

## 卷頭言

## 分析技術者の技能と信頼性

Knowledge and skills of analytical technicians  
for reliable analysis

東京都市大学 名誉教授  
工学博士

平井 昭司



近年、分析技術を取り巻く環境が大きく変わってきた。そのひとつに、分析値を出力するまでの迅速性と分析に要するコストの削減があげられる。たとえば、分析対象成分が製品の工程に関するもので、製品の規格を決定する場合や工場から排出物質の管理基準を決定する場合には、より速く分析結果を出力しなければならないとともに、より低コストで実施しなければならない状況におかれている。さらに、1日で分析する試料の数となると製品の数あるいは工程操業の規模にもよるが膨大な量となっている。このような背景の中で分析業務を行うには、一昔前の手作業を中心とした分析では到底こなすことができないが、最近のコンピュータが内蔵・付加された分析装置により迅速・低成本・多量な試料の分析を行うことができるようになっている。このような最新の分析装置は、電気・電子分野における高性能・低価格のコンピュータの普及と半導体メモリー開発技術の急速な進歩とも深く係わり合い、開発されている。また、これらの分析装置の操作性は、分析の原理や分析に関する専門的知識あるいは

は高度な分析技術をあまり有していないても誰もが容易に扱えるように優れた機能を有している。しかしながら、分析装置の機能が優れれば優れるほど分析装置はブラックボックス化となり、分析試料が装置に導入されてから分析値が出力されるまでの測定信号の処理およびその解析のプロセスを把握しないで分析を行うことになる。そのため、多くの分析技術者は、出力された分析値を疑うこともなく最終分析値としてみなし、報告していることがある。

現在、多くの分析機関の分析技術者の学歴構成をみると、ほとんどが大学卒である。彼らの多くは、分析に関する知識の習得が非常に貧弱である。昨今の大学においては、大学改革および大学評価の御旗のもと、重点とするところが基礎教育よりは応用研究へと流れ、分析化学研究室の減少や分析化学に関する講義・実験の時間数の減少により、学生は直面する分析化学に関する多くの課題を解決する能力をさほど教育されないまま実社会に送り出され、分析作業を行っているものが多い。そのため、一部の分析機関では不足し

## C O N T E N T S

### ■卷頭言

- ・分析技術者の技能と信頼性  
平井昭司 .....1

### ■報文

- ・電子顕微鏡の有用性 一特に心筋生検について  
川村公一 .....3
- ・SEMによる高分子材料の構造評価  
乙部博英 .....10
- ・Arsenic speciation with gradient hydride generation interfacing liquid chromatography and atomic absorption spectrometry

Yong Tian Ming-Li Chen Xu-Wei Chen  
Jian-Hua Wang Yoshihiro Hirano  
Hideyuki Sakamoto Ikumei Setsu .....17

### ■解説

- ・ノビアスキレート固相充填カラムを用いた環境試料分析  
山本和子 坂元秀之 白崎俊浩 .....25
- ・レアメタル  
—ネオジム磁石中のレアメタル分析—  
坂元秀之 米谷 明  
山本和子 三浦和代 .....31

### ・収差補正機能付HD-2700の特長と応用

今野 充 菊池秀樹 稲田博実 .....35

### ■学会発表ミニファイル

.....38

### ■テクニカルデータ発行ミニファイル

### ■新製品紹介

- ・U-5100形日立レシオビーム分光光度計 .....46
- ・自動固相抽出装置SPE-100 .....46
- ・Miniscope<sup>®</sup> TM3000専用エネルギー分散型X線分析装置 SwiftED3000 .....47
- ・SH-9000マイクロプレートリーダーに新機能追加 .....48

ている知識・技術を習得させるため、外部機関に派遣し、教育研修を受けさせているところもあるが、十分な時間がとられているわけではない。このような不十分な能力をもつ分析技術者が取り扱う分析装置としては、前述したような誰もが取り扱える信頼性が高い分析装置が必要となるし、また、分析装置メーカーではこのような分析装置を開発しなければならない状況におかれている。このような社会的環境の中で出力され、報告された分析値は、本当に信頼性があるといえようか。分析の信頼性は、試料を取り扱う分析技術者の信頼性と測定・解析を行う分析装置の信頼性との「ひと」と「装置」の両方の信頼性が確保されて、はじめて意味をなすものと思われる。

分析値の信頼性確保には製品生産の工程管理および環境規制の基盤技術として密接な関わりをもつが、特に、製品が国際的に流通し、地球規模での環境問題が深刻化してくると各国で生活する人々の健康の維持や持続的な安全・安心な生活を送れるような意識の高まりが生じ、関連する分析作業から出力される分析値の信頼ある整合性確保が必要となり、分析の品質保証や分析の品質管理が強く望まれるようになってきている。そのひとつの現れとして国際的な体制である試験所認定制度が生まれ、ISO/IEC 17025:2005 (JIS Q17025:2005) (「試験所及び校正機関の能力に関する一般要求事項」) の規格として発行されている。この規格には、分析機関のシステムマネージメントに対する信頼性確保；管理システムに対する要求事項と、分析機関のシステムマネージメントを含んだ技術的能力の信頼性確保；分析技術に対する要求事項が示されている。分析機関は、これらの要求事項がすべて満足されたとき、第三者機関(認定機関)から信頼性が確保されている分析機関としてみなされ、認定されることになる。特に、分析技術に関する要求事項は、分析機関で分析作業する技術者の分析技能とも密接な関係があるので、先に示したような分析能力が不足している技術者による分析作業では、分析機関は本規格を満足して認定を受けることができない。そのため、分析機関は分析技術者の技能を確保あるいは高めるために教育・訓練を実施しなければならないとともに、分析技術者は技能を評価するために外部機関が実施するいくつかのプロジェクトに参加しなければならない。この規格による信頼性確保の体制は、分析機関としての信頼性確保であり、そこに属している分析技術者全員の技能が確保されていることを必ずしも示しているわけではない。しかし、多くの分析技術者の技能が不足してい

る状況においては、各分析技術者が本規格を理解し、個々の分析作業を行うに当たり各技術的要求事項を満足させることができるようになることが望ましい。

個々の分析技術者が、自分自身の分析技能を高め、規格に示される技術的要求事項を満足させるためには、日々研鑽する必要があるが、専門図書を読んだだけでは容易に理解することが困難である。いろいろな外部機関での種々の講習会・講演会などに参加し、研修を受けるのも一策と思われる。日本分析化学会では、「分析技術に関する教育訓練、技能向上のための実務者レベル講習会及び各種セミナー」(<http://www.jsac.or.jp/seminar/st05.html>)と銘打って9種のプログラムを開設している。筆者は、このうち2種のプログラムの実行委員長として当初から参画している。このうち「分析化学基礎セミナー(無機分析編)」は、3回/年開催し、延べ約1,500名の受講者がある。セミナーの内容は、ピペットや電子天秤の使い方、標準液の使用上の注意、検量線の作成方法、試料の溶解方法、試料の前処理技術、汚染の原因とその管理、分析値に意味するところ等の分析化学の基盤となる技術を教授している。さらには、セミナーテキストから「現場で役立つ化学分析の基礎(オーム社)」の図書を出版し、セミナー参加者以外の分析化学に関する基礎知識の啓発書として広く普及させている。

繰り返すことになるが、分析の信頼性を確保する体制はすでに構築され、動き始めている。分析技術者一人ひとりが分析の信頼性、すなわち分析の技能を向上させるための努力を日々惜しまないことを期待する。

#### 著者略歴

**平井 昭司** (ひらい しょうじ)

1945年1月24日生まれ

1968年 東京工業大学理工学部 卒業

1974年 東京工業大学大学院理工学研究科博士課程 修了(工学博士)

1974年 武藏工業大学原子力研究所

1994年 武藏工業大学工学部 教授

2009年 東京都市大学(校名変更) 教授

2010年 東京都市大学 定年退職

2010年～ 東京都市大学 客員教授・名誉教授

現在：日本鉄鋼協会理事会監事、放射線審議会委員、日本化學試驗所認定

機構認定委員会委員長、日本適合性認定協会試験所技術委員会委員長  
歴任：日本分析化学会副会長、日本鉄鋼協会部会長

賞罰：日本分析化学会学会賞、日本鉄鋼協会学術貢献賞(浅田賞)

専門分野：分析化学、文化財科学、放射化学、金属工学

# 電子顕微鏡の有用性 —特に心筋生検について

The value of Electron Microscopy for Endomyocardial Biopsy

川村 公一\*

## 1. はじめに

医療現場では診断や病態の解明に電子顕微鏡(電顕)による検索が用いられている。最近では、免疫染色や遺伝子診断の出番が多いが、微細構造レベルで形態像を知ることも主要な手法の一つである。診断・病変の把握に電顕が役立つ場合は、標本作製が診療報酬として算定されており、具体的な症例としては腎組織、内分泌臓器の機能性腫瘍(甲状腺腫を除く)、異所性ホルモン産生腫瘍、軟部組織悪性腫瘍、脂質蓄積症、多糖体蓄積症に対する生検、心筋症に対する心筋生検があげられる。これらはパラフィン包埋やエポン包埋による光顕像を基にして組織診断が行われるが、微細構造の所見が決め手となることが多い。電顕を操作して所見を読み取る(撮影する)技術は、基本を踏まえておけば難しくはない。包埋・超薄切の試料作製にも多少の時間を要するものの、その壁を乗り越えると“電顕が貴重な情報を提供してくれる”ことが実感できるこ<sup>ト</sup>と思う。デジタル画像で撮影することにより暗室が不要となり、電顕はより手軽に利用できる時代になってきた。

心筋生検は、組織像のみでは確定診断ができないが、肥大の状態や細胞の荒廃の程度が把握できるので、その病態から治療方針や予後の判定を導くことができる。今回は具体的な心筋生検電顕像を示すことにより、電顕がどのように役立つかを紹介する。

## 2. 試料作製のこだわり・工夫

新鮮な心筋組織の採取法としては、心臓手術時に得る方法とカテーテルの先に鉗子を付けた心内膜心筋生検法がある。通常、心内膜生検はバイオトームを右伏在静脈(右大腿静脈)より右心室に到達させ、心尖部中隔より半米粒大の心内膜組織を採取する。鋭利な鉗子で、拍動している組織をかじり取るため組織の座滅や過収縮(contraction band)のアーチファクトが生じやすい。その対策として光顕用、電顕用ともに固定を常温で行うと良い結果が得られることが多い。電顕用試料は、観察する面が広くなるように採取組織を小分けにして細切して固定を行い、2~3週間保存してまとめて包埋操作に移る。エポキシ樹脂は多めに調合して

残りを注射器に入れて冷凍保存すると、次回の包埋操作での混合液の置換過程で使用できる。省力化の一つとして、染色液のウランと鉛は20 ccほど調合して注射器に保存すると数ヶ月は使用でき、先端にミリポアフィルタを装着するとコンタミが防止できる。



川村 公一

## 3. 心筋症の微細構造

正常の心筋細胞は、長さ60~100 μm、直径は約15 μmの円柱状で、細胞の両端や分岐した部分の末端には、隣接する心筋細胞との結合部である介在板がある。心筋細胞の細胞質の大部分は、筋原線維(myofibril)で占められており周期的な横紋を示す。横紋の濃い部分がZ帯で、この間が筋収縮の単位であるサルコメア(筋節)である。この心筋細胞は障害を受けて死滅しても、再生・増殖をしないことが他の細胞と異なる。

病的な心筋組織の微細構造はテキストにほぼ網羅されている<sup>(引用1~5)</sup>。唯一、ブラックボックスのままであったサルコメア(筋節)の増加については、介在板のかみ合い構造(interdigititation)が機織機のように拡大化と狭小化を繰り返すことにより生じることが最近報告され<sup>(引用6)</sup>、肥大と退縮の仕組みの形態がようやく明らかになった。

心筋生検の検索対象となる心筋症は、不適切な心室の肥大拡張をきたす一群の心筋疾患を示し、特発性心筋症(肥大型、拡張型など)や続発性心筋症としての心サルコイドーシス、アミロイドーシス、心筋炎、ファブリ病などがある。肥大型・拡張型心筋症の疾患カテゴリーにも多くの病態が含まれており、微細構造も共通した種々のレベルの変化が認められる。

生検材料で最初に目に留まる所見として、細胞の肥大があげられる。心筋径の測定は、心内膜直下を除く細胞の横断面または縦断面で核が存在する部位での短径の測定を原則とするが、標本がきわめて小さい生検材料では評価が難しいこともある。右心室心筋細胞の正常径は15 μm前後で、電顕のスケールバーをもとに肥大の程度と線維化の割合を低倍率で観察する(図2)。横径がさほど大きくなとも、介在板同士の距離が

\* 秋田大学大学院医学系研究科・医学部 准教授(医学博士)

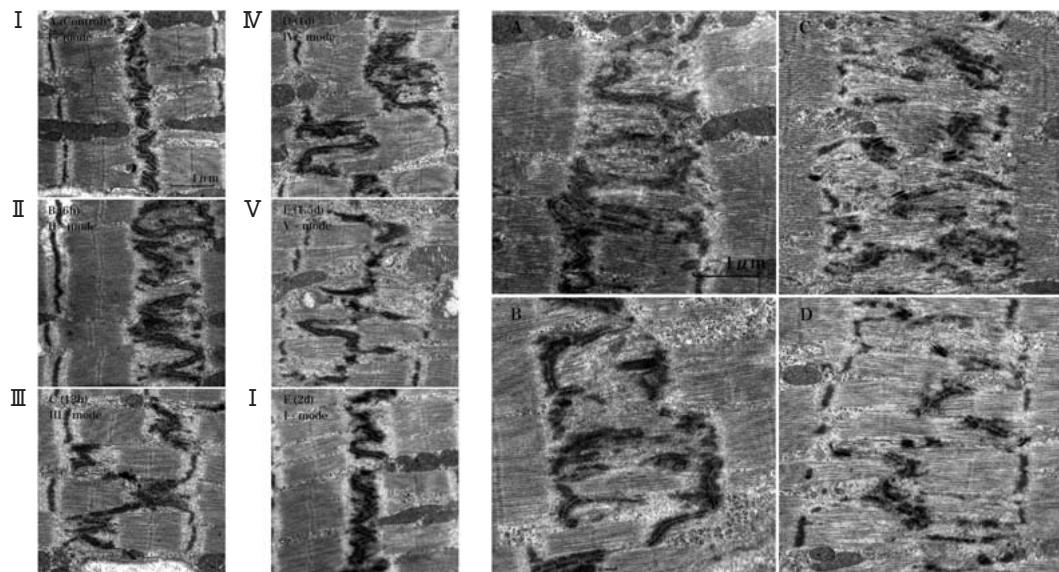


図 1 a

図 1 b

図1 心筋細胞が肥大をするときの介在板の変化(引用文献5より許可転載)。a: 肥大をするときに介在板は幅が広くなった後に狭くなり2日周期で、5つのモード(I, II, III, IV, V-mode)を繰り返してサルコメアの数を増やす。b: II～III-mode, IV～V-modeの移行期では未熟な筋原線維の出現がある。消失したサルコメアの残骸やマクロファージなどの自己消化を示す構造はない。

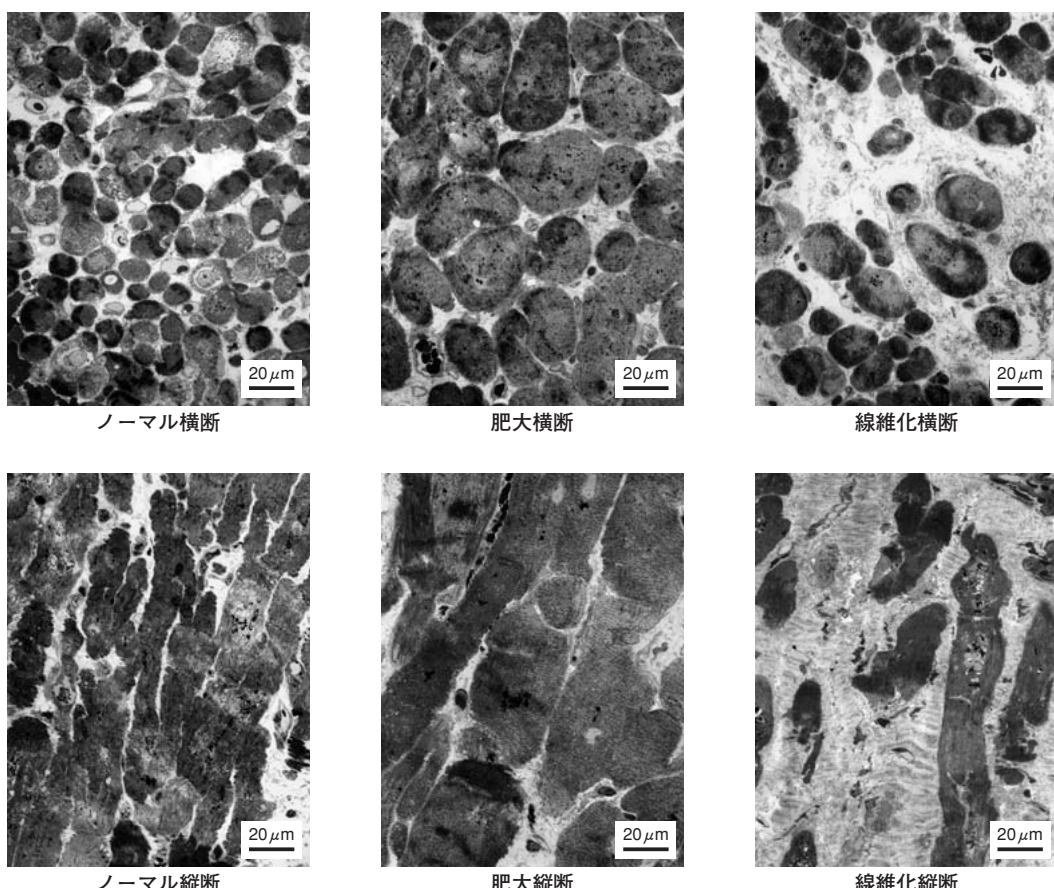


図2 右心室心筋細胞の大きさの比較(6枚の写真は同倍率)。ノーマルの大きさは15 μm程度で、肥大との境界の大きさは20 μm。中央の肥大心筋の大きさは40 μmで重度の肥大がある。

短く、入り込んでいる細胞は構造の改築(remodeling)が起こっている(図3)。また介在板がサルコメアの幅以上に拡大化している像は、まさに肥大が進行中で、サルコメアの増加している途中である(図4)。肥大に伴い核膜の陥凹が顕著になり(図5)，筋原線維の配列異常や(図6)Z帯の異常な拡大も見られる(図7)。心

機能の低下を反映するように、筋原線維の疎少化や融解が起こり(図8)，細胞容積の減少を代償するようにミトコンドリアが一時的に増殖する。このとき、ミトコンドリアのサイズの大小不同が起こり、大きさが10倍以上になることもある(図9)。

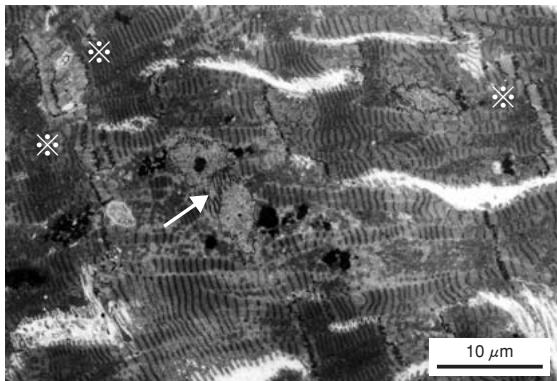


図3 肥大心筋細胞。介在板同士の距離が短く、一力所に数本の介在板のある重複介在板(※印)がある。心筋細胞の核(矢印)は複核であるが、これは1つの核が大きく変形しているため2個に見えるだけである。細胞の長軸側に介在板が増加して、細胞の輪郭が大きく変化している。

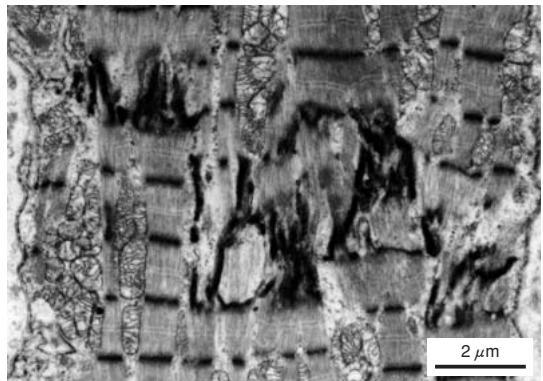


図4 肥大心筋の介在板。介在板の階段状の走行幅が2個のサルコメアの長さに及んでいる。これは図1で示す変化と同じで、サルコメア新生による細胞肥大が進行中の像である。

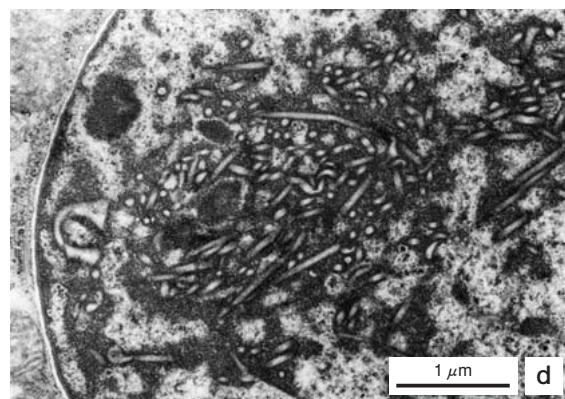
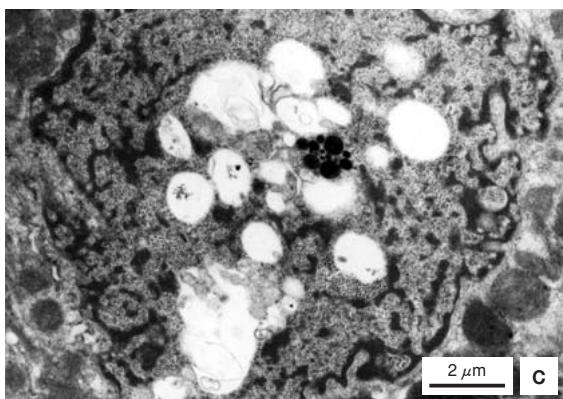
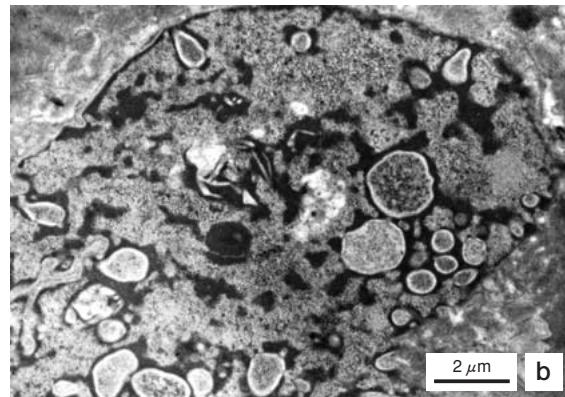
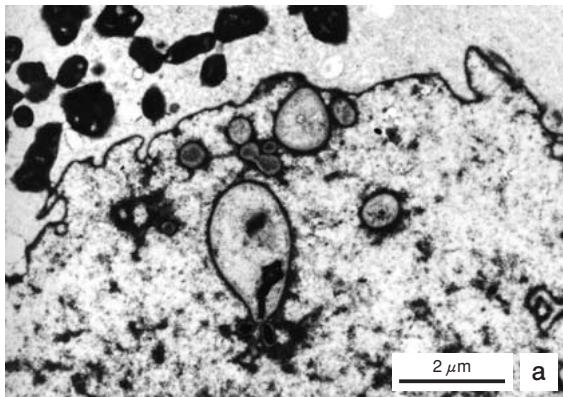


図5 肥大心筋の核の変化 a, b:核内の偽封入体(pseudoinclusion)。この構造は周縁に細胞膜がありヘテロクロマチンが集合していることから、核膜の陥凹(invagination)の表れであることがわかる。c:核内の空胞(vacuoles)形成。d:核内の桿状構造(nuclear tubules)。いずれも細胞の蛋白合成が亢進している像で、悪性腫瘍細胞でも見られる。

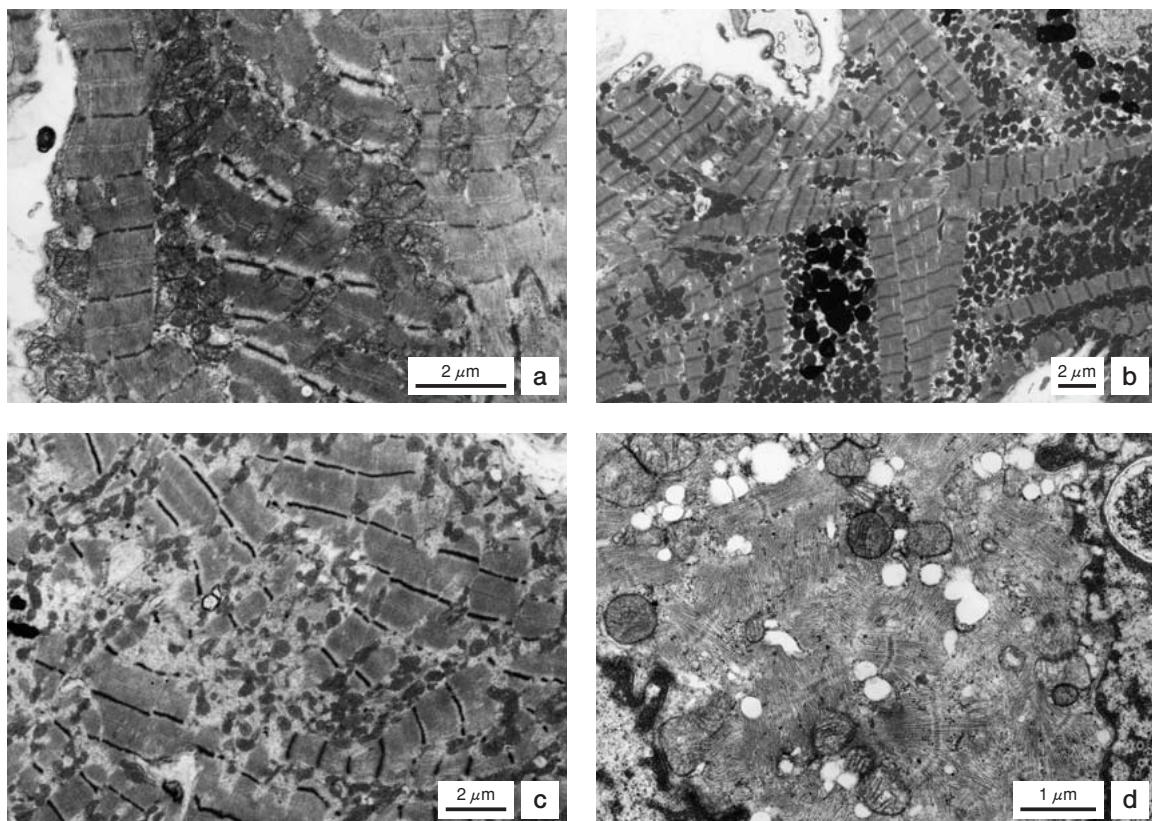


図6 筋原線維の錯綜配列(disarray)。筋原線維の平行性が乱れて異常分岐を示す。肥大型心筋症に多くみられ、微細な線維化が背景にあると考えられる。a：交叉配列 b：直交配列 c：交錯配列 d：渦巻配列。

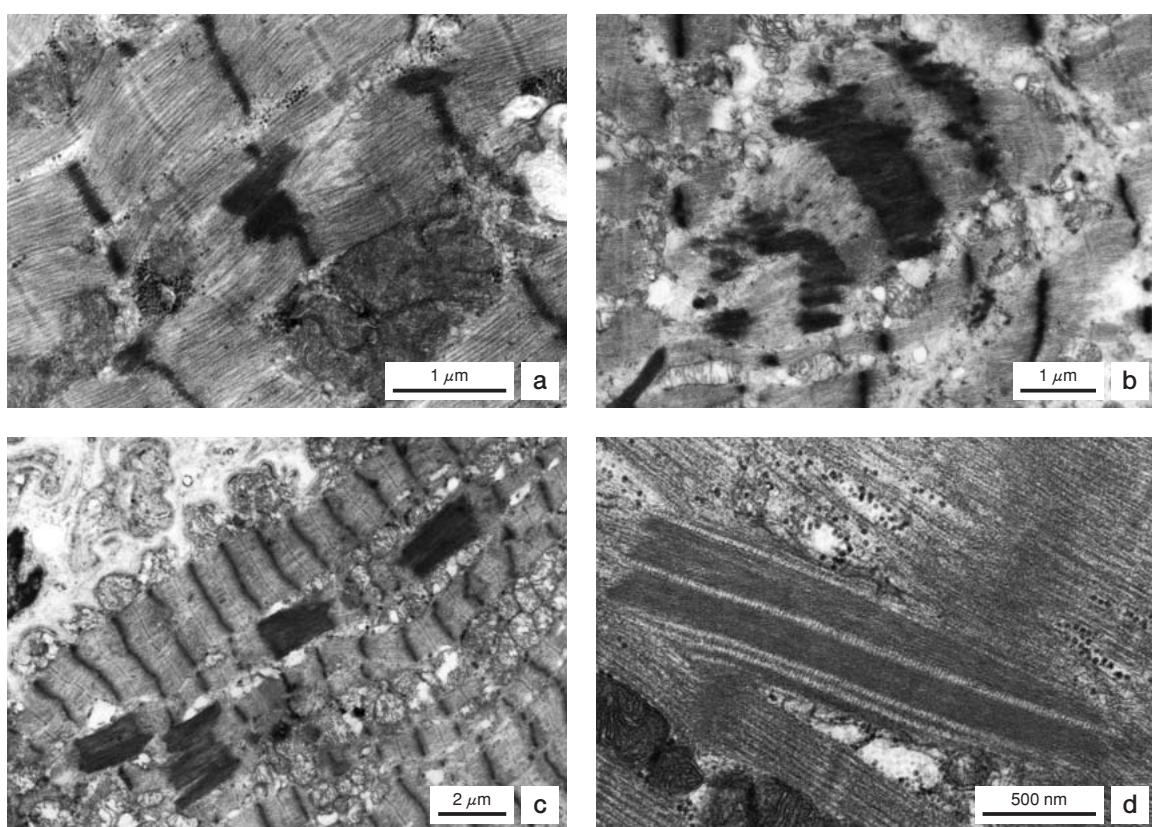


図7 Z帯の拡大(widening)。a, b, c:Z帯が少しずつ広がっている。d:アクチン線維とミオシン線維の配列異常。本来のサルコメアの構造がなく、Z帯も変形している。

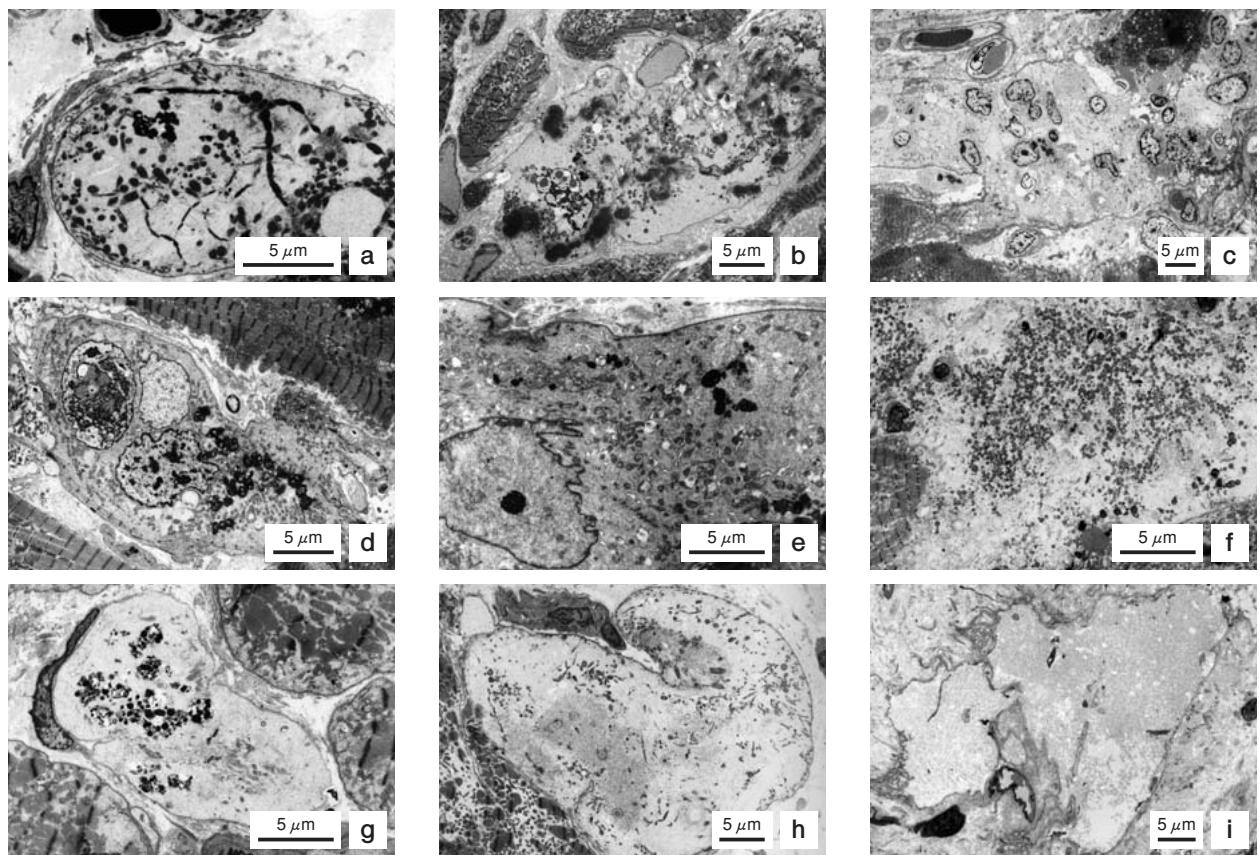


図8 筋原線維の疎少化と融解。a：サルコメア構造の消失。b：筋原線維の凝縮。c, d：細胞内へのマクロファージの侵入。e, f：細胞内にミトコンドリアが残っている。g：細胞内に小器官の破碎物が残っている。h, i：細胞膜のみとなつた心筋細胞。いずれも収縮機能は残っておらず、線維成分に置換される。

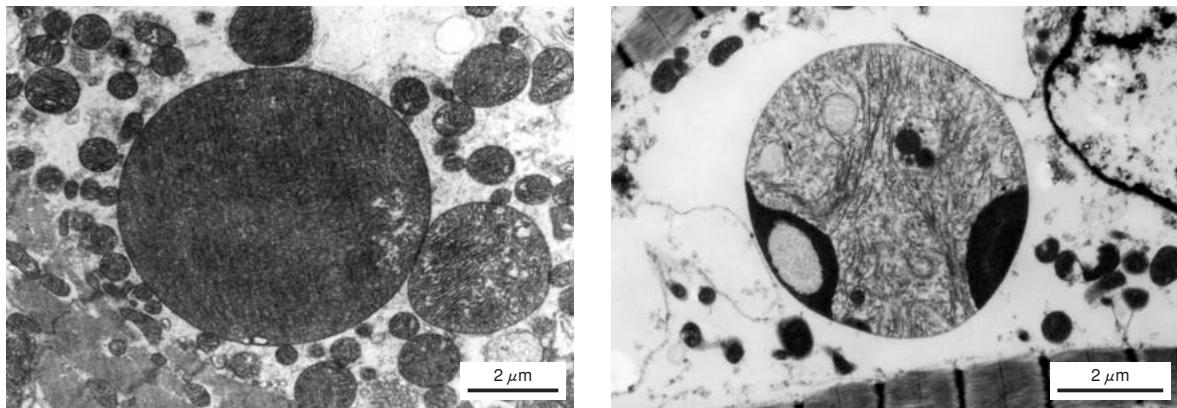


図9 巨大ミトコンドリア。周囲のミトコンドリアと比べると大型であることがわかる。クリスタ(crista)の形状も異常である。

心筋細胞の肥大の他に、よく見られる所見として線維化がある。これは心機能や検査データとも一致することが多い、心筋肥大が進行すると間質域が広くなつて心筋の収縮力が障害されるため、組織破綻の重要な所見となる(図10)。心筋壊死の治癒過程での微小線維化の中にリンパ球や形質細胞が主体の細胞浸潤が見られれば心筋炎を疑う(図10)。線維化の中に管腔構造を見ることがあるが、これは倍率をあげて内皮細胞を観察すると、血管とリンパ管の鑑別ができる(図11)。

心筋組織に特異な物質が蓄積する代表例として、ア

ミロイドーシス(amyloidosis)とファブリ病(Fabry病)がある。アミロイド物質は幅約10 nmの枝分かれのない細線維の集積で(図12)，心筋を取り囲むように沈着する。通常は光顕でも同定ができるが、微量沈着のアミロイドは電顕の出番となり、細胞内外の細線維構造との鑑別が必要である。心ファブリ病は心肥大男性症例の数パーセントに見られることが知られており<sup>(引用7)</sup>、心筋内に層状構造をもつ脂質沈着があることが特徴である(図13)。

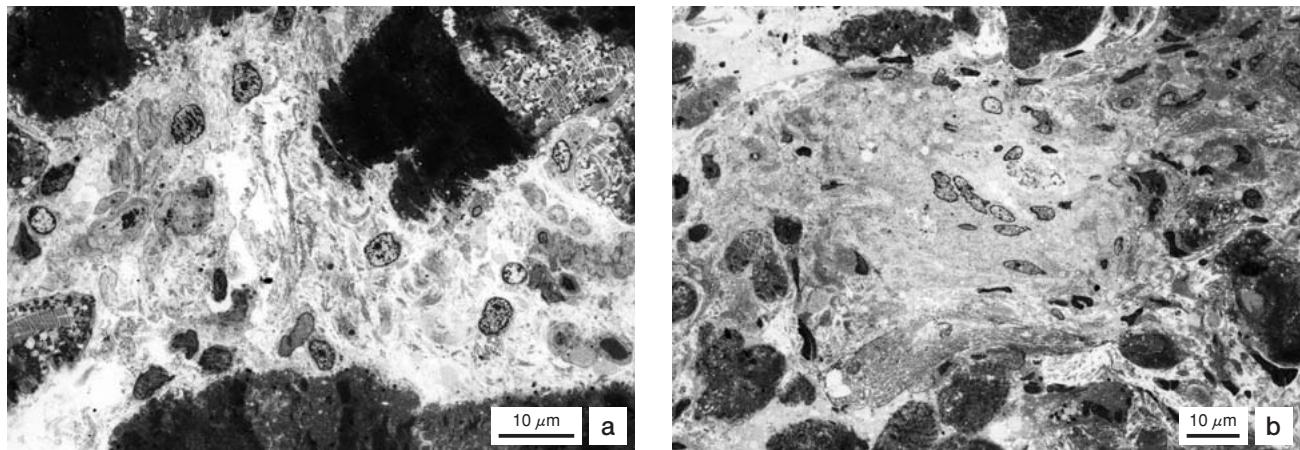


図10 間質の線維化と細胞浸潤。脱落した心筋細胞の核や、血管成分の核と炎症細胞の区別が必要である。a：リンパ球(単核細胞)があり、心筋炎を疑う。b：巨細胞はないがサルコイドーシスの疑いもある。

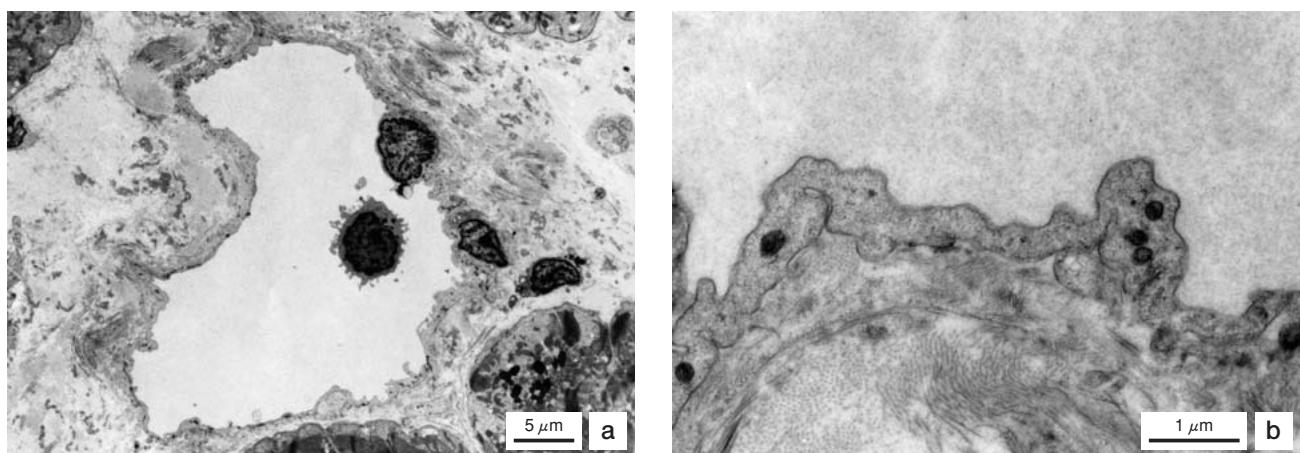


図11 間質のリンパ管。a：管腔の全体像。b：管腔の内皮細胞の一部拡大。基底膜がなく、係留フィラメント(anchor filaments)が点在することからリンパ管であることがわかる。炎症の修復期に見られる構造。

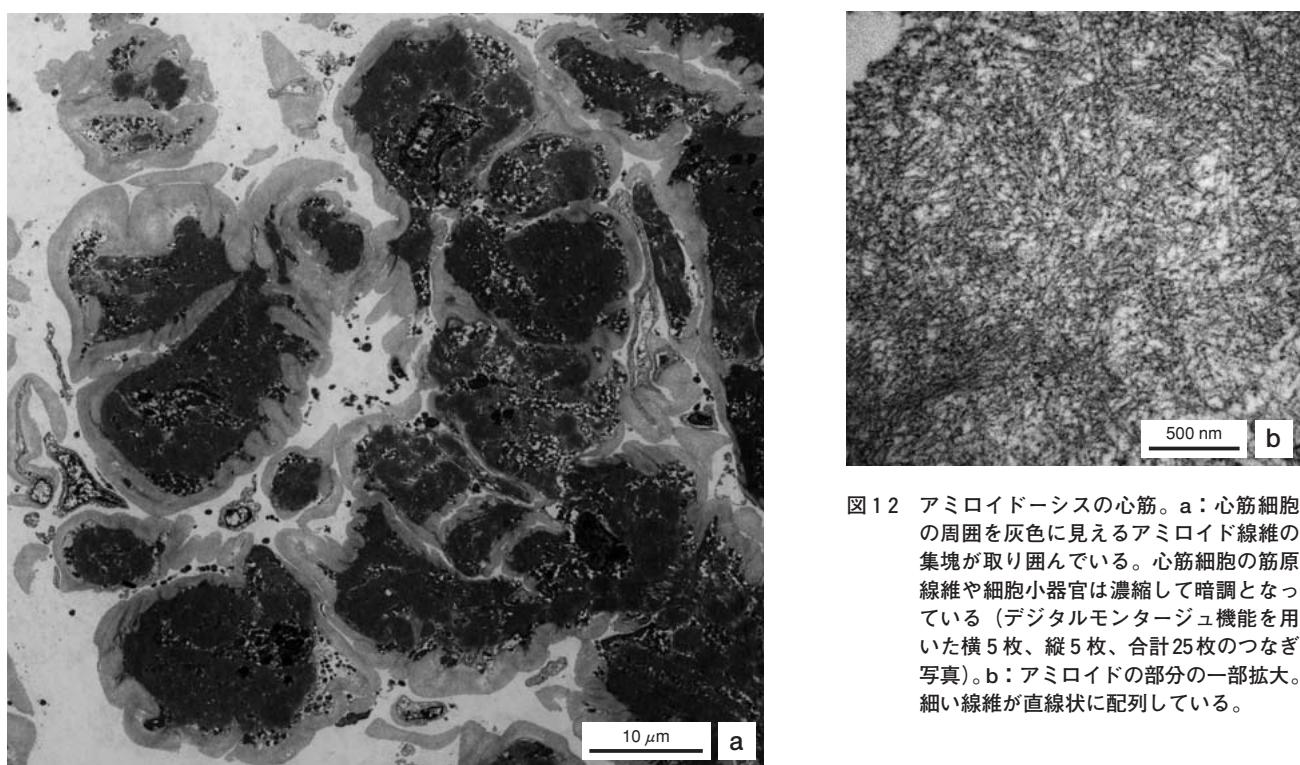


図12 アミロイドーシスの心筋。a：心筋細胞の周囲を灰色に見えるアミロイド線維の集塊が取り囲んでいる。心筋細胞の筋原線維や細胞小器官は濃縮して暗調となっている（デジタルモンタージュ機能を用いた横5枚、縦5枚、合計25枚のつなぎ写真）。b：アミロイドの部分の一部拡大。細い線維が直線状に配列している。

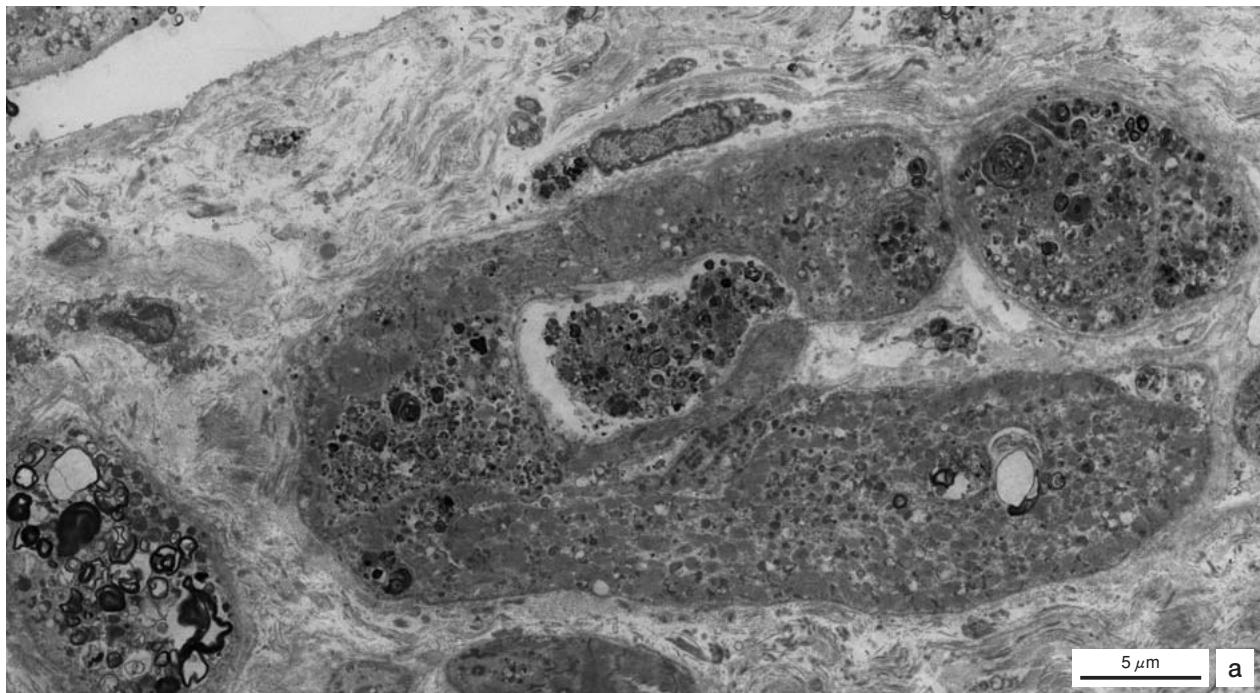
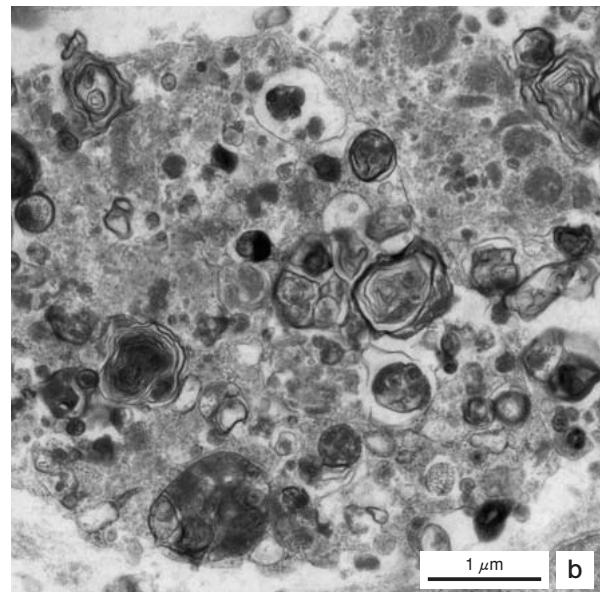


図13 ファブリ病の心筋。a：心筋細胞の中に多数のタマネギ様の構造がみられる。この層状構造は同心円状で交錯する部位もある（デジタルオートモンタージュ機能を用いた横6枚、縦4枚、合計24枚のつなぎ写真）。b：層状構造の一部拡大。



## 引用文献

1. Jan Vincents Johannessen (ed.) (1980) : Electron Microscopy in Human Medicine, vol.5, Cardiovascular system, lymphoreticular and hematopoietic system. McGRAW-HILL International Book Company.
2. 日本病理学会編(1985)：病理技術マニュアル5、病理学領域における電顕応用、医歯薬出版株式会社。
3. 病理と臨床編(1992)：病理と臨床 vol.10 臨時増刊号 病理組織診断における電子顕微鏡の有用性、文光堂。
4. 由谷親夫(1997)：臨床医のための心筋生検アトラス、医学書院。
5. Feroze N.Ghadially (1997) : Ultrastructural Pathology of the Cell and Matrix. Butterworth-Heinemann.
6. Yoshida M. et al. (2010) : Weaving Hypothesis of Cardiomyocyte Sarcomeres, Discovery of Periodic Broading and Narrowing of Intercalated Disk during Volume-Load Change, Am. J. of Path 176, 660-678.
7. 川名正敏他編 (2010) : カラー版循環器病学、基礎と臨床、西村書店。

# SEMによる高分子材料の構造評価

Structural characterization of polymer materials using SEM

乙部 博英\*

## 1. はじめに

二十数年前、S-430形でSEMを、H-500形でTEMを覚え、各種ポリマー材料の評価を手掛けるようになった頃、「SEMは低倍の形状評価」「TEMは高倍の構造評価」というイメージがあった。前処理の難易度は高いが、到達倍率が高く、形状だけでなく、構造(素材の構成、組み合わせ方、仕組み)を評価できるTEMに魅力を感じていた。

その後、電界放射型電子銃や、強励磁対物レンズなど多くの新技術が投入され、SEM、TEMともに分解能が飛躍的に向上した。特にSEMは到達倍率が高くなり、更に、リターディング機構、信号選択機構など、多くの機能を装備した。その結果、TEMと相補的に利用できる範囲が広がっただけでなく、SEMでなければできない構造評価も実現されるようになった。ここでは、高分解能・多機能化したSEMによる高分子材料の構造評価事例を紹介する。

## 2. 評価事例

### 2-1. ポリオレフィン微多孔膜の評価

セミインレンズSEMの2つの二次電子検出器による信号検出方法を図1に示す。

一次電子線の照射によって、試料からは様々なエネルギーの電子が放出されるが、低エネルギーの二次電子は一次電子線の周囲をスパイラル状に巻き上げられ、 $E \times B$ フィルターを通り上部検出器に導かれる。また、上部検出器に巻き上げられなかった二次電子および、高エネルギーの反射電子は下部検出器で検出される。

この結果、上部検出器では脱出深さの浅い低エネルギーの二次電子で像形成するために、最表面の微細な形態(凹凸)を反映した像となる。また、下部検出器は脱出深さの深い高エネルギーの反射電子で像形成するために、深部の構造や組成を反映した像が得られる。

図2にセミインレンズSEMの2つの二次電子検出器を用いて撮影したポリオレフィン微多孔膜の観察事例を示す。

2つの写真は全く同じ視野であるが、印象の異なる像となっている。左側の像は上部検出器に到達した

低エネルギーの二次電子で像形成しているため、最表面の膜構造を示している。これに対し、右側の像は、下部検出器に到達した高エネルギーの反射電子で像形成しているため、試料の深部に潜む膜の骨格構造を示している。このように2つの検出器を用いて任意のエネルギー帯の電子を捉えることによって、最表面の膜構造と、深部に潜む骨格構造を同時に評価することができる。

この骨格はTEMによる評価では捉えられたことがなく、僅かな密度差が信号選択によって可視化された一例である。

次に制御電極を用いた信号可変機構を利用し、この2つの像のエネルギー差について評価した。制御電極を用いた信号可変機構による信号検出方法を図3に示す。

低エネルギーの二次電子で像形成する場合、制御電極にプラス(+)の電圧を印加する。すると、試料表面で発生した二次電子は、エネルギーが低いために制御



乙部 博英

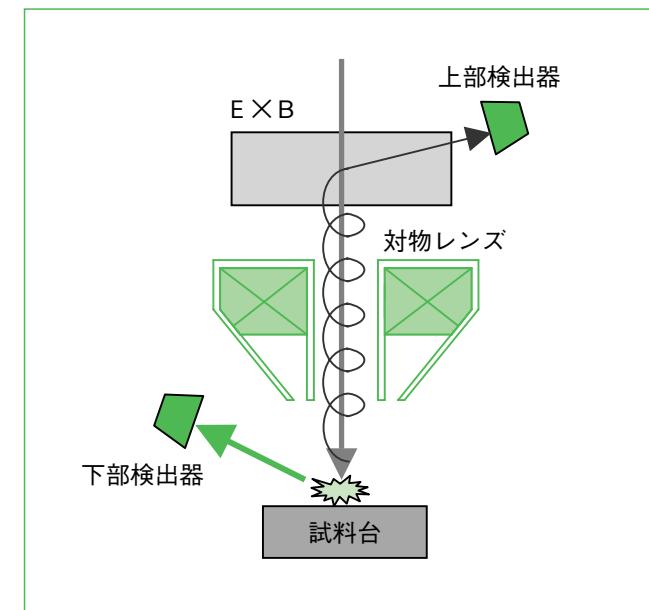


図1 セミインレンズSEMの信号検出機構

\* 旭化成(株)基盤技術研究所

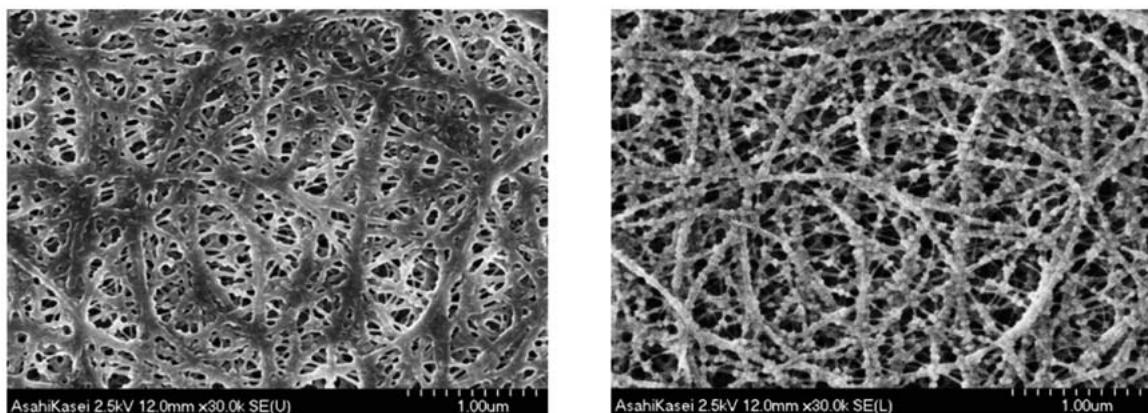


図2 2つの検出器を用いて撮影したポリオレフィン微多孔膜(左：上部検出器，右：下部検出器)

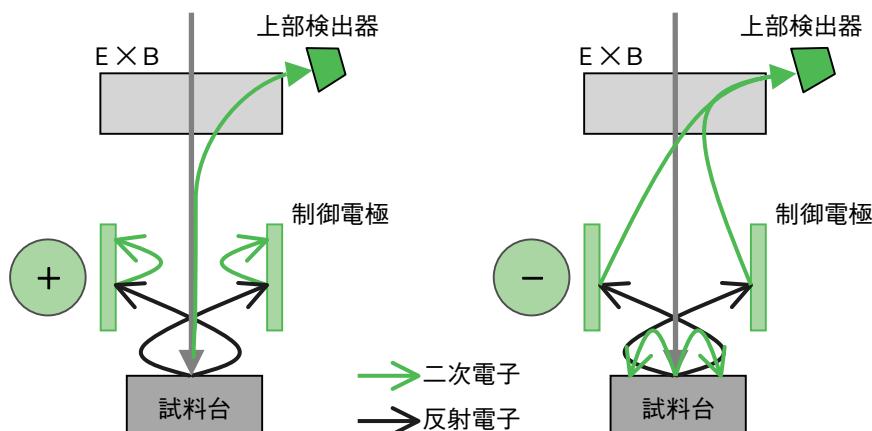


図3 セミインレンズSEMの信号可変機構

電極間に発生しているプラス(+)の電界に引かれ、更にE×Bフィルターに導かれて上部検出器に到達する。この時、高エネルギーの反射電子は直進性が高いために制御電極に衝突し、そこで二次電子が発生する。この二次電子は制御電極にプラス(+)の電圧が印加されているため、制御電極に戻り、検出器には到達しない。つまり、制御電極で高エネルギーの反射電子成分を除去して、低エネルギーの二次電子だけを検出している。

高エネルギーの反射電子で像形成する場合、制御電極にマイナス(-)の電圧を印加する。高エネルギーの反射電子は、直進性が高く、印加したマイナス(-)電圧に比べエネルギーが高いため、そのまま制御電極に衝突し、そこで二次電子が発生する。発生した二次電子は制御電極にマイナス(-)の電圧が印加されているため、制御電極に戻ることができず、更にE×Bフィルターに導かれ、検出器に到達する。この時、試料から発生した低エネルギーの二次電子は制御電極のマイ

ナス(-)の電圧に反発されるため、検出器には到達しない。つまり、制御電極で低エネルギーの二次電子成分を除去すると同時に、反射電子を二次電子に変換して検出している。

ここでは加速電圧を2.0 kVに設定し、制御電極へ0~-15 Vの電圧を印加して観察を行った。結果を図4に示す。制御電極への印加電圧が-10.5~-15.0 Vの場合に、下方検出器の像(図2右)と類似の像になった。この結果より、最表面の膜構造を評価するためには十数eV以下のエネルギー帯の電子で像形成する必要があり、深部の骨格を評価する場合には十数eV以上のエネルギー帯の電子を利用しなければならないことが明らかになった。

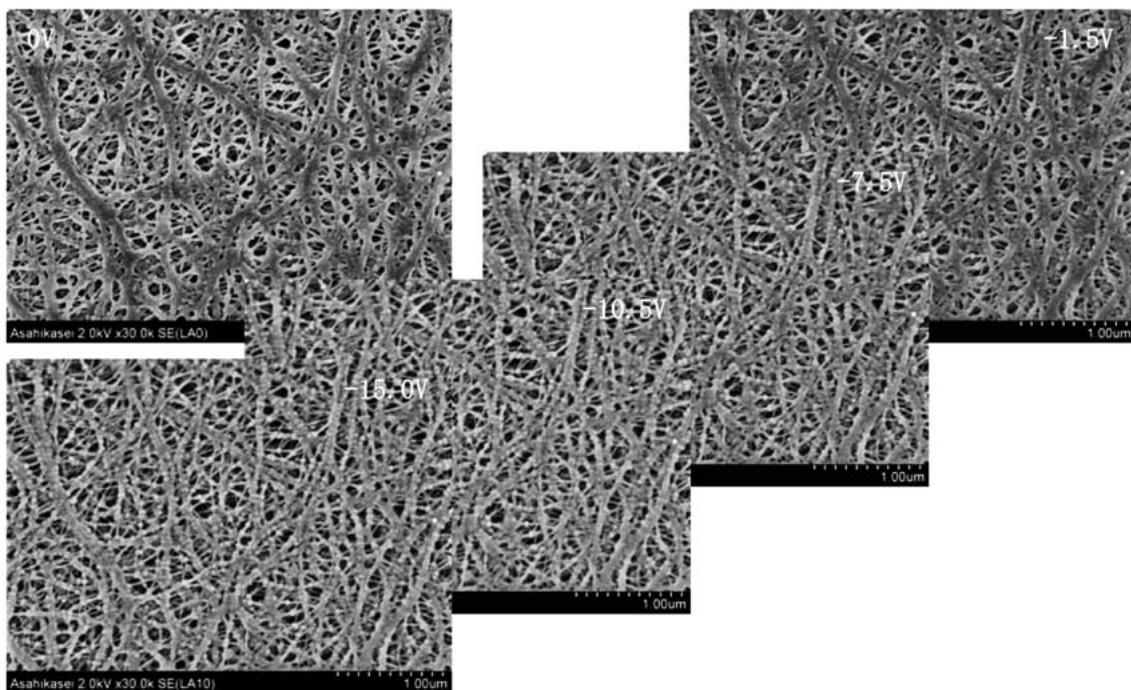


図4 信号可変機構を用いて撮影したポリオレフィン微多孔膜

## 2-2. ポリエチレンの結晶構造評価

図5はポリエチレンのTEM像である。白い帯状の構造体がポリエチレンの結晶(ラメラ晶)を示している。この試料はX線回折による評価で結晶化度90%以上という数値が得られているが、TEM像では広い視野に数枚のラメラ晶しか捉えられていない。これは、切片に対して垂直に存在するラメラ晶しか可視化できていないからである。

この試料に化学エッティングを施し、表面近傍の非晶質相を溶解除去し、SEM観察した結果を図6に示す。

全ての方向を向いたラメラ晶が観察されており、X線回折から求めた結晶化度とも良く対応した結果が得られた。また、低倍から観察したところ球晶の存在が明らかになった。

そこで、試料に応力が加わった場合の球晶および、

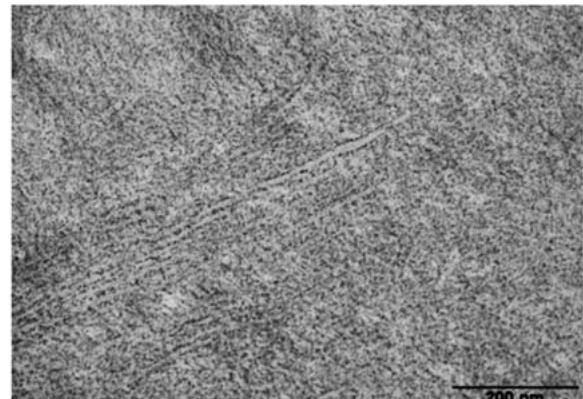


図5 ポリエチレンのTEM像

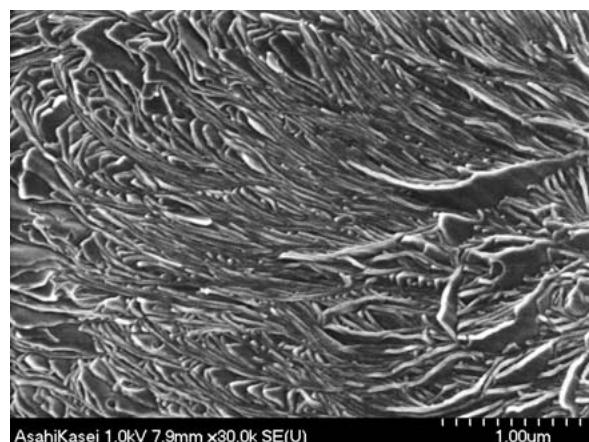
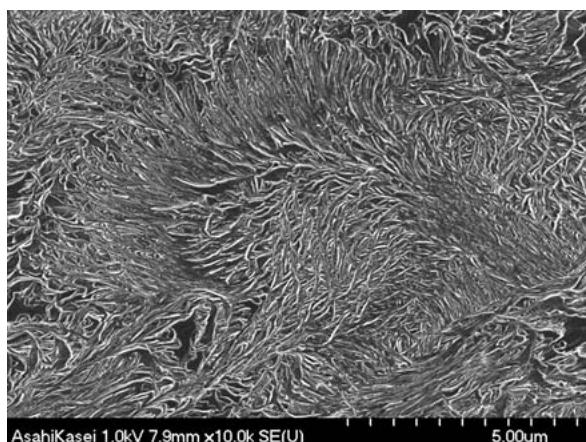


図6 ポリエチレンのSEM像(エッティング処理)

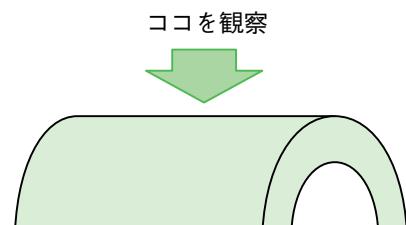


図7 ポリエチレン屈曲試料

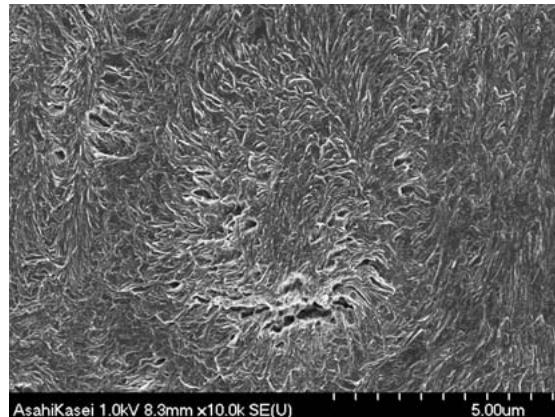
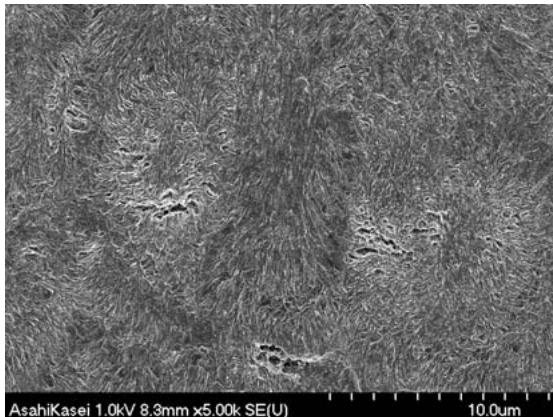


図8 ポリエチレン屈曲試料SEM像(エッティング処理)

その周辺の構造変化を評価するために、試料片を屈曲させ、延伸側表面のラメラ晶をSEMで評価した(図7)。結果を図8に示す。

屈曲によって延伸側の応力が加わった結果、球晶以外の領域は延伸され、ラメラ晶の配向状態が変化しているが、球晶はラメラ晶の充填密度が高く、延伸される非晶質領域が少ないためにクラックが生じていた。このような曲率のある試料表面の評価はSEMでなければ難しい。

### 2-3. 人工腎臓膜の相分離構造評価

Polysulfone(PSF)/Polyvinylpyrrolidone(PVP)系人工腎臓膜は、疎水性のPSFに親水性のPVPを少量添加して紡糸される中空糸である。その膜構造は、外表面から内表面に向かって緻密化する傾斜構造を有して

おり(図9)，内表面近傍の微細構造が分画性能を左右する。よって、内表面近傍の構造評価が特に重要となり、この領域でのPSF/PVP相分離状態の評価は必須となる。

これまでTEMや、軟X線分光顕微鏡によって膜構造が疎な外表面近傍での相分離構造の観察は行われておらず、PSFの骨格を取り囲むように、表面に薄いPVP相が存在していることがわかっている。しかし、緻密領域についてはSEMによる評価(図9)で、20~30 nmの微細構造を有していることがわかっており、50~60 nm程度の一般的な試料厚さでは、試料厚さに起因する解像度の低下によって、明瞭な像として捉えることができないことは容易に想像できる。また、仮に非常に薄い切片が得られたとしても、加速電圧の高いTEMでは電子線の散乱能が不足し、コントラストが

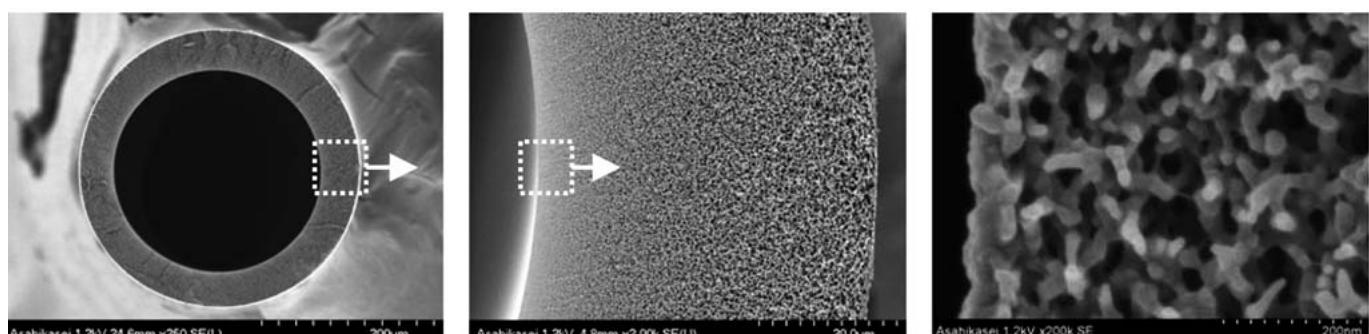


図9 人工腎臓膜凍結割断面 SEM像(左:全体像, 中:中拡大, 右:内表面近傍強拡大)

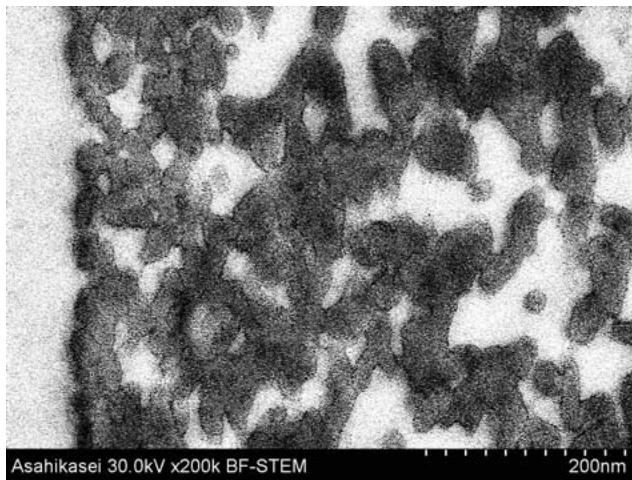


図10 人工腎臓膜内表面近傍STEM像  
(切片厚15 nm, 加速電圧30 kV-STEM)

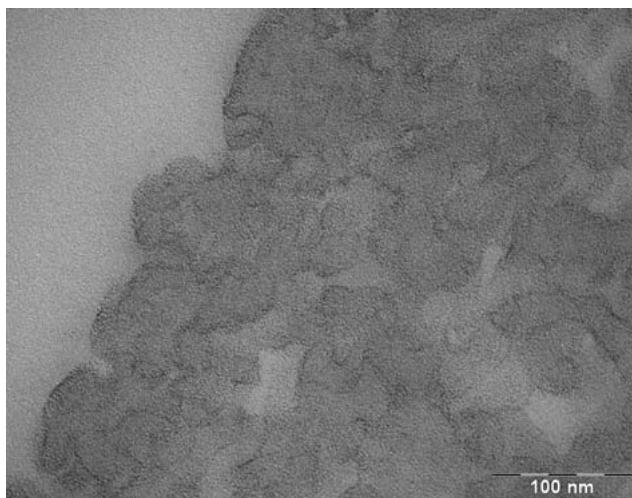


図11 人工腎臓膜内表面近傍TEM像  
(切片厚60 nm, 加速電圧125 kV-TEM)

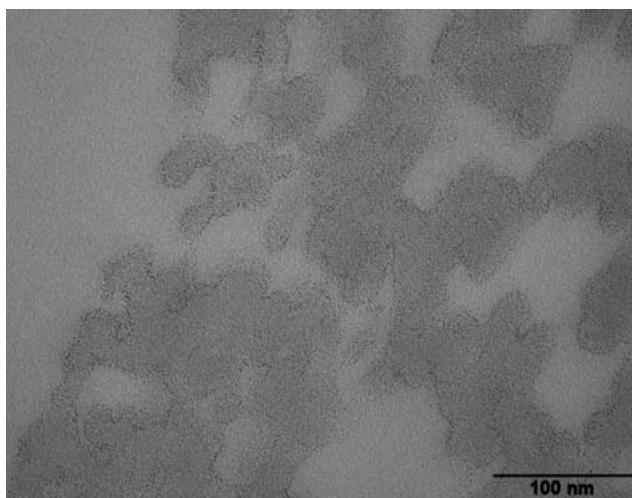


図12 人工腎臓膜内表面近傍TEM像  
(切片厚15 nm, 加速電圧125 kV-TEM)

得られない。

このような理由から、これまでXPS測定によるPSF/PVP比からPVPの表面局在化を推測するに留まっていた。

そこで、前処理条件の検討によって試料厚さ15 nmの超薄切片を作成して解像度の向上を図り、SEMにオプション装備されているSTEM機能(加速電圧30 kV)を利用してハイコントラストな観察を実施した。

結果を図10に示す。

多孔構造体の輪郭にある黒いコントラストとなっている領域がPVPである。15 nmの超薄切片によって解像度の向上を、加速電圧30 kVのSTEMの利用でコントラストの向上を図った結果、PSF相を取り囲むように、ごく薄いPVP相が存在していることが確認され、内表面近傍の緻密領域においてもPVP相が表面局在化し、少量のPVP添加で親水性を発現できていることが確認された。

なお、参考のために試料厚さ約60 nm加速電圧125 kV-TEMおよび、試料厚さ約15 nm、加速電圧125 kV-TEMによる観察結果を図11、12に示す。

試料厚15 nm切片による解像度の向上と、低加速STEM観察によるコントラストの向上が確認できる。

#### 2-4. 有機／無機ハイブリッド光学フィルムの構造評価

光学的な評価やIR分析の結果より図13の層構造が予想される光学フィルムについてFIBによる断面作製を試みた。

しかし、樹脂層、バインダーポリマー、および無機粒子Aのイオンビーム耐性が低いためにダメージが発生し、良好な断面を得ることができなかった。また、イオンビーム加工であるが故に加工面が平滑になり、

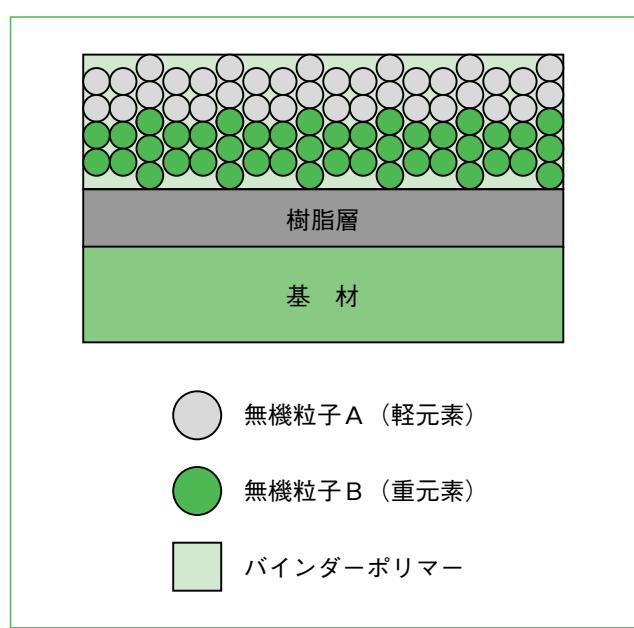


図13 光学フィルム(推定構造)

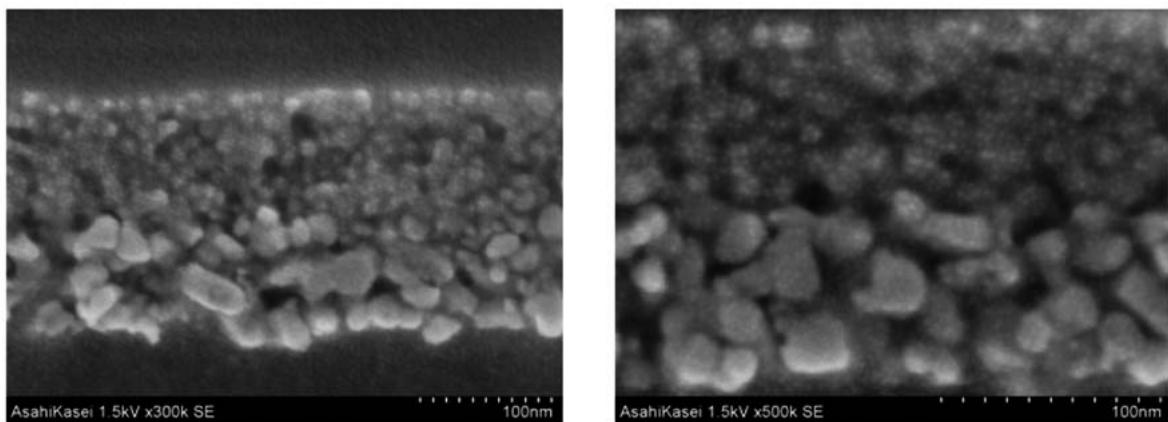


図14 光学フィルム断面SEM像(バルク試料)

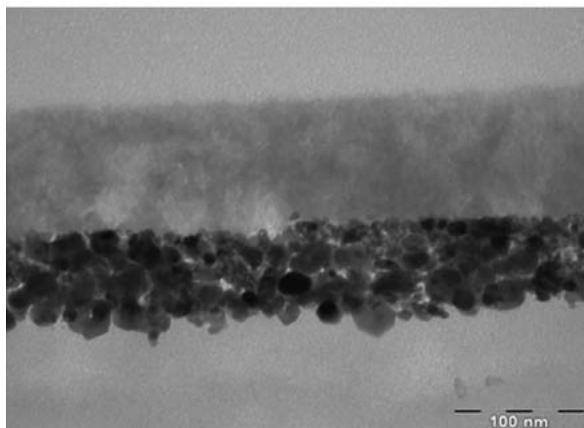


図15 光学フィルム断面TEM像

各層の界面が不明瞭になった。

そこで、ウルトラミクロトームによる切削で断面を作製し、Ptコーティング後、SEMによる観察を実施した(図14)。その結果、概略を把握できる程度の像は得られたが、加速電圧の制約(ビームダメージ、チャージアップ)などから解像度が低く、更に導電処理に用いたPt粒子が見えるなどの問題点が明らかになった。

次に、ウルトラミクロトームによる切削で超薄切片を作製し、TEM観察を実施した(写真15)。

TEM像は試料厚さ方向の構造を積算した像であることから、粒子部分の解像度がバルク試料のSEM観察に及ばない。特に無機粒子Aから構成される上層部は、粒子充填層であることも認識できない。しかし、粒子の組成情報(軽元素or重元素)や、未知の試料を評価する場合の全体像把握などの面でメリットもある。

次にTEM観察に用いた薄膜試料のSEMおよび反射

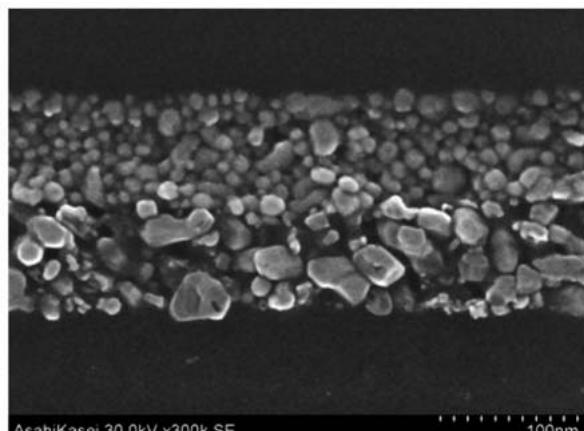


図16 光学フィルム断面SEM像(薄膜試料)

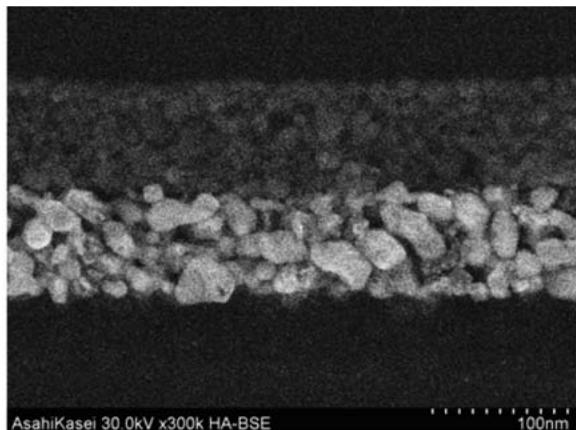


図17 光学フィルム断面反射電子像(薄膜試料)

電子像観察を実施した(図16, 17)。薄膜試料であることから、入射電子線の大半は透過する。よって、分解能的に有利な高加速電圧(30 kV)のビームを照射してもダメージや、チャージアップを抑制し、無コーティング観察が実現できた。また、入射電子の拡散領域が制限されるため、解像度が向上した。

これらの結果より、無機粒子を含有する樹脂のようなハイブリッド材料の評価には、ウルトラミクロトームによる切削で作成した薄膜試料のSEM像観察と、TEM像観察の併用が有効であることがわかった。

なお、観察に際しては、像解釈という点で高分解能SEM像と透過像を同一視野で同時観察できるSTEM機能付き高分解能SEMが有効である。

### 3. おわりに

これまで多くの材料の構造評価を行ってきたが、その中から印象に残った事例をいくつか紹介させて頂いた。近年、材料の構造は日々、微細化して評価倍率が高くなると同時に、電子線やイオンビームの照射に対する耐性の低い素材が用いられるケースが多くなっている。そのため、より微小な領域についてダメージのない前処理・観察・分析のニーズが高くなっている。このようなニーズに対し、我々ユーザーも新たな前処理方法やアプリケーションを開発して立ち向かうが、メーカーにはハード面での更なる工夫・改良や、新たなアプリケーションの提案を期待する。

### 4. 謝辞

前処理から像解釈まで、日常発生する疑問に対して、的確でわかりやすいアドバイスを頂いている日立ハイテクノロジーズ グローバルアプリケーションセンターの皆さま、また、導入した装置を常にベストなコンディションに保って頂いている日立ハイテクフィールディング中部支店の皆さんに紙面をお借りして御礼を申し上げます。

# Arsenic speciation with gradient hydride generation interfacing liquid chromatography and atomic absorption spectrometry

Yong Tian\* Ming-Li Chen\* Xu-Wei Chen\* Jian-Hua Wang\* Yoshihiro Hirano\*\* Hideyuki Sakamoto\*\* Ikumei Setsu\*\*

This work was published in Journal of Analytical Atomic Spectrometry, 2010, 25, 48-54.

## Introduction:

Arsenic in various sample matrixes causes a multitude of serious health problems.<sup>1</sup> Arsenic in drinking water in South Asia has become one of the biggest environmental problems of the century.<sup>2</sup> Generally, arsenic in environmental waters is almost exclusively inorganic,<sup>3</sup> however, methylated arsenic species were frequently identified from biological samples and alga (Hijiki). Therefore, total amount of arsenic is no longer sufficient for providing comprehensive information about their toxicity or ease of removal among the various arsenic oxidation states, as both properties depend strongly on the chemical form of a specific arsenic species. Thus, the accurate identification of arsenic species has become one of the most important issues when evaluating the toxic effects of arsenic.<sup>4-6</sup> Although a number of analytical protocols have been dedicating to arsenic speciation, however, there are no universal methodologies available, not to say providing standard procedures for such purposes. At this juncture, it is highly desirable to develop suitable and reliable approaches for arsenic speciation.

So far, extensive efforts have been devoted to the hyphenation of LC separation with ICP-MS.<sup>7-11</sup> LC provides powerful separation for isolating the individual arsenic species, while the high sensitivity of ICP-MS and its flow through feature facilitate accurate and fast detection. However, in many circumstances, this approach is not suitable for routine analysis attributed to the high running cost of the instrumentation. For this purpose, studies have been dedicated to coupling LC with hydride generation and some other atomic spectrometric detectors, e.g., atomic absorption spectrometry (AAS)<sup>12-15</sup> and atomic fluorescence spectrometry (AFS),<sup>16,17</sup> for arsenic

speciation.

The hyphenation of hydride generation with atomic absorption spectrometry is among the most frequently used techniques for the separation and quantification of arsenic species.<sup>18</sup> There are, however, some intrinsic shortcomings of this technique when compared to those with detection by ICP-MS and AFS, e.g., the sensitivity of AAS can hardly compete with the latter systems. In order to be competitive, a significant improvement on the sensitivity is required with AAS as detector.<sup>12-15</sup> When considering the inherent detection power of AAS limited by its intrinsic design, one of the most feasible approaches to improve the sensitivity is to ensure a complete capture of the analyte of interest at each single step of reaction. In arsenic speciation by using hydride generation, the conversion efficiencies of arsenic species into corresponding arsenic hydrides generally vary significantly. Although fixed experimental condition might be well suitable for certain arsenic species, while the conversion efficiencies for some others could be seriously deteriorated.<sup>12-14</sup> A pH-gradient hydride generation approach has been proposed for the improvement of hydride generation efficiency.<sup>19</sup> On the other hand, as an indispensable component in the hyphenation of a hydride generation unit with an atomic spectrometric detector, the gas-liquid separator is an extremely important part when desiring to improve the sensitivity and stability. Recently, this issue has caught pertinent attentions.<sup>17,20-22</sup> Generally, a sufficient chamber volume in the gas-liquid separator is required to provide a buffering for the hydride and the carrier gas in order to depress the noise signal. On the other hand, however, the chamber volume should be limited to the extent possible to minimize the dispersion of the hydride before it entering the atomization area.<sup>23</sup> In this respect, it still deserves more efforts to be



Jian-Hua Wang

\* Research Center for Analytical Sciences, Northeastern University, Box 332, Shenyang 110004, China

\*\* Hitachi High-Technologies Corporation, Hitachinaka, Ibaraki, 312-8504, Japan

focused on this issue to further improve the performance of gas-liquid separation.

This work reports a gradient hydride generation protocol to improve the conversion efficiency of As(V), As(III), MMA, DMA and TMAO into their corresponding hydrides before AAS detection. In addition, a novel design of gas-liquid separator with limited dead volume was used providing minimum dispersion of the hydrides during their transportation from the separator to the detection point and thus facilitates high detection sensitivity. Arsenic speciation in Hijiki samples was performed by this procedure.

## Materials and Methods

### Instrumentation

AL-2130 pump and a L-2300 column oven (Hitachi High-Technologies) with Wakopak Navi C30-5 columns (F6×250 mm and F6×150 mm) were used for chromatographic separation of arsenic species. A six-port injection valve with a 100  $\mu\text{L}$  sample loop was used for sample introduction. A Z-2000 atomic absorption spectrophotometer (Hitachi High-Technologies) with a quartz atomizer was used for arsenic detection.

A Minipuls evolution peristaltic pump (Gilson) was used for delivering HCl and NaBH<sub>4</sub> solutions in the hydride generation process. A 60 °C water bath was used to improve the hydride generation efficiency of the arsenic species, followed by a cooling water bath to control the temperature of the reaction mixture before entering the gas-liquid separator. Four types of gas-liquid separator (**Figure 1**) were employed

and their separation efficiencies evaluated. The hydrides after separation were swept by argon to flow into the T-type quartz atomizer for arsenic quantification.

**Figure 2** illustrated the flow manifold of the liquid chromatographic separation followed by gradient hydride generation-AAS detection for arsenic speciation.

### Reagents

The chemicals used were at least of analytical-reagent grade with 18.2 MΩ cm de-ionized water.

Arsenic stock solutions of 1000 mg/L were prepared for sodium arsenite, disodium hydrogen arsenite heptahydrate, monomethylarsonic acid (MMA), dimethylarsinic acid (DMA) and trimethylarsine oxide (TMAO).

The mobile phase contains sodium 1-butanesulfonate, malonic acid, tetramethylammonium hydroxide, methanol and ammonium tartrate. NaBH<sub>4</sub>, HCl and L-cysteine were used for hydride generation.

### Sampling and sample pretreatment

**Hijiki digestion with nitric acid for total arsenic:** 0.5 gram of Hijiki was randomly taken from the homogenized sample bulk. The sample was transferred into a 10 mL quartz glass crucible with 5 mL HNO<sub>3</sub> (65 %) and the mixture was heated gently on a hot plate by controlling the temperature not to exceed 100°C for about 3 hours until the solution had nearly dried. After cooling, the mixture was filtered through a 0.22  $\mu\text{m}$  membrane filter and the filtrate

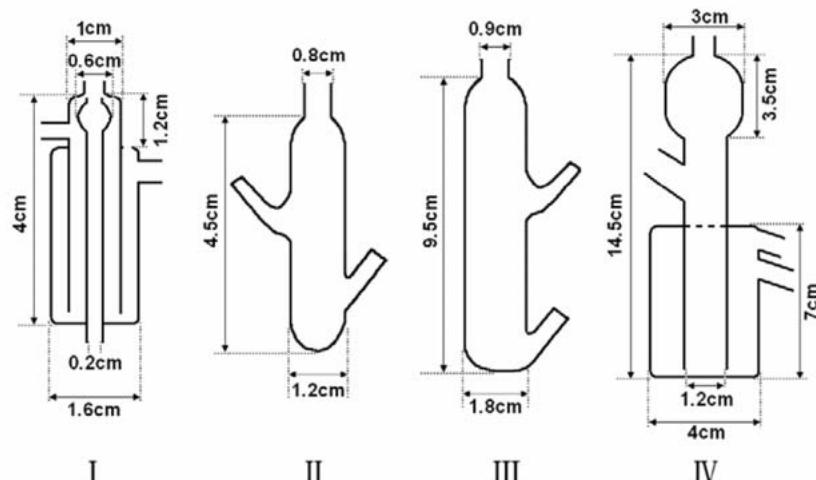


Figure 1. The designs of gas-liquid separators used in the investigations.

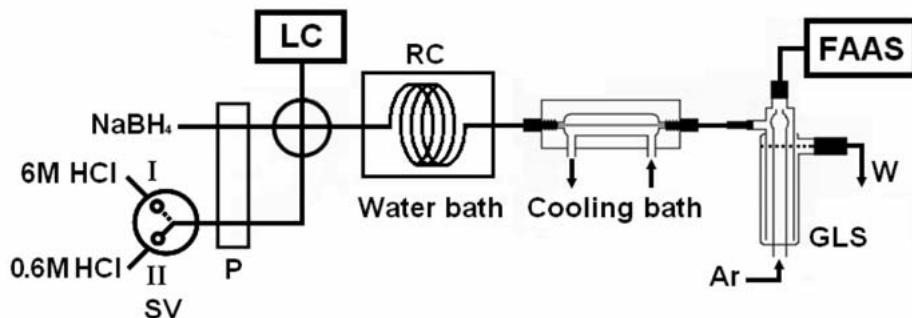


Figure 2. The flow manifold of the LC separation-gradient hydride generation-AAS system. LC: liquid chromatography; FAAS: quartz atomizer flame atomic absorption spectrometer; P: peristaltic pump; SV: selector valve; RC: reaction coil; GLS: gas-liquid separator; Ar: argon; W: waste.  
 Valve position I: 6 mol/L HCl for the hydride generation of As(V), As(III) and MMA.  
 Valve position II: 0.6 mol/L HCl for the hydride generation of DMA and TMAO.

was diluted to 50.0 mL.

**Ultrasonic-assisted water extraction for arsenic species:** 5 gram of homogenized Hijiki was taken into a 100 mL vessel with 50 mL water. The mixture was sonicated for 30 min and the leachate was collected by filtration which was used for arsenic speciation.

#### Total arsenic quantification

Electrothermal atomic absorption spectrometry (ETAAS) was used for quantifying the total arsenic with 10  $\mu$ L of  $Mg(NO_3)_2$  solution (1000 mg/L) as matrix modifier. In practice, 50-fold and 500-fold dilutions with  $HNO_3$  (1 %, v/v) were made when analyzing total arsenic in the wet acid digests with  $HNO_3$  and the individual arsenic species in the ultrasonic-assisted water leachate.

#### LC separation-gradient hydride generation-AAS system for arsenic speciation

Figure 2 illustrated the flow manifold. The system was initiated as soon as 100  $\mu$ L sample solution was injected into LC. The effluent from the LC system was directed to meet streams of  $NaBH_4$  and HCl solutions to initiate hydride generation, which was significantly accelerated when the reaction mixture flowing through the reaction coil in a heated water bath at 60 °C. After cooling down in a water bath, the reaction mixture was directed into the gas-liquid separator where the hydrides were isolated and further transported into the quartz atomizer for arsenic quantification. The gradient hydride generation was performed as such that a flow of 6 mol/L HCl was used for the hydride generation of As(V), As(III) and MMA, and when the signal of MMA has been

recorded, the selector valve was switched to introduce a stream of 0.6 mol/L HCl as hydride generation medium for the other arsenic species, i.e., DMA and TMAO. A fixed  $NaBH_4$  concentration of 1.0 % (m/v) was used.

#### Results and discussion

##### The chromatographic separation process

The effect of the mobile phase constitutes on the absorbance and the retention time for each arsenic species were investigated, including the concentrations of sodium 1-butanesulfonate, tetramethylammonium hydroxide, methanol, malonic acid, ammonium tartrate and the acidity of the mobile phase.

##### The hydride generation process

**Gas-liquid separation:** The gas-liquid separation efficiency plays a vital role in the evaluation of hydride generation process. Four types of gas-liquid separators were evaluated (Figure 1), which provide 9 possible scenarios for designing the LC-GHG-AAS flow manifold. Figure 3 illustrated three different flow manifold designs. Generally, the separators II, III, IV receive the reaction mixture from the hydride generation process swept by an argon flow, and the argon stream can be introduced either right after the confluence of the fluidic zones or just before their entering into the separator (Figure 3B, 3C). In addition, when separator I was used in the flow manifold B and C, the bottom argon inlet was sealed. The separation of hydrides by separators II and III were not complete, and significant peak broadening was observed when using III and IV. Also, obvious fluctuations on the blank were recorded which deteriorate

the precision and detection limit. On the other hand, separator I provides an opportunity to introduce the argon stream into the separator via its bottom gas inlet. In practice, the liquid-seal above the out-let significantly reduced the dead volume for the gas phase which minimized the dispersion of the separated

hydrides and thus avoided signal tailing, i.e., much steeper signal peaks were recorded which facilitated high sensitivity.<sup>23</sup> In addition, the introduction of argon via the bottom of the separator well confined the fluctuation of the flow and created a much smoother blank signal which improved the precision.

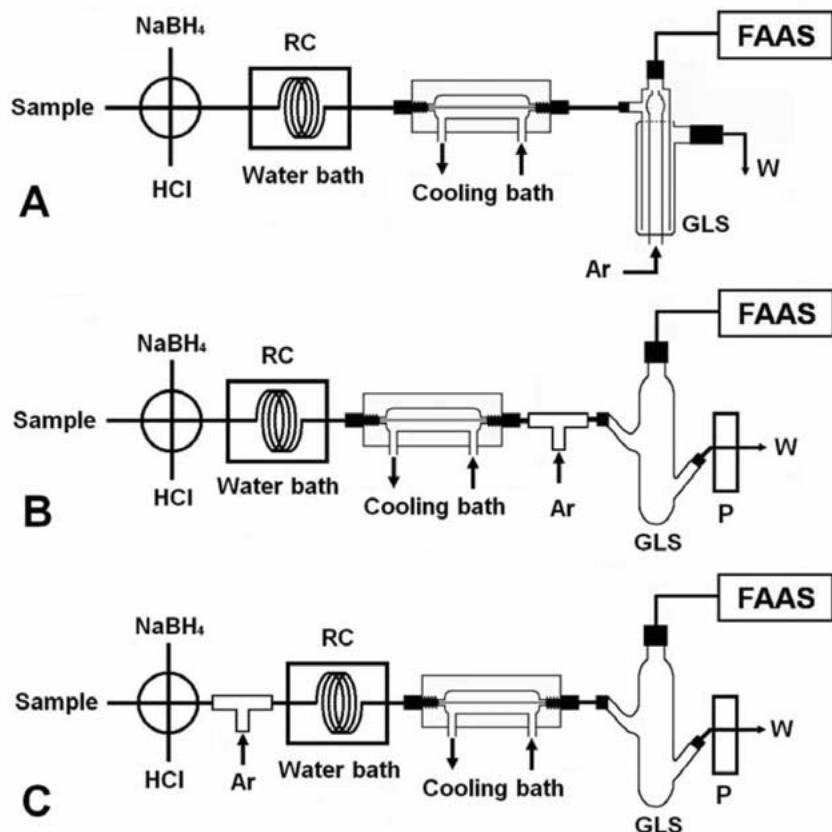


Figure 3. The flow manifolds employed for evaluating the performance of the four types of gas-liquid separators.

FAAS: quartz atomizer flame atomic absorption spectrometer; P: peristaltic pump; RC: reaction coil; GLS: gas-liquid separator; Ar: argon; W: waste.

Table 1. The performance (characterized by peak height of As(V), peak half-width and relative standard deviation) of the system by using different designs of gas-liquid separators in various flow manifolds.

	Separator I			Separator II			Separator III			Separator IV		
	h	Y <sub>1/2</sub> (s)	RSD (%)	h	Y <sub>1/2</sub> (s)	RSD (%)	h	Y <sub>1/2</sub> (s)	RSD (%)	h	Y <sub>1/2</sub> (s)	RSD (%)
Flow manifold A	1	6.9	2.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Flow manifold B	0.96	6.3	3.4	0.93	6.4	3.4	0.60	11.0	4.6	0.50	17.9	4.1
Flow manifold C	0.65	7.2	5.4	0.77	7.0	5.2	0.55	11.6	7.5	0.46	17.0	3.6

Note: HCl: 6 mol/L (with 2% L-cysteine), NaBH<sub>4</sub>: 1% (in 0.5% NaOH); A same flow rate of 1.1 mL/min was used for both HCl and NaBH<sub>4</sub> solutions. The 100 μL sample solution contains 100 μg/L of As(V) at a sampling flow rate of 1.1 mL/min. The water bath was set at 60 °C. h: normalized peak height; Y<sub>1/2</sub>: peak half-width.

The results for As(V) in **Table 1** showed favorable analytical performance by incorporating separator I into the flow manifold of **Figure 3A**.

**Gradient hydride generation:** General conditions for hydride generation were first scrutinized with 0.5%–3% NaBH<sub>4</sub> (m/v, 0.5% NaOH) and 0.2–6.0 mol/L HCl. Within this concentration range of HCl, substantial increments of the absorbance signals were recorded for the 5 arsenic species when increasing the NaBH<sub>4</sub> concentration up to 1%. Thereafter, higher concentration of NaBH<sub>4</sub> not only caused declines of the signal, but also generated more noise for the blank.

**Figure 4** illustrates the dependences of hydride generation on HCl concentration. For As(V), As(III) and MMA, continual increase of the signal was observed when enhancing the acid concentration within the whole range of 0.2–6 mol/L. For DMA and TMAO, however, a rapid increase of the signal was first encountered by increasing the acid concentration up to 0.6 mol/L where maximum signals were achieved, while a further increase leads to decrease of the signal, especially for TMAO whose signal sharply dropped to a negligible level. These observations could be attributed to the protonation of a methyl-arsine, e.g., (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>AsH from DMA and (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>As from TMAO, which can readily occur in an acid medium and the produced water-soluble

methyl-arsenium species in equilibrium with gaseous methyl-arsine reduces the hydride generation efficiency,<sup>24, 25</sup> corresponds to a rapid drop of the signal arising from DMA and TMAO. The much more significant drop of the signal from TMAO is explained by the favorable protonation of (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>As than that of the (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>AsH due to its higher basic nature.

**Figure 4** indicated that each arsenic species requires a specific acid concentration for optimal efficiencies of hydride generation.<sup>26, 27</sup> For 6 M HCl at which maximum signals were recorded for As(V), As(III) and MMA, the signals from DMA and TMAO corresponds to only 20% and 10% or less of the signal as obtained from a same amount of As(V). Thus, it is unable to find a suitable acid concentration at which an identical or similar response could be achieved for the 5 arsenic species. In practice, a compromise acid concentration is generally selected which might be favorable for the hydride generation of some arsenic species, but inevitably sacrifices the hydride conversion efficiency for other species.<sup>12–14, 17, 28–30</sup> In this respect, gradient hydride generation should be favorable to improve the efficiency of hydride generation for all the arsenic species. In the present case, gradient hydride generation is performed such that a 6 M of HCl was used for the hydride generation of As(V), As(III) and MMA, when the MMA signal has been recorded, a

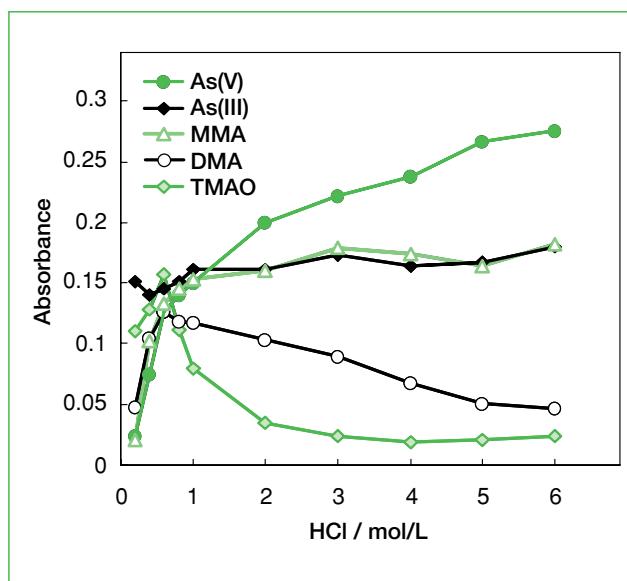


Figure 4. The dependences of hydride generation efficiencies on the concentration of HCl. 100 µg/L of each arsenic species was introduced. 2% L-cysteine (m/v) was included in the HCl solutions. A flow rate of 1.1 mL/min was used for both HCl and NaBH<sub>4</sub> solutions.

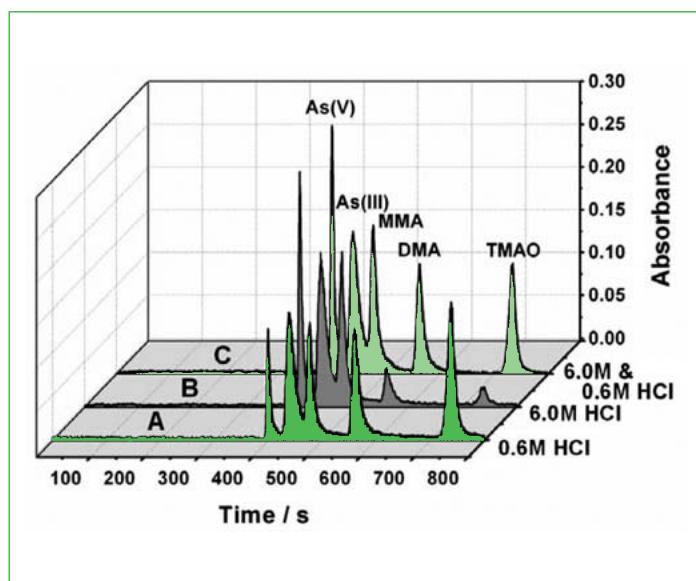


Figure 5. The chromatograms recorded for arsenic speciation by LC separation-hydride generation-AAS detection. A and B were obtained by conventional hydride generation with a fixed HCl concentration for the 5 arsenic species, while C was achieved by a gradient hydride generation, i.e., a 6.0 M HCl was used for the hydride conversion of As(V), As(III) and MMA, while a 0.6 M HCl for those of DMA and TMAO.

stream of 0.6 mol/L of HCl as hydride generation medium was introduced for the other two arsenic species, i.e., DMA and TMAO. **Figure 5** clearly showed that the retention time interval between MMA and DMA is long enough for performing the gradient hydride generation. During this process, a fixed concentration of NaBH<sub>4</sub> at 1.0 % (m/v) was used for the 5 arsenic species.

**Figure 5** illustrates the chromatograms recorded by gradient hydride generation employing a gradient of acid concentration, i.e., 6 M HCl for As(V), As(III) and MMA, while 0.6 M HCl for DMA and TMAO. As a comparison, those results achieved by a conventional hydride generation protocol with compromised HCl concentrations, i.e., 0.6 M and 6 M HCl for all the 5 arsenic species, were included. Much improved signals for the 5 arsenic species were recorded, ensuring both favorable hydride generation efficiency and detection sensitivity for these arsenic species. It is also worth mentioning that a maximum of 13-fold improvement on the detection sensitivity of As(V) was achieved in comparison with the previous reports.<sup>12-15</sup>

L-cysteine has been widely used for reducing arsenic species prior to hydride generation. In this study, 2 % L-cysteine (m/v) in HCl solution further improves the hydride generation efficiency and the detection sensitivity for the 5 arsenic species up to 16 %, 19 %, 24 %, 13 %, 32 % for As(V), As(III), MMA, DMA, TMAO, respectively. These results confirmed the previous observations.<sup>31</sup> A most likely explanation might be that in aqueous medium the formation of borane complexes of X-BH<sub>3</sub><sup>-</sup> (X = SR), which are more active than BH<sub>4</sub><sup>-</sup> in the hydride transfer to analytical substrates, is possible in the case of hydrolysis of BH<sub>4</sub><sup>-</sup> in the presence of thiols in L-cysteine.<sup>32</sup>

**The temperature dependence of hydride generation efficiency:** We have also investigated the temperature dependence of hydride generation efficiency of the 5 arsenic species within 20–100 °C. A gradual increase of the hydride conversion efficiency for As(V) and As(III) was observed in the whole range studied. For MMA, DMA and TMAO, however, an increment was achieved when enhancing the temperature from 20–60 °C, while thereafter a decline of the signal was recorded. The hydride generation was performed at a compromised temperature of 60 °C.

**The dimension of the reaction coil:** The diameter and length of the reaction coil should be optimized to

achieve maximum signal. 1.0 mm i.d. PTFE tubing well facilitates the conversion of arsenic species into hydrides when fixing the other parameters. When evaluating the effect of the reaction coil length, a slight improvement of the signal was observed by increasing its length within a certain range. However, an excessive long reaction coil created unexpected flow impedance, causing unstable flow rates for the acid and NaBH<sub>4</sub> zones during hydride generation which produced an exaggerated noise on the blank signal. Finally, a reaction coil length of 3500 mm was used.

### Analytical performance

By using a 100 μL sample volume, a complete analytical run could be finished within 13.5 min. The limits of detection for the 5 arsenic species, i.e., As(V), As(III), MMA, DMA and TMAO, were 0.9, 1.4, 1.4, 1.6 and 1.5 μg/L (As), respectively. In addition, RSD of less than 3 % and 6 % were obtained at 100 μg/L and 20 μg/L.

**Table 2** compares the characteristic performance data of the present system with some of the relevant procedures based on LC separation hyphenated with detection by mass spectrometry and atomic spectrometry. A significant improvement on the overall sensitivities for the 5 arsenic species was achieved by the present system incorporating gradient hydride generation when compared to the reported similar procedures with detection by AAS<sup>12-15</sup> and ICPAES.<sup>29, 30</sup> Although the limits of detection of this procedure cannot compete with those achieved by ICPMS<sup>11, 33</sup>, it is sufficient for routine arsenic speciation in environmental water and seafood or seaweed samples.

### Arsenic speciation in real samples

Total arsenic concentrations in the wet acid digest with HNO<sub>3</sub> and the ultrasonic-assisted water leachate of Hijiki were quantified by ETAAS after appropriate dilution (**Table 3**). The ultrasonic-assisted water extraction efficiencies of total arsenic in Hijiki 1 and Hijiki 2 were ca. 76.1 % and 82.2 % respectively. A longer extraction time has been used but no significant improvement on the extraction efficiencies was obtained. Thus, the low extraction efficiency might be attributed to the presence of some unleachable arsenic species in the Hijiki samples.

The speciation of the 5 arsenic species in Hijiki was performed by employing the present LC separation-

**Table 2.** Comparisons of the performance data of the present procedure with some of the arsenic speciation protocols using LC separation coupled to ICPMS, HG-AFS, HG-ICPAES and HG-AAS.

Method	LODs ( $\mu\text{g/L}$ )					RSD (%)	Sample volume ( $\mu\text{L}$ )	Ref.
	As(V)	As(III)	MMA	DMA	TMAO			
LC-ICPMS	0.1	0.02	0.04	0.06	-	10	200	11
	0.3	0.1	0.2	0.1	-	2.7	50	33
LC-HG-AFS	0.2	0.1	0.2	0.1	-	10.3	200	16
	8.5	1.0	2.2	2.3	-	2.2	20	17
LC-HG-ICPAES	20	5	10	20	-	4.8	100	29
	15	10	30	65		5.9	200	30
LC-HG-AAS	2.6	2.4	2.4	2.3	1.1	6.4	100	12
	8.4	1.5	3.3	4.3	-	3.7	100	13
	4.2	2.0	2.9	2.4	-	8.7	100	14
	12.0	7.8	-	-	-	12.1	200	15
	0.9	1.4	1.4	1.6	1.5	2.8	100	This work

**Table 3.** The results of arsenic speciation in Hijiki samples and the corresponding spiking recoveries.

Species	Found	Found	Spiked	Spiking Recov.	Spiking Recov.
	Hijiki 1 ( $\mu\text{g/g}$ )	Hijiki 2 ( $\mu\text{g/g}$ )	( $\mu\text{g/L}$ )	Hijiki 1 (%)	Hijiki 2 (%)
As(V)	53.6 $\pm$ 9.2	60.8 $\pm$ 13.2	50	107.4	111.2
As(III)	n.d.*	n.d.	50	97.9	97.1
MMA	n.d.*	n.d.	50	106.9	104.9
DMA	2.7 $\pm$ 0.4	2.4 $\pm$ 0.5	50	112.5	105.7
TMAO	0.34 $\pm$ 0.12	0.15 $\pm$ 0.03	50	104.6	102.2
Sum of the arsenic species determined	56.6 $\pm$ 9.7	63.4 $\pm$ 13.7			
Total arsenic (water leachates)	63.9 $\pm$ 3.5	63.8 $\pm$ 1.9			
Total arsenic (wet acid digest)	84.0 $\pm$ 8.2	77.6 $\pm$ 4.2			

Mean value  $\pm$ 95 % confidence interval (number of replicates = 3)

\* n.d.: not detected.

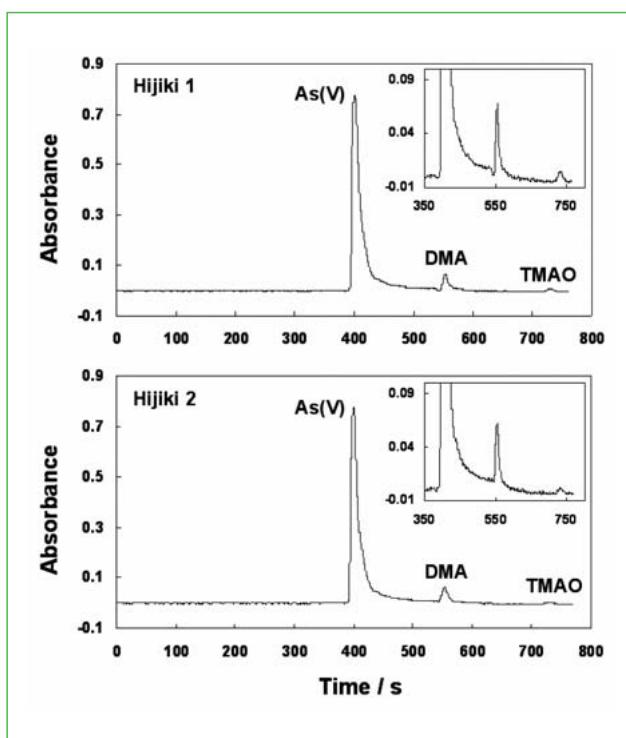


Figure 6. The chromatograms for arsenic speciation in Hijiki. The ultrasonic-assisted water leachates were 5-fold diluted.

gradient hydride generation-AAS system. After appropriate dilutions of the ultrasonic-assisted water leachates, large amounts of As(V) were found from both Hijiki samples. The chromatograms were illustrated in **Figure 6** and the speciation results were given in **Table 3**. For Hijiki 2, a reasonable agreement was achieved between the sum of the three individual arsenic species identified (As(V), DMA and TMAO), i.e., 63.4  $\mu\text{g/g}$ , and the total arsenic concentration quantified by ETAAS, i.e., 63.8  $\mu\text{g/g}$ . However, a discrepancy was observed for Hijiki 1, which attributed probably to the presence of some other arsenic species, e.g., arsenosugars, except for those investigated in the present work.<sup>34</sup> In addition, favorable recoveries were obtained for both samples by spiking appropriate amount of the arsenic species.

## References

- R. K. Kwok, *Toxicol. Appl. Pharm.*, 2007, **222**, 344.
- F. S. Islam, A. G. Gault, C. Boothman, D. A. Polya, J. M. Charnock, D. Chatterjee, J. R. Lloyd, *Nature*, 2004, **430**, 68.
- X.-W. Chen, A.-M. Zou, M.-L. Chen, J.-H. Wang, P. K. Dasgupta, *Anal. Chem.*, 2009, **81**, 1291.
- X.-J. Wang, Z. Sun, W. Chen, K. E. Eblin, J. A. Gandolfi, D. D. Zhang, *Toxicol. Appl. Pharm.*, 2007, **225**, 206.
- J. S. Petrick, F. Ayala-Fierro, W. R. Cullen, D. E. Carter, H. V. Aposhian, *Toxicol. Appl. Pharm.*, 2000, **163**, 203.
- D. J. Thomas, M. Styblo, S. Lin, *Toxicol. Appl. Pharm.*, 2001, **176**, 127.
- T. Nakazato, H. Tao, *Anal. Chem.*, 2006, **78**, 1665.
- S. K. V. Yathavakilla, M. Fricke, P. A. Creed, D. T. Heitkemper, N. V. Shockley, C. Schwegel, J. A. Caruso, J. T. Creed, *Anal. Chem.*, 2008, **80**, 775.
- R. Xie, W. Johnson, S. Spayd, G. S. Hallb, B. Buckley, *J. Anal. At. Spectrom.*, 2007, **22**, 553.
- Y. Morita, T. Kobayashi, T. Kuroiwa, T. Narukawa, *Talanta*, 2007, **73**, 81.
- F. A. Duarte, J. S. F. Pereira, M. F. Mesko, F. Goldschmidt, É. M. M. Flores, V. L. Dressler, *Spectrochim. Acta, Part B*, 2007, **62**, 978.
- R. Sur, L. Dunemann, *J. Chromatogr. B*, 2004, **807**, 169.
- M. B. Amran, F. Lagarde, M. J. F. Leroy, *Microchim. Acta*, 1997, **127**, 195.
- W.-C. Tseng, G.-W. Cheng, C.-F. Lee, H.-L. Wu, Y.-L. Huang, *Anal. Chim. Acta*, 2005, **543**, 38.
- P. Niedzielski, *Anal. Chim. Acta*, 2005, **551**, 199.
- J. L. Gomez-Ariza, D. Sanchez-Rodas, I. Giraldez, E. Morales, *Talanta*, 2000, **51**, 257.
- C. J. Wei, J. X. Liu, *Talanta*, 2007, **73**, 540.
- F. A. Duarte, J. S. F. Pereira, J. S. Barin, M. F. Masko, V. L. Dressler, E. M. D. Flores, G. Knapp, *J. Anal. At. Spectrom.*, 2009, **24**, 224.
- R. A. Diaz-Bone, M. Hitzke, *J. Anal. At. Spectrom.*, 2008, **23**, 861.
- Y. Bohari, A. Astruc, M. Astruc, J. Cloud, *J. Anal. At. Spectrom.*, 2001, **16**, 774.
- P. Pohl, *Trends Anal. Chem.*, 2004, **23**, 87.
- M.-L. Chen, Y. Tian, J.-H. Wang, *J. Anal. At. Spectrom.*, 2008, **23**, 876.
- Z.-L. Fang, *Flow Injection Analysis*, Science Press, Beijing, 1999, p. 201.
- P. Carrero, A. Malavé, J. L. Burguera, M. Burguera, C. Rondón, *Anal. Chim. Acta*, 2001, **438**, 195.
- S. A. Pergantis, W. Winnik, E. M. Heithmar, W. R. Cullen, *Talanta*, 1997, **44**, 1941.
- X.-C. Le, W. R. Cullen, K. J. Reimer, I. D. Brindle, *Anal. Chim. Acta*, 1992, **258**, 307.
- M. H. Arbab-Zavar, A. G. Howard, *Analyst*, 1980, **105**, 744.
- C.-G. Yuan, B. He, E.-L. Gao, J.-X. Lü, G.-B. Jiang, *Microchim. Acta*, 2007, **159**, 175.
- S. García Salgado, M. A. Quijano Nieto, M. M. Bonilla Simón, *J. Chromatogr. A*, 2006, **1129**, 54.
- R. T. Gettar, R. N. Garavaglia, E. A. Gautier, D. A. Battistoni, *J. Chromatogr. A*, 2000, **884**, 211.
- H. Chen, I. D. Brindle, X. C. Le, *Anal. Chem.*, 1992, **64**, 667.
- E. Pitzalis, D. Ajala, M. Onor, R. Zamboni, A. D'Ulivo, *Anal. Chem.*, 2007, **79**, 6324.
- Z.-L. Chen, K. F. Akter, M. M. Rahman, R. Naidu, *Microchem. J.*, 2008, **89**, 20.
- A. Raab, P. Fecher, J. Feldmann, *Microchim. Acta*, 2005, **151**, 153.

# ノビアスキレート固相充填カラムを用いた環境試料分析

Analysis of environmental samples by atomic absorption spectrometry with pretreatment using polyamino-polycarboxylic acid type chelating resin

山本 和子\* 坂元 秀之\*\* 白崎 俊浩\*\*

## 1. はじめに

環境分析における測定対象は水質、大気、土壤のみならず生物や廃棄物など様々なものがあり、多くの試料は前処理が必要である。無機分析における前処理は主として酸分解による有機物分解、溶液化が行われている。分解液中の目的元素の濃度が低い場合には、濃縮のためAPDC-MIBK法やDDTC-酢酸ブチル法などの溶媒抽出法が利用されてきた。しかし環境への負荷低減の観点から溶媒抽出法に変わる目的成分濃縮技術として、最近固相抽出法が検討されるようになってきた。

日立ハイテクノロジーズでは2004年に日立固相充填カラムノビアスシリーズを発売以来、様々な環境試料分析をご利用いただいてきた。

ここではノビアスキレートを用いた環境試料中微量元素分析について紹介する。

## 2. ノビアスキレートの概要

ノビアスキレートの基本特性については学会誌などに詳しく紹介されているが<sup>1) 2)</sup>、ここでは簡単にノビアスキレートの概要について紹介する。

### ノビアスキレートの特長

ノビアスキレート固相充填カラムは新規なキレート官能基、ポリアミノポリカルボン酸型、つまりエチレンジアミン三酢酸とイミノ二酢酸の混合型官能基が基材樹脂に結合した構造となっている。ポリアミノポリカルボン酸型キレート官能基の特長は弱酸～中性領域ではアルカリ金属類、アルカリ土類金属類をまったく捕捉することなく、多くの遷移金属類、重金属類を捕捉できる。海水や河川水中の微量重金属元素の抽出・濃縮に威力を發揮し、原子吸光、ICP発光、ICP-MS等の前処理法として有効である。図1にノビアスChelate-PA1のpH 6付近における捕捉率を示す。

現在市販されているキレート樹脂の多くは、疎水性基材樹脂にイミノ二酢酸型官能基を導入したものであり、多くの陽イオン性遷移金属を捕捉し濃縮することが論文等すでに報告されている<sup>3)</sup>。イミノ二酢酸型

官能基はアルカリ金属、アルカリ土類金属に対し若干の捕捉力を持つため、海水等のようにアルカリ金属、アルカリ土類金属を多量に含む試料に適用した場合、固相中に目的元素とともにアルカリ金属、アルカリ土類金属が残存し、共存物と十分な分離を行えない<sup>4)</sup>。イミノ二酢酸型キレート樹脂では固相よりアルカリ金属、アルカリ土類金属を取り除くために、試料通液後固相を酢酸アンモニウム溶液で洗浄する方法が取られている。ノビアスキレートはアルカリ金属、アルカリ土類金属を捕捉しないため、試料通液後は少量の純水で洗浄するのみでこれらの元素と十分な分離が可能である。

ノビアスキレート固相充填カラムにはChelate-PA1、Chelate-PB1の2種類がある。Chelate-PA1は親水性のポリメタクリレートが基材樹脂であり、水中の金属元素の抽出・濃縮に用いられる。Chelate-PB1はスチレン/メタクリレート共重合体が基材樹脂であり、キレート官能基はChelate-PA1と同じであるため基本的な捕捉・保持特性は同様である。Chelate-PA1との違いは、基材樹脂の疎水性により疎水性化合物も同時に捕捉できるため、排水、食品分解液など有機物を含む試料に効果的である。

ノビアスキレート固相充填カラムにはシリジン形Fとコマ形M、L、Wとサイズが異なるものがあり、様々な用途に対応可能である。

### ノビアスキレートの使用方法

① 固相抽出剤のコンディショニングを行う。

アセトン5 mLを流して5分間放置し樹脂を膨潤させた後、純水10 mL、3 M硝酸10 mLを流し樹脂の洗浄を行う。その後純水10 mLで樹脂を洗浄し、0.1M酢酸アンモニウム溶液5 mLを流してコンディショニングを完了する。

② 試料250 mLに酢酸アンモニウムを0.1Mになるよう加えた後、硝酸またはアンモニア水でpH 6付近になるよう調製する。(試料液量は濃縮倍率を考慮して変更可能。)

③ 固相抽出剤に試料溶液を通水する。(通水速度10 mL/分以下)

④ 超純水10 mLを固相に流して樹脂に残った試料を洗い流す。pH 6付近ではアルカリ土類金属はほと

\* 株式会社日立ハイテクコントロールシステムズ  
分析機器設計部 アプリケーショングループ

\*\* 株式会社日立ハイテクノロジーズ グローバルアプリケーションセンター

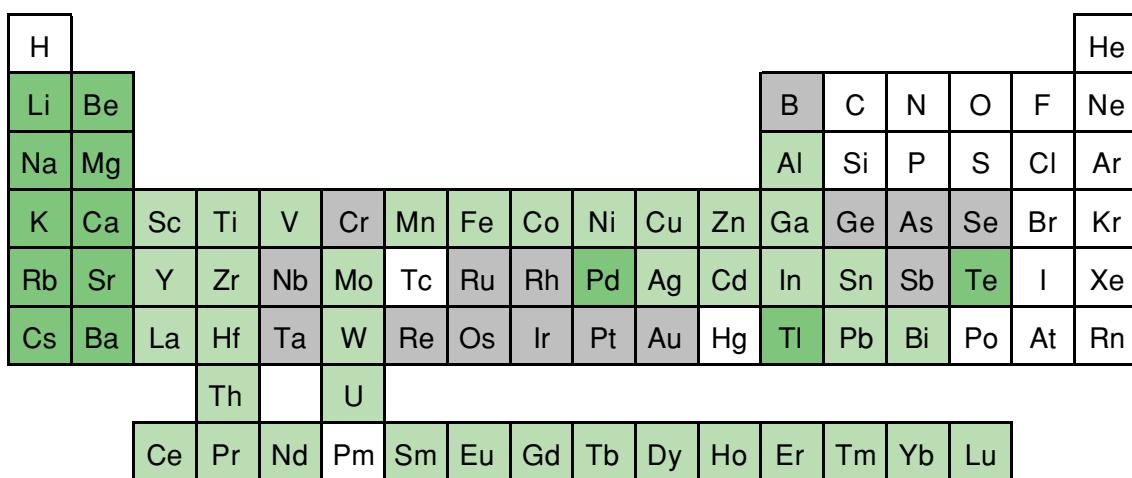


図1 ノビアスChelate-PA1のpH 6付近における捕捉率

んど捕捉されないため、Ca等を除去するため何度も固相を洗浄する必要はない。

- ⑤ 固相に3M硝酸3mLを流し、捕捉された金属を溶離させる。
- ⑥ ⑤の溶離液を10mLに定容し、測定試料とする。(25倍濃縮となる。)

### 3. 環境水の測定例

#### 環境水中の「全亜鉛」の測定

無機分析の分野では公定法として固相抽出法が記載されているものはほとんどないが、環境水中の「全亜鉛」の測定法として環境省告示第百二十三号において、キレート固相抽出法が前処理方法として採用されている。

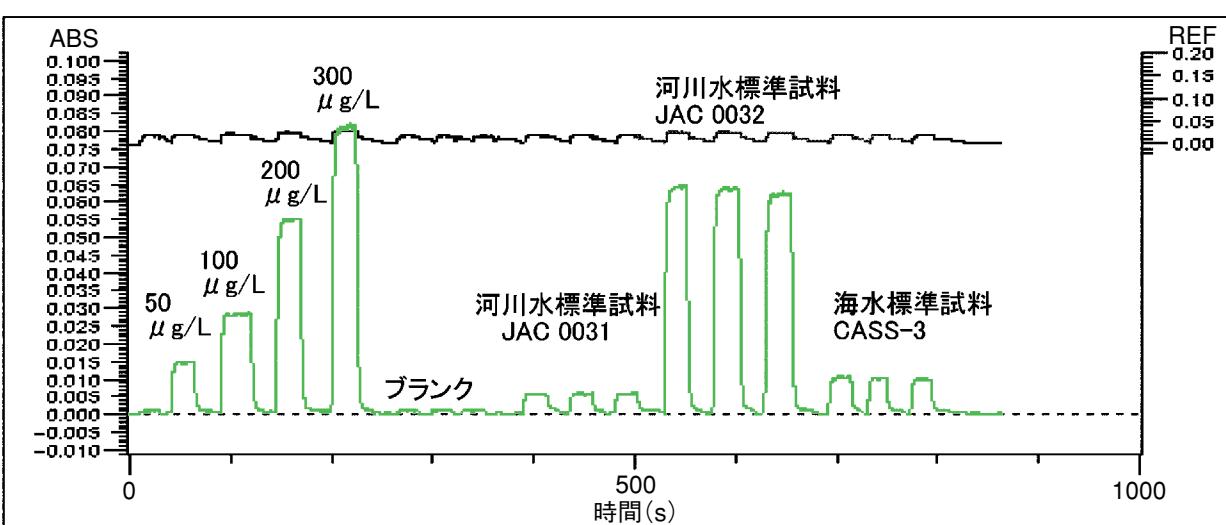


図2 ノビアスChelate-PA1抽出液のフレーム原子吸光光度計信号

魚類など水生生物を保全するため、河川や海水に含まれる亜鉛に環境基準値が設けられており、河川など淡水域で $30 \mu\text{g}/\text{L}$ 、海域では $10 - 20 \mu\text{g}/\text{L}$ と定められている。(平成十五年十一月五日付環境省告示第百二十三号)

ノビアス(NOBIAS) Chelate-PA1Fを用い河川水・海水中の亜鉛を捕捉抽出しZ-2010形フレーム原子吸光光度計で測定した。ノビアスキレートはpH 6付近で亜鉛を90 %以上捕捉し濃縮が可能であるとともに

アルカリ金属、アルカリ土類金属は捕捉されないため、海水のようにアルカリ金属、アルカリ土類金属を多量に含む試料のマトリックス除去を簡便に行うことができる。キレート樹脂固相抽出剤にて濃縮することにより環境基準の10分の1の亜鉛( $1 \mu\text{g}/\text{L}$ )がフレーム法で測定可能となる。また、キレート樹脂固相抽出剤にて濃縮することにより、マトリックスの異なる河川水と海水中の亜鉛を同じ検量線で測定することができる。

表1 亜鉛の測定結果(試料20倍濃縮)

単位： $\mu\text{g}/\text{L}$ (N=3)

試料名	測定結果	認証値
ブランク	$0.06 \pm 0.01$	—
河川水標準試料 JAC0031	$0.78 \pm 0.01$	$0.79 \pm 0.05$
河川水標準試料 JAC0032	$11.59 \pm 0.11$	$11.3 \pm 0.4$
海水標準試料 CASS-3	$1.35 \pm 0.03$	$1.24 \pm 0.25$

\* 河川水標準試料、海水標準試料の定量値はBlank差し引き済み

### 環境水中のカドミウムの測定

カドミウムの耐容週間摂取量を $7 \mu\text{g}/\text{kg}$  体重/週とする評価結果の通知に従い、平成22年4月施行の「水道基準に関する省令」でカドミウムの基準値が $0.003 \text{ mg}/\text{L}$ と強化され注目を集めている。

ノビアス(NOBIAS) Chelate-PA1Wを用い、河川水中のカドミウムを捕捉抽出しZ-2010形電気加熱原子

吸光光度計で測定した。試料 $1\text{ L}$ を固相抽出液を $10 \text{ mL}$ とすることで100倍濃縮が実現できng/Lレベルのカドミウムを安定して測定することが可能であった。 $1\text{ L}$ と試料液量が多い場合でも樹脂量の多いChelate-PA1Wを用いることで試料中の微量カドミウムを確実の捕捉できる。

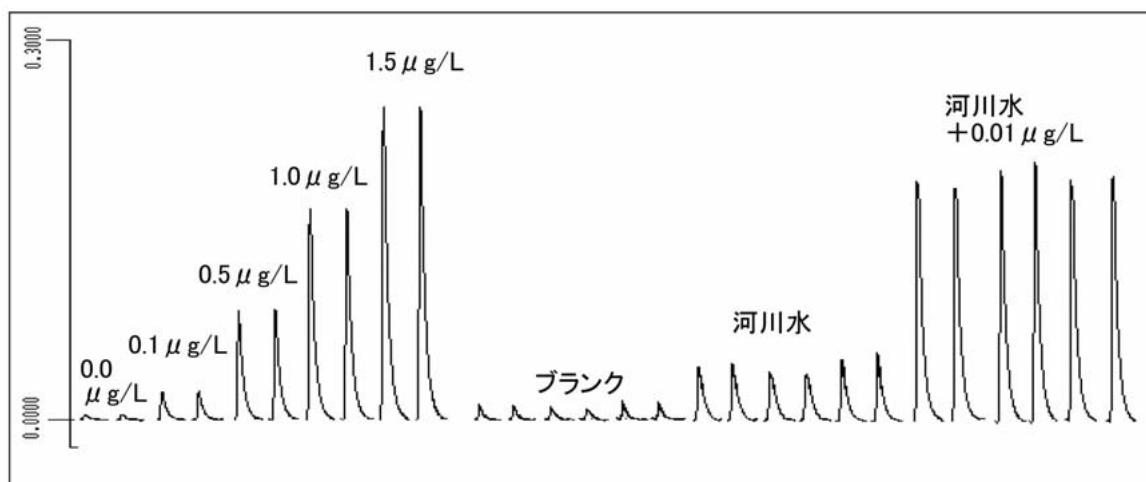


図3 ノビアスChelate-PA1抽出液の電気加熱原子吸光光度計信号

表2 カドミウムの測定結果(試料100倍濃縮)  
単位： $\mu\text{g}/\text{L}$ (N=3)

試料名	測定結果( $\mu\text{g}/\text{L}$ )	回収率
ブランク	0.00024±0.00007	—
河川水	0.00229±0.00011	—
河川水+0.01 $\mu\text{g}/\text{L}$	0.01217±0.00011	98.9 %

\* 河川水、河川水+0.01  $\mu\text{g}/\text{L}$  の定量値はBlank差し引き済み

### 海水の測定

海水中の微量元素は、海水の環境汚染調査や生物地球化学サイクルに関する研究において測定されている。海水には種々の元素が極端な濃度差をもって存在しており、主成分元素であるNa, Mg, K, Caなどが微量元素を測定する上で大きな干渉を引き起こし、信頼性の高い分析値を得るさまざまな方法がある。

近年、共存元素との分離および対象元素の濃縮を行うため、アルカリ金属・アルカリ土類金属を捕捉しな

いノビアスキレートによる固相抽出を前処理手段として用いる測定例が報告されている<sup>5) 6) 7)</sup>。

ノビアス(NOBIAS) Chelate-PA1F を用いNRC・CNRC NASS-5 海水標準試料を抽出・濃縮後、その抽出液をMIP/MSを用いて測定した。試料100 mLを固相抽出し溶出液を10 mLとすることで10倍濃縮が実現でき、微量元素を安定して測定することが可能であった。

表3 標準海水の測定結果(試料10倍濃縮)

単位： $\mu\text{g}/\text{L}$ (N=3)

測定 m/z	55	56	59	60	63
元素名	Mn	Fe	Co	Ni	Cu
Blank	0.007 ±0.001	0.066 ±0.012	0.000 ±0.000	0.014 ±0.003	0.052 ±0.009
NASS-5	0.938 ±0.023	0.199 ±0.015	0.009 ±0.001	0.278 ±0.012	0.309 ±0.014
認証値	0.919±0.057	0.207±0.035	0.011±0.003	0.253±0.028	0.297±0.046
測定 m/z	64	98	114	208	238
元素名	Zn	Mo	Cd	Pb	U
Blank	0.131 ±0.000	0.013 ±0.006	0.000 ±0.000	0.011 ±0.003	0.019 ±0.006
NASS-5	0.143 ±0.016	8.555 ±0.123	0.024 ±0.001	0.013 ±0.002	2.613 ±0.167
認証値	0.102±0.039	9.6±1.0	0.023±0.003	0.008±0.005	2.6

\* NASS-5の定量値はBlank差し引き済み

#### 4. その他の環境試料の測定例

##### 魚耳石の測定

魚の頭骨の中には、耳石という骨が左右にあり、魚の成長と共に層を重ねて大きくなっていくため、耳石は魚の生育環境や回遊履歴の指標となる。

NIES CRM No.22 耳石の溶解液をノビアス(NOBIAS) Chelate-PB1Fを用いて微量元素を捕捉抽出しZ-2010形電気加熱原子吸光光度計で測定した。

キレート抽出の手順は次に示すとおりである。試料溶解方法は、標準試料NIES CRM No.22耳石1.0 gに3 M硝酸8 mLを加え、激しい発泡が終了し、固体物がなくなった後全量を20 mLに定容した。耳石溶解液10 mLに0.2M酢酸アンモニウム溶液10 mLを加え、アンモニア水を加えてpH 5.6付近に調製しキレート抽出用試料とした。コンディショニング済みのノビアス Chelate-PB1FにpH調製した耳石溶解液20 mLを固相に通液し、金属を固相に捕捉させた。固相を純水

10 mLにて洗浄した後、3 M硝酸1 mLを流し捕捉された金属を溶出した後全量を5 mLとした。

無機マトリックスの除去効果を確認するため、耳石5%溶液とノビアスキレートPB1固相抽出液中のNa, Mg, K, Ca, Sr, Baの濃度を測定した。結果を表4に示す。固相抽出液中ではNa, Mg, K, Ca, Sr, Baのいずれにおいても除去率は99.9%以上であった。これよりノビアスキレートはアルカリ金属・アルカリ土類金属の除去効果に優れていることがわかった。

耳石抽出液中のCu, Zn, Cd, PbをZ-2010電気加熱原子吸光光度計で測定した。結果を表5に示す。固相抽出液の定量値は参考値の $100 \pm 10\%$ 以内の値となり、本法の有効性が確認できた。

耳石以外にも骨や歯など磷酸カルシウムを主体とする試料に対しノビアスキレート抽出を行うことにより、無機マトリックスの影響を受けることなく、遷移金属、重金属の抽出が可能である<sup>8)</sup>。

表4 無機マトリックスの除去効果

元素名	耳石5%溶液 (mg/L)	PB1抽出液 ( $\mu$ g/L)	除去率
Na	112	5.00	100.00 %
Mg	1	0.42	99.96 %
K	14	2.77	99.98 %
Ca	19400	127.33	100.00 %
Sr	118	0.65	100.00 %
Ba	0.14	0.37	99.74 %

表5 耳石の測定結果

単位： $\mu$ g/kg (N=3)

元素名	耳石 ( $\mu$ g/kg)	参考値( $\mu$ g/kg)	定量値／参考値
Cu	690.5 ±1.0	740	93.3 %
Zn	462.2 ±2.5	470	98.3 %
Cd	2.90±0.01	2.8	103.6 %
Pb	22.95±0.21	23	99.8 %

## 5.まとめ

無機分析におけるキレート固相抽出は、水試料のみならず様々な環境評価試料中の遷移金属、重金属分析の前処理手段としてますます応用範囲が広がっている。今後、キレート固相抽出法は公定法への採用が広がるものと推定され、高感度分析、高精度分析にはなくてはならないものになるであろう。

## 参考文献

- 1) 坂元 秀之, 山本 和子, 白崎 俊浩, 井上 嘉則: ポリアミノポリカルボン酸型キレート樹脂固相抽出カラムを用いる海水中微量元素分析の前処理方法, 分析化学: Vol.55, p.133 (2006)
- 2) 山本和子, 坂元秀之, 白崎俊浩, 小野哲義, 世津育明, 小沼哲昭: 新規ポリアミノポリカルボン酸型キレート樹脂を用いた固相抽出剤の紹介, S I NEWS Vol.47 No.1, 25-28 (2004)
- 3) 栗山 清治, 欧陽 通, 王 寧, 古庄 義明: イミノ二酢酸キレート膜による水中重金属類の迅速抽出法, 工業用水, 481, 29-36 (1998)
- 4) 高久 雄一, 工藤 友華ら: 環境水中の希土類元素のイミノ二酢酸キレート樹脂ディスク予備濃縮／誘導結合プラズマ質量分析法による定量, 分析化学, 51, 539-544 (2002)
- 5) 坂元 秀之, 山本 和子, 米谷 明, 白崎 俊浩: ポリアミノポリカルボン酸型キレート樹脂固相濃縮/プラズマ発光分光分析法およびマイクロ波プラズマ質量分析法による塩・海水中の微量元素分析, 日本海水学会誌 61(5), 260-267, (2007)
- 6) Sohrin Y, Urushihara S, Nakatsuka S, Kono T, Higo E, Minami T, Norisuye K, Umetani S, Multielemental Determination of GEOTRACES Key Trace Metals in Seawater by ICP-MS after Preconcentration Using an Ethylenediaminetriacetic Acid Chelating Resin *Analytical Chemistry* 80, 6267-6273 (2008)
- 7) 中口 譲, 藤田 昭紀: 日本海の溶存態生体活性微量元素の分布と挙動, 日本海水学会誌 63(4), 253-268 (2009)
- 8) 田宮 さやか, 吉永 淳: ポリアミノカルボン酸型キレート樹脂固相抽出剤を前処理に用いる誘導結合プラズマ質量分析法による生体試料中の鉛同位体比分析, 分析化学, 57, 99-104 (2008)

# レアメタル — ネオジム磁石中のレアメタル分析 —

Rare metal - Analysis of rare metal in Neodymium magnet

坂元 秀之\* 米谷 明\*\* 山本 和子\*\* 三浦 和代\*\*

## 1. はじめに

レアメタル(稀少金属)は稀少な金属である反面、我々の生活に欠かせなくなった携帯電話、パソコン、自動車などをはじめ様々なものに利用されている。レアメタルは①地球上の存在量が少ない。②単体抽出が技術的に困難である。③各種金属の特性から精錬コストが高い。などの理由から今後供給がさらに困難となる可能性が高い。現在、日本で使用するレアメタルのほとんどを輸入に頼っている。ここで紹介する希土類元素の埋蔵量は中国、CIS、アメリカなど主要国との合計で約59,000,000トンであり、2007年現在、世界の6割以上を占めており<sup>1)</sup>、輸出国が急速な経済成長を見せた時に、レアメタルを自国内で消費することで輸出量が激減することも考えられる。そのため世界各国で

は“非常事態”に備えて備蓄に力を注いでいる。日本でも経済産業省ではレアメタルとして31種類の金属(図1参照)を指定し<sup>2)</sup>、いわゆる「都市鉱山」からのレアメタル回収にも力を注いでいる。本稿では「ネオジム磁石」中のレアメタルを原子吸光光度計により分析した例を紹介する。

## 2. 日立偏光ゼーマン原子吸光光度計

ここで用いた原子吸光光度計は日立ハイテクノロジーズ製Z-2010形偏光ゼーマン原子吸光光度計(図2参照)で、バックグラウンド吸収の補正に偏光ゼーマン法を採用しており、正確な補正と安定したベースラインを得ることができる。

The figure shows a periodic table where certain elements are highlighted. Elements in green boxes represent the 31 specified rare metals by the Ministry of Economy, Trade and Industry. Elements in grey boxes represent the 17 elements of the lanthanide series (rare earths). The highlighted elements include H, Be, Na, Mg, Sc, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Ga, Ge, As, Se, Br, Kr, Rb, Sr, Y, Zr, Nb, Mo, Tc, Ru, Rh, Pd, Ag, Cd, In, Sn, Sb, Te, I, Xe, Cs, Ba, Lanth., Hf, Ta, W, Re, Os, Ir, Pt, Au, Hg, Tl, Pb, Bi, Po, At, Rn, Fr, Ra, Acti., Lanth., La, Ce, Pr, Nd, Pm, Sm, Eu, Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Tm, Yb, Lu, and Acti.

図1 経済産業省指定レアメタル(31種類)

\* 株式会社日立ハイテクノロジーズ グローバルアプリケーションセンタ  
\*\* 株式会社日立ハイテクコントロールシステムズ 分析機器設計部 アプリケーショングループ



図2 Z-2010形原子吸光光度計

### 3. 磁石中のレアメタル分析

#### 3.1 ネオジム磁石中のネオジム分析

永久磁石の中でも最も強力なネオジム磁石はネオジム(Nd), ホウ素(B), 鉄(Fe)を主成分とする希土類磁石の一つで、携帯電話, ハイブリッドカーなどに利用されている。NdはBと共にFeが持つ磁力を引き出す役割を担っており、磁石の品質を安定に保つためにNdの含有量分析は重要である。2種類のネオジム磁石(「磁石1」および「磁石2」)約1gをそれぞれ秤量し、硝酸10mLを添加して加熱溶解、全量を50mLとし、ネオジム磁石の分解原液を調製した。これを更に40倍に希釈して測定溶液とした。また試料を入れない状態で同様の前処理を行い、操作プランク溶液も調製した。これらの溶液中のNdをフレーム原子吸光光度法により測定した。なお、Ndの原子化に必要な温度は高いため、亜酸化二窒素とアセチレンの混合ガスを用いた高温バーナーにて測定を行った。表1にNdの分析条件を示す。表1の測定条件を用いて、検量線溶液0~200mg/Lで検量線を作成し、操作プランク溶液、2種類のネオジム磁石分解液を測定した。図3にNd測定時のピークプロファイルを、図4にNdの検量線を示す。また、測定結果を表2に示す。尚、この測定条件では1%を切る再現性となり、検出限界(参考値)は1mg/L(3σで算出)となった。Ndの分析波長は463.4nmであり分光干渉を補正するためには重水素ランプを用いた連続スペクトル光源方式(重水素ランプ補正法)ではバックグラウンド補正是困難である。今回用いた装置ではゼーマン分裂補正方式(偏光ゼーマン補正法)によるバックグラウンド補正が可能であり、より精確に分析結果を得ることができる。

表1 ネオジムの分析条件

測定波長	463.4 nm
スリット幅	1.3 nm
バーナーヘッド	高温バーナー
フレーム	N <sub>2</sub> O-C <sub>2</sub> H <sub>2</sub>
助燃ガス圧	160 kPa
燃料ガス流量	6.0 L/min
バーナー高さ	12.5 mm

#### 3.2 ネオジム磁石中のディスプロシウム分析

ネオジム磁石は温度が上昇することで磁力が低下する。これを抑制するためディスプロシウム(Dy)が数%ほど添加されている。ネオジム磁石はハイブリッドカーのモーターなど過酷な状況で使用されるケースも多いため、熱による磁力の変動を抑えるためにはネオジム磁石中のDy濃度の管理が必要となる。調製した磁石1の分解原液を5倍に希釈して測定試料とした。Ndと同様に高温バーナーを用いて測定を行ったが、Ndは希釈倍率が高いことに対し、希釈倍率が高いDy測定では主成分であるFeやNdの干渉の影響を考慮し、標準添加法を用いて測定を行った。表3にDyの測定条件を、図5にDy測定時のピークプロファイルを示し、それから得られた検量線を図6に示す。また、測定結果を表4に示す。Ndと同様にDyの吸収

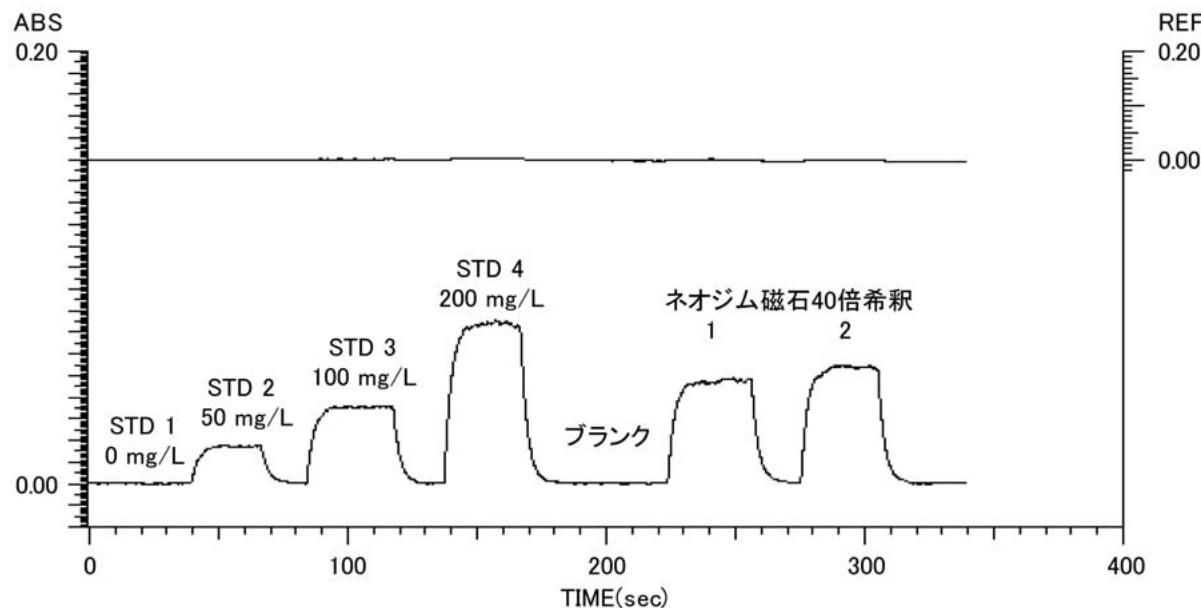


図3 ネオジム測定時のピークプロファイル

表2 ネオジム磁石中のネオジムの測定結果

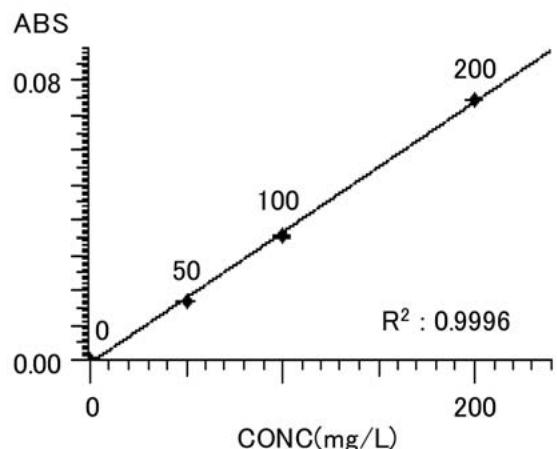


図4 ネオジムの検量線

サンプル量 (g)	全量 <sup>*</sup> (mL)	磁石中濃度 (%)	
磁石1	0.93	50	28.1
磁石2	1.20	50	24.5

\*40倍に希釈し、検量線法で測定

表3 ディスプロシウムの分析条件

測定波長	404.6 nm
スリット幅	1.3 nm
バーナーへッド	高温バーナー
フレーム	$N_2O-C_2H_2$
助燃ガス圧	160 kPa
燃料ガス流量	6.0 L/min
バーナー高さ	10.0 mm

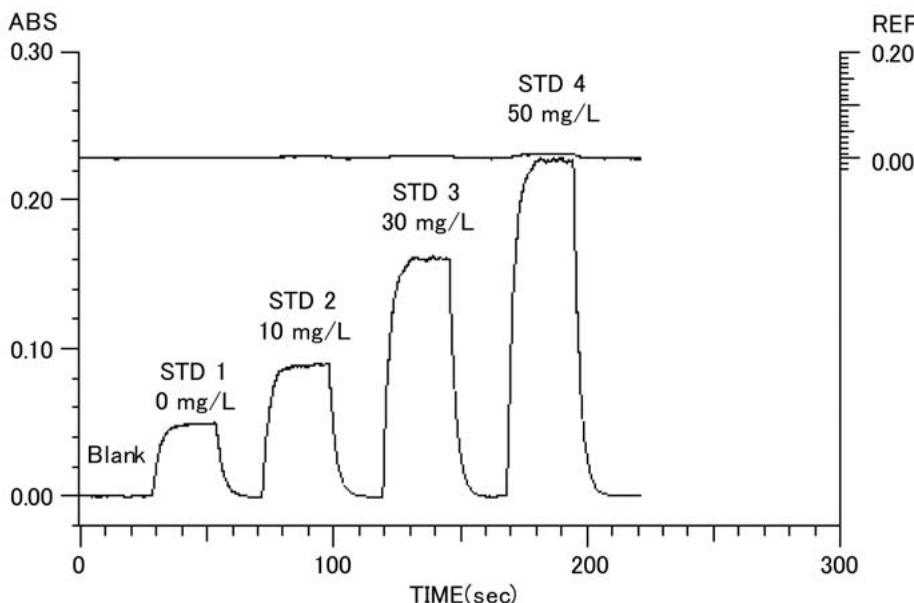


図5 ディスプロシウム測定時のピークプロファイル

表4 ネオジム磁石中のディスプロシウムの測定結果

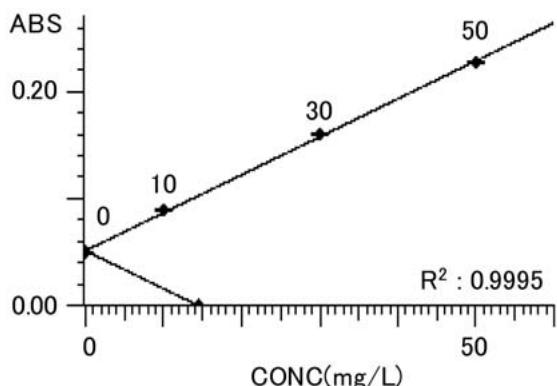


図6 ディスプロシウムの検量線

波長は紫外領域にないため、重水素ランプ補正法によるバックグラウンド補正は困難であるが、偏光ゼーマン補正法ではバックグラウンド補正が可能であり、さらに検量関係も良好であることから、高濃度のFeマトリックス共存下でも、標準添加法を用いることで精確な分析を行うことが可能である。

#### 4. おわりに

フレーム原子吸光光度法を用いることでネオジム磁石中のレアメタル(Nd及びDy)を分析することができた。またNd, Dyなどの希土類元素の吸収波長は400 nm近辺にあるため、バックグラウンド補正として偏光ゼーマン補正法が極めて有効である。

	サンプル量 (g)	全量※ (mL)	磁石中濃度 (%)
磁石1	0.93	50	0.39

\*5倍に希釈し、標準添加法で測定

「産業のビタミン」あるいは「産業の生命線」とも呼ばれている<sup>3)</sup> レアメタルは現在中国などからの輸入に頼っているが、今後は自国にて回収・備蓄を行い、レアメタルの枯渇に対応する必要があり、そのためにもレアメタル分析は重要となる。

#### 5. 参考文献

- 1) (独)石油天然ガス・金属鉱物資源機構 メタルマイニング・データブック2008
- 2) 経済産業省ホームページ, <http://www.meti.go.jp/>
- 3) レアメタルの科学, 日刊工業新聞社(2008)

# 収差補正機能付HD-2700の特長と応用

HITACHI HD-2700 Dedicated STEM with Spherical Aberration Corrected System

今野 充\* 菊池 秀樹\*\* 稲田 博実\*\*\*

## 1. はじめに

産業界では材料機能向上をめざし、様々な組成や構造を持つ材料の開発が進められている。特に21世紀に入り、物質をナノメートルの領域において自在に制御するナノテクノロジー技術が活発化したため、原子分解能の構造解析ニーズが高まった。

このようなニーズに対応するため、ドイツCEOS社との共同開発により、球面収差補正装置\*(Csコレクター)を搭載したHD-2700形走査透過電子顕微鏡(STEM: Scanning transmission electron microscope)(以下HD-2700)を開発した(図1)。Csコレクターは、大きな収束角度で微小な電子線プローブを実現できるため、高分解能観察と高感度分析が可能である。

\*オプション



図1 日立ハイテクノロジーズ社製走査透過電子顕微鏡HD-2700

## 2. HD-2700の特長

### 2.1 HD-2700の構成

HD-2700の構成を図2に示す。HD-2700は、イメージング用として二次電子(SE)検出器、明視野(BF: Bright field)-STEM検出器および環状暗視野(ADF: Annular dark field)-STEM検出器を持つ。二次電子像は試料表面の凹凸が、BF-STEM像は試料内部の結晶構造に起因したコントラスト(回折および位相)が観察できる。なお、BF-STEM検出器の上にあるSTEM絞りは透過波あるいは特定の回折波を選択することができ、結晶の配向性や結晶中の転位などの観察に有効である。

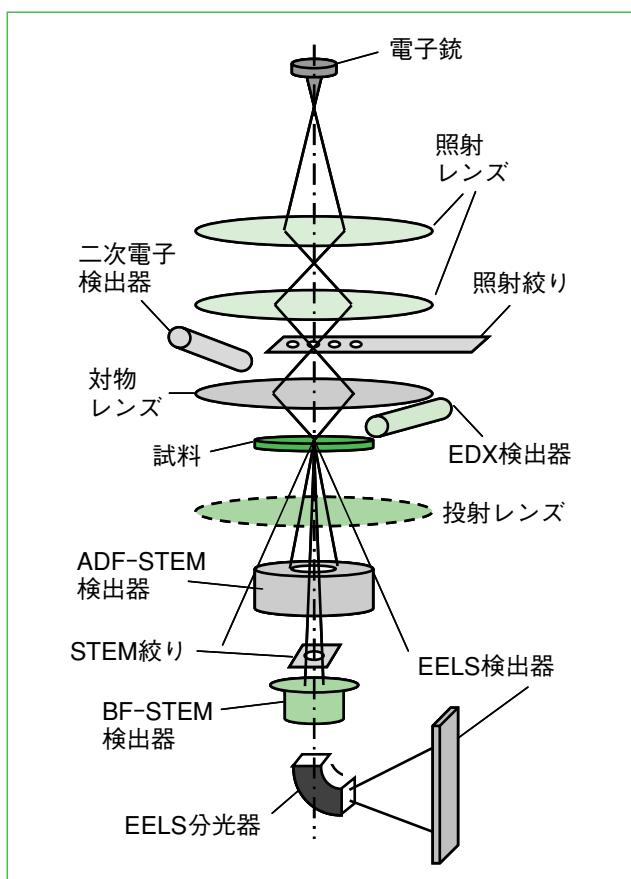


図2 HD-2700の構成

\* グローバルアプリケーションセンター  
\*\* 先端解析システム第二設計部  
\*\*\* 新事業開発センター

分析用の検出器としては、エネルギー分散型X線分光器\*(EDX : Energy Dispersive X-ray Spectroscopic)および電子線エネルギー分光器\*(EELS : Electron Energy Loss Spectroscopic)が搭載可能であり、ナノメータあるいはそれ以下の領域の組成分析に幅広く利用されている。

なお、Csコレクターは照射絞りと対物レンズの間に装着し、従来比約10倍のプローブ電流を得ることができる。

(\*オプション対応)

## 2.2 原子分解能観察

レンズシミュレーション技術を駆使して新たに開発したHD-2700の高分解能レンズは、Csコレクターを効果的に利用して、ピコメートルオーダの分解能を得ることができた。さらに、EDX取込立体角は0.26 srとなり高感度分析が可能になった。

図3はSi<112>単結晶のADF-STEM像と強度プロファイルである。ADF-STEM像中に観察できる白点がシリコン原子カラム像であり、原子カラム間距離78 pmのSi(444)ダンベル構造が明瞭に観察できる。

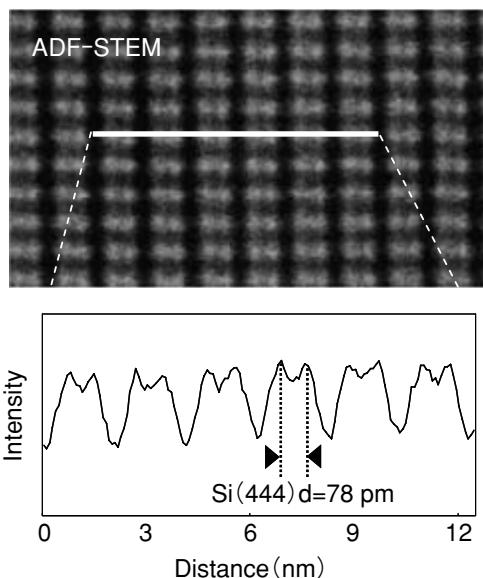


図3 Si<112>単結晶のADF-STEM像とその信号強度プロファイル

## 2.3 Cold-FEを用いた高分解能EELS

冷陰極電界放出(Cold-FE)電子銃は、FEチップを加熱することなく電界のみで電子線を発生させるため、エネルギーばらつきが小さく、輝度が高い電子線が得られる。そのため、Cold-FEは高エネルギー分解能および高感度を両立したEELS分析に適している。HD-2700では、鏡体部およびEELS分析装置をカバーで覆い、より一層の安定性の向上を図った。

図4はEELSスペクトルの時系列的な変化を調べた

結果で、50秒間のスペクトル(1,000本、0.05秒/本)をプロットしている。分析時のプローブ電流は加速電圧200 kVが29 pA、120 kVが27 pA、80 kVが5 pAと、通常の分析条件とした。白線の揺らぎは電子銃のエネルギー揺らぎを表すが、図4のEELSライントレース結果は直線的で、STEM本体の高い安定性を示している。

図5はEELSゼロロスピークを用いたエネルギー分解能測定結果である。それぞれの加速電圧におけるエネルギー分解能は、200 kVで0.38 eV(a)、120 kVで0.32 eV(b)および80 kVで0.30 eV(c)である。この結果は、Cold-FEが本来持つエネルギー幅の優位点といえる。

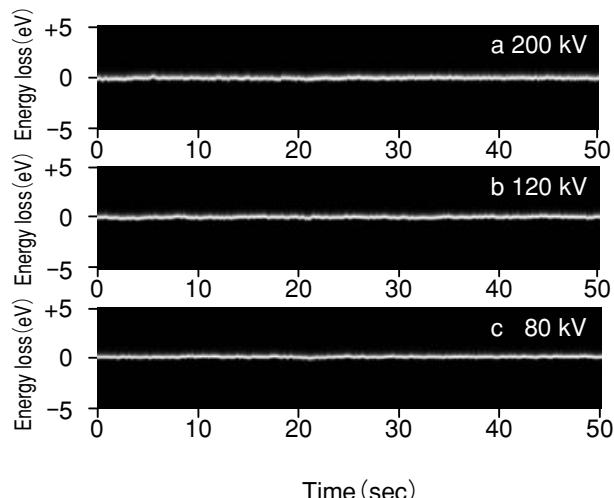


図4 EELSライントレース  
加速電圧 a : 200 kV, b : 120 kV, c : 80 kV

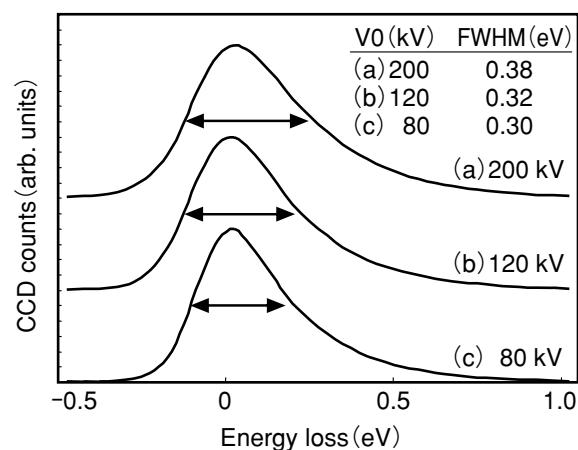


図5 EELSゼロ・ロス・スペクトルによるエネルギー分解能評価

### 3. 応用例

#### 3.1 セラミックスの高分解能EELSマップ

図6はBaTiO<sub>3</sub><001>単結晶のADF-STEM像(a)とEELSマップ(b)である。バリウム(Ba-M edge), チタン(Ti-L edge)および酸素(O-K edge)マップは結晶構造を反映し、原子オーダーの組成分布を観察することができる。

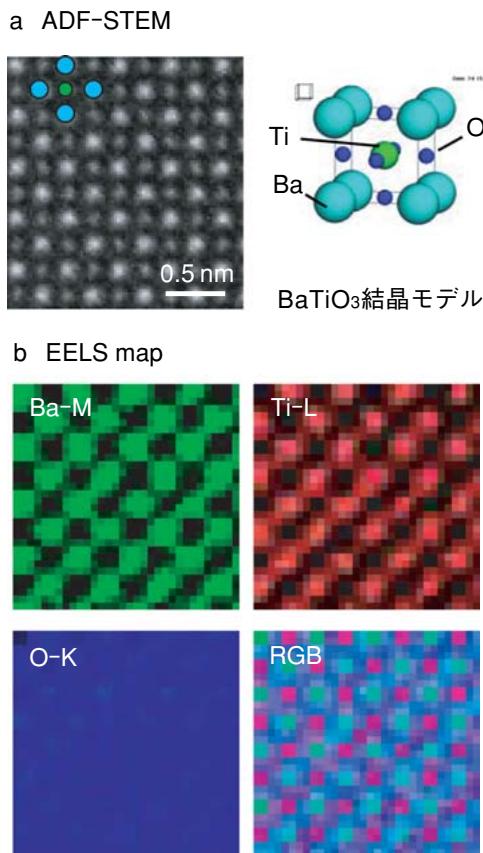


図6 BaTiO<sub>3</sub><001>単結晶のADF-STEM像(a)とEELSマップ(b)

#### 3.2 Si半導体の高分解能観察

図6は<011>方向から観察したSiデバイスのADF-STEM像である。図6aがトランジスタ全体像、図6bがSiとSiGe界面の高倍率像である。SiとSiGeの組成差が明瞭なコントラストで観察できると共に、原子位置に相当する白いドット(Si(004)ダンベル d=0.136 nm)が鮮明に区別できる。

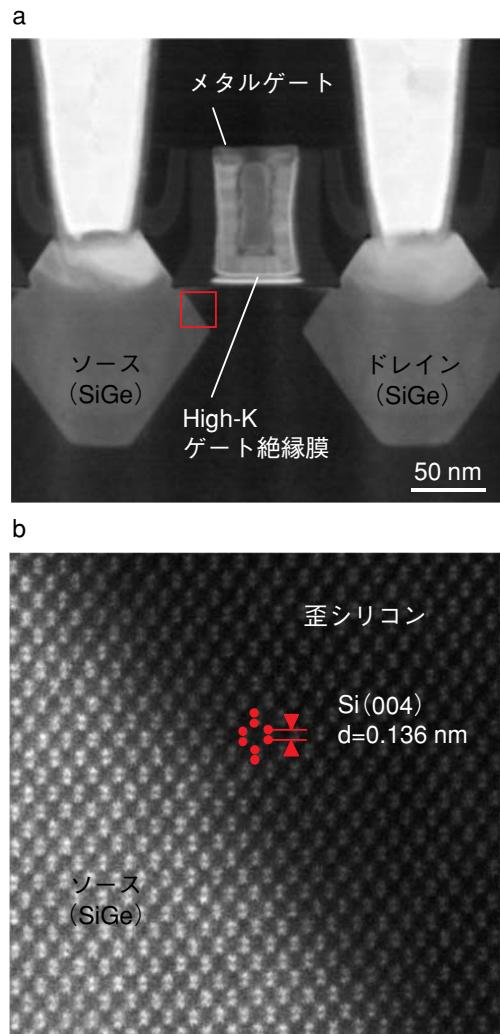


図7 Si<011>方向から観察したSiデバイスのADF-STEM像  
a:トランジスタ全体像, b:SiGe/Si界面

#### 4. 終わりに

高分解能レンズを搭載したHD-2700は原子分解能でのSTEM観察やEELS分析が可能になった。加速電圧200 kVの商用機STEMの分解能が78 pmと、サブオングストロームの領域に達することを示した。今後、新素材やグリーン材料をはじめとしたナノ材料の原子分解能解析への応用が期待できる。

#### 参考文献

- [1] Rose H., Optics, 85, 19-24, (1990)
- [2] Haider M. et al., Ultramicroscopy, 75 53-60, (1998)
- [3] 中村邦康 他, 走査透過電子顕微鏡の球面収差補正とその応用 : 顕微鏡, 41 1, 16-20, (2006)
- [4] Inada,H., Wu,L., Wall,J., Su,D., & Zhu,Y.J. of Electron Microsc. 58, 111-122 (2009)
- [5] Zhu,Y., Inada,H., Nakamura,K. & Wall,J., Nature Mater. 8, 808-812 (2009)

## 学会発表 ミニファイル

### 1. 医学生物学電子顕微鏡技術学会第26回学術講演会(2010/5/14~16 大分県)

中澤(日立ハイテクノロジーズ)他：イオン液体のTEM応用

**【要旨】**カチオンとアニオンとのみで構成された常温で液体状態の塩であるイオン液体(常温溶融塩)は揮発性が低く、高イオン伝導度などの特徴を持つが、カチオンとアニオンの組み合せによって密度や極性などの物性を調整することも可能で、新

たな反応場としての利用も模索されている。イオン液体をSEM内で観察した大阪大学桑畠進教授の下、イオン液体の電顕応用を進めてきた。TEMへの適用について前処理法やイオン液体中の高分子材料の観察などを報告した。

### 2. 日本顕微鏡学会第66回学術講演会(2010/5/23~26 愛知県)

松本(日立ハイテクノロジーズ)他：微小制限視野電子回折による高精度局所格子歪み解析

森川(日立ハイテクノロジーズ)他：雰囲気遮断ホルダーのリチウムイオン電池材料への適用

黒田(日立ハイテクノロジーズ)他：EELSトモグラフィー定量性向上に関する検討

鈴木(日立ハイテクノロジーズ)他：収差補正電子顕微鏡の原子レベルSEM観察への応用

仲野(日立ハイテクノロジーズ)他：In-situ TEMによるHigh-K膜の構造解析

藤澤(日立ハイテクノロジーズ)他：TEMにおける低加速電圧観察の試み

竹内(日立ハイテクノロジーズ)他：極低加速電圧SEM法の像情報に関する検討

振木(日立ハイテクノロジーズ)他：SEMによる自動連続取込機能の開発とウイスカ解析への応用

許斐(日立ハイテクノロジーズ)他：フラットミリング法を用いたSEM解析のための広領域試料作製

宮木(日立ハイテクノロジーズ)他：SEMによる多孔質材の内部構造評価手法の検討

砂押(日立ハイテクノロジーズ)他：イオンミリング装置による半導体デバイスの断面作製

矢口(日立ハイテクノロジーズ)他：H-9500 in-situ 反応観察TEM用環境セルの開発

森川(日立ハイテクノロジーズ)他：雰囲気遮断ホルダーのリチウムイオン電池材料への適用

**【要旨】**リチウムイオン電池は構造の一部に大気暴露によって容易に変質や変形を引き起こす素材が使われており、それらをSEMや(S)TEMで解析するのは困難である場合が多い。このような特性の試料の加工および構造解析のために、試料を不活性雰囲気状態下に保持することができる雰囲気遮断ホルダーを開発した。このホルダーはFIB装置とSTEM装置とで共用できるため、加工から観察まで雰囲気遮断状態で使用することができる。実験ではNB5000形FIB-SEMを用いて充電後のリチウムイオン電池負極材を薄膜加工し、HD-2700形STEM装置にて構造観察とEELS分析を行った。図1は雰囲気遮断条件下で加工・観察した負極材断面のSTEM像(a)およびその試料を10分間大気暴露したSTEM像(b)である。雰囲気遮断下ではカーボングラファイトの層構造など試料構造が明瞭に観察さ

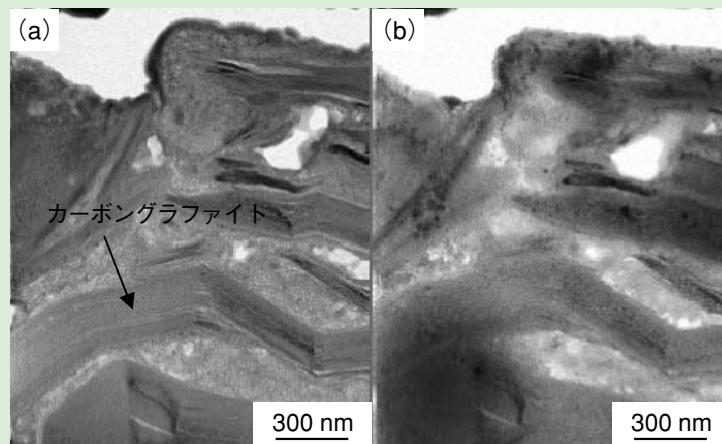


図1 リチウムイオン電池負極材のSTEM像  
(a)雰囲気遮断下 (b)大気暴露後

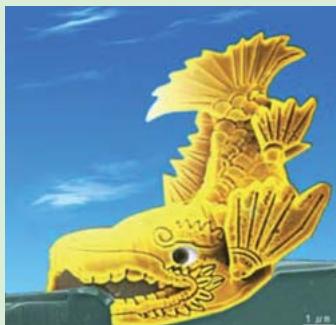
れているが、大気暴露試料は構造が大きく変化していることがわかる。この結果、雰囲気遮断ホルダーの使用により、リチウムイオン電池材料が持つ本来の構造を保持した状態で解析可能であることが示唆された。

## 写真コンクール

工藤(日立ハイテクノロジーズ)他：金鯫

藤澤(日立ハイテクノロジーズ)他：1億画素のTEM像

振木(日立ハイテクノロジーズ)他：小鳥のかくれんぼ



### 【作品名】金 鯫

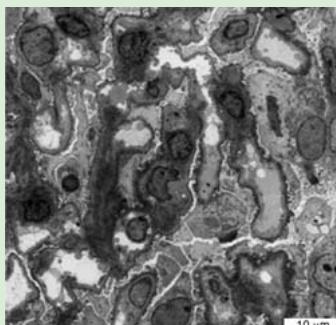
シリコンウェハからFIBマイクロサンプリング法で高さ約 $10\text{ }\mu\text{m}$ の試料を摘出し、3D解析ホルダーを用いて金鯫を作製した。

#### 撮影対象・条件

試 料：シリコン単結晶

装 置：NB5000集束イオン／電子ビーム加工観察装置

加速電圧：FIB40 kV SEM5 kV



### 【作品名】1億画素のTEM像

膜性腎症ヒト腎臓の生検材料を縦10枚、横10枚、合計100枚の画像をCCDカメラで撮影し、1枚の画像につなぎ合わせた。

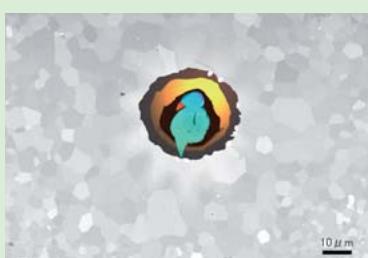
(試料ご提供：秋田大学医学部川村公一先生)

#### 撮影対象・条件

試 料：ヒト腎臓(膜性腎症)

装 置：H-7650形TEM

加速電圧：80 kV



### 【作品名】小鳥のかくれんぼ

セラミックの着色部分をArイオンビームで断面作製し、低真空SEMで観察した。介在物を擬似カラー表示してある。

#### 撮影対象・条件

試 料：セラミック

装 置：S-3400形SEM, E-3500形イオンミリング装置

加速電圧：5 kV

## 1. 日本分析化学会 ぶんせき 2010, 145

伊藤(日立ハイテクノロジーズ)：アミノ酸分析計の50年

## 2. 日本薬学会 第130年会(2010/3/28~30 岡山県)

中川(日立ハイテクノロジーズ)他：HPLCによる複合糖質の分析～生薬配糖体の特異的検出

## 3. 日本分析化学会 第71回分析化学討論会(2010/5/15~16 島根県)

山本(日立ハイテクコントロールシステムズ)他：排水中4価・6価セレンの迅速分別定量方法

坂元(日立ハイテクノロジーズ)他：HPLC—水素化物—原子吸光度法を用いたアンチモンの形態分析の検討

松崎(日立ハイテクノロジーズ)他：HPLCによる生薬配糖体成分の特異的検出

**【要旨】** 糖類は特異的な紫外・可視吸収や蛍光を持たず、HPLC分析においては示差屈折率検出あるいはプレカラム、ポストカラム法などの誘導体化法が用いられる。ポストカラム法の一つであるリン酸フェニルヒドラジン法は、糖の還元末端とフェニルヒドラジンが反応して発した蛍光を用い、糖を選択的に検出することが可能である。報告者は、各種糖での反応性を調べ、反応時に糖が遊離して発色することを明らかにした。即ち、配糖体の様に還

元末端が結合に使われている化合物でも、カラムでの分離後に糖が遊離し反応することで検出が可能と考えられる。配糖体は薬理作用があることが知られており、生薬の有効成分としても多く含まれている。ここでは、生薬の有効成分であるペオニフロリン、センノシドなどの配糖体分析についてリン酸フェニルヒドラジン-ポストカラム法の適用を検討した。

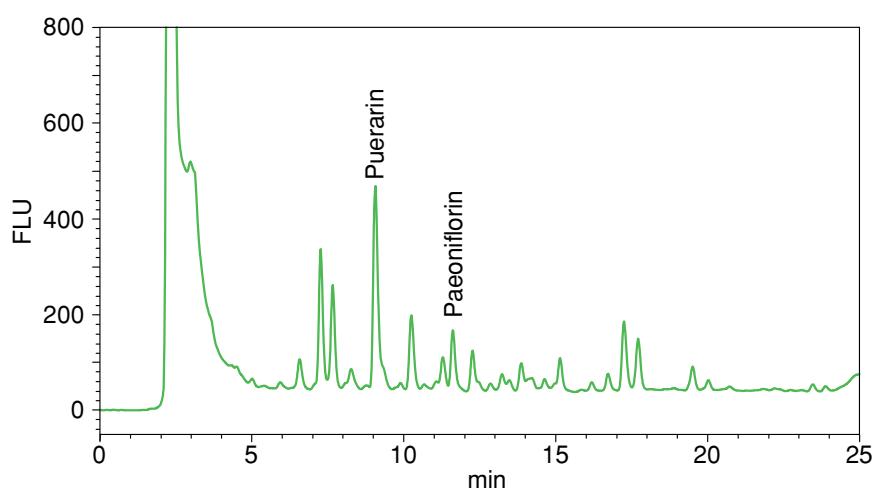


図 葛根湯試料のクロマトグラム(ポストカラム法)

#### 4. KoSFoST(韓国食品工業会)2010(2010/6/17 韓国)

H.Nakagawa(日立ハイテクノロジーズ)他 : Post-column labeling using HPLC for food analysis

**【Summary】** Post-column labeling using high performance liquid chromatography (HPLC) is powerful method for analyses of samples containing contaminants, such as foodstuff, or components without a specific UV absorbance or fluorescence. The analytical system is shown in **Figure 1**. Ultra-HPLC (UHPLC) combines high-speed analysis with high separation efficiency through the use of fine silica particles and tubes. It was

believed that the post-column method, in which another pump is connected after separation by the column, is incompatible with high-separation by UHPLC. We realized a post-column method using UHPLC for organic acid analysis at the first in the world. Here we improved post-column labeling by UHPLC for amino acid analysis using OPA as a labeling reagent.

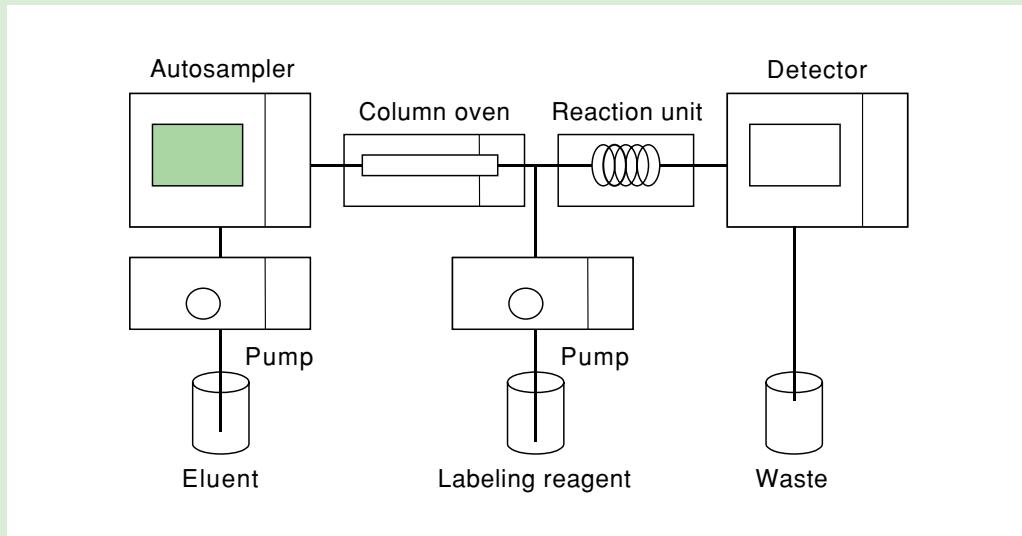


Figure 1. Analytical system of post-column method

#### 5. 第17回クロマトグラフィーシンポジウム(2010/6/3~5 広島県)

宝泉(日立ハイテクノロジーズ)他 : 超高速液体クロマトグラフを用いたポストカラム誘導体化法によるアミノ酸分析

#### 6. 58th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics(2010/5/22~29 USA)

M. Watanabe(日立ハイテクノロジーズ)他 : Peptide identification using electroncapture dissociation combined with subsequent radical-ion/molecule reactions on a chromatographic time scale

#### 7. 日本分析化学会関東支部若手交流会(2010/7/2~3 群馬県)

坂元(日立ハイテクノロジーズ) : HPLCと原子吸光光度計を組み合わせたヒ素及びセレンの形態分析

**8. 日本環境測定分析協会 関東支部環境セミナー in Kofu(2010/7/1~2 山梨県)**

白崎(日立ハイテクノロジーズ)：ポリアミノポリカルボン酸型キレート樹脂を用いた微量元素の分析

**9. 月刊フードケミカル：12月号(2009)**

成松(日立ハイテクノロジーズ)：食品分析アプリケーション⑦ 液体クロマトグラフによるアミノ酸の分析

**10. 月刊フードケミカル：1月号(2010)**

吉岡(日立ハイテクノロジーズ)：食品分析アプリケーション⑧ 液体クロマトグラフによる有機酸の分析

**11. 月刊フードケミカル：2月号(2010)**

宝泉(日立ハイテクノロジーズ)：食品分析アプリケーション⑨ 液体クロマトグラフによる中国での食品分析法

**12. 月刊フードケミカル：3月号(2010)**

坂元(日立ハイテクノロジーズ)：食品分析アプリケーション⑩ 原子吸光光度計による食品分析

**13. 月刊フードケミカル：4月号(2010)**

中川(日立ハイテクノロジーズ)：食品分析アプリケーション⑪ 食品分析のための固相抽出剤ノビアスによる前処理

**14. 月刊フードケミカル：5月号(2010)**

小林(日立ハイテクノロジーズ)：食品分析アプリケーション⑫ LC-MSによる緑茶中カテキン類の分析

## 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	ベビーフード中の重金属の分析 Analysis of heavy metals in baby foods		
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.122	発行日	2010年6月
要約	<p>日本ベビーフード協議会より平成20年11月にベビーフード自主規格第IV版(改訂版)が発行されました。重金属類の基準は、ヒ素0.5 ppm以下(海藻類、魚介類を含むものは1.0 ppm以下), Pb0.3 ppm以下, Cd0.2 ppm以下としており、測定には原子吸光光度法が用いられます。原子吸光光度計を用いて食品を分析するには、共存物が多いことからバックグラウンド吸収の補正とベースラインの安定性が大変重要です。日立ハイテク製の原子吸光光度計はバックグラウンド吸収の補正に偏光ゼーマン法を採用しており、精確な補正と安定したベースラインが得られます。</p> <p>ベビーフード自主規格では分析手法として食品衛生指針にある重金属の測定法(MIBK抽出-フレーム原子吸光光度法)を挙げています。ここでは有機溶媒の環境への影響を考慮し、マイクロウェーブ酸分解装置を用いて前処理したベビーフード2種類(試料A:魚と野菜、試料B:レバーと野菜)中の重金属を分析した例を紹介します。</p>		

題目	低加速電圧SEM法によるメソポーラスシリカ観察 Low voltage FE-SEM observation of mesoporous silica		
機種	S-4800形走査電子顕微鏡 Ultra-high Resolution Scanning Electron Microscope S-4800		
シートNo	SEM No.135	発行日	2010年3月
要約	触媒および触媒担体、吸着剤などへの応用が期待されるメソポーラスシリカ粉体および薄膜の観察を試みました。リターディング法による像分解能の向上、スキャン方法の最適化によるチャージアップ回避などにより、壁厚3~5 nm、直径7~10 nm程度の細孔およびその配向性が明瞭に観察されました。		

題目	S-5500におけるDuo-STEM機能の特長とナノ材料への応用 FEATURES OF DUO-STEM FUNCTION IN S-5500 AND ITS APPLICATION TO NANO-MATERIALS		
機種	S-5500形FE-SEM Ultra-high Resolution Scanning Electron Microscope S-5500		
シートNo	SEM No.138	発行日	2010年3月
要約	S-5500形FE-SEMはインレンズタイプFE-SEMの特長である物質表面の超高分解能観察 <sup>1)</sup> に加えて、Duo-STEM検出器(オプション)による物質内部の超高分解能観察が可能です。Duo-STEM検出器は明視野STEM(BF-STEM)用の検出器、暗視野STEM(DF-STEM)用の検出器から構成されます。特に、DF-STEM像観察において、検出立体角を制御することにより必要な情報を高コントラストで取得できるようになりました。今回は、Duo-STEM検出器の特長とナノ材料への応用例について紹介します。		

題目	Arイオンミリングによる電子部品の実装部解析 ANALYSIS OF ELECTRONIC COMPONENT PACKAGED AREA BY ARGON ION MILLING		
機種	IM-3000形フラットミリング, S-3400N形走査電子顕微鏡 Flat milling system IM-3000, Scanning Electron Microscope S-3400N		
シートNo	SEM No.139	発行日	2010年3月
要約	電子部品の小型化、高密度化に伴い、構造把握や故障解析に対するSEMの利用ニーズが高まっています。内部接合箇所のSEM解析には、対象となる構造を露出する試料前処理が必要です。電子部品は異なる材質から成る構造が混在するため、従来用いられてきた機械研磨法だけでは、微細構造を観察面に露出することが難しく、特に接合箇所を損傷なく露出させることは困難です。そこで今回は、IM-3000形フラットミリング装置を利用して実装部の試料作製を行い、低真空SEMによる無蒸着観察を試みました。		
題目	低真空クライオSEMによる含水試料の観察とEDX分析 Observation using low vacuum Cryo-SEM and analysis by EDX of hydrated specimen		
機種	S-3400N形走査電子顕微鏡 Scanning Electron Microscope S-3400N		
シートNo	SEM No.140	発行日	2010年6月
要約	クライオSEMは、含水試料を急速凍結することにより、化学固定や脱水時に生じるアーティファクトを回避し直接観察できるため、食品や化粧品分野などで利用されています <sup>1),2)</sup> 。従来のクライオ法では含水試料の導電性が乏しいため、加速電圧1.5 kV以下での無蒸着観察、あるいは金属コーティングが必要でした。しかし、低加速電圧ではEDX分析ができない、コーティング時の輻射熱による試料ダメージやチャージアップなどの問題が生じていました。そこで今回は、試料ステージを窒素ガスで冷却することにより長時間安定して観察可能なGatan社製クライオシステムを低真空SEM S-3400Nに装着し、無蒸着で含水試料の観察とEDX分析を行ったので紹介します。		
題目	HD-2700/NB5000を用いたLSIデバイスの観察 Spherical Aberration Corrected Scanning Transmission Electron Microscope HD-2700		
機種	日立走査透過電子顕微鏡HD-2700、日立集束イオン／電子ビーム加工観察装置NB5000 Spherical Aberration Corrected Scanning Transmission Electron Microscope HD-2700 Focused Ion & Electron Beam System NB5000		
シートNo	STEM No.15	発行日	2010年3月
要約	LSIデバイスの微細化が進むにつれ、高い計測精度を持つ解析技術が必要になっています。現在の解析ターゲットは原子レベルでの膜厚計測や組成分析と言われています <sup>1)</sup> 。ここでは球面収差補正機能を搭載した走査透過電子顕微鏡(STEM: Scanning Transmission Electron Microscope)HD-2700を用いた最新LSIデバイスの観察例について紹介します。		
題目	球面収差補正機能付きHD-2700による原子カラムSTEM観察およびEELS分析 STEM observation and EELS analysis of atomic column using the HD-2700 spherical aberration corrected STEM		
機種	HD-2700走査透過電子顕微鏡 Spherical Aberration Corrected Scanning Transmission Electron Microscope HD-2700		
シートNo	STEM No.16	発行日	2010年6月
要約	HD-2700走査透過電子顕微鏡(STEM: Scanning Transmission Electron Microscope)においては、新たに高分解能レンズ*が開発されました <sup>1)</sup> 。今回は、高分解能レンズを搭載した球面収差補正機能付きHD-2700において原子カラムSTEM観察および電子線エネルギー損失分光法(EELS: Electron Energy Loss Spectroscopy)を併用した原子カラムのEELS元素マップ例を紹介します。 *オプション		

題目	白金担持触媒の高分解能三次元TEM解析 Three-dimensional high resolution TEM analysis of platinum particles supported graphite catalyst		
機種	H-9500透過電子顕微鏡 Transmission Electron Microscope H-9500		
シートNo	TEM No.136	発行日	2010年4月
要約	<p>材料の機能や性能は、その立体的な構造と密接な関係にあることから、材料開発の分野において、三次元的構造解析の重要性が増加しています<sup>1)</sup>。また、最近の環境負荷軽減などの取り組みに呼応し、電子顕微鏡を用いた触媒材料の解析ニーズが高まっています。触媒の性能は、担持体の立体的な配置によって影響されるため、試料の機能評価の観点から高分解能での三次元構造解析の必要性が高まっています。そこで今回は、白金担持触媒の三次元分布や担持体の担体への付着状態などを把握するため、試料を360°回転可能な3D解析ホルダーを用いた高分解能三次元TEM(Transmission Electron Microscope)観察を試みました。</p>		
題目	腎臓疾患病態解析へのTEM応用 Application of TEM observation to pathological diagnoses of kidney diseases		
機種	H-7650透過電子顕微鏡 Transmission Electron Microscope H-7650		
シートNo	TEM No.137	発行日	2010年7月
要約	<p>医学研究における電子顕微鏡の役割は、昨今のゲノム解析をはじめとする分子生物学的手法の導入により、分子レベルでの構造解析の手段として重要となっています。</p> <p>H-7650透過電子顕微鏡では、複合対物レンズの高コントラストモードを用いたコントラストの低い生物試料の観察や広視野で高解像度観察を可能とするつなぎ写真の自動撮影が可能です。今回は、病理分野の病態解析における電顕応用として、H-7650による代表的な腎臓病理組織切片の観察例を紹介します。</p>		

## 新製品紹介

### NEW PRODUCTS

#### U-5100形日立レシオビーム分光光度計

U-1900形分光光度計の後継機種としてU-5100形分光光度計を発売しました。バイオテクノロジーや品質管理、アカデミック向けなど、幅広い分野の定量分析に使用されるベーシックモデルです。

##### 特長

- 設置面積を従来比約38%減の小形化
- 光源にキセノンフラッシュランプの新採用により従来比約70%減の低消費電力と光源のロングライフを実現
- セルを自動切替えして連続分析に対応する  
自動6セルターレットを内蔵
- 大型6インチ液晶画面で視認性アップ



#### 自動固相抽出装置SPE-100

平沼産業株式会社はこれまでの滴定装置等で培われた技術を元に自動固相抽出装置SPE-100を開発いたしました。日立固相充填カラム〈ノビアス(NOBIAS)シリーズ〉を最大限に活用できます。

##### 特長

###### ①全自動化

コンディショニング～抽出までシーケンシャル制御により省力化が図れます。

###### ②マルチ運転

最大10台まで増設マルチ運転が可能です。親機の情報を共有化し効率的に作業ができます。

###### ③八方切換弁、ダブルプランジャポンプ

八方切換弁による8種類の送液が選択可能なため、試薬交換がスムーズに行えます。ダブルプランジャポンプでの減圧・加圧両送液方式の採用で、安定した試料の濃縮が可能です。

###### ④コンタミ低減

流路系はメタルフリー材料の採用で、金属イオンのコンタミの低減を図りました。ノビアスキレートに最適です。



自動固相抽出装置 SPE-100  
(写真は3台連結タイプ)

# 新製品紹介

## NEW PRODUCTS

### Miniscope® TM3000専用エネルギー分散型X線分析装置 SwiftED3000

#### 1. はじめに

このたび、卓上顕微鏡Miniscope® TM3000用新型EDXとして、SwiftED3000(Oxford製)を製品化し、販売開始いたしました。

研究室単位や現場単位で、前処理なく「迅速な(Swift)」EDX分析が可能です。

#### 2. 主な特長

- (1) ボロンからの軽元素分析
- (2) 点分析、線分析、マッピングなどの多機能分析
- (3) 液体窒素不要で、電源投入後数分で使用可能

#### 3. 主な仕様

**検出器** シリコンドリフト検出器

**検出素子面積**

30 mm<sup>2</sup>(検出器アクティブエリア 20 mm<sup>2</sup>)

**検出可能元素** B<sub>5</sub>~U<sub>92</sub>

**エネルギー分解能**

161 eV(Cu-K $\alpha$ ) (Mn-K $\alpha$ の場合137 eV相当)以下

**冷却方式**

2段ペルチェ(冷却ファンなし、液体窒素不要)

不使用時には冷却不要



TM3000との組み合わせ例(検出器内蔵型)

## 新製品紹介 NEW PRODUCTS

### SH-9000マイクロプレートリーダーに新機能追加



ご好評のSH-9000Labシリーズは、新たに下方蛍光測定機能搭載の機種を7月に発売しました。下方蛍光測定の利点は、話題の食品機能性ORAC法(抗酸化能測定)において、プレート蓋が試料蒸発を抑え温度均一性を図り、プレート底から測定することで精度が大幅に改善されました。また、プレートに蓋をして細胞培養を下方測定することで試料への汚染を防ぐことができます。さらにプレート底に局在する蛍光物質を測定するニーズに応えるなど、アプリケーションが拡がります。

### 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)  
東京 (03) 3504-7211  
中部支店 名古屋 (052) 219-1881  
関西支店 大阪 (06) 4807-2511  
京都営業所 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ー 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〉

今年は、立秋を過ぎても全国的に暑さが続き、「猛暑」や「酷暑」という言葉も天気予報で聞き慣れるほどの天候となっています。また、世界的な異常気象も深刻さは増すばかりで、洪水や干ばつのニュースが連日のように報道されています。

そんな中、夏の甲子園では、選手たちが厳しい暑さの中、汗にまみれ全力でプレーをし、スタンドでこれを必死に応援する人々の姿を目にしてると、ほんのひと時ではありますがあなたを忘れて、感動や元気を与えてくれました。

さて、日本の産業界に於いては、円高、株安と厳しい状況が続いているが、技術は確実に進歩しています。特に環境・健康分野は新成長分野として大きな期待を担っ

ており、これらの維持・成長の実現は、分析技術に関わる方々の努力なくしては成しえないものと感じています。今回号は分析技術者の技能と信頼性について東京都市大学 平井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おります。ぜひご一読していただければ幸いです。

(佐藤 記)

○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**

**September, 2010 VOL. 53 No. 2**

発行 2010年9月13日  
編集人 佐藤 剛  
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)3504-5833  
印刷 日立インダストリーズ株式会社