



文部科学省ナノテクノロジープラットフォーム 令和元年度技術スタッフ表彰 若手技術奨励賞 FIB-SEM を用いた微細構造解析支援

受賞者 北海道大学 微細構造解析プラットフォーム 遠堂 敬史氏に聞く

文部科学省ナノテクノロジープラットフォーム事業では、全国 37 の研究機関で最先端ナノテクノロジー設備の利用機会を設備使用のノウハウとともに、産学官の研究者に対して提供している。最先端研究設備の有効利用には、設備の特徴を熟知して整備し、利用者に使用ノウハウを提供する技術支援スタッフの存在が大きな支えになっている。令和元年度の若手技術奨励賞は、北海道大学の微細構造解析プラットフォーム (PF) 高度専門技術者、大学院工学研究院 共同利用施設 ナノ・マイクロマテリアル分析研究室の技術職員、遠堂敬史 (えんどう たかし) 氏に贈られた [1]。受賞テーマは「FIB-SEM を用いた微細構造解析支援」である。表彰式は第 19 回国際ナノテクノロジー総合展・技術会議 (nano tech 2020) セミナー会場で行われ、受賞内容はナノテクノロジープラットフォームのブースに展示された。nano tech 2020 が開かれた東京ビッグサイトの一室で、遠堂氏に受賞した技術の内容、支援の状況、今後の抱負など、苦労話も含めお話を伺った。



展示パネル前で若手技術奨励賞の表彰状を手に遠堂氏



1. 北海道大学 微細構造解析プラットフォームの概要

北海道大学の微細構造解析 PF は、図 1 に示すように「先進ナノ構造・状態解析の共用拠点」と位置づけ、学内外の研究者が最先端の計測設備を利用できる [2]。無機材料から生体組織に至る多様な試料を対象とし、試料表面から内部まで一貫した構造解析支援を行っている。設備・支援業務は、大きく以下の 3 分野に分けられる；

(1) 表面構造解析；

走査型電子顕微鏡 (SEM)、走査プローブ顕微鏡 (SPM)、X 線光電子分光装置 (XPS)、オーグエ電子分光装置 (AES)、電子線プローブマイクロアナライザー (EPMA)、等の表面分析装置による表面構造解析

(2) 内部構造・3D 構造解析；

2 台の高エネルギーイオン加速器を持つ世界に唯一の超高圧 (1000kV) 電子顕微鏡、透過型電子顕微鏡 (TEM)、走査透過型電子顕微鏡 (STEM)、に加えて試料加工装置と組合わせた集束イオンビーム-走査型電子顕微鏡 (FIB-SEM) 等による内部構造・3次元構造解析

(3) 電子状態解析；

環境セルホルダーを用いたその場観察 TEM や、超高真空・極低温・強磁場 SPM を用いた環境制御下での分析支援、超高速時間分解光電子顕微鏡や高速スペクトルイメージング対応レーザー共焦点顕微鏡等を用いた電子状態やナノ材料のリアルタイム動態解析

北海道大学の微細構造解析 PF では、図 2 上に示すよ

～先進ナノ構造・状態解析共用拠点～

- ・各種ナノ計測設備群と計測技術を応用した多種多様な解析技術の提供
- ・無機材料から生体材料にいたる多様なマテリアルのナノ構造・状態解析
- ・材料の表面・表層から内部に至る一貫した包括的な先進微細構造解析
- ・ナノテクノロジーを活用した材料研究分野における学問的課題を解決
- ・産業界の研究者が有する技術的課題を解決し、イノベーションを加速
- ・知の集約による産学官連携による異分野融合と最先端計測人材の育成



図1 北海道大学 微細構造プラットフォームの概要 [2]

うに毎年約 100 件の利用がある。図 2 中央の円グラフは利用ユーザの所属割合で、約 6 割が学外であり、他大学が 3 割、企業が 2 割、公的機関の利用が 1 割となっている。図 2 下の円グラフは利用形態別の割合で、機器利用が 73% を占め殆どであるが、技術代行も 14% と道内の遠く離れた機関の場合も多い。技術代行の場合でも、最初の解析はユーザーと PF スタッフと一緒に測定・解析を行い、次に解析する試料は郵送してもらってスタッフが測定評価している。

初めて PF を利用する場合には、利用料や旅費などを支援する試行的利用制度 [3] を使ったユーザもいる。時間や費用の事前見積りが難しい案件や、これまでに取扱ったことがない試料・分析手法を用いる案件などが対象で、PF の支援者側にとってもメリットがある制度である。「挑戦的な案件に、支援者として積極的に取り組むことで、スキルアップできる機会になっている。」と遠堂氏は語った。



2. FIB-SEM と遠堂氏の支援実績

2.1 FIB-SEM 装置の構造と原理

遠堂氏が担当している装置は、SEM, EPMA, TEM, FIB-SEM の 4 台で、年間 30 件程の支援を行っている。今回の受賞対象装置である FIB-SEM (Focused Ion Beam Scanning Electron Microscope, 集束イオンビーム加工・SEM 観察装置) は、試料に Ga イオンを打ち込んで、試料を切削する(穴を掘る, 薄層を削り取る)加工装置で、加工した状態を SEM 観察できる。SEM 観察画面上に、加

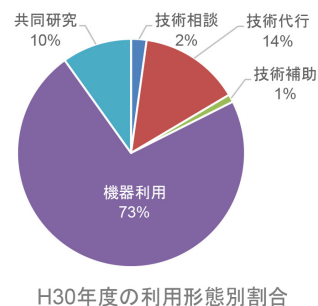
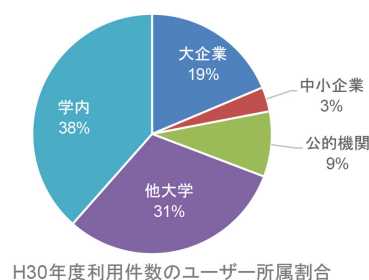
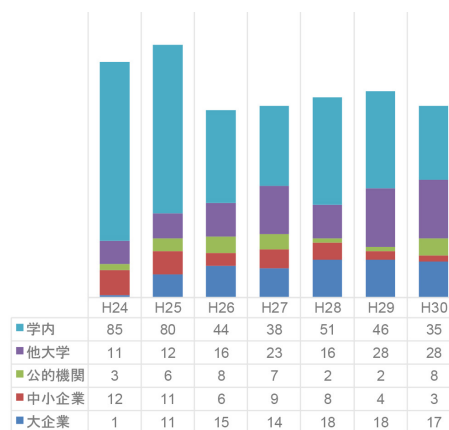


図2 北海道大学 微細構造プラットフォームの支援件数推移 (上), ユーザ所属割合 (中), 利用形態別割合 (下)

工したい部分を指定すると、指定された部分が自動的に加工される。加工深さは、Ga イオン照射強度や照射時間で制御する。加工と観察を繰り返して、試料内部の3次元構造を解析することが可能である。

図3は、FIB-SEM装置の外観(左)と、試料室内部を横から撮影した拡大写真(右)である。FIB-SEMは図3(右)上部に見えているFIBとSEMの二つの鏡筒を持ち、SEMは電子線を試料に照射して放出された二次電子を検出、電子線を走査して画像化する。図4はFIB鏡筒の構造(右)と、Gaイオンを照射した試料表面部を拡大して、試料が削られてスパッタリング原子が飛び出すほか、試料表面から二次電子ほかが発生する様子を描いている(左下)。Gaイオンが上方から加速集束されて試料に照射されると、試料表面からは二次電子やスパッタリング原子

の他、X線、後方散乱イオンなど様々なものが発生する。発生した電子、X線、イオン、等を、図3右の写真に示した複数の検出器で検出することにより、FIBは加工装置であるとともに画像観察装置にもなる。FIB-SEMでは二次電子の検出器をSEMと併用する。

SEMは、ショットキー型FE(電界放射)電子銃からの細い電子線を0.2~30kVの電圧で加速する。加速電圧30kVにおける画像の分解能は1.2nmである。SEMは以下の4つの検出器、およびオプション機能を持つ。FIBで薄層を反復して削り、その都度、取得したSEM画像のデータを集積して、画像解析する事により3次元画像を構築できる。FIB加工とSEM観察とを同一試料室内で行うので、大気非暴露の観察ができる。

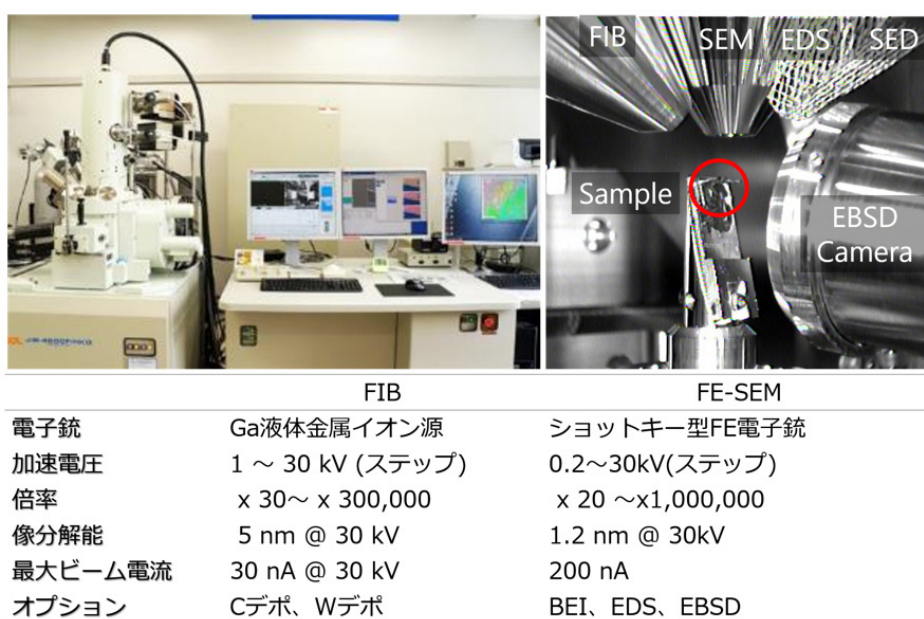


図3 FIB-SEMの外観(左)、試料室拡大写真(右)と、仕様表(下)

- (1) イオンソースからGa+イオンビームが発生
- (2) カソードの電界でイオンを加速(1~30 kV)
- (3) 2種類の静電レンズで試料上にビームを収束
- (4) 照射試料からは
二次電子、スパッタリング原子などが発生

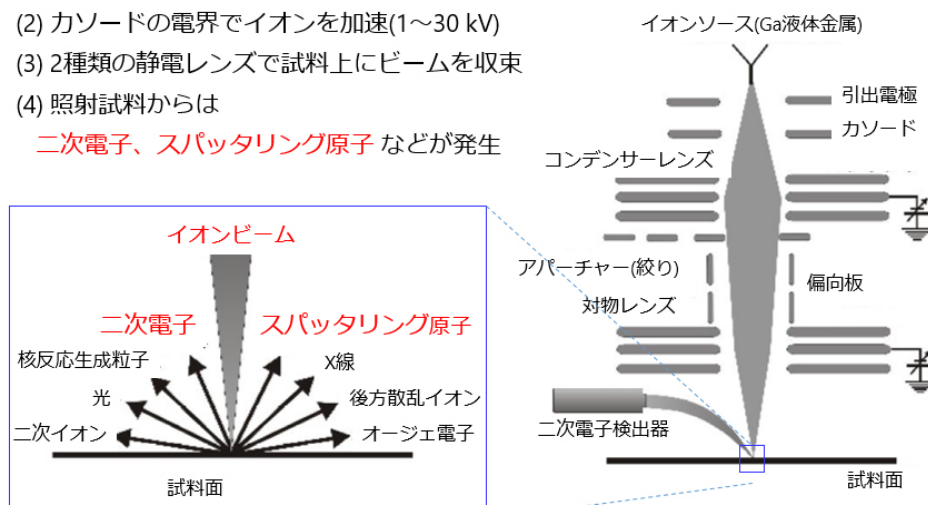


図4 FIB-SEMの構造(右)と照射試料面から発生する様子(左下)

- ① SED (Secondary Electron Detector) は、試料から放出された二次電子を検出し、試料表面の SEM 画像を形成する。
- ② EDS (Energy Dispersive X-ray Spectroscopy) は、電子線照射による発生する特性 X 線を検出し、エネルギー分光することで元素分析する。
- ③ EBSD (Electron Back Scattered Diffraction Pattern) は、電子線照射した試料の結晶面からの後方散乱回折電子パターンを検出し、試料内部の結晶方位分布を解析する。
- ④ BEI (Backscattered Electron Imaging) は、照射電子がエネルギーをほとんど失わずに試料外に後方散乱されたものを検出し、原子番号・試料面角度依存性がある組成像、凹凸像として利用される。

FIB から放出されたイオンを 1~30kV の電圧で加速し、試料の切削加工を行い、二次電子を検出して画像化する。像の分解能は加速電圧 30kV において 5nm である。図 3 下の仕様表に示したように、カーボン (C) やタングステン (W) の保護膜を試料表面に蒸着成膜する機能がついている。FIB 加工する前に、Ga イオンビームによるエッチングを防ぐために、加工部周辺の表面に保護膜を蒸着しておく。

2.2 FIB-SEM 装置の利用事例

上述の FIB-SEM 装置の機能について、図 5 は、FIB-

SEM 装置でどんな加工・観察・解析ができるのかを、遠堂氏が担当した支援事例の中から、4 つに分類して示している。

(1) 試料断面の観察・元素分析；

金メッキした試料のメッキ不良部の断面を観察するために、FIB で試料を切削していった不良部の穴の断面を切り出し (左白黒写真)、直ぐに EDS スペクトルから切削断面の元素マッピングした例である (右カラー写真)。Ni の層に、Au が穴に沿って入っている。

(2) TEM 観察用 薄膜試料作製；

Si 基板上の量子ドット試料に対して、TEM 観察用に 50nm 厚さまで試料を薄く加工した例である。

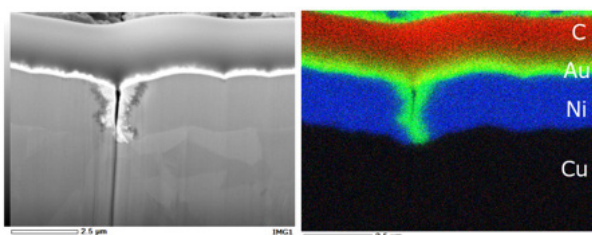
(3) 3次元結晶方位解析；

ステンレス鋼の破断試料に対して、結晶面が (111) 面 (青色) と (001) 面 (赤色) が交互に積層して、どのようにつながっているかを、FIB 加工 (50nm 毎のスライス) と SEM 観察を繰り返して 3次元化した例である。結晶方位は EBSD のカメラで撮像し、回折像解析ソフトウェアで結晶面向きをマッピングしている。3次元化には連続 72 時間かかるが、測定評価は自動化されている。EBSD による 3次元結晶方位解析は、3.3 節でも紹介する。

(4) 大気非暴露観察・分析；

Li 系の試料を大気に暴露することなく、TEM 観察・分析ができる。

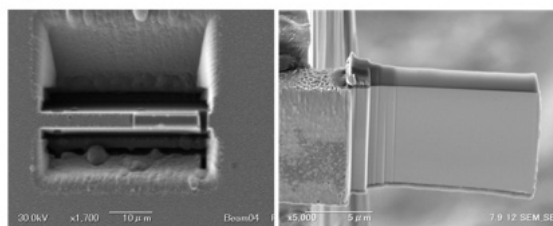
(1) 試料断面の観察・元素分析



断面加工後、そのまま元素分析

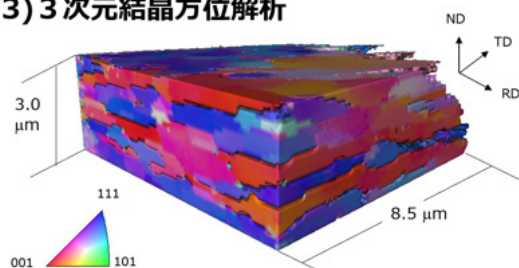
北海道科学大学 工学部 見山克己先生 [A-12-HK-0055, 他]

(2) TEM 観察用 薄膜試料作製



北海道大学 情報科学研究院 村山明宏先生 [A-19-HK-0064, 他]

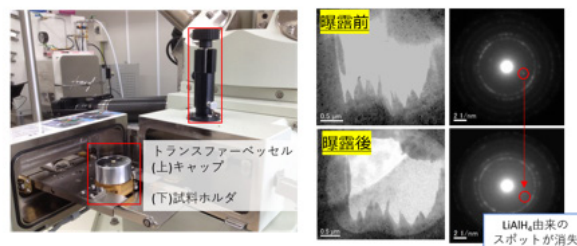
(3) 3次元結晶方位解析



結晶の方位関係・接続状態を解明

北海道科学大学 工学部 杉野義都先生 [A-13-HK-0005, 他]

(4) 大気非暴露 観察・分析



リチウム・硫化物材料の取り扱いが可能

北海道大学 創成研究機構 王永明先生 [A-18-HK-0034, 他]

図 5 FIB-SEM の利用事例



3. FIB-SEM を用いた微細構造解析支援事例

3.1 支援事例1: 超硬合金の断面観察・元素分析 [4]

北海道内の企業で、放電プラズマ焼結装置でナノ粒子を焼結して超硬合金を作っている企業が利用者である。超硬合金の一部に、強度が弱い部分が出てきてしまう問題があり、材料表面だけでなく内部を高解像度で観察したい、という要望があった。

当初は試行的利用制度を利用して、FIB-SEM で内部を観察してみることにした。鋳型用に作られた超硬合金のため、極めて固く、加工に長時間を要したが、内部観察に成功した。図6が、その結果である。放電プラズマ焼結した超硬材料（平均粒径 $0.2\mu\text{m}$ の炭化タングステン）の表面研磨した面には研磨加工傷が見られるが（図6左上）、FIB加工して研磨面から $50\mu\text{m}$ 彫り込んだ側壁面を観察すると焼結体として粒子が相応の結合状態になっている（図6左下）。ただ一方で、焼結された組織間の粒径差が著しいごく一部の箇所には $0.1\mu\text{m}$ 程の粒子間空隙がある事がわかった（図6右下）。

そこで、試行的利用から本格的利用に移行して、粒子

間空隙フリーを目指してプロセス改善とFIB-SEM観察を3年間にわたって継続し、原料粉末内の粗粒子を徹底排除することが重要と判明した。「高品質の超高合金製品とすることに貢献したとともに、微細構造解析PFとしても超硬合金のFIB加工ノウハウを蓄積することができ、支援範囲を広げることに繋がっている」と遠堂氏は振り返った。

3.2 支援事例2: 骨組織細胞群の3次元構造観察 [5][6][7]

学内の医学系の先生からの依頼で、骨組織のナノレベル微細3次元構造解析を支援した事例である。生物系の試料を対象にするもので、FIB-SEMでの解析に適した試料作製方法から検討しなければならず、まずは試行的利用制度を利用してスタートした。

試料はマウスの脛骨（下肢の内側にある長い骨）で、脱灰・染色・脱水処理した後に、エポキシ樹脂で包埋した。ウルトラミクロトームで試料表面を滑沢にした後、SEM観察して3次元加工・観察する領域を決定した。加工領域に保護膜を施してから、加速電圧 30kV でGaイオンを照射して 50nm 間隔でスライス加工と、SEMによる断面観察を連続して繰返した（シリアルセクションング）。

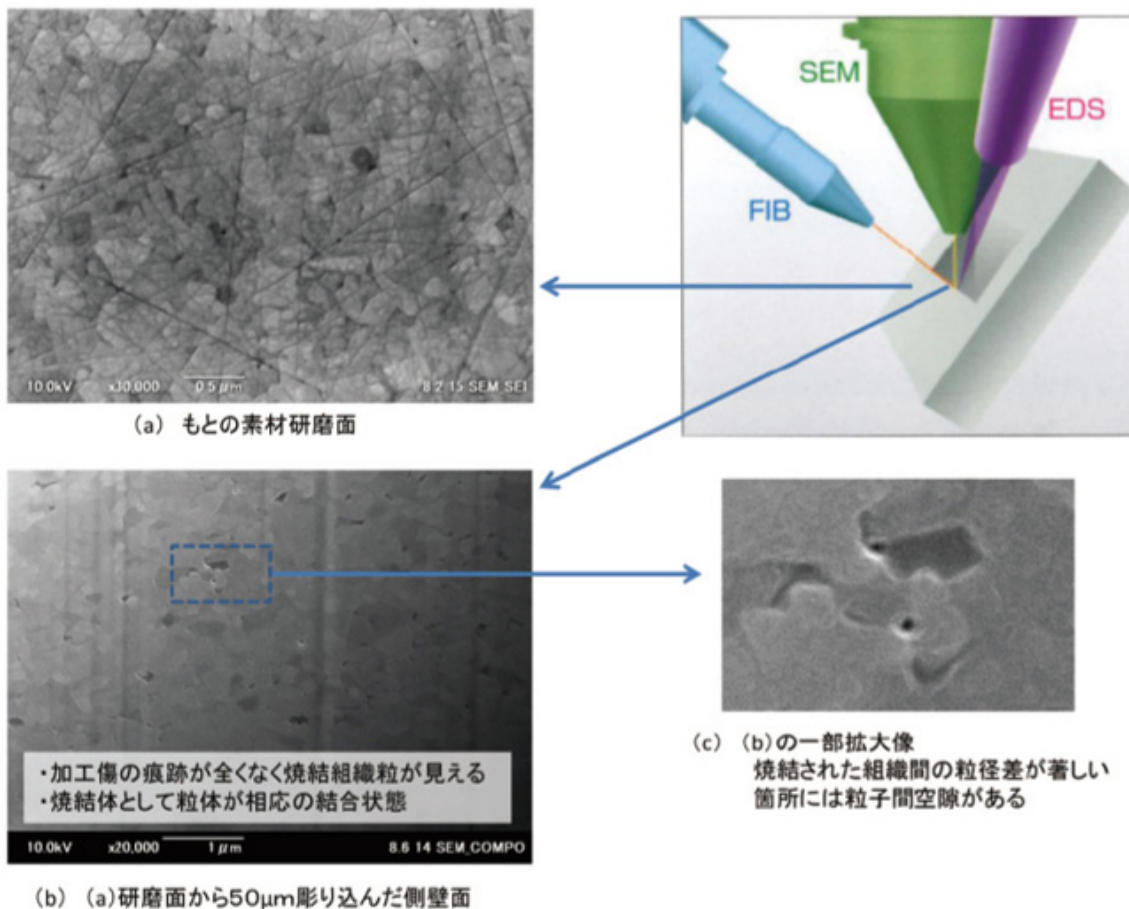


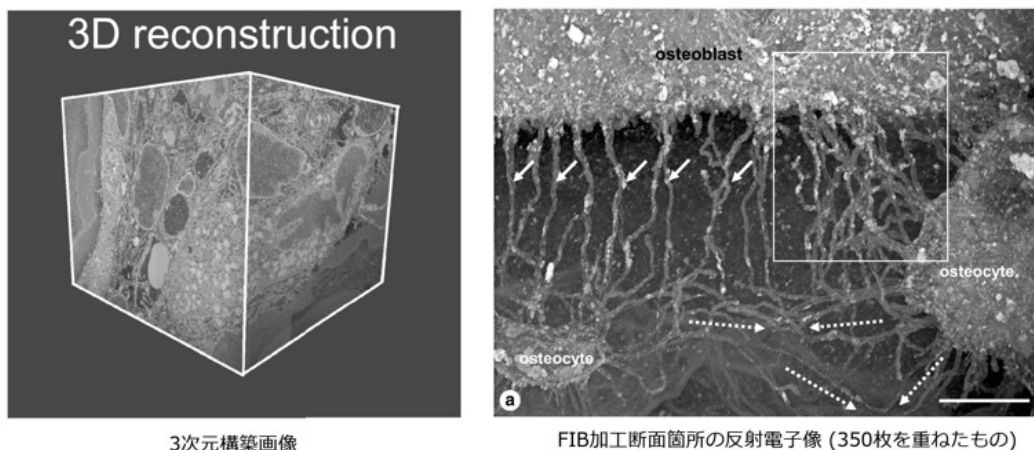
図6 超硬合金のFIB-SEMによる内部断面観察 [4]

図7左は、FIB-SEM装置を用いてシリアルセクションング法で撮像したSEM像を3次元構築ソフトウェアで再構築して得た3次元構造解析画像（3D解析した領域は $25 \times 20 \times 20 \mu\text{m}$ ）である。図7右は、FIBスライス加工した断面からのSEM像で、スライス加工を350回繰り返して行った毎に撮像したSEM像を重ね合わせたものである（右下の白色棒は $5 \mu\text{m}$ ）。写真右側や左下の塊が骨細胞（osteocyte）、写真上部に見えるのが骨芽細胞（osteoblast）、それらの間を連結する細かな細胞突起のネットワークである。こうした骨細胞や骨細管系の3次元構造の解明は、骨細胞のミネラル代謝調節などの機能を解明するうえで非常に有益な情報を与える。

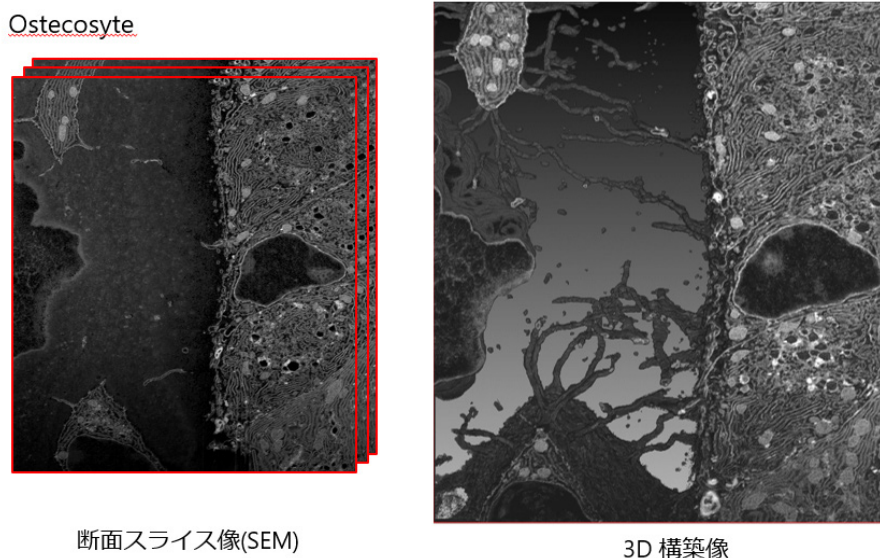
図7のような3次元構築像を得るには、実はPF支援者の並々ならぬ努力、辛抱強い作業の積み重ねがあった。図8で、その作業を説明する。図8左は、FIB加工した断面スライスをSEM観察した像を3枚だけ重ねている。各写真の左上に骨細胞が見える。各写真の中央部は、殆

どが黒くなっており、試料を樹脂で埋設して固定した部分である。黒い領域の中に、良く見ると白い線が所々に出ている。これは、細胞突起のネットワークがその断面でぶつ切りされて出現しているものである。シリアルセクションして得た350枚のSEM写真を重ねただけでは、細胞突起のネットワークは黒い樹脂に覆われてしまい、ネットワーク構造は解析できない。「顕微鏡学会の分科会に参加したところ、学会の同業者たちが皆同じような課題に直面していました。その課題解決には、画像から切り出したいところを丁寧に手でなぞるのが、結局一番きれいに再構成できる」と、遠堂氏は意を決した。

そこで、遠堂氏は1枚のSEM写真に対して、ペンタプレットを使って手作業で白い細胞突起部を切り出して、それらを350枚にわたって接続することで、細胞突起の3次元ネットワーク構造を再構築した。図8右がその結果であり、写真中央部に、細胞突起の3次元ネットワーク構造が明瞭に見える。350枚のセクションスライス



3次元構築画像
FIB加工断面箇所の反射電子像（350枚を重ねたもの）
北海道大学 歯学研究院 長谷川智香先生 [A-14-HK-0026, ナノプラ試行的利用制度 NPS14034, 他]
図7 マウス骨組織のFIB-SEMシリアルセクションング法による内部構造の可視化 [7]



断面スライス像(SEM) 3D構築像
図8 骨組織の断面スライスSEM像(左)と3D構築像(右) [7]

SEM像を取得するのは、自動化されているので丸1日あればできる。しかし、手作業でのSEM像処理を350枚に対して行うには、桁違いの時間と辛抱強さが要求される。骨組織細胞群の3次元構造解析は、こうしたPF支援者の苦労と汗の結晶であることがわかった。

3.3 支援事例3：ナノロッドの結晶方位解析 [8]

北見工業大学の先生から、ナノロッドの結晶成長方位を解明する研究の支援を求められた。北見は札幌から遠距離であり、本支援も試行的利用制度に応募して始めた。

FIB-SEM装置には、電子線後方散乱回折（EBSD）測定装置が組み込まれており、結晶方位の解析ができる。

図9は、電子線後方散乱回折法（EBSD）の測定原理（左）と、Ni試料の結晶方位を解析した例である。試料からの後方散乱電子は、試料を構成する結晶からの回折電子パターンとしてCCDカメラで検出される。試料に入射する電子ビームをスキャンすることで、図9右の粒界マップ

と、各粒界の結晶方位を回折パターンから解析した方位マップを得る。方位マップは電子回折パターンから自動解析ソフトウェアで、(111)面を青色、(001)面を赤色、等とカラーでマップ表示される。

北見工大からは、Si基板上に酸化亜鉛（ZnO）のナノロッド（量子ドット）を結晶成長した試料に対して、各ナノロッドの成長が結晶方位として揃っているのか、どんな様子かを明らかにしたい、との要請があった。

図10左は、酸化亜鉛のナノロッドを試料に対して正面から観察したSEM像で、六角形のロッド断面構造が見られる。写真右上は、試料の断面SEM写真で、Si基板からナノロッドがほぼ垂直に成長している様子が見られる（目盛尺は1μm）。この試料に対してEBSD測定して、一つ一つのナノロッドの結晶方位を評価した結果を、極点図として表現した結果が図10右である。極点図は各ナノロッドの結晶方位分布を、六方晶の底面である(0001)に対して、結晶成長がSi基板に垂直になっている場合が、極点図の中心になるようにし、垂直から傾くとTD（Transverse

70°前後傾斜した試料に電子線を照射した際、後方電子散乱回折により発生する菊池パターンをCCDカメラ撮影し、**結晶方位**を測定する手法

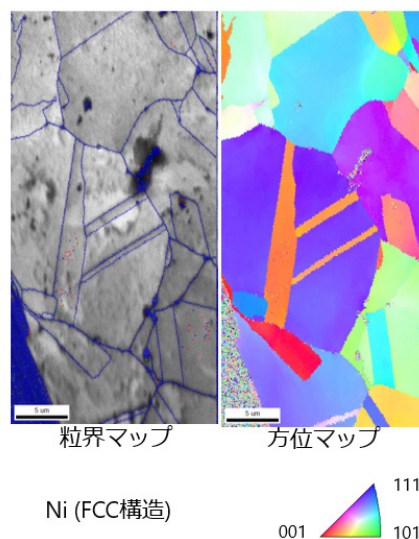
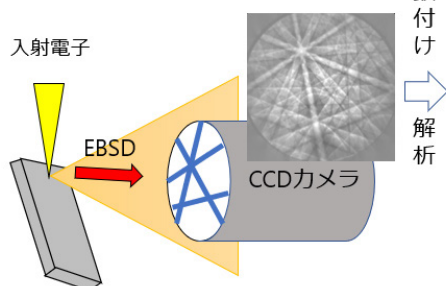
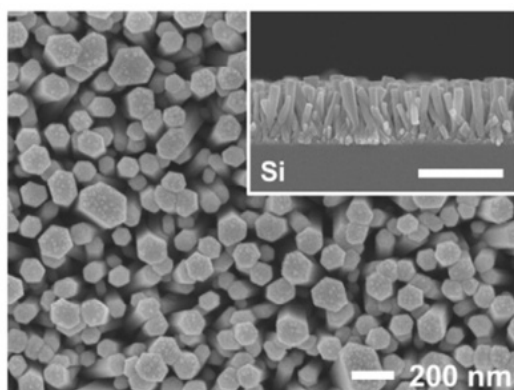
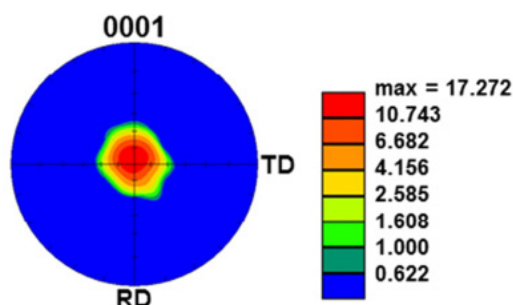


図9 電子線後方散乱回折法（EBSD）によるNi結晶方位解析



酸化亜鉛ナノロッドの二次電子像



極点図解析結果

北見工業大学 工学部 金敬鎬先生 [A-15-HK-0086, ナノプラ試行的利用制度 NPS15039]

図10 酸化亜鉛ナノロッドの結晶成長方位解析；SEM正面像（左）、SEM断面像（写真右上）、結晶方位極点図解析結果（右）[8]

Direction) 横方向, あるいは RD (Rolling Direction) 圧延方向にプロットしたものである。色分けは, 青色が低頻度, 赤色が高頻度で, 赤色は青色より 10 倍以上頻度が高いことを示している。図 10 右の極点図解析結果は, ナノロッドの結晶成長が中心の赤色部に集中していることを意味している。

実は, この結果を得るに至るまでに, 紆余曲折があった。当初はナノロッド 1 本ずつ測定する予定であったが, 電気伝導率が悪く, SEM 観察が難しかった。そこで, 導電性を確保するためにカーボンコートを行ったが, コートが厚くなると結晶方位解析が難しくなる。結局, FIB の EBSD で回折パターンを確認, カーボン蒸着を交互に繰り返すことで, EBSD 測定と, ドリフトやチャージが抑えられる妥協点を探して, 何とか測定することができた。



4. おわりに

遠堂氏は, 北海道大学の微細構造解析 PF での技術支援スタッフとして約 5 年, 様々な支援活動に携わった。PF 利用者が提供する試料について, なにか一つでも多くのデータや知見が得られるように支援してきた。そうした支援活動の中でも, これまでに経験したことがないような, 少々困難な依頼が来るたびに, 何とか対応しようと努めてきた。骨組織細胞群の 3 次元構造観察, ナノロッドの結晶方位解析, 等いずれの支援例でも, 測定装置は自動化されているものの, 観察対象の試料の準備や観察画像データの 3 次元化構築において, 遠堂氏のような技術支援スタッフの並々ならぬ努力があって初めて研究成果が得られていることに感銘を受けた取材であった。

「挑戦的な課題であるほど, 支援する技術スタッフのスキル向上の機会にもなっている。今後も難しい課題であっても遠慮なく相談しに来て欲しい」と遠堂氏は語った。本記事の読者が, 北海道大学の微細構造解析 PF を利用してみたい, との気持ちを持つきっかけになれば幸いである。



参考文献

- [1] ナノテクノロジープラットフォーム技術スタッフ表彰, 令和元年度, 若手技術奨励賞 遠堂 敬史 (微細構造解析 PF 北海道大学) : <https://www.nanonet.go.jp/ntj/award/>
- [2] 北海道大学 ナノテクノロジープラットフォーム 微

細構造解析 PF : <http://www.cris.hokudai.ac.jp/cris/nanoplat/>

- [3] 2019 年度試行的利用制度 : <https://www.nims.go.jp/acnp/shikou.html>
- [4] 安藤 秀夫, 遠堂 敬史, 笠 晴也, 松尾 保孝, 東 陽介, “放電プラズマ焼結装置を用いた超硬材開発における問題解決から新超硬金型開発へ ~ナノテクプラットフォームの地域中小企業支援~”, NanotechJapan Bulletin Vol. 8, No. 5, 企画特集「Collabo ナノテクノロジー」(第 6 回) (2015) : https://www.nanonet.go.jp/ntjb_pdf/CollaboNano-06.pdf
- [5] 長谷川 智香, 山本 知真也, 網塚 憲生, 小澤 英浩, 遠堂 敬史, “FIB-SEM を用いた骨組織の 3 次元微細構造解析”, NanotechJapan Bulletin Vol. 7, No. 5, 企画特集「ナノテクノロジー EXPRESS」(第 29 回) (2014) : https://www.nanonet.go.jp/ntjb_pdf/nanotechEXPRESS-29.pdf
- [6] Tomoka Hasegawa, Takashi Endo, Erika Tsuchiya, Ai Kudo, Zhao Shen, Yasuhito Moritani, Miki Abe, Tomomaya Yamamoto, Hiromi Hongo, Kanako Tsuboi, Taiji Yoshida, Tomoya Nagai, Naznin Khadiza, Ayako Yokoyama, Paulo Henrique Luiz de Freitas, Minqi Li, and Norio Amizuka, “Biological application of focus ion beam-scanning electron microscopy (FIB-SEM) to the imaging of cartilaginous fibrils and osteoblastic cytoplasmic processes”, Journal of Oral Biosciences, Vol.59, No.1, pp55-62 (2017)
- [7] Tomoka Hasegawa, Tomomaya Yamamoto, Hiromi Hongo, Zixuan Qiu, Miki Abe, Takuma Kanasaki, Kawori Tanaka, Takashi Endo, Paulo Henrique Luiz de Freitas, Minqi Li, Norio Amizuka, “Three-dimensional ultrastructure of osteocytes assessed by focused ion beam-scanning electron microscopy (FIB-SEM)”, Histochemistry and Cell Biology 149, pp423-432 (2018)
- [8] Kyung Ho Kim, Yuya Yoshihara, Yoshio Abe, Midori Kawamura, Takayuki Kiba, and Takashi Endo, “Effects of Ni dopant on structural properties of zinc oxide nonrods”, Microelectronic Engineering, 165, pp20-22 (2016)

(図はすべて遠堂氏から提供された)

(尾島 正啓)