

結像素子を用いた高分解能マイクロトモグラフィ

竹内晃久, 上杉健太郎, 高野秀和, 鈴木芳生

JASRI/SPring-8*

High-Resolution X-ray Microtomography with Imaging Device

Akihisa TAKEUCHI, Kentaro UESUGI, Hidekazu TAKANO and Yoshio SUZUKI

Japan Synchrotron Radiation Research Institute

Abstract

An x-ray microtomography method combined with hard x-ray imaging microscopy was developed that has a potential spatial resolution of the order of 10–100 nm. The system consists of a high-brilliance undulator source of SPring-8, a beam diffuser plate to reduce the coherence of the illumination, a high-precision rotating sample stage, a Fresnel zone plate objective, and a high-resolution x-ray imaging detector. The three-dimensional images of several samples were observed and successfully reconstructed with a pitch pattern of 0.6 μm .

1. はじめに

X線マイクロトモグラフィは生物, 材料科学, そして医学診断等様々な分野に応用できる技術として, 開発が進められてきた。この手法は, 非常にシンプルな投影型の光学系を用いている。この場合高空間分解能化への鍵となるのは, ビームのコリメーションのよさとイメージ検出器の空間分解能である。この手法で現在, 約1 μm の空間分解能が得られている^{1,2)}。SPring-8 BL47XUでは, すでにこの投影型の高分解能マイクロトモグラフィが共用化されており, 大体10–30 keVの範囲で空間分解能1~2 μm の空間分解能が得られている。

しかし, 以下に述べる2つの理由から, この手法で更に分解能を上げるのは, はば不可能である。一つは投影型マイクロトモグラフィにおいては避けることのできない問題であるX線の屈折や回折による像のボケである。もう一つはイメージ検出器の空間分解能である。フレネル回折によって生じる像のボケの大きさ Δ_F は, λ をX線波長, L を試料-検出器間距離とすると, $\Delta_F = (\lambda L)^{1/2}$ で表される。例えば, 波長1 Åで空間分解能1 μm 程度の光学系を作るには, $L = 10$ mm以下にすればよい。しかしながら, 空間分解能を更にその一桁上, つまり100 nmオーダーにするためには, $L = 100$ μm 以下にする必要がある。これはほぼ密着投影型光学系と同じような条件のセットアップになる。しかしながら, 厚みのある試料を用いるマイクロトモグラフィにおいては, これはもはや物理的に不可能な距離といえる。また, 同様の理由から, 拡大投影型光学系(結晶の非対称反射を利用したものも含む)は必然的に試

料-検出器間距離が大きくなるため, 高分解能化には適しない。これは像の拡大によって検出器の分解能を補うことが不可能であることを意味し, 結局, 系の分解能は検出器の分解能そのものに決定されてしまうことを意味する。X線イメージ検出器の高分解能化への開発により, 可視光変換型, 電子光学系変換型の検出器で1 μm 程度の分解能が得られるようになってきた³⁻⁵⁾。しかしそれらも結局X線から可視光または電子線に変換する蛍光板, 光電面の分解能に左右されており, そこからの飛躍的な分解能向上を望むのは難しい。

このように, 空間分解能の向上という点では投影型マイクロトモグラフィはもはや物理的な限界に達している。これより更に高い分解能が要求される場合は, 別の新たな光学系を取り入れる必要がある。それには2通りの方法があり, 一つはX線結像光学系を用いること(結像型マイクロトモグラフィ; imaging microtomography)であり, もう一つはホログラフィの技術を用いる(ホログラフィックマイクロトモグラフィ, ホロトモ; holographic microtomography)方法である。これらの手法はX線の屈折, 回折の影響を著しく軽減することができ, それにより10~100 nmオーダーの空間分解能を見込むことができる。しかも, 投影型光学系の様に像の拡大で分解能が低下することがないので, 系の空間分解能が検出器に左右されない。ただし, これらの光学系は焦点が存在するため, 投影型には無かった新たな制約が加わる。つまり, 焦点ボケが生じないように, 試料の直径はそれぞれの焦点深度よりも小さくする必要がある。また, 試料を回転しながら像を撮

* JASRI/SPring-8 利用研究促進部門Ⅱ 〒679-5198 兵庫県佐用郡三日月町光都 1-1-1
TEL: 0791-58-0833 FAX: 0791-58-0830 E-mail: take@spring8.or.jp

るCTにおいては、焦点深度がそのまま有効視野の大きさ、つまり試料の大きさの上限を決定する。しかし逆に、これらの条件さえ成り立てば、Radon変換を基本とする従来の投影型CTの再構成計算法がそのまま使用できる⁶⁾。このように、有効視野を広くとるためには焦点深度が深い方が望ましい。そして、分解能に対して焦点深度が大きい方が有効なサンプリング数を大きく取れることになる。結像光学系では、焦点深度と空間分解能の比は結像素子毎に決まっており、その値は結像素子の開口数と反比例の関係にある。これは硬X線領域では非常に大きく、大体 $10^3 \sim 10^4$ 程度のサンプリング数が取れることになり、一般的なCCDカメラのピクセル数とほぼ一致する。空間分解能が100 nmのとき、100 μm 以上の視野が取れることになる。

我々は、いち早くこのことに着目し、結像光学系を用いたマイクロトモグラフィの開発を行ってきた。現在、世界的にもマイクロトモグラフィの高空間分解能化の流れは結像、またはホログラフィへと向かいつつある。特に軟X線領域では、フレネルゾーンプレート(FZP)を用いた結像型で、空間分解能数十nmと、すでに回折限界に近い空間分解能での細菌の3次元観察が成功している^{7,8)}。硬X線領域では、ESRFで位相コントラストホログラフィクトモグラフィの開発が進められており^{9,10)}、また、屈折レンズを用いた結像型の開発も行われている¹¹⁻¹³⁾。当初、ミラーを用いて空間分解能数 μm 、2次元の再構成像からスタートした我々は⁶⁾、現在FZPを用いて空間分解能0.6 μm の3次元再構成像を得るに至った¹⁴⁾。ここではその結果を紹介する。

2. 実験光学系

実験は、SPring-8 BL47XUにて行っている。光学系をFig. 1に示す。使用しているX線エネルギーは7~10 keVである。

結像光学系において、照明系として最も理想的なのは、結像素子と同程度の発散角を持つインコヒーレントな光学系である。発散角がこれより小さいと空間分解能が低下し、逆に大きいと光量のロスが大きくなる。また、コヒーレンスの高い照明系は色々な光学素子一例えば、X線窓、モノクロメータ、結像素子など一表面粗さの影響によるスペックル状のノイズを像に形成する。BL47XUの実験ハッチ位置における8 keVのX線の垂直方向空間コヒーレンスは約80 μm 、角度発散は約2 μrad である。これだけの高いコヒーレンスと、平行性の高いビームは上記の理由から、結像光学系の照明光としては不適切である。照明系のコヒーレンスを低下させ、ビーム発散角を大きくするために、我々はビーム拡散板なるものを用いた。これは数十~数百ミクロン程度の粒径を有するグラファイトパウダーを、2枚のカプトン膜で挟み込んだもので、これにX線を照射し散乱させることで、X線の発散角を広げ、

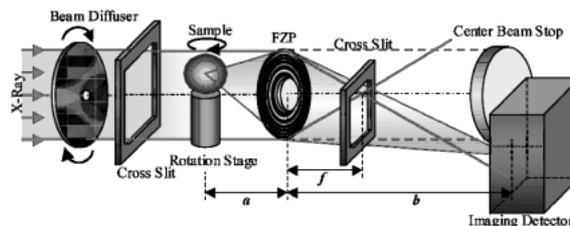


Figure 1. Schematic diagram of setup for x-ray imaging microtomography. $f=160$ mm, $a=176$ mm and $b=1760$ mm (when energy: 8 keV, magnification: $\times 10$).

コヒーレンスを低下させる。また、拡散板自身からでるスペックルノイズは、像の露光中にこれを絶えず回転させておく(10 Hz程度)ことで、平均化させて抑える^{15,16)}。これにより、照明光の発散角は半値幅約35 μrad になり、また、像からスペックルノイズは殆ど見られなくなった。

結像素子に用いたFZPは、NTT-AT社製、電子ビームリソグラフィ法で作成されたものである。最外輪帯幅0.25 μm の同心円状輪帯パターンを持ち、ゾーン数100。輪帯の厚さは1 μm 、材質はタンタルである。直径100 μm 、8 keVのX線に対する焦点距離は160 mmになる。厚さ2.4 μm 、直径50 μm の金のパターンがFZPの中心についており、これがセンタービームストップ、つまりFZPを透過するゼロ次回折光をストップする役割をする。ゆえにこの結像素子は輪対比0.5の輪帯開口をもつ。このFZPのマイクロビームナイフエッジスキュン法による分解能評価テストでは、ほぼこの素子の回折限界に等しい半値幅0.3 μm のスポットサイズが得られ、この素子が理想的な形状を持っていることが確かめられている¹⁷⁾。

イメージ検出器には、“浜松ホトニクス社製ビームモニタAA50”を用いた。これは厚さ約10 μm の単結晶蛍光体(Lu₂SiO₅:Ce)、光学顕微鏡用対物レンズ($\times 12$ 、開口数0.3)、そして冷却型CCDカメラ(ピクセルサイズ12 $\mu\text{m} \times 12 \mu\text{m}$ ピクセル数1000(H) $\times 1018$ (V))からなる可視光変換型の検出器であり、実効的なピクセルサイズ1 $\mu\text{m} \times 1 \mu\text{m}$ に対し、空間分解能の実測値は半値幅で1.8 μm であった。

X線結像光学系の倍率は7.6倍、または10倍であった。このときの試料位置でのピクセルサイズ1辺の換算値はそれぞれ0.13 μm と0.1 μm になる。結像には、FZPからの1次回折光のみを用いるため、その他の次数の光をカットするために4象限スリットを試料の直前、そしてFZPの後焦点面位置においている。さらに、ダイレクト光の除去がFZPのセンタービームストップだけでは不十分なので、それを補うためにイメージ検出器の直前にもビームストップ用の直径200 μm の金ワイヤーを置いている。

このセットアップで、テストパターンを試料に用いて結像特性の評価実験を行った。実験により得られた系の

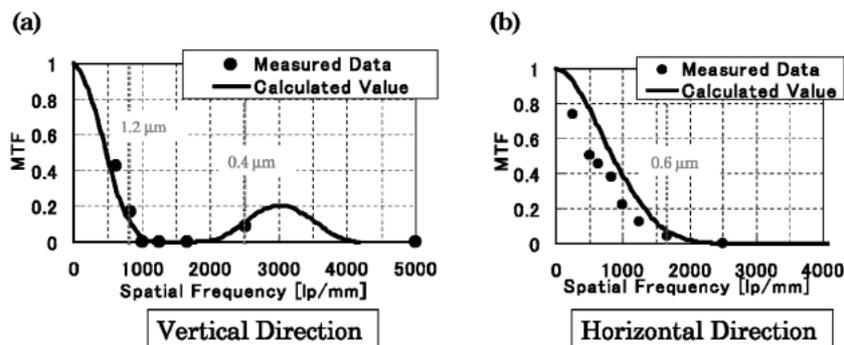


Figure 2. Modulation transfer functions (MTF) of the optical system (plot: measured data, solid line: calculated value). The measured data were estimated from the image contrast of the test chart that had structures of each spatial frequency. Angular spread of the illumination, aperture of the imaging device, magnification of the system, and the MTF of the imaging detector were considered in the calculated value.

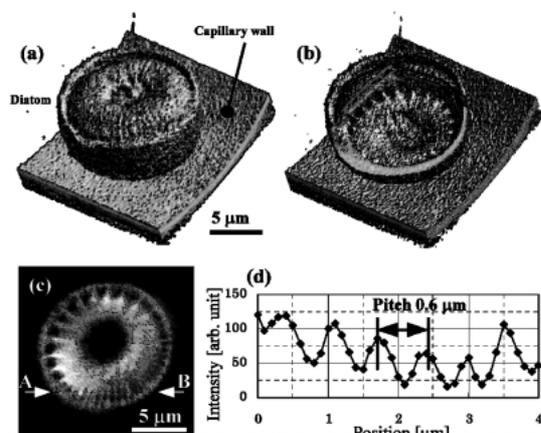


Figure 3. X-ray tomographic reconstructed images of diatom fossil (*Stephanodiscus niagarae*). Energy: 8 keV, number of projection: 180. (a) three-dimensional image of outer structure, (b) inner structure revealed by cropping one part of 3-D image, (c) sliced image, and (d) intensity profile along line A-B in (c). Curved plate in (a) and (b) below diatom corresponds to inner surface of glass capillary used to hold sample.

MTFをFig. 2に示す。得られた空間分解能は $0.6 \mu\text{m}$ (水平方向)であり、結像素子の回折限界である $0.3 \mu\text{m}$ より悪かった。この原因は、照明系にビーム拡散板を用いたとはいえ、まだまだ入射光の発散角 ($35 \mu\text{rad}$) が、結像素子の開口角 ($284 \mu\text{rad}$) に比べて非常に小さかったためである。また、MTFの応答、つまり像のコントラストも悪い。これは使用した検出器が、分解能は良いが、MTFの応答があまり良くなかったことが原因である。さらに、この光学系は、光軸上のダイレクト光をカットした光学系であるため、Off-Axis条件となる。このため、結像特性は垂直方向 (Fig. 2(a)) と水平方向 (Fig. 2(b)) で異なった性質を持っていた。これらの結像特性の実験値は、照明系、結像素子の開口、倍率、検出器のMTFを考慮した理論値と比較して非常に良い一致を示している¹⁸⁾。

この結像素子の焦点深度は約 $500 \mu\text{m}$ で、前章で述べた

とおり最大この程度の大きさまでCTの視野として有効に利用できる。しかしながら、このセットアップでは、視野はFZPの大きさで決定され、大体横 $80 \mu\text{m}$ ×縦 $40 \mu\text{m}$ であった。CTの実験においては、試料を回転するため、試料を内径 $20 \mu\text{m}$ ～ $80 \mu\text{m}$ のガラスキャピラリー内に静電的に固定し、回転ステージ上にこのガラスキャピラリーをマウントした。試料用の回転ステージは、日立製エアベアリング軸受け型で、軸ぶれの精度は $0.1 \mu\text{m}$ 以下である¹⁾。1章で述べたように、CTの光学系が変わったからといって、従来のCTと特別異なる測定手順、再構成計算などをする必要はない。従来と同じように0度から180度までを180～360投影分撮影し、コンボリューションバックプロジェクション法で再構成計算を行った。一回の投影に要する露光時間は、1分～2分程度、全体の測定時間は6時間程度であった。

3. 結果

試料に珪藻土 (*Stephanodiscus niagarae*) を用いたものをFig. 3に示す。珪藻土はnm～ μm オーダーの微細な3次元構造を持っているため、よく光学顕微鏡や軟X線顕微鏡などでは標準試料として用いられるが、マイクロトモグラフィの3次元分解能評価用としても非常に有用である。Fig. 3(a)は3次元再構成像、Fig. 3(b)はその中身が見えるように、計算機上でカットしたものである。珪藻土の下に見えるゆるい曲率を持った物体は、この試料のホールドに用いたガラスキャピラリーである。Fig. 3(c)はこの試料のスライス像である。この試料が放射状に、非常に細かい筋状のパターンを持っているのがわかる。Fig. 3(c)上、線A-Bに沿ったライン上のプロファイルをFig. 3(d)に示す。このプロファイルから、本結像光学系の空間分解能と等しい約 $0.6 \mu\text{m}$ ピッチのパターンが解像できているのがわかる。

Fig. 4は別の珪藻土 (*Achnanthisdium lanceolata*) の再構成像である。Fig. 3と同じように、Fig. 4(a), (b)は、

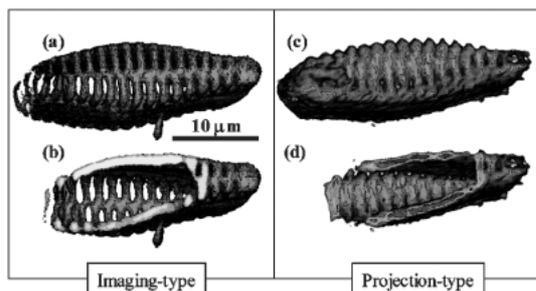


Figure 4. X-ray tomographic reconstructed images of diatom fossil (*Achnanthisidium lanceolata*), (a) (b) taken with the imaging-type microtomography (energy: 8 keV, number of projection: 360), and (c) (d) taken with projection-type microtomography. (energy: 15 keV, number of projection: 360).

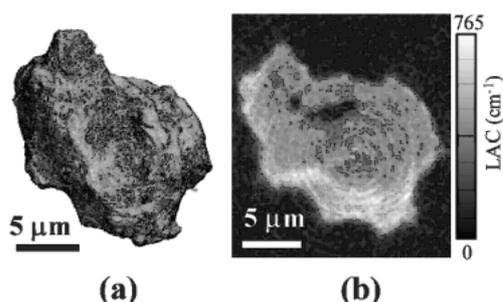


Figure 5. X-ray tomographic reconstructed images of a piece of Allende meteorite (energy: 8 keV, number of projection: 100). (a) three-dimensional image and (b) sliced image (LAC: linear absorption coefficient).

それぞれ3次元再構成像と、その一部を計算機上でカットした像を示す。また、比較のために空間分解能 $1\ \mu\text{m}$ の投影型マイクロトモグラフィ²⁾で撮った同じ試料の再構成像をFig. 4(c), (d)に示す。結像型で得られた像 (Fig. 4(a), (b))の方が、投影型のそれ (Fig. 4(c), (d))よりも、網目状の微細構造 (ピッチ約 $1.5\ \mu\text{m}$) がより鮮明に解像できている。また、両方の像のカットされた断面 (Fig. 4(b)と Fig. 4(d))を見比べると、投影型で撮られた方の像 (Fig. 4(d))では、試料の殻の断面が空洞に見える。これは屈折の影響によるエッジエンハンスの効果により、殻の輪郭が強調されて再構成されたためと考えられる。実際、結像型の方 (Fig. 4(b))ではこのような空洞は見えず、断面はほぼ様な吸収係数分布を示している。つまりこのような微細な構造に対して、投影型よりも結像型は屈折の影響が少なくより正確に像の再構成ができていることがわかる。ただし、露光時間で両者を比較すると、投影型は像一枚あたり2秒の露光時間であったのに対して、結像型は60秒を要した。

Fig. 5は、金属を含む試料として測定した隕石 (Allende 隕石) の再構成像である。Fig. 5(a), (b)はそれぞれ、三次元像と2次元断層像である。断層像からは、細かいヒビや穴が見られる。また、像の下部には、吸収係数

の比較的高い領域が分布している。この部分は、鉄の吸収端前後で大きくコントラストが変化しており、鉄が多く含まれているエリアであると思われる。

4. 考察・今後の課題

Fig. 3, 4に示したように、結像光学系を用いることによって、X線マイクロトモグラフィは従来の投影型光学系では不可能であったサブミクロンの空間分解能を実現することができた。最終的には、 $10\sim 100\ \text{nm}$ オーダーの空間分解能を目指す。とりあえずの当面の改善点としては、まず照明系の改良が挙げられる。本実験では照明光の角度発散が結像素子のそれに比べて極端に小さかったため、空間分解能が使用したFZPの回折限界まで到達していなかった。拡散板だけでなく、コンデンサーレンズ等を用いて更に発散角を広げる必要がある。

本実験では、一枚の像を得るのに1分～数分、全体の測定に6時間程度を要した。これは、照明系、結像素子、検出器の効率を改善することで測定時間はまだまだ短縮化できる余地が残っている。例えば、本実験で用いた検出器の蛍光板は、空間分解能が高い代わりに効率が比較的低い。結像光学系の場合、検出器の分解能が低くてもその分倍率を大きくすれば問題無いので、現在、分解能は落ちるが効率の高い蛍光板を用いることを検討している。CCD自体の改良も行っており、これによりピクセルサイズ $0.1\ \mu\text{m}$ の条件でも、一枚の露光時間は数秒程度まで短縮することができる。更に結像素子、照明系の改良も加えて最終的には、数秒の露光での撮影が目標である。

Fig. 5では、含有物に鉄を含む試料の再構成像を示したが、投影型CTではこういった含有物を含む試料に対して、更に吸収端前後の像の差分を取って特定の元素の三次元イメージングを行うことができる。これを結像型光学系で行おうとした場合、特にFZP等を用いた光学系で行うには色収差の影響を考慮しなければならない。回折格子の一種であるFZPは、エネルギー E のX線に対して、FZPのゾーン数 N のとき $\Delta E/E \sim 1/N$ 程度のエネルギー分解能を持ち、これが結像素子としての色収差の許容となる。本実験で用いたFZPは、 $N=100$ であるため、例えば鉄の吸収端 $7.1\ \text{keV}$ に対して、 $\Delta E \sim 70\ \text{eV}$ 程度であり、この範囲内のエネルギー変化であれば色収差の影響は無視できる。これは鉄の吸収端前後の差分像を取るには十分なエネルギー変化量である。本稿には間に合わなかったが、今後はこの手法のR&Dも進めて行く予定である。

謝辞

産業技術総合研究所の辻野匠氏並びに京都大学の三宅亮氏には、珪藻土を提供していただき、この試料について多くの助言を頂きました。大阪大学理学研究科の土山明氏には、隕石を提供していただき、更に隕石やCTに関して多くのアドバイスを頂きました。この場をお借りして深くお

礼申し上げます。

参考文献

- 1) K. Uesugi, Y. Suzuki, N. Yagi, A. Tsuchiyama and T. Nakano: *Nucl. Instrum. Meths. A* **467-468**, 853 (2001).
- 2) K. Uesugi, Y. Suzuki, N. Yagi, A. Tsuchiyama and T. Nakano: *Proc. SPIE* **4503**, 291 (2001).
- 3) A. Koch, C. Raven, P. Spanne and A. Snigirev: *J. Opt. Soc. Am. A* **7**, 1940 (1998).
- 4) H. Takano, Y. Suzuki, K. Uesugi, A. Takeuchi and N. Yagi: *Proc. SPIE* **4499**, 126 (2001).
- 5) Y. Hwu, W. L. Tsai, B. Lai, J. H. Je, G. H. Fecher, M. Bertolo and G. Margaritondo: *Surface Science* **480**, 188 (2001).
- 6) A. Takeuchi, K. Uesugi, Y. Suzuki and S. Aoki: *Jpn. J. Appl. Phys.* **40**, 1499 (2001).
- 7) J. Lehr: *Optik* **104**, 166 (1997).
- 8) D. Weis, G. Schneider, B. Niemann, P. Guttman, D. Rudolph and G. Schmahl: *Ultramicroscopy* **84**, 185 (2000).
- 9) P. Cloetens, W. Ludwig, J. Baruchel, D. Van Dyck, J. Van Landuyt, J. P. Guigay and M. Schlenker: *Appl. Phys. Lett.* **75**, 2912 (1999).
- 10) P. Cloetens, W. Ludwig, E. Boller, L. Helfen, L. Salvo, R. Mache and M. Schlenker: *Proc. SPIE* **4503**, 82 (2001).
- 11) C. G. Schroer, T. F. Gunzler, B. Benner, M. Kuhlmann, J. Tummler, B. Lengeler, C. Rau, T. Waitkamp, A. Snigirev and I. Snigireva: *Nucl. Instrum. Meths. A* **467-468**, 966 (2001).
- 12) C. Rau, T. Waitkamp, A. Snigirev, C. G. Schroer, J. Tummler and B. Lengeler: *Nucl. Instrum. Meths. A* **467-468**, 929 (2001).
- 13) C. G. Schroer, B. Benner, T. F. Gunzler, M. Kuhlmann, B. Lengeler, C. Rau, T. Waitkamp, A. Snigirev and I. Snigireva: *Proc. SPIE* **4503**, 23 (2001).
- 14) A. Takeuchi, K. Uesugi, H. Takano and S. Suzuki: *Rev. Sci. Instrum* (2002).
- 15) D. L. White, O. R. Wood II, J. E. Bjorkholm, S. Spector, A. A. MacDowell and B. LaFontaine: *Rev. Sci. Instrum.* **66**, 1930 (1995).
- 16) M. Awaji, Y. Suzuki, A. Takeuchi, H. Takano, N. Kamijo, S. Tamura and M. Yasumoto: *Nucl. Instrum. Meths. A* **467-468**, 845 (2001).
- 17) Y. Suzuki, A. Takeuchi, H. Takano, T. Ohigashi and H. Takenaka: *Jpn. J. Appl. Phys.* **40**, 1508 (2001).
- 18) A. Takeuchi, K. Uesugi, H. Takano and Y. Suzuki: *Proc. SPIE* **4499**, 29 (2001).