

巻頭言

黒い水の音色

Timbre of black water

東京理科大学 教授

石黒 孝



皆さんは、横山大観の「生々流転」という墨画をご覧になったことはおありでしょうか。40 mにも及ぶ巻物で雲霧に包まれた深山から雨滴、せせらぎ、石走る垂水の上の早蕨の萌え出づる……人々の営みを生み、流れゆき、海へとそそぎ、再びうねりとなって散逸してゆく様を描いています。空から空への旅の途中です。無彩色の長い冬を耐えて、雪解けの垂水の音に生命の春を感じ、色彩が戻ってくる頃の穏やかならぬ心の動きを思い出します。万葉人も感じたであろう……。

私の研究もずいぶんと意外な流れを辿ってきました。ある時、「プラズマを使ってガラス基板上に窒化アルミニウムの透明な膜を作っていたら、こんな黒い膜になってしまいました……」(図1(a))と明らかに失敗してしまったと落胆の顔つきで学生がやってきました。ところが「黒さ」は本物で、太陽光エネルギーを95%も吸収できる膜でした。黒い膜の裏側をガラス基板の方から見ると金属光沢の膜です。理由を調べると、材質は金

属アルミニウムと窒化アルミニウムの混合膜で、サブミクロンサイズの凹凸が表面に形成された傾斜屈折率構造となっており、一種の構造色であることがわかりました。

次にこの膜を「透明」にできないかと考えました。なんと超純水で煮沸すると見る間に透明になることがわかりました(図1(b))。しかも今度はガラス基板を上回る透過率を示し、波長によってはほぼ100%透過します。凹凸を維持したまま、窒化アルミニウムは溶出し、アルミニウムがペーマイトに改質されたからです。そして、さらに加熱してみると脱水されて遷移アルミナへと変化することもわかりました。

次に、こうした水の反応を調べることはできないかと考えました。私は電顕を用いて実空間・運動量(波数)空間でものを観てきましたが、水はどうもやりにくい。そこでもう一つの不確定性関係にある空間、つまり時間・エネルギー(振動数)空間でその音を聴いてみようということになりました。眼をつむって目を付けたのが

C O N T E N T S

■巻頭言

- ・ 黒い水の音色
石黒 孝…………… 1

■報 文

- ・ 蛍光指紋による食品の安全性検知技術
杉山純一 藤田かおり…………… 3
- ・ 職場における化学物質のリスク評価のための
個人曝露濃度測定方法の開発
竹内靖人…………… 8
- ・ 高真空SEMにおける
生きたままの生体試料観察を目指して
中村有香 石垣靖人…………… 14

- ・ 位置分解型電子線エネルギー損失分光法による
炭酸バリウムと酸化チタンの固相反応の解析
藤本正之 松本弘昭…………… 19

■解 説

- ・ 日立高速液体クロマトグラフ
Chromaster 5000シリーズを用いた
シアニ化物イオンおよび塩化シアンの分析
松崎彩子 阿部敬子 豊崎耕作…………… 24
- ・ HT7700 120 kV 透過形電子顕微鏡の
機能拡張
橋本隆仁 久保貴 馬見新秀一
小林弘幸 近藤正樹 四辻貴文
大八木敏行 三瀬大海 白井学
仲野靖孝 和山真里奈 中澤英子…………… 27

■学会ミニファイル…………… 32

■テクニカルデータ発行ミニファイル…………… 36

■新製品紹介

- ・ 新形日立分光光度計 UH4150形…………… 39
- ・ 日立超高速液体クロマトグラフ
Chromaster Ultra Rs…………… 39
- ・ HT7700用高分解能レンズ
EXALENS…………… 40
- ・ 低加速電圧での観察と分析を融合した
SU8200シリーズ…………… 41
- ・ 日立走査透過電子顕微鏡HD-2700型用
大口径EDX検出器…………… 42
- ・ 日立卓上顕微鏡 TM3030…………… 43
- S.I.naviのご紹介…………… 44

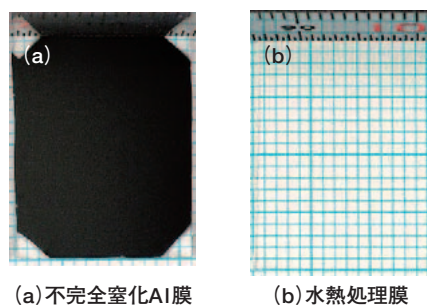


図 1

赤外線です。原子間の結合、分子の振動に共鳴させるには打って付けの振動数です。ところが肝心の水はこの領域で吸収係数が大きく、赤外線が通りません。そこで、金も薄くすれば透けて見えるのだから「水も薄くすれば良いに違いない」という極めて単純な発想で行路長1 μm のセルを作りました。高温・高圧下でも耐食性に優れたハステロイ容器にダイヤモンドの窓を取り付けました。これによって氷、水、水蒸気そして超臨界水まで観察可能となりました。ちなみに超臨界水を別の容器で観察してみました。液体の水は透明で水蒸気と二相共存しています(図2(a))。超臨界状態に近づくとき液界面は混沌不明瞭と化し「真黒な水」(図2(b))となります。「ゆらぎ」が極端に増大し、これによって透過光が散乱されるためです。「pureな水はいつだって透明」ではないのです。黒い水にシリコンや水晶を晒すと浸食されてしまいます。この過激な反応性がグリーンケミストリーへの展開となります。

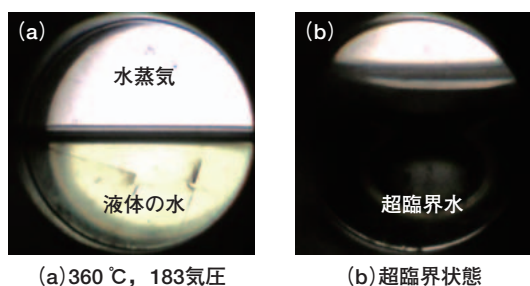


図 2

さて、いよいよ赤外線の振動に水分子を共鳴させて、言わばその音色に耳を澄ませました。図3に水蒸気から超臨界水までの変化を示します。水素結合をもつ水の赤外線吸収は図中の二酸化炭素の鋭い吸収ピークに比べて広がっていることがわかります。しかも水の吸収はいくつかの成分に分離できそうです。これは水が多様な刹那のネットワーク構造を持っていることを示しています。こうした水の透過赤外分光スペクトル測定は稀です。水の和音の音源構造が明らかになることを期待して、我々はスーパーコンピュータを用いた第一原理計

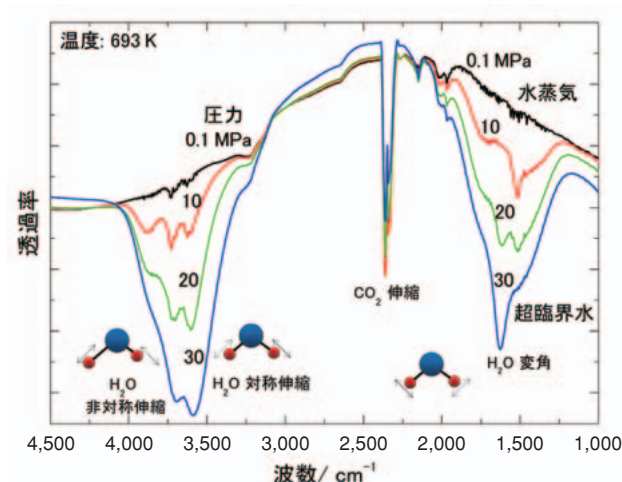


図 3 水の赤外線吸収スペクトル圧力依存性
(647 K以上, 22 MPa以上が超臨界水)

算を始めています。

水中での反応により金属が透明化し、さらに脱水により酸化物となる反応は、「水の出入りが物質の質的变化を導く」と考えることができます。アミノ酸が出会い、水分子が離脱することでペプチド結合してタンパク質となります。加水分解はその逆です。翻って考えると、私たちの世界で水は、無機、有機を問わず、反応場であり、仲介者であります。こうした発想で細胞や生体病理組織の顕微赤外分光観察を始めました。生命エネルギー反応の基本であるATPの分解反応も水溶液中で観察できるようになりました。

私の研究はこのように流転してきましたが、それは、水の惑星に生まれ出でた我々の根源的宿命・必然なのかもしれません。私は眼をつむって分子の振動に耳を傾けはじめて、改めて事象は眼にも留まらぬ速さで刻々と変遷しているのだということを実感しました。しかもそこには相互作用に基づく色々な音色が響き合っています。

世の先端技術は今や素晴らしく、電顕においては溶液中高分解能観察が実現し、収差補正により分解能は向上しLiまで見えています。今後、[時空]間での測定技術は補完的に先鋭化してゆくことでしょう。この4月に、本学は江戸川と中川に懐かれた葛飾の水辺に新しいキャンパスを立ち上げました。空へのどのような旅が始まるのでしょうか。

著者略歴

石黒 孝 (いしぐろ たかし)

所属 東京理科大学 基礎工学部 材料工学科

肩書 教授

学位 工学博士

蛍光指紋による食品の安全性検知技術

Detection of food safety using fluorescence fingerprint

杉山 純一* 藤田 かおり**

1. 蛍光指紋とは

蛍光指紋の説明をする前に、まず既存の蛍光という現象を説明する。通常、蛍光とは、図1(左)に示すように、ある特定波長成分だけからなる光(励起光)を試料に照射し、それによって生じる様々な波長の光(蛍光スペクトル)のことを指す。日常では、蛍光灯の白色光は、蛍光管の内側から目に見えない紫外域の光が蛍光管内側に塗られた蛍光体に照射され、幅広い波長域を持った白色光を生じる蛍光現象である。そして、このような蛍光現象を利用して、様々な化学成分の判別・定量を行うのが蛍光分析法で、感度が通常の吸収分光法と比較して非常に高いのが特徴である。この場合は、刺激(特定の励起波長)が1種類、それに対する応答(蛍光スペクトル)が1本というひと組の刺激と応答の情報を解析することになる。しかしながら、情報は多ければ多いほど、その中に含まれる有用な情報が抽出できる可能性が高い。そこで、情報量を多くすることを考える。それには、刺激を複数にし(つまり、複数の励起波長を順次走査して照射)、それに対する応答(蛍光



杉山 純一



藤田 かおり

スペクトル)も複数本、得られれば、図1(右)のような3次元の膨大な情報が得られる。この3次元データを上から見れば、等高線図のようなパターンが観察される。このパターンは、その試料特有の蛍光特性がすべて表現されたものと考えられ、蛍光指紋(Fluorescence Fingerprint)、または励起蛍光マトリクス(Excitation Emission Matrix)と呼ばれている。

さて、この蛍光指紋は、実際に測定するとなると、かなりの手間がかかる。我々が、7年ほど前にこの計測法に興味を持ち、たまたま隣の研究室にあった海外製の非常に高価な蛍光分光光度計にその測定機能があることを知り、データの蓄積を始めた時は、1つの試料の測定に6時間かかっていた。励起側、蛍光側の双方をスキャンするため、仕方ないのであるが、データ蓄積が遅々として進まないもどかしさがあった。ところが、ある時、日立ハイテクが世界最高速の蛍光分光光度計を出していると聞き、わらをもすがる思いで、分析センターを訪問し、実機のデモを見せて頂いた。なんと、今まで6時間かかっていた測定が、わずか4分程度でできることに驚愕するとともに、一気に研究の進展を予感させ

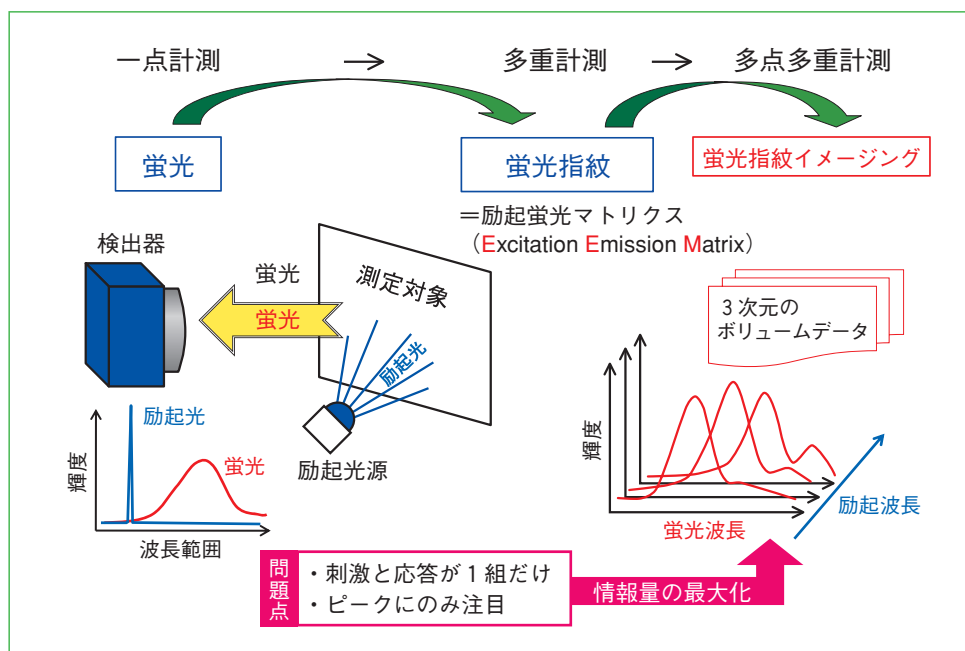


図1 蛍光から蛍光指紋へ

* (独)農研機構 食品総合研究所 食品工学研究領域 計測情報工学ユニット ユニット長・上席研究員 工学博士
 ** (独)農研機構 食品総合研究所 食品工学研究領域 計測情報工学ユニット 特別研究員 博士(農学)

るものであった。現在、当研究室では、2台の蛍光分光光度計(F7000)を導入し、食品分野への様々な応用を試みている。本稿では、その実例の一部を紹介する。

2. データ処理のパラダイム・シフト

従来の蛍光は主に輝度値がピークの情報のみを解析することが多かった。確かに単一の際立った蛍光成分が目的ならそれで済むが、最近のセンサ技術は飛躍的に向上し、目に見えるような強い光の情報だけでなく、僅かなエネルギー収支による様々な反応もデジタル量でとらえることができる。すなわち、蛍光スペクトル上の微小な凹凸、ショルダや、さらに蛍光のない低レベルでも拡大すればなんらかの情報が確認できる。そこで、解析対象を、ピークだけに限定せず、すべての領域を平等に取り扱いながら、必要な情報のみをうまく抽出するモデルを構築すること、すなわちデータマイニングは、昨今のコンピュータ技術が得意とするところである。

さらに昨今のICT(情報通信技術)の進展は、これまでの不可能を可能にする。近年、デジカメが普及し、解像度の高い写真が携帯電話でも撮れるようになった。また、写真が画素という小さな点の集まりであることは誰もが認識しつつある。この画素を上記の蛍光指紋の検出器として使えば、画素ごとに蛍光指紋を取得することも可能である。そして、画素ごとにその特徴を判断し、色に置き換えれば、これまで見えなかったものも可視化することができる。これが、我々が世界初の技術として開発を進めている蛍光指紋イメージングである。

3. 蛍光指紋の計測

測定された蛍光指紋の一例を、図2左に示す。この図では、X軸が蛍光波長、Y軸が励起波長として描かれている。対角にあたる45度の線上は、照射した励起光と観察する蛍光の波長が同じことを意味し、いわゆる散乱光(分光反射スペクトルがZ軸方向に観察される位置)である。この散乱光は、計測原理から、整数倍の位置(2次光, 3次光...)にも表れる。また、蛍光は、励起波長より必ず長い波長に表れるため(ストークスの法則)、前述の45度の対角線より蛍光波長軸側(図2の場合は対角線より下側)に描かれるパターンが蛍光指紋である。

従って、実際にデータ解析に用いる情報は、これらの不要な情報を削除し、残った情報のみを蛍光指紋として用いる必要がある。すなわち、①蛍光波長より大きい励起波長部分(対角線より励起波長寄りの部分)、②1次, 2次, 3次...の散乱光除去、③ノイズの多い低感度領域を削除することが必要となる。これらの前処理を行うと、得られる蛍光指紋領域は、図2右のような領域になり、一例として、生データで5,041点あった蛍光強度値(Z軸の数値)が、2,063点に削減される。最終的には、この残ったデータを、離散データとして、X軸方向にスキャンし、1次元のベクトルデータとして、以降の解析に用いる。

4. 小麦かび毒の推定^{1)~5)}

小麦やトウモロコシ類の赤かび病菌で産生されるかび毒には、デオキシニバレノール(Deoxynivalenol, DON)、ニバレノール(Nivalenol, NIV)、ゼアラレノン(Zearalenone, ZEA)等がある。かび毒汚染は、穀類

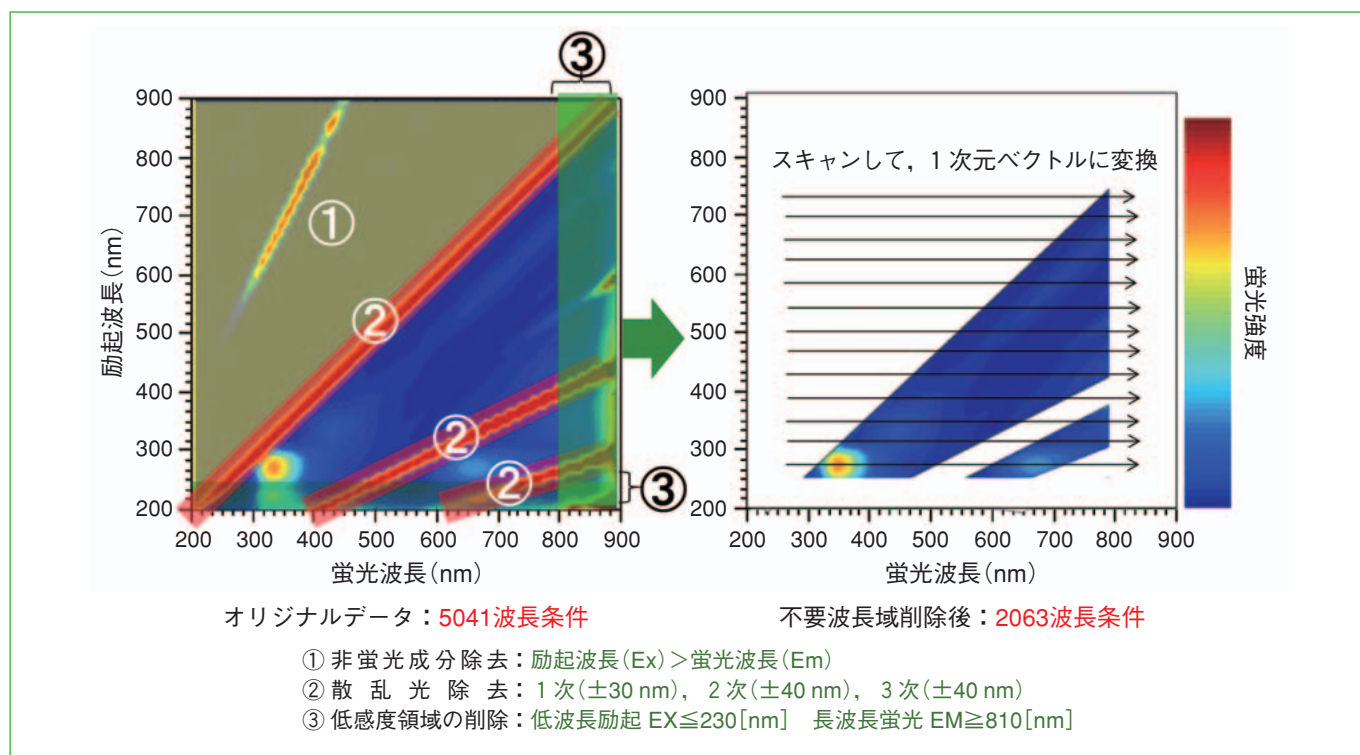


図2 蛍光指紋データの前処理(不要な波長域の削除)

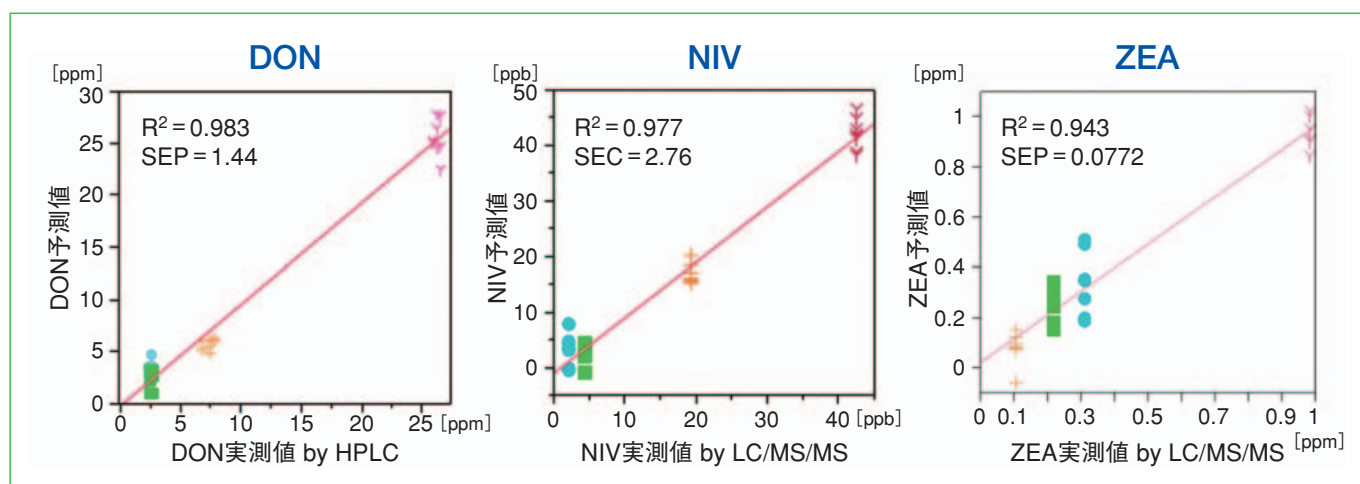


図3 3つのかび毒の同時推定(バリデーション結果)

の収量・品質低下を招くばかりでなく、汚染穀物を摂取したヒトや動物に嘔吐、下痢、頭痛などの有害作用を示すため、世界中で重大な問題となっている。そこで、かび毒汚染の迅速・簡易な非破壊計測技術の開発を目的として、小麦粉の状態で、それぞれのかび毒の同時定量推定の検討を行った。

かび毒汚染小麦(品種：ホクシン)は、圃場にて赤かび病発病程度(低、中、高、甚)の異なる4つの試験区から収穫し、それを粉碎した小麦粉を試料とした。レファレンスとなるDON、NIV、ZEAの化学分析値は、DONは、公定法に基づく液体クロマトグラフィー法により濃度を算出した。NIV、ZEAに関しては、公定法ではND(不検出)となる微量であったため、LC/MS/MSにて測定を行った。蛍光指紋は粉のまま分光蛍光光度計(日立F7000)で計測した。得られた蛍光指紋にPLS回帰分析を適用し、蛍光指紋情報による各かび毒の汚染濃度の定量推定を試みた。

図3に、DON、NIV、ZEAにおけるPLS回帰分析のバリデーション試料における結果を示す。化学分析値と蛍光指紋に基づく推定値の間にいずれも直線性が見られ、各かび毒で濃度推定が可能であった。これは、かび毒種による蛍光特性の僅かな違いが反映された結果であると推察された。これらから、蛍光指紋計測と多変量解析を組み合わせることで、一次スクリーニングとしての小麦粉中のかび毒汚染濃度の推定や、異なるかび毒の同時定量への応用の可能性が示唆された。

5. ナツメグにおけるアフラト

キシンの推定^{6)~8)}

アフラトキシンは熱帯から亜熱帯地域にかけて生息する*Aspergillus flavus*などのカビにより生成されるカビ毒の一種であり、天然物の中で最も強力な発ガン物質として知られている。日本ではアフラトキシンB1を対象に規制値(10 ppb)が定められており(注：2011年10月よりTotal AFでの規制に変更)、香辛料中のアフラトキシンB1を検出する手法として、多機能カラムを使用したHPLCやLC/MSなどの化学分析が公定法として採用されている。しかし、これらの手法は、煩雑な前処理や機器の操作・習熟を要するため、香辛料の産地や流通段階で実施可能な簡易・迅速なスクリーニング手法の開発が望まれている。ここでは、蛍光指紋により、煩雑な前処理をせずに簡易・迅速にナツメグ抽出液中のアフラトキシンB1を検出する手法について検討を行った。

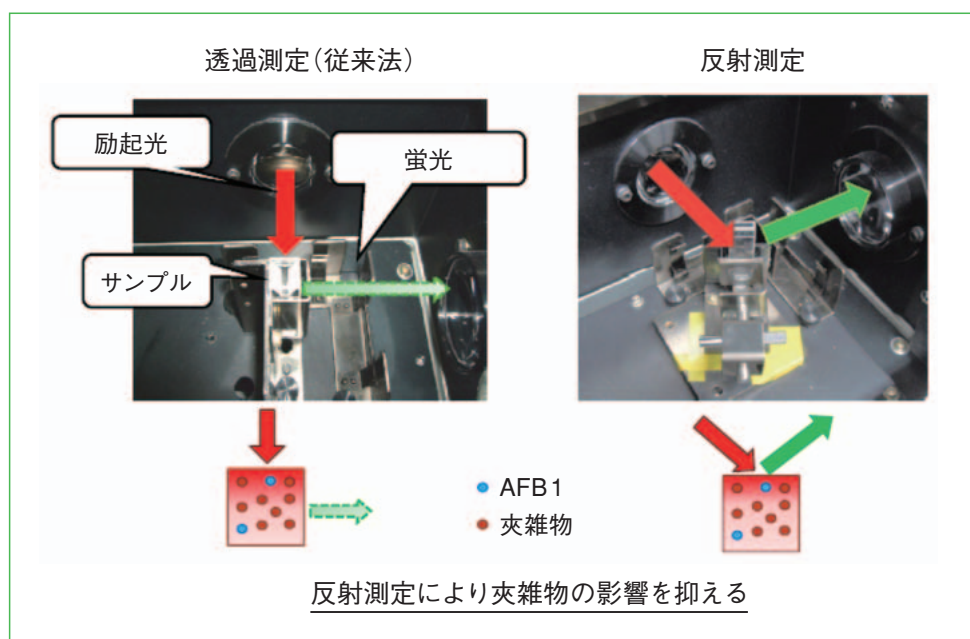


図4 蛍光指紋計測における透過測定と反射測定

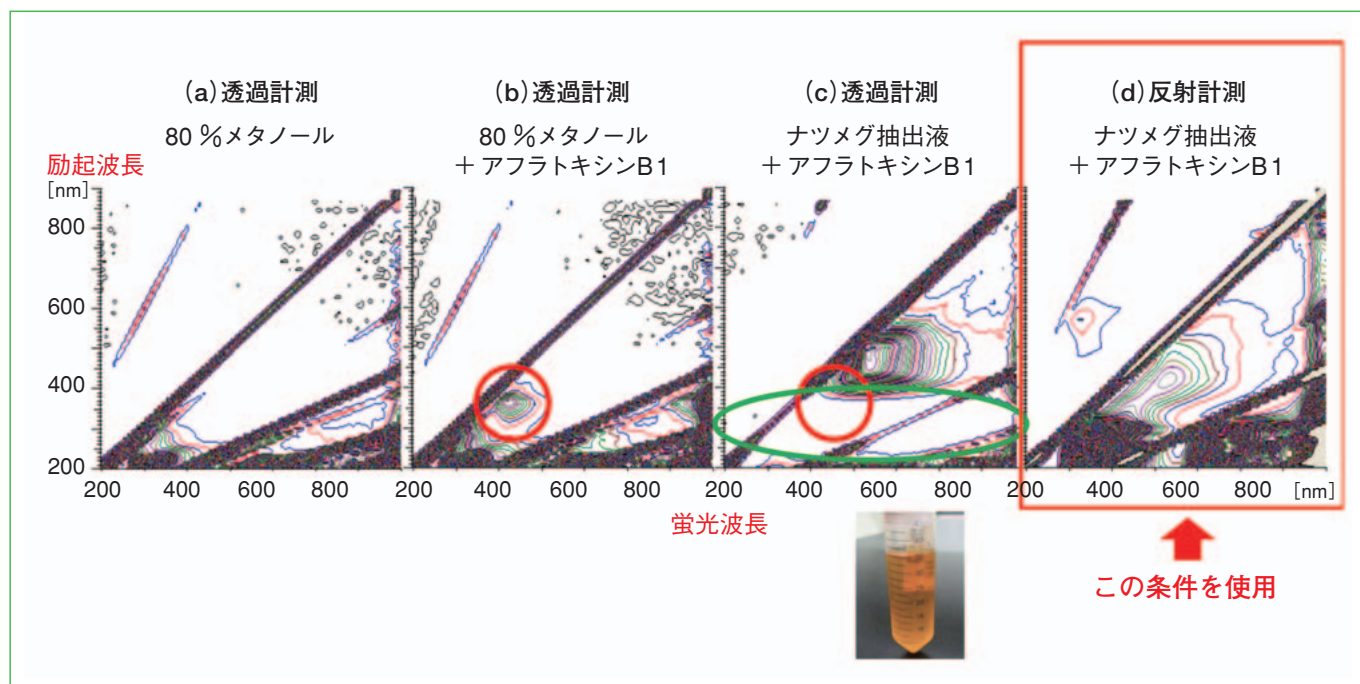
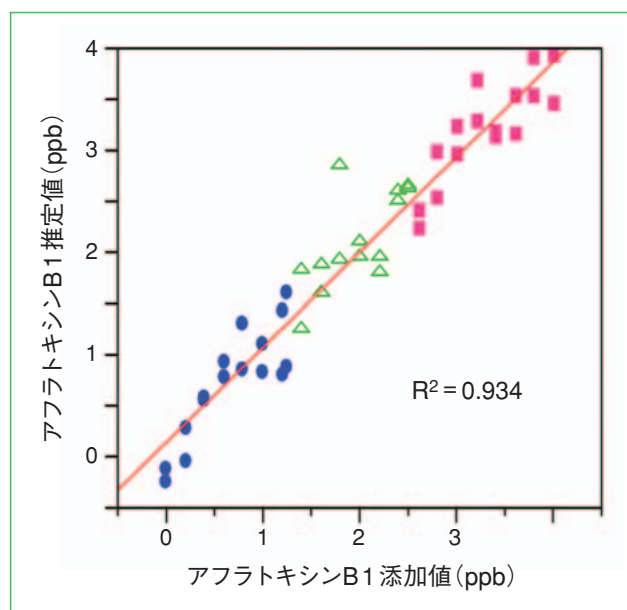


図5 アフラトキシンB1の蛍光指紋計測

アフラトキシン未検出のナツメグを粉碎した後、メタノール溶液(メタノール：水 = 8：2)で振とう抽出を行い、遠心器で抽出残渣を取り除いたものをナツメグ抽出液とした。この抽出液にアフラトキシンB1標準試薬(メタノール：水 = 8：2)を添加し、0.0～4.0 ppb (23濃度段階)の疑似汚染濃度となるよう調製した。アフラトキシンB1標準溶液と疑似汚染試料は、前処理をせずに、そのまま蛍光指紋計測に供試した。蛍光指紋の測定条件を検討するために、透過計測と反射計測(図4)を試みた。

図5に、その結果を示す。図5(a)においては、透明なメタノールだけであるので、ほとんど蛍光情報はみられない。そこにアフラトキシンB1を添加した場合は、アフラトキシンの特徴的な蛍光ピークが観察される。しかし、メタノールに替わってナツメグ抽出液にアフラトキシンB1を添加すると、ナツメグ抽出液の色素による励起光の吸収が生じ、透過法においては図4の下部に図解したように、キュベットセルの内部まで励起光が到達できないため、蛍光情報はほとんど得られなくなる。しかし、反射法においては、キュベットセル表面のみにては蛍光現象が生じるので、図5(d)のようなアフラトキシンの情報も含んだ蛍光指紋が得られることが明らかになった。すなわち、蛍光指紋の測定に反射法を用いることで、煩雑な前処理を経ずに疑似汚染試料に含まれるアフラトキシンの計測が可能となった。得られた蛍光指紋データにPLS回帰分析を適用することにより、推定値は、実際のアフラトキシンB1添加濃度と高い直線性を示した(図6)。これらの結果から、蛍光指紋を用いることで、ナツメグ抽出液中におけるppbレベルの低濃度のアフラトキシンB1濃度を簡易に推定可

図6 PLS回帰分析によるアフラトキシンB1濃度推定
(●△■は、便宜的につけた3段階の濃度)

能になると推察された。

6. 蛍光指紋の可能性

蛍光指紋は、励起蛍光マトリクスともよばれ、その概念は決して新しいものではない。しかしながら、実際に手間をかけずに比較的短時間で計測ができるようになったのは、ここ4、5年のことであり、また、得られた膨大なデータを十分な精度で判別や定量に応用できるようになったのも、最近のコンピュータと情報科学の進歩によるところが大きい。ここに紹介した以外にも、マンゴーの産地判別⁹⁾、そば乾麺におけるそば粉と小麦粉の混合割合の推定^{10,11)}、穀粉の種類・等級

の判別¹²⁾，食肉表面における一般生菌数の推定¹³⁾などに成功している。我々は，さらに，そのアドバンテージを活かし，蛍光指紋計測を点から面に拡張した蛍光指紋イメージングの研究も行っており，その事例として，パン生地中におけるグルテン，デンプン分布の可視化^{14)～16)}，食肉表面の生菌数分布の可視化¹⁷⁾なども実現している。今後は，さらに使いやすい蛍光分光光度計の改善，現場で使える小型・迅速検査装置，あるいは蛍光指紋イメージング装置などのハードウェアの開発とともに，食品産業における様々な物質・成分の判別・定量および新しい用途開発を進めることにより，社会に役立つ基盤技術としての発展が期待される。

文 献

- 1) 藤田かおり，葛瑞樹，杉山純一，励起蛍光マトリクス計測を応用したデオキシニバレノールの新規判別法，日本食品科学工学会誌，55，177-182(2008)
- 2) Fujita K., Tsuta M., Kokawa and Sugiyama J., Detection of deoxynivalenol using fluorescence excitation-emission matrix, Food and Bioprocess Technol., 3, 922-927(2010)
- 3) 藤田かおり，葛瑞樹，杉山純一，久城真代，柴田真理朗，蛍光指紋による小麦粉中のデオキシニバレノールの非破壊計測，日本食品科学工学会誌，58，375-381(2011)
- 4) 藤田かおり，杉山純一，葛瑞樹，小澤徹，柴田真理朗，吉村正俊，粉川美踏，久城真代，蛍光指紋を利用したコムギ中のカビ毒の非破壊簡易検出法の開発，農業情報研究，21，11-19(2012)
- 5) 杉山純一，葛瑞樹，富田(藤田)かおり，吉村正俊，危害要因検知方法，危害要因検知装置，および，プログラム，公開特許公報，特開2012-177606(2012.9.13)
- 6) Fujita K. Sugiyama J., Tsuta M., Shibata M., Kokawa M., Onda H. and Sagawa T. Detection of aflatoxins B1, B2, G1 and G2 in nutmeg extract using fluorescence fingerprint, J. Food Sci. Technol. Res., (in press)
- 7) 杉山純一，葛瑞樹，富田(藤田)かおり，佐川岳人，アフラトキシン検知方法，アフラトキシン検知装置，および，プログラム，公開特許公報，特開2012-177607(2012.9.13)
- 8) Kaori Fujita, Junichi Sugiyama, Mizuki Tsuta, Mario Shibata, Mito Kokawa, Hiroyuki Onda, Takehito Sagawa: "Detection of aflatoxins B1, B2, G1 and G2 in nutmeg extract using fluorescence fingerprint", Food Science and Technology Research, (in press)
- 9) 中村結花子，藤田かおり，杉山純一，葛瑞樹，柴田真理朗，吉村正俊，粉川美踏，鍋谷浩志，荒木徹也，蛍光指紋計測によるマンゴーの産地判別，日本食品科学工学会誌，59，387-393(2012)
- 10) 杉山武裕，藤田かおり，葛瑞樹，杉山純一，柴田真理朗，粉川美踏，荒木徹也，鍋谷浩志，相良泰行，励起蛍光マトリクスによるそば粉と小麦粉の混合割合の推定，日本食品科学工学会誌，57，238-242(2010)
- 11) Shibata M., Fujita K., Sugiyama J., Tsuta M., Kokawa M., Mori Y. and Sakabe H., Predicting the buckwheat flour ratio for commercial dried buckwheat noodles based on the fluorescence fingerprint, Biosci., Biotechnol and Biochem., 75, 1312-1316 (2011)
- 12) 葛瑞樹，杉山純一，前田竜郎，遠藤繁，穀粉の判別方法及び装置，特許第5274288号(2013.5.24)
- 13) Oto N., Oshita S., Makino, Y. Kawagoe Y. Sugiyama J. and Yoshimura M., Non-destructive evaluation of ATP content and plate count on pork meat surface by fluorescence spectroscopy, Meat Sci., 93, 579-585(2012)
- 14) Kokawa M. Fujita K., Sugiyama J., Tsuta M., Shibata M., Araki T. and Nabetani H., Visualization of gluten and starch distributions in dough by fluorescence fingerprint imaging, Biosci., Biotechnol. Biochem., 75, 2112-2118 (2011)
- 15) Kokawa M., Fujita K., Sugiyama J., Tsuta M., Shibata M., Araki T. and Nabetani H., Quantification of the distributions of gluten, starch and air bubbles in dough at different mixing stages by fluorescence fingerprint imaging, J. Cereal Sci., 55, 15-21 (2011)
- 16) Kokawa M., Sugiyama J. Tsuta M. Yoshimura M., Fujita K. Shibata M., Araki T. and Nabetani H., Development of a quantitative visualization technique for gluten in dough using fluorescence fingerprint imaging, Food and Bioprocess Technol., 5, (2012)
- 17) Nishino K., Nakamura K., Tsuta M., Yoshimura M., Sugiyama J., and Nakauchi S., Optimization of excitation-emission band-pass filter for visualization of viable bacteria distribution on the surface of pork meat, Optics Express, 21(10) (2013) DOI:10.1364/OE.21.012579

職場における化学物質のリスク評価のための 個人曝露濃度測定方法の開発

Development of the personal exposure monitoring methods for the risk assessment of occupational chemical exposure

竹内 靖人*

1. はじめに

現在、労働現場で使用されている化学物質は約 6 万種類を超え、平成17年以降毎年1,200物質を超える新規登録が行われている。現行の労働安全衛生法では、約 120物質については特別規則によりリスク管理を行っているものの、近年発生している化学物質等による疾病の半数は、未規制の物質によるものである。したがって、職場における化学物質による健康障害防止のためには予防的な管理が必要であり、事業者が自主的にリスク評価を行い、その結果に基づきリスク管理を行っていくことが重要であると考えられている。しかしながら、中小企業等ではこれらの自主的な管理は不十分であるため、必要に応じてリスク評価を行い、リスクが高い化学物質と作業等については規制を行うなどの、国によるリスク管理の実施も求められている¹⁾。そこで厚生労働省は平成18年からリスク評価を開始し、このリスク評価に関する事業として、中央労働災害防止協会は、平成16年度より有害性評価および曝露実態調査の事業(「職場における化学物質のリスク評価推進事業」)を受託している。現在のリスク評価は、平成21年度に示された「労働者の有害物によるばく露評価ガイドライン」²⁾に従って行われており、実際の作業場で測定した個人曝露濃度の結果から算定される 8 時間加重平均濃度(TWA8h, 8-hour time-weighted average)と、有害性評価から算出された評価値(曝露限界値)を比較することにより、リスクの判定が行われている。

2. 個人曝露濃度測定方法に

ついて

個人曝露濃度測定とは、作業者個人の曝露状況を把握するための測定である。具体的には、サンプラーを作業者の襟元付近に取り付け、腰などに装着した吸引ポンプにより呼吸域の空気を吸引して、化学物質を捕集する。サンプラーに捕集された化学物質は、前処理を行い、様々な分析機器で分析する。以下に、個人曝露濃度測定に使用されるサンプリング方法と分析方法について、簡単に述べる。



竹内 靖人

2.1 サンプリング方法

サンプリングには、ろ過捕集方法、液体捕集方法、固体捕集方法および直接捕集方法などが用いられる(表 1)。捕集方法は、対象物質の物理化学的性質や作業環境空気中での形態などを考慮して、選択される。対象物質が空気中に粒子状として存在していると想定される場合は、ろ過捕集または液体捕集方法が選択される場合が多い。一方、気体状(ガスまたは蒸気)として存在している場合は、液体捕集、固体捕集、直接捕集方法が選択される場合が多い³⁾。

Table 1 個人曝露濃度測定で使用されるサンプリング方法

捕集方法	原 理
ろ過捕集方法	試料空気をろ過材(グラスファイバーろ紙やメンブランフィルターなど)を通して吸引し、ろ過材上に対象物質を捕集する
液体捕集方法	試料空気を液体に通し、または液体の表面と接触させることにより溶解、反応等をさせて、液体中对象物質を捕集する
固体捕集方法	試料空気を固体の粒子(シリカゲルや活性炭など)の層を通して吸引することにより吸着させて、固体の粒子上に対象物質を捕集する
直接捕集方法	試料空気を吸収、吸着などの過程を経ずに、捕集容器内に採取する

* 中央労働災害防止協会 大阪労働衛生総合センター

2.2 分析方法

捕集後の試料は、そのまま分析することができる場合もあるが、多くの場合には、分析に適した状態になるように前処理を行う必要がある。前処理には、抽出や脱着などの比較的簡単な操作から、より複雑な誘導体化操作などがある。特に、そのままの形では分析できないものや、低濃度まで分析することが困難なものは、誘導体化の技術が必要となる。分析方法は、あらゆる分野における分析方法の中から、使用する捕集方法と最適な組み合わせとなる方法を選択する。

3. 個人曝露濃度測定方法の開発

個人曝露濃度測定方法は、前述の通り、サンプリングと分析の2つの工程から成るため、測定方法の開発の際には、測定方法の全体的なデザインを考えながら、最適なサンプリング方法と分析方法の組み合わせを選択する必要がある。また、先述のガイドラインには、曝露実態調査で用いる個人曝露濃度測定方法についての精度要件が記載されている²⁾。その要約をTable 2に示した。過去に報告された測定方法であっても、この精度要件を満たすか否かを事前に確認し、満たさない場合は、測定方法の改良もしくは新規開発を行う必要がある。実際のところ、多くの化学物質は、測定方法が確立されておらず、新規開発となる場合も多い。このような状況から、当協会では、社内に「測定手法検討分科会」を設置し、(株)日立ハイテクノロジーズをはじめとした分析機器メーカー、試薬メーカー、サンプラーメーカーおよび民間作業環境測定機関などを外部委員として招き、技術的な助言やサポート等の協力を得て、

測定方法の開発を行っている。以下に、我々が開発した測定方法の一部について紹介する。

3.1 モノエタノールアミンおよびジエタノールアミン⁴⁾

モノエタノールアミン(monoethanolamine, MEA)は、合成洗剤、乳化剤、有機合成、切削油等の添加剤、pH調節剤などに広く使用されている。ジエタノールアミン(diethanolamine, DEA)は、化粧品やワックス等の乳化剤、合成洗剤、潤滑油などの添加剤、繊維等の柔軟剤原料、有機溶媒などに広く使用されている。MEAおよびDEAともに、発がん性物質としては分類されていない。MEAの許容濃度(労働者が1日8時間、週間40時間程度、肉体的に激しくない労働強度で有害物質に曝露される場合に、当該有害物質の平均曝露濃度がこの数値以下であれば、ほとんどすべての労働者に健康上の悪い影響が見られないと判断される濃度)は、ACGIH(American Conference of Governmental Industrial Hygienists: 米国産業衛生専門家会議)および日本産業衛生学会によって3 ppmが勧告されており、DEAについてはACGIHによって1 mg/m³が勧告されている。MEAやDEAのようなアルカノールアミンは、作業環境空气中で粒子状および気体状で存在していると考えられるため、最近の報告ではそれら両方を捕集できる硫酸含浸フィルターがサンプラーとして用いられている。アルカノールアミンはアミノ基を有するため、フィルターに含浸された硫酸と反応し、それぞれ安定な硫酸塩を形成する。また、アルカノールアミンの分析は、一般的に直接分析が困難であるため、報

Table 2 「労働者の有害物によるばく露評価ガイドライン」における測定方法の精度要件

項 目	精度要件
(測定手法関係)	
回収率	90 %以上 ただし、困難な分析法については、できる限りこの値に近く、再現性の良い分析法を選択
脱着率	90 %以上 ただし、困難な分析法については、できる限りこの値に近く、再現性の良い分析法を選択
保存性	目的となる期間において90 %以上 なお、目的となる期間は5日以上となることが望ましい
(分析手法関係)	
検量線の直線性	検量線の相関係数(r)が以下の基準を満たすことが望ましい 有機化合物： $r \geq 0.999$ 金 属： $r \geq 0.99$
定量下限	定量下限値は有害性評価の結果から算定された評価値の1/10の値以下 吸光光度分析法の定量下限値：検量線上での吸光度0.03に相当する分析対象物質の標準溶液濃度 その他の分析法における定量下限値：所定の分析結果の標準偏差(σ)の10倍

告された分析方法のほとんどで、誘導体化が用いられている。誘導体化方法の一つとして、Serbinらは9-fluorenylmethyloxycarbonyl chloride (FMOC-Cl)を用いた、シンプルな誘導体化方法を報告している。そこで我々は、Serbinらの分析方法を改良し、硫酸含浸フィルターによる捕集と組み合わせることにより、MEAとDEAの同時測定方法を開発した。

Serbinらの前処理方法において、過剰なFMOCはペンタンによる抽出によって取り除かれる。しかしながら、この操作ではFMOCを十分に除去できず、更に誘導体生成物の損失を引き起こす可能性があると考えられる。この問題を解決するために、我々は10% N-メチルモルホリンを触媒として加え、過剰なFMOCを加水分解し

た〔この際、分解生成物として9-fluorenylmethanol (FMOC-OH)が生成される〕。また分析には、高速液体クロマトグラフ-蛍光検出器(HPLC-FL)またはフォトダイオードアレイ検出器(PDA)を用いるが、彼らのHPLC分析条件ではFMOC-ジイソプロパノールアミン(ジイソプロパノールアミンは実際の作業場で共存する可能性がある)とFMOC-MEAは、完全分離しなかったと報告している。それゆえ、これらの十分な分離を得るために、HPLC分析条件(カラムの選定、カラムオープンの温度、移動相の組成、グラジエント条件および検出波長)の最適化を行った。クロマトグラムをFig. 1に示した。FLの検出感度はPDAのおよそ6-9倍であったが、FLの検量線の直線範囲はPDAよりも狭いため、

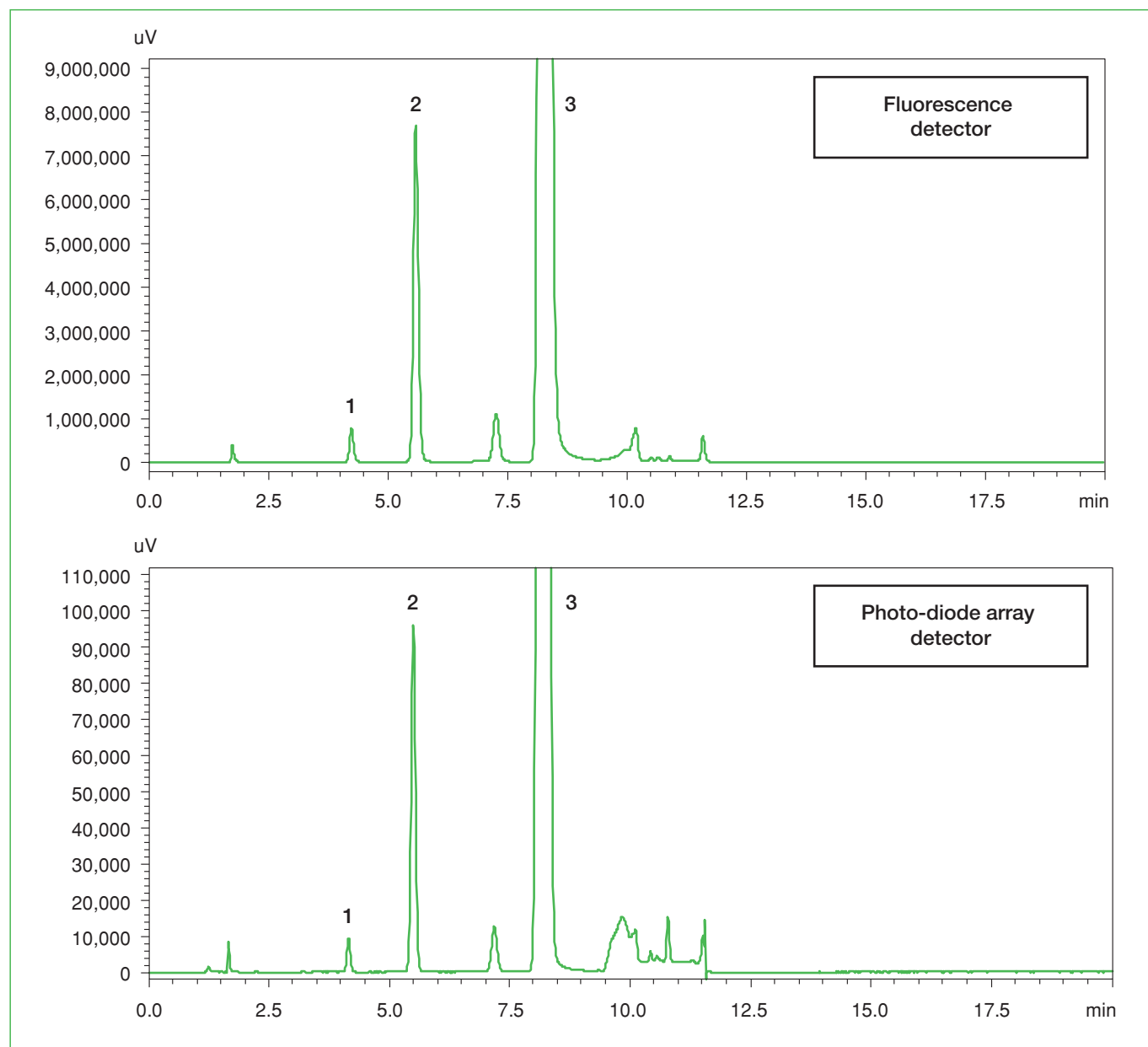


Fig. 1 Chromatograms of 9-fluorenylmethyl (FMOC) derivatives of monoethanolamine (MEA) and diethanolamine (DEA) in an extracted solution from the acid-treated filter spiked with MEA and DEA mixed standard solution. Peak 1, FMOC-DEA (24.8 $\mu\text{g}/\text{sample}$); peak 2, FMOC-MEA (179 $\mu\text{g}/\text{sample}$); peak 3, 9-fluorenylmethanol (FMOC-OH).

FLの検量線の直線範囲を超えたサンプルは、PDAの検量線を用いて定量した。添加回収率は、86-99 % (MEA, 添加量：0.747-3,580 μg) および88-99 % (DEA, 添加量：0.104-497 μg) と良好であった (Table 3)。しかし、それぞれ0.179 μg (MEA) と0.0248 μg (DEA) 添加時の回収率が80 %以下 (MEA：47 %, DEA：55 %) を示したため、本法の定量下限値は、それぞれ0.750 $\mu\text{g}/\text{sample}$ (MEA) と 0.100 $\mu\text{g}/\text{sample}$ (DEA) と考えられた。

また捕集後のサンプラーは、冷蔵で少なくとも5日目まで保存可能であることが確認された。本法は、MEAおよびDEAともに許容濃度の1/3,000-2倍の範囲で個人曝露濃度測定が可能である。

3.2 p-フェニルアゾアニリンおよび 2-メチル-4-(2-トリルアゾ)アニリン⁵⁾

p-フェニルアゾアニリン (別名：4-aminoazobenzene, AAB) は、塩として染色、アシッドイエロー、ジアゾ染料の合成中間体、二塩基酸の評価試薬 (比色分析) などに、そして2-メチル-4-(2-トリルアゾ)アニリン (別名：o-aminoazotoluene, AAT) は、靴墨およびその他の

ワックスつや出し剤の着色などに広く使用されている。発がん性については、AABおよびAATは共に、IARC (International Agency for Research on Cancer：国際がん研究機関) および日本産業衛生学会において Group 2B (possibly carcinogenic to humans：ヒトに対する発がん性が疑われる) と分類されている。また、許容濃度は、ACGIHおよび日本産業衛生学会ともに提案されていない。作業環境中空气中的AABまたはAATの測定方法の報告は、我々の知る限り見当たらない。そこで我々は、AABとAATの同時測定方法を開発した。

我々は、2つの理由から硫酸含浸フィルターをサンプラーとして採用した。一つは、AABおよびAATの物理化学的性質を考慮すると、これらは作業環境空气中で粒子状として存在するものと推察されたためであり、もう一つは、AABおよびAATはフィルターに含浸された硫酸と反応し、それぞれ安定な硫酸塩を形成するためである。また、分析方法には、製品中 (革製品や玩具など) を対象とした、いくつかの方法が報告されている。今回我々は、実際の作業場で共存する可能性のある16種類の着色剤 (AABおよびAATを含む) を分離できる、BS EN 71-11のHPLC-PDAを用いた分析方法を採用した。しかしながら、この方法は、45分のランタイムが必要であるため、分析時間を短縮するためにHPLCの分析条件 (カラムの選定、移動相の組成、グラジエント条件および検出波長) の最適化を行った。AABおよびAATの吸収スペクトルは、385 nm付近に極大吸収波長を示したため、定量波長は385 nmとした。AATはMax plot上で、Disperse Blue 124のピークと重なったが [Fig. 2 (A)], 測定波長の385 nmではこの妨害は観察されなかった [Fig. 2 (B)]。それゆえ、少なくともこれらの着色剤が共存した場合においても、AABおよびAATの定量に著しい妨害はないと考えられた。最終的に本法の分析時間は、オリジナルの方法の1/4に短縮された [Fig. 2 (C)]。添加回収率は、77-98 % (AAB, 添加量：2.50-500 μg) および85-98 % (AAT, 添加量：2.50-500 μg) と良好であった (Table 4)。しかし、それぞれ2.50 μg (AAB) と1.25 μg (AAT) 添加時の回収率が80 %以下 (AAB：77 %, AAT：72 %) を示したため、本法の定量下限は、それぞれ5.00 $\mu\text{g}/\text{sample}$ (AAB) と 2.50 $\mu\text{g}/\text{sample}$ (AAT) と考えられた。

また捕集後のサンプラーは、冷蔵で少なくとも5日目まで保存可能であることが確認された。本法は、21-2,000 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (AAB) および10-2,000 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (AAT) の範囲で個人曝露濃度測定が可能である。

Table 3 Recovery from spiked sampler

Spiked amount (μg)	Recovery ^a (%)	RSD ^b (%)
MEA		
0.747	86 \pm 1.4	1.6
1.79	89 \pm 0.7	0.8
17.9	97 \pm 0.6	0.6
179	98 \pm 0.3	0.3
1,790	98 \pm 0.8	0.8
3,580	99 \pm 0.9	0.9
DEA		
0.104	89 \pm 5.1	5.7
0.248	88 \pm 2.5	2.8
2.48	95 \pm 0.9	1.0
24.8	96 \pm 0.4	0.4
248	98 \pm 0.8	0.8
497	99 \pm 0.9	0.9

A 20- μl monoethanolamine (MEA) and diethanolamine (DEA) mixed standard solution diluted with 2.75 M H_2SO_4 solution was spiked onto the front filter of five samplers. Simultaneously, room air was drawn through the samplers at a flow rate of 1 l/min for 240 min. The spiked amounts correspond to air concentrations of approximately 1/3,000-2 times the TLV-TWAs.

^a Values are expressed as means \pm SD (n=5).

^b Relative standard deviation.

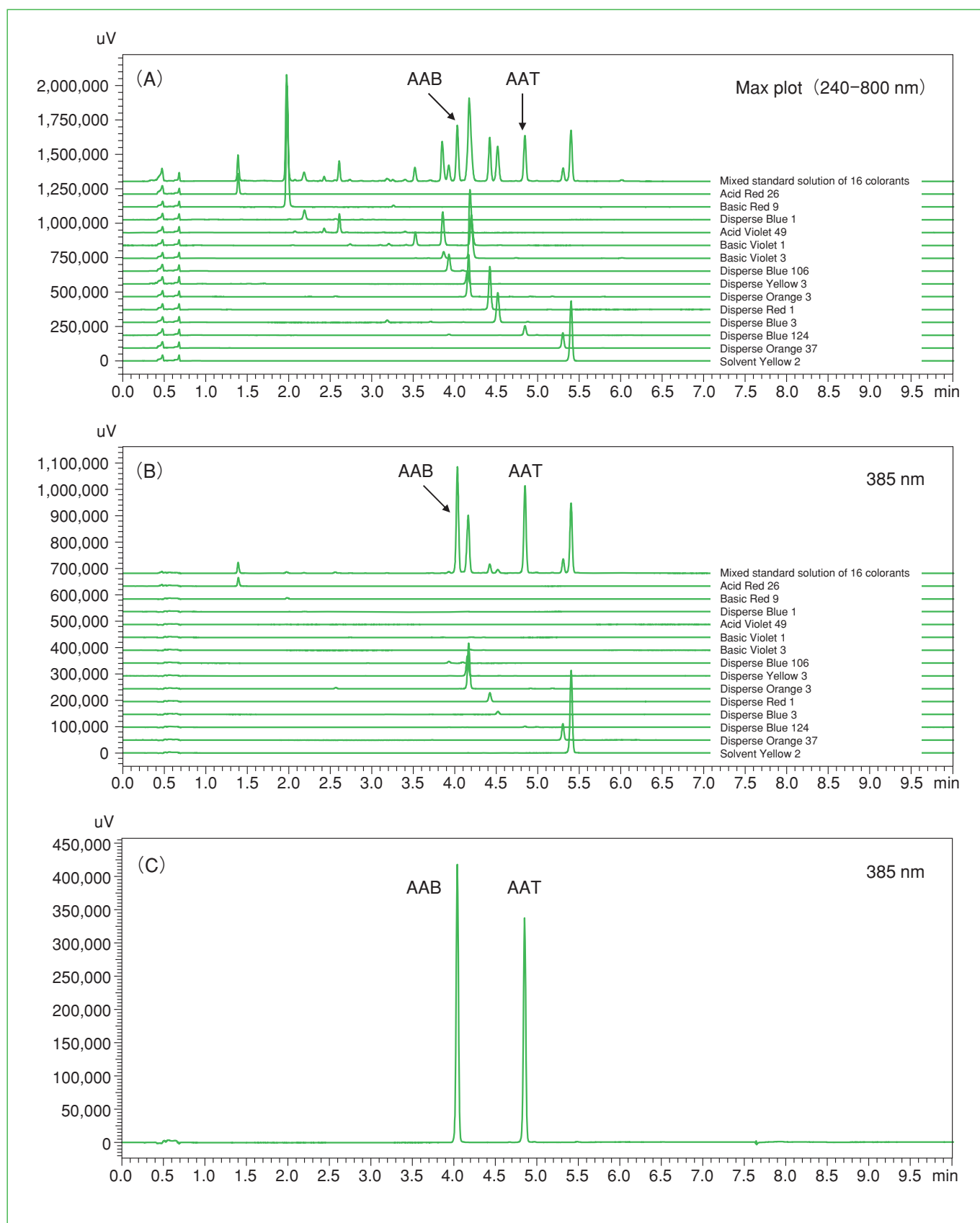


Fig. 2 Chromatograms of mixed standard solution and each standard solution for 16 colorants (each approximately 50 µg/ml) at (A) max plot (240–800 nm) and (B) 385 nm and (C) chromatograms of p-phenylazoaniline (also called 4-aminoazobenzene, AAB) and 2-methyl-4-(2-tolylazo)aniline (also called o-aminoazotoluene, AAT) in an extracted solution from the acid-treated filter spiked with AAB and AAT mixed standard solution (each 25.0 µg/sample).

Table 4 Recovery from spiked sampler

Spiked amount (μg)	AAB		AAT	
	Recovery ^a (%)	RSD ^b (%)	Recovery ^a (%)	RSD ^b (%)
2.50	77 ± 1.4	1.8	85 ± 1.7	2.0
5.00	82 ± 0.5	0.6	87 ± 2.0	2.2
12.5	88 ± 1.0	1.2	92 ± 0.9	1.0
25.0	97 ± 0.7	0.7	98 ± 0.6	0.6
250	96 ± 0.5	0.6	96 ± 0.5	0.5
500	98 ± 0.6	0.6	98 ± 0.7	0.7

A 25 μl of p-phenylazoaniline (also called 4-aminoazobenzene, AAB) and 2-methyl-4- (2-tolylazo) aniline (also called o-aminoazotoluene, AAT) mixed standard solution diluted with 0.125 M H₂SO₄ in methanol solution was spiked onto the front filter of a sampler. Simultaneously, room air was drawn through the sampler at a flow rate of 1 l/min for 240 min. The spiked amounts correspond to air concentrations of approximately 10-2,000 μg/m³.

^a Values are expressed as means ± SD (n=5).

^b Relative standard deviation

4. おわりに

本稿では、現在厚生労働省が行っているリスク評価と、それに伴い我々が開発した個人曝露濃度測定方法の一部について紹介した。最近、印刷業で化学物質を原因とした胆管がんが発生したように、実際の労働現場では、未だに有害性の種類や程度が不明な化学物質や、測定方法が確立していない化学物質が多数存在している。がん等のように、曝露後長期間経過して健康影響が現れる場合があること等を考慮すると、職業性疾病が発生していない段階でのリスク評価、そしてその結果に基づくリスク管理の実施が重要であると考えられる。

当協会では、本委託事業以外にも各地区ブロックに設置された安全衛生サービスセンターを通じて、一般の事業場からのリスクアセスメントも受託している。より迅速に、より多くの測定方法を開発するためには、産業衛生に関する技術だけでなく、他の分野で開発された技術を活用する必要がある。本稿を通じて、多くの方が、リスク管理や個人曝露濃度測定技術に興味を持って頂ければ幸いである。

謝辞

本稿を作成するにあたり、適切な助言とご支援を頂

きましたバクスター株式会社の梶田衆一郎先生に心から感謝申し上げます。

参考文献

- 1) 厚生労働省. 職場における労働者の健康確保のための化学物質管理のあり方検討会報告書. 2004
- 2) 厚生労働省. 労働者の有害物によるばく露評価ガイドライン. 2009
- 3) 社団法人 日本作業環境測定協会. 作業環境測定ガイドブック「0」総論編, 第4版. 2009
- 4) Takeuchi A, Kitade T, Jukurogi A, Hendricks W, Kaifuku Y, Shibayama K, Natsumeda S, Ota H, Yamada S, Sumino K, Namera A, Kanno S. Determination method for mono- and diethanolamine in workplace air by high-performance liquid chromatography. J Occup Health 2012; 54: 340-3
- 5) Takeuchi A, Jukurogi A, Kaifuku Y, Natsumeda S, Ota H, Yamada S, Sumino K, Kanno S. Determination method for p-phenylazoaniline and 2-methyl-4- (2-tolylazo) aniline in workplace air by high-performance liquid chromatography. J Occup Health 2013; 55: 43-6

高真空SEMにおける 生きたままの生体試料観察を目指して

Toward the observation of living organisms under SEM

中村 有香* 石垣 靖人**

1. はじめに

私の研究グループでは、主として培養細胞や細胞から精製した複合体の解析に電子顕微鏡を用いた解析を試みてきた。その中で走査型電子顕微鏡(SEM)は細胞や組織の表面を観察するためには便利な装置であり、元素分析を組み合わせることで既存の顕微鏡とはひと味違う観察像を高精細に撮ることができる。観察ツールとして大いに魅力があるものの、SEM試料作製における最大の問題は、高度な技術が必要なうえに時間がかかることであり、従来の手法では迅速な研究展開ができないことが悩みであった。

2. イオン液体によるSEM観察

このため、大阪大学工学研究科の桑畑進教授が開発されたイオン液体を用いた試料作成法を試みるようになった。最近様々な分野で広く知られるようになったイオン液体は、常温において液体状態を保つ塩で、蒸気圧が限りなく0に近い性質を持つために、熱しても真空中でも蒸発することがない。また、導電性を有するた

めに電子線照射によるチャージアップも回避できる。このため、SEMの真空チャンバーに入れて液滴を観察することが可能であり、試料表面をイオン液体で処理することでSEM試料作製におけるコーティングの新技术として有用であることが様々な試料で実証されつつある。特に、従来は観察が難しかった含水サンプルについても適用が可能であり、迅速かつ簡便な試料作成が可能となっている^(1, 2)。

3. イオン液体による培養細胞のSEM観察

筆者の属する研究グループでは培養細胞を利用した研究を行ってきたことから、グルタルアルデヒドにより固定した培養細胞でのイオン液体処理を試行してきた。細胞は実験処理を簡単にするために合成樹脂シート上で培養したものをを用いた。固定処理を行ったヒト肺がん由来A549細胞とヒト膵がん由来PANC-1細胞を純水で洗浄した後に、サンプルをイオン液体中に1分程度浸してからキムワイプで除去すると、サンプルの出来上がりである。従来の複雑な手順を踏んだ緻密なプロトコールと比べると、信じられないほど簡単な操作であり時間もかからない。簡単かつ迅速な試料の作製が可能になっている。

処理済みの細胞がのった合成樹脂シートを試料台上の導電テープに貼り付けてから、導電を確かにするためにイオン液体で縁取りを行った。この状態でSEMに入れて観察してみると、ご



石垣 靖人

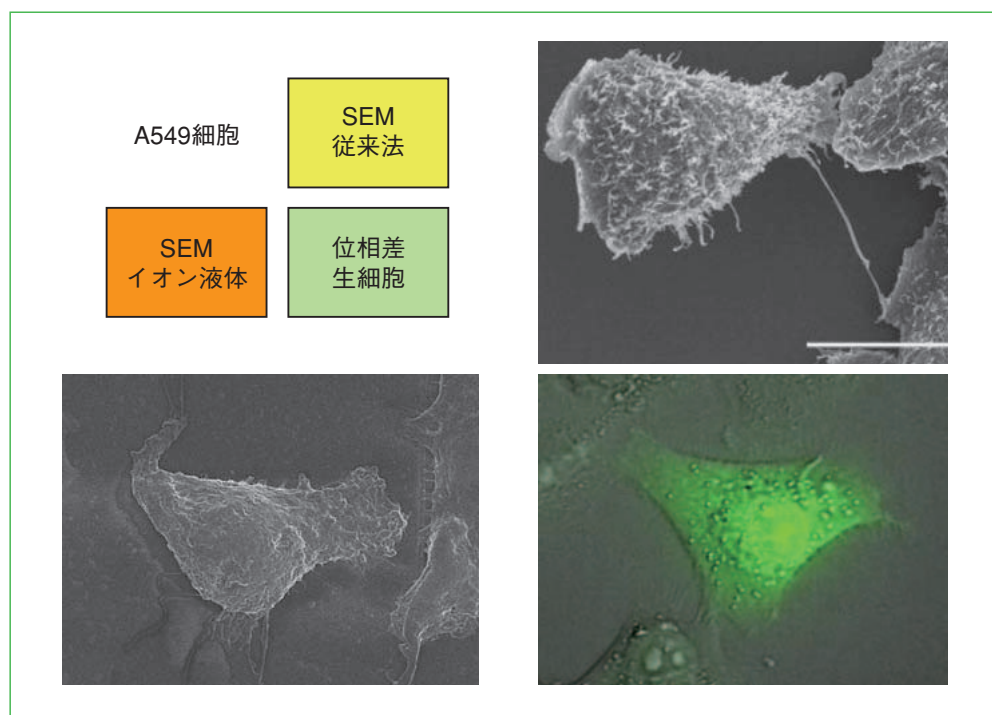


図1 ヒト肺がん由来細胞の様々な観察像の比較

ろごろした細胞の像を得ることができた。確かに観察は可能でありチャージアップも起きなかったが、倍率を徐々に上げて観察していくと、場所によっては液滴状のイオン液体がサンプル表面上に残存することもわかり、これが観察の最大の障害であった。

残存の原因はイオン液体に多少の粘性があるために、サンプルを処理した後に余分なイオン液体が除去しきれなかったことによるものと考えられる。このため、純水で希釈すると共に40℃程度まで加温して粘性を低めることが試料作成の重要なポイントとなった。つまり、粘性を下げるためにはイオン液体を純水などで希釈してやる必要があるが、希釈しすぎるとチャージアップを招いてしまう。また、イオン液体そのものは研究室レベルで普及しつつあり、日立ハイテクノロジーズからも販売されるようになってきたが、日常用いるためにはできる限り希釈して用いる方が経済的である。したがって、初めてイオン液体を用いた試料作成を試みられる場合には、第一に希釈濃度を中心に検討すれば、実験操作がシンプルだけに誰でもある程度の像が取れるようになるだろう。私たちも、いろいろと試行錯誤を繰り返した後に条件を最適化できるようになると、イオン液体の残存を回避して鮮明な像を観察できるようになった⁽³⁾。蛇足ながら、使用した電子顕微鏡についても、現在までにイオン液体の使用が原因と考えられるようなトラブルは経験していない。私たちの経験では、特に細胞の突起のような繊細な構造の観察に向いている印象がある。幸いにも様々な種類のイオン液体を提供していただけたので、イオン液体の種類も変えて検討してみたが、一般的に疎水性のイオン液体よりも親水性のもののほうがきれいな像を取りやすかった⁽⁴⁾。また、比較的低い加速電圧でチャージアップを防いでいたが、細胞をあらかじめ白金標識された2次抗体などで処理しておくことにより、像が鮮明になる傾向が観察された。他にも良い方法があるかもしれない。図2にイオン液体を使ったSEM観察の要点をまとめた。ある程度の加温と希釈濃度を最初に決定できれば、あとは繰り返し簡便かつ迅速にサンプルの用意が可能になる。

イオン液体法の特徴を活かして、Epithelial Mesenchymal Transition (EMT)を誘導した細胞でのSEM観察を行ってみた。腫瘍細胞は外界からの様々な因子に反応して、細胞の状態を変化させていることが知られているが、特にTumor Growth Factor (TGF)による細胞形態および細胞運動能の変化はEMTの一典型例であり、がんの転移を考察するうえで重要な現象のひとつである。私たちの研究では、TGF β 1処理によりEMTを誘導したA549およびPANC-1細胞におけるM期細胞の突起構造の消失を詳細に観察できた⁽⁵⁾。

4. イオン液体によるさまざまな生体試料のSEM観察

私たちの研究ではヒト培養がん細胞を用いた研究を行ってきたが、その応用により病原微生物の同定や、

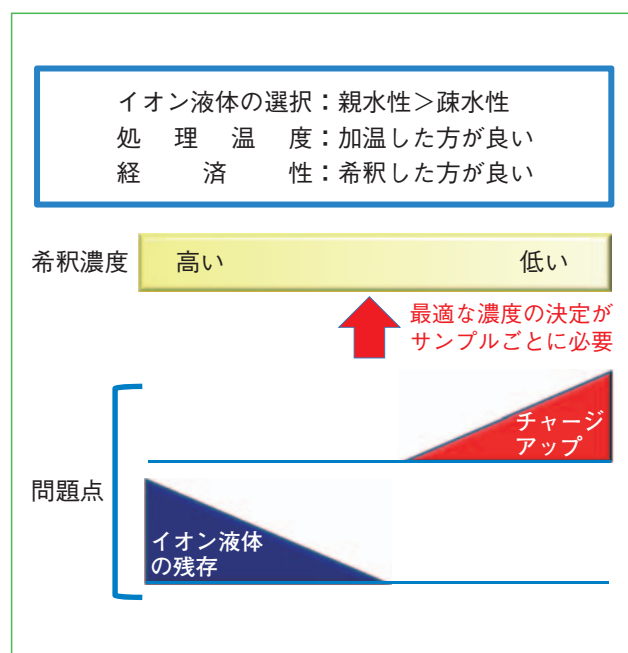


図2 イオン液体の選択および処理条件の決定

細胞や組織の診断を、従来の手法と同様に行えることが期待される。イオン液体による培養細胞のSEM観察は従来法と比較して簡便かつ短時間処理による観察が可能で、十分に実用に耐えらると思える。私たちの研究室でも臓器あるいは菌体の観察に応用を広げたが、観察が可能であった。特にキノコ類の胞子の観察では、鳥取大学の霜村典宏教授との共同研究で良好な成績を報告することもできた⁽⁶⁾。他の研究機関でも様々な生物、その組織、あるいは細胞、さらには細胞内器官の観察結果が報告されており、今後ますます応用が広がっていくことが期待されている⁽⁷⁾。

5. 生きたままあるいは生きた状態に近いSEM観察へ

イオン液体法に今後期待される観察のひとつとしては、生きたままの生体の観察法への応用があげられる。何より含水サンプルに適用が可能であり、脱水や置換処理が必要でないことから、当初から生きた細胞や個体での観察を目指した試みが行われてきた。

イオン液体を処理することにより、従来観察が不可能とされてきた自然で微細な生きたままの生体の動きをSEM内でとらえることができるかもしれないという期待は研究当初から感じていた。初めはイオン液体による防護効果を期待して様々な生きた生物への適用を検討したが、残念なことに成績は良くなかった。

そこで、発想を転換し、真空中に耐えられる生物を探すことにした。真空中に耐えることができれば、導電性はなんとか付与して観察できるだろうと考えたわけである。その結果、金沢近郊で採取されたキチマダニが真空中に十分耐えうることを見いだした。ダニを導電テープに貼付けてSEMに入れてみると、元気よく足を動かして生きたままの動きを観察することができた。また、興

味深いことに、電子線によるスキャンが反射のような足の動きを惹起することも偶然観察できた。このようにしてSEMの真空環境下に入れられたダニは、大気圧に戻しても生きており、真空処理していないコントロールと同じように歩き回っていた。実験の詳細は論文にも投稿し、またYouTubeなどにもアップされて沢山の人のために話題を提供することになった⁽⁸⁾。私たちのダニの論文が発表されてから、ナノスーツと呼ばれる耐性機構の存在が昆虫を中心として確認された。個体の表面に

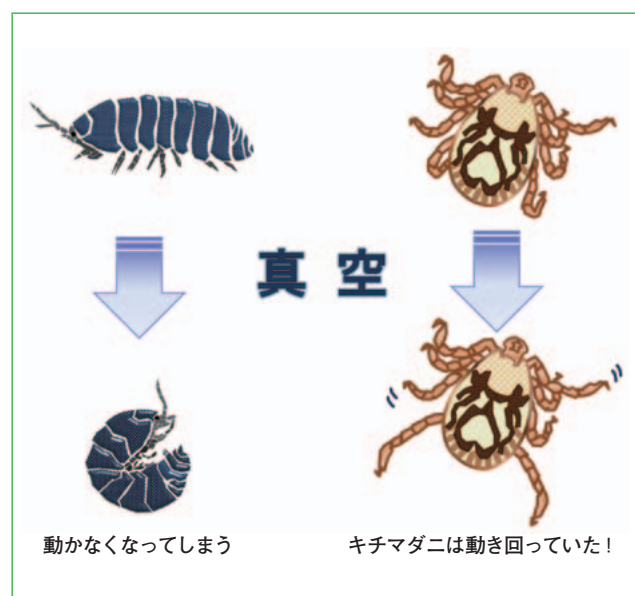


図3 真空中で活動可能な生体の探索

形成される薄膜(ナノスーツ)は、真空中に個体を耐えさせ生存を可能にする点で非常に興味深い現象である⁽⁹⁾。サイエンスとしても非常に面白いし、これからの応用を考えても色々な展開が期待できると考えられる。

一方、イオン液体中で培養心筋細胞の拍動を観察した研究成果も発表されており、イオン液体の種類を選ぶことで培養細胞が生きている状態を保つことが可能であることが示されている⁽¹⁰⁾。このような成果を考えると、従来は考えもつかなかったことが可能な時代になったと考えられる。すなわち、個体や細胞の生体試料表面を生きたまま高真空SEMで観察できる時代が到来し始めたのである。さらには、細胞内の微小な構造体もイオン液体で観察が可能であり⁽¹¹⁾、細胞の外側だけでなく内側の構造体も動きを含めて生きた状態に近い像をとることが可能になることが期待される。

なお、この文章でもお断りしておくが、私たちがダニを用いて行った研究は、あくまで学術的な興味に基づいて行われたものである。すべてのダニが真空中に耐えるものではなく、一般化できるほど検討されている訳でもない。過度な一般化により無用の誤解を招くようなことはないようお願いしたい。また、ダニがSEM内の真空中に耐えることができたことから、ダニが宇宙から到来した可能性を何度も尋ねられたが、正直筆者には手に余る質問であり、今後は専門の先生方の研究の進展に委ねたいと思う。個人的には、ダニが宇宙から飛来するためには真空耐性以外にもたくさんの条件をクリアする必要があると考えており、30分ぐらい高真空中に

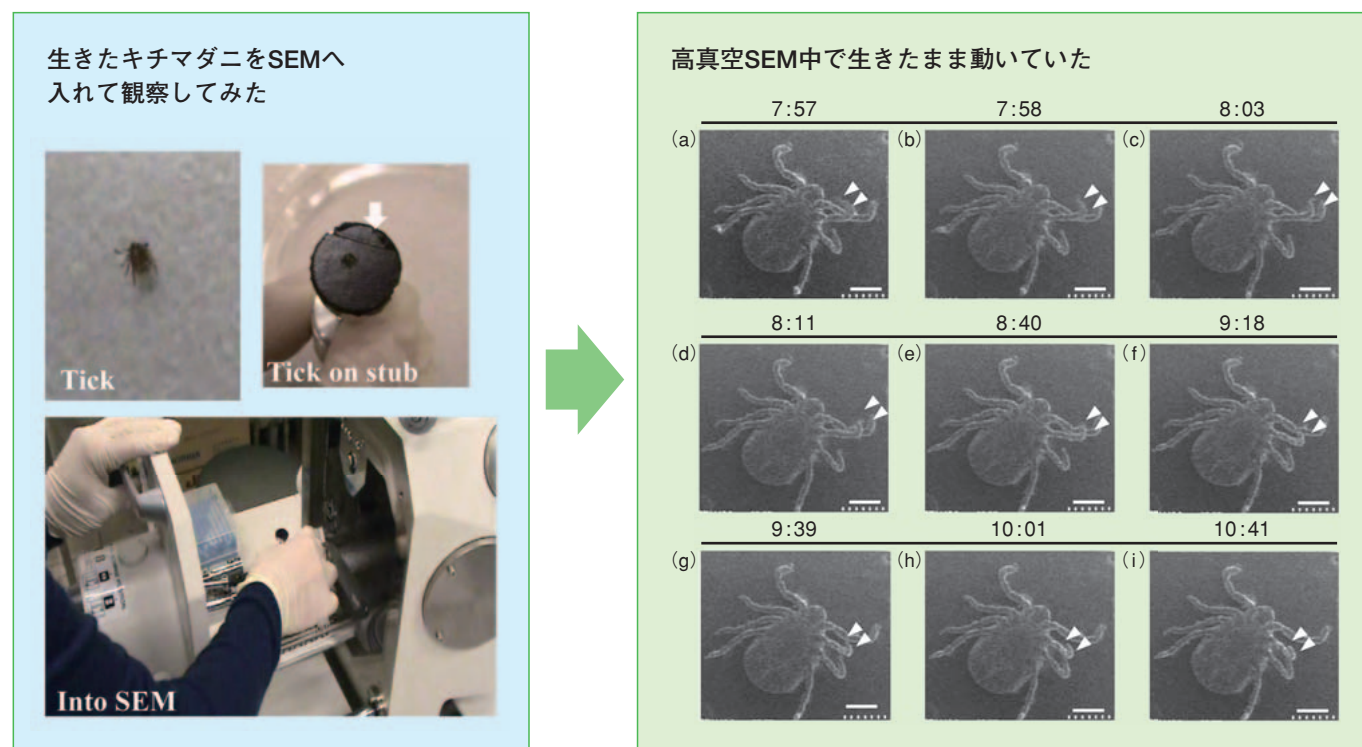


図4 SEM内で生きたままの動きを観察できた

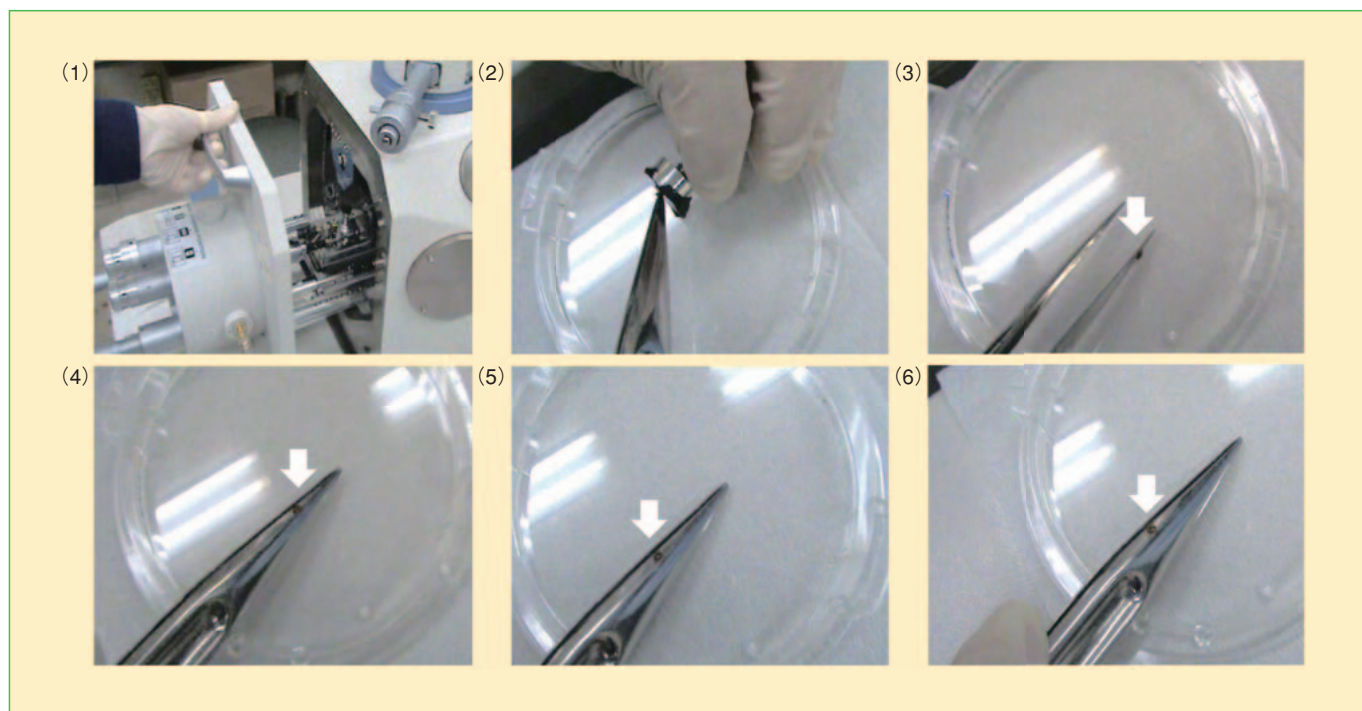


図5 ダニはSEMから出しても生きていた

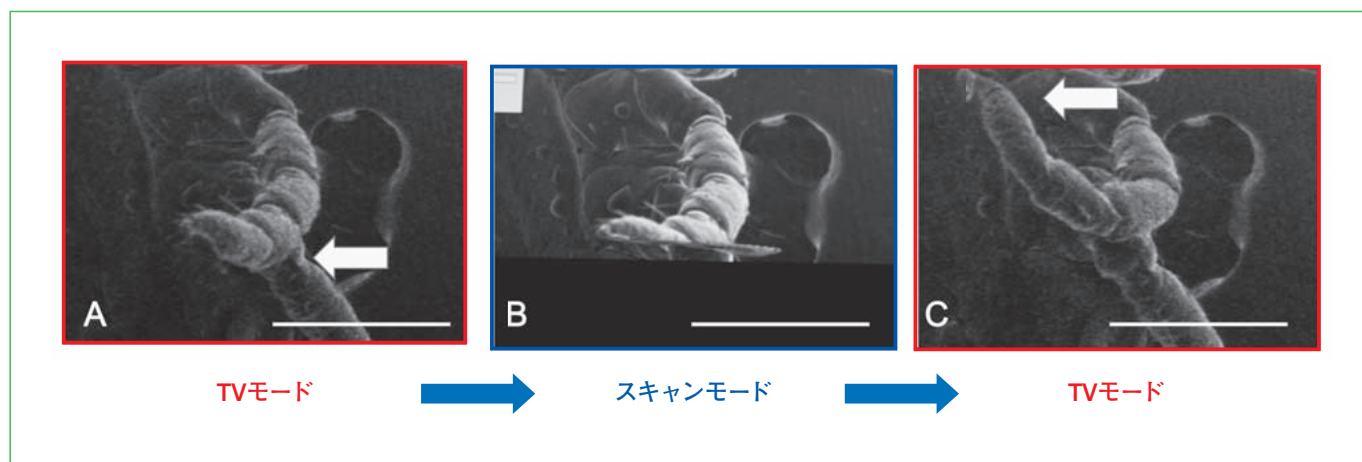


図6 ダニの足は走査電子線に反応した

耐えうるだけでは宇宙旅行は難しいのではないかと考えている。ダニと同様に苛烈な環境に耐えうるモデル生物としてはクマムシが知られており、高温、放射線、乾燥、真空中に耐えることができる (<http://tardigrades.net/index.html>などに詳しく紹介されている)。大気圏外まで運ばれた報告もあり、宇宙空間への暴露後も生き残ることができた⁽¹²⁾。ダニと同様に耐性のメカニズム解明は興味深い課題であると考えている。

6. 終わりに

以上のように、イオン液体によるSEMの観察法は単に電顕標本作製技術にインパクトを与えただけでなく、さまざまな観察手法の展開や生物学的な課題の掘り起こしに貢献してきた。イオン液体法の特徴は、なんといっても迅速かつ簡便であることである。今後も様々なサ

ンプルで試用されて、有用性が詳細に明らかになっていくとともに、基礎的な研究だけでなく診断や種の同定などに広く利用されていくものと期待される。

謝辞

本研究を推進するにあたりまして、金沢医科大学・ハイテクリサーチセンター整備事業、奨励研究(S2011-6, S2012-1)および特別推進研究(SR2012-02)により御支援を受けました。深く感謝いたします。また、研究全般に御支援いただきました金沢医科大学の友杉直久教授、竹上勉教授、中川秀昭教授および電子顕微鏡観察をサポートいただきました同大学の竹原照明技術員に深く感謝いたします。また、多数のイオン液体を快く御供与いただきました大阪大学の桑畑進教授をはじめとする医学生物学電子顕微鏡技術学会の先生方に深く感謝いたします。

参考文献

- (1) Arimoto S, Sugimura M, Kageyama H, Munakata H, Matsumoto H, Kuwabata S. Development of new techniques for scanning electron microscope observation using ionic liquid. *Electrochim Acta* 53: 6228-6234 (2008)
- (2) 桑畑進, 島本司, 中澤英子. イオン液体の電子顕微鏡応用. 顕微鏡 44: 61-64 (2009)
- (3) Ishigaki Y, Nakamura Y, Takehara T, Nemoto N, Kurihara T, Koga H, Nakagawa H, Takegami T, Tomosugi N, Miyazawa S, Kuwabata S: Ionic liquid enables simple and rapid sample preparation of human culturing cells for scanning electron microscope analysis. *Microsc Res Tech* 74: 415-420 (2011)
- (4) Ishigaki Y, Nakamura Y, Takehara T, Kurihara T, Koga H, Takegami T, Nakagawa H, Nemoto N, Tomosugi N, Kuwabata S, Miyazawa S: Comparative study of hydrophilic and hydrophobic ionic liquids for observing cultured human cells by scanning electron microscopy. *Microsc Res Tech* 74: 1104-1108 (2011)
- (5) Ishigaki Y, Nakamura Y, Takehara T, Shimasaki T, Tatsuno T, Takano F, Ueda Y, Motoo Y, Takegami T, Nakagawa H, Kuwabata S, Nemoto N, Tomosugi N, Miyazawa S: Scanning electron microscopy with an ionic liquid reveals the loss of mitotic protrusions of cells during the epithelial-mesenchymal transition. *Microsc Res Tech* 74: 1024-1031 (2011)
- (6) Yanaga K, Mekawa N, Shimomura N, Ishigaki Y, Nakamura Y, Takegami T, Tomosugi N, Miyazawa S, Kuwabata S: Use of ionic liquid in fungal taxonomic study of ultrastructure of basidiospore ornamentation. *Mycological Prog* 11: 343-347 (2012)
- (7) Tsuda T, Nemoto N, Kawakami K, Mochizuki E, Kishida S, Tajiri T, Kushibiki T, Kuwabata S. SEM observation of wet biological specimens pretreated with room-temperature ionic liquid. *Chembiochem*. 12: 2647-2550 (2011)
- (8) Ishigaki Y, Nakamura Y, Oikawa Y, Yano Y, Kuwabata S, Nakagawa H, Tomosugi N, Takegami T. Observation of live ticks (*Haemaphysalis flava*) by scanning electron microscopy under high vacuum pressure. *PLoS One*. 7: e32676 (2012)
- (9) Takaku Y, Suzuki H, Ohta I, Muranaka Y, Shimomura M, Hariyama T. A thin polymer membrane, nano-suit, enhancing survival across the continuum between air and high vacuum. *Proc Natl Acad Sci USA*. 110: 7631-7635 (2013)
- (10) Hoshino T, Fujita K, Higashi A, Sakiyama K, Ohno H, Morishima K. Contracting cardiomyocytes in hydrophobic room-temperature ionic liquid. *Biochem Biophys Res Commun*. 427: 379-384 (2012)
- (11) Dwiranti A, Lin L, Mochizuki E, Kuwabata S, Takaoka A, Uchiyama S, Fukui K. Chromosome observation by scanning electron microscopy using ionic liquid. *Microsc Res Tech*. 75: 1113-1118 (2012)
- (12) Jonsson KI, Rabbow E, Schill RO, Harms-Ringdahl M, Rettberg P. Tardigrades survive exposure to space in low Earth orbit. *Curr Biol* 18: R729-R731 (2008)

位置分解型電子線エネルギー損失分光法による炭酸バリウムと酸化チタンの固相反応の解析

Characterization of Solid-State Reaction of Barium Carbonate and Titanium Dioxide by Spatially Resolved Electron Energy Loss Spectroscopy

藤本 正之* 松本 弘昭**

1. はじめに

超小型積層セラミックコンデンサ(multilayer ceramic capacitor; MLCC)はスマートフォンやタブレットPCなどに数百個の単位で大量に使用されている。この主原料であるチタン酸バリウム(BaTiO_3)粒子は、蔭酸塩法、水熱合成法、ゾルゲル法、固相反応法など様々な合成法で製造することが可能であるが¹⁾、炭酸バリウム(BaCO_3)と酸化チタン(TiO_2)微粉体原料の安定供給が可能になった現在、固相反応法で合成される高正方晶性サブミクロン BaTiO_3 パウダーが重用されている²⁾。

走査透過型電子顕微鏡(scanning transmission electron microscopy; STEM)でよく利用される電子線エネルギー損失分光(electron energy loss spectroscopy; EELS)は、エネルギー損失吸収端微細構造(electron energy loss near-edge structure; ELNES)により微細な結晶構造の変化を調べることが可能である。すなわちELNESは、吸収端近傍の微細構造を反映しており、励起電子の対称性や原子価数に敏感で非占有状態密度の計算も可能にする。それ故、結晶場理論に基づいた結晶構造の変化や格子歪をナノメーター領域で解析することが可能である³⁾。しかし電子線を対象領域で長時間スキャンしなければならないため、加速電圧の不安定性や検出器中の浮遊磁場変動に起因したスペクトラムの微小変動を惹起する場合があります。かつ長時間の電子線照射は、試料に深刻な照射損傷や結晶的な構造変化を引き起こす場合があります。一方空間分解型EELS(spatially resolved EELS; SR-EELS)は二次元検出器であるCCDカメラの利便性を最大限に利用した分析手法で、ラインフォーカスタイプのエネルギーフィルターで特定範囲の領域で多くのスペクトルの同時計測を行う⁴⁾。この同時計測は試料への電子線照射ダメージを著しく低減できるだけでなく、1 nm以下の高い空間分解能で非常に小さな化学シフトなどの計測が可能であり、断面試料に応用されれば、深さ方向を分解したEELS分析が可能となる⁵⁾。

2. 実験方法

比表面積 $27 \text{ m}^2/\text{g}$ の BaCO_3 と比表面積 $7 \text{ m}^2/\text{g}$ の TiO_2 (100%ルチル構造)を出発原料として使用した。この混合微粉体を空气中で加熱して固相反応により BaTiO_3

を合成する過程、昇温 $10^\circ\text{C}/\text{min}$ 、 700°C 、 800°C 、 900°C の温度到達時にそれぞれの混合粉体試料を液体窒素に投下急冷した。急冷試料は樹脂包埋され、マイクロサンプリング法⁶⁾により薄片断面試料を作製した。試料の観察および分析は、Gatan Tridium 863エネルギーフィルターを装着したHF-3300冷陰極電界放射銃300 keV STEMにより行われた。SR-EELSイメージは、SR-EELSスリットにより得られ、粒子の表面から粒内に向けての所定の位置より $\text{Ti-L}_{2,3}$ エッジと $\text{Ba-M}_{4,5}$ エッジのELNESを逐次抽出した。

3. 700°C 急冷試料

試料のHAADF像を図1(a)示した。明るいコントラストの薄膜が TiO_2 粒子の表面に形成されているのがわかる。このコントラストは原子番号の大きなBa原子に起因したものの BaTiO_3 合成を示唆している⁷⁾。 TiO_2 粒子は、図1(b)に拡大されて表示された。図1(c)はHR-TEM像とそれに対応した $\text{Ti-L}_{2,3}$ エッジと $\text{Ba-M}_{4,5}$ エッジのSR-EELS像である。

TiO_2 粒子内部に向かって $\text{Ba-M}_{4,5}$ エッジの強度の弱いストリークが伸びており、 $\text{BaTiO}_3/\text{TiO}_2$ 粒子界面からおおよそ2.5 nmのところで消滅している。これはBa原子の粒内拡散に対応していると考えられ、固相反応の初期過程においてはBa原子の表面拡散が支配的であるが、体積拡散も徐々に進行していることを示している。 BaTiO_3 結晶層上のアモルファス層より先には $\text{Ti-L}_{2,3}$ エッジを伴わない、かなりの強度の $\text{Ba-M}_{4,5}$ エッジが約2 nmの幅で存在している。これは高濃度Ba原子表面層によるものである。異なる領域から得られた $\text{Ti-L}_{2,3}$ 、 $\text{Ba-M}_{4,5}$ のELNESを図2(a),(b)にそれぞれ示した。

$\text{Ti-L}_{2,3}$ ELNESは TiO_6 八面体の対称性変化を非常に敏感に反映する。ルチル構造の TiO_6 八面体がわずかな斜方晶的な歪を伴っているのに対し、アナターゼ構造の八面体は著しく歪んだ構造で、対称性は斜方晶よりも低いものとなっている。すなわち TiO_6 八面体の局所的にみた点群対称性は、歪を伴わない状態 O_h から、ルチル、アナターゼでそれぞれ D_{2h} 、 D_{2d} となる。 $\text{Ti } 3d$ 軌道の一番低いエネルギー位置にある二つ



藤本 正之

* Yageo Corporation Chief Technological Officer 工学博士
** 株式会社日立ハイテクノロジーズ 科学・医用システム事業統括本部
科学・医用システム設計開発本部 アプリケーション開発部

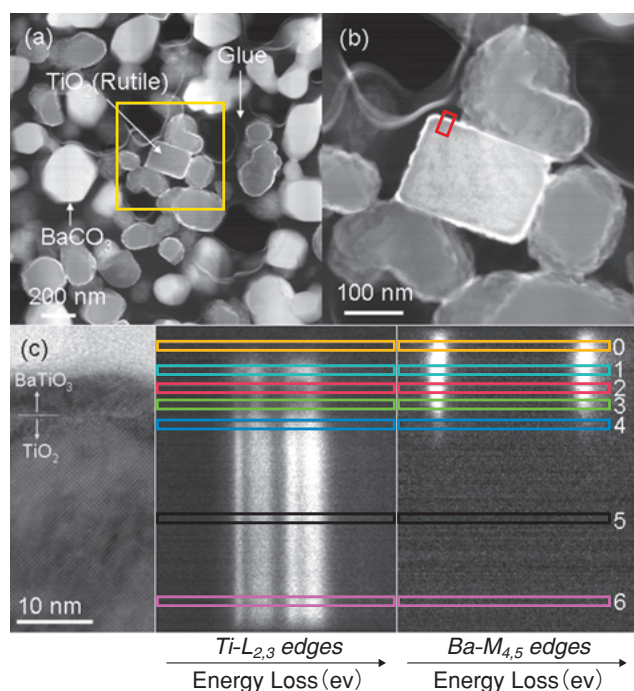


図1 (a) 700 °C 急冷試料のHAADF像。(b)図1 (a)の拡大図。SR-EELSスリットの位置は赤い四角で示されている。(c)拡大されたSR-EELSの位置(TEM像)とこれに相当するTi-L_{2,3}エッジとBa-M_{4,5}エッジのSR-EELS像。ELNESスペクトルの抽出位置は、異なる色の線と番号とで示された。BaTiO₃反応層とTiO₂ルチル粒子との界面は黄色の点線で示された。

の非占有軌道は、局所対称性で、3回対称の t_{2g} と2回対称 e_g に分離される。よって $2P$ スピン軌道相互作用は分裂した $2P_{3/2}$ と $2P_{1/2}$ とを生じる。ルチル構造とアナターゼ構造においても同様のスピン軌道相互作用が生じ、 $2P_{3/2}$ (L_3)と $2P_{1/2}$ (L_2)の二つの準位が形成される。しかしこの準位は酸素正八面体配位Tiの結晶場相互作用の影響により、縮退した $3d$ は t_{2g} ($3d_\pi$)

と e_g ($3d_\sigma$)とに分裂して二つのピークをつくることになる。この二つのピークの形状は一見ルチルとアナターゼとで良く似ているが、 L_3 エッジ、 $2P_{3/2}$ e_g ($3d_\sigma$)、2番目のピークに分裂による特徴が現れる。ルチルの場合、ピークの低エネルギー側にショルダーが現れるのに対して、アナターゼの場合は高エネルギー側にショルダーが現れる⁸⁾。

立方晶BaTiO₃のTiO₆八面体は高い対称性の点群 O_h で表わされる。よって $2P$ スピン軌道相互作用は単純に $2P_{3/2}$ (L_3)と $2P_{1/2}$ (L_2)の二つの準位を形成する。一方正方晶強誘電体BaTiO₃の場合には、点群対称 D_{4h} が歪んだと考えられる D_4 で表わされる。しかしTi-L₃エッジ、 $2P_{3/2}$ e_g ($3d_\sigma$)の分裂は、バルクの正方晶BaTiO₃でも結晶構造を大きく歪ませたBaTiO₃/SrTiO₃多層薄膜においても認められない⁹⁾。これは分裂の幅が単に小さいためか、八面体稜共有構造における結晶場分裂が頂点共有構造のそれよりも大きいことに起因していると推定される。

図2 (a), (b)を見ると、最初にBaTiO₃の表面部分に相当する抽出位置“0”で強いBa-M_{4,5}エッジピークが観察されるがTi-L_{2,3}エッジピークは現れていない。これはSR-EELS像のBaエッジから示唆されたとおり、高濃度のBa原子が粒子表面に存在することを示している。次の抽出位置“1”では、Ba-M_{4,5}エッジピークとともにTi-L_{2,3}エッジピークが観察されるが、Ti-L_{2,3}エッジピークの分裂を認めることはできない。BaTiO₃反応層の最表面部は立方晶というよりは、結晶性が極めて悪いかアモルファス状態のBaTiO₃であると推定される。抽出位置“2”と“3”では、Ti-L₂ピークとTi-L₃ピークの両方で分裂が起きている。抽出位置“4”は、SR-EELS像でTiO₂結晶内へのBaの拡散が示唆されて

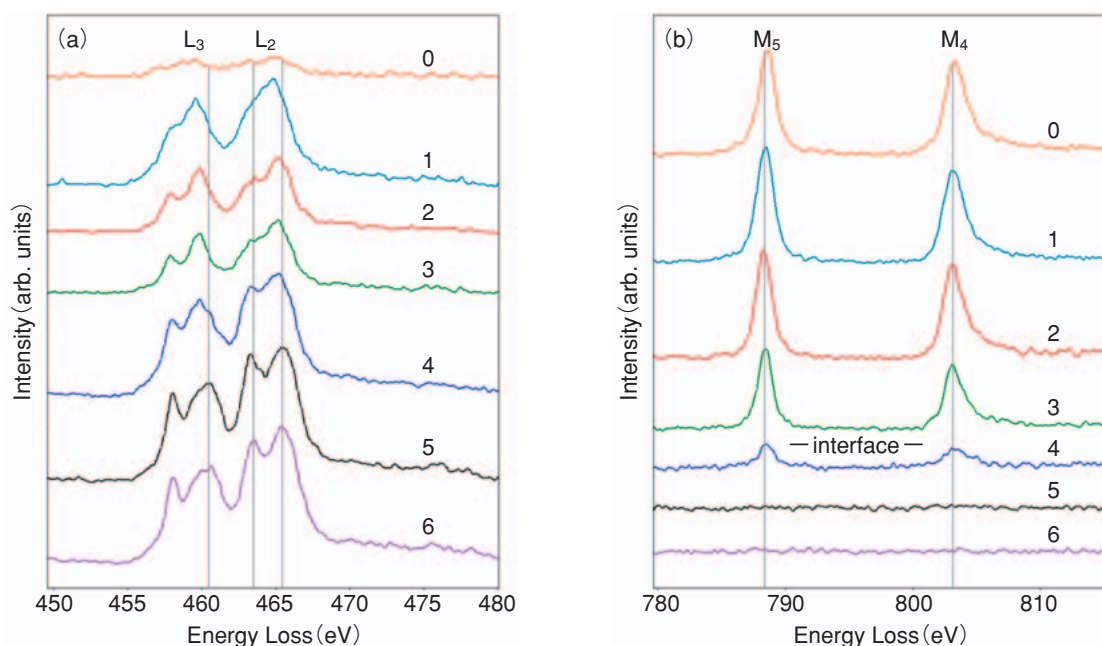


図2 図1 (c)で示されたSR-EELS像からのスペクトル抽出ポジションに対応したTi-L_{2,3}エッジとBa-M_{4,5}エッジとの深さ方向ELNES。

いた部分であり、弱いBa-M_{4,5}エッジピークが認められる。Ti-L_{2,3}エッジは、L₃の2P_{3/2} e_g(3d_σ)は高エネルギー側にショルダーがあり、大きな結晶格子歪を持つTiO₂アナターゼの特徴を示している。これはBa原子の拡散によって極めて大きな非対称的な結晶格子歪がルチル構造に発生していることを示唆していると言える。Ba原子非拡散抽出領域である“4”と“5”においては、L₃エッジの2P_{3/2} e_g(3d_σ)は、低エネルギー側にショルダーを作っており、Ba原子非拡散領域では、大きな格子歪の無いルチル構造であると言える。

4. 800 °C急冷試料

BaTiO₃成長層とTiO₂粒子の界面は波状に変形し、微結晶粒が多数成長していることを示唆している(図3)。Ba-M_{4,5}エッジは、TiO₂粒内拡散、消滅している。その拡散距離は界面より35 nmの深さであり、100 °C昇温に対応してBa原子の拡散が進行していることがわかる。BaTiO₃層表面にTi-L_{2,3}エッジを伴わないBa-M_{4,5}エッジの存在が認められ、800 °Cにおいても、まだ相当高濃度のBa原子が表面に存在することを示している。抽出されたELNESスペクトルを図4に示した。抽出位置“0”ではBa-M_{4,5}エッジピークのみが観察され、700 °C急冷試料と同様の高濃度Ba原子がBaTiO₃表面に存在することが明らかになった。表面近傍の抽出位置“1”からは、高強度のBa-M_{4,5}エッジとピークの分裂がかわらうじて確認できるTi-L_{2,3}エッジとが得られている。BaTiO₃結晶成長層表面は比較的良好な結晶性を有しているが、正方晶化はまだ大きく進んでいないと考えられる。一方BaTiO₃/TiO₂界面近傍のBaTiO₃層の抽出位置“2”から得られたELNESは、高強度のBa-M_{4,5}エッジピークと明瞭にピーク分離したTi-L_{2,3}エッジが得られており、正方晶BaTiO₃結晶が形成されていることが

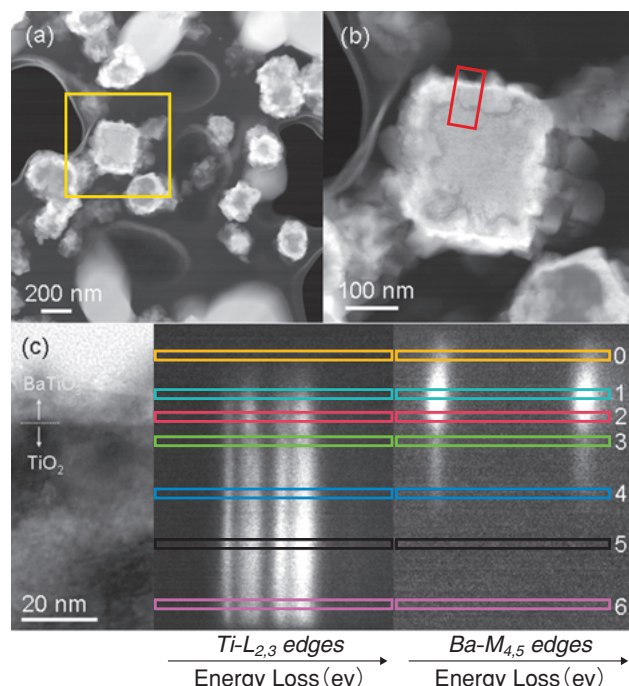


図3 (a) 800 °C急冷試料のHAADF像。界面で認められる暗い線状のコントラストは、試料を傾斜操作することにより消失することから、格子歪に起因した回折コントラストによるものと推定される。(b) 図3 (a)の拡大図。SR-EELSスリットの位置は赤い四角で示されている。(c) 拡大されたSR-EELSの位置(TEM像)とこれに相当するTi-L_{2,3}エッジとBa-M_{4,5}エッジのSR-EELS像。ELNESスペクトルの抽出位置は、異なる色の線と番号とで示された。BaTiO₃反応層とTiO₂ルチル粒子との界面は黄色の点線で示された。

わかる。TiO₂粒子側の抽出位置“3”と“4”では、弱いBa-M_{4,5}エッジピークが検出されるが、次第に低下しており、TiO₂粒子にBaの拡散プロファイルが形成されていることを示している。その一方でL₃の2P_{3/2} e_g(3d_σ)はショルダーが明瞭に認められず、ここでもBa拡散に

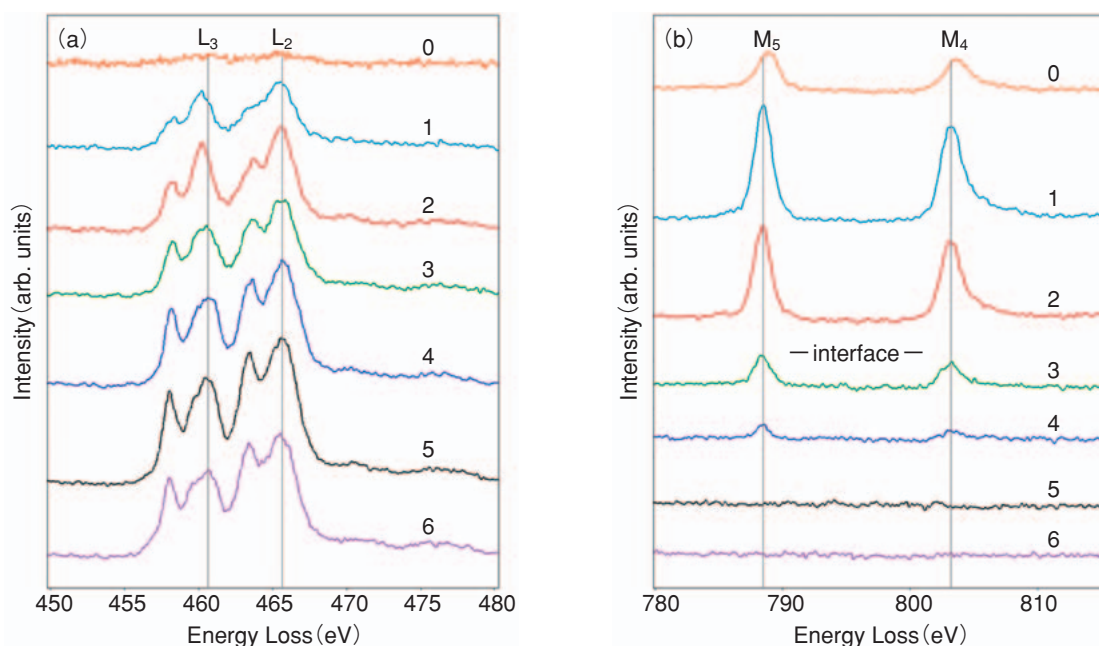


図4 図3 (c)で示されたSR-EELS像からのスペクトル抽出ポジションに対応したTi-L_{2,3}エッジとBa-M_{4,5}エッジとの深さ方向ELNES。

よる結晶格子歪が発生していることが示唆されている。Ba非拡散域の抽出領域“5”と“6”では低エネルギー側にショルダーが現れており、この領域では格子歪の発生が無い。このように、高温長時間処理でBa原子のTiO₂粒子内への拡散は著しく促進される。

5. 900 °C急冷試料

TiO₂粒子は表面にBaTiO₃の微結晶粒が多数形成されることにより著しく小さくなっているのがわかる(図5)。また微結晶粒の中には高い結晶性を示唆する四角形のものが多い存在する。その一方でBaCO₃粒子も残存していることが認められることから、合成反応は完全には終了していない。ELNESの抽出位置, “1”, “2”および“3”では、高強度のBa-M_{4,5}エッジピークとピーク分裂の明瞭なTi-L_{2,3}エッジが観察される。このことによりBaTiO₃結晶成長層は、ほぼ均質で高い結晶性を有する正方晶相であることがわかる(図6)。TiO₂粒子側の抽出位置“4”, “5”, “6”からはほぼ同程度の強度の弱いBa-M_{4,5}エッジピークと低エネルギー側ショルダーを持ったL₃, 2P_{3/2} e_g (3d_σ)ピークが観察される。よってBa原子が粒子内に均質に拡散飽和しているが、ルチル構造が維持されており、拡散飽和した状態では対称性を損なう格子歪が存在していないと言える。固相反応の最終段階でBa原子のTiO₂粒子内拡散が固溶限界まで達し、新たにBaTiO₃/TiO₂界面に来る拡散Ba原子は、その界面で逐次BaTiO₃層を形成していくものと推定される。

6. おわりに

サブミクロンオーダーのBaCO₃とTiO₂とを出発原料とした高正方晶性BaTiO₃パウダーの固相反応合成機構が断面SR-EELSによるBa原子拡散の正確な計測によって明らかにされた¹⁰⁾。反応初期過程(700 °C)はBa原

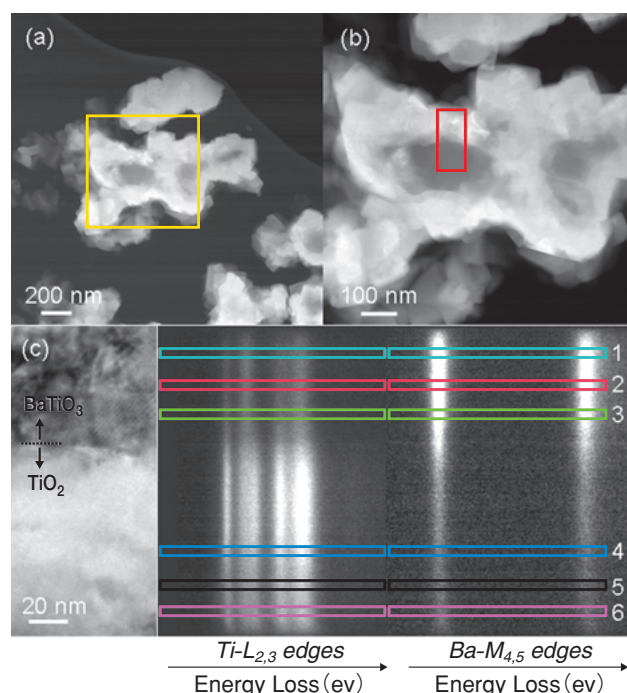


図5 (a) 900 °C急冷試料のHAADF像。(b) 図5(a)の拡大図。SR-EELSスリットの位置は赤い四角で示されている。(c) 拡大されたSR-EELSの位置(TEM像)とこれに相当するTi-L_{2,3}エッジとBa-M_{4,5}エッジのSR-EELS像。ELNESスペクトルの抽出位置は、異なる色の線と番号とで示された。BaTiO₃反応層とTiO₂ルチル粒子との界面は黄色の点線で示された。表面同様、BaTiO₃/TiO₂粒子界面はBaTiO₃成長粒子の影響を受けて凹凸が激しい。黄色の点線で示した界面は正確なものではなく、かつ界面は電子線に対して並行なedge-onの状態ではなく、界面に散見されるモアレ模様からも傾斜していると思われる、これが界面近傍のBa-M_{4,5}エッジの強度に影響を及ぼしていることが推定される。

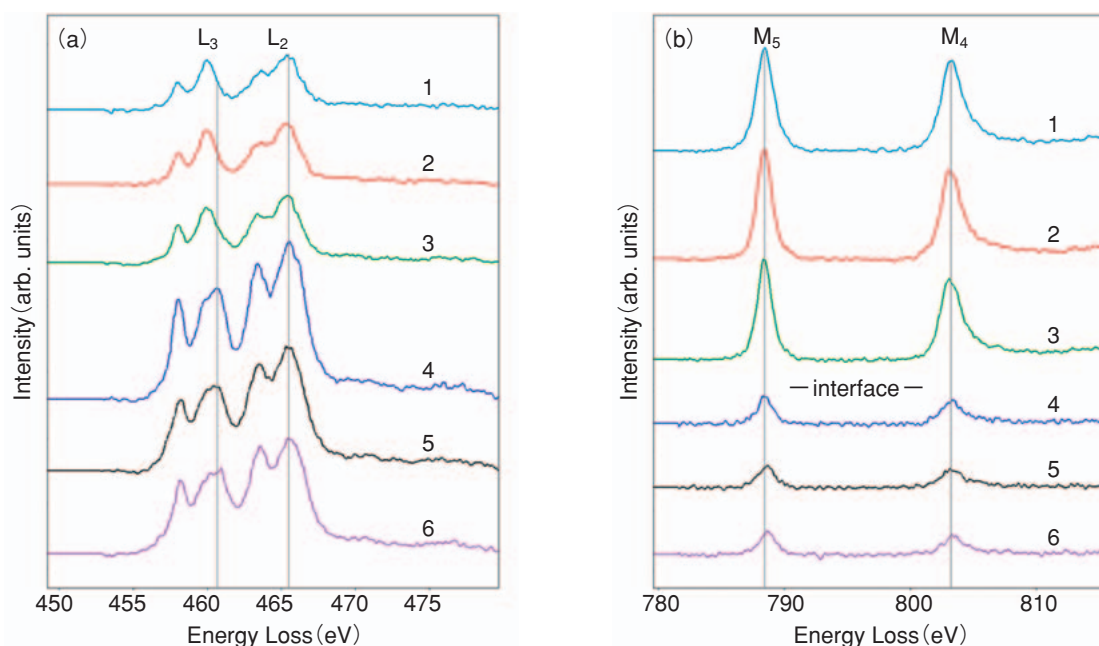


図6 図5(c)で示されたSR-EELS像からのスペクトル抽出ポジションに対応したTi-L_{2,3}エッジとBa-M_{4,5}エッジとの深さ方向ELNES。

子の表面拡散に律速されている。中期過程(800℃)に移行していくにつれてBa原子のTiO₂粒子への固相拡散が顕著となっていく。この時形成されるBa原子拡散プロファイルによりTiO₂結晶に極めて非対称性の強い格子歪が導入される。反応後期過程(900℃)では、TiO₂に拡散したBa原子は粒内で均一な飽和状態にあり、BaTiO₃/TiO₂界面で合成反応が進行する。

謝辞

急冷試料作製にはYageo R&D 諸氏のご協力を頂きました。また高分解能STEM, HF3300, マイクロサンプリングFIB, FB2100など一連の最新の構造解析、分析装置導入にあたってご支援頂きました、Yageo Corporation 会長, Mr. Pierre Chenに深謝申し上げます。

文献

- [1] C. Pithan, D. Hennings, and R. Waser, *Int. J. Appl. Ceram. Technol.*, **2**(2005)p.1
- [2] Y. Mizuno, T. Hagiwara and H. Kishi, *J. Ceram. Soc. Jpn.*, **115**(2007)p. 360
- [3] M. Fujimoto, H. Koyama, M. Konagai, Y. Hosoi, K. Ishihara, S. Ohnishi, and N. Awaya, *Appl. Phys. Lett.*, **89** (2006) 223509
- [4] K. Kimoto, T. Sekiguchi and T. Aoyama, *J. Electron Microsc.*, **46**(1997)p. 369
- [5] T. Yoshida, S. Muto and J. Wakabayashi, *Mater. Transactions*, **48** 2(2007)p. 580
- [6] T. Yaguchi, T. Kamino, T. Ishitani and R. Urao, *Microscopy and Microanalysis*, **5**(1999)p. 363
- [7] K. Kobayashi, T. Suzuki, and Y. Mizuno, *Applied Physics Express* **1**(2008)041602.
- [8] R. Brydson, H. Sauer, W. Engel, J.M. Thomas, E. Zeiter, N. Kosuge, and H. Kuroda, *J. Phys.: Condens. Matter*, **1** (1989)p. 797
- [9] J. Zhang, A. Visnoiu, F. Heyroth, F. Syrowatka, M. Alexe, D. Hesse, and H.S. Leipner, *Phys. Rev. B*, **71** (2005) 064108
- [10] H. Matsumoto, H. Kakibayashi, Y. Taniguchi, I-K. Cheng, T-T. Lee, C-L. Hu, C-T. Lee, and M. Fujimoto, *J. Am. Ceram. Soc.*, **96**(2013)p. 2651

日立高速液体クロマトグラフChromaster 5000シリーズを用いたシアン化物イオンおよび塩化シアンの分析

Analysis of Cyanide Ion and Cyanogen Chloride by High Performance Liquid Chromatograph Chromaster 5000

松崎 彩子* 阿部 敬子* 豊崎 耕作**

1. はじめに

ポストカラム誘導体化法は、カラムで分離した成分に反応試薬を反応させて生成した誘導体化物を検出する手法である。反应用のモジュールが追加されシステム構成は複雑になるが、目的成分に適した反応試薬を選択しオンラインで反応させることで高選択性・高精度な分析が可能となる。前に、Chromaster 5000シリーズ(以下、CM5000)反応LCシステムを用いた有機酸、アミノ酸、糖分析について紹介した¹⁾。今回は、CM5000を用いたシアン化物イオンおよび塩化シアンの分析方法について紹介する。

2. シアン分析の概要

水道法においてシアン化物イオンおよび塩化シアンの検査方法はイオンクロマトグラフーポストカラム誘導体化法が採用²⁾されている。本法は、検水中の化学種を陽イオン交換樹脂によって分離した後、流出液にクロラミンTを作用させて塩化シアンとし、次いで4-ピリジンカルボン酸・ピラゾロン溶液を反応させて得られた青色を波長638 nm付近の吸光度で測定し、シアン化物イ

オン、塩化シアンを分別定量する³⁾。測定精度は基準値1/10 (1 µg/L)を変動係数(CV %) 10 %以内で測定することが定められている。

3. シアン分析システム

CM5000シアン分析システムの外観図を図1、流路図を図2に示す。本方法では塩素化、発色と二段階で反応を行うため、ポンプは移動相送液用の他に反応液送液用2台を要し合計3台を用いる。発色は5510反応ユニットを用いて100℃で行う。CM5000シリーズではポンプ3台および反応ユニットが、クロマトデータステーションからフルコントロール可能である。

シアン化合物は一般に不安定であり、試料調製時は液温が上がらないように注意し速やかに測定しなければならない。オートサンプラを用いる場合は冷却機能を有することが求められるが、サーモスタット付5210オートサンプラは冷却が可能であり、今回は4℃設定で行った。

4. 標準試料の測定例

シアン化物イオンおよび塩化シアン各10 µg/Lのクロ



図1 CM5000シアン分析システムの外観

* 株式会社日立ハイテクノロジーズ 科学・医用システム事業統括本部 科学・医用システム設計開発本部 アプリケーション開発部
** 株式会社日立ハイテクノロジーズ 科学・医用システム事業統括本部 科学・医用システム設計開発本部 分析システム設計部

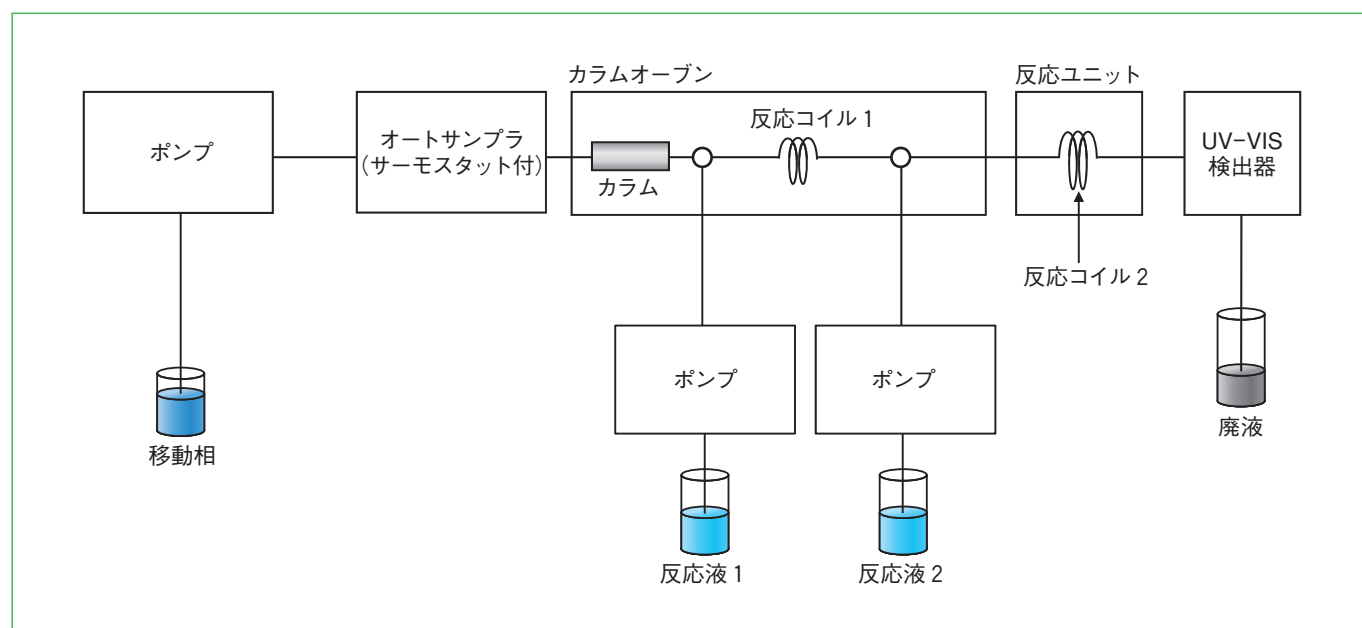


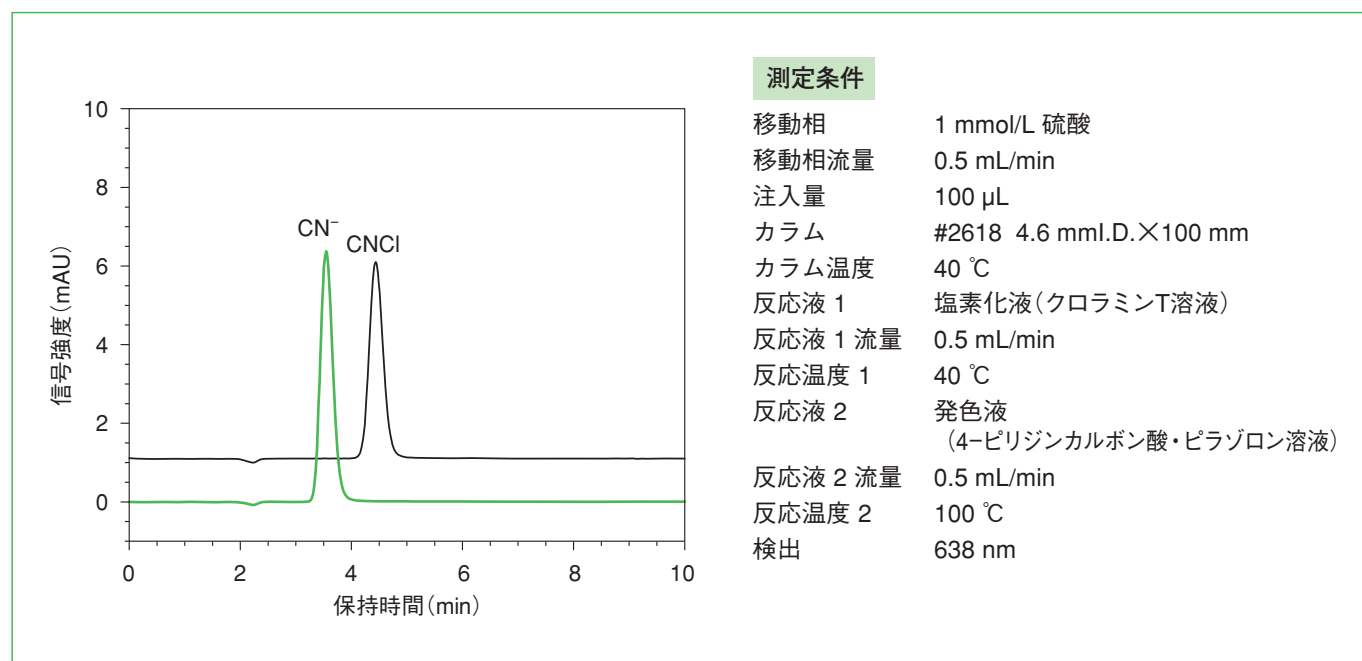
図2 シアン分析システムの流路図

マトグラムを図3に示す。0.5～10 µg/Lの濃度範囲での検量線(図4)は、シアン化物イオンで $R^2=0.9997$ 、塩化シアンで $R^2=0.9988$ の直線性が得られた。各1 µg/Lの測定値のばらつきは、保持時間CV0.05 %以下、ピー

ク面積CV2 %以下となり、基準値の1/10濃度においても良好な値が得られた。

5. 水道水の測定例

シアン化物イオンを1 µg/L添加した水道水を測定し

図3 シアン化物イオン(CN⁻)、塩化シアン(CNCl)のクロマトグラム

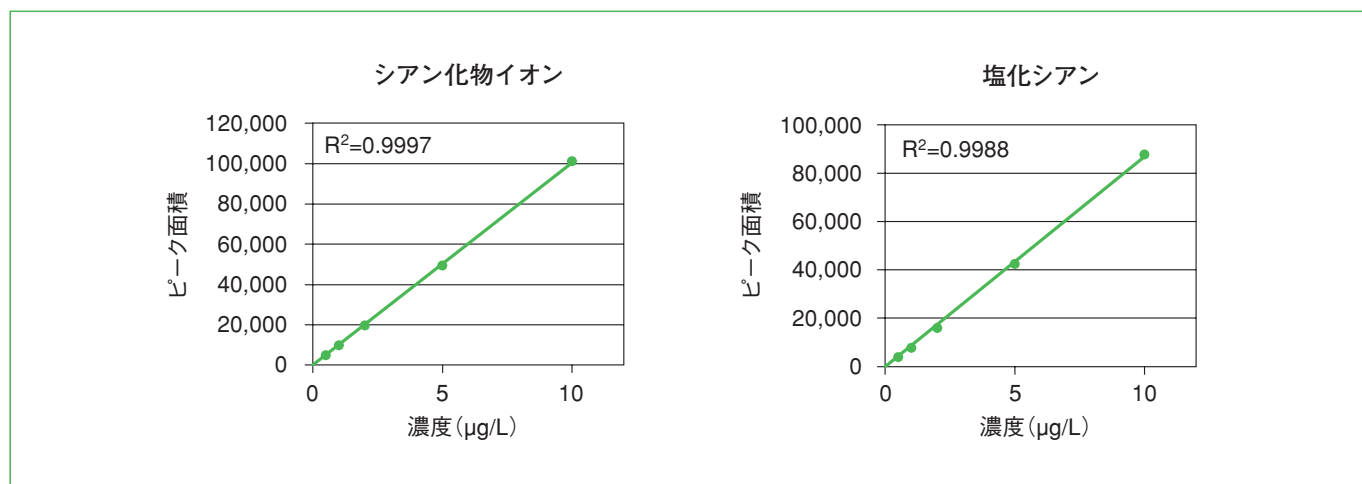


図4 検量線 (0.5~10 µg/L)

た。水道水には告示法に従いリン酸緩衝液を添加し、シアン化物イオン添加後0.2 µmフィルターでろ過したものを注入試料とした。クロマトグラムを図5に示す。シアン化物イオンを水道水に添加すると、水道水中の残

留塩素と反応し塩化シアンが生成することが知られているが、本測定でもその様子が確認された。

6. まとめ

CM5000を用いた反応LCの応用として、水道法に準

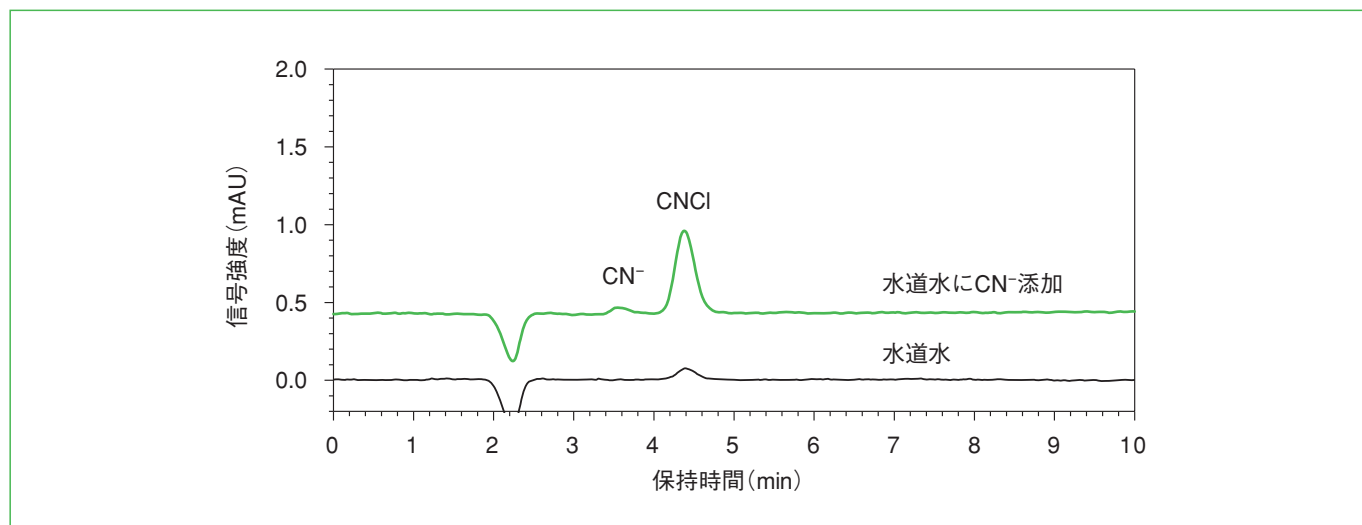


図5 水道水のクロマトグラム(シアン化物イオン1 µg/L添加)

抛したシアン化物イオンおよび塩化シアンの分析例を紹介した。今後もニーズに合わせたアプリケーションを提案していく。

参考文献

- 1) 豊崎耕作 他, 日立高速液体クロマトグラフChromaster 5000 シリーズ反応LCシステムの紹介 SI NEWS September 2012

VOL.55 No.2

- 2) 平成15年厚生労働省告示第261号, 水質基準に関する省令の規定に基づき厚生労働大臣が定める方法 平成15年5月30日公布(平成22年2月17日一部改正)
- 3) 日本水道協会, 上水試験方法2011年度版・金属類編

HT7700 120 kV透過形電子顕微鏡の機能拡張

Extension of digital-imaging performance of 120 kV TEM; Hitachi HT7700

橋本 隆仁* 久保 貴* 馬見新 秀一* 小林 弘幸* 近藤 正樹* 四辻 貴文* 大八木 敏行*
三瀬 大海* 白井 学** 仲野 靖孝** 和山 真里奈** 中澤 英子**

1. はじめに

HT7700 120kV TEM¹⁾は画像記録手段を完全デジタル化し、観察と記録のすべての操作を明るい部屋で行える製品コンセプトで開発され、2010年8月に全世界に向けて発売された。図1にHT7700鏡体部の外観を示す。観察室にビーム確認および、観察視野確認用の蛍光板と、蛍光板に写った画像を撮影するスクリーンカメラが取り付けられ、制御PC用モニタに画像を表示できる。画素数が1 Mピクセル高感度CCDカメラ、またはオプションで4 MピクセルのCCDカメラをボトムマウントした構成で製品化された。ボトムマウントカメラはTEM本体制御系に組み込まれ、撮影画像を記録する機能のほかに、オートフォーカス機能に用いられる、焦点ずれ量を算出するための画像を検知する機能なども受け持っている。オートフォーカス機能は様々な自動画

像取得機能の基本になっている。

その後、2011年にはX線マップが可能のようにSTEM機能を追加するとともに、各種のTEM用デジタルカメラ装着のニーズに応えられるよう、画像検出器配置の発展性²⁾を持たせる改良を行った。デジタルカメラの高精細化に歩調を合わせてSTEM像も最大で5,120×3,840画素の画像を取得できるようにした。2012年には、ナノテクノロジー研究開発分野からのニーズに応じて、高分解能レンズEXALENS³⁾を追加した。また、病理学や組織学などの分野における高精細画像取得のニーズに応えるため、ボトムマウントカメラを8 MピクセルのCCDに変更⁴⁾した。TEM本体の機能強化・拡張に加え、クライオトランスファーホルダーを用いた応用技術の開発⁵⁾、大立体角SDD検出器による元素分析機能の高感度化なども継続的に行っているが、この小文では



図1 HT7700鏡体部の外観(OPTIOのSTEM検出器を搭載)

* 株式会社日立ハイテクノロジーズ 科学・医用システム事業統括本部 科学・医用システム設計開発本部 先端解析システム設計部
** 株式会社日立ハイテクノロジーズ 科学・医用システム事業統括本部 科学・医用システム設計開発本部 アプリケーション開発部

表1 サイドマウントカメラの主な仕様

カメラモデル	Gatan Orius SC200 W	OSIS Veleta	AMT XR41-S
画素数	2,048×2,048	2,048×2,048	2,048×2,048
画素サイズ [μm]	7.4×7.4	13.1×13.1	15×15
有効センサー面サイズ [mm]	15×15 (対角：21.2)	26.8×26.8 (対角：37.9)	30×30 (対角：42.4)

表2 ボトムマウントカメラの主な仕様

カメラモデル	AMT ER-B	AMT XR41-B	AMT XR81-B	OSIS Quemesa	Gatan Ultrascan 4000
画素数	1,024×1,024	2,048×2,048	3,296×2,464	4,008×2,672	4,096×4,096
画素サイズ [μm]	22×22	15×15	11×11	18×18	15×15
有効センサー面サイズ [mm]	22.5×22.5 (対角：31.1)	30.3×30.3 (対角：42.9)	35.5×26.7 (対角：44.4)	72×48 (対角：86.5)	61.2×61.2 (対角：86.5)

デジタル電子顕微鏡像の取得に関する項目に絞って解説する。

2. STEM機能追加と各種画像検出器配置の改良

STEM機能を追加するにあたり、各種のデジタルカメラが問題なく搭載できるような配置を検討した。医学・生物学系の分野では低倍・広視野撮影のためのサイドマウントカメラが、むしろSTEMよりも高い頻度で用いられている。当初の設計ではGatan社製のOrius SC200Wを搭載する設計となっていた。検討当時のサイドマウントカメラの主な仕様を表1^{6), 7), 8)}に示す。画素数は各社とも2,048×2,048であるが、Orius SC200W以外の機種は有効センサー面が2倍のサイズであり、

同一のポートには配置できないため、Orius SC200Wとその他の機種とで別のポートを使い分けるようにした。ボトムマウントカメラに関しても、検討当時の大きな面積のカメラでは表2^{6), 7), 8)}に示されるように、長辺で72 mm、対角線方向で87 mmほどの大きさがあった。デジタルカメラの進歩の方向性として、高感度化や高精細化が進むと予想されるが、一般論として、画素のサイズを小さくすると感度は下がる方向にゆくため、画素のサイズを維持しながら高精細化するにはセンサー面を大きくしてゆかざるを得ない。HT7700の電子光学系でボトムマウントカメラを用いた場合で周辺歪が出ない最大の有効センサー面の大きさは、正方形のセンサー

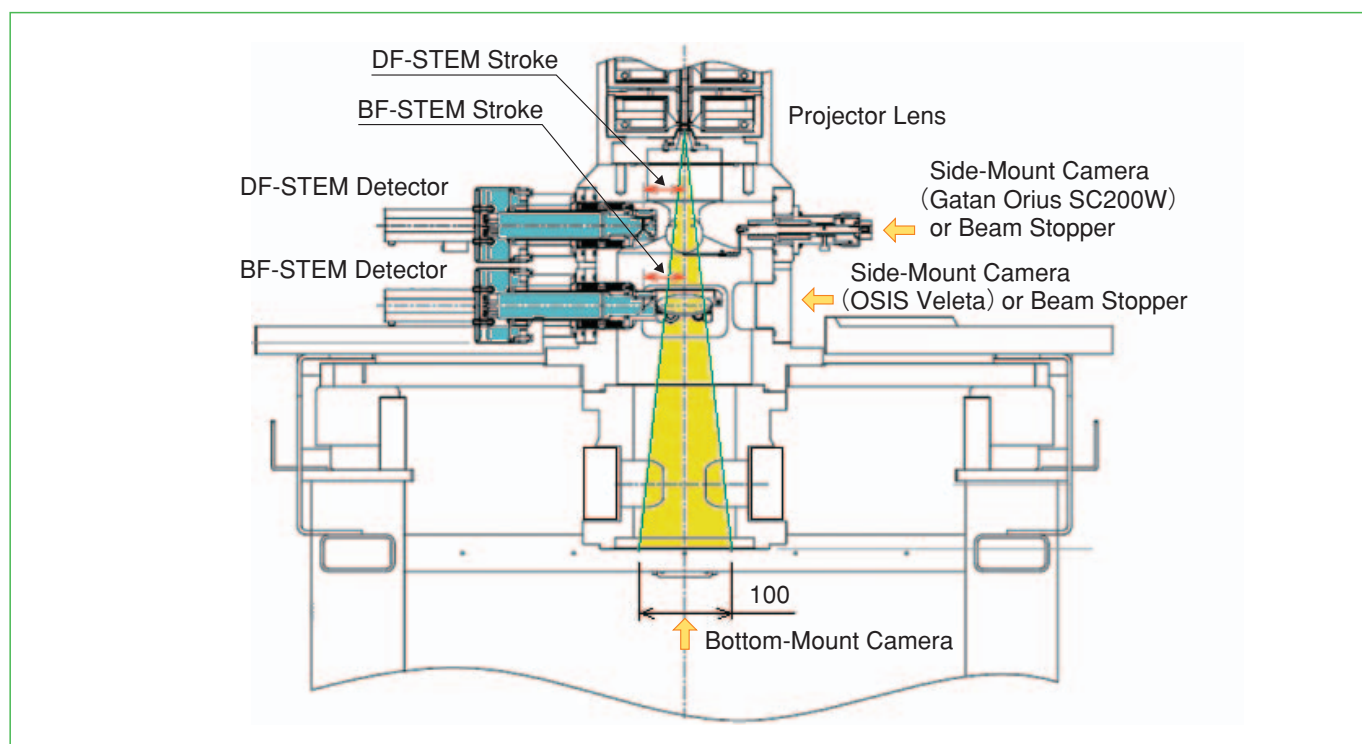


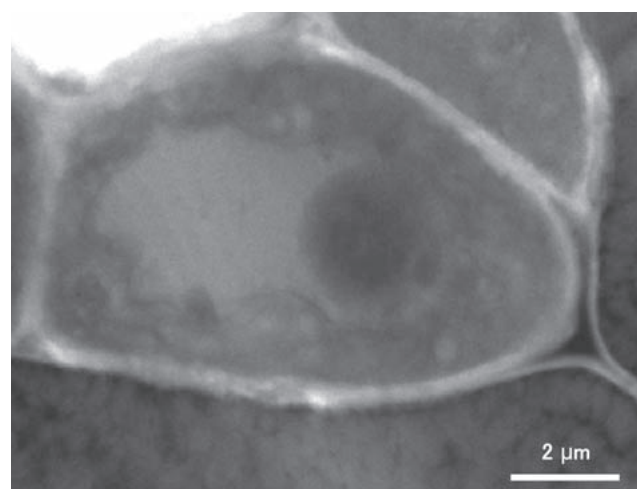
図2 TEM像投影時の各STEM検出器、各種デジタルカメラの位置

の場合では一辺が約100 mmであるので、その大きさまではSTEM検出器の影が映らずに画像取得ができるような配置とした。そのようにして設計されたHT7700の画像検出器系の配置を図2に示す。

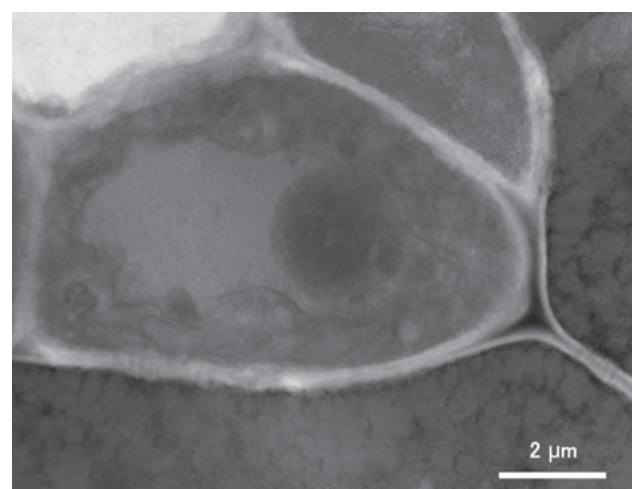
STEMは分析装置との組み合わせにおいて威力を発揮するほかに、厚い試料を観察する際にも色収差の影響が少ない利点がある。図3は厚さ約1 μm のラディッシュ葉樹脂包埋切片の観察例である。また図4は厚さ約200 nmのSUS鋼板薄膜についてTEM像とBF-STEM像とを比較したものである。厚い試料を観察する場合、TEMの場合は様々な値のエネルギーを失

った散乱電子が結像に参加するため、特定のエネルギー損失の電子でフォーカスを合わせざるを得ず、他のエネルギー損失をした電子は画像上では色収差によるぼけやにじみになってしまう。一方STEMの場合、像の分解能は試料に照射されるスポットがいかに小さく絞れるかによって決まり、色収差の影響を受けない。そのため、図3においては細胞内の微細な構造が、図4においては転位が、STEM像においてTEM像よりも明瞭に観察できていることが見てとれる。

3. 高精細化対応

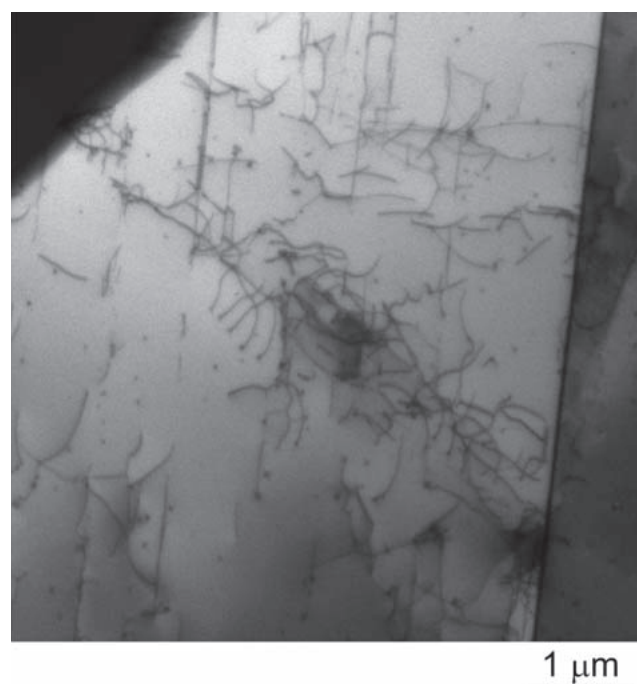


TEM像
観察モード：HC mode

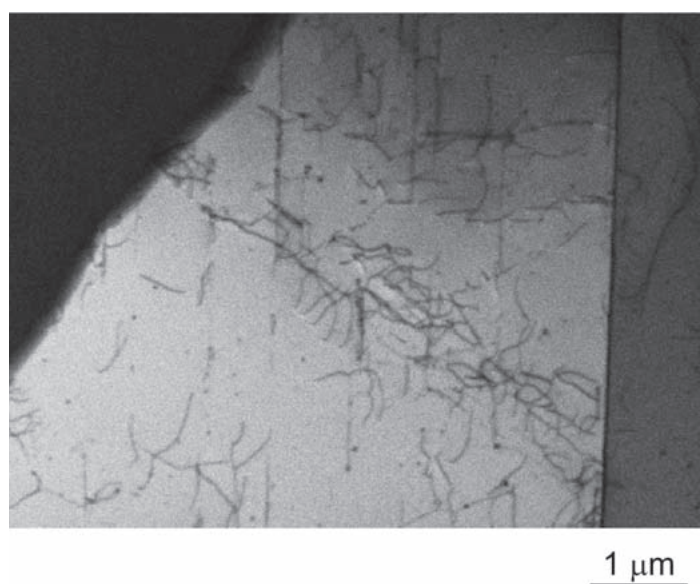


STEM像
観察モード：Normal mode

図3 厚いバイオ試料を観察した際のTEM像と(BF-)STEM像との比較
試料：ラディッシュの葉(厚さ1 μm ，無染色)，加速電圧：120 kV



TEM像
観察モード：HC mode



STEM像
観察モード：Normal mode

図4 厚い材料系試料を観察した際のTEM像と(BF-)STEM像との比較
試料：SUS鋼板薄膜(厚さ200 nm)，加速電圧：100 kV

発売当初のHT7700は画素数が1 Mピクセルの高感度CCDカメラ、または4 MピクセルのCCDカメラを搭載し、前者では8枚×8枚、後者では4枚×4枚のつなぎ写真を自動撮影するオートマルチフレーム(AMF: Auto Multiple-Frames)機能を搭載していた。AMF機能により撮影した画像はオートパノラミック機能によってつなぎ合わせることができ、つなぎ合わせた画像はブロードイメージビューワー機能で閲覧することも可能である。高精細な画像取得ができるようにボトムマウントカメラを8 MピクセルのCCDカメラに変更した。

図5は8 Mピクセルのカメラを用いて撮影した低倍広視野観察の一例である。8 Mピクセルカメラでも4枚×4枚のAMF機能、オートパノラミック機能を用いて約12,000×9,000画素の画像を合成し、ブロードイメージビューワー機能で閲覧が可能である。図6は樹脂包埋ラット心筋をNanotomeダイヤモンドナイフにて薄切した切片のつなぎ写真である。縦3枚、横4枚の合計12枚の視野を自動撮影したもので、広視野で微細構造を観察できている。

4. 高分解能化

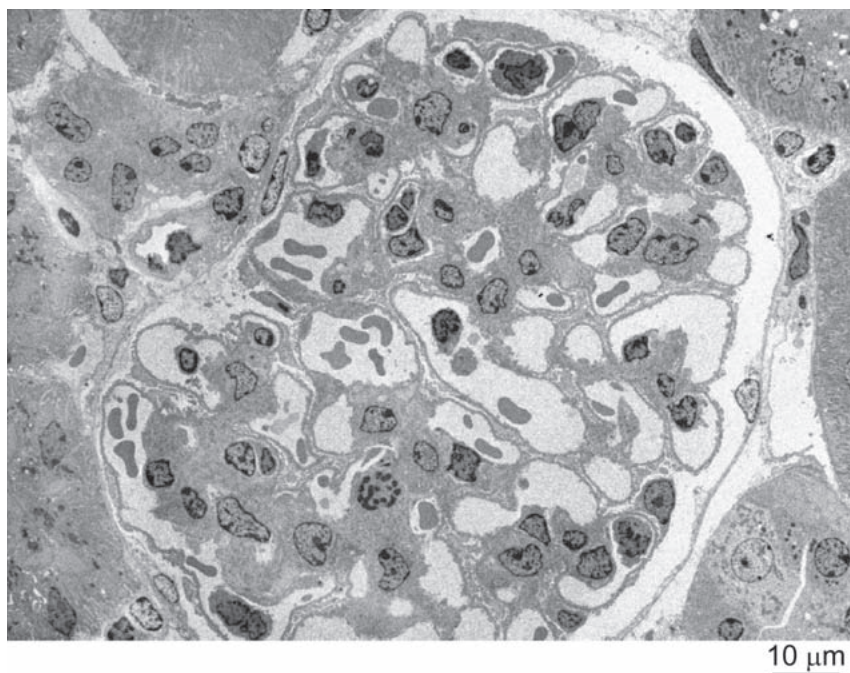


図5 8 Mピクセルカメラによる低倍広視野観察の一例
試料: ヒト腎臓(単孔メッシュ支持), 加速電圧: 80 kV, 倍率: ×300

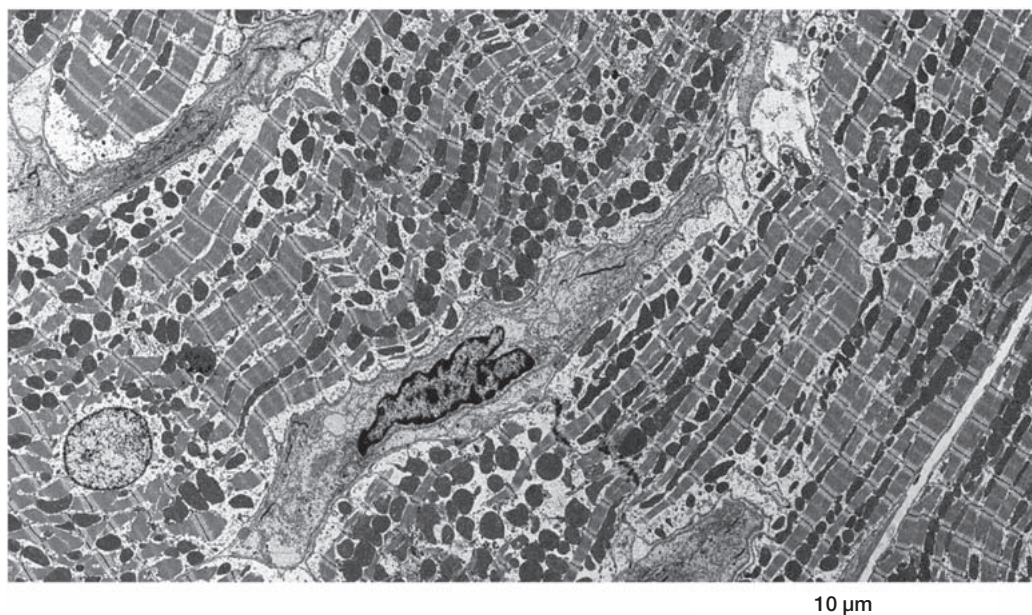


図6 ラット心筋切片(Nanotomeダイヤモンドナイフにて薄切)のつなぎ写真
加速電圧: 100 kV 観察倍率: ×2,000

炭素系材料を利用したナノテク関連の研究開発の進展に伴い、低ダメージや高コントラストでの観察、また使い勝手のよさから120 kVクラスのTEMが用いられるようになってきた。このようなニーズに対応するため、HT7700用高分解能対物レンズEXALENSを開発した。図7はEXALENS搭載機を用いて撮影した金単結晶薄

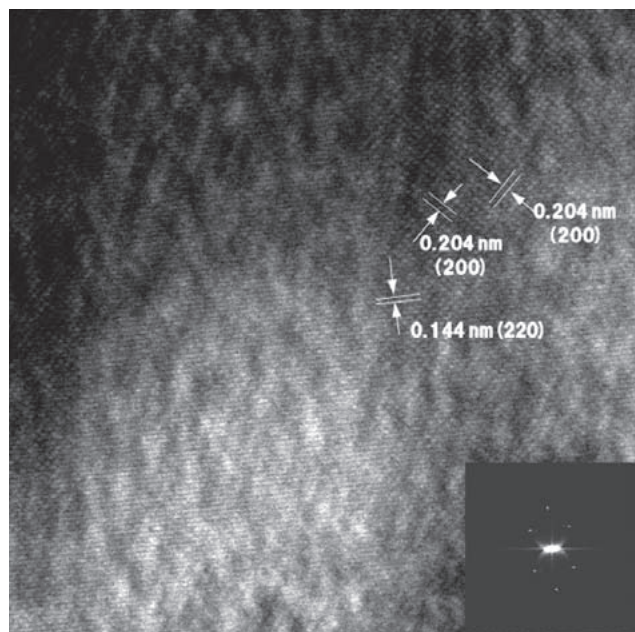


図7 格子分解能像(斜め照射法)
試料：金単結晶，加速電圧：100 kV
観察モード：HR mode，倍率：×600 k

匹敵する0.144 nmを分解能として保証できるようになった。また、デジタルTEMとしてのHT7700は、8 MピクセルカメラのTEM像は300 dpiでプリントアウトするとほぼA4サイズ一杯の大きさに相当し、写真フィルムに迫る解像度になりつつある。デジタル画像であるので、画像信号を用いた各種の自動化機能も搭載しており、利便性や機能の拡張性も大幅に向上している。HT7700が幅広い分野の研究開発に活用されることを期待している。

6. 謝辞

ラット心筋切片試料をご提供いただいた酒井電子顕微鏡応用研究所 酒井俊男先生に御礼申し上げます。

参考文献

- 1) 田中 他，日本顕微鏡学会第67回学術講演会発表要旨集 19Apm_I1-3 pp8(2011)
- 2) Hashimoto, Mamishin, et al. Microsc. Microanal.18

膜の結晶格子像である。保証分解能である金の(220)面の格子像(面間隔0.144 nm)が100 kVにおいても撮影できている。図8はEXALENSによるカーボンナノチューブの観察例である。

5. まとめ

HT7700の高分解能モデルは200 kV TEMの性能に

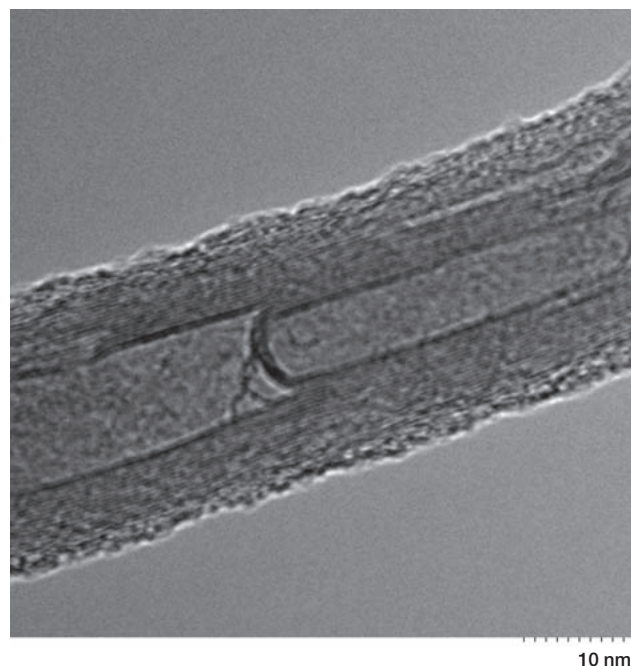


図8 EXALENSによるカーボンナノチューブの観察
試料：MWCNT(格子面間隔0.34 nm)，加速電圧：100 kV

(Suppl 2), (2012) pp1280-1281

- 3) 久保 他，日本顕微鏡学会第69回学術講演会発表要旨集 I1A2am02(2013)および，SI News 2012 Vol.55 No.1 pp33
- 4) SI News 2013 Vol. 56, No.1 pp50
- 5) 白井 他，日本顕微鏡学会第69回学術講演会発表要旨集 B4B22am11(2013)
- 6) AMT社HPより <http://www.amtimaging.com/index.html>
- 7) Gatan社HPより http://www.gatan.com/products/digital_imaging/
- 8) OSIS社HPより <http://www.soft-imaging.com/en/ap/eng/index.html>



1. 第17回結晶工学セミナー(2012/12/5 東京都)

今野 充：FIBを用いたTEM/SEM試料作製の基礎

2. 近畿アルミニウム表面処理研究会 新春特別講演会(2013/2/7)

振木 昌成：SEMの原理と応用

3. 日本顕微鏡学会 第69回学術講演会(2013/5/20~22 大阪府)

久保 貴(日立ハイテクノロジーズ)他：40~120 kV分析用TEMのナノサイエンスへの応用
 森川 晃成(日立ハイテクノロジーズ)他：雰囲気遮断システムを用いた磁性材料の微細構造解析
 多持隆一郎(日立ハイテクノロジーズ)他：SEMで良い画像を得るための観察条件の設定と操作方法
 塩野 正道(日立ハイテクノロジーズ)他：連続断面加工・SEM観察法による生物試料の三次元構築
 土谷 美樹(日立ハイテクノロジーズ)他：液体試料のクライオFIB薄膜加工と(S)TEM観察
 竹内 秀一(日立ハイテクノロジーズ)他：最新FE-SEMの像コントラストと材料解析
 多持隆一郎(日立ハイテクノロジーズ)：SEMの歴史 ~進化し続けるSEM~
 渡邊 俊哉(日立ハイテクノロジーズ)他：極低加速電圧SEM法を用いた表面観察
 土谷 美樹(日立ハイテクノロジーズ)他：新開発クライオトランスファーホルダーとFIB-SEMによる含水試料の三次元観察
 矢口 紀恵(日立ハイテクノロジーズ)他：ETEMにおけるガス雰囲気および加熱試料のEELS分析
 松本 弘昭(日立ハイテクノロジーズ)他：空気雰囲気下におけるPt/C触媒の高加速SEMその場観察
 大南 祐介(日立ハイテクノロジーズ)他：大気圧走査型電子顕微鏡観察のための新手法
 田村 圭司(日立ハイテクノロジーズ)他：大面積ウィンドウレスSDD検出器を用いたSTEM-EDX高感度測定
 岡田 聡(日立ハイテクノロジーズ)他：インレンズFE-SEMにおける電子線回折像観察の試み
 幸山 和弘(日立ハイテクノロジーズ)他：高分解能FE-SEMにおけるSTEM観察の多様性
 生頼 義久(日立ハイテクノロジーズ)他：インレンズFE-SEMを用いた格子分解能STEM観察技術の開発
 河西 晋佐(日立ハイテクノロジーズ)他：バルク体試料観察が可能な大気圧走査型電子顕微鏡
 西村 雅子(日立ハイテクノロジーズ)他：大気圧観察が可能な走査電子顕微鏡による含水試料の観察
 橋本陽一郎(日立ハイテクノロジーズ)他：エネルギー選別BSEによる表面形状と組成の高コントラスト観察
 許斐 麻美(日立ハイテクノロジーズ)他：イオン液体による肝細胞由来スフェロイドのSEM観察
 坂上 万里(日立ハイテクノロジーズ)他：イオン液体を用いた柔組織のSEM観察

4. 医学生物学電子顕微鏡技術学会 第29回学術講演会(2013/6/7~9 神奈川県)

坂上 万里(日立ハイテクノロジーズ)他：リアルタイムステレオSEMによる生物試料の観察
 塩野 正道(日立ハイテクノロジーズ)他：イオン液体を用いた微小甲殻類のSEM観察
 檀 紫(日立ハイテクノロジーズ)他：低加速反射電子による生物切片の広領域・高解像度観察

◆トピックス

松本 弘昭(日立ハイテクノロジーズ)他：空気雰囲気下におけるPt/C触媒の高加速SEMその場観察

日本顕微鏡学会 第69回学術講演会(2013/5/20~22 大阪府)

【要旨】 固体高分子形燃料電池は自動車用動力源としての実用化に向けた研究開発が進められている。電池の発電性能や耐久性向上には、電極触媒の劣化メカニズム解明が必要不可欠であるため、触媒作用の実環境下における微細構造変化を捉える事は重要である。本研究はIn-situ TEM用に開発した空気供給システムとSEM機能を搭載したTEM/STEMを用い、空気雰囲気下における電極触媒表面と内部におけるPtナノ粒子の挙動をその場観察した。下図は、試料加熱温度200℃で観察試料近傍に空気を導入しながらIn-situ SEM/STEM同時観察例で

ある。空気導入前(a)は、カーボン担体表面上にPt粒子が均一に分散している。空気導入後(b)(c)では、カーボン担体表面でのPt粒子の動きに伴い、粒子の凝集、粗大化と担体内部へのPt粒子の侵入過程が動的に観察された。その後、カーボン担体形状は保持されているが、反応時間の進行に伴い表面構造はポーラス状に変化し、殆どのPt粒子が担体内部へ埋没することがわかった。本結果は、Pt粒子がカーボン担体表面を侵食しながら担体内部にその位置を変えながら移動し、触媒機能の劣化を進行させていることを示唆している。

time	(a) 0分0秒	(b) 2分40秒	(c) 8分55秒	(d) 17分25秒
SEM				
ADF-STEM				
Pres.	$9.31 \times 10^{-5} \text{ Pa}$	$1.16 \times 10^{-3} \text{ Pa}$	$5.40 \times 10^{-3} \text{ Pa}$	$1.12 \times 10^{-2} \text{ Pa}$

図 In-situ SEM/STEM同時観察例
装置：HF-3300，加速電圧：300 kV，加熱温度：200℃

1. 日本薬学会第133年会(2013/3/27~30 神奈川県)

中川 裕章(日立ハイテクノロジーズ)他：糖タンパク質O-結合型糖鎖のHPLCでの分析

2. 日本分析化学会第73回分析化学討論会(2013/5/18~19 北海道)

蝦名 毅(JX日鉱日石金属)他：第四級アンモニウム塩を用いたセレンの価数別分離の改善

米谷 明(日立ハイテクノロジーズ)他：電気加熱原子吸光法におけるキュベット選択方法

山本 和子(日立ハイテクノロジーズ)他：ジルコニウム担持ポリアミノポリカルボン酸型キレート樹脂固相カラムを用いる4価、6価セレンの分析

【要旨】酸化ジルコニウム担持PAPC型キレート樹脂にセレンを捕捉・濃縮し、ZA3000形日立偏光ゼーマン原子吸光光度計を用いて電気加熱原子吸光法によるセレンの高感度分析を試みた。

PAPC型キレート樹脂カラムにジルコニウム500 mg/Lの溶液10 mLを流し捕捉させた。このカラムを用いてセレンの捕捉を試みた。亜セレン酸、セレン酸それぞれセレン10 µg/Lを含む溶液に酢酸アンモニウムを0.1 M添加し、pH 6.5に調整したものを50 mLをカラムに通液してセレンを捕捉した。その後0.1 M水酸化ナトリウム溶液5 mLにて捕捉したセレンを溶出し、ZA3000形偏光ゼーマン原子吸光光度計を用いてセレンの濃度を測定した。その結果、ジルコニウムを担持したカラムで亜セレン酸は90 %以上の回収率を得た。

pHによる捕捉特性をさらに詳細に検討するため、pH 1-10に調整した亜セレン酸、セレン酸それぞれセレン10 µg/L含む溶液をカラムに通液したところ、pH 1-8では亜セレン酸は90 %以上の回収率を得た

が、セレン酸は何れのpHにおいても捕捉できなかった。これより、セレン酸の捕捉には、還元処理が必要であることがわかった。ヨウ化カリウム共存下で紫外線照射を行うことにより、セレン酸を亜セレン酸に還元することが可能であることを見出し、全無機セレンの測定が可能となった。

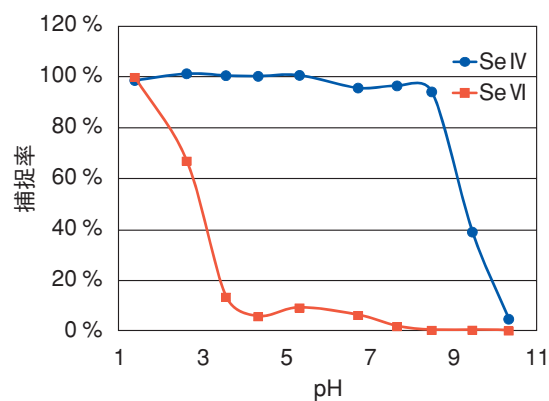


図 セレン酸、亜セレン酸の捕捉特性

三浦 和代(日立ハイテクノロジーズ)他：電気加熱原子吸光法による希土類元素の分析
—キュベットへのメモリー除去方法の検討—

【要旨】希土類元素は、原子化温度が高温(3,000 °C付近)のものが多く、電気加熱原子吸光法で測定した場合、原子化しきれずにキュベット内に残存(メモリー)するため、精確な測定を行うことが困難になると予想される。そこで、電気加熱原子吸光法にて希土類元素を測定する際のメモリー除去方法を検討

した。メモリーを確認したところ、EuおよびYbでは確認されず、GdやHoなどでメモリーが確認された。Gdは、クリーン時間の延長と複数回の最大加熱処理を行うことで、またHoは、クリーン時間の延長のみでメモリーを除去できる結果が得られた。

3. 日本海水学会第64年会(2013/6/6~7 山梨県)

山本 和子(日立ハイテクノロジーズ)他：酸化ジルコニウム(IV)担持ポリアミノポリカルボン酸型キレート樹脂固相カラムを用いる河川水・海水中ヒ素の固相抽出

【要旨】PAPC型キレート樹脂に酸化ジルコニウム(IV)を担持したカラムでヒ素を捕捉濃縮し、電気加熱原子吸光法にて分析する方法を確立した。電気加熱原子吸光法は少量の試料で測定できるため、抽出液を少量にすることで濃縮を行う本法には適した測定方法である。先行研究の多くはヒ素(V)のみを捕捉、またはヒ素(Ⅲ)とヒ素(V)の捕捉条件が異なっているが、本法ではヒ素(Ⅲ)とヒ素(V)を同時に捕捉することを可能とした。

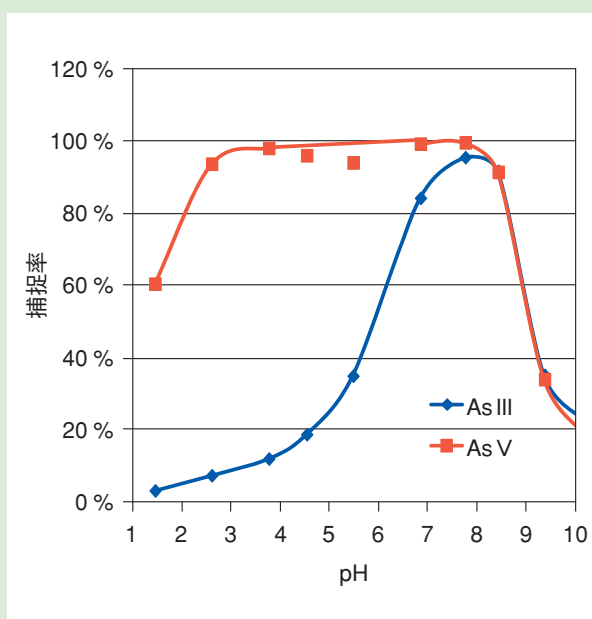


図 水道水試料におけるAs(Ⅲ), As(V)捕捉特性

テクニカルデータ発行ミニファイル

(バックナンバー紹介)

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

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

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

題目	L-アラニンの純度試験(第十六改正日本薬局方準拠) Purity Test for L-Alanine (conforming to the Japanese Pharmacopoeia Sixteenth Edition)		
機種	L-8900形日立高速アミノ酸分析計 L-8900 High Speed Amino Acid Analyzer		
シートNo	AS/AAA-009	発行日	2013年 4 月
要約	L-アラニンの純度試験(類縁物質)の測定例を紹介します。 L-8900形日立高速アミノ酸分析計に長さ80 mmの高分離カラム(3 µm充填剤)を装着することで、薬局方に定められた試験条件を満たすことができます。測定の結果、L-アラニンの約0.1 %に相当する他のアミノ酸を測定することができました。なお、測定条件に記載の市販の試薬(溶離液・反応液)は、薬局方に規定された組成と同じであるため調製の必要がなくそのまま使用できます。		

題目	バイオ医薬品分析への応用(ペプチド製剤エルカトニンのアミノ酸組成分析) Application for Biomedicine Analysis (Amino Acid Composition Analysis of Peptide Drug Elcatonin)		
機種	L-8900形日立高速アミノ酸分析計 L-8900 High Speed Amino Acid Analyzer		
シートNo	AS/AAA-008	発行日	2013年 4 月
要約	エルカトニンはカルシトニンの安定化を目的として設計された、合成ポリペプチド(分子量3363.77)です。L-2-アミノスベリン酸を含む31個のアミノ酸で構成されています。このようなペプチド製剤の品質評価のひとつとして、アミノ酸組成の確認が行われています。今回は、L-8900形日立高速アミノ酸分析計により、日本薬局方に準拠した分析法(3 µmの充填剤使用)でエルカトニンのアミノ酸組成を求めました。		

題目	高感度DADによる純度試験(テオフィリン) Purity Test by High-sensitivity DAD (Theophylline)		
機種	日立高速液体クロマトグラフ Chromaster High Performance Liquid Chromatograph Chromaster		
シートNo	AS/LC-022	発行日	2013年 3 月
要約	日本薬局方は「医薬品の性状および品質などを定めた国定の医薬品規格書」で、通則、生薬総則、製剤総則、一般試験法および医薬品各条ほかから構成されています。一般試験法の中には試薬・試液の項目があり、それぞれの試験法が規定されています。ここでは第十六改正日本薬局方の一般試験法、試薬・試液に記載されているテオフィリンを取り上げました。純度試験(類縁物質)はHPLC-UVで行います。まず規定された試験条件に基づきシステムの適合性を確認し、その後類縁物質の確認を行いました。類縁物質の確認には、微小なピークを正確に把握する必要があるため、検出器の性能が重要です。日立高速液体クロマトグラフChromaster 5430 DADは低ノイズ・低ドリフトを実現し、高感度測定が可能です。		

題目	食品中の総アフラトキシンの測定例 Analysis Example of Total Aflatoxin in Food		
機種	日立高速液体クロマトグラフ Chromaster High Performance Liquid Chromatograph Chromaster		
シートNo	AS/LC-023	発行日	2013年 6 月
要約	<p>食品を汚染するマイコトキシン(カビ毒)のうち、アフラトキシン(AF)は肝臓毒で天然では最強の発がん性物質といわれています。自然界ではアフラトキシンB1、B2、G1、G2などが産生され、発がん性が強いのはB1です。日本における食品中のアフラトキシンの指標は、アフラトキシンB1から総アフラトキシン(B1、B2、G1、G2)に変更されており、10 µg/kg未満という基準が適用されています。また世界各国では、それぞれの状況に応じて規制値が設定されています。試料の精製は多機能カラム(MFC：Multi Functional Column)を用いる方法と、イムノアフィニティーカラム(IAC：Immunoaffinity Column)を用いる方法があり、試料の種類によって選択します。またアフラトキシンB1、G1は感度が低いいため、標準試料、実試料共に誘導体化が必要です。トリフルオロ酢酸を用いて誘導体化し、LC-FLで分離検出する方法が一般的ですが、カラムで分離後フォトケミカルリアクターによる誘導体化や電気化学的誘導体化法も試験法として示されています。今回は、トリフルオロ酢酸によるプレカラム誘導体化を用い、LC-FLで測定する方法を紹介します。</p>		
題目	3次元蛍光スペクトルによるターメリックパウダーの判別 Distinction of Turmeric Powder by 3D Fluorescence Spectrum		
機種	F-7000形日立分光蛍光光度計 F-7000 Fluorescence Spectrophotometer		
シートNo	FL120007-01-02	発行日	2013年 3 月
要約	<p>ターメリックは、香辛料の一種で、ショウガ科の植物ウコンを原材料に加工されます。黄色色素クルクミンを含有しており、カレー等のスパイスや着色料として広く利用されています。また、近年では抗炎症作用や抗酸化作用の効果が期待されており、飲料や健康食品素材として注目されています。</p> <p>一方、食品の産地や鮮度、種類を3次元蛍光スペクトルの蛍光強度分布(蛍光指紋)から判定する試みが研究されています。この手法は、複数の励起波長と蛍光波長における蛍光強度比から解析します。</p> <p>今回は、この手法を応用し、市販の複数のターメリックパウダーと主成分のクルクミンの3次元蛍光スペクトルを測定し、種類の分別を行いました。F-7000形 日立分光蛍光光度計は、クラス最高レベルの3次元蛍光スペクトルの測定スループット(今回の分析条件では、約4分)を誇るため、最先端の研究から品質管理への応用研究まで幅広く用いられています。</p>		
題目	日立UH5300形ダブルビーム紫外可視分光光度計のご紹介 Introduction of HITACHI UH5300 Double Beam UV-Visible Spectrophotometer		
機種	UH5300形日立分光光度計 Model UH5300 Spectrophotometer		
シートNo	UV-VIS No.150	発行日	2013年 6 月
要約	<p>UH5300形ダブルビーム紫外可視分光光度計(以下、UH5300形)は、「新時代のスタンダード」をコンセプトに先進的な操作性と高い信頼性を備え、環境負荷低減を実現した分光光度計です。ここでは、UH5300形の主な特長と測定例を紹介します。</p>		

題目	Zrを担持した固相充填カラムノビアスキレートPA1による河川水中無機セレン分析の前処理 Preparation for Analysis of Se in River Water by Zr-Supported NOBIAS Chelate-PA1		
機種	ZA3000形日立偏光ゼーマン原子吸光光度計 Polarized Zeeman Atomic Absorption Spectrophotometer ZA3000 Series		
シートNo	COL130001-01-02	発行日	2013年 6 月
要約	無機セレンの捕捉・濃縮を行う場合、キレート樹脂では捕捉力が弱く濃縮分離ができませんが、ポリアミノ・ポリカルボン酸型のノビアスキレートにジルコニウムを担持することにより、無機セレンの濃縮分離が可能となりました。これにより複数の固相抽出カラムを使い分けることなく、遷移金属・半金属元素を捕捉・濃縮することができます。モデルサンプルとして、セレンを十分に検出できる濃度の試料を用いましたが、ジルコニウムによる濃縮を確認することができました。水圏に極微量に存在するセレンを、本法にて濃縮分離することにより、河川水の共存塩の影響を受けずに検量線法で感度良く測定できます。		

題目	ゼラチン中のクロム分析(フレイム法) Analysis of Cr in Gelatin (Flame Method)		
機種	ZA3000形日立偏光ゼーマン原子吸光光度計 Polarized Zeeman Atomic Absorption Spectrophotometer ZA3000 Series		
シートNo	AA130002-00	発行日	2013年 4 月
要約	平成23年厚生労働省告示第65号をもって公示した第十六改正日本薬局方は、一般試験法や医薬品各条品目の一部を改正して、2013年 5 月に告示・施行されることが予定されています。改正案の中で、ゼラチンの純度試験にクロムの項目が追加され、測定法としてフレイム原子吸光法が採用される予定です。ZA3000シリーズはフレイム法でもBKG補正法に偏光ゼーマン法を採用しており、精確なBKG補正と安定したベースラインが得られるため、規格値(案)の1/2のクロムの測定も十分に可能です。		

題目	リチウムイオン電池用電解液(エチレンカーボネート)中のアルミニウム分析(電気加熱法) Analysis of Al in Electrolyte Solution (Ethylen carbonate) for Lithium-ion Battery (Electrothermal Method)		
機種	ZA3000形日立偏光ゼーマン原子吸光光度計 Polarized Zeeman Atomic Absorption Spectrophotometer ZA3000 Series		
シートNo	AA130004-00	発行日	2013年 5 月
要約	エチレンカーボネート(EC)はリチウムイオン電池用電解液の主溶媒として使用されています。ECの他に数種類の有機溶媒と添加材から構成される電解液は、不純物濃度が厳しく管理されます。偏光ゼーマン補正原子吸光法は、電解液などの有機溶媒由来のバックグラウンドに対しても補正精度が高く、かつ安定したベースラインを示すため、電解液中のアルミニウムを精度良く測定できます。		

題目	大気粉塵中の鉛分析(フレイム法) Analysis of Pb in Urban Particulate Matter (Flame Method)		
機種	ZA3000形日立偏光ゼーマン原子吸光光度計 Polarized Zeeman Atomic Absorption Spectrophotometer ZA3000 Series		
シートNo	AA120035-00	発行日	2013年 3 月
要約	工場、自動車等の排ガスや土壌の飛散により、鉛化合物を含む粉じんが大気中に浮遊する場合があります。大気汚染防止法(昭和43年法律第97号)では、固定発生源(工場や事業場)から排出または飛散する鉛化合物に対し排出基準(10~30 mg/Nm ³)が定められています。平成21年に環境基準が制定されたPM 2.5にも鉛が含まれるものがあります。ZA3000シリーズは、フレイム法でもBKG補正法に偏光ゼーマン法を採用しており、正確なBKG補正および安定したベースラインのため、低濃度の鉛を精度よく測定できます。		

新製品紹介

NEW PRODUCTS

新形日立分光光度計 UH4150形



1999年の発売以来ご愛顧賜りました、分光光度計のハイエンドモデルU-4100形が、UH4150形としてモデルチェンジしました。

U-4100形は固体試料測定を主眼においた分光光度計としてはパイオニア的な存在として、国内外で累計1,500台以上の納入実績を持ちます。進化を遂げたUH4150形は、さらなるニーズにお応えします。

【主な特長】

- 人間工学に基づく新デザインを採用
- U-4100形で培われたお客さまのさまざまなニーズに対応する付属装置が使用可能。
- さらなるハイスループット化を達成

日立超高速液体クロマトグラフ ChromasterUltra Rs

ChromasterUltra Rsは製薬、化学分野での研究開発において、これまで困難とされてきた超高速分析時の高分離、高感度を可能とする超高速液体クロマトグラフです。

合成化合物中の類縁物質や不純物の高分離分析、日々高まる有害物質等の不純物に対する高感度分析など、最先端の技術で最前線の分析現場をサポートします。

【主な特長】

超高速分析

世界最高レベルの140 MPaシステム耐圧はハイスピード分析をサポートするだけでなく、移動相の選択においても分析圧力が上がりやすい移動相の選択肢が拡大し、分析バリエーションを向上させることができます。

高分離分析

新開発の日立LaChromUltra II ODS C18カラム(粒子径1.9 μm 、長さ250 mm)と140 MPa耐圧と徹底した低拡散システムの組み合わせにより、理論段数50,000段の高分離分析が可能です。

高感度分析

ダイオードアレイ検出器にはキャピラリー型全反射フローセルを標準搭載。

全反射キャピラリー構造と新光学系技術の採用により、低ノイズ化、低容量化、高感度化を同時に向上し、高分離と高感度の両立が可能です。さらに全反射高感度フローセル(光路長65 mm Option)と組み合わせることで優れた感度を得ることが可能です。「当社従来機(LaChromUltra)比 感度約10倍(規定条件)」



新製品紹介

NEW PRODUCTS

HT7700用高分解能レンズ EXALENS

バイオ分野向けに発売されているHT7700形透過電子顕微鏡にナノテクノロジー分野やソフトマテリアル分野でも幅広く対応できるように高分解能対物レンズ(EXALENS)を開発し、HT7700の付属装置として製品化しました。

【主な特長】

- (1) 分解能を向上させたことによって加速電圧100～120 kVにおいては鮮明な格子像を確認できるようになりました。低い加速電圧40～60 kVにおいては、コントラストが向上するのでアモルファス(非晶質)などの領域をコントラスト良く観察することができます。
- (2) LaB₆フィラメントが標準装着されたことで、高倍率像でもS/N比良くモニタ上で観察できるようになりました。さらに電子線回折による構造解析を行えるように制限視野可動絞りを装着しています。

- (3) オプションとして走査透過電子像観察装置を装着が可能で明視野または暗視野の走査透過電子像を観察することができます。

【主な仕様】

- 分解能：0.144 nm(格子像)
- 加速電圧：40～120 kV(LaB₆フィラメント)
- 倍率：×200～300,000(HC Zoom), ×2,000～800,000(HR Zoom), ×50～1,000(Low Mag)
- 電子線回折カメラ長：0.2～8.0 m(HC Diff), 0.2～4.0 m(HR Diff)
- 最大試料傾斜角度：±30°



オプションの走査透過電子像観察装置を装着したHT7700の外観写真

新製品紹介

NEW PRODUCTS

低加速電圧での観察と分析を融合したSU8200シリーズ

「SU8200シリーズ」は、収差が小さく低加速電圧での高分解能観察に最も適した、新開発のコールドFE電子銃を搭載。このコールドFE電子銃は、電子源にガス分子が付着する前の高輝度安定領域を利用することで、高輝度で長時間安定したエミッション電流を実現しています。これにより、低加速電圧条件下でも大きなプローブ電流が得られ、明るく、S/Nに優れた画像を提供し、安定性と信頼性のある画像観察を可能にしています。また、X線の高感度化が進む各社の大口径SDD (Silicon Drift Detector) 検出器を搭載でき、新開発のコールドFE電子銃との組み合わせにより、低加速電圧条件下でも、高空間分解能のEDX分析(元素分析)を可能にしました。さらに、高輝度で安定なプローブ電流によりEBSP分析も可能です。

【主な特長】

- (1) 新開発のコールドFE電子銃を搭載
- (2) フラッシング直後の高輝度安定領域を使用することによる低加速電圧での高分解能観察と分析の両立
- (3) 大幅に向上した分解能 (1.1 nm / 1 kV, 0.8 nm / 15 kV)
- (4) Topフィルター機能(オプション)による、さまざまな材料コントラストの可視化機能
- (5) 試料サイズに合わせてSU8220 / SU8230 / SU8240をラインナップ



超高分解能電界放出形走査電子顕微鏡「SU8240」

新製品紹介

NEW PRODUCTS

日立走査透過電子顕微鏡HD-2700型用 大口径EDX検出器

元素分析のスループットを向上させる、大面積 100 mm^2 のEDX^{*1}検出器が、走査透過電子顕微鏡HD-2700に搭載可能になりました。

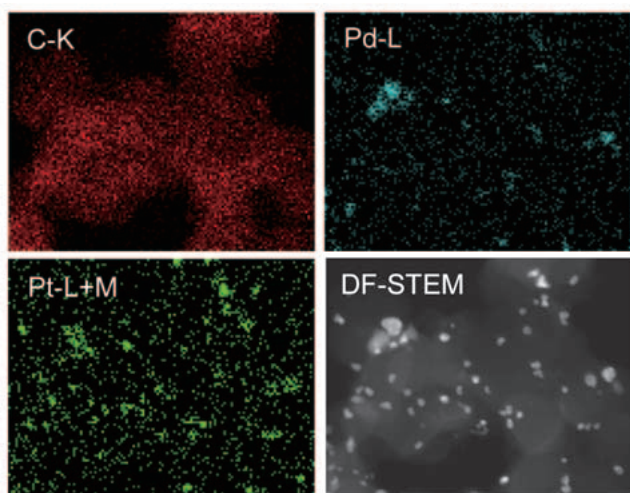
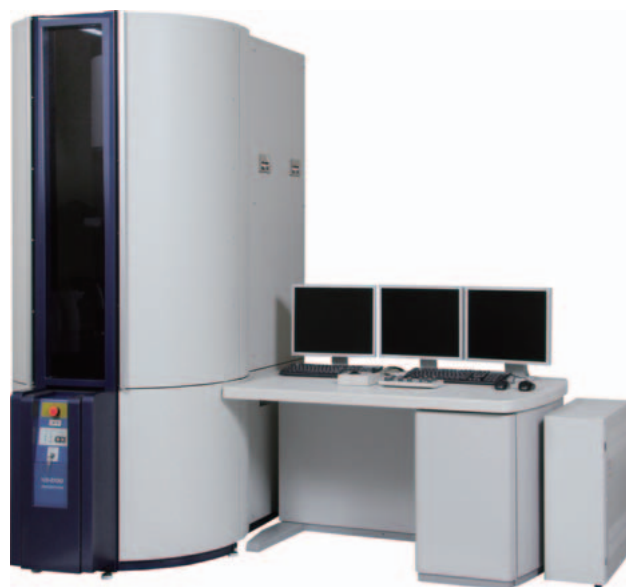
従来、200 kV STEM^{*2}での元素分析には、液体窒素を必要とするSi (Li) 検出器が用いられてきましたが、検出器の面積が比較的小さく、ナノメートルオーダーの元素分析で十分な信号強度を得ようとすると、時間をかける必要がありました。

今回、検出器の面積を大きくした、液体窒素不要のSDD^{*3}検出器が搭載可能になったことで(検出立体角: 1.1 sr)、従来と比較して、数倍の高い感度で、元素分析が行えるようになりました。

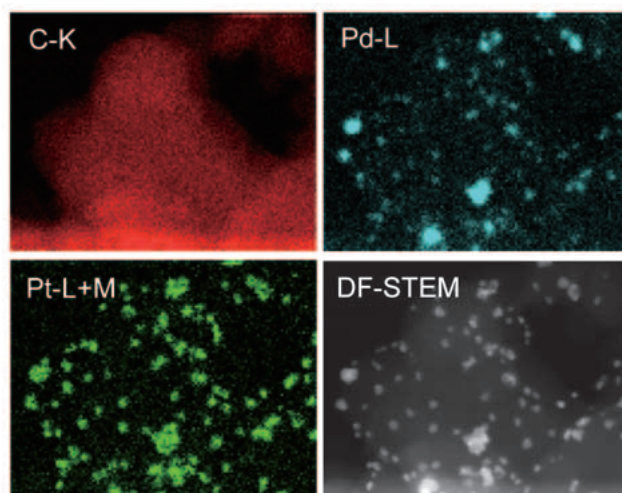
HD-2700でこの大口径EDXをご利用いただくこと

で、元素分析がより短時間でハイスループットに行えるようになります。

- *1 EDX : Energy Dispersive X-ray Spectroscopy エネルギー分散型X線分光法
- *2 STEM : Scanning Transmission Microscope 走査透過電子顕微鏡
- *3 SDD : Silicon Drift Detector シリコンドリフト検出器

従来30 mm² Si(Li) 検出器

20 nm

大口径100 mm² SDD検出器

20 nm

Pd-Pt粒子のEDXマッピング
(加速電圧: 200 kV, 取得時間: 3 min, 画素サイズ: 128×100)

新製品紹介

NEW PRODUCTS

日立卓上顕微鏡 TM3030

日立卓上顕微鏡TM3030を、2013年5月より発売開始いたしました。

TM3030は、オフィスなどの卓上で使用可能なコンパクトサイズ、さらにノートPC上での操作画面は、デジタルカメラの操作パネルをモチーフした直観的でわかりやすい画面設計となっています。低真空観察法*により試料前処理がいらないため、貴重な試料もダメージを与えず、試料表面の忠実な観察、元素分析が素早く行えます。操作は、充実したオート機能により簡単に画像出しができます。検出器には専用の高感度4分割半導体反射電子検出器を採用していますので、S/Nの良い反射電子像が得られ、加速電圧5 kVでも低真空観察できるのが特長です。

TM3030では、従来のモデルの使いやすさを継承しながら、電子光学系の最適化により、表面モード(加速電圧5 kV)での観察がより高倍率でクリアな観察が可

能となり、高加速電圧では見えない試料表面の観察に効果的です。さらに、オート機能の強化により、最適な条件でシャープなくっきりした画像観察が可能となりました。

【主な特長】

- (1) 電子光学系の最適化により、シャープで高画質な観察画像
- (2) 絶縁物試料を前処理なしで観察できる低真空タイプ
- (3) オートスタート、オートフォーカス、オート輝度などのオート機能で、簡単操作
- (4) ワンクリック切り替えの多彩な観察条件
- (5) ハイスループット元素分析(EDXは、オプション品)

* 試料室内の圧力を高くすることで残留気体分子が多い状態にし、その残留気体分子と電子の衝突により生じるイオンで試料表面の帯電を中和することにより、絶縁物や含水試料を前処理なしで観察できる方法。



お客様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

ご使用製品登録者限定情報

- ・取扱説明書 (PDF)
- ・メンテナンス/トラブル解決情報

アプリケーションデータ

- 「約4,500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

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。

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

New!

部品/消耗品

消耗品、定期交換部品の情報です。
サイト内で注文も可能です。
*サイト内でのご注文には、会員登録以外に別途契約が必要です。
*販売中止製品の部品の閲覧には、ご使用製品のご登録が必要です。

日立電子顕微鏡 (SEM/TEM) をご登録いただくと、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

本社 (サポートセンタ) 東京 (03) 3504-7211 中部支店 名古屋 (050) 3139-4565
北海道支店 札幌 (050) 3139-4994 関西支店 大阪 (050) 3139-4876
東北支店 仙台 (050) 3139-4985 九州支店 福岡 (050) 3139-4151

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 9:00~11:50 12:35~17:30
(土・日・祝日および弊社休日を除く)

〈編集後記〉

サッカーワールドカップ予選で待ジャパンが見事出場権を決定したことは、記憶に新しいところです。特に、出場を決定したホームのオーストラリア戦では、アディショナルタイムで本田選手がPKを決め、勝点1を加え予選2位以上を確定した瞬間は、視聴率は50%近くと日本全体が盛り上がりました。

一方、渋谷交差点では、ワールドカップ出場を喜ぶサポーターが暴走することを恐れて、警察による厳重な警戒態勢が敷かれていました。しかし、その心配も1人の警察官により和やかな雰囲気となりました。暴走を食い止めたのは、柔らかな口調で「怖い顔したおまわりさんも心の中ではワールドカップ出場を喜んでますよ。」「皆さんは12番目の選手ですからルールは守りましょう!」「ルールを守らないとイエローカードですよ。」など、その場の状況に対応した

見事な行動でした。事件・事故を未然に防ぐには、様々な取り組みがありますが、今回のような警察の対応は、分析・解析に従事するものにとっても見習うべき点があります。試料の特性や分析目的に応じた分析は、その状況に応じた前処理技術、解析・分析手法が必要となります。本誌では、引き続き柔軟なアイデアで、新しい前処理技術、分析手法を掲載する所存ですので、忌憚のないご意見、ご要望など頂ければ幸いです。(多持 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 (050) 3139-4298 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
September, 2013 VOL. 56 No. 2

発行日 2013年9月3日
編集人 多持隆一郎
発行人 榎澤 義人
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 (050) 3139-4298 (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