

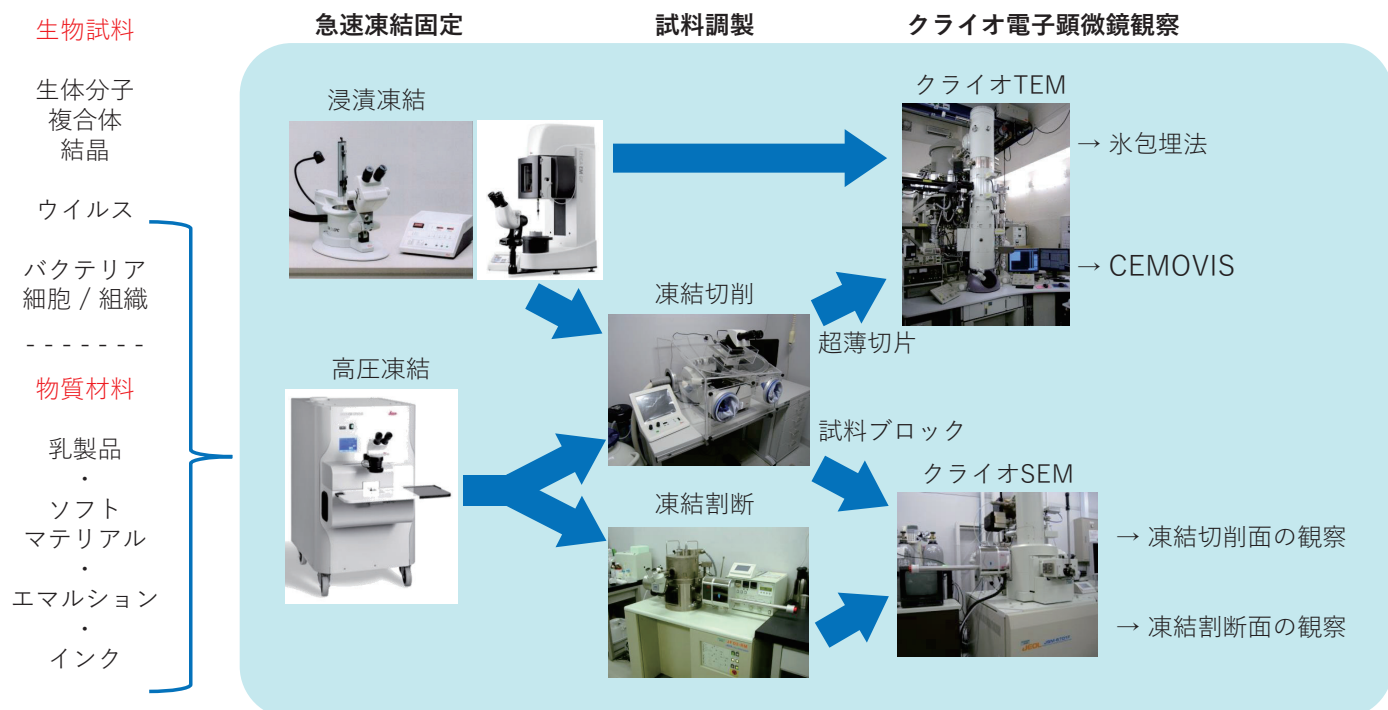
クライオ電子顕微鏡法による液体試料の 微細構造解析

試料の液体状態の構造を観察する

液体試料を乾燥させずに急速凍結(非晶質凍結)して
電子線照射ダメージを抑えて観察することにより
凍結固定された試料の液体状態の構造を解析する

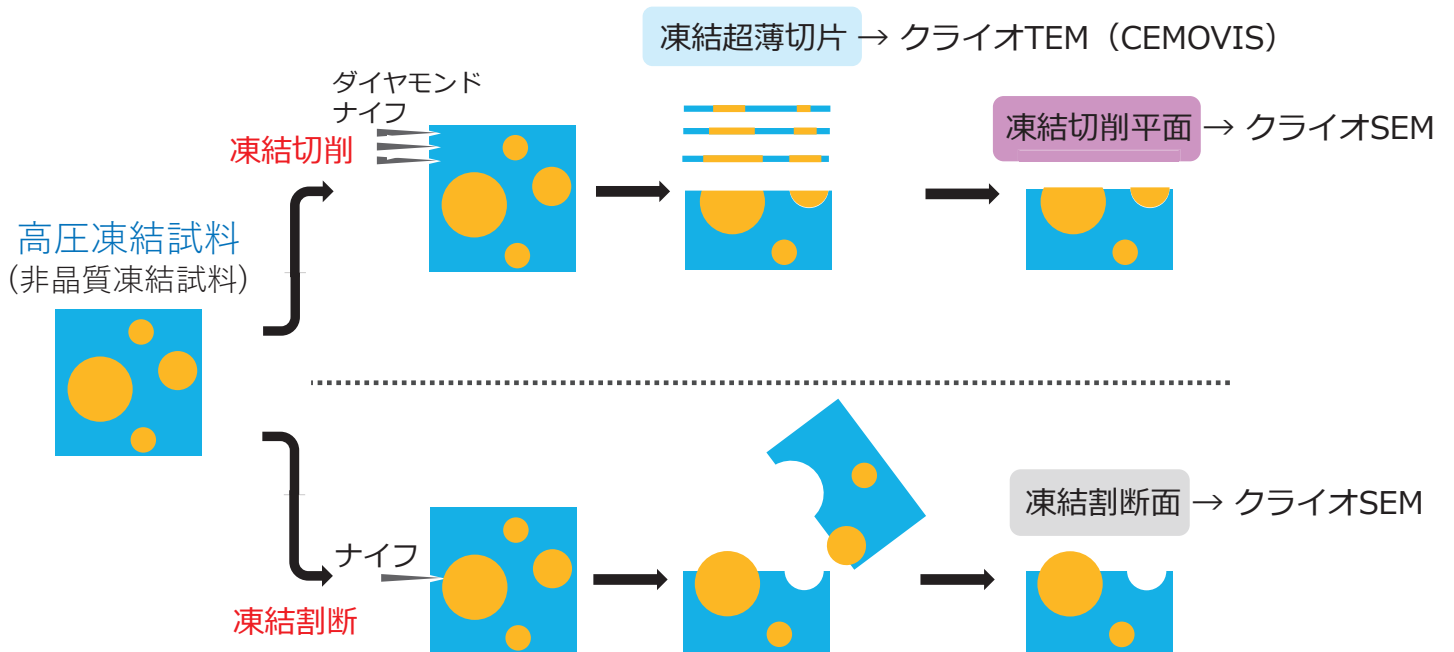
兵庫県立大学 大学院理学研究科
生命科学専攻 細胞構造学分野
宮澤 淳夫

液体試料を急速凍結し、液体状態の構造を観察する



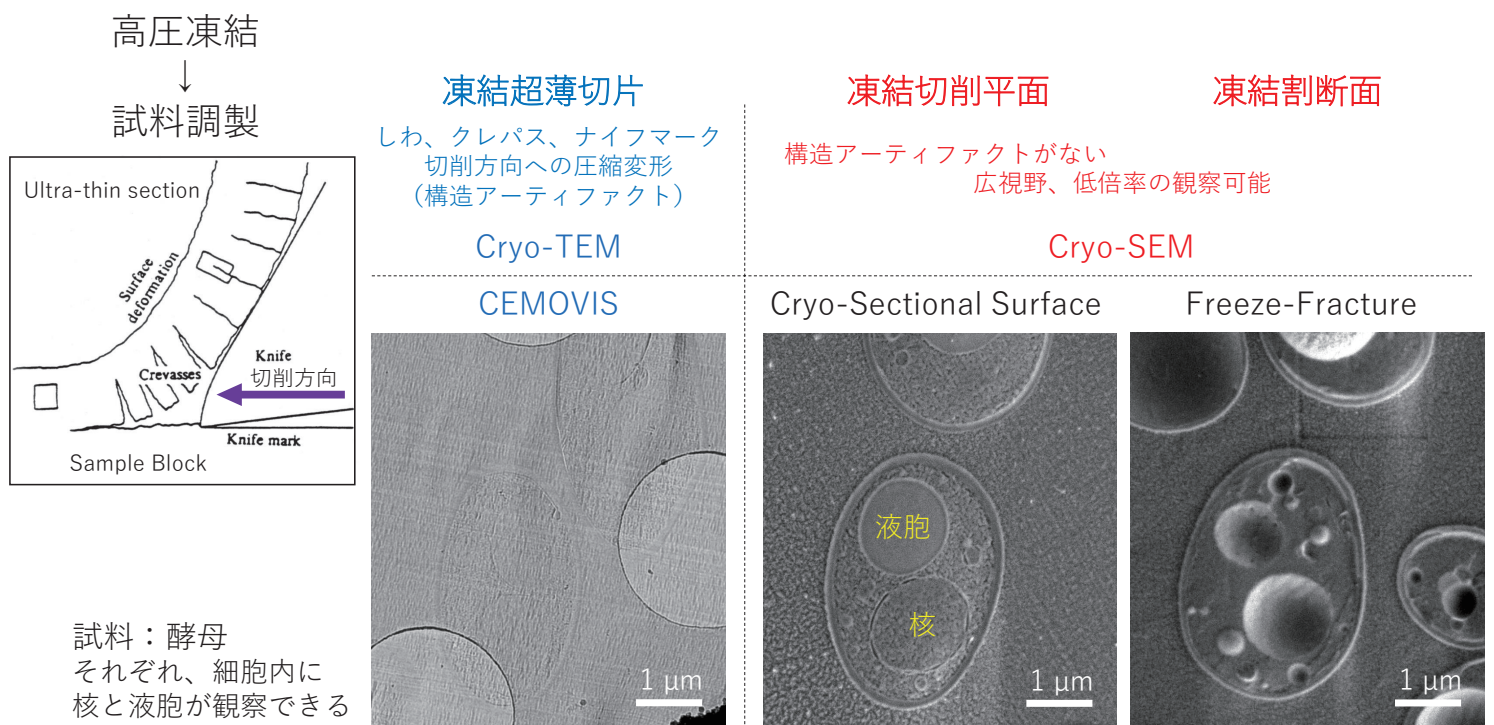
凍結切片/凍結切削面と凍結割断面の調製法

p3



試料や目的に応じた多彩なクライオEM観察手法

p4

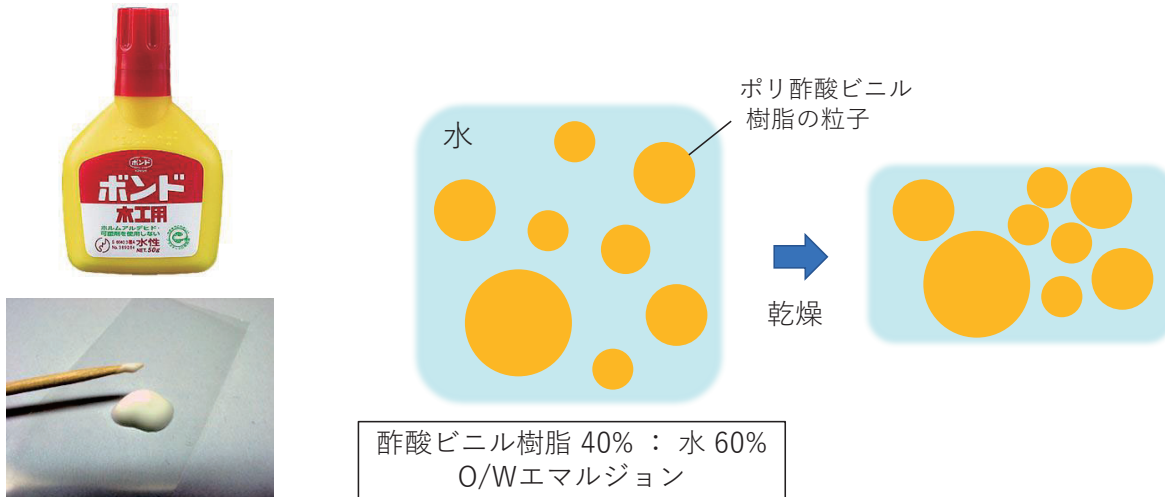


木工用ボンドの乾燥過程の微細構造観察 1

p5

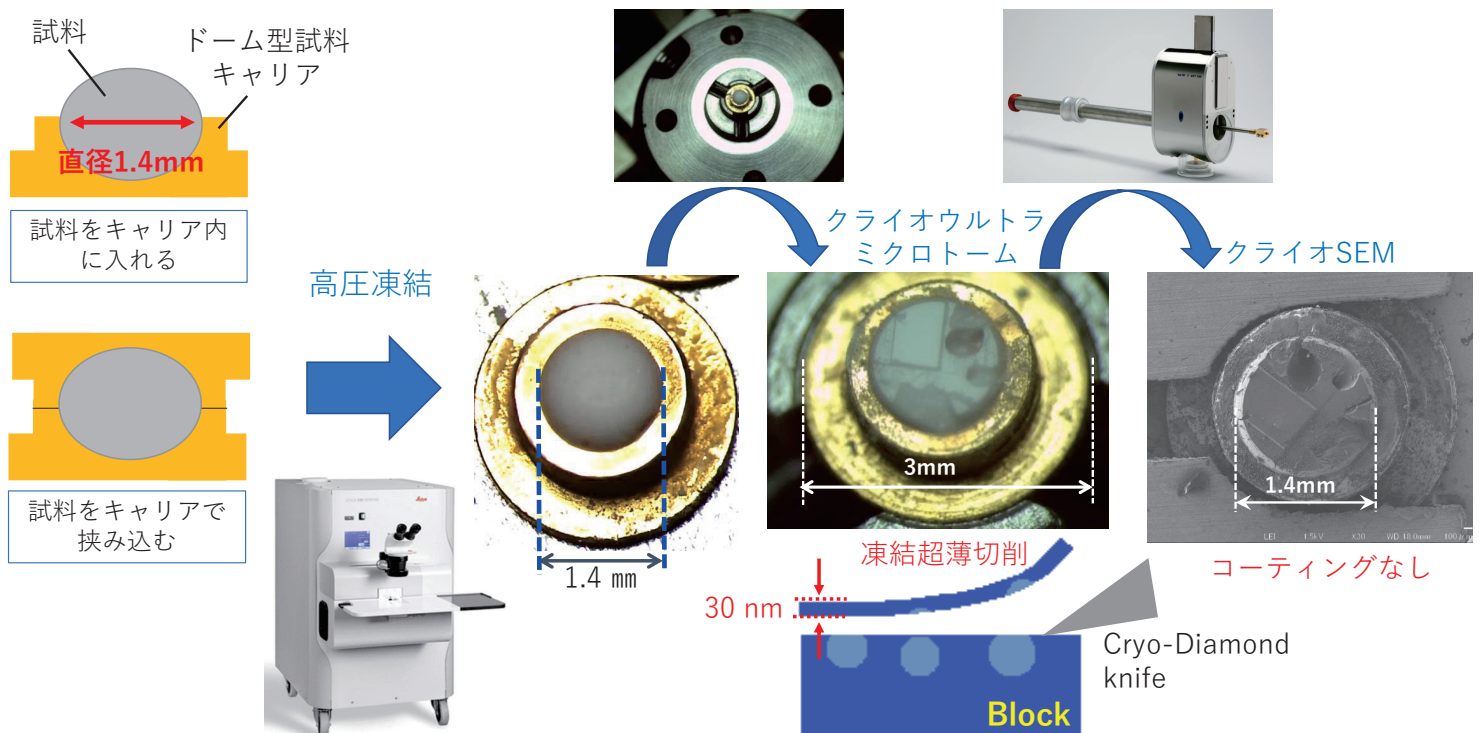
【木工用ボンド】

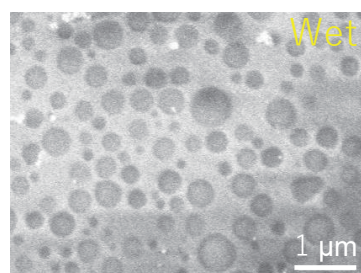
- ・誰もが知っている液体材料の単純なモデル
- ・水溶性の溶媒にポリ酢酸ビニル系樹脂の粒子が分散したO/Wエマルジョン
- ・乾燥に伴って樹脂同士が近付き、接着する様子（経時構造変化）を観察



木工用ボンドの乾燥過程の微細構造観察 2

p6

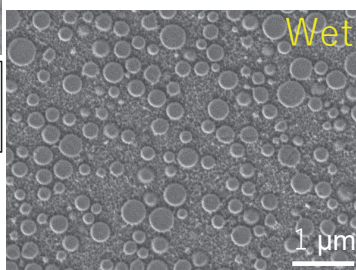




JSM-6701F 加速電圧：1.5kV
照射電流： 3×10^{-11} A
ステージ温度：-150°C

【試料調製】

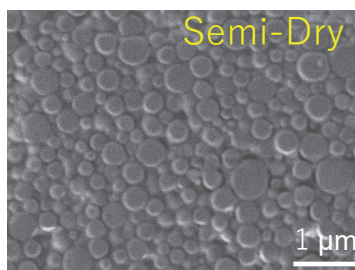
ボンドをキャリアーに
挟み込み **高圧凍結**
凍結試料をトリミングし
凍結切削により面出し



JSM-6701F 加速電圧：1.5kV
照射電流： 3×10^{-11} A
ステージ温度：-95°C

【試料調製】

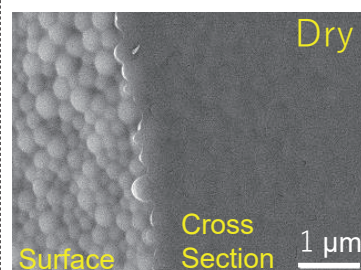
ボンドをグリッド上に
塗布し一定時間経過後に
液体エタンで浸漬凍結
グリッドの縁を凍結切削



JSM-6701F 加速電圧：1.5kV
照射電流： 3×10^{-11} A
ステージ温度：-95°C

【試料調製】

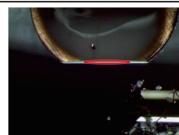
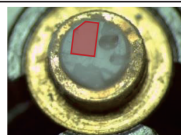
キャリアーに塗布し
十分に乾燥させた
硬化した試料の一部を
常温切削、常温観察



JSM-6701F 加速電圧：1.5kV
照射電流： 3×10^{-11} A
ステージ温度：室温

ステージを昇温
(エッチング)

赤色領域
観察場所



Technical Report

Development of a cryo-SEM system enabling direct observation of the cross sections of an emulsion adhesive in a moist state during the drying process

Yoshiko Ito^{1,2,3}, Robert Ranner⁴, Saskia Mimietz-Oeckler⁴, Yuri Nishino^{2,3}, and Atsuo Miyazawa^{2,3,*}

¹Leica Microsystems K.K., 1-29-9 Takadanobaba, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0075, Japan, ²Graduate School of Life Science, University of Hyogo, 3-2-1 Kouto, Kamigori-cho, Ako-gun, Hyogo 678-1297, Japan, ³RSC-University of Hyogo Leading Program Center, RIKEN SPring-8 Center, 1-1-1 Kouto, Sayo-cho, Sayo-gun, Hyogo 679-5148, Japan, and ⁴Leica Mikrosysteme GmbH, Hernalser Hauptstrasse 219, Vienna 1170, Austria

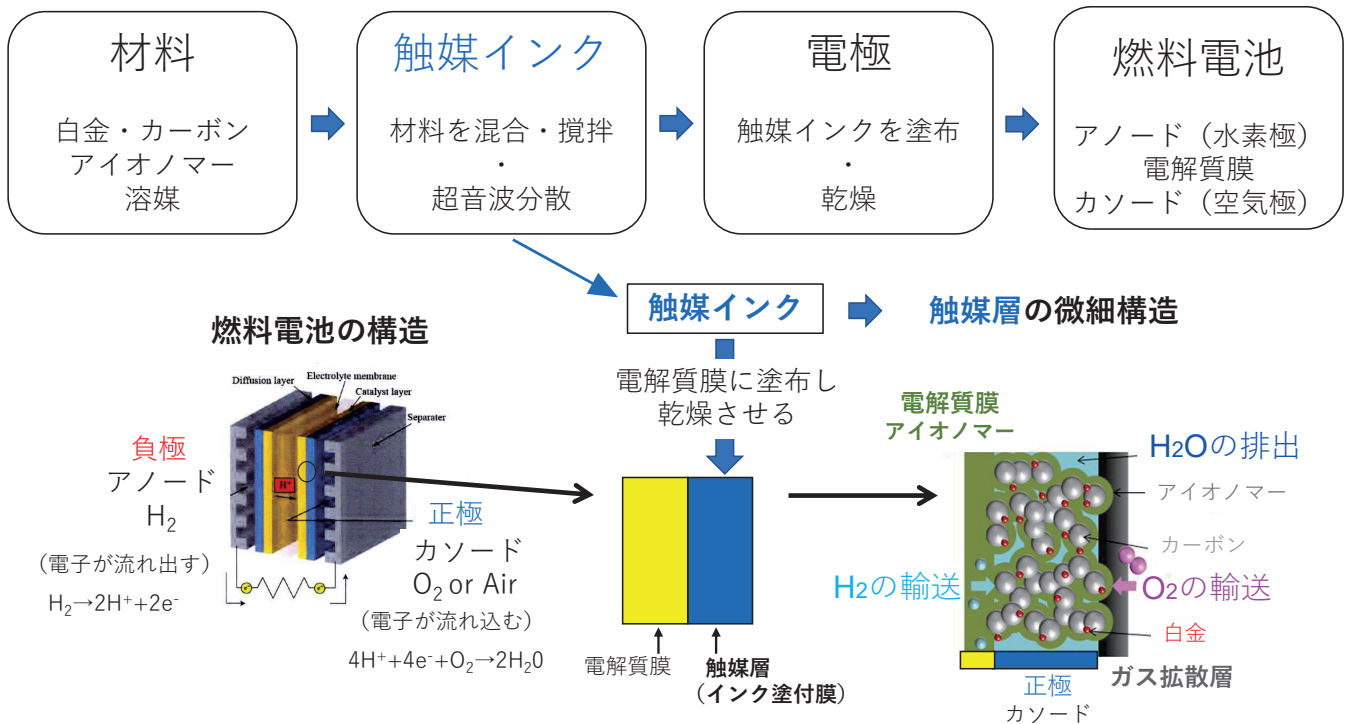
*To whom correspondence should be addressed. E-mail: atsuo@sci.u-hyogo.ac.jp

Received 19 July 2015; Accepted 11 September 2015

Microscopy, 2015, Vol.64, No.6

燃料電池触媒インク成分の分散状態の解析 1

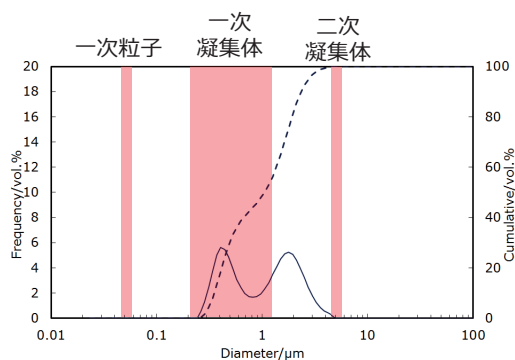
p9



燃料電池触媒インク成分の分散状態の解析 2

p10

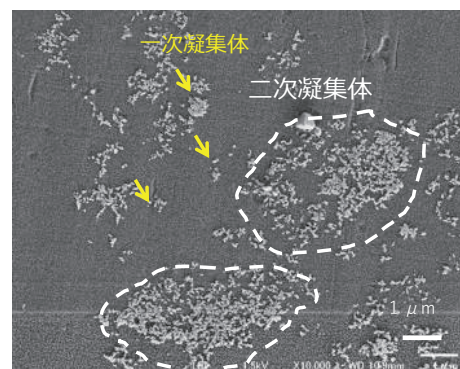
粒度分布



※計測条件

方法：レーザー回折散乱法
計測試料：希釈触媒インク
濃度：約1wt%

Cryo-SEM観察像



※インク仕様

固形分：Pt担持カーボン、アイオノマー、
溶媒：水/1-プロパノール(重量比:6/4)
濃度：7wt%

光学的な粒度分布計測では把握できないインクの不均一構造や弱い凝集（二次凝集体）の存在が確認できた。



NPA重量比率が高くなるとPt/C凝集体は偏在する（不均一に分散する）傾向
一次凝集体（黄矢印）と二次凝集体（赤矢印）の存在比率が変化



燃料電池触媒インクの溶媒組成により
インク中の白金担持カーボンの分散状態に違いがある



Microscopy, 2017, 204–208

doi: 10.1093/micro/dfx001

Advance Access Publication Date: 9 February 2017



Technical Report

Microstructural observation of fuel cell catalyst inks by Cryo-SEM and Cryo-TEM

Junichi Shimanuki^{1,†}, Shinichi Takahashi², Hajime Tohma¹,
Atsushi Ohma², Ayumi Ishihara^{3,4,5}, Yoshiko Ito^{3,4,5,†}, Yuri Nishino^{4,5},
and Atsuo Miyazawa^{4,5,*}

¹Functional Analysis Department, Nissan ARC Ltd., 1 Natsushima-cho, Yokosuka, Kanagawa 237-0061, Japan, ²Research Division, Nissan Motor Co., Ltd., 1 Natsushima-cho, Yokosuka, Kanagawa 237-8523, Japan, ³Industry Division, Leica Microsystems, 1-29-9 Takadanobaba, Shinjuku, Tokyo 169-0075, Japan, ⁴Graduate School of Life Science, University of Hyogo, 3-2-1 Kouto, Kamigori-cho, Ako-gun, Hyogo 678-1297, Japan, and ⁵RSC–University of Hyogo Leading Program Center, RIKEN SPring-8 Center, 1-1-1 Kouto, Sayo-cho, Sayo-gun, Hyogo 679-5148, Japan

*To whom correspondence should be addressed. E-mail: atsuo@sci.u-hyogo.ac.jp

[†]Junichi Shimanuki and Yoshiko Ito contributed equally to this work.

Received 12 July 2016; Editorial Decision 12 January 2017; Accepted 16 January 2017

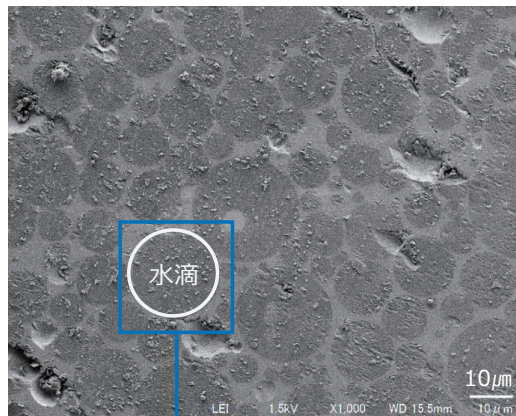
Microscopy, 2017, Vol.66, No.3

クライオSEMの観察例 1 : W/Oエマルション

p13



Water in Oil
(W/O)
エマルション

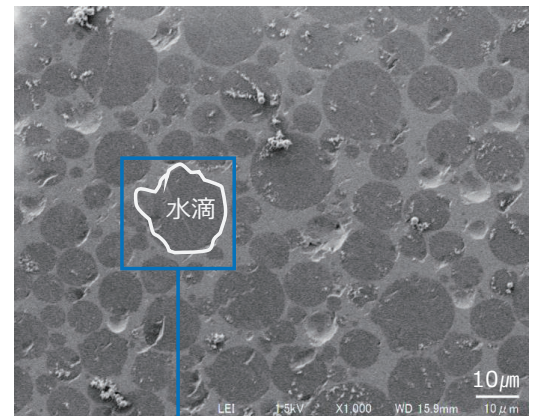
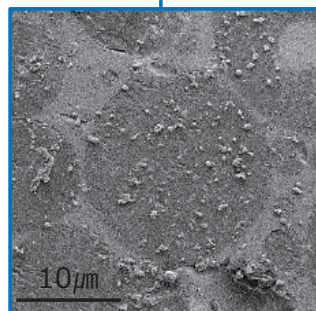


水滴

高圧凍結

水滴に
割れ目・変形
なし

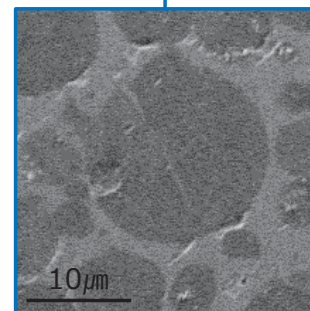
ほぼ正円形



水滴

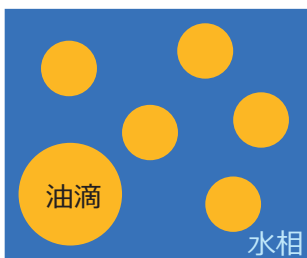
浸漬凍結

水滴に
割れ目・変形
がある

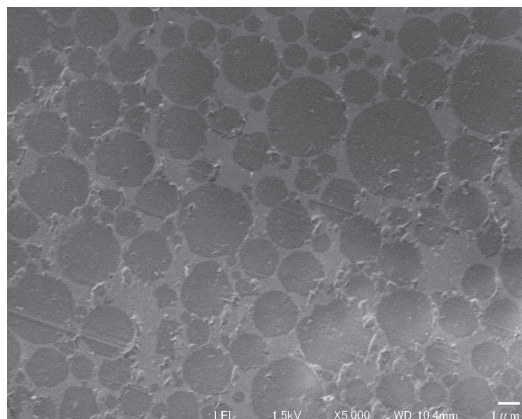


クライオSEMの観察例 2 : O/Wエマルション

p14



Oil in Water
(O/W)
エマルション

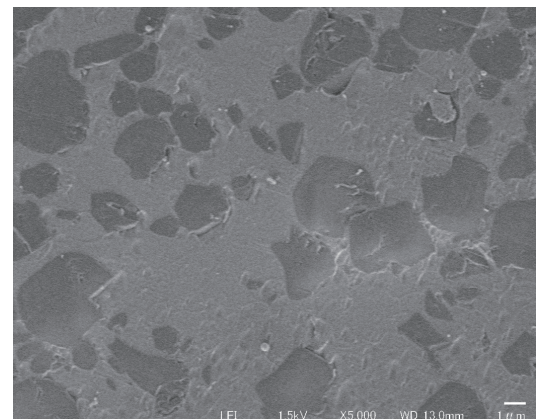
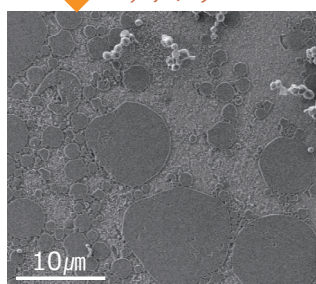


エッチング

高圧凍結

油滴は円形
割れ目・変形
なし

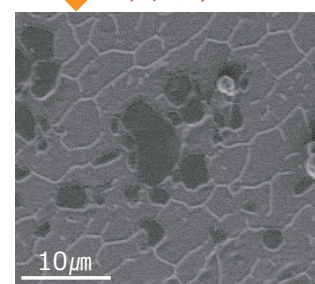
一様に分散



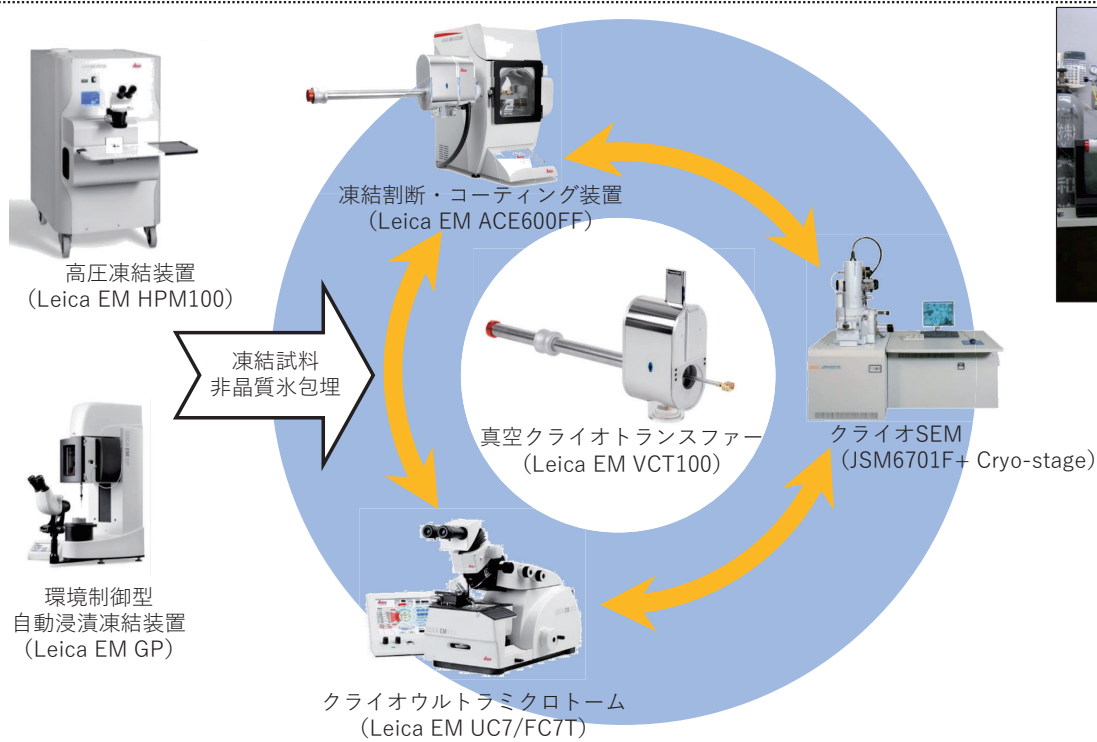
エッチング

浸漬凍結

連続相に氷晶
↓
油滴が変形
寄り集まる



クライオSEMシステムのワークフロー



液体試料のクライオSEM観察（まとめ）

クライオSEM

1. 高圧凍結固定
2. 試料前処理
 - ・面出し
 - ・コーティング
3. クライオSEM観察(1)
4. 試料観察面の再調製
5. クライオSEM観察(2)
6. . . .



1. 高圧凍結法で凍結固定することにより試料の液体状態の構造を解析できる
2. 試料調製時の構造アーティファクトが少ない
3. 凍結切削により試料の広い観察平面を調製できる
4. 多様な試料の前処理が選択できる
 - ・凍結切削 / 凍結切断
 - ・コーティングの有無
 - ・コーティング材