

### 走査電子顕微鏡法

#### 1 はじめに

試料表面を簡便にナノスケールの高分解能で観察できる走査電子顕微鏡法 (scanning electron microscopy, SEM) は、金属・半導体から高分子材料、生物試料に至るまで、幅広い分野で用いられる手法であり、研究・開発において必須のツールと言っても過言ではない。近年、装置の進歩により初心者でも容易に観察ができるようになってきているが、得られた像が何を示しているのかを正しく解釈するためには、SEMの原理を理解することが重要である。本稿ではSEMの原理と像コントラスト形成について概説し、像解釈について具体例を挙げ説明する。

#### 2 SEMの原理

SEMは、電子線を収束することで微細な探針を形成し、これを用いて試料表面の微小領域をジグザグに走査しながら、試料から放出される信号電子を検出し、その輝度変化を像として得る顕微鏡法である (図1 (a))。電子源から取り出された一次電子 (primary electron, PE) は、電場により数十 eV から 30 keV のエネルギーに加速されるとともに、電子レンズにより集光され、試料に入射する。PEは試料を構成する原子による散乱を受けながら試料内を進行する (図1 (b))。PEの散乱領域の大きさ、すなわち、侵入深さは加速電圧とともに大きくなる。PEは散乱過程で固体内電子を励起するが、その一部はPE同様に試料内での散乱を経て試料から放出され、信号電子として検出される。信号電子はエネル

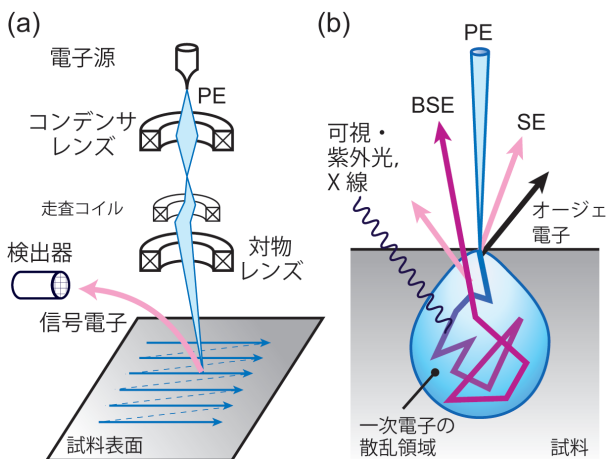


図1 SEMの装置 (a) 及び信号発生 (b) の模式図

ギー分布を持ち、慣習的に、50 eV以下の電子を二次電子 (secondary electron, SE)、それより大きいものを後方散乱電子 (backscattered electron, BSE) と呼ぶ。信号電子エネルギーは固体内での散乱過程を反映し、エネルギーにより異なる情報をもつため、検出特性の異なる複数の検出器を用いた信号検出が一般的となっている。

また、PE照射により発生するオージェ電子や特性X線、紫外・可視光を同時に分光・検出することで、試料の組成分析や発光特性についての評価も可能である。

SEMでは試料の大きさが5 cm角程度であればそのまま観察可能であることが多く、その形状に対する自由度は高い。基本的に試料は真空中に置かれるため、含水試料やガス放出の多い試料などは、試料調製の工夫が必要となる。一部の装置は低真空下での観察機能や、試料冷却機構を備えており、含水試料の直接観察も可能である。また、絶縁性試料は電子線照射により帯電し、像に歪みや輝度異常を生じるため、試料に導電コート等の処理が必要となる。

#### 3 SEMの像コントラスト形成

SEMでは信号電子放出率の違いをコントラストとして像を得る。SEMにおける像コントラストは、試料の形状、組成、結晶性、導電性、磁性、表面ポテンシャルなどの特性を反映したものであり、観察条件を工夫することで様々な表情をもった像を撮影できることがSEMの面白さの一つである。ここでは代表的なコントラストである、形状および組成コントラストについて概説する。

形状コントラストは、試料形状に起因し、像に立体感を与えるコントラスト要因である。図2 (a) 中の破線の深さで生成した信号電子が試料表面に到達する経路を考える。PEに垂直な試料表面に入射する場合に対して、面が傾いている場合、斜面方向に向かうことで表面まで

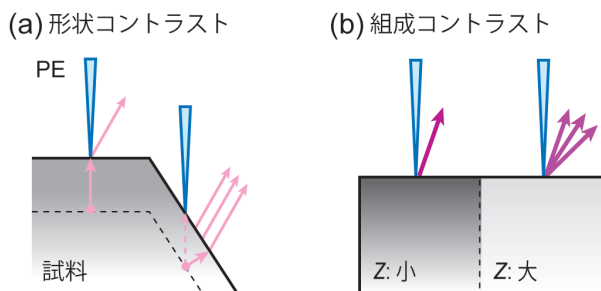


図2 形状 (a) 及び組成 (b) コントラスト

の距離が短くなるため、より多くの信号電子が放出される。これにより、試料表面の凹凸に応じた輝度変化を像に与える。

一方、試料中のある面内で組成が変化する場合も信号電子放出量に差が生じる。加速電圧 5 kV 以上では、BSE の発生量は原子番号とともに増加することが知られており、BSE 像は原子番号 (Z) の大小関係と対応した組成コントラストを示す (図 2 (b))。

形状・組成の他にも多様なコントラスト要因が存在するが、その詳細については教科書等を参照されたい<sup>1)~3)</sup>。実際の像観察では、どういった情報を得たいかを整理し、それに対応するコントラストを強調する観察条件を検討するとよい。また、得られる像はいくつかのコントラスト要因が重畳されているため、時に複雑な様相を呈する。像解釈の第一歩として、試料の構造や観察条件に照らして、どの要因が支配的であるかを捉えることが重要となる。

#### 4 金属蓄積藻類の観察と像解釈

ここでは金属蓄積藻類を例として、観察条件による像情報の変化やその解釈について述べる<sup>4)</sup>。図 3 (a-d) はテルル酸イオンに曝露<sup>ばくろ</sup>・培養後、凍結乾燥した単細胞緑藻 (コナミドリムシ) を、加速電圧を変化させながら撮影した SE 像である。加速電圧 1 kV では PE の侵入深さは浅く、細胞表面の皺が強調された像が得られている

(図 3 (a))。これに対して加速電圧が 3 kV、5 kV と増加すると、PE の散乱領域が大きくなり、試料表面の凹凸は目立たなくなっていく (図 3 (b, c))。加速電圧 15 kV では細胞中央付近に、直線状の構造が観察される (図 3 (d))。この構造は低加速電圧条件ではみられないことから、細胞内部に存在していると考えられる。一方、同一視野で撮影した BSE 組成像 (図 3 (e)) では、この直線状構造はより明瞭に、明コントラストで細胞のマトリクスと区別して可視化される。BSE 組成像は原子番号に応じたコントラストを示すことから、この線状構造はその周囲に比べて、より大きな原子番号の物質で構成されている、すなわち Te が濃集しているであろうことが示唆される。エネルギー分散 X 線分光法により Te  $L\alpha$  線の強度分布をマッピングすると (図 3 (f))、BSE 像の針状構造は Te 元素の分布と対応していることがわかる。

以上のように、加速電圧や検出器条件を変化させながら像を取得することで、緑藻細胞中の Te 元素の濃集の様子を平面方向で可視化するのみならず、深さ方向に対しても情報を得ることが可能である。

#### 5 むすび

顕微技術により試料微小部の様子を像として観察することで初めて得られる知見は多い。SEM はしばしば高倍率の形状観察手法というイメージを持たれることがあるが、様々な物理現象と関連がある固体表面からの電子放出を通して、わずかな物性の違いを像として可視化するポテンシャルを持っている。一方、近年の装置の電子光学系・検出系の進化により、自由度の高い観察が実現され、多様な像情報を取得できるようになった。SEM の特徴を理解し、活用することで、より広範な分野における研究推進や課題解決が加速するものと考えられる。

#### 文 献

- 1) 日本顕微鏡学会関東支部編：“新・走査電子顕微鏡”，(2011)，(共立出版)。
- 2) 日本表面科学会編：“ナノテクノロジーのための走査電子顕微鏡”，(2004)，(丸善出版)。
- 3) L. Reimer：“Scanning Electron Microscopy — Physics of Image Formation and Microanalysis”，2nd ed. Springer Series in Optical Science, Edited by P. W. Hawkes, (1998)，(Springer-Verlag, Berlin)。
- 4) S. Takada, Y. Tanaka, K. Kumagai, K. Kobayashi, A. Hokura, Y. Ogra：*Metalomics*, **14**, mfac089 (2022)。

[産業技術総合研究所

インダストリアル CPS 研究センター 熊谷 和博]

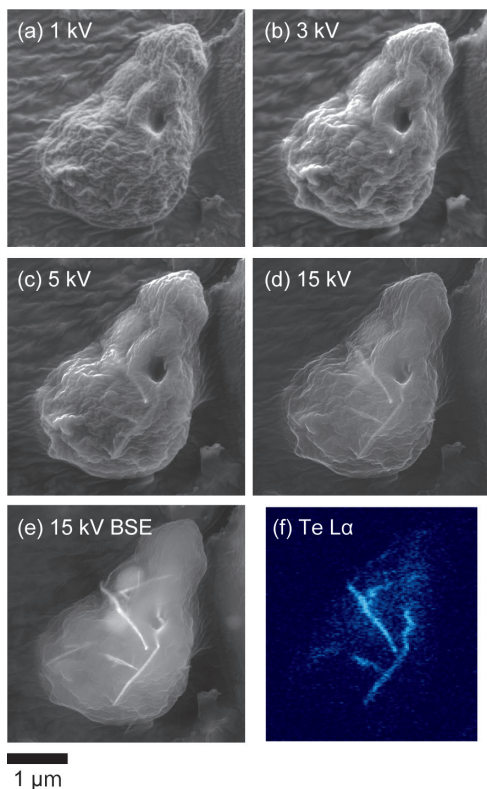


図 3 Te 曝露緑藻の SE 像 (a-d)、BSE 組成像 (e)、Te  $L\alpha$  線の強度マップ (f)