

偏光顕微鏡のことを学ぼうと考えて偏光顕微鏡を扱った本を探すと鉱物系研究者によるものと生物系研究者によるものが見つかる*¹。その一方の鉱物系の本をながめると物体観察には低 NA の散光照明状態を用いることが推奨されている。もう一方の生物系の本では通常の検鏡と同様のケラー照明が標準となっている。そして、両者とも、ホットステージ中の試料観察については触れられていない。残念ながら市販の本では液晶の組織観察に適したシステムがどのようなものかは分からない。

適したシステムが分からなくても、とりあえず、ホットステージ中の試料にピントを合わせられる対物レンズさえあれば、組織観察はできる。そして、多くの場合は、それで十分なだけけれども、世の中には十分の先に興味がある人もいる。この章はそうした物好きのためのもので、それ故に趣味編とした。なお、前章では、21 世紀製造の研究用偏光顕微鏡を念頭に記述したが、本章は、現行製品ではない物も含めて顕微鏡全般を扱う。

1 光学顕微鏡の歴史

1.1 顕微鏡の発明時期

1 枚のレンズを用いて物体を拡大して見る虫眼鏡がいつ誕生したのかについてははっきりとした記録はない。13 世紀には虫眼鏡は存在していたと言われているが、記録に残っているのは 16 世紀になってからのようである。顕微鏡については 1590 年頃にオランダの眼鏡職人ヤンセンが 2 枚のレンズを組み合わせた複式顕微鏡を発明したのが記録に残っている*²。その後、接眼レンズにも凸レンズを用いるケプラー式望遠鏡と類似した光学システムの顕微鏡が現れ、さらに 1665 年にロバート・フックにより、中間に視野レンズを入れることにより、それ以前の顕微鏡に比べて遙かに視野の広い複式顕微鏡が開発された。ただし、この時代の顕微鏡対物レンズは凸レンズ 1 枚構成のため、色収差も球面収差もひどく解像度も倍率も高くはなかった*³。

*¹ 数的には鉱物系の本が圧倒的に多い。手持ちで生物系と言えるのは Randy Wayne の "Light and Video Microscopy" の偏光顕微鏡の章程度だ。

*² ただし、この時に発明された顕微鏡は、接眼レンズに凹レンズを使ったガリレオ式望遠鏡と類似した構成のもので、視野は狭く使いにくい物だった可能性があるとの指摘が光学機器大全（吉田正太郎：誠文堂新光社（2000）P487）にある。ガリレオ式望遠鏡の発明年は分からないが、同書によると、1608 年に出された特許が公知のものとして却下されているので、それよりは前である。

*³ ロバート・フックによる「ミクログラフィア」は顕微鏡による図版集。部分訳が仮説社よりオンデマンド版で発行されている。



図 1: 単式ポケット顕微鏡。右側の接眼レンズのようなものが顕微鏡本体。アイピースに見える部分に小さな凸レンズが組み込まれた単式顕微鏡で、拡大率は 40 倍、80 倍、120 倍の 3 種類が用意されている。本体のスリット部分にプレパラートを入れて観察する。

1.2 単式顕微鏡

ヤンセンにより発明されたものは複式顕微鏡であるが、これとは異なる単式顕微鏡も長らく使われていた。17 世紀には倍率、分解能とも複式顕微鏡よりは優れたものが製作されていた。単式顕微鏡の制作者かつ使い手として有名なのは、オランダのレーウェンフックで、彼が自作した顕微鏡には倍率が 250 倍でそれに対応した分解能の物もあると主張されている^{*4}。ブラウン運動を発見したブラウンが使っていた単式顕微鏡の倍率は 500 倍であったとされている。

1.3 複式顕微鏡の発達

複式顕微鏡の性能向上の第 1 歩は色消しレンズの使用である。色消しレンズ自体は 18 世紀に発明されているが、顕微鏡対物レンズに使われた最初の記録は 1808 年から 11 年にかけての Marzoli によるもので、1825 年に仏蘭西の光学会社である Chevalier により製品化され普及した。1830 年に Lister が^{*5}2 組の色消しレンズを使い、2 波長で色収差を

^{*4} 単式顕微鏡については「シングル・レンズ：単式顕微鏡の歴史」ブライアン・J. フォード、伊藤智夫 訳、法政大学出版局、1986.7 を参照。

^{*5} On Some Properties in Achromatic Object-Glasses Applicable to the Improvement of the Microscope, Joseph Jackson Lister, Phil. Trans. R. Soc. Lond. 1830 120, 187-200, published 1 January 1830

補正したアクロマート対物レンズ光学系に関する論文を発表し、1840年には Amici が対物レンズ前面に半球レンズを入れた高 NA、高倍率対物レンズを発表している。さらに同年に Amici は対物レンズ前面と試料間に水をいれることにより分解能が向上することを見いだしている*6。

Amici らの取り組みは半経験的なものだが、1873年に Abbe が顕微鏡分解能と対物レンズの NA の関係を明らかにし*7、1881年には球面収差とコマ収差の補正に関わるアッベの正弦条件を報告している*8。Abbe はまた蛍石を使って、可視領域の 3 波長で色収差を抑えたアポクロマートレンズの開発も行っている。19 世紀後半になり複式顕微鏡の分解能は単式顕微鏡を凌駕するようになり、研究用顕微鏡は複式顕微鏡へと完全にシフトした*9。

2 収差と収差補正

理想結像からの逸脱を収差と呼ぶ。収差には一つの波長でも発生する単色収差と、屈折率に波長依存性があるために発生する色収差がある。

2.1 単色収差

初等、中等教育におけるレンズの取り扱いでは、球面凸レンズにより平行光線は 1 点に集光する。 $\sin \theta = \theta$ という近似を行って球面凸レンズによる光路を作図すると平行光線は 1 点に収束する。 $\sin \theta = \theta - \theta^3/3! \dots$ と展開できるので、レンズの光軸付近では入射角 θ が小さく近似はよく成立する。この領域は近軸光線と呼ばれている。しかし、レンズの周辺部分では入射角が大きくなり、高次の項が無視できなくなる。その結果屈折角が大きくなり、レンズ外周部の光は中心付近を通った光より手前で光軸に交わる。図 2 に球面凸レンズによる平行光線の集光の光路を示した。凸レンズは平行光線を 1 点に収束出来ない s_i 、1 点からでた光をレンズの反対側の 1 点に収束させることもできない。これは、レンズが球面であることから必然的に生じるので「球面収差」(spherical aberration) と呼ばれている*10。球面収差があると、点像がぼけて広がってしまうために、コントラスト

*6 これが液浸対物のはじまりとされている。

*7 E. Abbe, Beitrage zur theorie des mikroskops und der mikroskopischen wahrnehmung. Archiv fur Mikroskopische Anatomie, 9:413-418, 1873. 10.1007/BF02956173

*8 On the Estimation of Aperture in the Microscope, E. Abbe, J. Microscopy, Vol1, P388(1881).

*9 高倍率の単式顕微鏡は小さな凸レンズに目を近づけて観察する必要があり操作しにくい。

*10 平行光線を 1 点に集光する「非球面レンズ」も存在するが、非球面の成形は球面に比べると遙かに困難であるため特殊なものであった。近年になって、鋳型を使ったレンズ製造もできるようになり、カメラレン

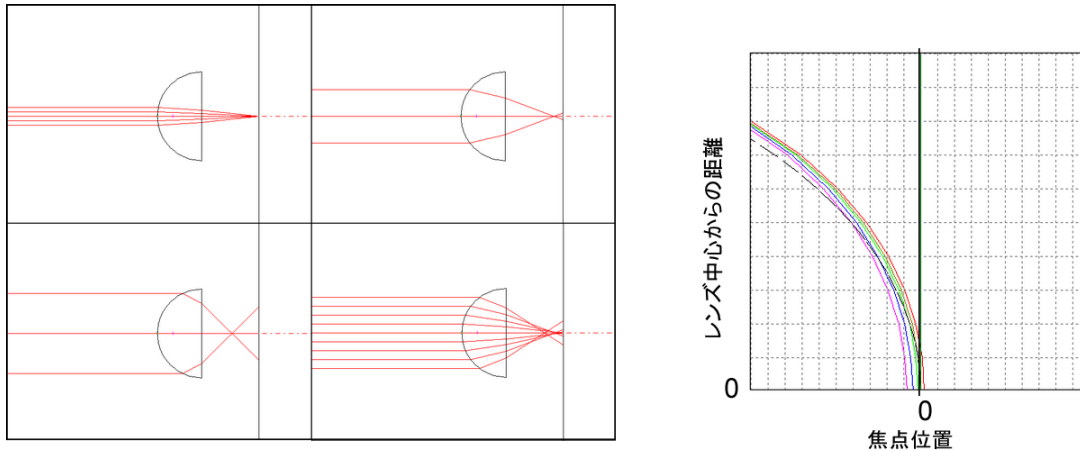


図 2: 球面収差。左の図は、レンズのそれぞれの場所を通過した光の光路を示している。レンズの周辺部を通る光は手前で光軸と交差するようになる。右の図は縦軸にレンズ中心からの距離、横軸に焦点位置をとったもので、レンズ中心から距離が離れると、結像位置が手前にずれていく様子が示されている。図中の色は、それぞれの光線の色で、色収差も同時に示されている。

トが低下する。隣接する 2 つの点像がぼけて重なりあうため、両者の分離が困難となり、実効的な分解能が低下する。

球面収差は光軸方向の入射光に対するものであるが、斜入射の平行光線もレンズの通過位置により球面収差と同じ理由により結像距離が異なるため、1 点には収束しない。斜入射光の結像は、1 点から尾を引いた彗星のようなぼけとなるので、コマ収差 (coma aberration) と呼ばれている^{*11}。コマ収差も像のぼけを引き起こすので実効的な分解能の低下をもたらす。

斜入射光では入射面内でレンズを通過した光と入射面に垂直な方向でレンズを通過した光でレンズの実効的な焦点距離が異なる。このため、コマ収差とは別に一旦スリット状に集光したあと、広がった円形となり、その後に最初のスリット状と直交する方向にスリット状に集光する (非点収差:astigmatism)。非点収差は入射角が大きくなると目立つようになる。

結像した画像は物体とは相似ではなく、直線が曲線となる場合もある。これは歪曲収差 (distortion) と呼ばれる。また、レンズからある距離の光軸に垂直な面上にある物体の像は、同じ面上に結像して欲しいのだが、斜めの方向に物体までの距離は実効的に長くなるために、中心よりレンズに近い場所で結像してしまう。これを像面湾曲 (curvature of

ズなどでも非球面レンズが割合と普通に使われるようになってきている。

^{*11} coma は天文学用語で彗星の尾のこと。

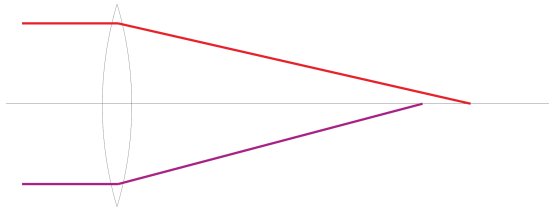


図 3: 色収差

image) という。以上の 5 種類の単色収差はザイデル (Seidel) により分類され、ザイデルの 5 収差として知られている。

2.2 色収差

白色光での観察では単色収差の他に色収差も問題となる。図 3 示すように、1 枚のレンズでは、青色光の結像位置は赤色光より手前になる。像の 1 点から出た白色光は波長毎に異なった位置に集光するので、どの面で見ても、一つの波長以外は焦点を結んでおらず、像はぼやけてしまう（軸上色収差：axial chromatic aberration）。また、斜入射では、結像位置が波長により異なってしまいが、これは、結像の倍率が波長に依存することを意味している（倍率色収差：chromatic aberration of magnification）。

2.3 収差補正

単レンズでは収差は必ず生じる。しかし、複数のレンズの組み合わせでレンズ毎に発生する収差を相殺し、レンズ系としての収差低減が可能である。たとえば、凸レンズと凹レンズでは球面収差が逆方向に生じる。このため、屈折率の異なる材料で作った凸レンズと凹レンズを組合わせて、1 枚構成レンズより色収差と球面収差が小さな凸レンズを作り出せる。顕微鏡の対物レンズも、異なる複数の材料の異なった形状のレンズを収差が相殺するように組合わせてある。

図 4: プラン対物レンズと非プラン対物レンズで平面的な試料の撮影を行ったもの。プラン対物レンズでは全面のピントが合っているが、非プランのものでは、中心に合わせると周辺がピンボケとなり、周辺に合わせると中心がピンボケになる。

2.3.1 単色収差補正

ザイデルの 5 収差の中で、球面収差とコマ収差は実効分解能に大きく影響するので、顕微鏡対物レンズではこれら 2 つの収差補正は必ず行われている^{*12*13}。球面収差とコマ収差が補正されたレンズはアプラナート (Aplanat: 独) と呼ばれている。

像面湾曲があると視野中心と周辺部でピント位置が異なってしまうため、画面全領域を同時に観察できなくなる。像面湾曲の補正が行われたレンズはプラン (Plan) 対物レンズと呼ばれている。プラン (Plan) 対物レンズでは像面湾曲に加え非点収差補正もなされている^{*14}。現在の対物レンズは特殊な物を除いてプラン対物になっている。プラン対物レンズのように球面収差・コマ収差・非点収差、像面湾曲が補正されたレンズはアナスタigmat (Anastigmat: 独) と呼ばれている^{*15}。

2.3.2 色収差補正

可視領域の 2 波長 (典型的には 656nm (フラウンフォーファーの C 線) と 486nm (F 線)) で色収差がなくなるような収差補正をされたレンズがアクロマート (achromat)、上記 2 波長に加えて 436nm (水銀の g 線) を加えた 3 波長で色収差補正されているのがアポクロマート (apochromat) である。アクロマートの色収差曲線は上記の 2 波長を通る放物線であり、同じアポクロマートでも色収差の多いものと少ないものが存在する。アポクロ

^{*12} 現在では、レンズ設計はコンピュータを用いた膨大な数値計算により行われている。コンピュータも電卓もなかった昔には、大勢の作業員が機械式計算機などを使って計算を行っていたけれども、現在に比べれば計算量は遙かに少なかった。その時代には少ない計算量で的確な補正を行う工夫がなされている。例えば、アッベにより導入された屈折率分散のアッベ数は分散が大きいほど小さな値となるのだけれど、アクロマートレンズの色収差計算には使い易い定義となっている。

^{*13} 収差補正は単に光路が 1 点に向かうのではなく、全ての光路の実効的な光路長が同じに揃うように行われる。たとえ光路が 1 点に向かったとしても、光路差が半波長分あると、打ち消し合う干渉となり、よい画像とはならない。全ての光路の実効光路長差が観察波長の 1/4 に収まるように努力されている。

^{*14} コマ収差と非点収差はいずれも光軸外で生じるが、コマ収差は小角でも問題になるのに対し、非点収差は角度が大きな領域で問題となる。

^{*15} ザイデルの 5 収差の残り一つは歪曲収差で、これは長方形が樽形や鼓型に変形してしまう収差である。写真用降格レンズで特に顕著になるけれども、顕微鏡対物レンズは視野が広くないので、それほど問題ではないように思う。最近のデジタルカメラシステムではレンズの歪曲収差補正はほどほどにして (その分を他の収差補正に回して) 撮影後の処理により歪曲補正を行うようになっている。

図 5: レンズの色収差補正による焦点位置のずれの波長依存性。非補正のレンズでは可視領域の 1 点でのみ焦点があう。アクロマートレンズは、C 線 (nm) と F 線 (nm) の 2 波長で焦点位置があうように補正してあるものが多い。焦点位置の曲線は近似的に 2 次曲線となる。2 つの波長以外でのずれ量に規定はないので、同じアクロマートでも、2 波長間の色収差の程度は異なっている。アポクロマートはアクロマートに 2 波長に加えて g 線 (nm) でも焦点位置があうようにしている。補正曲線は近似的に 3 次曲線となる。短波長側の g 線での補正が加わっているのは、顕微鏡の分解能は短波長側の方が高いため。

マートでは、収差曲線は 3 次曲線になる。原理的には大きな残収差のある 3 次曲線も可能だろうが、実際のアポクロマートでは逸脱は少なく、色収差はよく補正されている。現在の顕微鏡対物レンズは少なくともアクロマートレベルの色収差補正がされているので対物レンズの名称にアクロマートに関する表記はない。アポクロマートレンズの場合は APO 表記がされていることが多い*16。

2.4 物体間距離と収差

レンズの結像倍率と収差量はレンズと物との距離に応じて変化する*17。顕微鏡対物レンズは特定の使用条件において分解能に影響する収差を徹底的に補正してある。使用条件下では設計どおりの性能を発揮するが、使用条件外使用では収差が発生し実効分解能が低下する。高分解能対物レンズほど使用条件逸脱に敏感で条件からの逸脱により急激に実効分解能が低下する*18。

*16 アクロマートでも、特殊ガラスを用いて色収差補正の程度がよいものは、セミアポクロマートと称されることがある。特にフッ素含有の特殊ガラスを用いると高度に色収差補正ができるので、フッ素系ガラスを用いたセミアポクロマートは Fluor といった具合にフッ素系であることを示す表示であるものもある。

*17 レンズではイメージしにくいですが、凹面鏡を考えると理解しやすい。球面の凹面鏡は平行光線を 1 点には集光できない（球面収差がある）が、球の中心からの光は 1 点に収束するので、この条件では球面収差はない。放物面は平行光線を 1 点に収束できるが、逆に有限距離からの拡散光は 1 点に収束できない。有限距離からの光を 1 点に収束するためには、適切な楕円鏡が必要になる。レンズ系も同様に、物体と像の位置関係により収差の程度は変化する。

*18 カメラのレンズは特定の使用条件に最適化した収差補正ではなく、想定される使用条件範囲でバランスの取れた収差補正を行っている。カメラレンズではピントが外れた被写体のボケなど顕微鏡対物レンズでは考慮されていない要因もある。

2.5 対物レンズの結像及び収差補正方式によるシステムの違い

複式顕微鏡の光学系は、結像と収差補正の方法の違いにより 4 種類に分類される*¹⁹。20 世紀後半までは対物レンズ単体で実像を結像するシステムが主流であった。現在は対物レンズでは試料の 1 点からの光線を平行光線にし、後段の結像レンズで実像を結像するシステムが主流である。結像レンズを用いる形式は無遠補正系 (infinity-corrected optical system)、結像レンズがなく対物レンズのみで結像する形式は有限距離補正系 (有限系:Finite Correction Optical System) と呼ばれている (図 6)*²⁰。

1970 年代以前には、対物レンズの実像には色収差が残存しており、接眼レンズや投影レンズで逆の色収差を発生させて対物レンズの色収差を相殺し、顕微鏡全体では色収差のない画像を観察する補償系システムが使われていた*²¹。1970 年代に対物レンズ単体で色収差補正を行う CF(Chromatic aberration Free) 対物レンズを用いたシステムが開発された*²²。CF 系の対物レンズと補償系の接眼レンズや撮影レンズの組み合わせ、逆に補償系の対物レンズと、CF 系の接眼レンズや撮影レンズの組み合わせでは色収差が残存する*²³

上記 2 つの区分をまとめると、顕微鏡の結像システムは

- 有限距離色収差残存
- 有限距離補正色収差補正
- 無遠補正系色収差残存
- 無遠補正系色収差補正

の 4 種類となる。現在は、無遠補正系色収差なしのシステムが主流で、世界の 4 大顕微鏡メーカー (ニコン、オリンパス、ツァイス、ライカ) の製品は全てこのタイプとなって

*¹⁹ この記述は歴史的な意味合いが強く、現在の市販システムは無遠補正系色収差なしに収束している。とはいえ、20 世紀の顕微鏡システムを使っているなら必要かつ重要な知識である。

*²⁰ 無遠補正系も有限距離補正系対物レンズも、両方とも凸レンズなので、無遠補正系レンズ単体でも結像するし、有限距離補正系対物レンズを無遠補正系鏡筒につけても結像する。

*²¹ 対物レンズの色収差残存量はメーカーにより異なるため、この時代の製品は同じメーカーのレンズを組み合わせないと色収差が残存する。ここで議論になっている残存色収差はアクロマートやアポクロマート色補正とは別の話でシステム全体ではアクロマートやアポクロマートとなる顕微鏡は 19 世紀から 20 世紀初頭には実用化されていた。

*²² CF システムは 1970 年代にニコンが導入したのが最初である。ニコンはこのときに、短頸から長頸にシステム変更を含めて、顕微鏡システムの一新を行っている。

*²³ ニコンの有限系 CF 対物レンズは色収差補正されているが、それ以外のメーカー (およびニコンの非 CF) の有限系対物レンズは色収差残存タイプである。

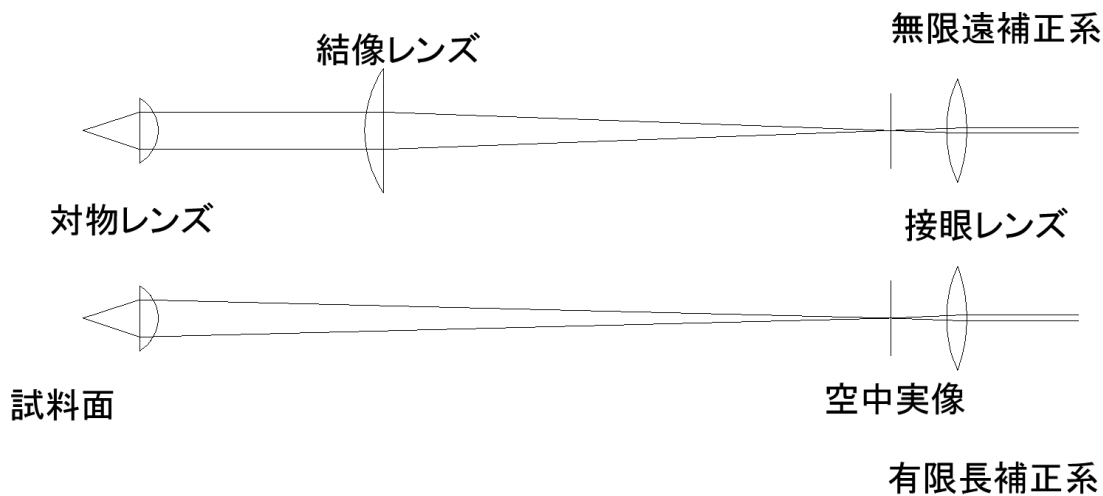


図 6: 無限遠補正系と有限距離補正系

いる。^{*24}。

3 対物レンズ

3.1 対物レンズの倍率

図 7 に有限距離補正系と無限遠補正系での物体と像の関係を示した。図では対物レンズと結像レンズを 1 枚の薄いレンズとして描いてしまっていて、レンズから物体までの距離もレンズの中心からの距離としてしまっているが、実際の対物レンズは決して 1 枚の単レンズではなく、厚味を持ったレンズが組み合わさったものである。このようなレンズでは物体や像までの距離の基準としてレンズ群の中心を用いることはできない。

試みに、厚味のあるレンズで平行光線が集光する図を描いてみると、入射する平行光線と出射する収束光線が交わる面を規定できる。この面を基準とすれば、レンズの焦点距離も規定でき、また倍率計算も可能となる。この面を主面 (principal surface)、主面が光軸 (レンズの中心を通り主面に垂直な軸: optical axis) と交わる点を主点 (principal point) と呼ぶ^{*25}。逆側からレンズに光線を入れると、図とは異なる位置が主面となる。レンズ系には物体側と像側の 2 つの主面がある。

無限遠補正系での拡大倍率 M は、対物レンズの焦点距離 f_o と結像レンズの焦点距離

^{*24} 無限遠補正系の初期の製品には色収差が残存するものがある。オリンパスだと USI となる前の無限遠補正系対物レンズは非 CF である。

^{*25} 主面は平面である必要はない。

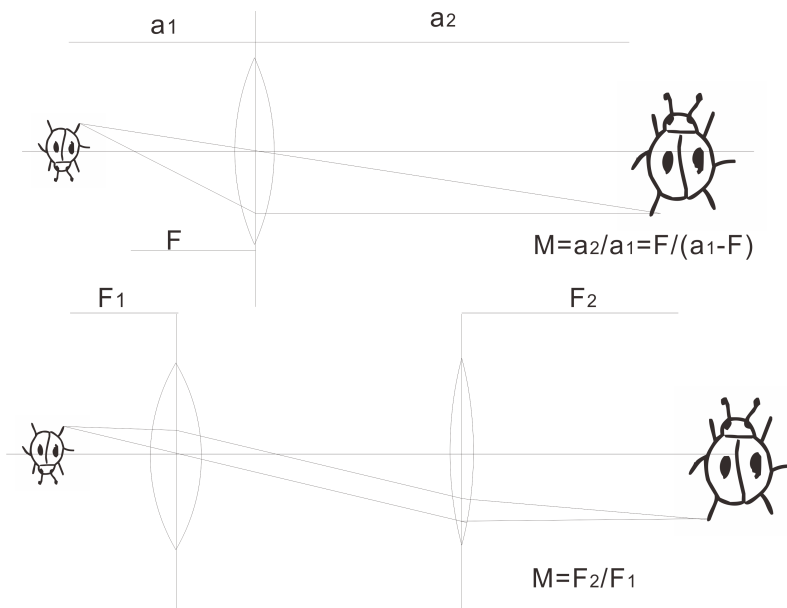


図 7: 単一レンズおよび組合せレンズの倍率

図 8: 主面

f_c を用いて $M = f_c/f_o$ となる。結像レンズの焦点距離は顕微鏡メーカーにより異なるため^{*26}、あるメーカーの対物レンズを異なるメーカーの鏡基に取り付けると、倍率が表記とは異なった値となる^{*27}。

有限距離補正系では、レンズの倍率の公式に従って倍率が定る。対物レンズの結像面は、鏡筒の上端より 10mm 下方に定められているので、鏡筒長 160mm で、対物レンズの取付け面から試料位置までの距離が 45mm のシステムでは、試料から結像面までの距離は $160 - 10 + 45 = 195\text{mm}$ となる。10 倍の対物レンズなら、主面から試料までと、結像面までの距離が 1:10 となるので、195mm を 1:10 に分割して、レンズから物体までと像までの距離をもとめて焦点距離を計算すると、薄レンズ近似下で 16.1mm となる。

上の計算では鏡筒長を 160mm としたが、有限距離補正系の鏡筒長もメーカーやシステムにより異なっている。ニコン、オリンパス、ツァイスの生物用顕微鏡の鏡筒長は 160mm だが、ライカは 170mm である。また、ニコンでも金属顕微鏡の鏡筒長は生物用より 50mm 長い 210mm である^{*28}。160mm 鏡筒の 10 倍のレンズを 210mm 鏡筒に使う

*26 ニコン：200mm、オリンパス：180mm、ライカ：200mm、ツァイス：164.5mm、ミットヨ：200mm

*27 その時の倍率は表記倍率×用いた結像レンズの焦点距離/本来の結像レンズの焦点距離となる。

*28 差の 50mm が落射ユニットの長さである。

と、210mm 鏡筒の物体と像間の距離は 245mm なので、この間隔での結像条件を求め、距離の比から拡大率を求めると 13 倍強となる。また、このレンズを結像レンズの焦点距離が 180mm の無限遠鏡筒に取り付けた場合には、拡大率は 11 倍強となる^{*29}。

3.2 取り付けネジ径

対物レンズの取り付けネジは、RMS 規格 (呼び径 20.32mm、ピッチ 0.706mm) が歴史的な標準で、明視野対物レンズはこのネジ径を採用しているメーカーが多い。暗視野対物レンズでは、暗視野落射照明用光路のため、対物レンズの機械的な廻りを太くする必要があり、これより広い M27 のネジ径などが使われている。暗視野対物のネジ径はメーカーにより異なるため、相互に取り付け出来ないものが多い。

近年になって、ニコンやミットヨは明視野対物レンズでも、RMS 規格より大きなネジ径を採用するようになっており、これらの対物レンズを直接他社のシステムに取り付けできないが、ネジ径を変換するアダッチメントが用意されているものもある^{*30}。

多くの対物レンズで RMS 規格のネジが使われているために、鏡筒長や収差補正が異なるシステム間での対物レンズの装着が物理的には可能である。しかし、異なるシステムでの使用では、収差補正条件逸脱による実効的分解能が低下^{*31}、拡大倍率の表記値からのずれ、同焦距離が保たれなくなる^{*32}などの不具合が生じる。

4 顕微鏡分解能および使用条件逸脱による分解能の低下

4.1 斜入射光による分解能向上

前章で顕微鏡の分解能と対物レンズの NA の間には

$$d = \frac{\lambda}{NA} \quad (1)$$

という関係があることを説明したが、これは入射光が光軸に平行な平行光束の場合で、斜入射光線に対しては分解能が向上することが知られている。

^{*29} 対物マイクロメータを使って実拡大倍率を計測しておく必要がある。

^{*30} RMS 対物をニコンの現在の鏡筒に取り付けるアダプタはニコンから出ている。また、ニコンの対物レンズを RMS に取り付けるアダプタも探せば見つかる。

^{*31} 液晶の組織観察では、分解能ギリギリの構造を観察する場面が少なく、像の劣化はあまり気にされていない。

^{*32} レボルバーを回してレンズを変えた時にピントが大きくなる。

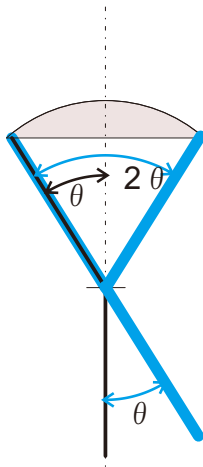


図 9: 垂直入射と斜入射での最大角度の違い。見込み角すれすれで入射する光線を考えると、見込み角の倍の角度の光までは対物レンズに取り込まれる。

入射光が基板に垂直ではなく、対物レンズの NA に相当する角度で入射する場合を考える (図 9)。この時、一方の回折光は対物レンズには周期によらず入射しないが、もう一方の回折光は、回折角 2θ まで対物レンズに入射できる。よって、観察できる最小の周期は $2d \sin \theta = \lambda$ より

$$d = \frac{\lambda}{2NA} \quad (2)$$

であり、垂直入射に比べて半分の周期まで分解出来るようになる。

この議論では、対物レンズと同じ NA で入射した光のみを考えているが、通常の顕微鏡照明光学系では NA 以下の全ての角度の光が照射される。すると、NA 未満の角度で入射した照明光からの回折光は対物レンズを通過出来ないため、これらの光による画像は縞構造のない均一な明るさのバックグラウンドとなる。そして、NA で入射した光による縞構造の画像は、他の光束による画像の和よりも強度が弱いために、埋れてしまい観察が困難になる。この点、垂直入射の平行光束のみによる照明では、照明光の全てが分解能より大きな構造の形成に関わるため、コントラストが高い画像が得られる^{*33}。

平行光束を除いて斜入射による光のみで照明をおこなえば、コントラストも分解能も高

^{*33} 特に偏光顕微鏡観察では斜入射光は色味の変化を引き起こすので、鉱物系の偏光顕微鏡の使い方としては平行光束による照明が推奨されている。しかし、斜入射光を上手く使った照明に比べれば分解能が低くなるわけで、生物系の偏光顕微鏡の書籍では斜入射光も含めた照明の記述がある。

図 10: 低 NA 照明と高 NA 照明による画像の違い。低 NA 照明の方がコントラストは高くなる。ついでに偏斜なども入れる

い観察が可能である。1960 年代までの顕微鏡は開口絞りを水平移動して照明を斜入射光とする機構（偏斜照明）が装備されていた。偏斜照明では方向性はあるが高コントラストかつ高分解能観察が可能であったが、1970 年代以降の顕微鏡には装備されなくなってしまっている^{*34}。

4.2 使用条件逸脱による球面収差の発生と分解能低下

光学系に球面収差が残存していると、試料の 1 点からの光は、回折限界よりも広がった像となる。このため、回折限界を想定して決められた回折限界の距離においては、2 点の間での光強度はより高くなり、識別が困難になる。同じ程度の強度差を作り出すためには、2 点間の距離をさらに離す必要がある。実効的な分解能が低下する。

顕微鏡対物レンズは設計時の使用条件から逸脱した条件での使用時には収差補正が十分ではなくなり、球面収差等が発生する。その程度は NA に依存し、NA が大きいと急激に増加する。使用条件の逸脱には、鏡筒長の違いと、カバーガラス厚の違いがある。近年の無限遠補正系では鏡筒長の違いには生じないので、問題となるのはカバーガラス厚の違いである^{*35}。

長作動対物レンズはカバーガラス厚 0mm 指定のものが多い。観察対象であるホットステージ中の液晶は、1mm 程度のガラスに挟まれているのが普通である。長作動対物レンズの NA はそれほど大きくはないとはいえ、カバーガラス厚に関する使用条件は大きく逸脱しており球面収差が生じていると考えなければならない。生物系の顕微鏡の本にはカバーガラス厚の違いによる像の劣化が大きく取り上げられているが、液晶観察に関して像の劣化が議論されるのを見たことはない。この理由として以下のような可能性が考えられる。

■高コントラストで微細構造を含まないことが多い 生物顕微鏡で収差発生が問題となるのは、観察対象が低コントラストで対物レンズの分解能に近い微細な構造を含んでいるためである。液晶試料の多くは偏光着色でコントラストが高く、また、構造が比較的大きい

^{*34} 倒立顕微鏡などについているターレット式のコンデンサなら開口絞りをずらすことができるので、偏斜照明を試してみることができる。

^{*35} 有限系の場合は、160mm 鏡筒に 210mm 鏡筒指定の対物レンズを組み合わせることになるので、二重に条件外使用となる。ただ、両者は相殺する方向に働いているかもしれない。

ため、球面収差によりコントラストが低下しても、観察が困難になることが少ない。

■**比較的低い NA 値の対物レンズでの観察が多い** 指定条件逸脱による収差増加が問題になるのは、NA が 0.4 程度以上の場合で、NA が 0.3 程度以下の場合には収差はそれほど気にならないことが経験的に知られている。10 倍の対物レンズの NA は 0.3 程度なので、10 倍以下で観察する場合には発生する収差はそれほど問題とならないことが期待できる。

■**本来見えるべきものが見えていないことを認識できていない** 中には、きちんと収差補正をすると見えてくる構造があるかも知れないのだけれど、誰もそれを見たことがないために、存在していることが気がつかれず、観察したいという要望も生じない。また、見ている構造が正しくないかもしれないのだけれど、それが認識できていない。

1 番目と 2 番目に関しては収差発生は特段の問題を引き起こさない。3 番目に関しては時には問題を引き起こす可能性がある。例えば、微細な周期構造と粗い周期構造が同じ面に存在するとする。球面収差がなければ、両者は同じピント位置で確認される。しかし正の球面収差があると微細な周期構造と粗い周期構造とでピント位置が異なり、微細な構造の方が奥にあるように見える^{*36*37}。

4.3 収差補正確認のためのテストプレート

使用条件逸脱による画質低下を実感するためには、何が見えるか分かっている試料の検鏡を行うとよい。例えば、マイクロワールドサービス (MWS) の J シリーズの珪藻プレートや検査用プレートは、この目的に適した品である^{*38}。まず、カバーガラス厚 0.17 mm 指定の対物レンズでカバーガラス側から観察した後に、液晶観察に用いている対物レンズを用いてスライドガラス側から観察する。両者の比較により、液晶観察において、どの程度滲みやコントラスト低下が生じているのかが実感できる。また、後述する補正環付き対物レンズの調整にも活用できる。

^{*36} 微細構造の方が 1 次回折光の回折角が大きい。このため 1 次回折光はレンズのより外周部を通過する。単凸レンズと同じ方向の球面収差があると、本来の結像位置より手前に結像してしまう。対物レンズを試料に近づけるとピントが合って見えるようになるが、対物レンズを試料に近づけているため、観察者は微細な周期構造は粗い周期構造より奥にあると判断してしまう。

^{*37} 2000 年頃にセルの中央に粗大な構造、後ろ面に微細周期構造があるという論文を見たことがあり、おかしいと思いつつ、理由が分からなかったけれど、現在は球面収差の影響であろうと考えている。

^{*38} <https://micro.sakura.ne.jp/mws/>



図 11: アポクロマート対物とアクロマート対物レンズ。両方とも 10 倍の対物だが、アポクロマートは $NA=0.4$ なのに対して、アクロマートは $NA=0.25$ しかない。一方、レンズ長が異なることから分かるように、アクロマートの方が作動距離が長い。

5 各種対物レンズ

対物レンズには、いろいろな用途のものがあり、存在を知っていると、何かの時に便利なこともある。以下、各種対物レンズについて簡単に解説する。

5.1 アクロマートとアポクロマート

顕微鏡用対物レンズは最低でもアクロマート色補正が行われている。アクロマートに対してアポクロマートはより高次の色収差補正に加えて、球面収差等の補正も、より厳密に行われているので画質はよく、同じ倍率でも NA が高い（分解能がよい）。しかし、作動距離はアクロマートより短く^{*39}、4 倍のものを除いてはホットステージでは合焦しない。

アクロマートでも、フッ素を含む特殊レンズを含むレンズ構成のものは、普通のアクロマートより収差補正の程度が良く、フッ素系レンズが含まれていることからフルオール、フルオリート、あるいはセミアポクロマートと称されたりする。

^{*39} ミットヨにはアポクロマート補正の長作動対物レンズがあるが、同焦点距離が長く、またネジ径も大きい
ため普通の顕微鏡には取り付けが困難であり、液晶観察に用いるには専用のシステムを組み立てる必要がある。



図 12: 短頸対物レンズ、有限系及び∞系長頸対物レンズ、ニコン CFI60 対物レンズ。いずれも 10 倍で、NA 値もほぼ同じ。顕微鏡対物レンズの筐体が大きいかほどレンズ設計の自由度が増す。一方で顕微鏡全体の大きさも大きくなってしまい、使い勝手に問題が生じる可能性もある。

5.2 短頸、長頸、CFI60

有限補正系対物レンズには短頸 (たんけい) と長頸がある。短頸対物レンズは同焦距離が 36.65mm、長頸対物レンズでは 45mm である。ニコンやオリンパスの有限系では 1970 年代以前のシステムは短頸で、それ以降は長頸となっている。無限遠補正系ではオリンパスは同焦距離 45mm であるが、ニコンの CFI60 系は同焦距離 60mm である。同焦距離が長い方が対物レンズも長くできるので、より複雑な構造が可能となるが、一方でシステム全体が巨大化するという問題もある。

5.3 対応する鏡筒長による違い

有限補正系 (長頸) では対物レンズ側面に対応する鏡筒長が示されている。ニコンでは生物系で 160、金属系で 210 である。無限遠補正系では数値ではなく∞記号が表示されている。



図 13: RMS 規格の有限系 160mm 鏡筒用・210mm 鏡筒用と無限遠補正系対物レンズ。それぞれ、160、210、 ∞ 記号がある。いずれも同程度の焦点距離の凸レンズなので、異なるシステムに取り付けても結像する。同焦点距離は 45mm であるが、設計とは異なる規格の鏡筒に取り付けると同焦点距離も変化する。



図 14: カバーガラス厚指定。カバーガラス厚のズレによる球面収差は NA が大きいほど影響が大きい。低 NA の影響が無視できる対物レンズでは無指定（「-」表記）のものもある。通常のカバーガラスを用いるものでは、「0.17」、カバーガラスを用いないものは「0」

5.4 カバーガラス厚指定の違い

ある程度以上 NA の大きな対物レンズは組み合わせるカバーガラスまで含めた収差補正が行われているため、組み合わせる硝子厚が記されている。通常のカバーガラスを用いるレンズでは厚さ 0.17 mm のカバーガラスを前提として設計されており、対物レンズ側面に 0.17 という表記がある。金属顕微鏡のように物体表面を直接観察する用途向けの場合は、カバーガラスを用いない設計で、対物レンズには 0 表記がある。NA が小さな対物レンズでは、カバーガラスの有無により収差はあまり変化しないので、カバーガラス厚は示されておらず、代わりに「-」記号が記載されている。



図 15: 乾燥系の対物レンズと液浸系対物レンズ。液浸系の対物レンズは、浸漬する液体の種類により異なる。

5.5 乾燥系と液浸系

対物レンズ全面と試料の間が空気のもものが乾燥 (dry) 系、何らかの液体で充たすものが液浸 (immersion) 系である。ホットステージ中の液晶試料観察には乾燥系対物レンズを用いる。液浸系対物には、分解能の向上を目的とするものと、カバーガラス面から奥にある試料の観察を目的とするものがある。分解能向上を目的とするものは、カバーガラスと同じ屈折率 (約 1.51) の液浸油 (immersion oil) で対物レンズとカバーガラスの間を充たす。こうすると、NA は乾燥系に比べて 1.5 倍程度の値となる。液浸用の対物レンズは、液浸した状態で収差補正がなされているので、液浸油を用いずに使用すると、球面収差の大きい低コントラストの画像となる。かつては、より高い屈折率の液を用いて (カバーガラスも専用品となる)、より高い NA 値の対物レンズも販売されていた。奥にある試料の観察を目的とするものは、水浸対物やグリセリン浸漬対物がある。たとえば水中の微生物の観察をするときに、水浸対物を用いれば、カバーガラスよりも奥の水中にいる対象を観察しても、球面収差が補正された良好な画像となる。このような観察に油浸対物を持ちいると、試料がカバーガラスに張り付いている時にはよい画像が得られるが、カバーガラスから離れて水中を浮遊している場合には球面収差が生じて、画質の低下が起こる。

グリセリン中の液晶ドロップレットの観察には、グリセリン浸漬の対物を用いれば、カバーガラスから離れてグリセリン中を浮遊するドロップレットに関しても、収差のない画像の観察ができるはずである。

5.6 透過用、落射用

生物顕微鏡用の対物レンズの多くは透過照明を前提に設計されている。それに対して金属顕微鏡用の対物レンズは落射照明 (epi-illumination) にも対応するように作られている。落射対応の対物レンズでは、照明光が対物レンズを後ろから前に抜けるので、このときに生じる反射光が結像面で妙な影響を与えないように注意が払われている。

蛍光用の対物レンズは落射で紫外線を照射するときに、レンズで吸収されないように、365nm 付近の透過率に注意して作られている。その一方で励起光はフィルターでカットされてしまうので、反射処理には甘いところがあるかもしれない。

5.7 偏光用対物レンズ

偏光顕微鏡の偏光子と検光子の間にある光学素子は歪みがなく偏光を乱さないものである必要がある。偏光顕微鏡用の対物レンズは歪みの少ないガラスを用いて偏光の乱れが少なくなるように制作され物で、偏光を表す「P」や「PO」表記がなされている。ただし、偏光用対物レンズには長作動距離のものはなく、10 倍以上のものはホットステージと組み合わせるのには作動距離が不足する。このため、ホットステージを用いた高倍率観察では、偏光顕微鏡用専用ではない対物レンズを使用する必要性が生じる。

偏光用でない対物レンズでは歪みに対する基準は偏光用ほど厳密でないため、当たり外れがある。外れレンズでは、クロスニコルで試料無しの状態でも、そこそこの透過光が生じる。クロスニコル状態がくらくならないと、偏光着色によるコントラストが全般的に低下してしまい、微細な色調変化の観察が困難になる。

液晶は多くの場合、複屈折が大きく、コントラストのある観察対象なので、クロスニコルが多少は明るくなっても、観察は可能であるが、もし、対物レンズを入手するときに複数から選択可能なら、比較して歪みが少ないレンズを選ぶべきである^{*40}。

5.8 微分干渉用

微分干渉顕微鏡 (DIC:differential interference microscope) 用は、通常の対物より歪みに対する基準が高い。偏光顕微鏡で用いてもきちんとコントラストが取れるのが普通である。微分干渉顕微鏡はレンズ以外の干渉系により機能しているため、微分干渉用の対物レ

^{*40} 一般論として、指定無し対物より DIC の方が歪みは少ない。でも指定無し対物でもあたりはある。また、昔にくらべて、対物レンズの平均的なレベルは向上している。



図 16: 位相差用対物レンズ、微分干渉用対物レンズ。微分干渉用は見た目も普通の対物と変わらないが、位相差用はレンズを覗き込むとリングが見える。

レンズは普通の対物レンズである（この意味では偏光用対物レンズも普通の対物レンズである。）

5.9 位相差用

位相差顕微鏡 (phase-contrast microscope) 用対物レンズはレンズ内に位相差リングが入っている。位相差画像の観察には、レンズとペアとなるコンデンサを用意してケラー照明を行う必要がある。通常のコンデンサとの組み合わせでは位相差画像ではなく通常の画像となる。偏光顕微鏡観察に位相差用対物を用いても、画像観察では問題は無いけれども、コノスコープ観察では、コノスコープ画像に位相差リングが重なってしまい観察に支障を来す。

5.10 落射明暗視野

落射で暗視野照明 (dark-field illumination) が行える対物レンズは、通常の落射対物レンズの外周に暗視野照明用の光路が組み込まれており、鏡筒は明視野用よりも太く、取り付けねじも RMS より広い専用のものとなっている。照明鏡筒も、落射に対応したものが必要となる。

このレンズを用いる時には落射鏡筒も明暗視野対応のものを用いる必要がある。

5.11 補正環付き対物レンズ

多くの対物レンズは、使用条件として用いるカバーガラスの厚さを指定しているが、対物レンズの中には、適合カバーガラス厚みのある範囲で調整出来るものがある。調整には本体に取り付けられた環 (補正環:correction collar) を回して行う。



図 17: 明暗視野用と明視野用対物レンズ。両方の対物レンズ本体のレンズ構成は（おそらく）同一）だが、明暗視野用は暗視野照明部分がレンズ本体の外周にあるため本体と取り付けねじ径が大きくなっている。

図 18: 明視野のみ対応の落射鏡筒と明暗視野対応のもの。明視野のみではハーフミラーを出し入れるが、明暗視野では光軸の周囲に光を反射するユニットがある。

補正環付き対物レンズには 3 つの系統がある、一つはプランアポクロマート系の高 NA 対物レンズで、カバーガラスの厚みのばらつきなどで画質が著しく劣化するため、ある範囲でカバーガラスの厚み変化に対応できるようにしたもので、調整範囲は 0.11~0.23mm 程度である。

2 番目はシャーレ越しの観察を主目的としたもので、NA は 0.5 程度だが、作動距離が 5mm 程度以上あり、補正環の調整範囲は 0~2mm 程度の物が多い。薄いホットステージを使えば液晶観察にも用いる事ができる。

3 番目は液晶観察用対物レンズで、主対象は製造現場での検品である。20 倍、50 倍、100 倍があり、20 倍は、作動距離がそこそこ長い 50、100 倍は作動距離も短く、ホットステージ用としての組み合わせは困難である^{*41}。

ホットステージを用いた液晶観察で役立つ場合があるのは 2 番目の生物用長作動距離対物か 3 番目の液晶観察用の対物レンズである。ただし、これらの対物レンズは市販のホットステージでは作動距離が足りなかったりするので、使いこなすには、それなりの努力が必要だろうと思う^{*42}。

^{*41} Nikon の製品では、無限遠補正 RMS タイプの 50 倍は NA が高くない代わりに作動距離が長かったが、ICF60 になって NA は高いが作動距離が短くなってしまい、使いづらくなった。

^{*42} 補正環付き対物レンズを使っている、補正環を正しく調整出来なければ、その価値を生かすことは出来ない。液晶観察用対物レンズはメーカーの製品検査用の顕微鏡に数多く使われているらしいのだけれど、修理に訪れたメーカーの人が、補正環位置がおかしいのに気がついて直そうとしたら、その状態で検査基



図 19: 補正環付き対物レンズ。高 NA の乾燥系対物レンズではカバーガラスの厚みの違いに対応するために補正環がついている。あまり NA の高くない生物用の長作動対物レンズの中には、シャーレ越しの観察に対応できるように、2mm 程度までのガラス厚に対応できる補正環がついているものもある。



図 20: 特殊な補正環付き対物レンズ。液晶観察用の対物レンズも補正環があるものがある。生物系とは違って、液晶セルに用いられているガラス厚範囲に対応したものとなっている。少し特殊な例として、ガラスではなく高分子材料に対する補正環がついているレンズもある。CD などの観察に用いられる。

シャーレ越しの観察を目的とした生物用レンズや液晶観察用のレンズには、作動距離が 5mm 程度で、NA が 0.5 のものがある。この対物レンズが使えるようなホットステージを作れば、NA0.5 の最良の画像観察が可能となる^{*43}。

準を設定しているので直さないでくれと言われたなどという話もあり、正しく調整されて使われているものがどのくらいあるのか、疑問のあるところである。

*43 このための、とりあえずのホットステージなら、1 日程度の工作で作れる。詳細はホットステージの章を参照。



図 21: 左側から普通の 20 倍対物レンズ、長作動 (ELDW) 対物レンズ、超長作動 (SLDW) 対物レンズ。取り付け面からピントがあう位置までの長さは同じ。

5.12 長作動対物レンズ

市販のホットステージでは、試料面からホットステージの上部のガラス窓まで 10mm 程度あるために、作動距離が 10mm 程度あるような対物レンズを用いる必要がある。作動距離が通常の対物より長いレンズには、LWD、ELWD、SLWD、ULWD などの表記がなされている。LWD は Long Working Distance の略で、E は Extra、S は Super、U は Ultra などの略称である。LWD より ELWD の方が作動距離が長く、SLWD や ULWD はそれよりも作動距離が長い。

生物顕微鏡用にも金属顕微鏡用にも長作動対物レンズはあるが、市販のホットステージの作動距離に適合するのは金属顕微鏡用の ELWD か SLWD クラスのみである。これらの対物レンズを用いれば、市販のホットステージとの組み合わせで試料の観察が可能である。ただし、これらの対物レンズはカバーガラスを用いない指定となっているため、観察時には球面収差は発生する。

ELWD と SLWD を比較すると、ELWD の方が NA が高いが、収差の発生のことなどを考えると、分解能ぎりぎりの構造観察は楽ではなく、それなら、多少 NA は小さくなるが、扱いの楽な SLWD の方が使い勝手がよい^{*44}。

^{*44} ニコンの有限世代の ELDW と SLWD では ELDW の方が収差補正がよいらしいのだけれど、でも SLWD の方がメトラのステージとの組合せでは使い勝手がよい。

図 22: 干渉対物とそれによる像。普通の対物レンズとは異なり、表面高さに対応する干渉パターンが見えている。

5.13 干渉対物

通常の液晶観察に用いる事はないが、世の中には 2 光束干渉対物レンズというものがあり、表面の凹凸を可視化するのに使える。レンズの特性上、ホットステージなどの窓ガラス越しでは使えないが、表面の凹凸を見るのには面白い品である。

5.14 絞り付き対物レンズ

対物レンズ内部に虹彩絞りがありもので、用途の一つはユニバーサルステージなどのように試料を傾けて観察する場合に、より広い範囲にピントが合うようになる。ただし、対物レンズの NA は低下するので、分解能は低下する。

なお、ユニバーサルステージ用の対物レンズは、試料に密着させた半球レンズと組み合わせての使用を前提としており、レンズのスペックは半球レンズとの組み合わせ時のものである^{*45}。

6 接眼レンズ

6.1 CF 対物対応接眼レンズとコンペン系接眼レンズ

RMS 規格の対物レンズは、同じネジ規格の最新の顕微鏡にも装着できてしまうため、正しくない組み合わせが生じることもあるが、接眼レンズに関しては、購入時に鏡基に付属していたものを使うことが普通で、あえて古い顕微鏡の接眼レンズを装着することはないので、妙な組み合わせを見ることは少ない^{*46}。とはいえ、有限系ではニコンが対物レンズ単体での色収差補正であるのに対して、オリンパスなどは接眼レンズも含めての色収差補正なので、組み合わせによっては色収差が残存することになる。

^{*45} ユニバーサルステージは、試料を傾けて観察するためのアクセサリ。かつては偏光顕微鏡のアクセサリとして売られていたが現在は中古で探すしかない。また、最近の偏光顕微鏡ではステージとレボルバーの距離がとれずにユニバーサルステージは取り付けられないかもしれない。

^{*46} 唯一生じるとしたら、オリンパスとニコンの有限系鏡基での相互組み合わせなのだけれど、それが生じる現場は数少ないだろうと思う。そういう現場では「顕微鏡キャベツ」の情報 (<https://sites.google.com/site/opticalmicroscopy/>) が有益である。

6.2 特殊接眼レンズ

マイクロメータにより、接眼レンズ内部の指標となる線を移動できるものがあり、物体の距離の測定などに用いられる。顕微測微計などと呼ばれることもある。また、角度計測機能のある接眼レンズも存在していた。

6.3 センタリングテレスコープ

位相差顕微鏡用のアクセサリで、位相差リングの位置を調整するとき、位相差リングを拡大して観察するためのものである。位相差リングの像位置はコノスコープ画像と同じ位置であるので、センタリングテレスコープはコノスコープ画像を大きく見るのにも使える。ベルトランレンズの入っていない鏡筒コノスコープ観察をしたい場合には便利な一品である。また、ベルトランレンズのない3眼鏡筒に取り付ければ、ある程度の調整の後には、コノスコープ画像の撮影ができるようになる。

6.4 投影レンズ

目視観察用ではなく、写真撮影装置への結像に用いるレンズを投影レンズと呼ぶ。3眼鏡筒の第3のポートに取り付けて使用する。投影レンズはごみの付着によわく、ごみが付着すると写真に影として映りこむ^{*47}。

7 光源およびフィルター

照明光学系の中で、光源とフィルターは、言及されることの少ない部位であるが、光源のLED置換なども含めて検討にあたいする。

7.1 光源

顕微鏡用の光源には長らく白熱フィラメントの電球が使われていた。1960年代までは、タングステンランプが主流で、タングステンをフィラメントとしている点では通常の白熱電球と同じだが、フィラメントは密に形成されており、照明用白熱電球よりは高輝度の光

^{*47} 外面のごみは除去できるが、内部に生じたごみの除去は困難でごみが発生した投影レンズは、打ち捨てたくなる。

源であった。

タングステンランプは、使用にともないフィラメントのタングステンが蒸発して管内面に付着着色し光量の低下が生じる。この問題を解決したのがタングステンハロゲンランプ（ハロゲンランプ）で、管内に封入されたハロゲンガスが管内面に付着したタングステンと反応して再気化し、フィラメント近傍で熱分解したタングステンがフィラメントに付着することにより、フィラメントが断線するまでは、ほぼ一定の明るさを保つようになった。

タングステンランプもハロゲンランプも通電によりフィラメントが高温になり発光する機構のため、スペクトル分布は連続的な色温度 3000K 程度の放射となる*48。3000K の黒体の放射スペクトル極大は赤外域にあり、ハロゲンランプも可視よりも赤外の放射強度の方が強いが、強い赤外線が目に入ると障害を引き起こすため、熱線吸収フィルターが光路に入っていて赤外線を遮断する設計になっていることが多い。

ハロゲンランプより高輝度の光源として、超高圧紫外線灯、メタルハライドランプ、キセノンランプなども使われていた、これらは、放電による発光を使っている。超高圧水銀灯は、可視域に強い輝線があり、連続光源としては使えないが、546 nm の輝線はフィルターで切り出して輝度のある単色光源として使われていた歴史があり、 $\lambda/4$ 波長板などはこの波長を基準としたものもある。キセノンランプはハロゲンランプより短波長から連続スペクトルが得られるので、紫外から可視領域の光源となるが、800 nm 台に輝線があるので、この領域の測定には注意が必要となる*49 LED は近年の発達が著しく、研究用顕微鏡にも使われ始めている。LED には単色のものと白色のものがある。LED は単色に近い発光をするが、この光を受けて傾向を発する材料との組み合わせにより見た目は白色となる LED も存在する。しかし、安価な白色 LED は青と黄色の組み合わせで白色にしているが、短波長側と長波長側の成分が少なく照明光としての色味はよくないし、分光光源として使おうとすると測定可能な波長域が広くはない。

図 23 にハロゲンランプと 3 種類の LED ランプの放射スペクトルを示した。タングステンランプは長波長の向けてなだらかに強度が増加している。灰色の LED ランプは青色発光体と黄色の蛍光体を組み合わせたもので、市販の白色 LED はこのタイプのもが多い。蛍光体の相対量が増えると黄色みが強くなり暖色系になるが、この品は黄色みが少なく見た目にも青色っぽく見える。黄色は高演色青色励起電灯色 LED で青色発光体を使っているのは灰色の白色 LED と同じであるが、2 種類以上の蛍光発色体を使っており、特

*48 色温度とは、同程度の色味となる放射を示す黒体の温度。より正確な定義は色彩工学の章を参照のこと。

*49 キセノンは点灯に高圧を必要とし、また発熱も大きいため、市販の紫外-可視分光光度計では、光源として可視部はハロゲンランプ、紫外部は重水素ランプを使っているのが普通で、350nm 付近でランプの切り替えが行われる。

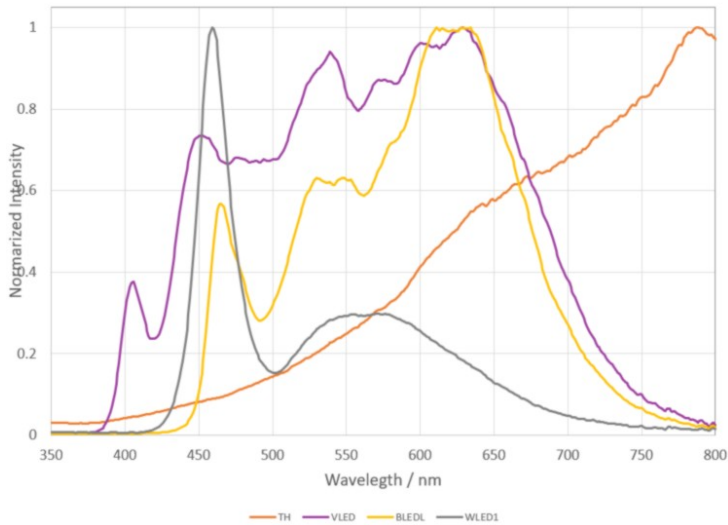


図 23: ハロゲンランプと白色 LED のスペクトル。白色 LED にもバラエティがある。

に 600 nm より長波長の発光が強化されている。紫色は紫光励起の超高演色昼光色 LED で発光体のピークが他のものより 50 nm 程度短波長にあり、紫から赤まで凸凹はあるもののスペクトルはつながっている。このクラスのを光源に使用すれば、色味がハロゲンランプ励起と大きく変わってしまうことはない。

7.2 フィルター

7.2.1 色温度変換フィルター

図 24 にオプチフォトに付属していたフィルターの透過スペクトルを示す。C10 は色温度変換フィルターと呼ばれるもので、赤色領域の透過率が低く青色領域の透過率が高いため、フィルター透過後の光は、より青みをおびる（色温度が高くなる）^{*50}。銀塩写真の時代には、普通のフィルムは太陽光したで正しく発色するように作られているため、ハロゲンランプを光源とすると赤みがかかった写真になってしまうので、色味を正しくするために用いられていた。デジタルカメラでは、カメラ側で光源の色味に合わせた調整が可能なので、きちんと調整を行えば、このフィルターがなくても正しい色味の写真撮影ができる。

^{*50} C10 は旧製品で、現行は NCB11。C10 は色ガラス系だが、NCB11 は誘電体多層系で分光分布も優れている。

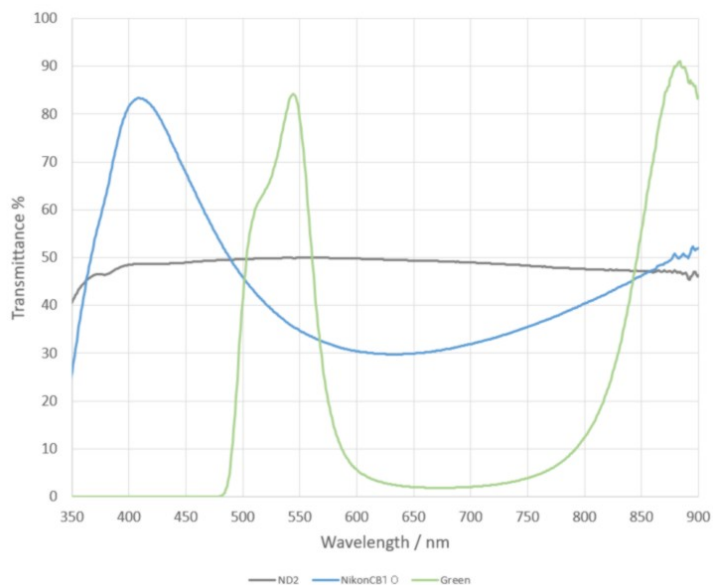


図 24: ニコン偏光顕微鏡に付属していたフィルターの透過スペクトル。

7.2.2 ND フィルター

ND(neutral density) フィルターはすべての波長の光を同等に減光するフィルターで ND2 は光を 1/2 に減光するフィルターである。このほか ND16 も付属している。全波長範囲で透過率がほぼ 50 % になっている。

7.2.3 グリーンフィルター

緑色のフィルターでロングパスフィルターと誘電体多層フィルターを組み合わせたものと推定される。短波長側の立ち上がりはロングパスフィルタにより長波長側の減衰は誘電体多層フィルターが行っている。帯域幅は 50 nm 以上あり狭くはなく、水銀灯の 546nm の輝線の切り出しには対応しているが、ハロゲンランプ光源からセナルモンコンペンセータの波長を抜き出すといった用途にはあまり適していない。

白黒写真でこのフィルターを使うことにより、アクロマート対物レンズの画質が向上するという使い方があったらしいが、液晶観察では白黒写真でも偏光コントラストの関係で白色光照明が普通でグリーンフィルターの出番はあまりない。

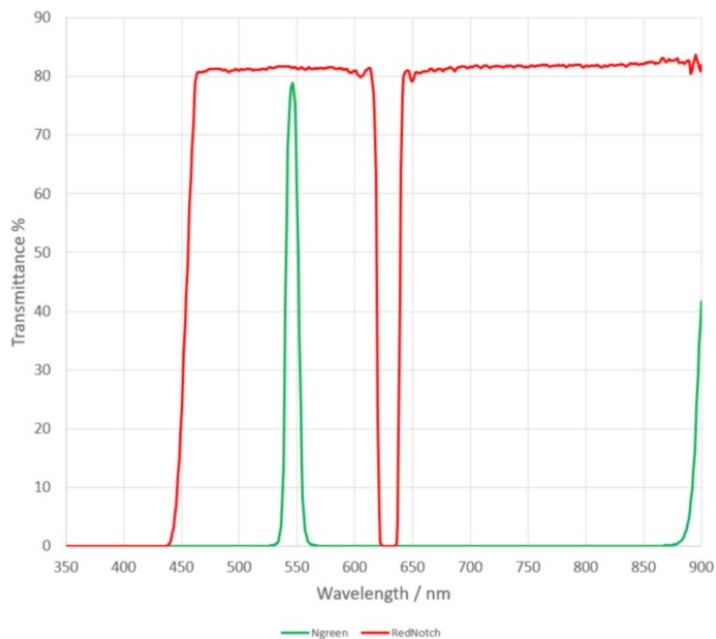


図 25: 狭帯域誘電体多層フィルター。546 nm のバンドパスフィルターと 633 nm のノッチフィルター

7.2.4 拡散板

白色半透明のガラス板。スリガラスよりは透明感が高い。挿入すると光量は減るが、照明の均一性は高くなる。コノスコープ観察で電球のフィラメントが見えてしまう場合には拡散板により改善できる。

7.2.5 狭帯域フィルター

ハロゲン光源でセナルモンコンペンセータを用いる場合などには、狭帯域の誘電体多層フィルターを使う。光源からごく一部の波長を切り出すために光量は少なくなるが、かなり色純度の高い光が得られる。546 nm の水銀の e 線のものの他、主要なレーザー線のものが規格品に存在する。

特定の波長のみを通過するバンドパスフィルターの他に、特定の波長のみを遮断するノッチフィルターも存在する。顕微光でレーザー光を使った測定を同時に行っている場合にレーザー光を遮断したり、レーザー光の検出器に観察用光源の光が混ざるのを防ぐのに使える。

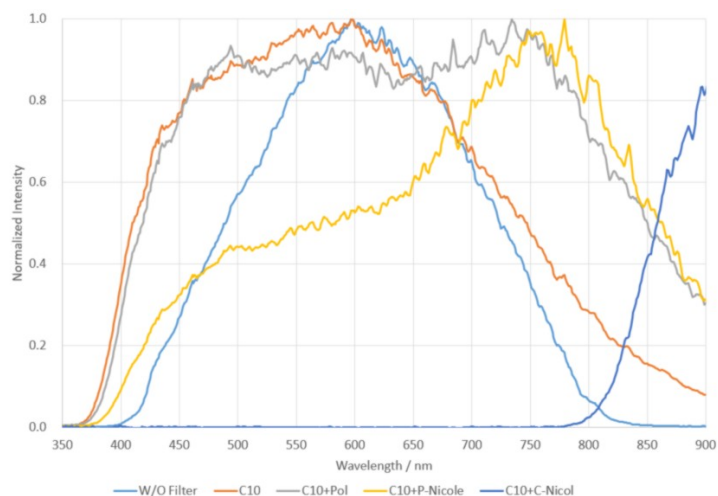


図 26: 顕微鏡光源の放射分布。ハロゲン光源のみでも赤外域で強度が低下している。これは、光路に熱線吸収フィルターが存在するためだと思う。偏光子を入れると、相対的に短波長側の強度が低下している。2枚をクロスニコルで入れたものを見ると750nmより長波長では、光漏れが生じていることが分かる。

7.3 顕微鏡光源の放射分布

図 26 に光源の放射分布、図 27 に色度図上の位置を示す^{*51}。ハロゲン光源であるにも関わらず、放射強度は 600 nm 付近がピークで長波長側では弱くなっている。図??で示したハロゲンランプ単体のスペクトル分布との比較からは、顕微鏡内部に熱線吸収フィルターが取り付けられていると考えられる。

C10 フィルターなどの色温度変換フィルターをいれると短波長側の強度が相対的に高くなる。400 nm 付近までの分光測定を行いたい場合には色温度変換フィルターをいれると、露光時間は長くなるが、それが許容できるなら、短波長側の S/N 比の改善が望める。

8 コンデンサレンズ

偏光顕微鏡にはハネノケ式コンデンサーレンズが装備されていることが多いが、それ以外のコンデンサも存在しており、用途によっては標準装備品と交換して用いる。この節では、標準以外のコンデンサとホットステージとの組み合わせでのケラー照明について

^{*51} これは、手元にあった顕微鏡での測定結果で一般性の保証はない。これを掲載する目的は、このような検討が可能であることを示すことである。

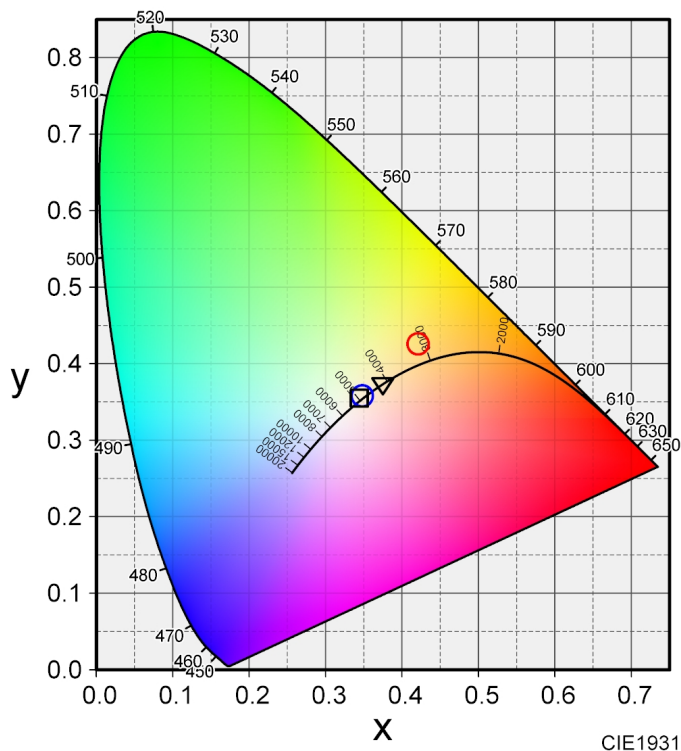


図 27: 顕微鏡光源の色座標分布。色度図作成には ColorAC を使用。赤丸がハロゲン光源のみで色温度は 3000K 程度。C10 フィルター（青丸）で色温度は 5000K 程度になる。偏光子を 1 枚入れた状態で色温度変化はほぼない（四角）が、2 枚パラニコルにすると（三角）色温度低下が見られる。

扱う。

■長作動コンデンサ NA が 0.5~0.6 程度ではあるが作動距離が長いコンデンサで、作動距離がホットステージの厚みに対応できれば、ホットステージとの組み合わせでケラー照明が可能になる。ニコンの正立用長作動コンデンサは作動距離が 10mm あるが、メトラ社のホットステージはステージ下面から試料まで 15mm あるために、作動距離が足らず、ケラー照明はできない。それでも、ハネノケコンデンサの上玉を外した状態よりは光量を稼げる。正立顕微鏡用では米国インステック社から、より作動距離の長いコンデンサが販売されている*52。

倒立顕微鏡用の長作動コンデンサには作動距離が 20mm 以上の物があるが、正立顕微

*52 ジャパンハイテックが扱っているホットステージに関しては、会社が長作動コンデンサを用意しているという話を聞いたことがあるけれどもちゃんと確認はしていない。



図 28: 長作動コンデンサと AA コンデンサ。これらは正立顕微鏡用で、長作動コンデンサの作動距離は 10mm。AA コンデンサの NA は 1.35 となっているが、これは油浸で使用した場合。



図 29: 倒立顕微鏡用のコンデンサ。大きなターレットは位相差リングの切り替えのもの。NA0.5 で作動距離は 20mm を超えており、メトラー社のホットステージでもケラー照明やコノスコープ観察が可能。ニコンの Optiphot、オリンパスの BH2 へは装着できることが確認されている。

鏡とは取り付け部分の形状が異なるため、そのままでは転用できない場合が多い。ニコンの 1970 年代の倒立顕微鏡用コンデンサは同時代の正立顕微鏡に取付け出来ることが確認されている^{*53}。

■アッペコンデンサ 色収差も残存している簡単な作りのコンデンサ。上玉は外すことができ、外した状態では低 NA で作動距離の長い状態となる。上玉を入れると、作動距離が 1mm 程度で高 NA の状態となる。油浸では NA1.2 程度となる。

■AA コンデンサ 色収差と球面・コマ収差補正がなされたコンデンサ。作動距離は 1mm 程度で NA は油浸時には 1.3~1.4 程度あり、油浸対物レンズとの組み合わせで、高分解能観察に用いる。

^{*53} Nikon の Diaphot のコンデンサは Optiphot に取り付けられる。またオリンパスの BH2 に押し込むこともできる。現世代のニコンの顕微鏡に押し込めるかは未確認。現世代のものは、Optiphot 時代に比べてレボルバーから照明の出口までの空間が狭いので、それがネックになる可能性はある。

■**暗視野コンデンサ（ドライ・油浸）** 光の出射光がドーナツ状になっており、ある程度以上の NA 光のみで試料を照射できるコンデンサ。コンデンサの照射 NA より小さな NA の対物で観察すると、試料で光が散乱されない限りは視野は暗黒になる。試料で光が散乱されれば、そこは明るく見えるので、暗視野中に明るく試料が観察できる。

■**位相差コンデンサ** 位相差用コンデンサは位相差観察用の輪帯照明ができる。輪帯照明は、位相差対物レンズ側の輪帯と同じ大きさの物を使う。コンデンサと対物レンズとで輪帯の位置を合わせる必要があり、コノスコープ画像を見ながらコンデンサ側で調整を行う。

■**微分干渉コンデンサ** 微分干渉用のコンデンサは光路を二重にするプリズムが組み込まれたもので、対物レンズ後方に、光路を戻すプリズムを組み合わせて使う必要がある。

■**低倍率コンデンサ** 低倍率コンデンサは広い領域を均一に照明するもので低倍率レンズ専用。ハネノケコンデンサの上玉を外したようなものと考えて良いだろうと思う。

8.1 ホットステージ使用時の照明

すでに触れているように、偏光顕微鏡に標準装備されているハネノケ式コンデンサは上玉を入れた状態で作動距離が数ミリしかないため、ホットステージとの組み合わせでケラー照明は実現できない。上玉を外した状態では作動距離は十分に長くなるが、開口絞を全開にしても NA は 0.2 程度でホットステージと組み合わせて使える対物レンズの NA にはかなり及んでいない。試料の観察では、明るさが足りている限りは低 NA の照明で大きな問題はないし、また、低 NA の方が偏光色変化が少ないので、むしろ推奨される使い方である^{*54}。

しかし、コノスコープ観察を行いたい場合や、試料にあたる光束の範囲を視野絞りでしたい場合には、使用しているホットステージの底面から試料面の距離よりも作動距離の長いコンデンサレンズを用いる必要がある。メトラー社のホットステージを使っているなら、作動距離が 15mm 以上のコンデンサを探し出す必要があるし、ニコンの作動距離 10mm の長作動コンデンサを使うなら、試料までの距離がそれ以下になるホットステージを探し出すか作ってしまう必要がある。

ホットステージを作るにしても市販品を用いるにしても、ホットステージの NA はコン

^{*54} 上玉を入れた状態でも、作動距離が足りずにコンデンサからの出射光のうち垂直光に近い部分しか試料に到達しないので低 NA の照明になる。

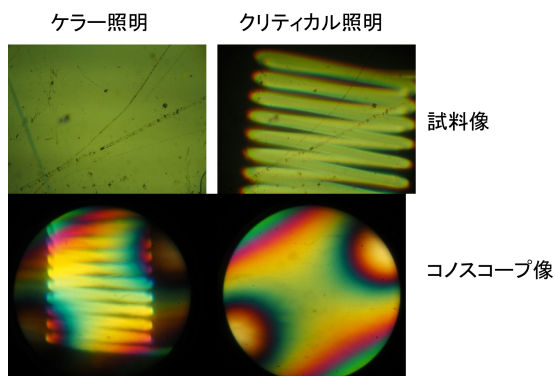


図 30: ケラー照明とクリティカル照明での画像。試料像はケラー照明が均一性が高く、クリティカル照明では電球フィラメントが試料像と重なってしまうが、コノスコープ像では関係が逆になる。

デンサの NA 以上である必要がある。ホットステージの NA が小さいと、コノスコープ観察時に対物レンズとコンデンサレンズの NA から見えるべき範囲の観察が出来ない*55。

ケラー照明により試料の照明範囲を制御出来る。照明範囲を絞れば周囲からの迷光をなくせるので、観察部分のコントラスト低下を防ぐことができる。また、試料の一部のみのコノスコープ像の観察も可能になる。ただし、ケラー照明下でベルトランレンズを入れてコノスコープ像を観察すると、光源のフィラメントがコノスコープ像に重なって見えてしまう。

ケラー照明では対物レンズ後ろ焦点面が光源と共役になっている。コノスコープ画像は対物レンズ後ろ焦点面の像を観察しているのでケラー照明でコノスコープ観察を行うと、光源像が重なった画像となるのである。ハロゲンランプを使っていると、電球のフィラメントのコイルが重なってしまう。ケラー照明でなくクリティカル照明にすれば、試料面が光源と共役になり、対物レンズ後ろ焦点面は光源との共役ではなくなるので、フィラメントは重ならなくなる。しかし、今度は普通の観察画像に光源のフィラメントが重なるようになってしまう。図 30 にケラー照明とクリティカル照明での試料画像とコノスコープ画像を示した。

この問題を避けるには二つの方法がある。一つ目は照明光学系に拡散フィルターを挿入することで、光量は減るが、フィラメント像の重なりは大きく低減できる。もう一つの方法は、タングステンハロゲンランプより面積があり均一度の高い光源に変更して、クリティカル照明とケラー照明の間ぐらいの配置で使用することである。図 31 は 9W クラスの高演色 LED でハロゲンランプに比べて発光面積が広い。コノスコープ、実画像とも

*55 計算ミスで NA の小さなホットステージを作ってしまう、観察時に途方にくれたことがある。

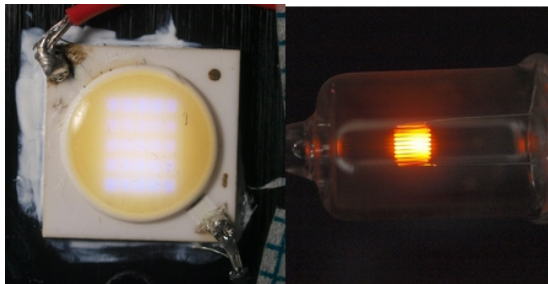


図 31: ハロゲンランプ (右) と LED。同じ倍率での撮影。LED の方がハロゲンに比べて発光面が広く、また均一性も高い。

気になることなく使えている。

光学的 1 軸性物質で光軸が顕微鏡光軸と同じ方向にある場合、乾燥系では $NA=0.8$ の対物レンズを用いても、コノスコープ像の最外周の OPD 値は、同じ厚さで光軸が顕微鏡光軸に垂直な場合に比べて $1/3$ 程度にしかならない^{*56}。このため、より厚めの試料を用いないとコノスコープ像の中心付近しか観察できない。

■より広い角度のコノスコープ像を見る $NA=0.5$ は外部角度 30° であるが、観察対象の屈折率が 1.5 だと内部角は 20° 程度になってしまう。SmC 相のチルト角は 2 次転移をするものでも 20° は超えてしまうので、 $NA=0.5$ では光軸方向がコノスコープ像の外側になってしまう。

より広い角度を見たい場合に行われている方法は、楔型のガラスを用いたセルを使うことである。実際に楔型のガラスセルを用いて SmC 系のコノスコープを大角度まで測定した論文も存在する。しかし、楔型ガラスのセルは厚みが増すはずで、専用のホットステージが必要になるのではないかと思う。

もう一つの方法は、半球レンズを用いることで、完全な半球レンズでも、液晶セルのガラスと併せて試料位置を中心とした半球が成立するようにしてもよい。観察対象の屈折率とガラスの屈折率と同じなら、対物レンズの NA から求められる角度がそのまま内部角度となる^{*57}。

^{*56} 計算は平均屈折率 1.6 で行っている。 $NA=0.5$ の対物だとホモジニアス配向の 10 % 程度の OPD となる。同じ色調を観察するためには、一桁厚い試料が必要だ。

^{*57} とりあえず、室温液晶では試したことがあり動作は確認できている。高屈折率の硝子板と半球レンズを使えば、対物レンズの NA よりも広い角度範囲が見られるはずだが、さすがに試してはいない。

8.2 オルソスコープの NA と色味変化

鉱物系の偏光顕微鏡のテキストには、オルソスコープ時には照明光線を平行光束とすることが記されている。これは、斜入射光線が混ざると偏光色に変化が生じるためである。斜入射光線によりどの程度の色味変化が生じるかは、その状態のコノスコープ像を見れば、推測可能である。

水平配向液晶セルの場合ダイレクターに垂直な方向な面内では入射角が大きくなるにつれて光路長が長くなるので、偏光色はリタレーションが大きい側にシフトする。基板面に垂直でダイレクターを含む面内で入射角が大きくなると異常光屈折率が常光屈折率に近づいていくために色味変化はリタレーションが小さい側にシフトする^{*58}。結果として垂直入射からスペクトルの幅が広がるような変化となり、色味は浅くはなるが大きくは変化しない。

垂直配向セルでは低 NA 照明では暗視野であったのが、照明の NA が大きくなると全体に明るくなる。また、垂直に近いような斜め配向では色味が変化が大きいのではないかと思う。

8.3 落射照明

対物レンズ側から対物レンズ（またはその外周）を通して試料に光を照射するのを落射照明と呼ぶ。落射照明は金属など不透明な物質の表面観察には欠かせない観察方法である。液晶観察ではフリースタンディングフィルムの観察で用いられる場合がある。

落射鏡筒にも視野絞りと開口絞りがついていて照明範囲と NA を独立に制御できる。透過照明と異なり、光源に近い方が開口絞りで、遠い方が視野絞りとなっている。

落射照明時は半透鏡を光路に入れて照明光を対物レンズを通して試料に照射する。落射鏡筒にはフィルターホルダーがついているものもあり、オプションの偏光フィルターを用意すれば落射偏光照明もできる。ただし、半透鏡での反射時に、s 偏光と p 偏光の反射率が異なっていたり、両者で異なる位相変化が生じたりする可能性があるので、直線偏光照射をしたいなら、偏光は入射面内か入射面に垂直かのいずれかにしなければならない^{*59}。

落射暗視野照明には、落射照明にも対応した落射鏡筒と、専用の対物レンズを用いる。

^{*58} 昔ざっくりした計算でそうなったけど、改めて計算しないと本当は自信ない。

^{*59} Nikon の有限系の落射鏡筒では s 偏光と p 偏光の位相差がほぼ 1/4 波長であるようで、偏光を大凡 45 度方向にすると、かなり程度のよい円偏光になる。もちろん 135 度方向では逆符号の円偏光となる。

落射鏡筒では中心部に半透鏡のある明視野用の照明と、対物レンズの外周に対応した領域に反射鏡があり、中心部分は素通しの落射暗視野照明用の光路が切り替えられる。透過観察の時には暗視野照明用光路にしておけば、余計な半透鏡が入ることはない。

9 偏光子と検光子

偏光子は照明側、検光子は観察側にある偏光板の名称である。検光子回転でき、透過軸の角度が分かるように目盛りが付いている。偏光子は目盛りがついて回せるものも、固定されたものもある。

偏光子にはフィルム偏光子が用いられている。フィルム偏光子の発明以前は、方解石を使ったプリズム偏光子が用いられていた^{*60}^{*61}。偏光子側はニコルプリズム (Nicol prism) が、検光子側はグラントムソンプリズム (Glan-Thompson Polarizers) を二つ組み合わせたようなアーレンスプリズム (Ahrens prism) を使う物が多い^{*62}。プリズム偏光子は口径を大きくすると全長が長くなってしまふ。その点フィルム偏光子は大きさによらず厚みは一定である。コスト的にもフィルムの方が安価であるため、通常の偏光顕微鏡の偏光素子はフィルム偏光子になったが、一部の消光比が要求されるシステムではプリズム偏光子を用いている。

フィルム偏光子は 400nm より短波長側には吸収がある。また、750nm より長波長側では偏光度が低下する。目視観察や写真撮影の用途には問題ないが、分光器を使って分光測定を行う場合には 700nm より長波長側の二色比の測定結果の扱いには注意が必要である^{*63}。

偏光顕微鏡によっては、検光子の上部に偏光解消板が取り付けられたものがある。これは、双眼・3 眼鏡筒の光路分岐プリズムに偏光依存性があると、直線偏光のままだと左右

^{*60} 方解石を使ったプリズムが作られる前には、トルマリンの吸収 2 色性を用いた偏光子が使われていた。

^{*61} フィルム偏光子を用いた偏光顕微鏡が日本国内で製造されるようになったのは、第 2 次世界大戦後の昭和 20 年代のことである。初期の製品にニコンの POH があり、三菱電機製のダイクロームを用いている。「偏光板を使用した偏光顕微鏡」上野正、応用物理第 21 巻第 7 号 272(34) 頁 (1952) 上野氏はニコンの顕微鏡技術者

^{*62} ニコルプリズムは入射光の光路が平行にずれるため、検光子側に使うと偏光軸の回転にともない像が動いてしまうので、検光子側には回転で像が動かないプリズムが使われていた。ニコルプリズム以前には、方解石の複屈折により 2 つの偏光の光路がずれるのを利用した偏光子も使われていたが、光路のズレ量を確保するには、方解石の厚味が必要で、その点ニコルプリズムは遙かに短い長さで一方の偏光のみを取り出すことができた。また、ニコルプリズムは他の偏光プリズムに比べて方解石の利用効率が高いので、回転しない偏光子側には用いられていた。

^{*63} 近年では紫外から近赤外まで対応できる広帯域偏光板もある。これを用いれば、顕微鏡の光学系が対応できる波長範囲なら偏光測定が可能。

での明るさが異ってしまうのを防ぐためである*64。

10 位相板

対物レンズと検光子の間に位相差板を入れるホルダーがある。標準的な位相差板である $\lambda/4$ 板 (Quarter Wavelength Retardation Plate)、鋭敏色板 (sensitive color plate, sensitive red plate, First Order Reterdation Plate)、それ以外にセナルモンコンペンセータ (de Sénarmont Compensater)、楔型コンペンセータ (Quartz Wedge)、ベレックコンペンセータ (Berek Compensator)、ブレースケラーコンペンセータ (Bräce-Köhler Compensator)、バビネ-ソレイユコンペンセータ (Soleil-Babinet Compensator) などがオプションである。

位相差板は複屈折性の物質で作られている*65。ニコンの機種では位相差板には Z' と X' の軸方向が記載されている。 Z' に平行に振動する光の感じる屈折率の方が X' に平行に振動する光の屈折率よりも大きい。オリンパスの機種では γ で軸方位を表記してある*66。軸方位を知っていれば、試料と位相差板を重ねた時の OPD 変化から、試料の軸方位を判断できる。

■ **$\lambda/4$ 板** 位相差が基準波長の $\lambda/4$ の位相差板。基準波長はナトリウムの D 線 (589.3nm) のものは位相差 147nm、水銀の e 線 (546nm) のものは 137nm である。光軸は偏光子の軸から 45 度。

■**鋭敏色板** 位相差が 530nm~580nm 程度の位相差板。この位相差付近で青色光と赤色光の比率が変化して、色調が赤から赤紫を経て青へと大きく変化するために、複屈折の小さな試料のコントラスト増強に用いられる。鋭敏色板の軸方向は偏光子に対して 45 度。

■**セナルモンコンペンセータ** 水銀の 546nm のスペクトル線 $\lambda/4$ 波長の位相差板であることが多い。軸方向は偏光子に平行。使用時にはセナルモンコンペンセータの基準波長 (通常は 546nm) の単色光を用いる必要がある*67。試料を消光状態から 45 度傾けるとコ

*64 偏光解消板の有無が分光測定に影響を与える可能性がある。ファイバーカップリングの分光器での測定でファイバーの揺れでスペクトルが変化する場合があるらしいのだが、それが、ファイバーの状態変化が偏光状態の変化を引き起こしたためである可能性がある。

*65 スロットホルダーに挿入する鋭敏色板などは、2 軸性の雲母を用いているものもある。2 軸性物質には斜入射で屈折率が大きく変化するものがあり、垂直入射と斜入射で OPD が変化してしまう危険性があるが、スロットホルダー部分では光はほぼ垂直入射となるため問題はない。

*66 どちらの軸か未確認

*67 水銀の e 線を使うか、その波長の狭帯域のフィルターを使うことになる。



図 32: $\lambda/4$ 波長板と鋭敏色板。ニコンの製品（上）は一つの板に両方ついていて本体に付属している。オリンパスはオプションで別々に供給されている。



図 33: セナルモンコンペンセータ。軸方位が通常のコンペンセータと 45° 異なっている。

ンペンセータ通過後の光は直線偏光となり、その偏光方向から OPD が求められる^{*68}。

■**ベレックコンペンセータ** 1 軸性結晶の光軸を中心位置では顕微鏡の光軸に平行で、軸方位を ± 30 度ほど機械的に回転できる補償板で、傾ける操作により連続的に OPD 値を変化できる。試料の OPD をコンペンセータの OPD で補償して消光状態を作り出し、そのときの角度の読みから OPD を求めるのに用いる。

■**ブレスケラーコンペンセータ** 数十 nm の OPD を持つ位相差板で、このコンペンセータの OPD より小さい OPD の試料と重ねた時に、コンペンセータの軸方位を変えて透過光量が最小となる角度の読値より試料の OPD を求められる。測定可能な OPD は数十 nm 以下でベレックコンペンセータでは測定が困難な微小 OPD 試料の測定に用いる^{*69}。

■**楔型コンペンセータ** 複屈折物質を楔型に研磨した位相差板で、場所により OPD が連続変化する。正確な OPD 測定はできない。

*68 OPD には基準波長の整数倍の不確定性がある。

*69 オリンパスから供給されていたが途絶えたようだ。



図 34: ベレックコンペンセータ。上は日本地科学の製品でニコンの顕微鏡に対応している。ニコンは自社でベレックを製造していない。下はオリンパスの製品で DIN 規格のスロットに対応している。

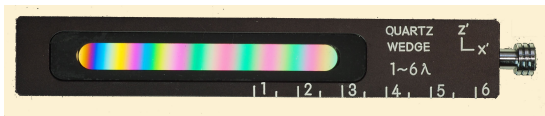


図 35: 楔型コンペンセータ。クロスニコルに挟んで撮影しているので偏光色が見えている。

■バビネ-ソレイユコンペンセータ 楔型コンペンセータでは、OPD が場所により変化するが、同じくさび角度のプリズムを重ねることにより、OPD に場所依存がなく、楔形プリズムの位置をずらすことにより OPD 可変となるコンペンセータとなる^{*70}。

11 遅速軸の決定および円偏光の符号判定

11.1 位相差板を用いた遅速軸の決定

鋭敏色板及び $\lambda/4$ 板は試料の遅速軸の判定に活用できる^{*71}。遅速軸の決定にあたっては、偏光色図表の色の並びが分かっている必要があるため、改めて偏光色図表を掲載す

^{*70} かつては、ニコンの顕微鏡用のオプションの付属品として存在したが、現在は提供されていない。幻のアイテム。

^{*71} 鋭敏色板は微小 OPD 試料の可視化にも使えるが、これについては改めて触れる

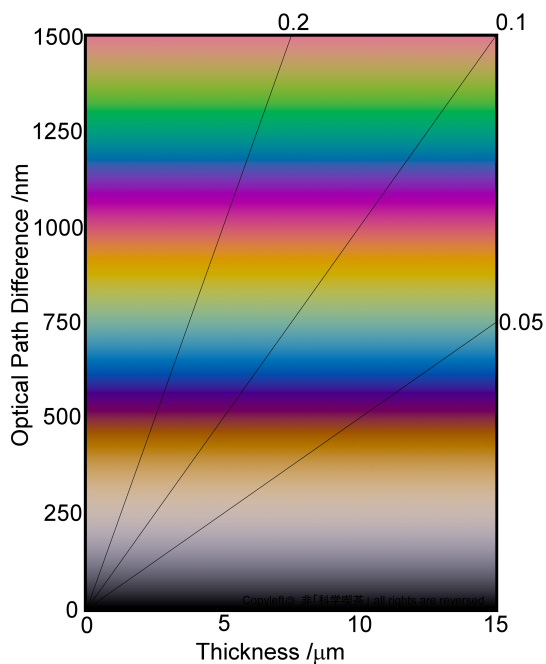


図 36: 偏光色図表

る^{*72}。鋭敏色板の OPD は 530nm 程度であり、偏光色図表で赤紫で、OPD が増加すれば青系に減少すれば黄色方向に変化する。 $\lambda/4$ 板の OPD は 140nm 程度なので、着色はなく、また $\lambda/4$ 板を中心として OPD の多少の加減でも偏光色は変化しない。

先に記したように、ニコンの位相差板には Z' 軸と X' 軸の方位が示されており、 Z' 軸が屈折率の大きな遅軸方位になる。試料を消光位から 45° 回転した状態で、位相差板を挿入する。挿入後に偏光色が OPD が増加する方向に変化したのなら、試料の遅軸は Z' 軸方位と同じであり、減少する方向に変化したなら遅軸は X' 軸方位であると決定出来る。試料の OPD が 100nm 以下程度以下で目立った色調が見られない場合には鋭敏色板を用いる。試料との重ね合わせで OPD が増加したなら色調は青色にシフトする。減少すると黄色に変化する。

試料の OPD が数 100nm 以上あり、試料自体で偏光色が観察される場合には、鋭敏色板を重ねると色の飛びが大きく、OPD が増加したのか減少したのかの判別が困難になる。たとえば、OPD が 1000nm 程度で赤紫が見えている場合に、鋭敏色板を重ねると 500nm の赤紫か 1500nm の赤紫に変化するが、複屈折の分散が強い場合など、色調の変

^{*72} 着色機構については複屈折物体の光学の章を参照のこと。

化が読みにくいことがある。このような場合には、鋭敏色板ではなく $\lambda/4$ 波長板を用いる。1000nm の赤紫の場合、加算的に重ね合わされば青に、減算的なら黄色へと変化する。

11.2 $\lambda/4$ 板による円偏光の確認

$\lambda/4$ には円偏光を直線変更へと変換する機能がある。この機能は厳密には $\lambda/4$ 板の設計波長のみ当てはまるが、その両側のある幅の波長域に対しても、それなりの効果はある。 $\lambda/4$ 板通過後の円偏光は円偏光の符号により、 0° 方向か 90° 方向に振動面を持つ直線偏光となる。このため、検光子の方向により明または暗状態となる。コレステリック液晶のように特定の波長域のみ円偏光である場合には、検光子の方向により、色調が鮮やかになるか色を失う。これを利用すれば円偏光の符号を決定できる。

12 OPD の定量評価

12.1 ベレックコンペンセータによる OPD 評価の注意点

ベレックコンペンセータは測定範囲が 1500 nm 程度までのものと、より広いものがあるが、液晶を対象とする場合は、屈折率分散の影響で大きな OPD 試料の測定には問題があるので、1500 nm 程度までのものでよい。

試料の均一な部分を消光位から 45° の最も明るくなる角度に設定する。ベレックコンペンセータの素子が水平な状態でスロットに挿入しても明暗や色味はほぼ変化しない。この状態からコンペンセータを回転すると、色調が変化する。色調変化が減算か加算かを確認し、加算変化した場合は、回転ステージを 90° 回転する。コンペンセータを操作して、素子の回転角度を大きくしていくと、やがて、試料の OPD とコンペンセータの OPD が等しくなった時点で視野の中央が暗くなる。この時の目盛りの値を記録する。続いて、コンペンセータを逆に回転させ、再び視野の中央が暗くなったときの値を記録する。2つの値の差が試料の OPD を相殺するのに必要なコンペンセータの傾き角度の2倍の数値である。この値を元にコンペンセータの表から三角関数を含む関数の計算値を求め、その値と、コンペンセータの個別の校正值から OPD を算出する^{*73}。

表計算ソフトがあるなら、コンペンセータの補正表をもとにコンペンセータの読みと OPD の関係式を作成したシートを作っておけば、いちいち表を参照しなくても記録した

^{*73} 個別の校正值が必要なのは、コンペンセータの厚みが正確に同一でないため、同一の回転角でも生じる複屈折量に個体差があるため。

目盛りの値から OPD を求められる。

もし、コンペンセータの補正表が方向不明の場合は、OPD が既知の位相差板（たとえば、鋭敏色板）に対するコンペンセータの読みをもとに、コンペンセータの角度と OPD の関係を定めることが出来る。例えば、坪井の「偏光顕微鏡」には OPD と入射角の関係式として

$$R = d(n_e - n_o) \sin \theta \tan \theta \quad (3)$$

という式が示されており、これなら一つの角度の測定のみで角度と OPD の関係が決定出来る^{*74}。

12.1.1 ベレックコンペンセータ測定に対する複屈折分散の影響

コンペンセータの材料と試料の複屈折分散が異なると、波長により OPD の打ち消し量が異なってしまうため、完全な消光状態を作り出せない。試料の OPD が小さい間は、打ち消し状態を見誤ることは少ないが、試料の OPD が大きくなると、本来の消光位置より一山か二山先の極小の方が暗くなる。最も暗くなる場所の読みを使うと OPD を過大評価してしまう。

図 37 に方解石のコンペンセータにより 5CB の補償を行ったシミュレーションを示す。OPD 値は D 線での値である。試料の OPD が増えると、本来の値より大きな値で明るさが最小となる。単色フィルターを使えば、周期的な明暗が確認できるが、偏光顕微鏡付属の緑フィルターはバンド幅が広いため、緑フィルターを入れても図 38 に示すように、正しい値より大きな値で暗くなる。狭帯域の単色フィルターならこのようなことはないが、どの極小が補正值であるかの判断は容易ではない。

12.2 ブレースケラーコンペンセータ

ブレースケラーコンペンセータは Δnd が 50nm 程度までの微小な複屈折を測定できるコンペンセータで複屈折量の測定その他、微小複屈折試料のコントラストを高くするのも用いることが出来る。ブレースケラーコンペンセータは、それ自身の Δnd が数十 nm 程度の位相差板である。測定対象の試料を偏光子の光軸から 45 度にセットした状態で、ブ

^{*74} ベレックコンペンセータは OPD が小さいと暗い領域の幅が広く、読み取り誤差が大きいため、 $\lambda/4$ 板より鋭敏色板をもちいて校正する方がよい。この方法で構成したものは多少の誤差はあるかもしれないが、相対的な大小の比較検討には問題はない。分散も含めて、より正確な値を出したいなら、分光測定がよいと思う。分光測定の詳細については、この章の後の方を参照のこと。

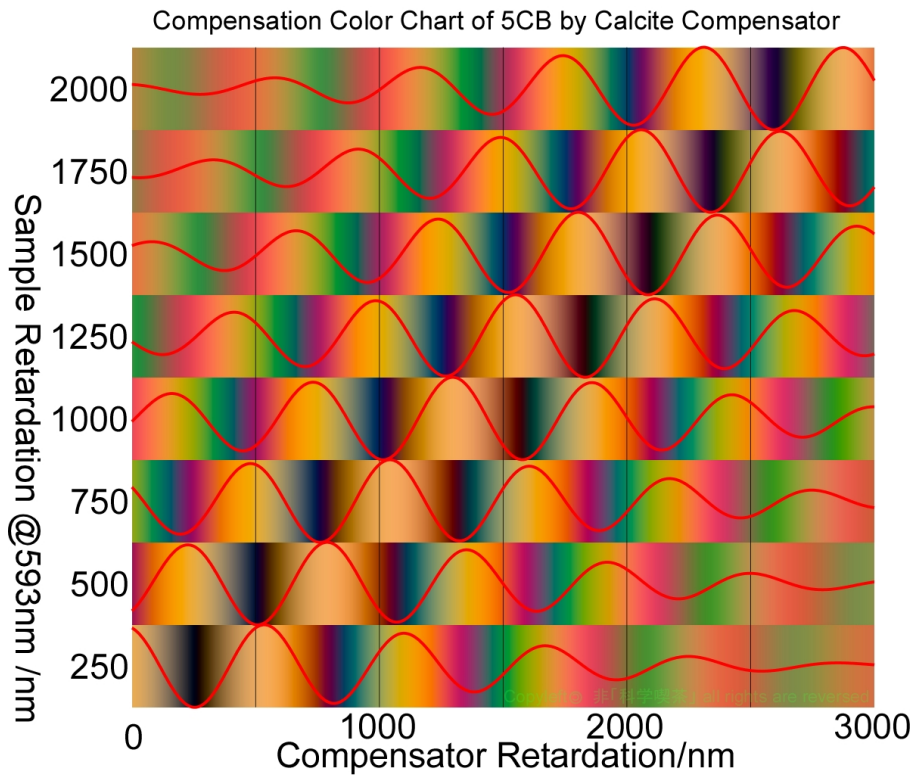


図 37: 方解石コンペンセータによる 5CB の補償シミュレーション。OPD が 1000nm 程度未満だと、正しい測定値で最も暗くなるが、それ以上になると本来の値より大きな読みの場所で最も暗くなる。

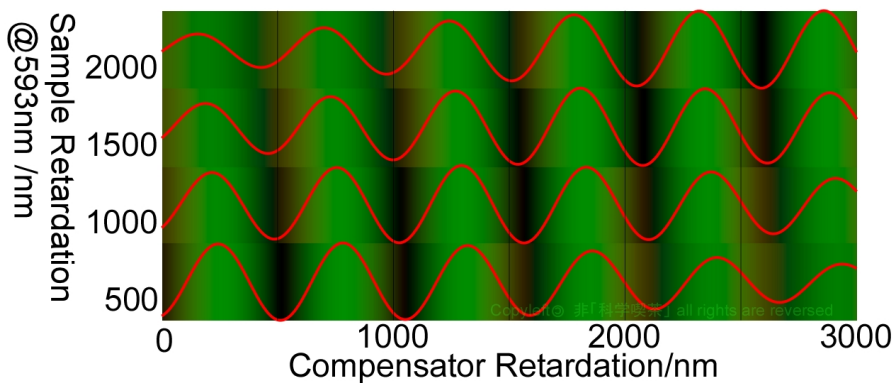


図 38: ニコンの偏光顕微鏡に附属する緑色フィルターを用いた場合の方解石コンペンセータによる 5CB の補償シミュレーション。試料の OPD が 2000 nm の場合には、それより大きな値で明るさが最小になってしまう。

図 39: 530nm の鋭敏色板の透過スペクトル

レースケラーコンペンセータを光軸回りに回転するとある角度で測定対象が最も暗く見える。この時の角度から試料の Δnd を求められる。

ブレースケラーを回転していると、角度によっては試料と周囲のコントラストが高くなる所もある（逆にコントラストが低下して周囲と同じ明るさになる角度もある。）。これを利用すれば観察が容易になる場合がある。

13 微小複屈折物体の観察

OPD が小さい試料は目視では暗くて観察しづらい。このような場合には鋭敏色板を入れると、色調変化により微小 OPD 試料の観察が容易になるとされている。たとえば、坪井誠太郎の「偏光顕微鏡」^{*75}の「325. 微弱な複屈折の認定」には「しかし、複屈折が微弱である場合には、その薄片のレターデーション R が極めて小さく、直交ニコル間では殆ど暗黒に見え、複屈折のあることを確認するのが困難であることがある。そういう場合に、これを認定するには、鋭敏色検板を差し込み、白色光を用い、薄片重ね合わせの理を応用して検すればよい。」との記述がある。確かに、OPD が小さいと目視では暗く、存在の確認が困難である場合もある^{*76}。ところが、目視ではなくデジタルカメラからの出力をモニターで観察する場合には、目視では判別困難な微小 OPD 試料の明暗変化が観察できる場合がある。また、微小 OPD 試料のコントラスト増強については通常の鋭敏色検板以外の手法も提案されている。ここでは、微小 OPD 試料の観察について、幾つかの手法を紹介する。

13.1 鋭敏色板による観察

鋭敏色板は OPD が 530nm の位相差板で、クロスニコルに鋭敏色板を入れた場合の透過スペクトルは図 39 のように、530nm で透過光量が 0 で短波長側と長波長側で透過光が増加していく。緑の光が弱められ、青と赤が透過するために、色味は赤紫となる。

これに OPD が R の試料が加算的に重なると OPD は $530+R$ 、減算的に重なると $530-R$ となり、透過光量 0 の点も OPD と同値の波長へとシフトする。加算的にかさなると、青色が増加し、赤色が減るため色味は青みが強くなる。減算的なかさなりでは赤みが強くな

^{*75} 岩波書店:19959

^{*76} 特に同一画面内に明るい領域があると、識別が困難になりやすい。

り青みが減るために、色調は黄色方向へと変化する。

鋭敏色板の OPD 値は現在では、ニコン、オリンパスとも 530nm であるが、かつては 570nm 付近のものが使われていた。1950 年頃に久保田は鋭敏色の感度に関する計算を行い*77、鋭敏色板の感度は照明光に依存し、電球光では 570nm 付近であるが、太陽光では 530nm であることを示した。ニコンはこの結果を踏まえて、POH 型より鋭敏色板の OPD を 530nm とした*78。

清水によれば*79、感度の高い OPD の鋭敏色板では 1nm 未満の試料の見極めができる。ただし、清水の実験は顕微鏡でおこなったものではなく、偏光プリズムを使った消光比の高い光学系で色差比較も境界が明瞭な条件で行われているようなので、実際の液晶観察、特に配向が連続変化するために明瞭な段差がない条件では識別できる最小 OPD 値は、より大きいと思われる。図 42 に OPD が約 3nm の雲母に 530nm と 560nm の鋭敏色板を重ねた写真を示す。光源はハロゲンランプで色温度変換フィルターは用いていない。また、カメラ側の色温度設定は太陽光でおこなっている。写真の印象は露光量やカメラ側の色温度設定でも異なるのだけれど、写真では OPD560nm の方がコントラストがあるように見えており、これは、実際に目視観察した印象に近い。光源に色温度変換フィルターを入れると、見え方は変化する。

13.2 超鋭敏色板

通常の鋭敏色板より高感度の手法として提案されたのが久保田による超鋭敏色法である*80。この方法では鋭敏色板の半分の OPD 値の ($530/2=265$) 位相差板を用い、偏光子と検光子はパラニコルに設定する。

クロスニコル間に 265nm の位相板を入れると、265nm で 1 波長となり元の偏光状態に戻るのでクロスニコルで遮断される*81。530 nm の光は半波長となるため、入射光線から 90° 回転した直線偏光となり、クロスニコルは損失を受けることなく透過する。パラニコルでは逆に、530nm の光は完全に遮断されてしまいクロスニコル間の鋭敏色板に類似の

*77 引用文献見つからず

*78 当時の光源はタングステンランプであり、太陽光にするには色温度変換フィルターを使う必要があった。それなのに何故鋭敏色板を太陽光対応にしたのかの理由は記されていないのだけれど、カラーでの映像記録を意識したものであったのではないかという気がしている。

*79 「鋭敏色の感度測定」清水嘉重郎、応用物理 25 巻 217 頁

*80 H. Kubota, On Sensitive Color, J. Opt. Soc. Am, 40 PP.621(1950). ,H. Kubota, T. Ara and H Saito, On the sensitive color of chhromatic polarization, J. Opt. Soc. Am, 41, P. 537(1951)., 鋭敏色の色彩論的研究, 久保田廣, 応用物理 V. 20 P 290(1952).

*81 それ以前に紫外領域で光源から光がでていないしフィルム偏光子も普通のガラスレンズも透過しないが

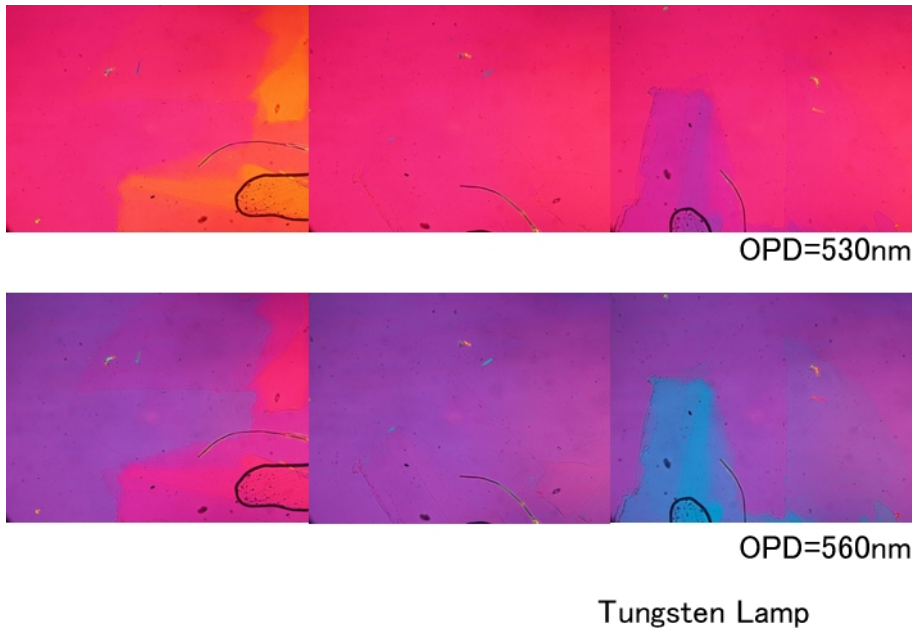
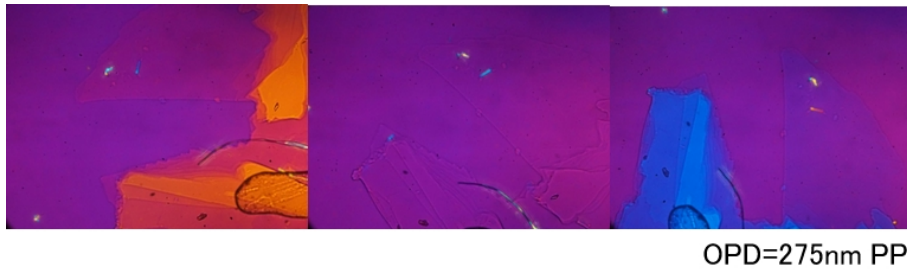


図 40: OPD が約 3nm の試料の画像。光源はハロゲンランプで色補正無し。撮影は昼光 (5300K) でおこなっている。鋭敏色板の OPD が 530nm より 560nm の方がコントラストが明瞭に見える。

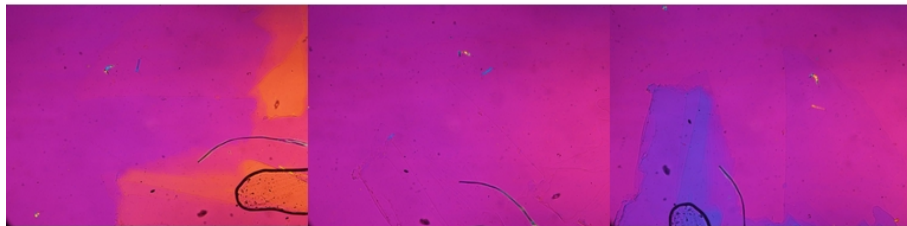
色調となる。鋭敏色板の場合と同様に、別の複屈折物質が重なって OPD 値が変われば、透過できない波長もシフトして色調は青方向か黄色方向に変化する。この変化は通常の鋭敏色板と同じであるが、シフト量は重ねた試料の OPD 値の倍となるので、通常の鋭敏色観察より感度よく微小複屈折試料の判別が可能となる。明るさ変化を考慮しない計算では約 2 倍、考慮した計算では 1.5 倍程度高感度になるとされている。

この方法のためには OPD が 265nm の位相差板が必要である。そんな都合のよい位相差板があるかということ、YAG レーザーの倍波 (532nm) 用の半波長板 (OPD=266nm) という、このためにあるのではないかとしか思えないものが世の中には存在する^{*82}。

^{*82} とはいえ、レーザー用の位相差板はそれなりの価格がするもので、遊び半分に試すのには高価ではある。代用品がないかとかんがえると、可能性がある一つは、スコッチのクリアテープを何枚か重ねること。クリアテープの OPD は小さいので、何枚か重ねて近いものは作れる。ただし細かいムラがあるので、それが気になるかもしれない。もう一つは透明な白雲母を剥いで適当な厚さにすること。これは、かつては研究者が行っていた作業であるようで、井上信也さんの自伝には白雲母を剥ぐ話がある。水中でやると空気中よりはやりやすいとのこと。ちなみに、写真撮影に用いた試料は水中で剥いだ雲母で、3nm という OPD 値と雲母の複屈折の文献値から厚みは 100nm 程度と推定される。



OPD=275nm PP



OPD=530nm CP

図 41: OPD が約 3nm の試料の画像。光源はハロゲンランプに C12 フィルターで色温度補正をしている。撮影は昼光 (5300K) でおこなっている。通常の鋭敏色板は上で示したハロゲンランプ設定に比べるとコントラストはでているが、超鋭敏色法はそれ以上のコントラストとなっている。

13.3 低角鋭敏色検板法

Newton らによると^{*83}、鋭敏色板の光軸を偏光子（または検光子）の透過軸から 10° 以内の角度に設定すると微小 OPD 物体にコントラストを付与できる。鋭敏色板の軸と偏光子の軸の角度が小さいと画像は暗くなるが色味変化は大きくなる。軸角度が大きくなるにつれて画像は明るくなるが色味変化が小さくなっていく^{*84}。

通常の偏光顕微鏡では、鋭敏色板の光軸方向は変えられないので、偏光子と検光子の角度を変化させる必要がある。検光子の角度目盛りが 0 や 90 ではない中途半端な値となるし、また、消光位も通常の使用状態とは異なった角度になってしまうため、通常の検鏡状態に戻した後で混乱を生じる危険性はあるが、鋭敏色板を使う通常の手法よりも高コントラストでの観察ができる。

^{*83} Polarized light microscopy of weakly birefringent biological specimens, R. H. Newton, J. P. Haffegge and M. W. Ho, J. Microscopy, Vol.180, PP.127-130(1995).

^{*84} かなり暗くなるとで目視観察はやりにくいかもしれない。カメラで受けて明るくすると見やすくなる。

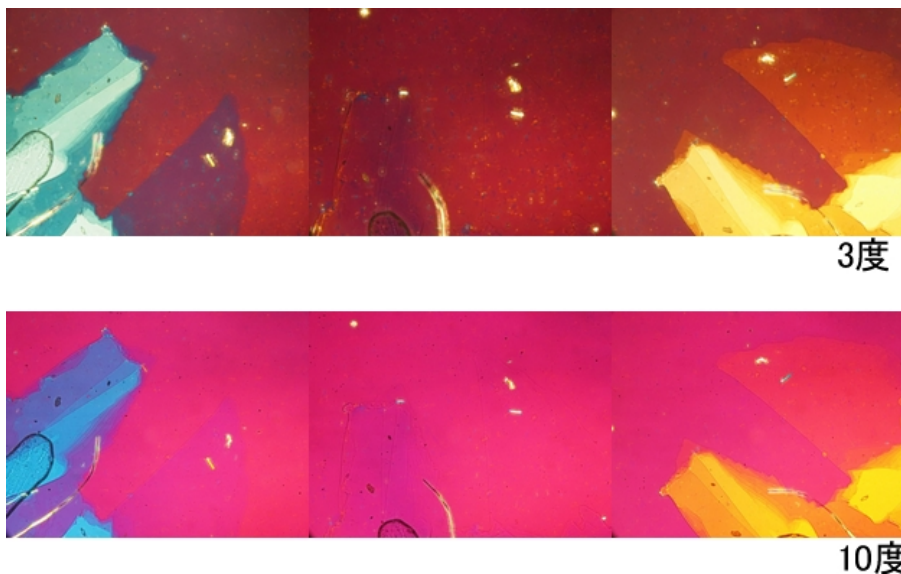


図 42: OPD が約 3nm の試料の画像。偏光子と検光子の軸を鋭敏色板の軸に近い角度に設定している。上はズレ角が約 3 度。下は 10 度。

図 43: 露出調整による微小 OPD 試料の可視化

13.4 微小複屈折物体を重ねる方法

ブレースケラーコンペンセータはそれ自体が 10~50nm 程度の微小 OPD の複屈折性プレートであり、微小 OPD 試料と加算的に重ね合わせるにより明度を上げて弁別しやすくすることにも使える。もっともこの目的のためだけなら、ブレースケラーコンペンセータでなく、適当な OPD の位相差板でよく、上にも記した雲母やクリアテープでも良いだろうと思う。

13.5 電子的な明るさ増幅による可視化

目視では暗くても識別困難な画像でも、電子的な増幅によりディスプレイに明るく表示できれば微小 OPD の識別ができる場合がある。図 43 は静止画であるが、デジタルカメラからの映像出力ではリアルタイムでの識別も可能である。

ディスプレイ上での観察では、画面内に通常の明るさの領域が含まれていると、その部分に露出が引きずられて観察対象部分が暗くなりすぎたり、散乱光によりコントラストが低下したりする。照明範囲を絞って必要な部分のみに照明光を当てるようにできればこの

問題は防げる。

13.6 消光比の改善によるコントラスト向上

微小 OPD 試料の観察を困難にする一つの要因はクロスニコル状態でも生じる光の漏れである。漏れの原因には、偏光子の消光比の問題のほか、レンズによる偏光の乱れがある。偏光顕微鏡用のレンズはひずみがなく、ひずみによる偏光の乱れは抑えられているが、特に高 NA レンズでは斜入射光では S 偏光と P 偏光の反射率が異なるために偏光変化が生じてしまう影響があり、これが消光比の悪化を招いている。反射率の違いによる偏光の乱れは、レンズコーティングにより低減できるが、現在のような高度なコーティング技術がなかった時代には、光学的手法により偏光の乱れを補正する手法が開発されていた。

この装置はレクチファイアと名付けられたもので、凹レンズと凸レンズを組み合わせたレンズ系で構成されている。レンズ系は全体として焦点距離が無限大でレンズとしては平行平板と同じであるが、対物レンズやコンデンサレンズと同程度の偏光の乱れだけは生じる光学素子である。レクチファイアだけでは、偏光の乱れが倍になってしまうが、レクチファイアと補正をかけたいレンズの間に $\lambda/2$ 板があれば、レクチファイアによる偏光の乱れは対物レンズ（コンデンサレンズ）による乱れを相殺する。

レクチファイアは原理的に $\lambda/2$ 板の波長で最適な動作を行うもので、使用にあたっては、水銀灯を用いて、e 線 (546nm) での観察が行われていた^{*85}。レクチファイアを装着した偏光顕微鏡はニコンから発売されていた。また、コンデンサ側のみにレクチファイアを備えた偏光/微分干渉用の顕微鏡も存在していた。

14 ユニバーサルステージ

偏光顕微鏡観察においては、試料を傾斜したくなることがある。かつては、そのための種々の付属品が開発され提供されていた^{*86}。

15 偏光顕微鏡の調整

前章では日常的に行うべき調整を扱った。ここでは、必要に応じて行う調整を紹介する。

*85 と一応したけれど、もっと短波長かもしれない。

*86 高分子素材の偏光顕微鏡入門、栗屋 裕、アグネに結構詳しい解説があるのだけれども、ユニバーサルステージが幻のアイテムになっていて、おいそれとは試せるものではなくなっている。

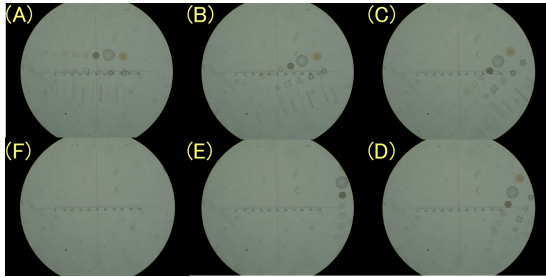


図 44: 芯が出ていない状態で回転をすると、最初は画面の中心にあった対象物が視野の外側に行ってしまう。

15.1 ステージとレボルバーの芯だし

ステージとレボルバーの回転中心が合っていないと、ステージを回転したときに観察している領域が視野の外に外れることがある^{*87}。対物レンズの芯だしをして回転ステージと対物レンズの軸を合わせれば、ステージを回転しても同じ場所を観察できるようになる^{*88}。

ステージに芯だし機構がある顕微鏡ではレボルバー側の一つの取り付け穴には芯だし機構がついていない。そこで、まず、その穴についている対物レンズを使ってステージの芯だしを行う^{*89}。芯だしを低倍率対物から行う派と高倍率から行う派がある。高倍率から行うと視野の中心位置が高精度で定まるので、より低倍率の対物レンズの芯だしが楽になる一方で、最初の調整に手間取る可能性がある。低倍率から行うと、最初の調整も比較的容易に行えるが、倍率を上げる毎に微調整が必要になる場合がある。

芯だしには十字線の入った接眼レンズを用いる。まず、目標となる場所を十字線の中心に合わせる。続いてステージを180度回転する。このとき、目標物が視野から外れてしまう場合には、粗い調整を行い、回転しても視野のどこかには収まるようにする^{*90}。視野のどこかに収まっていたら、接眼レンズを回して十字線のどちらか一方が目標を通るようにする。続いて、調整機構を使って、目標物が現在の位置と十字線の交点の midpoint に移動

^{*87} 視野が外れるのは、ホットステージの位置が回転ステージ上でずれる場合もある。特に電源コードがしっかりしているとずれやすい。こちらは、マスキングテープを用いてホットステージを固定するとよい。

^{*88} 最近の実習用クラスの偏光顕微鏡には芯だし機構が省略されているものもある。昔に比べて工作精度が高くなったためと、コスト削減要求が強くなったための2つの理由が考えられる。

^{*89} 図キャプションに記したようにオブチフォトの芯出しには専用工具が必要である。工具が行方不明になると芯出しができないのだけれど、幸いに、オブチフォトの芯出し工具は M3 の六角レンチで締めるタイプの芋ネジがあれば自作できる。

^{*90} 用いる対物の倍率が高いほど、回転で視野の外に飛び出し易い。



図 45: オリンパス BH2 は回転ステージにも芯だし機構がある。このためレボルバー側の一つには芯だし機構がない。ニコンのオブチフォトは、ステージ側には芯だし機構がなく、すべてのレボルバー穴に芯だし機構がある。BH2 はマイナスドライバーで芯だしできるが、オブチフォトは特殊な工具が必要である。

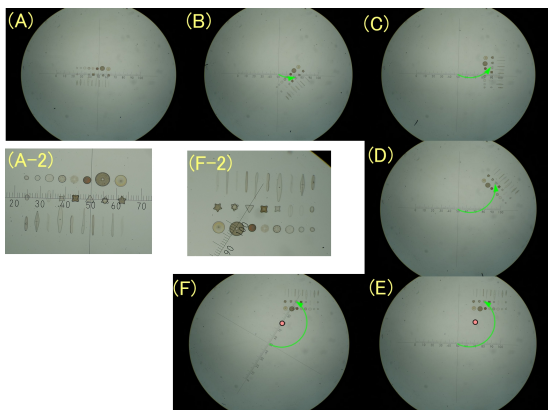


図 46: 対物レンズの芯だし。まず、目印となるものを接眼レンズ十字線の中心に合わせる (a)、続いてステージを 180 度回転する (b)。目印の移動先に接眼レンズの目盛線を合わせる (c)。目印が、移動位置と中心線の半分になるように調整する (d)。

するように調整する。

再び目標となる物を十字線の交点に合わせてステージを 180 度回転する。目標物の位置はほとんどずれないはずである。ずれた場合には上の調整を繰り返して行う。

引き続き、同様の手順で他の対物レンズの芯だしを行う。このとき、調整を終えた対物レンズで中心に見えていた物体は、これから調整を行う対物レンズでも中心に見えるようになるべきなので、最初は、その前に調整した対物レンズでの目標物を中心に合わせる

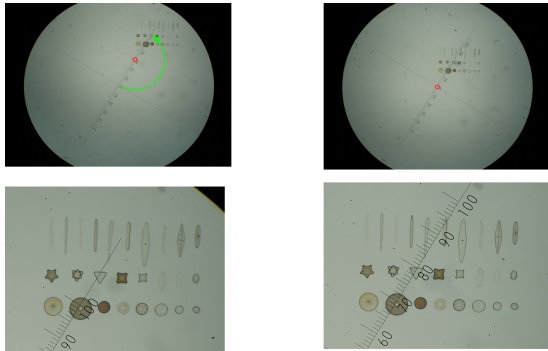


図 47: 対物レンズの芯だし。まず、目印となるものを接眼レンズ十字線の中心に合わせる (a)、続いてステージを 180 度回転する (b)。目印の移動先に接眼レンズの目盛線を合わせる (c)。目印が、移動位置と中心線の半分になるように調整する (d)。

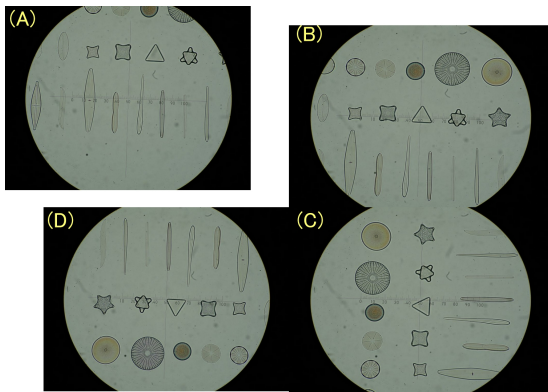


図 48: 倍率の高い対物レンズに変えたら、それ以前の対物レンズで回転中心となっていた部分が中心に来るように調整する。これで、ほぼ芯だしは完了している。

と、調整が手早く行える^{*91}。

15.2 ステージの高さ調整

顕微鏡のステージは標準的にはステージ上にスライドガラスを置いたときにピントが合うようになっている。ホットステージではステージ上面から 10~15mm 程度高い位置に試料が置かれるので、顕微鏡のステージを下げておかないとピントが合わなかったり対物レンズとホットステージが衝突したりする。ノブによるステージの高さ調整とは別に、ステージの初期位置を設定できるので、ホットステージか否かに応じて、初期の高さを調整

^{*91} 高倍率から始めれば、画面のどこかが中心かが厳密に定まっているので、この調整が正確に行える。低倍率の場合は、ずれが出るかもしれないけれども、そんなにはでにずれないと思う。

する。

15.3 ランプの芯だし

最近の機種では光源位置が固定のものもあり、そのような機種では光源の芯だしは不可能であるが、光源の芯だしができる機種ではきちんと光源の芯だしと距離調整を行う必要がある。

15.4 コンデンサーの芯だし

ホットステージとの組み合わせでケラー照明ができない場合には必要性はほぼないが、ケラー照明を行えるなら、コンデンサーの芯だしを行う方がよい。

16 光学系のクリーニング

顕微鏡観察時や撮影された写真では、光学系に付着した汚れが目につきやすい。これは、顕微鏡光学系の多くの領域が低 NA で合焦範囲が広いためである。

光学系のクリーニングに先だって手を洗う。皮脂は落ちにくい汚れでクリーニング作業中に光学素子に手が触れると汚れを生じてしまうが、手を洗っておけば、その影響を低減できる。クリーニング時には手袋をはめてもよいし、素手でもかまわない。やりやすく安心できる方を選べばよい。個人的には綿の手袋を使用することが多い。

16.1 クリーニング用品

16.1.1 クリーニングペーパーと綿棒

光学素子表面を拭うのにはクリーニングペーパーを用いる。クリーニングペーパーはいろいろなメーカーから出ている。クリーニングペーパーの使用で最も重要なことは、一度表面を拭いたら、そのペーパーは棄てることである。表面に埃がついていた場合など、一度目の拭う作業ではクリーニングペーパーが最初にガラスと接触する場所に埃が付着する。その時点では埃を強く押しつけることがないので、ガラスに傷をつける可能性は低いが、同じ紙を再度つかうと、埃を強く押しつけて表面に傷をつける危険性があるためである。

キムワイプの使用は積極的には推奨はしないが、それほど悪くはない^{*92}。ティッシュ

^{*92} 学生さんの前では、あまり使わないが、自分 1 人でクリーニングを行う場合には、結構使っている。

ペーパーの使用は推奨しない。

奥まった部分の清掃には綿棒が役に立つ。医療、美容用の綿棒は汚染の元となる成分を含んでいる可能性があるため、必ず、工業用の綿棒を使用する。

16.1.2 洗浄溶媒

顕微鏡レンズは複数のレンズを何らかの接着剤で貼り合わせた構造になっている。接着剤を溶かす有機溶媒が接合面に染みこむと、接着面の劣化が生じ、レンズが使えなくなる。レンズ清掃に当たっては、用いる溶媒を注意して選ばなければならない^{*93}。使える溶媒の種類は、レンズの製造年代にも依存するので、一度確認しておく必要がある。

MWS サービスさんは、数 ml の水に家庭用中性洗剤を 1 滴たらした洗浄液を推奨している。水系のクリーニング液には、写真業界で使われている物もある。有機溶媒系としては、エタノールや EE3310 が割と頻繁に使われている^{*94}。

16.1.3 ピンセット他

クリーニングペーパーは直接手で持って扱うこともあるが、それより、ピンセット（含むロックピンセット）で保持して使用する使うことが多い。

16.2 汚れの場所を探す

清掃作業で最初に行うべきことは汚れの場所の特定である。たとえば、写真に黒い影が映り込んでしまう場合は、最初に目視観察でも同じ影が見えるかを確認する。同じ影が見えるなら、影のもととなるゴミは、光路が分岐するより光源に近い側にあるし、目視では見えないなら、光路の分岐後のカメラ側のどこかに存在する。

続いて、カメラを取り外して、全体がほどほどの明るさになるように検光子の角度を調整して上から目視での観察を行う。ここで黒いゴミが見つければ、それらが影を引き起こしている可能性がある^{*95}。もし、目視でゴミが確認できなかったとしたら、カメラの撮像素子面にゴミが付着している可能性があるため、そちらを確認する。

^{*93} レーザー光学系のクリーニングでは、メタノールとアセトンがよく用いられている。これは、レーザー光学系は単レンズやミラーを用いているため、溶媒による接着剤の溶解が生じないためである。レーザー光学系などで使えるから、顕微鏡光学系でも大丈夫だと考えてはいけない。

^{*94} EE3310 はシリコン系低分子とエタノールの共沸混合物。生物毒性が低いのが一つの売り。かつてはオリンパスから販売されていたが、現在は日本レジン株式会社から販売されている。また、堀内カラーのレンズクリーニング液が相当品である（と思う）。

^{*95} 顕微鏡の対物レンズより後ろ側の光学系は光束が平行光線に近い（広がっていない）ため、ゴミの影響が遠くまで及ぶ。

ゴミは気にならないけれども、対物レンズの中にコントラストが低く、もやがかかった物がある場合は、当然のことながら、その対物レンズを疑う。液晶観察で、室温より高温で液晶相となる物質を観察していると、気化した分子が対物レンズ表面に付着してコントラストの低下を引き起こしていることがある。

影やコントラストの低下以外にも、光学系を目視で観察して以上がないかをチェックする*96。

16.3 汚れの除去

それぞれのゴミを除去するのが次のステップになる。顕微鏡側のゴミが手の届く範囲にあるなら、まずは、ブロアーを使って吹き飛ばすことを試みる。ゴム製の握るタイプのブロアーがお勧めである。ダストスプレーを使ってもよいが、必ず逆さに噴射しても液が噴き出さないタイプの物を使い、かつ液が噴き出さないかを十分に確認してから使用する。使用時に液が噴出してレンズ面を直撃すると、急冷による熱衝撃でレンズが割れることがある。ブロアーではゴミが飛ばない場合は、クリーニングペーパーなどを使って清掃する。顕微鏡メーカーなどで紹介されているクリーニングの手引きを参照することをお勧めする。ゴミが直接届かないところにある場合は、筐体を分解して取り出して掃除をするか、その自信がないならメーカーにメンテナンスを依頼する*97。カメラ側にゴミが見つかった場合にはカメラのマニュアルを元に清掃を行う（かサービスセンターで掃除をしてもらう。）。

ゴミ以外の汚れについては、何が付着している可能性が高いかを考えて、水系の洗浄液か有機溶媒の洗浄液で掃除をする。この場合も表面を拭う前に誇りを払うようにする。レンズ表面に硬質の粒子が付着していると拭う作業によりレンズ表面に傷がつく。それを避けるために、可能な限り埃を払うようにする。レンズの清掃方法については Web 上にいくつかの資料があるので、それらを参照するとよい。

*96 チェックするとカビが出ているのを見つけてしまうこともある。

*97 旧機種の場合はメーカーでメンテナンスを引き受けない場合もあるかと思う。探せば、旧機種のメンテナンスをしてくれるメーカーではない会社が見つかると思う。