

高分解能 X 線顕微鏡 nano3DX による観察の基礎

—より良い画像を得るために—

武田 佳彦*・濱田 賢作*

1. はじめに

X線をプローブとして試料の内部構造を観察する顕微鏡をX線顕微鏡と呼んでいる。nano3DXは独自の高輝度X線発生装置と高分解能X線カメラからなる平行ビーム近接撮影方式のサブミクロン空間分解能のX線顕微鏡である⁽¹⁾。観察試料・目的にあわせてX線エネルギーを選択することで、試料成分の密度差が小さな医薬品、生体組織、有機複合材料、電子材料の微細構造などを2次元（X線投影像）および3次元（コンピュータトモグラフィ）で観察できる⁽²⁾。

観察の対象と目的は多種多様である。錠剤ではコート層の状態（厚さ、剥がれ、クラックなど）、内部素錠の密度分布、ひび割れなどを観察し、解析することとなる。有機複合材料では、フィラーや繊維の配向、母材とフィラーあるいは繊維の接着面の剥がれ、ボイドの分布・配向などを観察し、計測・解析が求められる。生体組織の観察においても、小さな組織や、組織間密度差の小さい構造の計測などが求められる。これらのためには、目的にあった最良の画像を得ることが要求される。

nano3DXでは、デフォルトの設定でサンプル観察が可能である。しかしながら、このような高度な観察には、X線の吸収、X線投影像、コンピュータトモグラフィについての基礎的な知識をもって、撮影することが望ましい。そこで、X線顕微鏡のやさしい基礎と良質な画像を得るための測定パラメータについて、さらにnano3DXでの実例を紹介する。

2. X線によるイメージング

X線投影像であるレントゲン写真では、被写体を通り抜けたX線がフィルムに届き、フィルムは骨や肺などが濃淡をもって写しだされる。これは、物質の種類や大きさによって、X線の吸収が違うためである。

X線のエネルギーは可視光に比べるとけた外れに高

い（波長が短い）ために、物質にあたると、屈折、反射をほとんどおこさないで、ランベルト・ベールの法則に従い吸収され、また一部は散乱される。吸収は一般的な傾向として原子が重いほど大きく、密度に比例する。X線の透過経路が長くなれば、吸収は大きくなり、またX線のエネルギーが高いほど、吸収は小さくなる。

物質を透過したX線の強度Iは次のように求められる⁽³⁾。

$$I = I_0 e^{-[\mu_m \rho dl]} \\ = I_0 e^{-[\mu dl]} \quad (1)$$

ここで、 I_0 は入射X線の強度、 μ_m は質量吸収係数、 ρ は物質の密度、 μ は線吸収係数である。 μ は元素の種類、X線エネルギーに依存する係数であり、X線顕微鏡で用いられる数keV～数10 keVの範囲では、近似的に次のようになり、例を図1に示す⁽⁴⁾⁻⁽⁶⁾。

$$\mu \propto Z^3 E^{-3} \quad (2)$$

アクリル樹脂と呼ばれているポリメタクリル酸メチル樹脂（PMMA）はC、O、Hからなり、C、Hからなるポリプロピレン（PP）より、大きな線吸収係数となる。原子番号13番のAlの線吸収係数は、有機物であるPPやPMMAの100倍ほどであり、23番のTiでは、

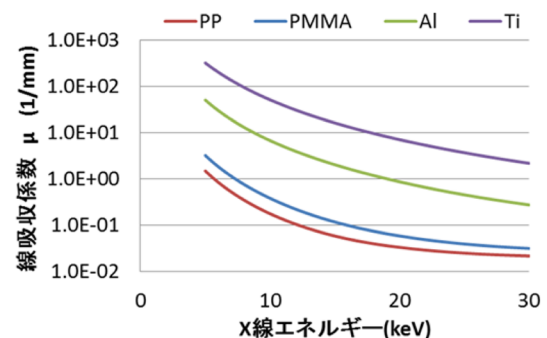


図1. X線エネルギーと線吸収係数。

PP：ポリプロピレン、PMMA：ポリメタクリル酸メチル樹脂、Al：アルミニウム、Ti：チタン

* 株式会社リガク X線研究所

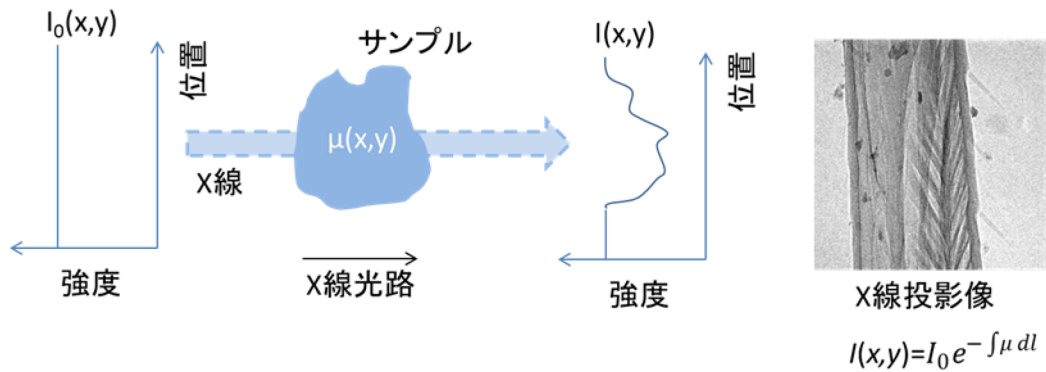


図2. サンプル透過後のX線強度とX線投影像.

Alの10倍、有機物の1000倍ほどであり、原子番号が大きくなると指数関数的に線吸収係数が増大することを示している。

X線投影像は、物質の内部成分のX線吸収の差を白黒の濃淡で画像化したものであり、X線経路の全ての構造情報が重なった画像である（図2）。

物質の原子番号が大きいほど、また厚いサンプルであるほど、減衰したX線がX線検出器に届くため、投影画像では黒く表示される。炭素繊維強化樹脂などのように軽元素からなる物質では、高エネルギーX線では吸収差が小さく、濃淡の差が付きにくくなるが、低エネルギーX線を利用することで解決できる。ただし、低エネルギーX線は吸収が大きくなることから、サンプルの大きさは制限される。

2次元のX線イメージングとは投影画像であり、3次元のX線イメージングはコンピュータトモグラフィーによる。いずれにしても、物質を透過したX線から画像を得ていることに変わりはなく、画像は物質のX線の吸収の差によっている。

3. コンピュータトモグラフィー

X線投影像は光路上のすべての構造が重なった画像であったが、コンピュータトモグラフィー（CT, Computed Tomography）では任意の断層面のX線の吸収情報を得ることができ、サンプル内部の個々の構造を3次元的なX線吸収係数分布として観察できる⁽⁷⁾⁻⁽⁹⁾。CTは以下に述べるCT測定、CT再構成、画像の表示の3つのステップから構成されている。

Step 1：CT測定

サンプルに対して多方向から撮影してX線投影像 $I(x, y, \theta)$ を得る（図3）。 θ は軸yと平行な回転角であり、x, zはサンプルの断層面座標である。360°撮影するフルスキャンが一般的である。平行ビーム近接撮影方式のため、回転角度が180°異なる2つの投影像は同じであることから、180°回転で十分であり、この

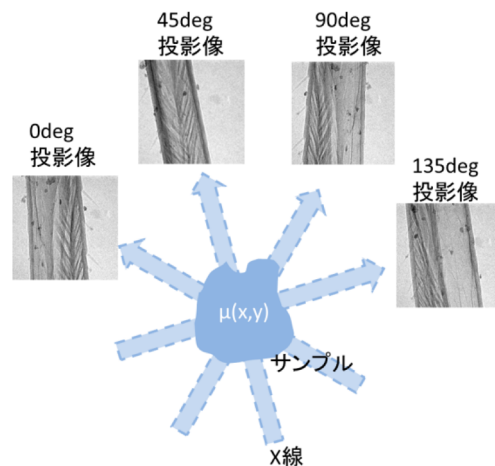


図3. CT測定 サンプルに対して多方向から投影像を撮影。

測定法をハーフスキャンと呼ぶ。nano3DXの場合、ハーフスキャンでのCT再構成を可能にしており、通常180°の範囲を撮影する。投影数は、所望する空間分解能と視野幅に依存する⁽¹⁰⁾が、100～1000枚程度を撮影する。したがって、投影像の撮影は数秒であるのに対して、CT測定には少なくとも（投影数）×（各投影像撮影時間）が必要となり、時間を要する。

Step 2：CT再構成

Step 1で測定された各方向からの投影像 $I(x, y, \theta)$ から断層像を得る過程がCT再構成である。仮定の断層面にStep1で得られた各方向の撮影データから逆投影を行う計算をすることで線吸収係数分布 $\mu(x, z)$ を得る（図4）。y方向すべてについて再構成計算することで、線吸収係数の3次元分布 $\mu(x, y, z)$ が得られる。投影データにフィルタをかけた逆投影を行い鮮明な再構成画像を得ている。CT再構成は膨大な計算量となるために、それを可能とするコンピュータを必要とする。CT再構成画像では、大きな線吸収係数を持つ原子番号の大きな元素ほど白く表示される。

Step 3：3次元表示

CT再構成で得られる3次元画像は、サンプルの回転軸に垂直な平面（x, z平面）に平行で、回転軸方向（y）に積層されたスライス画像で構成される。表示として、直行3断面表示（MPR, Multi Planar Reconstruction）と立体的に表示するボリュームレンダリング（VR, Volume Rendering）法がある。

MPRの例を図5に示す。(a) Topは、x, z平面の断層画像である。(b) Sideは、Topのスライス面に垂直なy, z平面の断層画像である。(c) Frontは、TopおよびSideに垂直なx, y面の断層画像である。なお、任意のスライス面での表示も可能である。

VRの例を図6に示す。サンプルの3次元像を鳥瞰的に表示でき、拡大・回転も簡単に行える。さらに、切断面の表示でき、内部を観ることもできる。

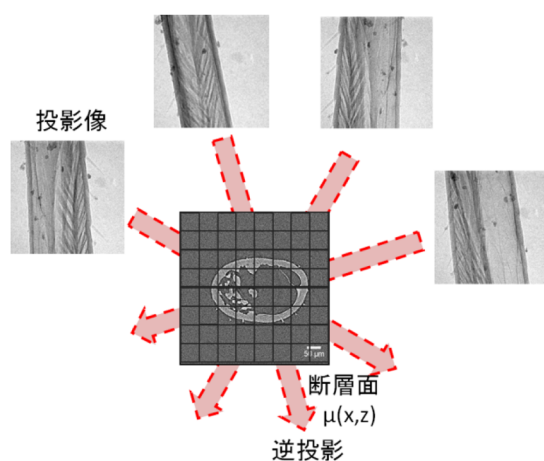


図4. CT再構成.
多方向からの投影像からコンピューターの画素上に逆投影する。

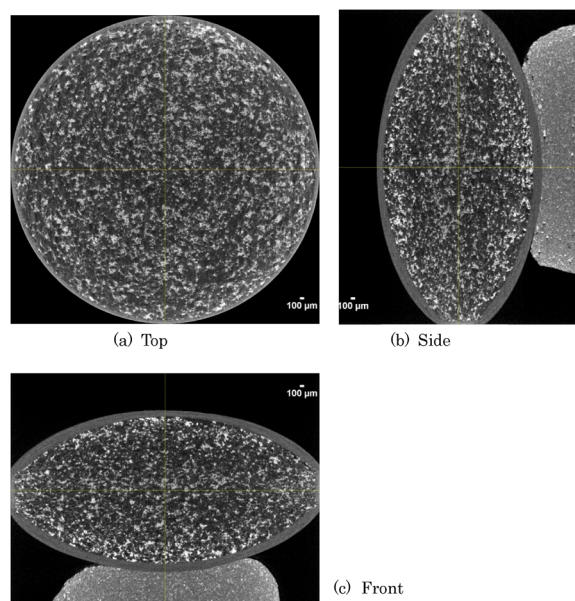


図5. 錠剤の直行3断面表示（MPR）。

MPR, VRともに、線吸収係数に応じた構造の色分けはもちろんのこと、いろいろなグラフィックス機能をもっており、解析を可能としている。

4. 最良なCT画像のためには

— CT測定パラメータの設定 —

CT測定において、画質に影響を与えるパラメータは多数あるが、nano3DXではその多くをデフォルト値として設定している。しかしながら、対象サンプルは多種多様であり、また目的は、おおよその形状を知る、CT画像から計測し解析するなど多様であることから、それらに応じたより良いCT画像を取得するためのCT測定パラメータの設定について述べる。

Step 1：サンプルの透過厚とコントラストから

X線源（X線ターゲット）を選定

nano3DXではMo, Cu, CrからX線ターゲットを選択できる。撮影に最も寄与する特性X線のエネルギーはMoで17.5 keV, Cuで8.0 keV, Crで5.4 keVであり、線吸収係数はMoで小さく、Crで大きくなる（図7）。図7には、発泡樹脂のコントラストがMo, Cu, Crの順で良くなっていることを示している。このことから、サンプルの材質、サイズ、密度差に応じて適切なX線ターゲットを選択することで、高コントラストが得られることを理解できる。すなわち、密度の大きな物質を多く含むサンプルあるいは大きなサイズのサンプルはMoターゲットを選択する。エポキシ樹脂と炭素繊維からなるCFRPでは、サイズにもよるがCuターゲットが適している。さらに密度差の小さい有機系のサンプルの測定には、線吸収係数の差が大きくなり、コントラストが良くなるCrターゲットが適している。しかしながら、吸収が大きく透過力が弱くなるために、1 mm以下のサイズにサンプルを加工する必要がある。

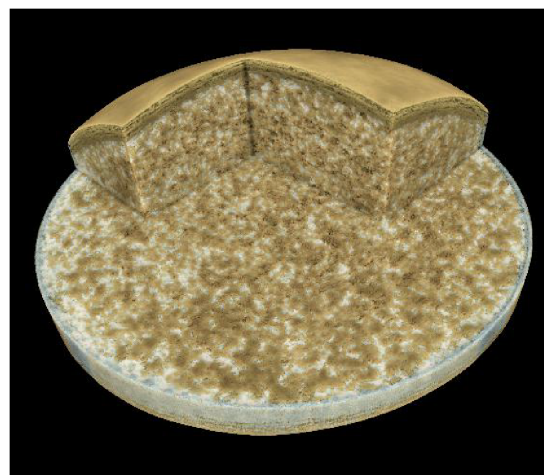
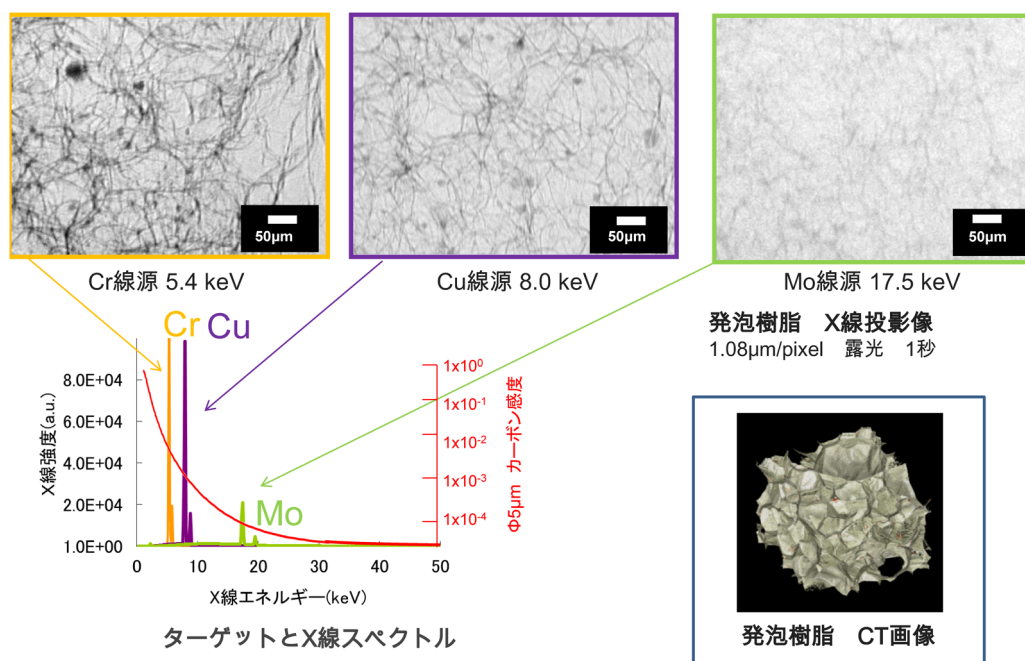


図6. 錠剤のボリュームレンダリング（VR）表示。



↑高感度, 微細サンプル
 Cr: ポリマーブレンド, 生体等. 有機物透過厚さ~1 mm
 Cu: 軽元素複合材料 (炭素繊維強化樹脂), 薬剤造粒粒子等. 有機物透過厚さ~数 mm
 Mo: 軽金属, セラミック, フィラー含有材料, 錠剤. 有機物透過厚さ~20 mm
 ↓高透過率

図7. ターゲットによるX線スペクトルの違いとX線イメージング.

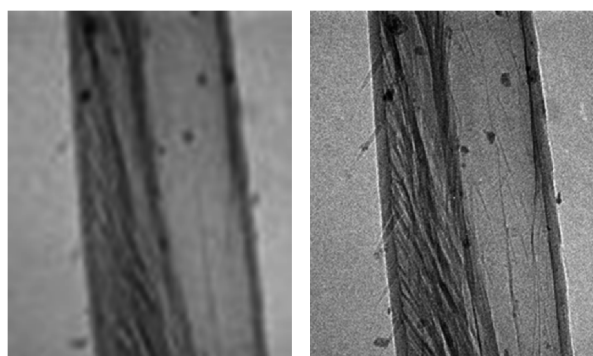


図8. 解像度による投影像の比較.

Step 2: 測定したい視野と空間分解能から X線カメラのレンズの選定

nano3DX では, 視野と最小画素数がX線カメラのレンズによって決まっている. このためにサンプル中の観察したい領域に合わせて視野と解像度を考慮したX線カメラのレンズを選択する.

同一レンズで, ピニングにより大きな画素サイズに変更できる. 画素サイズが2倍になると, 撮影時間を4分の1に短縮でき, かつ25 GBのCT再構成データ容量も少なくできることから, 目的に合った解像度を選択することで効率的なCT測定となる. 参考のために, 同一レンズで空間分解能の違いの例を図8に示す.

Step 3: 露光時間の決定

投影像の露光時間が長いほど, S/N比の高い画像が得られる. 露光時間が短い場合, ノイズの影響が大きくなってしまい, 細かい構造や密度差の小さい構造を判別することが難しくなる (図9). このような場合には露光時間を長くする必要がある.

また, 空間分解能を落とすと画像が荒くなる半面, 1画素あたりの面積が大きくなる. 同じ視野で比較した場合, 解像度を半分にすると1/4の露光時間でX線投影像を測定することができ, S/Nの高い画像を短時間で得られる.

nano3DXにはプロファイルという機能があり, 露光

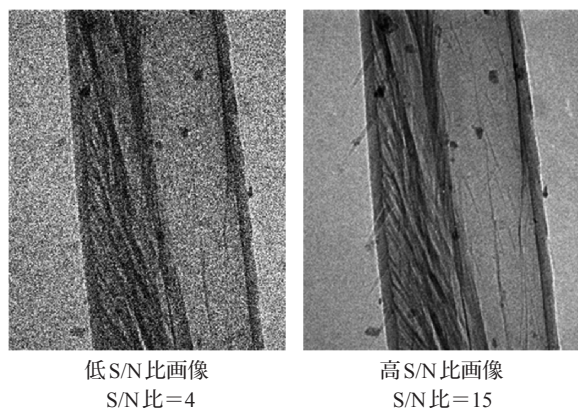


図9. S/N比による投影像の比較.

時間と解像度を決められる。

Step 4：投影数の決定

X線ターゲット、視野、解像度、露光時間が確定した後に、CT測定のプロジェクション数を決定する。プロジェクション数を多くすると空間分解能、S/N比が向上する。3. コンピュータトモグラフィー・Step 2：CT再構成の項に記したように、解像度と視野幅によりプロジェクション数は計算で求められるが、実際にはそれより少ないプロジェクション数で十分であり、サンプルの形状にもよるが必要なプロジェクション数は、おおよそ式(3)のような関係があり、180°の範囲で300～1000プロジェクションとなることが多い。

$$\text{投影数} \propto \frac{\text{サンプルサイズ}}{\text{解像度}} \quad (3)$$

投影数の違いによるCT再構成画像への影響を図10に示す。

単純にサンプルの形状を大まかに観察する際には100投影以下でも可能であるが、3次元解析等をする場合には投影数を多くする必要がある。

4.1. 糖衣錠による実例

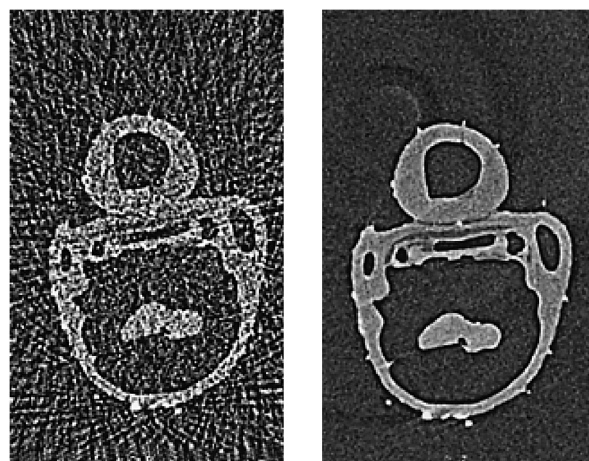
糖衣錠についてMoをX線ターゲットしてCT測定・再構成した画像でもって、解像度とS/N比（露光時間）に違いを比較した。なお、図11の投影画像に示す錠剤の中心部分の2×2 mmについてのみ、以下で表示した。

4.1.1. 解像度による違いの比較

2.16 μm/画素のCT測定の場合、それぞれの粒子が鮮明に写されている。また空隙（最も黒い部分）や、線状のヒビ割れも鮮明に確認された。8.64 μm/画素でのCT測定では、鮮明さが欠けるものの粒子も判別でき、空隙もよく確認できた。13 μm/画素でのCTでは、密度の高い粒子（白色）は判別できるものの、空隙やひび割れがほとんど確認できなくなっていた。

4.1.2. 露光時間による違いの比較

露光8秒でのCT測定では、それぞれの粒子が鮮明に区別され、空隙やヒビ割れも鮮明に確認できた。露光1秒でのCT測定では、密度の高い粒子は確認でき、数10 μm程度の空隙も確認できたが、ノイズが多くなり、微細な構造が不鮮明になっていた。



投影数 少 36 投影/180度
投影数 多 360 投影/180度

図10. 投影数によるCT再構成画像の違い。

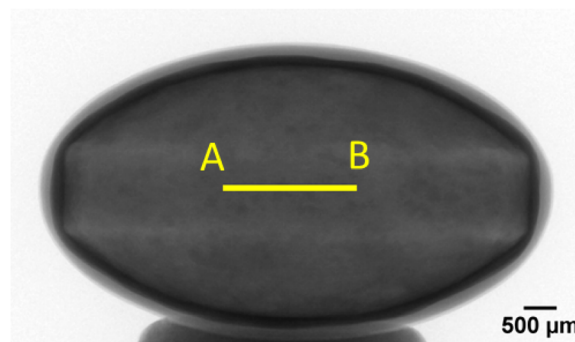


図11. 糖衣錠の投影像。

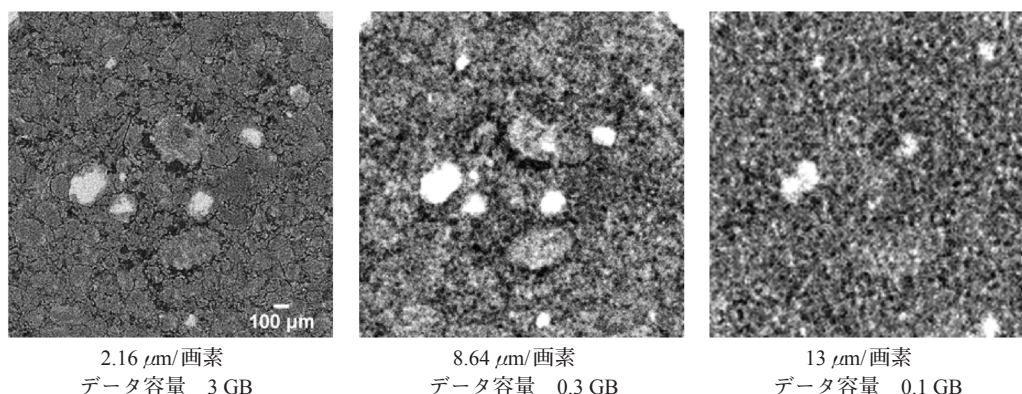


図12. 解像度を変えて測定したA-B断面 CT再構成画像。

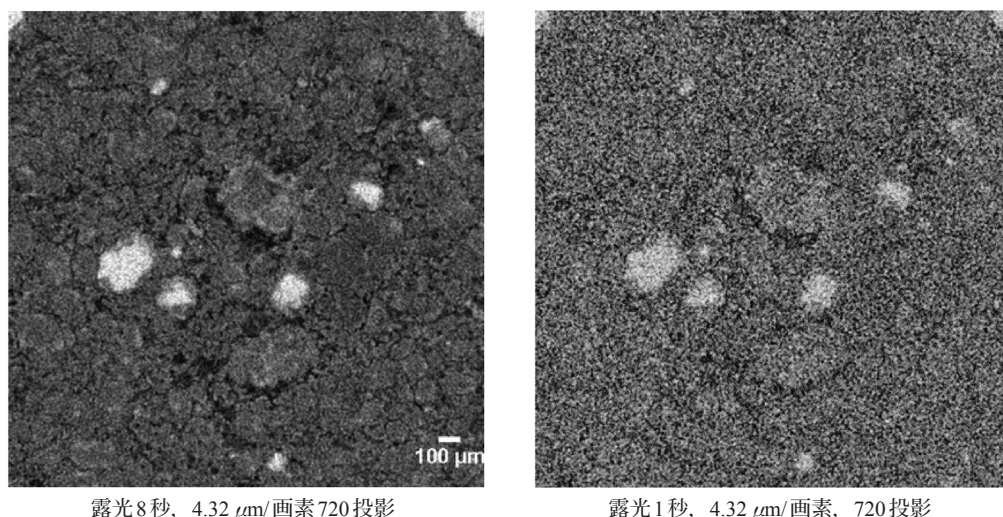


図 13. 露光時間を変えて測定した A-B 断面 CT 再構成画像.

5. おわりに

X線イメージングとはサンプルの線吸収の差を画像化しており、線吸収係数は物質の種類、密度、大きさに依存していること、またX線エネルギーにも依存することを説明した。CTの原理とCT画像に影響する測定パラメーターを説明した。さらに、錠剤を実例として、解像度および露光時間の違いによる画像について言及した。

なお、平成26年度繊維学会において、nano3DXを用いて炭素繊維強化樹脂（CFRP）の内部の3次元構造を広い範囲で非破壊観察し、材料力学的な特性との相関を議論した研究発表を行った。この講演発表「高感度X線顕微鏡による繊維複合材料の3次元観察」は、若手優秀発表賞を受賞したことを最後に報告する⁽¹¹⁾。

参考文献

- (1) リガクジャーナル, **43** (2012), No. 2, 28–30.
- (2) 武田佳彦: リガクジャーナル, **44** (2013), No. 1, 16–20.
- (3) X線回折ハンドブック (六版), 株式会社リガク, (2010).
- (4) S. Sasaki: *KEK Report No. 88-14 National Laboratory for High energy Physics*, (1989).
- (5) S. Sasaki: *KEK Report No. 90-16 National Laboratory for High energy Physics*, (1990).
- (6) B. L. Henke, E. M. Gullikson and J. C. Davis: *Atomic Data and Nuclear Data Tables*, **54** (1993), 181–342.
- (7) G. N. Hounsfield: *British J. Rad.*, **46** (1973), 1016.
- (8) 齊藤恒雄: 画像処理アルゴリズム, 近代科学社, (1998).
- (9) L. A. Feldkamp, L. C. Davis and J. W. Kress: *J. Opt. Soc. Am.*, **A1** (1984), 612–619.
- (10) 戸田裕之, 小林正和, 鈴木芳生, 竹内晃久, 上杉健太郎: 顕微鏡, **44** (2009), No. 3, 199–205.
- (11) <http://www.fiber.or.jp/jpn/events/2014/year/award.pdf>