

を4時間二酸化炭素暴露した試料断面のSEM像



図1e 1MPaで成形した水酸化カルシウム圧粉体を72時間二酸化炭素暴露した試料表面のSEM像



図1f 1MPaで成形した水酸化カルシウム圧粉体を72時間二酸化炭素暴露した試料断面のSEM像

図2は水酸化カルシウムの成形圧（1－5 MPa）が試料の形態に及ぼす結果を調べた結果である。成形圧が増大するに従い、気孔が少なく、かつ、小さくなっていることがわかる。



図2a 1MPaで成形した水酸化カルシウム圧粉体を72時間二酸化炭素暴露した試料断面のSEM像（図1dと同じ）



図2b 2MPaで成形した水酸化カルシウム圧粉体を72時間二酸化炭素暴露した試料断面のSEM像



図2c 3MPaで成形した水酸化カルシウム圧粉体を72時間二酸化炭素暴露した試料断面のSEM像

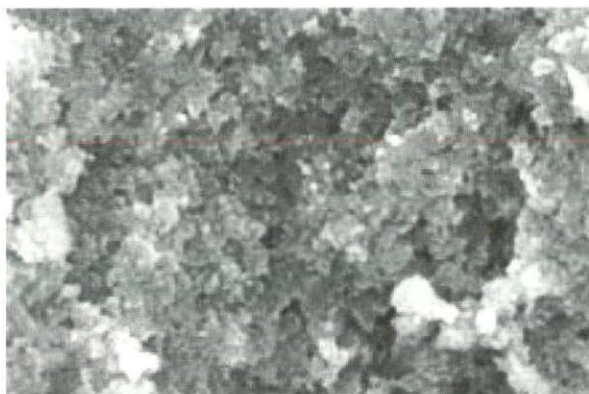


図2d 5MPaで成形した水酸化カルシウム圧粉体を72時間二酸化炭素暴露した試料断面のSEM像

表1は水酸化カルシウムの成形圧が試料の気孔率に及ぼす影響を検討した結果である。成形圧の増大に伴い、気孔率が低下することがわかった。

表1 成形圧が試料の気孔率に及ぼす影響	
成形圧 (MPa)	気孔率 (%)
1	48.1±1.0
2	42.2±0.6
3	41.5±1.6
5	36.8±0.4

図3は2 MPa の成形圧で圧粉した試料を二酸化炭素に72時間まで暴露した時の組成変化を粉末X線回折装置にて解析した結果をまとめたものである。SEM レベルでの著名な結晶形態の変化は認められなかったが、水酸化カルシウムが炭酸カルシウムに直接的に組成変換されていることがわかる。炭酸カルシウムの変態は炭酸カルシウムの中で最も安定相であるカルサイトであることもわかった。

カルサイトの粉末X線回折ピークは薬品として市販されているカルサイトと比較してブロードであった。すなわち、水酸化カルシウム圧粉体の二酸化炭素暴露により形成されたカルサイトは結晶子が小さいことを示す。市販のカルサイトの結晶子は834 nm であり、水酸化カルシウムの二酸化炭素暴露で調整されたカルサイトの結晶子は262–306 nm であった。

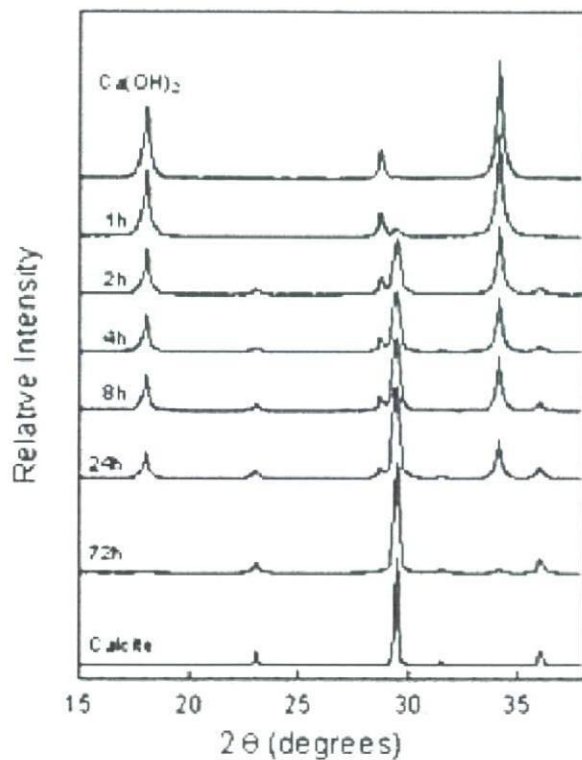


図3 2 MPa の成形圧で圧粉した水酸化カルシウム圧粉体を二酸化炭素に暴露した試料の粉末X線回折パターン

図4は異なる成形圧で調整した水酸化カルシウム圧粉体を二酸化炭素に暴露した試料の組成変化を速度論的に解析する目的で水酸化カルシウムとカルサイトの定量を行った結果である。図4に示すように水酸化カルシウムから炭酸カルシウムへの組成変換反応は二段階で起きていることがわか

る。第一段階では急速な反応が進行し、2–4時間で約50%のカルサイトが生成される。第二段階の反応は第一段階と比較して著しく速度が遅い。そのため反応終了に要する時間は成形圧に大きな影響を受けることなく一定であった。

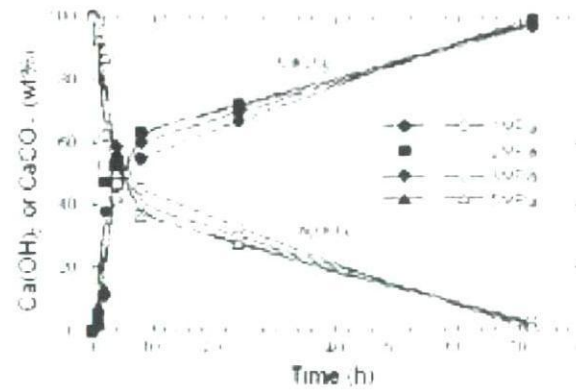


図4 1–5 MPa の成形圧で圧粉した水酸化カルシウム圧粉体を二酸化炭素に暴露した試料の組成変化

この二段階反応はカルサイトの形成量を反応時間の平方に対してプロットすると、より明らかになる。2–4時間から72時間にかけて、カルサイトの形成反応が反応時間の平方根に対して直線的に増大していることがわかった。このことから第二段階の炭酸化は結晶内における炭酸イオンの拡散律速に依存していることが推察された。

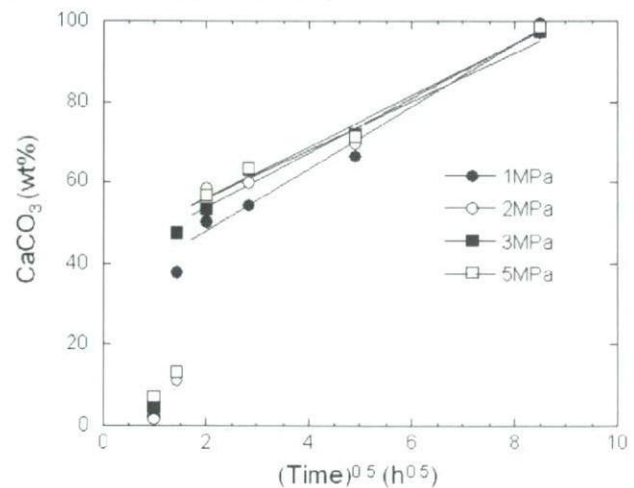


図5 1–5 MPa の成形圧で圧粉した水酸化カルシウム圧粉体を二酸化炭素に暴露した試料の組成と反応時間の平方の関係

図6は成形圧が1–5 MPa の場合における試料の間接引張強さを指標に二酸化炭素暴露時間に対してプロットしたものである。成形圧に関わらず24

時間までは機械的強さが増大し、その後はほぼ一定であることがわかる。一方、成形圧に関しては、成形圧が大きいほど機械的強さの大きい試料が得られることがわかった。表1および図6の結果から判断して、気孔率の小ささが機械的強さ発現に寄与していると推察できる。

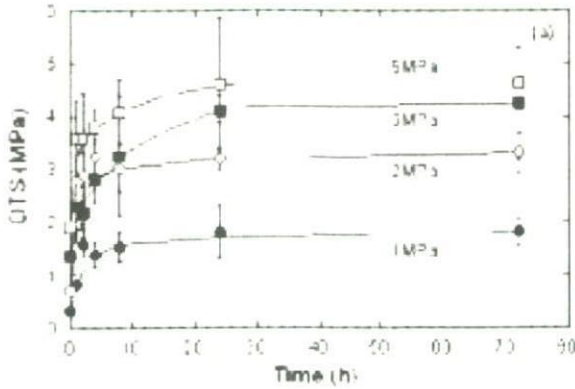


図6 水酸化カルシウム圧粉体の間接引張強さに及ぼす二酸化炭素暴露時間の影響。

2段階反応におけるカルサイト形成と試料の機械的強さの関係を理解する際に試料の間接引張強さを炭酸カルシウム(カルサイト)形成量に対してプロットした図7は有用である。図7においては反応が2段階に分かれることが明瞭にわかる。第一段階においては約10%の炭酸カルシウム(カルサイト)の形成に伴い急激に機械的強さが発現される。急激な機械的強さの発現以降は炭酸カルシウム形成量が50%になるまで炭酸カルシウムが形成されても機械的強さの増大は認められない。第二段階においてはもう一度機械的強さの増大が観察される。絶対的な機械的強さは水酸化カルシウムの成形圧に依存するが、2段階反応の進み方や時間的な要素に関しては成形圧に関わらず同様な挙動を示した。

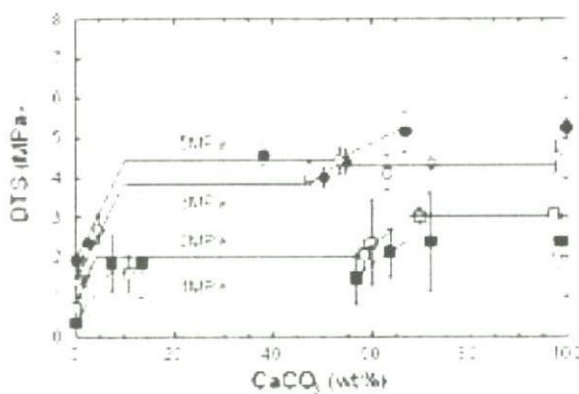


図7 炭酸カルシウム形成量と試料の機械的強さ(間接引張強さ)の関係。

II ナノ結晶子炭酸アパタイトブロックの調製に関して

炭酸カルシウムブロックを1 mol/L (NH₄)₂HPO₄水および1 mol/L (NH₄)H₂PO₄水溶液に60℃、14日間浸漬しても巨視的な形態変化は認められなかった。

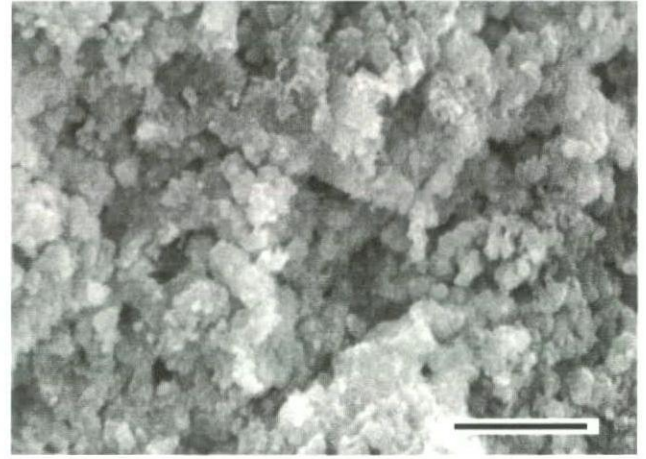


図7 a 成型圧2MPaで調製した水酸化カルシウム圧粉体に72時間二酸化炭素を暴露して調製した炭酸カルシウムブロックのSEM像。バーは5 μm

巨視的な形態変化が見られないことは所望の形態のナノ炭酸アパタイトブロックを調製するために好ましい。一方、詳細な反応機構を解明するために、SEMによって試料の超微細構造を探索した。

図7aは成型圧2MPaで調製した水酸化カルシウム圧粉体に72時間二酸化炭素を暴露して調製した炭酸カルシウムブロックのSEM像であり、図1b~図1dは60℃で1 mol/L (NH₄)H₂PO₄水溶液に1, 7, 14日間炭酸カルシウムブロックを浸漬した後のSEM像である。図7aと図7c-dでは顕著な差が認められる。すなわち、図7c-dでは析出物と見られる結晶構造が確認される。巨視的には形態変化が認められな

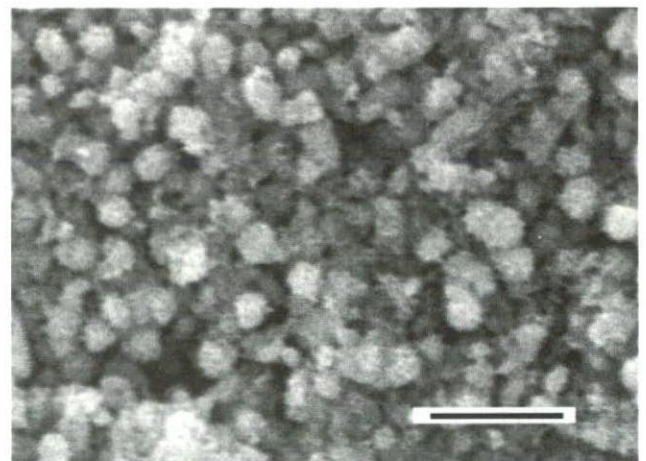


図 7 b 炭酸カルシウムブロックを 1 mol/L $(\text{NH}_4)_2\text{H}_2\text{PO}_4$ 水溶液に 60°C で 1 日間浸漬した後の試料の SEM 像。バーは 5 μm

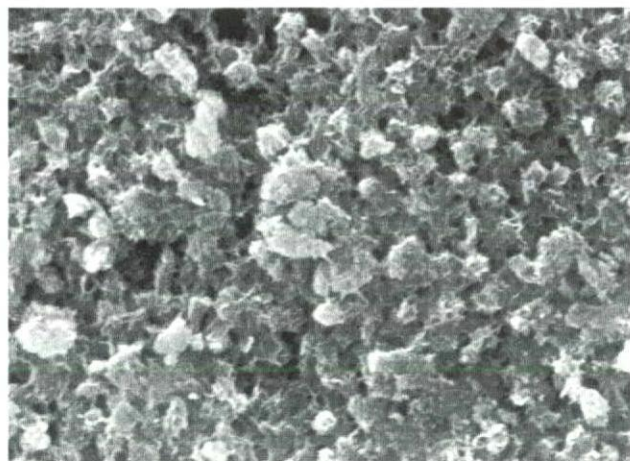


図 7 c 炭酸カルシウムブロックを 1 mol/L $(\text{NH}_4)_2\text{H}_2\text{PO}_4$ 水溶液に 60°C で 7 日間浸漬した後の試料の SEM 像。バーは 5 μm

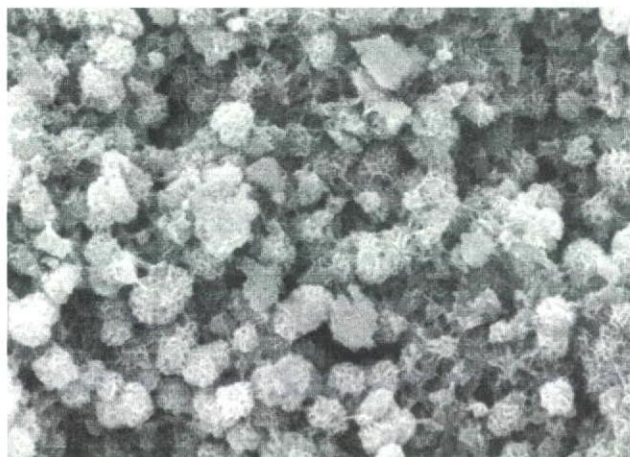


図 7 d 炭酸カルシウムブロックを 1 mol/L $(\text{NH}_4)_2\text{H}_2\text{PO}_4$ 水溶液に 60°C で 14 日間浸漬した後の試料の SEM 像。バーは 5 μm

かったが析出反応が進行していることが確認された。

図 8 は炭酸カルシウムブロックを 60°C で 1 mol/L $(\text{NH}_4)_2\text{H}_2\text{PO}_4$ 水溶液に浸漬した場合の試料の粉末 X 線回折パターンである。リン酸二水素アンモニウム水溶液への浸漬に伴い当初は急激に炭酸カルシウムに対応するピークが減少し、アパタイト構造に起因するピークが出現していることがわかる。反応は経時的に進行し、ほぼ 14 日間で完了することもわかった。

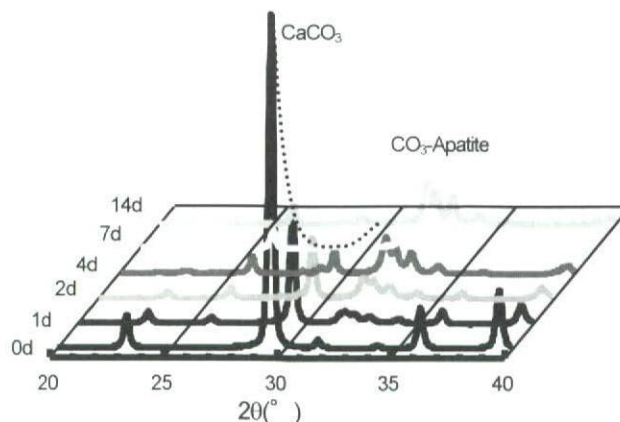


図 8 ナノ結晶子炭酸カルシウムブロックを 60°C で 1 mol/L $(\text{NH}_4)_2\text{H}_2\text{PO}_4$ 水溶液に浸漬した場合の試料の粉末 X 線回折パターン。

粉末 X 線回折パターンによって結晶構造がアパタイトであることは確認できたが、アパタイトの種類は正確さを欠く。そのため、次にフーリエ変換分光光度計による試料の分析を行った。

得られたフーリエ変換赤外分光スペクトルを図 9 に示す。いずれのリン酸アンモニウム水溶液で処理した場合も骨アパタイトと同じリン酸基の一部が炭酸基に置換している B 型炭酸アパタイトに特徴的な吸収スペクトルが観察され、粉末 X 線回折パターンによる解析結果とあわせて炭酸カルシウムをリン酸化することによって、骨アパタイトと同じナノ結晶子 B 型炭酸アパタイトが調製できることがわかった。

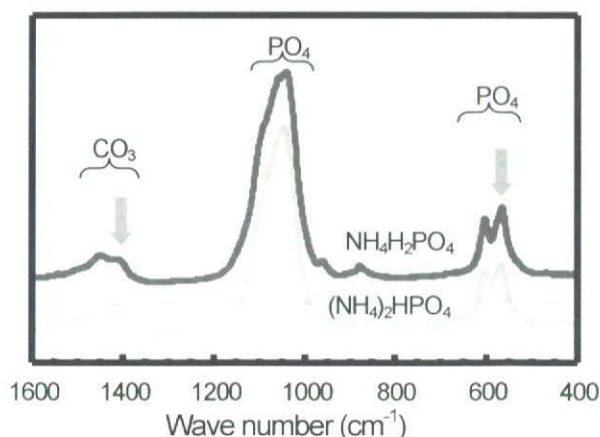


図 9 ナノ結晶子炭酸カルシウムブロックを 60°C で 1 mol/L $(\text{NH}_4)_2\text{H}_2\text{PO}_4$ 水溶液および 1 mol/L $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 水溶液に浸漬した場合の試料のフーリエ変換赤外分光スペクトル

次に、ナノ結晶子炭酸アパタイトにおける炭酸基含有量の測定を行った。炭酸基含有量の測定は CHN

コーダーにて炭素量を計測し、炭酸基量として析出した。結果を表2に示す。ヒト骨の組成であるナノ結晶子炭酸アパタイトの炭酸基含有量は6-9%程度であることが知られており、本研究において調製されたナノ結晶子炭酸アパタイトもほぼ同様の炭酸基含有量を示すことから炭酸カルシウムの溶解析出反応によってきわめて骨と類似性の高いナノ結晶子炭酸アパタイトが調製できることがわかった。

表2 炭酸カルシウムのリン酸化によって調製されたナノ結晶子炭酸アパタイトに含有される炭酸基量

リン酸塩の種類	炭酸基量 (%)
$(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$	9.4%
$(\text{NH}_4)\text{H}_2\text{PO}_4$	7.8%

図10に調製したナノ結晶子炭酸アパタイトの機械的強さを間接引張強さ(DTS)を指標としてまとめた。リン酸塩水溶液への浸漬時間の増大、すなわちナノ結晶子炭酸アパタイトの形成に伴い試料の機械的強さが増大していることがわかった。リン酸二水素アンモニウムで処理した試料の方がリン酸水素二アンモニウムで処理した試料より大きい機械的強さを示すこともわかった。

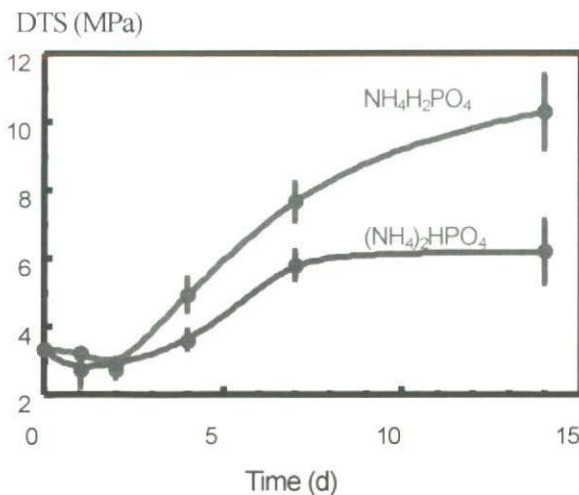


図10 2MPaで成形した水酸化カルシウム圧粉体から調整した炭酸カルシウムブロックを60℃で1mol/Lの $(\text{NH}_4)\text{H}_2\text{PO}_4$ 水溶液および1mol/L $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 水溶液に浸漬した試料の間接引張強さの経時変化

III ナノ結晶子炭酸アパタイトブロックの破骨細胞

に対する挙動について

図11aは対照試料である水酸アパタイト焼結体上で破骨細胞を培養した場合のSEM像である。破骨細胞は水酸アパタイト焼結体表面に接着していることがわかるが、破骨細胞性吸収窩は認められない。すなわち、破骨細胞は水酸アパタイト焼結体を吸収できないことがわかる。水酸アパタイト焼結体は骨欠損部にインプラントした場合、リモデリングを受けることなく、生体内において安定に存在することが知られているが、この臨床的知見が細胞レベルの実験でも説明できることとなる。

一方、図11bはナノ結晶子炭酸アパタイトの試料上で破骨細胞を培養した場合のSEM像である。図5aと異なり破骨細胞がナノ結晶子炭酸アパタイトを吸収していることがわかる。破骨細胞による吸収を受けることから生体においてもリモデリングプロセスによって骨に置換される可能性が高いことが予測された。



図11a 対照試料である水酸アパタイト焼結体上で破骨細胞を4日間培養した場合の試料表面のSEM像。

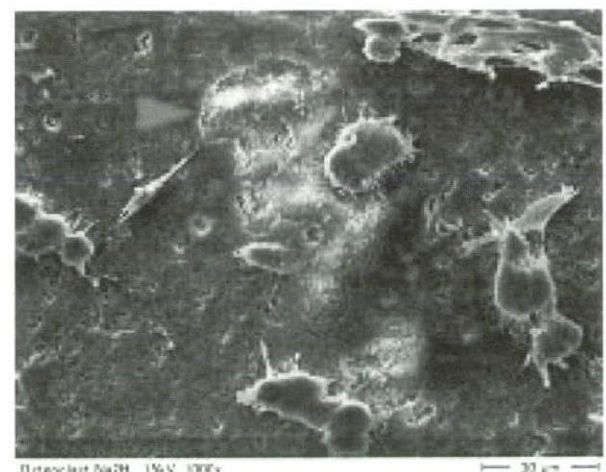


図1 1b ナノ結晶子炭酸アパタイトの試料上で破骨細胞を4日間培養した場合の試料表面のSEM像。矢印は破骨細胞性吸収

IV ナノ結晶子炭酸アパタイト顆粒の骨置換性について

ラット頭蓋骨に調製した骨欠損を水酸アパタイト焼結体顆粒およびナノ結晶子炭酸アパタイト顆粒によって再建した場合、いずれも炎症所見を惹起させないことがわかった。2週目および4週目の病理組織像からも著名な炎症所見は認められず、いずれも優れた組織反応を示すことがわかった。また、埋入4週目の時点で、水酸アパタイト焼結体顆粒およびナノ結晶子炭酸アパタイト顆粒の表面にはいずれも骨が新生されており、いずれも骨伝導性を示すことがわかった。水酸アパタイト焼結体顆粒は埋入時の形態のまままで吸収所見は認められなかった。

図1 2a は12週目の病理組織像である。埋入したナノ結晶子炭酸アパタイト顆粒の一部は新生骨に取り囲まれているが、大部分が骨に置換されていることがわかる。一方、対照として用いた水酸アパタイト焼結体顆粒(図1 2b)の場合は、顆粒の形態および量が埋入した時と同じであり、骨への置換が行われないことがわかる。

ナノ結晶子炭酸アパタイト顆粒は顆粒の直径計算で約30-40%まで吸収されていることがわかった。



図1 2a ナノ結晶子炭酸アパタイト顆粒でラット頭蓋骨に調製した骨欠損を再建した場合の12週目の病理組織像

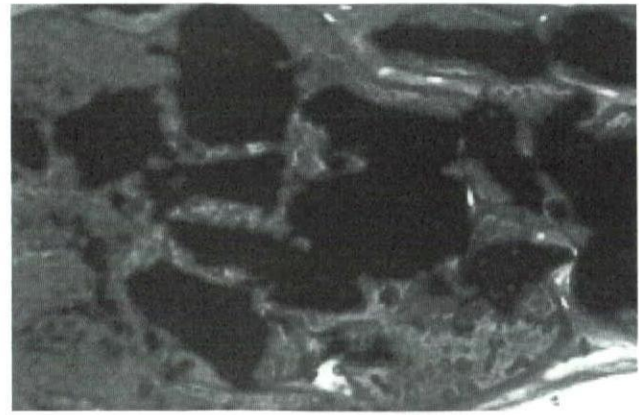


図1 2b 水酸アパタイト焼結体顆粒でラット頭蓋骨に調製した骨欠損を再建した場合の12週目の病理組織像

D. 考察

本研究では水酸化カルシウム圧粉体を二酸化炭素に暴露することによってナノ結晶子炭酸カルシウムブロックを調製し、ナノ結晶子炭酸カルシウムをリン酸塩水溶液に浸漬することによってナノ結晶子炭酸アパタイトを調製した。また、得られたナノ結晶子炭酸アパタイトの挙動を破骨細胞様細胞および実験動物を用いて検討した。

ナノ結晶子炭酸カルシウムとナノ結晶子炭酸アパタイトに共通の事項はナノ結晶子に起因する高い反応性である。ナノ結晶子炭酸アパタイトはナノ結晶子炭酸カルシウムの溶解-析出反応によって調製できるが、市販の炭酸カルシウムの場合には、比表面積が極めて大きい粉末の場合でも完全には炭酸アパタイトにならなかった。ナノ結晶子に起因する高反応性は熱力学的安定性の差異を用いた組成変換に極めて重要であると考えられる。

ナノ結晶子炭酸カルシウムはナノ結晶子炭酸アパタイトの調製には最適な前駆体であるといえる。二酸化炭素環境下ではナノ結晶子炭酸カルシウムは熱力学的最安定相であるが、リン酸塩水溶液中ではナノ結晶子炭酸カルシウムは熱力学的不安定相となる。そのため、炭酸カルシウム成分がリン酸塩水溶液中に溶解し、 Ca^{2+} と CO_3^{2-} が提供されるが、 PO_4^{3-} が共存すると当該溶液は炭酸アパタイトに対して過飽和となり、ナノ結晶子炭酸アパタイトとして析出する。

一方、水酸アパタイト焼結体が破骨細胞によって吸収されず、ナノ結晶子炭酸アパタイトが破骨細胞

によって吸収されたことは二要因の複合効果であると思われる。破骨細胞はハウシッポ窩で弱酸環境を形成し、アパタイトを溶解する。結晶子のナノ化および炭酸含有量の増大はいずれも溶解速度の増大に関与する因子であり、両者の総合効果によってナノ結晶子炭酸アパタイトは破骨細胞によって吸収されたと考えられる。

破骨細胞による吸収は骨への置換にとって極めて有用な性質である。骨はリモデリングされるが、骨リモデリングに関与している細胞は骨芽細胞と破骨細胞であり、破骨細胞が骨を吸収し、骨芽細胞が新しい骨を形成する。骨芽細胞による骨形成プロセスに関してはアパタイトが骨伝導性を示すことから水酸アパタイトに対しても炭酸アパタイトに対しても問題なく進行すると考えられる。一方、骨芽細胞による骨形成プロセスと対局をなす破骨細胞による吸収プロセスは水酸アパタイト焼結体とナノ結晶子炭酸アパタイトで全く挙動が異なる。すなわち、水酸アパタイトは破骨細胞によって吸収されない。したがって、水酸アパタイト焼結体は原理的にリモデリングプロセスが進行されない。一方、破骨細胞によって吸収されるナノ結晶子炭酸アパタイトブロックはリモデリングプロセスによって骨と置換されると考えられる。

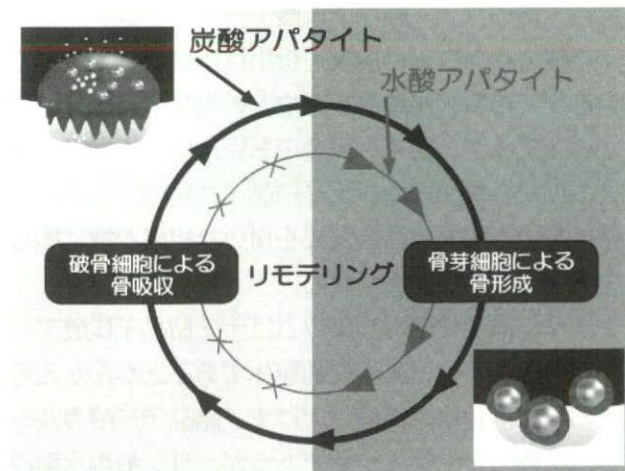


図1.3 骨リモデリングの概念図

E. 結論

水酸カルシウム圧粉体を二酸化炭素に暴露することによって調製したナノ結晶子炭酸カルシウムをリン酸塩水溶液に浸漬し、ナノ結晶子炭酸カルシウムを調製した。ナノ結晶子炭酸アパタイトは破骨細胞によって吸収され骨に置換する材料であることがわかった。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Shigeki Matsuya, Xin Lin, Koh-ichi Udoh, Masaharu Nakagawa, Ryoji Shimogoryo, Yoshihiro Terada, Kunio Ishikawa: Fabrication of porous low crystalline calcite block by carbonation of calcium hydroxide compact. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 18(7), 1361-1367, 2007.
2. R. Lowmunkong, Sohmura T, Takahashi J, Suzuki Y, Matsuya S, Ishikawa K: Transformation of 3DP gypsum model to HA by treating in ammonium phosphate solution, *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 80B, 386-393, 2007.
3. Y. Lee, Yeong M. Hahm, Matsuya S, Nakagawa M, Ishikawa K: Development of macropores in calcium carbonate body using novel carbonation method of calcium hydroxide/sodium chloride composite. *Journal of Materials Science*, 42, 5728-5735, 2007.
4. Y. Lee, Y. M. Hahm, Matsuya S, Nakagawa M, Ishikawa K: Characterization of macroporous carbonate-substituted hydroxyapatite bodies prepared in different phosphate solutions. *Journal of Materials Science*, 42, 7843-7849, 2007.
5. Xin Lin, Shigeki Matsuya, Masaharu Nakagawa, Yoshihiro Terada, Kunio Ishikawa: Effect of molding pressure on fabrication of low-crystalline calcite block. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 19(2), 479-484, 2008.

2. 学会発表

1. 石川邦夫: 生体に学ぶ: 炭酸アパタイト骨置換材日本バイオマテリアル学会

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案取得

該当なし

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
分担研究報告書

物質動的化学マッピング技術の開発

分担研究者 朝倉清高 北海道大学触媒化学研究センター教授

研究要旨 本研究においては、化学マッピングが可能な X 線光電子放出顕微鏡 (EXPEEM) と X 線励起走査探針顕微鏡 (XANAM) の開発を行った。この EXPEEM 装置の特徴は、収差除去多極子 Wien filter を用いたことで、光軸を直線に保ちながら、顕微鏡像を測定し、化学状態を分析できるようにした。この多極子 Wien filter は、内部の電磁場を調整することで、filter の収差を 3 次の項まで補正できるものであり、感度、分解能が向上する。また、放射光のような大型な加速器を必要としないように、実験室規模高輝度 X 線源を作り、これを用いて、元素分析像の取得を行った。さらに、ソフトマテリアル測定のための高感度化に取り組んだ結果、10-100 倍の高感度化に成功した。これを用いて Ni₂P の表面構造の変化を追跡した。また簡易型 LEEM 装置である SLEEM の開発も行った。一方、XANAM 法は、NC-AFM と放射光を組み合わせることで原子レベル元素マッピングを行う未踏技術である。力場測定に成功し、放射光による原子間力場制御のメカニズム解明に道を開いた。

A. 研究目的

DDSをはじめとするナノテクノロジーのバイオ医用応用は 21 世紀高齢社会における個人の健康・QOL 実現に必須の課題である。一方で、その安全性を確認することは重要であり、それに対して必須である生体内挙動を解明するために、化学分析可能でかつダメージの少ない X 線光電子放出顕微鏡 (EXPEEM) や X 線励起走査探針顕微鏡 (XANAM) を開発し、ナノ粒子やソフトマテリアルの挙動を明らかにすることを目的とする。

B. 研究方法

光電子放出顕微鏡 (PEEM) は、光を照射し、飛び出す電子を用いて、結像拡大することで、物質の動的移動の画像化をする手法である。しかしながら、化学識別性が小さい。そこで、PEEM と X 線光電子分光法を組み合わせることで、化学的なマッピングをしながら、表面の情報を得る EXPEEM 法を開発を行った。すなわち、X 線を用いることで、内殻光電子を励起して、表面から外部に取り出させる。このときに、電子の持つ運動エネルギーは、含まれる

元素の種類や化学状態により変化するので、この運動エネルギーを分析して、画像化し、元素の種類や化学状態の分布をナノオーダーで知ることができる。この手法をわれわれは EXPEEM (Energy-filtered X-ray photoemission electron microscopy) と呼んでいる。EXPEEM を測定するには、放射光のような大型加速器を必要とした。また、XPS で通常使われる半球型エネルギー分析器をそのまま使うと、光軸が曲がってしまい、電子顕微鏡の調整には不向きであるという欠点がある。われわれは、図 1 に示すような無収差多極子型 Wien filter 型エネルギー分析器を用いた EXPEEM 装置の開発を行った。また、汎用されている LEED 装置を磁場型対物レンズを用いることで、簡単に顕微鏡化した SLEEM 装置の開発を行った。

2. XANAM

X-ray を照射しながら非接触原子力顕微鏡 (NC-AFM) を測定すると、X 線吸収端付近で元素特異的に原子間力が変化する。このことを利用した顕微鏡が XANAM (X-ray Aided Non-contact Atomic Force Microscopy; X 線支援非接触原子力顕微鏡) であ

る。この手法は、全くの未踏技術であり、力場測定やスペクトル測定を行った。

C. 研究結果

1. EXPEEM法の開発

1年目において、多極子 Wien filter に対して、収差補正を施すための条件を計算し、表1に示す条件をえた。

表1 各収差補正条件

	Stigmatic	Rose	3次
e_2	-1/4	-1	-1
b_2	0	-0.750	-0.750
e_3	0	-0.375	0.555
b_3	0	0	0.188
e_4	0	0	-0.180
b_4	0	0	0

この結果をもとに、図1に示すような装置を構成し、取得を試みた。2年目の成果として、そのエネルギー分析像の取得と化学マッピングに成功した。また、スペクトルの取得もできた。すなわち、Wienフィルターの出口スリットを開放にし、Wienフィルターによってエネルギー分散された像を図2に示す。Wien filter に入る電子のエネルギーを調整し、Cu2p_{3/2}光電子ピークが画像の中心にくるようにし、次にスリットを徐々に占めていき、希望するピークのみを選別する。(図3)内殻からの光電子を用いたエネルギー選別像を図4に示す。これまで、同じような選別像を得るための積算時間は1時間を要した。しかし、今回はこれを大きく更新する2分でアイランドパターンを観察できた。

2. Ni₂PのEXPEEM観察

3年目にNi₂Pは、脱硫活性を有する触媒である。その表面の構造は、Ni₃PおよびNi₃P₂という組成を持つ二つの構造が交互に並んで、いることが知られ、両方の面が表面に露出していると言われる。われわれは、それぞれの面の支配面積をPEEMにより検討し、それぞれのNiやPの電子状態の違いを追跡した。紫外線により励起されて飛び出した光電子を拡大結像したPEEM像のサイズからそれぞれが数100 μ mのドメインからなることを見出した。

3. SLEEMの開発

サンプルの背面に磁石をおき、表面から飛び出す電子を

拡大することで、通常のLEED装置を低速電子顕微鏡に改造できるかしらべた。図5に示すように、表面のCuメッシュ像を10倍の拡大率で観測することができた。

4. XANAM法の開発

力場相互作用のX線エネルギー依存性測定

図6は、周波数シフト Δf でフィードバックをかけたままカンチレバーを Au 領域上に固定し、X線の入射エネルギーを変えながら試料の垂直方位Zの信号を計測した結果である。横軸をX線エネルギー、縦軸をZ応答信号とした結果を示す。測定条件はカンチレバー共振周波数 f_0 : 114.8 kHz、周波数シフト Δf : -1 Hz、振幅 A_0 : 2.9 nm、またV/Fコンバーターの積算時間は2 s、ゲインは0.1 MHz/Vである。図6b)は、別途 Au 薄膜を用いてX線透過法にて測定した Au L₃ X線吸収端スペクトルである。ちょうどX線吸収端のエネルギー付近においてZ応答信号にピーク状の応答が現れていることがわかる。

Au 蒸着表面でのフォースカーブのX線エネルギー依存性

図7に左横軸にX線エネルギー、右横軸に表面-探針間距離、縦軸に Δf とした結果を示す。 Δf の距離依存性は Au L₃ 吸収端を境にして変化する事が見いだされた。X線吸収端前においては、よく観測されるフォースカーブ、すなわち、z が大きい場合には、引力であり、近づくにつれ引力が増大し、極小をとったのち、急激な斥力の増大が観測される。一方、吸収端後では近づくにつれて、引力増大はほんのわずかであり、しかもポテンシャル井戸が浅く、急激に斥力領域に入ってしまうことが観測された。これは、斥力ポテンシャルの変化が起こったためと考えられる。斥力ポテンシャルの変化は吸収端後で広く観察されるものである。

XANAM 像

次に、実際に Au 蒸着表面のトポグラフを観察しながらX線エネルギーを変化させ、Z応答がどのように観測されるか調べた。図8はNC-AFM観察中に吸収端前と吸収端後のX線掃印を繰り返した結果で、X線エネルギー吸収端位置に縞状のZ応答が二次元に観測された。このような縞状応答は通常のNC-AFM像(図8右)にはなく、この有無を利用した元素マッピング法への展開が期待できる。

NiのXANAMスペクトル

Auの代わりにNi薄膜についても、同様の応答があるかどうか調べたところ、図9に示すように、Niの吸

収端の直前にピークを与えるような変化を示すことを見いだした

D. 考察

EXPEEM

今回、大幅に感度向上した状態でエネルギー選別像の取得に成功した。ここには示していないが、Auの4f光電子ピークでも選別像の取得に成功している。倍率はほぼ同じ程度であり、65-70倍である。ただ、投影レンズを調整すればもっと倍率は稼げる。

高感度な選別像を取得できた要因を5つ挙げる。

1. 磁界レンズと試料の距離

磁界レンズから発生する磁場は、磁界レンズとの距離が離れると急峻に減少する。したがって、試料を磁界レンズになるべく近づける事が大切である。そのため、厚みの薄い試料ホルダーを用意し、試料の高さを大きく下げた磁界レンズぎりぎりまで近づけた。

2. インพุットレンズの値

これまで、内殻光電子選別像を得るために、サンプルバイアスを考慮してインพุットレンズを計算できるプログラムに修正した。その結果、内殻光電子の結像する条件を見出すことができた。

3. 試料元素としてCuを使用したこと

Cuは結合エネルギーが大きいところ（結合エネルギー932.8eV、運動エネルギー553.8eV）に光電子ピークをもつ元素である。これは、運動エネルギーが小さい事を意味し、2次電子のエネルギー0eVに近い。これまでずっとAuを使用していたが、運動エネルギーは1400eV程度と大きい。したがって、Cuの場合は2次電子のレンズ条件と比較的近いため、先ほどの内殻光電子専用のレンズ条件を探すことが容易であった。

4. 試料ホルダーの形状

試料ホルダーは金属製とし、かつ試料面積よりも十分大きな面積をもつ平坦なものがよいことがわかった。2次電子像を用いて光軸調整するとき、試料とレンズの間にサンプルバイアスを印加する必要がある。この際、試料ホルダーにも電圧が印加される。試料面積よりも大きな導体の試料ホルダーであれば、試料近くに均等な電位分布が生成される。これにより、サンプルバイアスを変えたときにビームが大きく逃げる現象が無くなった。更にサンプルバイアスを変えてもビームが逃げなくなっ

たことで、RVレンズの光軸調整が行えるようになった。

5. Wienフィルターの偏向成分の重畳

Wien フィルターに偏向成分を印加することでビームの逃げを補正することができる。その際、理想的な偏向場が形成されるようにWien フィルターの各コイル電極にそれぞれ異なる値を入力した。これにより、ビームの歪みを抑えることができ、像が歪むことが無くなったと思われる。更に、偏向成分を調整して投影レンズ1の光軸にビームを持っていくことに成功した。これにより、投影レンズ1までは光軸を通すことができた。ただし、投影レンズ2の軸はどうしても合わないで偏光器が必要である

Ni2Pのドメインサイズ

これまでに、大幅な感度増大に成功し、今回脱硫触媒として重要なNi2Pの2つの表面構造のPEEM測定に成功した。Ni3PとNi3P2は、仕事関数が異なることが知られている。Ni3Pは4.75 eVであり、Ni3P2は5.22 eVである。そこで5 eV付近の紫外光で励起したものである。すなわち、5eVよりも仕事関数が小さいものは明るく、これを超えるものは暗いと推察される。その結果、Ni3Pの大きさは、300 μm程度であることがわかる。さらに、それぞれの領域ごとのXPSを測定した。それぞれの領域ごとの結合エネルギーに大きな変化はなく、電子状態には大きな変化がないと考えられる。

SLEEM

SLEEM は、以下の特徴がある。LEEM は電子回折してくる電子を多段の電子レンズで拡大投影する必要がある。このため、装置は大型化しなければならず、一般的ではない。今回のSLEEMでは、サンプル背面に磁場型対物レンズを入れることで、汎用のLEED装置で、像を拡大し、実像を測定することができることを示した。これは、こうした簡易型の装置でもLEEMを測定することができることを意味しており、広く普及することが期待される。

XANAM

図7でわかるように、表面との相互作用は2種類からなると考えられる。1つは吸収端付近のピーク状に変化する成分と、吸収端とともに増大する部分である。前者量子力学的な結合が関与した相互作用であり、後者は、光電子や2次電子放出に伴うチャージや熱による変化によるものと推測しているが、今後、詳細を検討する必要がある。また、今回Niでも測定に成功したことは、他の元素にも拡張でき

ることを強く示唆しており、汎用性の高い手法であるといえる。

E. 結論

ナノ化学顕微鏡である新型 EXPEEM, XANAM を開発し、化学選別像の取得に成功した。今後は本装置で生体等のソフトマテリアルへの研究をさらに活発に展開する。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1 T. Naito, H. Sugawara, T. Inabe, T. Miyamoto, H. Niimi, and K. Asakura, *Photochemical fabrication of molecular devices*, *J. Non-crystalline solids* **352**, 2628 (2006).
- 2 T. Naito, H. Sugawara, T. Inabe, Y. Kitajima, T. Miyamoto, H. Niimi, and K. Asakura, *Photochemical control of dark conductivity - A new approach to devices based on molecular crystals*, *Journal of Low Temperature Physics* **142**, (3-4), 383-386 (2006).
- 3 T. Naito, H. Sugawara, T. Inabe, T. Miyamoto, H. Niimi, and K. Asakura, *Photochemical method of device fabrication starting from molecular crystals* *Molecular Crystals and Liquid Crystals* **455**, 311-316 (2006).
- 4 M. Ushiro, K. Uno, T. Fujikawa, Y. Sato, K. Tohji, F. Watari, W. J. Chun, Y. Koike, and K. Asakura, *XAFS analyses of Ni species trapped in Graphene sheet of Carbon nanofibers*, *Phys.Rev.B* **73**, 144103-1,11 (2006).
- 5 M. Uo, K. Asakura, T. Kohgo, and F. Watari, *Selenium Distribution in Human Soft Tissue determined by Using X-ray Scanning Analysis and XAFS analysis*, *Chem. Lett* **35**, 66 (2006).
- 6 S. Suzuki, Y. Koike, K. Fujikawa, M. M. Nakamura, W.-J. Chun, M. Nomura, and K. Asakura, *An approach to nano-chemical analysis through NC-AFM technique*, *Topic in Catal* **117**, 80 (2006).
- 7 S. Suzuki, M. Nakamura, K. Kinoshita, Y. Koike, K. Fujikawa, N. Matsudaira, W.-J. Chun, M. Nomura, and K. Asakura, *Improvement of the XANAM System and Acquisition of a Peak Signal with a High S/N ratio*, *J. Phys. Conf. Ser.*, **61**, 1171-1121, 2007.
- 8 Niimi, W.J. Chun, S. Suzuki, K. Asakura and M. Kato, *Aberration-corrected multipole wien filter for EXPEEM*. *Rev.Sci.Instrum.* **78**,063710 1-8(2007).

- 9 H. Niimi, M. Kato, T. Kawasaki, T. Miyamoto, S. Suzuki, W.J. Chun, M. Kudo, N. Kawahara, M. Doi, K. Tsukamoto and K. Asakura, *Development of In-Lab Energy Filtered X-Ray Photoemission Electron Microscope Using Air-Core-Coil-Type Multipole Wien Filter*. *Surf.Sci.* **601**, 4742-4747(2007).
- 10 Tsutsumi, T. Miyamoto, H. Niimi, Y. Kitajima, Y. Sakai, M. Kato, T. Naito and K. Asakura, *EXPEEM and its applications to surface and organic materials*. *Solid State Electronics.* **51**,1360-1366(2007).
- 11 T. Naito, H. Sugawara, T. Inabe, Y. Kitajima, T. Miyamoto, H. Niimi and K. Asakura, *UV-vis-Induced Vitrification of a Molecular Crystal*. *Advanced Functional Materials.* **17**,1663-1670(2007).
- 12 Y. Ominami, M. Suzuki, K. Asakura and C.T. Yang, *Growth of CNF on Nanoscale catalyst strip fabricated with FIB*. *Nanotechnology.* **19**,405302-1-5(2008).
- 13 K. Kinoshita, G.H. Simon, T. Konig, M. Heyde, H.J. Freund, Y. Nakagawa, S. Suzuki, W. Chun, -J., S.T. Oyama, S. Otani and K. Asakura, *A Scanning Tunneling Microscopy Observation of ($\sqrt{3} \times \sqrt{3}$) R30 Reconstruction Ni₂P (0001)*. *Jpn.J.Appl.Phys.* **47**,6088-6091(2008).
- 14 G. Hamasaka, S. Kawamorita, A. Ochida, R. Akiyama, K. Hara, A. Fukuoka, K. Asakura, W.J. Chun, H. Ohmiya and M. Sawamura, *Synthesis of SiO₂-supported compact phosphines and their application to Rh catalyzed hydrosilylation of hindered ketons with triorganosilanes*. *Organometallics.* **27**,6495(2009).
- 15 S. Suzuki, G.M. Moula, T. Miyamoto, Y. Nakagawa, K. Kinoshita, K. Asakura, S.T. Oyama and S. Otani, *Scanning Tunneling Microscopy and Photoemission Electron Microscopy Studies on Single Crystal Ni₂P Surfaces*. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology.* **9**,195-201(2009).

2. 学会発表

1. Hironobu Niimi, Makoto Kato, T. Kawasaki, T. Miyamoto, S. Suzuki, W.-J. Chun, M. Kudo, N. Kawahara, M. Doui, K. Tsukamoto, and K. Asakura, *The chemical mapping of surface by In-lab energy filtered X-ray photoelectron emission microscopy using air-core coil type multipole Wien*

- filter in International Microscopy Congress, Sapporo, 2006.
- 2 Testuya Tsutsumi, H. N. Takeshi Miyamoto, Yoshinori Kitajima, M. K. Yuji Sakai, and K. Asakura, *PEEM/EXPEEM Investigation of the Au on Ta Polycrystalline* in LEEM-PEEM V, Himeji, 2006.
 - 3 Hironobu Niimi, Makoto Kato, Takahiro Kawasaki, Takeshi Miyamoto, Shushi Suzuki, Wang-Jae Chun, Masato Kudo, Naoki Kawahara, Makoto Doi, Katsumi Tsukamoto, Kiyotaka Asakura Development of *In-lab energy filtered X-ray photoelectron emission microscope using air-core coil type multipole Wien filter*, in LEEM-PEEM V, Himeji, 2006.
 - 4 S. Suzuki, M. Nakamura, K. Kinoshita, Y. Koike, K. Fujikawa, W.-J. Chun, M. Nomura, and K. Asakura, XANAM — A New Chemically Sensitive NC-AFM Technique — in the 3rd International Workshop on Frontier Science and Technology of Nanoporous Systems(FSTNS3), abstract p. K-3, 27 Jan, 2007, Chiba
 - 5 S. Suzuki, M. Nakamura, K. Kinoshita, Y. Koike, K. Fujikawa, W.-J. Chun, M. Nomura, and K. Asakura, *A Challenge to Develop Chemically sensitive NC-AFM*, in 5th International Symposium on Nanotechnology (JAPAN NANO 2007), p. 180, 2007.
 - 6 S. Suzuki, Y. Koike, M. Nakamura, K. Kinoshita, K. Fujikawa, W.-J. Chun, M. Nomura, and K. Asakura, *A point spectroscopy and 2D spectroscopic imaging by means of XANAM* in Abst. 6th International Symposium on Atomic Level Characterizations for New Materials and Devices '07, p. 180, 2007.
 - 7 鈴木秀士・小池祐一郎・木下久美子・中村元弘・藤川敬介・田旺帝・野村昌治・朝倉清高, *A point spectroscopy and 2D spectroscopic imaging by means of XANAM* in 東京大学物性研究所短期研究会「高輝度軟X線放射光が拓く物質科学の新たな地平」, 予稿集 p. 7, 2007年7月5日, 千葉.
 - 8 鈴木秀士・田旺帝・野村昌治・朝倉清高, *ナノレベル表面元素マッピング装置(元素分析AFM)の開発*, in JST-CREST ナノテクノロジー分野別バーチャルラボ新技術説明会 ～環境・エネルギー・バイオ/実用化が期待されるナノテクノロジー(依頼講演), 予稿集 p. 35, 2007年9月27日, 東京
 - 9 S. Suzuki, Y. Koike, M. Nakamura, K. Kinoshita, K. Fujikawa, W.-J. Chun, M. Nomura, and K. Asakura, *Surface Chemical Mapping by means of XANAM* in Abst. The 1st GCOE International Symposium, p. 65, 2008.
 - 10 宮本剛志, 鈴木秀士, 朝倉清高, 新美大伸, 嘉藤誠, “光電子放出顕微鏡による脱硫触媒 Ni₂P(0001)表面のその場観察”, 顕微鏡学会支部会, 札幌, 2007
 - 11 宮本剛志, 新美大伸, 鈴木秀士 and 朝倉清高, *Ni₂P触媒のPEEM観察*, 分子科学研究所研究会 放射光と表面電子顕微鏡 —顕微ナノ材料科学の新しい進展—, 岡崎, 2007
 - 12 朝倉清高, *精密表面設計と放射光*, 第101回触媒討論会, Tokyo, 3.29, 2008
 - 13 朝倉清高, *Niリン化合物の表面構造と化学*, 太田シンポジウム, 東京, 3/31, 2008
 - 14 Kiyotaka Asakura, Takeshi Miyamoto, Hironobu Niimi, Shushi Suzuki *Chemical Imaging using Energy Filtered X-ray Photoemission Electron Microscopy*, International Symposium on Nanotoxicology Assessment and Biomedical, Environmental Application of Fine Particles and Nanotubes, 2008. 6.16
 - 15 K. Asakura, 朝倉清高, *光電子顕微鏡による表面解析*, 早稲田大学, 東京, 2008.
 - 16 K. Asakura, 朝倉清高, *Ni₂P脱硫触媒表面のin-situ解析*, 早稲田大学, 東京, 2008.
 - 17 K. Kinoshita, 木久美子, 宮剛志, 中雄太, 鈴木秀士, 高達, 朝倉清高, *LEED IV解析によるNi₂P(0001)-(1x1)表面構造解析*, 早稲田大学, 2008.
 - 18 T. Miyamoto, H. Niimi, S. Suzuki, S. Takakusagi, K. Asakura, *Photoemission Electron Microscopy Observations of Ni₂P (0001) Surface, A New Class of Hydrodesulfurization Catalyst*, Waseda University, Tokyo, 2008.
 - 19 D. Guo, S. Suzuki, S. Takakusagi, K. Asakura, S. Otani, S.T. Oyama, *Surface Structure Study on Ni₂P(0001)*, Tokyo Waseda University, 2008.
 - 20 宮本剛志, 新美大伸, 鈴木秀士, 朝倉清高, *光電子放出顕微鏡による脱硫触媒 Ni₂P (0001)表面のその場観察*, 日本化学会北海道支部会, 2008/7/19, 2008
 - 21 朝倉清高, *光電子顕微鏡による表面解析*, 表面科学会, 東京 早稲田大学, 2008.11.14, 2008
 - 22 朝倉清高, *放射光を用いた新しい化学顕微鏡の開発*, 札幌, 2008.12.13.

G 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案取得

なし

数分で測定可能

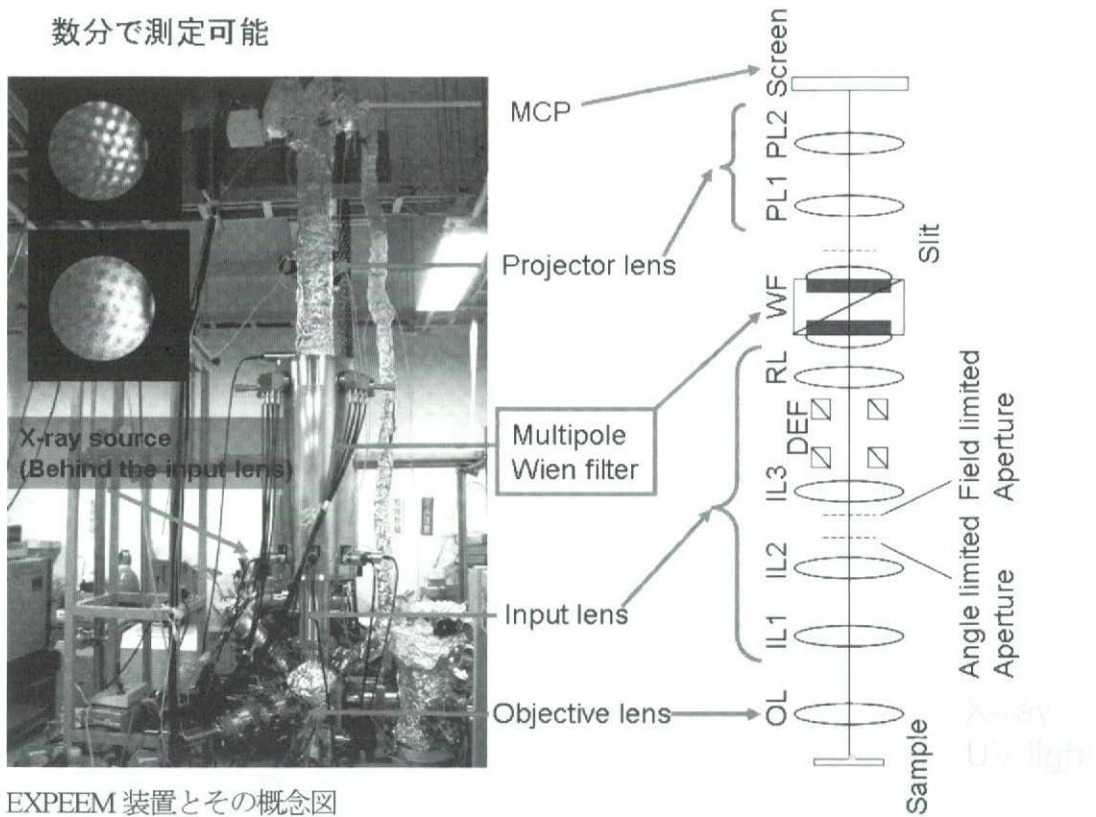


図 1 EXPEEM 装置とその概念図

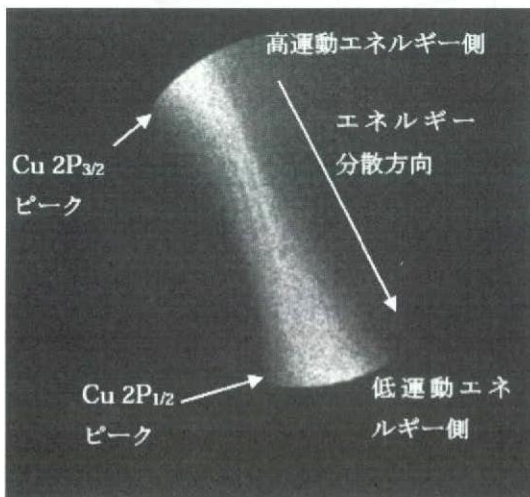


図 2 分散像 (Cu_{2p3/2} 付近)

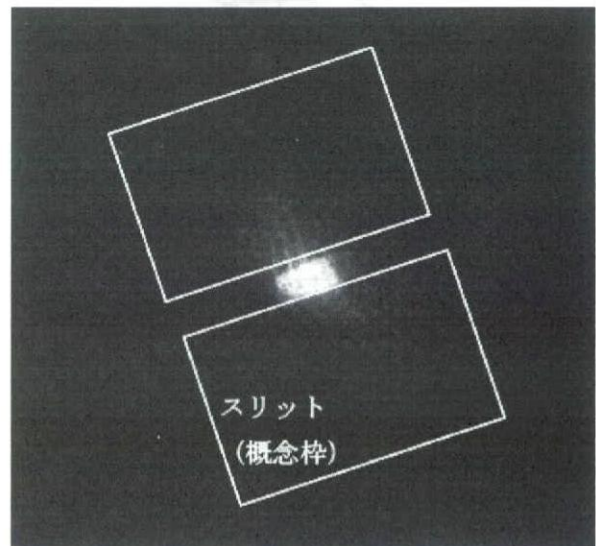


図 3 スリットで Cu_{2p3/2} を選別する。

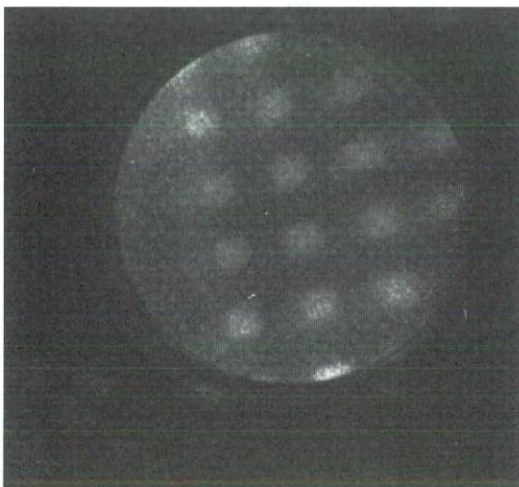


図 4 Cu のエネルギー選別像

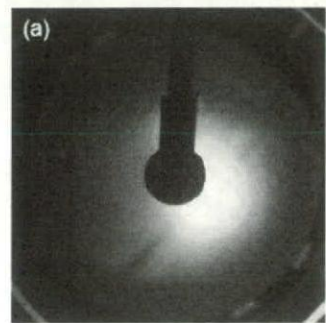
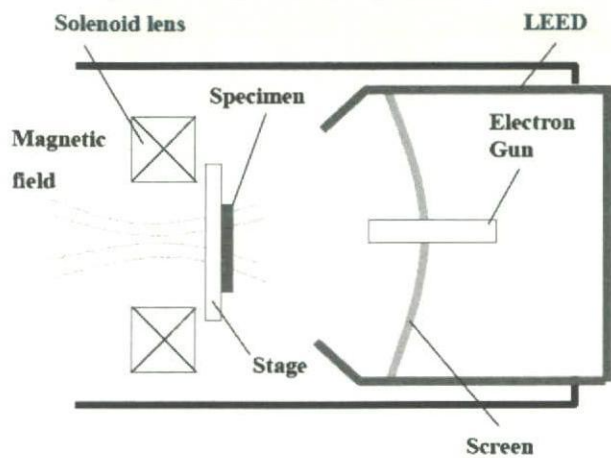


図 5 S L E E M と その 像

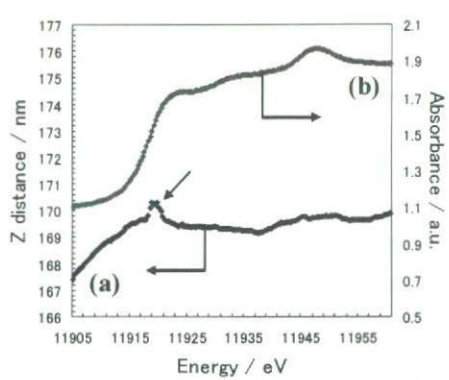


図 6 Au の XANAM スペクトル(a)および Au の L3 edge スペクトル (b)

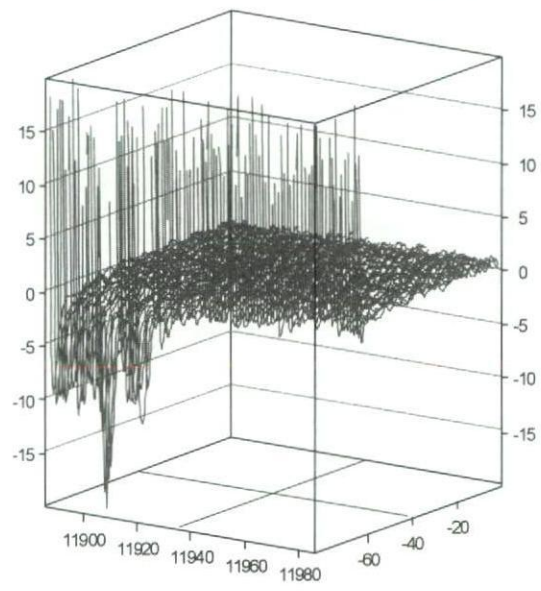


図 7 Au の XANAM-FORCE CURVE

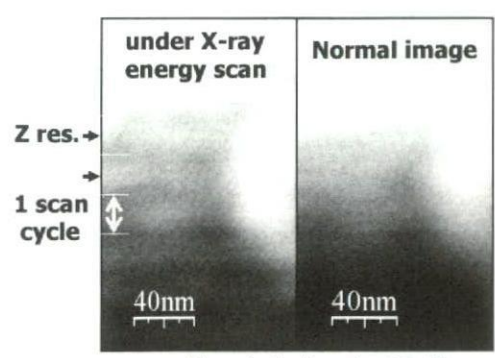


図 8 XANAM 像 (左) と通常の NC-AFM(右)

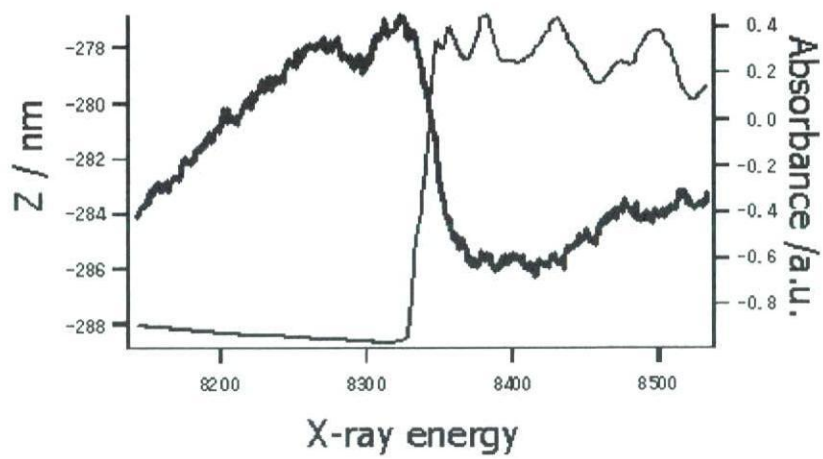


図9 Ni K-吸収端 XANES と XANAM スペクトル

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
分担研究報告書

生体観察を目指した TEM エンバイロメンタルセルの開発

分担研究者 大貫惣明 北海道大学工学研究科教授
研究協力者 橋本直幸 北海道大学工学研究科准教授

研究要旨 本研究においては、生体の含水組織の透過電子顕微鏡観察の方策として、いわゆる環境セル（エンバイロメンタルセル）を作成し、それをいくつかの試料に適応し、さらにエンバイロメンタルセルに改良を加えた。環境セルは現在までに種々の試みがあるが、十分な成果が得られてはいなかった。これは電子ビームに対する透過性で強度の高い真空隔膜の開発が鍵となっているためである。我々は、空気中あるいは高反応性のガス環境での観察を可能とするべく改良を行い、室温・大気圧でも観察可能な装置を開発するにいたった。加えて、200℃までの加熱ホルダーも開発した。テストガスとして水素、アンモニアガス、試料として Mg、LiH と NaH を用いた。ガス導入前後で粒子の膨張や電子線回折像での反応生成物を確認した。ガス圧力を変化して膨張を時間変化として測定したところ、明確な圧力依存性が現れた。これは実験の結果を反応速度の観点から解析できることを示している。一方、透過能と分解能に優れた超高压電子顕微鏡に環境セルを構築するための設計を開始した。この実現により生体試料への適用が大いに期待できる。

A. 研究目的

透過電子顕微鏡によるその場観察のためのハードウェアとして環境セルの歴史は古く、500℃で 3kPa の酸素環境で超高压電顕での Ni-Cr 合金の酸化のその場観察のほか、モリブデン酸ビスマスについて 400-500℃で 100 Torr の C_3H_8 ガス環境での触媒反応が報告されている [2]。また 150K 以下での 6 フッ化硫黄ガスからの結晶化のその場観察や、開放型環境セルを使った水素ガス環境下での引っ張り試験のその場観察も行われている。一方では、生体細胞の透過像観察も期待されているが、大気圧の空気中の環境セルが必須の要件となっている。

最近、次世代エネルギーメディアとしての水素が重要視されつつあり、関連材料の研究が盛んに行われているが、この反応過程のナノレベルでの解析はほとんど行われていない。この実現には電子顕微鏡

内に高压のガス雰囲気構築のための TEM 用環境セルの開発が不可欠であり、これが実現すれば、ガス反応の素過程の研究のみならず、生体細胞の観察にも適用が可能である。特に、電子顕微鏡本体の改造を必要としないクローズ型の環境セルは魅力的手段である。本研究では、高压の反応性ガスに耐える環境セルを製作し、化学反応のその場観察することを目的とした。

B. 研究方法

作成した環境セルは汎用型の 200kV 電子顕微鏡（JEOL2010）用であり、軸部はアルミニウム製、試料保持の先端部は真鍮製である。ガス導入部はステンレスパイプで、ホルダーの軸部を貫通している。図 1-3 にホルダー先端の構成、ガス導入システム、ならびに隔膜の詳細を示す。この環境セルはクロー

ズ型であり、0.2mm厚さのOリング3枚とCuグリッド上の隔膜によって気密が保たれている。隔膜はトリアセチルセルロースをカーボン補強しており、2気圧(0.2MPa)の空気あるいは水素に耐えることが出来た。電子線に対してはほぼ透明であり、電子線回折像でもわずかにハローリングが見られるのみである。本研究ではこの隔膜の製作がもっとも技術を要し、現時点で最良だったのはトリアセチルセルロース膜(20nm)、カーボン補強膜(50nm)である。

観察対象は室温でも化学反応が容易なMgとNaHとLiHである。ガスは反応性の大きい水素とアンモニアである。試料は不活性雰囲気グローブボックス中で乳鉢で細かく粉碎し、そのサイズは0.1ミクロン以下である。環境セルホルダーをアルコールで超音波洗浄し、55℃の真空中で1時間保持し、吸着ガスを除去した。粉末試料はCuグリッドに付着させ、隔膜に直接触れないようにセッティングした。これは隔膜が破れるのを防止するのに大いに役立った。ちなみにこの隔膜は電子顕微鏡内の真空雰囲気でも0.2MPaの大気を導入しても破れなかった。その後、加速電圧200kVの汎用型TEMを用いて室温のガス雰囲気ですべて連続的に明視野像と電子線回折パターンを撮影した。

C. 研究結果

水素ガス中の観察：Mgの微粒子は真空および0.1MPaの水素ガス雰囲気ですべて明視野像と対応する電子線回折パターンに変化が見られた。微粒子は水素の導入により若干膨張した。20分までの観察ではその外形は10%ほど増加し、これは40%程度の体積膨張に相当する。MgH₂の等方的な結晶構造を考慮すると30%程度の膨張が期待される。電子線回折の結果はMgH₂の形成を示唆している。

アンモニアガス中の観察：LiHについて0.1MPaのアンモニア雰囲気前後の電子線回折を図4に示す。ガス導入前には点状の回折とリング回折があるが、導入後はリング回折のみとなり、その径もやや小さくなった。この変化は、NH₃+LiH⇒LiNH₂+H₂の反応に対応すると判断した。

NaHの場合の結果を図5に示す。これもLiHとほぼ同様の挙動を示したことから、NH₃+NaH⇒NaNH₂+H₂の反応が生じたと判断した。

図6はNaHにおけるガス導入前後の外形変化を示

す。これによると面積で11~12%の増加が見られた。特に0.1MPaの場合は急激な体積膨張がLiH、NaHともに認められ、0.01MPaまで減圧すると、この体積膨張はゆっくりと進行し、30分程度でほぼ飽和した。以上の結果より、LiHとNaHの0.1MPaのNH₃ガス反応のその場観察は可能であることが示された。今後はこの変化量の時間依存と温度依存からその反応機構を検討することにした。

なお、この環境セルでは0.2MPaの大気でも使用できることが確かめられたため、室温から200℃の範囲であれば大気環境あるいは水蒸気環境での観察は可能と思われる。

D. 考察

以上のように汎用型電子顕微鏡で積み上げつつあるECの技術をもとに、高分解能での観察を期待できる超高压顕微鏡にECを構築するべく、その設計に取りかかっている。図7はその概略である。

超高压電子顕微鏡の場合、電子線の透過能は大きいため、隔膜の厚さは大きな問題ではないが、高真空の確保とガスリーク時の鏡体の保護が大きな課題であり、微少リークディテクターとゲートバルブの安全回路が重要であり、この確保に多額の経費を要する。一方、温度制御機構は広いレンズギャップのため比較的容易であると推定されている。

E. 結論

本研究では電子顕微鏡内に適合する環境セルの開発を行い、その利用例としてガス気密性の必要な水素化反応をその場観察し、その変化を検討した。製作した加熱型環境セルである。これは密閉型環境セルであり、隔膜は20nmのトリアセチルセルロースと50nmのカーボン補強膜が張られた2枚のCuグリッドであった。この環境セルでは2気圧の大気でも使用できることが確かめられたため、室温から200℃の範囲であれば大気環境あるいは水蒸気環境での観察は可能となった。

テストガスとして反応性が強い水素とアンモニアガス、試料としてMgとLiHとNaHを用いた。明視野ではガス導入前後で粒子が膨張するとともに電子線回折像は反応生成物を示した。異なるガス圧力での膨張の時間変化から、明確な圧力依存性が現れた。これは本結果を反応速度として解析が可能であるこ

とを示している。また、透過能と分解能に優れる超高圧電子顕微鏡に環境セルを構築するための設計を開始した。この実現により生体試料の観察が期待される。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. S. Ohnuki, K. Takase, K. Yashiki, K. Hamada, T. Suda, S. Watanabe, In-situ Observation of Hydride Stability of Vanadium Alloys in Electron Microscope, Korean J. Electron Microscopy Special Issue 1,57-61 (2006)
2. S. Ohnuki, T. Kasuda, K. Yashiki, T. Suda, S. Watanabe, Dynamic and Static Hydrogen Effects on the Mechanical Properties in Vanadium Alloys Hydrogen in Matter: Second International Symposium on Hydrogen in Matter, P.132-138, (2006)
3. Y. Munekata, K. Washio, T. Suda, N. Hashimoto, S. Ohnuki, H. Arashima, H. Ito, Role of Annealing for Improving Hydrogen Storage Properties of T-Cr-V Alloy, Materials Research Society Symposium Proceedings, Vol971, 21-26, (2007)
4. K. Okudera, K. Hamada, T. Suda, N. Hashimoto, S. Ohnuki, Y. Kawai, Y. Kojima, Development of Environmental Cell and its Application to Hydrogen Storage Materials, Materials Research Society Symposium Proceedings, Vol971, 12-17, (2007)
5. K. Okudera, K. Hamada, T. Suda, N. Hashimoto, S. Ohnuki, Development of Environmental Cell for Gas Reaction of Nano-size Particles, Advanced materials research, Vol. 26-28, 877-880, (2007)
6. S. Ohnuki, K. Okudera, K. Hamada, T. Suda, N. Hashimoto, Observation of Hydrogen Strange Materials by Means of Environmental Cell TEM, International Symposium on Materials Design for Infrastructures, SICE2008 proceedings, (2008) pp.49-52
7. A. Ono, H. Sitoh, S. Ohnuki, N. Hashimoto, Micro-lamellar Structure in Hydrogen Storage Mg-Ni Alloys, Proceeding of 9th Asia-Pacific Microscopy Conference, (2008)

2. 学会発表

1. K. Okudera, N. Shiomi, K. Hamada, T. Suda, S. Ohnuki, Y. Kawai, Y. Kojima, In-situ Observation for Reaction of MgH₂-(Ni) Hydrogen Storage Material, The 16th International Microscopy Congress, Sapporo, 2006
2. S. Ohnuki, N. Shiomi, K. Washio, K. Hamada, Y. Kawai, Y. Kojima, In-Situ High-Resolution Observation for Decomposition of MgH₂-(Ni) Hydride, MRS Fall Meeting, Boston, 2006, 11/27-12/1
3. K. Washio, Y. Munekata, S. Ohnuki, H. Arashima, H. Itoh, Role of

- Annealing for Improving Hydrogen Storage Properties of T-Cr-V Alloy, MRS Fall Meeting, Boston, 2006, 11/27-12/1
4. K. Okudera, K. Hamada, T. Suda, S. Ohnuki, Development of Environmental Cell and its Application to Hydrogen Storage Materials, MRS Fall Meeting, Boston, 2006
 5. Y. Munekata, T. Suda, S. Ohnuki, H. Arashima, H. Itoh, K. Kudo, Role of annealing for improving properties of TiCrV type hydrogen storage alloy, KNS and AESJ Joint Summer School 2007 for Students and young Researchers, Seoul, 2007
 6. N. Shiomi, S. Ohnuki, N. Hashimoto, K. Hamada, T. Suda, Y. Kojima, Y. Kawai, High resolution in-situ observation of decomposition of Mg based hydrogen storage alloys and effects of dispersed Ni, KNS and AESJ Joint Summer School 2007 for Students and young Researchers, Seoul, 2007
 7. K. Okudera, Development of Environmental Cell for Gas Reaction of Nano-size Particles, PRICM6, Jeju, 2007
 8. 川崎 洋, 大貫惣明, 須田孝徳, 橋本直幸, その場観察による NaAlH₄ の分解ナノ構造変化, 日本金属学会北海道支部合同夏季講演大会, 室蘭, 2007
 9. 宇尾基弘, 亘理文夫, 橋本直幸, 奥寺公也, 浜田弘一, 大貫惣明, 歯科材料・口腔内組織の高分解能電子顕微鏡観察と雰囲気制御 TEM 観察, 厚生労働科学研究費補助金「ナノ微粒子体内動態可視化法の開発」(H18-化学一般-006)第3回研究成果発表会, 登別, 2007
 10. S. Ohnuki, Environmental Cell technique in Electron Microscopy, JSPS-KOSEF Core University Program Joint Symposium on Advances in Electron Microscopy for Materials Characterization, Sapporo, 2008
 11. S. Ohnuki, TEM Observation by the Environmental Cell, Norway-Japan Workshop, Hiroshima Univ., 2008
 12. S. Ohnuki, Environmental Cell technique in Electron Microscopy, JSPS-KOSEF Core University Program :Joint Symposium on Advances in Electron Microscopy for Materials Characterization, Sapporo, 2008
 13. A. Ono, H. Sitoh, S. Ohnuki, N. Hashimoto, Micro-lamellar Structure in Hydrogen Storage Mg-Ni Alloys, 9th Asia-Pacific Microscopy Conference, Jeju, 2008
 14. H. Hirasawa, K. Okudera, K. Hamada, S. Ohnuki, N. Hashimoto, T. Ichikawa, Y. Kojima, In-situ observation of decomposing reaction in LiH and NaH by means of environmental cell 11th Joint Symposium between Hokkaido University and University of Science and Technology Beijing, Sapporo, 2008
 15. 大貫惣明, 奥寺公也, 平澤寛子, 浜田弘一, 須田孝徳, 橋本直幸, 透過電子顕微鏡用環境セルの開発と含水性試料観察の試み, 厚生労働科学研究費補助金, 化学物質リスク研究事業「ナノ微粒

子体内動態可視化法の開発」,平成19年度冬期第4回研究成果発表会,苫小牧,2008

16. 宇尾基弘, 巨理文夫, 小野寺伸, 朝倉清高, 浅岡憲三, 橋本直幸, 奥寺公也, 浜田弘一, 大貫惣明, 人工関節周囲組織中の金属の状態分析と透過電子顕微鏡観察及びNi-Ti合金の腐食生成物の状態分析, 厚生労働科学研究費補助金,化学物質リスク研究事業「ナノ微粒子体内動態可視化法の開発」平成19年度冬期第4回研究成果発表会, 苫小牧,2008

17. 宇尾基弘, 巨理文夫, 小野寺伸, 朝倉清高, 浅岡憲三, 橋本直幸, 奥寺公也, 浜田弘一, 大貫惣明, 人工関節周囲組織中の金属の状態分析と透過電子顕微鏡観察及びNi-Ti合金の腐食生成物の状態分析, 日本顕微鏡学会第64回学術講演会, 京都,2008

18. 平澤寛子, 奥寺公也, 浜田弘一, 大貫惣明, 橋本直幸, 環境セルによるLiHとNaHの分解過程のその場観察, 日本鉄鋼協会・日本金属学会両北海道支部合同夏季講演大会, 札幌,2008

19. 大貫惣明, 平澤寛子, 濱田弘一, 橋本直幸, 須田孝徳, 小島

由継,環境セルによるLiHとNaHの分解過程のその場観察,平成20年度日本顕微鏡学会北海道支部学術講演会 札幌,2008

20. 川崎 洋, 須田孝徳, 橋本直幸, 大貫惣明, その場 TEM 観察によるNaAlH₄の分解ナノ構造変化, 日本鉄鋼協会・日本金属学会両北海道支部合同冬季講演大会, 室蘭 2009

21. 小野晃史, 王 永明, 橋本直幸, 大貫惣明, 斉藤英之, Mg□6.7 mol% Ni合金の微細組織と水素化特性, 日本金属学会2009年秋期(第144回)講演大会, 東京,2009

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得 無し
2. 実用新案取得 無し