

トピック3

電子顕微鏡から得られるデータの定量解析手法とソフトウェアの紹介

石塚和夫*

1. はじめに

本解説では弊社の電子顕微鏡における定量解析のためのソフトウェアについて紹介させて頂く。読者の皆様のデータ解析の一助になればこの上ない。

さて、電子顕微鏡も含めて、顕微鏡は肉眼では見えない「もの」を見るのが目的である。このため、原子像を撮ったとしても、それが見ている試料の構造を反映しているのかの判断に常識は通用しない。特に、透過型電子顕微鏡(TEM)の場合にはデフォーカス(対物レンズ強度)を変えると像の見え方が変わり、コントラスト(白黒)が反転することもある。走査型透過型電子顕微鏡(STEM)の場合にはコントラストの反転するようなことはないが、わずかな偽のコントラストが生じることも報告されている。このため、原子構造を仮定し、実験像がシミュレーションと一致するかを確認することで、仮定した構造の正当性を判断することが行われる。このためには弊社のマルチスライス法に基づく電子顕微鏡像シミュレーションソフトウェア xHREM⁽¹⁾が利用可能である。

また、弊社では電子顕微鏡から得られるデータの定量解析を行うためのソフトウェアを米国ガタン社の画像処理プラットフォーム DigitalMicrograph(DM)⁽²⁾の機能追加(プラグイン)として開発しており、現在では20近くのプラグインを電子顕微鏡のユーザーに提供している。これらのプラグインのうち自社開発のものもあるが、多くのものは世界の研究者の開発した手法をDMのプラグインとして使い易く実装したものである。その中にはデコンボリューションによるEELSまたはSTEM-HAADF像の解像度を向上するもの(DeConvEELS⁽¹⁾, DeConvHAADF⁽¹⁾), 高分解能TEM/STEM像からの周期構造を鮮明にするもの(HREM-Filters⁽¹⁾), 種々の手法による格子歪を解析するためのもの(GPA⁽¹⁾, PPA⁽¹⁾, HoloDark⁽¹⁾, sMoiré⁽¹⁾)などがある。さらに、複数枚のTEM像から複素波面(試料出射面の波動関数: Exit wave)を再生するもの(FTSR⁽¹⁾, IWFR⁽¹⁾, QPt⁽¹⁾)がある。FTSR, IWFRは原子分解能像から出射面の波動関数再生用で、再生波面より球面収差を補正することが可能で

ある。一方、QPtは広い倍率範囲で使用可能で、磁性体の観察に良く利用されている。

球面収差補正技術はSTEMと相性がよく、電顕本体の安定性の向上とともに昨今はSTEMに人気があるようである。高角環状暗視野(HAADF: High-Angle Annular Dark-Field)像の強度がHAADFの原子散乱能に比例するとして、原子コラム中の組成を求めるプラグインがqHAADF⁽¹⁾である。

しかし、STEMの走査系は今のところ不安定でSTEMプローブは外乱により高速に揺れている。この高速に揺れているプローブの振動を小さくするプラグインがJitterbug⁽¹⁾である。また、STEMでは順次走査しながら各点のデータを収集するのでデータ点を多くするとデータ収集時間内の試料の移動(ドリフト)が問題になることが多い。試料のドリフトを小さくするのは計測時間を短くすれば良いが、画像がノイズになる。試料のドリフトが問題にならない短い走査時間で測定した複数枚のSTEM像をアライメントとして積算し、SN比を高めるのが、SmartAlign⁽¹⁾というプラグインである。このプラグインでは先ず平行移動を除去し(Rigid-alignment), その後、ローカルなアライメント(Non-rigid alignment)によりSTEMプローブの外乱による影響を除去する。このため、試料のドリフトだけでなく、プローブの外乱も抑えることが可能である。

電子顕微鏡で観察される薄い試料では試料は位相物体として取り扱われ、TEM像は位相コントラスト像として解釈される。STEMで検出信号を光軸近辺に限定すれば、TEM像と同様の位相コントラスト像を観察することが可能である(相反定理)。しかし、その場合は結像に使用される散乱電子は入射電子に比べてほんの一部であり、検出効率が極端に悪く、実用的ではない。この欠点を改善してSTEMで位相物体を観察する方法として微分位相コントラスト(DPC: Differential Phase Contrast)法が40年程前に提案された。ここでは、全散乱電子を2つに分割した検出器で受けて、分割検出器上の積分強度の差を出力信号とする。このDPC検出器がSTEMの普及とともに実用化されるようになった。この信号は位相分布の微分なので、DPC信号を積分して位

* HREM Research Inc.; 代表取締役(〒355-0055 東松山市松風台14-48)
Quantitative Analysis of Electron Microscopy Data; Kazuo Ishizuka(HREM Research Inc., Higashimatsuyama)
Keywords: image simulation, deconvolution, Wiener filter, exit wave reconstruction, strain analysis, DPC (Differential Phase Contrast), PCA (Principal Component Analysis)
2018年9月3日受理[doi:10.2320/materia.58.68]

相分布を得るプラグインが qDPC⁽¹⁾である。STEM では電子線照射を局所的に行うので、電子線による試料の温度上昇が抑えられ、試料損傷が少なくなるとの報告もあり、試料損傷に弱い試料などにも DPC 法は広まって行くと考えられる。

STEM でのスペクトロスコピー (EELS や EDX) では各点でスペクトルが取得され、位置とエネルギーの 3 次元のスペクトラムイメージ (SI: Spectrum Image) が得られる。ここでは、スペクトルを取得するための各点での計測時間が短いので、各スペクトルに寄与する電子線量が極端に少なく量子ノイズが顕著となる。この SI データに多変量解析を行い、量子ノイズを劇的に減少することが可能で、これを行うプラグインが MSA⁽¹⁾である。先に述べた SmartAlign は SI データを同時取得した場合に、ADF 像などの画像データのアライメント情報を用いて SI データの空間的アライメントを行うことが可能である。

この他、電子線の入射方向をコンピュータ制御して電子線回折像を取得するプラグインとして QED⁽¹⁾と EDT⁽¹⁾がある。QED では照射系の収差の補正が可能で、試料上のビーム位置を高精度に制御して、nm オーダーの微小領域からの全ての反射の広角収束電子線回折 (LACBED) を取得することが可能である (通常の収束ビームの CBED では透過波の LACBED を取得する)。また、電子線の入射方向を歳差させれば PED (Precession Electron Diffraction) を取得することも可能である。さらに、QED には電子線の入射方向を制御してスペクトルを計測する ALCHMIE モードがあり、今後、特殊な研究用途として利用されると期待している。一方、EDT は一軸で試料を回転して 3 次元空間内の電子線回折を計測する。微結晶、あるいは微小領域から収集されたデータより、X 線構造解析のプログラムを用いて、未知構造が決定されている。電子線では試料との相互作用が X 線に比べて大きいので、X 線では測定困難な微小結晶から構造解析を行うことが可能である。

さて、残りの紙面を使って、まず、電子顕微鏡像シミュレーションソフトウェア、その後、幾つかの DM プラグインについて、応用例を交えて技術的解説を簡単に述べる。

2. xHREM

xHREM では、電子線の散乱を効率よく計算するために高速フーリエ変換 (FFT) を使用している。計算機内部では周期構造を仮定している⁽³⁾。結晶性試料の場合には試料の周期性を利用できるが、周期構造を持たない非晶質やナノ粒子などの場合には、プログラムが全原子を包含する大きなセルを作成し、仮想的な周期構造 (超格子; スーパーセル) として計算をおこなう。現在の PC (パーソナルコンピュータ) の能力では大きな超格子の TEM 像のシミュレーションを行うことも可能である。

また、xHREM では STEM 拡張機能を追加すれば、FFT による散乱計算の高速性を利用して、STEM 像のシミュレーションを行うこともできる⁽⁴⁾。STEM 像のシミュレーション

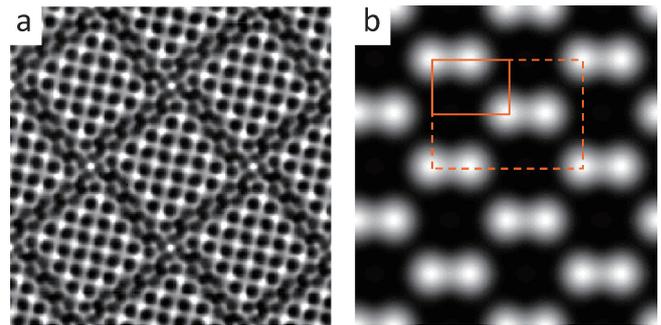


図1 高分解能像のシミュレーション。
(a) タングステンニオブ酸化物の TEM 像,
(b) GaAs の STEM-HAADF 像。(オンラインカラー)

ョンでは、プローブの伝播を計算する必要がある。xHREM では計算機内部で周期構造を仮定している。各セル (計算上の仮想的な周期) 内に一個のプローブが存在する超格子を考えてシミュレーションを行う。これはフーリエ空間 (逆空間) で考えれば、超格子に対する逆格子点の散乱を計算することになる。結晶の場合を考えると、プローブの収束角により各逆格子点広がるので、結晶格子に対応する逆格子点だけではなく、大きな超格子に対する逆格子点の散乱強度を計算していることになる。STEM 像では各走査点に対して散乱計算を行う必要がある。計算量が TEM 像のシミュレーションに比べて膨大になる。ただし、結晶性試料の場合には、単位胞の非対称単位内の走査点の HAADF 信号を計算して、対称性を使用して単位胞の像に拡張することにより計算時間の減少を計っている。さらに、xHREM の STEM 拡張機能ではマルチコア CPU に対応している。現在の高性能 PC を用いれば、GaAs [110] などの小さな結晶格子の計算は数分から数十分で行える (計算する試料厚さに比例する)。結晶格子の大きな場合や非周期試料の場合には走査点が多くなり、計算には数時間から数日かかる。このため、xHREM の STEM 拡張機能ではクラスター版も用意されている。また、GPU (Graphic Processing Unit) 版も近くリリースされる。

図1(a)はタンングステンニオブ酸化物の高分解能 TEM のシミュレーションである。また、(b)は GaAs [011] の STEM-HAADF のシミュレーションである。STEM 像の場合は破線で示した単位胞のうち、実線で示した領域を計算し、対称性で拡張することにより計算時間を短くしている。

3. HREM-Filters Pro

画像に周期構造があるが S/N 比が悪い、あるいは非晶質などの非周期構造のノイズにより周期構造が見えにくいような場合に周期構造を強調 (抽出) する常套手段は、フーリエ空間におけるフィルターである。すなわち、画像のフーリエ変換を行い結晶性に由来する周期的なスポット近辺を通過させるマスクを掛けて逆フーリエ変換をすることである。このときに、信号をノイズから分離するのに結晶性に由来するスポ

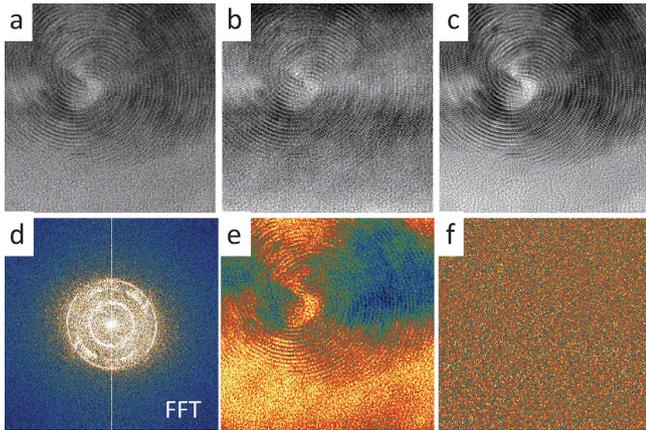


図2 Wiener フィルター.
(a), (d) 粘度鉱物 crysotile の TEM 像とそのフーリエ変換, (b), (e) 通常の Wiener フィルター像と元画像との残差, (c), (f) Local Wiener フィルター像と元画像との残差. (オンラインカラー)

ットがノイズより優位に大きいことを利用するのが Wiener フィルターである. 結晶性に由来するスポットの振幅は結晶領域の大きさに比例するので, できるだけ大きな領域を一度にフーリエ変換するのが一般的である⁽⁵⁾. しかし, ここで界面を含む2つの結晶領域が写っている電顕像の場合を考えてみる. その画像全体をフーリエ変換すると2つの結晶領域からのスポットが同時に現れる. そして, 一方の領域からのスポット位置には他方の領域からのノイズが現れる. この場合, 2つの結晶領域からのスポットを通過させるようなマスクを掛けると, ノイズの一部が通過してしまう.

図2(a)はこの極端な場合の TEM 像で, スパイラルな構造をもつ粘度鉱物 crysotile の例(データ提供: 東京大学小暮先生)である. そのフーリエ変換は(d)に示すように周期性に由来するスポットが同心円上に現れる. この TEM 像を通常のように全域をフーリエ変換して Wiener フィルターを作用させた結果を(b)に示す. (e)は元画像とフィルター像との差で, 元画像のスパイラルな構造が顕著に残っている. しかし, このような画像でも小さな領域内では近似的に単一方向の結晶だと仮定できる. (c)は元画像を小さな領域(ここでは128×128画素)に分けて Wiener フィルターを作用させ, 結果をつなぎ合わせたものである. この処理では殆どの周期構造を抽出しているので, (f)に示すように元画像との差には構造が現れていない. この処理を我々は Local Wiener フィルターと呼んでいる. Local Wiener フィルターは微結晶が非晶質内に析出しているような試料にも有用な手法である.

4. DeConvEELS と DeConvHAADF

これらのプラグインは観測データ $o(x)$ が装置関数(カーネル) $k(x)$ と理想的な未知関数 $i(x)$ のコンボリューション

$$o(x) = \int i(x-t)k(t)dt \equiv i(x) \otimes k(x)$$

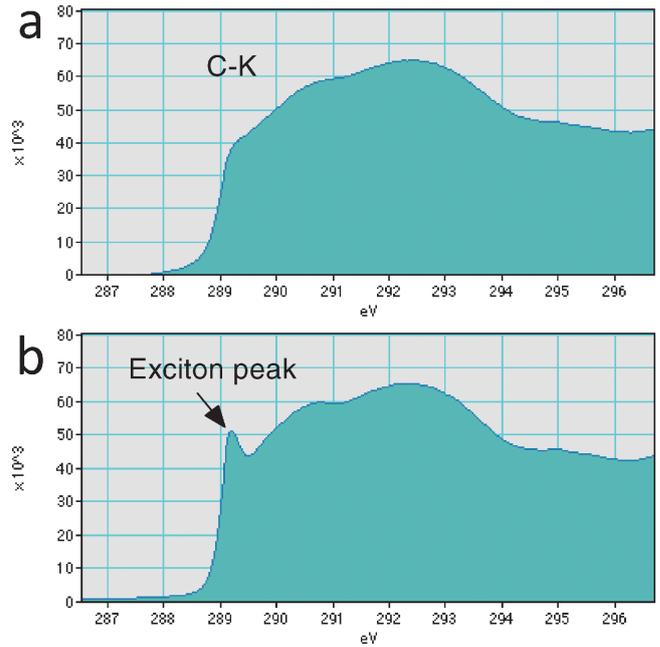


図3 電子線エネルギー損失スペクトル(EELS)のデコンボリューション. (a) ダイヤモンドの C-K 端の EELS, (b) デコンボリューションによりゼロロスの影響を除去した結果. (オンラインカラー)

で表される場合に, 装置関数を用いて未知関数を観測データから推定する. 簡単なデコンボリューションの実装ではコンボリューションがフーリエ空間ではフーリエ変換の積になることを利用する: $O(\xi) = I(\xi) \cdot K(\xi)$. ここで関数 $F(\xi)$ は関数 $f(x)$ のフーリエ変換をあらわし, ξ は x の共役変数である. すると, $i(x)$ は $I(\xi)$ の逆フーリエ変換で求まる:

$$i(x) = FT^{-1}(I(\xi)) = FT^{-1}(O(\xi)/K(\xi))$$

しかし, この単純なデコンボリューションでは観測データにノイズが含まれている場合にノイズの増幅が起こる: $(O(\xi) + N(\xi))/K(\xi) = O(\xi)/K(\xi) + N(\xi)/K(\xi)$. 弊社のデコンボリューションのプラグインではこのようなフーリエ空間での割り算を行わずに, 推定関数 $e(x)$ と装置関数とのコンボリューション, $e(x) \otimes k(x)$, が観測データに近づくように繰返し推定関数を更新し, 未知関数を推定する. この推定関数を変化させる方法として以下の2つの方法を実装している: (1) 観測データと推定関数から予想される結果との残差を小さくしながら推定関数のエントロピーを最大にする最大エントロピー(Maximum Entropy)法⁽⁶⁾; (2) Hubble 宇宙望遠鏡の収差補正で有名になったベイズ推計に基づく Richardson-Lucy 法⁽⁷⁾.

図3は DeConvEELS の例である. ここで(a)はダイヤモンドの C-K 端の電子線エネルギー損失スペクトル(EELS)であり, 不純物がつくる励起子による影響が肩のように現れている(データ提供: ルトガー大学 Phil Batson 氏). このスペクトルに対してゼロロスを装置関数として最大エントロピー法を適用することにより, (b)に示す不純物がつくる励起子(exciton)のピークが鮮明に現れる.

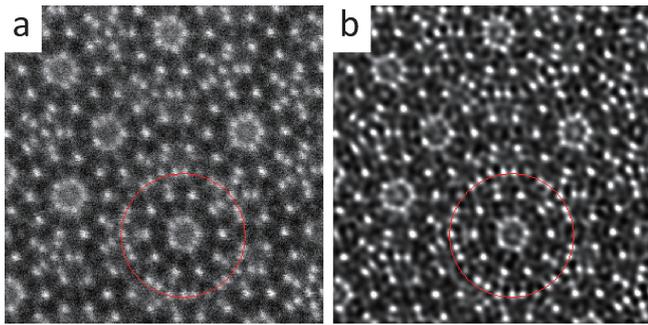


図4 STEM-HAADF 像のデコンボリューション。
(a) 準結晶の収差補正 STEM-HAADF 像, (b) デコンボリューションにより有限プローブの影響を除去した結果。(オンラインカラー)

図4はDeConvHAADFの例で、(a)は収差補正電顕で得られた準結晶のSTEM-HAADF像である(データ提供: 東京大学阿部先生)。STEM-HAADFの装置関数であるPSF(Point Spread Function)を観測することは容易ではないので、PSFは結像光学系のパラメータより理論計算したものを使用している。収差補正電顕といえどもPSFには光源には広がりがあり、またエネルギー広がりによるボケもある。(b)はデコンボリューションによりこれらの効果を除去することによってより得られたより鮮明なHAADF像である。通常の電顕では球面収差によるプローブの広がり補正されてより鮮明な像を得ることができる。推定関数はスムーズであるので、観測データのノイズを同時に低減することが可能である。

5. MSA

STEMの各走査点から得られるスペクトル(SIデータ)は試料内に含まれる原子種からの寄与であり、各スペクトルは各元素からのスペクトルの線形結合で表されるであろう。MSAは多変量解析(Multivariate Statistical Analysis)をSIデータに対して行うプラグインで、実際には多変量解析のうちの主成分分析(PCA: Principal Component Analysis)⁽⁸⁾を行う。PCAは数学的に小数の成分(ローディング: Loading)で全スペクトルを表現しようとするもので、求めた主成分(PC)で元データを再構成したものは、量子ノイズが劇的に減少する。しかし、このPCは抽象的成分(Abstract Component/Mathematical Component)と呼ばれ、各PCのローディングは構成元素のスペクトルには対応しない。PCAの使い方としては小数のPCでデータを再構成してランダムノイズを減少させ、その後、再構成データを既存の手法で解析するときの補助として使うべきである。PCAの手法は定着して来たようであるが、最近、その使用方法に警鐘を鳴らす報告が幾つか現れている。これはPCAといえども万能ではなく、抽出したい信号がノイズレベルに近くなると問題が発生することを示している。

PCAでは同時に処理するスペクトルの本数が多いほどよ

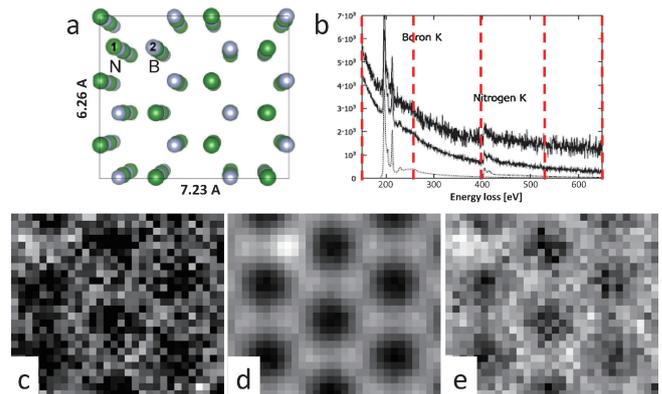


図5 BNのモデルデータに対するローカルPCA処理。
(a) モデル構造: 緑色(1)はN, 灰色(2)はB, (b) 計算されたスペクトルと(e)で使用したスペクトルの分割, (c) 生のスペクトルから求めたNの元素マップ, (d), (e) 通常のPCAとスペクトル分割PCAで再構成したスペクトルから求めたNの元素マップ。(オンラインカラー)

り正確なPCが得られると考えられている。この考えはWienerフィルターでより広い領域を処理することにより結晶性スポットを強調したいという考えに類似のものである。しかし、弱い信号をノイズの中から抽出するのは大きな藁の山から小さな針を見つけることに喩えられる。そして、藁の山が小さくなれば針を見つけることは容易になるであろう。すなわち、PCAを行うデータサイズを小さくすれば、ローディングの精度は下がっても、求めたい信号の抽出は容易になる(空間分割PCA: Spatial local PCA)。これはLocal Wienerフィルターの場合と良く似ている発想の転換である。

また、PCAでは個々のPCの寄与(スコア: Score)は各スペクトルに対して一意に決定される。そして、観測スペクトルの強度の強い部分がスコアを左右する。すなわち、EELSなどでは、強度の強い低エネルギーロス部分が各PCのスコアを決定することになる。図5(a)はPCAの使用に警鐘をならした論文⁽⁹⁾のモデル構造である。モデルはBNで個々の原子コラム位置にB, Nが2個ずつ存在し、左上の2つのコラムにB, Nが1個ずつ余分についている。(b)は計算されたスペクトルで、低エネルギー側のBの信号が大きい。(c)は計算された生のスペクトルから求めたNの元素マップ(Elemental map)である(データ提供: アントワープ大学Jo Verbeeck氏)。PCAが理想的に行けばNの元素マップでは、余分のNの存在するところは他のN位置に比べ1.5倍の強度になるはずである。しかし、(d)に示すように通常のPCAでは、SNが悪いデータではBが余分にある位置のNの強度が強くなった。しかし、このデータを(b)で示すようにスペクトル分割PCA(Spectral local PCA)で処理すると(e)に示すように正しいNの濃度を示すようになる。すなわち、N部分の領域のスコアの決定にBの寄与が小さくなり、分割されたスペクトルのローディングの決定にBの影響が弱くなったからである。(e)の元素マップでは元データからの元素マップ(c)に比べNが鮮明になっているが、通常

