

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2017年9月21日(21.09.2017)



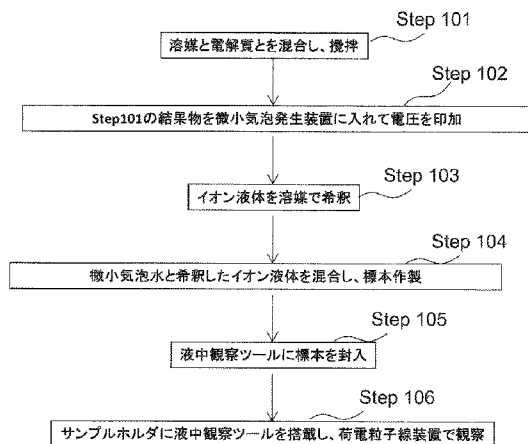
(10) 国際公開番号
WO 2017/158806 A1

- (51) 国際特許分類:
G01N 23/04 (2006.01) G01N 23/225 (2006.01)
G01N 1/28 (2006.01) H01J 37/20 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2016/058622
- (22) 国際出願日: 2016年3月18日(18.03.2016)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (71) 出願人: 株式会社 日立ハイテクノロジーズ
(HITACHI HIGH-TECHNOLOGIES CORPORATION) [JP/JP]; 〒1058717 東京都港区西新橋一丁目2番14号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者: 仲野 靖孝 (NAKANO Kiyotaka); 〒1058717 東京都港区西新橋一丁目2番14号
株式会社 日立ハイテクノロジーズ内 Tokyo (JP). 中澤 英子 (NAKAZAWA Eiko); 〒1058717 東京都港区西新橋一丁目2番14号 株式会社 日立ハイテクノロジーズ内 Tokyo (JP).
- (74) 代理人: 戸田 裕二 (TODA Yuji); 〒1008220 東京都千代田区丸の内一丁目6番1号 株式会社日立製作所内 Tokyo (JP).
- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ユーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR),

[続葉有]

(54) Title: SPECIMEN OBSERVATION METHOD

(54) 発明の名称: 標本の観察方法



【図1】

Step 101 Mix and stir solvent and electrolyte
Step 102 Place product obtained from Step 101 in microbubble generator and apply voltage
Step 103 Dilute ionic liquid with solvent
Step 104 Mix diluted ionic liquid with microbubble water, and prepare specimen
Step 105 Encapsulate specimen in in-liquid observation tool
Step 106 Mount in-liquid observation tool on sample holder, and observe with charged particle beam apparatus

(57) Abstract: Charged particle beam apparatuses such as scanning electron microscopes and transmission electron microscopes are known as specimen observation apparatuses. After extensive investigation, the inventors of the present invention identified the problem that a contrast level sufficient for enabling an operator to identify microbubbles is not achieved in a charged particle beam image of a liquid subjected to a bubble-generating treatment. The inventors discovered a phenomenon in which a contrast level sufficient for enabling an operator to identify microbubbles is achieved in a charged particle beam image of a specimen including a liquid and an ionic liquid subjected to a bubble-generating treatment. One of the features of the present invention is the use of this phenomenon. According to the present invention, bubbles in a liquid, for example, microbubbles, can be observed.

(57) 要約: 標本を観察する装置としては走査型電子顕微鏡や透過型電子顕微鏡に例示されるいわゆる荷電粒子線装置が考えられる。本願の発明者らが鋭意検討したところ、気泡を発生させる処理を施した液体の荷電粒子線像には作業者が微小気泡を特定できる程度のコントラストが現れないという課題を見出した。本願の発明者らは、気泡を発生させる処理を施した液体とイオン液体とを含む標本の荷電粒子線像には作業者が微小気泡を特定できる程度のコントラストが現れる現象を見出した。本発明はこの現象を利用することを1つの特徴とする。本発明によれば、液中の気泡、例えば微小気泡を確認することが可能となる。

WO 2017/158806 A1



OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告 (条約第 21 条(3))

明 細 書

発明の名称： 標本の観察方法

技術分野

[0001] 本発明は標本の観察方法に関する。特に本発明はイオン液体、及び荷電粒子線装置を使用した観察方法に関する。例えば、本発明はイオン液体を使用して液体を観察する方法に関する。

背景技術

[0002] 近年、気泡、特に微小な径を有する気泡（以降、微小気泡と称する）がその産業応用範囲の広さから注目されている。その応用範囲は非常に広く、例えば、殺菌、洗浄、植物の成長促進といった用途が挙げられる。気泡の作成手法は様々な手法が提唱されており、その一例としては特許文献1が挙げられる。

先行技術文献

特許文献

[0003] 特許文献1：特開2011-157580

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0004] 標本を観察する装置としては走査型電子顕微鏡や透過型電子顕微鏡に例示されるいわゆる荷電粒子線装置が考えられる。本願の発明者らが鋭意検討したところ、気泡を発生させる処理を施した液体の荷電粒子線像には作業者が気泡、例えば微小気泡を特定できる程度のコントラストが現れないという課題を見出した。

課題を解決するための手段

[0005] 本願の発明者らが鋭意検討した結果、気泡を発生させる処理を施した液体とイオン液体とを含む標本の荷電粒子線像には作業者が気泡、例えば微小気泡を特定できる程度のコントラストが現れる現象を見出した。本発明はこの現象を利用することを1つの特徴とする。

[0006] 例えば、本発明は気泡を発生させる処理を施した液体とイオン液体とを含む標本を荷電粒子線装置、例えば電子顕微鏡で観察することを1つの特徴とする。

発明の効果

[0007] 本発明によれば、液中の気泡、例えば微小気泡を確認することが可能となる。例えば、本発明によれば液体標本を凍結させることなく微小気泡を確認することが可能となる。例えば、本発明を利用し動画を撮影するなら、微小気泡の時間に対する変化を分かりやすく観察することが可能となる。

図面の簡単な説明

[0008] [図1]実施例1のフローチャート。

[図2]イオン液体と微小気泡との相互作用を説明する図。

[図3]微小気泡発生装置を説明する図。

[図4]サンプルホルダ301を説明する図。

[図5]液中観察ツールの概略図。

[図6]液中観察ツールの詳細を説明する図。

[図7]液中観察ツールに標本を封入するフロー。

[図8]透過型電子顕微鏡を説明する図。

[図9]試料405として液中観察ツール45を搭載したマイクログリッド511を観察する場合を説明する図。

[図10]表示画面を説明する図。

発明を実施するための形態

[0009] 以降、本発明の実施例を図面を用いて説明する。以降の説明は例示である。以降の説明から任意の特徴を選択すること、削除すること、他の特徴と置換すること、他の特徴と組み合わせることも本明細書の開示の範囲内である。

実施例 1

[0010] 図1は本実施例のフローチャートを説明する図である。まず、溶媒（例え

ば超純水)と電解質とを混合し、攪拌する(ステップ101)。攪拌は作業者が手動で行っても良いし、攪拌機を使用してもよい。

[0011] 次に、ステップ101の結果物に対して、所定の処理を行う。この所定の処理は、微小気泡発生処理と称呼することができる。微小気泡発生処理は後述する微小気泡発生装置にステップ101の結果物を投入し、電圧を印加することで行う(ステップ102)。ステップ102により超純水と電解質との混合液中には気泡、例えば微小気泡が含まれることになる。以降、ステップ102の結果物を微小気泡水と称する。

[0012] 微小気泡は例えばファインバブル、ウルトラファインバブル、マイクロバブル、ナノバブル、マイクロナノバブルと称呼される場合もある。ファインバブルとは、例えば気泡径が数10ミクロン以下の気泡と表現することができる、より具体的には例えば気泡径が1ミクロン以下の気泡と表現することもできる。特に気泡径が1ミクロン以下のファインバブルはウルトラファインバブルと表現することもできる。

[0013] 次に、イオン液体を溶媒(例えば超純水)で希釈する(ステップ103)。ここでイオン液体について説明する。イオン液体とは例えば、常温で液状であり、イオンを含む液体と表現することができる。イオン液体は真空中で全く蒸発しないか、ほとんど蒸発しない。イオン液体は例えばカチオン、及びアニオンを含む場合もある。イオン液体は親水性である場合もあれば、疎水性である場合もある。なお、ステップ103はステップ101、102と並行して行っても良い。

[0014] 次に、微小気泡水とステップ103によって希釈されたイオン液体とを混合し、標本を作成する(ステップ104)。

[0015] 次に、ステップ104で作成した標本を液中観察ツール(詳細は後述)に封入する(ステップ105)。

[0016] 次に、標本を封入した液中観察ツールをサンプルホルダに搭載し、荷電粒子線装置のチャンバーに投入し、画像を得る(ステップ106)。荷電粒子線装置としては、例えば、透過型電子顕微鏡(以降、TEMと称する)が考

えられる。また、走査透過型電子顕微鏡（以降、STEMと称する）、走査型電子顕微鏡（以降、SEMと称する）といったその他の荷電粒子線装置も使用し得る。ステップ106は例えば、気泡を発生させる処理を施した液体とイオン液体とを含む標本の荷電粒子線像を得る撮像工程と表現することができる。

[0017] イオン液体を使用しない標本のTEM像では微小気泡を示す領域は現れない。一方、イオン液体を使用した標本のTEM像中には微小気泡を示す領域が現れる。この現象は再現性を有する。この領域はその周囲よりも暗い領域であり、その形状は実質的な点や円である。このようにイオン液体を使用した標本のTEM像で微小気泡を示す領域が確認できる理由は、イオン液体と微小気泡との相互作用の結果、イオン液体と他の物質との分子量の大小がコントラストの差として現れるからである。イオン液体と微小気泡との相互作用とは、例えば図2に示すように標本21の内部で微小気泡22の表面にイオン液体23が吸着する場合（図2(a)）、及びイオン液体23が微小気泡22を置換する場合（図2(b)）の少なくとも1つが考えられる。

[0018] ここで、ステップ101の詳細について説明する。電解質は炭酸イオン、重炭酸イオン、硝酸イオン、硫酸イオン、塩化物イオン、過塩素酸イオン、水酸イオン、ナトリウムイオン、カリウムイオンの少なくとも1つを含みえるが、その他の公知の電解質も採用し得る。その濃度範囲は任意の範囲を採用し得る。一例として、濃度範囲は0.1～1000mMである場合もある。

[0019] 次に、ステップ102の詳細について説明する。図3はファインバブル発生装置を説明する図である。ファインバブル発生装置はステップ101の結果物である電解液を投入するための容器208、陽極202、陰極204、イオン交換膜205、ガス放出口206、取出口207、電源209を含む。

[0020] イオン交換膜205によって容器208は2室構造となり、電解液は電解液201、電解液203へ分割される。陽極202を含む側を陽極室と、陰極204を含む側を陰極室と表現することができる。陽極室、陰極室は電解

液を供給するための供給口を含む。イオン交換膜 205 は任意の材料を採用し得る。その一例としては、パーフルオロスルホン酸系材料を採用し得る。

[0021] 陽極 202 は任意の材料を採用し得る。その一例としては、ホウ素をドーピングした導電性ダイヤモンド触媒を採用し得る。

[0022] 陰極 204 は任意の材料を採用し得る。その一例としては、白金を採用し得る。

[0023] このような 2 室構造に対して通電を行うことによって、所定粒径の微小気泡、例えばオゾン微細気泡が陽極室に発生する。陰極室側では、水素ガスが発生する。微小気泡を含む電解液、つまり前述した微小気泡水は取出口 207 から取出される。

[0024] 微小気泡の生成方法は上記の通電方式(方式1)に限定されず、超音波を利用した方式(方式2)、旋回流を利用した方式(方式3)、加圧溶解方式(方式4)、微細孔を利用した方式(方式5)を任意に採用し得る。微小気泡は上述したように称呼や気泡径によって表現することが可能であるが、上述した方式1乃至5の少なくとも1つによって生成された気泡を微小気泡と表現することもできる。次に標本を封入するための液中観察ツールについて説明する。図4は後述する透過型電子顕微鏡用のサンプルホルダを説明する図である。サンプルホルダ301の先端に液中観察ツール45は存在する。

[0025] 図5は液中観察ツール45の概要を説明する図である。図4(a)に示すように液中観察ツール45は基板41、基板41を貫通するよう形成された空間44、空間44の開口を塞ぐよう配置される第1の観察窓42、及び第2の観察窓43を含む。第1の観察窓42、及び第2の観察窓43の少なくとも一つは取り外し可能である。また、第1の観察窓42、及び第2の観察窓43は荷電粒子に対して透明な材料で形成される。例えば、その材料としては窒化珪素が挙げられる。図4(b)に示すように標本は空間44に供給され、その後、第1の観察窓42で開口を塞ぐことで封止される。これにより、標本は液中観察ツール45内に封入されることになる。

[0026] 図6は液中観察ツール45を図5のZ方向から詳細に説明する図である。液

中観察ツール４５はベース５０１、第１のカバー５０６、第２のカバー５０８、及び第３のカバー５１０を含む。ベース５０１はネジ穴５０２、第１のリング５０３、電子線通過部５０４、及び第２のリング５０５を含む。第１のカバー５０５には観察窓５０７が形成される。第２のカバー５０８には観察窓５０９が形成される。観察窓５０７、及び観察窓５０９は荷電粒子線に対して透明な材料であり、例えば窒化珪素である。第３のカバー５１０は、開口５１１、及びネジ穴５１２を含む。電子線通過部５０４は開口、又は荷電粒子線に対して透明な材料である。

[0027] 第１のリング５０３の内側に電子線通過部５０４はある。第１のリング５０３は第２のリング５０５の内側にある。第１のカバー５０６は第２のカバー５０８より小さく、第２のカバー５０８は第３のカバーより小さい。

[0028] 図７は図６の液中観察ツールに標本を封入するフロー(図１のステップ１０５)を説明する図である。まず、ベース５０１に第１のカバー５０６を搭載し、第１のカバー５０６の上に標本を供給する(ステップ６０１)。より具体的には、第１のカバー５０６は第１のリング５０３は覆うが、第２のリング５０５の内側にあるよう配置される。さらに、観察窓５０７は電子線通過部５０４の内側にある。この状態で標本は第１のカバー５０６上に供給される。

[0029] 次に、第１のカバー５０６上に第２のカバー５０８を配置する(ステップ６０２)。より具体的には、第２のカバー５０８はネジ穴５０２の内側にあるよう配置される。さらに少なくとも観察窓５０９の一部の投影は観察窓５０７の一部と重なる関係にある。

[0030] 次に、第２のカバー５０８上に第３のカバー５１０を配置し、ネジ６０１で固定する(ステップ６０３)。この時、観察窓５０９は開口５１１の内側にある。ネジ穴５０２とネジ穴５１２は一致する位置関係にあり、ネジ６０１によってベース５０１に第３のカバー５０８を固定することが可能となる。

[0031] 観察窓509が図5の第1の観察窓42、観察窓507が図5の第2の観察窓43の機能を有することになる。よって、観察窓509へ供給された荷電粒子は封入された標本に到達し、標本を透過した荷電粒子は観察窓507を経由して液中観察ツール45の外に射出される。この標本を透過した電子を後述する検出器やカメラで検出することで荷電粒子線画像を得ることができる。

[0032] このような液中観察ツールは例えば、荷電粒子線装置の真空チャンバー内にあっても標本を液体のまま保持し、荷電粒子線が透過可能であり、前記標本からの電子が透過可能な容器であると表現することができる。液中観察ツールは本実施例に限定されず、任意の構造を採用し得る。

[0033] 液中観察ツールはいわゆるその場観察(in-situ観察)に利用される場合もある。in-situ観察は標本にエネルギーを印加しながら行う観察や標本の時間に対する変化を捕捉する観察と表現することができる。in-situ観察を行う場合、液中観察ツールはその場観察機構を含む。その場観察機構の例としては、例えば標本に電圧を印加する2つ以上の電極（電圧印加工程）、標本の温度を変更する温調機構（温度制御工程）、標本に液体やガスに例示される媒体を供給する供給源、及び配管（媒体供給工程）、及び標本を循環させるための流路を含む循環機構（循環工程）の少なくとも1つが使用され得る。電圧印加工程、温度制御工程、媒体供給工程の少なくとも1つであれば微小気泡の化学的な変化を観察することが可能となる。循環工程によれば微小気泡の移動を観察することが可能となる。in-situ観察を行う場合、微小気泡像を動画として取得するなら、微小気泡の変化は作業者により理解しやすくなる。

[0034] 次に、標本を観察するための観察装置について説明する。観察装置の一例としては、荷電粒子線装置、例えば、透過型電子顕微鏡が挙げられる。図8は本実施例の透過型電子顕微鏡を説明する図である。

[0035] 電子銃401から照射される電子ビームは、高電圧制御部402によりON/OFFや強度などの制御が行われる。電子銃401から照射された電子ビームは、レンズ403によって集束され、偏向コイル404によって電子

ビームの試料面上での位置を調整される。その結果、試料４０５表面の任意の位置に電子ビームが照射されることになる。

[0036] レンズ４０３および偏向コイル４０４はそれぞれレンズ制御部４０７および偏向コイル制御部４０８によって制御される。

[0037] TEM像は蛍光板４１０上に結像される。この蛍光板４１０を電子ビームが完全にあたらない位置に移動させることにより、その下のカメラ４１２内のフィルム４１３上にTEM像が結像され、TEM像を取得することができる。このカメラ４１２はカメラ制御部４１４によって制御されている。カメラ４１２はフィルムを使用したカメラに限定されず、カメラ４１２はフィルムの代わりにCCDやCMOSに例示される撮像素子を利用したデジタルタイプのカメラも含む。

[0038] 次に、走査像観察機能(STEM機能)を使用する場合について説明する。この場合、電子ビームは、レンズ４０３によって細く集束され、更に偏向コイル４０４によって偏向される。その結果、試料４０５上の所望の二次元領域が電子ビームによって走査される。試料４０５へ電子ビームを照射すると透過電子、二次電子や散乱電子等が発生する。試料を透過した透過電子、試料４０５から発生した二次電子や散乱電子等を検出器で検出することで、透過電子像、二次電子像、散乱電子像を取得することができる。このとき、発生した散乱電子は、試料下部にあるレンズ４０３によって散乱角を制御され常に円環状の暗視野走査像検出器４０９に散乱電子が入るように調整される。取得された像はそれぞれの制御部に供給される。電子ビームの走査に同期した走査像(暗視野STEM像)はパーソナルコンピュータ４１５に表示される。

[0039] なお、制御部は制御アルゴリズムを保存したメモリ、アルゴリズムを実行するためのCPU、信号を送受信するI/Oインターフェースを含む。パーソナルコンピュータ４１５は画像を保存するメモリ、メモリからのデータの読み出しやメモリへのデータの書き込みといった所定の処理を行うCPU、マウス、キーボードに例示される入力部、ディスプレイに例示される出力部を

含む。

[0040] その他、本実施例の透過型電子顕微鏡は、明視野STEM像を取得するための明視野走査像検出器411、電子線量測定器421、インターフェース部417、on/offスイッチ422、鏡体冷却用水流418、鏡体冷却装置制御部419、外部記憶装置420を含む。電子線量測定器421は蛍光板410に照射された電子線量を計測するためのものである。フィルム413で撮影する画像は場合、電子線量測定器421を使用し、電子線量と露光時間を制御することで、所望の画像を得ることが可能となる。カメラ制御部414はカメラ412のシャッターを制御するものである。インターフェース部417は、全ての制御部とパーソナルコンピュータ415とを繋ぐものであり、バスやI/Oインターフェースを含む。on/offスイッチ422はメイン電源である。on/offスイッチ422をoffにすることで、装置を停止させることができる。鏡体冷却用水流418は鏡体を冷やすための冷却水の流路である。鏡体冷却装置制御部419は冷却水の流量(l/min)を制御するものである。

[0041] 外部記憶装置420は各制御部の情報、得られた画像を保存するための記憶媒体あり、パーソナルコンピュータ415内部のメモリよりも大容量の記憶媒体である場合もある。得られた画像、動画はパーソナルコンピュータ内415内部のメモリ、及び外部記憶装置420の少なくとも1つに保存することができる。パーソナルコンピュータ415内のCPUは得られた画像、動画に所定の画像処理を行うことができる。

[0042] 液中観察ツール45はサンプルホルダ301の先端に直接接続、又は形成することができるが、図9に示すように微小な開口の集合であるマイクログリッド511を介してサンプルホルダ301の先端に搭載することもできる。電子線801は観察窓42を通過し、標本へ到達する。標本を透過した透過電子802はマイクログリッド511中の開口、及び観察窓42の反対側の観察窓43を通過する。この透過電子802を検出することで標本のTEM像を取得することが可能となる。

[0043] 次に、微小気泡の寸法の評価について説明する。図10(a)はパーソナルコンピュータ415の出力部によって表示されるGUIを説明する図である。GUI901にはTEM像902が表示される。本実施例では、例えばTEM像902には微小気泡領域903、及び904が含まれるものとして説明する。作業者はポインタ907によって微小気泡領域903の任意の始点905から任意の終点906までの線分908を描画することができる。パーソナルコンピュータ415内のCPUは図10(b)のモデルに基づき線分908の標本上での長さを得る。得られた長さはウィンドウ910に表示される。同様の手順はファインバブル領域904に適用することができる。始点905、終点906の座標はポインタ907による選択から得ることができる。よって、L、Mを既知としておけば線分908の標本上での長さを得ることができる。このように、始点905の座標、終点906の座標、画素寸法に関する情報、倍率に関する情報から線分908の標本上での長さを得ることができる。もちろん図10(b)以外のモデルを利用することも本明細書の開示の範囲内である。

[0044] また、この手順を行わなくてもTEM像に付属するスケール912と微小気泡領域903、及び904とを作業者が目視で比較することでもファインバブルの寸法を得ることが可能である。

[0045] なお、動画を取得した場合は、タイムスケール911を表示することができる。タイムスケール911は動画撮像時間を意味している。ポインタ907でバー913を矢印912の方向へ移動することで、任意の撮像時刻を指定することができる。任意の撮像時刻が指定されるとCPUはメモリから指定された時刻のTEM像を読み出し、GUI901上に表示する。この動作により作業者は任意の時刻の微小気泡の寸法を評価することができる。もちろん、微小気泡の評価手法は上記の手法に限定されない。このように微小気泡の寸法を得る工程は例えば、荷電粒子像中の所定の領域の寸法を得る計測工程と表現することができる。

[0046] このように、本実施例ではイオン液体を利用することによって、液中の気

泡、例えば微小気泡を確認することが可能となる。より具体的には、標本を凍結させることなく、液中の微小気泡を確認可能な状態とすることができる。そして、この画像を利用することによって液中の微小気泡の寸法を評価することが可能となる。

[0047] ここで、イオン液体のバリエーションについて説明する。親水性のイオン液体の具体例として、テトラフルオロホウ酸 1-エチル-3-メチルイミダゾリウム、トリフルオロメタンスルホン酸 1-エチル-3-メチルイミダゾリウム、テトラフルオロホウ酸 1-ブチル-3-メチルイミダゾリウム、トリフルオロメタンスルホン酸 1-ブチル-3-メチルイミダゾリウム、臭化 1-ヘキシル-3-メチルイミダゾリウム、塩化 1-ヘキシル-3-メチルイミダゾリウム若しくは塩化 1-デシル-3-メチルイミダゾリウム等が挙げられる。

[0048] 疎水性のイオン液体としては、1-ブチル-3-メチルイミダゾリウム ビス（トリフルオロメタンスルホニル）イミド（BM1-TFSI）が挙げられる。

[0049] 以上、本発明の実施例について説明したが、本発明は実施例に限定されない。図1、図6の各ステップは全ステップが必須の関係にあるわけではない。荷電粒子線装置の構成は図8に限定されない。TEM像に例示される画像を連続的に取得することで動画を取得することも本明細書の開示の範囲内である。本発明は標本の作製や気泡の評価に幅広く適用可能である。気泡を含むであろう液体にイオン液体を適用する形態は本明細書の開示の範囲内である。気泡を含むであろう液体の画像中の所定の領域とその周囲の領域との境界を観察者が判別可能とする思想も本明細書の開示の範囲内である。

符号の説明

[0050] 201・・・電解液
202・・・陽極
203・・・電解液
204・・・陰極

205・・・イオン交換膜

206・・・ガス放出口、

207・・・取出口

請求の範囲

- [請求項1] 気泡を発生させる処理を施した液体とイオン液体とを含む標本の荷電粒子線像を得る撮像工程を含むことを特徴とする標本の観察方法。
- [請求項2] 請求項1に記載の観察方法において、
前記標本を荷電粒子に対して透明な部分を含む容器に封入する封入工程を含み、
前記封入工程は前記撮像工程の前に行われることを特徴とする標本の観察方法。
- [請求項3] 請求項1に記載の観察方法において、
前記イオン液体はカチオン、及びアニオンを含むことを特徴とする標本の観察方法。
- [請求項4] 請求項1に記載の観察方法において、
前記気泡はファインバブルであることを特徴とする標本の観察方法。
- [請求項5] 請求項1に記載の観察方法において、
前記荷電粒子線像中の所定の領域の寸法を得る計測工程を含み、
前記所定の領域はその周囲に比べて暗いことを特徴とする標本の観察方法。
- [請求項6] 請求項1に記載の観察方法において、
前記撮像工程は前記標本の動画を得る動画取得工程を含むことを特徴とする標本の観察方法。
- [請求項7] 請求項6に記載の観察方法において、
前記撮像工程は前記標本のその場観察工程を含むことを特徴とする標本の観察方法。
- [請求項8] 請求項6に記載の観察方法において、
前記その場観察は前記標本に電圧を印加する電圧印加工程を含む標本の観察方法。
- [請求項9] 請求項6に記載の観察方法において、

前記その場観察は前記標本の温度を変更する温度制御工程を含む標本の観察方法。

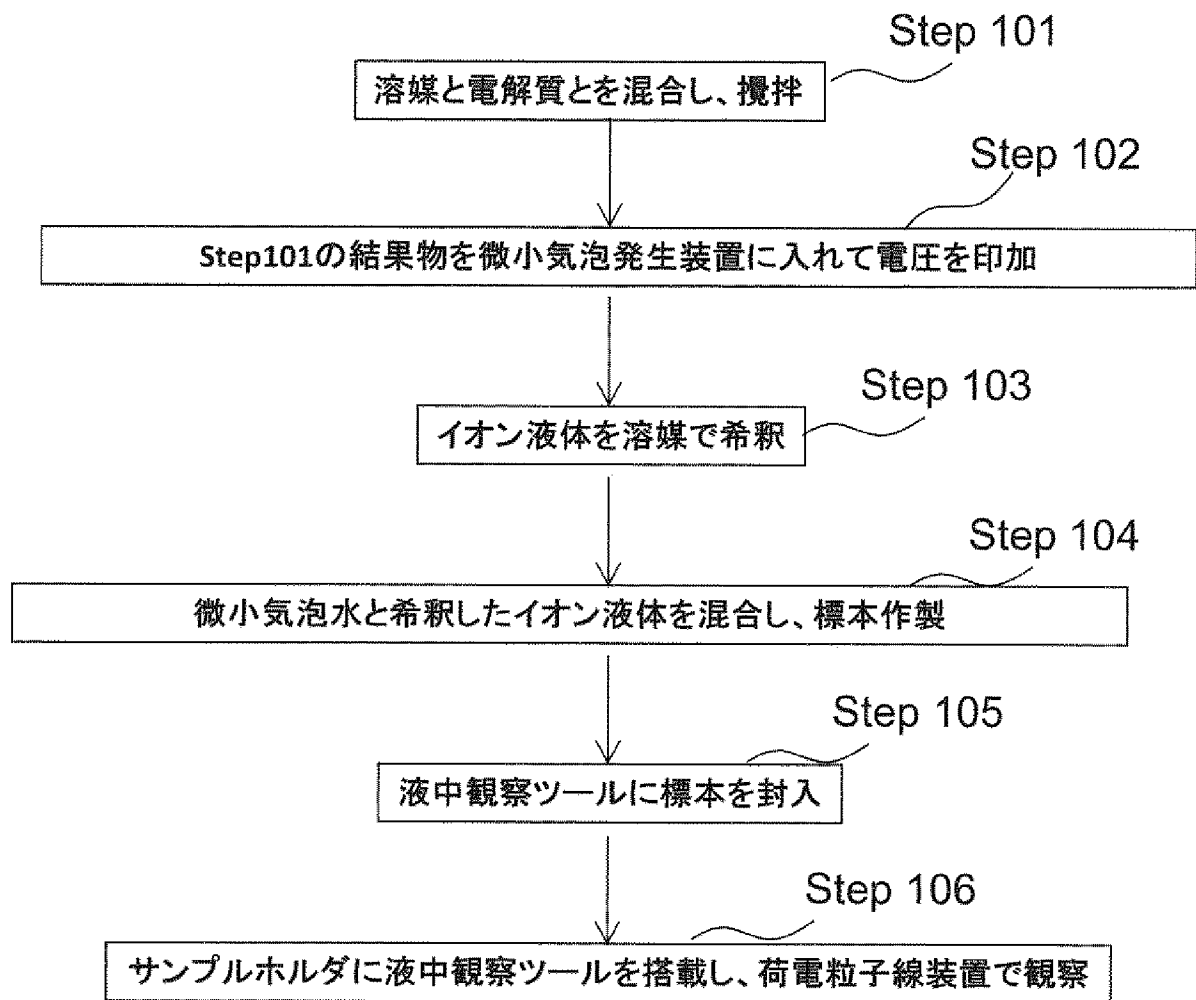
[請求項10] 請求項6に記載の観察方法において、
前記その場観察は前記標本へ媒体を供給する媒体供給工程を含む標本の観察方法。

[請求項11] 請求項6に記載の観察方法において、
前記その場観察は前記標本を循環させる循環工程を含む標本の観察方法。

[請求項12] 請求項1に記載の観察方法において、
前記荷電粒子線像は透過電子像であることを特徴とする標本の観察方法。

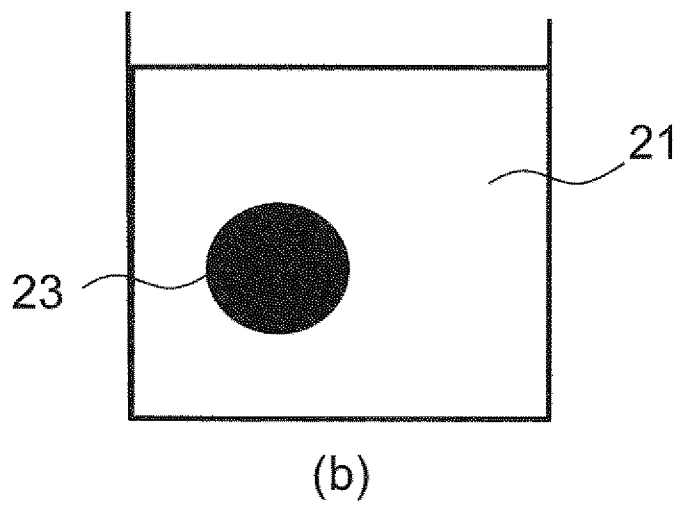
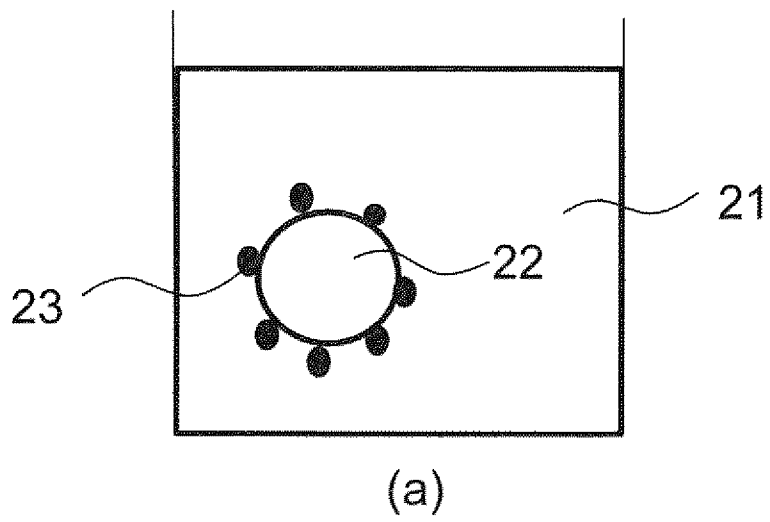
[請求項13] 請求項1に記載の観察方法において、
前記荷電粒子線像は走査電子顕微鏡像であることを特徴とする標本の観察方法。

【図1】



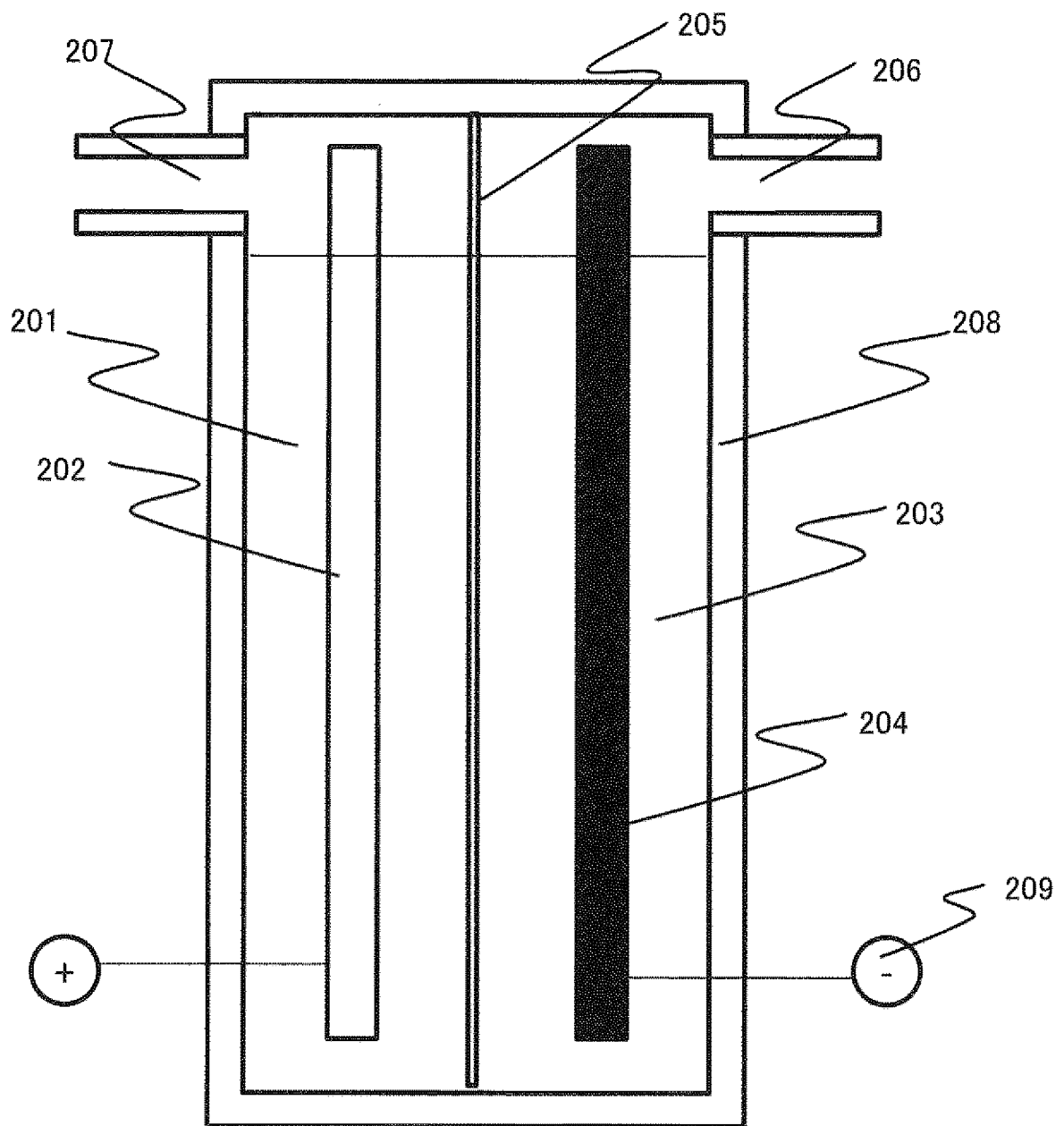
【図1】

[図2]



【図2】

[図3]



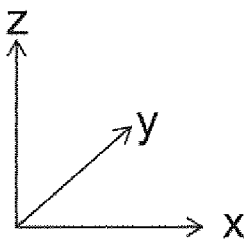
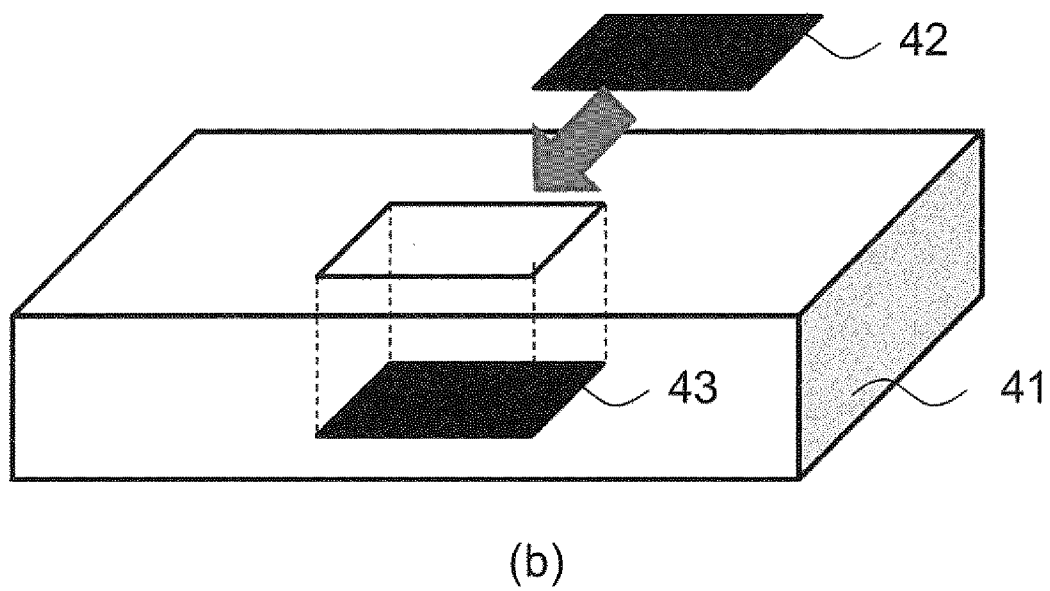
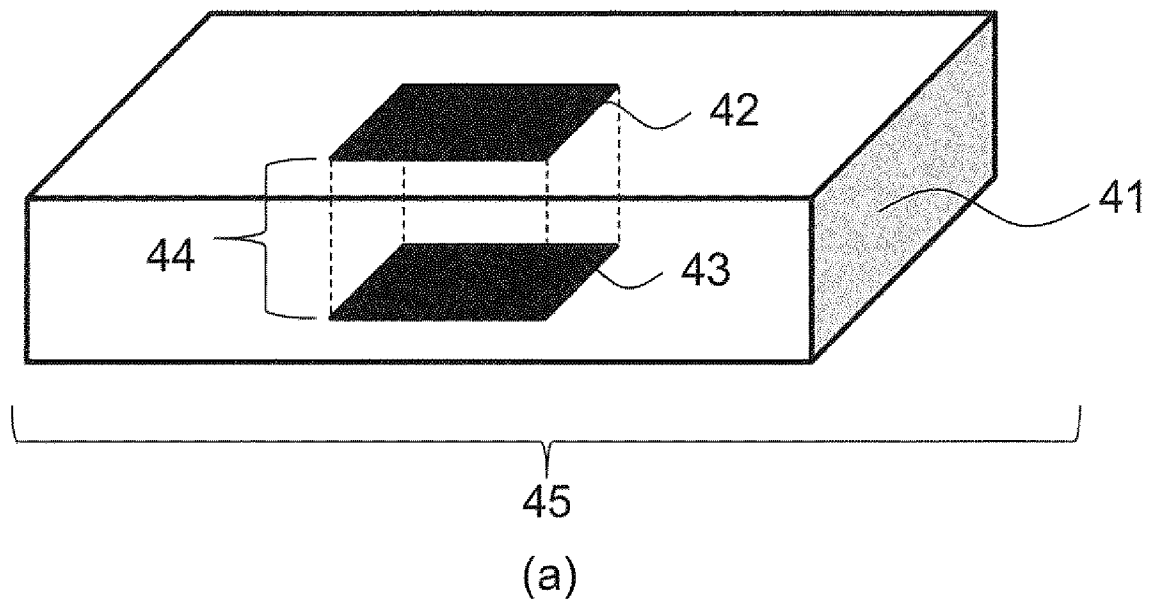
【図3】

[図4]



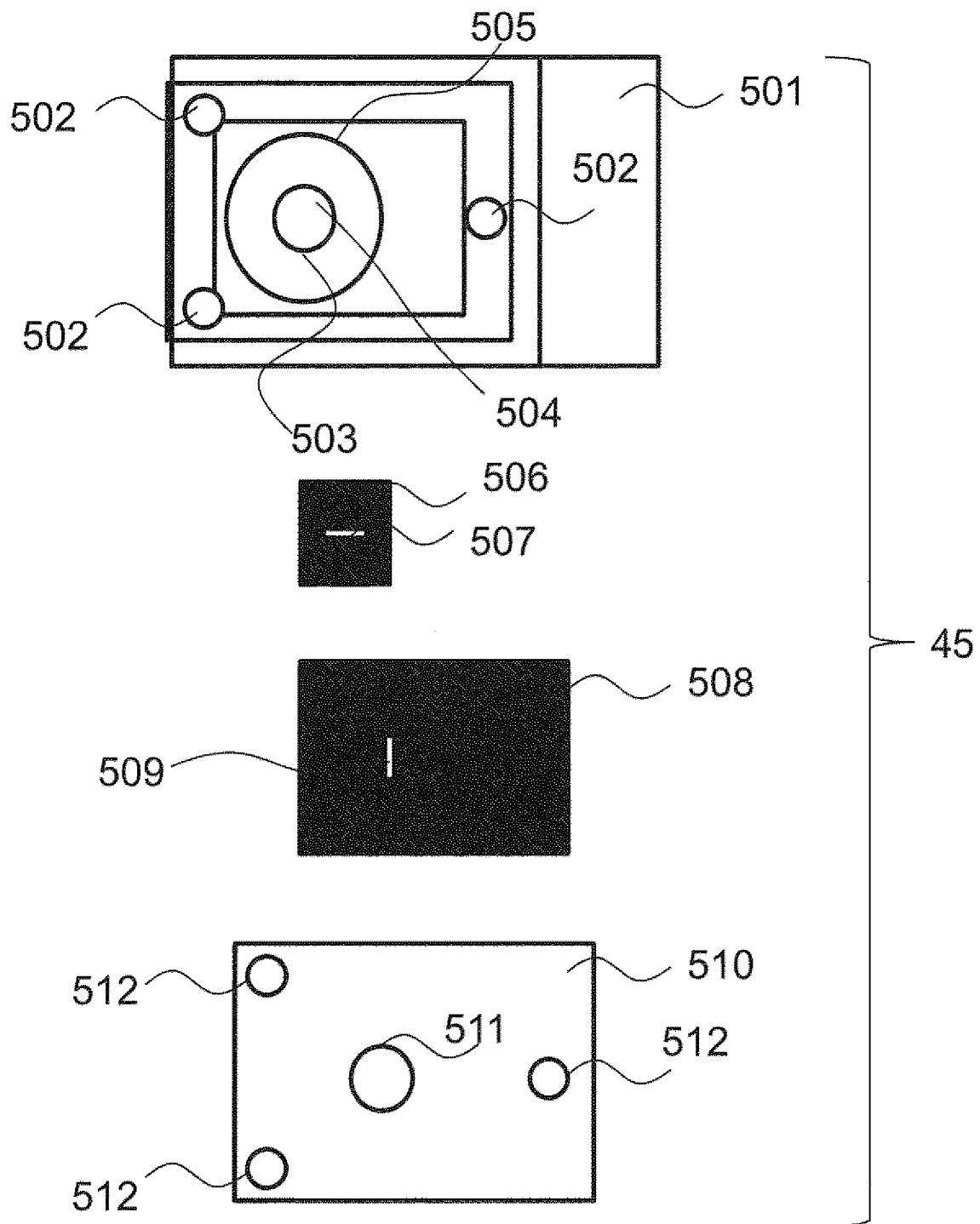
【図4】

[図5]



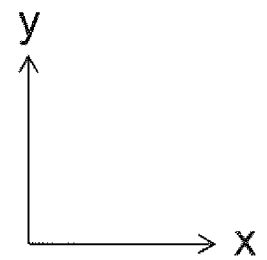
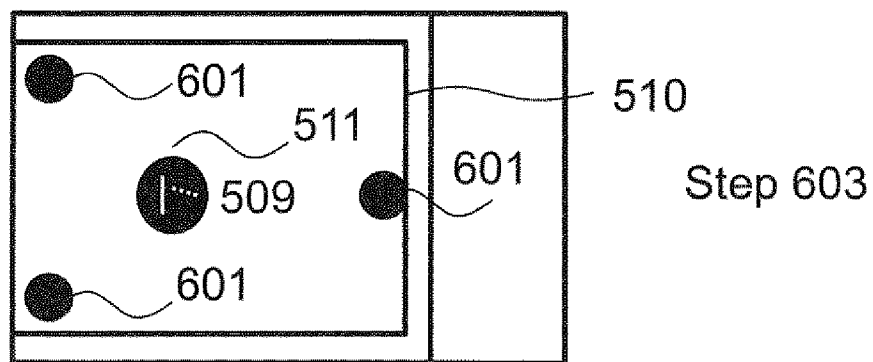
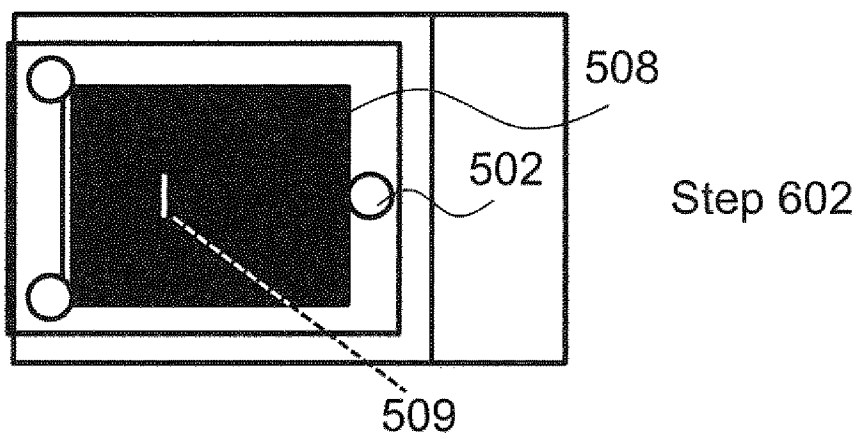
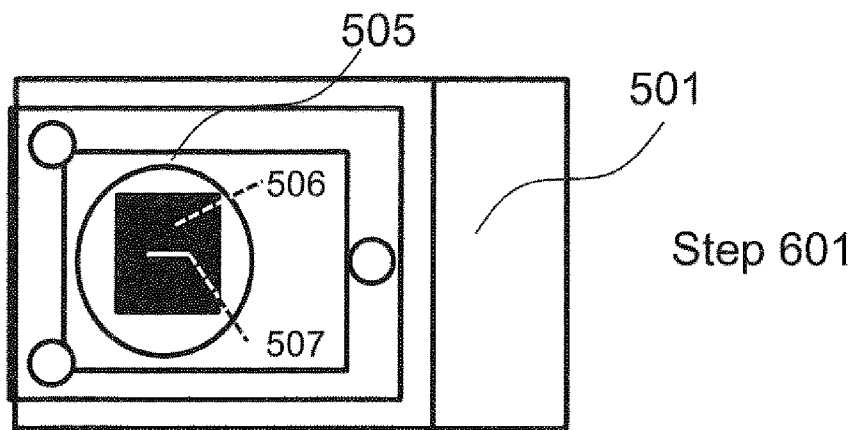
【図5】

[図6]



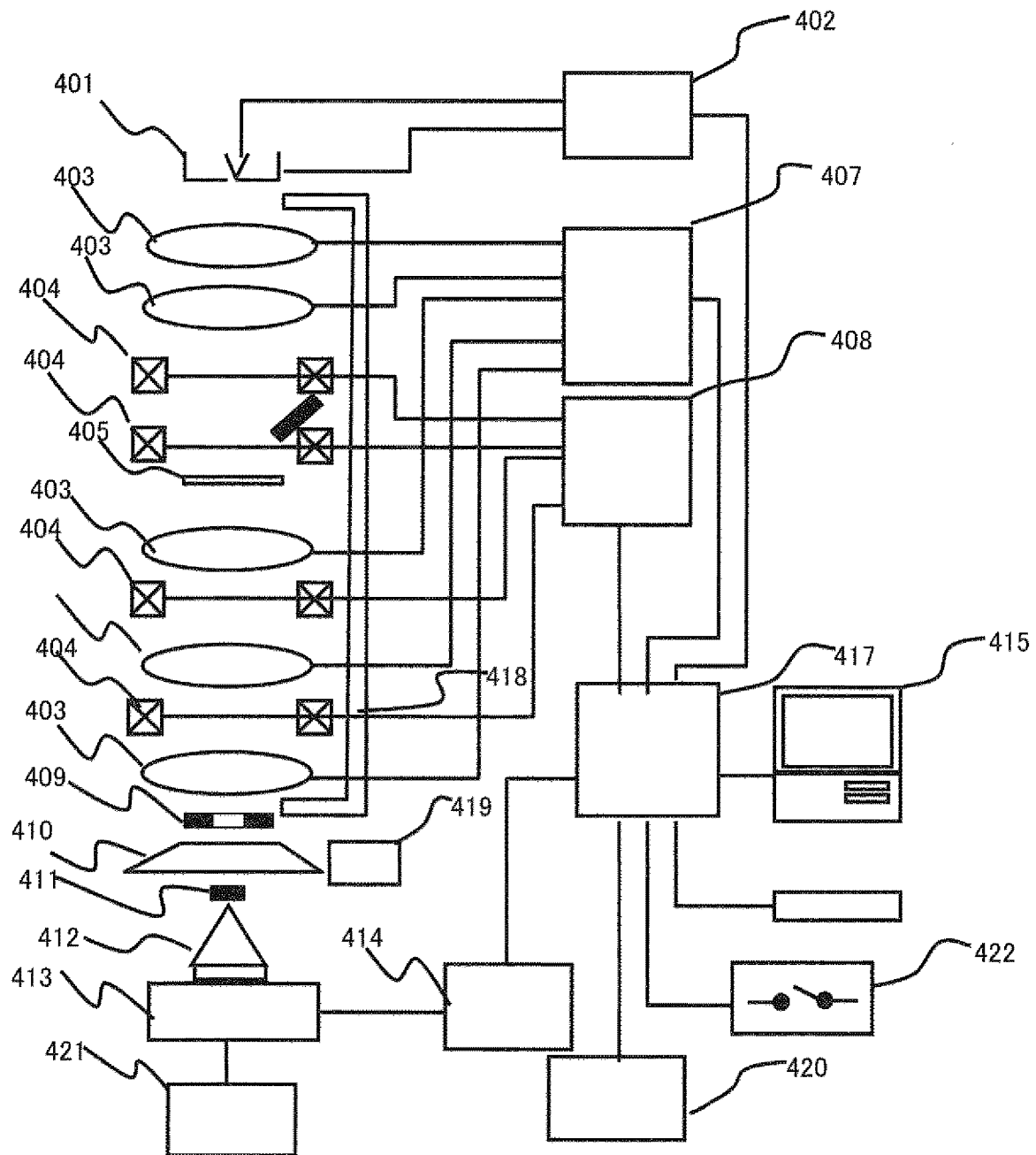
【図6】

[図7]



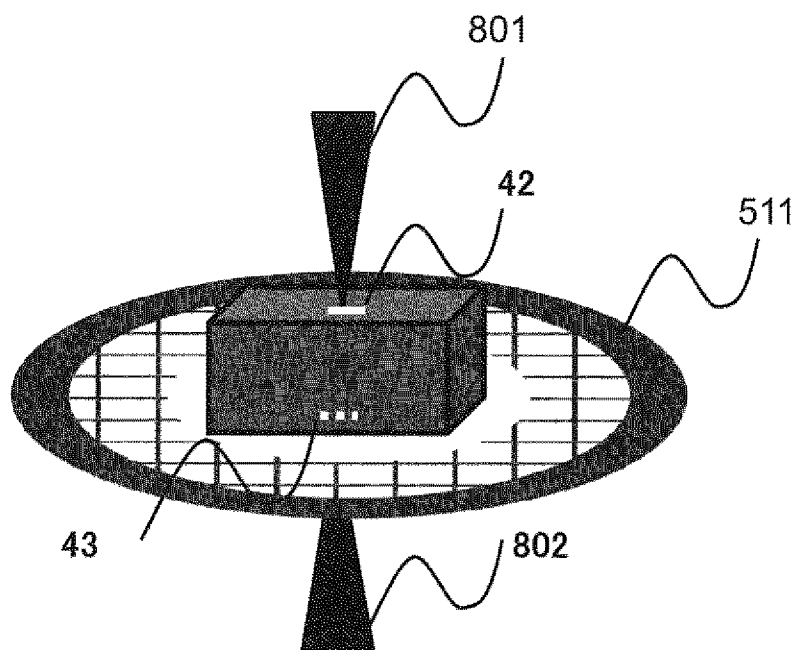
【図7】

[図8]



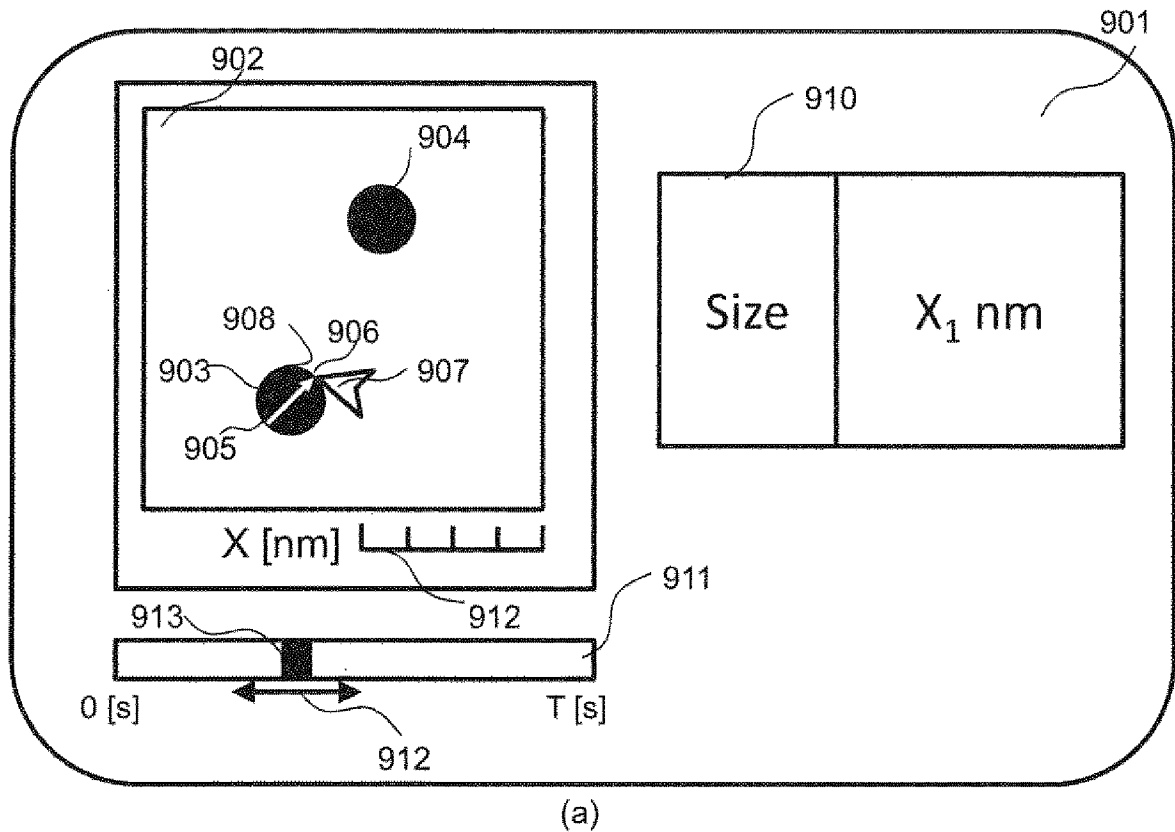
【図8】

[図9]



【図9】

[図10]



$$d = \frac{L}{M} \sqrt{(x_2 - x_1)^2 + (y_2 - y_1)^2}$$

d: 線分908の標本上での長さ, L:カメラ412の撮像面上での1画素の大きさ,

M: カメラ412上の撮像面での倍率

(x_1, y_1) : 始点905の座標, (x_2, y_2) : 終点906の座標

(b)

【図10】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2016/058622

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G01N23/04(2006.01)i, G01N1/28(2006.01)i, G01N23/225(2006.01)i, H01J37/20(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

G01N23/00-23/227, G01N1/00-1/34, H01J37/00-37/295, G01N15/00-15/14, G01B15/00-15/08

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2016
Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2016 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2016

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII), CiNii

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	Takanori NAKAYAMA et al., 'Observation of ionic liquid interface in a nanotube', The Japan Society of Mechanical Engineers Kyushu Branch Koen Ronbunshu, 17 March 2011 (17.03.2011), no.118-1, pages 261 to 262	1-13
E, A	JP 2016-95183 A (Osaka University), 26 May 2016 (26.05.2016), entire text (Family: none)	1-13



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

07 June 2016 (07.06.16)

Date of mailing of the international search report

21 June 2016 (21.06.16)

Name and mailing address of the ISA/

Japan Patent Office
3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku,
Tokyo 100-8915, Japan

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2016/058622

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 2009-266741 A (Hitachi High-Technologies Corp.), 12 November 2009 (12.11.2009), entire text & US 2011/0057100 A1 & US 2014/0264017 A1 & WO 2009/133842 A1 & EP 2273528 A1 & EP 2801998 A2	1-13
A	JP 3165429 U (Makoto YAMAGUCHI), 22 December 2010 (22.12.2010), entire text (Family: none)	1-13
A	US 2012/0120226 A1 (VANDERBILT UNIVERSITY), 17 May 2012 (17.05.2012), entire text (Family: none)	1-13

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（I P C））

Int.Cl. G01N23/04(2006.01)i, G01N1/28(2006.01)i, G01N23/225(2006.01)i, H01J37/20(2006.01)i

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料（国際特許分類（I P C））

Int.Cl. G01N23/00-23/227, G01N1/00-1/34, H01J37/00-37/295, G01N15/00-15/14, G01B15/00-15/08

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1 9 2 2 - 1 9 9 6 年
日本国公開実用新案公報	1 9 7 1 - 2 0 1 6 年
日本国実用新案登録公報	1 9 9 6 - 2 0 1 6 年
日本国登録実用新案公報	1 9 9 4 - 2 0 1 6 年

国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII), CiNii

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
A	中山教憲、外 3 名, 「100nm オーダーのチューブ内におけるイオン液体界面の観察」, 日本機械学会九州支部講演論文集 2011.03.17, No.118-1, p.261-262	1-13
E, A	JP 2016-95183 A (国立大学法人大阪大学) 2016.05.26, 全文 (ファミリーなし)	1-13

☒ C 欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日後に公表されたもの
「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の 1 以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

0 7 . 0 6 . 2 0 1 6

国際調査報告の発送日

2 1 . 0 6 . 2 0 1 6

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁（I S A / J P）

郵便番号 1 0 0 - 8 9 1 5

東京都千代田区霞が関三丁目 4 番 3 号

特許庁審査官（権限のある職員）

越柴 洋哉

電話番号 0 3 - 3 5 8 1 - 1 1 0 1 内線 3 2 5 8

2 W

4 4 6 2

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリ*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
A	JP 2009-266741 A (株式会社日立ハイテクノロジーズ) 2009.11.12, 全文 & US 2011/0057100 A1 & US 2014/0264017 A1 & WO 2009/133842 A1 & EP 2273528 A1 & EP 2801998 A2	1-13
A	JP 3165429 U (山口 誠) 2010.12.22, 全文 (ファミリーなし)	1-13
A	US 2012/0120226 A1 (VANDERBILT UNIVERSITY) 2012.05.17, 全文 (ファミリーなし)	1-13