島根大学文理学部紀要　理学科篇6　75—80頁　1図 1973年3月10日
Mem. Fac. Lit. & Sci., Shimane Univ., Nat. Sci., 6, March 10, 1973

地学試料のレプリカ法

大久保雅弘
(島根大学文理学部地学教室)

(1972.9.30受理)

Replica techniques for the geologic materials.

Masahiro OKUBO

まえがき

わが国の地質学に電子顕微鏡観察が積極的にとり入れられて，超微化石の観察や化石の微細構造の研究を主とする超微地質学の分野が歩みはじめてから10年余りが経過した。この間，観察手段として電子顕微鏡が果した役割りは，きわめて大きいものがある。

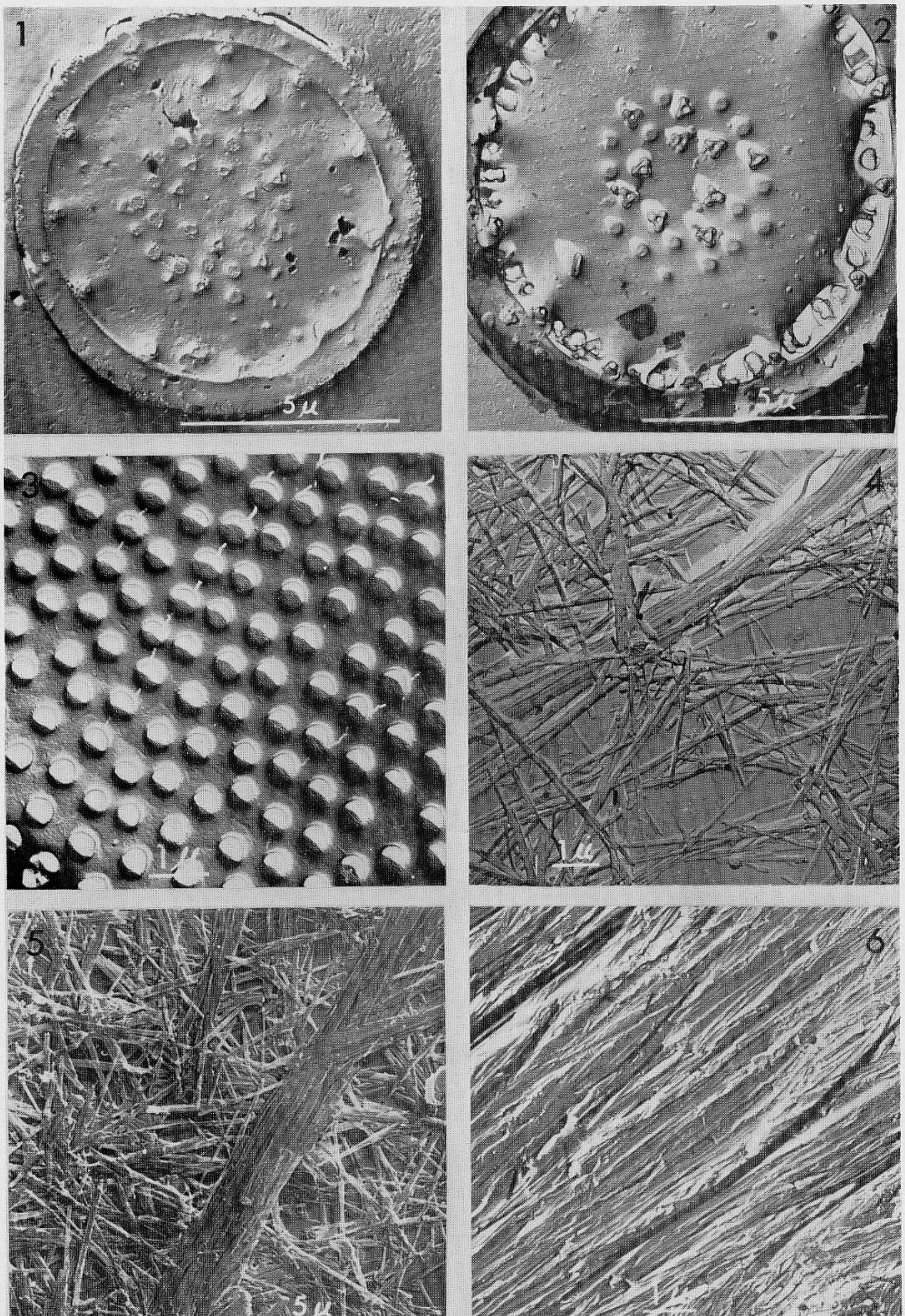
この種の研究に，どのような方法や手段がとられてきたかを，化石の場合を例にとって簡略に示すとつぎのようになる。

試料	非脱灰組織	研磨薄片	偏光顕微鏡
		研磨面	反射顕微鏡
		粉末	電顕・X線
		破断面・研磨面のレプリカ	電子顕微鏡
		エポン包埋・薄切	〃
	脱灰組織	エポン包埋・薄切	〃
		セロイジン包埋・薄切	光学顕微鏡

生物試料においては，切片の状態で観察されることが多いが，地学試料にあっては必ずしもそうではない。とくに電顕観察のさいにはレプリカ法が常用されている。それは，表面構造に意味があること，および試料が硬いために切片を作るのが困難であること，に基づいている。

たとえば，1000倍の光学顕微鏡像では，もはや正焦点がえられないような微化石が数多くあるが，従来はその程度の観察を基準にして分類が行なわれてきた。そこで，もしこれらの表面構造の形態が，電顕観察によって明瞭になれば，分類体系が変らざるをえないであろう。また，化石や鉱物の表面構造の観察は，結晶成長の研究に関連していることはいうまでもない。

このように，当面は化石や鉱物などの表面構造の観察例の集積が待たれるのであるが，その技術的裏付けとして，レプリカ法が問題になる。地学試料のレプリカ法にかんしては，化石の


1
5 μ
2
5 μ
3
1 μ
4
1 μ
5
5 μ
6

研究法[1]に手法が要約されているし，さらに全般の手法については電顕試料技術集[2]に現代の技術が集大成されている。また，電顕学会誌には新しい着想がつぎつぎと紹介されているので，これらの文献は，追試したり，あるいは手法のヒントをうるのに便利である。

しかし，レプリカのとり方は，試料の性質により，また目的に応じて，最良のものを考えなくてはならないのであって，一律の手法は通用しない。筆者は，化石および若干の鉱物について，レプリカ法および超薄切片法を試みてきたが，ここでは微小物体のレプリカ法についてのべることにする。

なお，図版Ｉの写真はスーパースコープ（日本電子ＫＫ.JEM-30B）で撮影した。

レプリカ法の選択

現在のレプリカ法のうち，最も一般的な手法は，アセチルセルローズ・フィルムを使った２段レプリカ法である。その長所は簡便さにあるといえるが，決して万能ではない。試料面の性質によって成否がわかれる。たとえば，化石でも鉱物でもよいが，それらの研磨面を作らないで，破断面（試料を叩き割った破片の面）のレプリカをとるとき，表面の凹凸が大きすぎたり，気泡が混入したり，また微粉状の鉱物片が付着したりして，失敗しがちである。あるいは，研磨面を作ったとしても，試料が多孔質な場合には，しばしば気泡の防害を経験するところである。

そのようなとき，筆者はレプリカの材質を他のものに変えるか，あるいはレプリカの中間段階を変えるか，いずれかの手法をとることにしている。すなわち，試料と目的に適したレプリカ法を選ぶのであるが，地学試料においては，その条件が千差万別なのである。大きさだけについていえば，肉眼的な通常の大きさの試料には一般的な２段レプリカ法も通用するが，微小な試料では，それに適した別の手法が要求される。

現在，微小な地学試料の表面構造にかんする知識は乏しい。そこで，レプリカにとりにくい微小物体（珪藻および粘土鉱物）を例にとって，１段法，２段法および３段法について記述しておきたい。

なお，最近，走査型電子顕微鏡の利用が増大しており，すぐれた立体像の観察が可能になってきた。しかし，像の解像力の点では，透過型電顕像にはおよばないところであって，今後，走査型電顕が普及しても，なおレプリカ法の有用性は減少しないものと思われる。

図版Ｉ説明

１～３．珪藻．岡山県真庭郡八束村花園の珪藻土（第四系）より産出。
１：*Cyclotella comata* (Ehr.) ２段レプリカ　２：同前，１段レプリカ　３：*Stephanodiscus niagarae* Ehr.　２段レプリカ

４～５，セピオライト。岩手県気仙郡住田町上有住の滝観洞より産出
４：１段レプリカ　５：同前。ネガを反転したもの　６：３段レプリカ

1 段 レ プ リ カ 法

試料面に炭素蒸着をしたのち，両者を分離させる手法である。すなはち，真空蒸着型1段レプリカ法とよばれているものであって，試料と蒸着膜とをうまく分離させうるか否かが要点である。これには，いくつもの考案があるが，地学試料の場合には，両者を機械的に剥離させることは難しいので，試料を溶解して炭素膜レプリカをとるのが常法である。

このように，試料から直接に検鏡用レプリカをとるのであるから，蒸着技術は別問題として，試料の表面構造を最も忠実に再現しているはずである。したがって，蒸着膜を破損しないで，試料だけを完全に溶かし去るのが理想的である。

〔珪藻の例〕筆者が取扱った珪藻は，珪藻土中に多量に含まれていたので，特別な濃集操作をしないで，つぎの順序に従った：(i) 珪藻土の一片を蒸溜水中にとり，超音波洗浄機により試料が破壊されない程度に攪拌する。(ii) その1滴をピペットでとり，カバーグラス上に拡散させる（カバーグラスの使用は西田史朗の考案[3]によるものであり，非常に有効である)。(iii) 乾燥後，型どおり蒸着を行なう。(iv) 約10%の弗化水素酸に，蒸着膜を上にして浮べる。(v) 数時間後，蒸着膜のみが液上に浮いている状態になってから，蒸溜水に2～3回移しかえて，シートメッシュにとる。

従って，好結果を期待するためには，珪藻が重ならないように適当に分散していること，および珪藻に異物が付着しないようにとり除くこと，が要点である。図版中の2はこの手法によるものである。

〔セピオライトの例〕この粘土鉱物は繊維状結晶の集合体であって，全体としては板状ないし皮革状を呈する。もし，薄い膜状の試料があれば，それをもとに前記の(iii)の段階から作業を進めてもよい。この場合には，膜状の試料面全体の表面構造をみることになる。

しかし，このような繊維の集合体においては，それを個々の構成単位に分解して観察することも必要である。そのために，つぎのような操作をした：(i) 試料をくだいて適当な粉末にする。(ii) その一塊を蒸溜水中にとり，超音波洗浄機により分解し，かつ分散させる。(iii) 懸濁液をピペットにとり，カバーグラス上に拡散させる。以下は，前記の(iv)(v)と同じである。

図版中の4・5はこの手法に従ったものであって，個々の線維状結晶に分離していることを示している。

2 段 レ プ リ カ 法

1段目のレプリカをプラスチック膜にとるアセチルセルローズ2段法は，現在きわめて広汎に利用されているので，説明は省略する。

ただし，筆者の経験から，1段目のレプリカにエトセル (Ethocel) を用いることも相当に効果的であることを強調しておきたい。エトセルは，エチルセルローズをトリクロルエチレン

に溶かしたもので，濃度は4～5%のものを使う。これは液体であるから，気泡がぬけにくい試料のレプリカをとるときに有効である。たとえば，多孔質な貝殻断面の場合，普通のプラスチック膜のレプリカでは気泡の妨害が多いが，エトセルを用いると，ほとんど気泡の入らないレプリカをとることができる。エトセルは室温で使用し，10分ほどで薄いフィルム状になるが，薄すぎるときには剥離のさいに破損するので，さらに数回エトセルを滴下してフィルムを適当な厚さに加減すればよい。また，蒸着後の溶解では，トリクロルエチレンにより短時間，かつ完全に行なわれるという利点ももっている。

2段レプリカ法による例を，図版中の1・3に示したが，点紋中の篩膜が明瞭に識別されており，1段法と比較しても何らの遜色もない。

なお，エトセルの別の利用法についても紹介しておきたい。試料が粉末状の場合，そのレプリカをとる予備作業として，試料を接着剤に半ば埋め込む手法がある。そのさいの接着剤としてエトセルを使うと便利である。すなわち，スライドガラス上にエトセルを滴下し，なるべく広く拡げる。その厚さは，試料が埋没しないで，半ば埋まる程度に加減する。その上に粉末試料をふりかける。乾燥後，それをもとにアセチルセルローズ2段法を行なえばよい。筆者は珪藻の場合にもこれを応用した。

3段レプリカ法

レプリカの中間段階を多くすると，解像力が低下したり，人為構造がふえて本来の表面構造から離れると思い込まれているためか，3段法はあまり採用されていないようである。しかし，低倍率の観察には充分たえうるし，また地学試料を扱うときには非常に有効なことがある。さらに，3段法で撮った写真は，1段法と同様に，ネガを1度反転させてから陽画をつくると，可視学線下の風景写真をみるのと同じ像になり，非常に解読しやすい。

3段法の一般的手法は簡単である：(i) 1段目レプリカを厚目のプラスチック膜にとり，これをスライドガラス上に，周囲をセロテープでとめておく。(ii) その上に，エトセルを滴下して2段目のレプリカをつくる。(iii) 乾燥後，剥離して，エトセルに蒸着処理を行なう。

〔セピオライトの例〕1段目レプリカには，多少とも鉱物片が付着することは避けられないし，それをセロテープで剥離させるのも限度がある。従って，付着物を最小限にした上で，2段目レプリカをとり，さらに3段目の炭素膜レプリカをとる。このさい，1段目レプリカに付着した鉱物片がとり除けないときには，結果的には2段レプリカと同じことになる。図版中の6は本法によるものである。

要　約

(1) これまで微細な化石や鉱物粒子について，その表面構造の観察例は少なかった。それは主としてレプリカ法の技術的難点に基因していると思われる。そこで微小な地学試料を例にと

って，筆者の経験を紹介した。

(2) とくにエトセルの使用，および3段レプリカ法が地学試料にとってはかなり効果的であることを強調した。

(3) 光学顕微鏡の分解能力を超えるような微化石については，電顕的観察の集積により，分類体系の再検討が必要であると考える。

引 用 文 献

1) 化石研究会編(1971). 化石の研究法. 共立出版. 東京

2) 日本電子顕微鏡学会関東支部編(1970). 電子顕微鏡試料技術集. 試文堂新光社. 東京

3) 西田史朗(1969). 新方法による2・3微化石の観察. 奈良教育大紀要自然科学. 17巻. 2号. 89－99頁