

## 共焦点レーザー顕微鏡を用いたフィッション・トラック自動 計数の基礎的研究

猪又竜\*・金森智哉\*\*・山口一裕\*\*・北岡豪一\*\*

### Fundamental study on automatic fission track counting using a confocal scanning laser microscope

Ryu Inomata\*, Tomoya Kanamori\*\*, Kazuhiro Yamaguchi\*\*  
and Kohichi Kitaoka\*\*

\* 岡山理科大学大学院理学研究科(現 京都大学大学院理学研究科地球惑星科学専攻)

\*\* 岡山理科大学理学部基礎理学科

#### はじめに

フィッション・トラック (FT) 年代測定法は試料中の自発トラック密度が、その試料の年代とウラン濃度に比例しているという原理に基づいている。自発トラック密度は、測定者が一般的な顕微鏡下で、単位面積あたりのエッチングされたトラックを数えることで求められる。現在のこのような方法では、一試料の FT 計数に対して数時間を要してしまう。

そこで、FT 計数の能率を上げるためいくつかの画像処理による自動計数が試みられた (Wadatsumi and Masumoto, 1989; Schwarze et al., 1996; Masumoto and Raghavan, 1994)。しかし、一般的な光学顕微鏡下の FT 像を利用しているため、トラックを正確に認識できず、いまだ実用化には至っていない。つまり、深さ方向にさまざまな角度で存在するトラック像が、使用した顕微鏡の焦点深度に依存しているためである。

最近、Petford and Miller (1992) は、共焦点レーザー顕微鏡 (Confocal Scanning Laser Microscope : 以下 CSLM) を用いてマイカディテクター上の誘導トラックを観察した。その像は高解像度で非常に焦点深度の浅いものであり、トラックはエッチピットとして観察された。もしこれと同様にジルコンやアパタイト中の自発トラックがエッチピットとして観察できれば、トラックの存在角度に関係なくエッチピットとして観察できるので、トラック計数が画像処理により可能とな

るのではないだろうか。

本研究では、CSLM と画像処理ソフトウェアを用いた FT 自動計数についての基礎的な実験を行ったので報告する。

#### 実験

高知県足摺岬付近からの深成岩 7 試料、歌長流紋岩からジルコンを一般的な方法で分離した後、PFA テフロンシートにマウントした。それぞれのシートは研磨を行い結晶内部面を露出させた。エッチングは NaOH - KOH 等モル共融液を用い、225℃で 40 ~ 60 時間行った。

Carl Zeiss 社製湿式対物レンズ (×100) と接眼レンズ (×10) を用いて自発トラック密度を測定した。FT の計数領域は一度結晶面から焦点をずらし FT が見えない状態で決定した。トラックは以下の 4 つの項目に注意して識別した。(1) 直線性、(2) 一定長、(3) 発生方向のランダム性、(4) 明確な終端を持つこと (檀原 1995)。

測定エリアは一辺 29.9 $\mu\text{m}$  の正方形とした。これは後に CSLM を用いて観察する際に、測定エリアを CSLM 画像と完全に一致させるためである。合計 134 エリアを計数し、全てのトラックをスケッチして CSLM 画像との比較に用いた。

CSLM は、レーザー波長 633nm、焦点深度 0.7 $\mu\text{m}$ 、スキャンスピード 2s に設定し、光学顕微鏡下で計数したエリアとまったく同

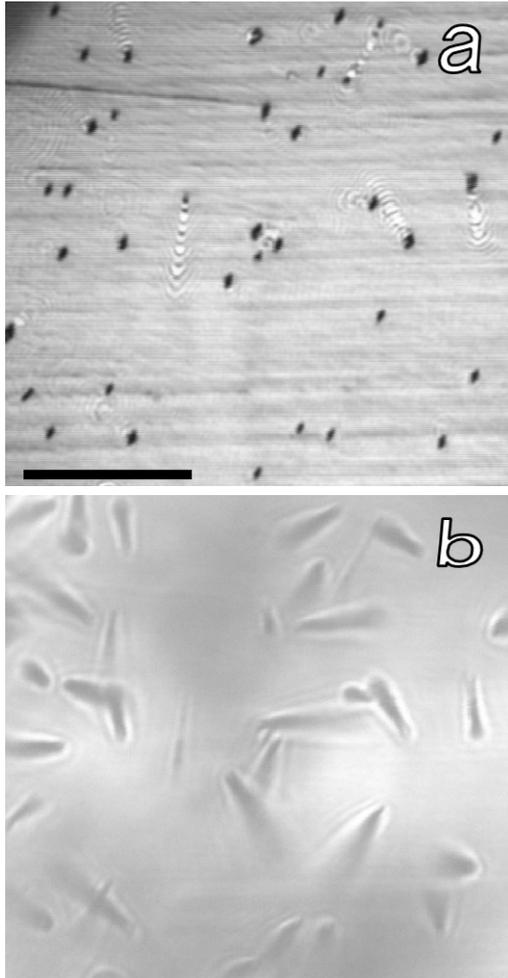


Fig. 1. ジルコン中のFT像. CSLM像 (a), 従来の顕微鏡像 (b). (a) と (b) は同一エリア. Scale bar = 10 $\mu$ m.

一の範囲内の画像をパソコンにTIFF形式で取り込んだ。

画像処理にはScion Imageというフリーのソフトウェアを用いた。このソフトは細胞や染色体などを自動計数する際に用いられている。Scion Imageでは指定した範囲内のピクセル数を持つ対象物を計数するという命令になっているため、スケッチと比較しながら、約3000個のエッチピットのピクセル数を測った。

Scion Imageを用いた自動計数の流れは以下のとおりである。

- (1) 計数対象物を赤色に置き換える
- (2) ピクセル数の最小値, 最大値を入力する

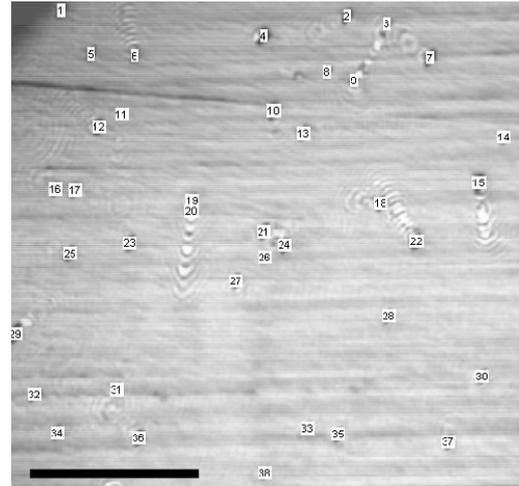


Fig. 2. Scion Imageを用いた自動計数結果の一例。

(3) 指定した範囲内(ピクセル数)の対象物が自動計数される

従来の方法による計数結果と自動計数結果を比較し考察した。

## 結果と考察

### 1. CSLMを用いたFT像

Surface tracksはCSLMを用いることによってエッチピットとして観察できた(Fig. 1)。従来の光学顕微鏡では見えていたconfined trackや結晶内部のインクルージョンは観察されないこともわかった。

しかし、結晶表面から浅い角度で存在しているトラックはレーザーとの干渉縞を表していた。干渉縞はCSLMの設定を変更しても消えることはなかった。この干渉縞の黒い部分をStriped Pattern (SP)と呼ぶことにする。また、しばしば2つもしくはそれ以上のエッチピットが極めて近接しているために1つのエッチピットとして観察されることがある。トラック長の情報が失われているため、CSLM像のみで識別するのは困難である。この2つ以上のエッチピットが1つのものとして観察されるものをJointed Spots (JS)と呼ぶことにする。これらSPとJSはFTのランダム性から、トラック密度に関係なく一定の割合で起こるものと予想できる。

### 2. トラック自動計数

Fig. 2 は Fig. 1 の CSLM 画像を Scion Image で自動計数した結果である。全ての対象物が計数され、38 個という結果を得た。38 個中 37 個はエッチピットであるが、20 番は SP を計数したものである。このエリアには JS は起こっていないが、他のエリアではしばしば確認でき、計数値に影響していた。

Table 1 は 134 エリアの従来の方での計数結果 (Ntc) と自動計数結果 (Nta) の一部である。ほとんどのエリアで、Ntc よりも Nta が若干多い値である。このことから JS よりも SP を計数する割合が多いことを示唆している。

そこで以下の式が考えられる。

$$Nta = N + Nsp - Njs \quad \dots \dots \dots (1)$$

ここで、N は真のエッチピットの数 (Surface track の数)、Nsp は SP を計数した数、Njs は JS を数えた数である。SP, JS はトラックのランダム性から計数値に独立して一定の割合で起こると考えられるので、以下の式が考えられる。

$$Ksp = Nsp / Nta, \quad \dots \dots \dots (2)$$

$$Kjs = Njs / Nta, \quad \dots \dots \dots (3)$$

Ksp, Kjs は Nta に対する Nsp, Njs の割合である。(1), (2), (3) 式から、

$$N = Nta (1 - Ksp + Kjs).$$

Fig. 3 は、134 エリアについて、Ksp と

Table 1. 従来の方による計数結果と自動計数結果の比較 (一部)

	エリア 1	エリア 2	エリア 3	エリア 4	エリア 5	エリア 6	エリア 7	エリア 8
Ntc	53	75	75	74	117	47	70	7
Nta	56	77	77	78	119	50	75	7

Ntc : 従来の方での計数結果, Nta = 自動計数結果

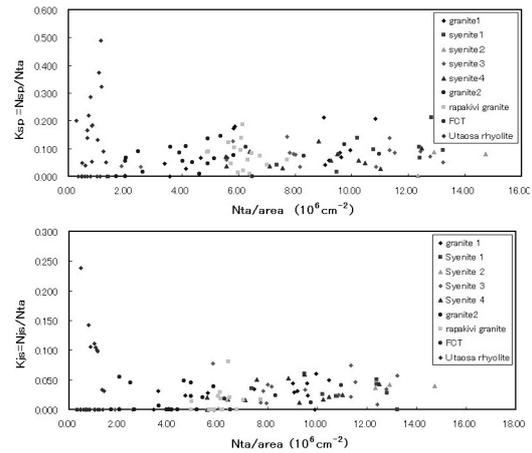


Fig. 3. Nta に対する Ksp (上) と Kjs (下) の関係。(横軸; 計数エリアの面積は全て等しいので、密度に置き換えてある)。

Kjs を調べ、プロットしたものである。全体的にはほぼ一定の値におちついているように見える。しかし低密度試料では 1 エリアあたりの計数対象が非常に少ない為、Nsp や Njs の割合が高くなり、ばらつきが大きい。そこでいくつかの密度に区切って、それぞれの平均値を求めたところ、Ksp, Kjs は一定の値をとることがわかった。Ksp は  $0.078 \pm 0.076$ , Kjs は  $0.024 \pm 0.034$  となった。Ksp, Kjs がそれぞれ一定の値で起こることがわかったので以下の補正係数 Ksj を定義する。

$$Ksj = (1 - Ksp + Kjs)$$

$$N = Nta \cdot Ksj$$

$$Ksj = 0.946 \pm 0.083$$

### 3. 補正計数 Ksj の評価

新しく試料を調整し、従来の方でトラックを計数し CSLM 画像を取り込んだ。この際スケッチは行わなかった。同様の方法で自動係数を行い Ksj で補正させ結果を比較した (Table 2)。この補正は、画像中の SP, JS の存在は確認せず一様に行った。結果、低密度試料ゆえに多少のばらつきがあるが、全体の平均値はよく一致した。

さらに多くの試料を用いて Ksj の精度を高

めることが必要である。

Table 2. 補正後の自動計数結果.

### まとめ

CSLMを用いることにより、FTをエッチピットとして観察でき、トラックの情報を簡略化できた。CSLM画像中で問題となった、浅い角度で存在するトラックとレーザーによる干渉縞や、2つ以上のエッチピットが1つのものとして観察されることが一定の割合で起こることがわかった。CSLM画像をScion Imageで処理し、自動計数させ一定の数値で補正させることによって従来の方法で計数した場合とよく一致した結果を得ることができた。

### 文献

- 檀原徹, 1995, 第四紀研究, 34, 221-237  
 Petford, N. and Miller, J. A. 1992, American Mineralogist, 77, 523-533.  
 Wadatsumi, K. and Masumoto, S. 1989, J. Geosci. Osaka City University, 32, 23-37.  
 Masumoto, S. and Raghavan, V., 1994, FT newsletter, 7, 52-53.

	Nta	$\rho_e$	Ntc	$\rho_s$
1	9	0.952 ± 0.084	8	0.895
2	6	0.635 ± 0.056	6	0.671
3	3	0.317 ± 0.028	3	0.336
4	4	0.423 ± 0.037	4	0.447
5	9	0.952 ± 0.084	9	1.007
6	5	0.529 ± 0.046	5	0.559
7	7	0.741 ± 0.065	6	0.671
8	8	0.847 ± 0.074	7	0.783
9	9	0.952 ± 0.084	9	1.007
10	23	2.434 ± 0.214	23	2.573
11	15	1.587 ± 0.139	15	1.678
12	4	0.423 ± 0.037	4	0.447
13	3	0.317 ± 0.028	3	0.336
14	5	0.529 ± 0.046	5	0.559
15	8	0.847 ± 0.074	8	0.895
16	8	0.847 ± 0.074	8	0.895
17	8	0.847 ± 0.074	9	1.007
18	3	0.317 ± 0.028	3	0.336
19	1	0.106 ± 0.009	1	0.112
20	6	0.635 ± 0.056	6	0.671
21	6	0.635 ± 0.056	4	0.447
22	4	0.423 ± 0.037	3	0.336
23	7	0.741 ± 0.065	7	0.783
24	9	0.952 ± 0.084	9	1.007
25	3	0.317 ± 0.028	3	0.336
26	9	0.952 ± 0.084	9	1.007
27	4	0.423 ± 0.037	4	0.447
28	7	0.741 ± 0.065	7	0.783
29	7	0.741 ± 0.065	6	0.671
30	7	0.741 ± 0.065	6	0.671
31	6	0.635 ± 0.056	6	0.671
32	11	1.164 ± 0.102	9	1.007
33	12	1.312 ± 0.115	10	1.119
34	6	0.635 ± 0.056	6	0.671
35	3	0.317 ± 0.028	3	0.336
36	6	0.635 ± 0.056	6	0.671
37	4	0.423 ± 0.037	4	0.447
38	9	0.952 ± 0.084	6	0.671
39	10	1.058 ± 0.093	9	1.007
40	8	0.847 ± 0.074	8	0.895
41	9	0.952 ± 0.084	9	1.007
42	13	1.376 ± 0.121	11	1.230
43	6	0.635 ± 0.056	4	0.447
44	9	0.952 ± 0.084	8	0.895
45	7	0.741 ± 0.065	7	0.783
46	10	1.058 ± 0.093	10	1.119
47	8	0.847 ± 0.074	6	0.671
		<b>0.775 ± 0.068</b>	<b>322</b>	<b>0.766</b>

$\rho_s$  = 従来の方法による自発トラック密度 ( $\times 10^6 \text{cm}^{-2}$ )

$\rho_e$  = 自動計数によるエッチピット密度 ( $\times 10^6 \text{cm}^{-2}$ )