

国内放射光施設横断 X 線小角散乱ラウンドロビン実験

Synchrotron Radiation Facility Crossing Round Robin Experiments of
Small Angle X-ray Scattering

杉山 信之^a, 山元 博子^a, 加藤 裕和^b, 大坂 恵一^c, 佐藤 眞直^c, 杉本 泰伸^d

Nobuyuki Sugiyama^a, Hiroko Yamamoto^a, Hirokazu Kato^b,

Keiichi Osaka^c, Masugu Sato^c, Yasunobu Sugimoto^d

^a 科学技術交流財団, ^b あいち産業科学技術総合センター,

^c 高輝度光科学研究センター, ^d 名古屋大学

^a Aichi Science & Technology Foundation, ^b Aichi Center for Industry and Science Technology,

^c Japan Synchrotron Radiation Research Institute, ^d Nagoya University

本研究では、X 線小角散乱測定ができるビームラインの特徴把握及び情報共有を目的とし、金コロイド溶液を測定試料として SPRing-8 BL19B2 とあいちシンクロトロン光センター BL8S3 ビームラインで X 線小角散乱測定を行った。その結果、両施設の波数分解能に違いは見られなかったが、BL8S3 に不自然な空気散乱の存在することを確認できた。また、今回用いた金コロイド溶液では、測定条件により異なった濃度値を示すかあるいは濃度が経時的に変化する可能性があることが判明した。さらに、ベヘン酸銀とコラーゲンで角度の校正値にずれが生じていることが判明した。

キーワード： 金コロイド溶液、X 線小角散乱、ラウンドロビン実験

背景と研究目的：

X 線小角散乱 (Small Angle X-ray Scattering: SAXS) は、nm 領域の構造に対して平均的な解を与える手法として広く一般的に用いられている[1, 2]。SAXS では、ダイレクトビーム近傍の散乱 X 線を観察するために試料-検出器間の距離を長くする必要があり、散乱角に対して指数関数的に強度が落ちる散乱をより広い角度範囲でとるために強度が強い光源が必要であること、などの理由により、放射光を用いた測定に利点があり、国内にある主要な放射光施設で測定できるように整備されている。近年では様々な産業分野への応用も進んでおり、我々も SAXS 技術を用いた研究を精力的に進めている。施設横断 SAXS 測定を行った既報では、統計的手法を用いた詳細な検討の結果、施設やカメラ長といった条件に関係なく、サブナノメートルの精度で粒子サイズや粒子分布、濃度の与える手法であることが示されている[3]。しかしながら、SAXS として同じ結果を与えるとしても、個々の施設でやれることや得意なことなどに大きな差があり、その差は Web サイト等を参照しても見えてこないのが実情である。

そこで、本研究では産業界を中心とした利用ユーザーがそれぞれの測定試料や測定目的に合致したビームラインを選択できるような情報を施設側が提供するため、施設横断的に実験を行うこ

ととした。具体的に、施設横断的に SAXS を測定することで、

- ・ビームラインの特徴を洗い出し、各施設の得意分野を可視化すること
- ・同一の測定試料を用いて機能や性能の絶対値を把握すること

を目標として、放射光施設横断ラウンドロビン実験を行った。

実験：

測定は SPring-8 BL19B2 とあいちシンクロトロン光センター BL8S3 で行った。なお、BL19B2 では SAXS 測定のほか、超小角 X 線散乱 (Ultra Small-Angle X-ray Scattering: USAXS) 測定も行った。測定条件は表 1 のとおりである。なお、光子数は試料直前に置かれたイオンチャンバーでの計測から計算して得られた値である。また、測定エネルギーは各施設で標準的に用いられているものを用いた。

表 1. 各ビームラインでの測定条件

ビームライン	SPring-8 BL19B2		AichiSR BL8S3
測定日	2018 年 8 月 2 日		2018 年 11 月 16 日
エネルギー	18 keV		13.5 keV
検出器	PILATUS 2M		PILATUS 100K
分光器	Si(111) 2 結晶分光器		Ge(110) 1 結晶分光器
光子数	7.6 × 10 ⁹ photons/sec		3.5 × 10 ⁸ photons/sec
測定手法	SAXS	USAXS	SAXS
光学系	収束光学系 縦：湾曲全反射ミラー 横：集光ミラー	非収束光学系 ミラー不使用 スリット光学系	収束光学系 縦：湾曲全反射ミラー 横：湾曲単結晶モノクロメータ
ビームサイズ	H0.3 mm×V0.3 mm	H0.3 mm×V0.3 mm	H0.4 mm×V0.3 mm
カメラ長	3,045 mm	40,840 mm	4,016 mm
較正用試料	ベヘン酸銀	コラーゲン	コラーゲン
露光時間	60 s	300 s	300 s
真空パス	試料周り及び検出器 周り以外に設置	試料周り及び検出器 周り以外に設置	試料周り及び検出器 周り以外に設置

施設間の機能や性能の絶対値の算出を容易にするため、典型的な試料として金コロイド溶液を選択し、測定を行った。金コロイド粒子を選択した理由は、散乱プロファイルが推定しやすく、検出器の感度や試料位置での輝度、散乱プロファイルのダイナミックレンジの比較、ビームサイズやエネルギー幅等が影響する波数分解能を検討するために適していると思われるからである。

Sigma-Aldrich 製金コロイド溶液(平均粒子径 5 nm、10 nm、20 nm、30 nm、100 nm、200 nm)を用意し、それぞれを試料セルに入れて粒子径 5 nm、10 nm、20 nm、30 nm の金コロイド溶液については SAXS 測定を、粒子径 100 nm、200 nm の金コロイド溶液については USAXS 測定を行った。実験に用いた金コロイド溶液のカタログ上のサイズおよび濃度は表 2 のとおりである。また、粒

子径の分散はすべての粒子サイズにおいて 10%以下である。各試料について、バックグラウンド散乱と同程度の散乱強度になるまで 3 倍希釈と測定を繰り返した。希釈は 25 mg の Tween20 (モノラウリン酸ポリオキシエチレンソルビタン) を 100 mL の水に溶かした溶液 (0.025w/v% Tween20 水溶液) を用いて行った。

用意した試料セルは光路長 3 mm で、窓材に人造マイカ(厚み 20 μm)を用いた。窓材の差による影響を減らすため、試料セルは 3 個のみ用意し、洗浄及び共洗いをしながら繰り返し使用した。バックグラウンドは、希釈用の 0.025w/v% Tween20 水溶液を入れた溶液セルを測定した。また、バックグラウンドはそれぞれの試料セルで測定し、同じ試料セルで測定した試料の散乱から引いた。得られた散乱画像は全周で次元化処理を行い、文献の方法に従って絶対強度に変換して比較検討を行った[4]。

表 2. 金コロイド溶液の濃度 (カタログ値)

平均粒子サイズ(nm)	粒子濃度(mL^{-1})
5	5.47×10^{13}
10	5.98×10^{12}
20	6.54×10^{11}
30	1.79×10^{11}
100	3.84×10^9
200	1.9×10^{11}

結果および考察：

- ・ 希釈前試料の測定

SAXS 測定した 4 種類の試料について、カタログ表記上の濃度と粒子径、粒径分布から計算される散乱プロファイルと各施設で測定された結果を図 1 に示す。

粒子径 10 nm の金コロイド溶液を除き、散乱の最大強度、極小値の位置など、散乱プロファイルは定性的には計算値と一致していた。一方、粒子径 10 nm の金コロイド溶液については、散乱の最大強度が低く、極小値の位置が高 q 側にずれていた (図 1b)。両施設で同様の傾向であったため、カタログ値より金コロイド粒子の濃度が低く、粒子径が小さいことが示唆される。

次に、BL19B2 で得られた粒子径 30 nm の金コロイド溶液の測定結果から、カタログ上の値を初期値としてパラメータフィットした結果を図 2 に、同様に計算して得られた各粒子の濃度、粒子径及び分散を表 3 に示す。なお、粒子径 5 nm の溶液のデータについては、散乱プロファイルの形状が孤立した球をモデルとした場合の計算結果と合わず、分散まで含めたフィッティングができなかった。球の周りに無視できない厚みの界面活性剤等の層が形成されているためと考えられる。今回はフィッティングを合わせることを目的とした測定ではないため、粒子径 5 nm の溶液のデータについては分散を考慮せず、粒子径と濃度のみを検討した。フィッティングで得られた結果を見ると、BL19B2 の精度の方が全体的に高くなっている。BL19B2 の光子数が多く、測定時間を加味しても散乱強度が高いため、S/N がよいためと考えられる。

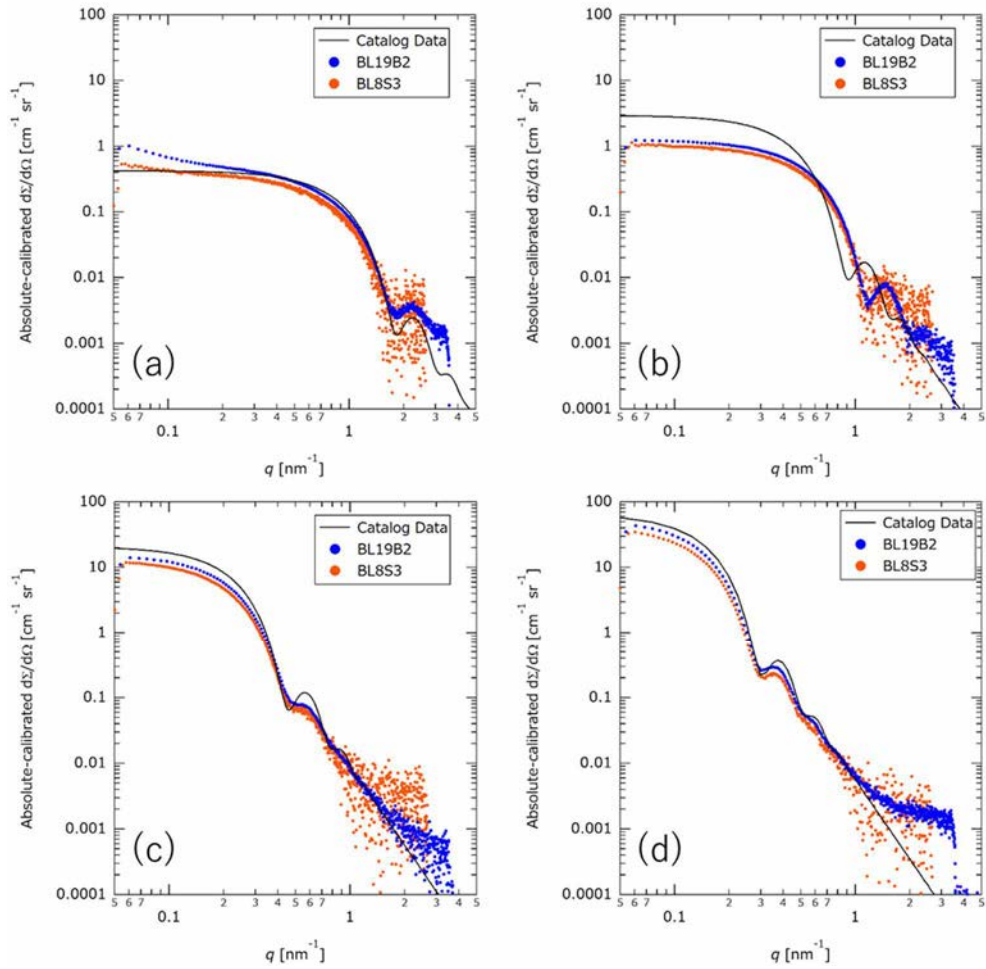


図 1. 金コロイド粒子からの散乱プロファイルとカタログ値から計算された散乱プロファイル
 粒子径は、(a)5 nm、(b)10 nm、(c)20 nm、(d)30 nm

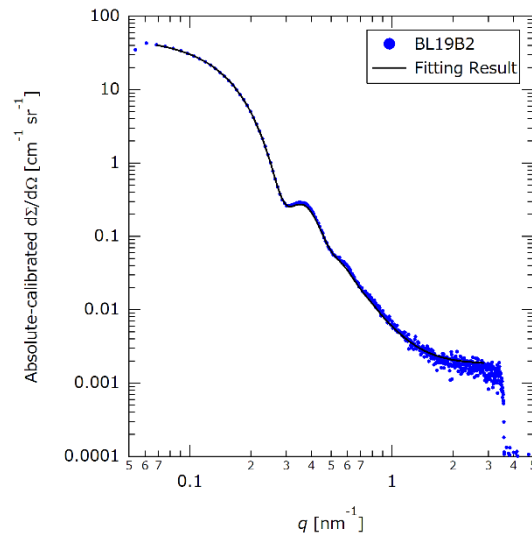


図 2. 散乱プロファイルのフィッティング結果

表 3 各粒子径のカタログ値とフィッティングで得られた値

	カタログ	5	10	20	30	100	200
サイズ(nm)	BL19B2	5.18(6)	7.762(2)	19.625(7)	30.617(2)	98.80(2)	203.05(3)
	BL8S3	5.53(4)	7.77(1)	19.736(5)	30.794(4)		
	カタログ	5.47×10^{13}	5.98×10^{12}	6.54×10^{11}	1.79×10^{11}	3.84×10^9	1.90×10^{11}
粒子(mL^{-1})	BL19B2	$4.24(16) \times 10^{13}$	$1.060(3) \times 10^{13}$	$5.080(8) \times 10^{11}$	$1.2524(5) \times 10^{11}$	$3.496(3) \times 10^9$	$9.75(1) \times 10^8$
	BL8S3	$2.55(9) \times 10^{13}$	$8.79(8) \times 10^{12}$	$4.070(5) \times 10^{11}$	$9.456(5) \times 10^{10}$		
	カタログ	0.5	1	2	3	10	20
分散(nm)	BL19B2	—	0.99(6)	3.14(6)	4.14(8)	10.5(3)	21(1)
	BL8S3	—	1.3(1)	3.28(8)	4.22(6)		

また、粒子径については粒子径 10 nm の金コロイド溶液を除き、カタログ値とほぼ同等であったが、BL19B2 より BL8S3 の結果の方がやや大きく見積もられた。これは横軸の校正が BL19B2 と BL8S3 で異なっていることが原因だと思われる。BL8S3 ではコラーゲンをを用いているため、コラーゲンの湿度による伸縮の影響が出ているものと推察される。

さらに、濃度については、粒子径 10 nm の金コロイド溶液を除き、両施設ともカタログ値より低い値となった。5 nm、20 nm、30 nm の金コロイド溶液で計算すると、BL19B2 で 0.75 倍程度、BL8S3 で 0.54 倍程度である。すべての溶液で日期的に先に測定した BL19B2 のフィッティング結果の方が高く見積もられていることから、粒子の凝集や試薬保管容器内面へ吸着することなどにより、濃度が低下している可能性がある。あるいは、粒子径 5 nm の金コロイド溶液を除き、各施設で得られた濃度の比がおおよそ一定であることから、測定エネルギーの違いで吸収係数が BL19B2 と BL8S3 で異なり、散乱強度に影響していることも考えられる。これら 2 つの可能性を検討するためには、①BL19B2 で再度測定を行い、結果が再現するか否かを確認する、②各施設で異なるエネルギーで測定しているため、両施設で同じエネルギーで測定して比較する、などのような、さらなる検証が必要である。一方、粒子径 200 nm の金コロイド溶液は、カタログ値から大幅に濃度が低く、凝集や沈殿などにより低濃度化していると思われる。そのため、ラウンドロビン実験用の試料としては安定性が足りず、不適であると結論付けた。

分散については、全体的にカタログ値より大きな値となる傾向であった。界面活性剤の存在を仮定して計算した場合でも、粒子径が 20 nm 以上では分散の値に変化はなかった。一方で粒子径 10 nm の場合は、界面活性剤を仮定した場合に分散が小さくなる傾向があり、その値は粒子径の 10%程度であった。メーカーが分散を決定した方法は不明であるが、BL19B2 と BL8S3 で大きな差はないことを考えると、メーカー採用の方法は SAXS とは別の手法であると推察される。一方で粒子径 100 nm と 200 nm ではカタログ値と USAXS の結果はほぼ等しく、100 nm 以上になれば、メーカー採用の方法と USAXS に差はないといえる。

分解能を比較するため、粒子径 30 nm の金コロイド溶液の散乱プロファイルを微分した結果を図 3 に示す。波数分解能の高いビームラインほど得られる散乱プロファイルを微分した場合の振幅が大きくなると考えられるが、今回の結果では顕著な違いは認められなかった。波数分解能が同程度であるか、散乱プロファイルの波数 q に対する変化がゆるやかであるため分解能の違いが認められないかのどちらかだと思われる。ダイレクトビームサイズから得られる理論的な波数分

解能値は、BL19B2 で 0.014 nm^{-1} であるのに対し、BL8S3 では 0.011 nm^{-1} であったため、大きな違いはないとするのが妥当である。

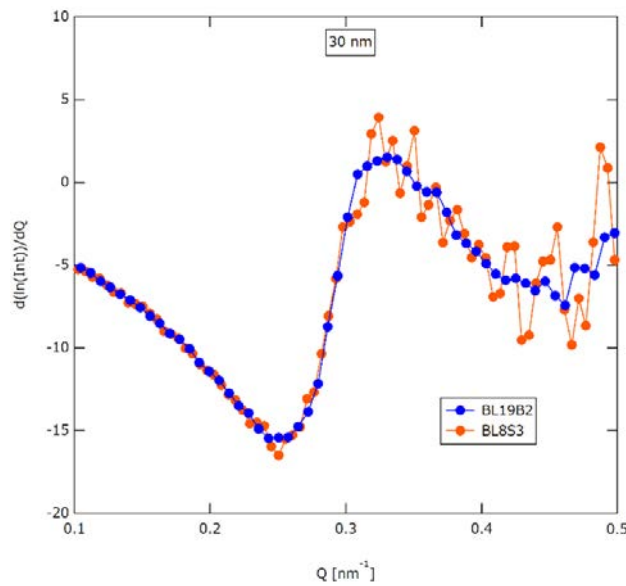


図 3. 30 nm 金コロイド溶液散乱プロファイルの微分結果

・希釈試料の測定

今回 SAXS で測定した中でもっとも散乱強度が強いのは粒子径の大きい 30 nm の金コロイド粒子である。また、USAXS で測定した中では 200 nm の金コロイド粒子である。これらを用いて、3 倍ずつ希釈して測定したときの散乱プロファイルを図 4 及び図 5 に示す。また、BL8S3 で測定された 30 nm 金コロイド粒子の測定結果を図 6 に示す。いずれも強度の最大値は希釈するたびにおよそ 1/3 に下がっており、希釈は正しく行われたことを示している。ただし、BL19B2 の SAXS 及び USAXS で 1/729、BL8S3 の SAXS で 1/243 は、バックグラウンドの影響が表れており、正しく 1/3 の強度になっていない。これを本実験における希釈限界と定義すると、測定した粒子の、各施設での SAXS 測定に対する希釈限界は表 4 のようになった。この差の主因は試料位置での光子数の違いであるが、BL19B2 で使用されている集光ミラーの影響が大きいものと考えている [5,6]。

実際、グラッシーカーボンから見積もられる光子数は BL19B2 の方が約 22 倍大きい、今回の測定は測定時間が 5 倍、希釈限界の差が 3 倍程度なので、おおよそ 15 倍の差と見積もられるため、妥当である。

・溶液セル及び空気散乱

BL19B2 で得られた空の溶液セルのみの散乱プロファイルを図 7 に示す。溶液セルの散乱は用意した 3 つのセルで異なっていた。おそらく人造マイカの厚み等が異なっているためと推察される。しかし 3 つのセルともに散乱は低く、空気散乱と比較すれば誤差程度であった。微小な信号が溶液セルの信号で隠れることもなく、試料の散乱測定に与える影響は限定的であるといえる。

溶液セルなしの空気散乱の測定結果を図 8 に示す。空気散乱は BL19B2 と BL8S3 で高 q 側の散乱に違いがみられた。具体的には、BL8S3 の散乱の 0.2 nm^{-1} 以上の部分に不自然な散乱の上振れが見られた。おそらく空気由来の散乱だと思われる。この散乱の上に試料由来の散乱が乗る形になるため、空気散乱が低い方が小角散乱には有利である。現在までのところ、BL8S3 のいびつな散乱の原因になっている散乱源は特定できていない。

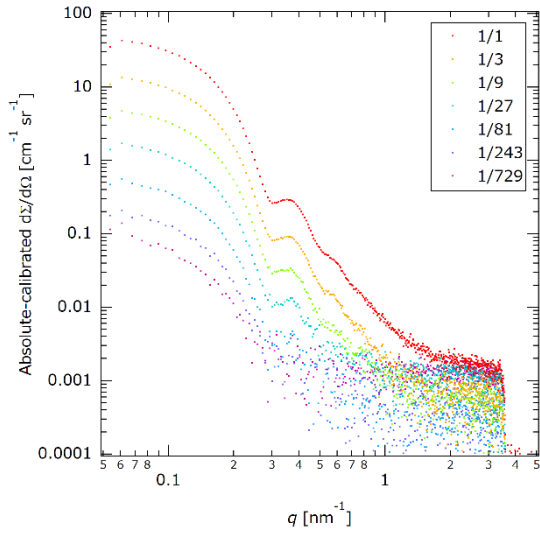


図 4. 金コロイド希釈溶液の散乱プロファイル
(粒子径 30 nm、BL19B2 SAXS 測定)

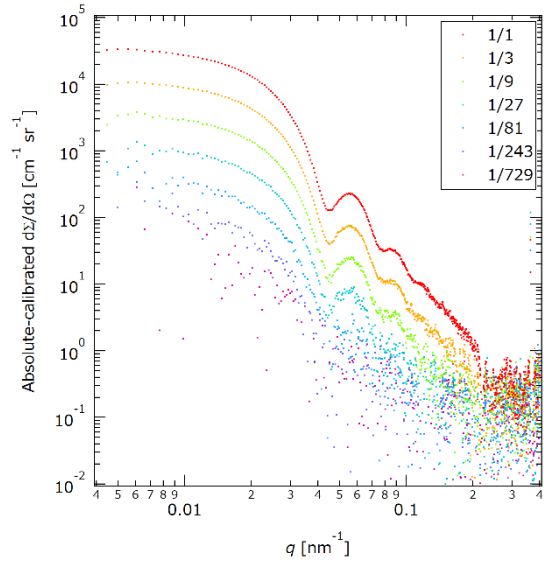


図 5. 金コロイド希釈溶液の散乱プロファイル
(粒子径 200 nm、BL19B2 USAXS 測定)

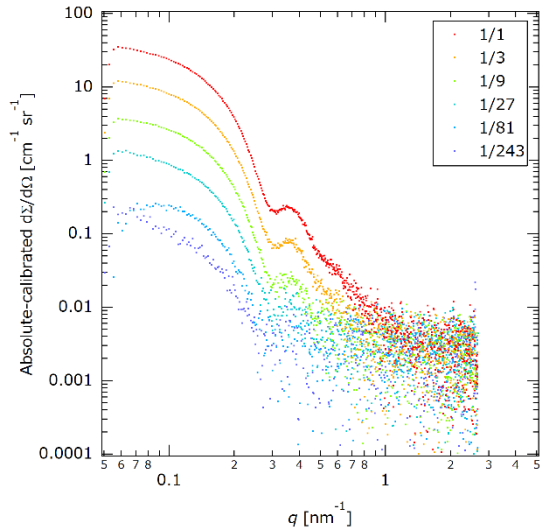


図 6. 金コロイド希釈溶液の散乱プロファイル
(粒子径 30 nm、BL8S3 SAXS 測定)

表 4 各粒子径の金コロイド粒子の希釈限界

サイズ (nm)	5	10	20	30	100	200
BL19B2	$\frac{1}{27}$	$\frac{1}{81}$	$\frac{1}{243}$	$\frac{1}{729}$	$\frac{1}{243}$	$\frac{1}{729}$
BL8S3	$\frac{1}{9}$	$\frac{1}{27}$	$\frac{1}{81}$	$\frac{1}{243}$		

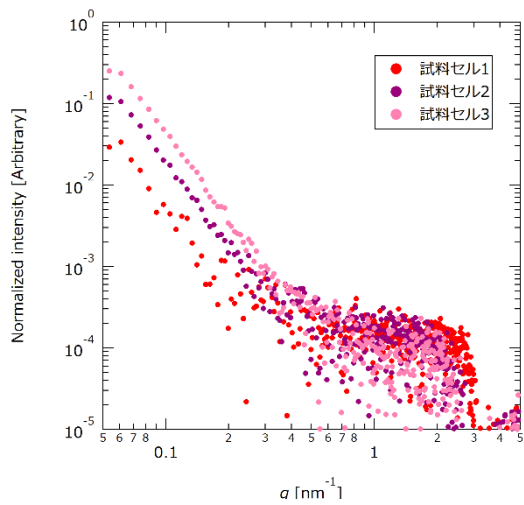


図 7. 空の溶液セルのプロファイル

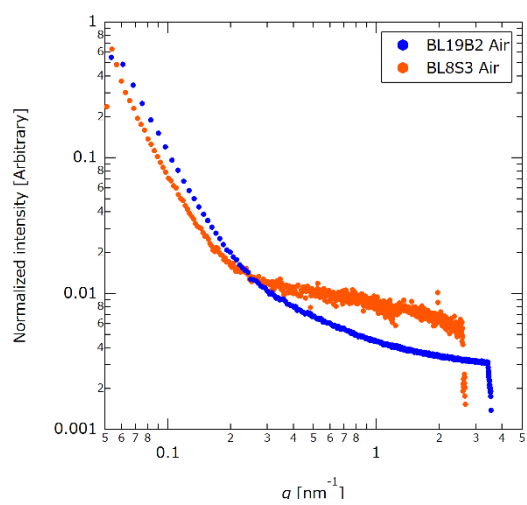


図 8. 各施設での空気の散乱プロファイル

まとめ：

- ・ビームラインの特徴など

金コロイド溶液の SAXS 測定で比較した場合、波数分解能に大きな違いはなかった。一方で、光子数の差に起因すると思われる違いもいくつか見られた。今回の実験で、カメラ長較正用標準試料の違いにより横軸のズレが存在することを顕在化することができた。このことは従来問題視されてこなかった課題であり、ラウンドロビン実験の重要な成果だと考えられる。さらに、BL8S3 の不自然な散乱の上振れが存在することを明確化することができた。

- ・機能・性能の絶対値

測定した金コロイド溶液のうち、粒子径 10 nm はカタログ値と比較して濃度が低く、粒子径が小さく見積もられた。また、粒子径 5 nm では単純な球状粒子モデルではフィッティングできなかった。さらに、粒子径 200 nm の溶液では明らかに経時的に濃度が変化していると思われ、今後のラウンドロビン実験における試料選択や実験方法に工夫が必要であることが示された。

今後の課題：

金コロイド溶液の濃度は BL19B2 の方が全体的に高く見積もられていたが、これが劣化による影響なのか、測定エネルギーが異なるための影響なのか、今回の実験ではわからなかった。同じ溶液を再測定してみる、両施設で同じエネルギーで測定して比較する、といった追加の実験が必要である。また、ラウンドロビン実験を謳いながら、実質は 2 ビームラインの比較のみになってしまった。次を行う機会があれば、より多くの施設で測定を行ってみたい。

さらに、BL8S3 の不自然な散乱の上振れが何に由来するのか判明しなかった。引き続き検討を行いたい。

謝辞：

本研究は光ビームプラットフォームの一環で行ったものである。

参考文献：

- [1] 橋本竹治、X 線・光・中性子散乱の原理と応用、講談社、日本、2017、第 1 章。
- [2] 松岡秀樹、日本結晶学会誌, **41**, 213 (1999).
- [3] Brian R. Rauw *et al.*, *J. Appl. Cryst.*, **50**, 1280 (2017).
- [4] Andrew J. Allen *et al.*, *J. Appl. Cryst.*, **50**, 462 (2017).
- [5] 佐藤真直、SPring-8 利用研究成果集, **6**, Section B, 234 2012A1763 (2018).
- [6] 佐藤真直、SPring-8 利用研究成果集, **6**, Section B, 245 2012B1520 (2018).