オンライン構造解析電子顕微鏡

金 谷 光 一*

(受付1990年11月6日, 掲載決定1990年12月1日)

On-Line Electron Microscopy for Structural Analysis

Koichi KANAYA

(Department of Electrical Engineering, Kogakuin University,
1-24-2 Nishishinjuku, Shinjuku, Tokyo)

(Received November 6, 1990, Accepted December 1, 1990)

1986年度ノーベル賞受賞者, E. Ruska 博士が1938年に透過型電子顕微鏡を発明して以来, 各種の電子顕微鏡(反射, 走査, 透過走査, 干渉, ホログラム, ミュラー及びトンネル型)が誕生し, 医学を始め, 金属, 半導体, 薄膜などの構造解析や, DNA や蛋白の分子構造の観察とその変化現象の追跡に役立っている. 現在の臨床医学方面では, 各種分析装置の実測データを分類整理し, 直接オンライン電子顕微鏡で観察しながら, 画像処理装置によって照合し, 正確な微細構造による信号を抽出し, 診断を行うまでに発展した. 本報告では高分解能構造解析のための画像処理装置の実際と, 特に高分解能撮影のためのノイズ除去, 試料の汚れ, 収差補正と焦点合わせ用 on-line diffractometer について説明し, フーリエ合成法による CdSe 結晶の構造解析と画像処理による三次元立体構築の実例を示す. さらにイオンビーム・スパッター蒸着薄膜構造解析のためのバンドパス・フィルターの効用を追加した.

I. オンライン透過電子顕微鏡と画像処理装置

特に高分解能の分子構造や結晶中の原子の配列と格子欠陥の観察では電顕像を光走査濃度計で光信号を入力し, デジタル化して貯蔵し, オフラインでも行っている. 走査電顕ではアナログ信号とデジタルに変化して容易にオンラインで行うことができる. 図1は工学院大学と日立, ニレコ各社との協同開発された電顕の構造を

示し, 物質の同定と構造確認のためX線分析電子線エネルギー分析などがオンライン装置に付属する.

画像処理による解析法としては, 計算機回析によるフーリエ変換法が採用され, オンラインでも可能になった.

ノイズ除去, フィルタリング, 像の強調, 欠陥像の復元, さらに像の圧縮と拡大を伴う貯蔵などの前後処理の主なものは次のようである.

1. 非線形処理による“みえ”の改良¹⁾

濃度諸調を分割し, それぞれの範囲でパルス数変調を利用して“みえ”を改良する. テレビ画像の γ 変調に相当する.

2. コントラストの強調²⁾

微分, 2階微分 (Laplacian 演算), 2乗演算 (アキュエータンス) が有効である.

3. ノイズ除去

平均化, 中間値による平滑化 (端に沿った平滑化), 自己相関関数によるノイズ除去が効果がある. 準同型フィルター (homomorphic filter)³⁾による試料の汚れによる像のみだれ除去に効果がある. 真空装置の宿命的に起るカーボン系分子の試料吸着が見事に軽減できる. 生物試料の SEM による内部構造観察に有効である.

図2の高分解能画像処理システム³⁾について簡単に説明しておく. テレビカメラや電子顕微鏡などからのアナログ画像信号はA/D変換により8ないし12ビットで変換される. 特に電子顕微鏡用高速フーリエ変換では, 画素1024×1024が入力可能画像サイズで, 演算精度は極めて高い. 32ビットのフローティングプロセッサによって

* 工学院大学電気工学科 (新宿区西新宿1-24-2)

図1 オンライン画像処理付透過電子顕微鏡の構造 (日立 H9000) EDX: Energy Dispersive X-ray エネルギー分散型 X 線, EELS: Electron Energy Loss Spectrometry 電子エネルギー損失分光法, UTW: Ultra-Thin-Window EDX 超薄膜窓 EDX, SEM: Scanning Electron Microscope 走査電子顕微鏡, STEM: Scanning Transmission Electron Microscope 透過走査型電子顕微鏡, DAC: Digital to Analog Converter D/A 変換器, I.O.: Image Orthicon イメージ・オルシコン, I.P.S.: Image Processing System 画像処理システム.

約10秒の処理が可能である。さらに人対装置のインターフェイスとしてはパソコン上にマウス操作による対話操作システムが構築され、メニューの選択および二次元画像上の画素位置が高精度のアフィン変換による回転制御を加えて指示を正確かつ容易に行うことができる。

4. 帯域濾波器によるアモルファス薄膜の構造解析⁶⁾

イオンビーム蒸着法では蒸着初期段階の incomplete deposition で1個乃至2個の重原子が $10^{-5} \sim 10^{-10}$ sec の極めて単時間に振動しながら核生長を行って薄膜が形成されアモルファスの集団原子 (クラスター) が観察される。このクラスターは位相コントラストによって干渉し合って黒くなったり白くなったりするから解析が難しいが帯域濾波器による構造解析によって三次元的位置と寸法を決定することができる。図3(a)は100 kVのタンゲステン薄膜厚さ1.5 nmのTEM像で(b)はそのフーリエ変換された回折像 (ディフラクトグラム)。この計算機回折像の中心からの距離が空間周波数 q でクラスターの半径 r_c と対物レンズの球面収差係数 C_s 及び電子ビームの波長との間に

$$q = (1/2 r_c) \cdot \sqrt{C_s \lambda^3} ; r_c = n_c^{1/3} r_0 \quad (1)$$

の関係が成立つものと仮定して(c)の如く9つの帯域に分けて、各帯域ごとにフーリエ逆変換を行うと個々のクラスター原子像が得られ、図4の如き解析結果が得られる。このW-薄膜の packing density は0.741から0.665で、質量 A 、密度 ρ とすると $r_c = 0.665 \sqrt[3]{A/\rho}$ が得られた。

IMAGE PROCESSING SYSTEM

図2 オンライン画像処理 LUZEX 5000のブロック図。

Band pass filter (c)

図3 帯域濾波器の原理, (a)はTEM像, (b)は回折像, (c)は原子数によって分割した空間周波数。

図5はW-Mo合金のアルゴンビーム5kVを使用し、スパッタされた薄膜の応用例⁷⁾で(a)は100kVのTEM像(b)は単原子0.32nm, (c)はベア原子0.4nmさらには(d)は0.7nmの4~6個のクラスターの帯域濾波器による再生像を示す。(d)で観察される約1nmのgranulesは基板のカーボンのgranulesと等しい値を有つことは極めて興味あることで、計算ではadsorptionとactivation energy, E_a と E_d , はそれぞれ0.59(eV)と0.44(eV)で原子が移動し捉えられる距離は2.4nmである。

II. 試料の汚れ^{8,9)}

電顕の初期の時代から電子ビームを試料に照射すると真空中のカーボン系統の有機物が附着しさらに電子線にたたかれて重合して像を乱すことがよく知られていて、汚れ除去のために試料筒を冷却したり、クライオステージによる超高真空の試みが行われてきた。今、電子ビーム密度 j がスポット径 πr_s^2 で試料を照射し、試料上に吸着される単位面積単位時間当りの分子数を n とするとガス中の分子運動学的理論に基づく、

$$dn/dt + (n/\tau)(1 + \sigma j / e_0) = v \quad (1)$$

で与えられる。 v は単位面積と時間当りの吸着分子、 τ は分子の表面にとどまる時間 (lifetime), e_0 は電荷であ

図4 帯域濾波器によるタングステン・スパッター蒸着粒子の三次元立体構造。

図5 イオンビーム・スパッター蒸着 W-Mo クラスターの構造解析, (a)はSEM像と回折像, (b)は単原子, (c)はベア原子, (d)は4~6個のクラスター。

る。(1)の線形微分方程式を解き、汚れの割合 (contamination rate) を R とすると

$$R = (v/N) \{ (\sigma j / e_0) / (1 + \sigma j / e_0) \} \cdot \delta \quad (2)$$

となる。 N は1cc中の分子数で、真空度 $P=5 \cdot 10^{-6}$ Torr, 温度 $T_g=273^\circ\text{K}$, カーボン分子 $M=400$ g, $\rho=1$ g/cm³とすると $v=\rho/(2\pi M k T_g)^{1/2}$ より、 $(v/N)=4(\text{nm/s})$, (3)となる。(2)式の δ は重合の割合で

$$\delta = (1 + \sigma j / e_0) / \sigma j v, \text{ で与えられる。}$$

汚れの断面積 σ を実測し、電流密度 j を考え、 $X=\sigma j / e_0$ をパラメーターとしてrateを求め、図6に示す。

図6 TEMで観測される試料の汚れの contamination rate の測定結果.

図7 20 nm ビームによる試料の円錐形汚れと解析結果

図7は電子20 nm ビームの実験結果を示す。Rは20 nm ビームと150 nm ビームでは全く違った傾向を示す。20 nm では lifetime が $7.2 \cdot 10^{-8}$ sec に対して150 nm では $4 \cdot 10^{-7}$ sec と大きい。又、150 nm ビームの体積 rate はほぼ一定なのに対し、20 nm ビームではビーム照射時間に比例した。

コーンの厚さは面積当りの分子数を $n(r)$ とすると次式で表される。

$$n(r)/n_0 = (\pi r_s^2 / \sigma) \exp \{ -(r_s/a)^2 - (r/a)^2 \} \cdot I_0[(2r_s/a) \cdot (r/a)] \quad (3)$$

図8 肝臓の無蒸着観察, 像(a)とイオンビーム照射による汚れ除去のSEM像(b).

ここに a はコーンの半径で実測より求められる。 $I_0(X)$ は虚数のベッセル関数である。

実験的には支持膜中の含有ガスの除去が汚れ除去が必須の条件であることを表面と裏側両方にダブルコーンが形成されることから解った。又、支持膜の厚さと試料温度が汚れから間接的に推定できる。

lifetime τ と $\sigma\tau$ と試料温度 T_s との関係は次式によって求められる。

$$\sigma\tau = 1.7 \cdot 10^{-11} \exp(5 \cdot 10^3 / T_s), \quad (\text{nm}^2); \tau = 10^{-12} \exp(E_a / kT_s), \quad (4)$$

ここに E_a は吸着エネルギー、 k はボルツマン定数である。

イオンビームを予備照射することによって汚れを軽減することができる(図8)。

Ⅲ. オンライン自動焦点と非点収差補正ディフラクトメーター¹⁰⁾

高分解能 TEM では焦点と非点収差の補正がオンラインで自動的に行なえることが重要となってきた。オンラインでは演算速度の短縮からフーリエ変換を使用したものがなかったが、 3^n (n は整数で6, 12が効果的) 方向の一次元のフーリエ変換を使用すると演算も数秒で従来のビームを振動させたり、像のコントラストから求める方法に比較して極めて精度の高い自動補正が行えるようになった。

薄膜試料の位相伝達函数を PTF とすると、

$$\begin{aligned} \text{PTF} &= -2f(q) \sin \{ (\pi/2) \cdot \gamma(q) \} \cdot \\ E_p(q) \cdot E_c(q); q &= \theta \sqrt{C_s/\lambda}, \\ \zeta &= \Delta f / \sqrt{C_s \lambda}, \xi = N / \sqrt{C_s \lambda}, \gamma(q) \\ &= q^4 - 2(\zeta - \xi \cos \varphi) q^2 - \delta \end{aligned} \quad (5)$$

$f(q)$: 試料の構造因子、 $E_p(q)$ と $E_c(q)$ は入射ビームの干渉と波長入の変動などによる色収差による包絡函数、

図9 スルーフォーカス TEM 像のフォーカスと非点収差の測定, a_1-h_1 TEM 像, a_2-h_2 ディフラクトグラム, a_3-h_3 一次元のディフラクトグラム.

$4f$: 焦点のずれ, C_s と N : 球面と非点収差係数. δ : 散乱位相.

図9は高分子材料 Polytetrafluorethylene 薄膜の300 kV 日立 H-9000 による連続焦点変化による位相コントラスト像 (a_1-h_1), 計算機回折像 (a_2-h_2), 一次元のフーリエ変換像 (a_3-h_3) を示し, 図10は ζ の変化による q_n の値を示す. ディフラクトグラムの半径は空間周波数 q で12方向の q_{mean} を求めると正焦点とコントラスト最大となる Scherzer focus で極大値 (図の G と E) を示す. 個々の一次元のスペクトルの強度を求めて積分演算を行った結果より, ζ と ξ の値を図11の如く求めることができる. スペクトルの強度最小が正焦点で, 2 番目の最大がコントラスト最大となる. 図12はオンラインで行ったディフラクトメーターの実際例で2が正焦点, 3 附近がコントラスト最大を示す. ディフラクトグラムの演算時間は500 ms で非点収差の補正を行うなど最適の写真撮影を考えても1分以内に行える. 原子像観察や生物試料 DNA の微細構造観察などに必要である.

図10 焦点変化 ζ による空間周波数 q_n の測定結果.

図11 焦点変化 ζ による一次元ディフラクトグラムの強度変化 I の測定結果.

IV. デジタル・フーリエ構造解析^{11,12)}

この方法ではまず像を光走査濃度計でデジタル化し, 入力点の座標を決定する. さらにフーリエ変換による計算機回折像を得る. この計算処理の過程から, 像の振幅と位相を計測する. さらに逆フーリエ変換して得られる再生像の明暗から位相の正負を確認することを行う. コントラスト (明暗) の強調, 各種の窓関数や帯域濾波器を用いて, フーリエ回折像から必要な対と組の回折斑点を選び必要な協調波のみを取り出すことによって

図12 オンライン・ディフラクトメーターによる焦点合わせの実際例。

原子配列が決定される。X線で行われている Fourier harmonics superposition method の原理を発展させたものと考えられる。対称性をもった結晶ではフリーデルの法則が適用できて、像を形成する合成波は次式で示す個々の協調波の合成から成り立つ¹³⁾。

$$|F(q_{hkl})| \cos [2\pi(hu + kv + lw) + \alpha_{hkl}]. \quad (6)$$

ミラー指数 hkl で代表される振幅が $F(q_{hkl})$ で、 q は空間周波数で対物レンズの球面収差と電子線の波長に関する量である。協調波は結晶の格子間隔 d_{hkl} に垂直の平面波で、単位胞 a, b, c とすると、 $u=x/a, v=y/b, w=z/c$ の無次元の座標で表わされる。

フーリエ逆変換された再生格子像は電子密度分布 $\rho(r)$ で表わされ、各格子点について個々の協調波を加算することによって求められる。

$$\rho(r) = \sum_{j=1}^n \rho(r) * \delta(r - r_j). \quad (7)$$

位相項 α_{hkl} は電子レンズの収差、焦点のずれ、さらに散乱位相などによる位相伝達関数 PTF の位相項 γ と入射電子線の干渉性 (partial coherence) を表わす包絡関数 $E(q_{hkl})$ に関係する。

$$\cos \alpha_{hkl} = \text{sgn}[\sin \gamma \cdot E(q_{hkl})]. \quad (8)$$

sgn は符号関数で ± 1 であるから、像の明暗は (8) 式から判定できる。この処理によって、格子点からはずれた錯乱像と非弾性散乱などによる干渉暗視野像はフィルターされる。

CdSe 半導体の構造解析と積層欠陥の観察¹⁴⁾

半導体 CdSe は太陽電池や光記録メモリーの材料として注目され、六方晶で特殊の wurtzite 構造といわれているが、熱や圧力によって変化し易い不完全結晶体である。図13は気相法によって製作した CdSe 結晶で、厚さ約 20 nm で TEM 像(a)では個々の配列を区別できな

図13 CdSe 結晶の構造解析, (a)は厚さ20 nm 試料の TEM 像と回折像, (b)は厚さ10 nm の TEM 像と (c)はその回折像, (d)はフーリエ合成法による再生像 (○△ Cd, ●▲ Se)。

図14 イオンビーム照射による CdSe 中の extrinsic の積層欠陥の観察, (a) TEM 像, (b)回折像, (c)再生格子像, (d)各原子の配列。

った試料をイオンビームで研磨し、厚さ10 nmに薄くした試料の200 kVの高分解能TEM像が(b)である。(c)はフーリエ変換による計算機回折像で、(c)の逆変換の再生像が(d)である。個々の対または組の回折像の位相は図14に示す個々の協調波の位相と焦点のずれ δ 、散乱位相 δ と波長 λ 、対物レンズの球面収差係数 C_s を考慮した位相伝達関数PTFの値から正負の判定ができる。これによって原子像の明暗が解る。電顕像ではCdSeの分子構造のみしか観察できないが、画像解析によって鮮明に原子の配列を再現できた。画像処理装置による構造解析の代表例である。

この結晶はイオンビーム(10 kVのアルゴンビーム)で研磨すると積層欠陥(stacking fault)が現われる。図15は(a)TEM像、(b)回折像、(c)再生格子像と積層欠陥の解析モデル(d)を示す。欠陥像の観察では回折斑点の周りにあるstreakを含んだ回折像を利用することによって欠陥を抽出することができる。

金属、半導体はもちろん、赤血球をはじめとする医生物学試料のイオンビーム研磨による構造解析は極めて重要な応用研究の分野である。

V. 結言

デジタル画像処理装置を附属した電子顕微鏡を利用した物質構造解析法では、電子、X線あるいは光回折では得られない信号の振幅と位相とを正確に処理することができて、さらにコントラストの強調、ノイズ除去、フィルタリング等の処理を組み合わせることによって、電顕像のみでは識別できなかった微細構造を分別することが可能となった。各種物質特に臨床学的方面の診断に欠かせない有力な装置としての発展が期待される。特に高

分解能観察では自動焦点合わせと画像の前後処理、さらにイオンビームの試料製作への応用が欠かせない分野となってきた。

〔文 献〕

- 1) 金谷光一：計測と制御，第26巻(1987)681-688.
- 2) K. Kanaya, E. Oho, M. Naka, T. Koyanagi and T. Sasaki: J. Elect. Mic. Techn. 2, (1985) 73~87.
- 3) R. C. Gonzalez and P. Wintz: Digital image processing, Addison Wesley Publication Co., N. Y. (1977) 1-431.
- 4) E. Oho, T. Sasaki, A. Ogihara and K. Kanaya: Scanning, 9 (1987) 173-176.
- 5) 金谷光一：化学工業，第38巻(1987)55~63.
- 6) K. Kanaya, K. Takamiya, M. Shino and C. Shinohara: Micron 14 (1983) 119-134.
- 7) K. Kanaya, N. Baba, Y. Yamamoto and K. Yonehara: Micron and microscopica Acta, 19 (1988) 189-199.
- 8) K. Kanaya, E. Oho, N. Osaki and T. Oda: Micron and microscopica Acta, 19 (1988) 163-173.
- 9) K. Kanaya, K. Yonehara and E. Oho: Micron and microscopica Acta 21 (1990) 13-28.
- 10) K. Kanaya, Y. Yamamoto, M. Ogasawara, N. Baba and K. Yonehara: Micron and microscopica Acta, 20, 3/4 (1989) 179-192.
- 11) 金谷光一：日立科学機器ニュース，27 (1984) 2393-2403.
- 12) K. Kanaya, N. Baba, T. Ichijo, M. Osumi and R. W. Horne: Scanning Electron Microscopy IV (1982) 1395-1410.
- 13) K. Kanaya, N. Baba, C. Shinohara and T. Ichijo: Micron and microscopica Acta, 15 (1984) 17-35.
- 14) K. Kanaya, N. Baba, M. Naka, Y. Kitagawa and K. Suzuki: Micron and microscopica Acta, 17 (1986) 25-43.