

大気圧走査電子顕微鏡 ASEM による 液体・気体中での動的観察

Atmospheric Scanning Electron Microscopy (ASEM) of Dynamic Phenomena of Materials in Liquid

須賀 三雄^a, 西山 英利^a, 小入羽祐治^a,
渡部 善幸^b, 岩松新之輔^b, 佐藤 主税^c

Mitsuo Suga, Hidetoshi Nishiyama, Yuji Konyuba,
Yoshiyuki Watanabe, Shinnosuke Iwamatsu and Chikara Sato

^a 日本電子(株)クレアプロジェクト

^b 山形県工業技術センター電子情報技術部

^c 産業技術総合研究所バイオメディカル研究部門

要旨 大気に開放された試料室を有する大気圧走査電子顕微鏡 (ASEM) を開発してきた。この顕微鏡を用いて、液体や気体中の材料系試料の動態を観察した。液体中での微粒子のブラウン運動と自己組織化、溶液の乾燥に伴う塩の樹枝状析出、電解液中における電気化学反応、および、はんだの融解・凝固など様々な動的プロセスの観察に成功した。ASEM は、液体・気体中での多様な動的現象の観察に用いられることが期待される。

キーワード: ASEM, 大気圧, 動的観察, 環境セル, 薄膜

1. はじめに

電子顕微鏡は、光の波長よりも小さなものを見るために有効なツールである。しかしながら、通常の電子顕微鏡では試料を真空中に配置する必要があるため、液体や気体中の現象を動的に観察することは困難であった。これを克服するための試みは、電子顕微鏡が発明された直後から様々になされてきた。Abrams と McBain は、透過電子顕微鏡用に、電子線透過性のコロジオン薄膜を 2 枚用いて、その間に気体や液体状の試料を閉じ込めて観察できる試料室である「環境セル (EC)」を初めて開発した¹⁾。EC は、その後薄膜作製技術の向上にともない改良が重ねられて性能が向上してきた^{2~4)}。また、走査電子顕微鏡用にもポリミド薄膜を用いた EC が開発されている⁵⁾。

我々は、最近大気に開放された試料室 (薄膜ディッシュ) を備えた大気圧走査電子顕微鏡 (ASEM: Atmospheric

Scanning Electron Microscope) を開発し⁶⁾、これまで主にバイオ分野に適用してきた⁷⁾。ASEM はその薄膜ディッシュ底部に電子線透過性の 100 nm 厚窒化シリコン (SiN) 薄膜を備える。これにより、真空と大気を隔絶し、大気側に配置した試料に真空側から電子線を照射する (図 1)。そこからの反射電子により、大気圧下の試料を観察できる。

本研究では、ASEM により液体と気体中で材料系試料を動的に観察した。ASEM では試料室が大気に開放されているため、気体の発生や蒸発など体積変化を伴う現象がリアルタイムかつ動的に観察できる。また、途中で試薬を追加することも容易である。ディッシュの試料容量は最大 3 ml と大きい。蒸発による試料濃度変化を最小限にできる。さらに、後述するように特殊な薄膜ディッシュの開発により、電気化学反応や温度変化に伴う状態変化についても *in-situ* で観察できる。

2. ASEM の構成

図 1 に、ASEM、および、薄膜ディッシュの構成を示す。ASEM では、通常の SEM を倒立させ、その上端には SiN 薄膜窓を備えたプラスチック製の薄膜ディッシュをセットする。この薄膜は厚みが 100 nm 以下であるが、一気圧の圧力差を支えることができる。そのため、SEM 内部を真空中に保ち、かつ電子線を透過できる。試料は、本薄膜ディッシュ上に載せた後で ASEM にセットし、観察をする。薄膜ディッシュを複数用意しておけば、薬剤投与や光刺激など事前に様々な条件で試料を処理して、状態変化を系統的に観察できる。このようにして、大気圧下の液体・気体中の試料を SEM で観

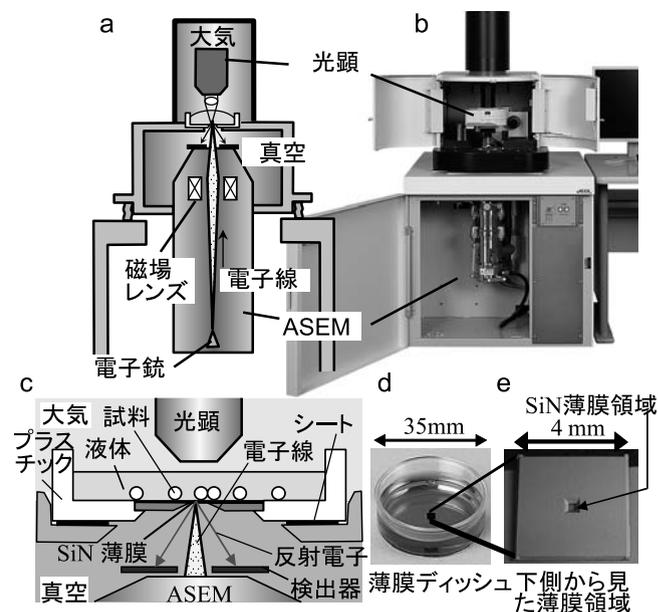


図 1 大気圧走査電子顕微鏡 (a, b) と薄膜ディッシュの構成 (c, d, e)。倒立した SEM の上端に薄膜ディッシュが配置され、その底面の SiN 薄膜を通して、下方から収束電子線を大気圧下の試料に照射する。試料が反射した反射電子を検出する。薄膜ディッシュ上部には、光学顕微鏡が配置される。

^a 〒 196-8558 東京都昭島市武蔵野 3-1-2
TEL: 042-542-2105; FAX: 042-546-0806
E-mail: msuga@jeol.co.jp
2011 年 3 月 3 日受付

察できる⁶⁾。また、薄膜ディッシュの上方には、SEM 鏡筒と同軸上に光学顕微鏡（蛍光顕微鏡）も配置しており、試料ステージが移動することで視野の移動が可能になっている。そのため、常に同一視野を光頭と電頭で交互に観察できる。ASEM と光学顕微鏡を組み合わせたシステムを、クレアスコープ（ClairScope™ JASM-6200）と呼んでいる。

3. 結果および考察

3.1 微粒子のブラウン運動と自己組織化

液体中での動的現象の観察例を紹介する。直径 $1\ \mu\text{m}$ のシリカ粒子を液体中に分散させて薄膜ディッシュに載せ、ASEM で連続観察した⁸⁾。加速電圧は $30\ \text{kV}$ 、ビーム電流は $1.2\ \text{nA}$ 、フレームレートは $0.075\ \text{sec/frame}$ である。観察倍率 $5,000$ 倍では、粒子は液体中をランダムに運動した（図 2 (a)）。これは、ブラウン運動と解釈される。また、倍率を $10,000$ 倍にして電子線照射密度を上げると、粒子が集まり最後は最密構造を形成する様子を動的に観察することができた（図 2 (b)）。これは、自己組織化という現象に分類される。倍率を下げると、電子線密度が下がり、粒子は散って元のブラウン運動に戻る。自己組織化は、直径 $1\ \mu\text{m}$ のシリカ粒子だけでなく、より小さな直径 $400\ \text{nm}$ の粒子でも起こることがわかった（図 2 (c)）。この場合、最密構造の中に結晶欠陥のような粒子配列の乱れが観察された。

3.2 In-situ の試薬投入

クレアスコープは開放試料室（薄膜ディッシュ）を持つため、観察中に外部から試料を操作することができる。その例として、直径 $1\ \mu\text{m}$ のシリカ粒子が液体中でブラウン運動し

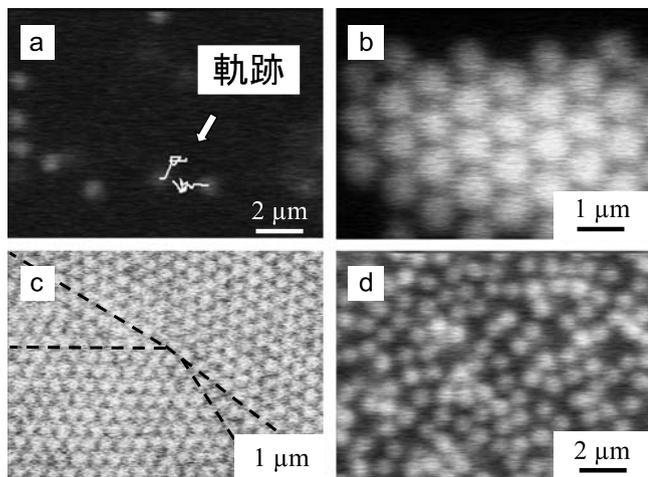


図 2 ASEM で観察した液体中のシリカ粒子。倍率 $5,000$ 倍でのシリカ粒子 ASEM 像と粒子の 1 秒間の軌跡 (a)。粒子が液体中でランダムに動くのを観察できた。倍率 $10,000$ 倍でのシリカ粒子の ASEM 像 (b)。高倍率での強い電子線照射によりシリカ粒子が集まり最密構造に整列する。観察倍率を下げ電子線量を減らすと粒子は散り、元のブラウン運動へ戻る。直径 $400\ \text{nm}$ のシリカ粒子が最密構造に配列した様子 (c)。配列には、結晶欠陥と類似な欠陥が観察される（点線）。シリカ粒子に NaCl 溶液を投入した後の ASEM 像 (d)。 NaCl 溶液の投入によりシリカ粒子が SiN 膜に吸着し動きが止まるのを観察できた。

ている最中に、外部から NaCl 溶液を加えた際の変化を観察した。ブラウン運動していたシリカ粒子が、 NaCl 溶液の投入と共に SiN 薄膜に吸着されて静止していく様子が観察できた（図 2 (d)）。

3.3 蒸発過程の観察

クレアスコープの試料室は大気に開放されているために、蒸発などで試料の体積が変化する過程も観察できる。ここでは、例としてリン酸バッファー液（PBS）が乾燥する過程を示す⁸⁾。微量の PBS を、薄膜ディッシュの上に配置し、ASEM で連続的に観察した。図 3 に示すように、溶媒が蒸発し乾燥するとともに、樹枝状の塩が析出する様子が観察できた。大気圧下における乾燥過程を SEM で観察したのは、本研究が最初と思われる。

3.4 電気化学反応の観察

電解液中での電気化学反応を *in-situ* で観察するために、 SiN 薄膜上に $100\ \mu\text{m}$ 離れた 2 つの電極を備える電気化学薄膜ディッシュを開発した（図 4 (a), (b)）⁸⁾。電極は、 SiN 薄膜上に $30\ \text{nm}$ 厚のチタンと $100\ \text{nm}$ 厚の金をスパッタリング法で積層し、ホトリソグラフィとウェットエッチングで加工することにより形成した。ASEM による連続観察は、加速電圧 $30\ \text{kV}$ 、ビーム電流 $20\ \text{pA}$ として行った。

飽和 NaCl 溶液中のカソード電極近傍を $5,000$ 倍の倍率で

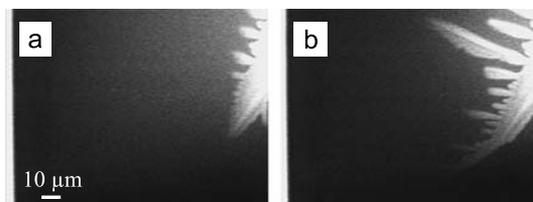


図 3 溶媒が蒸発する最中の PBS（Phosphate Buffered Saline）溶液の ASEM 像。溶媒の蒸発に伴い、樹枝状に塩が析出した。

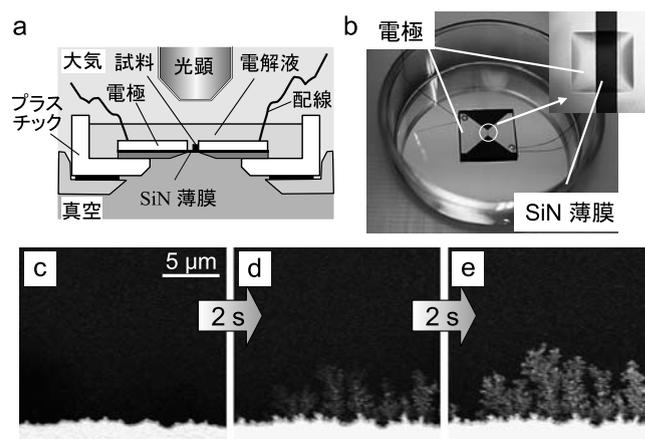


図 4 電気化学薄膜ディッシュ (a, b) と電解液中での電気化学反応の ASEM 観察 (c, d, e)。 SiN 薄膜の上に $100\ \mu\text{m}$ 間隔で 2 枚の電極を形成した (a, b)。電極間に $2.1\ \text{V}$ の電圧を印加した状態でカソード付近を ASEM 観察。電圧印加直後 (c)、2 秒後 (d)、4 秒後 (e)。カソードからアノード方向に樹枝状の析出物が成長する。

1 フレーム 0.15 秒, 4 回積算の条件で ASEM 撮影した. 撮影直後に, アノードとカソード電極の間に電圧を印加した. 図 4 に, (c) 電圧印加直後, (d) 電圧印加 2 秒後, (e) 電圧印加 4 秒後の ASEM 像を示す. カソード電極からアノード電極側に向かって樹枝状の構造が成長していく様子をリアルタイムに観察することができた⁸⁾. 観察後に試料全体を乾燥させて, 樹枝状の析出物を SEM-EDS (Scanning Electron Microscope—Energy Dispersive Spectrometry) で分析したところ, 金であることがわかった. 金が析出したのは, 電解精錬で知られているように, アノードで溶解した金が, カソードに析出したためと思われる.

このように, ASEM を用いることにより, 電気化学反応による金属の堆積をリアルタイムに観察できることがわかった. これまで, SEM を用いた電解液中での電気化学現象のリアルタイム観察は, 真空中でも蒸気圧が低いイオン液体などの電解液の場合に限られていた⁹⁾. しかしながら, 真空中での維持が困難な一般的な電解液を用いた観察は, 本例が最初と思われる.

3.5 温度依存性の観察

溶液中・気体中において温度により変化する現象を観察するために, 温度可変薄膜ディッシュを開発した⁸⁾. 標準のディッシュと類似の構成であるが, 温度を上昇・制御できるようにヒーターと温度計を設置し, 本体を温度上昇に耐えられるようにチタン製とした点が異なる (図 5 (a)). 本研究では, この温度可変薄膜ディッシュの上にはんだ (Sn: 42 wt%, Bi: 58 wt%) を載せて, 図 5 (b) に示す各温度において, 融解・凝固する際の形態変化を観察した (図 5 (c)–(e))⁸⁾. 温度が 145°C ではんだが融解して ASEM 像のコントラストは一様であるが (図 5 (c)), その後 130°C に冷却することにより金属が偏析する (d). 再度温度を 150°C まで上昇させた後で 115°C に急速に冷却すると, 偏析のモフォロジーが異なる (e). 冷却条件の違いにより偏析の状況が異なることが

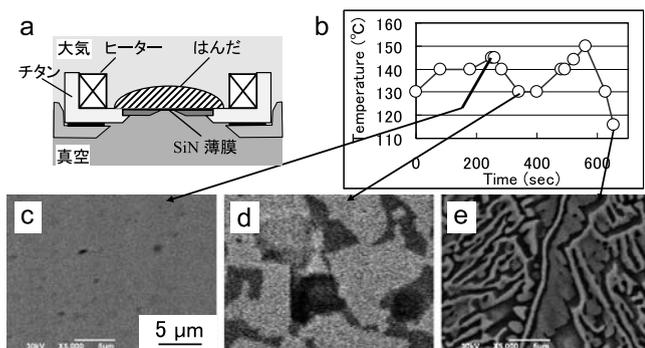


図 5 温度可変薄膜ディッシュの構成 (a), 温度変化 (b) とはんだの ASEM 像 (c, d, e). ディッシュにヒーターと温度計を配置した (a). 融解したはんだの ASEM 像 (c). 温度低下により凝固したはんだの ASEM 像 (d, e). 偏析により明暗のコントラストがつく. そのモフォロジーは冷却条件により異なることが示唆される.

示唆された.

このように, ASEM と温度可変薄膜ディッシュを用いて, はんだの融解・凝固プロセスを空气中でリアルタイムに観察できることがわかった. はんだ付けの際には様々な添加物を加えるが, これらの多くは揮発性である. このため, 真空中における SEM 観察では添加物の蒸発レートが高く, 大気中とは大きく状況が異なると予測される. 今後 ASEM を用いて, 様々な添加物を加えた際にはんだ付けプロセスを *in-situ* で観察したいと考えている.

4. おわりに

大気圧下の液体や気体中での動的現象をリアルタイムに観察できることが大気圧走査電子顕微鏡 ASEM の大きな特徴である. 今後, これまで困難であった様々な試料の動的観察に適用できると期待される.

謝 辞

大気圧走査電子顕微鏡 (ASEM) 開発にあたり, 産業技術総合研究所の小椋俊彦博士, および, 日本電子グループの方々に大変お世話になりました. 各種薄膜ディッシュの開発にあたり, 山形県工業技術センターの小林誠也氏, 阿部泰氏, 矢作徹氏にご協力いただきました. 電気化学反応の解釈については, 日本電子フランスの朝比奈俊輔氏にご議論いただきました. 電気化学反応における SEM-EDS 分析を, 日本電子の中嶋香織氏にいただきました. ご協力いただいた皆様方に感謝いたします. ASEM 開発の一部は, 産業技術総合研究所と日本電子のマッチングファンドの支援を受けて行われました. 薄膜ディッシュの開発は, 山形県, 山形クリエイティブ, 日本電子の共同研究として行われました.

文 献

- 1) Abrams, I.M. and McBrain, J.W.: *J. Appl. Phys.*, **15**, 607–609 (1944)
- 2) Williamson, M.J., Tromp, R.M., Vereecken, P.M., Hull, R. and Ross, F.M.: *Nature Materials*, **2**, 532–536 (2003)
- 3) Zheng, H., Smith, R.K., Jun, Y.W., Kisielowski, C., Dahmen, U. and Alivisatos, A.P.: *Science*, **324**, 1309–1312 (2009)
- 4) 福嶋球琳男, 石川 晃: 顕微鏡, **43**, 9 (2008)
- 5) Thiberge, S., Nechushtan, A., Sprinzak, D., Gileadi, O., Behar, V., Zik, O., Chowars, Y., Michaeli, S., Schlessinger, J. and Moses, E.: *PNAS*, **101**, 3346–3351 (2004)
- 6) Nishiyama, H., Suga, M., Ogura, T., Maruyama, Y., Koizumi, M., Mio, K., Kitamura, S. and Sato, C.: *J. Struct Biol.*, **169**, 438–449 (2010)
- 7) Murai, T., Maruyama, Y., Mio, K., Nishiyama, H., Suga, M. and Sato, C.: *J. Biol. Chem.*, **286**, 1999–2007 (2011)
- 8) Suga, M., Nishiyama, H., Konyuba, Y., Watanabe, Y., Iwamatsu, S., Yoshiura, C., Shimada, I. and Sato, C.: submitted
- 9) Arimoto, S., Oyamatsu, D., Torimoto, T. and Kuwabata, S.: *Chemphyschem*, **9**, 763–767 (2008)