

環境科学分野におけるSEM-EDX(走査型電子顕微鏡 —エネルギー分散型X線分析装置)の利用

原田 英美子
生物資源管理学科

1. はじめに

SEM (Scanning Electron Microscope、走査型電子顕微鏡) は、電子ビームを試料に照射し、試料から放出される二次電子などを検出する事で、試料表面の微細な観察を行う装置である。本学環境科学部には2014年に走査型電子顕微鏡 Miniscope TM3030 (日立ハイテクノロジーズ) が学科共通機器として導入され、教育・研究活動に利用されている。2018年度にはEDX (Energy dispersive X-ray spectrometry、エネルギー分散型X線分析) 装置AZtecOne (Oxford Instruments) が増設され、試料表面の元素分析と分布の可視化が可能になった。顕微鏡観察画像と元素分布を合わせて評価することで、環境科学分野での様々な分野へ応用できる可能性が広がる。本稿では、本学環境科学部に導入されているSEM-EDX装置について概説するとともに、本法の環境科学研究への利用例を紹介する。

2. SEMの原理

試料に電子線を照射すると、様々な信号が発生する(図1)。照射した電子線により試料中の別の電子が放出されたものが二次電子、照射した電子が試料表面で反射されたものが反射電子と呼ばれている。SEM観察ではこれらの電子線のいずれかを利用して画像を確認する。TM3030では反射電

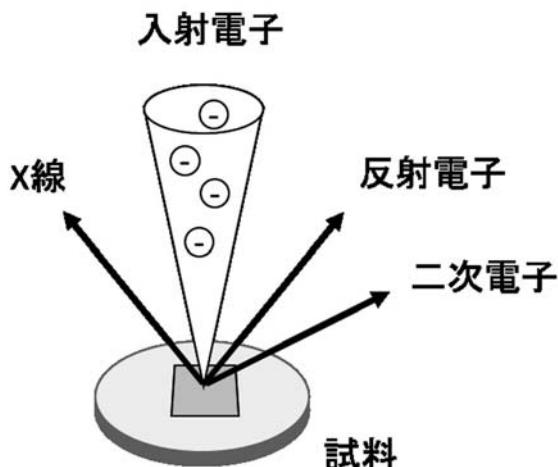


図1 試料に電子線を照射した際に放出される主な電子および電磁波

子を検出している。

3. 生物試料のSEMによる直接観察

SEMで生物試料などの絶縁物を観察する場合、電子が試料表面に蓄積され帶電が発生するため、正常な観察ができなくなることがある。そのため、生物試料は通常SEM測定の際には、固定、金属蒸着等の前処理を施してから観察する必要がある。本装置では、低真空・低温条件で観察を行うことにより、絶縁物試料も前処理せずに、そのまま観察することが可能となっている(図2)。必要に応じてクライオステージ(Deben Coolstage)を利用して、試料台をマイナス10°Cに保ったまま測定することもできる。

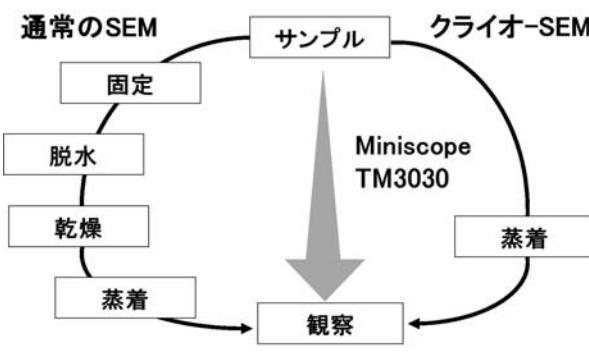


図2 SEM観察の手順

4. SEM装置に増設するEDX装置の機能と利用

EDX(エネルギー分散型X線分析)法では、試料に電子線を照射し、発生する特性X線をエネルギーで分光し、検出する(図3)。特性X線のエネルギーは元素により異なるため、この波長から試料に含まれる元素の同定を行うことができる。EDX法以外の手法として、WDX(波長分散型X線分析、Wavelength dispersive X-ray analysis)法がある。本装置で利用されているEDX法には、多元素の一斉分析が可能であるという利点があるが、その反面、波長分解能が低く、ピークの位置が近い元素の判別が難しい場合がある。このため、得

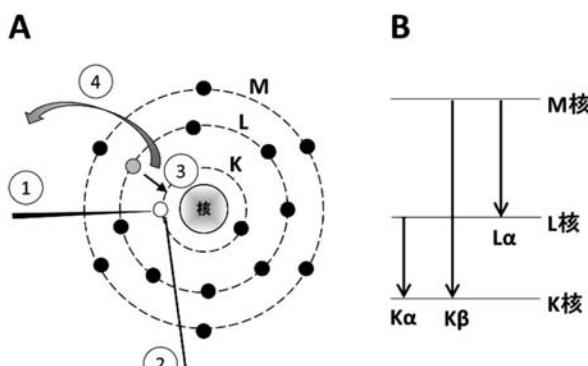


図3 特性X線の発生原理と種類

A：特性X線は以下のような機構で発生する。①試料に電子線を照射することにより、内側核の電子が励起される②内核側の電子が放出される③外側の殻の電子が内側へ遷移する④この時のエネルギーの差として、元素特有の特性X線が放出される。B：L核からK核への遷移で得られるX線をK α 線、M核からK核の遷移で得られるX線をK β 線と呼ぶ。同様に、M核からL核への遷移はL α 線と呼ぶ。

られた結果によっては、ICP-MS（誘導結合プラズマ質量分析装置、Inductivity coupled plasma - Mass spectrometry）、ICP-OES（誘導結合プラズマ発光分光分析、Inductivity coupled plasma - Optical emission spectrometer）、AAS（原子吸光分析、Atomic Absorption Spectrometry）法等、他の金属元素の分析法を併用して確認することが望ましい。本装置では、周期表上でB～Uまでの分析が可能である（図4）。試料室はほぼ真空に近い条件となるので、気体は基本的には分析できないが、Arなどについては試料内部に存在した場合は検出される可能性がある。

図4 TM3030-AZtecOneで測定可能な元素

5. SEM-EDX装置の使用例

これまでにもSEM-EDX装置は種々の研究分野の試料の分析に適用可能なことが示されている。図5から図11までのSEM観察像は2015年のオープンキャンパスの際にデモ画像として来場者に公開している。また、参考文献として挙げた筆者の過去の論文についても参照されたい。

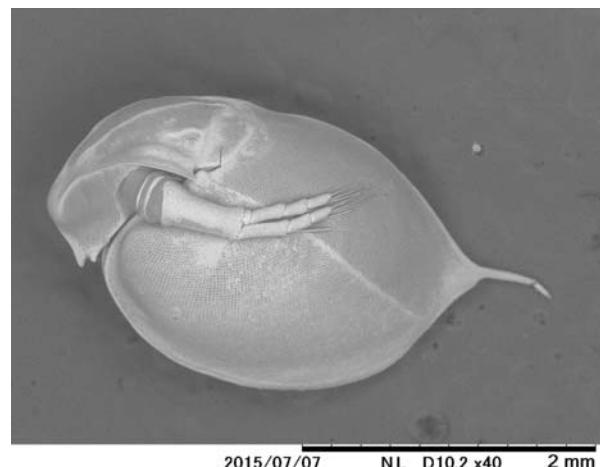


図5 ミジンコの一種 (*Daphnia magna*)
試料提供 高橋祥尚（環境科学研究科 環境動態学専攻）

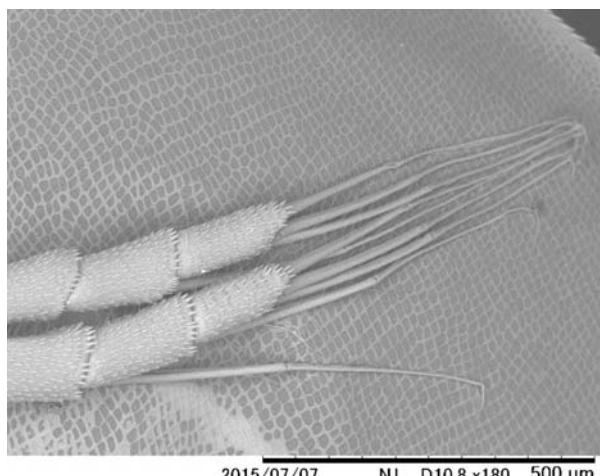


図6 ミジンコの一種 (*Daphnia magna*) の第二触覚
試料提供 高橋祥尚（環境科学研究科 環境動態学専攻）

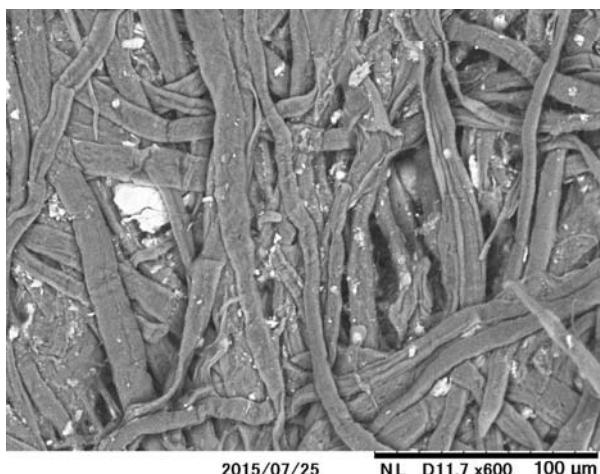


図7 間伐材配合紙
試料提供 高橋卓也（環境政策・計画学科）

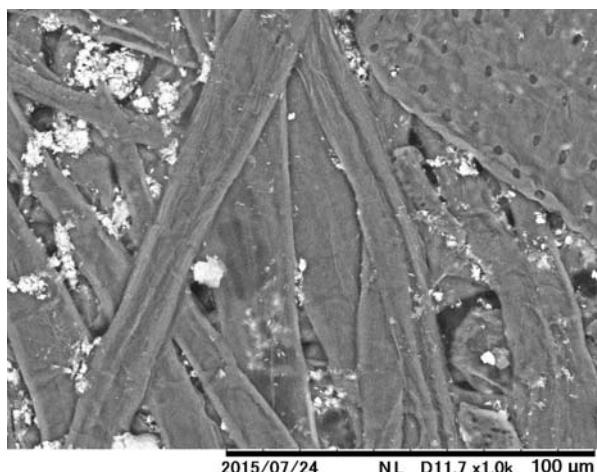


図8 ヨシ紙
試料提供 高橋卓也（環境政策・計画学科）

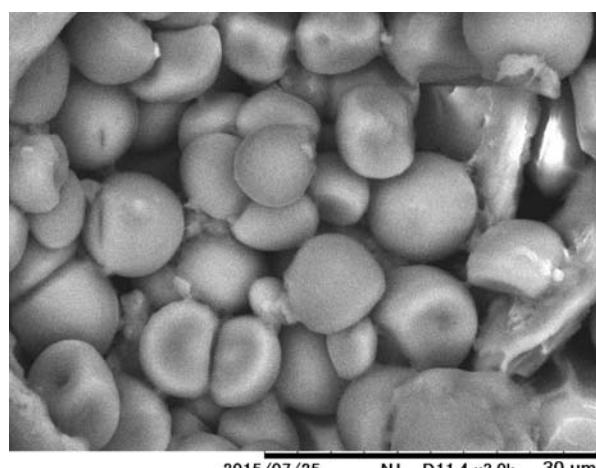


図10 マダケ組織内のデンプン粒
試料提供 永井拓生（環境建築デザイン学科）

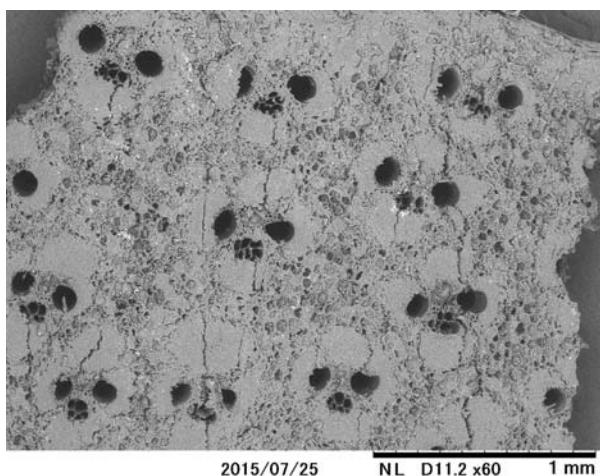


図9 マダケ断面
試料提供 永井拓生（環境建築デザイン学科）

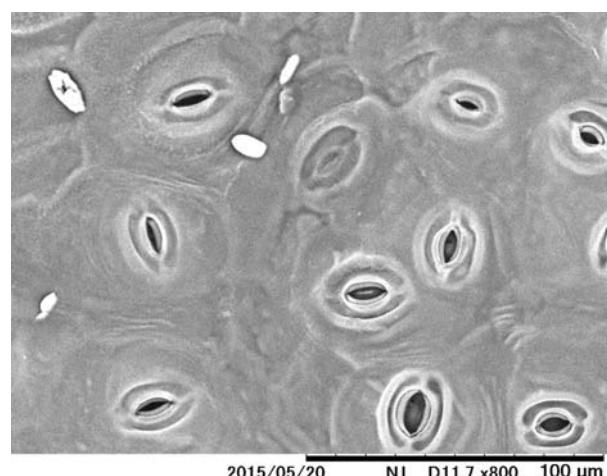


図11 アジサイ葉
試料提供 上町達也（生物資源管理学科）

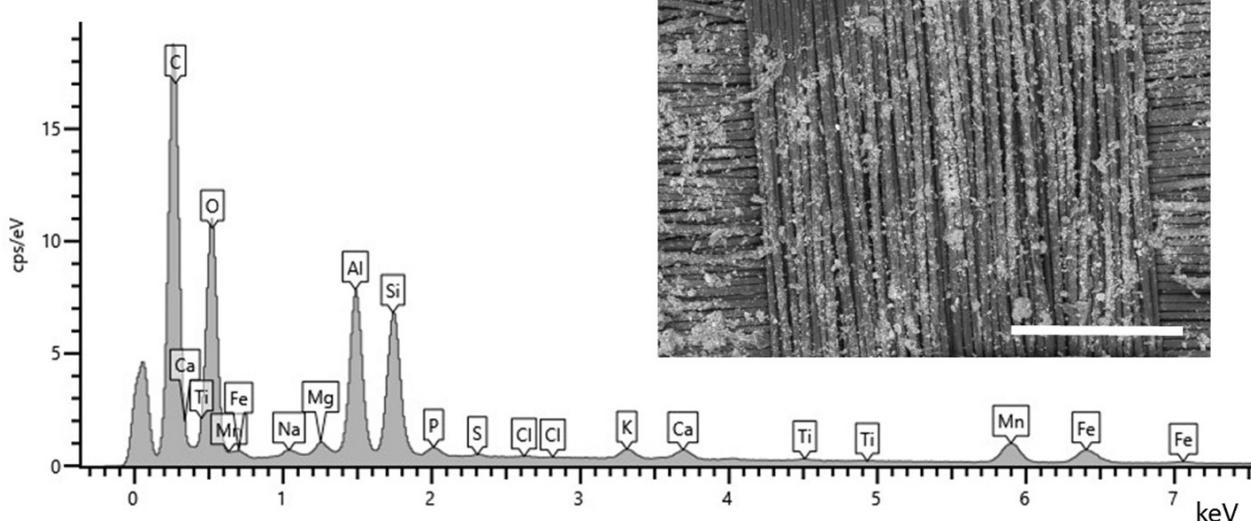


図12 野外で処理した合成繊維表面の付着物の観察および含有金属元素の検出
試料のSEM画像およびEDXスペクトル、スケールバーは250 μmを示す
試料提供 鋒山大輝（生物資源管理学科）

6. 共通機器の管理運営についての提言

本稿の筆をおく前に、共通機器の管理運営体制についての私見を述べさせていただきたい。高額の測定装置を導入しても、管理やメンテナンスの体制が整わず、不具合が解消しないまま使用されなって陳腐化していく例は後をたたない。共通機器を管理する部署を学内に設け、しかるべき人材を配置し、予算措置を行うことを提案したい。また、私は、滋賀県内の公的機関が所蔵している、ある測定機器の使用許可を申請したが却下され、県外の遠隔地の研究機関に通わなければならなくなつた経験がある。外部申請者からの機器の利用も可能にすることで、装置の有効利用を図れるとともに、近隣の研究機関とのネットワークの構築も実現すると考える。

7. 謝辞

本稿を執筆するにあたって、貴重なご助言とご指導をいただいた、二宮賢一氏、久保山拓之氏、千引貴之氏（株式会社 日立ハイテクノロジーズ）に深謝いたします。

8. 参考文献

- Harada, E., Choi, Y.-E. (2008) Investigation of metal exudates from tobacco glandular trichomes under heavy metal stresses using a variable pressure scanning electron microscopy system. *Plant Biotechnology*, 25: 407-411.
- Sarret, G., Harada, E., Choi, Y.-E., Isaure, M.-P., Geoffroy, N., Fakra, S., Marcus, M.A., Birschwilks, M., Clemens, S., Manceau, A. (2006) Trichomes of tobacco excrete zinc as zinc-substituted calcium carbonate and other zinc-containing compounds. *Plant Physiology*, 141: 1021-1034.
- Choi, Y.-E., Harada, E., Wada, M., Tsuboi, H., Morita, Y., Kusano, T., Sano, H. (2001) Detoxification of cadmium in tobacco plants: Formation and active excretion of crystals containing cadmium and calcium through trichomes. *Planta*, 213: 45-50.