

# 直交配置型FIB-SEMを用いた微細組織解析

原 徹

Hara Toru

集束イオンビーム装置 (FIB) と走査型電子顕微鏡 (SEM) を複合させた装置を利用することによるシリアルセクションニング法は、材料の微細組織を三次元的に観察する手法の一つとして知られている。その手法での三次元観察のための理想的な装置形態である、FIBとSEMが直交に配置された装置を適用することで、従来装置より高い空間分

解能および高いコントラストで高精度な三次元的材料組織観察を行うことをめざしている。ここでは、三次元的観察のための直交配置FIB-SEM装置を用いた手法の概念と実際の装置の特徴である多機能性と高い観察性能を紹介し、本装置を用いた応用観察の例を示したうえで今後の展開について検討する。

## 1. はじめに


組織観察を光学顕微鏡あるいは電子顕微鏡で行う場合、反射による表面観察であっても、あるいは透過による投影観察であっても、基本的に二次元像の記録が基である。しかし、材料・生物を問わずごく一部の例外を除いて組織は本来三次元の構造を持つ。そのため、三次元的な観察を実現するための工夫が古くからなされてきた。

われわれが研究対象としている金属やセラミクスなどにおいては、サブナノメートルからマイクロメートル、ミリメートルまでの広い範囲のスケールでの組織観察が必要となっており、その中を比較的広くカバーできるものとして集束イオンビーム—走査型電子顕微鏡複合装置 (FIB-SEM : Focused Ion Beam - Scanning Electron Microscope) を用いたシリアルセクションニングによる三次元再構築像観察に注目している。

本稿では、材料組織の高精度な三次元的観察を実現するために導入した、直交配置型FIB-SEM (株式会社日立ハイテクサイエンス製SMF-1000) の装置の概要と、それを用いた観察実施例を紹介する。われわれは2011年2月にこの装置を導入し、それ以来「微細組織三次元マルチスケール解析装置」として文部科学省の「ナノテクノロジープラットフォーム」事業において装置と観察技術を広く公開している。それらの事業による種々の研究分野の観察実施例の一部も併せて紹介する。

## 2. 手法と装置の特徴<sup>1)</sup>

FIBとSEMの機能を1台に備えたFIB-SEMによるシリアルセクションニングは、これまでも広く応用されてきた。この方法はFIBによる表層の切削と、その切削面をSEMで観察することを繰り返し、取得したSEM像のシリーズをコンピュータで積層し三次元像を再構築する。そのためSEM像の像質が、観察と解析の結果のクオリティを大きく左右する。FIB-SEMのシリアルセクションニング観察の際に留意すべき点は、この場合はSEM観察といっても、表面の凹凸を見る形態観察ではなく、FIBによって切削した平面を観察する点である。つまり、試料の外形は観察しない。ほぼ完全な平面を作って、その平面内の内部組織のコントラストを二次電子あるいは反射電子で観察する。そのため、観察するコントラストは、構成元素の種類や密度によるもの、結晶性試料の場合には構造やチャネリング (方位) によるものなどであり、基本的にはトポグラフィックなコントラストは対象とにならない。目的とする観察のためにどのようなコントラストを利用するかという条件 (検出器と検出条件) を探すことが重要になる。

従来、この目的では、一般的なFIB-SEM装置を応用していた。つまり、 1 (a) に示すようにFIBとSEMの光軸が互いに60度程度の角度で交わっているものである。これは、FIBとSEMとで同じ点を見るためには最良の配置で、例えばSEMで場所探しをしてTEM (Transmission

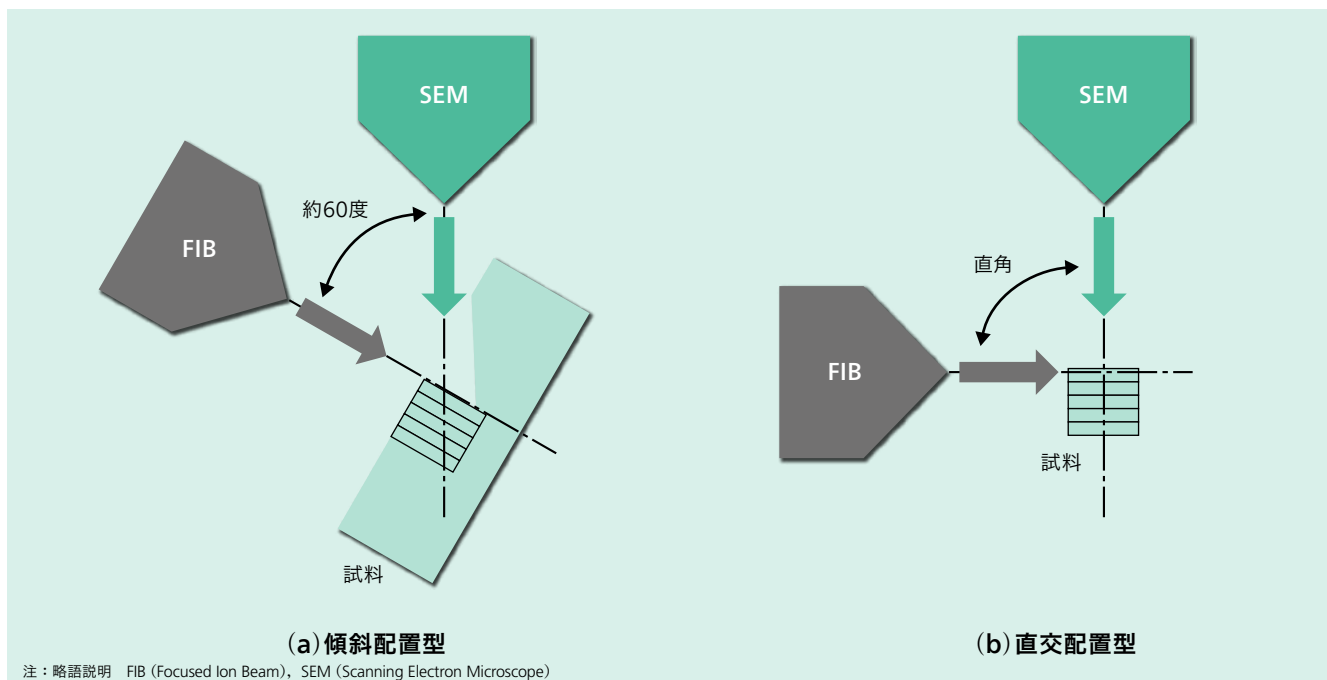


図1 FIB-SEMにおけるFIBとSEMの配置

(a) 通常のFIB-SEM装置におけるFIBとSEMの配置。両者は60度程度の角度を持っている。FIBによる切削面はSEM光軸と直交しないので、三次元的観察に最適な配置ではない。(b) 直交配置型FIB-SEMでは、FIB切削面がSEM光軸と垂直なので、常に歪みの無い面が観察でき視野ズレが生じない。三次元観察に適した配置である。

Electron Microscope) 観察のための試料をFIBで加工して取り出すことなどに適している。しかし、シリアルセクション観察に目的を限定すると、この配置は必ずしも最適とは言えない。その理由は以下の2つである。

(1) 図1(a)に示すように、FIBで切削を繰り返すとSEM像に視野ズレが生じる。SEM像の中心(図中破線)から切削領域がずれていくため補正が必要となる。

(2) FIB切削面はSEM光軸に対して垂直にはならない。傾斜した面のSEM観察となるため、例えば二次電子像を使って観察しようとするときには、コントラストのダイナミックレンジの大部分が高低差に起因するものに消費される。さらに、傾斜面を見ているために1枚のSEM画像の

中でも縦横のスケールが異なり補正が必要となる。

以上のことから、シリアルセクションの目的では、FIBによる切削面がSEM光軸に対して垂直な、図1(b)のような機器配置が理想的と言える。

そこで、その実現を目的として、FIBとSEMとが直交した配置を持つ観察装置(日立ハイテクサイエンス製SMF-1000)を導入した。本装置の外観写真を図2に示す。この装置では、切削面の高低差によるコントラスト変化がない、内部組織観察に適した配置になっている。さらに本装置では、一度の観察でできるだけ多くの情報を得られるように、エネルギー分散型X線分光分析装置(EDS: Energy Dispersive X-ray Spectroscopy)や後方散乱電子回折(EBSD: Electron Back Scatter Diffraction Patterns)といった検出器やプラズマクリーナー、アルゴンイオンガン、ガスデポジションガンといった試料調製装置を配置している。また、像の検出器としては、SEMが持つインレンズタイプ(SEM鏡筒内の光軸と同軸上に配置)の二次電子検出器、反射電子検出器、E-T(Everhart-Thornley)検出器のほか、試料直下に走査透過型電子顕微鏡像(STEM: Scanning TEM)検出器を装備している。

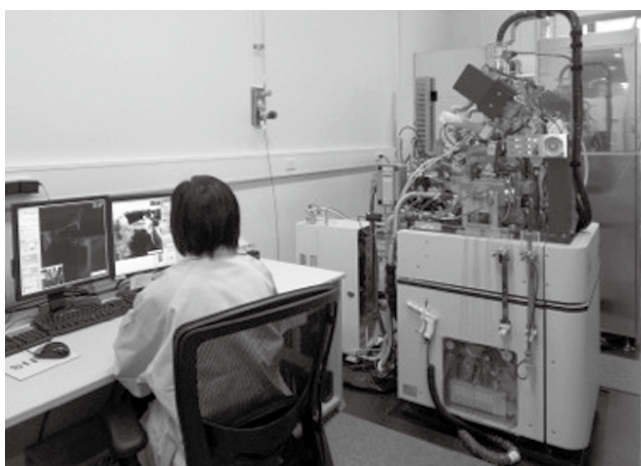


図2 直交配置型FIB-SEM装置の外観

写真右側の本体鉛直方向にセットされたSEMに対し、FIBは左側から設置されている。試料は写真手前側から挿入する。

### 3. 組織観察への適用例

#### 3.1 清浄表面の二次元像観察

三次元再構築像の観察例の紹介に移る前に、通常の二次元像(SEM像)そのもののクオリティが高いことに触れておく。試料表面は表面層や酸化膜などで内部微細構造が見

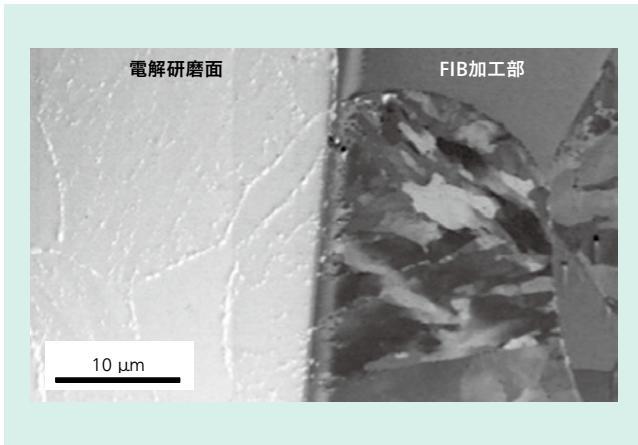


図3 電解研磨によって表面を平滑に仕上げた鉄鋼材料の観察像  
左が電解研磨面，右はその表面をFIBで切削したものである。

えないことがあるが、FIBでの切削によってそれを除去したフレッシュな面の観察が可能になる。例えば図3は電解研磨で表面を平滑に仕上げた鉄鋼材料の試料である。電解研磨時に表面酸化膜が形成され、内部組織のコントラストよりも表面酸化膜の凹凸しか観察できなくなってしまう。同図の左半分がその状況を示している。そこでFIB（紙面上側にある）で表面酸化膜を除去したものが同図右半分であり、この部分は試料の組織のコントラストが現出していることが分かる。大気に出しただけで表面が酸化するような金属材料にとっては、SEMのチャンバ内で新生面を作ることができることは大きなメリットである。

### 3.2 SEM像の「深さ」分解能

FIB-SEMシリアルセクションングによる三次元再構築像の空間分解能を考えるうえでは、プローブ径のほかにスライスの厚さ方向（z方向）の空間分解能を考慮する必要がある。

ある。z方向の空間分解能は、基本的にはFIBによるスライスのピッチによって決まるので、当然FIBの性能に依存する。しかし、SEM観察の加速電圧が高くなると電子線が試料内に深く浸入し、像に深さ方向の情報が含まれてしまい、小さなスライスピッチは無意味となる。つまり、加速電圧をできるだけ低く抑えて、試料内部での電子線の広がりを小さくすることが、実質的な空間分解能を上げるために重要となる。本装置では、低加速電圧でのSEM観察と高い精度の加工が可能なFIBによって、実質的な三次元の空間分解能として2 nm程度の三次元再構築像観察が可能となっている。

### 3.3 三次元像再構築観察の例

上述したように、FIBでの切削面はトポグラフィックなコントラストを排除できるので、試料の内部微細構造を強調できる。それを基にしたこれまでの観察の例をいくつか挙げる。

図4は、Ti-Mo合金中のオメガ相と呼ばれる析出物の形態と分布、体積率などを求めた例である<sup>2)</sup>。オメガ相はβチタン合金の機械的特性に大きく影響を与えるが、非常に微細かつ高密度に析出するため、その定量評価は困難であった。図4(a)に示したSEM像は、加速電圧2 kV、インレンズタイプの二次電子検出器で観察したものである。オメガ相は、マトリクスに対して5%程度モリブデン含有量が少ないため、その濃度差が暗いコントラストとして観察できている。この像をスライスする厚さを2 nmに設定して260枚のSEM像を取得して三次元再構築したものが図4(b)である。この結果、オメガ相粒子の体積率やサイズ、形態などを定量的に評価することができた。このよう

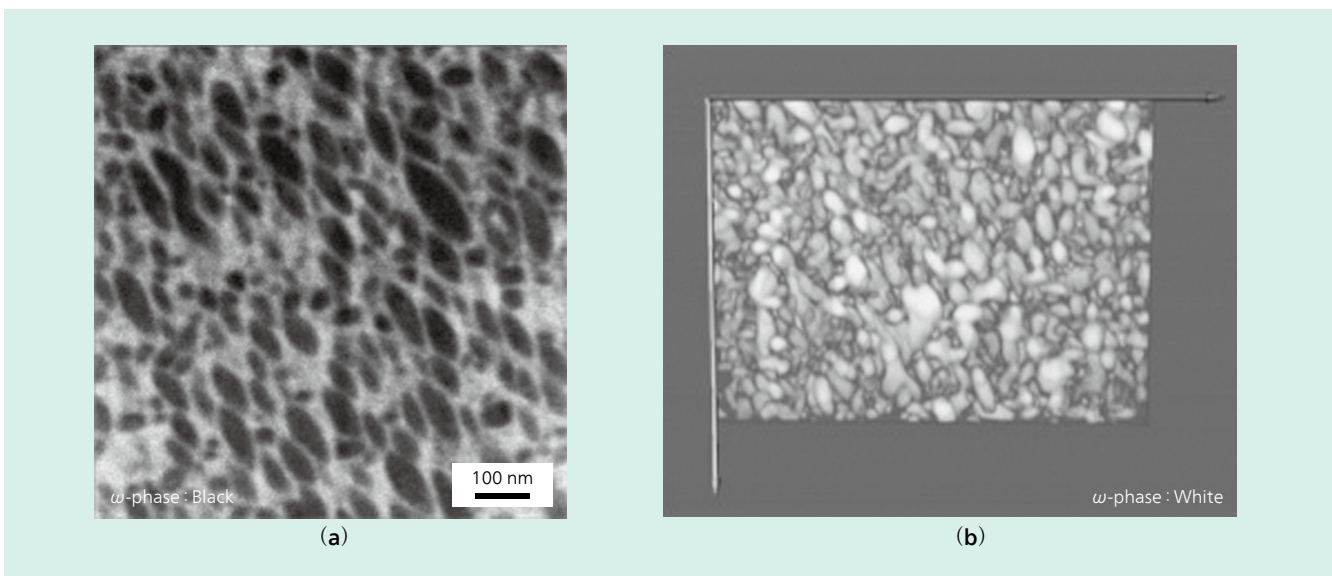


図4 Ti-Mo合金中のオメガ相の観察  
(a) にシリアルセクションングに用いた二次元像を、(b) に三次元再構築像を示す。

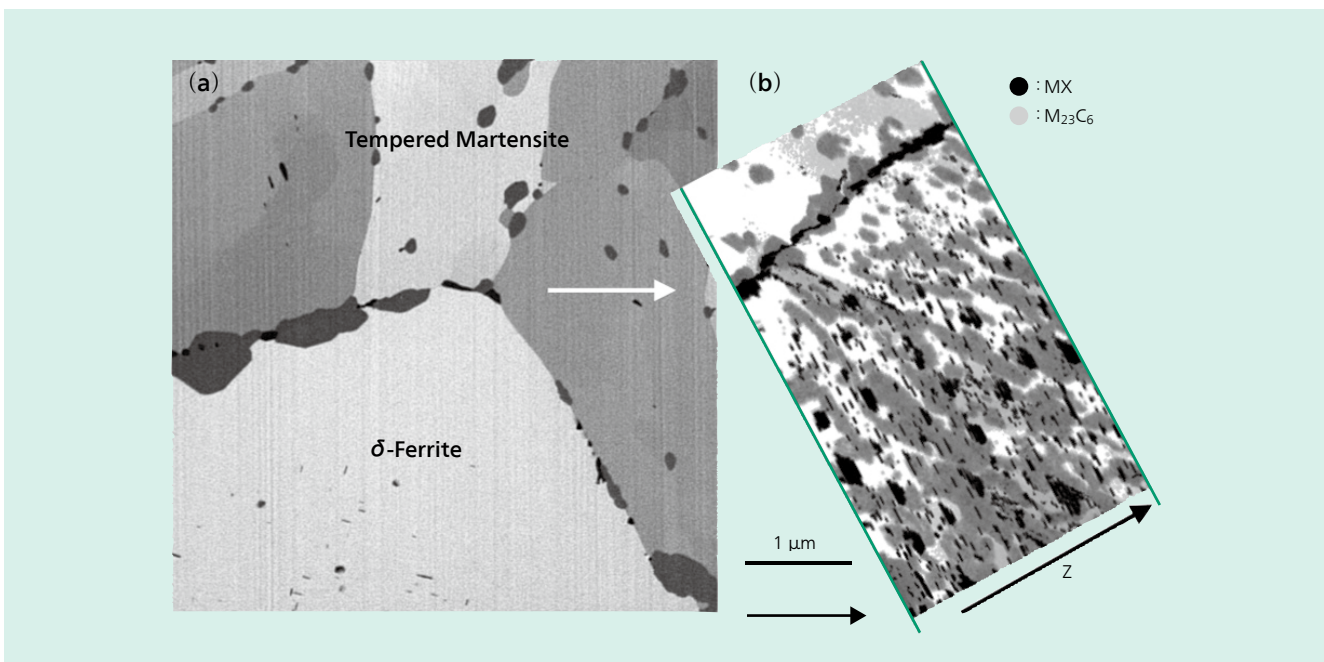


図5 | 耐熱鋼中の析出物分布の観察例

(a) にシリアルセクション観察時のSEM像を、(b) にデルタフェライト—焼き戻しマルテンサイト界面上（紙面奥行方向）の析出物分布を示す。

に、FIB切削面がSEM光軸に対して垂直なので、ベースのコントラストが均一になり、僅かな組成差でも強調して観察できる。図5 (a) は、Fe-12Cr耐熱鋼中のデルタフェライト—焼き戻しマルテンサイトの二相界面付近の析出粒子分布の観察例である<sup>3)</sup>。像のコントラストが高いため、一度EDSで析出物の種類が分かれば、コントラストのみから複数の種類の析出物の判別が可能である。図5 (b) はバナジウム主体の炭窒化物（黒色）とクロム主体の炭化物

（灰色）が相界面上でどのように分布しているかを観察したものである。相界面上の析出物分布は、TEMでの投影像観察でも、SEMでの表面観察でも正確に把握することはできないため、コントラストの高い三次元像観察は非常に有効な手段となる。また、材料系試料だけでなく、生物系試料についての観察も進めている。図6は、骨組織のシリアルセクションを行ったときの観察例である。包埋されたニワトリ胚頭蓋骨の表層から深部までを観察した。

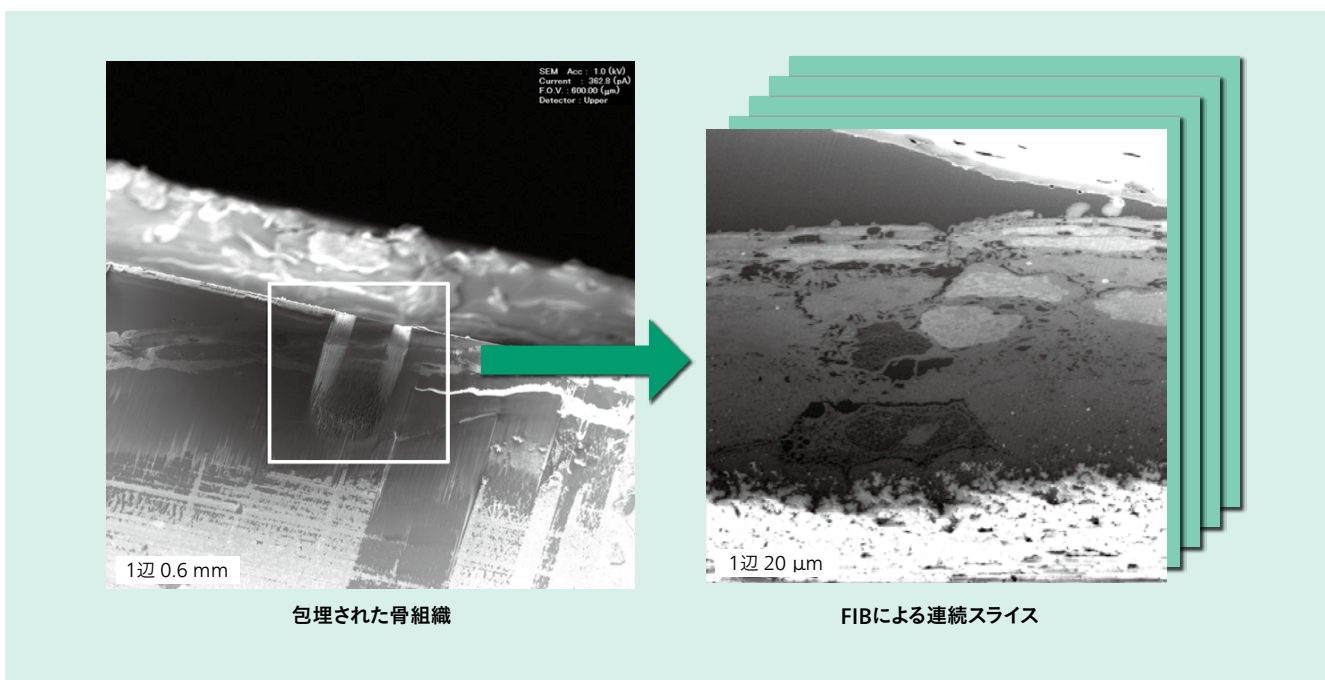


図6 | 骨組織のシリアルセクション観察

左図のような低倍率の広い視野から観察対象部分を探することができる。写真中央部のエッジ部分がニワトリ胚頭蓋骨の表層で、写真下方向が深部方向。右図は三次元像再構築に用いた視野。

この場合は観察したい部位をサンプルのエッジに持ってきて、それを直接横からFIBでスライスした。加速電圧は1 kVで良好な像を得ることができている<sup>4)</sup>。その他にも例えば電池の電極材料のように空隙を多く持つ試料の空隙の形状や体積率を計測する場合、空隙を樹脂などで埋めて観察することが望ましいが、それができない場合も多い。そこで、樹脂埋めせずに元の形状や状態を保ったままシリアルセクション観察を行い、その際にスライスごとに異なる観察条件で複数枚の画像を撮影しておき、画像処理で空隙と試料を二値化するなど、観察条件と解析方法を工夫して、空隙の形状や割合を求める工夫もなされている<sup>5)</sup>。

#### 4. 今後の展開と期待

これまで述べてきたように、FIBとSEMを直角に配置した本装置は、シリアルセクションによる三次元像再構築の観察に適しているだけでなく、FIBによる切削面を観察することによって組織の内部微細構造を観察することにも有効である。これまでに多種多様な試料の観察を行ってきたが、より高い精度・感度での観察のためには、今後さらに工夫すべき点も多い。現状では困難だがユーザーからの希望が多い項目は大部分が共通している。それは超高分解能化というよりむしろ、「より広範囲のスケールの観察」、「適用可能な試料種類の拡張」、「より多様な情報の取得」という汎用化・多機能化の要求である。直交配置がもたらす特徴を損なわずに、さらに先のレベルの組織解析をめざすためには、次のような点での進展を期待したい。

(1) スライスするためのFIBの別の方法として、より広い範囲、例えばミリ単位の領域をナノスケールのピッチで切削する手法を開発する。観察面積の拡大あるいは観察時間の短縮は要望としては大きい。

(2) SEMでのチャージやFIBでのダメージが入りやすい試料など、FIB-SEMが苦手とする試料、また、冷却・加熱や雰囲気制御が必要なものなど、多様な試料条件へ対応する。

(3) 多彩な像検出器に加えて、マイクロカロリメータEDS

などの高精度組成分析などのこれまでなかった検出器も搭載して、多種の情報を同時に取得して効果的に連携させる手法を開発する。

(4) 多様な情報を同時に取得したうえで、必要な情報のみを取り出せるような優れた解析手法を開発し、これまで取り逃していた情報を取得できるようにする。

組織解析を必要とするユーザーとして、これらのことの実現を今後期待したい。

#### 謝辞

本文中、骨組織の観察データは、岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 上岡寛教授、高宮留美子博士に提供いただいた。また、本装置を用いた解析手法は、多くのユーザーとの実験と討論の成果である。ここに記して謝意を表す。

本装置は、文部科学省ナノテクノロジープラットフォーム事業NIMS微細構造解析プラットフォーム (<http://www.nims.go.jp/nmcp/>) で「微細組織三次元マルチスケール解析装置」として公開している。

#### 参考文献

- 1) 原：FIB-SEMシリアルセクションによる材料組織の三次元観察顕微鏡，49，1，53～58 (2014)
- 2) T. Hara, et al.: Application of orthogonally arranged FIB-SEM for precise microstructure analysis of materials, J. Alloy. Compd., 577, S717-721 (2013)
- 3) K. Tsuchiya, et al.: 3D observation of isothermal omega phase in beta-Ti alloy by novel orthogonal FIB/SEM system, 12th World Conference on Titanium (Ti-2011) Proceedings of the 12th World Conference on Titanium 1, 593-596 (2012)
- 4) 上岡，外：直交配置型FIB-SEMで観察した骨コラーゲンネットワークの立体構築，第69回日本顕微鏡学会学術講演会予稿集
- 5) 寺尾，外：FIB-SEMを用いた微細多孔体の三次元構造再構築技術の開発，第50回日本伝熱シンポジウム，予稿集A231 (2013.5)

#### 執筆者紹介



原 徹

国立研究開発法人物質・材料研究機構 構造材料研究拠点  
構造材料組織解析技術グループ グループリーダー  
博士(工学)