

1. 機器分析 1 — 走査型電子顕微鏡

1.1. 実習の狙い

肉眼や光学顕微鏡による観察の難しい化石や岩石などの微小領域を電子顕微鏡で観察する技術を習得，物質の構成や構造への理解を深める。

1.2. 走査型電子顕微鏡とは

化石や岩石，鉱物などを観察する時は，まず肉眼で，そしてルーペや光学顕微鏡を用いて拡大して観察を行う。しかし，光学顕微鏡の拡大率はそれほど高くなく，実体顕微鏡でせいぜい50倍程度，岩石薄片などを観察する顕微鏡でも最大で400倍から1000倍ほどである。この最大倍率は光の波長が数百nmであることに起因している。つまり，波長の短い電子線を使えば**分解能**が増し，より高倍率での観察が可能となる。この電子線を用いて観察する機器を**電子顕微鏡**と呼ぶ。電子顕微鏡には主として透過型と走査型の2種類がある。**透過型電子顕微鏡**は，岩石や生物の薄片（通常の光学顕微鏡で観察する薄片よりさらに薄くした薄片）の観察範囲全面に電子線をあて，透過した電子線を結像させる。一方の**走査型電子顕微鏡(Scanning Electron Microprobe)**は，対象物表面に細く絞った電子線をあて，表面から放出された電子を検出して検出する。この場合，細く絞った電子線を少しずつずらしていきそれぞれの点から放出された電子量を，電子線をあてた点座標とともに記録して像としてコンピュータで再構築する。つまり物体（試料）の表面を細く絞った電子線（電子ビーム，電子プローブ）を走査（スキャン）して像を得ることになる。

走査型電子顕微鏡の特徴として以下のことが挙げられる。

- (1) 光学顕微鏡よりも高倍率（通常でも数千から数万倍，ときには50万倍を超える）での観察が可能
- (2) 光学顕微鏡よりも被写界深度（ピントの合っているように見える領域）が広い
- (3) 電子線を利用して結像するために，色情報が含まれない（つまり，白黒画像になる）
- (4) 電子線を照射するために装置内を真空に保つ必要がある（最近では低真空のものもある）
- (5) 電子線を照射するため，電気を通さない物質は帯電（チャージアップ）し，観察ができなくなる。そのため，金や白金パラジウムなどの金属を試料に蒸着させる（最近では無蒸着でも観察できる顕微鏡がある）。
- (6) 蒸着できない部分が多くなる複雑すぎる形状の試料の観察は難しい。

1.3. 電子の生成方法：電子銃

電子線を生成する電子銃として2種類がよく知られている。1つは熱電子銃で，もう一つが電界放出電子銃である。この2種の電子線の生成法については各自調べる。電子銃から飛び出してきた電子をウェーネルトで収束させ，アノード（陽極）で電圧をかけ電子

線としている。この電子線を磁界を利用した電子レンズで収束させて試料表面に照射していく。

1.4. どうやって像を得るのか？ 二次電子と反射電子

電子銃から照射された電子（入射電子，一次電子）が試料表面にあたると試料表面から様々な電子が放出される。この電子を検出するのが走査電子顕微鏡である。走査型電子顕微鏡では一般に二次電子を検出して像を形成する場合が多かったが，最近では反射電子を利用する場合も増えてきた（後述）。それぞれにメリット・デメリットがある。

二次電子は入射電子によって試料を構成する原子の価電子が放出されたもので極めてエネルギーが小さい。そのため，試料内部に入射した入射電子によって放出される二次電子はほとんどの場合で試料内部で吸収され，試料の極表面（深さ数 nm 程度）で生成された二次電子のみが試料外に飛び出し，検出器で検出される。このとき，試料表面が傾斜していると試料表面から放出される二次電子の量が大きくなる。この生成された二次電子の量を検出することによって試料表面の微細な形状を把握することが可能となる。二次電子の発生量は試料を構成する物質によっても異なるが，一般的に物質の違いよりも表面形状（傾斜，凹凸）に依存する。

最近利用が増加してきた反射電子は，試料表面に照射された入射電子が試料表面で跳ね返ってきた電子である。この跳ね返りのことを正確には後方散乱といい，後方散乱した電子を後方散乱電子（backscattered electron）という。反射電子は二次電子よりはるかに高いエネルギーを持っている。この反射電子の量は試料を構成する物質（元素）によって発生量が異なり，原子番号の大きい元素ほど発生量が高くなる。これを利用して，試料中の元素（組成）の分布を知ることが可能となる（ただし，元素の種類も特定させるには電子線や X 線などを試料に照射した際にでてくる特性 X 線をエネルギー分散型（Energy Dispersive X-ray Spectroscopy; EDX (EDS)）検出器において検出し解析する必要がある）。また反射電子は入射電子の試料表面への入射角（つまりは試料の傾斜と凹凸）によって，放出される方向が異なる角度依存を示す。つまり，反射量は試料を構成する原子に，反射角度は試料の傾斜と凹凸を検出できる。凹凸を検知するだけなら，二次電子よりも反射電子の方が検出能が高い。

また，電子線によって結像する電子顕微鏡では光学系によって結像する光学顕微鏡に比べて圧倒的に被写界深度が深い。肉眼でも観察可能な微小化石の写真撮影では，低倍率で撮影可能な電子顕微鏡を利用した方が試料全体にピントがあうことが多い（実際には「ピントがあっているように見える領域」）。

1.5. 二次電子と反射電子のメリット・デメリット

反射電子は試料の極表面のみ放出される二次電子と異なりかなり深い（ときに数百 nm）ところからもやってくるため，試料の極表面の形状を捉えることは苦手である（試料内部

では電子が拡散してしまい、結果としてぼやけてしまうため)。つまり、反射電子を利用して表面形状をみたいときは加速電圧を低めにすると良い（後述するが、加速電圧を低くすると電子線の波長が長くなるため理論的な分解能がさがってしまう点には注意を要する。何ごとともバランスが大事である）。

また反射電子はエネルギーが高いため真空度が低い（試料室に空気が入っている）状態でも検出が可能である。これは水や油などの液体を含む試料でも観察できる大きなメリットとなる。また、試料への帯電（チャージアップ）がおきにくいいため蒸着（後述）していない試料でも観察が可能である。このため、いわゆる低真空 SEM では反射電子検出板を備えていることが多い。最近では反射電子検出板しか装備していない SEM も販売されるようになってきた。

一方で、二次電子に比べ高倍率が得にくく、また、表面の微細構造を得にくいというデメリットが存在する。そのため、高倍率で、しかも表面のデリケートな形状を把握するためには二次電子を利用することが望まれる。結局、二次電子にも反射電子にもメリット・デメリットがあり、両方をうまく使いながら試料から目的の情報を抽出するのが良い。

1.6. 分解能の向上

高倍率を得意とする電子顕微鏡であるが、その分解能は何によって決まっており、どうやったらあがるのだろうか？分解能とは近接した2点を識別できる最小の2点間距離として定義される。この分解能をいかに向上できるかが詳細な試料の観察には欠かせない。電子顕微鏡でユーザーが通常いじる項目としては加速電圧、スポットサイズ、ワーキングディスタンスなどが挙げられる。

1.6.1. 加速電圧

電子線の波長（ λ ）は加速電圧（V）に反比例するので（下式）、加速電圧が高いほど波長が短くなり、理論上の分解能があがる。

$$\lambda(nm) = \left(\frac{1.5}{V}\right)^2$$

一方で加速電圧があがると入射電子の試料への侵入深度があがり、試料内部の情報を拾うことになる。これは表面の微細構造を観察する際には不向きとなる。

1.6.2. スポットサイズ

電子線のビーム径（プローブ径）と考えて良い。原理的には細く絞ったビーム（スポットサイズが小さい）の方がより細かく試料形状を検出することができる。一方でビーム径が小さい場合は得られる電子の量が少なくなる。この場合はノイズが大きくなり像がざらついた感じになってしまう。

低真空で観察したい場合（非蒸着や液体を含む試料を観察する場合）には、試料室には

空気があるので、得られる電子量を多くするためにスポットサイズを大きくした方が良い。また、やや大きめの試料の全体像を撮影したい場合に、作動距離（ワーキングディスタンス；後述）を大きくとるときは、電子銃からの距離と試料と検出器の距離が離れてしまうために電子のエネルギーが減衰する。そのような場合にスポットサイズを大きくして得られる電子量を多くすることができる。

結局はどの程度のざらつきまで許容できるかとどのていどまで微細な構造を観察したいかのバランスが重要となる。

1.6.3. ワーキングディスタンス（作動距離）

電子線を収束させる対物レンズ（電子顕微鏡の場合は電子レンズ）と試料との距離（正確には電子線を収束させるポイントまでの距離。つまり、ピントを合わせる距離）をワーキングディスタンス（作動距離；Working Distance）という。ワーキングディスタンスが短ければ短いほど分解能は高くなる（スポット径を小さくできるため）。逆にワーキングディスタンスを大きくとれば低倍率での観察が可能となる。さらに、ワーキングディスタンスを大きくとった場合は被写界深度が深くなるというメリットもある。

★★重要なこと★★

ここで要注意なことがある。ワーキングディスタンスを小さくする（短くする）ということは試料を検出板に近づけるということである。そのため、試料が検出板にぶつかり、検出板に損傷を与える可能性が高くなる。ワーキングディスタンスを変更するときは事前に教員に了解をとるなどして、細心の注意が必要である。

1.7. 実験上の注意

- ・電子顕微鏡は精密機器である。ホコリや振動にも弱いので、丁寧に扱うこと。
- ・実験室には研究に用いている他の機器や実験試料が置かれているが、これらをみだりに触らないこと。
- ・電子顕微鏡装置内は真空のため、試料についての手の汚れ（皮脂など）などが蒸発し、装置内を汚染する。作業を行うときは、極力綺麗な手で作業し、必要に応じて手袋を装備すること。

1.8. 実験の流れ

1.8.1. 【試料準備】 ※実際の手順については教員の説明を聞くこと。

- (1) 観察する試料を試料台に乗り、高さあまりないように分割する（直径1cm以内、高さ5mm以内が望ましいが、もうすこし大きくても良い）。
- (2) 試料が水を含む場合は、乾燥させる（乾燥により形状が変化しないようにする）。（水を含んだ試料を観察したい場合は適切なテクニックがあるので別途教員などに教えてもらうこと）。

- (3) 試料および試料台をアルコールや蒸留水などで洗浄し、乾燥させる。
- (4) 観察したい面を上に向けて試料を試料台にセットする。なお、試料台と試料の接着には、導電性のあるカーボンテープなどを用いる。また、セットする際は手袋をはめ、ピンセットなどを利用することが望ましい。
- (5) 試料にほこりやゴミがないか実体顕微鏡で確認する。必要に応じてブロワーやエアを吹きかける（試料が吹っ飛んでいかないように注意）。
- (6) 試料台のどこにどの試料をおいたのか記録しておく（写真などで記録しておくのがベストである（化石と母岩の境界などが蒸着後に不明となることが多いため））。
- (7) 蒸着装置に試料を入れ、適切な厚さになるように金もしくは白金パラジウムなどの金属被膜を試料に蒸着させる。この際、試料全体が蒸着されるようにする。（非蒸着で行う場合は蒸着しないが、最初のうちは蒸着した方が観察が容易であるので望ましい。観察テクニックが向上してから非蒸着試料へのチャレンジをしてもらいたい）。

1.8.2. 【試料の観察】 ※実際の手順については機器ごとに異なるので教員・技官の説明を聞くこと。

- (1) 電子顕微鏡，PC の順に電源を入れる。
- (2) 電子顕微鏡をコントロールするソフトを起動する。
- (3) 電子顕微鏡装置内に試料を導入するための試料室に空気を入れ，試料室をあけて試料台をセットする。
- (4) 試料室を真空にする。
- (5) 加速電圧を適切な値にセットし，電子線を照射する。
- (6) 倍率や焦点，画角を適宜変更し，試料の観察を行う。
- (7) 観察の結果は，ノートに記録するとともに，デジタル写真の撮影を行う。
- (8) 観察が終了したら，試料室から試料を取り出す。その後試料室をしめて真空にしておく。
- (9) 電子顕微鏡観察ソフトを終了，PC を終了する（PC の電源を切る）。
- (10) 電子顕微鏡の電源を切る。
- (11) 試料はホコリなどが付着しないように密閉できる箱（できればデシケーター）に入れて保管する。
- (12) 後片づけをして終了

1.9. 参考資料

日本電子顕微鏡学会関東支部（編）（2000） 走査電子顕微鏡，共立出版，p. 447