

第 A 章

液晶観察のための偏光顕微鏡入門

液晶の組織観察に偏光顕微鏡は必須の道具である。多くの液晶材料は可視領域に吸収帯がなく、通常の顕微鏡では欠陥以外は均一に見えるため、配向状態や液晶相に関する情報がほとんど得られない。偏光顕微鏡は光が液晶のような複屈折物質を透過するときの偏光を利用して透明複屈折物質をコントラストをもって観察できるようにした顕微鏡である。偏光顕微鏡を使うと、液晶相の種類や配向に応じて特有の文様 (Texture) が観察でき相の同定や配向状態評価ができる。文様の読み解きには、文様の背景となる構造などの知識が必要なのだけれど、それは別途扱うことにし、ここでは、偏光顕微鏡本体について取り上げる。

顕微鏡はステージ上に試料を置けば、とりあえずの画像観察はできる器具である。液晶の組織観察も、偏光顕微鏡があれば特段の調整の必要なく可能な作業である。とはいえ、偏光顕微鏡についての知識があれば、より良い使い方ができるし、問題が生じた場合も迅速に解決できる。偏光顕微鏡の原理や使用法は書籍や Web 上にあり、それらにより一般的な知識は習得できる*¹。ただ、一般的な使用法は、試料はステージ上に直に暑さ 1 mm 程度のスライドガラスの上であり、その上に厚さ 0.17mm のカバーガラスがあることを前提としている。ところが、液晶の組織観察では、試料はホットステージの中にあるので、顕微鏡ステージより 10mm 程度以上は上に置かれている。また、上下とも厚さ 1mm 程度のガラス板に挟まれていることが多い*²。こうした観察条件の違いにより、液晶の組織観察には一般的な使用法からは外れざるを得ない部分がある。ホットステージ中の液晶試料観察のためには、どのような使い方が望ましいのかを理解するためには顕微鏡の知識が必要となる。そこで、光学の基礎的な話と顕微鏡の光学素子と構造について紹介したのちに、偏光顕微鏡の基本的な使い方を述べ、その後により細かい話を記述する。

*¹ 偏光顕微鏡についての書籍は鉱物系のもものと生物系のもものがある。両者の間にはかなりの違いがあるが、液晶の組織観察は鉱物系の方に近い。日本語書籍では鉱物系の情報が圧倒的に多い。

*² さらにホットステージの窓も加わる。

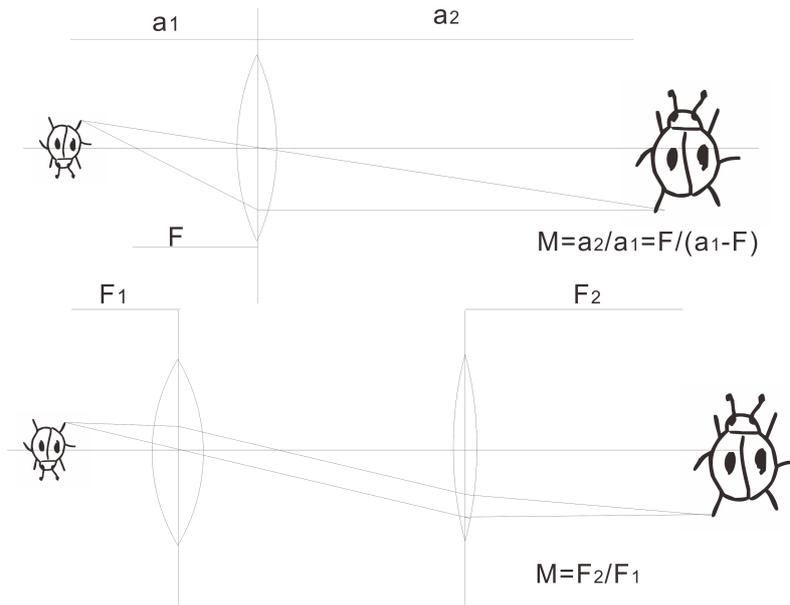


図 A.1: 単一レンズおよび組合せレンズの倍率

A.1 レンズによる結像公式と実像の倍率

図 1(上) に焦点距離 F の単凸レンズによる結像を示した。レンズの中心を通り、レンズに垂直な線を光軸と呼ぶ。物体の光軸外の一点から出た光線のうちレンズの中心を通過するものは角度を変えずに直進する。同じ一点から光軸に平行に進んだ光線はレンズ通過後に焦点の位置で光軸と交差するように直進する。そして、同じ一点から出て物体側の焦点を通過した光線はレンズ通過後に光軸に平行に進行する。これら 3 つの光線は物体と反対側で 1 点に交差する。それが凸レンズによる実像の位置である。図では焦点を通る光もきちんとレンズを通過しているが、物体がレンズに比べて大きかったり、物体の位置が焦点に近い場合には、焦点を通る光線はレンズの外側へとそれてしまう。その場合も、レンズ面を仮想敵に延長した面を想定すれば、同様の作図が可能である。レンズの中心から物体までの距離を a_1 、像までの距離を a_2 とすると、これらと焦点距離の間には

$$\frac{1}{F} = \frac{1}{a_1} + \frac{1}{a_2} \quad (\text{A.1})$$

という関係が成立する。この時の結像倍率 M は

$$M = \frac{a_2}{a_1} \quad (\text{A.2})$$

である。

図 1(下) のように焦点距離が F_1 と F_2 の 2 枚の凸レンズの組み合わせで結像する光学系を考える。物体が物体側レンズの焦点位置にある特別な場合を取り扱う。この時、物体の 1 点を発して物体側レンズを通過した光線は平行光束となり、2 番目のレンズ（結像レンズ）に到達し、結像レンズの焦点位置に集光する。像の倍率 M は

$$M = \frac{F_2}{F_1} \quad (\text{A.3})$$

となる。

続いて、図 2 の状況を考えよう。図 1 では、光はレンズの中央で屈折するとして、この面を物体、像、焦点位置の基準としていた。実際のレンズには厚みがあるので、光軸に平行に入射する光線は、レンズの両面でそれぞれ屈折する。このため、図 1 と違い、レンズと物体、レンズと像の距離を定めるレンズとしての基準位置は自明ではない。実際には図 1 の場合もレンズには有限の厚みがあるのだけれども、 a_1 、 a_2 、 F と比較してレンズの厚みが薄いので無視していた（薄肉近似）。しかし、厚みが無視できないレンズや、複数のレンズが組み合わさったレンズ系では、何らかの方法で基準面を定めなければならない。図 2 のレンズで光軸に平行に入射する光線に着目する。この光線はレンズの両面でそれぞれ屈折しているが、入射する光軸に平行な光線の延長と出射後の焦点に集光する光線の延長を考えると、ある点で交差する。このレンズによる集光は、この点を含む面での屈折で生じていると扱うことができる。同様に、物体側で焦点を通過する光線に関して

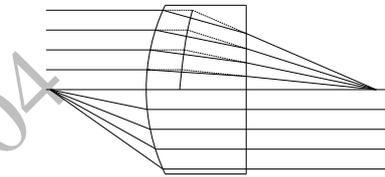


図 A.2: 主面

も、入射光線と出射後の光軸に平行な光線の仮想的な交点が存在する。こちらは、像側から平行光束を入射した場合の屈折位置となる。像側で集光する場合の仮想的な屈折面を像側主面、物体側で集光する屈折面を物体側主面と呼ぶ。レンズの中心からの距離ではなく、主面からの距離を用いれば上記の結像公式は成立する。焦点位置の基準も主面となっている。

また、図 1 ではレンズの中心を通過する光線は直線で入射側と出射側の角度は等しい。図 2 で同様に入射側と出射側の角度が等しくなる光線の道筋を追うと図のようにレンズ内部では角度を変えながら進行する光線となる。主面を定義したのと同様に、レンズの外側からの光線をレンズ内に挿し、光軸との交点を節点と呼ぶ主面と同様に物体側と像側の節点が定義できる。レンズの両外側の屈折率が等しい場合には、主面と節点の位置は重なる。

A.2 ルーペによる虚像の倍率

ルーペの倍率は人がある物体を見たときの大きさと、ルーペを通して見たときの大きさの比で規定される。ルーペの一種である虫眼鏡で物を見る時の大きさは物と虫眼鏡と眼の位置関係により変化する。このことは、ルーペの倍率規定にあたっては、観察条件を定める必要があることを示している。

明視の距離

ある物体を目で観察する時、物体が遠くにあると小さく見え、近づけば大きく見える。さらに近づけると、ある距離以下では目視ではピントが合わず、はっきりとは見えなくなる。ピント合わせができる最短距離には個人差がある。ルーペの倍率定義にあたっては、人が目視でピント合わせできる最短距離を 250mm とし、この距離で物体を観察した時の大きさを目視時の物体の大きさとしている。250 mm は「明視の距離」と呼ばれており、ルーペの倍率の他、ディスプレイの解像度などを議論するときの基準値として使われている^{*3}。

視角による倍率定義

続いてルーペを使った場合の虚像の大きさを考える。像の大きさは、ルーペの位置によって異なっている。光軸と物体からの光線のなす角（視覚）に着目すると、視覚が最大になるのは、物体が焦点位置にあるときで、この時の視覚と物体を明視の距離において直接観察した時の視覚の比によりルーペの倍率を規定する。ルーペの倍率 M はレンズの焦点距離を f cm として、 $M = 250/f$ となる^{*4}。

眼の調整機能による倍率の増加

上記の倍率の式からは、ルーペのレンズの焦点距離が 250 mm より長いと倍率は 1 倍以下となってしまふ。これは、物体とレンズ間の距離が明視の距離以上となってしまふため、目が無限遠方に焦点を合わせていることを想定しているからである。目も調整機能を働かせると、上記の定義よりおよそ 1 倍ほど高い倍率になり、焦点距離が 250 mm より長いレンズでも目視より拡大した画像が観察できる。

^{*3} 英語だと distance of distinct vision とか Reference viewing distance。「明視の距離」はあくまでも、ルーペの倍率や、ディスプレイの必要解像度を共通の規格の上で議論するために定義されているものであって、「目が疲れずに物体をはっきり見ることが出来る距離」とか「正常な目では約 25 cm」といった記述は、誤解を招くものである。

^{*4} 計算過程は「続光の鉛筆」の「ルーペ」の項目 (P. 104) を参照されたい。

A.3 収差

虫眼鏡を通した正方格子の写真をみると、周辺部では直線が曲がってしまっている。実像にしる虚像にしる理想的には物体と完全に相似な像となるべきではあるが、現実のレンズによる像は相似からの逸脱がある。理想的な結像からの逸脱を収差 (aberration) と言う。

収差には単色収差と色収差がある。単色収差は単一波長の結像において生じる収差で、色収差は物質の屈折率に波長依存性がある（屈折率分散）ために生じるものである。可視領域全体を観察する光学系には両方の収差が存在する。

A.3.1 色収差

入射角 (θ_0) と屈折角 (θ_r) の間には入射側媒質の屈折率を n_0 物質側の屈折率 n_1 として、 $n_0 \sin \theta_0 = n_1 \sin \theta_1$ という関係がある *5。物質の屈折率には波長依存性（分散）があるため、波長により屈折角は異なり、レンズによる集光位置も変化する。このため、レンズの光軸上の1点からの光は集光点で光点の周囲に色の滲み（軸上色収差）が生じたり、光軸外からの1点の光は横方向に色の滲み（倍率色収差）が生じる。

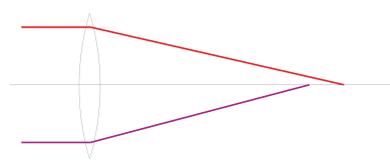


図 A.3: 色収差

A.3.2 単色収差

単色収差は5種類に整理されている。以下それぞれについて簡単に紹介する。

球面収差

屈折の法則は $n_0 \sin \theta_0 = n_1 \sin \theta_1$ と入射角の正弦と出射角の正弦を結びつけるものであるが、屈折の法則を $n_0 \theta_0 = n_1 \theta_1$ と近似できる範囲では、球面レンズで平行光線や1点から発した光は1点に集光する。レンズの光軸付近では入射角が小さいので、 $\theta = \sin \theta$ の近似は成立する。この領域は近軸領域と呼ばれる。それに対して、周辺部では入射角が増大し、近似が成立しなくなっていく。 $\sin \theta = \theta - \theta^3/3! + \dots$ であるので角度が大きくなると、近似より屈折角が大きくなる。

図4に同じ平凸レンズに凸面側から平行光線を入射した光路図を示す。光軸方向の入射

*5 スネルの法則。最近の中等教育の教科書では屈折の法則というらしい。

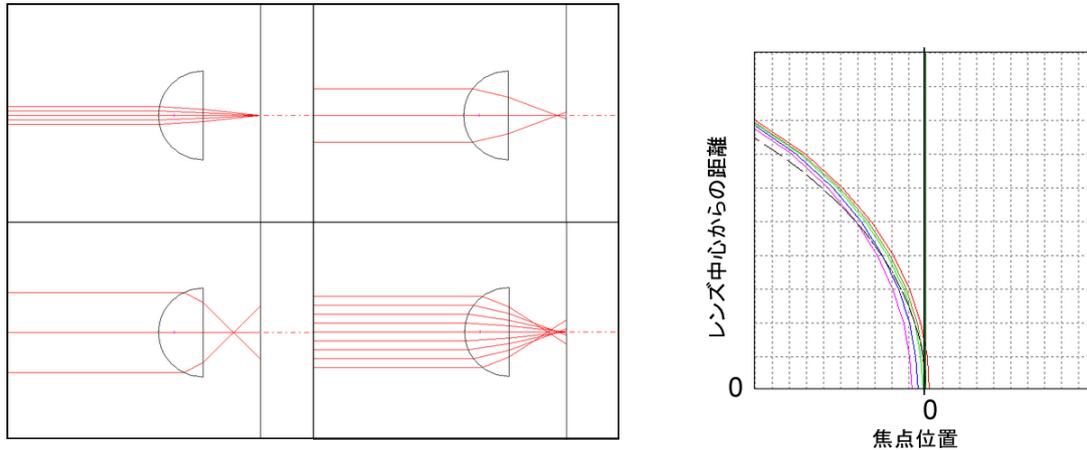


図 A.4: 球面収差。左の図は、レンズのそれぞれの場所を通過した光の光路を示している。レンズの周辺部を通る光は手前で光軸と交差するようになる。右の図は縦軸にレンズ中心からの距離、横軸に焦点位置をとったもので、レンズ中心から距離が離れると、結像位置が手前にずれていく様子が示されている。図中の色は、それぞれの光線の色で、色収差も同時に示されている。

光が光軸と交わる位置よりも、レンズ周辺で入射した光線はレンズよりで光軸と交差している。

球面収差の程度は図 4 のようなグラフで表示される。縦軸は光軸からの距離で横軸は近軸領域における焦点位置を原点にとり、光軸からある距離離れた地点に入射した光線が光軸と交わる位置をプロットしたものである。理想的なレンズでは、軌跡は原点から垂直に上方にむかう直線になる。単レンズでは、光軸から離れた場所に入射した光は、近軸領域よりレンズ側に就航するので、軌跡は左側に傾いていく曲線になる。

球面収差があると、点光源からの画像は中心点のまわりに滲みの生じた画像となる*6。

コマ収差

光線が斜入射する場合にも、光軸付近で入射した光線よりレンズ外周部で入射した光線の方が集光位置がレンズよりになる。球面収差では集光位置のずれに方向性はなかったが、斜入射光の場合は入射面の方向により異方性が生じ、結果として、集光点から対角線方向の外側か内側に尾を引くような滲みが生じる。これはコマ収差と呼ばれている。コマ収差があると、光軸外の画像の質が低下する。

*6 球面収差の定性的な判断方法として、アルミ蒸着ミラーの観察がある。アルミ蒸着ミラーには (蒸着方法によるかもしれないが) ピンホールが空いている。球面収差のないレンズでは、ピントがあった状態から前後にピントをずらした時に、同様にぼけていくのに対して、球面収差があると、前後でボケの様子が異なっていく (N 社の方による。)

像面湾曲

理想的なレンズの結像では、画面中央部分でも周辺部分でも同じ面に結像する。しかし、画像周辺部までの実質的な長さは中心部よりも長いので、単純には周辺部からの光はよりレンズに近い側に集光する。結果として結像面は湾曲する。像面湾曲のあるレンズでは中央部分と周辺部分ではピント位置が異なるので、中央部にピントを合わせると周辺部はぼやけた像となる。

非点収差

円形のレンズでも斜めから眺めると楕円形に見える。レンズの両端の傾き角度差には変化なく、幅が狭くなっているため、レンズの曲率が高くなっているように見える。その結果として、傾き面内でレンズに入射した光線は本来の焦点位置よりも手前に集光する。一方、傾き面に垂直な面ではレンズの高さは変化していないため、本来の焦点位置での集光となる。

集光パターンは、最初に傾き面が集光し、その時点で垂直面は集光前なので、縦に細い状況になり、その後本来の焦点位置付近で横に広い集光パターンとなる。

歪曲収差

物体と像の相似関係が成立するならば、直線は直線に変換されるはずであるが、実際のレンズでは直線が曲線になることもある。これが歪曲収差である。元の長方形が膨らんだ形状となるのが「樽型」、窪んだ形状となるのが「糸巻型」と呼ばれるが、レンズによっては、樽と糸巻が途中で入れ替わるような複雑な曲線となるものもある。

A.3.3 収差補正

光学的な結像には上記のような収差がある。すべての収差を同時に完全になくすことはできないが、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を実用上問題がない程度に低減することはできる。何に重点を置いて収差補正を行うかは光学系の使用目的に依存する。例えばカメラレンズなら、無限遠方から 1m 程度の範囲で、良好な像が得られ、ピントのずれた領域でも滑らかに像がぼやけていくことが求められる。それに対して顕微鏡対物レンズでは、観察時に極限まで無収差に近い画像が得られることが求められる。それを実現するために、観察条件を定めて、その条件で光学性能が最高となるように設計されている。逆にいえば、使用条件から外れた状態では像の質は保証されていない。

観察条件で最高の像が得られる設計と記したが、よりよい像を得るためには、より複雑

なレンズ系や高価なガラス材料が必要になる。必然的に対物レンズの価格は高くなる。実際の製品では、光学性能と価格のバランスを考えて、同倍率で収差補正の程度の異なる複数の対物レンズが提供されている。

A.4 単式顕微鏡と複式顕微鏡

物を拡大して観察する道具には虫眼鏡、ルーペ、顕微鏡などがある。虫メガネは手持ちルーペの一種で、数倍程度以下の低倍率のものである。ルーペは単一の凸レンズ系により物体の虚像を観察するもので、数倍程度の低倍率のものから、30倍程度以上の高倍率のものもある。また、形状も虫眼鏡や宝石ルーペのように手持ちのもの、メガネのように装着するヘッドルーペ、リネンテスターなどの折り畳み式のものもあれば、台の上に設置して使用するものもある。また、ピント調整機能を有するものや、スケール板を有するものもある。

顕微鏡には単一の凸レンズ系により直接虚像として物体を観察するものと、対物レンズにより形成した物体の拡大実像を接眼レンズにより拡大した虚像として観察するものがある。前者は単式顕微鏡 (single microscope)、後者は複式顕微鏡 (compound microscope) と呼ばれている。単式顕微鏡は高倍率のルーペの一種である。19世紀に光学技術が発達するまでは、単式顕微鏡の方が光学性能が優れていた点もあったが、20世紀以降は複式顕微鏡が主流となっている。

通常の複式顕微鏡は双眼型でも左右同画像なので立体視はできない*7。立体視のできる実体双眼顕微鏡では、実質的に2つの対物レンズを用いてそれぞれ反対側の斜方向から試料を観察している。



図 A.5: 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。40倍、80倍、120倍のレンズがある。

A.4.1 複式顕微鏡の4種類の光学システム

複式顕微鏡では対物レンズで物体の実像を形成しているが、対物レンズ単体で実像を形成するものと、対物レンズと結像レンズの組み合わせで実像を形成するものがある。結像レンズとの組み合わせのものでは、一点から発した光線は対物レンズ通過後に平行光束

*7 対物レンズからの光束を半分に分け、左右の観察鏡筒に別々に送り込むような工夫をすれば立体視はできるが市販はされていないと思う。

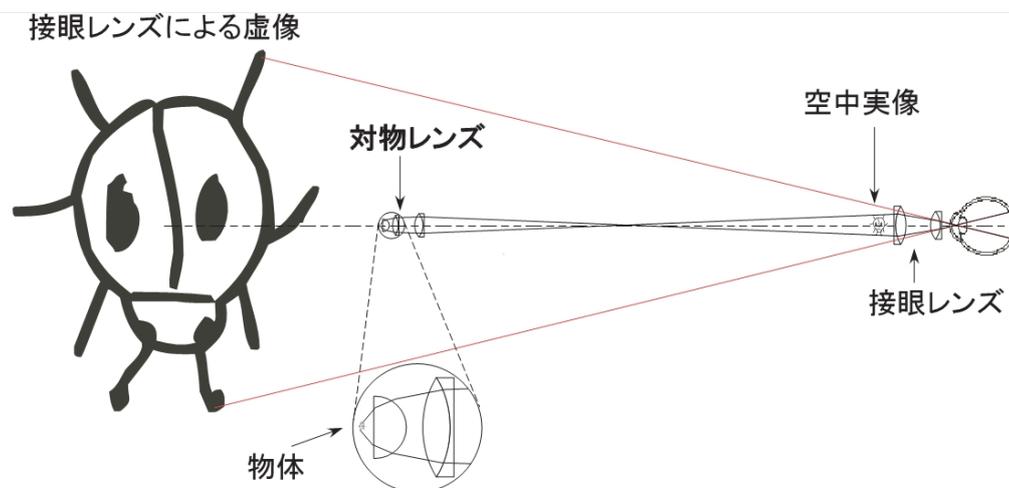


図 A.6: 複式顕微鏡では対物レンズによる実像を接眼レンズで拡大して観察する。

となるような設計になっている*⁸。対物レンズ単体で直接結像のものは有限補正系（有限系）、結像レンズを組み合わせるものは無限遠補正系 (infinity-corrected optical system) と呼ばれている*⁹。

色収差補正に関しては対物レンズと接眼または結像レンズを組み合わせる色収差補正を行うシステムと、対物レンズ単体で色収差補正がされている CF(Chromatic aberration Free) 対物システムがある。2 種類の結像方式と 2 種類の色収差補正方式の組み合わせがあるので複式顕微鏡の光学デザインは 4 種類ある。20 世紀の顕微鏡は有限補正系が中心であったが、現在市販されている製品は無限遠系でが中心である。色収差補正に関しては、ニコンとエビデント (オリンパス) が CF システム、ツアイスとライツが組み合わせ補正である*¹⁰。

A.5 対物レンズ

対物レンズは顕微鏡でもっとも重要な光学要素である。対物レンズには、光学特性についての表記があり、また表記されていないが、知識として知っておくべきことがある。以下対物レンズのスペックに関することを紹介する。

*⁸ あえて像の位置を言うなら「無限遠方」になる。

*⁹ ここで、出てきた「補正」は収差補正のこと。それぞれの使用条件を前提とした収差補正がなされている。

*¹⁰ エビデントの Web による情報。それ以外のメーカーについては未確認

A.5.1 取り付けネジ径

対物レンズを鏡基にの取付けるネジは、RMS(The Royal Microscopical Society) 規格(呼び径 20.32 mm、ピッチ 0.706 mm) 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。このネジは 19 世紀から現在まで使われ続けているため、異なるシステムの対物レンズも、RMS 規格なら相互に物理的には装着可能である。

暗視野落射照明対物レンズでは、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、RMS 規格より径の大きな M27 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。

ニコンやミットヨの明視野対物レンズは、RMS 規格ではないネジ径を採用しており、これらの対物レンズを RMS 規格の他社の鏡筒には取り付けできない*¹¹。取り付ける場合には、何らかの変換アダプターが必要となる*¹²。



図 A.7: 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大きい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。

A.5.2 同焦距離

対物レンズ取り付け面から試料までの距離は定められており、同焦距離と呼ばれている。顕微鏡観察時に、レボルバーを回して対物レンズを変えても、ピントはほぼあった状態のままであるのが正常な状態である。同焦距離の規格として、有限補正系では短頸(たんけい: ショートバレル) と長頸(ロングバレル) がある。短頸対物レンズは同焦距離が 36.65 mm、長頸対物レンズは 45 mm 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 45 mm であるが、ニコンは無限遠系第 1 世代の CF & IC 系は RMS 規格ネジで同焦距離 45 mm であるが、その後の CFI₆₀ 系は 60 mm である。同焦距離が長い方が対物レ

*¹¹ ニコンの一部の工業用対物レンズは RMS 規格で、他社鏡筒と物理的に取り付け可能。

*¹² 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 に取り付けのアダプタも探せば見つかる。

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。

A.5.3 作動距離

合焦状態で、対物レンズの最前面から試料（もしくはカバーガラス上面）までの距離を作動距離 (Working Distance) と呼ぶ。10 倍の対物レンズでは作動距離が 10mm 程度であるものも多いが、40 倍程度以上の対物レンズでは 1 mm 程度以下しかない。



図 A.8: 左側から普通の 20 倍対物レンズ、長作動 (ELD) 対物レンズ、超長作動 (SLD) 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。

A.5.4 鏡筒長

対物レンズ取り付け面から接眼レンズの取り付け面までの長さが機械的鏡筒長で有限補正系ではメーカーや用途により定まった値となっていた。ニコンでは生物系で 160 mm、金属系で 210 mm である。後述するように、有限補正系の対物レンズは指定された鏡筒長の鏡筒に取り付けた時に、表記倍率となる。無限遠補正系では対物レンズと結像レンズの間隔を変更しても倍率は不変である。無限遠補正系の対物であることを示すため、対物レンズの鏡筒には、数値ではなく ∞ 記号が記されている。

A.5.5 倍率

有限系対物レンズの倍率

実像の倍率に関するレンズの公式を思い出すと、物体と像の配置により拡大率は可変なので、特に有限系対物レンズに関しては、倍率が定まった値であることは不思議にも思える^{*13}。現在の複式顕微鏡では、対物レンズによる実像の形成位置は鏡筒の上端より 10 mm 下方に設定されている。ニコンやオリンパスの有



図 A.9: 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。

*13 実際、昔の対物レンズには倍率表記はない。

限系生物顕微鏡では対物レンズ取り付け面から鏡筒の上端までの長さ（機械的鏡筒長）は 160 mm で、対物レンズ取り付け面から試料までの長さは 45 mm としている。したがって、試料から像までの距離 ($a + b$) は 205 mm であり、例えば 10 倍の対物レンズは上の結像の式で考えるなら、物体からレンズまでと、レンズから像までの距離は約 1.86:18.6 で、レンズの焦点距離は約 1.69 mm となる。対物レンズの倍率は定まった鏡筒長を前提としたものである。

■**機械的鏡筒長の違い** ニコンやオリンパスの有限系システムでは機械的鏡筒長が 160 mm であるが、ライツ社の有限系では鏡筒長は 170 mm であった。また、ニコンの有限系金属用システムでは鏡筒長 210 mm であった。鏡筒長 160 mm 用の対物レンズをライツ社や金属用システムに取り付けると、倍率は表記よりも大きな値になる。大まかな変化は、鏡筒長の違いから概算できるが、厳密な値は測定により定めるしかない。また、ライツ社や金属用の対物レンズを生物用の鏡筒に取り付けると、倍率は表記値よりも小さくなる。

無限系対物レンズの倍率

無限系の対物レンズの倍率は対物レンズの焦点距離 f_o と結像レンズ (Tube Lens) の焦点距離 f_t より f_t/f_o となる。結像レンズの焦点距離はメーカーにより異なり、ニコンとライツは 200 mm、エビデントは 180 mm、ツアイスは 165 mm、メイジテクノは 200 mm である。結像レンズの焦点距離が異なるメーカーの鏡筒に取り付けると、倍率は表記値と異なるが、計算により求められる^{*14}。

有限系と無限系の混合使用

同じ倍率の有限系対物と無限系対物は同程度の焦点距離の凸レンズであるため、有限系の鏡筒に無限系対物を装着しても、逆の組み合わせを行っても像は見えてしまう^{*15}。当然のことであるが、拡大倍率は表記とは異なる。あえて、このような組み合わせで使用する場合には、倍率と像質のチェックを行う必要がある。

^{*14} これらのメーカーで、エビデント、ツアイス、メイジテクノは取り付けネジ径などが同じなので相互に付け替えが可能。ただしツアイスは色収差補正方式が異なっている。ニコンの現行品とライツは取り付けネジ径が異なるため、そのままでは取り付けられない。ニコンの無限系の CF & IC システムの物は取り付けネジが互換性があるのでエビデント等の鏡筒に取り付け可能。

^{*15} かつて、ニコンは有限系対物レンズを無限系鏡筒に取り付けるためのアダプターを販売していた。これを用いれば有限系対物レンズを無限系鏡筒で像質を保って（倍率は異なるかもしれない）使用できる。しかし、廃番となってしまう、純正品は現在は販売されていない。

A.5.6 NA

合焦状態で、光軸と対物レンズの最前面の最外周を通過する光束との間の角を見込み角とよび、その正弦値 ($\sin \theta$) を開口数 (numerical aperture: NA) と呼ぶ。見込み角は最大でも 90° であり、開口数は 1 未満の値となる^{*16}。

開口数は顕微鏡の分解能に直結する数値である。本章末で説明するが開口数 NA と分解能 d nm の間には、観察波長を λ として

$$d = \alpha \frac{\lambda}{NA} \quad (\text{A.4})$$

という関係がある。ここで α は 1 程度の数である。組織観察に用いる対物レンズの NA は最も高いものでも 0.5 程度なので、500 nm の緑の光での観察では分解能は 1000 nm 程度が上限となる。但これは、対物レンズの性能が正しく発揮された場合で、実際の組織観察では設計条件で使用されることは少なく、発生する収差の影響で、これより実効的な分解能は低下しているはずである。

A.5.7 指定カバーガラス厚

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^{*17}。金属顕微鏡のように物体表面を直接観察する用途のものは、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。カバーガラスの有無による収差変化が少なく、特に指定する必要がないものは、数値の代わりに「-」記号が記載されている。



図 A.10: 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」

^{*16} 市販の対物レンズの NA の最大値は、レンズと試料の間に空気がある乾燥系対物レンズで 0.95 程度でこの時の見込み角は 70 度を超えている。対物レンズと試料の間を屈折率 n_i の媒体で充填した場合（油浸観察）には開口数は $n_i \sin \theta$ となり、最大値は 1 より大きくなる。屈折率 1.51 の油を用いる液浸対物レンズで 1.45 程度である。対物レンズは常温での使用を前提としているので、室温よりかなり高い温度で液晶相となる試料の油浸観察はできない。

^{*17} にもかかわらず、市販カバーガラスの厚みが 0.17 mm でないものが結構ある。

A.5.8 視野数

対物レンズにより良質な結像が得られる像面での直径を対物レンズの視野数という^{*18}。通常のレンズで 21 mm 程度、広視野レンズで 26 mm 程度である。10 倍で視野数 21 の対物レンズでは試料面で直径 2.1 mm の円内では画質が保証されていることになる。

A.5.9 焦点深度

ピントが合った面を中心にある領域の範囲は実質的にピントが合った画像となる。この実質的にピントが合う範囲を焦点深度とよぶ。ピントがあう領域に幅ができるのには 3 つの機構がある。1 番目は光が波動性を持っているためで、幾何光学的には光学系により光は 1 点に集光するが、波動性ゆえに集光部分は点ではなく鼓の胴のような形状になる。2 番目は目や画像記録装置の分解能で、目視観察の場合、目では確認できない細かい構造は存在しないも同様なので、その構造がはっきりした状態とぼやけた状態の区別がつかない。3 番目は目の調整機能で、目は無限遠から手元までの範囲で自動的にピント調整をするので、それに対応する領域では顕微鏡観察でも自動的にピント合わせをしようとするはずであるが、顕微鏡のような器具を覗き込んだ時には目は近接物体にピントを合わせようとするようになるため、目のピント調整能力は実質的に失われた状態 (器械近視) となるため、目の調整機構による項は無視される^{*19}。Berek によりまとめられた実験式は次式で、第 1 項が波動光学由来、第 2 項が目の分解能由来である。

$$T = \frac{1}{2} \frac{n_0 \lambda}{(NA_0)^2} + \frac{0.34}{m NA_0} n_0 \quad (\text{A.5})$$

ただし、 m は観察時の総合倍率、 n_0 は空間の屈折率。単位は mm。

式より対物レンズの NA が大きく高倍率の観察時ほど焦点深度が小さくなる。別の言い方をすると、ピンぼけが認識しやすくなり、ピント合わせの精度が高くなる。実際、写真撮影においても低倍率ほどピンぼけ写真を作りやすいことが知られている^{*20}。写真撮影では検出素子の分解能を上げれば、目の分解能による制限項は小さくなり、極限では波動光学的制限のみが残ることになる。

^{*18} カメラレンズのイメージサークルと同意語

^{*19} 接眼レンズにスマートフォンのカメラをつけての撮影では器械近視にはならずカメラのオートフォーカスが機能するので、ある範囲にはピントが合ってしまうはずである。

^{*20} 低倍率だと目の調整機能が、ある程度は働いている可能性があるとの指摘もある。(第 5 光の鉛筆；目視光学機器の物空間深度)

A.6 接眼レンズ

A.6.1 接眼レンズの視野数

接眼レンズの結像位置には、円形のマスクが置かれており、観察視野を明確に区切るようになっている。また、接眼レンズによっては、結像位置に目盛り板や十字板がおかれており、これらは画像に重なって見える。画像にピントを合わせたときに、十字線や目盛りにピントがあわないなら、接眼レンズの像面位置がずれている。まず、接眼レンズの視度調整をして、目盛等がはっきりと見えるようにして、その状態で試料のピント合わせをする必要がある。接眼レンズを通して観察できる範囲は円形マスクの内側であるが、マスクのサイズは接眼レンズにより異なっており、その直径が接眼レンズの視野数で、対物レンズによる空中像の視野数の範囲内が観察できる。10 倍の対物レンズと視野数 20 の接眼レンズを組み合わせでは、試料面で直径 2 mm の円の内側の像が得られる。

A.6.2 視野レンズとアイポイント

接眼レンズの図面を見ると、結像位置より対物レンズ側にもレンズが置かれている場合もある。このレンズは視野レンズと呼ばれるもので、観察領域を確保するためのものである。図 11 に通常のルーペによる観察と接眼レンズを通しての観察の光路図を示した。通常のルーペで散乱性のある物体を観察する場合は、個々の部位からの散乱光は広い立体角で発出しているため、視野内のどの位置で散乱された光もルーペのレンズに取り込まれるので、全領域を観察できる。それに対して接眼レンズでは空中実像を形成する光束は対物レンズから鏡筒を抜けてやってきたものであるため、光軸に対して狭い角度の範囲の広がりしかもっていない。このため周辺部に向かう光は、接眼レンズのルーペが大きくない限りは接眼レンズに取り込まれない。一般に 10 倍程度以上の高倍率ルーペの径は大きくないので、そのままでは空中実像全体を観察できない。視野レンズがあると、外周部の光束が内側に曲げられ、高倍率ルーペの光路に入るようになり、外周部まで視野が確保できるようになる。

眼側の光路図を見ると、試料の異なる部分からの光は接眼レンズの異なる部分を透過して上方のあるところで、交差している。この地点に目の瞳があれば、すべての光線は目に取り込まれて全画像が観察でき、アイポイントと呼ばれている。目の位置がアイポイントと異なっていると、画像を形成する一部の光しか目に取り込まれないので、画像全体が観察できない。

1960 年代程度までの顕微鏡ではアイポイントが接眼レンズ直上にあり、メガネを装着していると瞳をアイポイントに置くことが出来なかった。1970 年代以降の接眼レンズで

は、メガネをかけたままで観察できるように、アイポイントが接眼レンズより離れた廃アイポイントになっているので観察時にメガネを外す必要はないが、逆に裸眼観察だと、目の位置が不安定になる場合もある。そのようなときは、接眼レンズのゴムフードを伸ばして位置の安定を図るとよい。

A.6.3 スリーブ径

接眼レンズを差し込む鏡筒の内径は23.2mmのものが多く、鏡筒と接眼レンズが異なるメーカーでの装着可能であるが、色収差補正システムが異なっているものの組み合わせでは見え方に問題が生じる可能性がある。スリーブ径にはより太い30mm径などのものもあり、23.2mm径のものより接眼レンズの視野数が大きくなっているため、対応する視野数の対物レンズと組み合わせれば、より広い領域を一度に観察できる。

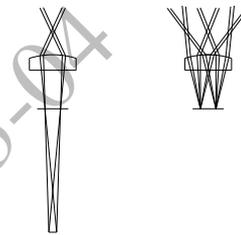


図 A.11: 通常のルーペと、接眼レンズの光路図。

A.6.4 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。

A.6.5 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に、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眼鏡筒に取り付けられれば、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。

A.6.6 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*21。

A.7 照明光学系

A.7.1 透過照明

図@に標準的な透過照明の光路図を示す。光源からの光は集光レンズにより集められ、視野絞りと開口絞りを通りコンデンサレンズにより試料面に到達する。コンデンサレンズの位置は上下に調整でき、視野絞りの像が試料面に結像する位置に調整するのが一般的である。こうすると、視野絞りの開閉により試料面の照明範囲が調整できる。ただし、通常のコンデンサレンズは作動距離（コンデンサレンズの前面から試料までの距離）が 1mm 程度なので、ホットステージ中の試料に対しては視野絞りの像をきっちりと結像することはできず、照明範囲は制御できない。

開口絞りはコンデンサレンズの光源側焦点位置にある。このためコンデンサの NA は開口絞りにより調整できる。ただし、この調整が働くのは、試料がコンデンサのピント面にある場合であり、ホットステージ中の試料に対しては、低 NA の光束しか到達しないため、実質的に NA は調整できない。

生物分野で標準とされる照明（ケラー照明）では、光源像は開口絞りに結像し、視野絞り像は試料面に結像するように調整する。この時の、光源から観察者までの光路を図@に示した。試料面に着目すると、試料面と同じ面で結像するのは、視野絞り、そして鏡筒上部の空中実像、目の網膜となる。これらは共役面と呼ばれている。光学系には光源に始まる、もう一つの共役面があり、こちらは、光源、開口絞面、対物レンズ後ろ焦点面、接眼レンズのアイポイント位置である。

ケラー照明より光源と集光レンズの距離を短くすると、光源像が試料面に結像する地点がある。この状態では観察像に光源が重なって観察される（クリティカル照明）。照度は高くなるが照明ムラが大きくなるので一般には用いられない。

コンデンサレンズの度数が弱い場合には、コンデンサレンズは視野絞りの像を試料面で結像できないし、またコンデンサ外周部の光もきちんと集光できず、低 NA で照明範囲

*21 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。

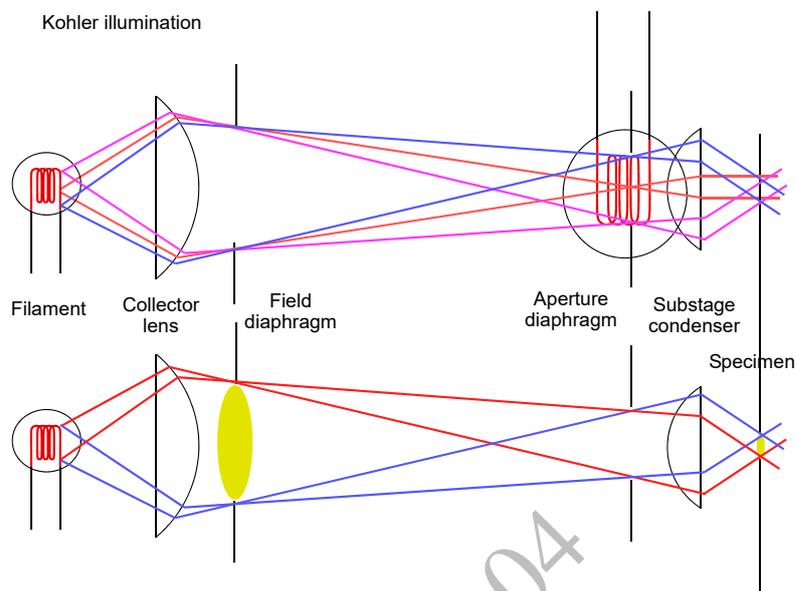


図 A.12: ケラー照明の光学系。上は開口絞に着目し、下は視野絞りに着目している。

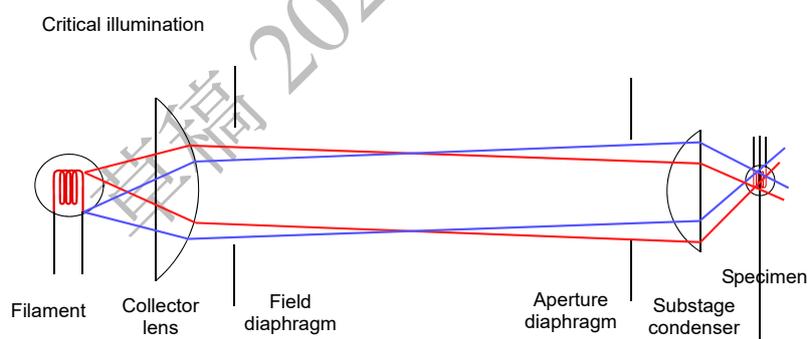


図 A.13: 臨界照明の光学系。

の制限ができない照明となる。また、ケラー照明ができる度数のコンデンサを用いていても、試料がホットステージに入っているといった理由で、本来の位置より上方にある場合にも、低 NA で照明範囲の制限ができない状況となる。この状況は散光照明と呼ばれている。散光照明では光量は低い均一性はよい。

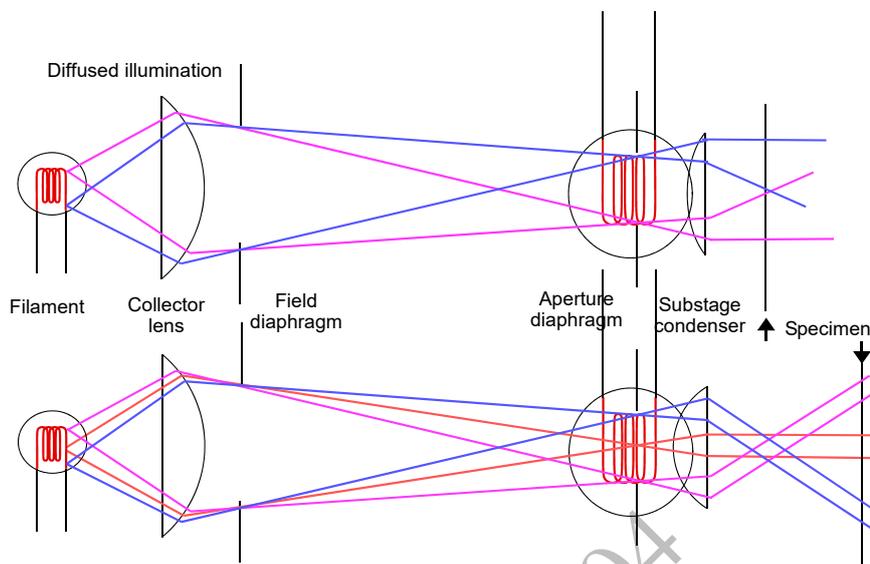


図 A.14: 散光照明の光学系。上はコンデンサの度数が弱い場合、下は試料がステージ位置より上方にある場合。

A.7.2 落射照明

落射照明では対物レンズがコンデンサレンズを兼ねており、照明光は観察側から対物レンズに入射する。このため、落射用対物レンズでは対物レンズの後方への反射が少ないように作られている。落射照明でも光源との間に開口絞と視野絞りがあがるが、開口絞の方が光源側にある。どちらの絞りであるかは、絞りを絞って照明範囲が制限されるかを見れば確認できる。透過照明の場合とは異なり、ホットステージ中の試料でも、ピントを合わせられるなら、視野絞りにより照明範囲が調整できるし、開口絞により照明の NA も調整できる。

A.8 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。

A.8.1 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^{*22}。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。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^{*23}LED

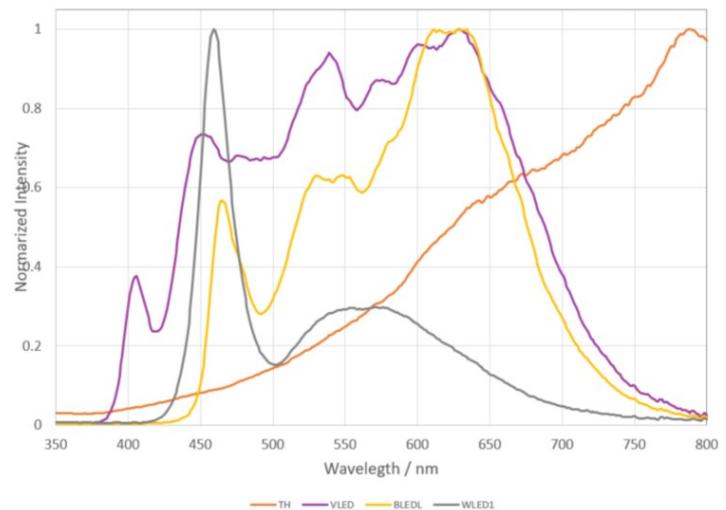


図 A.15: ハロゲンランプと白色 LED のスペクトル。白色 LED にもバラエティがある。

^{*22} 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。

^{*23} 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

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た、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 15 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 はこのタイプのものが多い。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えば、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。

A.8.2 フィルター

色温度変換フィルター

図 16 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）^{*24}。銀塩写真の時代には、普通のフィルムは太陽光下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

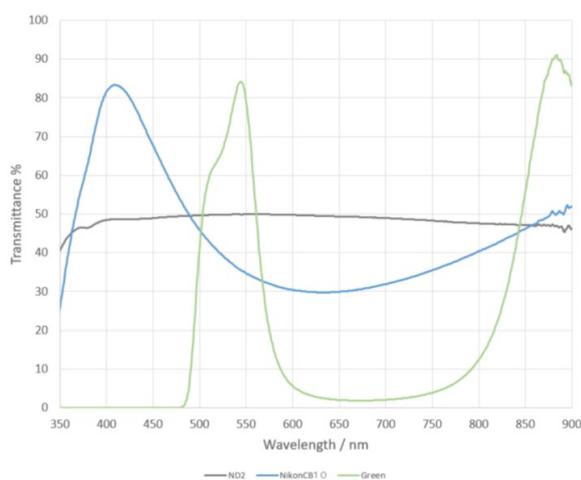


図 A.16: ニコン偏光顕微鏡に付属していたフィルターの透過スペクトル。

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。

^{*24} 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。

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。ただし、目視で鋭敏色板を用いた観察を行う場合には、OPD が 530 nm の鋭敏色板は太陽光を前提としたものなので、電球光では検出感度が低下する。

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。

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。

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。

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

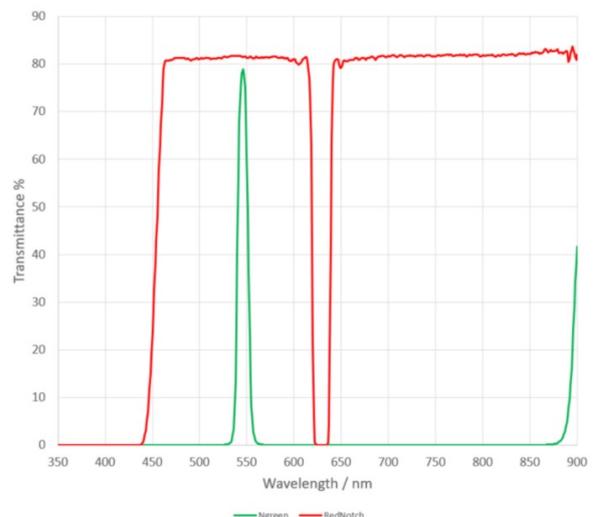


図 A.17: 狭帯域誘電体多層フィルター。546 nm のバンドパスフィルターと 633 nm のノッチフィルター

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。

A.8.3 顕微鏡光源の放射分布

図??に光源の放射分布、図 19 に色度図上の位置を示す*25。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 15 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。

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。

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*26。

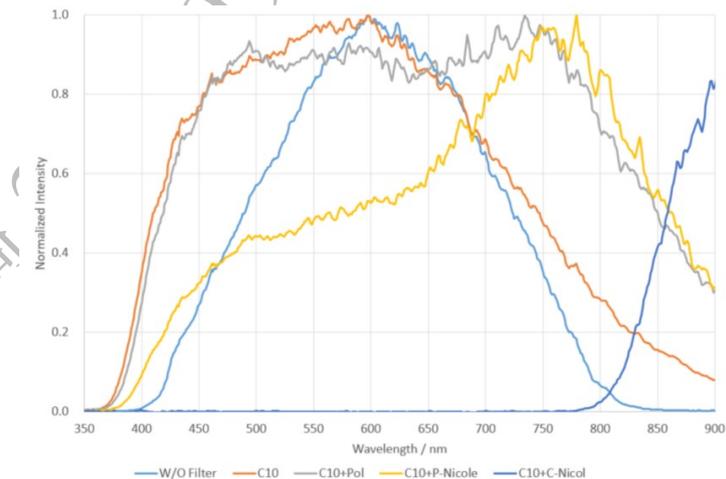


図 A.18: 顕微鏡光源の放射分布

*25 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。

*26 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。

A.9 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。ハネノケ式コンデンサは上部に光路から外すことのできる上玉のあるコンデンサで、上玉を入れると、NA0.9 前後、作動距離 1 mm 程度で、上玉を外すと NA0.2 で作動距離の長いコンデンサとして機能する。用途としては鉱物の観察に適した機能を持っている。上玉を入れた状態ではケラー照明可能だが、上玉を外した状態では、ほぼ散光照明となる。

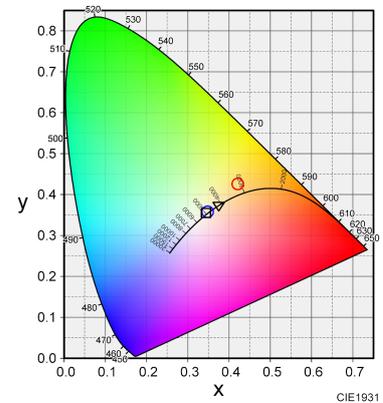


図 A.19: 顕微鏡光源の色座標分布。

A.10 画像記録装置

3 眼鏡筒の顕微鏡では上方の鏡筒に記録装置を取り付けて、写真撮影やビデオ観察が可能である。顕微鏡メーカー製ではない撮影装置の選択と取り付けは改めて取り上げるが、現在では比較的容易に 4K 観察が可能なシステムが構築できる。

A.11 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^{*27}*28。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^{*29}。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

*27 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。

*28 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

*29 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。

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*30。

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での明るさが異ってしまうのを防ぐためである*31。

A.12 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。標準的な位相差板は $\lambda/4$ 板 (Quarter Wavelength Retardation Plate)、鋭敏色板 (sensitive color plate, sensitive red plate, First Order Reterdation Plate) の 2 つで、ニコンの偏光顕微鏡では $\lambda/4$ 板と鋭敏色板は標準で付属するが、エビデントでは別売りになる*32。

位相差板は複屈折性の物質で作られている*33。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*34。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。

A.12.1 $\lambda/4$ 板

*30 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。

*31 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可能性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。

*32 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 (Bräcke-Köhler Compensator)、バビネ-ソレイユコンペンセータ (Soleil-Babinet Compensator) などがある

*33 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。

*34 どちらの軸か未確認

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。

A.12.2 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^{*35}。



図 A.20: $\lambda/4$ 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。

A.13 ベルトランレンズ

鏡筒に挿入する凸レンズで、対物レンズ後ろ焦点面の像を接眼レンズ部分の通常の結像位置に結像する。対物レンズ後ろ焦点面位置は対物レンズにより異なるため、ベルトランレンズにはピント調整機能がある。ピント調整機能がないものでは、F 値の大きな、暗くて焦点深度の深いレンズを用いている。^{*36}。

A.14 回転ステージ

研究用生物顕微鏡のステージは角型で xy2 軸方向に粗微動できるものが多いが、偏光顕微鏡では標準的には丸型の回転ステージが装着されている。ステージによっては、特定の角度ごとにクリックがあり特定の角度変化を容易に行えるようにしているものもある。

^{*35} 鋭敏色板の位相差はかつては 580nm 付近が用いられていたが、1960 年代ごろに 530nm の方が感度が上がるとの研究があり、それを受けて国内メーカーは 530nm に移行している。鋭敏色板の感度は照明光源の分光分布に依存しており、5000 K の黒体放射の昼光色では 530nm の方が 580nm より高感度だが、3200 K の電球色では 580nm の方が高感度になる。光源分布にも注意する必要がある。

^{*36} Optiphot 世代のニコンの偏光顕微鏡では目視側にしかベルトランレンズが入らないため、ベルトランレンズが入った状態の画像撮影はできなかった。その代わりに、ピンホールカメラ的なプロジェクションアダプターがついていたらしい。

A.14.1 芯出し機構

回転ステージの回転中心が顕微鏡の光軸と一致していないと、ステージを回転すると観察試料が視野外に外れてしまうといった事態が発生しうる。工作精度が高くなった最近の偏光顕微鏡では^{*37}、省略されていることもあるが、ステージの回転中心と光軸が合わせられるように、対物レンズ取り付け位置を微調整できるレボルバーが装着されている。ニコンの機種ではレボルバーのすべての穴に調整機構があるが、エビデントのものは一つの穴には調整機構がなく、その代わりにステージ自体に微調機構が備わっている。

A.15 用途別標準的な構成

偏光顕微鏡の標準的な使用条件や使用法は分野によりかなり異なっている。それぞれの分野の違いを認識していれば、ある分野を対象とした書籍などから液晶に適用できる部分を抽出するのにも役に立つ。

A.15.1 岩石鉱物分野

偏光顕微鏡の別名は petrographic microscope(岩石顕微鏡) で、古くから鉱物の同定に使われてきた。現在市販の偏光顕微鏡も鉱物の観察を主対象として組み立てられている印象がある。観察対象は、岩石の薄片で、薄片を構成する結晶はそれほど小さくはなく、結晶軸方位はランダムに分布している。試料はスライドガラスとカバーガラスにはさまれており観察は室温で行われる。標準的な装備として、コンデンサはハネノケ式で、アクロマートの偏光用対物が装着されている。

通常の検鏡はオルソスコープ (orthoscope) で、ハネノケコンデンサの上玉は外しての観察となる。上玉を外した状態では照明光は試料面よりかなり上方にしか結像しないので、視野絞りをつかっても照明範囲の制御はできない。また、照明の NA も 0.2 程度以下の低いものとなる。照明の NA が低いので、コントラストは高めになる。通常の検鏡でこのような照明を用いるのは、斜入射光による偏光色の変化を避けるためである。また、高い分解能が要求されないこともあるかと思う。

岩石鉱物系のもう一つの検鏡法がコノスコープ (conoscope) で、これは試料の画像ではなく、試料をある方位で通過した光の偏光変化を可視化する検鏡法である。コノスコープ像により、試料の光軸方向や光学特性 (光学 1 軸性か 2 軸性) を知ることができる。コノスコープ観察ではコンデンサの上玉を入れ、試料面に視野絞り像が結像するようにして、

*37 あるいは、コストダウンが強く要求されるためかもしれない。

試料面内の観察対称となる結晶片にのみ光が当たるようにする。複数の結晶片に光が当たると、それぞれ異なったコノスコープ像の加算像となるために、解析ができなくなってしまう。コノスコープ像は対物レンズの後ろ焦点面に結像するので、その像をベルTRANレンズで拡大して観察する。ベルTRANレンズがない場合には接眼レンズを外して鏡筒を覗き込むと、小さなコノスコープ像が直接観察できる。コノスコープ観察ではなるべく広い角度範囲の情報を得るために、コンデンサの NA は大きくして、対物レンズも高 NA のものを使用する。

コノスコープ観察時の照明がケラー照明だと、対物レンズ後ろ焦点面に光源像が重なってしまうので、ケラー照明ではなくクリティカル照明とすべきだが、このような記述を鉱物系の書籍で見たことはない。鉱物系の研究者は、顕微鏡照明にそれほど気を使っていない印象がある。なお、市販の研究用顕微鏡はケラー照明になっているため、コノスコープ観察像に光源像が重なってしまうことがあり、それを緩和するためか、拡散フィルターが入れられるようになっていたりもする。

A.15.2 生物分野

生物分野での検鏡対象は細胞内の透明だが複屈折のある組織で、一般に複屈折の程度は小さく、また微細組織のため高い分解能が望まれる。試料はスライドガラスとカバーガラスにはさまれ、室温での検鏡となる。検鏡の目的は可視化であり、複屈折が小さく明暗変化が生じてても着色には至らないレベルなので、照明光の平行性より分解能の向上が優先される。標準的に油浸可能の高 NA のコンデンサが用いられ、対物にも油浸も用いられる。基本的に通常の生物顕微鏡の検鏡に偏光素子が加わったというイメージである。高 NA での検鏡では光学系自体による偏光の乱れがコントラスト低下を引き起こすので、それを補正する工夫も開発されている。

A.15.3 液晶分野

液晶は複屈折が大きく、また、組織観察の対象となるドメインも、そこそこに大きく、観察対象としては、偏光によるコントラストが比較的大きく、微細構造のない状態である。この点では液晶は鉱物に類似しているのだけれども、試料が上下とも 1mm 程度のガラス板にはさまれ、さらにホットステージに保持されている点で大きく異なっている。

ホットステージにも市販品から自作まで、様々なものがあるが、例えばメトラー社のホットステージでは、試料面はステージ直上より 15 mm 上方にあり、また、試料面からステージ上部までも 10 mm 近くある。通常の検鏡では、照明はハネノケコンデンサの上玉を外しての照明となる。これは鉱物検鏡のオルソスコープと同じである。一方対物レン

ズについては、4倍と10倍では購入した顕微鏡に付属していた対物レンズで対応できることがあるが、それ以上の倍率のものは作動距離が足りずに使うことができない。また、10倍の対物レンズにしても、カバー硝子厚0.17 mm指定のことが多く、指定外使用とはなる。20倍以上の倍率で検鏡したい場合はどうするかというと、近年では50倍程度までは作動距離が10 mm超の長作動対物があるので、それを使っている研究者も多いと思う。ただし、これらの長作動対物レンズはカバーガラス厚0 mm指定なので、設計条件外使用となる。

設計条件外使用なので、これらの長作動対物により得られている画像は本来よりは劣化したものになる。具体的には線がシャープでなくじみが出たりしているはずである。しかし、実際の組織観察で像の劣化が問題とされることはない。これには次の2つの理由が考えられる。一つ目は、上にも記したように、液晶組織はコントラストが高く、また微細な構造が問題となることが少ないので、像の劣化が観察結果に対して影響を及ぼさない場合が多いこと。二つ目は、誰も収差補正がされた状態の本来の画像を見たことがないため、得られている画像が良好なものか判断できていないことである。対物レンズの分解能に近い構造を話題にするのでなければ、設計条件外使用により解釈を誤る危険性は小さいと思う。

一方、コノスコープ観察には困難がある。ハネノケコンデンサの上玉を入れても、照明光の集光位置はステージ面より1 mm程度上なので、ホットステージ中の試料には集光できない。Nikonの長作動コンデンサは作動距離10 mmなので、試料位置がそれより低ければコノスコープが観察できるが、メトラー社のホットステージでは今一つ作動距離が足りない。現時点での解決策は、コンデンサを自作するか、ニコンの旧機種 of 倒立顕微鏡用のコンデンサを取り付けることである。これで、NA0.5のコノスコープ観察ができるようになる。コノスコープ観察に用いる対物は、カバーガラス厚0 mm指定の長作動対物で問題はない。

コノスコープ観察できるコンデンサなら、ケラー照明も可能である。照明のNAを上げると偏光色が変化したり、コントラストが著しく低下することもあるので、高NA照明のありがたみは大きくはないかもしれないが、視野絞りにより試料面での照明範囲の制御ができることは大きな利点となる。照明範囲を区切ることにより、スパーサーなどからの邪魔な光をなくすことができるので、試料のコントラストも向上する。コノスコープ観察時にも、画面内のモノドメイン領域にのみ照明光を照射するようにする。

対物レンズに関してはNA0.5程度で硝子厚が2mm程度まで補正でき、作動距離が7mm程度ある品物も存在していたので^{*38}。市販のホットステージに対して作動距離が十

^{*38} 過去形で記したということは現時点（2026年2月）ではカタログにないことを意味する。でも中古なら入手は可能だと思う。

分かは確認していないが、この対物が使用可能なホットステージがあれば、倒立顕微鏡用のコンデンサとの組み合わせで、ケラー照明で硝子厚による収差補正にも対応した顕微鏡が構築できる。もちろん、コノスコープ観察にも対応している。

A.16 基本的な使い方

ホットステージ中の液晶試料観察手順を簡単に紹介する。前提として光源のある研究用顕微鏡で、ハネノケコンデンサが装着されており、また、対物レンズはホットステージでもピント合わせができる長作動対物を取り付けられているものとする。そして、目視観察とピント位置があったあ画像記録系が取り付けられているとする。

A.16.1 準備作業

顕微鏡のランプを点灯し、正しくクロスニコル状態になっているかを確認する。視野が暗くてランプが点灯しているか確認しづらい場合は、鋭敏色板か $\lambda/4$ 板を入れて透過光が生じるようにする。間違えてもクロスニコルからずらしてはいけない^{*39}。コンデンサは上玉を外しておく。

試料をセットしたホットステージを顕微鏡ステージの上に置き^{*40}、ホットステージの開口が視野の中心となるように調整する^{*41}。顕微鏡ステージを回転するとき、ホットステージが動いてしまうのを嫌う場合には、テープを使ってホットステージを顕微鏡ステージに取り付ける^{*42}。

ランプの点灯電圧は写真撮影用の指定値とするのが無難である。ランプの電圧で明暗の調整をすると、明るさだけでなく色味も変わってしまうので、目視観察では大きな問題とはならなくても、撮影した画像の色味の一貫性がなくなってしまう^{*43}。写真撮影用電圧で点灯して、明るすぎるなら、適当な ND フィルターを入れるか、コンデンサの開口絞を絞ればよい^{*44}。暗すぎるなら、ND が入っていないか、開口絞や視野絞りが閉じられてい

^{*39} クロスニコルからずらしたまま組織観察すると、あるべきではない文様が観察されてしまう。

^{*40} メトラー社のホットステージなど、ステージの上蓋が蝶番で取り付けられているものでは試料の交換ごとにステージをずらす必要がある。ステージ上蓋が横に動くものではステージはそのままでも試料交換が可能で使い勝手はよいと思う。

^{*41} メトラー社のステージの開口は 3mm 程度なので、4 倍の対物だと開口全体を見渡せるが、10 倍以上だと開口の内部しか見えずに中心位置をきちんと調整しにくいと思う。

^{*42} 広めの幅のマスキングテープを使っている。

^{*43} これは、ハロゲンランプのような白熱電球の話で、LED なら明るさを変えても色味はそれほど変化しないかもしれない。なお、ハロゲンランプの寿命は点灯電圧に大きく依存し、定格より 10% 電圧を上げると寿命は 1/3 程度まで減少する。

^{*44} 一般に開口絞を変えるとコントラストも変化するのだけれども、ホットステージ中の試料を観察する場合には、ハネノケの上玉を外して、散光状態としているので、照明の NA はいずれにせよ小さく、コントラ

ないかをチェックし、それらに問題がなくても暗いなら、ランプとコンデンサの調整を参考に調整を試みる。

A.16.2 視度調節

実際の観察に先立って視度調整を行う。偏光顕微鏡では一方の接眼レンズに十字線が入っている。十字線は対物レンズによる実像が形成されるべき位置にある。十字線をはっきり見えるように調整した上で、試料のピント合わせをすれば、対物レンズの設計通りの正しい位置に結像していることが保証される^{*45}。十字線がはっきり見えたら、そちら側の対物のみを使って、ピント合わせをする。この時、対物レンズを高い倍率にしておく方がピント合わせの精度が高くなる^{*46}。十字線の入っている接眼側でピントがあったら、その時点でピントは固定して、十字線の入っていない接眼レンズの視度を変えて、そちら側でもピントが合った状態になるように調整する。これで、両眼とも正しく視度調整が完了した。

液晶観察の場合は、対物レンズの結像位置が多少ずれていても、観察される像レベルにはあまり影響はないかもしれない。しかし、画像記録装置のピントは正しく調整された目視と一致しているので、目視の調整がくるっていると目視でピントを合わせた状態で記録した画像がピントが合わないものになってしまう。この点からも、きちんと視度調整を行うべきである。

A.16.3 観察

観察は10倍、もしくは4倍の低倍率の対物レンズから始める。これは、なるべく視野を広くとって効率よく着目すべき状況を見出すためである。高倍率の対物レンズへの切り替えは、対物レンズではなくレボルバーを持って回転する。対物レンズに横向きの力をかけると、長い年月の間には軸を歪める危険性などがある。同一のシステムではレボルバーを回してレンズを変えても、ピントはほぼあっていて微動で調整すればよい程度になるはずである。

メトラーなどで、ピントが合った状態ではステージ上ぶたの穴に対物レンズの先端が入り込むようになる場合は、レンズ交換時にいったんステージを下げる必要がある。対物レンズを変えたときに、視野の中心位置が大きく変化して観察に支障をきたすような場合は、芯出し調整を行うと状況が画期的に改善する。

スト等の変化を]気にする必要はないと思う。

*45 もし、十字線がぼやけた状態で試料にピントが合うなら、対物レンズによる実像は正しくない位置に結像していることになる。

*46 合焦範囲で示したように、高倍率で高NAの対物ほどピントがあう範囲が狭くなる。

かつては目視観察の方がビデオ出力の画像観察よりは高精細で観察範囲も広く優位であった。近年は4 Kでのビデオ観察が容易にできるようになり^{*47}、観察範囲もそれなりに広く取れるようになり、実用性の高い方法となっている。目視観察に比べて有利な点として、

- 複数人で同時に同じ画面を観察できるので、組織を見ながらの議論が可能になる。
- 画像のコントラストのつけ方によっては、目視よりも色調の判別がたやすくなる。
- 目視では暗くて識別困難な画像も露光量調整で明るく観察できる。
- 目視観察に比べて姿勢が楽で目の疲れも少ない。

ことが上げられる。

液晶の組織観察では、組織の状態を見ながら温度変化を時には繰り返して何が起きているのかを突き詰めていく。続いて、その時に役に立つかもしれない顕微鏡技術を紹介する。

A.17 位相差板による遅速軸と円偏光の符号判定

棒状液晶分子は分子長軸に平行に振動する光が感じる屈折率の方が長軸に垂直に振動する偏光が感じる屈折率より大きい^{*48}。組織中の2つの消光位方向で屈折率の大小が分かれば、分子がどちらに向いているかを判定できる。例えば、SmAの扇状組織とN*の擬似扇状組織は類似しているため、組織観察だけでは判別が困難であるが、SmAならドメインが伸びた方の屈折率が高くN*なら低くなるので、遅相軸が判別できれば、相の同定が可能となる。

A.17.1 遅速軸の決定

遅相軸の判定には、鋭敏色板及または $\lambda/4$ 板を用いる^{*49}。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^{*50}。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。

^{*47} 手法については画像記録を参照

^{*48} $n_e > n_o$ と表記した方がわかりやすいかもしれない。

^{*49} 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

^{*50} 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。

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のなら遅軸は 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。

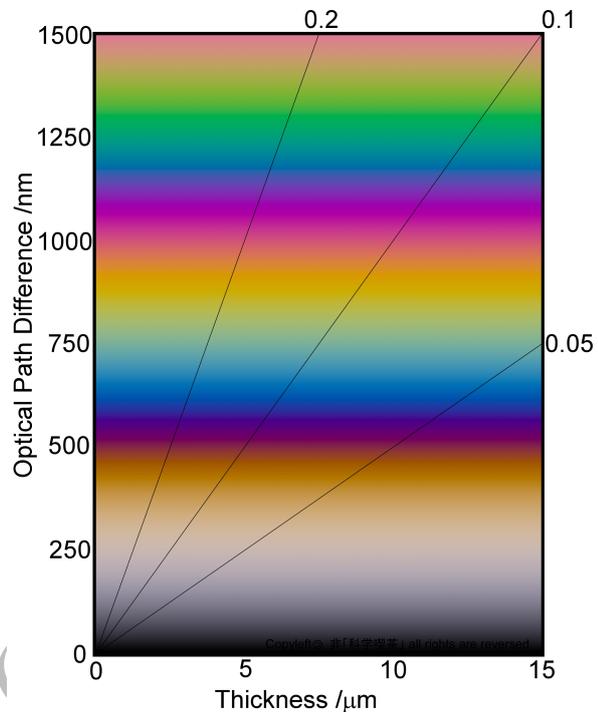


図 A.21: 偏光色図表

A.17.2 $\lambda/4$ 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。

A.18 OPD の定量評価

試料の厚みが分かっているならば OPD 測定により屈折率異方性を数値的に求められる。

A.18.1 ベレックコンペンセータによる OPD 評価と注意点

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。

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



図 A.22: 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。

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値から OPD を算出する^{*51}。

^{*51} 個別の校正値が必要なのは、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。

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

$$R = d(n_e - n_o) \sin \theta \tan \theta \tag{A.6}$$

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*52。

A.18.2 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 23 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 24 に示すように、正しい値よ

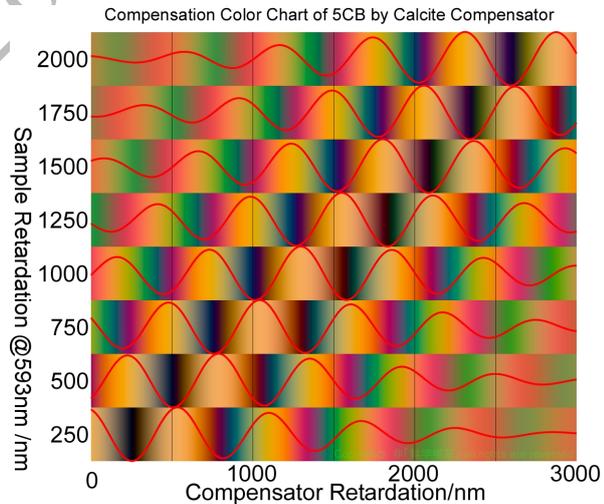


図 A.23: 方解石コンペンセータによる 5CB の補償シミュレーション。OPD が 1000nm 程度未満だと、正しい測定値で最も暗くなるが、それ以上になると本来の値より大きな読みの場所で最も暗くなる。

*52 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、λ/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、分光測定がよいかと思う。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。

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。

A.18.3 ブレー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^{*53}。

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に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。

A.18.4 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^{*54}。試料を消光状態から 45 度傾けるとコ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^{*55}。

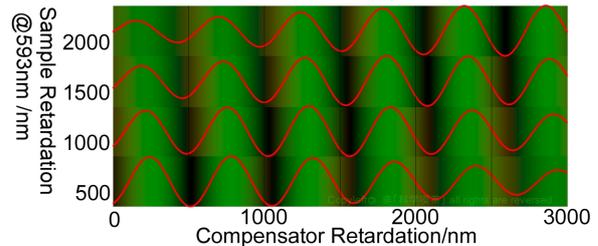


図 A.24: ニコンの偏光顕微鏡に附属する緑色フィルターを用いた場合の方解石コンペンセータによる 5CB の補償シミュレーション。試料の OPD が 2000 nm の場合には、それより大きな値で明るさが最小になってしまう。

^{*53} オリンパスから供給されていたが途絶えたようだ。

^{*54} 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。

^{*55} OPD には基準波長の整数倍の不確かさがある。

A.18.5 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 測定はできないけど、眺めていて楽しいコンペンセータである。



図 A.25: 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。

A.18.6 バビネ-ソレイユコンペンセータ

楔型コンペンセータやベレックコンペンセータは OPD 連続可変だが、視野内での OPD 当てて値に分布があり、均一ではない。それに手合いしてバビネ-ソレイユコンペンセータは、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 可変である^{*56}。現時点でカタログにはなく、中古でもほぼ見かけることはない。

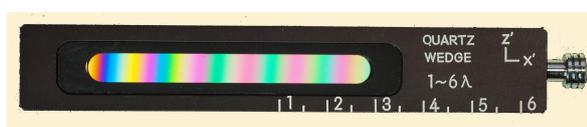


図 A.26: 楔型コンペンセータ。クロスニコルに挟んで撮影しているため偏光色が見えている。

A.19 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」^{*57}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^{*58}。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

^{*56} 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。

^{*57} 岩波書店:19959

^{*58} 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。

図 A.27: 530nm の鋭敏色板の透過スペクトル

紹介する。

A.19.1 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、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。加算的に重なると、青色が増加し、赤色が減るため色味は青みが強くなる。減算的な重なりでは赤みが強くな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^{*59}、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^{*60}。

清水によれば^{*61}、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 28 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。

*59 引用文献見つからず

*60 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。

*61 「鋭敏色の感度測定」清水嘉重郎、応用物理 25 巻 217 頁

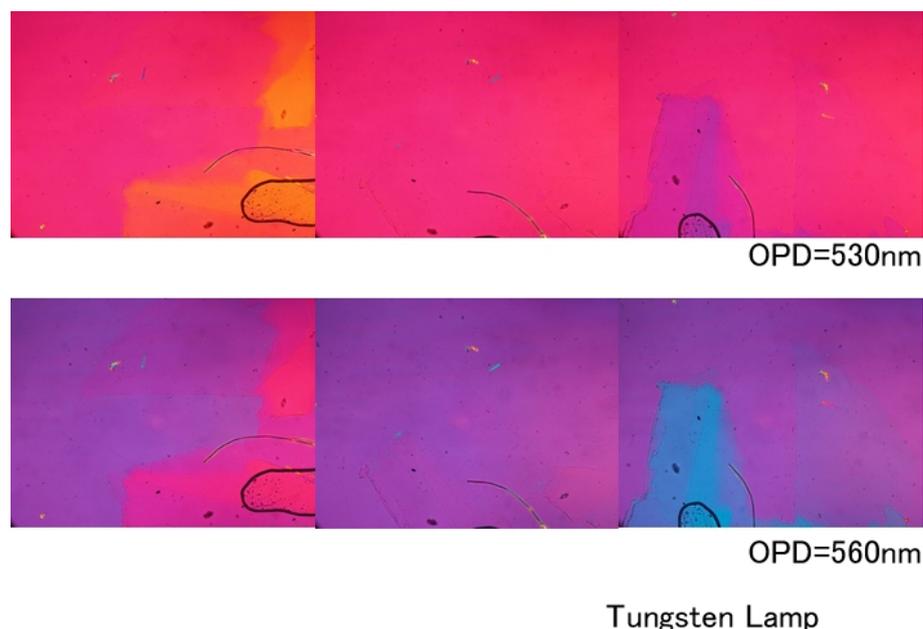


図 A.28: OPD が約 3nm の試料の画像。光源はハロゲンランプで色補正無し。撮影は昼光 (5300K) でおこなっている。鋭敏色板の OPD が 530nm より 560nm の方がコントラストが明瞭に見える。

A.19.2 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^{*62}。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ためクロスニコルで遮断される^{*63}。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。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

^{*62} 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).

^{*63} 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

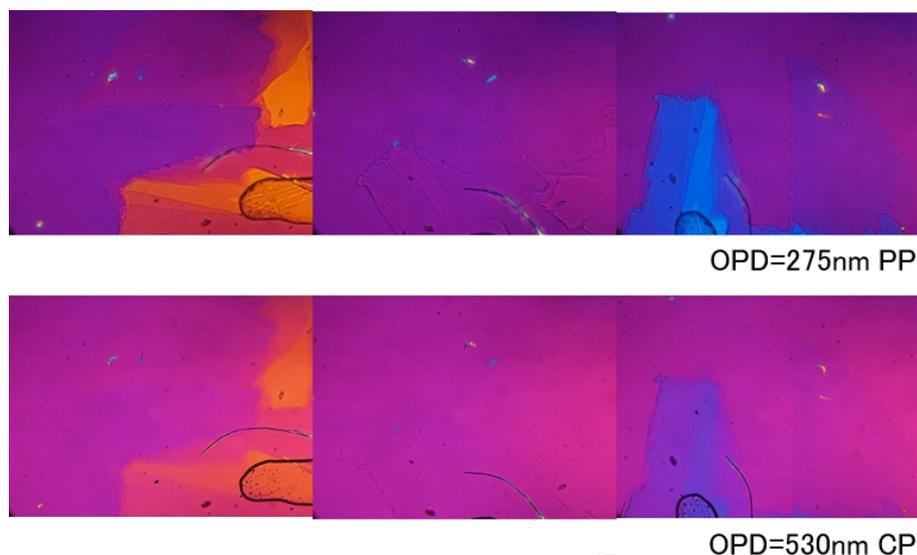


図 A.29: OPD が約 3nm の試料の画像。光源はハロゲンランプに C12 フィルターで色温度補正をしている。撮影は昼光 (5300K) でおこなっている。通常の鋭敏色板は上で示したハロゲンランプ設定に比べるとコントラストはでているが、超鋭敏色法はそれ以上のコントラストとなっている。

になるとされている (図 29)。

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^{*64}。

A.19.3 低角鋭敏色検板法

Newton らによると^{*65}、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^{*66}。

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

^{*64} 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。

^{*65} 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).

^{*66} 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。

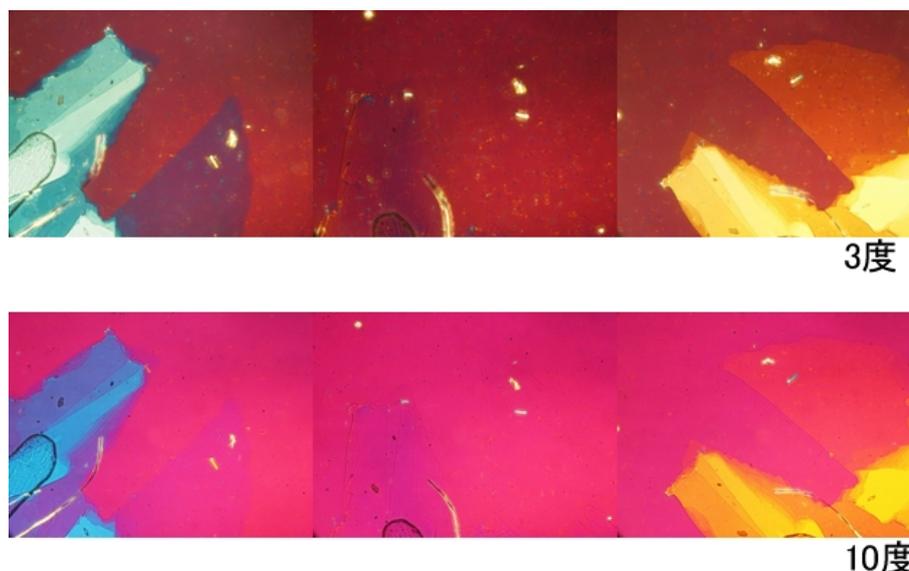


図 A.30: OPD が約 3nm の試料の画像。偏光子と検光子の軸を鋭敏色板の軸に近い角度に設定している。上はズレ角が約 3 度。下は 10 度。

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 (図 30)。

A.19.4 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。

A.19.5 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。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。

A.19.6 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^{*67}。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。

A.20 ホットステージ使用時のケラー照明の実現

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 (0.5 程度) には不足しているし、試料面での集光もできない。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、オルソスコープ観察では推奨されている^{*68}。

^{*67} と一応はしたけれど、もっと短波長かもしれない。

^{*68} 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。

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制御したい場合には、ケラー照明を実現しなければならない。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 以上の長作動距離コンデンサが必要となる。

A.20.1 長作動コンデンサ

ニコンのカタログには長作動コンデンサが掲載されている。そのスペックは NA0.65、作動距離 10 mm で、メトラー社のホットステージに組み合わせるのには作動距離が十分ではない。自作でも市販品でも光学的試料位置がステージ上 10 mm 以下なら、このコンデンサを試す価値はある。また、このコンデンサを使うとメトラー社のホットステージでもハネノケコンデンサより多少は照明強度が高くなる。

メトラー社のホットステージに対応できるような長作動コンデンサは現行商品には存在しないが、Nikon の Diaphot の長作動コンデンサは NA0.5 で作動距離が 20 mm 以上ある。もともとは倒立顕微鏡用のものであるが、正立顕微鏡にも取り付けられる^{*69}。これを使うとメトラー社のホットステージでもケラー照明が実現できる。^{*70}



図 A.31: 倒立顕微鏡用長作動コンデンサ。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。

A.20.2 オルソスコープ観察時の照明光の 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。

1 軸性の液晶の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

^{*69} 少なくとも Optiphot にはつけられる。現行機種も一応は取り付けられた。あとオリンパスの BH2 にも取り付けられた

^{*70} 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はずだが、現時点で日本代理店はないと思う。また、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。

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*71。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。

雲母のような2軸性の物質では、斜入射によって、色味が大きく変化し得るので照明のNAは低い方がよい。また、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、SmAで垂直配向にしたチルト角の小さなSmC相では、平行光で照射しているときにははっきりと観察できるシュリーレン文様が、照明のNAが増加すると、ぼやけて、ブラシの数も変化して見えるようになる。

A.20.3 コノスコープ

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*72。

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、試料の一部分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。

これは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ためである。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

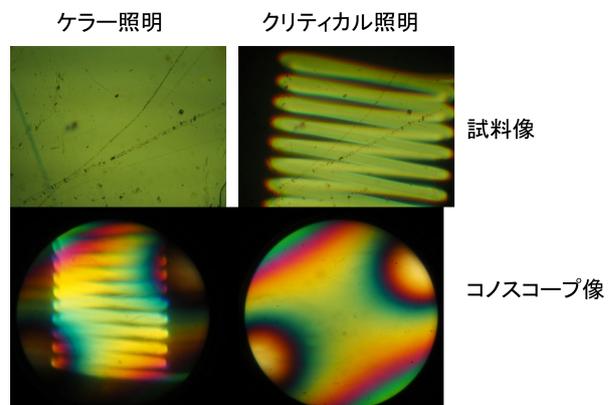


図 A.32: ケラー照明とクリティカル照明での画像。試料像はケラー照明が均一性が高く、クリティカル照明では電球フィラメントが試料像と重なってしまうが、コノスコープ像では関係が逆になる。

*71 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。

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

に光源のフィラメントが重なるようになってしまう。図 32 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中間ぐらいの配置で使用することである。図 33 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、実画像とも気になることなく使えている^{*73}。

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^{*74}。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。

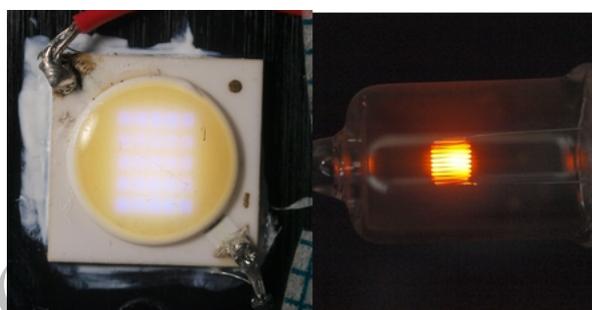


図 A.33: ハロゲンランプ (右) と LED。同じ倍率での撮影。LED の方がハロゲンに比べて発光面が広く、また均一性も高い。

■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が同じなら、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^{*75}。

^{*73} 使えてはいるが、ある意味中途半端な光学系での照明で、これで本当によいのかは自信がない。

^{*74} 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。

^{*75} 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。

A.20.4 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ため、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^{*76}。

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。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。

A.21 補正環付き対物レンズの使用

A.22 偏光顕微鏡の調整

ここでは、必要に応じて行う調整を紹介する。

A.22.1 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^{*77}。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^{*78}。

^{*76} 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。

^{*77} 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。

^{*78} 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。

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*79。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。

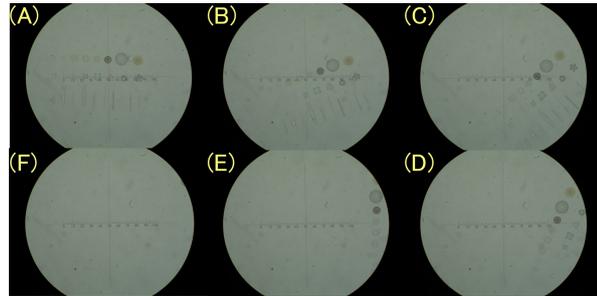


図 A.34: 芯が出ていない状態で回転をすると、最初は画面の中心にあった対象物が視野の外側に行ってしまう。

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*80。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 に移動するように調整する。



図 A.35: 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。ニコンのオプチフォトは、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 はマイナスインドライバーで芯だしできるが、オプチフォトは特殊な工具が必要である。

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

*79 図キャプションに記したようにオプ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、オプ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。

*80 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。

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と、調整が手早く行える*81。

1 本の対物レンズの調整が終わったら、他の対物レンズの調整に移るが、軸を調整した対物レンズで中心であった部分が調整を行う対物レンズでも中心となるように調整する。これだけで、芯出しはほぼ終わっているが念のためステージを回転して微調整を行う。

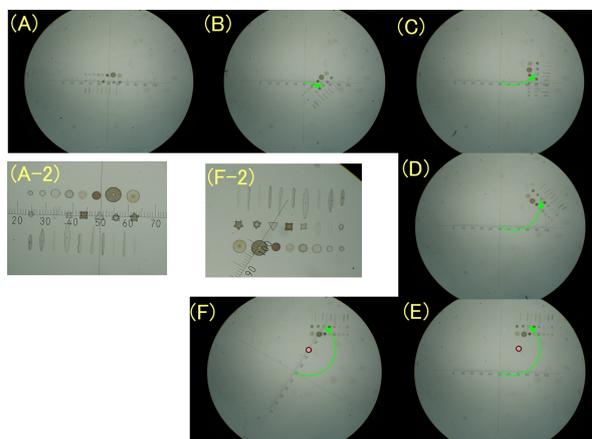


図 A.36: 対物レンズの芯だし。まず、目印となるものを接眼レンズ十字線の中心に合わせる (a)、続いてステージを 180 度回転する (b)。目印の移動先に接眼レンズの目盛線を合わせる (c)。目印が、移動位置と中心線の半分になるように調整する (d)。

A.22.2 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、初期の高さを調整する。

A.22.3 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。

A.22.4 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。

*81 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。

A.23 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。

A.23.1 クリーニング用品

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*⁸²。ティッシュ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ので、必ず、工業用の綿棒を使用する。

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*⁸³。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

*⁸² 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。

*⁸³ 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。

は、エタノールや EE3310 などがある*⁸⁴。

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（含むロッキングピンセット）で保持して使用する使う事が多い。

A.23.2 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*⁸⁵。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*⁸⁶ので、そちらを確認する。

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*⁸⁶。

A.23.3 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。

*⁸⁴ 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）。なお、有機溶剤はエタノールや EE3310 でもレンズに回復不可能なダメージを与えることがあるので、使用にあたっては、適用の可否を確認するなど、最大の注意を払うべきである。

*⁸⁵ 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。

*⁸⁶ 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。

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。ブローア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*87。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。

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。

*87 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してくれるメーカーではない会社が見つかると思う。

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*88*89。

A.24 透明物体の可視化と各種対物レンズ

細胞などの生態試料もコントラストが低く、通常の透過照明では観察困難なものが多く、そのような低コントラスト試料のコントラスト付与方法が開発されてきた。偏光顕微鏡もその一つであるが、それ以外で屈折率差を可視化するものに位相差顕微鏡、干渉顕微鏡、微分干渉顕微鏡などがある。液晶研究でこれらの手法を用いる場面に出会うことはほぼないと思うけれども、知っていて損はないので取り上げることにする。また、様々な用途を目的とした対物レンズについても簡単に紹介する。

A.24.1 位相差

位相差用対物レンズ

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。



図 A.37: 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。

*88 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有ると、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。

*89 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。

A.24.2 干渉

A.24.3 微分干渉

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。）

A.24.4 各種対物レンズ

対物レンズには、いろいろな種類がある。それらの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紹介する。

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収差補正が行われているので、アクロマートと表記されていない製品もある。アクロマートより高度な色収差補正が行われているレンズは名称に色収差補正の程度を示す言葉が加わっている。アクロマートとアポクロマートの間にはセミアポクロマートやフルオリート (フルオール) がある。フルオリートはフッ素原子を含む特殊ガラスを用いた製品で通常のアクロマートより高次の補正がなされている。アクロマートに対してアポクロマート等は色収差だけでなく球面収差もより多くの波長で補正が行われているので画質はよいだけでなく、同倍率でも NA が大きく分解能がよい。一方で、カバーガラス厚の不整合による像質の劣化が大きく、不整合があると、より低 NA のアクロマートより画質が低下することもある。また、作動距離はアクロマートより短く、4 倍のものを除いてはホットステージでは合焦しないため液晶観察には用いることができない^{*90}。

^{*90} 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ので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。また、カバーガラス厚指定が液晶セルの観察条件とはことなるため、専用システムを組み立てても幸せになれる気はしない。

乾燥系と液浸系

対物レンズ全面と試料の間が空気のもの乾燥 (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ではセルと対物レンズの間は適当な気体であり乾燥系対物レンズを用いる。

液浸対物レンズの使用時には対物レンズ前面と試料の間に液体充填する。この時、 $NA = n \sin \theta$ なので液体の屈折率の分だけ NA が大きくなり分解能も向上する。通常はカバーガラスの屈折率 (約 1.51) に合わせた液浸油 (immersion oil) を用いる設計になっており、NA は乾燥系に比べて 1.5 倍程度になりうる。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、液浸油を用いずを使用すると、まともな画質にはならない。

乾燥系対物では分解能が足りない系の観察には液浸系対物の利用も考えられるが、対物レンズ前面 (もしくは全体) の温度が試料温度程度になることを考えると、室温近傍の試料しか観察は困難だろうと思う。

液浸系対物レンズの中には浸漬する液体として、シリコンオイル、グリセリン、水を用いるものもある。これらは、本来は生体試料の観察用のものであるが、たとえば、グリセリン中のコレステリックドロプレットの観察にはグリセリン浸漬の対物が役立つ可能性がある。

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。



図 A.38: 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。



図 A.39: 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。

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。

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暗くならないと、微小な OPD 試料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^{*91}。

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。



図 A.40: 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太くなっている。

^{*91} 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。

A.24.5 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。

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番目は工業用途の対物レンズで、液晶観察用のものや、光ディスクの観察に用いられていたと思われる品である。液晶観察用対物レンズを研究現場で目撃することはほとんどなく、製造現場での検品が主な用途であるらしい。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^{*92}。

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^{*93}。



図 A.41: 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。

^{*92} 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。

^{*93} 補正環付き対物レンズを使っても、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

A.24.6 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 よりは 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しているはずである。

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^{*94}。

A.24.7 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。



図 A.42: 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。

のがどのくらいあるのか、疑問のあるところである。

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

A.24.8 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^{*95}。

A.25 顕微鏡の分解能

顕微鏡の拡大倍率を上げれば小さな構造も鮮明に観察できると思われがちだが、光が波動性を有しているために、観察に用いる波長程度より微細な構造は、いくら拡大倍率を上げててもぼやけてしまっていて細部を分離できない。顕微鏡がどこまで微細な構造を正しく拡大できるかを示すものが分解能である。以下、直感的に理解できる回折格子を使った実験から、分解能にまつわる議論を展開する。

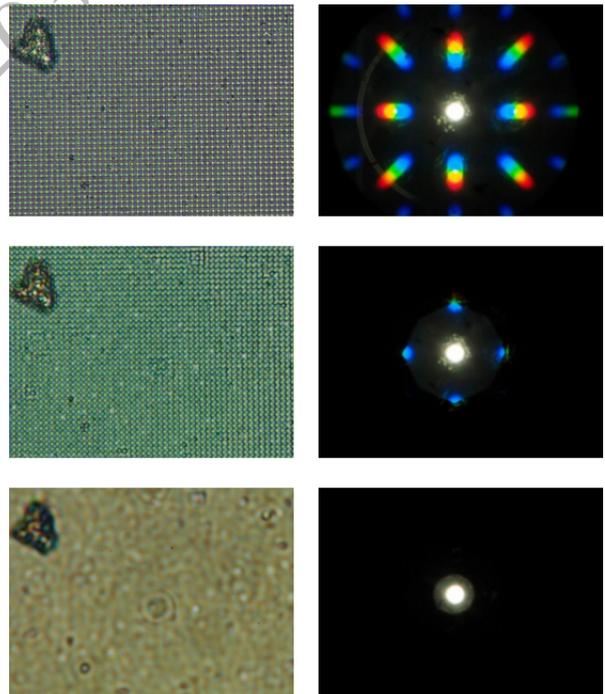


図 A.43: 回折スポットと画像の関係

A.25.1 透過回折格子の観察

透過型回折格子の観察を考える。照明光は光軸に平行な光線である。照明光は回折格子通過後には、直進する 0 時光に加えて、 ± 1 次、 ± 2 次……の回折光が生じる。回折光は一定の角度の平行光束なので、対物レンズ通過後に、レンズの焦点位置に回折パターンとして結像する (図@光

^{*95} 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。

路図)*⁹⁶。特殊な対物レンズを用いたり、少しばかりの工夫をすると、回折パターンの特
定のスポットを遮断でき、ある回折パターンとその回折パターンの光が作り出す像の關係
を直接確認できる。図 43 はクロス回折格子の拡大像と、回折パターン像を対応付けて示
したものである。

上段では中心の 0 次光に加えて回折光のスポットも見えており、クロス模様がはっきり
と確認できている。中段は、回折スポットの 0 次光と 1 次光のみを残したもので、薄くは
なっているがクロス模様は確認できる。下段は 0 次光のみを透過させたもので、クロス模
様は全く確認できない。

この観察結果は、回折格子のような周期構造が観察できるためには、0 次光に加えて、
最低限 1 次の回折光が対物レンズに取り込まれることが必要であることを示している。

屈折率が 1 の空気中の場合、回折格子の周期を d の場合、波長 λ の光の 1 次の回折角
は $\sin \theta = \lambda/d$ で与えられる。この式と、対物レンズの NA の式 ($NA = \sin \theta$) を組合わ
せると、NA 値と観察できる最小の周期 d の間に

$$d = \frac{\lambda}{NA} \quad (A.7)$$

という関係式が得られる。これが対物レンズの NA と分解能を結びつけるもっとも簡単
な式である。乾燥系の対物レンズで NA の最大値が 1 程度であったことを思い出すと、乾
燥系の対物レンズでは観察に用いる光の波長と同じ周期構造までは観察出来る^{*97}。

回折角の式から分かるように、同じ周期構造に対して単波長の光ほど回折角が小さい。
このため、同じ NA の対物レンズなら、単波長光の方が高分解能となる。図@は同じ周期
構造のクロス格子を同じ NA の対物レンズで観察したもので、単波長の青色では見えてい
たクロス像が長波長の赤色では見えなくなっている。

斜入射光による分解能向上

上に記した分解能の式は、照明光が光軸に平行であったが、照明光が光軸に対して傾い
ている場合には、取り込める回折光の範囲が変化する。対物レンズの NA に相当する角度
で照明光が入射する場合を考える (図 44)。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

$$d = \frac{\lambda}{2NA} \quad (A.8)$$

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。

*⁹⁶ 顕微鏡の接眼レンズを外して鏡筒をのぞき込むと、回折パターンを見ることが出来る。特殊なアイピース
や偏光顕微鏡のバルトランレンズを使えば、拡大しての観察ができる。

*⁹⁷ 以下の斜入射光による分解能向上も含めて、アッペにより提唱された。

図@は斜入射による分解能の向上を示すものである。観察対象はクロス回折格子であるが、一方向のみ分解能が向上したために、縦方向の周期構造は観察されず、単なる縦縞に見えてしまっている。この図では周期構造は元のクロス回折格子と同じだが、回折スポットの選び方によっては、もともとは明示的には存在しない周期構造が見えてしまう。

図@もクロス回折格子の画像だが、対物レンズの前面にスリットをつけて1方向の回折スポットのみ取り込めるようにしたときの回折像と観察画像である。取り込む回折スポットによっては、対応する周期構造は存在するが、本来は存在していない縞構造が見えるようになってしまう。

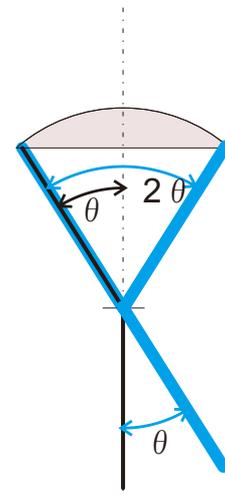


図 A.44: 垂直入射と斜入射での最大角度の違い。見込み角すれすれで入射する光線を考えると、見込み角の倍の角度の光までは対物レンズに取り込まれる。

コヒーレント照明とインコヒーレント照明

続いて、二重スリットの観察を考える。二重スリットでも回折格子と同様にスリット間隔に対応した干渉構造が見え得るのだけれども、そのためには照明光の条件がある。図@にヤングの干渉実験の光路図を示した。ヤングの実験では二重スリットの手前に単スリットがある。これがないと、二重スリットによる干渉は観察できず、単に2本のスリットの回折光の強度和となってしまう。干渉が起きる照明をコヒーレント（可干渉）照明、干渉が起きない照明をインコヒーレント（非干渉）照明と呼ぶ。コヒーレント照明なら、上記の回折格子と同様の議論ができるが、インコヒーレント照明だと異なる議論が必要となる。インコヒーレント照明下での分解能の議論はヘルムホルツにより行われた。

図@にインコヒーレント照明下で、スリット間隔を近づけていった時の像の変化を示した。スリット間隔が広ければ、スリット像は明白に分離した2本となる。元のスリットと違ってなめらかな山となるのは単スリットに対する回折の効果である。スリット間隔が狭くなっていくと、2つの山は重なり、山の間も光強度が0でなくなるので、コントラストが低下する。そして、最終的には2つのピークは一つのピークへと分離し、2本のスリットであるのか、1本の何かであるのかの区別が出来なくなる。

変化は連続であるため、回折格子の議論の時のように、はっきりとした物理的な境界線は引けない。現在では、レイリーが天体望遠鏡の分解能の議論で導入した考え方を使得、一方の山が最初の強度0となる位置が、もう一方の山の頂点と重なった時を分解能と

することが広く受け入れられている。この時分解能は

$$d = 0.61 \frac{\lambda}{NA} \quad (\text{A.9})$$

となる。

では、二重スリットのコヒーレント照明下での分解能はどうなるだろう。そして、実際の顕微鏡照明はコヒーレントなのかインコヒーレントなのだろうか。

A.26 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扱う。

A.26.1 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。

A.26.2 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。

A.26.3 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。

A.26.4 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。

A.26.5 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。

A.26.6 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。

A.27 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もある。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^{*98}。

A.28 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^{*99}。

A.28.1 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

^{*98} 高分子素材の偏光顕微鏡入門、粟屋 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。

^{*99} 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。

トや検査用プレートは、この目的に適した品である*¹⁰⁰。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。

草稿 2026-03-04

*¹⁰⁰ <https://micro.sakura.ne.jp/mws/> ただし、2026年3月1日現在休業中