

研究施設紹介

本学に新設された走査形電子顕微鏡

— 波長分散形，エネルギー分散形 X線マイクロアナライザー 装備 —

大野 弘機,* 伊藤 亜男,** 武田 正子***

*歯科理工学講座 (電子顕微鏡運営委員会委員)

**電子顕微鏡室 (オペレーター)

***口腔解剖学第二講座 (電子顕微鏡運営委員会委員長)

はじめに

今般、かねてより強い要望があった走査電子顕微鏡が文部省私学助成 (昭和57年度) の援助により本学の共同研究設備として導入された。購入総額は、49,100,000円、機種は Fig. 1 に示す走査電子顕微鏡 (Scanning Electron Microscope 略して SEM, 日立 S 650形) で、これに付属して 2チャンネルの波長分散形 X線分析装置 (Wave Dispersive X-ray Micro-analyser, 略して WDX, 日立 X-650形) と 1チャンネルのエネルギー分散形 X線分析装置 (Energy Dispersive X-ray Micro-analyser, 略して EDX, Kevex 7000D形) が装備されている。本装置は、単に走査電子顕微鏡としてばかりではなく X線マイクロアナライザーとしての機能を持っており、微小部分の形態観察とともにその部分の元素分析ができ、局所的な物質の状態の解析に威力を発揮する。本稿では、購入された装置について SEM, WDX, EDX の機能、性能について概説する。

S E M

物質に 3~50 kV の加速電圧で電子線を照射すると、二次電子、後方散乱電子 (反射電子)、吸収電子 (試料電流)、特性 X線などが発生する。試料から反跳する電子は、そのエネルギーによって、比較的エネルギーの高い後方散乱電子と

50eV 以下程度の低いエネルギーの二次電子の 2 つに分けられる。二次電子による像は、焦点深度が深いので凹凸のはなはだしい試料を立体的に観察することができ、また、分解能が高いため微細な組織を観察するのに適している。後方散乱電子による像は、吸収電子による像と同様に、二次電子像より分解能は著しく劣るが、物質を構成する成分、組成の情報をもたらす利点がある。

購入した SEM は、二次電子像の分解能が 60 Å 保証で、200,000 倍までの像を得ることが可能である。自動非点収差補正 (ダイナミックステイグマモニタ) や自動焦点合わせ (オートフォーカス) の機構が付いており、20,000 倍程度であれば、比較的容易に鮮明な像を得ることができる。しかし、60 Å の分解能を得るためには、加速電圧、試料電流、対物絞りを適切に選択し、試料の状態、振動の除去、装置の電氣的安定性を最高の状態にしなければならず、また、熟練を要する。

WDX と EDX

X線マイクロアナライザーでは、物質に固有な特性 X線を利用し、試料中に含まれる元素の定性および定量分析を行う。特性 X線は固有の波長 (λ , Å) とエネルギー (E , eV) を持っており、両者は次式で関係づけられる。

$$E = 12.4 / \lambda \text{ (keV)}$$

したがって、試料から放出する特性X線を選別するのに波長(WDX)で行ってもエネルギー(EDX)で行ってもよい。WDXでは、分光結晶を駆動させて特性X線の波長を逐次選別する。購入した分光結晶は、1チャンネル; LiFとPET, 2チャンネル; RAPとSTEの4個である。分光結晶の分析元素範囲(波長範囲)をTable 1に示した。

EDXでは、半導体検出器(Si単結晶)中に全部の特性X線を同時に取り込み、電的にエネルギー選別を行っている。

装備されているX線分析用システムの機能の概略を以下に示す。

1) WDX用自動計測システム(Fig. 1-D)

これはWDXの分光結晶を駆動するのに使用される。元素名、原子番号、特性X線の波長をあらかじめ記憶させておくと、それに従って指定した元素の波長に分光器を自動的に駆動できる。また、X線の最大強度の波長を自動的に検索(ピークサーチモード)したり、バックグラウンドを除去したX線強度の測定を行ったり、印字したりできる。さらに、それらのデータを記憶したり、紙テープとして打ち出すこともで

きるようになっている。コンピューターに入力するコマンドをおぼえる必要があるが、全てタイプライターと同じキーボードから指令できるようになっており、手動で分光器を操作するものと違って非常に使いやすくなっている。

2) 定量計算システム(Fig. 1-D)

上記で蓄えたデータをもとに元素の定量計算を行うシステムである。一般に、定量分析を行う場合、一次測定値(未知試料のX線強度/標準試料のX線強度の比)に対して次の3つの補正計算を行う必要がある。(イ)原子番号補正、(ロ)蛍光励起補正、(ハ)吸収補正。この計算は、普通のハンディータイプの電卓でも可能であるが、このシステムを利用することにより迅速に定量分析ができる。例えば、3元素から成る合金の定量分析で、電卓をたたいた場合、補正計算に要する時間が約2時間であるのに対して、このシステムによると約10分で結果が打ち出される。このシステムはWDXの場合は、オンラインでもオフラインでも使用できる。EDXの場合は、オフラインで使用できる。用意してあるプログラムは、ZAF法(上記3つの補正計算用、最大15元素まで)とBence-Albee法(最大30元素まで)

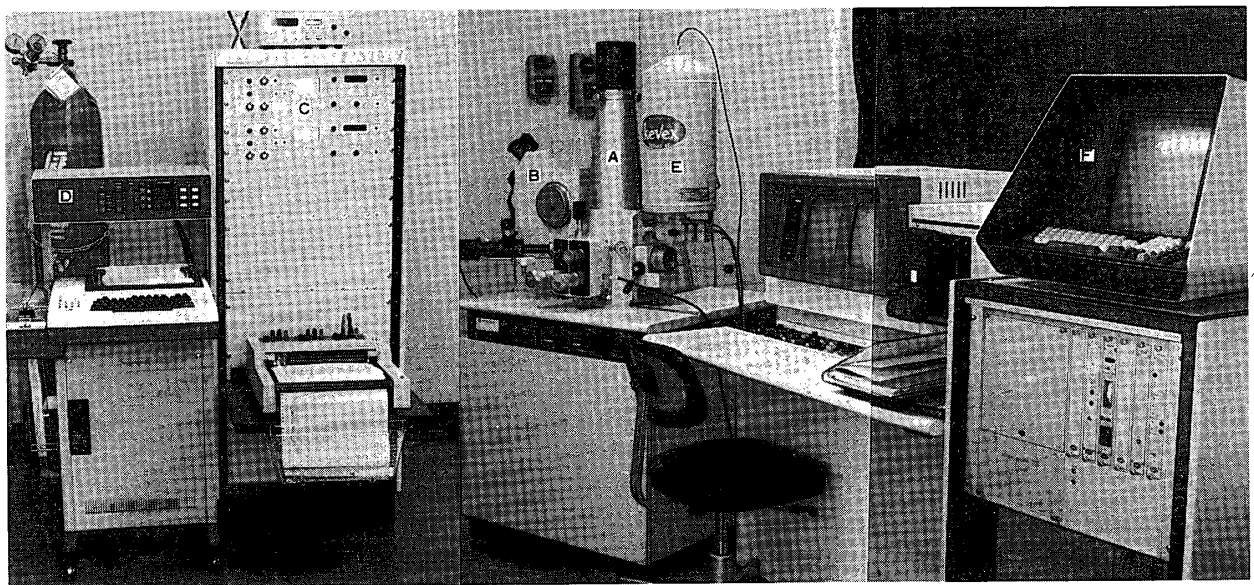


Fig. 1 A ; 走査電子顕微鏡本体, B ; WDX用分光結晶駆動部, C ; WDX用パルハイ、レートメータ
D ; X線自動計測システムおよび定量計算システム, E ; EDX用エネルギー検出部, F ; EDX
用ディスプレイ

の2つである。

3) EDX用システム (Fig. 1-F)

7000D形には4つのメモリーグループが用意されており、最大4つのスペクトラムを記憶させることができる。エネルギーピーク位置にカーソル線を合わせるだけで、ピークの元素名、特性X線の種類 (K, L, M線) が直ちに表示される。また、ピークに色づけを行ったり、バックグラウンドを除去する機能もある。ブラウン管 (Fig. 1-F) 上に2つのスペクトラムを同時に重ねて表示 (比較モード) したり、ピークの積分値の比 (ウィンド比較) をとったり、2つのスペクトラムの加減算を行ったりできる。これで求めた一次測定値を上述の定量計算システムに入力して定量計算もできる。

WDX と EDX の比較

WDX と EDX にはそれぞれ優れた点と劣った点がある。以下に示す項目についてそれぞれの特徴を比較してみる。

1) 分析時の試料電流

WDX ; $10^{-7} \sim 10^{-8} \text{A}$, EDX ; $10^{-10} \sim 10^{-12} \text{A}$ 。

試料電流が少いと電子線がよく絞れることになるので、EDX では二次電子像を観察する条件で元素分析ができる。EDX での分析領域は $0.1 \mu\phi \sim 0.5 \mu\phi$ で、WDX では約 $1 \mu\phi (10^{-8} \text{A})$ である。さらに、試料電流値の小さいことの利点は、電子線による試料の損傷や汚染が少なくなることで、この点は、生物試料 (軟組織) の分析には重要なことであり、EDX の優れた点で

ある。

2) 分析元素の範囲

WDX ; ${}_{4}\text{Be} \sim {}_{92}\text{U}$, EDX ; ${}_{11}\text{Na} \sim {}_{92}\text{U}$ 。

EDX では半導体検出器の窓に使用している Be の薄膜によって 軽元素からの特性X線が吸収されてしまうため、 ${}_{4}\text{Be}$, ${}_{5}\text{B}$, ${}_{6}\text{C}$, ${}_{7}\text{N}$, ${}_{8}\text{O}$, ${}_{9}\text{F}$ の分析が困難となる。その点 WDX の分析範囲は Be 以下全元素を網羅している。ただし、本学の装置に装備されている検出器では、Be は検出できない。

3) 分解能

分解能をあるピークのエネルギー (E) とそれに隣接するピークとのエネルギー差 (ΔE) に対する E の比 ($\Delta E / E$) で定義すると、WDX では 13eV (エネルギーに換算), EDX では 150eV で、WDX の方が1桁分解能がよい。EDX の場合、2つのピークが近接して 150eV の範囲に入るとピークの分解が困難になる。これは EDX の最大の欠点である。マイコンを組込んだデータ処理システムを購入 (約1000万円) すればこの難点もかなり解決できるようになってきている。

4) 分析精度

特性X線を検出するときの検出器の立体角が EDX の方が大きいために、感度は EDX の方が優れている。しかし、WDX の場合は、試料電流とX線強度が比例するのに比べて、EDX の場合、半導体検出器には全計測値に限界があるため、ピークが沢山あるような場合には1つ1つのピークの計数値を数え落す危険がある。S/N

Table 1 分光結晶と分析元素範囲

	面間隔(Å)	H 1	Ne 10	Ca 20	Zn 30	Zr 40	Sn 50	Na 60	Yb 70	Hg 80	Th 90	分光波長範囲(Å)
LiF (Lithium Fluoride)	2.013											0.89~3.5
PET (Penta Erythritol)	4.375											1.93~7.7
RAP (Rubidium Acid phthalate)	13.06											5.8~23
STE (Stearate)	50											22~88

比 (Signal / Noise) を比べると EDX が 100 に対して WDX は 100~1000 である。したがって計数時間を増すと WDX の方が定量分析の精度が向上する。

5) 定性分析の迅速性

WDX ; 30~90分, EDX ; 2~3分。

EDX の場合, 全部の特性 X 線を一度に取込み, 電氣的に分光するため極めて迅速に分析できる。WDX では, 広範囲の定性には, 2~3 個の分光結晶 (Table 1) を交換する必要がある, また, 機械的に結晶を駆動するために長時間を要する。分析時間が短いことは測定中に生ずる試料の損傷, 汚染を軽減できることにもなる。

6) その他

EDX の場合, 検出器に対する試料位置の設定を WDX ほど厳密にする必要がないため凸凹が激しい試料でも分析が可能である。また, EDX で 25 倍という低倍率でも X 線分析ができるのに対して, WDX では 300 倍以上でなければならない。EDX の欠点の 1 つとしてあげられることは保守で, 液体空気で検出器を常時冷却しておかなければならないことである。

以上, WDX と EDX の比較を行ったが, 利点を生かして両者をうまく併用することによって分析の迅速性と確度の高いデータを得ることができる。と考える。

試料作製のための周辺機器

本装置が設置されている電顕室には, 試料作製のための装置として, 蒸着装置, イオンコーター, 臨界点乾燥装置, ミクロトームが設置されている。蒸着装置とイオンコーターは, 導電性のない試料にカーボンや金などの金属を数 100 Å の膜厚に蒸着し, 導電性を与えるのに用いられる。また, 臨界点乾燥装置は, 水分を含んだ試料をその形状を保持したまま乾燥できるので生物試料の調製に有用である。

これから設置しなければならない装置として, 硬組織の薄切装置, 研磨装置, 試料埋込み用プレスなどがあり, さらに周辺設備を充実していく必要がある。

おわりに

本装置の管理・運営は, 歯学部電子顕微鏡運営委員会によって行われており, 装置の操作および保守・実験補助は, 専任の職員 (1 名) がこれにあっている。高価な装置であり, 広く利用され, 多くの研究成果が上がることを期待している。

最後に, 本装置の導入にあたって御尽力をいただいた法人, ならびに歯学部の関係各位に感謝の意を表します。