

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 15 日現在

機関番号：82105

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2016

課題番号：26660149

研究課題名(和文)木材細胞壁を用いた単原子イメージングへの挑戦

研究課題名(英文)Atomic-level imaging in wood cell walls treated with amine-copper solution

研究代表者

松永 浩史 (Matsunaga, Hiroshi)

国立研究開発法人森林総合研究所・木材改質研究領域・主任研究員

研究者番号：80391184

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：木材細胞壁内における保存剤の分布と性状は、保存効力の善し悪しを決定づける重要な因子となるが、木材細胞壁における保存剤(特に銅)の挙動は詳細に解明されていない状況にある。本研究では、原子レベルで清浄な薄膜作製技術を確立することにより、収差補正分析電子顕微鏡による木材細胞壁中の銅の単原子イメージングに挑戦することを目的とした。その結果、へき開法で極薄膜化したへき開面を収差補正分析電子顕微鏡に供し、原子レベルで銅のイメージングを行ったところ、単原子サイズの輝点を多数捉えることが出来た。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study is to examine the atomic-level imaging of copper in cell walls of tracheid treated with amine copper preservative. FIB (Focused Ion Beam) micro processing and manual sectioning by hand using a box-knife were used to make ultra-thin sections from amine copper treated woods for electron microscopy. The sections were determined by spherical aberration-corrected HAADF-STEM (High-Angle Annular Dark-Field-Scanning Transmission Electron Microscope)-EDX (Energy Dispersive X-ray detector). The results show that manual sectioning in combination with HAADF-STEM-EDX is a powerful tool for observing the atomic-level imaging of copper in wood cell walls.

研究分野：木質科学

キーワード：イメージング 単原子 超高分解能電子顕微鏡 木材細胞壁 木材保存

1. 研究開始当初の背景

ナノテクノロジーの究極は、原子や分子を一つずつ観ながら自由に操ることにある。そのため、生体や物質に含まれる元素を、原子一つ一つの精度で分析する技術は、ナノテクノロジーが対象とする広い範囲の研究分野で待ち望まれている。このような技術は無機材料では一部達成されているものの、木本を含む植物分野では、ナノ粒子や原子を、個々に独立して検出するための試料調製法や解析技術が未だ確立されていない。その理由は、以下の3つの克服すべき技術課題が残されているためである。

それは、(1)植物組織(細胞壁)を解析プローブである電子線やX線が十分に透過し得る10nm厚程度まで薄膜化する技術、(2)薄膜化の過程で起こる試料のダメージや汚染を原子レベルで防ぐ技術、(3)原子分解能を有しつつ植物組織にダメージを与えにくい観察・分析技術、の3つである。

研究代表者らは、木材保存剤の一つであるアミン銅水溶液を含浸させた木材細胞壁中の“銅”をナノスケール解析する過程で、上記のうち(1)と(3)の技術開発を達成する成果を得たところである(挑戦的萌芽研究 課題番号24658162 研究期間2012~2013年)。

すなわち、アミン銅処理した仮道管細胞壁を、FIB(集束させたイオンビームを試料に当てて削り取る技法)を使用して無包埋のまま10nm厚の極薄膜化した切片を用い、分析電子顕微鏡の最新鋭の収差補正機能を駆使しながら、オンゲストロームオーダーで表面組成分析した。その結果、単原子群(約0.1nm径)が多数観察され、目的物質であるアミン銅由来の銅原子に加え、薄膜化の過程で導入された保護膜由来のタングステン原子も含まれていることが判明した。

この結果は、上記(1)~(3)のうち、(1)薄膜化技術と(3)観察技術は獲得出来たこと、しかし最も挑戦的な技術として、試料保護のために導入された金属原子(タングステン)の影響(汚染)を原子レベルで防ぐという(2)の課題が最後に残されたことを示している。

2. 研究の目的

アミン銅処理された木材細胞壁中の単原子銅を可視化するには、細胞壁を無包埋かつ試料汚染のない状態で、10nm厚程度に薄く出来るかが「鍵」となる。

本研究では、前回の挑戦的萌芽研究において、課題として残された保護金属原子による厄介な「霧」を取り除くことにより、最後の課題を克服し、目的とする金属原子(銅)の直接観察と分析を果たして、植物細胞壁を対象とした単原子イメージングに挑戦することを目的とする。

3. 研究の方法

(1)アミン銅処理材の作製

サザンパインの辺材部から、(20(R) ×

20(T) × 10(L)mm)の二方柱の試験片を切り出し、所定の濃度に調整したアミン銅水溶液を減圧・加圧注入した。

注入処理した試験片を直ちにパラフィルムに包み、暗所で1週間放置して養生した。養生後、パラフィルムを取り除いた試験片を気乾状態まで自然乾燥したあと、のみで4分割した。分割されたそれぞれの小試験片の放射断面をスライディングマイクロトームでおよそ1.0mm削りながら面出しして、次項で述べるFIB(Focused Ion Beam)を用いたマイクロ加工に供した。

(2)FIB法で生じるタングステン汚染の除去の検討

多孔質構造の木材から数十nm厚の薄膜を作製する際、ウルトラマイクロトーム法では困難である。そこで、結晶材料や電子デバイス等の分野で実績が積まれてきた、FIBを用いたマイクロ加工技術を用いて、図1のスキームに従い、アミン銅処理材から早材仮道管をマイクロサンプリングし、細胞壁を薄膜化した。

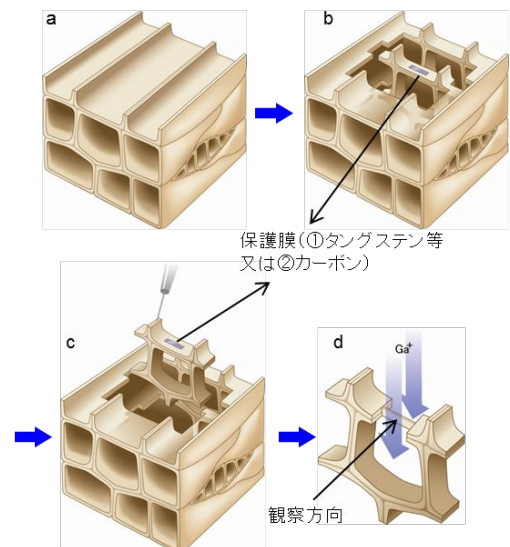


図1 FIBによるマイクロサンプリングと無包埋薄膜化の工程

図1a,bに示すように、アミン銅処理材の早材仮道管の細胞壁を対象に、FIB加工観察装置の鏡筒内で、薄膜化の対象部位に、強度保護膜を担持させた。強度保護膜は観察対象面の側面に強度保持用として施すものであるが、本研究ではこの強度保護膜を形成させるに当たり、プラチナ、カーボンおよびタングステンを付着させたものと、カーボンのみを付着させたもの、合わせて2種類の試料を用意した(図1b)。

続いて、FIB加工観察装置の鏡筒内で、40keVのガリウム集束イオンビームで約20 × 60 × 70 μmサイズの微小立方体を削り出した(図1b)。

立方体はマイクロマニピュレーターによって摘出し(図1c)電顕用支持台に固定した。支持台を含むサンプルは、さらにガリウム

μ集束イオンビームで壁厚（横断面）が～50nm になるまで薄切した（図1d）。最後に、アルゴンイオンミリングを用いて仕上げ加工をおこない、最薄 10nm の薄膜化切片を作製した。

得られた薄膜化切片は、単原子観察が可能な収差補正分析電子顕微鏡（ARM-200F）および高感度 SDD 型 X 線検出器を用いて観察・組成分析した。

なお、観察・組成分析に当たっては、タングステンの汚染状況を確認する観点から、本研究では以下の点を考慮しながら検討を行った。

まず、マイクロサンプリングしたサンプル中の対象部位を、FIB で更に薄膜化処理し（図1d）膜厚が 100 nm 厚になる程度まで荒削りしたところで、一旦加工作業を終了させた。そして、荒削りした時点の観察対象面の状態を観察した。その際、の試料ではタングステンによる試料汚染がどの程度生じているのか、に注意を払い、の試料ではカーボン保護膜の脆い性質に留意して、薄膜化がそもそも可能かどうか、そして薄膜化出来得る面積はどの程度まで許容されるか等、検討した。

続いて、アルゴンイオンミリング装置を用いた仕上げ加工においては、加速電圧 300～500 eV というマイルドなエネルギー条件下でスパッタリングしながら、荒削りされた薄膜化試料の表裏両面を少しずつ薄くしていった。表裏それぞれ 10 nm ずつ削り落とす毎に、収差補正分析電子顕微鏡（ARM-200F）および高感度 SDD 型 X 線検出器を用いて観察・組成分析した。このとき、タングステンの単原子群がどの程度減少していくのか詳細に調べ、タングステンの単原子群が完全に消失するの否かを検討した。

（3）へき開法による薄膜化処理の検討

原子レベルでの清浄な薄膜作製技術を達成するため、前項の FIB 法に加えて、シンプルで古典的な技法である「へき開法」の検討を行った。

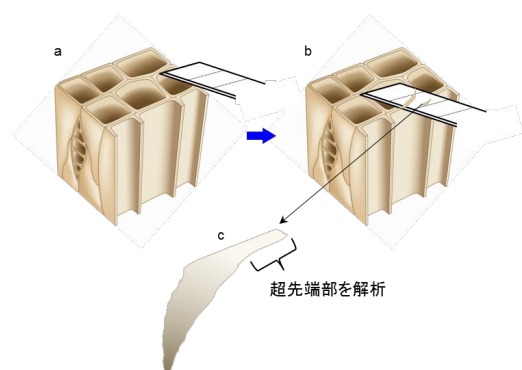


図2 へき開法による薄膜試料の作製工程

図2に示すように、アミン銅処理材の小ブロックから、鋭利なカッターで早材仮道管の

木材細胞壁を引き裂いて（図2a, b）、先端部の薄膜化したへき開面（図2c）を、収差補正分析電子顕微鏡（ARM-200F）および高感度 SDD 型 X 線検出器を用いて観察・組成分析した。

4. 研究成果

（1）FIB 法で生じるタングステン汚染の除去の検討

FIB で作製した試料のうち、保護膜としてプラチナ+カーボン+タングステンを使用したものでは、保護膜の側面にあたる観察面から本来検出されないはずのタングステンの単原子群が検出され、薄膜化過程でタングステンによる汚染が生じていることが分かった。

そこで、保護膜にタングステンを使用せず、カーボンのみで保護して作製した試料を観察したところ、タングステンの単原子群が同様に観察面を覆っていることが分かった（図3）。

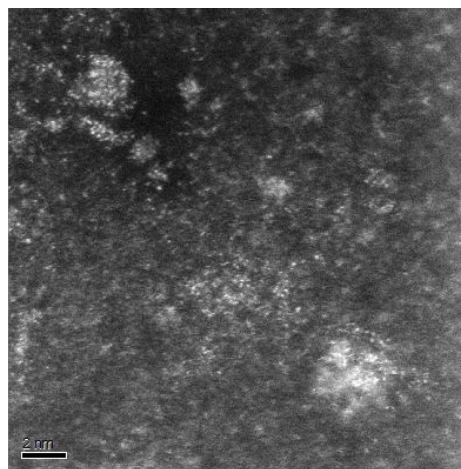


図3 カーボンのみで保護しFIB加工した薄膜化切片

これらのことから、木材の場合、FIB で作製した薄膜化切片では、FIB で薄膜化する際に削り取られたタングステンやFIB 鏡筒の雰囲気内に残留しているタングステンガスなどが保護膜側面である観察面に付着してしまうことが考えられた。

なお、これら薄膜化切片にアルゴンイオンミリングで更なる薄膜化を施して再観察したところ、タングステンの単原子群は取り除かれなかったことから、タングstenは試料内部にまで打ち込まれていることが考えられた。

（2）へき開法による薄膜化処理の検討

前項で示したように、木材の場合、FIB で作製した薄膜化切片では、タングステンによる観察面の汚染が生じる可能性が明らかになったことから、清浄な薄膜を得るために、へき開法を導入した。

すなわち、アミン銅処理材の小ブロックから、鋭利な刃物で木材細胞壁を引き裂いて、

先端部の薄膜化したへき開面を調製するため、マイクローム刃、カッター刃など各種の刃物による劈開を試み、得られたへき開片の先端部における薄膜化の状況を各種顕微鏡等を用いて比較した。その結果、良好なへき開が達成できる条件が明らかになった。

アミン銅処理された木材細胞壁の薄膜化がへき開法の導入により可能になったことから、これら薄膜化したへき開面を収差補正分析電子顕微鏡に供し、原子レベルで銅のイメージングをおこなったところ、単原子サイズの輝点を多数捉えることが出来た。

5．主な発表論文等

なし

6．研究組織

(1)研究代表者

松永 浩史 (MATSUNAGA, Hiroshi)

国立研究開発法人森林総合研究所・木材改質研究領域・主任研究員

研究者番号：80391184

(2)研究分担者

片岡 厚 (KATAOKA, Yutaka)

国立研究開発法人森林総合研究所・木材改質研究領域・室長

研究者番号：80353639

(3)研究分担者

波多 聡 (HATA, Satoshi)

九州大学・総合理工学研究科・教授

研究者番号：60264107