

マイクロビームX線分析の実際と将来への期待と課題

東京理科大学理学部 中井 泉

1. はじめに

放射光によるマイクロビームの形成は、放射光X線分析において常にチャレンジングなテーマとして放射光の利用が始まって以来、世界の放射光施設で活発な開発競争が展開されてきたことは衆知の通りである¹⁻⁶⁾。今後の展開では、サブミクロンから nm 領域へと微小化の期待がふくらんでいる。我々ユーザー側としては、開発されたマイクロビームをつかって、いかに学問的に重要で興味深い系に応用し、未解決の問題を明らかにすることができるかに興味の中心がある。本稿では、マイクロビーム利用研究の現状の一端を紹介するとともに、今後の課題を明らかにしてみたい。

マイクロビームの応用分野としては、蛍光X線分析とX線回折法がもっとも恩恵をこうむる分野となるであろう。蛍光X線分析におけるX線源にマイクロビームを用いる利点は、まず空間分解能の向上にある。すなわち、微小領域にX線を照射すれば、その領域の元素情報が得られるという原理による。一方、X線回折では、微小部回折と微小試料の回折パターンの測定が可能になる点である。

2. マイクロビームの応用

まず初めに、マイクロビームX線分析の現状について、最近著者らがおこなった、2つの事例について紹介しよう。1つは、ワムシというプランクトンの2次元蛍光X線分析⁷⁾である。もうひとつは微小粒子の粉末回折で、ガンドルフィカメラを用いた宇宙塵の粉末回折データの収集⁸⁾について解説する。

A. ワムシ1固体のSR-XRF分析

シオミズツボワムシ (*Brachionus plicatilis*)は、ある種の生育条件下では単性生殖から両性生殖への転換を行う特異な生殖様式をもつ全長 0.3mm 程度のプランクトンであるが、その生殖メカニズムについては未だ明らかになっていない。そこで我々はワムシ体内の微量元素の挙動からこの生殖様式の変化の原因を解明することをめざした。雌虫より小さい雄虫についても2次元分析を行った。また、日齢による雌虫および雄虫中の微量元素の含有量変化に注目し生殖様式との関係を調べた。分析した試料は、耐久卵から孵化した幼生(1日齢)、単性生殖雌虫(4日齢)、雄虫などである。測定はKEK PFBL-4Aにて、K-Bミラーによって集光して得られた約5 μ mのマイクロビームを用いて2次元分析を行っ

た。

単性生殖雌虫および雄虫のイメージング結果を図 1、2 にそれぞれ示す。図 1 より Zn は主に生殖器と卵、Fe は胃部に濃集していることがわかった。卵にはさらに Fe, Br の濃集もみられた。耐久卵から孵化させ餌を与える前にサンプリングした 1 日齢の幼生にも Zn, Fe, Br が濃集していたことから、これらの元素は親由来のものであると考えられる。しかし、餌には含まれていない Br が濃集していることは、親由来のものと、孵化直後海水から元素を取り込んだ可能性も示唆される。図 2 から雄虫の体内にも元素の濃集がみられた。雄虫についての SR-XRF による定量結果から、日齢を経ていくと Mn, Fe, Zn が増加することがわかった。雄虫は寿命が 2~3 日であり、消化器をもっていないので餌を摂取しないと従来いわれているが、本研究により餌由来の金属元素の濃集が見られたことは、ワムシの代謝機構について新たな知見をあたえるものと期待される。さらに我々の研究から、雌を産むステージ(単性生殖世代)と雄を産むステージ(両性生殖世代)のワムシの微量元素の比較から生殖様式が Cu と関係していることを見いだした。このように、複雑な組織をもつ生物生体試料の微小部分分析にマイクロビーム蛍光 X 線法は大きな威力を発揮する。

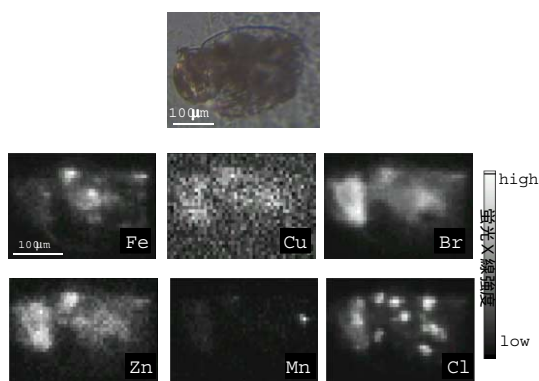


図 1 雌虫 (4 日齢) の顕微鏡写真 (上) と 2 次元分析

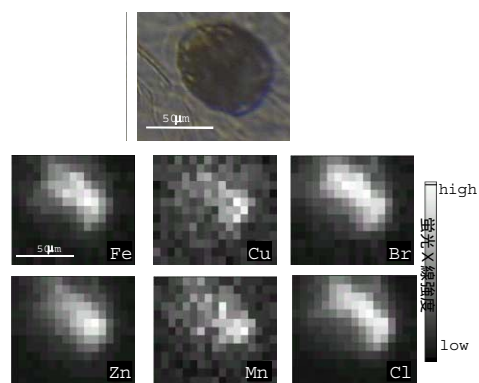


図 2 雄虫の顕微鏡写真 (上) と 2 次元分析

B 宇宙塵の粉末 X 線回折

次に宇宙塵の粉末回折による研究を紹介する。宇宙塵は 1mm 以下の微細な隕石のことを言う。隕石は地球の大気圏突入時に摩擦熱により高温に加熱され、通常含水鉱物などは変成をうけてしまうが、宇宙塵は微小重量であるため大気圏突入時に高温状態にならないでソフトに落下するものがある。そのような試料は、太陽系形成時の始源的情報を持つことが期待できる。宇宙塵の研究では、まずどのような組成のどのような鉱物を含んでいるかを明らかにすることが重

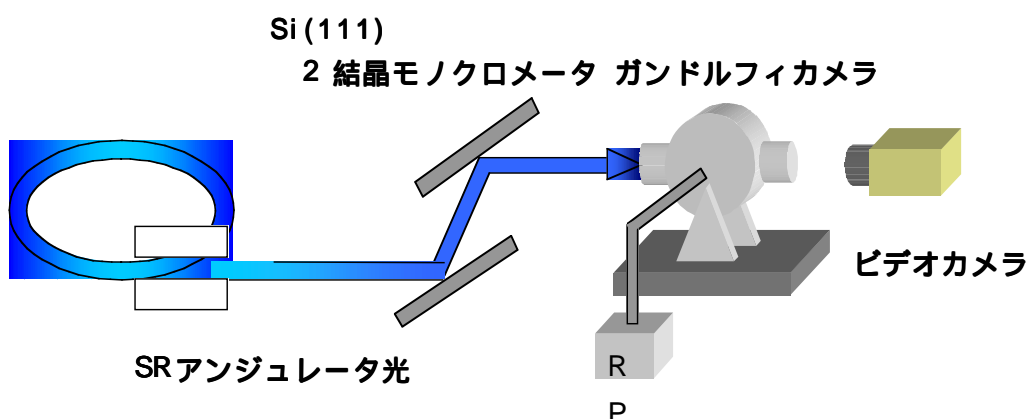


図3 SPring-8 放射光をつかったガンドルフィカメラによる回折実験

る。後者の鉱物組成を決めるのに最も有効な方法は粉末 X 線回折法であるが、小さい試料は数ミクロンという大きさになり、実験室系の微小部回折装置では歯が立たない。

微結晶試料の粉末回折データを測定するには PSPC を検出器として用いるマイクロディフラクトメータがつかわれるが、放射光では PF の大隅らのグループに代表される⁹⁾ように、IP を用いたラウエ法によっておこなわれることが多い。

われわれは、実験室において微小結晶の粉末回折パターンを収集するのに、ガンドルフィカメラを普段使っていたことから適用を検討した。ガンドルフィカメラとはデバイシェラーカメラの試料回転部に2軸の揺動機構をつけて、ガラス棒の先端につけた微小単結晶試料をランダムに動かすことにより、単結晶から粉末回折パターンが得られる便利なカメラである。通常は回折パターンの記録に写真フィルムを使うが、代わりに IP を用いて単色化した放射光を励起源にもちいれば、著しい感度の向上が期待できる。当初は PF の BL3A で実験を行

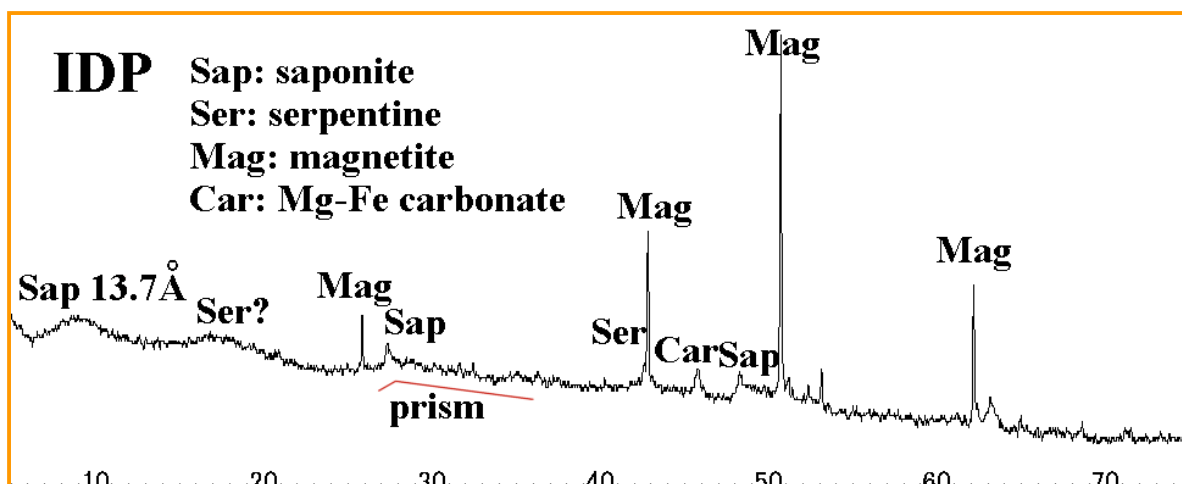


図4 5 mm の宇宙塵の粉末回折パターン ($\lambda = 2.1625 - 0.0005$)

い、数十 μm レベルの結晶の粉末回折データを感度よく収集できた。さらに限界に挑戦するために、SPring-8 の BL-39XU でアンジュレータからの放射光を励起光として図 3 に示す実験システムを用いて回折データを収集した。5 μm の宇宙塵について 3 時間で測定して得られた粉末回折パターンを図 4 に示す。このパターンから、この宇宙塵は saponite (石けん石 $(\text{CaNa})\text{Mg}_3(\text{SiAl})_4\text{O}_{10}(\text{OH})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) を含むことがわかる。saponite は含水鉱物であり、熱変成を受けなかったことから、この宇宙塵に始源的な情報が保存されていることが推定される。このような情報は放射光粉末回折によって初めて得られる情報である。リートベルト法による構造解析も可能なことから、微小結晶試料の粉末回折データの強力な測定法として新しい応用分野を開くものと期待される。

3. マイクロビーム X 線分析の特徴と問題点

このように、X 線マイクロビームは微細組織のある生体試料や、微小試料の分析に有効であるが、問題点もある。そこで、マイクロビーム蛍光 X 線分析システムと既存の電子線を電磁石で集束する X 線マイクロアナライザとを比較することにより、その利点、問題点を明確にしてみよう。X 線は電子線と比べて物質との相互作用が小さいので、非破壊分析が可能である点が利点である。軽元素でなければ、大気中で分析することもでき、ウェットな試料や含水鉱物なども分析できる。従って生体試料の分析に適している。一方、電子線は物質との相互作用が大きく、透過性が小さく数 μm 以下しか侵入しない。したがって、厚みの厚い試料でも 3 次元的に 1 μm 程度の微小領域の分析が可能である。一方、X 線は透過性が高いため、ビーム径よりはるかに深いところまでビームが侵入する。蛍光 X 線の波長により試料に対する透過能が異なることから、元素によって試料内の発生領域が異なる。軽元素は試料表面の情報しか得られないが、重元素の蛍光 X 線は試料深部から出射した光を検出することができる。したがって、蛍光 X 線で微小領域を分析するには、同程度の薄い試料を調製する必要がある。試料調製はマイクロトームが使えるれば、数ミクロンの試料も調製できるが、硬い試料では使えない。ダイヤモンドカッターと研磨によって容易に調製できる厚みは数十 μm 程度で試料をささえる裏材も必要であるので、いくらマイクロビームを作っても、実際その能力をいかす分析は難しい。

X 線マイクロビームが確実にその能力を発揮できるのは、隣に物質がない微小粒子の分析である(試料保持の問題は残る)。X 線回折の分野では、宇宙塵のような微小粒子の分析に有効であろう。放射光蛍光 X 線分析は低濃度という点では、ppb 程度が検出限度であるが、マイクロビームの利点を活かすには、絶対量において少ない試料を分析できるという点である。たとえば 1 辺 1 μm の立方体のシリコンの結晶があるとする。その密度は $2.33\text{g}/\text{cm}^3$ であるので、そ

の重さは 2.33pg しかない。従って、その中の ppm 成分をもし分析できるとすると、a(アト)g の成分の分析ができることになり、その利点は大きい。ただ、試料を大気中におくと、空気による励起 X 線の散乱がバックグラウンド上昇の原因となるので、高真空が必要となり、ここに試料上の制約が生じる。分析対象としては、もともと小さな組織を持つ試料の分析でそのメリットが生かせる。たとえば、1つの細胞内の元素分布の分析や、宇宙塵のような微小粒子の分析などである。当然、試料が小さければ、X線に被爆する物質も少ないので、トータルの散乱が小さくなり、半導体検出器を試料に近づけることができ、フォトンカウンティングの長所を最大限に発揮できるであろう。

4. マイクロビーム X 線分析の将来への展望

近い将来の展開として 1 μm をきるビームをルーチン分析で使えるようになると、どのような系が対象になるかは、上記の問題点を考慮すると予想しやすい。0.1 ミクロンはデジタルマイクロスコプの最大倍率 3000 倍でやっと存在が認識できる大きさであり、数ミクロン以下の試料の取り扱い、光学顕微鏡と人間の手ではもはや限界である。Spring-8 の BL37XU ですでに実現している SEM との組み合わせも一つの解決策である。しかし、電子線は試料に損傷を与える可能性があり、低真空 SEM を用いたとしても、自ずと制限が加わってくる。

さらにマイクロビーム化がすすむと、 $0.1\mu\text{m} = 10^{-5}\text{cm}$ であるので、 $10^{-3}\mu\text{m}^3$ のシリコンでは $2.33 \times 10^{-15}\text{g} = 2.33\text{fg}$ ということになり、その中にある原子の数は $5 \times 10^7\text{atom}$ となる。放射光全反射蛍光 X 線分析の検出限界の世界記録レベルである。この中の 1ppm の不純物となると、50 原子しかなくこのような微量成分の分析は困難であろう。X線を使うことのメリットは、電子線励起に比べてバックグラウンドが低いために高感度であることで、電子線をつかわないので、生物試料のような絶縁体もそのまま分析できる点もメリットであろう。さらに大きな利点は、蛍光 XAFS による状態分析が可能であることである。

このようなレベルのマイクロビームによる分析では、透過電子顕微鏡 (TEM) の試料調製、計測技術が有用になるであろう。TEM では電子線が透過できる厚みの試料を使うことが必要であり、すでにそのような試料の作成技術は色々開発されている。たとえば、バルク試料はスパッタリングによる研磨が可能であり、生体試料の場合はマイクロトームの活用が有用であろう。測定対象としては、nm レベルの微細組織のある試料が対象となるが、今後解決せねばならぬ問題も数多くある。

5. むすび

SPring-8 放射光を利用することにより、日立の平井らは K β ミラーによりすでに 0.45 × 0.52 μ m のビームを 10⁹photons/s という実用的強度で得て、植物細胞内の元素分布を観察している。¹⁰⁾ESRF でも同様な実験が進んでおり、サブミクロンの X 線ビームがルーチン的に使える時代ももうすぐ到来するであろう。今後の課題は、このような微小ビームを得て、何を見るか応用面にウエイトが置かれるようになるであろう。0.1 ミクロン以下になるとすでに上で述べた電子顕微鏡の世界であり、試料周りを格段に工夫しないと、マイクロビームの特徴を活かした実験は難しい。対象試料としてはもともと厚みの薄い細胞やイオン研磨して得られた試料、薄膜や生体膜などの膜の研究に有効であろう。一方、X 線回折では 0.1 μ m の試料でも回折データは得られ、ナノ粒子への応用も期待できる可能性がある。ただ、電子線回折のように波長が短くないので、回折パターンを選ぶには白色 X 線によるラウエ法をつかうか試料を揺動させる機構が必要となり、どのように 0.1 μ m レベルの試料を保持するかが大きな問題となるであろう。個人的には 1 μ m 程度のビームでエネルギーが可変できる輝度の高いビームが利用できれば、現段階では十分魅力的で、まだまだ沢山の自然科学の未解決の問題への応用が可能で、応用範囲も広いと思われる。今後のマイクロビーム形成技術の進展に大いに期待している。

謝辞

本稿で紹介したワムシの研究は、東理大江副雅子・佐々木美穂、保倉明子、SPring-8 寺田靖子、東大吉永龍起、塚本勝巳、長崎大萩原篤志各氏らとの共同研究としておこなった成果である。一方、宇宙塵の研究は、SPring-8 寺田靖子、九大中村智樹、中牟田義博各氏との共同研究である。記して謝意を表したい。

文献

- 1) Y. Suzuki, F. Uchida, Y. Hirai, Jan. J. Appl. Phys. 28, L1660-01662 (1989).
- 2) A. Iida and T. Nomura, Nucl. Instrum. and Methods, B 82, 129-138 (1993).
- 3) S. Hayakawa, A. Iida, A. Aoki, and Y. Goshi, Rev. Sci. Instrum. 60, 2452-2455 (1989).
- 4) A. Iida and K. Hirano, Nucl. Instrum. Meth. Phys. Res. B, 114, 149-153 (1996).
- 5) 中井 泉、日本結晶学会誌, 39, 83-88 (1997).
- 6) 青木貞雄、竹内晃久、放射光学会誌, 10, 194-199 (1997).
- 7) 江副雅子・佐々木美穂、保倉明子、中井 泉、寺田靖子、吉永龍起、塚本勝巳、萩原篤志、分析化学, 51, 883-890 (2002).
- 8) R. Miyawaki, S. Matsubara, K. Yokoyama, K. Takeuchi, Y. Terada and I. Nakai Am. Mineral. 85 (2000) 1076-1081.
- 9) 大隅一政、日本結晶学会誌, 42, 269-271 (2000).
- 10) 平井康晴、長谷川正樹、石橋雅義、内田憲孝、第 15 回日本放射光学会年会、講演番号 12P55 p.114 物性研, 2002.