

モバイル SEM でミクロの世界を探る

第1回 走査型電子顕微鏡 (SEM) とは？

— 電池で働くモバイル SEM とその使い方 —

摂南大学 理工学部 電気電子工学科 井上雅彦

ビデオ教材：http://sprite.eng-scl.setsunan.ac.jp/sst_lab/2010/must-sem-1.html

1 はじめに

人間が肉眼で見ることのできる範囲は限られています。観察用の道具、つまり望遠鏡や顕微鏡の進歩により、その限界は広大な宇宙へ、また微細なミクロの世界へとどんどん広げられてきました。このシリーズでは、教育用に開発されたモバイル走査型電子顕微鏡 (SEM) を使ってミクロの世界を探ってゆきます。SEM は焦点深度が大変深く、広い範囲でフォーカスがあうため、三次元的で迫力のある像が得られます。ところが一般的には大変高価で、操作するにも専門知識が必要です。そこで私たちは企業の方々と協力して、小中学校や高校などの理科教材として野外に持ち出して利用できる、小型で安価、そして取り扱いが簡単なモバイル SEM を開発しています。今回は簡単な顕微鏡の歴史に触れたあと、私たちの開発しているモバイル SEM と、その使い方について説明したいと思います。

※このモバイル SEM は、科学技術振興機構 (JST) の援助を受け、新日本電工 (株) が中心となって (株) アプロ、大阪産業大学、摂南大学が共同で開発しているものです。ここでご紹介しているのはプロトタイプ (試作機) であることにご注意ください。

2 顕微鏡の歴史

福山雅治さん主演のドラマ「ガリレオ」の名前は、皆さんご存じのように16世紀のオランダの物理学者ガリレオ・ガリレイに由来しています。ガリレオはオランダで望遠鏡 (telescope) が発明されたことを知ると自分でも望遠鏡を自作し、月面にクレーターがあることや、木星に衛星が4つあること、土星には輪があることなど、次々に発

見して行きました。ガリレオの作った望遠鏡は14倍～20倍程度で現在ではおもちゃのような望遠鏡でしたが、それまで肉眼では見ることのできなかつたものが見えるようになり、人間の認識できる宇宙を広くすることができたのです。1609年、つまり今から400年ほど前のことです。日本では関ヶ原の戦いがちょうど1600年ですので徳川幕府が開かれた頃のことになりますね。ガリレオは「天文学の父」と呼ばれています。

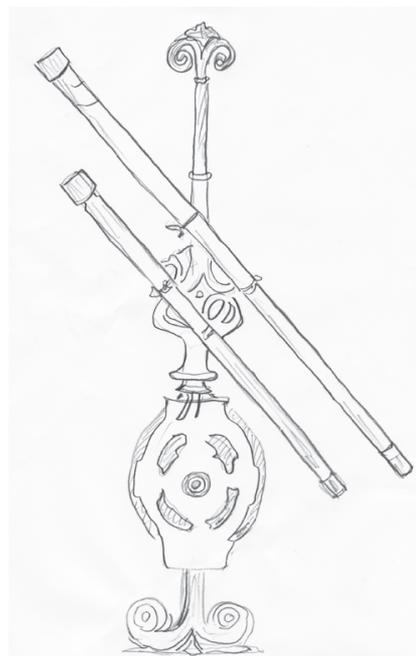


図1 ガリレオ・ガリレイの自作した望遠鏡
(14倍～20倍, 1609年頃)

さて、ガリレオの望遠鏡は対物レンズと接眼レンズの二つのレンズを組み合わせたものですが、これを逆さにのぞくと小さなものが大きく拡大されて見えることが発見され、やがて望遠鏡 (telescope) に対して顕微鏡 (microscope) と呼ばれるようになりました。イギリスのロバート・フッ

ク（物理学者、生物学者）は複式（レンズが二つ）顕微鏡を自作し、昆虫や植物、その他色々なものを観察してスケッチし、1665年には「ミクログラフィア（顕微鏡図譜）」を発刊しました。コルクを観察して小さな部屋の集まりのような構造を発見し、「細胞」と名付けています。フックの顕微鏡は20倍～30倍程度の倍率でしたが、微細なところにも宇宙と同様の広大な世界が広がっていることを認識させてくれたのです。

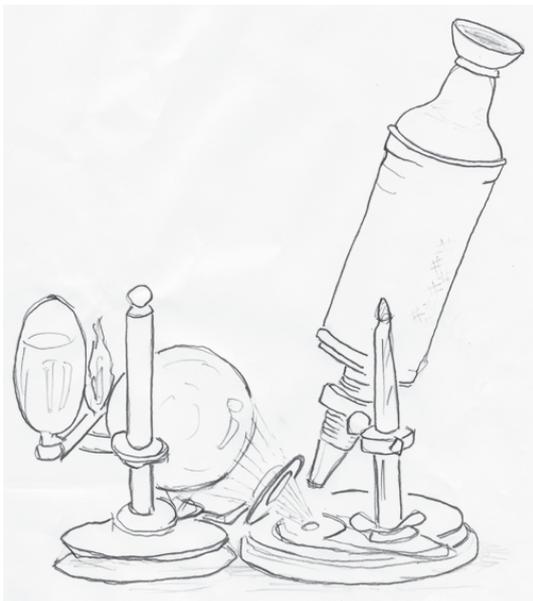


図2 ロバート・フックの自作した複式顕微鏡（20倍～30倍、1665年頃）

ロバート・フックと同じ頃、オランダのアントニ・ファン・レーウエンフックはレンズ一つだけ（直径1～2mm程度のガラス球）の単式顕微鏡を自作し、身近なものを観察しては多くの発見をしました。レーウエンフックはミクログラフィアの影響を受けていたと思われます。生涯で製作した顕微鏡は500個に達すると言われていています。レーウエンフックの顕微鏡の大きさはカードよりも小さいくらいで、顕微鏡というよりルーペや虫眼鏡に近い使い方だったようです。しかし性能はフックの顕微鏡をしのぎ、原生動物や細菌などが次々に発見されてゆきました。図3がレーウエンフックの顕微鏡です。下から伸びている針の先に試料をとりつけ、小さなガラス球の入った金属板の向こう側からレンズを通してのぞき込みます。ねじがいくつかついているのは試料の移動とフォーカス調整のためです。レーウエンフックは「微生物学の父」と呼ばれています。

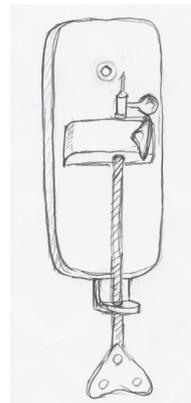


図3 アンтони・ファン・レーウエンフックの自作した単式顕微鏡（50倍～300倍、1675年頃）

その後顕微鏡はどんどん進歩し、透過光を利用する物、反射光を利用する物、蛍光を利用する物など現在では多くのバリエーションが存在します。一般的な顕微鏡は図4のような形をしています。小中学校や高校で使われた方もいらっしゃるでしょう。スライドガラスの上に見たい試料をのせ、水滴をたらして上からカバーガラスをおきプレパラートとします。これをステージの上においてミラーで下から光を照射し、透過光を対物レンズ、接眼レンズを通して観察します。皆さんが使われた顕微鏡ではおそらく倍率は数10倍から数100倍程度だったと思います。

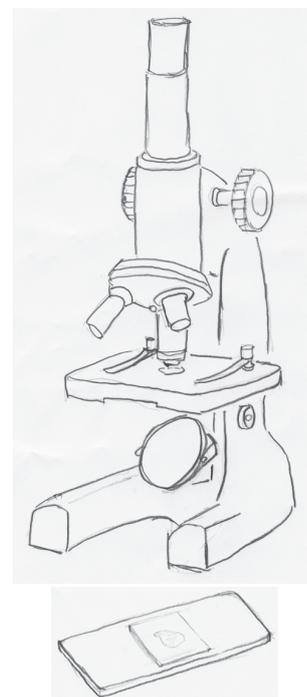


図4 現在の一般的な光学顕微鏡とプレパラート

これに対して研究者や専門家が使う高価な光学顕微鏡ではもっと高い倍率が得られますが、原理的な制限があり、1000倍あたりが限界とされています。これは分解能（解像度、どのくらい小さい物までみられるかという数値）で言うと、 $0.2\ \mu\text{m}$ ~ $0.3\ \mu\text{m}$ くらいです。分解能は使用している光の波長の $1/2 \sim 1/3$ となりますので、可視光を使う光学顕微鏡（Optical Microscope, OM）ではこの程度の分解能が限界ということになります。もっと小さな物を観察するにはもっと波長の短い何かを使う必要があります。

電子は光と同様に粒子性と波動性を兼ね備えています。その波長はエネルギーを大きくすることでどんどん短くすることができます。そこで電子を利用した顕微鏡、つまり電子顕微鏡（Electron Microscope, EM）が考案されました。電子顕微鏡は大きく分けると透過型と走査型があります。1931年にドイツのマックス・クノールとエルンスト・ルスカによって世界最初の透過型電子顕微鏡が製作されました。この時、倍率はわずか

13倍でしたが、すぐに10万倍できれいな像が観察できるようになりました。それからしばらくして1937年にマンフレート・フォン・アルデンヌによって走査型電子顕微鏡が製作されました。現在では透過型電子顕微鏡の分解能は約 $0.1\ \text{nm}$ くらいで、つまり原子の像を観察できる能力を持っています。倍率で言うと100万倍くらいです。走査型電子顕微鏡の分解能はこれより一桁悪く数 nm くらいですが、試料の立体的な像が観察できるという特徴を持っています。

透過型電子顕微鏡（Transmission Electron Microscope, TEM）と走査型電子顕微鏡（Scanning Electron Microscope, SEM）の簡単な構造を図5に示します。TEMでは電子源から電子を取り出し、コンデンサレンズで絞って試料に照射します。試料を透過した電子線を対物レンズと投射レンズで拡大して蛍光スクリーンに投影します。電子は目で見えませんが蛍光物質を光らせますのでスクリーン上に顕微鏡像が観察されることになります。

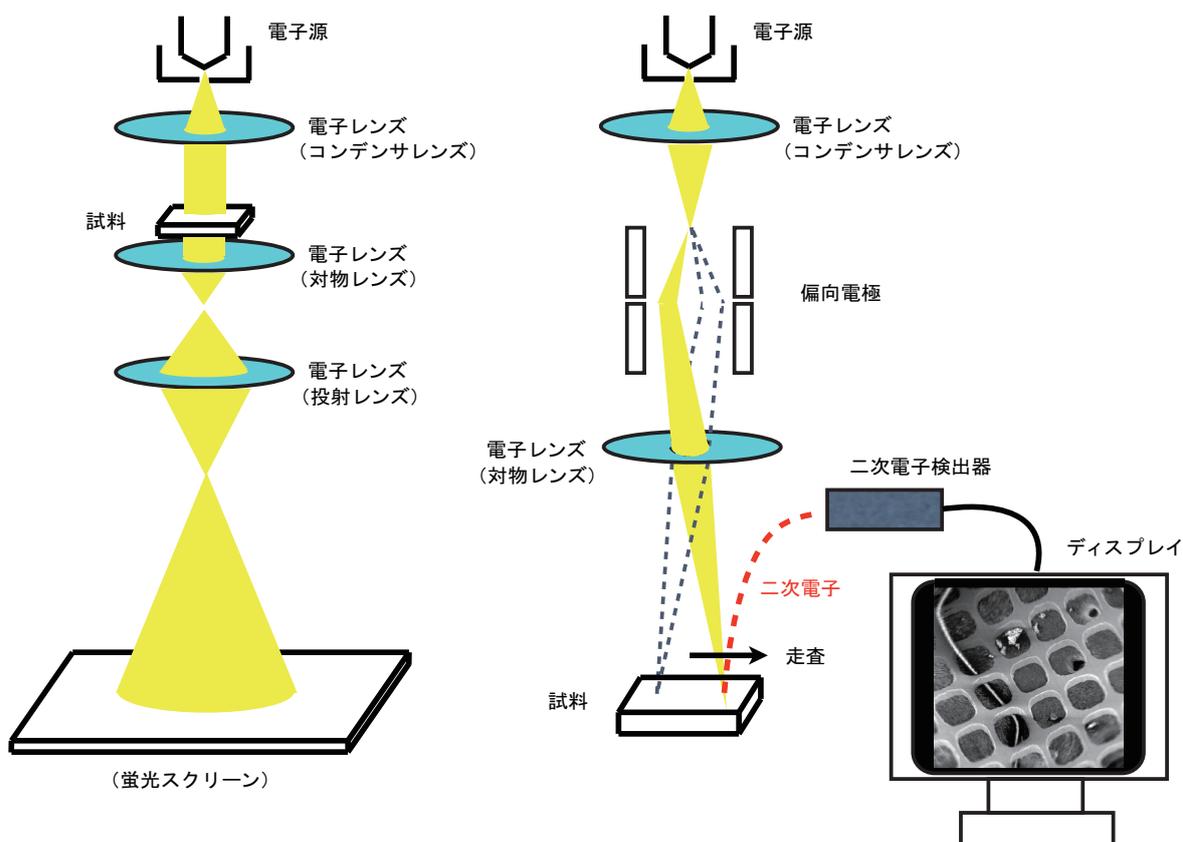


図5 透過型電子顕微鏡 TEM（左）と走査型電子顕微鏡 SEM（右）

これに対してSEMでは電子源から電子を取り出し、コンデンサレンズ、対物レンズにより細く絞った電子ビームを試料表面上に照射します。試料からは二次電子が放出されますが、場所によって放出量が異なるので、電子ビームを試料表面上で走査（スキャン）し、各場所からの二次電子の強度を記録してディスプレイに二次元表示することで電子顕微鏡像が得られます。

電子顕微鏡には大きなものから小さなものまで色々ありますが、一般的な形状は図6、図7で示したようなものです。おおざっぱな図ですが、オペレータ（操作者）と比較して電子顕微鏡がどのくらいのサイズかおおよそわかっていただけるかと思います。

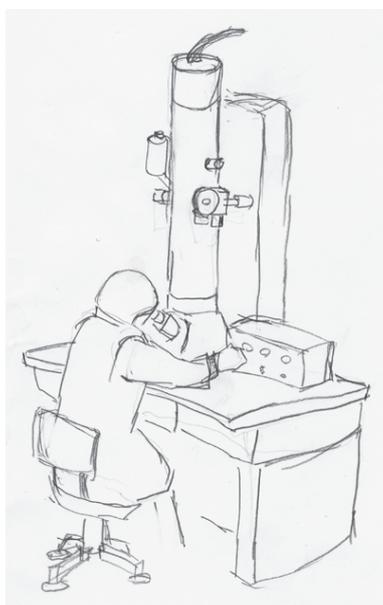


図6 一般的な透過型電子顕微鏡（TEM）

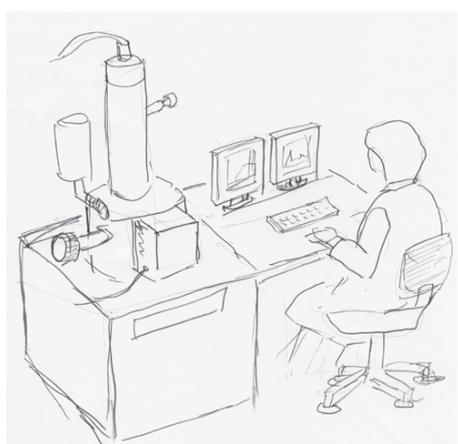


図7 一般的な走査型電子顕微鏡（SEM）

3 教育用モバイル SEM

3.1 構成

開発中の教育用モバイル SEM の外観写真を図8に示します。電子顕微鏡本体は 500 ml のペットボトルくらいの大きさで、ターボ分子ポンプとダイヤモンドポンプの2台のポンプで真空を引きます。電子源であるフィラメントの周りは透明ガラス円筒となっており、動作時にはフィラメントの明かりが見えるようになっています。試料からの二次電子信号はプリアンプで電流-電圧変換されたあと、コントローラに入ります。コントローラには2個のリチウムイオンバッテリーを取り付けられます。これは電動アシスト自転車用のバッテリーを流用しており、1台で約1時間の観察が可能です。最初のバッテリーを使いきると2つめのバッテリーに自動的に切り替わり、合計2時間程度の観察ができるようになっています。

これらの機材は3つのアルミ製キャリングケースに分けて収めて野外へ持ち出すことができます。重量は、電子顕微鏡本体とターボ分子ポンプを収めたケースが 7.2 kg、コントローラとケーブルを収めたケースが 6.6 kg、ダイヤモンドポンプ、バッテリー2個、バッテリー充電器、プリアンプを収めたケースが 8.9 kg で合計 22.7 kg となります。必要に応じて外部ディスプレイやプロジェクターを接続して顕微鏡像を大勢で見することもできます。また、パソコンを接続して顕微鏡動作状況をモニターしたり、デジタルデータを保存することも可能です。

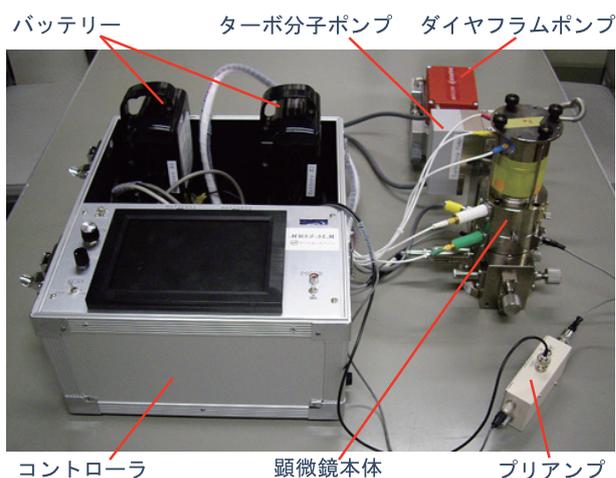


図8 開発中の教育用モバイル SEM（全体像）

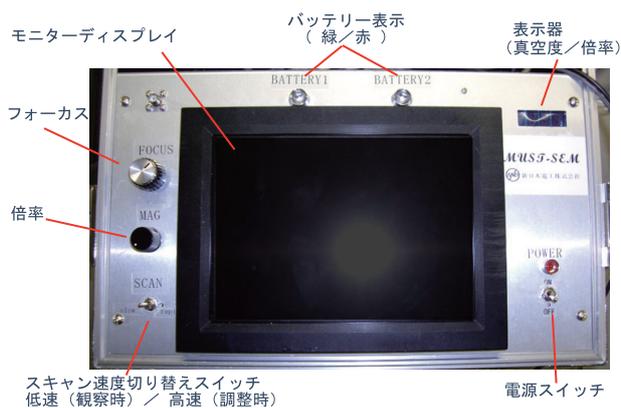


図9 コントローラパネル

図9はコントローラの前面パネルです。右上の表示器は、真空引きの間は真空度を表示し、観察時には観察倍率を表示します。中央上のバッテリー表示LEDはバッテリー残量がある場合は緑色、バッテリーを使い切ると赤色に点灯します。スキャン速度は低速と高速の2段階に切り替えることができます。試料を移動したり、倍率やフォーカスを調整するときは高速スキャンを使います。これは画面の反応が早く調整が容易であるためです。ただし、像質は良くありませんので、観察時には低速スキャンに切り替えます。

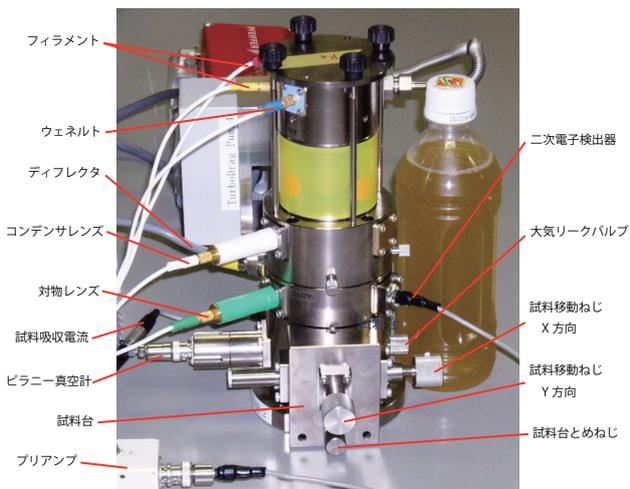


図10 電子顕微鏡本体

図10に電子顕微鏡本体各部の名称を示します。手前下にある四角い部分が試料台で、一番下の試料台とめねじで本体に固定されます。試料は水平にX方向およびY方向に移動できます。

現在のところ、最高分解能は1~2 μm 程度で、一般的な光学顕微鏡と同程度の倍率ですが、動作

原理が異なるため、同じ試料を使っても光学顕微鏡とは違った立体的な迫力のある像が観察できます。このシリーズでは後ほど、光学顕微鏡と電子顕微鏡の像の違いについてもとりあげて解説する予定です。

3.2 使い方

モバイルSEMの使い方の詳細は取り扱い説明書に譲り、ここでは観察までの大まかな流れについて概説します。まず、2個のバッテリーを事前に充電しておきます。付属の充電器を使い、1個あたり30分程度で充電完了です。3つのキャリングケースに分けて取め、観察現場へ運びます。

3.2.1 組み立て

平坦な場所でケースから各部を取り出し、ターボ分子ポンプとダイヤフラムポンプをチューブで接続した後、各ケーブルを接続します。接続の順序は特に決まっていますが、コントローラ→2台のポンプ、コントローラ→試料吸収電流、ピラニー真空計、対物レンズ、コンデンサレンズ、ディフレクタ、フィラメント(2本)、ウェネルト、二次電子検出器→プリアンプ→コントローラ(信号出力+電源)の順番で接続すると比較的楽なようです。取り外しの場合はこの逆になります。間違いなく接続されていることを確認し、最後にバッテリーを取り付けます。コントローラの電源スイッチがOFFになっていることを確認し、バッテリーパックの穴をコントローラ内の金属製のレールに差し込み、カチッと音がするまでしっかり押し込みます。これで電子顕微鏡の準備は完了しました。慣れると4~5分程度の作業です。

3.2.2 試料準備(プレパラート作製)

厚さ0.2mm程度のしんちゅうなどの金属板を15mm×15mmにカットし、四隅をかるく折り曲げたものにカーボン両面テープを貼り付け、その上から試料を固定してプレパラートとします。いくつか作製し、ピルケースなどに保管しておくといいでしょう。電子顕微鏡では負の電荷を帯びた電子を照射しますので、絶縁性の試料は何も対

策を施さなければ帯電 (Charge-up) してしまい、正常に観察できません。生物や鉱物などの絶縁性の試料を観察する場合には帯電防止のための前処理が必要です。このシリーズではその方法についてもおいおい紹介してゆく予定ですが、最初は金属など、帯電しない試料を用いて SEM の使い方に慣れてください。

3.2.3 試料台へ試料をセットする

まず、SEM 本体右下の大気リークバルブをゆっくり開けて本体内に空気を入れます。完全に空気が入ったら、忘れないうちにリークバルブを閉じておいてください。試料台を上から手で支えておいて試料台とめねじを外し、試料台をゆっくり引き出します。

比較的大きな試料 (外形寸法 2 mm × 2 mm 以上) を観察する場合は低倍率での観察から始める方が良いです。この場合、図 11 のようにカゴ状になったステージにプレパラートをのせるだけで良いです。簡単ですね。

高倍率で観察したい場合は、円筒状のステージにカーボン両面テープでプレパラートを固定し、図 12 のように丸穴部分に円筒ステージを差し込みます。つまり高倍率で観察する場合は、試料を対物レンズ側に近づける、すなわち高い位置に取り付けることになります。

3.2.4 真空引き

元どおり試料台を SEM 本体に取り付け、試料台とめねじで固定します。このとき、あまりきつく締めないようにしてください。真空漏れの原因となります。大気リークバルブが閉じていることを確認し、試料台を SEM 本体に押しつけながらコントローラの電源スイッチを入れます。ポンプが動き始め 30 秒くらいしたら手を離しても大丈夫です。このときもし空気が漏れている音がしたら、手を離しても漏れの音がしなくなるまで試料台を押しつけておいてください。

ポンプ始動直後にはコントローラ右上の表示器は点滅していますが、一分ほど待つと点滅が止まり、真空度が表示されます。圧力が下がるにつれて数値は小さくなってゆき、約 3 分後、数値が 5

以下になったところで表示が 60 秒のカウントダウンタイマーに変わります。60 秒後に自動的に電子ビームが ON となり、SEM 像が観察できるようになります。このとき、表示器には観察倍率が表示されます。電源スイッチを ON にしてから電子ビームがでるまでおおよそ 5 分くらいが目安です。どこかに漏れがある場合や水分を多く含んだ試料を入れてしまった場合など、真空引きに時間がかかりすぎた場合は自動的に電源が OFF になるよう設定されています。その場合は、漏れを無くすなどの対策を施し、もう一度最初から真空引きを行ってください。

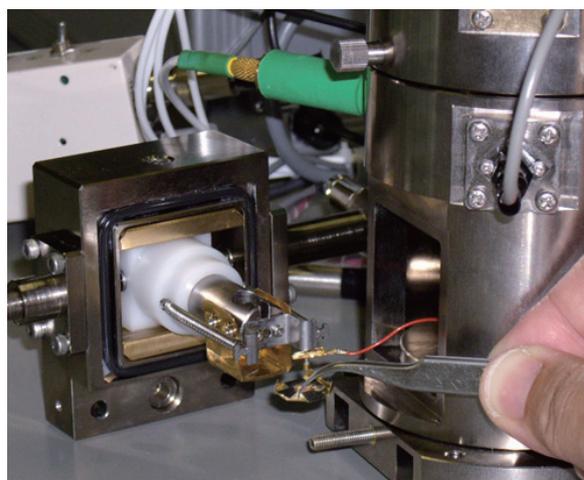


図 11 低倍率で観察する場合、プレパラートを下のカゴにのせる

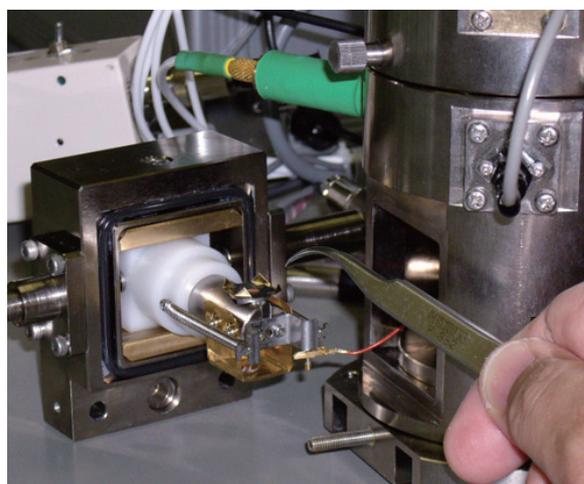


図 12 高倍率で観察する場合、プレパラートを円筒ステージに貼り付け、上の丸穴に差し込む

3.2.5 観察

電子ビーム ON 直後には観察倍率は最低の 20 倍となっています。まず、スキャン速度を高速側 (rapid scan) にします。像の変化の反応が早い方が調整が楽になるためです。フォーカスつまみを回し、何か像を出しましょう。次に 試料移動ねじ (X 方向および Y 方向) を回して観察したい場所を探します。

その周辺でごみや傷など細かい構造を見つめます。これがフォーカスの際の目安になります。なるべく倍率を大きくし、細かい構造がなるべくはっきり見えるようにフォーカス調整をします。その後、倍率を少し下げ、スキャン速度を低速側 (slow scan) に切り替えると鮮明な像が得られます。

観察場所を移動する際にはまた高速スキャンに切り替え、上記の操作を繰り返します。

3.2.6 試料交換

試料を交換する時は、まず電源スイッチを OFF にします。電子ビームが OFF になり、同時にポンプが停止します。ポンプが完全に止まるまで (音が静かになるまで) しばらくまってください。完全に止まったら大気リークバルブを開け、SEM 本体に空気を入れてから試料台を引き出し、試料を交換します。後は起動時と同じ操作になります。

3.2.7 後始末

観察が終了したら電源スイッチを切り、大気リークしてから先の要領で試料台を引き出し、プレパラートを取り出します。プレパラートはピルケースなどで保管してください。空の試料台を SEM 本体に取り付け、2～3分ほど真空引きをしてから電源スイッチを切ります。つまり本体内部を真空にした状態で保管します。

組み立てた手順の逆の手順でまずバッテリーをはずし、ケーブルを外し、プリアンプ、ダイヤモンドポンプを外し、それぞれキャリングケースに収めます。

4 おわりに

今回は顕微鏡の簡単な歴史と、開発中のモバイル SEM およびその使い方の紹介を行いました。次回からはこのモバイル SEM を使って色々な物を観察し、その SEM 像を元にして色々な解説を行ってゆく予定です。どうぞご期待ください。

参考文献

[1] 「ミクロにひそむ不思議」

牛木辰男, 甲賀大輔 著 (岩波書店, 2008)

以上