

電子線トモグラフィー法 その2：課題と応用例

Electron Tomography, Its Issues and Application

金子 賢治^a, 馬場 則男^b, 陣内 浩司^{c, d}

Kenji Kaneko, Norio Baba and Hiroshi Jinnai

^a九州大学大学院工学研究院材料工学部門

^b工学院大学情報学部コンピュータ科学科

^c京都工芸繊維大学工芸科学研究科生命物質科学域高分子機能工学部門

^d東北大学原子分子材料学高等研究機構(WPI-AIMR)

要旨 本稿では電子線トモグラフィー法の課題について概説し、応用例として、多種多様の材料の中から分散強化合金を例に取り、電子線トモグラフィー法の材料科学における有用性を示します。

キーワード：透過型電子顕微鏡，電子線トモグラフィ，計算機断層撮影法（CT法），伸び因子，分散強化合金

1. イントロダクション

「電子線トモグラフィー法 その1：原理」では電子線トモグラフィ（TEM-CT）法の歴史的背景や、連続傾斜像の撮影と再構築、ラドン変換や再構成法について論じました。本稿、「電子線トモグラフィー法 その2：課題と応用例」ではTEM-CT法の課題について概説し、応用例として、多種多様の材料の中から分散強化合金を例に取り、TEM-CT法の材料科学における有用性を示したいと思います。

2. TEM-CT法の課題

2.1 試料厚みと試料傾斜の限界

TEM-CT法やTEM法に用いる試料は、観察領域が広範囲にわたることや、電子が試料を透過する必要があることから、薄膜である場合がほとんどです。このような薄膜試料の場合、未傾斜時における厚みを仮に t_0 とすると、傾斜時（ θ ）には入射電子線に対して見かけ上の試料厚み（ t ）が $t_0/\cos\theta$ となります（図1）。また、ナノ粒子試料の場合、非晶質カーボン膜が張られたマイクログリッドにナノ粒子を担持したり、マイクローム処理したりするため、傾斜時におけるカーボン膜の厚みも無視できなくなります。この結果、入射電子が試料のみならずカーボン膜とも相互作用を起こし、非弾性散乱電子の成分が増加し、色収差の影響のため像質が低下することになります。この場合は、非弾性散乱成分を除去するエネ

ルギーフィルターを併用することにより像質の改善が可能となります。また、意図的に非弾性散乱成分を選択することにより、特定の元素の連続傾斜像の撮影も可能となります^{1,2)}。

また、観察対象が局所領域で良いのであれば、軸の回転方向に対して均一厚みを持つようにピラー状に試料を加工することにより試料傾斜時に試料厚みの影響が現れないようにする等、試料作製技術の向上とともに、試料作製の面での工夫が凝らされるようになってきています³⁾。

再構築像の空間分解能と像質は、それぞれの投影像の空間分解能だけでなく、傾斜角度範囲や角度刻みに大きく依存します。角度刻みが小さいほど、再構築像の像質は向上します（図2）。また、傾斜角度範囲が大きければ大きいほど、より

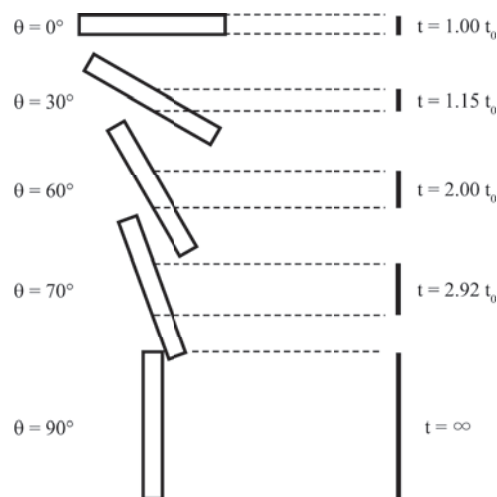


図1 薄片試料の場合、傾斜（ θ ）をかけると、見かけ厚みが $1/\cos\theta$ 分厚くなる。

^a 〒 819-0395 福岡市西区元岡 744

TEL: 092-802-2959

E-mail: kaneko@zaiko.kyushu-u.ac.jp

2010年2月3日受付

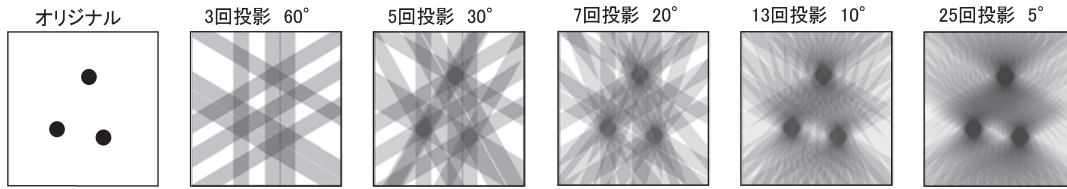


図2 投影回数、角度刻みと像質の関係との関係を示す模式図（最大傾斜角度を60°とした場合、BP法）

多くの情報を含む再構築像を得ることが可能となります（図3、表1）。一般に±90°の傾斜をかけ逆投影法を用いた場合、再構築像の空間分解能 d は投影回数 N とその観察対象の直径 D に大きく依存し、式1で与えられます⁴⁾。

$$d = \frac{\pi D}{N} \quad (1)$$

しかし、TEM 試料は薄膜試料の場合が多く、±90°の傾斜は困難ですから、より一般的な状況での空間分解能 d_z は最大傾斜角 (α_{\max}) から式2で与えられます⁵⁾。ここで、式2の d_z は式1の d に相当します。

$$d_z = d_y \times \sqrt{\frac{\alpha_{\max} + \cos \alpha_{\max} \sin \alpha_{\max}}{\alpha_{\max} - \cos \alpha_{\max} \sin \alpha_{\max}}} \quad (2)$$

特に、傾斜角に限界がある場合、再構築像の深さ (z) 方向への伸びは避けることが出来ず、伸び因子として知られています。

$$\frac{d_z}{d_y} = e = \sqrt{\frac{\alpha_{\max} + \cos \alpha_{\max} \sin \alpha_{\max}}{\alpha_{\max} - \cos \alpha_{\max} \sin \alpha_{\max}}} \quad (3)$$

もし、試料ステージの傾斜角度制限の結果、投影像がある角度範囲にわたって欠落しているとすると、フーリエ空間中ではこの方向の情報が不足してしまいます（図2）。この結果、物体の逆変換はこの情報の欠落方向に対して、像がぼやけたものとなり像質が低下してしまうことになります。それ故、TEM-CT 法には高精度なステージと特別に高傾斜用に設計された試料ホルダー^{6~8)}が必要となります。また、二軸傾斜を用いる等により、傾斜角度制限を抑えて良質の3次元再構築像を得ることが可能となります（図3）。最近では、試料をFIBによりピラー状に加工し、±90°傾斜させる手法も編み出されています^{3,9,10)}。このピラー状試料を用いた±90°

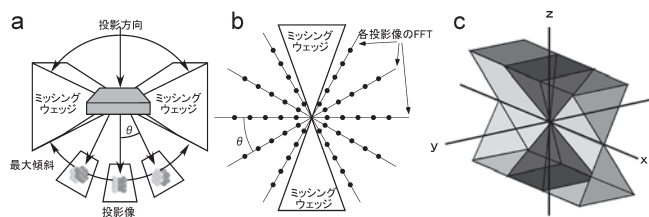


図3 ミッシングウェッジ（一軸傾斜, a, b）とミッシングコーン（二軸傾斜, c）。試料傾斜角度に制限がある場合、情報の欠落が生じ、再構築像の信頼度が低下するが、一軸傾斜 (x) に比べて二軸傾斜 (x, y) を用いると、情報量が増加するため、像質が改善される¹¹⁾（表1参照）。

傾斜実験結果によると、真に定量的な3次元データを取得するためには、最大傾斜角度を最低80°としなくてはならないこと、また、一般的な±60°傾斜実験による再構成像を使って材料内部の構造を定量した場合、測定値に約10%の誤差が生じることなど、が分かりました^{15,21,22)}。すなわち、連続傾斜像を撮影する際は、一般的にはTEMの試料傾斜の角度上限と撮影時間、連続傾斜像の全データを考慮しなくてはなりません、その制限の中で、より大きな角度範囲とより小さな角度刻み（1-2°刻み）を心がけることが非常に大事だということになります。

このように、空間分解能や再構築像の像質を向上させるためには、多数の連続傾斜像が必要となります。実験の手順として見たとき、このことは、単純に

$$[\text{1枚の傾斜像に要する撮影時間}] \times [\text{撮影枚数}] \quad (4)$$

の撮影時間が必要になることを意味します。このような長時間に及ぶ連続傾斜像の撮影では電子線による試料損傷や試料汚染の可能性が無視できなくなることに注意しなくてはなりません。また、撮影枚数の増加は記憶容量の増加や処理時間の増加を意味しますので、よほど高速なコンピュータを用いない限り、長時間のデータ処理や再構築が必須となります。つまり、このような現実的な諸制限の中でのなるべく多くの透過像を撮影することが必要となるわけです。

また、撮影の際に各傾斜像を十分に位置補正した場合であっても、得られた一連の画像に対して同一の軸が存在するとは限りません。電子線照射による試料の変形や試料高さの変化に伴う焦点合わせ操作のため、像回転が生じてしまい、結果的に傾斜軸が回転してしまうことがあります。傾斜軸のずれに伴い、各傾斜角度における物体の投影位置が移動してしまうため、厳密な傾斜軸の決定が必要となります（図4）。

2.2 装置の限界

通常、金属材料や無機材料のTEM観察は、原子レベルの高い空間分解能を必要としますので、強励磁の対物レンズを

表1 傾斜角度範囲とオリジナル画像に対する再構築像の像質 (%) の関係

傾斜角度範囲	一軸傾斜の場合	二軸傾斜の場合
±70°	78%	93%
±60°	67%	84%
±45°	50%	67%

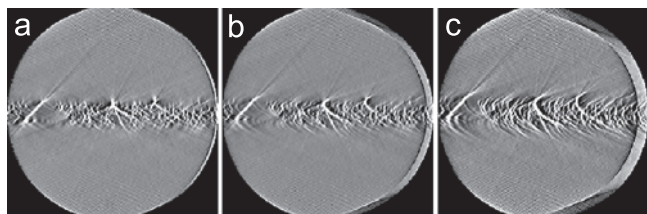


図4 投影像の傾斜軸のずれにより生じる偽像。傾斜軸ずれが顕著になるに従ってプーメラン状のコントラストが出現し始める。(a)は傾斜軸ずれが無視できる程度の場合、(b)や(c)は傾斜軸ずれが増加した場合。

使用するなどにより、球面収差や色収差を低減する必要があります。このようなレンズの場合、焦点距離が短く、レンズ間隔も狭くなりますので、試料ホルダーを高傾斜するには困難が伴うことになります。市販の試料ホルダーではポールピースに衝突してしまう場合や(図5a)、直径3mmの薄膜試料を固定するために押え機構が備えられていますので(図5b)、これが高傾斜時の視野を阻害してしまうことになります。

2.1で述べたように、信頼度の高い3次元再構築像を得るためには、可能な限り小さな角度刻みと広い傾斜角度範囲(±70°以上)における連続傾斜像を撮影するよう心掛ける必要があります。この結果、フーリエ空間での情報密度が高まり、高い空間分解能の3次元再構築像を得ることが可能となります。そのためには、高分解能の対物レンズでも高傾斜が可能な専用のTEM試料ホルダーを使用する必要があります^{18~20)}。

2.3 結晶性材料の限界

生体材料や高分子材料のような非晶質材料であれば、2次元像のコントラストは吸収・厚みコントラストのみとなります。つまり、試料傾斜とそれに伴う厚みの増加、ならびに2次元像に出現するコントラストとの間に一義的な相関が存在し、投影像のコントラストは吸収・厚みコントラストの考え方で解釈できます。例えば、透過波の見かけ上の吸収は、試料厚みを t としたとき、

$$\frac{N_0 \sigma_{atom}}{M} \rho t \quad (5)$$

で与えられます。ここで、 N_0 はアボガドロ数、 M は分子量、 σ は散乱断面積を対物絞りの大きさから高角側へ積分したものであり、 ρ は密度に相当します。このため、試料膜厚が既

知であれば、傾斜角と試料厚みの関係から密度や分子量などに応じた3次元情報を得ることが可能となります^{12~15)}。

これに対して、結晶性材料の場合、連続傾斜像撮影時に、吸収・厚みコントラストだけでなく、傾斜角度によってはBragg条件を満たし、回折コントラストが発生してしまいます。この回折コントラストは、吸収・厚みコントラストとは異なり、密度や分子量の変化とは無関係ですので、傾斜角度と2次元像のコントラストが一義的ではなくなり、回折コントラストを示す入射方位(傾斜角度)においてのみ信号強度が変化し再構築像に線状の偽像が発生してしまいます。このため、高角環状暗視野(STEM-HAADF)法やエネルギーフィルター法と組み合わせ、高角度に散乱した電子やゼロ・ロス電子を用いて2次元像を結像することにより、2次元TEM像への回折コントラストの寄与を低減した手法を併用します^{16,17)}。最近では連続傾斜像に意図的に回折コントラストを反映させ、欠陥等の立体的情報を得る手法も確立されています^{18~20)}。

当然ながら2次元像にコントラストが発現しない場合であれば、3次元再構築像にコントラストは発現しませんので、それぞれの手法の組み合わせにより、観察対象のコントラストが連続傾斜像中に必ず反映するようにTEMやSTEM観察を行う必要があります。

2.4 照射損傷^{21,22)}

結晶性材料に限らず、有機材料や生体材料においては電子線損傷が重要な課題となっています。生体材料の場合、氷包埋法とクライオ電子顕微鏡の発達によって、不安定な生体高分子複合体などの構造解析の可能性が高まりましたが、それでも照射損傷という大きな課題が立ちはだかっています。2.1で述べたように、高い分解能を得るためには、可能な限り小さな角度刻みと広い傾斜角度範囲で多数枚の傾斜像を撮影しなければなりません。しかし、一方で照射損傷を抑えるために、写真一枚あたりの電子線照射量を減らさなくてはなりません。氷包埋・クライオ電子顕微鏡の場合、実験的に照射量と分解能に対して、 $4000 \text{ e}^-/\text{nm}^2$ で約4nmという経験的な関係が報告されています。写真一枚あたりの照射量は、更にこれの写真枚数分の一になるため、もはや手動での連続傾斜像撮影は不可能となりますので、連続傾斜像撮影の自動化だけでなく、コンピュータ制御による損傷を最小限に抑えた自動撮影システムが必要不可欠な開発課題となっています。

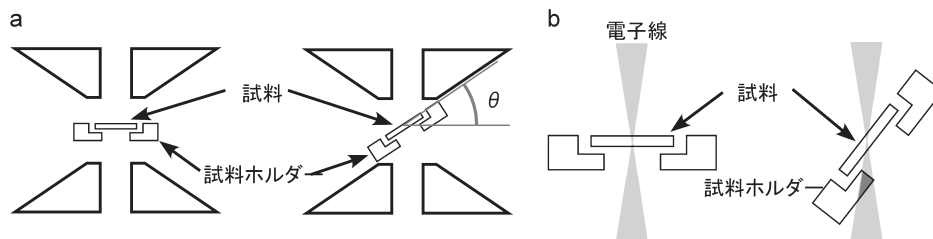


図5 試料傾斜時における試料ホルダーのサイズによる制限(a)と試料ホルダーの形状による制限(b)

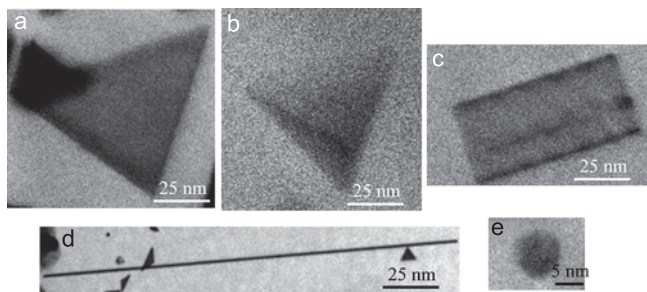


図6 様々な形状をした Al-Ge 合金中の Ge 析出物. (a) 三角板状, (b) 正四面体状, (c) 板状, (d) 棒状, ならびに (e) 球状.

3. 解析例：Al-1.6at%Ge 試料^{17,23,24)}

分散強化合金では析出物の形状やサイズ、分布が特性に重要な役割を果たしています。またそれらを制御することは合金を作製する上で非常に重要になります。それらの合金の中でも特に Al-Ge 合金は、固体中の核生成や析出反応の原理といった基礎的な研究要素を含んでいますので、非常に注目されている材料です。Al-Ge 系合金は単純な共晶合金であり、中間の準安定相を形成せずに過飽和固溶体から純 Ge 粒子が直接析出する系です。母相と析出相は cubic (面心立方格子) —cubic (ダイヤモンド格子) の関係がありますが、過飽和 Al-Ge 合金を時効すると準安定中間相の形成なしにさまざまな形状や方位関係を持った純 Ge が形成します²⁵⁾。これらの析出物は熱処理によって様々な形態を有することが報告され、例えば Hugo と Muddle による TEM 像と電子線回折の結果から、母相と析出相の方位関係が解明されています²⁶⁾。

図6に、ほぼ同一の視野領域から観察された、形状が異なる析出物を示します。それぞれ、三角形板状 (a)、四面体 (b)、ラス状 (c)、棒状 (d)、および球状 (e) の析出物が観察されます。これらの2次元 TEM 像のコントラストからは析出物の3次元形態を判断することは、殆ど不可能と言えます。

今回、析出相の方位関係と形状について、TEM-CT法による3次元像観察を試みました。各析出相を比較しますと、棒状の Ge 析出物は Al-Ge 合金中の $\langle 100 \rangle_{\text{Al}}$ 方向に伸び、三角形板状析出物は $\{111\}$ 面上に存在し、四面体と八面体状の析出物は $\{111\}_{\text{Al}}$ 面に囲まれ、最密方向である $\langle 110 \rangle_{\text{Al}}$ に平行にエッジが存在することがわかります。また、 $\langle 111 \rangle_{\text{Al}}$

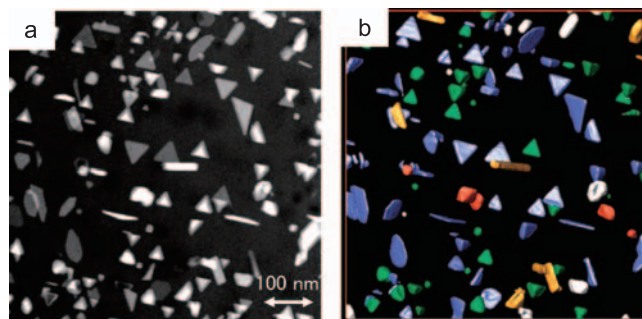


図7 Al-Ge 合金中の原子番号コントラスト像 (a) とほぼ同一視野の析出物の3次元再構築像 (b)

方向に投影したとき四面体状析出物と三角形板状析出物の区別をすることは困難ですが、TEM-CT法によりそれらの析出物の形状の違いを直接的に区別することが可能となります。

図7bは再構築の結果を析出物の形態毎に色分けしボリューム表示したものです。原子番号コントラスト像 (図7a) からは得ることが困難であった奥行き方向の情報を判断することが可能となりますので、析出物が様々な形態をしていることが容易に確認できますし、それらの析出物におけるファセットの存在を確認することも可能となります。今回の観察結果からは棒状 (金色)、三角形板状と六角形板状 (青色)、四面体 (緑色)、八面体 (橙色)、識別不可能 (白色) の析出物が確認されています。特に三角形板状、六角形板状、四面体、八面体はそれぞれ $\{111\}_{\text{Al}}$ 面上にファセットを有し、棒状析出物は $\langle 110 \rangle_{\text{Al}}$ 方向へ成長しているという方位関係が存在します。

今回、様々な形態の析出物が報告されている Al-Ge 系合金に対して、HAADF法を併用した TEM-CT法を用い、析出物の形態や分布に関する解析例を紹介しました。2次元の原子番号コントラスト像 (図7b) からは形態や分散状態の判別が困難でしたが、3次元観察の結果、これらが容易となりました。TEM-CT法の利点の一つは、コンピュータ上で3次元再構築像を正面に対して傾け、様々な方位から観察することができることです。図8には、45°傾斜させた3次元像を示しましたが、このようにすることで、析出物の形状や分布を、極めて直感的に把握することが可能となります。

このように形状が多岐にわたり情報が錯綜していた析出物

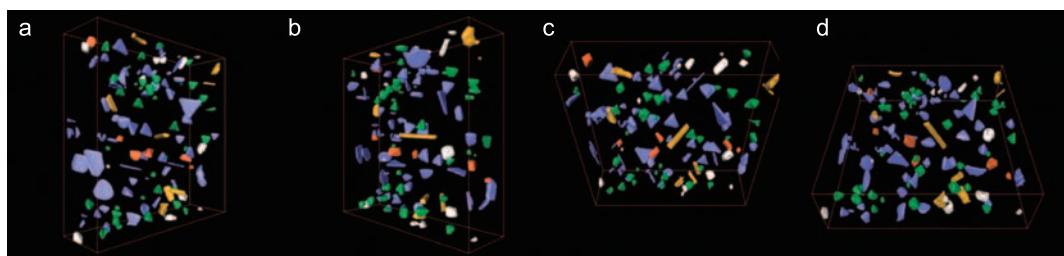


図8 3次元再構築像をコンピュータ上で様々な方位から観察した様子。それぞれ正面に対して45° ((a) 左+45°, (b) 右+45°, (c) 下+45°, (d) 上+45°) 傾けている。

の形態やそれらの方位関係、ファセットの有無などを、TEM-CT法を用いることにより、明瞭に観察することが可能となりました。

4. 最後に

材料の特性と構造には密接な関係がありますので、ナノスケールでの材料解析はナノテクノロジーやナノサイエンスの分野で極めて重要な役割を果たします。今回紹介しましたTEM-CT法を含め、ナノスケールでの材料解析法は、新材料の開発や材料の新知見を得るために、更なる研究展開が期待されています。

謝 辞

本稿で使用したデータの測定と解析に関しては、古河スカイ株式会社の佐藤圭介氏、日本エフイー・アイ株式会社の伊野家浩司氏、ケンブリッジ大学材料学科のPaul A. Midgley氏の協力を得ました。ここに記して謝意を表します。

文 献

- 1) Midgley, P.A. and Weyland, M.: *Ultramicroscopy*, **96**, 413–431 (2003)
- 2) Möbus, G., Doole, R.C. and Inkson, B.J.: *Ultramicroscopy*, **96**, 433–451 (2003)
- 3) Kawase, N., Kato, M., Nishioka, H. and Jinnai, H.: *Ultramicroscopy*, **107**, 8–15 (2007)
- 4) Crowther, R.A., DeRosier, D.J. and Klug, A.: *Proc. R. Soc. Lond.*, **317**, 319–340 (1970)
- 5) Radenmacher, M.: *J. Electron Microsc. Tech.*, **9**, 359–394 (1988)
- 6) http://www.fischione.com/products/model_2020.asp
- 7) <http://www.melbuild.com/>
- 8) http://www.gatan.com/products/specimen_holders/
- 9) 陣内浩司：「電子線トモグラフィ法による高分子材料のナノスケール3次元構造解析」, 応用物理, **78(7)**, 663–667 (2009)
- 10) 陣内浩司：「三次元イメージング法—最近の進歩と今後の展望— (連載・高分子科学最近の進歩)」, 高分子, **56(5)**, 352–357 (2007)
- 11) Tong, J., Arslan, I. and Midgley, P.A.: *J. Struc. Bio.*, **153**, 55–63 (2006)
- 12) Jinnai, H., Nishikawa, Y., Ikehara, T. and Nishi, T.: *Adv. Polym. Sci.*, **170**, 115–167 (2004)
- 13) Jinnai, H. and Spontak, R.S.: *Polymer*, **50**, 1067–1087 (2009)
- 14) Sugimori, H., Nishi, T. and Jinnai, H.: *Macromolecules*, **38**, 10226–10233 (2005)
- 15) Jinnai, H., Nishikawa, Y., Spontak, R.J., Smith, S.D., Agard, D.A. and Hashimoto, T.: *Phys. Rev. Lett.*, **84**, 518–521 (2000)
- 16) Kaneko, K., Inoke, K., Freitag, B., Hungria, A.B., Midgley, P.A., Hansen, T.W., Zhang, J., Ohara, S. and Adschiri, T.: *Nano Lett.*, **7**, 421–425 (2007)
- 17) Kaneko, K., Inoke, K., Sato, K., Kitawaki, K., Higashida, H., Arslan, I. and Midgley, P.A.: *Ultramicroscopy*, **108**, 210–220 (2008)
- 18) Barnard, J.S., Sharp, J., Tong, J.R. and Midgley, P.A.: *Science*, **313**, 319 (2006)
- 19) Tanaka, M., Higashida, K., Kaneko, K., Hata, S. and Mitsuhashi, M.: *Scripta Mater.*, **59**, 901–904 (2008)
- 20) Kimura, K., Hata, S., Matsumura, S. and Horiuchi, T.: *J. Electron Microsc.*, **54**, 373–377 (2005)
- 21) Koster, A.J. and Barcena, M.: In Frank, J. (Ed.), *Electron Tomography* (2nd ed.), Springer, New York, 113–161 (2006)
- 22) 岩崎憲治：生体高分子系のトモグラフィー, 顕微鏡, **39**, 18–21 (2004)
- 23) 金子賢治：「3次元電子線トモグラフィ法の原理とAl合金の析出への応用」, 金属, **78(5)**, 456–462 (2008)
- 24) 金子賢治, 伊野家浩司, 北脇高太郎：「過型電子顕微鏡を利用した三次元解析」, 未来材料, **7**, 6–9 (2008)
- 25) Hinderberger, S., Xiao, S.-Q., Westmacott, K.H. and Dahmen, U.: *Z Metallkd.*, **87**, 161–169 (1996)
- 26) Hugo, G.R. and Muddle, B.C.: *Acta Metall. Mater.*, **38**, 351–363 (1990)