

## クライオ電顕法による氷の電子線照射下における構造変化のその場観察

### *In situ* Observation of Structural Transition of Ice under Electron Beam Irradiation by Cryogenic Electron Microscopy

小林 慶太<sup>a</sup>, 末永 和知<sup>b</sup>, 越野 雅至<sup>b</sup>,  
保田 英洋<sup>a</sup>

Keita Kobayashi, Kazutomo Suenaga, Masanori Koshino  
and Hidehiro Yasuda

<sup>a</sup>大阪大学超高压電子顕微鏡センター

<sup>b</sup>産業技術総合研究所ナノチューブ応用研究センター

**要 旨** クライオ電子顕微鏡（電顕）法における試料雰囲気は高真空低温であり，かつプローブに高エネルギー電子線を用いることから，これを高真空極低温かつ宇宙線照射下環境の宇宙空間に模倣することができると考えられる．我々はこれに着目し，宇宙空間における氷の構造ならびにその変化を明らかにすべくクライオ電顕を用いて氷の電子線照射下における構造変化のその場観察を行った．本稿ではこの研究で得られた知見について簡潔に紹介する．

キーワード：クライオ電顕，氷，電子線照射，相転移

#### 1. はじめに

氷は我々の生活において最も密接な関わり合いを持つ結晶であるのみならず，宇宙空間においても外惑星衛星の地殻<sup>1)</sup>等として普遍的に存在する．氷は我々の生活環境において，ウルツ鉱型の結晶である  $I_h$  相<sup>2)</sup> あるいは閃亜鉛鉱型の結晶である  $I_c$  相<sup>2)</sup> として存在する．他方，氷はその温度と圧力に応じて多彩な構造をとる多形の結晶である<sup>2~4)</sup>．そこで，宇宙における氷の性質ならびに氷がもたらす現象を理解するには，宇宙空間における極限環境下で氷がいかなる構造あるいは構造変化を示すのかを明らかにすることは極めて重要である．

我々はこれをふまえたうえで，クライオ電子顕微鏡（電顕）法における電顕鏡筒内の試料の環境が高真空かつ低温であること，ならびに試料への電子線照射が宇宙空間における氷への宇宙線の照射に模倣することに着目し，これを用いた電子線照射下における氷の構造変化のその場観察を通して宇宙における氷の挙動を考察してきた<sup>5~7)</sup>．その結果，電子線照射

下では氷が特異な構造変化を示すこと，また電子線のエネルギーに依存してその挙動が異なること等，氷の新奇な挙動を示唆する知見が得られた．本稿ではこの研究で得られたこれらの知見について簡潔に紹介する．

#### 2. 実験方法

本研究において，我々は冷却したカーボンマイクログリッドを大気中に曝露することで得られた氷ナノ結晶<sup>5)</sup>，あるいは電顕鏡筒内部で冷却したカーボンマイクログリッド上に堆積した氷薄膜<sup>6,7)</sup>を検鏡対象とした．

氷ナノ結晶は以下の要領で調製した．エタノールで湿潤させたカーボンマイクログリッド（応研商事，膜厚 10–15 nm）をクライオトランスファーホルダー（Gatan, Model 626DH J5 UPR）に取り付け，液体窒素に浸し急冷した．これを 20 秒間大気中（水蒸気圧 1.2 kPa，温度 298.8 K）に曝露し，その後迅速に電顕鏡筒内に導入した．この操作により図 1a に示すような粒径 60–1400 nm（平均粒径：390 nm）の球状ナノ結晶ならびに図 1b に示すようにファセットが発達した粒径 240–2400 nm（平均粒径：800 nm）のナノ結晶をカーボンマイクログリッド上に調製する事ができた．試料への電子線照射およびその場観察は球面収差補正装置（CEOS）を備えた透過電顕（日本電子，JEM-2010F/UHR，加速電圧 120 kV）を用いて，真空度  $\sim 10^{-5}$  Pa 試料温度 95 K にて行った．さらにこの電顕に接続した電子分光分析装置（Gatan, ENFINA

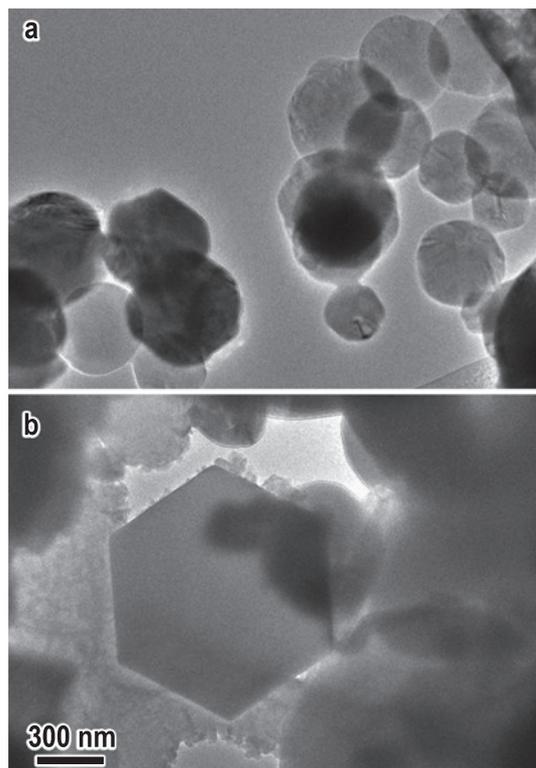


図 1 エタノールで湿潤したカーボンマイクログリッド上に調製された (a) 球状ナノ結晶および (b) ファセットが発達したナノ結晶の電顕像．

100) により電子線照射下における氷ナノ粒子のエネルギー損失分光分析 (EELS) を行った. なお氷ナノ結晶生成にエタノールがいかにか作用するかは未だ明らかではないが, エタノールの  $10^{-5}$  Pa における沸点が Clausius-Clapeyron 近似で  $\sim 126$  K, Antoinies 近似で  $137\text{--}142$  K と見積もられること, ならびに試料の EELS 分析から炭素による吸収端が確認できなかったことから, 得られた結晶はエタノールを含まない純粋な氷と考えられる.

上記にくわえ, 我々は何も担持しないカーボンマイクログリッドをクライオホルダー (Oxford Instruments) に取り付け, 常温で電顕鏡筒内に導入した後, 液体窒素をクライオホルダーに供給することでこれを  $95$  K まで冷却して電顕鏡筒内に残留する水蒸気からカーボンマイクログリッド上に氷を堆積させ検鏡試料とした. この方法では厚さ  $\sim 80$  nm 程度の氷の薄膜をカーボンマイクログリッドの両面に堆積することができた. この試料を用いた実験では, 電子線照射およびその場観察は通常型透過電顕 (日立, H-800 および H-7000, 加速電圧  $25\text{--}200$  kV) および超高压電顕 (日立, H-3000, 加速電圧  $2$  MV) により真空度  $\sim 10^{-5}$  Pa 試料温度  $95$  K で行われた.

### 3. 電子線照射下における氷ナノ結晶の挙動

図 2a, b はエタノールに湿潤させたカーボンマイクログリッド上に調製された氷ナノ粒子の高分解能電顕像および対応する高速フーリエ変換 (FFT) 図形を示す. FFT 図形からはそれぞれの電顕像がウルツ鉱型 ( $I_h$  相, 図 2a)<sup>2)</sup> および閃亜鉛鉱型 ( $I_c$  相, 図 2b)<sup>2)</sup> のナノ結晶を示していることがわかる. このようにこの方法で得られた氷ナノ結晶の相は  $I_h$  相と  $I_c$  相の混相であった. また図 3 は  $I_h$  相の氷ナノ結晶の  $c$  軸方向からの結晶構造像を示す. 酸素カラムが  $0.25$  nm の間隔で白い点として分解されているのが認められる.

電子線を照射する事で氷ナノ粒子はやがて消失していくが, その過程における氷ナノ結晶の挙動は EELS における価電子励起スペクトルならびに酸素  $K$  端から示唆される. 図 4a は孤立した一つの  $I_h$  相氷ナノ結晶 (粒径:  $\sim 500$  nm) から得られた価電子励起スペクトルを示す.  $8.8$ ,  $10.6$ , および  $14.5$  eV に現れるピークは氷のバンド間遷移<sup>8)</sup>,  $17$  および  $21$  eV に現れるピークはそれぞれ表面および体積プラズモン<sup>9,10)</sup> に帰属される. しかしながら  $19$  eV に現れるピークは氷に帰属されるピークではなく電子線照射によって氷よりイオン化された  $H_2O^+$  の励起に起因するシグナルであると考えられる<sup>11,12)</sup>. 図 4b は同じ氷ナノ結晶から得られた酸素  $K$  端と氷  $I_h$  相および氷  $I_c$  相の酸素  $K$  端のシミュレーションを示している. シミュレーションにおいてエネルギーは氷  $I_h$  相,  $I_c$  相の各結晶で core-hole の有無で計算をそれぞれ収束させ, 全エネルギー差から価電子帯エネルギー差を引いて  $1s$  準位のエネルギーシフトを見積もった. さらにそれぞれの結晶格子に孤立原子を配置して core-hole の有無で計算を収束させ, 全軌道エネルギー差に  $1s$  軌道のエネルギー差を加えて孤立

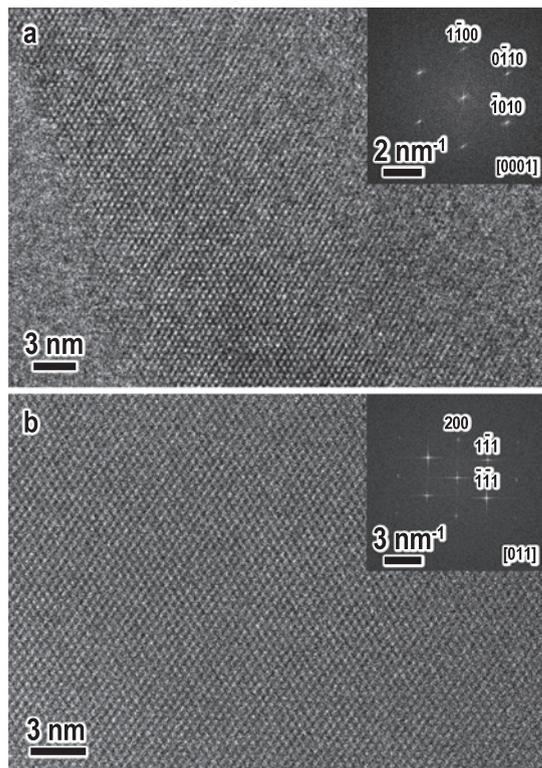


図 2 エタノールに湿潤させたカーボンマイクログリッド上に調製された氷ナノ粒子の高分解能電顕像および対応する高速フーリエ変換 (FFT) 図形.

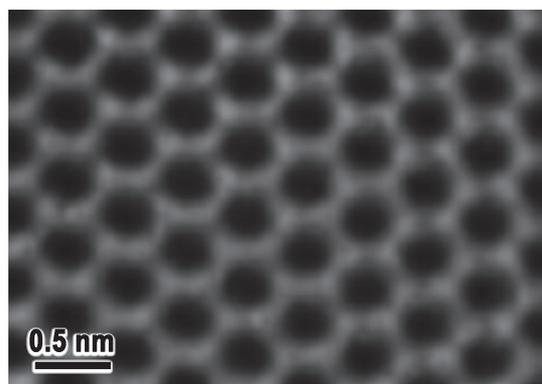


図 3  $I_h$  相の氷ナノ結晶の  $c$  軸方向からの結晶構造像.

原子の遷移エネルギーと仮定した. それぞれの結晶における酸素  $K$  殻遷移のエネルギーは, 孤立原子の遷移エネルギーに上述の  $1s$  準位のエネルギーシフトを加算して求めた<sup>13)</sup>. また実験で得たスペクトルに合わせるため, 図 4b に示したシミュレーションのスペクトルの強度は氷  $I_h$  と氷  $I_c$  が  $4:3$  の割合で存在するとして見積もった. 実験で得られたスペクトルには  $I_h$  あるいは  $I_c$  相の氷の酸素  $K$  端のシミュレーションからは確認できないピークを  $\sim 542$  eV に持つ. このピークの正確な同定は未だできていないが, これは電子線照射による O-H 結合の解離あるいは昇華に起因するのかもしれない. これらの結果は宇宙線照射により氷がイオンあるいはラジカルとして分解され消失していくプロセスを示唆している

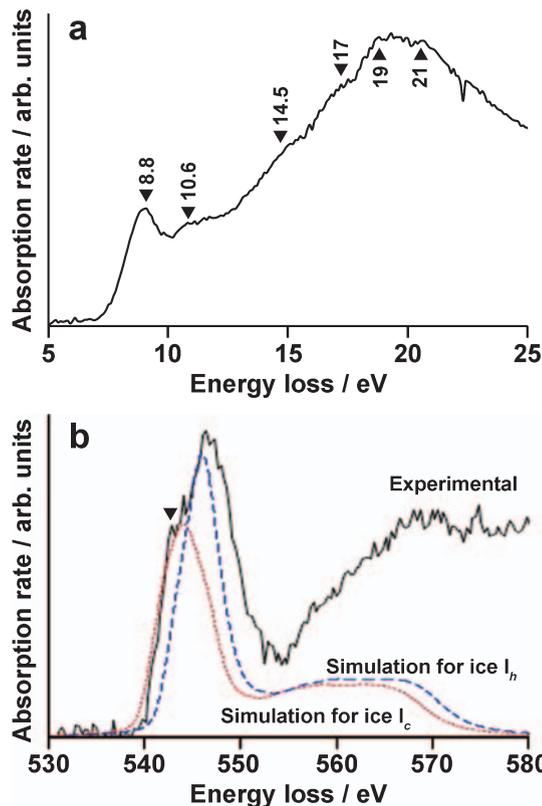


図4 (a) 孤立した一つの $I_h$ 相氷ナノ結晶(粒径:  $\sim 500$  nm)から得られた価電子励起スペクトル. (b) 同じ氷ナノ結晶から得られた酸素 $K$ 端と氷 $I_h$ 相および氷 $I_c$ 相の酸素 $K$ 端のシミュレーション.

と考えられる.

図5は同様に電子線照射下における孤立した一つの $I_h$ 相氷ナノ結晶の相転移を示した, 電子線量率 $\sim 4.8 \times 10^3$  electrons/nm<sup>2</sup> sにて撮影した電子回折図形である. 電子回折図形は電子線量が増すと共に氷が $I_h$ 相から $I_c$ 相に可逆的に転移し最終的に完全に消失していく様子が示されている.

ウルツ鉱型結晶と閃亜鉛鉱型結晶の構造の差異は六方配列の原子面の積み重ね方をABABと繰り返すか, ABCABCと繰り返すかの違いに過ぎない. Haidaら<sup>14)</sup>によって氷の $I_h$ 相と $I_c$ 相の間のエンタルピー差は200 Kにおいておよそ50 J/molと極めて小さいことが計測されているが, これはこの二つの相の構造の差異が極めてわずかであることに起因すると考えられる<sup>14)</sup>. さらに氷 $I_h$ 相と氷 $I_c$ 相は積層欠陥の導入により原子面の積み重ね方のシーケンスが変わることで容易にお互いに転移しうる<sup>15)</sup>. これらのことは入射電子による氷結晶への相互作用により, 氷 $I_h$ 相と $I_c$ 相が互いに相転移しうることを示唆している. 従って電子回折により観察された可逆的な相転移は電子線照射による消失の過程での氷の挙動を示していると考えられる. またこれらの電子線照射下における氷の挙動は, 宇宙空間における宇宙線の氷への影響もまた示唆していると考えられる. 我々のこの研究結果は宇宙空間において宇宙線により氷が $I_h$ 相と $I_c$ 相の間を可逆的に

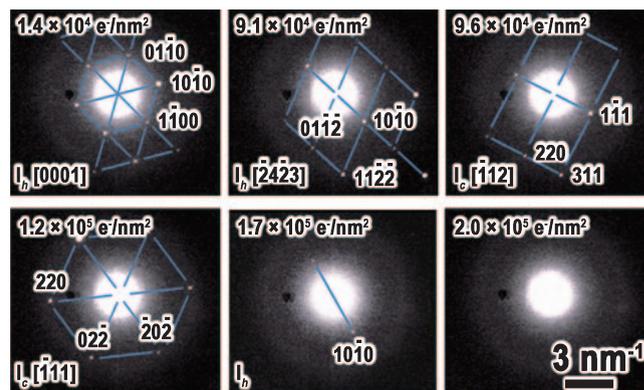


図5 電子線照射下における孤立した一つの $I_h$ 相氷ナノ結晶の相転移を示した, 電子線量率 $\sim 4.8 \times 10^3$  electrons/nm<sup>2</sup> sにて撮影した電子回折図形.

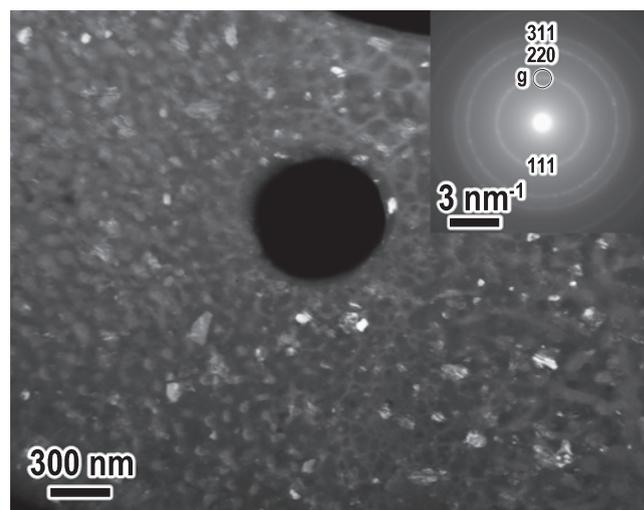


図6 電顕鏡筒内部に残る水蒸気をクライオホルダーにマウントしたカーボングリッド上に堆積して調製した氷薄膜の加速電圧200 kVで撮影された暗視野像とそれに対応する電子回折図形.

相転移しつつ分解されていく過程を示しているのではないかと考えている.

#### 4. 閃亜鉛鉱型氷薄膜の電子線照射による相転移

前節で述べた氷ナノ結晶における実験は加速電圧120 kVの電子線を用いて行われたが, 実際の宇宙線の持つエネルギーを考慮すると, 更に高い電圧を印加された電子線を用いてその場観察を行うことがさらなる正確な宇宙空間における氷の挙動の理解に求められる. そこで我々は加速電圧200 kVの汎用透過電顕ならびに2 MVの超高電圧電顕によりカーボンマイクログリッド上に堆積した氷薄膜の電子線照射下におけるその場観察を行った.

図6は電顕鏡筒内部に残る水蒸気をクライオホルダーにマウントしたカーボングリッド上に堆積して調製した氷薄膜の, 加速電圧200 kVで撮影した暗視野像とそれに対応する電子回折図形を示す. 電子回折図形は閃亜鉛鉱型構造を示す

Debye-Sherrer 環を示すことからこの薄膜は氷  $I_c$  相の多結晶であることがわかる。また、この薄膜が氷ナノ粒子が凝集した多結晶膜である事は 111 回折線から（電子回折図形に  $g$  と示す）得た暗視野像からも判別できる。この暗視野像並びに電子回折図形に示されるように、この方法で得られた氷薄膜の相はほとんどが  $I_c$  相と同定できた。

氷ナノ粒子と同様に、この氷薄膜を電子線で照射すると次第に消失していくが、その過程で氷  $I_c$  相から他の相へ相転移する様子が電子回折から確認できた。図 7a は加速電圧 200 kV の電子線照射下において電子線量  $1.1 \times 10^3$  electrons/nm<sup>2</sup> および  $1.1 \times 10^4$  electrons/nm<sup>2</sup> において同じ視野で撮影された電子回折図形である。電子線量  $1.1 \times 10^3$  electrons/nm<sup>2</sup> で撮影された電子回折図形には氷  $I_c$  相で指数付される Debye-Sherrer 環のみが確認できる。これに対して電子線量  $1.1 \times 10^4$  electrons/nm<sup>2</sup> で撮影された電子回折図形には、氷  $I_c$  相で指数付される Debye-Sherrer 環に加えていくつかの回折斑点が確認できる。またこの電子回折図形に示される

Debye-Sherrer 環は積層欠陥に起因するストリークを引いていることも確認できる。新たに現れたこの斑点は円弧を描くように電子回折図形に現れるので、ストリークではなく Bragg 反射に起因する回折斑点であることが識別できる。これらの回折斑点は面間距離から氷  $I_h$  相ならびに氷 XI 相と同定できる。これは 200 kV の電子線照射によって積層欠陥を導入しつつ氷  $I_c$  相の一部が氷  $I_h$  相ならびに氷 XI 相へと相転移したことを示唆する。このような相転移は 2 MV の超高圧電子線照射下ではより顕著に起こる。図 7b は加速電圧 2 MV の電子線照射下において電子線量  $1.3 \times 10^7$  electrons/nm<sup>2</sup> において撮影された氷薄膜の電子回折図形である。加速電圧 200 kV で撮影された電子回折図形と比較して、より顕著に追加の回折斑点が現れていることが確認できる。このことは高エネルギー電子線照射により、氷  $I_c$  相から氷  $I_h$  相ならびに氷 XI 相への相転移がより促されていることを示す。

氷 XI 相は斜方晶系の、常圧以下で 77 K 以下の低温における安定相である。氷  $I_h$  相および  $I_c$  相は水素結合を介して一つの水分子が四つの水分子に隣接する構造をとる。ここで一つの水分子が持つ二つの水素は、一組の水素結合上には一つしか水素が入れない制限はあるものの、隣接する水分子に対して無秩序な配向をとる<sup>16)</sup>。これに対して氷 XI は  $c$  軸に対して平行な水素結合に属する水素が配列した構造をとる<sup>2,17)</sup>。このため、氷  $I_h$  相から氷 XI 相への相転移は氷  $I_h$  相の無秩序配列したプロトンが配列しなおすことでなされるが、77 K 以下においては氷結晶内のプロトン易動度が極めて小さいためその相転移には一万年以上の時間がかかると考えられている<sup>17)</sup>。そこで実験室的には希薄な水酸化カリウム水溶液等を冷却する事で氷 XI 相を得ている<sup>17,18)</sup>。すなわち水溶液中の水酸化イオンが氷の結晶中に入り込み結晶中にプロトンの欠損を生じさせることでプロトン易動度を増し氷  $I_h$  相から氷 XI 相への相転移を促進している<sup>17,19)</sup>。本来ならば 77 K 以下の温度において現れるべき氷 XI 相への相転移が何故電子線照射下においては 95 K にて観察されるのかは依然明らかではないが、電子線照射による氷  $I_c$  相から氷 XI 相への相転移もまた電子線により氷の結晶中にプロトンの欠損が生じ、プロトン易動度が増したことが原因と考えられる。この結果は宇宙空間において容易に氷  $I_h$  相あるいは氷  $I_c$  相から氷 XI 相への相転移が起こり得ること、ひいては氷 XI 相の存在がメジャーである事を示唆する。氷 XI 相の興味深い物性として、水素が  $c$  軸に沿って配列する事からこの方向に双極子モーメントを持ち強誘電体としてふるまうことが挙げられる。一般的に太陽系の惑星は原始太陽の周囲の宇宙塵が重力によって凝集する事で形成されたと考えられているが、惑星軌道上では重力の作用に加えて氷 XI のような強誘電体物質が惑星形成にかかわってきたことが提唱されている<sup>20)</sup>。ここで示された実験室オーダーのタイムスケールでの高圧電子線照射下における氷 XI 相への相転移の観察は、惑星形成における氷 XI 相の関与を宇宙空間における氷 XI 相の存在の「確からしさ」から支持するものである。

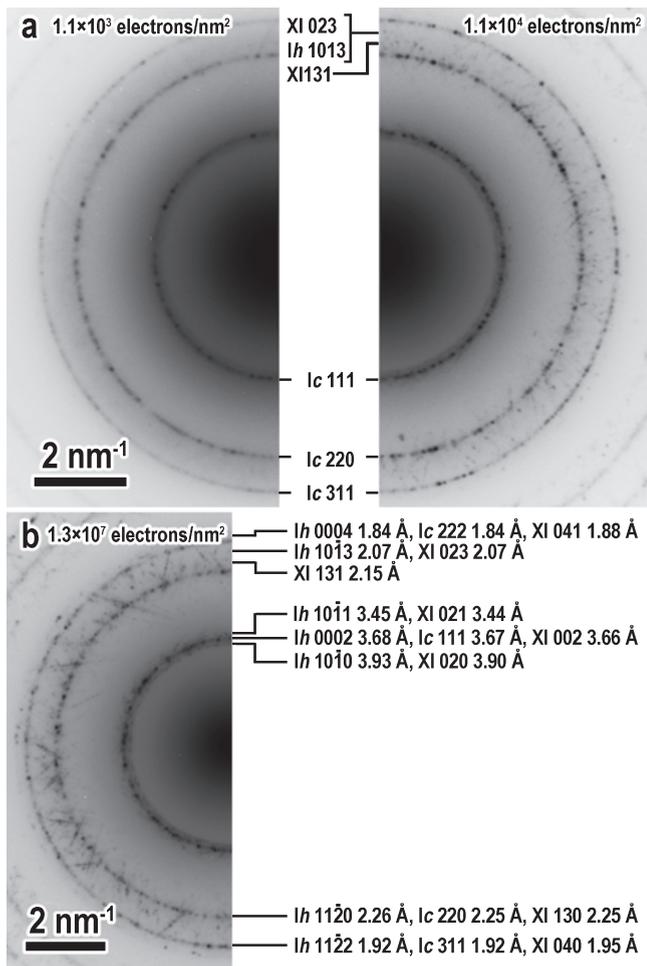


図 7 (a) 加速電圧 200 kV の電子線照射下において電子線量  $1.1 \times 10^3$  electrons/nm<sup>2</sup> および  $1.1 \times 10^4$  electrons/nm<sup>2</sup> において同じ視野で撮影された電子回折図形。(b) 加速電圧 2 MV の電子線照射下において電子線量  $1.3 \times 10^7$  electrons/nm<sup>2</sup> において撮影された電子回折図形。

## 5. 閃亜鉛鉱型氷薄膜の構造変化の加速電圧依存性

我々はさらにこの電子線照射による相転移のメカニズムを明らかにするため、25 kV から 125 kV まで加速電圧を変化させた電子線をマイクログリッド上の氷薄膜に照射しその構造変化のその場観察を行うことで、電子線照射下における氷の構造変化の電圧依存性について調査した。この結果、氷薄膜が電子線照射によって完全に消失するのに要する電子線量が電子線の加速電圧が下がるごとに減少することが明らかとなった<sup>7)</sup>。特に加速電圧 25 kV の入射電子が酸素に与える最大反跳エネルギーはおおよそ 2 eV<sup>21)</sup> と水の O-H 結合の解離に要するエネルギー (5.1 eV)<sup>22)</sup> に満たないにも関わらず、加速電圧 25 kV の電子線照射下において氷薄膜が最も小さな電子線量で完全に消失する事は、氷のこの消失過程がロックオン効果ではなく、むしろ入射電子の非弾性散乱による氷の励起過程によっておこることを示唆する。このことは第3節で述べた電子照射下における水ナノ粒子の価電子励起スペクトルに示された氷のイオン化からも示唆される。同様に氷の消失過程が入射電子線による氷のイオン化である事は Heide<sup>23)</sup> によっても指摘されている。更に Heide<sup>23)</sup> はクライオ電頭環境において氷の結晶内部でイオン化されたプロトンあるいは水酸化物イオンは氷の表面まで拡散する事はほぼなく、消失に寄与するのは氷表面においてイオン化された水のみであることを指摘している。このことは電子線照射による氷の消失に要する電子線量の入射電子加速電圧依存性と第4節において超高压電子線照射によって氷 XI 相への相転移が促されるメカニズムを説明する。すなわち、低い加速電圧を印加された入射電子は氷に対して大きな散乱断面積を持つため氷の表面において氷をイオン化する傾向があると考えられる。したがって低エネルギー電子線照射下においては比較的小さな電子線量により氷は消失する。これに対して氷に対する散乱断面積の小さい高エネルギー電子線は氷の表面よりむしろ氷の結晶内部で非弾性散乱される傾向があると考えられる。これは氷内部で積層欠陥を形成し氷 I<sub>h</sub> 相と氷 I<sub>c</sub> 相との相転移を促し、また氷内部においてプロトンの欠陥を生じさせ氷 XI 相への相転移を促進するのではないかと考えている。

## 6. まとめ

我々は宇宙空間における氷の挙動を理解する事を目的として、クライオ電頭を用いた高真空低温環境下における氷の電子線照射による構造変化のその場観察を行った。その結果電子線照射により氷 I<sub>h</sub> 相と I<sub>c</sub> 相の間で可逆的に相転移が起こること、また高压電子線照射によって氷 XI 相への相転移も起こることを明らかにした。また実験結果からは、氷の電子線照射下での消失に要する電子線量が電子線の加速電圧に依存することから、消失ならびに相転移が入射電子による非弾性散乱過程によって生ずること、また高電圧を印加された電子線は氷表面をイオン化することで起こる氷の消失ではなく、氷結晶内部に欠陥を形成する事で起こる氷の相転移に寄与す

る傾向があることが示唆された。これらの結果は宇宙空間において氷に起こり得る事象を正確に表しているわけではないが、電頭内部にそれに近似した空間を作り出し、その場観察をすることで実験的に宇宙における氷の挙動の理解の一端とすることは極めて重要であると考えられる。また氷のみならず宇宙空間にはアミノ酸の起源ともなるべき炭化水素を初めとして興味深い物質が数多く存在する。これらの物質のクライオ電頭内での電子線照射下におけるその場観察を通して、さらなる極限空間における物質の新たな性質に迫っていきたい。

## 謝 辞

ここで紹介した研究の一部は JST-CREST プロジェクトおよび科研費 (No. 19054017) の支援を受けて行われた。また、超高压電頭による検鏡にあたり田口英次氏 (大阪大学超高压電子顕微鏡センター技術専門職員) の協力を得たことをここに謝する。

## 文 献

- 1) Rothery, D.A.: *Satellites of the Outer Planets*, Oxford Univ. Press, Oxford (1992)
- 2) Petrenko, V.F. and Whitworth, R.W.: *Physics of Ice*, Oxford Univ. Press, Oxford (1999)
- 3) Salzmann, C.G., Radaelli, P.G., Hallbrucker, A., Mayer, E. and Finney, J.L.: *Science*, **311**, 1758–1761 (2006)
- 4) Salzmann, C.G., Radaelli, P.G., Mayer, E. and Finney, J.L.: *Phys. Rev. Lett.*, **103**, 105701 (2009)
- 5) Kobayashi, K., Koshino, M. and Suenaga, K.: *Phys. Rev. Lett.*, **106**, 206101 (2011)
- 6) Kobayashi, K. and Yasuda, H.: *Chem. Phys. Lett.*, **547**, 9–12 (2012)
- 7) Kobayashi, K. and Yasuda, H.: *Physica B*, **411**, 88–92 (2013)
- 8) Kobayashi, K.: *J. Phys. Chem.*, **87**, 4317–4321 (1983)
- 9) Zaider, M., Fru, J.L. and Orr, D.E.: *Radiat. Prot. Dosim.*, **31**, 23–28 (1990)
- 10) LaVerne, J.A. and Mozumder, A.: *Radiat. Res.*, **133**, 282–288 (1993)
- 11) Lee, L.C. and Suto, M.: *Chem. Phys.*, **110**, 161–169 (1986)
- 12) Dunn, K.F., O'Neill, P.F., Browning, R., Browne, C.R. and Latimer, C.J.: *J. Electron Spectrosc. Relat. Phenom.*, **79**, 475–478 (1996)
- 13) Mizoguchi, T., Tanaka, I., Gao, S.-P. and Pickard, C.J.: *J. Phys. Condens. Matter*, **21**, 104204 (2009)
- 14) Handa, Y.P., Klug, D.D. and Whalley, E.: *J. Chem. Phys.*, **84**, 7009–7010 (1986)
- 15) Malkin, T.L., Murray, B.J., Brukhno, A.V., Anwar, J. and Salzmann, C.G.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **109**, 1041–1045 (2012)
- 16) Pauling, L.: *J. Am. Chem. Soc.*, **57**, 2680–2684 (1935)
- 17) Fukazawa, H., Hoshikawa, A., Ishii, Y., Chakoumakos, B.C. and Fernandez-Baca, J.A.: *Astrophys. J.*, **652**, L57–L60 (2006)
- 18) Kawada, S.: *J. Phys. Soc. Jpn.*, **32**, 1442 (1972)
- 19) 深澤 裕: *低温科学*, **66**, 159–166 (2007)
- 20) Wang, H., Bell, R.C., Iedema, M.J., Tsekouras, A.A. and Cowin, J.P.: *Astrophys. J.*, **620**, 1027–1032 (2005)
- 21) Bell, D.C., Russo, C.J. and Kolmykov, D.V.: *Ultramicroscopy*, **114**, 31–37 (2012)
- 22) 日本化学会 (編), *化学便覧基礎編改訂第五版*, 丸善, 東京 (2004)
- 23) Heide, H.-G.: *Ultramicroscopy*, **14**, 271–278 (1984)