

巻頭言

環境診断技術の展望

Perspective of Environmental Diagnosis Technology

産業技術総合研究所
環境管理技術研究部門
研究部門長

田尾 博明



日本の国際競争力の低下がいわれて久しい。2009年の一人当たりのGDPは20位前後といわれてもピンと来ないが、中国、韓国等の発展に接し、また、大学や研究所を訪れる海外研究者が大幅に減少している現実に向き合うと、世界が日本の上を通り過ぎているとの感を免れ得ない。情報通信革命を源とするグローバル化時代を迎え、我々を取り巻く状況は大きく変動したにもかかわらず、戦後経済成長を支えた体制と既得権益を変革できないことが主な原因であろうが、新時代のコミュニケーションツールとしての英語教育の遅れも大きいと思う。私事で恐縮だが、最近、ISO(国際標準化機構)の会議等で英語が話せればと実感することが多く、若い人には機会あるごとにNature Podcast(<http://www.nature.com/nature/podcast/>)やScience Podcast(<http://www.sciencemag.org/site/multimedia/index.xhtml>)を聴くことを薦めている。いずれもネットから無料で自由に聴ける夢のよう

な時代になったが、これは世界の人々が平等に情報に接し、能力と意欲のある者が競争に勝ち残る実力主義、下克上の時代になったことも意味している。最近、環境分析の書籍の出版に携わる機会があった。日本分析化学会の著名な先生方が時間と労力を費やし、内容も充実した大部の本であるが、発行部数は想像以上に少なく、もし英語で書かれていたならば世界に販路が開かれ、出版社、著者のみならず読者にとっても価値は遥かに大きくなったであろうにと、もったいなく感じられた。

さて、環境診断技術の競争力は大丈夫であろうか。半導体や自動車の例からして、研究開発への投資と研究者・現場技術者の新技術開発や日々の改善に対する情熱、新たな市場開拓精神が失われれば競争力低下は目に見えている。環境測定は従来、大気、水、土壌、廃棄物中の重金属や有機塩素化合物等の環境汚染物質の測定を範疇としていたが、最近ではRoHS指令のよ

C O N T E N T S

■巻頭言

- ・環境診断技術の展望
田尾博明1

■報 文

- ・HD-2700によるナノ合金の原子レベル構造評価
小林浩和 草田康平 北川 宏3
- ・STEM-EELSを用いたリチウムイオン電池用負極材料の構造解析
山田将之7
- ・糖鎖、糖ペプチドのHILIC分離分析
出口喜三郎12

■解 説

- ・日立卓上顕微鏡 Miniscope[®] TM3000の特長と応用
坂上万里 安島雅彦18
- ・NOBIAS RP-SG1を用いた絶縁油中微量PCBの測定
清水克敏 蛭田多美21
- ・日立U-5100形レシオビーム紫外可視分光光度計の特長と測定例
栗田浩二 堀込 純
岩谷有香 和久井隆行24

■学会発表ミニファイル29

■テクニカルデータ発行ミニファイル34

■新製品紹介

- ・日立透過電子顕微鏡HT770036
- ・日立超高分解能電界放出形走査電子顕微鏡SU8000シリーズ37
- ・IM4000形日立イオンミリング装置38
- ・日立高速液体クロマトグラフ「Chromaster 5000シリーズ」発売39
- S.I.naviのご紹介40

東北地方太平洋沖地震により被災されたみなさまに、心よりお見舞いを申し上げますとともに、被災地が一日も早く復興することをお祈り申し上げます。

うに製品中の化学物質も含むようになった。本稿では、「測定」に加え、測定値の意味を科学的知見に基づき「判断」することも含めて「診断」という単語を用いるが、環境診断技術の社会的価値を高めていくためには、新たな市場を開拓することが重要である。

世界の人口は2050年には90億人に達すると予測されており、資源・エネルギーの逼迫とCO₂や環境汚染物質の増加は避けられない。地球の有限性から来る資源制約と環境制約を克服するには、資源を循環利用し、環境負荷を自然の修復能力内に低減しなければならない。環境診断技術はこれらの課題解決に重要な貢献ができる。資源の循環利用では、工業分析化学が石油化学や製鉄などの動脈産業の生産性向上に寄与したように、環境診断技術はリサイクルなどの静脈産業の効率化とリサイクル製品の安全性向上への貢献が期待される。自然の修復能などの生態系機能を活用した環境産業としては、バイオレメディエーション、CCS(Carbon Capture & Storage)等の地球工学的事業、都市空間での里山環境の創出などがあげられる。ここでは環境汚染物質だけでなく、汚染浄化や炭素循環に関わる微生物の種類や活性など、生態系とその機能に関する分析ニーズがある。また、有用菌だけでなく大腸菌やレジオネラなどの有害菌の迅速検出も新たな市場として期待される。

その他にも、地球環境観測では海洋ブイに搭載可能な小型機器に加え、渡り鳥や鯨などの野生生物に装着するセンサー、地域環境では公設監視システムの測定項目の拡充とネットワーク化による環境情報のオンデマンド取得、室内環境や飲料水などの生活環境では化学物質に加えアレルゲンなどの分析が考えられる。観点は異なるが、水ビジネスや原子力発電所などの施設一体型の輸出でも水質監視システムなどのニーズがある。これらの市場規模は未知だが、我々が提供できる診断情報の価値に大きく依存している、すなわち我々自身の努力にかかっている。そのためには、例えば、モニタリングでも常時監視は本当に必要なかと自問し、真のニーズを厳しく把握する必要がある。診断情報がもたらす価値が診断に要するコストより小さければ市場は成立せず、たとえ大きくても、衣食住足りて初めて環境に投資されるように他の価値との競合は避けられないからである。

分析化学は日本が強い分野で、大学でも世界を先導する研究がなされているが、必ずしも成果が産業化に結びついていない。大学は、教育、科学としての基礎理論構築が重要なので偏った議論は避けるべきだが、産業化への貢献はわが国の環境診断産業の競争力強化に必須である。また、産業化の実績は他学問分野との

競争上も重要である。昨今では大学や研究所も短期の成果を求められ、問題点を深耕して基礎に立ち返る研究が困難になりつつある。また、学術的な基礎研究だけでなく、実用化のために解決すべき問題でも時間を要するものは敬遠されがちである。例えば μ -TASを環境測定に応用する場合、ごみやバイオフィーム等による流路の汚れは致命的だが、論文となりづらいこともあり、放置されて結局は使えないものが多い。耐環境性の向上といった現場の問題を、材料開発や流体理論などの基礎的な学術研究として捉え直すことも必要であろう。

最近、幾つかの企業が社内公用語を英語にした。賛否両論があり、この試みの成否に興味を持たれるが、少なくともグローバル企業として存続するための問題点が明らかになり、それを解決すべく努力する過程で、進化(当初予想されたものとは違った形になるにしても)が起こることが期待される。何もしなければ、問題はない代わりに進化もない。適者生存という生物進化の原則は組織にもあてはまる。いつの時点からのバックキャストをし、適応策を導入するかが重要だが、将来の大学や研究所の半数は外国人研究者で、英語でコミュニケーションをとるといった時代を迎えていないと、グローバリゼーションという環境変動を生き残ることはできないと思われる。ちなみに日本の人口は2100年に3,000~7,000万人と予測されていて、市場は日本ではなく、世界にあることも認識しておく必要がある。「成らぬは人の為さぬなりけり」というように、新しいことに挑戦する勇気を持つことが、未来を切り拓くうえで何よりも重要であろう。閉塞感にとらわれず、希望と情熱をもって、新たな環境診断産業の創出に努力していきたい。

著者略歴

田尾 博明 (たお ひろあき)

所属・部局・職名

産業技術総合研究所 環境管理技術研究部門 研究部門長

略 歴

学 歴 (出身学校・研究室・卒業または修了年月)

1980年3月 東京大学理学部化学科卒業

1982年3月 東京大学大学院理学系研究科化学専門(修士)修了

1986年3月 東京大学より理学博士授与

職 歴

1982年4月 通商産業省工業技術院公害資源研究所(現 産業技術総合研究所)入所

2009年4月より、現職

研究内容

誘導結合プラズマ質量法(ICP-MS)による金属の化学種分析法(speciation)の開発と環境動態の解明。並びに、化学センサや生体分子の可視化プローブの開発。

委 員

中央環境審議会水環境部会陸域環境基準専門委員会委員

HD-2700によるナノ合金の原子レベル構造評価

Structural Characterization of Nanostructured Alloys at the Atomic Level
Using HITACHI HD-2700 Dedicated STEM

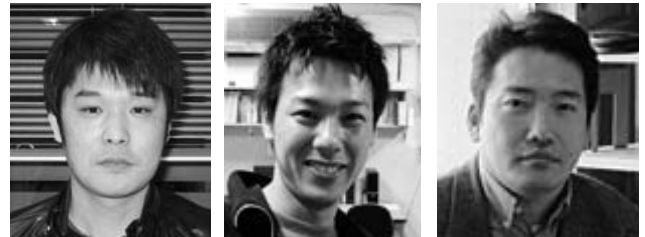
小林 浩和* 草田 康平** 北川 宏***

1. はじめに

水素は、環境調和型の理想的なエネルギー源として古くから注目されているが、常温・常圧で爆発性の高い気体であり、実用化には安全かつコンパクト・軽量に貯蔵・輸送するための貯蔵方法の開発が必要不可欠である。中でも、安全性や使用上の利便性を考えた場合、水素吸蔵合金を貯蔵媒体として用いる方法が最も実用的であると考えられている。しかしながら水素エネルギーシステムを一般社会に普及させるためには更なる高密度吸蔵化が必要であり、新しいタイプの吸蔵合金の出現が望まれる。水素吸蔵合金の開発はこれまでバルク合金を中心としたものであり、金属ナノ粒子に着目した開発例は少ない。直径10 nm以下の金属ナノ粒子は、表面原子数の割合の増大やエネルギー単位の離散化に伴い、バルクとは異なる物理的・化学的性質を示すことが知られている。バルクには見られない特異な電子状態を有することから、新たな水素吸蔵材料として期待されているものの、水素と金属ナノ粒子の相互作用に関する系統的な研究例は殆どない。我々は新規な水素機能性や物性の発現を目指し、単一金属ナノ粒子、コア・シェル型構造や固溶体型構造を有する合金ナノ粒子の水素吸蔵特性や電子状態について調べることで、水素社会の実現に向けた材料基盤の確立を推進している。^[1-6] 本稿では水素貯蔵における新材料としての合金ナノ粒子をとりあげ、HD-2700による原子レベルでの構造評価を行った例について紹介する。

2-1. Pd-Ptコア・シェル型ナノ粒子の水素吸蔵

バルクのパラジウム (Pd) は常温下0.03 atmで水素を多量に吸蔵するが、同じ10族金属である白金 (Pt) では熱力学的に安定な水素化物は存在せず水素を吸蔵しない。^[7] 他方、水素分子の原子状水素への解離能に関しては、PdよりもPtの方が高い。金属ナノ粒子では、このような異なる特性をもつ二種の金属を用いて、PdをコアにPtをシェ



小林 浩和

草田 康平

北川 宏

ルとするコア・シェル型構造のナノ複合粒子の作製が可能であり、合金をナノメートルオーダーで精密設計・構築することで、新規でかつ高性能・高機能な水素貯蔵材料を創製できる。我々は、Ptシェル部において効率的に水素分子を原子状水素に解離し、Pdコア部に水素を大量に吸蔵させることを考えた。Ptは原子状水素の透過性に優れており、Ptシェル部は水素吸蔵を阻害しないことが予想される。そこで、溶液中で行う化学的還元法によって、コア・シェル型構造のナノ複合粒子の作製を行い、水素吸蔵特性について詳細に調べた結果、Pd/Ptナノ粒子はPdナノ粒子よりも効率的に水素を吸蔵することが可能であり、その吸蔵された水素はPdとPtのコア/シェル界面に最も多く存在していることが固体NMR測定によりわかった(図1)。^[1]

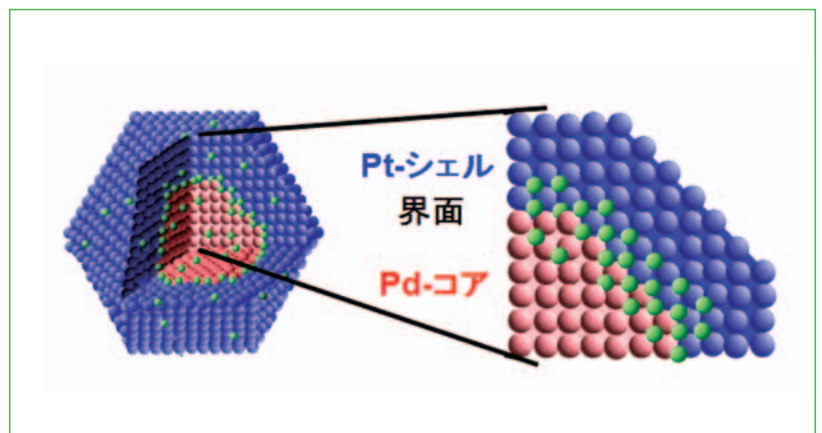


図1 Pd/Ptコア・シェル型ナノ粒子の水素吸蔵

* 京都大学 物質-細胞統合システム拠点 助教 博士(理学)
** 京都大学 大学院理学研究科 化学専攻 博士後期課程 1年
*** 京都大学 大学院理学研究科 化学専攻 教授 博士(理学)

コア・シェル構造はエネルギー分散型X線分光(EDS)のスペクトルにより確認されたが、粒子サイズが10 nm以下と非常に小さいため、わずかなドリフトが分析に支障をきたすことから、その元素分析は表面部分と中心部分の局所的なスポット分析に限られた。^[1]これらの課題を解決する高分解観察と高感度分析が可能な球面収差補正装置を搭載したHD-2700形走査透過電子顕微鏡によるコア・シェル型ナノ粒子の分析結果を2-2で紹介する。

2-2. HD-2700を用いたPd-Irコア・シェル型ナノ粒子の構造評価

Pd/Irコア・シェル型ナノ粒子の合成として、水溶性ポリマーを用いた犠牲的水素利用逐次還元法により作製した。その際、平均粒径が7.2 nmのPdナノ粒子をコア部に用いた。作製したPd/Irナノ粒子の粒径を測定するため透過型電子顕微鏡(TEM)を用いた。TEM観察用試料は、カーボン支持膜(一般用)の上にPd/Irナノ粒子のエタノール分散液をパスツールピペットで数滴落とし、乾燥させ調整した。得られたTEM写真を図2Aに示す。TEM写真から、Pd/Irナノ粒子の平均粒径は 8.8 ± 1.7 nmであることがわかった。Pd/Irナノ粒子ではコア部分に用いたPdナノ粒

子よりも粒径が大きくなっている。これは、Pdコアの外側にIrシェルが形成していることを示しており、求めた平均粒径より粒径7.2 nmのPdコアに1 nm程度のIrシェル(約3層)をもつコア・シェル型ナノ粒子が生成していることになる。

実際、コア・シェル型構造を形成しているかについて調べるため、HD-2700による環状暗視野(ADF)像によるSTEM-EDS分析を行った。ADF-STEM像(図2C)からEDSスペクトルのライン分析を行った結果を図2Dに示す。Irの特性X線に由来するピークプロファイルから粒子の表面近傍にIrが分布していることがわかる。また、このピークの幅は1 nm程度であり、TEM観察の平均粒径から見積もられたシェルの厚みと良い一致を示している。一方、Pdの特性X線に由来するピークの強度は、分析位置が粒子の中心に行くほど、大きくなっており、このピークプロファイルは球形のPd粒子であることを示すものである。これらの結果により、得られたPd/Irナノ粒子は球形のPdナノ粒子の周りに1 nm程度のIrシェルが形成したコア・シェル型構造を有していることが明らかとなった。

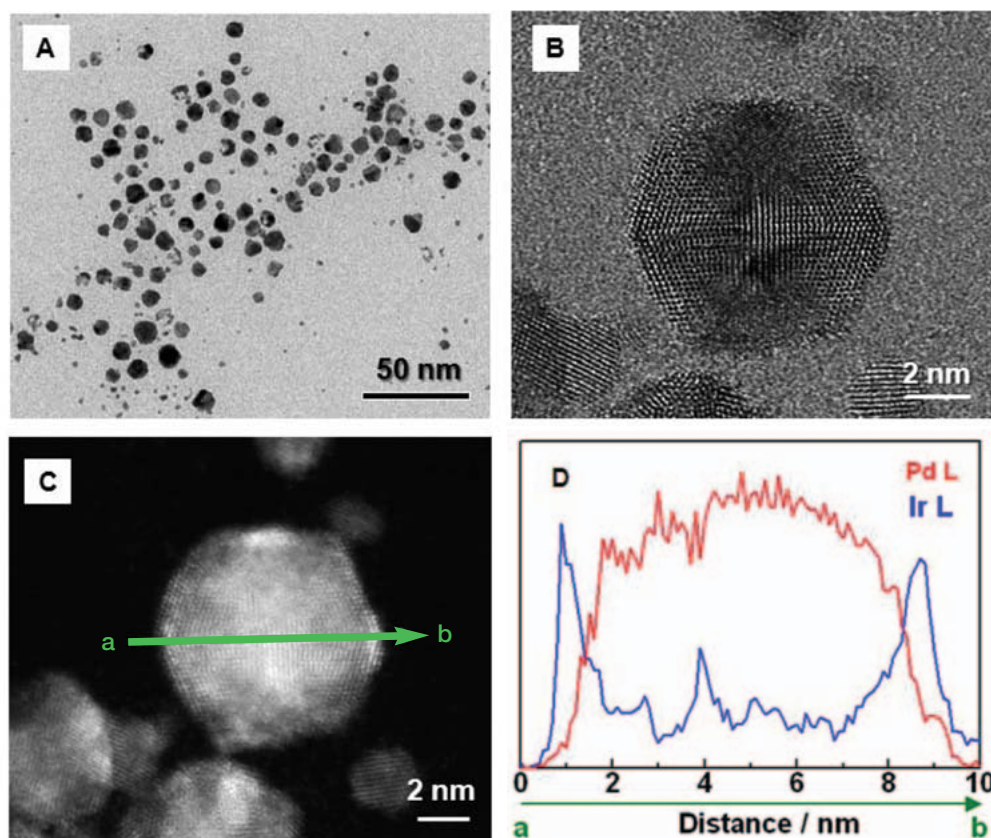


図2 Pd-Irナノ粒子のTEM像(A)、BF-STEM像(B)、ADF-STEM像(C)およびそのEDSラインプロファイル(D)

3-1. Ag-Rh固溶体型ナノ粒子の水素吸蔵

ナノメートルサイズの金属微粒子は、「量子サイズ効果」を示すことから、ナノテクノロジー分野の中核を担う重要な材料の一つである。その材料開発は単体金属だけでなく、合金に目を向けることで飛躍的に研究範囲が広がる。しかしながら、高温の液相でも相分離する合金系は未開拓の部分が多い。バルクでは得られない固溶体型合金は、いわば新たな性質を示す新元素と同等であり、材料開発の範囲をさらに拡大できる可能性がある。Rhは大気汚染の原因であるNO_xガスの浄化触媒として有能であることが知られており、その触媒活性はAgを添加することで増大することが理論計算より示されている。また、原子レベルで混ざり合ったAg ($4d^{10}-5s^1$) - Rh ($4d^8-5s^1$) の1:1固溶体型合金の電子状態はPd ($4d^{10}-5s^0$) と類似したものになると期待され、単体では水素を吸蔵しないRhとAgの合金が多量の水素を吸蔵するPdと似た水素吸蔵能やPdに特有な触媒活性を示すことも期待される。さらに、AgとRhからレアメタルであるPdを創り出すことができれば資源の乏しい日本を救う解決の糸口につながる。しかし、AgとRhはバルク状態において2000℃以上の

液相でさえも固溶体を形成することはなく、相分離型構造をとる。その為、急冷法などを用いても固溶体型合金は得られない。そこで、我々はナノサイズ効果に注目し、バルク状態では決して混じり合う事の無いAgとRhをナノ粒子にすることにより、原子レベルで混じり合った新規固溶体型Ag-Rh合金を創り出すことに成功し、その水素吸蔵はPdに類似した特性を示すことを明らかにした(図3)。^[2] 3-2ではHD-2700によりAg-Rhナノ粒子内のAg原子とRh原子の分散状態を調べた結果を紹介する。

3-2. HD-2700を用いたAg-Rh固溶体型ナノ粒子の構造評価

Ag-Rh固溶体型ナノ粒子の合成はアルコールを用いた化学的還元法により行った。水溶性ポリマーを溶解したアルコールに、RhとAgの両金属塩を溶解した水溶液を加え作製した。作製したAg-Rhナノ粒子の構造を調べるため、HD-2700による環状暗視野(ADF)像によるSTEM-EDS分析を行った。HAADF-STEM像(図4A)、Ag-L(図4B)、Rh-L(図4C)、Ag-L + Rh-L(図4D)および、1つの粒子

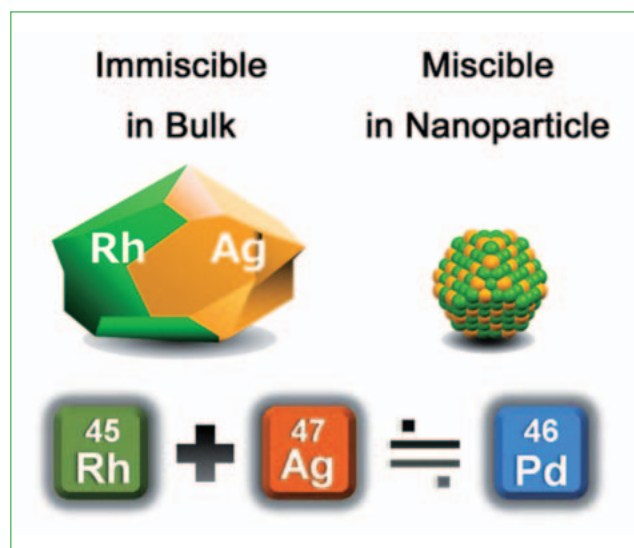


図3 Ag-Rh固溶体型ナノ粒子の性質

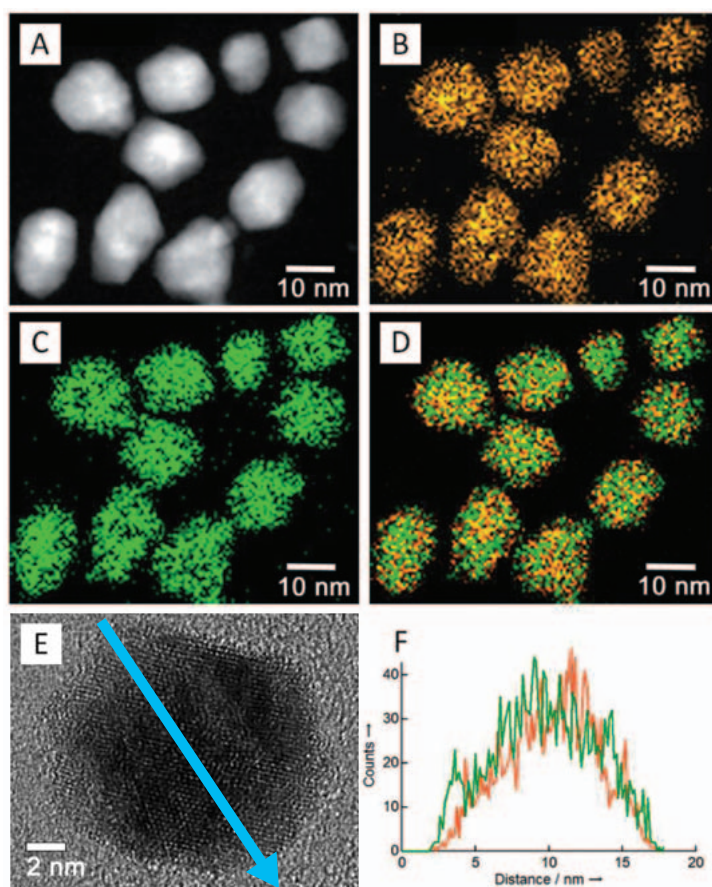


図4 Ag-Rhナノ粒子のADF-STEM像(A), Ag-Rhナノ粒子のSTEM-EDS (Ag成分;(B), Rh成分;(C), Ag-Rh成分;(D)), BF-STEM像(E)およびそのEDSラインプロファイル(F)

(図4E)からEDSスペクトルのライン分析を行った結果を図4Fに示す。図4Dより明らかにAgとRhの両元素はどの粒子にもランダムに存在しており、各元素単独の粒子ではないことがわかる。また、図4FのAgおよびRhの特性X線に由来するピークプロファイルから各元素が局所的に集まっているのではなく、粒子全体にわたって両元素が均一に分布していることがわかる。これらの結果により、得られたAg-Rhナノ粒子は原子レベルで混じり合った固溶体型構造を有していることが明らかとなった。^[2]

4. まとめ

HD-2700を用いたSTEM-EDS測定を行うことで、ナノメートルサイズの合金粒子の構造を原子レベルで評価することができた。原子レベルでの構造評価は特性・メカニズムを解明する上でも非常に重要であり、そのニーズは益々高まっていくと考えられる。球面収差補正装置を搭載したHD-2700形走査透過電子顕微鏡はナノ領域の合金組成・構造を原子レベルで解析することが可能で、非常に幅広い物質情報を取得することができると考えられる。

参考文献

- 1) H. Kobayashi, M. Yamauchi, H. Kitagawa, Y. Kubota, K. Kato, M. Takata *J. Am. Chem. Soc.*, **130**, 1818-1819 (2008).
- 2) K. Kusada, M. Yamauchi, H. Kobayashi, H. Kitagawa, Y. Kubota *J. Am. Chem. Soc.*, **132**, 15896-15898 (2010).
- 3) H. Kobayashi, M. Yamauchi, H. Kitagawa, Y. Kubota, K. Kato, M. Takata *J. Am. Chem. Soc.*, **132**, 5576-5577 (2010).
- 4) H. Kobayashi, M. Yamauchi, R. Ikeda, H. Kitagawa *Chem. Commun.*, 4806-4808 (2009).
- 5) M. Yamauchi, H. Kobayashi, H. Kitagawa *Chem. Phys. Chem.*, **10**, 2566-2576 (2009) (Invited Review).
- 6) H. Kobayashi, M. Yamauchi, H. Kitagawa, Y. Kubota, K. Kato, M. Takata *J. Am. Chem. Soc.*, **130**, 1828-1829 (2008).
- 7) Alefeld G.; Völkl, J. Eds., *Hydrogen in Metals*, Springer, Berlin, Heidelberg, 1978.

STEM-EELSを用いたリチウムイオン電池用 負極材料の構造解析

Structure analysis for advanced negative-electrode material of lithium-ion battery by using STEM-EELS

山田 將之*

1. はじめに

リチウムイオン電池は携帯電話やパソコンなどに幅広く用いられ、今後も様々な用途に拡大していくと考えられる。スマートフォンなど最新の電子機器に使用される電池には、小型化や長時間駆動の要求が強く、それに応えるためには電極材料をより高性能な材料に置き換える必要がある。正極材料では、 $\text{Li}[\text{Ni}_{1/3}\text{Co}_{1/3}\text{Mn}_{1/3}]\text{O}_2$ や $\text{Li}[\text{Ni}_{0.8}\text{Co}_{0.15}\text{Al}_{0.05}]\text{O}_2$ などNiを含む高容量材料が LiCoO_2 に代わってすでに多くの用途で実用化されている^{1,2)}。一方、負極材料についてはSiやSnなどを含む高容量材料について、薄膜化や複合化による実用化検討が進められているものの、現行材料である黒鉛を完全に置き換えるには至っていない^{3,4)}。

高容量負極材料の中でSi系材料は容量が高く、かつ放電電位の低い優れた材料である。しかし、Siは充放電時の体積変化が大きく、充放電サイクルによって粒子の微粉化や導電助材との接触性の低下などが起こり、十分な可逆性を得ることが困難な材料である⁵⁾。また、充電時に活物質粒子の膨張によって電極厚みが増加するため、そのままでは実電池として良好に機能させることができない。Siの微粉化を抑制し、サイクル特性を向上させるためには、Siのナノサイズ化が必要と考えられる。我々は、ナノサイズSiがアモルファス SiO_2 中に分散した構造を有する、いわゆる“SiO”^{6,7)}に着目し、さらにカーボンと複合化することにより初回充放電効率とサイクル特性の向上を確認した。そこで本報では、“SiO”の構造や充放電反応機構を明らかにする目的で各種分析を行った結果について、その電池特性とあわせて報告する。

2. SiOの構造と充放電特性

SiOはXRD測定では非晶質であり、その回折プロファイルから結晶構造を明らかにすることが難しい。そこで、非晶質材料の構造解析に有効なXAFS測定を行った。Fig.1にSiOのXANESプロファイルを示す。1842 eVにSiに対応する吸収端と1849 eVに SiO_2 に対応する吸収端が観測されたことから、SiOは2価のSiを含む酸化物ではなく、Siと SiO_2 の混合物であることがわかった。Fig.2にSiO粒子のTEM観察結果を示す。明

瞭な格子縞を示す直径約3 nmの結晶性Si粒子が、非晶質 SiO_2 のマトリクス中に観察された。これらの結果から、SiOは非晶質 SiO_2 のマトリクス中にナノサイズのSiが分散した構造であることが確認できた。

SiOは導電性に乏しく、そのままでは良好な充放電特性を得ることが難しいため、造粒と表面被覆によりカーボンと複合化することでSiOに導電性を付与した。SiOとカーボンを複合化した材料(SiOC)の初回および2サイクル目の充放電曲線をFig.3に示す。比較として、SiOと黒鉛を重量比1/1で単純混合した負極の結果も併記した。SiOとカーボンを複合化することで、初回の充放電効率は53.5 %から72.7 %に向上した。



山田 將之

3. STEM-EELSによるSiOの充放電反応機構の解明

SiOと黒鉛を混合した負極の初回充電容量は1382 $\text{mAh}\cdot\text{g}^{-1}$ 、放電容量は740 $\text{mAh}\cdot\text{g}^{-1}$ 、充放電効率は53.5 %であった。一方、SiOCの初回充電容量は1200 $\text{mAh}\cdot\text{g}^{-1}$ 、放電容量は872 $\text{mAh}\cdot\text{g}^{-1}$ で、充放電効率は72.7 %を示し、SiOと黒鉛の混合負極に比べて初回充

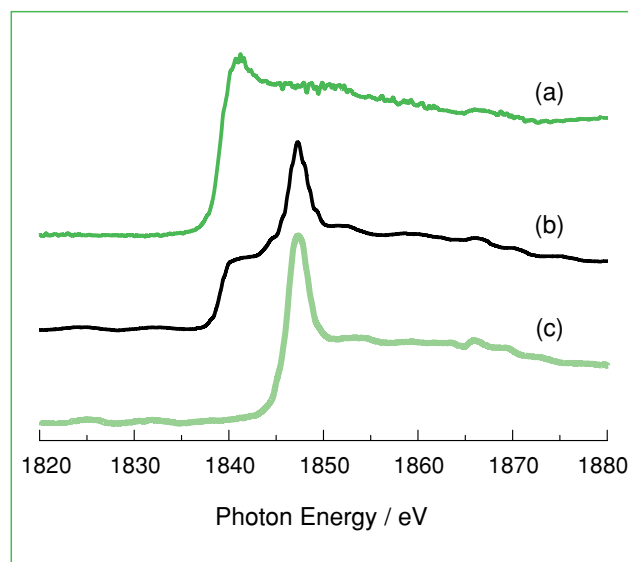


Fig. 1 The Si K-edge XANES spectra of (a) Si, (b) SiO, and (c) SiO_2 .

* 日立マクセル株式会社 開発本部 電池開発センター

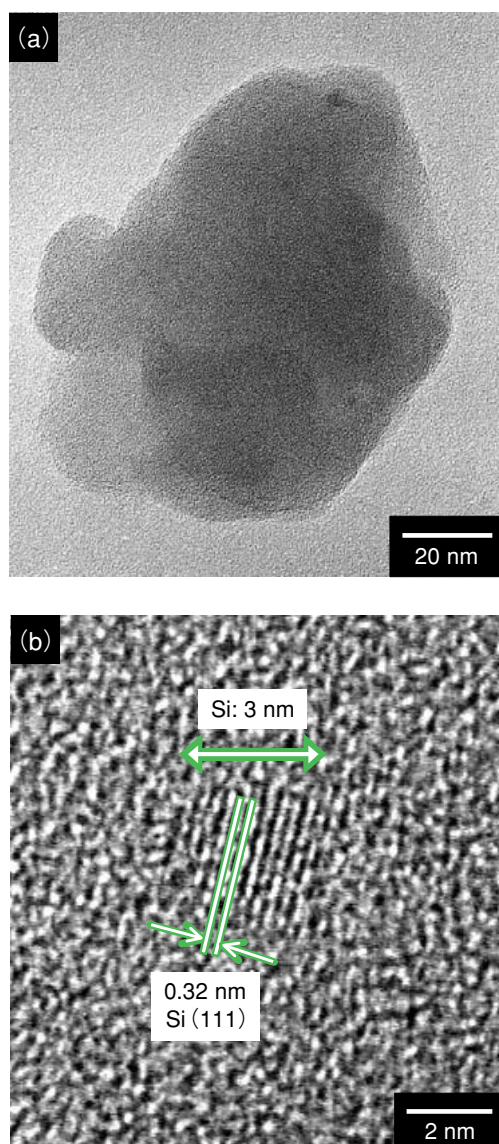


Fig. 2 High-resolution TEM images of (a) SiO particle and (b) a lattice fringe of silicon in a moiré-image interference pattern.

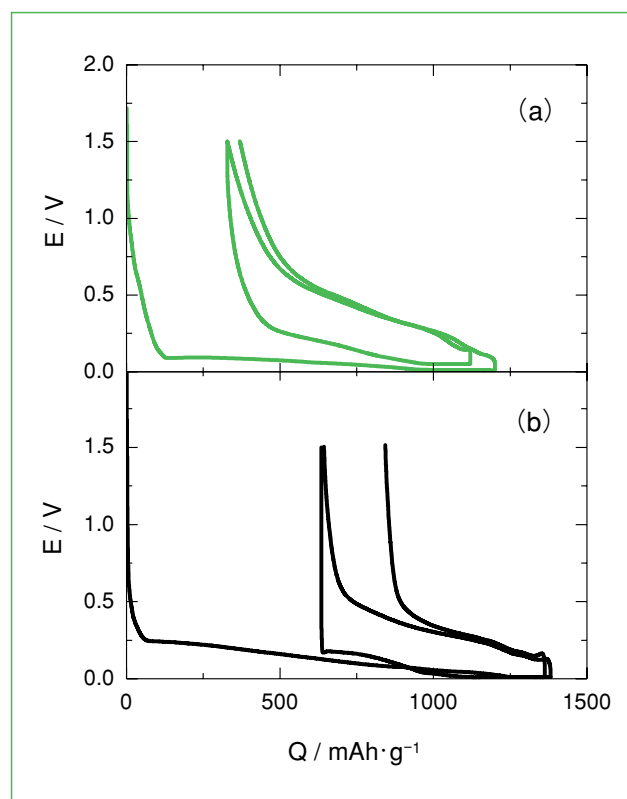


Fig. 3 Charge and discharge curves of (a) the SiOC and (b) the mixture of SiO and graphite examined in lithium cells at 0.25 mA·cm⁻² in voltage ranging from 0.01 to 1.50 V at 23 °C. The first and second cycles are shown.

Table 1 Charge and discharge capacities of the SiOC and the mixture of SiO and graphite at first cycle.

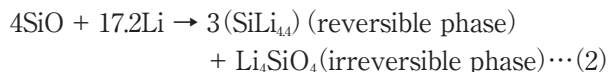
	Charge capacity mAh·g ⁻¹	Discharge capacity mAh·g ⁻¹	First efficiency %
SiOC (per weight of SiO)	1200 (2560)	872 (1869)	72.7
Mixture of SiO and graphite (per weight of SiO)	1382 (2570)	740 (1388)	53.5

放電効率が約20 %増加した。**Table 1**に充放電試験結果をまとめる。表中()内の容量はSiOあたりに換算した値である。SiOCの初回充放電効率は72.7 %であり、下式(1)のLi₂Oが生成する充放電反応式から計算される初回充放電効率68.8 %よりも高い値を示した。よって、SiOとLiは(1)式とは異なる反応を示すことが推察される。



SiOとLiの充放電反応を明らかにするために、充放電後のSiOCの構造解析をおこなった。充放電前後の電極のXANES測定から、充放電後においても初期と同様に0価と4価のSiが残存していることがわかった。また、**Fig.4**に示すNMRの結果から、4価のSiは主にLi₄SiO₄であることが明らかとなった^{8,9)}。以上の結果を確認するため、電極のSTEM-EELS測定をおこなった。充電後や放電後の負極のTEM観察は、薄膜化後のサンプルの反応性が非常に高いことから、これまで困難であった。今回は日立ハイテクで開発された雰囲気遮断ホルダを用いることで、薄膜化後の負極サンプルを観察することが可能となった。**Fig.5**に雰囲気遮断ホルダの構造を示す。Ar中でサンプリングした電極サンプルを(a)の先端にマウントし、FIBで薄膜加工した後、(b)に示すように筒の中に密封してSTEM装置に真空搬送した。このようにして測定したSiOCのSTEM像を**Fig.6**に、分析点IおよびIIのEELSスペク

トルを**Fig.7**に示す。充放電によっても、非晶質マトリクス中にSi微結晶が分散した構造は変化しておらず、Si微結晶と考えられる黒い部分(分析点I)のSiは0価、マトリクスと考えられる白い部分(分析点II)のSiは4価であることが、EELS測定より明らかとなった。また、EDXによる組成分析から、マトリクス部分はSiとOの比率が1:4となっており、この結果からもLi₄SiO₄の存在が示唆された。初回充電時の不可逆反応によってLi₄SiO₄が生成すると仮定すると、SiOとLiの反応は下式(2)となる。この反応式から初回の充電容量を求めると2610 mAh・g⁻¹となり、SiLi_{4.4}が続く充放電容量を支配すると考えた場合、初回の充放電効率が76.7 %と得られ、先の実験結果72.7 %よりも高くリーズナブルな値を示した。



以上の結果から、SiOとカーボンを複合化することによって導電ネットワークが強化され、式(2)で表されるSiOの充放電反応がすべてのSiO粒子で起こった結果、SiOCにおいて72.7 %という高い初回充放電効率が得られたと考えられる。

4. SiOを用いた角形電池の特性

Fig.8にSiOCと黒鉛からなるハイブリッド負極を用いた角形電池の0.2 Cでの放電曲線を、黒鉛のみの負極の電池と比較して示す。SiOCを負極に導入するこ

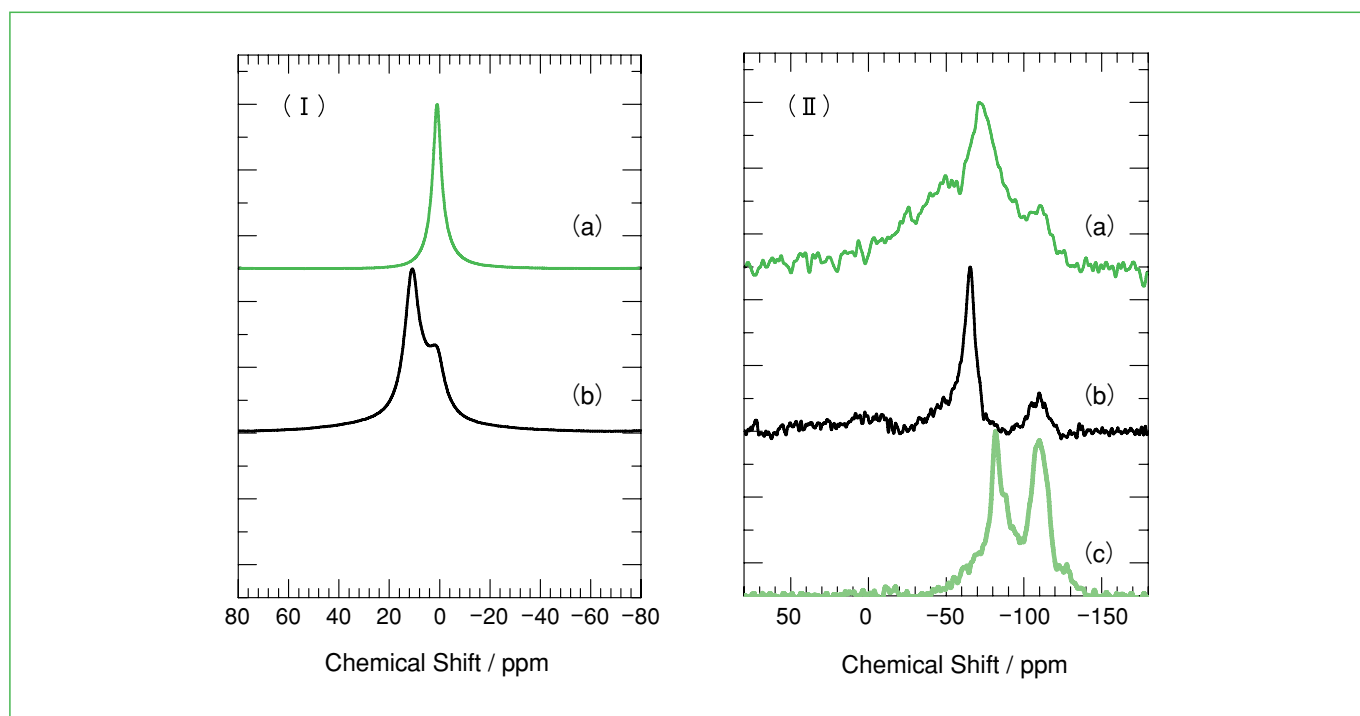
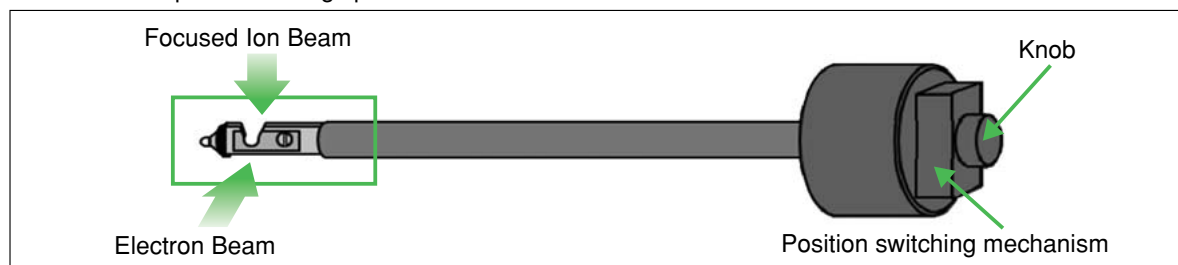


Fig. 4 NMR spectra of the SiOC negative electrode focused on (I) ⁷Li and (II) ²⁹Si at (a) discharged state, (b) charged state, and (c) initial state. These peaks are assigned with follow compositions.
(I) ⁷Li NMR: 0 ppm (Li-silicate and/or Li-salt), 11 ppm (Li_xSi)
(II) ²⁹Si NMR: -66 ppm (Li₄SiO₄), -82 ppm (Si), -110 ppm (SiO₂ and/or Li_xSi)

(a) The atmosphere blocking specimen holder for transfer



(b) The tip of the specimen holder

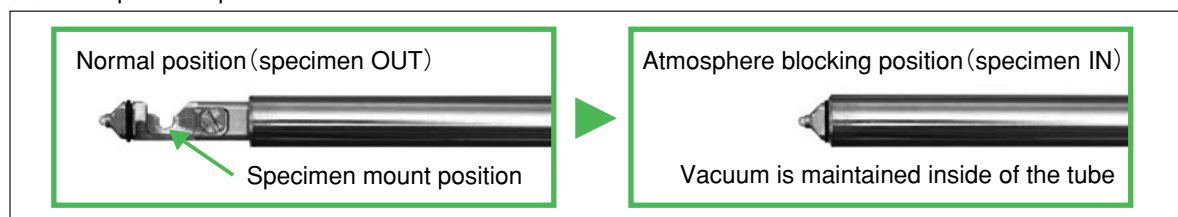


Fig. 5 The specimen holder for STEM-EELS system. Schematic images of (a) the atmosphere blocking specimen holder for transfer, and (b) the tip of the specimen holder.

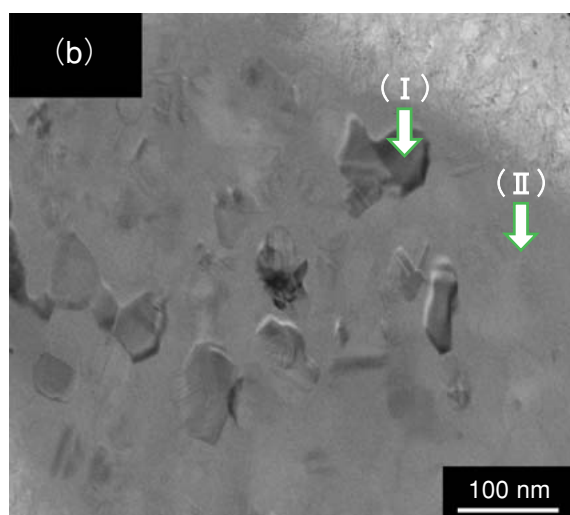
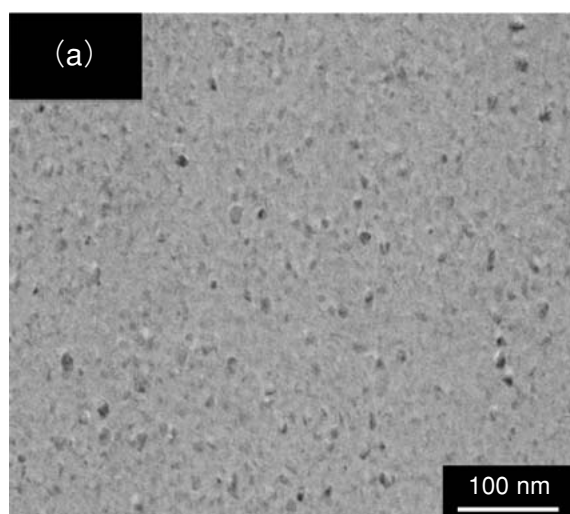


Fig. 6 High-resolution STEM images of SiOC particle at (a) before cycle and (b) after a cycle.

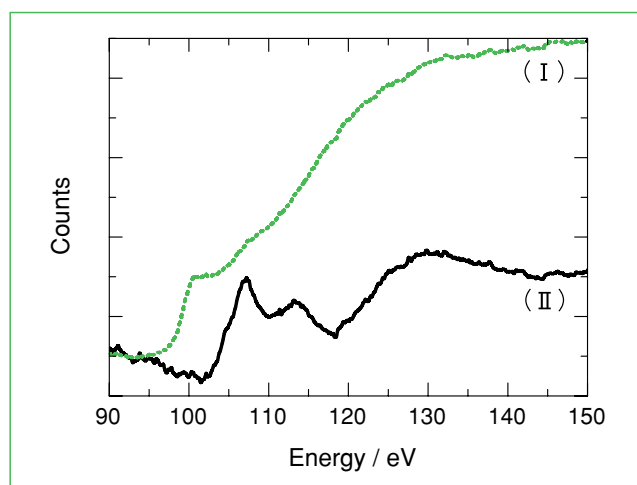


Fig. 7 Si L-edge EELS spectra of SiOC at point (I) and (II) of SiO shown in Fig.6. Energy loss peaks at 100 and 107 eV indicate Si^0 and Si^{4+} state, respectively.

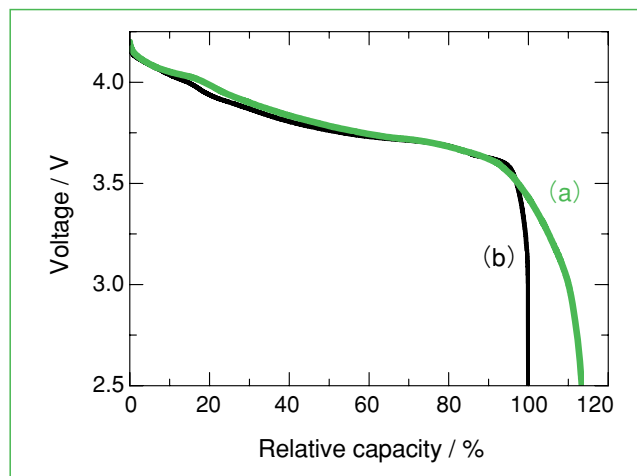


Fig. 8 Discharge curves of the trial prismatic batteries consisting of (a) hybrid of graphite and SiOC, and (b) graphite negative electrode and layered positive electrode examined in voltage ranging from 2.5 to 4.2 V at 0.2 C-rate at 23 °C.

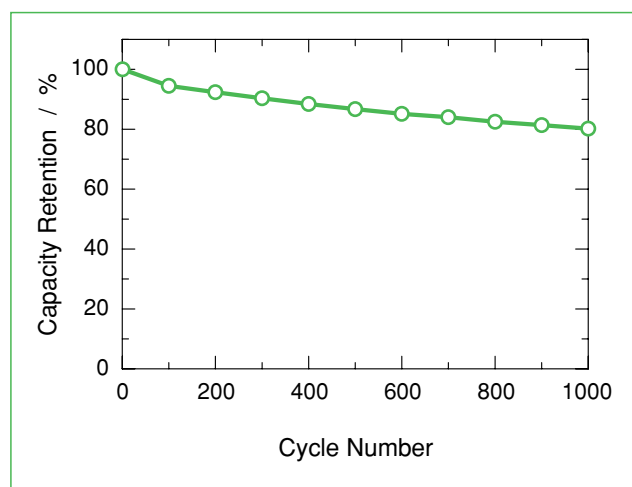


Fig. 9 Capacity retention as a function of cycle numbers for hybrid of graphite and SiOC negative electrode, examined at 1C-rate in discharge at 23 °C in the trial prismatic batteries with layered positive electrode.

とで、電池の放電容量が約10 %高まった。Fig.9にSiOCを用いた角形電池のサイクル特性を示す。SiOCを用いた電池では、1000サイクル後においても初期の80 %の容量を維持しており、非常に良好なサイクル特性を示した。

5. おわりに

SiOCを用いた負極は、黒鉛のみを使用した従来の負極に比べ放電容量を高められるとともに、充放電時のシリコンの体積変化を緩和できることで優れたサイクル特性も併せ持つ。SiOCを用いた電池は大電流時の充放電特性にも優れ、高負荷での充電時間を従来の電池と比べ30 %以上短縮することもできる。開発した次世代の負極技術を発展させ、高い安全性を確保した上で一層の高性能化や高容量化を今後も進めていきたい。そのためには、様々な劣化機構を詳細に解析していく必要がある。STEM-EELS用の雰囲気遮断ホルダなど、リチウムイオン電池の構造解析に有用な技術が今後も継続して開発されることを期待する。

参考文献

- 1) T. Ohzuku, A. Ueda, and N. Yamamoto : J. Electrochem. Soc., **142**(5), p.1431 (1995).
- 2) N. Yabuuchi, Y. Makimura, and T. Ohzuku : J. Electrochemical Soc., **154**, A314 (2007).
- 3) T. Ohzuku, Y. Iwakoshi, and K. Sawai : J. Electrochem. Soc., **140**, p.2490 (1993).
- 4) H. Inoue : IMLB2006, Abstract#228 (2006).
- 5) J. O. Besenhard, P. Komenda, and M. Josowicz : Solid State Ionics, **18&19**, p.823 (1986).
- 6) A. Hohl, T. Wieder, P. A. van Aken, T. E. Weirich, G. Denninger, M. Vidal, S. Oswald, C. Deneke, J. Mayer, and H. Fuess : J. Non-Cryst. Solids, **320**, P.255 (2003).
- 7) Y. Nagao, H. Sakaguchi, and T. Esaka : J. Electrochem. Soc., **151**, P.1572 (2004).
- 8) L. A. Stearns, J. Gryko, J. Diefenbacher, G. K. Ramachandran, and P. F. McMillan : J.Solid State Chem., **173**, p.251 (2003).
- 9) M. Takahashi, H. Toyuki, M. Tatsumisago, and T. Minami : Solid State Ionics, **86-88**, p.535 (1996).

糖鎖，糖ペプチドのHILIC分離分析

HILIC separation of glycans and glycopeptides

出口 喜三郎*

1. はじめに

1906年，Twettがシンプルでかつパワーフルなクロロフィルの分離手段として考案したのは，今で言う順相クロマトグラフィーであった。しかし，1970年代に高性能シリカODS(octadecyl silyl基で表面修飾)カラムが開発されて以来，逆相クロマトグラフィーは極性の有無に関わらず広範囲の化合物の分離分析に利用されるようになった。例えば，イオンペア剤を用いてイオン性化合物の分離分析にも応用されている。一方，順相クロマトグラフィーでは，10–40%の水溶液を用いる水系順相クロマトグラフィー(HILIC：hydrophilic interaction chromatography)^[1, 2]が，生体由来の親水性化合物の分離分析において見直されている。その理由の一つは，選択的で高感度な質量分析計(MS)がHPLCの検出器として次第に普及してきたことによる。水系溶離液は気化し難く，また，塩やイオンペア剤などは目的化合物のイオン生成を著しく阻害する。揮発性の有機溶媒比率が高く，高濃度の塩やイオンペア剤を必要としないHILICは，ESI(electrospray ionization)-MSにとって相性が良いからである。

本来，逆相モードと順相／HILICモードは相補的な関係にあり，生体由来の複雑な親水性化合物の分離分析では，HILICモードが適している場合もある。例えば，酸性および塩基性代謝物，オリゴ核酸，オリゴ糖，糖ペプチド，リン酸化ペプチドなどはその典型的な化合物といえる。HILIC分離カラムにおいても，シリカ，アミン，アミド系の従来カラムに加えて，ポリアミン，ポリアクリル酸，ポリビニル，シクロデキストリン，両イオン性カラムなどが市販され，その応用も次第に拡大しつつある^[3]。本報文では，N(アスパラギン)およびO(セリン／スレオニン)結合型糖鎖と糖ペプチドの分離分析に焦点を当てながら，HILIC分離分析を紹介したい。

2. 糖鎖のHILIC分離

糖鎖のHILIC分離は古く，アミノプロピル基で修飾されたシリカゲルによる分離が1975年に報告されている^[4]。また，Alpertらは，遊離および誘導体化糖鎖を用いて，HILIC分離のメカニズム(液-液分配)を議論

した^[2]。しかし，多くの立体および構造異性体を持つ糖鎖の系統的な分離には，逆相(ODS)カラムとHILIC(アミド)カラムを組み合わせた，いわゆる，2次元(2D)クロマトグラフィーが必要である^[5]。Takahashi等は保持インデックス(直鎖状オリゴ糖鎖との相対的保持時間)に基づく糖鎖分析法(2D糖鎖マッピング法)を確立し，さらに，弱イオン交換(DEAE)カラムをも組み合わせた3Dマッピング法へと発展させた^[6]。3D糖鎖マッピング法は，シアリル糖鎖を含めた2-アミノビリジル誘導体化(PA)N結合型糖鎖の系統的分離分析法であり，500種ほどの糖鎖保持インデックスデータはインターネット上で公開されている(<http://www.glycoanalysis.info/ENG/index.html>)。一方，Rudd等は，2-アミノベンズアミド誘導体化(AB)NおよびO結合型糖鎖の2次元(弱イオン交換(DEAE)とHILIC(アミド)カラム)クロマトグラフィー分離の保持インデックスとMSⁿ(n=1, 2)スペクトル情報のデータベースを利用した方法を開発している^[7]。逆相(ODS)カラムでの分離分析をMSⁿスペクトル情報で代用することになるが，異性体の識別にMS²スペクトルは有効だが，十分でない場合もある^[8]。もちろん，ODSとアミドカラムで全ての糖鎖異性体を分離することも難しい。より効率的に糖鎖異性体を分離する新しいカラム(例えば，ポーラスグラファイトカーボン(PGC)^[9]やシクロデキストリンカラム^[10]，HILICモノリスカラム^[11])の開発はこれからも続いていくだろう。

最近，我々は，陰および陽イオン同時分析に用いられてきた両イオン性(ZIC：zwitterionic interaction chromatography)カラム^[12]が，HILICモードで糖鎖異性体に対して高い構造認識能を持っていることを見出した^[13]。図1は，ヒトIgG(免疫グロブリンG)タンパク質由来の中性PA-N結合型糖鎖を逆相(C30，野村化学社製)およびZIC-HILIC(Merck-SeQuant社製)カラムで分離したクロマトグラムを示す(日立M-8000 3DQ LC-MSを使用)。逆相(C30)カラム(図1A)では，異性体b，cは分離されているが，バイセクティングN-アセチルグルコサミン(GlcNAc)が付加した異性体



出口 喜三郎

* 金沢医科大学総合医学研究所先進医療研究部門 客員教授(理学博士)

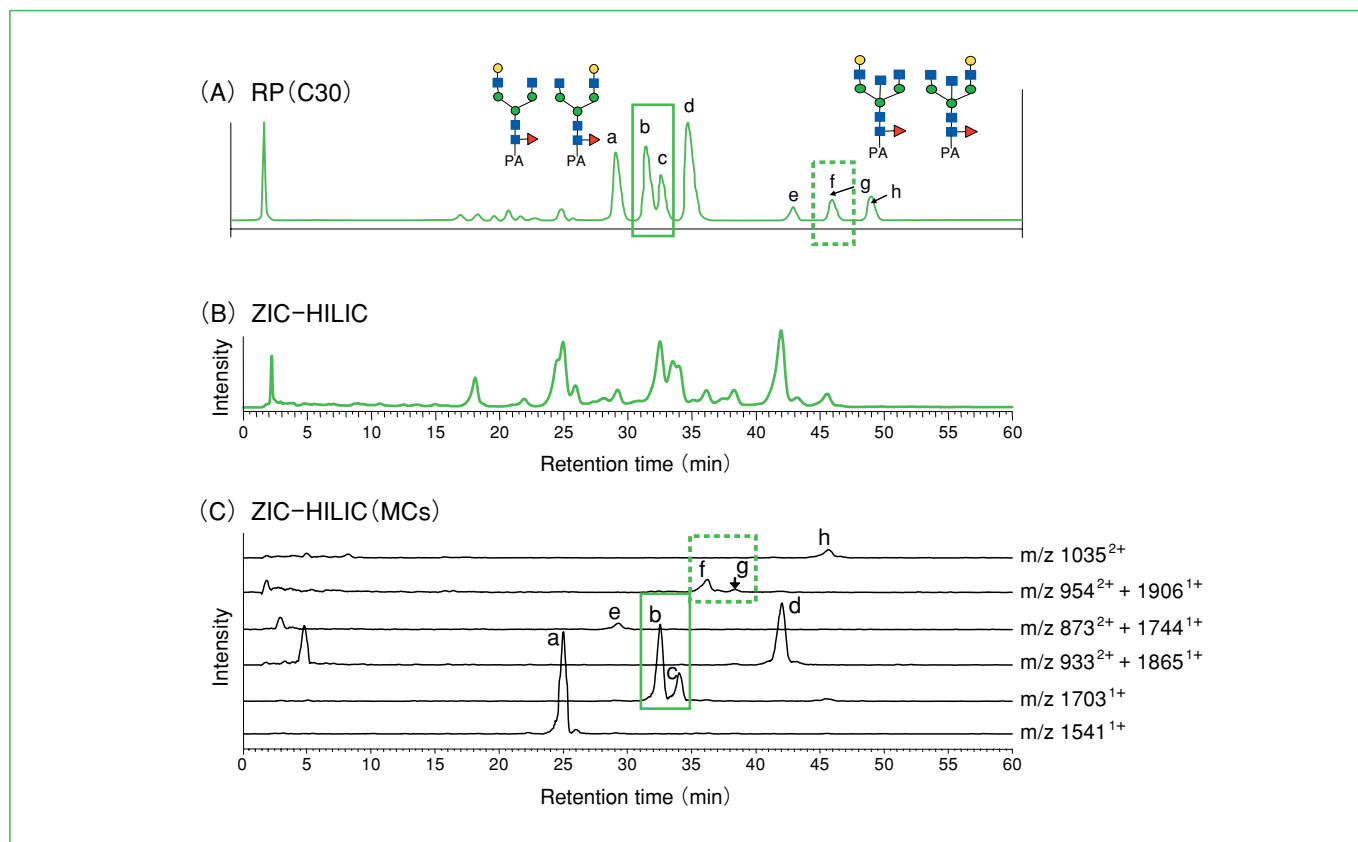


図1 ヒト血清IgG PA N結合型糖鎖の逆相(C30)とZIC-HILICカラム分離比較
(A) 逆相(C30)分離, (B) ZIC-HILIC分離, (C) ZIC-HILIC分離のマスキロマトグラム。

f, gは分離されない。一方, ZIC-HILICカラム(図1B)は, 異性体b, cおよび異性体f, gをよく分離している(図1C)。異性体f, gは, 従来のHILIC(アミド)カラムでも分離し難いものである。ZIC-HILICカラムは高い分子構造認識能を持っていることが分かる。

3. 糖ペプチドのHILIC分離

MSⁿ (n=1, 2) スペクトル情報とタンパク質やゲノムデータベース検索に基づくプロテオミクスは, 方法論的にはほぼ確立された感がある。しかし, ダイナミックレンジで10⁶⁻⁸も異なる何十万とも知れぬタンパク質やその酵素消化物をそのままMSⁿ解析することは不可能であり, 何らかの選択的な分離, 精製, 濃縮手段との組み合わせが必要となる。例えば, リン酸化や糖鎖修飾タンパク質の分離には金属やレクチン固定化アフィニティクロマトグラフィーが利用されている^[14, 15]。タンパク質の60%以上は糖鎖修飾されていると言われており, 結合している糖鎖も多様性に富んでいる。例えば, 抗体カラムで精製された1種類の糖タンパク質を酵素消化した場合, 糖鎖部が異なる多種類の糖ペプチドが得られる。また, 各糖ペプチド量は元の糖タンパク質より, さらに微量となる。従って, より高い選択的捕集や分離精製, より高感度なNanoLC-MSやCE-MSが必要となる。

糖ペプチドの分離分析においても, 逆相クロマトグラフィーが一般的に使用されている。しかし, 糖タンパク質の酵素消化物をODSカラムで分離する場合, 親水性の大きなN結合型糖ペプチドは保持が弱く分離が難しい。また, 保持されても, 糖鎖修飾されていないペプチドと一緒に溶出してくる。もし, これらペプチドが多量に存在するならば, 糖ペプチドのイオン化は阻害され, MS解析が一層難しくなる。Ohtaらは, ODSカラムにおいて, 塩の濃度が小さい溶離液では糖ペプチドがペプチドより早く溶出することに着目して, 糖ペプチドを分離分析する方法を提案した^[16]。一方, Wadaらは, セファローズビーズを用いて糖ペプチドを選択的に捕集, 回収した後, ODSカラムで分離分析を行っている^[17]。このHILICモードでのセファローズビーズによる捕集回収率は40%程度であるが, Kajiらは, レクチンアフィニティカラム精製と組み合わせることにより糖タンパク質の同定率が向上することを報告している^[15]。もう一つの方法はHILICカラムの応用である。しかし, ペプチド分離の報告は比較的多いが^[1-3, 18, 19], 糖ペプチドを分離分析した報告はまだ少ない^[20, 21]。

図2はヒトIgGタンパク質のトリプシン消化物をZIC-HILICカラムで分離したものである^[13]。UV(図2A)およびマスキロマトグラム(図2B)から分かるように,

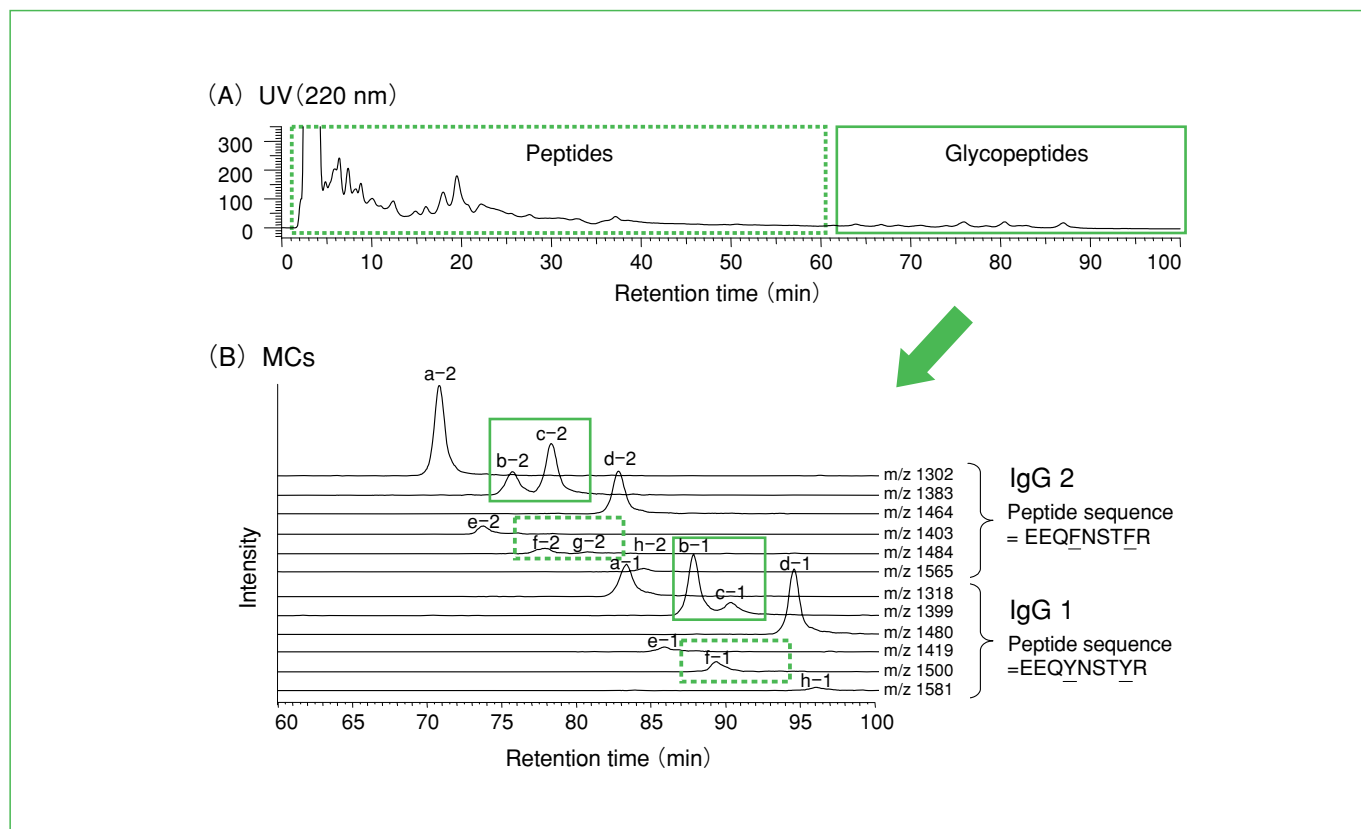


図2 ヒト血清IgGのトリプシン消化糖ペプチドのZIC-HILICカラム分離
(A) UV(220 nm)クロマトグラム, (B) 糖ペプチド溶出時間のマスククロマトグラム(2価イオン)。

ペプチドは早く溶出してくるが、親水性の大きい糖ペプチドは強く保持されて遅く溶出している。従って、糖ペプチドを選択的に分離分析することが可能である。マスククロマトグラム(図2B)は、異なるペプチド配列のIgG 1(EEQYNSTYR)およびIgG 2(EEQFNSTFR)に糖鎖(a-h)(図1参照)が結合した糖ペプチドのグラジエント溶出パターンを比較している。ここで注目すべき点は、糖ペプチド異性体(b-1/c-1 & b-2/c-2 および e-1/f-1 & e-2/f-2)が、図1Cと同じように分離していることである。糖鎖の還元末端に結合しているPA基やペプチド鎖は保持時間には影響を与えるが、分離パターン(選択係数)にはあまり影響を及ぼしていないと言える。

図3は増血ホルモンであるリコンビナントエリスロポエチン(rhEPO)のエンドプロテナーゼGlu-C酵素消化物をキャピラリーZIC-HILICカラム(SeQuant社製)で分離し、分析した例である(日立NanoFrontier MSを使用)^[22]。図3A, Bはトータルイオンカレントクロマトグラムと脱離シアル酸イオン(m/z 290.1)のマスククロマトグラムである。N結合型糖ペプチドは選択的に分離されているが(b領域)、糖鎖が短い(即ち、親水性が小さい)O結合型糖ペプチド(a領域)は早く溶出するので、糖鎖のない親水性のペプチドピークと重なっている。それでも糖ペプチド溶出部(a, b領域)のMSスペクトル解析とマスククロマトグラムから、8種のO結

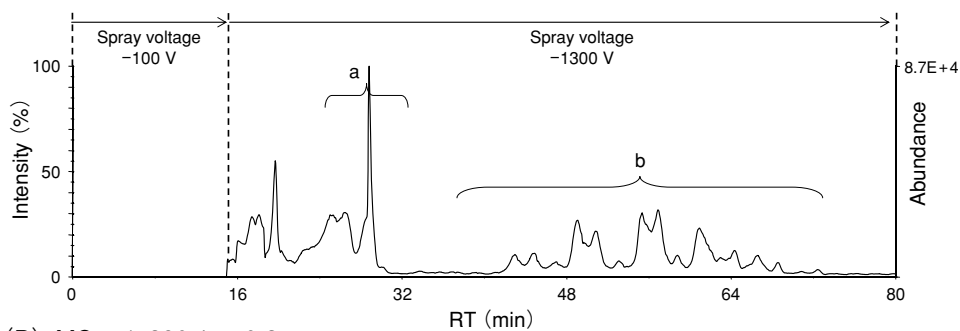
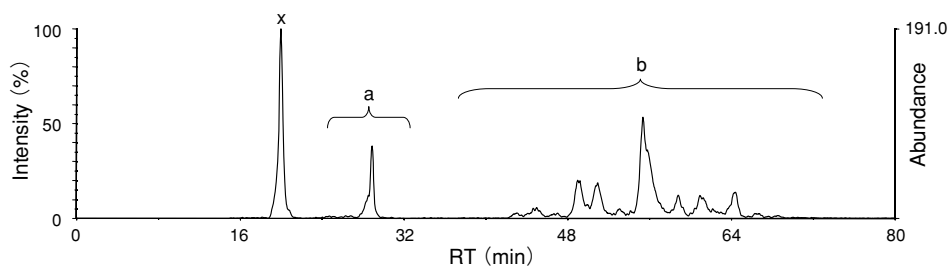
合型糖ペプチド(図3C)と105種のN結合型糖ペプチド(図3D)のプロファイリングを行うことができた。また、図3Eは4本鎖N結合型糖鎖をもつ糖ペプチドの分離を示す。糖ペプチド異性体も一部分離されている。

4. HILIC分離のメカニズム

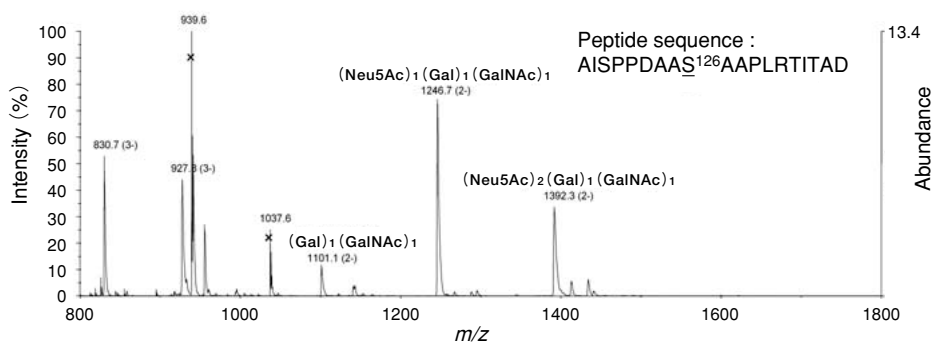
HILIC分離のメカニズムは、基本的には(液-液)分配で説明されている。つまり、極性の大きいカラム表面(固定相)に水の多い準固定相が形成され、極性の弱い移動相との間で溶質の分配平衡が成立しているとの理解である。Alpertらは、二糖(Gal-GlcNAcとGlcNAc-Gal)のアノマーピークの溶出(保持)挙動の違いから、固定相への糖鎖の配向の違いも重要であると指摘した^[2]。

ZIC-HILICカラムでは、PA-ジおよびトリシアリル糖鎖の保持時間が塩(酢酸アンモニウム)濃度の減少に伴い早まるが、中性糖鎖はあまり変化しない。また、シアル酸の結合様式(a1-6)の数が増えるに従い保持時間が遅れる。これらの特徴を説明するために提案したモデルが図4である^[23]。即ち、(液-液)分配(親水性相互作用)の他に、電解質(塩)イオン(E⁻, E⁺)によってシールドされた静電反発(スルフォアルキルペタイン基-シアル酸間)相互作用が保持に重要な役割を果たしていることを示している。また、回転自由度が大きい(a1-6)結合のシアル酸は、静電反発力を弱め

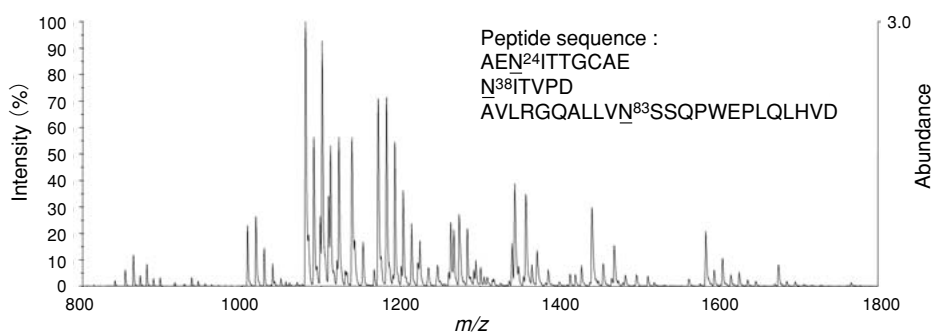
(A) TIC

(B) MC m/z 290.1 \pm 0.2

(C) 0–30 min



(D) 30–80 min



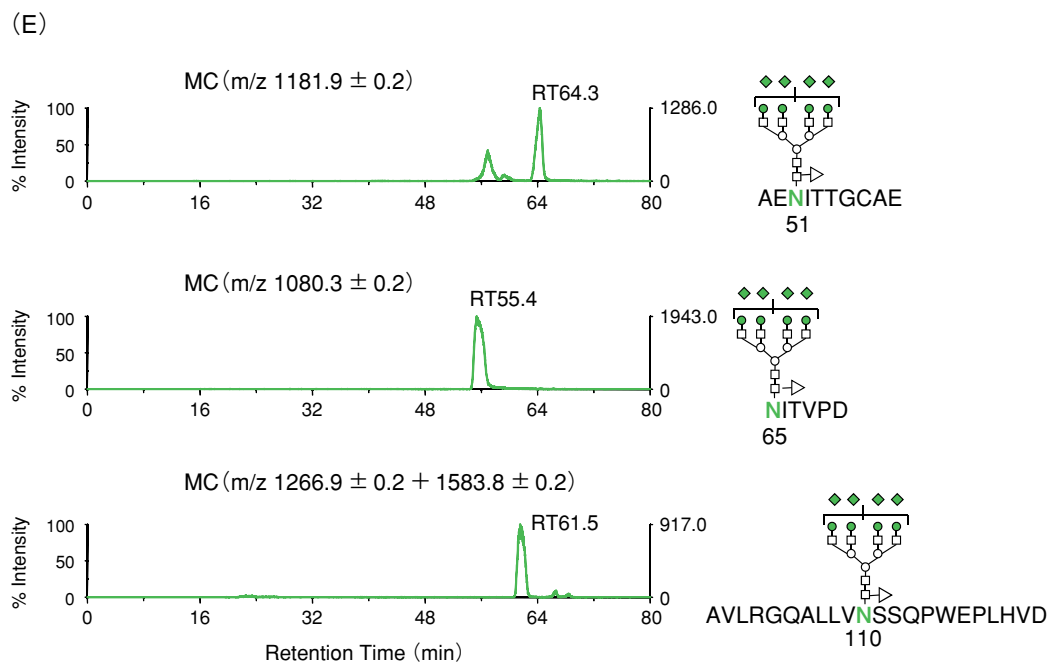


図3 リコンビナントエリスロポエチン(rhEPO)のGlu-C消化糖ペプチドのキャピラリZIC-HILIC カラム分離
(A) TICクロマトグラム, (B) 脱離シアル酸(陰)イオン(m/z 290.1)のマスキロマトグラム, (C) 溶出時間(a)のマスキロマトグラム,
(D) 溶出時間(b)のマスキロマトグラム, (E) 4本鎖N結合型糖鎖が結合した糖ペプチドのマスキロマトグラム。

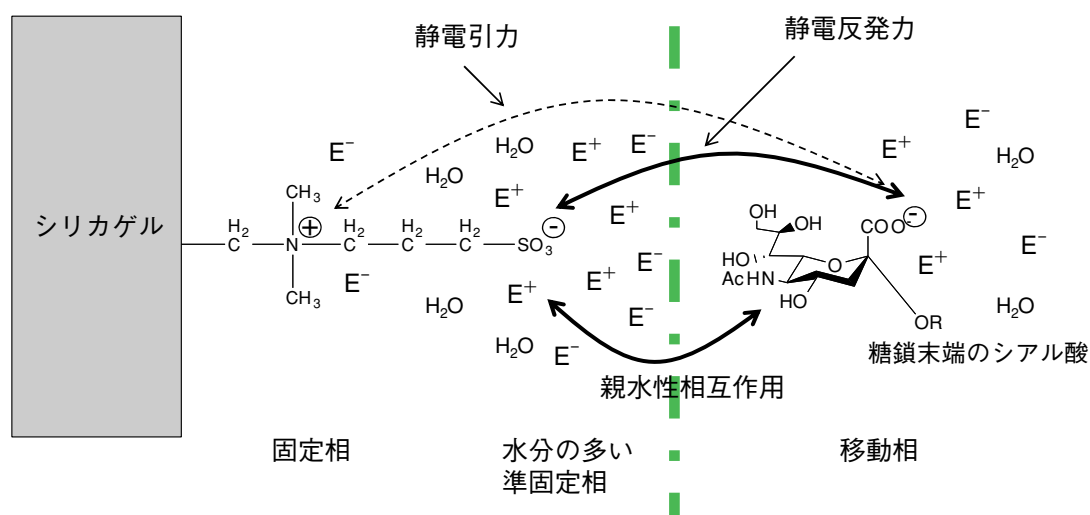


図4 シアリル糖鎖のZIC-HILIC分離モデル

るようにコンフォーメーションを変えることで保持を強めていると思われる。このように、HILICの分離メカニズムは、(液-液)分配(親水性相互作用)のみならず、静電引力(イオン交換)や静電反発(イオン排除)、コンフォーメーション変化などが複雑に絡み合っており、従って、塩濃度、pH、温度の影響を受けやすいと言える^[22-27]。しかし、このことは必ずしもマイナス要因とは言えず、上述の例(図1-3)から分かるように、高い選択性や分子構造認識能が得られるといったプラスの効果もある。

比較定量プロテオミクスでは、重水素置換されたペプチドの逆相カラムでの保持時間がシフトする現象が知られている(“クロマトグラフィー重水素同位体効果”と呼ばれている^[28])。同じイオン化条件でMS信号強度を比較するには、重水素置換の有無で2ピークは分離しないほうが望ましい。このために、保持時間差の小さい高価な安定同位体O¹⁸標識方法が勧められている。一方、ZIC-HILICカラムでの糖ペプチド分離では、逆相カラムより分離性能(理論段数)は劣るが、“クロマトグラフィー重水素同位体効果”は無視できるほどである^[29]。安価な重水素置換試薬が利用できることは、HILICモードの大きなメリットといえる。

5. 今後の展望

表面多孔性の高耐圧充填剤の開発でスタートしたHPLCの歴史は、より微細で高性能なカラム開発と高耐圧装置の開発と共に歩んできたといえる。今また、モノリスカラム、1.7 μm ポーラスシリカゲル、2.7 μm 表面多孔性溶融コアカラムによる超高速LCの時代を迎えている。プロテオーム(リン酸化や糖鎖修飾も含む)やメタボローム解析に代表されるような複雑な生体サンプルの分離分析では、一種類の分離モードでは限界があり、複数の分離モードを組み合わせた多次元LCとハイスループットな超高速LC-MSとの融合が必須という点では異論がないと思う。逆相モードと相補的なHILIC分離モードは、この観点からも、今後ますます重要になって行くだろう。

引用文献

- [1] Alpert, A. J. *J. Chromatogr.* **1990**, 499, 177-196.
- [2] Alpert, A. J.; Shukla, M.; Shukla, A. K.; Zieske, L. R.; Yuen, S. W.; Ferguson, M. A. J.; Mehlert, A.; Pauly, M.; Orlando, R. *J. Chromatogr. A* **1994**, 676, 191-202.
- [3] Hemström, P.; Irgum, K. *J. Sep. Sci.* **2006**, 29, 1784-1821.
- [4] Linden, J. C.; Lowbead, C. L. *J. Chromatogr.* **1975**, 105, 125-133.
- [5] Hase, S. in E. F. Hounsell (Ed.), *Glycoprotein Analysis in Biomedicine*, Humana Press, Totowa, NJ, **1993**, 69-80.
- [6] Takahashi, N. *J. Chrom. Library: Carbohydrate Analysis by Modern Chromatography and Electrophoresis* (Ed. El Rassi, Z.), Elsevier Science B. V., Amsterdam, Netherlands, **2002**, 66, 384-385.
- [7] Royle, L.; Mattu, T. S.; Hart, E.; Langridge, J. I.; Merry, A. H.; Murphy, N.; Harvey, D. J.; Dwek, R. A.; Rudd, P. M. *Anal. Biochem.* **2002**, 304, 70-90.
- [8] Deguchi, K. *Trends Glycosci. Glyc.* **2008**, 20, 81-95.
- [9] Kawasaki, N.; Ohta, M.; Hyuga, S.; Hashimoto, O.; Hayakawa, T. *Anal. Biochem.* **1999**, 269, 297-303.
- [10] Liu, Y.; Ugaonkar, S.; Verkade, J. G.; Armstrong, D. W. *J. Chromatogr. A* **2005**, 1079, 146-152.
- [11] Horie, K.; Ikegami, T.; Hosoya, K.; Saad, N.; Fiehn, O.; Tanaka, N. *J. Chromatogr. A* **2007**, 1164, 198-205.
- [12] Viklund, C.; Sjogren, A.; Irgum, K.; Nes, I. *Anal. Chem.* **2001**, 73, 444-452.
- [13] Takegawa, Y.; Deguchi, K.; Keira, T.; Ito, H.; Nakagawa, H.; Nishimura, S.-I. *J. Chromatogr. A* **2006**, 1113, 177-181.
- [14] Ishihama, Y. *Chromatography* **2008**, 29, 25-31.
- [15] Kaji, H.; Isobe, T. *Trends Glycosci. Glyc.* **2006**, 18, 313-322.
- [16] Ohta, M.; Kawasaki, N.; Hyuga, S.; Hyuga, M.; Hayakawa, T. *J. Chromatogr. A* **2001**, 910, 1-11.
- [17] Wada, Y.; Tajiri, M.; Yoshida, S. *Anal. Chem.* **2004**, 76, 6560-6565.
- [18] Yoshida, T. *Anal. Chem.* **1997**, 69, 3038-3043.
- [19] Yoshida, T. *J. Biochem. Biophys. Methods* **2004**, 60, 265-280.
- [20] Zhang, J.; Wang, D. I. C. *J. Chromatogr. B* **1998**, 712, 73-82.
- [21] Wuhrer, M.; Koeleman, C. A. M.; Hokke, C. H.; Deelder, A. M. *Anal. Chem.* **2005**, 77, 886-898.
- [22] Takegawa, Y.; Ito, H.; Keira, T.; Deguchi, K.; Nakagawa, H.; Nishimura, S.-I. *J. Sep. Sci.*, **2008**, 31, 1585-1593.
- [23] Takegawa, Y.; Deguchi, K.; Ito, H.; Keira, T.; Nakagawa, H.; Nishimura, S.-I. *J. Sep. Sci.* **2006**, 29, 2533-2540.
- [24] Guo, Y.; Gaiki, S. *J. Chromatogr. A* **2005**, 1074, 71-80.
- [25] Jiang, W.; Fischer, G.; Girmay, Y.; Irgum, K. *J. Chromatogr. A*, **2006**, 1127, 82-91.
- [26] Kondo, A.; Kiso, M.; Hasegawa, A.; Kato, I. *Anal. Biochem.* **1994**, 219, 21-25.
- [27] Alpert, A. *J. Anal. Chem.* **2008**, 80, 62-76.
- [28] Zhang, R.; Regnier, F. E. *J. Proteome Res.* **2002**, 1, 139-147; Julka, S.; Regnier, F. E. *J. Proteome Res.* **2004**, 3, 350-363.
- [29] Takegawa, Y.; Hato, M.; Deguchi, K.; Nakagawa, H.; Nishimura, S.-I. *J. Sep. Sci.*, **2008**, 31, 1594-1597.

日立卓上顕微鏡 Miniscope[®] TM3000の特長と応用

Features and Applications of Tebletop Microscope Miniscope[®] TM3000

坂上 万里* 安島 雅彦**

1. はじめに

走査電子顕微鏡 (SEM) は試料表面の微細構造の観察及び分析装置として、バイオから半導体、エレクトロニクスまで、多岐にわたる分野で幅広く利用されている。SEMは汎用的なツールになりつつある半面、設置条件が限られていることや画像を得るための機能も多く、良好な画像を取得するための操作習得や条件設定に時間を要するといった問題点もある。弊社ではこれらを払拭し、身近に置いて、誰でも簡単に使用できることをコンセプトとした小型の卓上顕微鏡 Miniscope[®] TM-1000を2005年から発売している。今回、その次世代機として、Miniscope[®] のコンセプトはそのままに、よりコンパクトで、さらに機能を充実させたTM3000を開発した(図1)。



図1 TM3000装置外観図

2. TM3000の特長

2.1 シンプル操作と多彩な観察モード

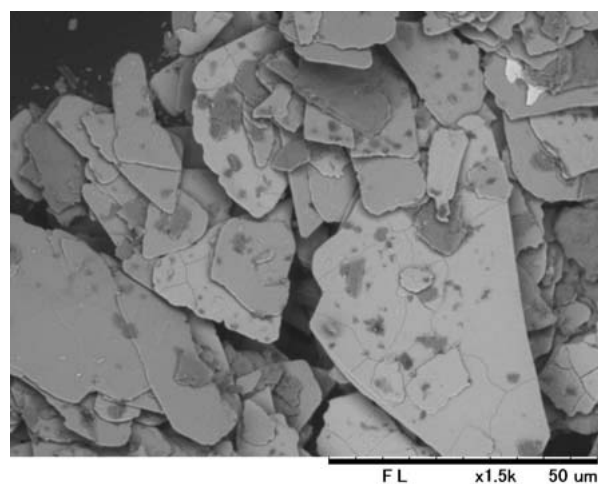
TM3000では、シンプル操作を実現するために、フォーカスや輝度調整などの操作はオート機能化している。真空ポンプにはターボモレキュラーポンプを採用し、電源投入後約3分で観察可能である。TM3000の試料室は低真空に調整され、「標準モード」とより低真空状態に設定し、帯電を軽減できる「帯電軽減モード」が選択できる。低真空観察では、電子線照射により試料室内の残留ガス分子をイオン化し、試料表面に帯電した電荷を中和することで帯電現象を抑制するため、絶縁物や水分・油分を含んだ試料でも前処理なしにそのまま観察することが可能である。また観察には反射電子を利用するので、組成の違いも確認することができる。さらに従来の卓上顕微鏡では、測定条件の選択を最小限に抑えるため、加速電圧を15 kV固定で観察していたが、より表面の情報を得るために、加速電圧15 kVの「通常」モードに加え、加速電圧5 kVの「表面」モードを新たに設定した。これらの観察モードは操作画面上のボタンをクリックするだけで簡単に切り替えられる。このとき、観察モードの切り替えに連動して、オート機能が動作し、フォーカス調整が行われ

るため、ストレスなく条件を選ぶことができる。図2は市販のアイシャドウの観察例である。加速電圧15 kVの「通常」モードでは板状の粒子が鮮明に観察できている。一方、「表面」モード(加速電圧5 kV)では粒子表面の組成の違いも把握できる。

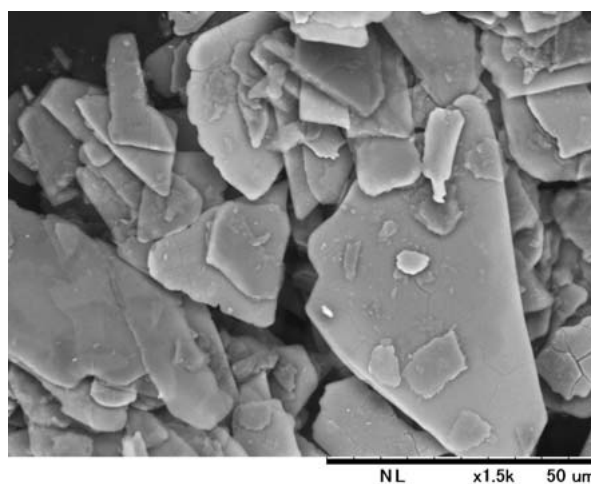
2.2 前処理なしでそのままEDX分析

TM3000はEDX(エネルギー分散型X線分析装置)を装着して元素分析を行うことができる。EDX検出器は液体窒素不要で、電源投入後数分で使用可能となるシリコンドリフト検出器を使用し、ボロン(B)からウラン(U)までの検出が可能である。また、検出器はTM3000本体内に収まる設計となっている。EDX用の試料は観察と同様、前処理せずにそのまま分析できる。実際の分析も非常に簡単であり、EDX用ソフトウェアは画像観察用ノートPCにインテグレートされている。まずTM3000の操作画面上で「分析」モードを選択すると、加速電圧15 kVで「通常」モードよりも約4倍の電流が得られ、分析に適した条件となる。あとは同PC内のEDX用ソフトウェアにTM3000の画像を取り込み、目的の場所を点分析やマッピングする。

* 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ノロジーズ 先端解析システム第一設計部

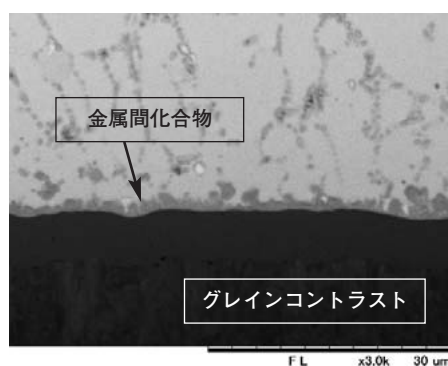


表面モード(加速電圧5 kV)



通常モード(加速電圧15 kV)

図2 アイシャドー(市販品)の観察例



表面モード(加速電圧5 kV)

分析モード(加速電圧15 kV)での
EDXマッピング例
TM3000+Oxford社 SwiftED3000使用

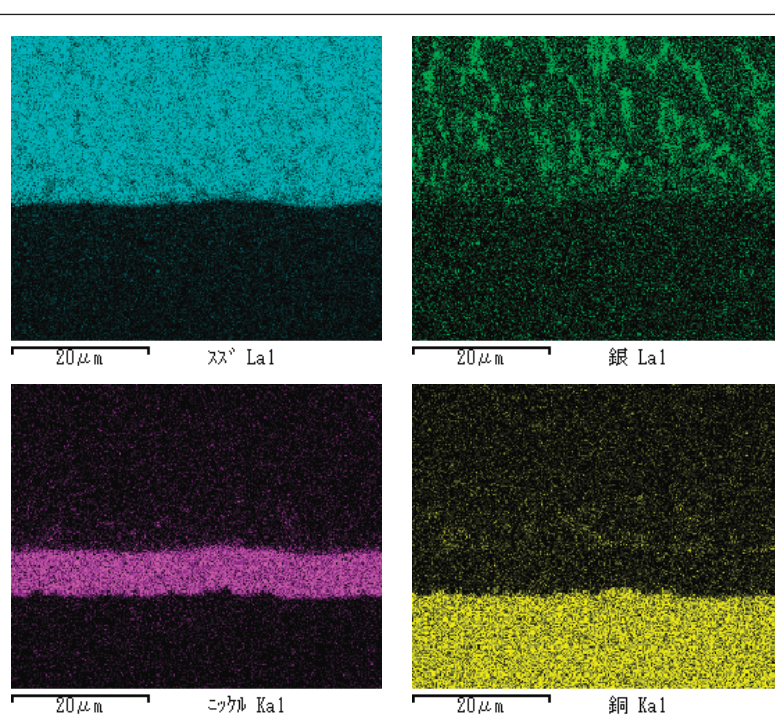


図3 はんだ断面の観察及びEDX分析例

3. 応用例

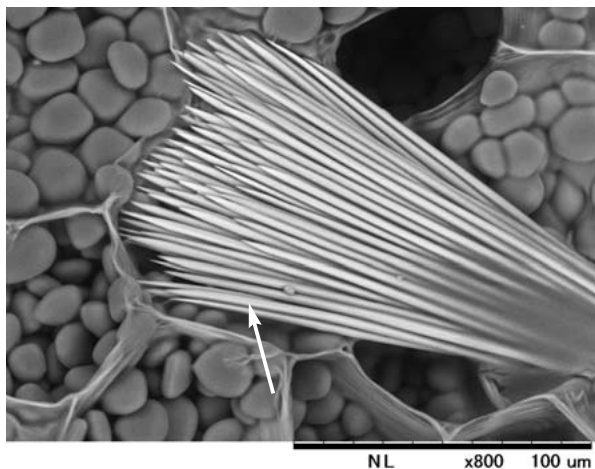
3.1 はんだ断面の観察例

電子部品の断面観察には試料を樹脂に包埋し、研磨する方法が一般的である。さらに断面の研磨傷やひずみを除去するためイオンミリング処理も行われる。図3は樹脂包埋して研磨後、さらにイオンミリング処理した、はんだの断面観察とEDX分析例である。加速電圧を5 kVの「表面」モードで観察することにより、金属間化合物の存在や結晶粒界を明瞭に確認でき

る。また、同試料をそのままEDX分析により各元素の局在状態も確認できている。

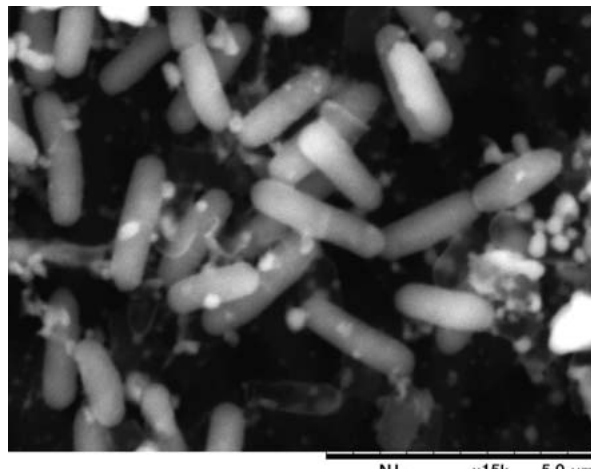
3.2 生物試料の観察例

TM3000では含水試料もそのまま観察できるため、食品や生物試料の観察も簡便に行える。図4にはヤマモの断面をそのまま観察した結果を示す。矢印は硝酸カルシウムの結晶である。細菌など微生物の観察にも、場合によっては、コントラストを強調させる白金



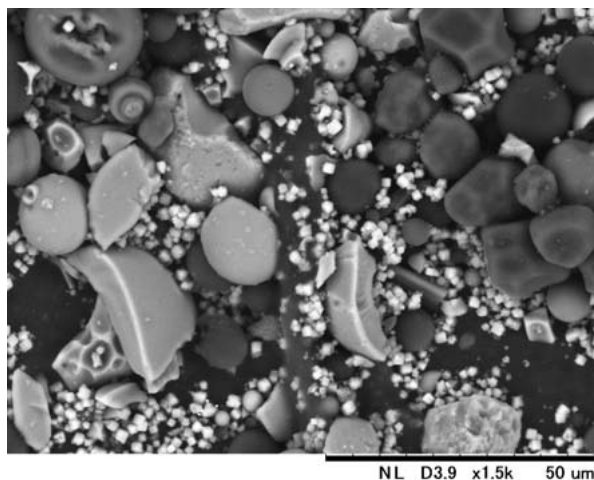
通常モード(加速電圧15 kV)

図4 ヤマイモの観察例

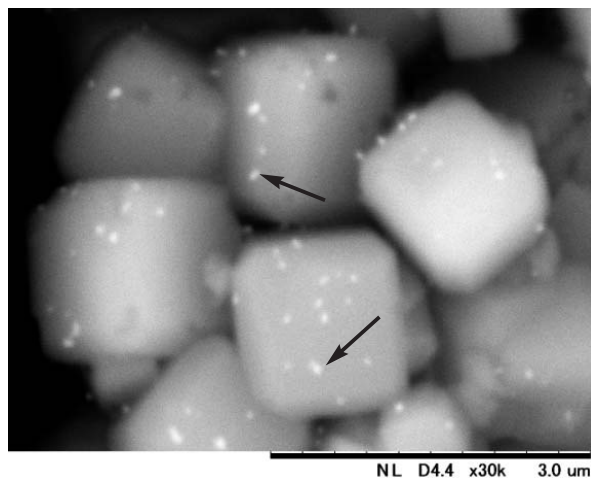


通常モード(加速電圧15 kV)

図5 納豆菌の観察例



通常モード(加速電圧15 kV)



通常モード(加速電圧15 kV)

図6 パウダースプレーの観察例

ブルー染色を施すことで、比較的簡単に観察することが可能である。図5に白金ブルー染色した納豆菌の観察例を示す。

3.3 粉末試料の観察例

パウダースプレーを試料台に吹き付け、観察した例を図6に示す。組成の異なる微粒子が混在している様子がコントラストの違いとして明瞭に捕えられている。さらにゼオライトの粒子を観察倍率3万倍まで拡大すると、その表面に銀の微粒子の存在(→)が確認できている。

4. 終わりに

シンプルな操作で誰でも簡単に使用できる卓上顕微鏡に、2段階の加速電圧切り替えや倍率範囲が拡大されたこと、分析機能も充実させたことにより、さらに利用範囲が広がるものと思われる。材料の品質管理や研究開発、さらには理科教育まで、様々な分野において活用されることを期待する。

NOBIAS RP-SG1を用いた絶縁油中微量PCBの測定

Measurement of PCBs in insulating oil by using NOBIAS RP-SG1

清水 克敏* 蛭田 多美*

1. はじめに

ポリ塩化ビフェニル(PCB)はその毒性により社会問題化し、1972年より製造・輸入が全面禁止された。PCBを含む廃棄物は、処理体制の整備が遅れたことから事業者が自己保管し対応したが、紛失や漏洩による環境汚染の問題を起し、2001年に「ポリ塩化ビフェニル廃棄物の適正な処理の推進に関する特別措置法」(PCB特別措置法)が制定され、PCB廃棄物は2016年7月までに無害化処理を完了させることが義務付けられた。

一方、PCBを使用していないとする電気機器等に微量のPCBに汚染された絶縁油を含むものが存在することが判明し、その量は電気機器が約450万台、OFケーブルが約1,400 kmに上ると推計されており、PCB汚染が疑われる膨大な重電機器について、PCB廃棄物か否かを測定により判断する必要がある。

絶縁油中微量PCBの測定には、平成4年厚生省告示第192号別表第2に定められている手法があるが、複雑な前処理や高額な分析費用、長い分析時間が必要であることから、環境省は短時間にかつ低廉な費用で絶縁油中の微量PCBを測定可能な方法として「絶縁油中の微量PCBに関する簡易測定法マニュアル」を作成し、2010年1月に第1版が公表された。

NOBIAS RP-SG1固相抽出用充填剤は、2010年6月に公表されたマニュアル第2版¹⁾に記載されている簡易定量法の「硫酸処理／ジビニルベンゼン－メタクリレートポリマーカラム分画／キャピラリーガスクロマトグラム／電子捕獲型検出器(GC/ECD)法」にて使用する前処理カラム用の充填剤である。本技術はJIS C2320電気絶縁油のJIS1～7種油及びDOPを適用範囲としており、固相抽出カラムを用いた分画操作を行うことで、絶縁油中の鉱油成分とPCBを効率よく分離精製することができ、微量のPCB濃度を測定することが可能である²⁾。以下に本技術の概要を説明する。

2. 測定方法概要

図1に本技術による絶縁油中の低濃度PCBのクリーンアップ操作フローを示す。

a) 試料の秤量：絶縁油試料約0.1 gを正確に秤量しヘ

キサンを添加する。

- b) 硫酸処理：硫酸を入れた分液漏斗に絶縁油試料を移し入れる。振とうした後静置してヘキサン層と硫酸層を分配させる。硫酸層を除去しヘキサン層を残し、その後、新たな硫酸を加え、振とう、静置し、ヘキサンを分取する。
- c) 濃縮：ヘキサン溶液を1 mL以下まで濃縮し、ヘキサンを加えて1 mLとする。
- d) 固相抽出：NOBIAS RP-SG1 3 gを湿式充填し、有機溶媒でコンディショニングを行った固相抽出カラムにヘキサン溶液を全量負荷する。自然流下にて樹脂に浸透させ、ヘキサンを静かに加え、試験管で絶縁油分画範囲のヘキサン16 mL(0-16 mL)を取り出し、PCB溶出分画範囲のヘキサン15 mL(16-31 mL)を正確に受けPCB溶出液とする。
- e) 硫酸処理：試料中のフタル酸エステル除去を目的として、再度硫酸処理を実施する。
- f) 中和・脱水：水酸化カリウム溶液を加えて中和し、静置後、下層の水層を除去する。ヘキサン溶液に、硫酸ナトリウムを加え脱水する。
- g) 濃縮：ヘキサン溶液を1 mL以下まで濃縮し、ヘキサンを加えて1 mLに定容する。これを測定溶液とする。
- h) 測定：HRGC/ECD(高分解能キャピラリーカラム装着GC/電子捕獲検出器)を用いる。

3. 前処理カラム

NOBIAS RP-SG1(図2)は、ジビニルベンゼン／メタクリレート共重合体を母体とし、官能基にフェニル基とジオール型水酸基を有する固相抽出用の充填剤である。絶縁油中低濃度PCBの測定には、NOBIAS RP-SG1 3 gを秤量し、メタノールによりスラリー状にし、ガラスウールを底部に詰めたガラス製のオープンカラム(14 mmI.D., 繰り返し使用可)に湿式充填の後、有機溶媒でコンディショニングを行った固相抽出カラムを使用する。

コンディショニングを行った固相抽出カラムに、絶縁油新油及びPCB標準試料を負荷し、絶縁油とPCBの溶出分画を確認した結果を図3に示す。絶縁油とPCBの溶出分画は殆ど重なることなく、良好に分離されている。

* 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

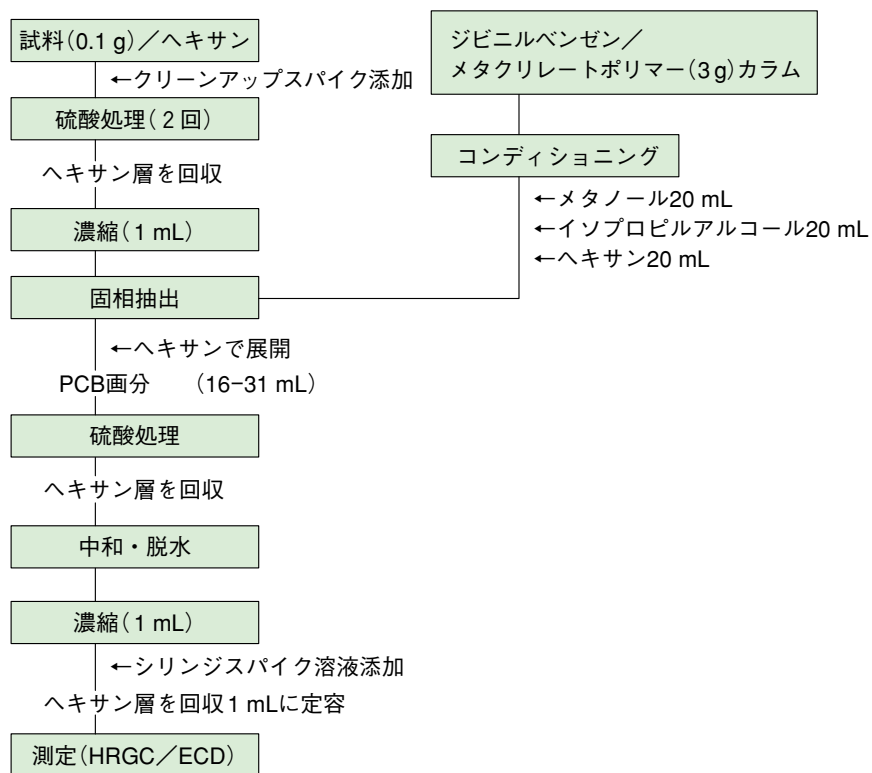


図1 操作フロー

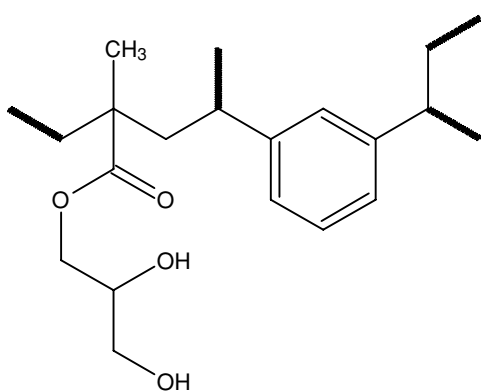


図2 NOBIAS RP-SG1の化学構造

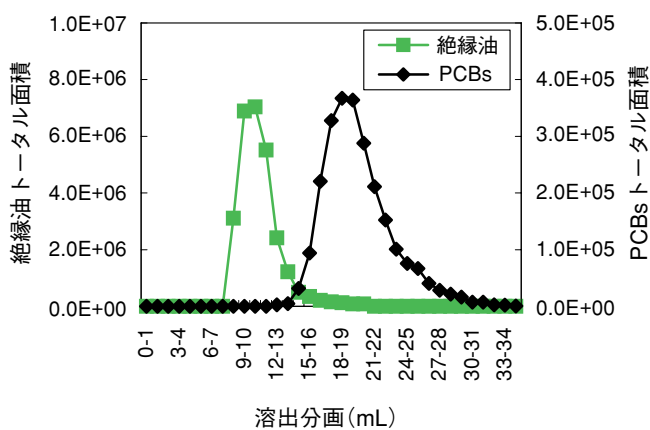


図3 絶縁油及びPCB溶出分画

4. 測定例

図4にNOBIAS RP-SG1固相抽出カラムを用いクリーンアップ操作を行った絶縁油JIS1～7種及びDOP0.5 mg/kgの添加回収試料クロマトグラムと、PCB標準試料0.05 mg/Lのクロマトグラムを示す。

NOBIAS RP-SG1固相抽出カラムによるクリーンアップを行うことで各油種ともに測定妨害要因となる絶縁油成分が除去され、十分なPCBを回収することが

可能であった。

表1は絶縁油JIS1～7種及びDOPの添加回収試料0.5 mg/kgを用い、7回繰返し試験を行った分析精度結果である。クリーンアップスパイク回収率は、すべての油種において70～120 %の範囲内であり、変動係数は3.06～5.34 %、分析法検出下限値(MDL)は0.06～0.10 mg/kgと良好な分析精度が得られた。

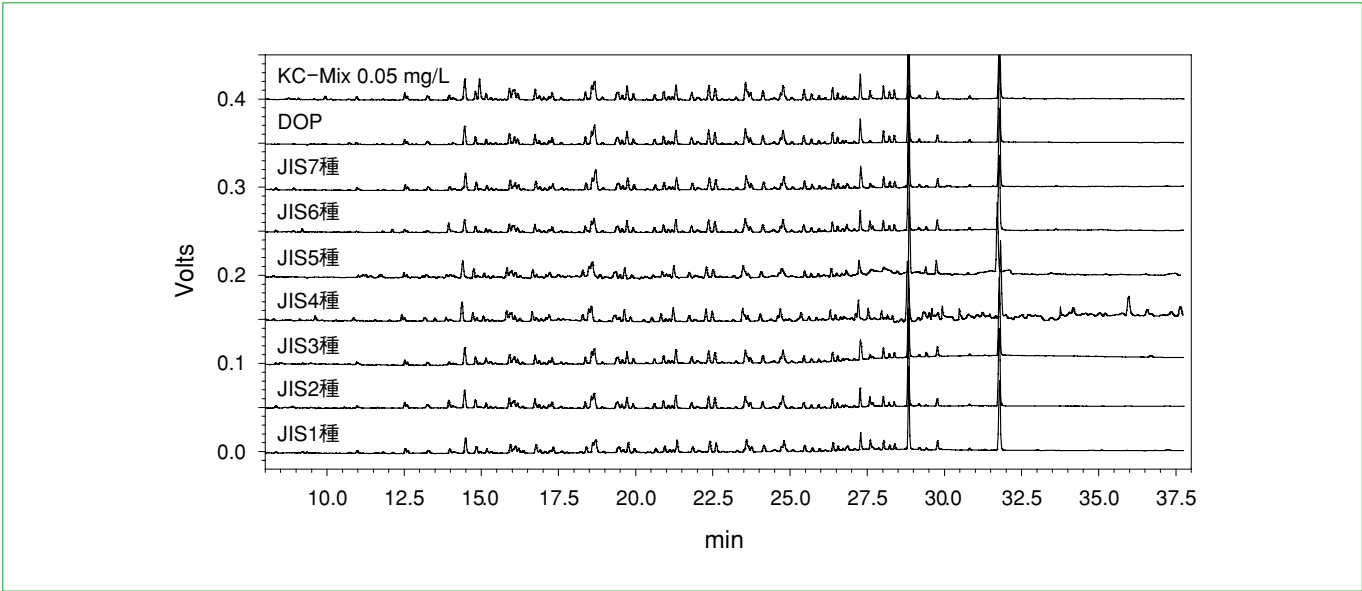


図4 絶縁油(JIS1～7種及びDOP)0.5 mg/kg添加回収試料のクロマトグラム

表1 絶縁油(JIS1～7種及びDOP)0.5 mg/kg添加回収試験(n=7)

	CS※2)回収率 (%)	平均値 (mg/kg)	測定値の差 (%)	標準偏差 (σ)	変動係数 (%)	MDL (mg/kg)
評価基準※1)	70～120		±20		15未満	0.15以下
JIS1種(n=7)	75.9～89.0	0.486	-2.703	0.023	4.824	0.091
JIS2種(n=7)	87.6～92.0	0.517	3.366	0.016	3.055	0.061
JIS3種(n=7)	90.9～97.7	0.495	-1.005	0.026	5.340	0.103
JIS4種(n=7)	80.9～90.6	0.512	2.473	0.022	4.369	0.087
JIS5種(n=7)	84.2～89.4	0.496	-0.836	0.018	3.716	0.072
JIS6種(n=7)	86.8～97.1	0.501	0.189	0.026	5.150	0.100
JIS7種(n=7)	82.7～97.1	0.503	0.570	0.016	3.215	0.063
DOP(n=7)	84.0～88.6	0.529	5.700	0.025	4.719	0.097

※1) マニュアル精度管理・分析性能試験 ※2) CS回収率＝クリーンアップスパイク回収率

5. まとめ

NOBIAS RP-SG1を充填した固相抽出カラムを用いたクリーンアップ法は、高額な初期投資を必要とせず絶縁油中の低濃度PCBを高精度に分析することが可能である。また、本手法では1検体の前処理時間は約90分であるが、多検体の同時前処理により、1日当たり10～20検体程度の処理が可能である。

参考文献

1) 絶縁油中の微量PCBに関する簡易測定マニュアル(第2版)
2010年6月 環境省

2) 平成22年度 日環協・環境セミナー全国大会 要旨集 p.23-26

日立U-5100形レシオビーム紫外可視分光光度計の特長と測定例

ECO-FRIENDLY & CLEAN MODEL-HITACHI U-5100 Ratio Beam UV-Visible Spectrophotometer.

栗田 浩二* 堀込 純* 岩谷 有香* 和久井 隆行*

1. はじめに

今日、環境時代と言われる中、私たちの身の回りには従来品と比較して環境に配慮された製品が数多く開発されている。例えば、自動車業界ではハイブリッド自動車や電気自動車、照明業界では長寿命・低消費電力のLED製品が目立っている。

2010年4月より発売された日立U-5100形レシオビーム紫外可視分光光度計(以下、U-5100形)は、環境に配慮した分光光度計(図1)である。

分光光度計は物質の光学特性を求めるために使用されている。最もよく利用されている方法としては、白色光をプリズムや回折格子で単色光に分けて試料へ照射し、透過した光を検出して吸光度を求め、試料中の物質の濃度を測定することである。環境、材料、製薬、バイオ分野などの学術・産業分野において幅広く利用されている。この中で多検体測定が行われる品質管理、環境測定などにおいては、操作性、ハイスループット、低ランニングコスト、コンパクトといった性能が求められる。

本稿では、U-5100形の主な特長と、U-5100形を用いた測定例を紹介する。



図1 U-5100形分光光度計の外観

2. U-5100形の特長

2-1. ECOLOGY

従来の分光光度計は、光源に重水素ランプ、ハロゲンランプが用いられてきた。U-5100形は長寿命のキセノンフラッシュランプを採用し、ランプは約10年相当^{*1}のロングライフを実現した。また、測定時のみパルス発光制御を行うため、消費電力は、従来機^{*2}の140 Wと比較し、U-5100形は40 Wと約70 %減の低消費電力設計となっている(図2)。更に測定時間は、自動回転機能を持つ6セルターレットの標準搭載(図3)と高速化した波長移動により、従来機^{*2}と比較^{*3}すると約60 %減となり測定時間の短縮や作業効率の向上を実現した(図4)。

※1 1波長、300測定/日、240日/年の使用

※2 日立U-1900形レシオビーム分光光度計

※3 5波長×20サンプルにおける100測定(分析者によるセルの設置時間を除く)

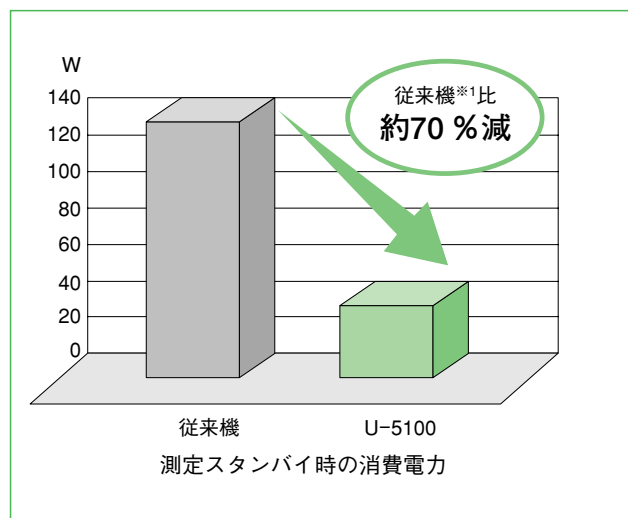


図2 U-5100と従来機の消費電力比較

2-2. DESIGN

U-5100形は従来機^{*2}と比較すると設置面積は約38 %減、質量も約52 %減と小形軽量化を実現した(図5)。装置デザインもシンプルなアーチ状フォルム、大型6インチ液晶ディスプレイを搭載することで視認性の高い設計となっている。

* (株)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



図3 U-5100に標準装備された6セルターレット

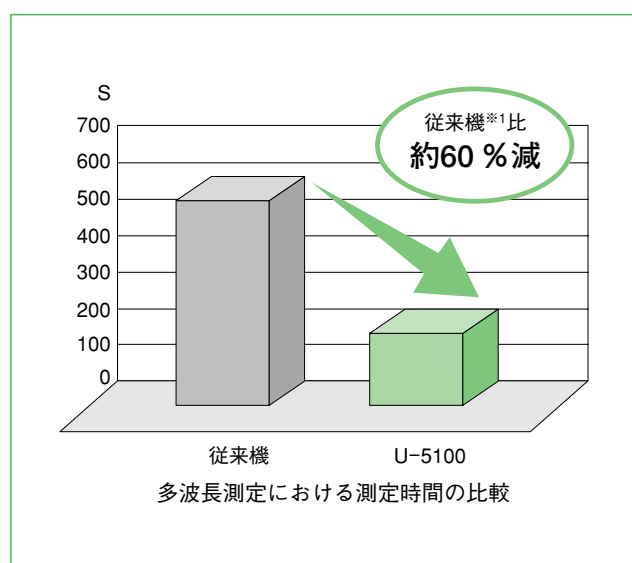


図4 U-5100と従来機の測定時間比較



図5 U-5100形と従来機の装置比較

2-3. PERFORMANCE

分光光度計にはシングルビームとダブルビームという光学系がある。U-5100形はシングルビームでありながらダブルビームのベースラインのドリフト補正を実現したレシオビーム光学系を採用している。ドリフトは、主に光源の光量変化に伴うベースラインの経時変化(ドリフト)によりベースラインが変動する現象のことである。レシオビーム光学系は光束の一部をハーフミラーで取り出し、試料測定とは異なるもう一つの検出器で、光源の変動を補正するため、長時間測定時に優れたベースライン安定性を示す。(図6)。また、従来の分光光度計は光源の安定時間を必要としたが、U-5100形は発熱量が少ないキセノンフラッシュランプを採用したことで安定時間を必要としない。

光検出回路には、新規に開発した回路を採用することによりクラス最高レベル^{※4}の低ノイズとなり、吸光度が低い低濃度の測定において安定した値が得られる。

※4 日立ハイテクノロジーズ調査 日本国内販売機種
2010年1月現在

2-4. EASY OPERATION

U-5100形は、分光光度計を初めて扱うユーザでも使い易い設計となっている。その一つが2-1項で記述した6セルターレットが挙げられる。この6セルターレットは10 mm角セルを最大6つまで設置できるシステムであり、標準・試料溶液を最大6つ^{※5}まで自動測定が可能である。これにより、測定時間の短縮および作業効率の向上が図れる。

この6セルターレットを用いた測定では、測定条件、試料数に応じて各セルをセットする位置がガイダンス表示される。そのため、初めて分光光度計の操作を行う場合でも迷わずセルのセッティングが可能である。

また、U-5100形とPCをUSB接続しオプションソフト「外部出力プログラム」を用いることにより、①測定結果をMicrosoft[®] Excel[®]形式で出力・保存、②U-5100形内に保存した測定結果をPCにバックアップ、③PCに接続したプリンタから印刷を簡易に設定・実行することができる。

さらに、操作性についても、ファイル名を入力する際の文字入力方法に携帯電話と同じ入力方式を採用し、幅広いユーザに配慮したものとなっている。

※5 オートゼロ(吸光度をゼロに調整する操作)を実施するための試料を含む

3. 測定例

本章では、環境試料の測定例として硝酸イオン、銅イオンを紹介する。また、品質管理の測定例として6価クロムの測定例を示す。

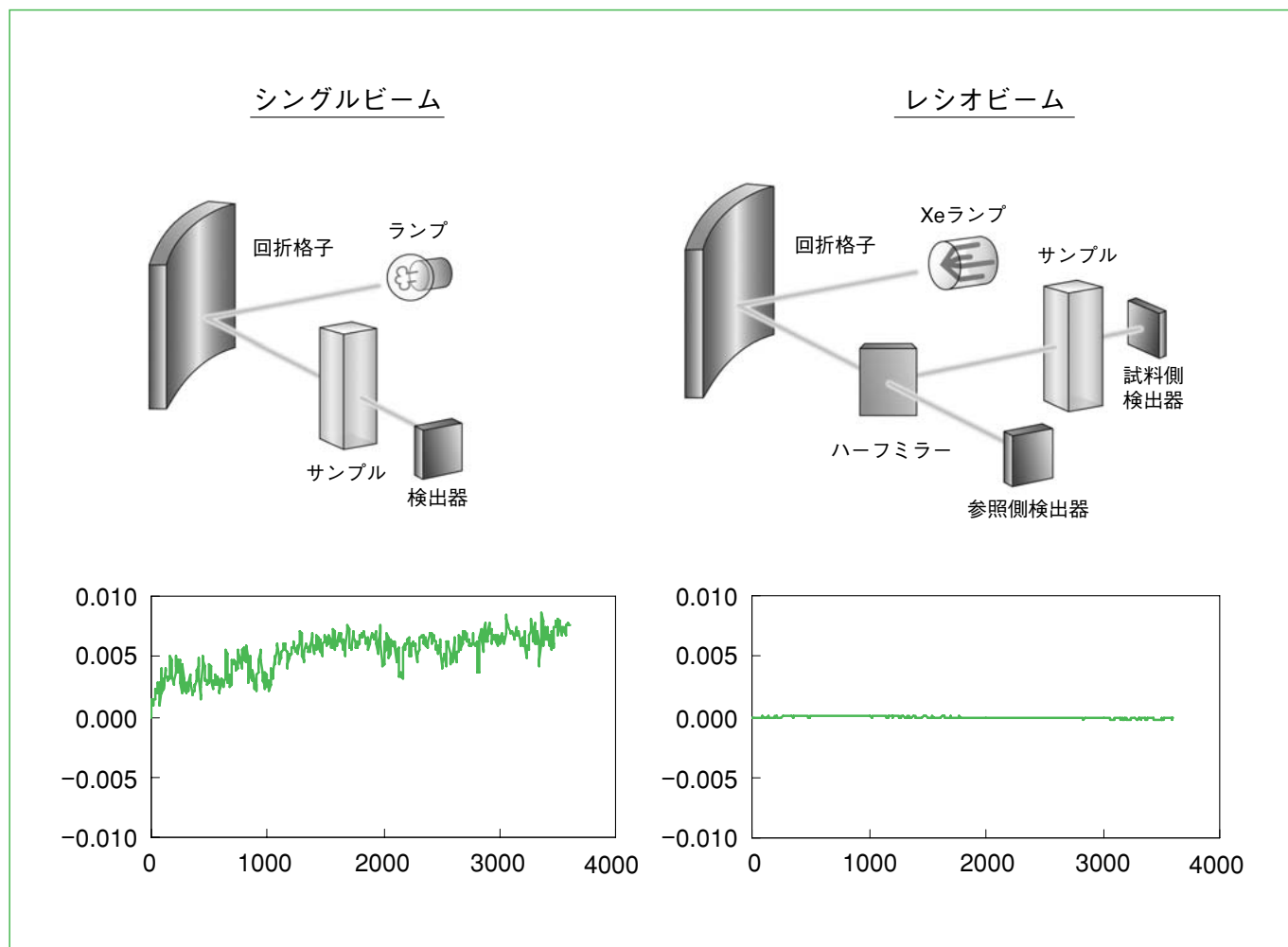


図6 シングルビーム光学系とレシオビーム光学系の比較

3-1. 硝酸イオン

硝酸イオンは、細菌やバクテリアによるタンパク質の分解物質に由来し、人為的汚染を示す有力な指標と考えられている。この硝酸イオンは硝酸態窒素及び亜硝酸態窒素として水道法及び地下水環境基準に10 mg/L以下と定められている。今回はミネラルウォーター中の硝酸イオンを共立理化学研究所製の水質測定用試薬セットを用いて定量した。結果、硝酸イオン0.35 mg/Lが得られた(図7)。標準装備された自動6セルターレットを用いて測定を行ったところ、試料の切り替えもスムーズに行え、良好な結果を得ることができた。なお、本試料の定量分析を行うにあたって回収率を求めたところ96.4 %と良好であった。

3-2. 銅イオン

銅は自然界に広く分布しており、海水にも1.8 $\mu\text{g/L}$ 程度含まれている¹⁾。人為的な供給源としては、鉱山排水、金属関係の工場排水などがある。水質汚濁防止法では排水基準として銅含有量3 mg/Lと定められている。今回は排水中の銅イオンを共立理化学研究所製の水質測定用試薬セットを用いて定量した。その結果、

銅イオン0.35 mg/Lが得られた(図8)。また、銅イオンについても回収率が101.5 %と良好な結果を得ることができた。この試薬セットはイオン状態の銅を測定が可能である。U-5100形では銅試薬セットを併用することにより、銅の測定を容易に行うことができる。

3-3. 6価クロム

2006年7月に施行されたRoHS指令は、電子・電気機器を対象に特定有害物質の使用を制限する欧州連合の指令で、6価クロム、鉛、水銀など6物質が規制の対象となっている。現在、アメリカ、中国など各国でこのRoHS指令をモデルにした有害物質規制が始まっており、対象物質の測定の必要性が高まっている。この中でクロムは化学形態による使用制限が設けられ、6価クロムを選択的に検出することが必要である。ここでは、U-5100形にて3価クロム処理めっき中の6価クロムの定量を共立理化学研究所製の水質測定用試薬セットを用いて行った。前処理については図9に示す^{2) 3)}方法を用いた。その結果0.057 mg/Lが得られ(図10)、回収率も99.4 %と良好であった。

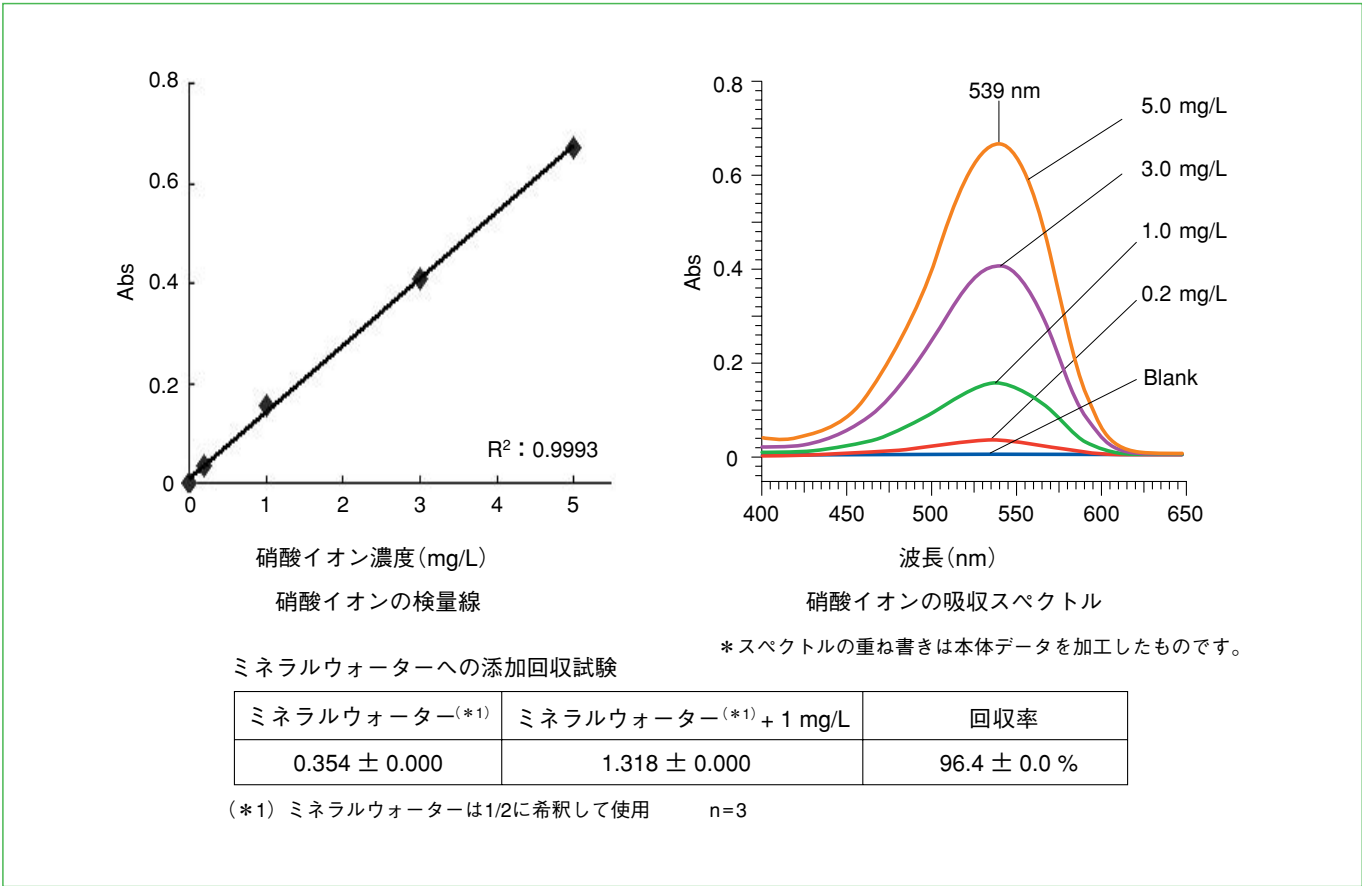


図 7 硝酸イオンの測定例

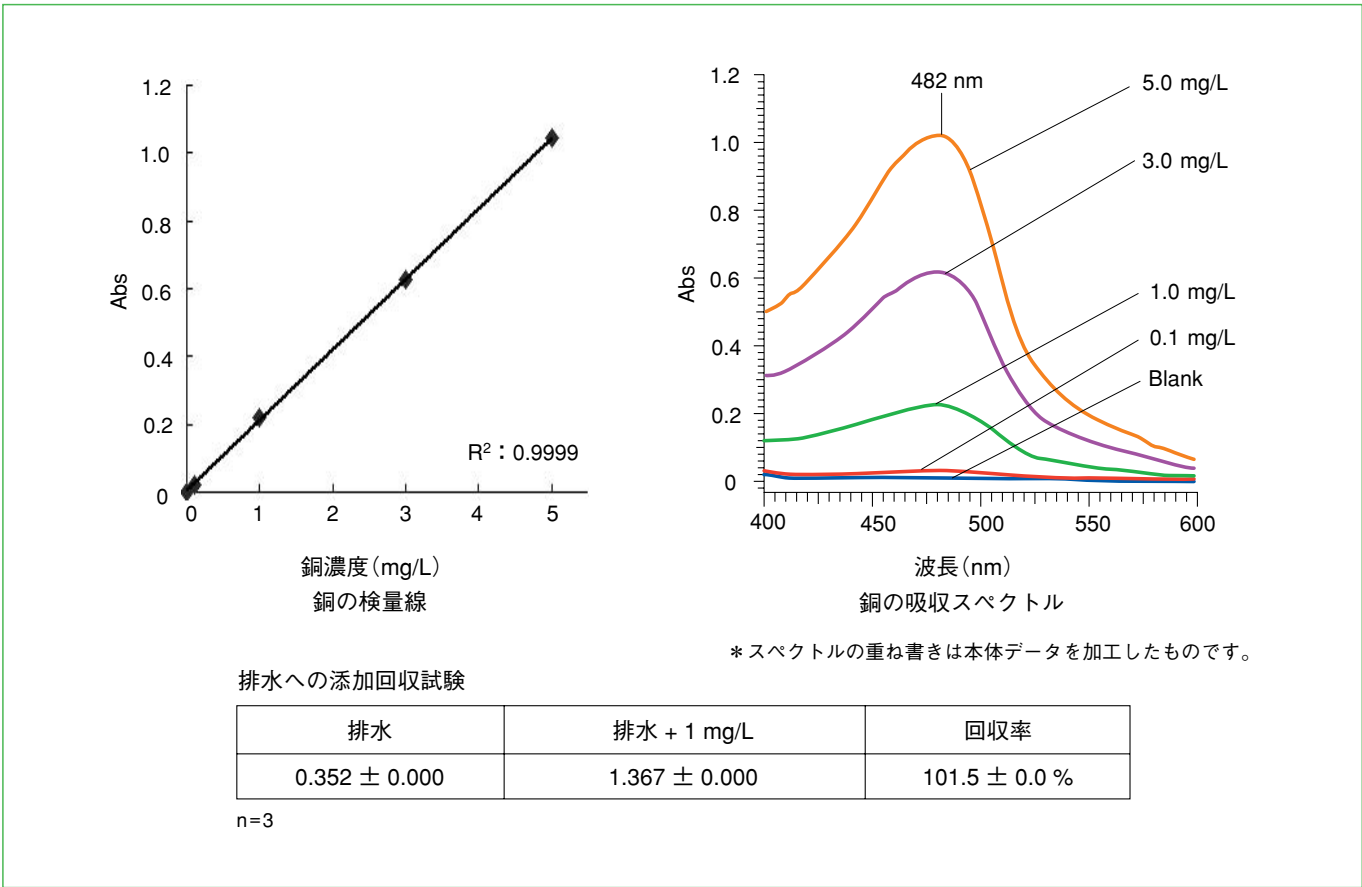


図 8 銅イオンの測定例

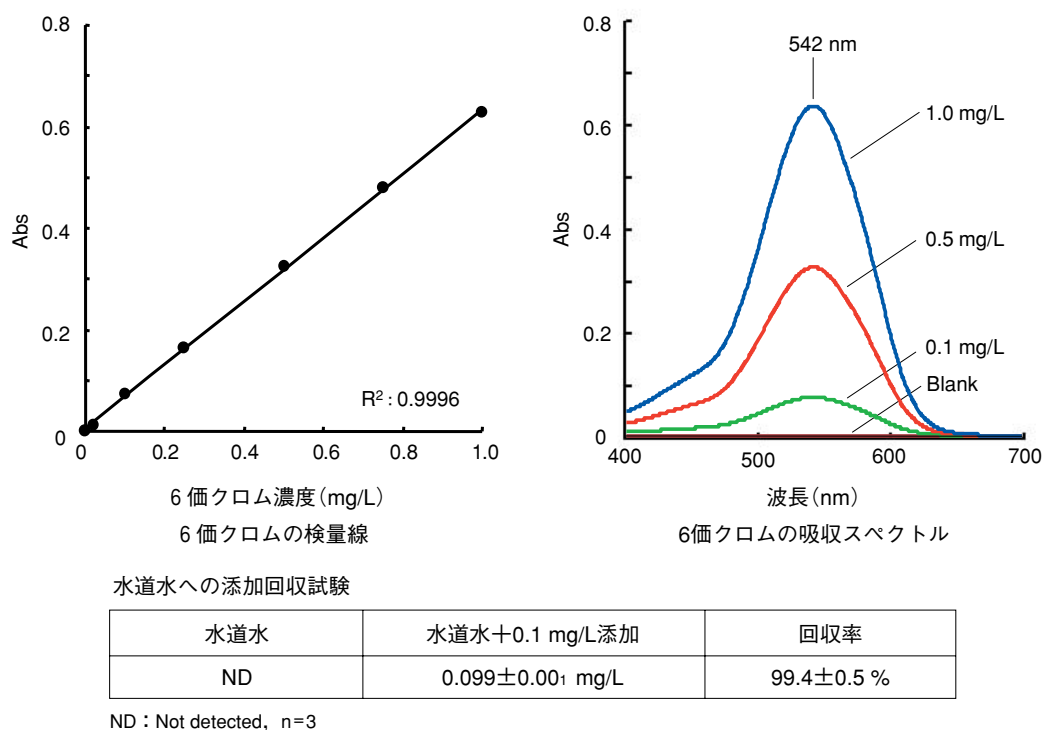


図9 6価クロムの測定例

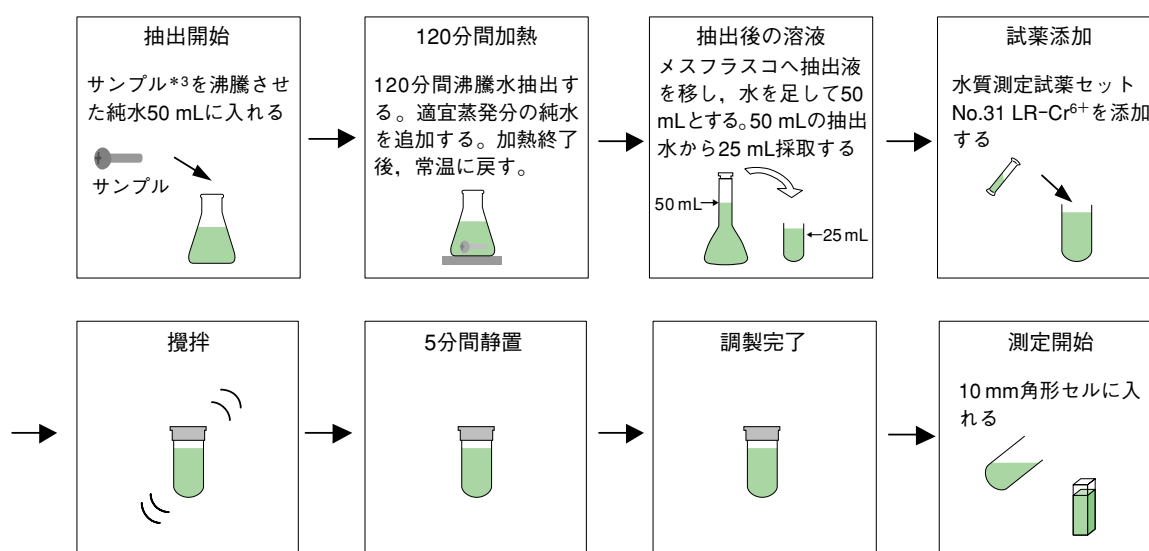


図10 サンプル溶液の調製手順

4. まとめ

以上、U-5100形分光光度計の特長と試料の測定例を紹介した。

U-5100形は水質、環境、バイオ、材料など幅広い分野で用いることが可能である。

このU-5100形は基本性能だけでなく、環境影響にも考慮した装置であり、環境負荷低減に貢献する。

参考文献

- 1) 浜口博編：超微量成分分析1－地球化学的試料－，産業図書，(1970)
- 2) 白崎俊浩，和久井隆行：表面技術，58，393(2007)
- 3) UV-VISテクニカルデータシートNo.143，分光光度計を用いたクロマト皮膜中の6価クロムの分析

学会発表 ミニファイル

1. Microscience 2010(2010/6/29~7/2 英国)

今野 充(日立ハイテクノロジーズ)他: The observation of three-dimensional elemental distributions using a dedicated STEM equipped with a real time EELS mapping acquisition system.

2. Microscopy & Microanalysis 2010(2010/8/1~5 米国)

竹内 秀一(日立ハイテクノロジーズ)他: A study of the signal information by ULV-SEM in ultra low landing voltage.

佐藤 高広(日立ハイテクノロジーズ)他: Effectiveness of environmental control for the ultra structural study of battery materials using air protection holder and NB5000/HD-2700 system.

今野 充(日立ハイテクノロジーズ)他: High-resolution secondary electron imaging of a FIB prepared Si sample with an aberration corrected electron microscope.

稲田 博実(日立ハイテクノロジーズ)他: Sub-angstrom spatial resolution in secondary-electron imaging achieved with aberration corrected scanning electron microscope.

中村 邦康(日立ハイテクノロジーズ)他: Minimizing 6-fold symmetry and chromatic aberration by using ultra high resolution lens in Cs-corrected STEM.

竹内 秀一(日立ハイテクノロジーズ)他: A study of the signal information by ULV-SEM in ultra low landing voltage.

【要旨】 筆者らはSU8000形FE-SEMにおいて照射電圧500 V以下の電子線を用いてペンタセン単分子膜のステップ構造(1.5 nm)の観察に成功し、極表面観察における極低加速電圧の有効性を実証した。極低加速電圧の像解釈には、従来の5~30 kVの加速電圧領域での理論を適用できないケースがあるため、試料情報を正確に把握するには、極低加速電圧での像解釈が必要である。本研究では、極低加速電圧における検出信号の物理特性に

ついてシミュレーションを用いて検証し、SU8000装備の多種類の検出器において信号特性の違いを明らかにした。図1はSU8000を用いて照射電圧100 Vにてブルーレイディスクを観察した結果である。図1(a)のUpper検出器ではディスク表面の凹凸が鮮明に観察されている。一方、Top検出器ではディスクの録画部位と未録画部位とが濃淡の電位コントラストとして捉えられている(図1(b))。

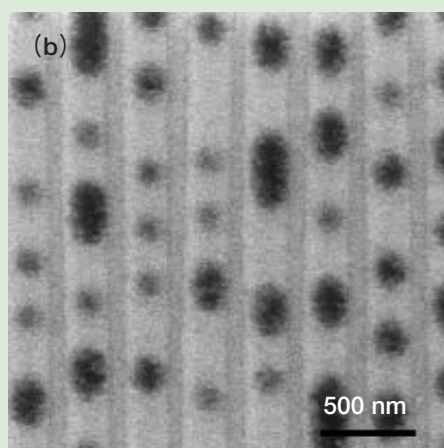
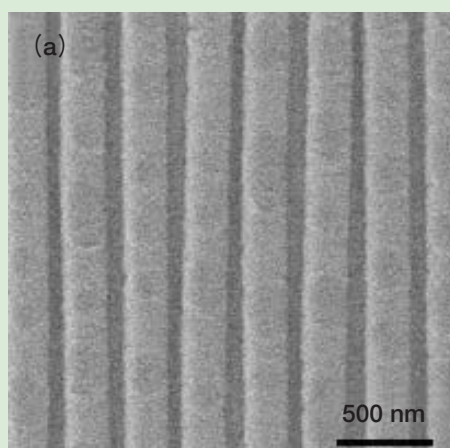


図1 ブルーレイディスクの観察例
(a) Upper検出器による凹凸像 (b) Top検出器による電位コントラスト像
装置: SU8000 照射電圧: 100 V 観察倍率: 30,000倍

3. 第26回分析電子顕微鏡討論会(2010/8/31~9/1 千葉県)

矢口 紀恵(日立ハイテクノロジーズ)他: 3D解析ホルダを用いたナノ材料の三次元構造・組成解析
鈴木 裕也(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

4. 2010年電気化学秋季大会(2010/9/2~3 神奈川県)

佐藤 高広(日立ハイテクノロジーズ)他: 雰囲気遮断ホルダーを用いた電池材料の加工と微細構造観察

5. SCANTECH 2010(2010/9/10 東京都)

許斐 麻美(日立ハイテクノロジーズ): 日立卓上顕微鏡TM3000のご紹介
多持 隆一郎(日立ハイテクノロジーズ): SEMだからできること ~いろいろな試料情報~

6. 第42回日本臨床分子形態学会(2010/9/24~25 静岡県)

佐藤 高広(日立ハイテクノロジーズ)他: FIB-STEMによる細胞内微細構造の三次元(3D)観察

【要旨】半導体デバイスやセラミックスなどの材料加工に利用される集束イオンビーム(FIB)加工装置を用いて樹脂包埋された酵母(*Candida tropicalis*, *Saccharomyces cerevisiae*)から細胞1個を含む柱状試料をマイクロサンプリング法により摘出し、360度回転可能な3D解析ホルダーにセットしてHD-2700 STEM装置を用いて連続的にHAADF-STEM像を取得した。原子番号に依存したコントラストが得られるHAADF-STEM像を観察することによって重金属で染色された細胞内の微細構造が三次元的に配置する様子を観察した。(HAADF-STEM: High-angle annular dark-field scanning transmission electron microscope 高角散乱環状暗視野走査透過電子顕微鏡)



*Candida tropicalis*の柱状試料
(0.3 μm角)のHAADEF-STEM像
(20度回転)(加速電圧200 kV)

7. 第30回LSIテストングシンポジウム(2010/11/10~12 大阪府)

福井 宗利(日立ハイテクノロジーズ)他: 水平配向成長させた単層カーボンナノチューブのナノプロービング解析
松本 弘昭(日立ハイテクノロジーズ)他: 微小制限視野電子回折法による高精度局所格子歪み計測
今野 充(日立ハイテクノロジーズ)他: 原子分解能SEMによるLSIデバイス構造解析

8. 日本顕微鏡学会第54回シンポジウム(2010/11/11~13 石川県)

黒田 靖(日立ハイテクノロジーズ)他: FIB-SEMによる半導体デバイスの三次元構造観察
矢口 紀恵(日立ハイテクノロジーズ)他: 高分解能分析電顕用環境セルの開発

9. 平成22年度日本顕微鏡学会 北海道支部学術講演会(2010/12/11 北海道)

渡邊 俊哉(日立ハイテクノロジーズ)他: FE-SEMを用いた環境材料のSEM解析技術

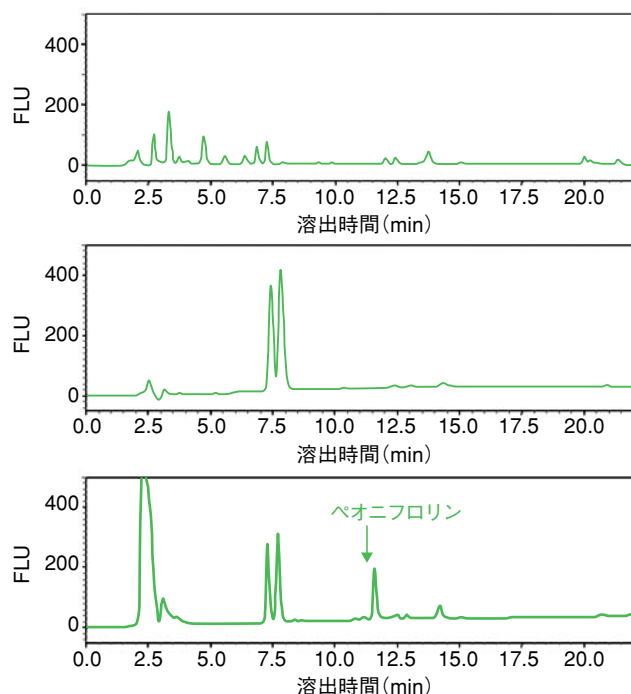
1. 東京コンファレンス2010(2010/9/1 千葉県)

山本 和子(日立ハイテクコントロールシステムズ)他：フレイム原子吸光度計による排水中4価・6価セレンの迅速分別定量方法

松崎 彩子(日立ハイテクノロジーズ)他：バイオ医薬糖鎖・生薬配糖体の選択的HPLC分析

【要旨】 糖類は特異的な紫外・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)を用いた特異的検出は難しい。反応試薬にリン酸フェニルヒドラジンをを用いたポストカラム法は、食品中の遊離糖の分析システムとして食品の品質管理などに広く使われている。本法では糖の還元末端とフェニルヒドラジンが反応しその反応物が蛍光を発するようになるが、報告者ら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、糖タンパク質や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、カラムで分離後に糖が遊離し蛍光で検出できるようになる。ここでは糖タンパク質や配糖体といった複合糖質の選択的分析について、リン酸フェニルヒドラジン法によるHPLC分析を検討した。一例として芍薬甘草湯中のペオニフロリンの分析例を以下に示した。



芍薬甘草湯のクロマトグラム

①自然蛍光(反応液なし)

- ・多数の未知成分のピークを検出
- ・糖は検出されない

②反応液混合—加熱なし

- ・反応液により自然蛍光を持つ大部分の未知成分は消光する状態になる
- ・糖は検出されない

③反応液混合—加熱あり

- ・加熱により糖の誘導体化が進行し、蛍光検出される

(検出波長：Ex 330 nm Em 470 nm)

2. 日環協 極微量物質研究会 第2回特別セミナー(2010/9/10 東京都)

蛭田 多美(日立ハイテクコントロールシステムズ)：硫酸処理/ジビニルベンゼン-メタクリレート

ポリマーカラム分画/キャピラリーガスクロマトグラフ/電子捕獲型検出器(GC/ECD)法 [簡易定量法]

3. 微量PCBの測定に関する委員会／迅速判定法・簡易定量法(追加)の説明会(2010/9/15 東京都)

清水 克敏(日立ハイテクコントロールシステムズ)他：硫酸処理／ジビニルベンゼン—メタクリレートポリマーカラム分画／キャピラリーガスクロマトグラム／電子捕獲型検出器法その2

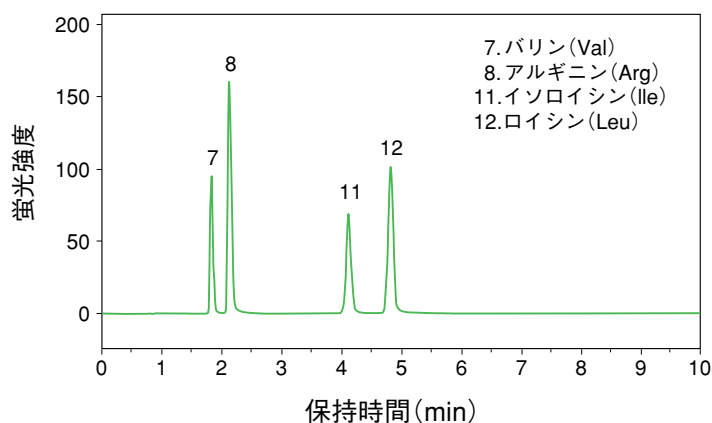
4. 日本分析化学会 第59回年会(2010/9/16~17 宮城県)

山本 和子(日立ハイテクコントロールシステムズ)他：原子吸光光度計による都市鉱山試料中希土類元素の定量
掘込 純(日立ハイテクノロジーズ)他：分光蛍光光度計による溶液試料の高濃度領域における蛍光特性評価方法の検討

宝泉 雄介(日立ハイテクノロジーズ)他：超高速液体クロマトグラフ—OPAポストカラム法によるアミノ酸分析

【要旨】 アミノ酸はUV吸収の弱いものが多いため、検出には誘導体化法が用いられる。ポストカラム誘導体化法は反応時間を制御可能であり、閉鎖系において反応を行うため環境由来のコンタミネーションを防ぐことができる。また、カラムで分離後に誘導体化を行うため試料マトリクスの影響を受けない利点も有する。一方で、超高速液体クロマトグラフ(U-HPLC)は2 μ m以下の充填剤のカラムを

使用することにより、分析時間の短縮と分離の向上を図ることができることから広く使用されるようになってきた。今回、超高速液体クロマトグラフを使用し、ポストカラム法によるアミノ酸分析システムを開発することを目的として検討を行った。以下にスポーツ飲料中の分岐鎖アミノ酸の分析例を示した。



分岐鎖アミノ酸含有スポーツ飲料

5. (株)環境コミュニケーションズ 資源環境対策(2010/10/1)

清水 克敏(日立ハイテクコントロールシステムズ)他：硫酸処理／ジビニルベンゼン—メタクリレートポリマーカラム分画／キャピラリーガスクロマトグラム／電子捕獲型検出器法

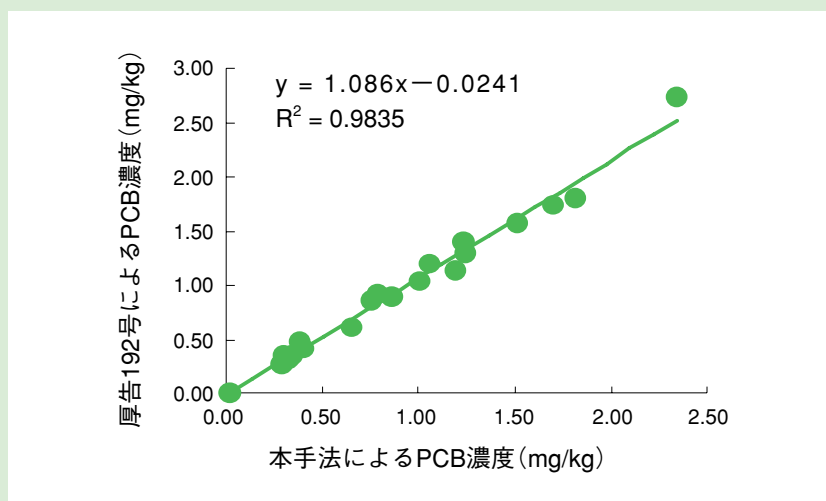
6. H22年度 日環協 環境セミナー全国大会(2010/10/21~22 愛知県)

蛭田 多美(日立ハイテクコントロールシステムズ)他：硫酸処理／ジビニルベンゼン－メタクリレートポリマーカラム分画法による絶縁油中微量PCBの簡易定量

【要旨】 微量PCB汚染が疑われる重電気機器は650万台以上存在するといわれている。銘板等からPCB含有を判断できないため、これらを全数分析しPCB混入の有無を確認(基準値=0.5 mg/kg)しなければならない。従ってこれらを短時間にかつ低廉な費用で分析できる方法(簡易定量法)の確立が求められていた。種々の測定方法が検討され、本年6月に「簡易定量法マニュアル(第2版)」が環境省より発表された。その測定技術のうち、我々は「硫酸処理／ジビニルベンゼン－メタクリレートポリマ

ー分画法」を提案した。この手法は、ジビニルベンゼン－メタクリレートポリマーを固相抽出用充填剤に用い、PCBと絶縁油成分を分離する方法であり、従来の分析方法である厚告192号またはJEAC1201を行える前処理設備があれば、初期投資を必要とせず安価に行える手法である。

本発表では、当社提案の手法による絶縁油成分のクリーンアップ効果及び分析精度について報告する。



絶縁油実試料を用いた本手法と厚告192号との相関

7. 第234回液体クロマトグラフィー研究懇談会(2010/10/28 東京都)

伊藤 正人(日立ハイテクノロジーズ)他：LaChromUltraにおける高速化の側面と迅速化の側面の検討

8. 第7回茨城地区分析技術交流会(2010/10/29 茨城県)

山本 和子(日立ハイテクコントロールシステムズ)他：原子吸光度計による都市鉱山試料中希土類元素の定量

宝泉 雄介(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

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	超高速液体クロマトグラフを用いたプレカラム誘導体化アミノ酸分析 High-speed Determination of Amino acid by LaChromUltra with Pre-column Derivatization		
機種	日立超高速液体クロマトグラフ Hitachi Ultra High-Speed Liquid Chromatograph, LaChromUltra		
シートNo	LC No.208	発行日	2010年 9 月
要約	アミノ酸分析は生化学、食品、医薬品など幅広い分野で行われています。当社はL-8900形高速アミノ酸分析計、LaChrom Eliteアミノ酸分析システムで、これまで多様なアプリケーションの紹介を行なってきました。今回、超高速液体クロマトグラフ(LaChromUltra)を用いた超高速アミノ酸分析法(プレカラム誘導体化アミノ酸分析法)により、10分サイクルのアミノ酸分析が可能となりましたので、測定例を紹介します。		

題目	F-2700形分光蛍光光度計クマリン分析システムの紹介 Introduction of Coumalin measurement system by F-2700 Fluorescent Spectrophotometer		
機種	分光蛍光光度計 F-2700 Model F-2700 Hitachi Fluorescent Spectrophotomete		
シートNo	FL No.49	発行日	2011年 2 月
要約	軽油には、軽油引取税が課税されますが、周辺油種(A重油, 灯油)には課税されません。軽油引取税相当分を脱税する行為は、軽油に周辺油種を混入させることで行われます。この行為を未然に防止するために、灯油とA重油には、軽油識別剤としてクマリンが規定濃度添加され、軽油中のクマリン混入量を分析することによって混入の有無が判断できます。今回は、石油学会規格『石油製品－クマリンの求め方－蛍光光度法』に記載のA法に対応した、F-2700形分光蛍光光度計クマリン測定システムを紹介します。		

題目	FE-SEM SU8000における検出記号の多様性とその応用 Ultra low voltage observation by SU8000 FE-SEM and its applications		
機種	超高分解能電界放出形走査電子顕微鏡 SU8000シリーズ Ultra-high Resolution Scanning Electron Microscope SU8000 Family		
シートNo	SEM No.141	発行日	2010年 7 月
要約	FE-SEM SU8000(以下SU8000)では、複数の検出器を用いて、多様な信号を検出することができます。これにより、試料の表面構造や組成などの様々な試料情報を捉えて、多角的に試料を評価することが可能となりました。本稿では、SU8000に搭載された複数の検出器で検出される反射電子や二次電子記号を用いた観察例を紹介します。		

題目	高レートイオンガン付きE-3500形イオンミリング装置とその応用 Introduction of the E-3500 ion milling system with high milling rate ion gun and some applications.		
機種	イオンミリング装置 E-3500 Ion Milling System E-3500		
シートNo	SEM No.142	発行日	2011年 1 月
要約	イオンミリング装置は、硬さの異なる材質で構成される複合材料の断面を、平滑に作製できる加工手段として、SEM解析用試料作製に利用されています。今回、ミリングレートの小さい材料の断面作製のために、図1 E-3500形イオンミリング装置外観高レートイオンガンを開発し、E-3500形イオンミリング装置のオプションとして搭載可能になりました。今回は、高レートイオンガン付きE-3500形イオンミリング装置を用いた短時間加工例についてご紹介します。		

題目	球面収差補正機能付きHD-2700を用いた高分解能SEM観察 High resolution SEM observation using a dedicated STEM HD-2700 with an aberration corrector		
機種	走査透過電子顕微鏡 HD-2700 Spherical Aberration Corrected Scanning Transmission Electron Microscope HD-2700		
シートNo	STEM No.17	発行日	2010年10月
要約	走査透過電子顕微鏡(STEM: Scanning Transmission Electron Microscope)HD-2700は二次電子検出器を有し、その分解能は収差補正機能の併用により原子レベルに達しています。本稿では、球面収差補正機能付きHD-2700を用いた高分解能SEM観察例を紹介します。		

新製品紹介

NEW PRODUCTS

日立透過電子顕微鏡HT7700

日立透過電子顕微鏡HT7700は、バイオメディカル分野から、ナノテクノロジー分野、ソフトマテリアル分野まで幅広い分野で使用いただくために開発された最大加速電圧120 kVのTEM(Transmission Electron Microscope)です。操作卓・モニタをTEM本体と切り離した新デザインを採用し、蛍光板に投影された像を直接観察する代わりに、リアルタイムスクリーンカメラを使用することで、優れた操作性を実現しました。モニタ画面上だけで像観察が可能となり、通常の明るい部屋で観察・操作が行えます。

【主な特長】

- (1) TEMの像観察をモニタに一元化し、明るい部屋で観察・操作が可能。
- (2) スクリーンカメラを採用し、人の目では暗くて識別しにくい像も、モニタ上に表示可能。
- (3) 日立独自の複合対物レンズにより、低倍率・高視野観察、高コントラスト観察、高分解能観察が可能。
- (4) 日立独自のアルゴリズムによるつなぎ写真作成機能を標準搭載。連続撮影から1枚のつなぎ写真完成までフルオート。
- (5) ミッシングゾーンを補正し、高精度な三次元再構成像の作成が可能。(オプション)
- (6) ターボ分子ポンプを標準搭載し、クリーンな真空と30%のCO₂排出量削減を実現。

※当社従来製品(H-7650:2004年製)比



新製品紹介

NEW PRODUCTS

日立超高分解能電界放出形走査電子顕微鏡SU8000シリーズ

超高分解能FE-SEMは、半導体などのエレクトロニクス分野や各種機能性材料分野、あるいは生物、製薬などのバイオテクノロジー分野など幅広いフィールドで試料表面の微細構造観察に欠かせないツールとなっています。この度、弊社より高分解能観察に適したコールドFE電子銃を搭載したセミインレンズタイプのFE-SEMをラインナップ化し、発売いたしました。

SU8000シリーズでは、優れたハードウェア／ソフトウェアをプラットフォームとして共通化し、ステージ、試料室、信号検出系の異なる4つの機種(SU8010／SU8020／SU8030／SU8040)をご用意しました。お客様の目的に合わせた最適な装置をお選びいただくことが可能です。

【主な特長】

- (1) 目的に応じて選択可能な4つのラインナップ
- (2) 低加速電圧超高分解能観察（二次電子分解能1.3 nm／照射電圧1.0 kV）
- (3) 最表面情報コントラストを可視化する多彩な信号検出系
- (4) 全機種共通の新制御系GUIと24.1型ワイドモニターによる快適な操作環境
- (5) ご用途に合わせて選択可能な多様なアクセサリー



【主な仕様】

		SU8010	SU8020	SU8030	SU8040
二次電子分解能		1.0nm(加速電圧15 kV, WD=4 mm) 1.3nm(照射電圧1 kV, WD=1.5 mm)			
試料ステージ	ステージ制御	3軸モータ駆動 *5モータ駆動(オプション)	5軸モータ駆動	5軸モータ駆動	5軸モータ駆動 Regulusステージ
	可動範囲	X	0~50 mm	0~50 mm	0~110 mm
		Y	0~50 mm	0~50 mm	0~80 mm
		Z	1.5~30 mm	1.5~30 mm	1.5~40 mm
		T	-5~70°	-5~70°	-5~70°
		R	360°	360°	360°
	最大試料サイズ	φ 100 mm(最大) φ 150 mm(オプション)	φ 100 mm(最大) φ 150 mm(オプション)	φ 150 mm(最大) φ 200 mm(オプション)	φ 150 mm(最大) —
再現性		—	—	—	±0.5 μm
二次電子検出系	Lower	○	○	○	○
	Upper	○	○	○	○
	Top	—	○	○	○
		SE / BSE信号可変方式(Upper)			

新製品紹介

NEW PRODUCTS

IM4000形日立イオンミリング装置

走査電子顕微鏡での観察や分析(EDX, EBSDなど)用の試料前処理装置として、「断面ミリング」と「平面ミリング」の2つの機能を装備したハイブリッドタイプのイオンミリング装置「IM4000形」を発売開始いたしました。

「断面ミリング」は、試料とイオンガンの間に遮蔽板を配置して、遮蔽板の上方から試料にイオンビームを照射し遮蔽板端面に沿って平坦な加工面を得る試料作製方法です。

これに対して、「平面ミリング」は、イオンビーム中心と試料の回転中心をずらして30~80°程度の照射角度でイオンビームを照射させ、直径約5 mmの広領域の平滑面を得る試料作製方法で、機械研磨後の最終研磨として用いられます。

【主な特長】

- (1) 断面／平面ミリングに対応したハイブリッドタイプ
——目的や試料に合わせた多様な加工が1台で可能になりました。
- (2) 断面ミリングの高スループット化を実現
(加工時間1/3*)
——300 $\mu\text{m}/\text{h}$ の高ミリングレートにより加工時間を大幅に短縮できます。
*当社従来製品(E-3500:2005年製)比
- (3) 脱着可能な試料ステージユニット
——試料ステージは本体から脱着できますので、試料装着が容易に行えます。



【主な仕様】

項 目	内 容	
	断面ミリングホルダ	平面ミリングホルダ
使用ガス	Ar (アルゴン) ガス	
加速電圧	0~6 kV	
最大ミリングレート(材料Si)	約300 $\mu\text{m}/\text{hr}$	フラット時: 約2 $\mu\text{m}/\text{hr}$
最大試料サイズ	20(W)×12(D)×7(H) mm	ϕ 50×25(H) mm
Arガス流量制御方式	マスフローコントローラ	
真空排気系	ターボ分子ポンプ(33 L/s)+ロータリーポンプ(135 L/min(50 Hz), 162 L/min(60 Hz))	
大きさ	616(W)×705(D)×312(H) mm	
質 量	本体48 kg+ロータリーポンプ28 kg	

新製品紹介

NEW PRODUCTS

日立高速液体クロマトグラフ「Chromaster 5000シリーズ」発売

日立高速液体クロマトグラフ LaChrom Eliteの後継機として、Chromaster 5000シリーズを発売しました。本装置は、すべてのモジュールにおいて新規開発を行い、液体クロマトグラフとしての基本性能を向上させています。特にポンプは、移動相の混合精度良くするために新規グラジエントモードを搭載しました。これにより、保持時間の再現性が向上しています。またオートサンプラにおいても高精度シリンジ駆動ユニットを採用して試料注入時の再現性を高めています。さらには、基本性能だけではなく、カラー液晶モニター・タッチパネル方式(GUI: Graphical User Interface)を採用することで、操作性も格段に良くなっています。多くのクロマトユーザ(Chromatographer)が液クロのMasterになれるようになっていきます。

【主な特長】

- (1) System Performance
ポンプ、オートサンプラが生み出す高い再現性
カラムオープンと検出器の優れた安定性
- (2) Easy-to-use
GUIコントローラによる簡単操作
- (3) Robustness
耐薬品性に優れた頑健な筐体の採用



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

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

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。

注目！

もっと知りたい！活用したい！

弊社主要製品をさらにご活用いただくための情報を集めました。

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

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！

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。

日立走査電子顕微鏡をご登録いただくと、SEMユーザー様限定「Semevolution(セメボリューション)」のコンテンツ閲覧が可能になります！

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。

エスアイナビ

検索

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

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) 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 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〉

今冬は、暖冬との予想に反して厳しい寒さでしたが、ここ数日は日中も寒さが和らぎ、暖かな日々となっています。水戸の偕楽園では早咲き梅が満開、梅まつりを楽しむ人々が長い列を作っています。さて、昨年京都清水寺で発表された2010年の漢字は、今冬の寒さと対照的な『暑』でした。昨夏の暑さのほか、7年をかけてイトカワから帰還し、大気圏突入の高温の中、貴重な試料を持ち帰った『はやぶさ』も象徴しているとの事です。『はやぶさ』の帰還は、子供たちや宇宙に興味を持たれている方をはじめ、一般の方々へも感動と勇気を与えるニュースとして受け入れられました。弊社も観察や分析技術などを通して科学技術の発展に貢献することを目指しており、『はやぶ

さ』のニュースは大いに興味を持って聞き入りました。

さて、今年はどうようなことが話題となるのでしょうか？また、どのような新しい科学技術が登場するのでしょうか？本誌も、わくわくするニュースがお手元にお届けできるように今年も頑張っています。

(佐藤 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)3504-5833 FAX(03)3504-7756

○株式会社日立ハイテクノロジーズ
那珂事業所グローバル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, 2011 VOL. 54 No. 1

発行日 2011年3月25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(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