

「電子顕微鏡技術の修得」に関わる成果報告

三重大学工学部工学研究科技術部

○藤田由紀子

fujita@chem.mie-u.ac.jp

1. はじめに

配属1年目当時、教育・研究活動の役に立てることがあまり無いことを自覚して現状を改善したいと考え、ご相談にのっていただいた方々のお勧めもあり「電子顕微鏡技術の修得」と称して自部署での個別研修制度を利用したことが発端である。電子顕微鏡施設、研究室をはじめ沢山の方々のお世話になりつつ、まだまだ十分とは言えないが、ご理解、ご協力を賜りました皆さまのおかげで、電子顕微鏡技術の一端を修得できたのではないかと存じますので、勉強させていただいたことを還元できたのではないと思うこと、並びに研修制度などを通して得られたことを報告する。

2. 東海・北陸地区合同研修（生物・生命コース）

外部研修（Off-JT）制度を使って参加した講習会を参考に、凍結乾燥による生物系試料の観察を課題

にした。電子顕微鏡の鏡筒は電子を通過させるため真空中に保たれており、そこに水分を含むものを入れると、収縮、変形してしまうが、融点が常温程度のt-ブチルアルコールに置換して昇華させる処理を施すことで形状を保って乾燥できる、という原理である。具体的には、蒸留水で薄めた味噌及び納豆を試料として20ml シリンジにフィルター付試料載台（ナノパーコレーター）を取り付けて菌類を捕集し、固定液などの廃液はプランジャを引いてシリンジ筒に回収、ナノパーコレーターのみ取り外して凍結乾燥及び金属コーティング装置に入れて試料を調製した（図1）。当日参加者に作製していただいた試料については、酵母菌類は凹んでしまった様子のももあり、置換もしくは凍結が十分でなかったことが伺える（図2）。入手しやすく、観察できる菌類をおおよそ特定できることを基準に考慮したが、試料の検討と実験回数は十分ではなかったと思う。

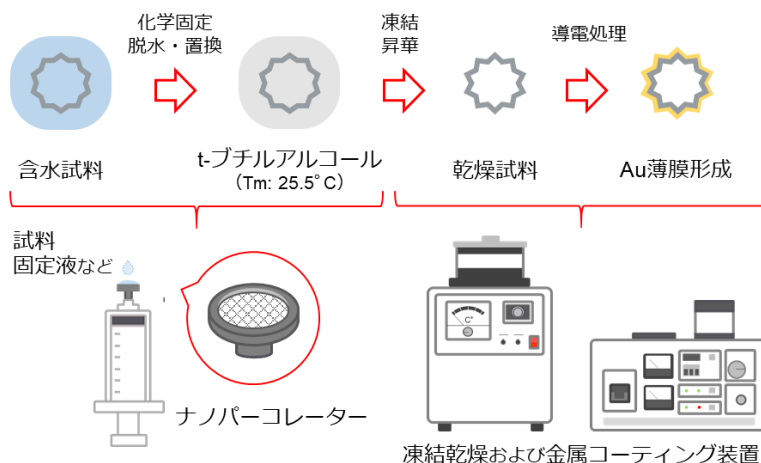


図1. 凍結乾燥試料作製の概要

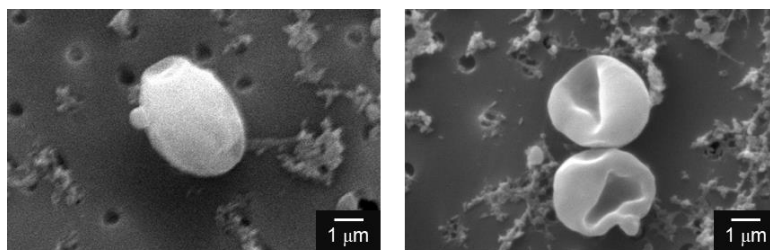


図2. 味噌に含まれる酵母菌類（参加者撮影写真一部）

3. 夏休み地域貢献イベント

2019年及び2021年に毎年実施している自部署の夏休み地域貢献イベントに顕微鏡を使った課題を加えていただいた。夏休みの自由研究への利用、ごく一部ではあるが本学の設備見学及び科学に興味を持っていただける機会になることを期待して、レンズによる見え方の違い、技術進歩の一端を体験していただくことを意図した内容である。図3は左から単レンズ（タブレット端末とガラス球）、複レンズ（光

学顕微鏡)、電磁レンズ(走査電子顕微鏡: SEM)で撮影した結果。光学顕微鏡及びSEMは電子顕微鏡施設の設備を使わせていただき、1回目にはスタッフとしても参加していただいたり、生物資源学部の装置を持ち出す際には中島先生から、初めて微生物を観察したと言われていた顕微鏡の複製を拝借したり、自部署外の方々にもご協力いただいた。

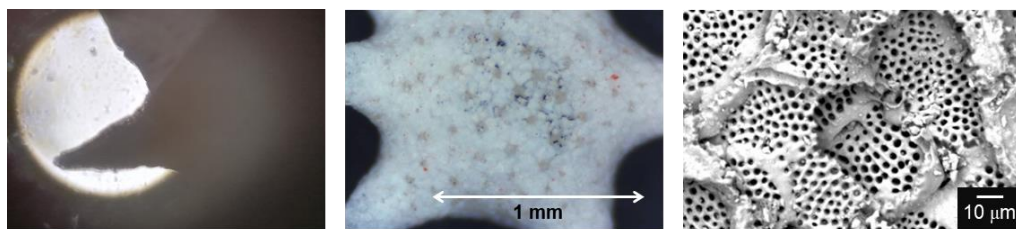


図 3. レンズによる違い (試料: 星の砂)

偏見かもしれないが、他者の操作を横で見ているよりも、自身で操作していただくほうが良いのではないかと考えて殆ど顕微鏡を操作しなかったが、参加者には難しい要求をしてしまったように思う。こちらで最初に目安時間をお伝えして制限を設けることが必要だったこと並びにうまく観察できるところまで調整すべきだったと反省している。今後は可否の検討と物品の準備まで行っていただいたオンライン開催と内容についても考え直したい。その他 SEM については、学内講習会の簡易マニュアル、動画の作成及び操作説明スタッフとして参加させていただいた。

4. 電子回折法

これまで個別研修及び学会、メーカー主催の講習会では生物系試料に関することをご教授いただくことが多かったが、所属する工学研究科では、材料系試料を取り扱うことが多いと思われること並びに折角依頼していただいたにも関わらず、ご要望に対する理解が不十分なために対応できず、機械工学専攻 高橋先生のご厚意でひとまず解決していただいた件があったことから電子回折法を勉強したいと考えた。高橋先生には練習試料だけでなく、基本的な解析方法もご指導いただいた。

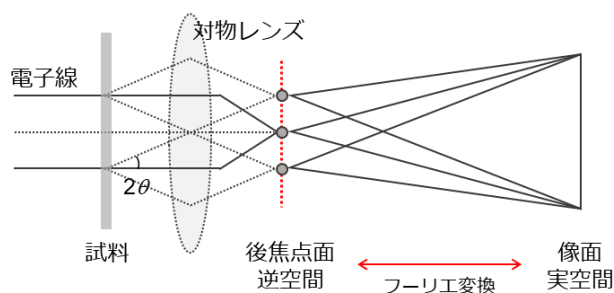


図 4. TEM 観察面に関する模式図

透過電子顕微鏡: TEM では、像面を観察することが多いと思うが、結晶性をもつ試料では観察面を後焦点面に切り替えると回折パターンを観ることができ(図4)、方位、原子面間隔など結晶学的な情報が得られる。

図5は、塩の結晶の切断面に金属コーティング装置で形成したAu薄膜をグリッドに回収した試料である。環状の回折パターン

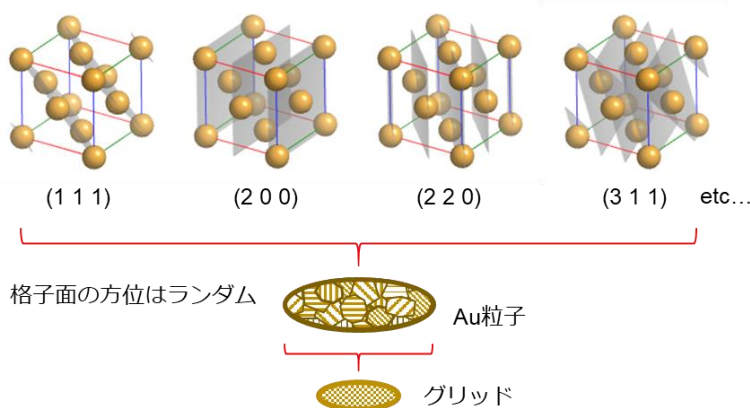
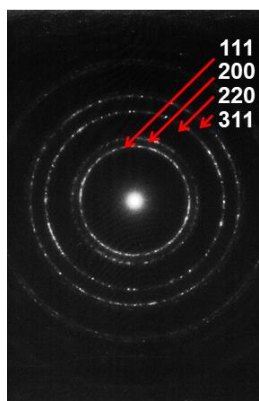


図 5. Au 多結晶薄膜の電子回折

分かる。3組の整数は回折に寄与する面でありミラー指数(hkl)と記される。厳密には正しくない説明だと思うが、単位格子の一边を1として、hklの逆数を示す面を考える。Auは立方晶、格子定数0.4078 nm

はデータベースより既知なので環状の位置が計算でき、写真から測定した値と照合して決定している。続いて図 6 に単結晶の回折パターンを示している。試料は単結晶ではなく、エタノール中で Si 粉末を砕いて上澄みをグリッドに滴下したもので、撮影にあたり観察できそうな箇所を探して、その箇所からだけの回折パターン得るため制限視野絞りを入れている。同様に既知試料なので Si は立方晶、格子定数 0.357 nm 並びに中心から回折点の距離、角度より結晶面(hkl)とベクトル積から電子線の入射方向を解析できる。例えば写真では回折点は全て同じ距離で{220}、隣同士の回折点と角度は全て 60° なので入射方向は[111]と分かる。対物絞りに透過波と回折波の回折点を入れて、分解能が良い 0.1 nm 以下を解像できる TEM だと図 6 実空間のような格子像を観察できるはずである。

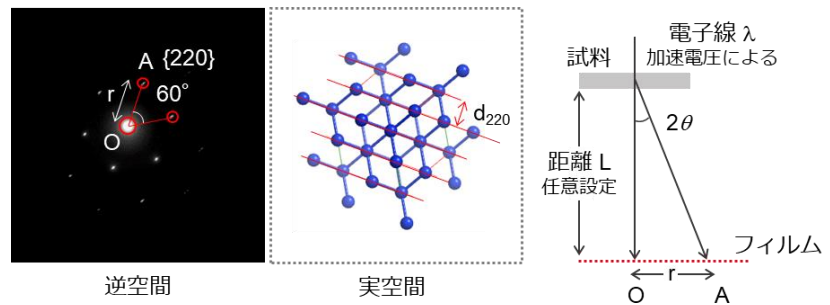


図 6. Si 粉末の電子回折

TEM から逸脱するが、講習会などを担当させていただいている、同じく回折現象を原理とする X 線回折装置（機器分析部門所属）について、図 7 のような結果が示す意味をあまり理解できていなかったように思うが、個人的に電子回折と併せて考えると、少し腑に落ちた。測定にあたり装置、仕様など条件の適不適はあるが、結晶構造の解析についてあらためて勉強する予定でいる。

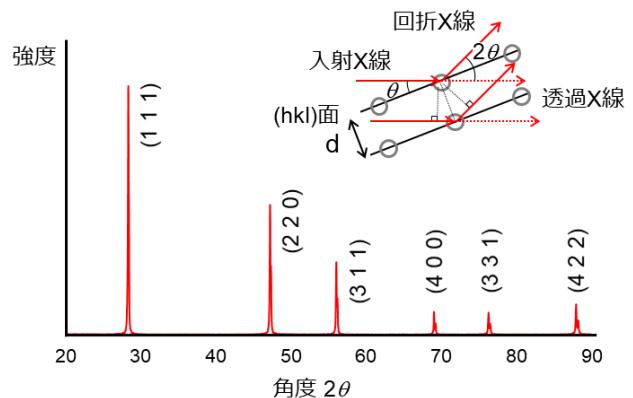


図 7. Si 粉末の X 線回折

4. おわりに

皆さまのご恩恵並びに研修制度により、教育・研究支援の幅を、僅かながらではあるが広げることができたのではないかと考えている。電子顕微鏡に限らないが、特に工学研究科で役立てられる知識もしくは技術と考えられること、現存の設備で出来ること並びに超薄切片作製をはじめ、これまで習得したことについて、微力ながらお役に立てるよう研鑽を積みたい。

謝辞

紙面をお借りして、私に機会を与えてくださいました全ての方々に心よりお礼申し上げます。

参考文献

- 1) 日本電子株式会社「走査電子顕微鏡用テキスト 生物試料作製テキスト」(2003)
- 2) 坂公恭「結晶電子顕微鏡学—材料研究者のための—」内田老鶴圃 (1997)
- 3) 社団法人日本顕微鏡学会「電顕入門ガイドブック改訂版」株式会社国際文献印刷社 (2011)
- 4) 公益財団法人日本顕微鏡学会「電子顕微鏡大学講義テキスト (26 訂版 2021 年度)」