

Cryo-SEM の概要

1. Cryo-SEM の基礎

SEM で含水試料を観察する場合は Cryo-SEM が適している。図 1-1 に汎用型 Cryo-SEM の外観を示す。

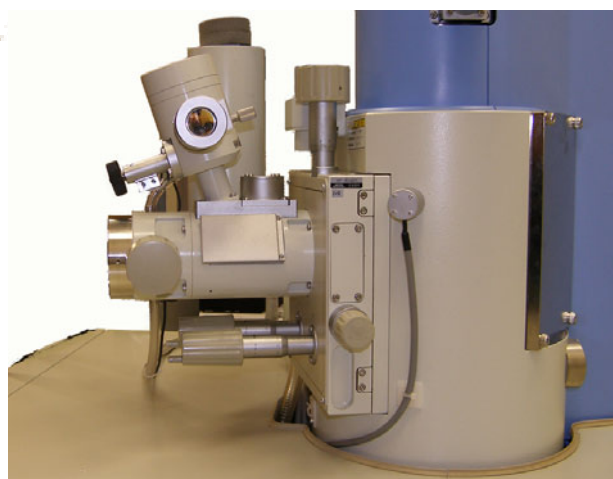


図 1-1 汎用型 Cryo-SEM の外観

さらに図 1-2 を用いてこの汎用型 Cryo-SEM の各部の機能を説明する。

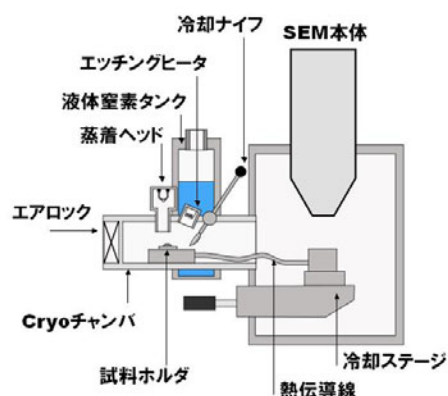


図 1-2 汎用型 Cryo-SEM の各部の説明

Cryo-SEM は凍結された含水試料の切断、コーティングなどを行う Cryo チャンバと SEM 観察用の冷却ステージの 2 つで構成される。本装置は Cryo チャンバと冷却ステージが一体型となっており、一つの液体窒素タンクで Cryo チャンバと

冷却ステージを冷却できるようになっている。また、Cryo-チャンバに抵抗加熱式の真空蒸着装置があり試料に金を蒸着することができる。さらに試料中の氷をエッチングするためのヒーターが装着されている。この Cryo-SEM の基本手順の一例を図 1-3 に示す。含水試料を Cryo-SEM に挿入する前に液体窒素などで事前凍結(物理固定)しておく必要がある。凍結された試料を Cryo チャンバのエアロックを通して試料処理ステージにセットする。試料の内部構造を観察する場合は内蔵の冷却ナイフで切断する。切断面が露出した後、必要に応じてエッチング用ヒーターを用いて氷のエッチング(氷の昇華)を行った後に Au の蒸着を行い SEM 観察する。これら基本手順の中で重要なポイントが 2 つある。一つは試料内に形成された氷の昇華を行うエッチングである。もう一つは事前凍結(物理固定)の技術である。これらについて次に解説する。

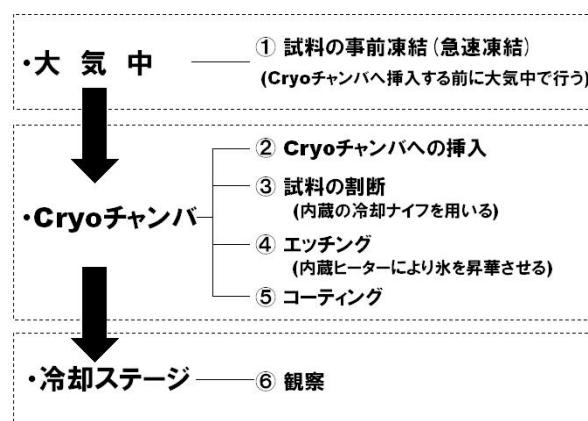


図 1-3 Cryo-SEM の基本手順

2. エッチングについて

凍結された試料を真空中で温度コントロールすることにより氷の部分のみを昇華させることができる。これによって含水試料内の水の分布を知る事ができる。氷が昇華される温度は Cryo-SEM の真空度(SEM チャンバ内圧力)により異なる。

この昇華温度は図 2-1 に示す氷の蒸気圧曲線より知る事ができる。エッチングによる効果の一例とし水中油滴(O/W)エマルジョンの例を示す(図 2-2)。エッチング前後の変化により氷(水)の分布を知る事ができる。

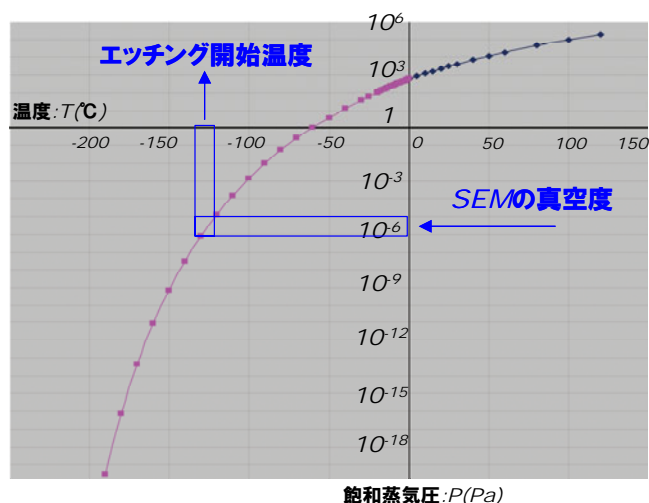


図 2-1 氷の蒸気圧曲線

氷の蒸気圧曲線を示す。SEM チャンバ内の真空度(圧力)よりも高い蒸気圧の時にエッチング(氷の昇華)が始まる。

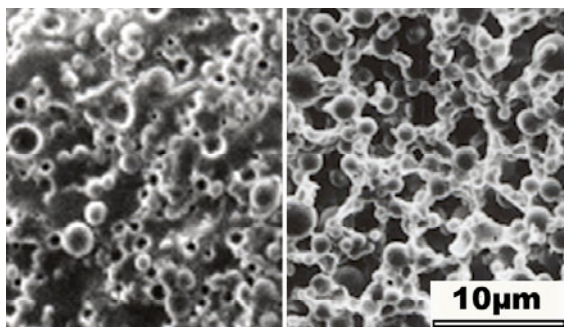


図 2-2 O/W エマルジョンのエッチングによる変化

左はエッチング前、右はエッチング後の SEM 像を示す。W(氷)部分がエッチングされ O(オイル)部分が残された結果、試料は O/W エマルジョンであることがわかる。

3. 事前凍結の注意点

事前凍結は Cryo-チャンバ挿入前に含水試料を液体窒素などで凍結する事であり、化学固定に対

して物理固定とも呼ばれている。しかし、水は 4°C で体積が最小となり凍結することにより体積が膨張し試料の組織を破壊する可能性がある。特に液体窒素で直接試料を凍結すると沸騰により凍結速度が遅くなる。これを回避するために凍結速度を上げる工夫(急速凍結)が必要になる。例えば液体窒素を真空排気した時にできるスラッシュ窒素や液体窒素で冷却した金属板に試料を圧着するメタルコンタクト法がある。液体窒素凍結による例として図 3-1 にアクリル系高分子エマルジョンについて、メタルコンタクト法による凍結例を図 3-2 に示す。メタルコンタクト法により凍結したアクリル系エマルジョンでは粒子形状がよく観察できる。一方、液体窒素凍結では不定形になっていることがわかる。

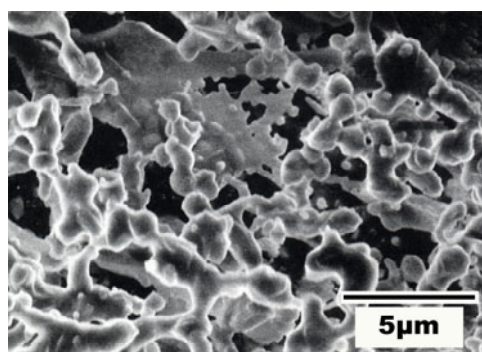


図 3-1 液体窒素で直接凍結

沸騰による緩慢凍結が原因で高分子エマルジョンの粒子が不定形となっている。

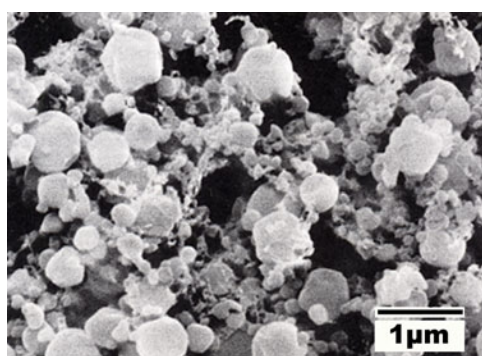


図 3-2 メタルコンタクトによる凍結

液体窒素温度まで冷却された金属板に圧着して急速凍結された例を示す。高分子エマルジョンの個々の粒子を明確に見る事ができる。