

令和 2 年 6 月 9 日現在

機関番号：12605

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H02784

研究課題名(和文)2次元検出器を用いた高効率STEM位相回復イメージング

研究課題名(英文)High efficiency STEM phase imaging using two dimensional detector

研究代表者

箕田 弘喜 (Minoda, Hiroki)

東京農工大学・工学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：20240757

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,800,000円

研究成果の概要(和文)：従来の像検出方法による像と、2次元検出器を利用した新たな像検出法によって得た2つの像の比較から、2次元検出器を利用した結像は、従来の位相差STEM像に比べてコントラストは1桁以上増強している。この結果から、2次元検出器を利用して、適切な演算処理を行うことで、位相情報をより明確に計測できることが示された。収差関数に含まれる球面収差やデフォーカスの影響については、あらかじめ2次元検出器のピクセル位置における計算によって求めることができるので、それを取り去るフィルター関数を組み込んで、像計算を行うことで除去可能である。今後、この結像法をさらに発展させ、試料の定量的位相計測実現の検証を進める。

研究成果の学術的意義や社会的意義

電子顕微鏡はナノ構造物質の構造解析に非常に有力な分析手法であり、様々な材料の構造情報の抽出のために用いられてきた。しかしながら、軽元素で構成されたナノメートルスケールの材料の結像においては、多くの問題があった。これは軽元素は電子との相互作用が低いことで、像コントラストが得られにくいことに由来している。

本研究課題により、ナノメートルスケールの軽元素材料に対し、従来より一ケタ程度のコントラスト向上を実現した。これにより、従来の計測方法では評価が難しかった材料の構造評価が可能になり、有機材料からなる機能性材料や生物分子の構造計測に大きな発展をもたらすと期待できる。

研究成果の概要(英文)：We developed phase plate scanning transmission electron microscopy using two dimensional (2D) electron detector. One of the advantages to use 2D detector is to process the 4D data after acquisition. In this method we can process the data according to the scattering conditions. By detecting the electron intensities landed inside and outside the hole of the phase plate separately and processing these to cancel the background intensity, we could improve image contrast. The images of multi wall carbon nanotubes (MWCNT) obtained using two dimensional detector clearly shows this difference. We can also remove the effects of the aberration using this imaging method. This method would be use to image the biological materials and the domain structure of the functional hybrid structure composed of two different polymer materials.

研究分野：ナノサイエンス

キーワード：位相差法 走査型透過電子顕微鏡法 弱位相物体

1. 研究開始当初の背景

我々は、軽元素でできた生物試料の位相コントラストを増強する顕微鏡法として、位相差走査型透過電子顕微鏡(P-STEM)法の光学系の検討を行い、その検証に成功した[1,2]。この方法では、薄膜に小さな穴を開けた位相板によって試料に照射する電子に対してあらかじめ位相制御する。これにより、試料と相互作用した後の電子の干渉で、1nm程度以上のサイズスケールの試料に対する電子顕微鏡像のコントラストが向上し、従来の明視野STEM結像法に比べて2.5倍程度にコントラスト増強することを確認した。しかし、小さな検出角度内の電子のみを使って結像するため、シグナル強度が低くなるという問題点がある。この問題点を解決し、試料のポテンシャル分布の定量評価を実現するのが本研究課題のテーマである。

我々が開発した位相差STEM法では、位相板により位相変調されていない(位相板の穴を通り抜けた)電子が試料をそのまま通り抜けた非散乱波と、位相板により位相変調した後に試料に散乱された散乱波との干渉を利用する。なるべくサイズの大きい、すなわち空間周波数成分の低い構造に対しても位相板効果を有効にするために、位相板の穴はなるべく小さいことが望ましく、したがって前者の電子数が少なくなるので、この条件での結像に必要な電子の数は、通常の見視野STEM光学条件より1桁以上少なく、像が暗くなる。現状では、おおよそ $10^6 \text{ e}^-/\text{nm}^2$ 程度のドーズ量で試料を観察しているが、タンパク質の構造解析のためには、2桁以上のドーズ量低減が必要である。したがって、電子線に敏感な試料の可視化には、より一層の位相コントラスト増強と高効率な電子検出を実現する必要があることが明らかになってきた。

2. 研究の目的

上記のような研究背景の元、近年、高分解能STEM像を得るために、STEM検出器の高効率化や、分割式の検出器を用いて複数の信号を演算することで、より高質の像を得るための試みが進められている。また、生物試料の分野においては、直接検出タイプの高感度の電子検出器を利用するなど、電子検出の高効率化は電子顕微鏡分野にとって非常に重要である。そこで、本研究では2次元の電子検出器により各電子照射位置における2次元データを取得して、より多くの電子を使用した結像法を構築する。この検出方法では試料の照射位置(x, y)の2次元と、検出角度(k_x, k_y)の2次元データ、すなわち4次元データを取得し、それを回折角度や回折条件を考慮した演算処理することで、試料の位相分布を再構成する手法を開発し、試料の複素ポテンシャル分布の定量的な計測に応用することを目的とする。

3. 研究の方法

はじめに、本研究で対称としている位相差STEM放逐結像原理について簡単に記述する。STEMでは、集束電子を試料に照射して試料表面上を2次元走査する。各照射位置で、試料によって回折された電子波の内、ある角度範囲の電子強度を検出し、その強度を入射電子位置に当てはめることで2次元像を形成する。この場合、用いる検出器では電子の積分強度のみを出力し、検出器のどの位置に電子が来たかを区別した計測はしていない。したがって、散乱の方位角や極角に対する強度分布の情報は像構築に利用されていない。そこで、2次元検出器を使って結像する際に、検出角度すなわち2次元検出器上の位置(k_x, k_y)によって切り分けて、 $k_x^2 + k_y^2$ の大きさによって、膜穴の直径に対応する角度より大きな領域と小さな領域をそれぞれ別々の信号として分けて結像すれば、位相差STEM像と明視野STEM像が同時に得られることになる。位相板による位相変調量が $\pi/2$ となる条件で結像すれば、位相差STEMの光学条件では、対物レンズと位相板のフィルター効果はcosタイプの関数で表すことが出来、得られる像は試料の位相分布の低周波成分の重みが大きな像である。明視野STEM条件では、フィルター効果がsin型で表され、得られる像は試料の位相分布の高周波成分の重みが大きな像である。そこで、それぞれから空間周波数に依存した位相情報を抽出して位相回復を行う。これが検討すべき演算方法の1つであり、新たにアルゴリズムを開発する必要がある。

4. 研究成果

CCD カメラを使用して各電子線入射位置での出射電子強度の 2 次元検出を行うためには、電子顕微鏡のプロープ走査と CCD による像取得の同期をとる必要がある。それを実現するために、CCD カメラシステムに同期して走査電子線ビームの制御を行える装置を導入した。ビーム走査のための 2 段偏向コイルのコイルバランスを調整し、プロープ走査と 2 次元検出を同期させた動作を確認した。位相板を設置した状態で試料に対してプロープ走査を行えば、位相板の影が検出面に投影される。現状では、穴径 1 μm に対して観察面位において 0.5mm 程度のサイズの穴が観察できるので、CCD カメラで位置のズレが無いように調整する。2 次元検出器における強度分布を利用して試料ポテンシャルの正確な位相分布と振幅分布を演算により求める。使用する CCD カメラは 2k \times 2k であるが、まずは、ビニングにより 128 \times 128 ピクセル程度の入射プロープ位置でのテスト計測を行う。全検出範囲が、位相板の穴径の 125%程度、200%程度になるようにカメラ長で設定し、テスト実験を行った。まずは、穴径の内のみの信号を取り出して像を作り、検出器絞りを利用して結像した場合と比較を進めた。位相板の穴の内側と外側を別々に計測して像再生すると、球面収差の影響で内側からは低空間周波数の位相情報、外側からは高空間周波数の位相情報が得られる。ただし、穴径の外側で検出された信号は、検出器の中心部分からの信号は無いので、TEM 法でホローコーン照明の条件で得られる明視野 TEM 像と同等の情報を有している。この点を考慮した演算処理を中心に計測方法の検討を進めた。

演算処理の方法を検討するための理論的な検討を行った。入射電子のプロープ関数を $\psi_0(\mathbf{r})$ と置き、試料ポテンシャルによって決まる試料透過関数を $t(\mathbf{r})$ と置く。ここで、 \mathbf{r} は実空間の座標である。上記 2 つの関数を使って、試料と相互作用した後の電子波は、

$$\psi(\mathbf{r}) = \psi_0(\mathbf{r})t(\mathbf{r}) \quad (1)$$

で与えられる。試料に対する弱位相物体近似が成り立つとすると、透過関数は以下のように表せる。

$$t(\mathbf{r}) = 1 + i\phi(\mathbf{r}) \quad (2)$$

(1)式に(2)式を代入して、2次元のフーリエ変換を計算すると、

$$\begin{aligned} \mathcal{F}[\psi(\mathbf{r})] &= \mathcal{F}[\psi_0(\mathbf{r})\{1 + i\phi(\mathbf{r})\}] \\ \Psi(\mathbf{k}) &= \Psi_0(\mathbf{k}) \otimes [\delta(\mathbf{k}) + i\Phi(\mathbf{k})] \end{aligned} \quad (3)$$

ここで、低空間周波数の位相情報を増強するために、入射電子に対して Zernike タイプの位相板(ZPP)を用いて、位相変調を与える。ZPP は中心に穴の開いたアモルファスの薄膜であり、これによって、電子プロープ $A(\mathbf{k})$ は、2つのゾーンに分けられる。2つのゾーンを $A_1(\mathbf{k})$ と $A_2(\mathbf{k})$ と表わして、

$$A(\mathbf{k}) = P_1(\mathbf{k}) + P_2(\mathbf{k})$$

$$A(\mathbf{k}) = \begin{cases} 1 & k \leq k_{max} \\ 0 & k > k_{max} \end{cases} \quad (4)$$

とあらわすことができる。位相板の膜厚を 200kV の電子波に対して $\pi/2$ の位相変調を与えるように準備しておく、試料への入射波の波動関数は、以下のように表せる。

$$\begin{aligned} \Psi_0(\mathbf{k}) &= A_1(\mathbf{k})\exp\{i\chi(k)\} + iA_2(\mathbf{k})\exp\{i\chi(k)\} \\ A_1(\mathbf{k}) &= \begin{cases} 1 & \text{where } k \leq k_{cut} \\ 0 & \text{where } k > k_{cut} \end{cases} \quad : \text{膜穴の部分の部分} \\ A_2(\mathbf{k}) &= \begin{cases} 0 & \text{where } k \leq k_{cut} \\ 1 & \text{where } k_{max} \geq k > k_{cut} \end{cases} \quad : \text{膜の部分の部分} \end{aligned}$$

従って、試料との相互作用した後の波動関数は、 $\chi(k)$ を収差関数とすると、

$$\Psi(\mathbf{k}) = [A_1(\mathbf{k})\cos\{\chi(k)\} - A_2(\mathbf{k})\sin\{\chi(k)\} + i\{A_1(\mathbf{k})\sin\{\chi(k)\} + A_2(\mathbf{k})\cos\{\chi(k)\}\}] \otimes [\delta(\mathbf{k}) + i\Phi(\mathbf{k})]$$

従って計測強度は

$$\begin{aligned}
|\Psi(\mathbf{k})|^2 = & A_1^2(\mathbf{k}) + A_2^2(\mathbf{k}) - 2A_1(\mathbf{k})\cos\{\chi(\mathbf{k})\}[A_1(\mathbf{k})\sin\{\chi(\mathbf{k})\} \otimes \Phi(\mathbf{k}) + A_2(\mathbf{k})\cos\{\chi(\mathbf{k})\} \otimes \Phi(\mathbf{k})] \\
& + 2A_2(\mathbf{k})\sin\{\chi(\mathbf{k})\}[A_1(\mathbf{k})\sin\{\chi(\mathbf{k})\} \otimes \Phi(\mathbf{k}) + A_2(\mathbf{k})\cos\{\chi(\mathbf{k})\} \otimes \Phi(\mathbf{k})] \\
& + 2A_1(\mathbf{k})\sin\{\chi(\mathbf{k})\}[A_1(\mathbf{k})\cos\{\chi(\mathbf{k})\} \otimes \Phi(\mathbf{k}) - A_2(\mathbf{k})\sin\{\chi(\mathbf{k})\} \otimes \Phi(\mathbf{k})] \\
& + 2A_2(\mathbf{k})\cos\{\chi(\mathbf{k})\}[A_1(\mathbf{k})\cos\{\chi(\mathbf{k})\} \otimes \Phi(\mathbf{k}) - A_2(\mathbf{k})\sin\{\chi(\mathbf{k})\} \otimes \Phi(\mathbf{k})]
\end{aligned}$$

我々は、2次元検出器を用いているので、検出器位置に応じたフィルターを用意することができる。そこで、2次元検出器に対する検出演算子を $\mathcal{D}_i\{\}$ ($i=1, 2$)とおくと、検出ゾーン $A_1(\mathbf{k})$ と $A_2(\mathbf{k})$ を適切に選んで像を形成すればよい。

我々が準備する ZPP は穴の半径 500nm で、これは空間周波数にするとおよそ 0.07 nm^{-1} である。従って、穴の内部においては、サインタイプの位相コントラスト伝達関数 (PCTF) の値は、ほぼゼロ、コサインタイプの PCTF はほぼ 1 と近似できる。このことを考慮してゾーン $A_1(\mathbf{k})$ だけを選んで、強度を検出すると、

$$\mathcal{D}_1\{|\Psi(\mathbf{k})|^2\} \cong \iint_{\vec{k}} [A_1(\mathbf{k})] d\mathbf{k} - 2 \iint_{\vec{k}} [A_1(\mathbf{k})] \otimes [A_2(\mathbf{k})\cos\{\chi(\mathbf{k})\}] \Phi(\mathbf{k}) d\mathbf{k} \quad (5)$$

一方、ゾーン $A_2(\mathbf{k})$ だけを選んで強度を検出すると、

$$\mathcal{D}_2\{|\Psi(\mathbf{k})|^2\} \cong \iint_{\vec{k}} [A_2(\mathbf{k})] d\mathbf{k} + 2 \iint_{\vec{k}} [A_1(\mathbf{k})] \otimes [A_2(\mathbf{k})\cos\{\chi(\mathbf{k})\}] \Phi(\mathbf{k}) d\mathbf{k} \quad (6)$$

(5)、(6)どちらの式においても 1 項目は、非散乱波による項であり、2 項目が散乱波に依る項である。すなわち、いずれの場合も 1 項目はバックグラウンド強度を与え、2 項目が試料情報を与える。2 項目の関数形は負号を除けば(5)と(6)で同じであり、2 項目の試料による散乱波の項には、試料の構造情報に対し、コサイン型の PCTF がかった形であることが分かる。このことは、(5)のみを用いた像形成で、低空間周波数の位相情報を取り出せることを意味している。これは、従来の位相差法による STEM の結像と同じである。

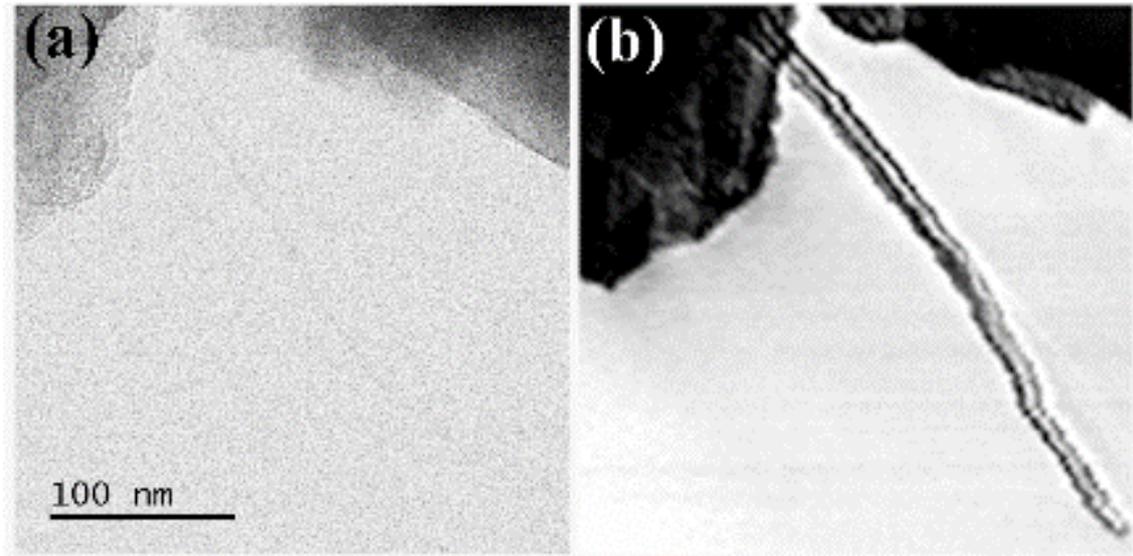
2 項目の符号から考えると、(5)の場合、すなわち穴の中の電子強度のみで像を形成した場合、真空領域に対して試料が暗く見るとすると、(6)の場合、すなわち穴の外の電子強度のみで像を形成した場合、真空領域に対して試料が明るく見える。(5)の場合は、従来の位相差像の像形成と同じ条件であることから、うまく、1 項目の効果を除いて、像を形成することができれば、試料の位相情報のみを取り出すことができることを意味している。(5)と(6)を使って、1 項目のバックグラウンドの効果を除除する必要があるが、上述のように、1 項目はバックグラウンドであり、入射電子の効果を表している。従って、検出面を $A_1(\mathbf{k})$ と $A_2(\mathbf{k})$ に分けて、 $A_1(\mathbf{k})$ のゾーンに対する $A_2(\mathbf{k})$ のゾーンの面積比 α を使って、その重みを考慮して減算することで、バックグラウンドの効果を除除することが可能である。すなわち、

$$\mathcal{D}_2\{|\Psi(\vec{\mathbf{k}})|^2\} - \alpha \mathcal{D}_1\{|\Psi(\vec{\mathbf{k}})|^2\} = 2(1 + \alpha) \iint_{\vec{k}} \{[A_1(\mathbf{k})] \otimes [A_2(\mathbf{k})\cos(2\pi\chi(\mathbf{k}))]\} \Phi(\mathbf{k}) d\mathbf{k}$$

が得られる。そこで、2次元検出器を用いて、を使って形成した像と、

$$\mathcal{D}_2\{|\Psi(\vec{\mathbf{k}})|^2\} - \alpha \mathcal{D}_1\{|\Psi(\vec{\mathbf{k}})|^2\} = 2(1 + \alpha) \iint_{\vec{k}} \{[A_1(\mathbf{k})] \otimes [A_2(\mathbf{k})\cos(2\pi\chi(\mathbf{k}))]\} \Phi(\mathbf{k}) d\mathbf{k} \quad (7)$$

を使って形成した像の比較を行った。結果は次の図である。



(a)は、(5)式に対応する結像方式で得たカーボンナノチューブの像であり、これは従来の位相差 STEM 像と同じである。ナノチューブは視野の真ん中に 1 本見えているが、(a)の像ではほとんど見えていない。一方、(b)は(7)式に対応する結像方式で得た同一視野の像で、中央にあるカーボンナノチューブは明瞭に見えている。(b)の像の最大強度と最強強度の差に合わせて(a)の像を計算しているため、2つ像のコントラストの見かけの違いは、実際の2つの像のコントラストの違いを表している。

この像の比較から 2 次元検出器を利用した結像により、従来の位相差 STEM 法に寄る結像に比べて、コントラストは 1 桁以上増強している。この結果から、2 次元検出器を利用して、適切な演算処理を行うことで、位相情報をより明確に計測できることが示された。収差関数に含まれる球面収差やデフォーカスの影響については、あらかじめ 2 次元検出器のピクセル位置における計算によって求めることができるので、それを取り去るフィルター関数を組み込んで、像計算を行うことで除去可能である。今後、この結像法をさらに発展させ、試料の定量的位相計測実現のための研究を進めていく。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Misaki Tsubouchi and Hiroki Minoda	4. 巻 25
2. 論文標題 Phase plate STEM imaging using two dimensional electron detector	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Microscopy and Microanalysis	6. 最初と最後の頁 84-85
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1017/S1431927619001156	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計11件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 箕田弘喜、山田洋輔
2. 発表標題 位相差透過電子顕微鏡法におけるhole-free位相板のポテンシャル制御
3. 学会等名 日本顕微鏡学会第73回学術講演会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 箕田弘喜、大森裕哉
2. 発表標題 位相差走査型透過電子顕微鏡法によるコントラスト増強
3. 学会等名 日本顕微鏡学会第73回学術講演会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 大森祐哉, 箕田弘喜
2. 発表標題 位相差走査型透過電子顕微鏡を用いた生物試料の液中観察
3. 学会等名 日本物理学会秋の2017年秋季大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 箕田弘喜, 大森祐哉, 柚木宏太
2. 発表標題 位相差電子顕微鏡法における位相板デザインの検討
3. 学会等名 日本物理学会第73回年次大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 松井香樹、秋葉圭一郎、箕田弘喜
2. 発表標題 eGFPの " 電子線誘起変換 " の試料環境依存性について
3. 学会等名 第56回生物物理学会年次大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 箕田弘喜
2. 発表標題 TEMとSTEMの基礎
3. 学会等名 日本顕微鏡学会ソフトマテリアル研究部会第4回講演会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 H.Minoda, Y.Ohmori, K.Yonoki
2. 発表標題 Design of phase plate for high contrast imaging in phase plate scanning transmission electron microscopy
3. 学会等名 IMC19 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 坪内美沙希 箕田弘喜
2. 発表標題 2次元検出器を利用した位相差STEMイメージング
3. 学会等名 日本顕微鏡学会第74回学術講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 坪内美沙希、秋葉圭一郎、箕田弘喜
2. 発表標題 2次元検出器を用いた高効率位相差STEMイメージングの開発
3. 学会等名 日本物理学会2017年秋季大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 坪内美沙希、秋葉圭一郎、箕田弘喜
2. 発表標題 位相差電子顕微鏡法による位相変調の定量評価へ向けて
3. 学会等名 日本物理学会第75回年次大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 種田元紀、秋葉圭一郎、箕田弘喜
2. 発表標題 透過電子顕微鏡用Hole-free位相板への電圧印加効果の研究
3. 学会等名 日本物理学会第75回年次大会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----