

TOF-SIMS に付設された前処理システムについて

高間瑠佳

教育・研究技術支援室 分析・物質技術系

概要

生命農学研究科 生物圏資源学専攻 生物材料科学講座 森林化学研究室には、飛行時間型二次イオン質量分析装置（アルバック・ファイ製「TRIFT-III」、Time-of-Flight Secondary Ion Mass Spectrometry : TOF-SIMS）が設置されている。2002年に設置されたが、今年度8・9月に改造が行われ、「生体試料前処理システム」が付設された（森林化学研究室 福島教授の科学研究費補助金（基盤S）による）。これは、冷却搬送システムによりグローブボックスと走査電子顕微鏡がTOF-SIMSに連結したものである。これにより、6mm程度の水分を含む試料（木材等）を瞬間凍結させ、1000 μ m下までを層状に切削しながら何回も測定することが可能になった。これによって、木材の細胞の微細構造を立体的に可視化することを目標としている。

これまでの運用・測定により、どのような課題が発生したかを報告する。

1 TOF-SIMS の概要

TOF-SIMSとは、飛行時間型二次イオン質量分析装置（Time-of-Flight Secondary Ion Mass Spectrometry）の略称である。

1.1 TOF-SIMS の仕組み

SIMSは一次イオン（Au・Gaイオンなど）を試料に照射し、試料から発生した二次イオンの質量を分析することで試料表面の化学構造を調べる装置である。試料の最表面（表面分子2-3層分、深さ数nm）を直接測定することができる。

表面分析の主な方法としては、オージェ電子分光法（AES）・X線光電子分光法（XPSまたはESCA）・二次イオン質量分析法（SIMS）などがあるが、SIMSは他の表面分析法にない特徴として、試料を構成しているイオンを直接検出することがあげられる。また検出された質量データをスペクトルとともにイメージ像で作成することができる。特定の分子の分布をイメージ撮影することもできる。

そして、試料表面から放出された二次イオンを検出するために飛行時間型質量分析計（TOF-MS）が併設されたものがTOF-SIMSである。

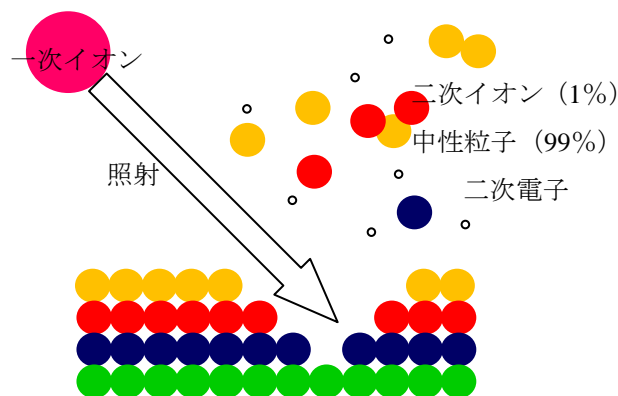
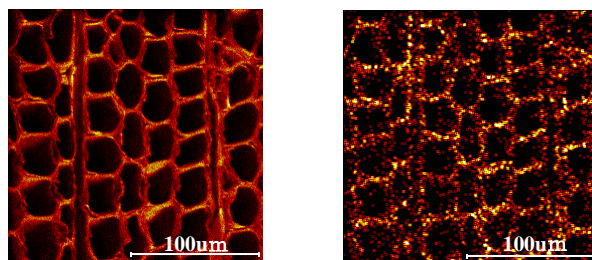


図1. TOF-SIMS のイオン化概念



左：全イオンのイメージ 右：Naイオンのイメージ

図2. TOF-SIMS イメージ測定例（木材細胞壁）

1.2 これまでの実績

生命農学研究科 生物圏資源学専攻 生物材料科学講座 森林化学研究室では、TOF-SIMS（アルバック・ファイ製「TRIFT-III」）が設置されており、これまで木材薄片を試料とした数多くの論文の発表や報告がなされている。また木材以外では草木の根・茎、共同研究の形で人の髪、隕石、土器なども測定実績がある。

水分を含む試料は液体窒素で凍結し、同じく液体窒素で約-130℃に冷却した TOF-SIMS のステージで測定することができる。しかし、従来の方法では、試料を TOF-SIMS に導入する際などで、作成した試料の表面に霜が付く危険性が高かった。霜が付くと、最表面の化学状態を測定することは難しい。

2 前処理システムの概要

前処理システムは大きく 3 つのブロック「グローブボックス」「冷却搬送システム」「走査電子顕微鏡 (SEM)」で構成され、「冷却搬送システム」で TOF-SIMS と接続している。図 3 に示す。

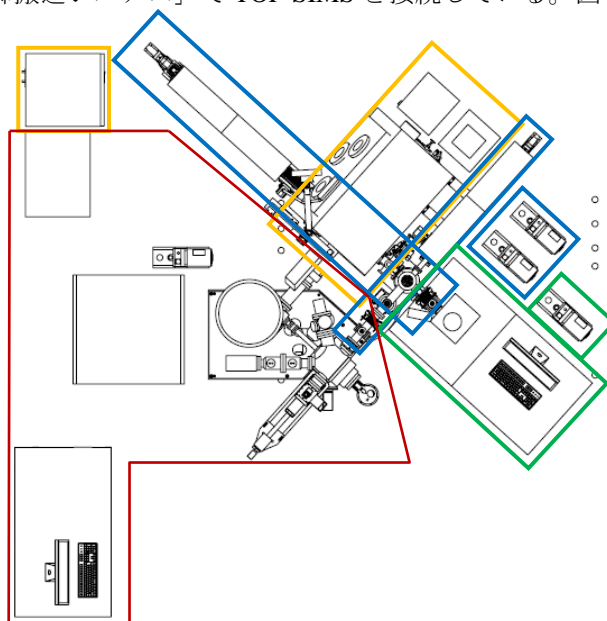


図 3. TOF-SIMS (赤) と前処理システム (黄：グローブボックス、青：冷却搬送、緑：SEM)

2.1 システムの目的

TOF-SIMS 単体での測定は、作成した試料の最表面、一面のみしか測定できない。しかし厚みのある試料を層状に切削し、その面を測定することを連続的に行うことができれば、同一試料を縦方向に何面も測定でき、3 次的に化学物質の分布を観察することができる。水分を含む試料は霜が生じない状態を保ちながら切削できる設備が必要となる。

新設された前処理システムのうち「グローブボックス」は、約-10℃に冷却した窒素雰囲気に入れられ、さらに液体窒素を流したステンレス管を通すことで僅かな水分も霜として固定化し、乾燥状態になった空間である。試料作成時に表面に霜が付いても、この中で切削作業を行えば切削面は霜が着かないので、きれいな表面を測定することができる。この試料を「冷却搬送システム」で、液体窒素で約-180℃に冷却した真空状態の経路で搬送するので、搬送時も霜が付着せず、試料は凍結状態を保つことができる。

また SEM と接続することで SIMS による最表面の化学分析と SEM による奥行きに見える構造観察の比較をワンセットで行うことを可能にした。

2.2 システムの仕組み

システムの概略を図 4 に示す。赤矢印で試料の移動（そのうち点線は手動で移動）経路を表した。実験室

で作成した試料を前処理室に入れ、リトラトームで切削したのち、イントロチャンバー（以降略称「イントロC」とする）に入れる。搬送システムを使い、中間チャンバー（以降「中間C」）に搬送、そこから TOF-SIMS や SEM に搬送し測定する。試料を再切削する時は中間Cに戻し、イントロCまで搬送する。イントロCから試料を取り出してリトラトームで切削する。青色は液体窒素の移動経路である。液体窒素タンクから中間Cに送液し、そこからイントロCに送られる。イントロCからそのまま前処理室外に出て排気されるが、リトラトームを使用する時は前処理室外のドライポンプを稼働させると、リトラトームにも液体窒素が通過するようになり、ドライポンプを通して前処理室外に排気される。紫色は窒素精製機で製造された乾燥窒素の移動経路である。乾燥窒素はチラーで約-25℃まで冷却されたのち、前処理室に充填され随時前処理室外に排気される。また、SEM を冷却モードで使用する際は SEM のステージ冷却ラインにも供給される。

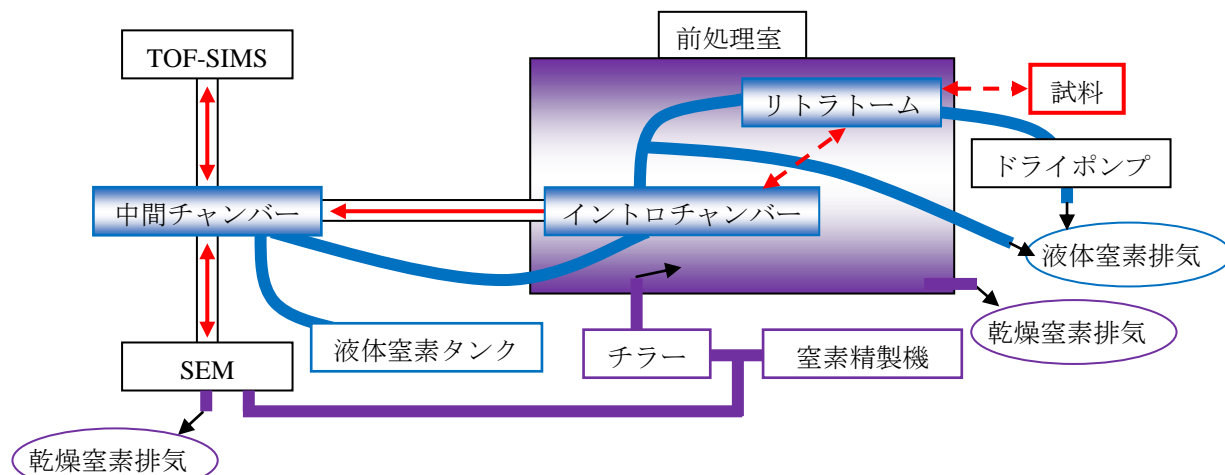


図 4. 試料（赤）・液体窒素（青）・乾燥窒素（紫）の流れ概略

以下に各ブロックを構成する機器を紹介する。

表 2. 「グローブボックス」の構成機器

前処理室		チラーのみ使用時 - 10℃・液体窒素使用時 - 20℃・酸素濃度 0.5%以下
チラー1	柴田科学	C-588 設定 - 40℃・待機時は OFF 可
チラー2	東京理化器械	CA-1112 設定 - 20℃・待機時は OFF・使用前日に ON
窒素精製機	トーア電子	前処理室内の乾燥冷却・各バルブの開閉駆動・SEM 冷却用
リトラトーム	大和光機工業	REM-710 前処理室内で試料を切削
小型ドライ真空ポンプ	アルバック機工	DAP-6D リトラトーム切削台を冷却



図 5. グローブボックス 左から前処理室・チラー2台とドライポンプ・リトラトーム

表 3. 「冷却搬送システム」の構成機器

X 軸アーム		イントロチャンバー・中間チャンバー・SEM 間の搬送
Y 軸アーム		中間チャンバー・TOF-SIMS 間の搬送
イントロチャンバー		前処理室内の試料導入室、液体窒素使用時 - 180℃、真空計 (コンベクトロンゲージ: 大気圧~中真空)、ターボポンプ・ロータリーポンプで真空排気
中間チャンバー		イントロチャンバー・TOF-SIMS・SEM への受け渡し中継点・方向転換室、液体窒素使用時 - 180℃、真空計 (イオンゲージ: 中~高真空、 2×10^{-6} Pa 程度)、ターボポンプ・ロータリーポンプで真空排気
液体窒素タンク	チャート	50L のデュワー瓶
クライオポンプ	ジェック東理	液体窒素を中間チャンバー・イントロチャンバーに送液
コントロールモニター		タッチパネル式、搬送システムを操作
フットスイッチ		前処理室の下、イントロチャンバーの真空排気と解除を操作



図 6. 冷却搬送システム 左から全体外観・液体窒素タンクとポンプ (中間チャンバーへ輸送)

表 4. 「SEM」の構成機器

走査電子顕微鏡	日立ハイテクノロジーズ	S-3400N-T3 二次電子分解能 10nm (3kV) 倍率 $\times 5 \sim \times 300k$ 真空度 1.5×10^{-3} Pa 赤外線カメラを併設
SEM 冷却ステージ	GATAN	液体窒素で冷却した乾燥窒素で - 170℃まで冷却



図 7. 走査電子顕微鏡 左から全体外観・赤外線カメラシステム (試料ホルダー移動中)

3 前処理システムの運用・管理方法

メーカーの用意した取扱説明書の他に、使用者用のマニュアルを整備した。測定時間を長く確保するために、液体窒素の汲み取り作業は学生の協力をもらい、その間に約一時間を要する TOF-SIMS の一次イオン銃の立ち上げ作業を行っている。主な流れを図 8 に示す。

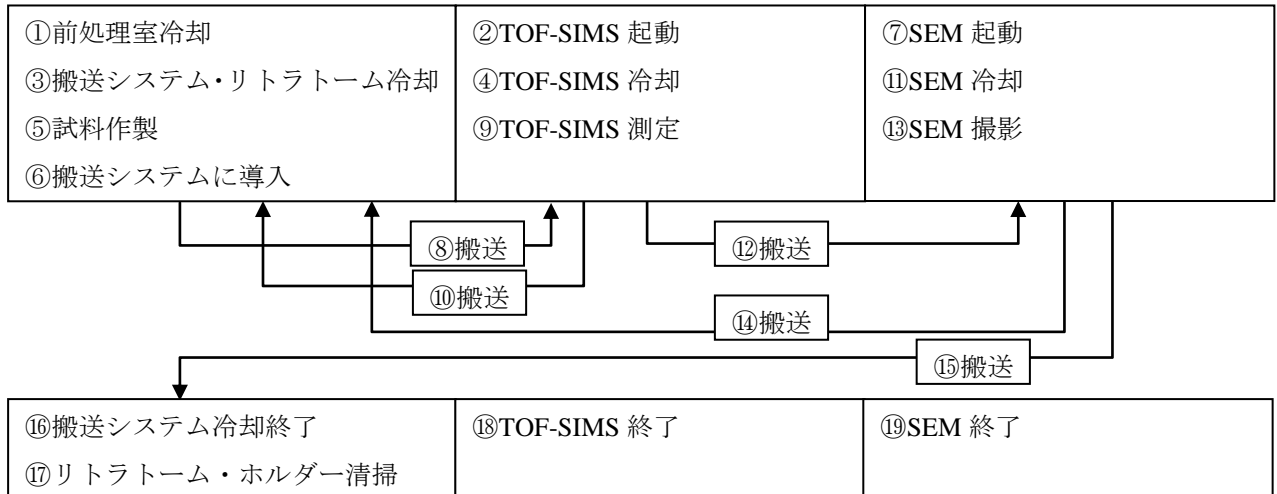


図 8. 前処理システムを使用した TOF-SIMS 測定の流れ

3.1 待機時

イントロ C・中間 C は真空計が設置されており、常に真空状態を維持する必要があるため、計画停電の時以外は、常時真空排気を行っている。また前処理室は乾燥状態を維持し、温度を零下にするために 1 日以上の時間を要するため、窒素精製機を常に稼働させ、チラー1 のみを稼働させている。チラーは消費電力が大きいので電気の節約のため、チラー1 より冷却能力の低いチラー2 は使用予定日の前日夕方から起動することとしている。液体窒素は使用予定日以外には必要ないので、ポンプは OFF にし、50L タンクから取り出して自然乾燥させている。また SEM は真空排気が完了した状態で停止させている。

3.2 起動

- 液体窒素の汲み取り：システムでは液体窒素を 4 か所で使用する (50L タンクラインの他、TOF-SIMS ステージ用、SEM ステージ用、試料作製用)。50L タンクは 1 日 (約 8 時間) 連続運用をすると使い切るため、液体窒素の汲み取りは 50L タンクの他、10L と 5L の 2 本を用意している。また共同研究者より 20L・1L のデュワー瓶を借用している。
- 試料作製：試料は Cu ホルダーの長径 10mm の穴に立てて入れる。厚さは最終的に 5.7~4.7mm に収まるよう予め 10mm 程度に切っておく。やわらかい試料はこの加工作業中に変形してしまうので、液体窒素で凍結させながら行う。金具で試料を固定し、液体窒素で凍らせながら前処理室に入れる。リトラトームに固定し、剃刀で表面を削ぎ落としながら厚さを調整する。

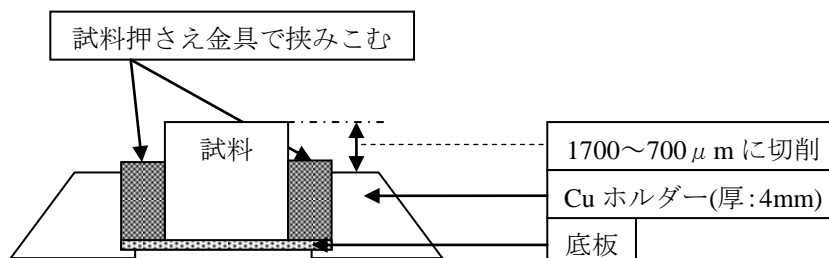


図 9. 試料作製・ホルダー固定法

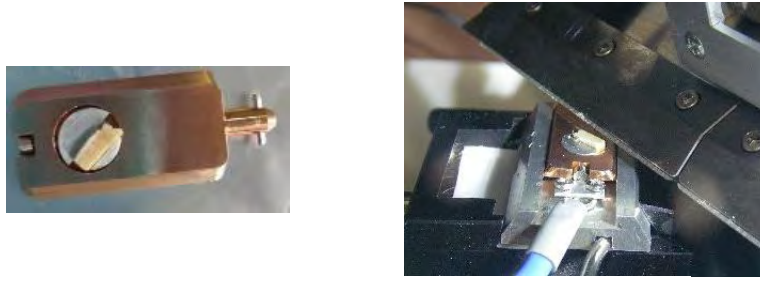


図 10. 試料固定例 (左)・試料切削作業 (右)

3.3 測定

図 8 を参照されたい。リトラトームで切削後、搬送システムで TOF-SIMS に送る。SIMS 測定後に再度リトラトームで切削を行うか、SEM に搬送して撮影を行う。これを繰り返す。

3.4 清掃

切削を行うと、大量の切り屑が発生する。これらは測定終了後筆で掃き集めて除去する。筆で取りきれない場合は、切削台を取り出しメタノールを含ませたキムワイブで拭く。

またホルダー・挟み込み金具などは有機溶媒で洗浄し、水分と汚れを除去する。



図 11. リトラトームの清掃

3.5 メンテナンス

- リトラトームの剃刀交換：切削により刃の切れが劣化したり、欠けたりする。リトラトームから刃の固定台を外し、前処理室から取り出す。前処理室外で刃を交換する。
- 液体窒素タンクの清掃：氷の微粉末や断熱材の微粉末が堆積することがある。これらがポンプに吸い取られると液体窒素の流路が詰まり、測定中に中間 C・イントロ C が解凍する恐れがある。一ヶ月に一回程度、中を空にして常温に戻し、水を入れて中をすすぐ。
- Cu ホルダー磨き：空気中に放置すると表面が若干酸化され、搬送に支障が出る恐れがある。表面の光沢がまだらになったら、ピカールで磨き十分にすすいで乾燥させる。

3.6 運用上の注意点

- 液体窒素経路またはポンプのエア管の詰まりによる中間 C・イントロ C の温度上昇：50L タンクからポンプで液体窒素を運ぶ冷却システムは、液体窒素の流量の減少や流動の停止が発生することがある。正常では中間 C・イントロ C の温度は共に約 -180°C になるが、流量が低下するとイントロ C が -140°C 程度まで冷えなくなる。完全に詰まった場合、経路を常温に戻し乾燥窒素を流して、霜の原因となる塵や水分を除去する必要がある。これには 2~3 時間を要する。このため、液体窒素の流量の低下は重大な問題であり、流量は時々確認する必要がある。確認ポイントは①前処理室に設置されている各温度計、②液体窒素の排気口の排気音や排気管の霜の付着量、③ポンプ駆動音、④50L タンクの重量の減少スピードの確認（重量計が共同研究者より貸与されている）である。他の作業を行いながら確認を行いやすいのは②の排気音と③であるが、常に他の音も発生しているので注意が必要である。

- SIMS の冷却温度上昇：TOF-SIMS の冷却温度は、TOF-SIMS の Cold Stage Control ボックスで確認できる。液体窒素タンクに 5 割から 7 割の量を補充すればおよそ一日分（約 8 時間）の冷却は可能であるが、気象条件や使用時間の延長により液体窒素が足りなくなる、また Control ボックス内のポンプが何かの拍子に停止してしまうと、冷却が停止し温度が上昇する。測定途中の温度上昇は、試料から水分が

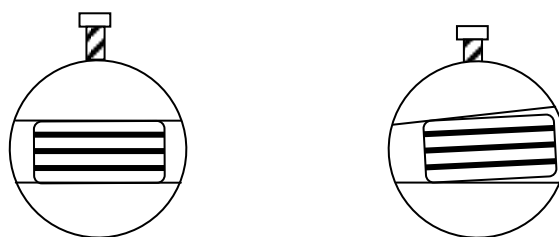
昇華しやすい状況になるため、SIMS 内の真空度が悪くなり、水分による汚染や一次イオン銃の緊急停止が起こる恐れがある。SIMS の冷却温度の確認も重要である。ポンプが停止した場合は、電源を一旦切り、数分間待って空冷させる必要がある。

- SEM の冷却温度上昇：SEM のステージ冷却用デュワー瓶は設置できるスペースを考慮して 3L 程度の小さいものであるが、このため、気化して消滅するまでの時間が短い。測定直前には必ず液体窒素を満タンにし、できれば頻りに温度を確認する必要がある。この温度センサーは SEM 操作机の上にあるので確認しやすい。
- 室内の酸素濃度：室内は常に窒素精製機を稼働させ、また前処理システムを稼働させるときは液体窒素を大量に使うため、換気扇を待機時は 1 台、測定時は 2 台使用している。また酸素濃度計も設置しており、規定値より下がると警報音が発せられる。

4 これまでの検討・試験測定結果

4.1 試料作製方法

- 凍結状態のままホルダーに入れられるサイズに加工する方法：発泡スチロールトレイに液体窒素を入れ、この液体窒素プールの中で試料を凍結。大きさをある程度整える時はプールから出し、液体窒素で冷却したアルミホイルを何層にも重ねたブロックの上に取り出して、剃刀などで切り出す。アルミホイルは一般的に質量分析の作業において、試料や部品の表面にコンタミを付けないための清浄な梱包材とされる。
- 挟みこみ金具とねじの位置関係：試料に対して平行に金具を挟みこむのが理想的であるが、ねじを締める際に、ねじの回転方向によって金具は左に引っ張られ、また浮き上がる。試料の形に合わせた挟み込み金具とねじの位置関係の選択は経験を要する。また、液体窒素プール内でねじ締めをすると、沸騰する液体窒素の気泡によって底板・金具・試料が浮き上がったり上下に頻りに動いたりする。締めながら浮き上がりをその都度ピンセットで押さえることが必要である。



ねじ締め前 ねじを締めると挟みこみ金具が動き固定が不完全に

図 12. 試料固定ねじによる位置ずれ

4.2 昇華の有無

TOF-SIMS のイメージ測定では、よい鮮明な像を得るため、1 時間くらいの長時間測定をすることがよくある。しかし、水分を多く含む凍結試料を超高真空 (10^{-9} ~ 10^{-8} Torr) 内で長時間置くことによって、水分が昇華する恐れがあった。これについては、システムの設置時に基本データとしてメーカー担当者とともに検討を行った。その結果 1 時間程度の連続測定の前後では像の違いは認められなかった。

4.3 SEM 測定後のスペクトル異常

昨年 9 月の装置設置後の検討作業および 11 月のテスト測定の際に、含水木片の凍結試料を同じ面で SIMS 測定後 SEM 撮影し、再び SIMS 測定を行った時にスペクトルデータに $m/z=91,105,119$ において差異が生じていることが分かった。試料を SIMS→中間 C→SEM→中間 C→SIMS と移動させて測定を行っているだけで違

いが出る以上、中間 C・SEM・搬送経路のどこかで異物が混入したと考えた。そこで、11月のテスト測定の際に、乾燥木材の凍結試料を使い、SEM撮影を行わずに搬送・待機するだけで同様のスペクトルの差異が起こるかを検討した。①SIMS測定→中間C→SIMS測定ではスペクトルの差異はなかった。②SIMS測定→中間C→SEMで10分間待機→中間C→SIMS測定では、SEM撮影と同じスペクトルの差異が認められた。このことから、木材が含水か乾燥かに関係なくSEM内に入っているだけで異物が試料表面に付着すると推測した。

そこで今年の1月に表面が清浄なシリコン板を用い、SEM室に5分の待機時間を作り、その前後にSIMS測定を行ってスペクトルの差異が発生するかテストを行った。結果を図13.に表す。

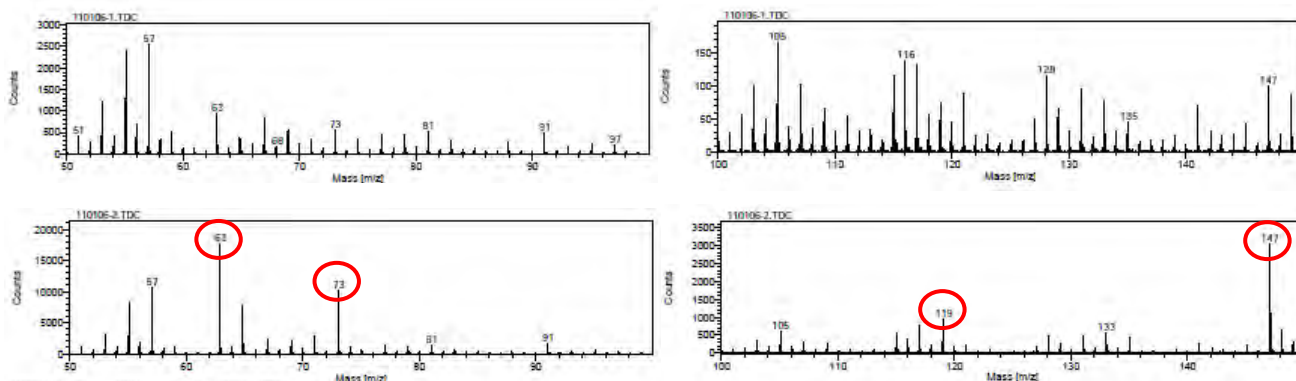


図13.Si板で行ったスペクトルの比較結果 上段がSEM入室前・下段がSEM入室後

3点で測定を行ったが結果はすべて、SEM入室後に $m/z=63, 73, 119, 147$ が多く検出されるという差異が見られた。このことより、SEM室に試料が入ると異物が表面に付着すると確認できた。付着物質の一つとしてSEM測定室内部のステージ駆動部に使用されているグリース・オイルが考えられる。今後これを確認する必要がある。

SEM撮影を行うことで異物が付着することが不可避である場合、その影響を最小化する方法も検討している。まず、SEMの観察を最後の面だけで行う方法が挙げられる。本来はSIMS測定とSEM観察はワンセットで化学分析と表面構造の比較を行うことを目標としているが、SEM観察のたびに測定面が汚染しては本末転倒である。また、異物が付着し若干汚染された場合、どの位の厚さを切削すれば、汚染の影響のない面を出すことができるか、今後調査する予定である。またSEMの運用時間はまだ短く、待機中は真空排気を停止しているため、SEM内部の浮遊物質の排気が不十分と考えられる。時々SEMを真空排気のみで稼働させてみるのも一案である。

5 謝辞

生命農学研究科の福島和彦先生、齋藤香織様、技術職員の加藤俊之様、独立行政法人森林総合研究所の黒田克史様、アルバック・ファイ株式会社の金坂修様、見藤哲志様におかれましては多大なるご指導をいただきました。この場を借りてお礼申し上げます。

参考文献

- [1] 日本表面科学会編 (1999) “表面分析技術選書 二次イオン質量分析法” (丸善株式会社)
- [2] 加藤俊之 (2005) “TOF-SIMSによる生体成分分析の手法と今後の課題”,平成16年度名古屋大学技術研修会
- [3] 齋藤香織・福島和彦 (2008) “TOF-SIMSの植物細胞壁化学への応用”,植物化学調整学会誌「植物の生長調節」 Vol.43.No.6,p156-163