高分解能透過電子顕微鏡の現在と今後

名古屋大学未来材料システム研究所 田中信夫

Nobuo TANAKA: Present Status and Future Prospects of HRTEM

This report reviews recent progress of HRTEM since the previous review in the present journal in 2014 and discusses the future prospects. Particular topics are development of electron energy loss spectroscopy, time-resolved measurement and a new phase imaging method and single particle analysis of proteins.

1. はじめに

高分解能透過電子顕微鏡法(HRTEM)の進歩については2014年の世界結晶年記念号「日本の結晶学(Ⅱ)」に「直接観察法の技術的進展」の題で寄稿した。ここではそれ以後の進歩について我が国の成果を中心に紹介したい。

2. 分解能の到達点 —TEMからSTEMへ—

この10年間に透過電子顕微鏡(TEM)の明視野像の点分解能は60 pm程度に達したがそれ以上は立ち止まっている。この理由として原子散乱因子の高角側の低下のためという説明がある(Lentzen)。TEMは散乱(回折)波を対物レンズにより集めフーリエ合成で点像にするために、高角側の低下は実空間では像のボケとなる。これまでは対物レンズの主に球面収差によりこのボケが生じて分解能の限界を与えていたが、21世紀に入り磁場レンズの収差補正技術が実用化し光学装置としては50 pm以下の分解能が得られるようになった。

近年は100 pm以下の電子プローブで試料を二次元的に走査し一点一点からの散乱電子強度を表示することで顕微鏡像を得る円環状検出走査透過電子顕微鏡(ADF-STEM)が主流になってきた。STEMではレンズによるフーリエ合成に頼らず、テレビの撮像および再生と同様、一点一点ずつ像を作っていくので、現代のデジタル技術とも相性がよい。STEMの点分解能はTEMのそれを凌ぎ40.5 pmに達している。¹⁾その分解能の証明にはGaN結晶を[212]方向から見たときの隣接するGa原子コラム像の分離を用いている(図1)。また支持膜の上に置かれた金や白金、銀の単原子は1970年に同じくADF-STEM法で観察されてしまっている(Crewe)。

収差補正技術の進展によって200~300 kVの電圧で加速された電子は50 pm以下のプローブにすることができ、原子の大きさをイオン半径の2倍程度(~擬クーロンポテンシャルの大きさ)と考えると~0.2 nmなので

図1 GaN結晶の[212]方向からの暗視野STEM像¹⁾(Annular dark field STEM image of GaN at [212] direction.) (森下氏のご好意による)

その1/4くらいの細い電子線で原子を走査している状態である。

このような極限的な観察が商用機で可能になったのは、電気的、機械的安定度が十分進み、かつ試料の静止状態が1分間以上保たれることや、極細電子線の走査が精確に行われるようになったことが理由である。

3. 結合電子の顕微鏡観察は可能か？

40 pm程度の間隔の原子コラム像観察が成功している現在、電子顕微鏡法の次の目標の1つは結晶中の結合電子の情報を可視化することであろう。結合電子の可視化についてはすでにX線回折や収束電子回折(CBED)を使った研究があるが、それは数 μm や数10 nmの試料領域の平均的な構造情報である。顕微鏡法で単位胞内の結合電子の情報が得られれば、それは大きな進歩となるであろう。

周知のように観察試料を構成する原子の原子核は格子振動している。原子核と周辺電子が作り出す擬クーロンポテンシャルはその分だけばけている。この原子核の振動効果をガウス分布型のデバイ温度因子として取り入

れることはよく知られている。

X線回折のほうは原子核周りの電子分布のみを可視化しているので、これをデバイ因子でばかしておけばよい。電子線の場合は少し広がったクーロン場と、もう1つの非局在性をもちこむデバイ因子が可視化のボケの原因を作りだす。ここで、電子の散乱にとって補正項である電荷分布の情報を正確に抜き出せるかは、今後の研究の進展を待たなければならないだろう。

もちろん単位胞内のポテンシャル分布は核の正電荷と周辺電子の負電荷分布とポアソン方程式でつながっているので、TEMで投影ポテンシャル分布が得られれば数値積分操作で周辺電子の電荷分布の投影を得ることは原理的には可能である。これはモット (Mott) の式として知られるものである。しかしここに温度因子が既知であることが必要になる。ナノ電子回折や電子顕微鏡を使って原子周辺の電荷分布の詳細情報を得るには、局所局所の温度因子の問題を避けて通るわけにはいかない。

4. 非弾性散乱波を使ったTEM像

昨今の半導体ピクセル検出器の進歩により弾性散乱波の1/10~1/100以下の強度の非弾性散乱波を使っても、原子レベルの電子構造の解析や、元素分布や物理状態分布のマップが得られるようになってきた。非弾性散乱に伴う損失エネルギーを弁別したフィルター像はTEM法とSTEM法で可能であるが、原子レベルのマッピングは最近ではSTEM法でなされている。

ここで本質的に問題になるのが、STEMの0.1 nm以下の電子プローブで試料の局所を励起したときに、それによる二次散乱過程を作りだす空間広がり大きさである。²⁾ これは1980年代から研究されているが、損失エネルギーが大きくなればその局在性は増す (Egerton)。古くはBetheの研究もあるが、例えばシリコンのL₂₃吸収端を使った結像だと0.6 nm程度の広がりとなる。STEM-EELSを使った原子コラム組成マッピングだと、チャネリング (多重回折) 効果により非弾性散乱電子もコラム直下で局在していることもある。原子レベルの非弾性散乱の局在性を実測するためには、適切な試料構造を選ばねばならない。

電子線の非弾性散乱過程はX線の放出を伴っても起こる。このX線エネルギーを解析するとEELSと対照的に試料のエネルギー始状態の情報が得られる。これまでエネルギー分散型分光器が主流であったが、寺内らはTEMにも使える波長分散型分光器を開発して分解能80 meVを実現した。³⁾

5. 高速電子線による格子振動の研究

2015年以後のEELSにおける大きな進展は、エネルギー分解能が数meVにまで小さくなったことである。

これまでのEELSのエネルギー分解能は電子銃からの放出電子のエネルギー幅である0.2 eV程度であったが、STEMの電子銃の後にエネルギー単色器をつけることによって数meVが実現した。実験のプロブ径はまだ原子コラムレベルにはなっていないが、有機結晶のフォノンモードの分別ができるところまでできている (Rez)。また明確な晶癖がある結晶中の種々のプラズモンモードの局在化がその持続時間も含めて可視化されている (Batson)。また運動量空間を分解してのEELSも標準的に行われている。

このような高エネルギー分解能の測定は1970年初頭にGeigerらによってすでに行われているが、そのときは入射電子波が広い平面波だった。これが数nm程度のSTEM電子線プローブを励起源として得られているところに大きな進展がある。

6. パルス電子線を使ったTEMの進展

TEM観察で残っている測定パラメータとして時間軸がある。これまでは高感度TVのフレームを1/60秒からさらに短くする試みが種々なされてきた。近年は放出電子線をパルス化して、この時間間隔に同期させて種々の測定をする「パルス電子回折および顕微鏡法」が開発されている。この領域で大きな成果を残したのはカルフォルニア工科大のZewailである。彼はこの技術をTEM観察にも応用しパルス電子線を使って炭素ナノチューブの励起の軸方向への伝播をEELSを使って測定している。またローレンスリバモア研究所のグループは、単発型のパルス電子で金属薄膜内のnon-reversible現象を観察している (LaGrange)。

日本では名大、京大、阪大を中心として装置開発が進み、加速電圧が30 kVから1,000 kV以上の超高压のパルス電子回折装置が存在する。単発型の場合、高倍率像を得るためには明るい照射が必要で、1つのパルスに多数の電子を詰め込む必要がある。そうするとクーロン反発効果で個々の電子のエネルギー幅が広がってしまうという隘路に遭遇する。したがって弱い照射を繰り返し行い、順にS/Nのよい像を得るというポンププローブ型の方法が標準的である。これには現象が励起光などによって高速でreversibleでなくてはならない。

7. スピン偏極電子線を使ったTEMの開発

パルスTEMでユニークなものは名大の桑原らによるスピンの90%以上偏極したパルス電子によるTEMである (図2)。⁴⁾ 電子源は高融点金属の針ではなくGaAs/AlAs系歪超格子の平面状結晶を使っている。ただし偏極した電子のスピンと試料中の磁場ベクトルとの相互作用は通常のTEMで使う静電場との相互作用と較べ格段に小さく、偏極スピン電子を用いて原子レベルの磁化分布像を

図2 名古屋大学で開発された入射電子がスピン偏極しているパルス TEM ($E = 20 \sim 40 \text{ kV}$).⁴⁾ (Pulse-TEM using spin-polarized electrons developed at Nagoya University; ($E = 20 \sim 40 \text{ kV}$).)

得るには装置の安定度やデータ収集について抜本的な改善が必要である。いずれにしても、このような研究によって従来は異分野であったパルスレーザー分光法と原子を観察する TEM 法が研究者層としても結合する状況となっている。

8. 電子波の位相計測 —ホログラフィー—

ついで、試料を透過した電子の位相計測の進展について記す。この領域では1960年代から極細ワイヤを使った Mollenstedt 型バイプリズムを使った電子線ホログラフィーが知られている。この10年間の主なる研究は結晶の平均内部電位 V_0 による位相変化を測定して半導体や電池電極界面の電位変化を観察することやスカルミオンなどの微小磁性体の観察である。原子間隔の情報を与える V_g も取りこんだ原子レベルホログラフィーはドイツの Lichte らが行っているが、通常の TEM や STEM の以上の新しい情報が得られているわけではない。

ホログラフィーの実験手法では日立の谷垣らが複数のバイプリズムを使い、干渉領域をバイプリズムのワイヤの両側から離れた場所にも設定できるようにしたことは今後の新しい実験のきっかけとなると考えられる。⁵⁾ 試料傾斜法を使った試料中の電場と磁場ベクトルの分離、およびその三次元再構成の研究もある。⁵⁾ またパナソニックの野村らによる電池電極に外部電位をかけたときのポテンシャル場の漏れをなくした試料作製技術も特筆される。⁶⁾

9. 微分位相コントラスト法の発展

2012年の柴田の研究以来⁷⁾ 新しく1つの研究領域を形成したのは高分解能 STEM を使った微分位相コントラスト法 (Differential phase contrast STEM) である。日本結晶学会誌 第62巻 第3号 (2020)

図3 微分位相コントラスト STEM 法の原理図。^{8),19)} (Principle of differential phase contrast STEM.)

ス法 (Differential phase contrast; DPC), それも単位胞の中の電場を可視化する方法の研究である。この方法は実験的にはオランダの FEI 技術者や英国の Chapman ら、理論的にはドイツの Rose が1970年代に研究発表していたがしばらくは顕微鏡研究者によって忘れられていた。この間日本では日立の高橋⁸⁾ により、1990年代に図3のような試料下に置かれた円盤状分割型検出器を用い A~D 信号の演算により試料の磁場ベクトルの DPC 観察が行われていたことは記しておきたい。

柴田らは SrTiO_3 単結晶を用い、収差補正した極細電子プローブをこの単位胞の中に入射し、試料下にてきた「屈折」した電子を動径方向4分割、方位角方向4分割の検出器を用いて検出し、その加減演算によって像コントラストを得て、それが投影された電場分布にあたることを発表した。⁷⁾ 以後、欧州の研究者もこの方法の研究に取り組み、2020年の現在では商品化もされ、また実験データから電場や電荷分布を求めるソフトも実用化されている。また結像理論としては、古典的な電子の屈曲現象をエーレンフェストの定理により量子論として対応させる考え⁹⁾ や、フーリエ光学理論と同様な展開がある (Lazic)。

初期には試料下の CBED 図形の電場磁場による横ズレという言葉でこのコントラストの成因が議論されたが、上記のフーリエ光学理論によって CBED の回折円板の「強度分布の重心の移動」という量が定量解析に重要なポイントになることが明らかにされた。

磁場ベクトルの観察法としては1970年代から TEM のローレンツ法が標準的な方法として知られているが、焦点はずれ像を使うためと、試料近傍には対物レンズの強い磁場が及ばないような必要条件によって分解能が

数10 nm以上に止まっていた。現在では収差補正TEM法やSTEMローレンツ法が試みられ、その分解能は約0.6 nmに達している。¹⁰⁾ このローレンツSTEM法に関連して柴田らによる試料近傍無磁場対物レンズの開発¹¹⁾ は今後のTEM観察技術にとって重要な要素となるであろう。

10. 環境TEM技術の発展

この10年間でもう1つの注目されたTEM観察技術は、試料周りをガス雰囲気などの環境にして原子レベルの動的観察ができるようになったことである。この方法は以前は*in-situ*観察といわれていたが、最近は環境電子顕微鏡法(E-TEM)と呼ばれている。ここで「環境」とは以前から行われていた「試料加熱」や「機械的変形」に加え、「ガス雰囲気」や「液体中試料の観察」および「電流、磁場印加」などを意味している。

1990年代までは電子が通過する入口出口がある開放型のセルが使われたが、Si₃N₄の薄膜が半導体技術で自由に使えるようになって以来、閉鎖型の環境ホルダーも商用化され、触媒反応、電池電極反応の研究に多用されるようになった(Creemer)。ただ閉鎖型はガスや液体を入れるセルの厚さが100 nm以上もあり、透過電子線がその過程で非弾性散乱し色収差が生じ、像分解能は10 nm以上であることが多い。一方開放型は米国、英国や日本で開発され200~300 kV級のTEMでは収差補正技術も合わさってガス触媒反応が原子分解能で観察されている。¹²⁾

名古屋大学では1 MVの超高圧電子顕微鏡に開放型のガス環境セルが取り付けられ、各種の触媒反応や、水素ガス中での金属脆性の研究がなされている。¹³⁾ 超高電圧で加速された電子は厚いガス中も十分透過して試料の鮮明な像コントラストを与えている。

11. 電子線トモグラフィーの発展

電子線トモグラフィーについては1970年代初頭に人体へのX線CTが開発されて以来その電顕版が試みられてきた。主たる課題は試料の全回転ができないことから生ずるMissing wedge問題をどのように回避するかであった(Frank)。それまでの画像処理方法を援用して種々のソフトウェアが作られた。また暗視野STEM法やTEMの位相コントラスト法のほかにEELSやEDX信号を使ったトモグラフィーも研究された。

最近の進展としては、三次元トモグラフィーも原子分解能になったことである。最初はX線回折を専門とするカリフォルニア大学のMiaoらが種々の角度から撮影されたADF-STEM像を強引にフーリエ投影定理に基づくソフトに入れて金微粒子の内部双晶構造を三次元可視化した。しかしADF-STEM像でもその像コントラストには投影近似によらない非線形な要素があるので、その有

効性は完全に承認されているわけではない。日本でも九大の研究者らが公開されているソフトを使って、棒状金微粒子の原子配列の三次元再構成のデータを発表している。

12. バイオ試料観察用TEM位相板の開発

最近のバイオ電子顕微鏡で重要な進展の1つは「位相板」の実用化である。生物試料はほぼ完全な位相物体なので、何らかの位相板が開発されないと、染色して観察するしかなかった。1990年代に永山らが薄いカーボン膜の真ん中にFIBを使って細孔をあけ、周辺カーボン膜の厚さを使って回折波の位相を変化させる位相板を開発して生物試料の像のコントラストを上げる試みをした。¹⁴⁾ しかし孔の周辺につくコンタミが原因するチャージ現象が発生し長期間の使用には耐えられなかった。また観察中の位相変化の調整もできなかった。一方Danevらは逆転の発想で、薄いカーボン膜の中央部分に事前に電子線を収束させ、コンタミまたはチャージ量を調整することによって、生物試料観察用の「Volta位相板」を実現している。後述する単粒子解析法にもこの位相板が必須のものとなっている。

13. 蛋白質分子の単粒子解析法の確立

バイオ方面でのこの10年の最も大きな進展は2017年度のノーベル賞の対象になった「蛋白質分子の単粒子解析法の確立」である。この方法の確立には次のような複数の技術的進展が組み合わされている。①1個1個の蛋白質分子を非晶質氷薄膜に閉じ込めて試料にする、②前記した位相板で無染色の分子からコントラストのある像を得る、③1回の撮影で10万個以上の分子の像をTVカメラで収集し、方向などを揃えて整理する、④事前に分子モデルの種々の傾斜電顕像を計算し、実験で得られた像と計算機が自動でフィッティングをする、⑤ダメージを減らすために試料を液体ヘリウム冷却して低照射量で観察できるクライオ電子顕微鏡と高感度単電子検出器の開発、などである。

単粒子解析法では多数の分子は氷薄膜中にランダムな方向で閉じ込められているので、原理的には1枚の像から三次元再構成ができることになる。すなわち試料傾斜ホルダーが不要である。この「単粒子解析法」の画像解析ソフトは英国MRC研究所の若手(Scheres)によって書かれ“RELION”として公開されており誰でも使うことができる。我が国でも顕微鏡学会主催でその利用説明会が開催されており、国内にも複数台のクライオ電子顕微鏡の設置によって研究レベルはようやく世界と肩を並べられるようになった。

14. おわりに

今回は透過電子顕微鏡技術についてこの10年の進歩を概観したが、電子線を使った回折手法にも種々の進展が見られる。

従来から行われていた収束電子回折による精密構造解析では回折強度の精密測定のために磁場偏向型エネルギーフィルターを使って、損失エネルギー1~20 eVのプラズモン強度の除去が行われている。¹⁵⁾

また回折強度だけから実空間の二次元構造情報(静電場分布)を出す研究も世界中で行われており *Diffractive imaging* と呼ばれている。我が国でも電子線¹⁶⁾やX線¹⁷⁾の方々の研究がある。また位相問題解決のために、収束電子回折図形の重なり部分の強度分布を使うことも試みられ *Ptychography* と呼ばれている (Rodenburg, Nellist)。

電子線の実験手法は日進月歩であり、すでに1個1個の電子の検出器も商品化され、計測法としては光子1個1個を検出するX線回折の手法と同じレベルに達している。今後は高分解能電子顕微鏡分野でもAIや高度な統計処理も含めた実験結果がでることが期待される。^{18),19)}

文 献

(我が国の研究者のものに限定させていただいた)

- 1) S. Morishita *et al.*: *Microscopy* **67**, 46 (2018).
- 2) K. Kimoto *et al.*: *Nature* **450**, 702 (2008).
- 3) M. Terauchi *et al.*: *Microsc. Microanal.* **22**, 70 (2016).
- 4) M. Kuwahara *et al.*: *Appl. Phys. Lett.* **101**, 033102 (2012).

- 5) T. Tanigaki *et al.*: *J. Phys., D* **24**, 244001 (2016).
- 6) Y. Nomura *et al.*: *Microscopy* **67**, 178 (2018).
- 7) N. Shibata *et al.*: *Nature Physics*. **8**, 611 (2012).
- 8) Y. Takahashi *et al.*: *Jap. J. Appl. Phys.* **33**, L1352 (1994).
- 9) T. Seki *et al.*: *Ultramicroscopy* **182**, 258 (2017).
- 10) T. Nagai *et al.*: *Phys Rev. B* **96**, 100405 (2017).
- 11) N. Shibata *et al.*: *Nature Com.* **10**, 2303 (2019).
- 12) S. Takeda *et al.*: *Microscopy* **62**, 193 (2013).
- 13) N. Tanaka *et al.*: *Microscopy* **62**, 205 (2013).
- 14) K. Nagayama: *Microscopy* **60**, S43 (2011).
- 15) K. Tsuda *et al.*: *Phys. Rev., B* **86**, 214106 (2012).
- 16) J. Yamasaki *et al.*: *Jap. J. Appl. Phys.* **58**, 120302 (2019).
- 17) Y. Nishino *et al.*: *Phys. Rev. Lett.* **102**, 018101 (2009).
- 18) 最近の外国論文リストはHawkes & Spence (eds.) "Springer Handbook of Microscopy" (2020) に総括されている。
- 19) また拙書 "Electron Nano-imaging", Springer (2017) および「走査透過電子顕微鏡の物理」, 共立 (2018) の著者索引を利用いただければ幸いです。

プロフィール

田中信夫 Nobuo TANAKA
 名古屋大学 未来材料システム研究所
 Institute of Materials and Systems for Sustainability,
 Nagoya University, Japan Fine Ceramics Center
 〒464-8309 名古屋市千種区不老町1
 1 Furo-cho, Chikusa-ku, Nagoya 464-8309, Japan
 e-mail: ntanaka@nagoya-u.jp
 最終学歴: 名古屋大学工学研究科博士課程
 博士(工学)
 専門分野: ナノ科学, 電子顕微鏡学, 電子線結
 晶学
 現在の研究テーマ: 環境電子顕微鏡法