

粘土鉱物IMOGOLITEの走査型電子顕微鏡試料の作成法

野 一色 泰 晴

(岡山大学温泉研究所リハビリテーション医学部門)

田 崎 和 江

(岡山大学温泉研究所温泉地質学部門)

(1974年12月31日受付)

I はじめに

走査型電子顕微鏡は、今日では、非常に広い分野において利用されており、試料処理の方法が適切であれば、さらに広く利用される可能性をもっている。そして、個々の分野において、それぞれ試料処理に工夫がなされているので、これをお互いに応用しあえば好都合である。

筆者等は、生物軟組織の試料処理方法を改良して、脱水乾燥時にかなりの収縮現象がみられる粘土鉱物(イモゴライト)に応用し、好結果を得たので報告する。

II 方 法

試料の一例として鳥取県倉吉市秋喜に堆積している大山降下火山灰土の一つである倉吉浮石層中の粘土鉱物、イモゴライト(imogolite)を用いた。この試料の化学組成や特徴は、田崎(1971)に報告されている。イモゴライトは、透明～褐色をおびたゲル状被膜で、空气中に放置すると乾燥収縮するため、水分を含んだ状態に近い形態を保つことは困難であった。これを実験するため、下記の方法により処理をおこなう。

- ① 試料採集(土壌試料中からイモゴライトのみを選別する)。
- ② 蒸留水で洗浄(場合によっては超音波洗浄)。
- ③ OsO_4 で処理(OsO_4 が強い酸化剤でもあるため、試料によっては、この処理をはぶいてもよい)。
- ④ エチルアルコールで脱水。
- ⑤ 臨界点乾燥法により乾燥。
- ⑥ カーボン、金パラジウムを蒸着。

III 結 果

前記の方法で処理したイモゴライトの試料について、走査型電子顕微鏡(日本電子KK製JSM-50A、加

速電圧25 kV)で観察した結果を、図版II-C、Dに示す。対照として、自然乾燥した後、カーボンおよび金パラジウムで蒸着した結果の場合を、図版I-A、Bに示す。

自然乾燥試料は、全体に収縮がいちじるしく、多くのシワがみとめられ、溝の部分(Aの矢印)にのみ、わずかに繊維物質が存在する。溝の部分を高倍率で観察すると、約500Åの中をもつ直線的繊維がみとめられる(図版I-B)。

前記の臨界点乾燥試料は、全体がなめらかで、自然乾燥にみられたようなシワはない。また表面には、網を張りめぐらしたような繊維が多く存在する(図版II-C)繊維状の部分を高倍率で観察すると、曲線的な網目が、何重にもつみ重なりながら、からみあっている。1本の繊維の直径は、280Å~560Åで、縦横に連絡しあっている(図版II-D)。連絡部は、コブのようにもり上っている場合もみとめられる(図版III-E)。臨界点乾燥試料は、自然乾燥試料にくらべ、全体がやわらかい感じで、繊維が浮き立ち、立体的である。

IV 考 察

初期の走査型電子顕微鏡は、1930年代の中頃、KNOLLにより製作され、1940年代の後半に、MC-MMULLANはケンブリッジ大学でさらに改良された走査型電子顕微鏡を製作した。最初の市販の走査型電子顕微鏡は、このケンブリッジの設計から発展したもので、原型は、1963年に完成した。それ以後今日まで、そのもつ高解像力、深い焦点深度、試料を薄くする必要がないこと、幅広い倍率範囲をそなえ同時に倍率変換が容易なこと等の長所を生かして広く利用されてきた。

最初は、もっぱら金属をはじめとし、鉱物試料に用いられ、生物試料では、主として硬組織の研究(STEWART & BOYDE, 1962; BOYDE & STEW-

ART, 1963 ; CHATTERJI & JEFFERY, 1968) に利用されてきた。その後、生物軟組織に対する試料処理方法 (BARBER & BOYDE, 1968 ; FUJITA *et al.*, 1968 ; 徳永他, 1969) が工夫されるにいたり、生物分野で爆発的に研究報告がなされた。ことに、ANDERSON (1951, 1956) の考案による臨界点乾燥法の開発と、わが国では、高野他 (1974) や 榎木他 (1973), 榎木・田中 (1974) による、この方法の実用化があげられる。臨界点乾燥法は、乾燥時の残留液体の表面張力による試料の変形を防ぐことができ、今日では生物試料、ことに軟組織においては、この乾燥法を応用しなければ、議論の対象となりえない現状である。最近では、植物試料においても、この乾燥法が応用され、好結果が報告されている (山田・長沢, 1973)。

一方、走査型電子顕微鏡を最初に利用した金属および鉱物や生物硬組織においては、この工夫の必要性は少なかった。

粘土鉱物分野においては、透過型電子顕微鏡的研究は非常に多いが、走査型電子顕微鏡的研究の報告例は、あまり多くなく、試料処理に対する配慮もなされていないように思われる。BOHOR & HUGHES (1971) は、*spray-drying* や *over-drying* により試料を乾燥させ、カオリン鉱物等を観察している。ESWARAN (1971) は、イモゴライトの走査型電子顕微鏡による微形態を報告しているが、*air-dried* 試料を用いているようで、筆者等が比較のためにおこなった自然乾燥試料のイモゴライトの形態とよく似た直線的繊維が報告されている。なお、ESWARAN (1971) の報告にある球状形態は、筆者等の試料中には、みとめられなかった。

筆者等は、生物軟組織試料に臨界点乾燥処理が非常にすぐれていることに注目し、これを、とくに水を多くふくんでいるイモゴライトに応用し、生物軟組織試料と同様の好結果をえた。臨界点乾燥法により、イモゴライトには、約 50°C の温度と、約 100 気圧の圧力が加わるがこの温度、圧力による試料の破壊や変質はみとめられない。すなわち、臨界点乾燥 (43°C, 95 気圧) 後の試料を粉末にし、X線回折をした結果、約 14 Å (約 6°) にイモゴライト特有のブロードな反射がみとめられ、二次的生成物や、反射の移動は、みとめられなかった。

今後、イモゴライトのような、多量に水をふくんだ粘土鉱物には、この臨界点乾燥処理を適用することがのぞましいと考える。

V おわりに

生物軟組織の試料処理方法を応用して、粘土鉱物試料に対する試料処理方法をおこなったので報告した。

この方法は、粘土鉱物試料処理に欠かせないものと考えられるばかりでなく、この利用により、粘土鉱物に対する走査型電子顕微鏡的研究は、飛躍的に進むものと期待される。

臨界点乾燥装置の作成において、鳥取大学医学部田中敬一教授、大阪大学基礎工学部田中健一氏、岡山大学温泉研究所伊藤英司氏に多大のご協力をいただいたことに対して深謝の意を表します。

文 献

- ANDERSON, T.F. (1951). Techniques for the preservation of three dimensional structure in preparing specimens for the electron microscope. *Trans, N.Y. Acad. Sci.Ser. II.13*, 130.
- ANDERSON, T.F. (1956). Microscopy of microorganism. *In: Physical Techniques in Biological Research*. Academic Press Inc. New York, 178.
- BOYDE, A. & STEWART, A.D.G. (1963). Scanning electron microscopy of the surface. *Nature*, 198, 1102-1103.
- BOHOR, B.F. & HUGHES, R.E. (1971). Scanning electron microscopy of clays and clay minerals. *Clay and Minerals*, 19, 49-54.
- CHATTERJI, S. & JEFFERY, J.W. (1968). Changes in structure of human bone with age. *Nature*, 219, 482-484.
- ESWARAN, H. (1972). Morphology of allophane, imogolite and halloysite. *Clay Minerals*, 9, 281-285.

- FUJITA, T., INOUE, H. and KODAMA, T. (1968). Scanning electron microscopy of the normal and rheumatoid synovial membranes. *Arch. Histol. Jap.* 29, 511.
- 榎木勇・田中正明・浜田寧 (1973). 走査電子顕微鏡用試料のための臨界点乾燥法の意義. 産婦進歩 25 (2), 147-153.
- 榎木勇・田中敬一 (1974). 電子顕微鏡技術講座 No. 4 日本電子顕微鏡学会関西支部, 1-21.
- 紀本静雄 (1968). 走査電子顕微鏡. 自然, 23, 59-64.
- STEWART, A.D.G. & BOYDE, A. (1962). Ion etching of dental tissue in scanning electron microscope. *Nature*, 196, 81-82.
- 高野行夫・幡場良明・長谷川与一 (1974). 臨界点乾燥法. 細胞, 6, [3], 81-87.
- 田崎和江 (1971). 大山降下堆積物および三瓶山降下堆積物中の粘土鉱物その2, とくにイモゴライトについて. 地質雑, 77, [7], 407-414.
- 徳永純一・藤田恒夫・井上一 (1969). 走査電子鏡の医学への応用 — その現況と将来への展望. 医学のあゆみ, 68, [11], 485-491.
- 山田義男・長沢允子 (1973). 走査電子顕微鏡的研究における植物組織の臨界点乾燥法. 細胞, 5, [10], 25-29.

APPLICATIONS OF CRITICAL POINT DRYING FOR SCANNING ELECTRON MICROSCOPIC STUDY OF CLAY MINERALS

by Yashuharu NOISHIKI
and Kazue TAZAKI

Division of Rehabilitation Medicine and Division of Geology, Institute for Thermal Spring Research, Okayama University

Abstract

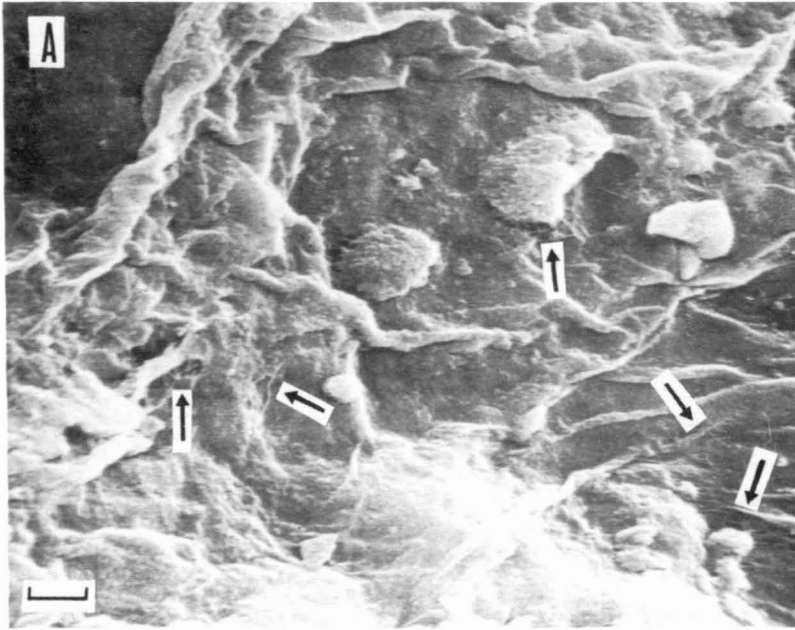
The scanning electron microscopic studies of the clay minerals

have usually been made on air-dried samples. The air-drying method is, however, not always preferable for H₂O rich clay minerals such as imogolite because of their strong contraction in the dehydration process. The present writers examined the critical point drying for H₂O rich clay mineral (imogolite) and proved that this drying method is excellent in preservation of natural surface of the minerals than that of air-drying.

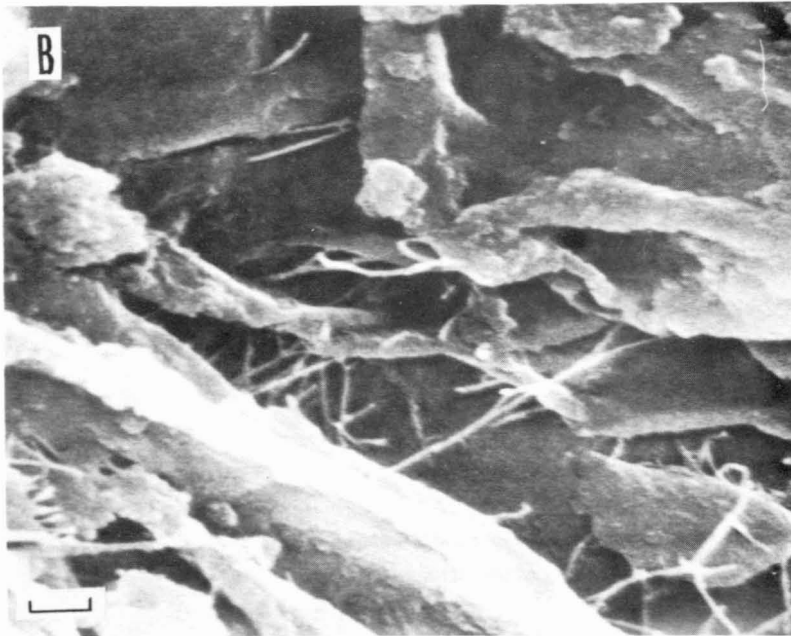
Imogolite which examined was separated from Kurayoshi pumice beds. The samples were treated first with OsO₄ solution and then were dehydrated progressively with ethanol. After completing above treatments, the imogolites which sealed in vessel were dried successively at critical point of CO₂. The samples were mounted onto brass stubs and coated first with carbon and then with Au-Pd alloy. The Japan Electron Optics Laboratory Co. scanning electron microscope Model JSM-50A which was installed in the Division of Rehabilitation Medicine in the present Institute was used at the operating conditions: accelerating voltage 25kV, magnifications ranging from 3000 to 40000. The scanning electron micrographs of the air-dried imogolite are shown in plate I, and crytical point dried ones are in plate II and III.

The former shows twig-like shape which indicated the effect of contractility, whereas the latter exhibits softly curled and entangled threads.

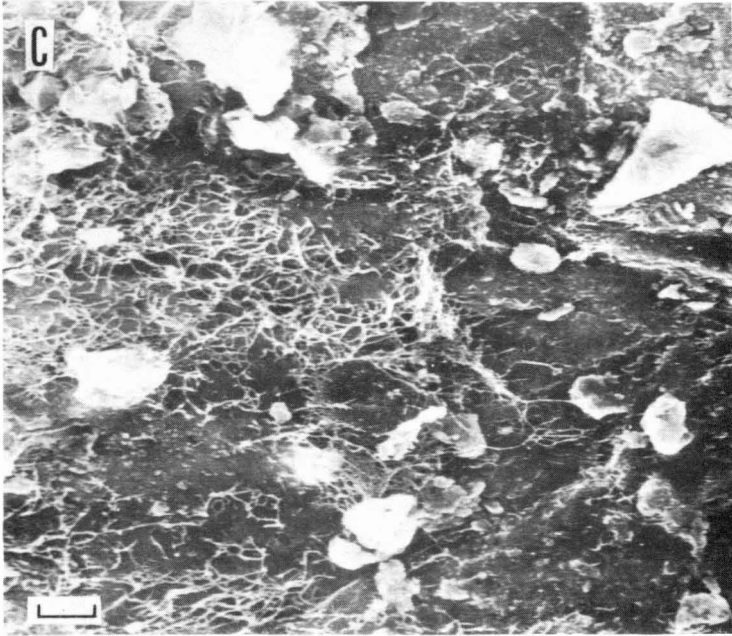
The diameter of these threads ranges from 280Å to 560Å.



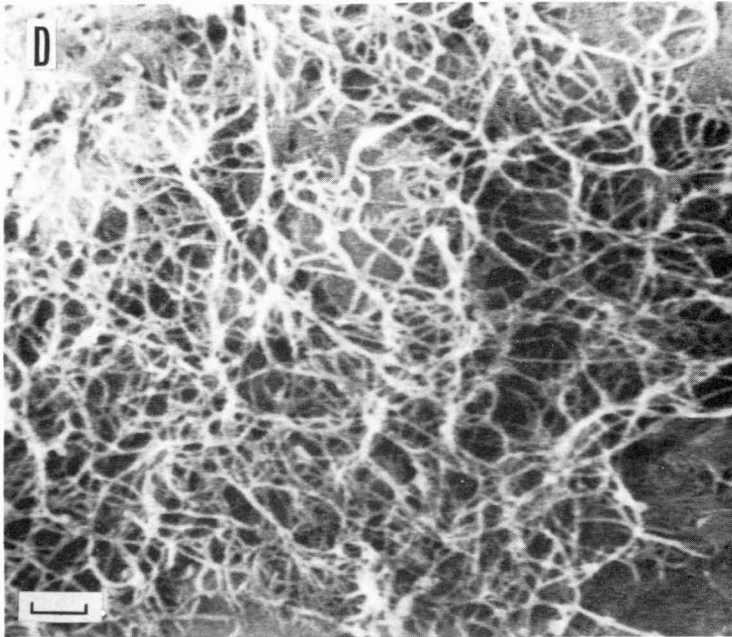
図版 I-A 自然乾燥のイモゴライト
スケールは、 2.8μ 。 矢印は繊維状物質。



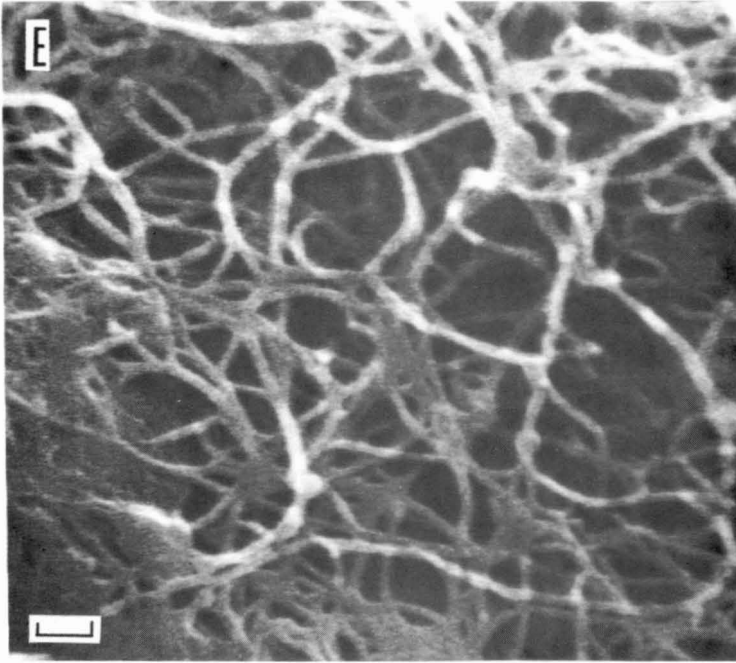
図版 I-B 自然乾燥のイモゴライト スケールは 0.8μ



図版 II - C 臨界点乾燥のイモゴライト スケールは 2.8μ .



図版 II - D 臨界点乾燥のイモゴライト スケールは 0.8μ .



図版 III-E 臨界点乾燥のイモゴライト スケールは、 $0.26\ \mu$.