用いて香辛料中のカプサイシン類縁物質の高速分析を行なった例を紹介します。		

題目	3色分解プリズムの測定例 ― 微小角度可変絶対反射付属装置の紹介 ― Measurement of RGB Prism ― Introduction of Variable angle reflectance accessory for Microsample ―		
機種	U-4100形分光光度計(大形試料測定システム) Model U-4100 Spectrophotometer (Large Sample Measurement System)		
シートNo	UV-VIS No.146	発行日	2009年 8 月
要約	U-4100形分光光度計(大型試料測定システム)は分光器にプリズム・グレーティングを採用していることによりノイズが少なくS/Nの良い測定が可能です。また、微小試料用角度可変絶対反射付属装置(P/N:1J0-0205)と組み合わせることによって、眼鏡のレンズ、液晶パネルなどに用いられる反射防止膜付き基板や、照明器具などに用いられる誘電体多層膜付きの基板、デジタルビデオカメラに使用されている3色分解プリズムなどの性能を評価することができます。 ここでは、これらのうち3色分解プリズムの分光特性を測定した例を紹介します。デジタルビデオカメラは、レンズによって取り込まれた映像をCCD(Charge Coupled Device)やCMOS(Complementary Metal Oxide Semiconductor)などの撮像素子で電気信号に変換、画像処理エンジンにてデジタル画像を生成しています。この高性能化の技術の1つに、撮像素子を3枚使用した3CCD、3CMOS(3MOS)方式が挙げられます。3CCD、3MOS方式は入射光をプリズムで光の3原色(RGB)に分解し、これらの光をそれぞれ1つのCCD、CMOSによって検知する方法です。3つのCCD、CMOSで得られた画像を重ね合わせて1つの画像に処理するため、優れた色再現性や高い解像力を得る工夫がなされ、3色分解プリズムの開発や品質管理における評価は大変重要となっています。		

題目	原子吸光法によるホウロウ鍋から溶出するCd, Pbの測定 Determination of Cd, Pb Eluted from Enameled Pot by Atomic Absorption Spectrophotometry		
機種	Z-2010シリーズ日立偏光ゼーマン原子吸光光度計 Model Z-2010 Series Polarized Zeeman Atomic Absorption Spectrophotometer		
シートNo	AA No.121	発行日	2009年 8 月
要約	Z-2010シリーズ日立偏光ゼーマン原子吸光光度計は、フレーム法・電気加熱炉法ともバックグラウンド補正方法としてゼーマン補正法を採用しています。そのため、精度の良い測定データと安定したベースラインが得られ、食品、環境、材料など幅広い分野で使用されています。食品分野と密接に関係するガラス製、陶磁器製またはホウロウ引きの器具や容器は、食品衛生法によりカドミウム(Cd)および鉛(Pb)の溶出規格基準が定められています。厚生労働省は、平成20年7月31日に規格基準を一部改正しました。規格の改正によって、材質ごとおよびその容量ごとに規格化され、溶出基準値は全体を通して厳格化され、より低濃度を正確かつ安定して測定することが必要となっています。 ここでは、ホウロウ引きの鍋を規格に定められた4%酢酸で溶出した溶液の測定例をご紹介します。		

4. Separation Science 2009(2009/10/22~23 神奈川県)

石川(日立ハイテクノロジーズ)他：超高速LCを用いた食品機能性成分の分析

【要旨】 分析時間を短縮する方法として粒子径2 μm 級のカラムを用いて測定する超高速LCが開発されている。報告者らは、化学特性の等しい粒子径2 μm , 3 μm , 5 μm のオクタデシル基を持つ逆相クロマトグラフィー用シリカゲルカラムを用いて、これら異なる粒子径のカラムを用いた場合の分析条件移行性について検討、粒子径が異なっても同様な分離パターンが得られることを報告してきた。ここでは、さらに α -リポ酸、コエン

ザイムQ10、クロロゲン酸、DHAについて、充填剤の粒子径による分離への影響と測定の迅速化について検討を行った。結果の一例として、 α -リポ酸を取り上げた。 α -リポ酸は、従来の粒子径5 μm のカラムでは、測定時間7分を要したが、粒子径2 μm のカラムを用いると粒子径5 μm と同等な分離を維持しながら、測定時間を0.7分に短縮可能であった。

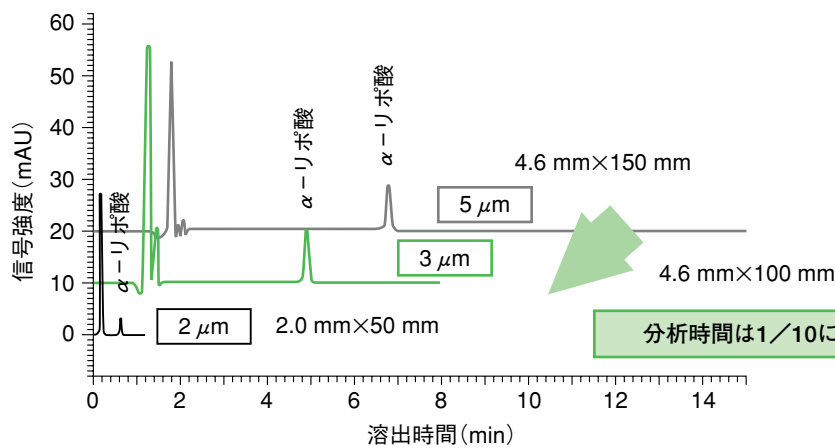


図1 α -リポ酸のクロマトグラム(粒子径の比較)

鈴木(日立ハイテクノロジーズ)他：HPLCポストカラムーリン酸フェニルヒドラジン法による糖鎖の分析

5. 第32回日本分子生物学会年会(2009/12/9~12 神奈川県)

橋本(日立ハイテクノロジーズ)他：電子捕獲解離及び衝突誘起解離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糖ペプチドの解析

6. 第6回日本分析化学会関東支部茨城地区分析技術交流会(2009/12/4 茨城県)

蛭田(日立ハイテクノロジーズ)他：日立固相充填カラムNOBIASを用いた分析前処理

7. 月刊フードケミカル：9月号(2009)

山本(日立ハイテクノロジーズ)：食品分析アプリケーション④ ICP発光分析装置による食品分析

8. 月刊フードケミカル：10月号(2009)

山本(日立ハイテクノロジーズ)：食品分析アプリケーション⑤ 固相抽出剤ノビアスを前処理に用いた塩の金属分析

9. 月刊フードケミカル：11月号(2009)

松崎(日立ハイテクノロジーズ)：食品分析アプリケーション⑥ 高速液体クロマトグラフによる糖・糖アルコールの分析

題目	海藻(ホンダワラ)中のヒ素の測定 Determination of Arsenic in seaweed (sargasso)		
機種	Z-2010形日立偏光ゼーマン原子吸光光度計 Model Z-2010 Polarized Zeeman Atomic Absorption Spectrophotometer		
シートNo	AA No.120	発行日	2009年 3 月
要約	<p>海産物中に存在するヒ素は、無機ヒ素の他、比較的安全性の低い有機ヒ素から構成されています。異なった化学形態から構成されたヒ素の全量分析を行う場合、単一の化学種に統一する前処理などを適切に行わないと、ヒ素の原子化プロファイルが二重ピークになるなどの現象を示すことがあります。またAsの測定波長は193.7 nmと短波長であり、前処理が不十分な場合、有機物などの共存物のバックグラウンド吸収の影響を受けやすい元素です。日立の採用するバックグラウンド補正法(偏光ゼーマン補正法)は複雑な共存物を含む試料に対しても精確な補正を行うことができます。また、明るい光学系を採用することによって高感度な測定も可能です。</p> <p>ここでは海草の一種であるホンダワラ(国立環境研究所標準物質NIES CRM No.9)を硝酸、フッ酸存在下で加圧分解を行い、全ヒ素濃度を原子吸光光度法(電気加熱炉式)にて精度よく測定する方法を紹介します。</p>		

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。

<https://members.hht-net.com/sinavi/>

新製品紹介 NEW PRODUCTS

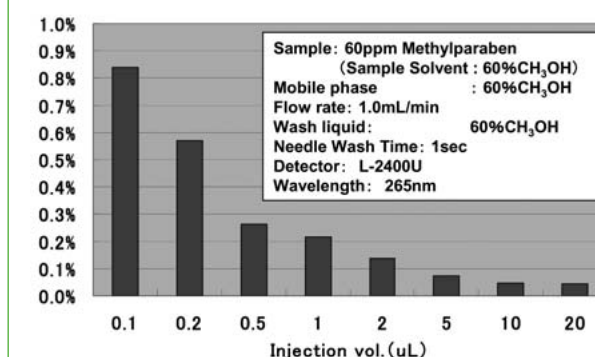
超高速液体クロマトグラフ L-2200U形オートサンプラの紹介

株式会社日立ハイテクノロジーズは、分析時間を従来のHPLCと比べ約1/10に短縮可能(当社比)な超高速液体クロマトグラフのラインアップとして、優れた微量注入量再現性と低キャリアーオーバーの両性能を有するL-2200U形オートサンプラ(改良版)を2009年11月に発売しました。独自の試料残留防止技術と高精度な液体ハンドリング技術の採用により、0.5%RSD以下(注入量1 μ l)の高い注入量再現性と、0.003%以下の低キャ

リーオーバーを実現しました。医薬品中の微量不純物の分析や、食品中の微量残留農薬の評価のために、極微量化合物を確実に分離・検出できる性能と、高い検体処理能力の両立性が求められる製薬・バイオ・食品分野での利用が期待されています。



注入量の違いによる再現性評価(0.1~20 μ L)



(注) この値は性能を保証するものではありません。

LCカラムの紹介



LaChromUltraシリーズ(超高速LC用カラム, 粒子径2 μ m)およびLaChromカラムシリーズ(汎用LC用カラム, 粒子径3 μ m, 5 μ m)を発売しました。

充填剤は特性の異なるODS 4種(C18, C18-AQ, C18-PM, C18-NE)とその他6種(C8, Ph, CN, SIL, Diol, NH₂)をラインアップし、幅広いアプリケーションに対応します(LaChromUltraシリーズはC18, C18-AQのみ)。LaChromカラムシリーズにはガードカラムもラインアップしています。

新製品紹介

NEW PRODUCTS

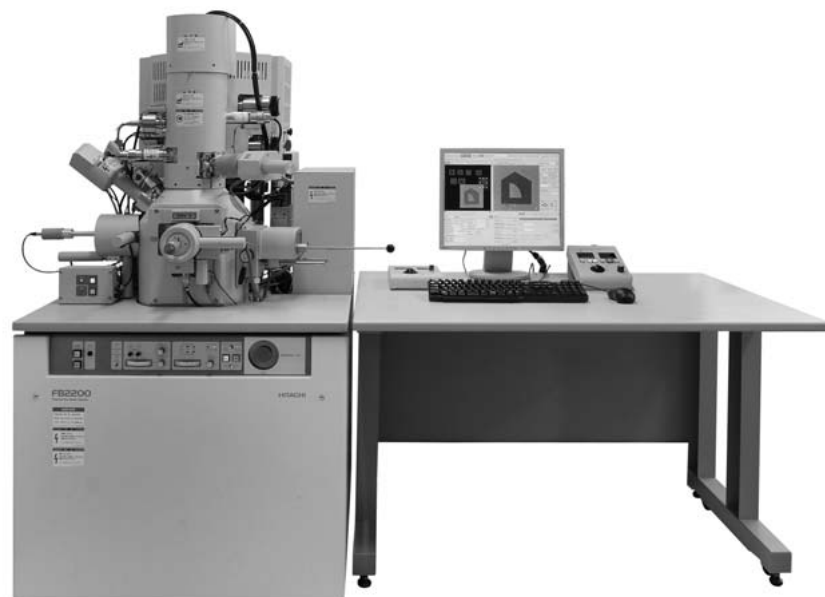
nanoEBAC® NE4000 日立微小デバイス特性評価装置の紹介

今回新たに開発したnanoEBAC®「NE4000形」は、ナノ・プローバ®で好評いただいたプロービング技術を継承し、微細化の進むLSI内部配線やパッドに直接プロービングしEBAC(電子ビーム吸収電流)を検出、電子ビームの走査(スキャン)に同期させ表示することで、特定の下層配線を非破壊で可視化できます。また電子ビームを利用することで、従来に比べ故障位置の詳細な絞り込みが可能になりました。実デバイスの配線や、ビアチェーンなどのテストパターンの不良箇所解析に加えて、微細化の進む電子部品や材料などへの応用も期待されています。



※「ナノ・プローバ」および「nanoEBAC」は、日本における株式会社日立ハイテクノロジーズの登録商標です。

FB2200形 日立集束イオンビーム加工観察装置の紹介



FB-2100形集束イオンビーム加工観察装置の後継機種として、FB2200形集束イオンビーム加工観察装置を発売しました。もっと速く、もっと正確に、もっと綺麗に、という顧客ニーズに応え、TEM試料作製から大面積加工まで幅広くご利用いただけます。

特 長

- 最大ビーム電流60 nAによる高速加工と大面積加工
- 低加速電圧による低ダメージ試料作製
- マイクロサンプリングによるピンポイント薄膜試料作製
- 日立SEM, TEM, STEMとのホルダーリネージ

新製品紹介

NEW PRODUCTS

卓上顕微鏡Miniscope® TM3000の紹介

全世界で1,000台以上の出荷実績を持ち、各分野で大変好評いただいた卓上顕微鏡Miniscope®TM-1000形の後継機として、新形卓上顕微鏡Miniscope®TM3000形を発売しました。TM3000は従来のTM-1000に比べ、さらにコンパクトになっただけでなく、性能面でも向上され、さらに使いやすくなりました。待望の次世代機登場により、各分野における解析手法の革新が期待されます。

特 長

- 卓上サイズでコンパクト設計
従来機*1と比べて設置面積を約20%削減
- オート機能でシンプル操作
オートスタート、オートフォーカス、オート輝度などの機能を搭載
- 高倍率で焦点深度の深い*2形態観察
観察倍率15倍～30,000倍の設定が可能

*1 TM-1000 比
*2 一般的な光学顕微鏡比



※「Miniscope」は、日本における株式会社日立ハイテクノロジーズの登録商標です。

お客さまの分析をサポートする日立ハイテク会員制サイト「S.I.navi(エスアイナビ)」

「S.I.navi」は、日立ハイテク取り扱い分析機器に関する会員制サイトです。
お客様の知りたいこと、日々の業務に役立つ情報を
「S.I.navi」がサポートします。

S.I.navi

(エスアイナビ)

このような方にお勧めです！

- 分析機器をお使いの方
- 分析機器のご購入を検討される方
- 分析でお困りの方

S.I.naviの主な内容

製品情報


以下のようなコンテンツが閲覧可能です。
・製品の特長や仕様・カタログ(PDF)
・価格表・部品・消耗品情報

ご使用製品登録者限定！

ユーザー登録いただくと、さらに
以下が閲覧可能です。

- ・取扱説明書(PDF)
- ・メンテナンス/トラブル解決情報
- ・使いこなしFAQ

更新情報は、
メールマガジン(2回/月)
でもご案内しています。

*は、ご使用製品をご登録
いただいた方への限定情報
です。

テクニカルサポート情報

- ・技術解説
製品の原理や使い方のコツ
- ・バージョンアップ情報
装置で使用しているソフトのアップ
グレードに関するご紹介です。

ご使用製品登録者限定！

- ・メンテナンス方法
- ・トラブル解決情報

注目！アプリケーションデータ

「約4,000件」のデータを掲載。
2つの検索方法から、ご活用ください。
・フリーワード検索
・一覧からプルダウンでの絞り込み

注目！展示会・セミナー

- ・申し込みはボタン1クリックで完了
します。
- ・有償セミナーは会員特別価格で受
講できます。

S.I.naviのご入会

ご入会は無料です。お申し込みは、下記にて承っております。

<https://members.hht-net.com/sinavi/>

エスアイナビ

検索

プライバシーポリシー: お客様の個人情報の取り扱いについては、下記でご説明しております。
<https://members.hht-net.com/public/privacy.html>

株式会社日立ハイテクノロジーズ

北海道支店 札幌 (011) 707-3200
東北支店 仙台 (022) 264-2219
筑波支店 土浦 (029) 825-4801

本社(サポートセンタ)
中部支店
関西支店
京都営業所

東京 (03) 3504-7211
名古屋 (052) 219-1881
大阪 (06) 4807-2511
京都 (075) 241-1591

四国営業所 高松 (087) 814-9911
中国支店 広島 (082) 221-4511
九州支店 福岡 (092) 778-3000

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。

<https://members.hht-net.com/sinavi/>

〈編集後記〉

立春は過ぎましたが、まだまだ寒い日が続きます。新型インフルエンザの流行も一旦終息したかに見えたが、寒さとともに増加しているようです。受験生をご家族にお持ちの方はさぞかし気苦労が多いかと思いますが、本当の春ももう少しでやってきます。

さて産業界に目を転じてみれば、リーマンショック後、なかなか春はやってきません。しかしながら技術の進歩は、確実に進み地面より芽を出そうとしています。特に環境・エネルギー分野は、太陽電池やリチウムイオン電池など目覚ましいものがあります。今回は環境・エネルギー分野にお

ける分析・解析装置の役割について早稲田大学逢坂先生に巻頭をお願いいたしました。また、報文として電子顕微鏡の観察に関するユニークな内容も掲載してございます。ぜひ一読していただければ幸いです。

(甲田 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、株式会社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。

○株式会社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

○株式会社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, 2010 VOL. 53 No. 1

発行 2010年3月26日
編集人 甲田 公良
発行人 小島 正也
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