

第6章

— 総論 —

学術研究

技術革新の急速な進展に伴い、学術研究用機器の進歩にはきわめて目ざましいものがあることは周知のとおりである。1967年におけるアメリカの全研究開発費は約240億ドルに達し、GNPの3.2%となっている。

こうした傾向はわが国においても同様であって、研究開発の進展は国家各企業の将来性のバロメータと言え得る。このような研究開発費増加の中心的存在として、理化学機器があげられるが、戦前における理化学機器と言えば主としてMacroscopicな物理量を測定すると言うことが主たる目的であったように思う。たとえば電流、電圧、長さ、重さ、あるいは硬度、抗張力、といったような物理量を対象としており、この分野に対する研究投資も少なく主たる動きが外国製品の模倣に終始していたと言えよう。こうして単にMacroな物理量計測にとどまるかぎり科学技術の進歩は壁に突き当たることは自明の理である。したがって個々の企業体、大学、研究所などは自分たちの持つ問題を解決するために、自分自身でより高度の計測装置を自製する必要に迫られていたのである。このことはとりも直さずMacroな計測からMicroな計測への転換が絶対に不可欠であることを意味している。このBack Groundをもとにして戦後新たに理化学機器製造産業という新しい分野が生まれ、それに伴って機器分析という新しい総合技術が確立された。概念的に表現すれば分子の構造、原子の配列状態、結晶のひずみ、元素の濃度などの知見を製造技術、科学技術に採り入れざるかぎり問題を解決し得ない状態にまで高められたと言え得る。

戦後この機運に乗じた新しい専門メーカーとして、たとえばBeckmann, Perkin-Elmer, Varian, CEC, AEI, 日本電子などが生まれた。またGE, Westing, Vickers, Philips, Zeiss, 日立製作所などがこの分野への進出を企てた。当初GEは電子顕微鏡を、Westingは質量分析計をまず取り上げたがいずれも初期段階において断念したことは周知のとおりで、今はアメリカにおいてはRCAのみが電子顕微鏡の牙城(がじょう)を守り続けている。これら幾多の企業から、きわめて広範囲にわたる理化学機器が陸続として生まれ戦後の科学技術の発展に大いに役だったことは言うまでもない。これらのおもな分野を列挙すると、電子顕微鏡、質量分析計、磁気共鳴装置、X線分光器、赤外光度計、紫外光度計、熱分析装置、電気化学分析装置、ガスクロマトグラフ、液体クロマトグラフなどがある。国内における生産金額は月額24~25億円に達しており、その輸出比率は約30%でしかもその輸出先が主として先進国に限られている点も日本における理化学機器のレベルの高さを物語るものと考えられる。

日立製作所においては戦前から創業者小平浪平翁の指導方針により研究活動がきわめて活発に行なわれ、中央研究所、日立研究所において研究手段として幾多の理化学機器が自らの手で作られ

ていた。おもなものとしては電子顕微鏡、質量分析計、超遠心分析装置などであるが、これらを単に一企業内の研究手段としてとどめておくべきでなく、一つの事業のもとに統合してその伸展を図るべきであるという考えのもとに、新しく理化学機器の製造が戦後開始されたのである。この点、GE, Westingなどの電機メーカーにおいても事情は同一であったように思う。

日立製作所においては当初各種の測量機器、光学顕微鏡の製作から始まり、理化学機器としてAbbe屈折計、Pulfrich光度計、Dubosque比色計などが手始めに取り上げられた。こうした光学的な機器の戦後における特長的な進歩として、光電変換技術の確立をまず取り上げる必要がある。光電変換素子としては光電管、光電池、光電子増倍管、熱電堆などがあげられるが、こうした光電変換技術の導入は、肉眼による読み取りをメータの指示、あるいは記録に置き換えてしまい機器の普及を強く推進した。

電子装置的な機器の製造は電子顕微鏡から始められた。その基礎的な研究は中央研究所において、故笠井博士、只野博士らの手により昭和15年に始められたのであるが、戦後理化学機器の一環として工場に移されその製品化が始まった。その後約20年その間の成長は周知のとおりで月産30台を越え、今日においては日立理化学機器のパイオニアとして全世界に雄飛している。これに続いてきわめて多分野にわたる機器が生まれ、機器メーカーとして総合企業の態勢を国際的に確立し他をリードしている現況である。こうした総合化が確立された根本にはPerkin-Elmerとのきわめて強固な結びつきがあげられなければならない。PE社の理器部門は主として赤外分光器、ガスクロマトグラフなどを中心として進展し、かつイギリス、ドイツなどに製造工場を持ち、世界的に強力な販売網を持っておりきわめて高度の成長を遂げつつある現況である。最近においては原子吸光装置の開発において世界市場のトップを切り、その声価を一段と高らしめたことはまことに同慶にたえない。

今日においては日立理化学機器は国内において35~40%のシェアを占めており、医学、工学、農学、化学などの進歩に多大の貢献をしていることはいうまでもない。今後の伸びはアメリカのある有力なマーケティング機関による調査においても、年率25~30%が報告されている。こうした組織との結びつき、あるいはPE社よりの情報、またわれわれ自体による国際的な情報の収集、外部研究機関への積極的進出による将来への展望などにより正しく企業が指導されるかぎりにおいて、きわめて将来性ある企業たり得よう。

今後の大きな問題として第一に予想されるのは、データ処理、コンピュータとの結びつき、あるいは複雑な操作の自動化であろう。言うまでもなく機器の性能向上は、データの吐き出しにおいて昔日とは比較にならぬほど量的増大をもたらし、人間による処

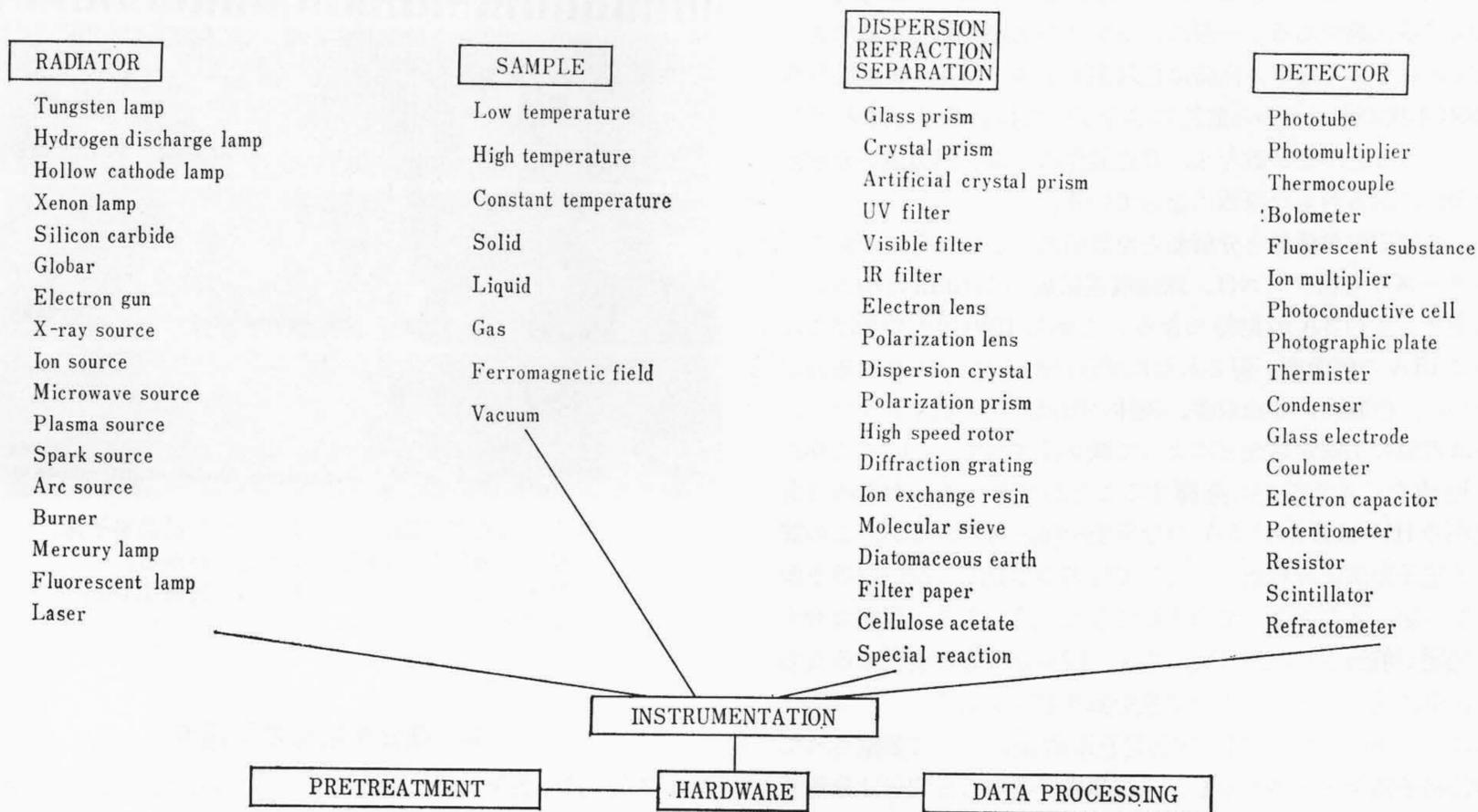
理を困難にしつつある状況である。と同時に機器は最終的に試料の導入口、データの出口および1個のスイッチを備えた暗箱(内容については使用者はなんら理解する必要はない)という理想像へ進まねばならない。ツマミの数を最少にし得たメーカーは常に他をリードする。データ処理と同時にあるいはそれ以上に着意せねばならぬのは基礎部品の開発である。今までに開発されたおもなものを列挙すると別表のとおりで、これらの部品の進歩は機器の設計を完全に変えてしまうことはいままでもない。しかしこうした基礎部品は往々にして材料物性からスタートしなければならない。この意味において日立製作所の理化学機器は中央研究所、日立研究所などの研究機関による成果に負うところがはなはだ多かった。ただ往々にしてこうした基礎部品の開発が地味であることからないがしろにされ、Instrumentationに傾きすぎると本質的な進歩発展は止まってしまう。PE社の原子吸光装置の急速な成長は一にかかってホローカソードランプの開発に成功したことによると考えられる。こうした意味においてわれわれは今後とも基礎的な部品の開発に研究所、工場がもっと重点を指向するようにせねばならぬと思う。と同時に考えねばならないのは別表に示す試料のPretreatmentの自動化である。とかくハードウェアにのみ目がそそがれがちであるが、いち早くこの面に着目して大成功をおさめたのはAuto-Techniconであろう。その製品“オートアナライザ”は全世界の需要を独占して容易に他メーカーの進出を許さない。前処理の自動化、これは決してデータ処理のような技術的興味にあふれた問題ではないかも知れないが、顧客の最も欲するところであることを銘記しなければならない。以上述べたような問題を踏まえて、次にわれわれはLife Scienceとの結びつきにおいて、現在の理化学機器の果たしている役割の増大はも

ちろん全く新規な製品が、その需要の面から生まれてくるであろうことを常に念頭に置かねばならない。長生きこそ人間の最大の願望である。これにこたえて進歩するライフサイエンスから何を引張り出すか、しかも他より早くつかむことは、個々の企業の将来を決定づけるものである。“そうするためにわれわれは何をなさねばならぬか?”この問題を正しく解こうと努力する若い人々の意欲にこそ日立の理化学機器ひいては日本の理化学機器の将来が委ねられていることを強調したい。

次にこの総論に続いて掲載される2編の論文について簡単に概略を述べる。最近数年間の電子顕微鏡の分解能の向上はまことに著しいものがあり、特に金属学分野では薄膜中のDislocationの能率のもとより、金属を構成する結晶格子や分子原子をも直接観察する可能性が開けてきた。また医学、生物学の分野では、生物の形質を次代に伝える遺伝子の担荷体であるDNAの直接観察の可能性も生じてきている。このような高分解能電子顕微鏡の発展の背後には、20数年にわたる関係者の地道な理論的実験的研究とそれに基づく自主的技術の蓄積がある。“高分解能電子顕微鏡の問題点と応用”は今日までに得られた蓄積の一端に触れるもので、その応用面への展望もまたきわめて示唆に富んでいる。

電子顕微鏡における分解能に対応して、分光光度計においてはスペクトラム精度が第一義的な意味を持っている。“分光光度計のシステム解析”は日立製作所において開発された三種類の分光光度計について装置の性能仕様が完全に満たされている状態において、なおかつその装置が不可避的にもつ誤差システムを定性的に考察したものである。各装置に対する定量的な分析は今後に残されているが、今後の分光光度計の設計の一つの方向を示すものとして指導的な役割を果たす労作である。

表 1



高分解能電子顕微鏡の問題点と応用

Some Problems and Studies of High Resolving Power Electron Microscope

菰 田 孜*
Tsutomu Komoda

要 旨

電子顕微鏡の理論的な分解能限界は対物レンズの球面収差の大きさによってきまるが、実際には色収差、非点収差、機械的な不安定さなどによって制限されている。最近、これらの付加的な像障害を取り除くことができ、理論的な限界値に到達できるようになった。本報告は、理論値に到達することを妨げていたいくつかの問題点をあげ解決する方策を述べた。また、原子的な大きさの領域における電子顕微鏡の応用として、金の真空蒸着粒子の核形成と構造に関する研究をとり上げ、高分解能電子顕微鏡の有用性を示した。

1. 緒 言

電子顕微鏡の使命は光学顕微鏡では観察できなかった微視的な世界をさらに拡大して観察することであり、したがって、高分解能こそ電子顕微鏡の本命といえることができる。日立製作所の電子顕微鏡は、この点、数年来、世界の水準を抜く高分解能電子顕微鏡として国の内外を問わずひろく受け入れられてきた。われわれはさらに高分解能を旨として、装置の改良研究と高分解能領域における応用開発研究につとめている。以下、最近問題になっている技術的な問題点と、原子的な大きさにおける応用研究について述べよう。

2. 電子顕微鏡の分解能

光学顕微鏡の分解能は光の波長で制限されているが、電子顕微鏡の場合には電子レンズの球面収差の補正ができないので、球面収差の大小によって限界分解能がきまっている。電子顕微鏡のようにコヒーレントな光学系では分解能を一義的に定義づけることはむずかしいが、一応 Abbe の式に従って

$$d = 0.6 \lambda^3 C_s^{1/4} \dots \dots \dots (1)$$

のように表わすことができる⁽¹⁾。λは電子線の波長、C_sは対物レンズの球面収差係数である。一般に、レンズの励磁が強くなるに従って球面収差は小さくなり、同時に色収差も小さくなる。日立製作所では1950年代の中ごろから他社にさきがけて強励磁方式を採用しており、このことがここ数年来、日立製作所の電子顕微鏡が分解能の点で優位にあるおもな原因になっている。

表1は各球面収差係数と分解能とを数値的に示したものである。HU-シリーズの対物レンズは、球面収差係数が1.5mmと小さいので分解能として約3Åが期待できる。しかし1950年代の半ばにはわずかに15Åの解像度が得られたにすぎなかった。これは球面収差のほかに、色収差、非点収差、鏡体の機械的な振動やドリフト、あるいは電源の不安定さなどによって像が乱されて、(1)式で与えられる性能をじゅうぶんに発揮することができなかったためである。現在のHU-11E形は5Åの分解能を保証しているが、この間における電子顕微鏡分解能は主として後者の本質的でない収差や像障害を取り除く努力によって向上してきたわけである。現在なおすべての問題が解決されたわけではなく、限界分解能を実現するためには、次章に述べる点に細心の注意を払う必要がある。

図1にここ10年余りの間に日立電子顕微鏡によって観察されてきた結晶格子像をまとめて示した。結晶格子像のしま間隔は分解能そのものを表わすものではないが、一応、日立電子顕微鏡の分解能向上の歴史を知ることができる。

表1 種々の球面収差(C_s)のときの分解能(d)、開口角(α₀)、最適焦点のはずれ(Δf)を示す。

C _s (mm)	4.0	2.0	1.5	1.0	0.5
d (Å)	4.0	3.4	3.1	2.8	2.4
α ₀ (rad)	7.8×10 ⁻³	9.3×10 ⁻³	9.8×10 ⁻³	11×10 ⁻³	13×10 ⁻³
Δf ₀ (Å)	1,220	860	740	610	430

λ=0.037 Å (100 kV)

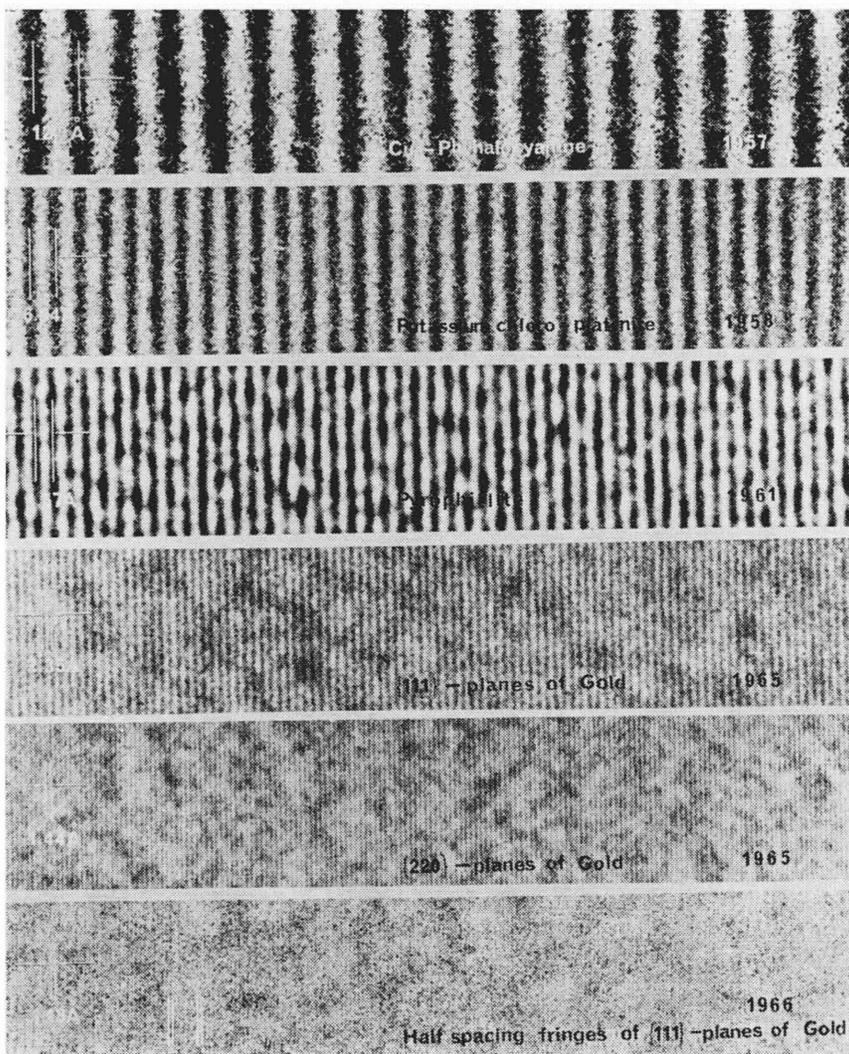


図1 日立電子顕微鏡で撮影された結晶格子像、電子顕微鏡分解能向上の歴史がわかる。最上段は格子間隔12.5Å、最下段は1.18Å、すべて同一倍率

3. 高分解能化の問題点

この章では限界分解能に到達することを妨げているいくつかの問題点をあげ、その解決方策について述べる。

3.1 色 収 差

色収差は主としてビーム加速電圧とレンズ励磁電流の変動によって生ずる。対物レンズの色収差係数をC_f、電圧変動率をΔE/Eとす

* 日立製作所中央研究所

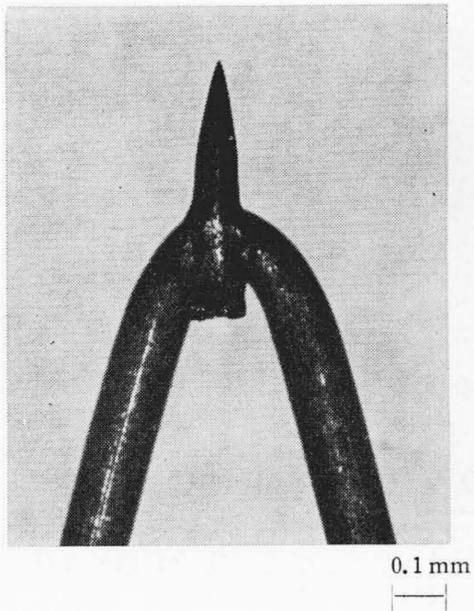


図2 ポイント・フィラメント
普通のヘアピン・フィラメントの先端に針状のタングステン線が溶接されている。電子は針の先端から取り出される。

ると色収差によってきまる分解能はおおよそ

$$d \sim \sqrt{C_f \cdot \lambda \cdot \frac{\Delta E}{E}} \dots\dots\dots (2)$$

である。HU-11A 形から出力電圧の変動分を負帰還する新しい電源回路を採用したので⁽²⁾、レンズ電流の高安定化とあいまって分解能は飛躍的に向上した。現在は電源の総合安定度が 1×10^{-5} よりもじゅうぶんに高いこと、強励磁方式により色収差係数が小さいこと ($C_f=2 \text{ mm}$) により色収差は球面収差によってきまる限界分解能よりもじゅうぶんに小さい値になっている。

しかし電子線が試料を通過する際に $15 \sim 20 \text{ eV}$ 程度のエネルギー損失があるので⁽³⁾、このほうの問題が大きい。たとえば生物試料の主成分である軽元素による非弾性散乱電子の平均自由行程は約 $1,000 \text{ \AA}$ であるから⁽⁴⁾、色収差の影響を無視できる試料厚さはせいぜい 200 \AA 程度である。マイクローム切片では厚さが 500 \AA よりも厚いものが多いので高分解能試料としては適していない。

次に、いわゆる Boersch 効果⁽⁵⁾による電子線の速度分布の広がりをおとすことができる。一般に熱陰極から放出される電子は、Maxwell の分布則に従った初速度分布をもつ。陰極温度を $T^\circ\text{K}$ とするとエネルギー幅は kT の程度であり、たとえば $2,800^\circ\text{K}$ のタングステン陰極の場合、ほぼ 0.25 eV に相当する。しかし実際に数十 kV に加速された電子ビームの速度分布を調べてみると、エネルギー幅は理論値よりも1けた近くも大きいことがわかった。これが Boersch 効果である。 $1 \times 10^6 \text{ A/cm}^2 \cdot \text{sterad}$ のような高輝度領域では $2 \sim 3 \text{ eV}$ に達している。高分解像を撮影する場合には像倍率も高く、したがってその影響は大きい。最近、ポイント・フィラメントの使用により、この効果を小さくできることがわかった。

3.2 ビームのコヒーレンス

最近、結晶格子像や位相差コントラスト像、さらにホログラフイーの実験⁽⁶⁾を行なうためにコヒーレントな電子ビームが要求されるようになった。いま試料面上におけるビームのコヒーレント長さを l とすると、

$$l \sim \frac{\lambda}{2} \sqrt{\frac{\pi R}{\rho}} \dots\dots\dots (3)$$

で与えられている。ここで R は電子銃の輝度、 ρ は試料面上の電子流密度である。ビームのコヒーレンスを増すためには像の明るさをぎ性にしなければならない。電子銃の輝度を上げると Boersch 効果が増大するジレンマがあった。

ポイント・フィラメントの使用は、この問題をかなり改善してい

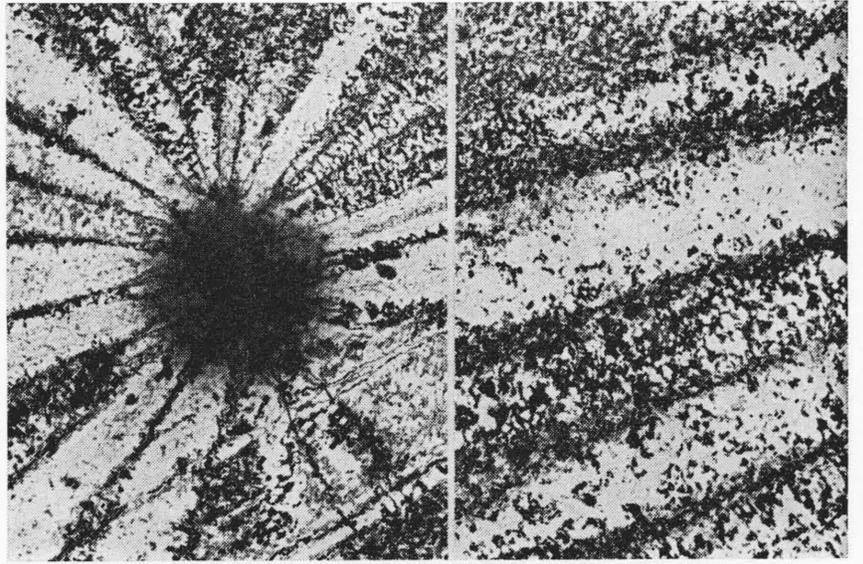


図3 金結晶膜の電子顕微鏡写真
右は局部的にコンタミネーションを付着させた場合で膜にシワが寄っている

る。ポイント・フィラメントはわが国の日比⁽⁷⁾、榊氏ら⁽⁸⁾によって開発された電子銃で、図2に示すように、針状の陰極をもっている。先端部に強い電界が印加されるため、いわゆる T-F エミッションが得られるといわれている。先端の狭い領域から大きい電子流が得られるので、少ないビーム電流 ($\leq 1 \mu\text{A}$) で高い輝度 ($\geq 1 \times 10^6 \text{ A/cm}^2 \cdot \text{sterad}$) が得られる。これによって、比較的容易にコヒーレンスの高い電子ビームが得られるようになった。

3.3 非点収差

非点収差はレンズ磁場が軸対称でないために生ずる。磁極の工作精度の不足、材質の不均一性などが原因である。日立製作所の電子レンズはブロックレンズ法を採用しているため、工作精度が高く、しかも分解、組立てを行なっても狂いが生じない。レンズ個有の非点収差量は、非点隔差にして 0.5μ 程度に小さく、低倍率においてはスチグマトールによる補正を必要としない。しかし、高分解能像を得ようとするときは問題である。いま非点隔差を Δf_a とすると、分解能は

$$d \sim \sqrt{\lambda \cdot \Delta f_a} \dots\dots\dots (4)$$

で与えられる。 3 \AA の分解能を得るためには、非点隔差を 0.02μ まで小さくする必要がある。スチグマトールによる補正には限界があるので、どうしてもレンズ個有の非点収差量を小さくしなければならない。

3.4 試料コンタミネーションと試料損傷

電子顕微鏡のように $10^{-4} \sim 10^{-6} \text{ Torr}$ の真空度で使用されている装置では、電子照射を受けた場所にコンタミネーションが生ずる⁽⁹⁾。これは物体の表面に吸着した有機ガスが電子照射によって分解、重合し、不溶性のたいせき物に変化したものである。観察中の試料上にも、同じような現象が生ずる。コンタミネーション膜の成長速度は 10 \AA/s に達する場合もあるので、数オングストロームの微細な物体を観察しようとするときには大きな問題である。そのほかに、コンタミネーションが試料膜に局部的に付着すると、図3に示したようにシワを作るので、試料の変形や像流れの原因になっている。

最近、鏡体内の高真空化により積極的に有機ガスの鏡体内には入り込むことを防止し、いわゆる“きれいな真空”にすることに努力している。さらに試料室に冷却トラップを設けて、試料室内の有機ガスを完全に除去している⁽¹⁰⁾。図4はトラップの冷却壁の温度とコンタミネーション膜の成長速度との関係を示したものである。コンタミネーションが負になっているのは、カーボン類が電子照射によって逆に蒸発してゆく現象を示している。これは鏡体内に残留する酸素や水蒸気と試料のカーボンとが、照射電子のエネルギーによって

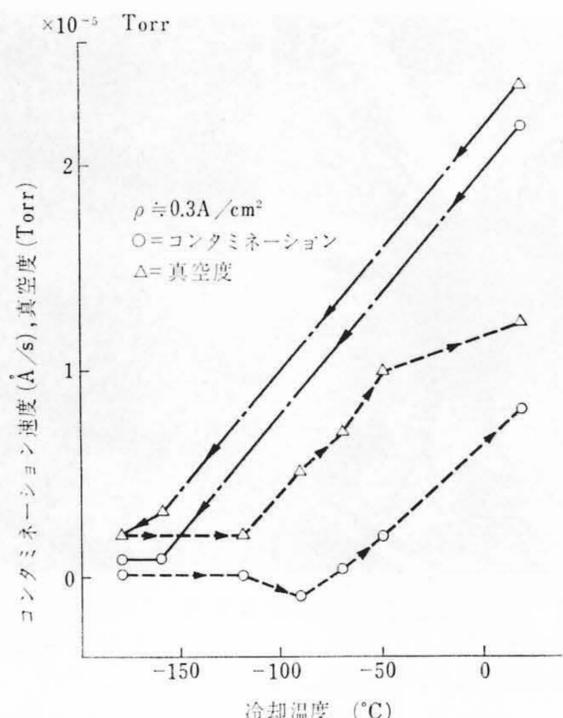


図4 冷却トラップの温度とコンタミネーション膜の成長速度

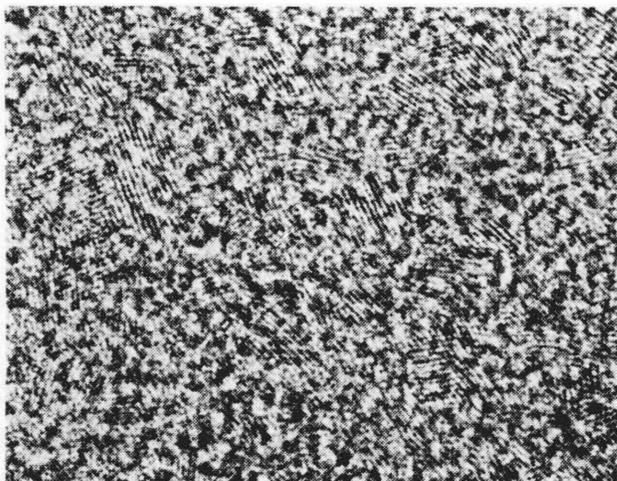
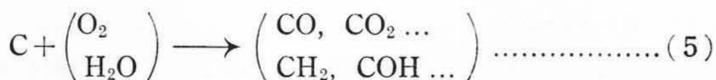


図5 非晶質酢酸ウランに電子照射して酸化ウランの微小結晶を析出させたところ。格子像は酸化ウランの(111)面を表わす。格子間隔は3.1 Å



のような反応を起こすためと考えられている。このような現象を除くためにも、鏡体内の高真空化が望まれている。

このほかに電子照射による試料変化の現象を無視することはできない。特に、有機化合物は短時間のうちに変化する場合が多い。フタロシアニン結晶の格子像が短時間のうちに消失してしまう例はよく知られているが、そのほかに、複雑な塩類から単純な無機物が析出して来る場合もある。図5は非晶質の酢酸ウラン(UO₂(CH₃COO)₂·2H₂O)を強い電子照射によって観察した写真であるが、いたるところに酸化ウラン(UO₂)の微結晶が析出している様子がみられる。今後、電子顕微鏡によってたんぱく質やDNAなどの分子を観察するためには、どうしても電子照射による試料変化の問題を解決せねばならないだろう。

3.5 そのほか

以上の問題のほかに、鏡体の振動、試料微動台のドリフト、外部磁場のじょう乱などの問題がある。これらの問題は電子顕微鏡を設置する場所の環境整備によって解決し得る場合が多い。

試料台のドリフトは鏡体の温度変化に伴うレンズ・ヨークと微動台の熱膨張の差によって生ずる場合が多い。たとえば試料ドリフトを1 Å以下にするためには温度変化を10⁻⁴°Cに保持せねばならない。

今後、高分解能を目的とする場合には、電子顕微鏡を設置する部屋の設計を震動、妨害磁場などとともに、室温コントロールなども

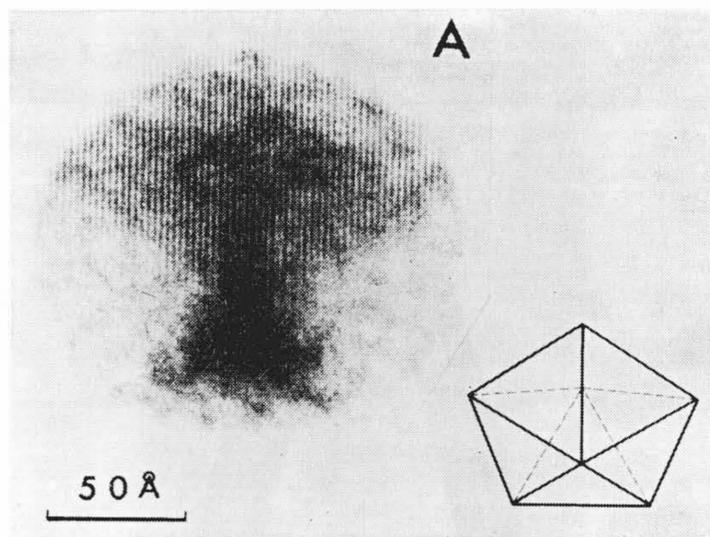


図6 金蒸着粒子の電子顕微鏡写真 (111)格子像がみられる。10面体の形をしていることがわかる。

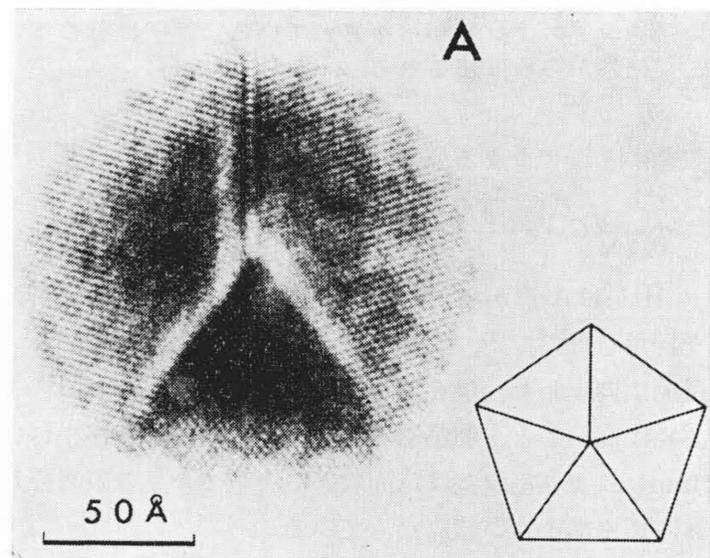


図7 金蒸着粒子の電子顕微鏡写真 (111)格子像がみえている。10面体の形をしている。

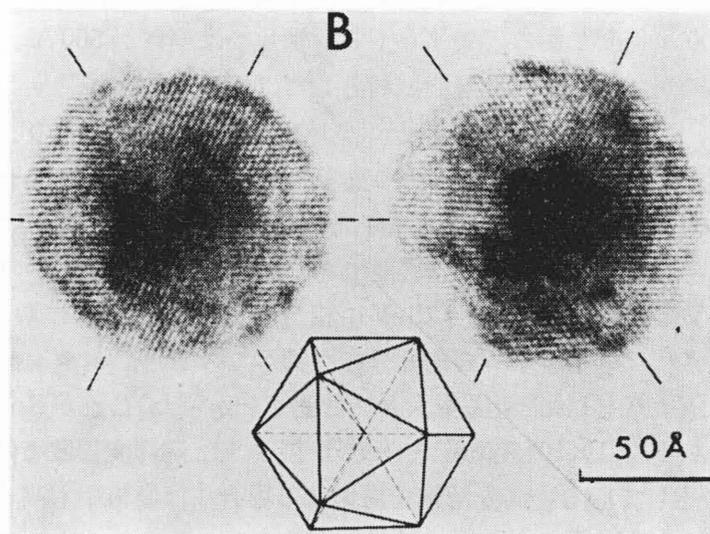


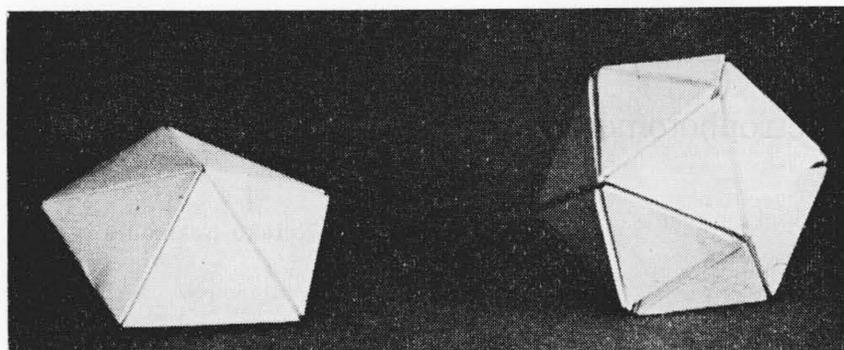
図8 金蒸着粒子の電子顕微鏡写真 (111)格子像がみえている。正20面体の形をしていることがわかる。

考慮してなされるべきと思う。

4. 高分解能電子顕微鏡の応用

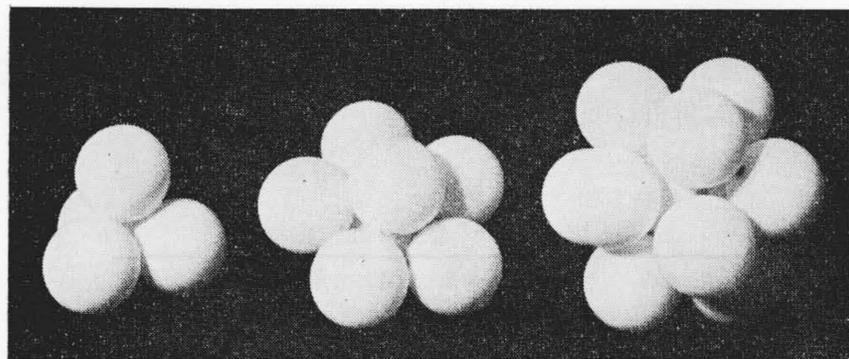
以上に述べた問題点の解決により現在、点間隔で約3 Å、線間隔で1 Åの分解能が得られている。いまのところ原子を直接観察することはできないが、原子数個の集団、あるいは巨大分子ならば観察することができる。また、格子像を通して結晶の内部構造を精密に調べることもできる。

以下に、このような高分解能電子顕微鏡を実際に応用した研究例について述べる。対象は真空蒸着粒子で、その結晶構造から結晶核



(a) 10面体粒子 (b) 正20面粒子

図9 金蒸着粒子(多重双晶粒子)の外形モデル



(a) → (b) → (c)

図10 金原子の核形成を示すモデル
C-核の上に多重双晶粒子が成長する。

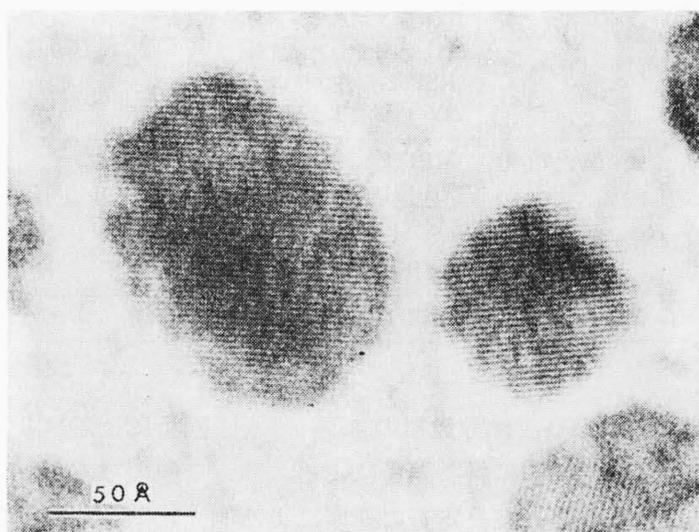
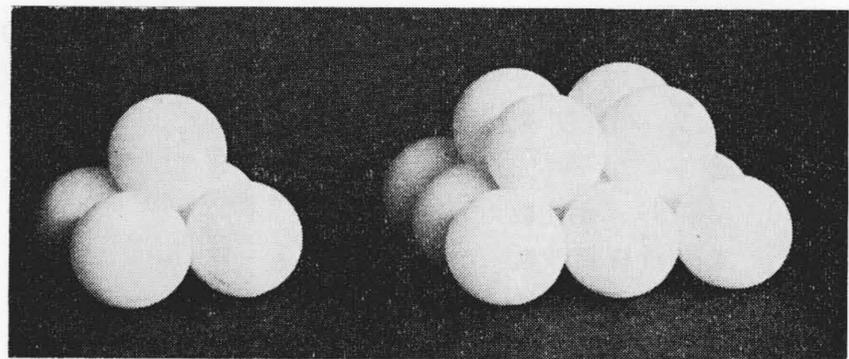


図11 エピタクシー温度において成長した
金蒸着粒の電子顕微鏡写真
(200)格子像がみえている。



(a) → (b)

図12 金原子の核形成を示すモデル
エピタクシー成長する核を示す。

の発生と成長機構を原子的な大きさで追求したものである⁽¹¹⁾。

岩塩劈開(へきかい)面に金を真空蒸着するとき、下地をある温度以上に加熱しておくくと金の結晶が下地結晶に平行な方位で成長す

る、いわゆるエピタクシーの現象が生ずる。この種のエピタクシー成長に関する研究は古くから行なわれてきていたが、結晶核の発生機構に関する直接的な情報が得がたかったために、いまだに完全には理解されていない。

まずエピタクシー温度以下において発生した結晶核を電子顕微鏡で観察してみよう。図6~8にその典型的な写真を示した。結晶核の中に(111)格子面が観察されている。このような格子像を解析してゆくと、結晶核の構造を知ることができる。解析の結果、結晶核が図9のモデルのように10面体あるいは正20面体の形をしていることがわかった。この構造はすでに井野氏⁽¹²⁾によって電子回折と暗視野電子顕微鏡によって調べられ、多重双晶粒子と呼ばれていた。図6~8の写真はこの結晶構造をより直接的に示したものである。このような電子顕微鏡写真をさらによく調べると、結晶核内部の精密な構造や、原子が数十個凝結した程度のごく初期の核構造まで読みとることができる。その結果、金原子が図10のように凝集して核を形成するものと推定される。この核における原子配列は正規の面心立方格子の原子配列と異なっている。しかし表面エネルギー最小の原理に従えば、じゅうぶんに理解できる形である。この核を中心にして原子を層状に並べていくと多重双晶粒子が完成する。

次に、エピタクシー温度において発生する結晶核を観察した。図11はその一例で、(200)格子像が観察されている。このような像から、結晶核は単一の方位しか持たず、ピラミッド状をしていることがわかった。成長初期の段階の粒子を調べてみると、この場合には、先に述べた場合と異なり、下地結晶の上に全く平行に金原子が配列してゆくことが推定された。つまり、成長の初めからエピタクシー現象が生じているのである。これを原子モデルで示すと図12のようになる。エピタクシー温度を境にして、なぜ図10、12に示したような異なった結晶核が発生するのか、いまのところよくわかっていない。しかし、以上のような観察によって、いままで間接的に推測されていた結晶核の発生と形態が、より直接的に観察できるようになり、この種の研究に具体性が加味されるようになった。

5. 結 言

電子顕微鏡の分解能は最近になって理論的な限界分解能に到達するようになった。しかし装置を常時、限界分解能で使用するためには、本文に述べたようないくつかの技術的な問題点にじゅうぶん留意せねばならない。このような高分解能電子顕微鏡によって、原子的な大きさの領域において、かなりの応用ができそうに思われる。今後は、加速電圧の高圧化、超電導コイルを用いた強励磁電子レンズの開発などにより、直接、原子を観察できる電子顕微鏡が出現するものと期待されている。

参 考 文 献

- (1) O.Scherzer: J. Appl. Phys., 20, 20 (1949)
- (2) Y.Utsumi et al.: Hitachi Review, 11, No. 6 (1962)
- (3) H.Watanabe: J. Phys. Soc. Japan, 10, 321 (1955)
- (4) A.Tonomura et al.: Japan. J. Appl. Phys., 6, 1163 (1967)
- (5) H.Boersch: Zeits. Phys., 139, 115 (1954)
- (6) A.Tonomura et al.: Japan. J. Appl. Phys. 7, 295(1968)
- (7) T.Hibi et al.: J. Electronmicroscopy, 11, 244 (1962)
- (8) Y.Sakai et al.: Optik, 15, 485 (1958)
- (9) A.E. Ennos: Brit. J. Appl. Phys., 4, 101 (1953)
- (10) T.Komoda et al.: J. Electronmicroscopy, 9, 77 (1960)
- (11) T.Komoda: Japan. J. Appl. Phys., 7, 27 (1968)
- (12) S.Ino: J. Phys. Soc. Japan, 21, 346 (1966)

分光光度計のシステム解析

System Analysis of Spectrophotometer

中 村 弘 陸*
Koroku Nakamura

要 旨

分光光度計は装置関数として記述される分光測光特性をもっている。そのため実測されたスペクトル強度分布曲線は試料の固有スペクトルの強度分布曲線と測定装置の装置関数との総合的結合関数曲線となる。したがって正しい試料スペクトルを得るためには分光光度計の装置関数を知る必要があり、また分光光度計の本質的性能はその装置関数によって評価される。分光光度計の分光測光機構から主要な測定誤差因子を抽出してこれをシステム化し、これに基づいてその分光測光精度を解析する手段を探索した。具体例としてそれぞれ特有な測定機構をもつ日立製作所の分光蛍光光度計、迅速波長走査分光光度計および二波長分光光度計を対象にして、その測定誤差因子を系統化しておのこの装置関数の特性を定性的に解析した。

1. 緒 言

分光光度計の種類は非常に多い。波長範囲別にわけても遠赤外分光光度計、赤外分光光度計、紫外可視分光光度計、極紫外分光光度計などがある。さらにそのおのこのなかに高分解高性能装置と簡易装置とがある。このほかに応用目的に適した特殊な形の分光光度計として発光分析装置、蛍燐(けいりん)分光光度計、ラマン分光光度計、旋光分散分光光度計、原子吸光分光光度計、色測定分光光度計などがあげられる(日立製作所が現在市販している分光光度計だけでも表1に示すだけの種類がある)。

歴史的にみると、分光光度計はその大半が吸収スペクトルを測定することを基礎にしている。特に赤外分光において分子の核間振動スペクトルの測定から分子構造の解析を行なうことによって、化学の分野に大きい貢献をした。このような測定においては分光光度計に高分解性能が要求され、またできるだけ誤差の含まれない真正スペクトルを得ることが望まれる。すなわち測定すべき試料がもつ本来の吸収スペクトルを測定・再現することが究極の目的であった。

最近分光測光によって得られたデータをコンピュータで処理する場合、そのデータに分光測光の機差による誤差が多く含まれていると正しいデータ処理や総合分析が得られない。そこで最も合理的な方法は分光光度計本来の目的に立ちかえって、試料の真正スペクトルに近いものを測定、再現することを前提としなければならない。もちろん実際の場合に分光光度計は常にスペクトルに装置特有のひずみを与えるので、これを小さくすることと、補正を行なうようにすることが必要である。

以上の観点にたつて、われわれが製作している三種類の特殊な形の分光光度計を考察してみる。

2. 分光光度計のシステム構成

分光光度計によって試料の吸収スペクトルを測定すると、試料に固有の吸収帯が装置によってある種のひずみを受けて記録される。この実測された吸収帯曲線と試料固有の吸収帯曲線、すなわち真正吸収帯曲線との間には次のような関係がなりたつ。

$$f(\nu_i) = \int_{-\infty}^{+\infty} g(\nu) k(\nu - \nu_i) d\nu \dots\dots\dots (1)$$

ただし真正吸収帯曲線を関数 $g(\nu)$ 、実測されたその吸収帯曲線を関数 $f(\nu_i)$ とする。関数 $k(\nu - \nu_i)$ は装置関数である。一般の赤外分光光度計についてこの装置関数が多くの著者によって調べられている⁽¹⁾。

表1 分光光度計の種類

遠 赤 外	FIS-3 形日立赤外分光光度計 FIS-21 形日立赤外分光光度計
赤 外	225 形日立赤外分光光度計 EPI-G ₃ 形日立赤外分光光度計 EPI-L 形日立赤外分光光度計 EPI-S ₂ 形日立赤外分光光度計
紫 外 可 視	EPS-3T 形日立自記分光光度計 139 形日立分光光度計 124 形ダブルビーム分光光度計 111 形日立分光光度計 RSP-2 形日立ラピッドスキャン分光光度計 356 形日立2波長/自記分光光度計
蛍 光 燐 光	MPF-2A 形日立分光蛍光光度計 203 形日立分光蛍光光度計
原 子 吸 光	303 形日立原子吸光分光光度計 207 形日立原子吸光分光光度計
測 色	EPR 形日立自記分光光度計

装置関数 $k(\nu - \nu_i)$ は分光器のスリット幅、回折によるスリット像のひろがり、光学系の調整誤差によるスリット像のひろがり、迷光による透過率誤差、波長走査の速度による測光誤差、増幅器系の時定数、光束断続周波数、記録計の非線性などの因子を含みそのおのこの相互に影響し合っている。しかし実際の分光光度計においては光学収差、光軸調整、駆動機構の機械精度(波長精度)、スリット精度および電圧安定度、ノイズなどの装置の精度を製作仕様以内に入れた場合を考えると、実測吸収帯のひずみを生ずる因子は近似的に次の要素に集約することができる。

- (a) スリット関数
- (b) 迷 光
- (c) 増幅器系の時定数
- (d) 光束断続周波数
- (e) 記録計の非線性

赤外分光光度計について調べられたこの装置関数は、光検知器の時定数の差および赤外において問題になる光学系や試料からの温度発光を除けば類似的に紫外分光光度計に適用できる。いま普通の紫外可視分光光度計のシステムをブロックダイアグラムとして図1に示す。この例は日立製作所の124形複光束自記分光光度計の単色計出射スリットから射出された光束のエネルギーを測光して、試料の吸光度を吸光度リニアスケールで表示するシステムである。光源および単色計を含む装置全体の系を分光測光誤差、すなわち試料の真正吸収帯をひずませる装置関数の各誤差要素から構成される一つの誤差系列として図示すると図2のようになる。光源から単色計には

* 日立製作所那珂工場 理学博士

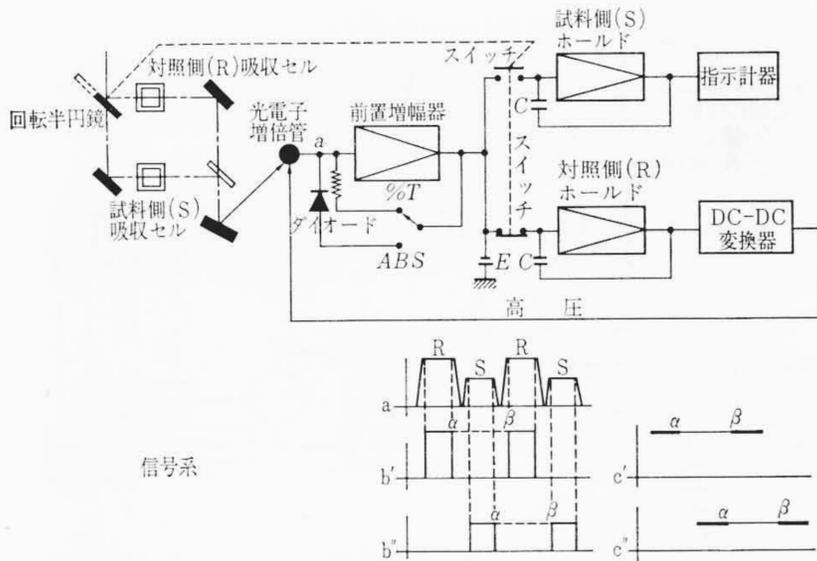


図1 信号系

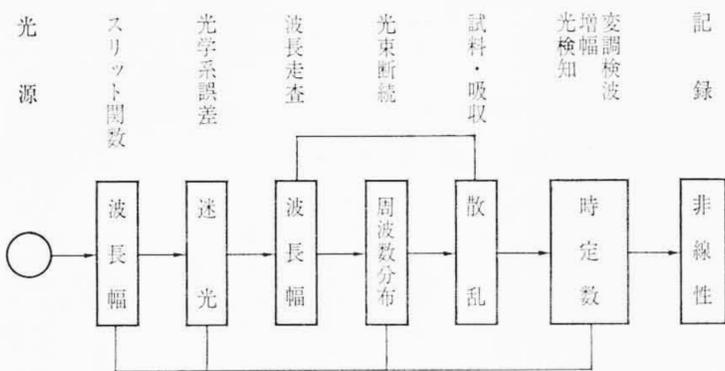


図2 一つの系列

いる光から出る光の強さはスリット関数のため分散方向波長スケールに対して有限の幅をもった分布をとる。白色光源の場合は出射スリットから出る光が実際にスペクトル分布をもつ。単色計の光学系の誤差および回折格子面の光散乱による迷光は測光値縦軸の誤差となり、標準光束および試料光束のセル透過率実測値を T_0, T とすると正しい吸光度, A は次式のような関係になる。

$$A = \log[(T_0 - K) / (T - K)] \dots\dots\dots (2)$$

ただし K は迷光自体の透過率を示す。波長走査はスリット関数および検知器からのシグナル増幅, ろ波, 変調, 整流と相互に関係して記録吸収帯のスペクトル幅の増加および波長位置ずれを生ずる原因となる。光束断続はその周波数いかにによって記録系出力の S/N に影響する。この光束断続周波数はスリット関数と密接な関係をもつ。試料セルにおける光束エネルギーの吸収は試料の濃度および種類により無視できない光の散乱減衰を伴うことがある。かかる場合には単色計における迷光の場合と似た次のような関係が成りたつであらう。ただし複光束測光系においてはそれぞれ試料側と標準側の散乱による光減衰を K_S, K_R と区別する必要がある。

$$A = \log[(T_0 + K_R) / (T + K_S)] \dots\dots\dots (3)$$

光検知器およびその出力シグナルを増幅, ろ波, 変調, 同期整流を行なう系においては入力光信号に比例する高い S/N 比を確保するためにその周波数帯域幅および時定数が重要な因子となる。しかしこの系はスリット関数, 波長走査速度および光束断続周波数と密接な関係において吸収スペクトル帯の記録誤差を左右する。記録系はペンサーボ機構をもつ系であればその各可動部分の慣性そのほかにより非線性を含んでいる。これはスリット関数および波長走査速度と関連して吸収帯の波長ずれや非対称ひずみをあたえる原因になる。

3. 分光蛍光光度計のシステム

一例として日立製作所の MPF-2A 形分光蛍光光度計を考察して

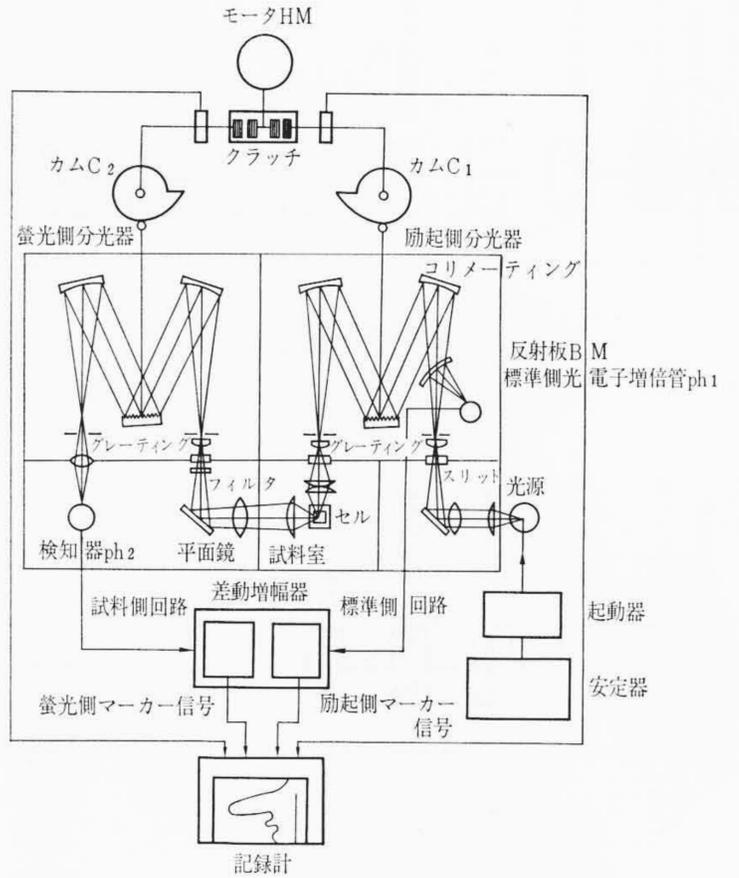


図3 分光蛍光光度計列

みる。この装置の全系の略図は図3に示すとおり蛍光側分光器と励起側分光器の二つの単色計からなり、図中上部のクラッチ切換によってそれぞれ一方の単色計を波長走査させて蛍光励起スペクトル, または蛍光発光スペクトルを自動記録できるものである。励起側分光器の系は連続光発光光源から入射した白色光から回折格子単色計で有限波長幅の単色光を取り出すものであるから前述の分光器と原理的に変わるところがない。蛍光側分光器は試料から発光する二次発光, すなわち蛍光を単色化して検知器に入れている。したがって原理的には単光束測光の分光光度計に該当する。しかし詳しくいえば蛍光分光器の検知器の出力信号と, 励起分光器の入射光強度検知器(図3における標準側光電子増倍管 Ph_1)からの出力信号をそれぞれ差動増幅器で増幅して記録系でこの比を記録している。この分光測光系のスペクトルひずみを生ずる誤差因子の系列を考えると二つのオペレーションモード, 蛍光発光測定と励起スペクトル測定と二様の系列になる。それを示したものが図4(A)および(B)である。ここに示す各誤差因子が生ずるスペクトルひずみの傾向は前の124形分光光度計の場合と同様であるが, 最終的に記録されるスペクトルに現われるひずみとしての寄与はかなり違っている。

まず(A)に示す蛍光測定の場合は励起光の波長走査がなく, かつ蛍光発光においてほとんどの試料が励起光の単色性(波長純度)に敏感でない。したがって励起分光器のスリット関数は蛍光スペクトルひずみの原因としてあまり重要でない。その反面光源のエネルギーが大きいため回折格子その他の光散乱による迷光が試料セルで散乱されて蛍光発光帯スペクトルのバックグラウンドとなって測光値誤差になる。また光源に高圧水銀燈やXe-ランプを用いる場合その発光輝度にわずかながらふらつきがあり, これが光ノイズとして蛍光分光器の装置関数と相互作用をもって記録される蛍光帯側のスペクトルひずみおよび測光 S/N 比に影響する。したがって励起用光源としては特に輝度安定なランプを選ぶ必要がある。蛍光側分光器に関してはその装置関数が記録スペクトルのひずみを生ずる影響のしかたが124形のような吸光度測定分光光度計の場合と同じ傾向をとる。光源の光ノイズが問題になる場合に, ほとんどの試料から発光する蛍光がこの光源の光ノイズに比例または相似なノイズを含んでくる。したがって測光系の誤差の原因を考察するには, 直接光源の

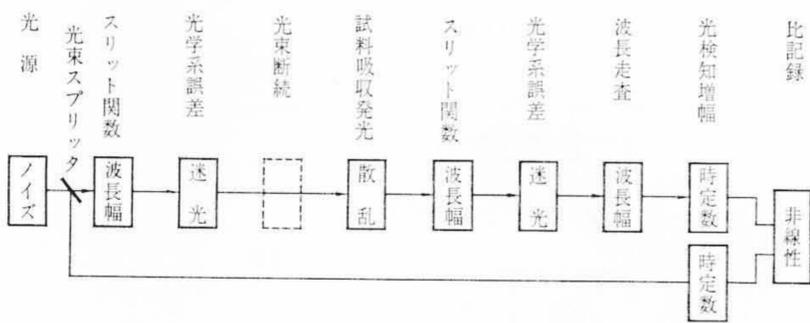


図4(A) 蛍光測定

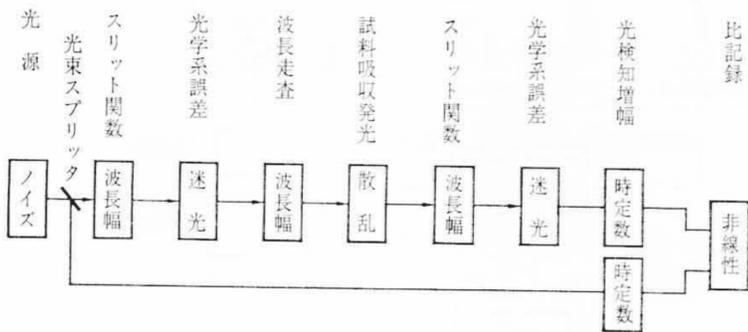


図4(B) 励起スペクトル測定

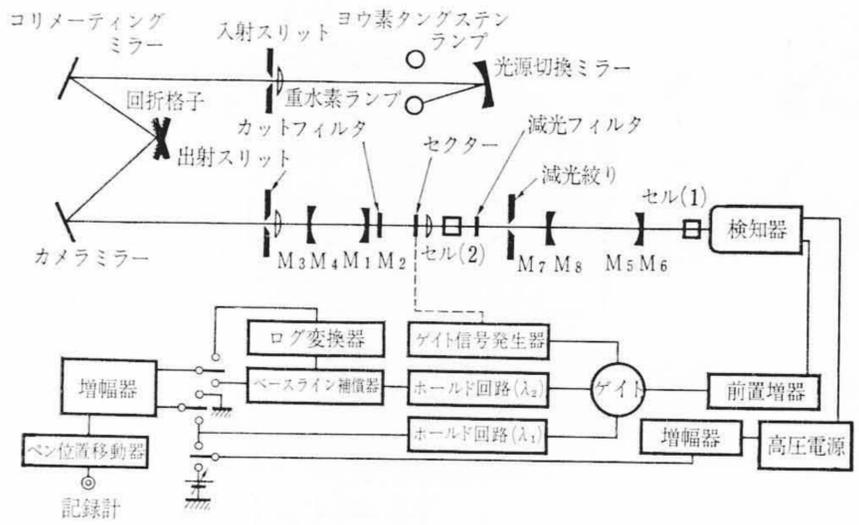


図5(A) 測定機構の略図

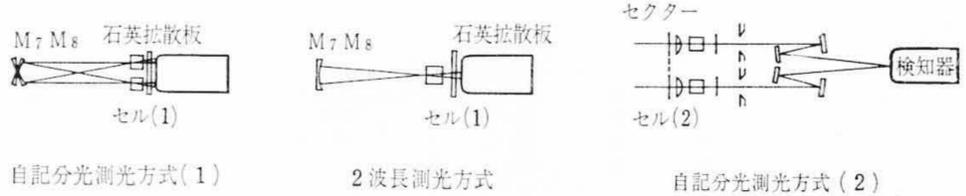


図5(B) 測光モード

光ノイズと測光系との相互作用を調べばたりる。

特に注意を要することは燐光スペクトルの測定である。燐光スペクトルの測定は試料を照射する励起光束を周期的に断続する。この光束断続周波数が蛍光側分光器のスリット関数、光源ノイズ、測光系の時定数と関係して記録系出力の S/N 比に影響する。

図4(B)に示す励起スペクトル測定は応用面として、これが試料の吸収スペクトルと一致することから化学成分の定性分析に使うため、蛍光発光スペクトルと同等ないしはそれ以上の高い測光精度を要求する。この場合には波長走査が(A)の場合と異なり励起側分光器のなかにある。しかし実際の測定における記録スペクトルに対するひずみの影響は(A)の場合とほぼ同様である。その理由は両者とも記録系の出力シグナルとして現われる信号が試料で発光された蛍光の強度成分であって、それが近似的に励起光のスペクトルスリット幅に無関係であるためであらう。

4. 二波長分光光度計のシステム

この装置は元来光散乱の強い、いわゆる混濁試料の吸光度スペクトルを測定してその試料に含まれる化学成分の定量分析を行なうために開発されたものである。普通の単光束分光光度計や複光束分光光度計によって混濁試料の吸光度スペクトルを測定すると、試料による光散乱が前記(3)式の K_R, K_S で示されるような単なる負バックグラウンドとしての光減衰として作用するだけでなく、 K_R, K_S があるスペクトル的構造をもって測定される場合が多い。しかもその構造が分光光度計の特性(試料を含む総合的装置関数と見なされる)や試料の物理条件に支配されて変わることがしばしばある。また一方生体試料などの場合は分析測定すべき化学成分以外の複雑な成分を含んでいて、その共存成分の吸光度スペクトルが被検成分の正しい測光値をひずませる場合が多い。この難点を解決する方法として、標準試料と被検試料の分光吸光度を比較測光する複光束方式の代わりに、同一試料における異なる波長の二光束の吸光度を比較測光する方法が開発された。装置としてはフィルタ光度計のものと自記式分光光度計と二種類あるが、ここでは後者について、日立製作所の356形装置を例にとって考察する。この装置は混濁試料の分光測光という主要目的のほかに、その動作モードを切り換えると複光束分光光度計とあい補いかつ共通な能力、機能を持っている。図5は装置の測定機構の略図である。図5の(B)は二波長測光と二種類の複光

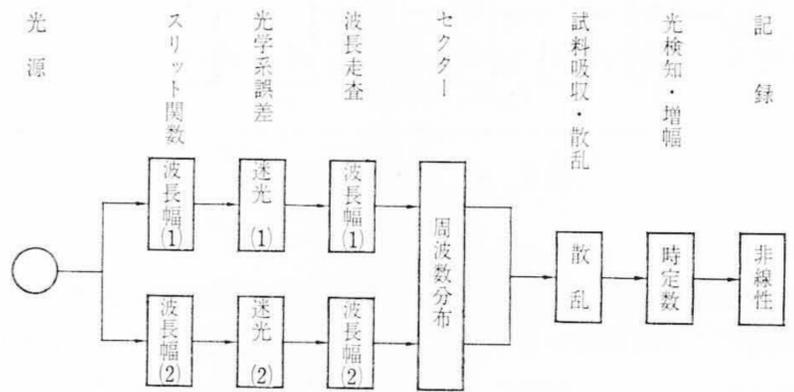


図6(A) 二波長測光

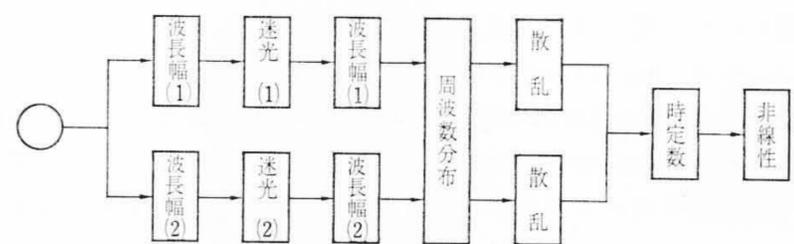
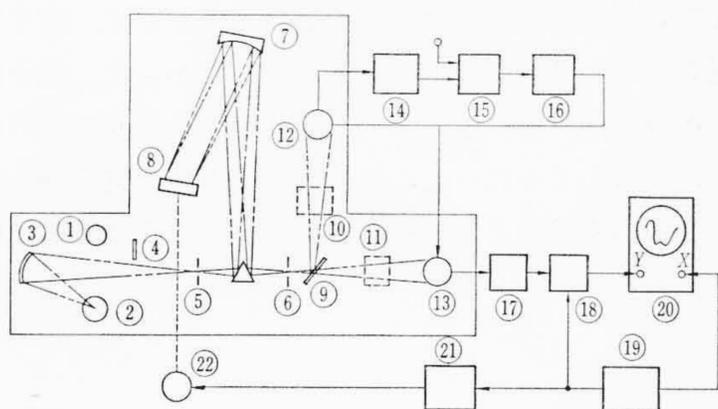


図6(B) 複光束測光

束測光の三動作モードを示している。また分光測光系の各誤差原因をそれぞれ二波長測光の場合と複光束測光の場合とに分けて示したのが図6(A),(B)である。ただし図5で示すように二つの波長の光束に対して出入射スリットは共通とみなされるが、回折格子は別々であるからそのスリット関数は区別する必要がある。

図に示すように常に(1)系列と(2)系列と二つの単色計を同時に使用しているから、二者間の分光エネルギーのマッチング、波長の正確な一致、および迷光特性のマッチングが良くなければ正確な分光測光ができない。これらの誤差原因は装置を製作する過程においてじゅうぶん取り除かねばならない。この理由で光学系や回折格子も特にマッチングの良い一對を使用する必要がある。製作過程において以上の誤差原因がじゅうぶん取り除かれ、かつ正しい光学調整および回路調整が行なわれた状態にあるとして図6の誤差系統を考察する。(1)の系列と(2)の系列の特性がじゅうぶんマッチしていれば両者の波長走査速度が等しいかぎり、この装置の装置関数は前述の124形複光束分光光度計のそれと本質的な違いがない。356形の二波長測光において(1)系列と(2)系列とを等しい速度で波長走



- | | |
|---------------|----------------------|
| ① クセノンランプ | ⑫ 標準側検知器 (ホトマル R136) |
| ② タングステンランプ | ⑬ 試料側検知器 (ホトマル R136) |
| ③ 光源ミラー | ⑭ 前置増幅器 |
| ④ カットフィルタ | ⑮ 差動増幅器 |
| ⑤ 入射スリット | ⑯ 昇圧器 |
| ⑥ 出射スリット | ⑰ 前置増幅器 |
| ⑦ コリメーティングミラー | ⑱ 100%ライン補正器 |
| ⑧ グレーティング | ⑲ 波長信号発生器 |
| ⑨ 分割ミラー | ⑳ X-Yシンクロスコープ |
| ⑩ 標準セル | ㉑ 波長駆動用増幅器 |
| ⑪ 試料セル | ㉒ 波長駆動部 |

図7 測定のシステム

査する測光は、一定波長差を保持して同時に二波長の波長走査をする微分測光の場合である。ただし(1)と(2)の系列の単色計が各波長において良い分光エネルギーのマッチングをしても、二者が互いに異なる波長位置にあるときのマッチングは必ずしも良くない。これを良くマッチさせることは困難である。したがって微分測光の場合(1)系列の光束と(2)系列の光束の波長差が大きくなるにつれて両者間のエネルギー差がスリット関数、波長走査速度と関連して分光測光の誤差を生ずることになる。特にスペクトルが微細構造をもつ場合にこの誤差が目だつことになり、スペクトル曲線をひずませる可能性が大きい。二波長測光のほかの一つの測定方法は、たとえば内部標準ともいべき一つの波長位置に(1)または(2)の単色計をセットして、他方の単色計を波長走査して試料の被検成分の吸収帯の相対的測定を行なう。この場合は試料の標準波長における吸光度の時間変化が激しくないかぎり、単光束分光光度計で自記録測光を行なった場合と本質的に変わらない誤差特性を示すはずである。

図6(B)に示す複光束測光の場合は(1)、(2)の系列の単色計を正確に同じ波長位置にセットして、同時にいっしょに波長走査を行なうからその装置関数は普通の複光束分光光度計のそれと全く同等になる。

5. ラピドスキャン分光光度計のシステム

最近試料の化学反応機構および反応度を測定するために迅速波長走査の自記分光光度計が要求されるようになった。この目的にそう装置の一例として日立製作所のRSP-2形分光光度計があげられる。この装置の波長走査時間は0.15秒(くり返し周波数3サイクル)であるからラピッドミキシングセルを用いるとかなり速い反応までその吸光度スペクトルの変化として測定・分析することができる。もちろんきわめて短時間で変化する速い反応を分析するためには特殊なくり返しサンプリングによる時間分解分光測光を必要とすることになるだろう。

この装置は化学反応の迅速分析という機能のほかに一般的吸光度スペクトル測定を行なう複光束分光光度計としてきわめて重要な役割を果たすことができる。すなわち1秒間に3回の速さで220~700 mμの波長範囲をくり返し波長走査をしてかつ再現性の良い安定し

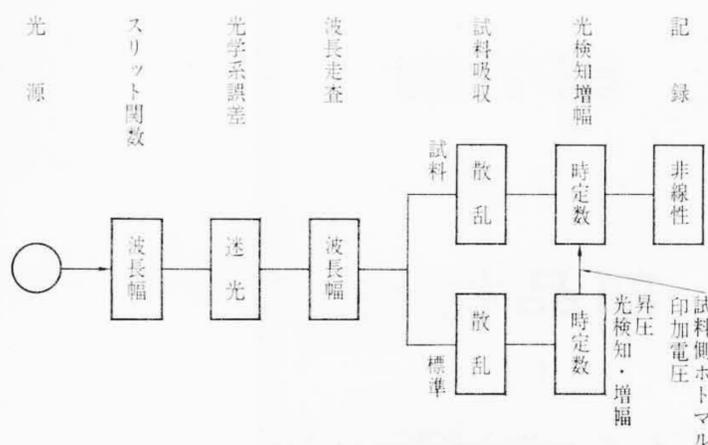


図8 誤差因子の系列

た分光測光を行なうことができる。この機能は試料の吸光度スペクトルの速い時間変化を記録・観察することを可能にするほかに、通常の自記分光光度計が1回の波長走査を行なう時間の中に100回以上のくり返し波長走査を行なってその分光測光出力信号を出すことができるので、短時間にコンピュータを併用してS/N改善を図ることが可能である。このような特質を考えに入れてこの装置の分光測光システムを考察してみる。

図7に装置のシステムを示す。図からわかるようにこの測定システムは複光束・複検知器の方式で、光束断続を行わずに、それぞれ試料セルと標準セルを通過した光束を二つの検知器で同時かつ連続に検出し、標準光束側ホトマルの出力信号を増幅し昇圧してこれを試料光束側ホトマルの印加電圧として使っている。この装置の装置関数を構成する誤差因子の系列は図8に示すとおりである。

分光測光の機構構成は一般の紫外分光光度計のそれと本質的に違うものではない。しかし波長走査速度が一般の装置の最高速査の約数百倍になっていることがこの装置の装置関数として最も重視しなければならない点である。このような高速波長走査は機械的な光束断続によって高い精度を維持することを困難にしている。そのため図に示すように二つのマッチする光電子増倍管を用いた測光系を採用している。スペクトル構造にひずみ誤差なしに高分解測定記録するためのいちばん根本的な問題は高速度波長走査と検知器増幅器の時定数との間の関係を正しくすることである。これはもちろんスリット関数と密接な関係をもっている。次に問題になるのは記録系である。ペン記録計はその時定数のため直結して使用することができない。時定数の速い陰極線オシログラフの場合は記録のほかにその非線性が測光精度を正しく表示・記録するために問題になる。ペン記録計を用いる一つの方法として波長走査のスピードサプレッションがある。一般のスピードサプレッションはサーボ系に非線性を含んでいるのでこれが誤差の原因となるが、RSP-2形装置ではガルバノメータ方式で回折格子回転を電圧で駆動しているため比較的誤差を小さくすることができる。実際の応用においては以上の誤差をある程度含んでいても、目的とする分析にじゅうぶんなスペクトル分解と測光精度をもっている。ただ高分解でスペクトルの微細構造をひずみなしに測定記録するためには多チャンネルの記憶装置に記憶させてスペクトルを再生表示する方式が最も適しているであろう。この方法はまたノイズ平均化や信号強化そのほかのスペクトルデータ処理に直接結びつくことになる。

参考文献

- (1) K. S. Seshadri and R. N. Jones: Spectrochim. Acta, 19, 1013 (1963)
- (2) 松永邦英, 南茂夫: 分光研究 14, 147 (1966)