

分析方法の原理と分析機器の取扱方法

(1)光学顕微鏡の基礎知識(原理と構造)

注)

本章で表記する光学用語は、JIS-Z8120「光学用語」、JIS-B7251「偏光顕微鏡の基準系」に準ずる。
アスベスト分析マニュアルで用いている光学用語は適宜に括弧内に付記する。

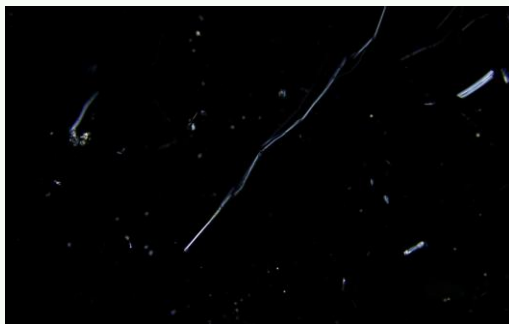
1 光学顕微鏡の原理と構造

<この章のキーワード>

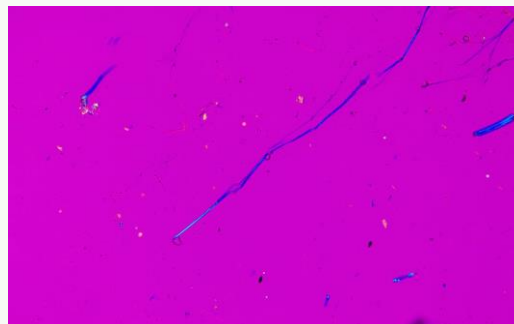
3つの基本機能、レンズの焦点距離と焦点、実像、虚像、倒立像、正立像、総合倍率、中間像(1次像)、光の回折、光の干渉、エアリーディスク、レイリー分解能、干渉コントラストと各種観察法、焦点深度、視野絞り、開口絞り、対物レンズの同焦点距離、作動距離、対物レンズの種類と表示、アイポイント、、視野数、接眼レンズの表示、ケーラー照明、コンデンサ

1.1 光学顕微鏡の基本機能

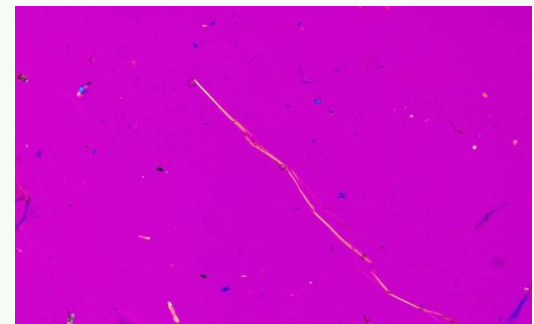
- ① 「倍率」「分解能」「コントラスト」の3つの基本的な機能のことをいう。
- ② 倍率は、対物レンズ、接眼レンズ、撮影用レンズ(写真撮影の場合)の各倍率の積で決まる。見やすい大きさを観察する要素である。
- ③ 分解能は、対物レンズの開口数(NA)で決まる。試料の微細な形態を見分ける能力である。
- ④ コントラストは、観察法(位相差法、分散法、偏光法、蛍光法など)で決まる。試料の光学的特性を明暗や色で表す能力である。



直交ニコル(クロスポーラ)観察



鋭敏色観察(相加の干渉色)

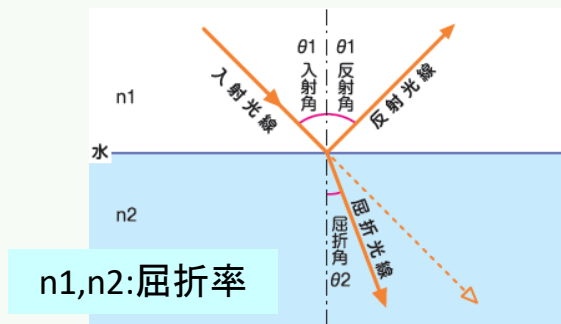


鋭敏色観察(相減の干渉色)

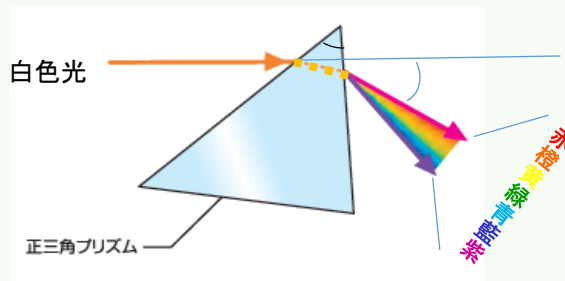
クリソタイルの偏光像

1.2 レンズによる結像と倍率の原理

- ① 倍率は、幾何光学(光を光線として扱う)で表すことができ、レンズによる光の屈折によって形成される物体の像の大きさで決まる。
- ② 光線が、屈折率の異なる媒質(透明体)の境界を通過するとき、進行方向が変わる(屈折する)。
- ③ 屈折率は、媒質中を通過する光の光速と真空中の光速の比で決まる。
- ④ 屈折率が波長によって屈折率が異なり、これを屈折率分散という。このため、実際には波長により倍率が異なるので、顕微鏡の倍率は基準波長によるもので表す。



光線の屈折($n_2 > n_1$)



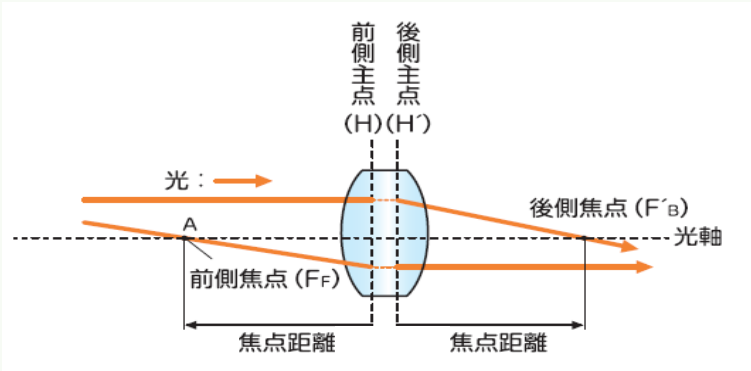
屈折分散による屈折角の違い

<代表的な波長>
赤: 700nm
緑: 550nm
紫: 400nm

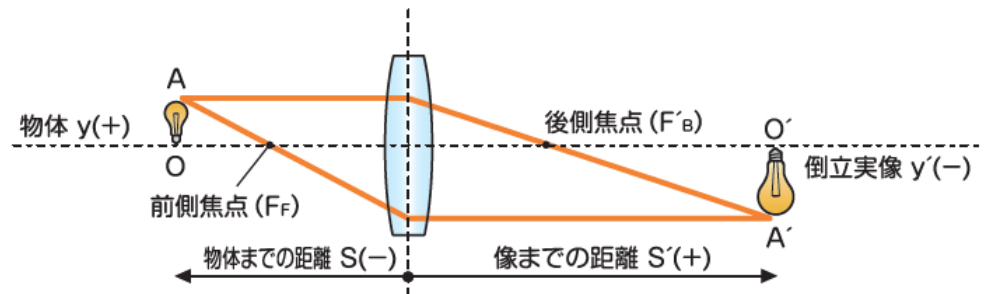
1.2 レンズによる結像と倍率の原理

＜凸レンズによる結像：対物レンズの実像と倒立像＞

- ① レンズは焦点が2つあり、1つの焦点距離を持つ。
- ② 光軸に平行に入射する光線は、焦点を通過して進む。
- ③ 焦点を通過して入射する光線は、光軸に平行に進む。
- ④ 物体が焦点より遠いとき、レンズ通過後の光線は物体の実像を結ぶ。
- ⑤ 物体 $AO < \text{像} A'O'$ で拡大像であり、像の向きが逆になるので倒立像になる。
- ⑥ 拡大する倒立実像を作るのが対物レンズの役割で、この像を中間像と呼ぶ。



凸レンズの焦点、焦点距離

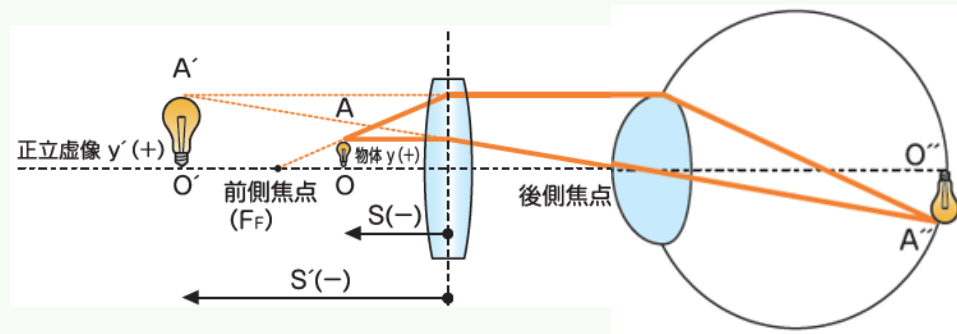


倒立実像を結ぶ原理

1.2 レンズによる結像と倍率の原理

＜凸レンズによる結像：接眼レンズの虚像と正立像＞

- ① 物体が焦点より近いとき、レンズ通過後の光線は拡散するが、拡散光線を逆方向の延長上に交点ができる。この交点を虚像という。
- ② 実際には、凸レンズを通して物体を見ているヒトの眼の網膜に倒立実像が結んでいる。
- ③ 物体 $AO < \text{像} A'O'$ で拡大像であり、像の向きが変わらないので正立像になる。
- ④ 虚像で正立像を作るのが接眼レンズの役割で、このときの対物レンズの中間像が物体に相当する。

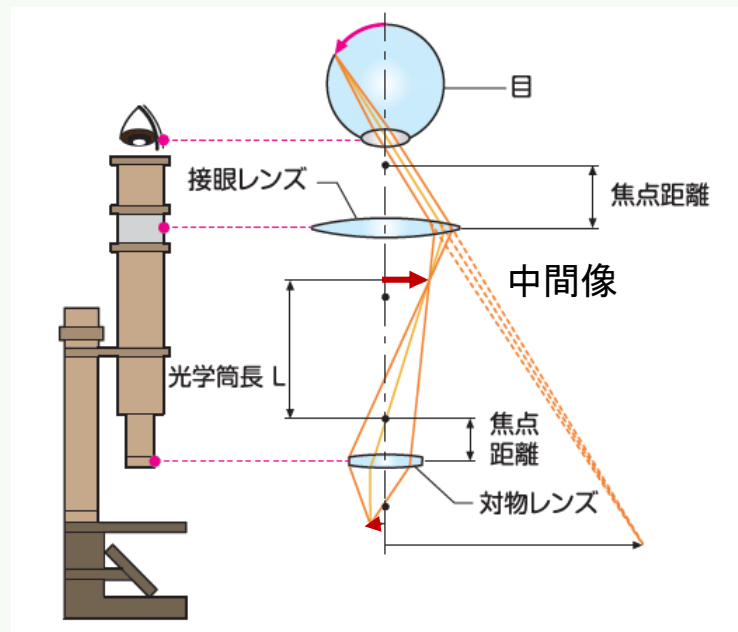


正立虚像を結ぶ原理

1.2 レンズによる結像と倍率の原理

＜顕微鏡の総合倍率＞

- ① 物体～（対物レンズによる拡大）～中間像～（接眼レンズによる拡大）～網膜上に実像。
- ② 観察の総合倍率＝対物レンズ倍率×接眼レンズ倍率
- ③ 撮影の総合倍率＝対物レンズ倍率×撮影レンズ倍率×モニター倍率
*）モニター倍率＝モニター画面サイズ／カメラ撮像面サイズ

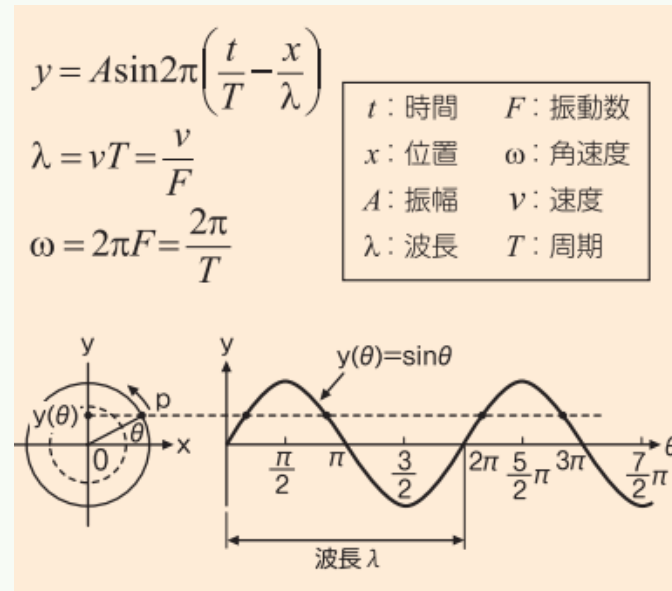


顕微鏡の結像原理

1.3 光の回折と干渉

＜光波の概念＞

- ① 光は波(横波)と捉える。光の波長、強度(波の振幅)、位相(波の位置)の概念が含まれる。
- ② それにより回折や干渉の現象が説明される。
- ③ 分解能は、回折の原理から説明される。
- ④ コントラストは、干渉(振幅の増幅、減衰)の原理から説明される。



単振動と正弦波

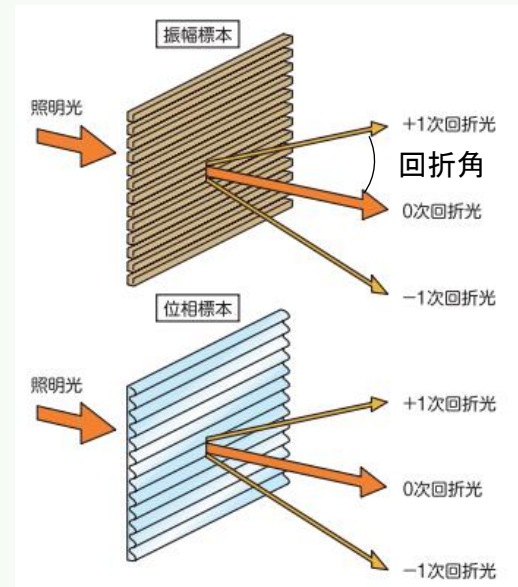
1.3 光の回折と干渉

＜光の回折・・・分解能の原理に関係する性質＞

- ① 波が進行方向にある遮蔽物の陰に回り込む現象を回折という。
- ② 微細な物体を通過する光は、0次回折光(直進光)と $\pm n$ 次の回折光に分かれて進む。物体の構造が微細であるほど回折角が大きくなる。また、光の強度は0次回折光が最大で、次が ± 1 次回折光と高次になるほど小さい。
- ③ 主に結像に関わるのは、0次、 ± 1 次回折光である。



夕日の写真
(カメラの絞り羽根による回折像)



標本による照明光の回折

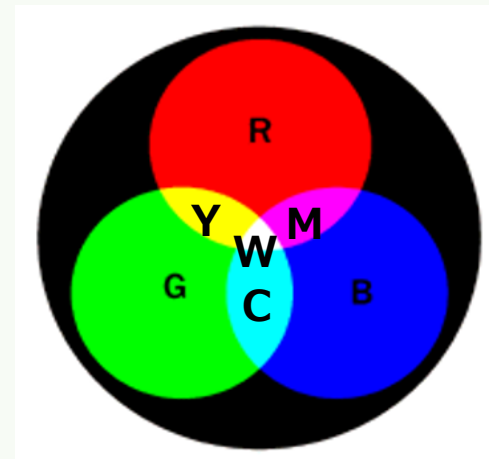
1.3 光の回折と干渉

＜光の干渉・・・像の明暗や色のコントラストの原理に関係する性質＞

- ① 同じ光源から出た光波が、複数に分かれた後に重なり、新しい波になることを光の干渉という。
- ② 位相が同じ光波が重なれば、振幅が増幅された波(明るい光)になる。
- ③ 逆位相の光波が重なれば、振幅が減衰された波(暗い光)になる。
- ④ 複数の波長を含む白色光(昼光／可視光)のうち一部の波長が逆位相の干渉で減衰する部分が、その波長の補色の色に見える。・・・シャボン玉の干渉色



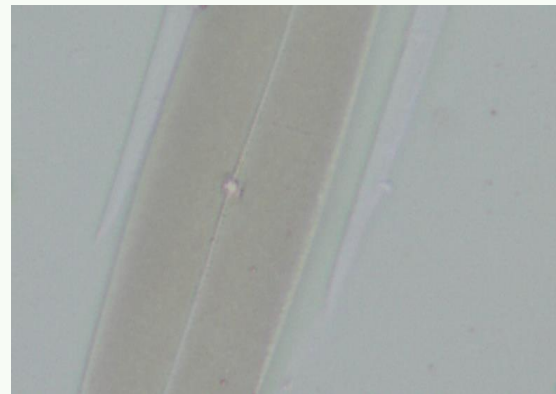
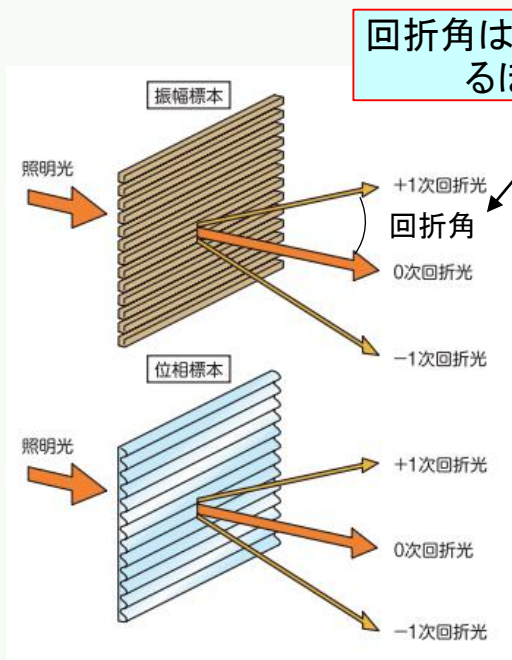
シャボン玉の干渉色



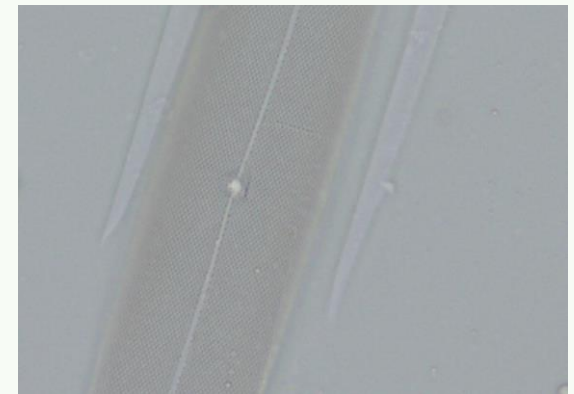
加法混色の原色(RGB)と補色(CMY)

1.4 顕微鏡の分解能

- ① 顕微鏡の分解能は、2点間または2線間を見分ける能力をいう。
- ② 顕微鏡の分解能は倍率にはよらず、対物レンズの開口数で決まる。
- ③ 微細構造を見分けられる十分な分解能があるかどうかは、その微細構造で生ずる ± 1 次回折光が入射できる十分な開口数を、対物レンズが備えている必要がある。



対物40× 開口数0.50の場合



対物40× 開口数0.75の場合

珪藻(部分)

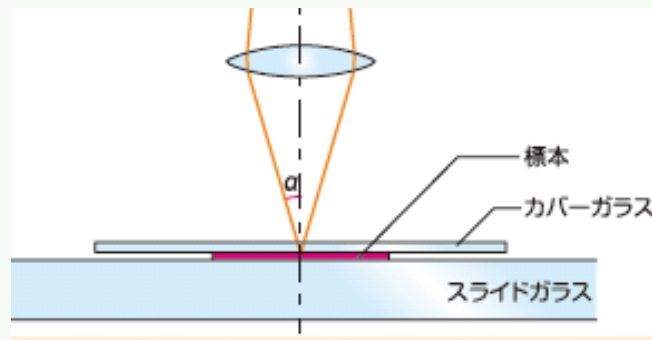
1.4 顕微鏡の分解能

<開口数 (NA: Numerical Aperture)>

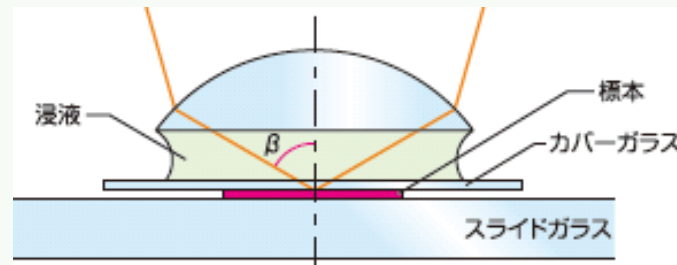
- ① 対物レンズの開口数は、先端レンズに入射する最辺縁光線と光軸とのなす角で定義される。
- ② 開口数が多いほど、大きな回折角の±1次回折光が対物レンズに入射する。
- ③ 液浸対物レンズは、先端レンズとカバーガラスの間を屈折率1以上の液体で満たし、1を超える開口数を得る方式。

$NA = \sin \alpha$ (乾燥対物レンズの場合)

$NA = n \sin \beta$ (液浸対物レンズの場合)



乾燥系対物レンズ



液浸系対物レンズ

n : 浸液の屈折率
オイル: 1.516

1.4 顕微鏡の分解能

<分解能(レイリー分解能)>

- ① 物体が光点のとき、対物レンズによる像は、中心が最も強度が強い円盤状の像を結ぶ。
- ② この円盤状の像をエアリーディスクと呼び、NA(以下、開口数のこと)が大きいほどその直径が小さい。

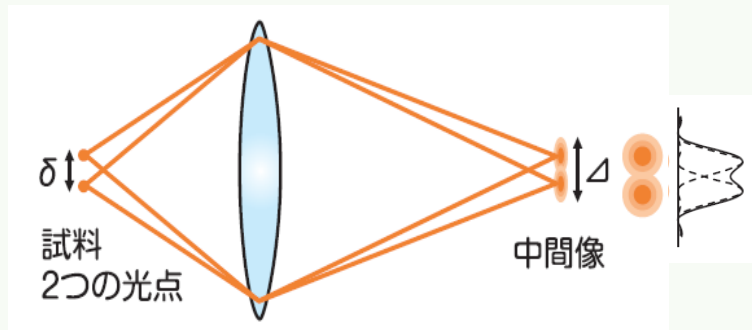
$$\text{エアリーディスクの直径} = 1.22 \lambda / \text{NA} \quad \lambda : \text{光の波長}$$

- ③ 物体が2光点の場合は、像は2つのエアリーディスクが重なったものになる。
- ④ エアリーディスクの半径を分解能 δ と定義する。波長は550nm

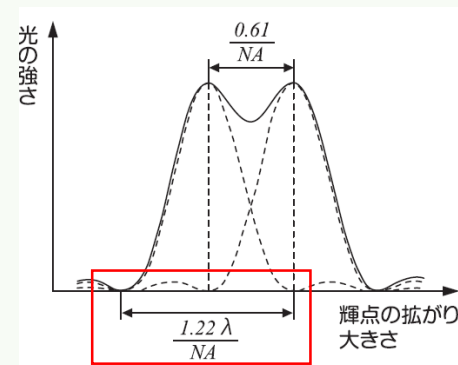
$$\delta = 0.61 \frac{\lambda}{\text{NA}}$$

δ : 分解能、 λ : 光の波長、NA : 開口数

NAが大きいほど高分解能である。



レイリー分解能の概念



2光点の像が2点に見分けられるときのレイリー分解能の定義

1.4 顕微鏡の分解能

＜対物レンズのNAと分解能で留意すべき点＞

- ① 原理上は、分解能自体はNAに依存して倍率には依存しない。
- ② レイリー分解能は、物体をインコヒーレントの2光点とするなど、コンデンサで照明(インコヒーレントでない)をする実際の観察と異なる条件下の理論であり、あくまで参考値である。
- ③ 実際の分解能は、利用する観察法の像のコントラストの影響も受ける。分解能評価用テストスライドを用いる、あるいは分解能の基準とすべき標準試料を決めて、利用する観察法の下で評価して、分解能の管理をするのが確実である。
- ④ 高倍対物レンズほど高分解能を発揮できるようNAも大きい。40×対物で、微細な繊維が2本か1本か見分けにくいときは、よりNAの大きい60×、100×対物レンズを試すことも有効である。

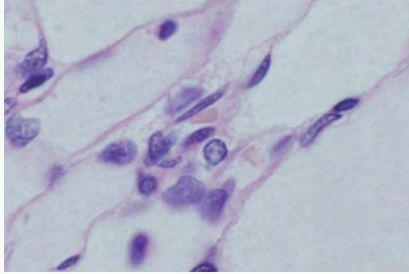
1.5 コントラスト観察法

- ① 無色透明な試料の像は、普通の観察(明視野法)ではコントラストが付きにくい。しかし、照明光が試料を通過するときの位相変化は、光の干渉効果を利用して明暗や色のコントラストに変えることができる(位相差法、偏光法)。このように照明光が試料で受ける変化を利用して、像にコントラストを付ける観察法をコントラスト観察法という。
- ② 光のどのような変化を利用するかの違いで、観察法独特のコントラストになる。
- ③ 観察法は、透明試料の形態観察だけでなく、複屈折の大きさ、試料と封入材との屈折率差の大小など、試料の光学的性質を可視化するために、最適なものが選ばれる。

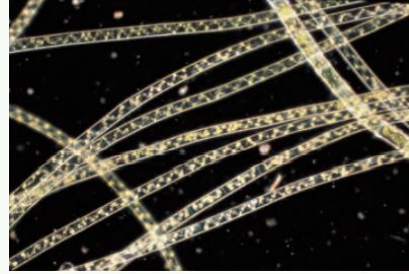
利用する光の性質	観察法	像のコントラストまたは特徴
光の位相変化	位相差法	明暗コントラスト
複屈折による光の位相変化	偏光法	明暗と色のコントラスト
光の位相変化	微分干渉法	明暗コントラスト／立体感のある像
光の屈折(屈折率の分散)	分散法	暗視野の中に色のコントラスト
試料の発蛍光	蛍光法	暗視野の中に蛍光色のコントラスト
光の散乱	暗視野法	暗視野の中に明るいコントラスト

1.5 コントラスト観察法

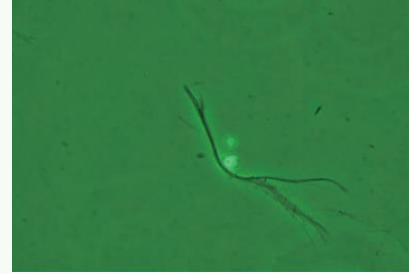
＜生物顕微鏡の主な観察法の例＞



明視野法(生体組織切片)
試料を色素で染めて、その色
がコントラストになる。



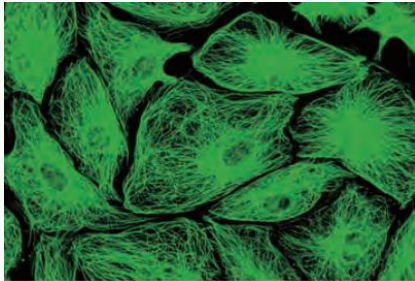
暗視野法(アオミドロ)
散乱光が明るいコントラ
ストを作る。



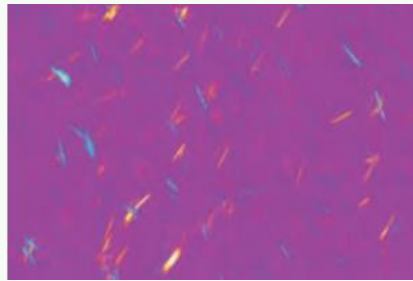
位相差法(クリソタイル)
透明試料が明暗コントラ
ストを作る。



微分干渉法(培養細胞)
試料の厚さや屈折率の変
化する部分に明暗コントラ
ストを作る。



蛍光法(培養細胞)
試料を特異的に蛍光標識
して、発蛍光のコントラ
ストを作る。



偏光法(尿酸結晶)
複屈折の位相差で干渉コ
ントラストを作る。



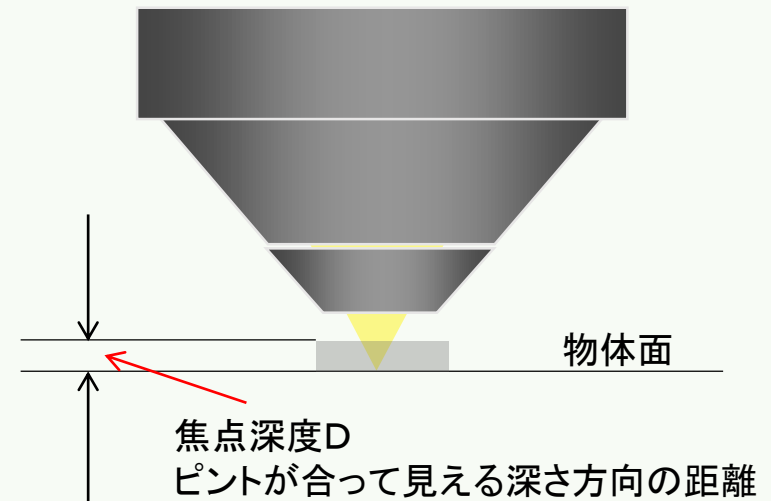
分散法(アモサイト)
試料で生ずる屈折率の分
散で色のコントラストを作
る。

1.6 焦点深度

- ① 焦点深度は、試料にピントを合わせたときに、ピント面と同様に鮮明に見える光軸方向の幅をいう。
- ② 開口数が大きい、倍率が高いほど焦点深度は浅くなる。
- ③ 人の眼の許容最小錯乱円(許容ぼけの大きさ)から決まる幾何光学的焦点深度と対物レンズの波動光学的焦点深度の和で表される。

$$\text{焦点深度} : D = n \left(\frac{250000 \times \omega}{M \cdot NA} + \frac{\lambda}{2 NA^2} \right) (\mu\text{m})$$

n : 媒質の屈折率
 250000 : 明視距離
 ω : 眼の分解能 ($5' = 0.0014$)
 λ : 波長 (一般に 550nm) $= 0.55 \mu\text{m}$



1.7 顕微鏡の基本構成

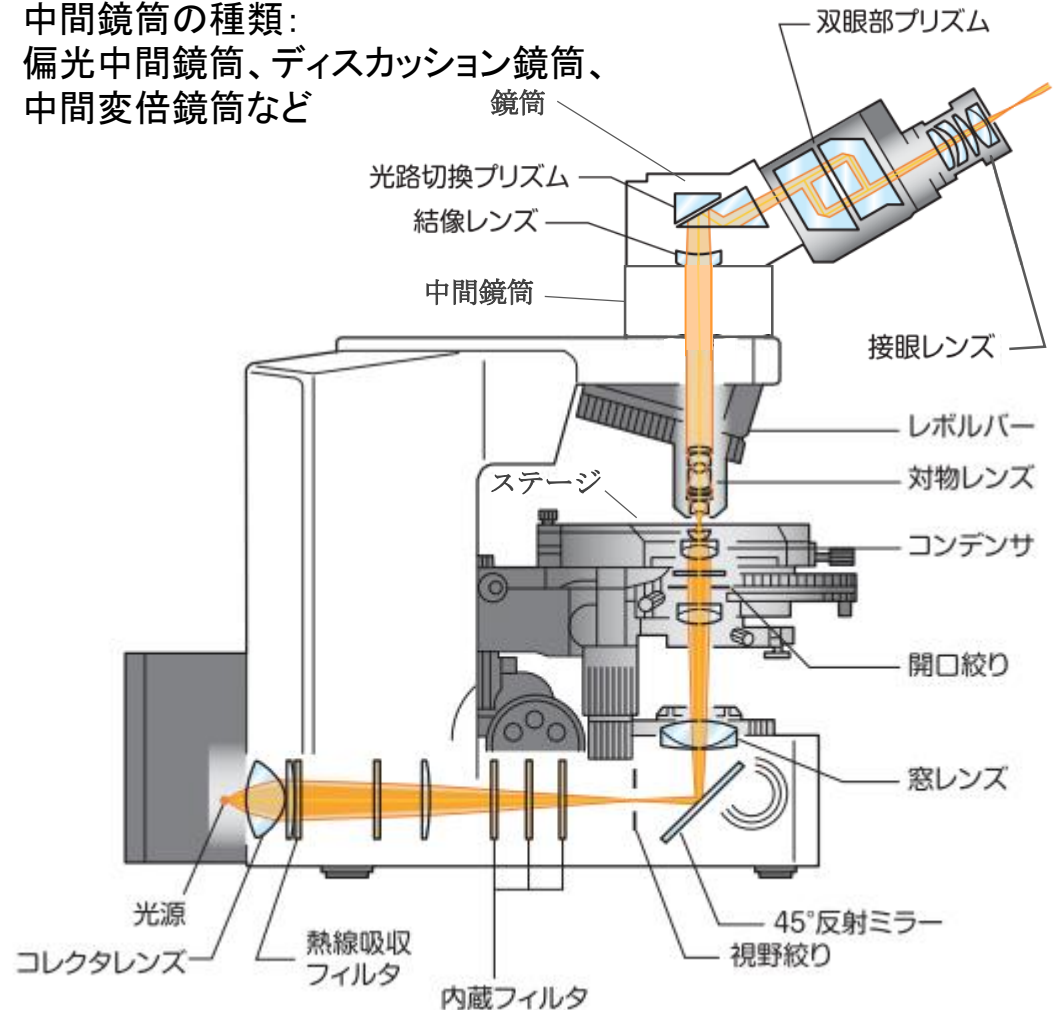
- ① 照明光学系(ケーラー照明、光源～コンデンサまで)と観察光学系(対物レンズ～接眼レンズまで)で構成される。
- ② 調整や操作のための機能は、視度調整・眼福調整の機構、試料の移動(ステージハンドル)、視野絞りのピント合わせ(コンデンサ上下動ハンドル)、視野絞りの心出し(コンデンサ心出しねじ)、試料へのピント合わせ(粗動、微動焦準ハンドル)など。

鏡筒の種類:

双眼鏡筒、三眼鏡筒、ティルティング鏡筒など

中間鏡筒の種類:

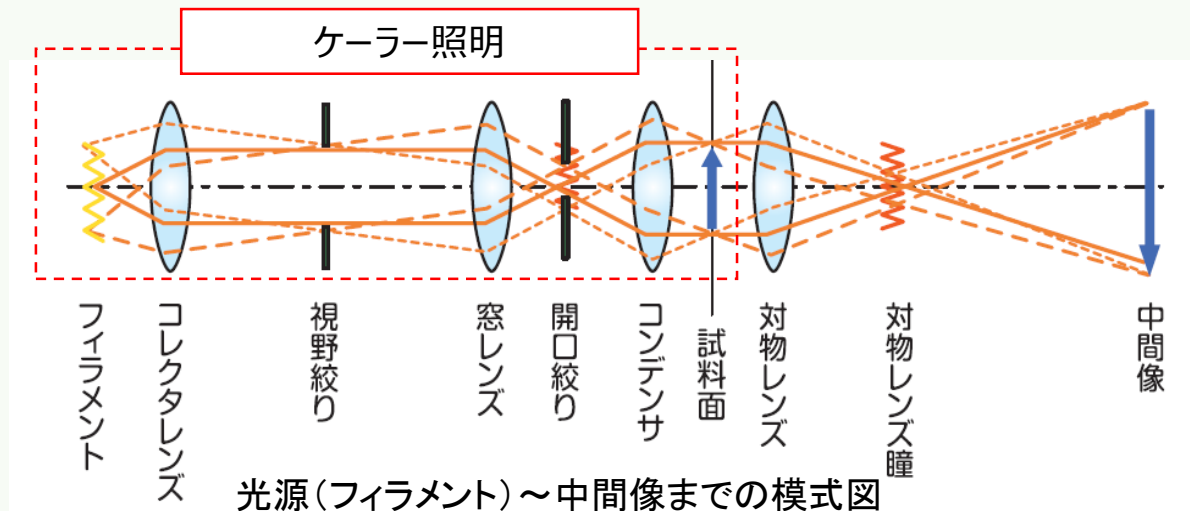
偏光中間鏡筒、ディスクッション鏡筒、
中間変倍鏡筒など



1.8 ケーラー照明と視野絞り、開口絞り

＜ケーラー照明＞

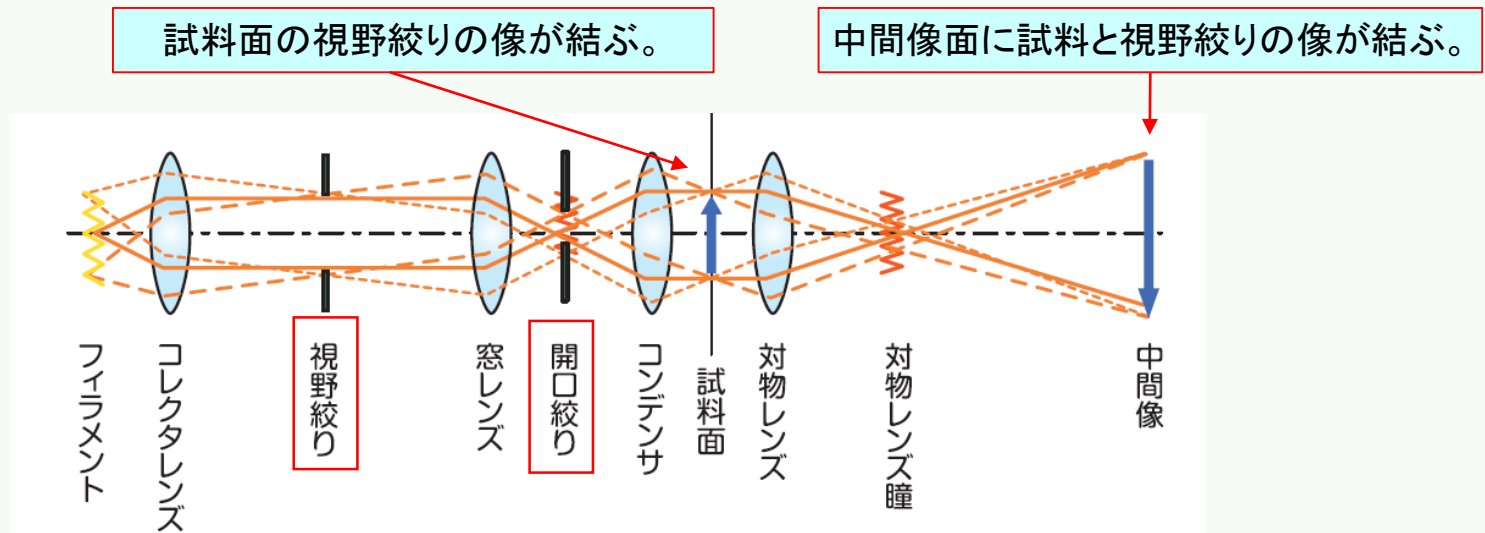
- ① 顕微鏡の光源がコイル状のタングステン線の発光によるものであっても、観察の実視野の範囲を均一な明るさで照明する構造で、ケーラー照明と呼ぶ。
- ② 視野絞りが試料面に結ぶ。視野絞りが照明する範囲を決める。
- ③ フィラメント(光源)の像が開口絞り位置に結ぶ。光源の形が一様でなくとも、その表面の各点で発行した光は、すべて平行光束となって、異なる角度から面を照射し、開口絞りがこの照明の平行光束が試料面に照射する角度を決める。



1.8 ケーラー照明と視野絞り、開口絞り

<視野絞りの働き>

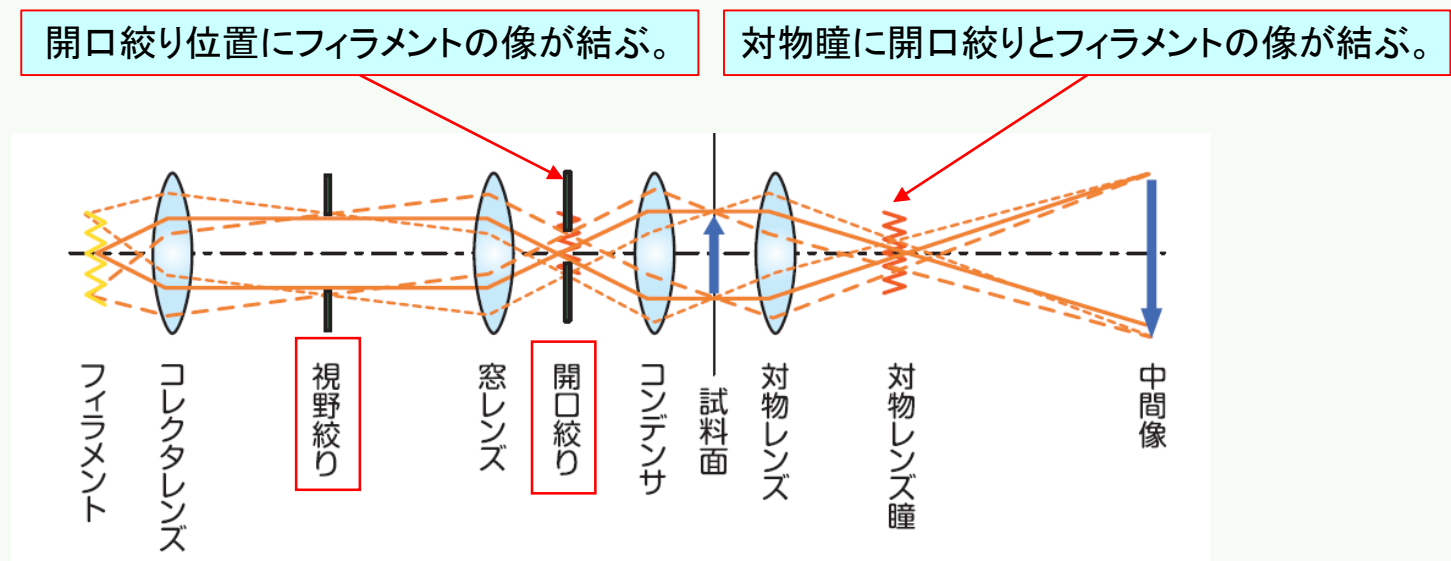
- ① 視野絞りは試料面に像を結ぶので、試料にピントを合わせて少し絞ると多角形の絞りの形を見ることができる。
- ② 観察の実視野(観察できる試料面の直径)は対物レンズの倍率で決まる。対物レンズの倍率が高いほど実視野は小さい。
- ③ 実視野を超える範囲を照明する光は、顕微鏡内で迷光となって像のコントラストを悪くするので、視野絞りを対物レンズごとの実視野に合わせて調整し、迷光の入射を防ぐことができる。



1.8 ケーラー照明と視野絞り、開口絞り

<開口絞りの働き>

- ① 開口絞りの大きさに、試料面に照射する照明光のNAが決まる。
- ② 対物レンズがそのNAの分解能を適正に発揮するためには、照明光のNAを対物レンズのNAに合わせる必要があり、また、照明光のNAが対物レンズのNAよりも大きいと、迷光が生じて像のコントラストが悪くなる。
- ③ 開口絞りを対物レンズのNAに合わせて適正に調整し、分解能の発揮と迷光を防ぐことができる。



1.8 ケーラー照明と視野絞り、開口絞り

＜視野絞り、開口絞りの調整や操作で留意すべき点＞

- ① 視野絞りは、適正な光軸調整を行い、対物レンズの実視野に合わせる調整を行うことで、迷光の無いコントラストのよい観察ができる。
- ② 位相差分散法の40×対物で、実視野よりの小さい直径100 μm の視野内の粒子の計数を行う場合は、視野絞りを計数視野の外側まで絞ると、よい迷光の少ない観察ができる。
- ③ 開口絞りは、接眼レンズを抜き取って鏡筒スリーブの中を覗くことで見ることができる。
- ④ 透明試料を観察する場合、開口絞りを絞ると像のコントラストを強くできる。
- ⑤ 偏光法では、開口絞りを絞ることで、像のコントラストを強くできる。

1.9 対物レンズ、接眼レンズ、コンデンサ

＜対物レンズの収差補正による種類＞

- ① 最も基本的な呼び分けかた。
- ② 色収差と像面湾曲収差の補正の程度で大きく4種類に呼び分ける。

種類	概要	主な用途
アクロマート対物レンズ (Ach : Achromat)	2色（赤・青）の色収差を補正したもの。 もっとも一般的であるが、視野中心にピントを合わせると周辺がぼけてしまうため、撮影には適さない。	・一般観察 ・実習
プラン・アクロマート対物レンズ (Plan : Plan-Achromat)	2色（赤・青）の色収差と像面湾曲収差を補正したもの。 視野中心だけでなく周辺までピントが合い、平坦な像が得られるので撮影に適している。	・一般観察 ・検査 ・撮影
プラン・セミアポクロマート対物レンズ (PlanFI : Plan-semiapochromat)	紫にわずかに色収差の残った3色（赤・青・紫）の色収差と、像面湾曲収差を補正したもの。フルオリート（Fluorite）とも呼ばれる。 性能は、プランアクロマート対物レンズとプランアポクロマート対物レンズの中間的な位置付けとなる。高級タイプ。	・検査 ・研究
プラン・アポクロマート対物レンズ (PlanApo : Plan-Apochromat)	3色（赤・青・紫）の色収差と像面湾曲収差を補正したもの。 開口数が大きく、分解能に優れ、理想的な像を得ることができる。最高級タイプ。	・検査 ・研究

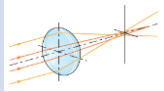
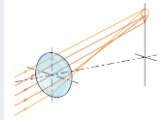
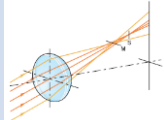
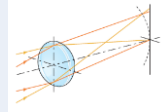
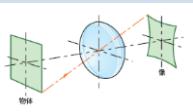
※像面湾曲収差を補正したものは「プラン（Plan : ドイツ語で「平面」の意味が語源）」と呼ばれている。

1.9 対物レンズ、接眼レンズ、コンデンサ

<レンズの収差とは>

- ① 理想的な像と実際の像とのずれを収差と呼ぶ。ザイデルの5収差と2つの色収差がある。
- ② 収差補正とは、光学性能を発揮できる程度まで収差を最小にすることという。

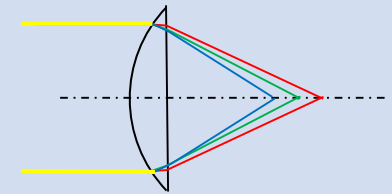
ザイデル収差の種類と表し方

球面収差	
コマ収差	
非点収差	
像面湾曲収差	
像面歪曲収差	

色収差

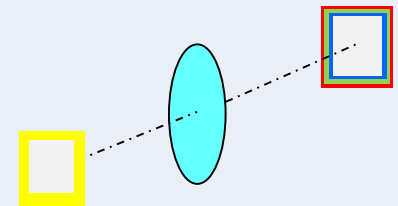
軸上色収差

(波長によって焦点位置が違う)



倍率色収差

(波長によって倍率が違う)



1.9 対物レンズ、接眼レンズ、コンデンサ

<レンズの観察法別の種類>

- ① 各コントラスト観察法に適した対物レンズの種類がある。
- ② ユニバーサル仕様の対物レンズには、複数の観察法に適合するものがある。

用途	特徴
偏光用	光学的な歪みが少ない。表示の文字色は赤。「P」等の表示あり。明視野観察、蛍光観察と兼用できるものもある。
分散用	分散観察専用で、遮光マスクを内蔵する。表示の文字色は緑。「DS」等の表示あり。中心遮光マスクかリング遮光マスクかは、対物瞳を見れば判別できる。
位相差用	位相板を内蔵する。表示の文字色は緑。「Ph」等の表示あり。明視野観察、蛍光観察と兼用できるものもある。
蛍光用	紫外線が高透過率で色収差補正がよい。明視野観察、偏光観察と兼用できるものもある。

1.9 対物レンズ、接眼レンズ、コンデンサ

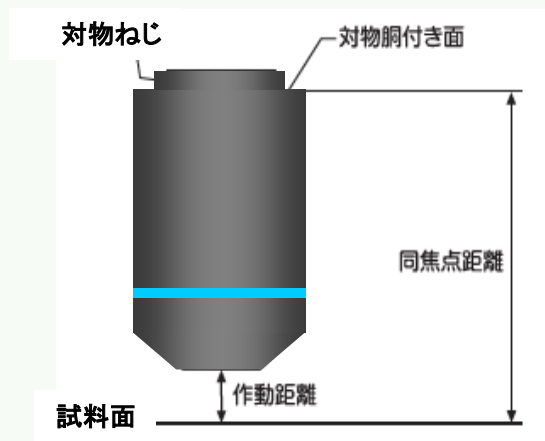
<レンズの主な仕様と表示>

① 寸法仕様

同焦点距離(45、60mmなど、胴付き面～標本面距離)、作動距離(標本上面～対物先端距離、対物ねじ、など)。

② 表示

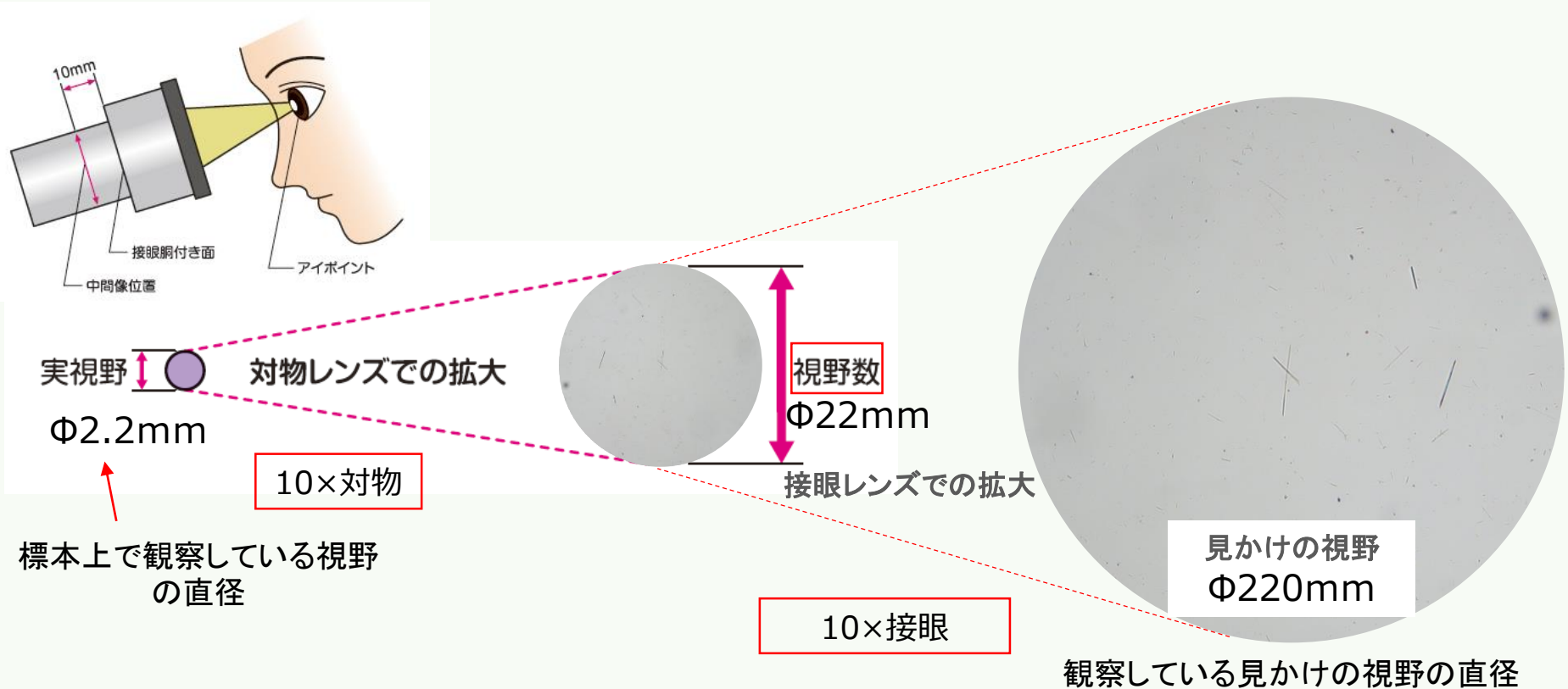
種類(収差補正による種別)、倍率、開口数、カラーリングコード(倍率と浸液)、各コントラスト観察法の表示(「P」「PH」「DS」など)。



1.9 対物レンズ、接眼レンズ、コンデンサ

＜接眼レンズの視野数と実視野、見かけの視野＞

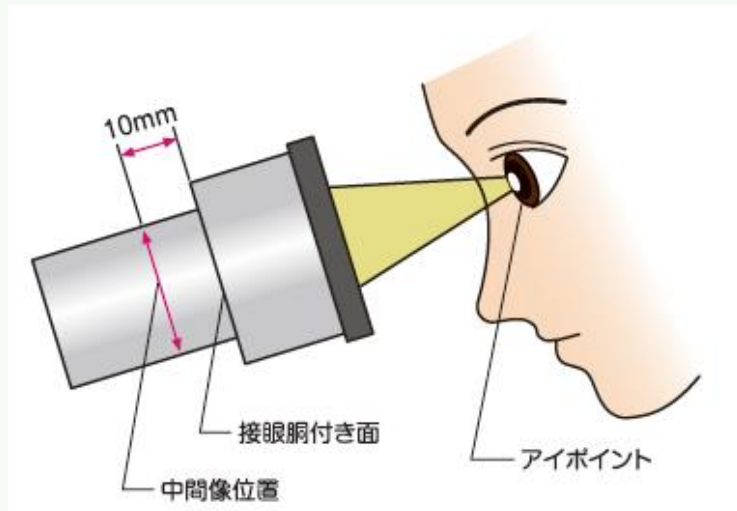
- ① 接眼レンズの視野数は中間像の直径(mm)で、視野数で実視野と見かけの視野の大きさが決まる。
- ② アイポイントは接眼レンズの後焦点の近傍にあり、観察時の眼の瞳の最適位置。



1.9 対物レンズ、接眼レンズ、コンデンサ

<接眼レンズの表示>

- ① 主な表示は、倍率、視野数。
写真の例は、Wは「ワイドフィールド／広視野」、Hは「ハイアイポイント」を意味する。
- ② めがねマーク
眼鏡着用でもめがねのレンズが接眼レンズに当たらないよう、十分にアイポイントが高いことを示す。
- ③ 焦点板は中間像位置に装着される。



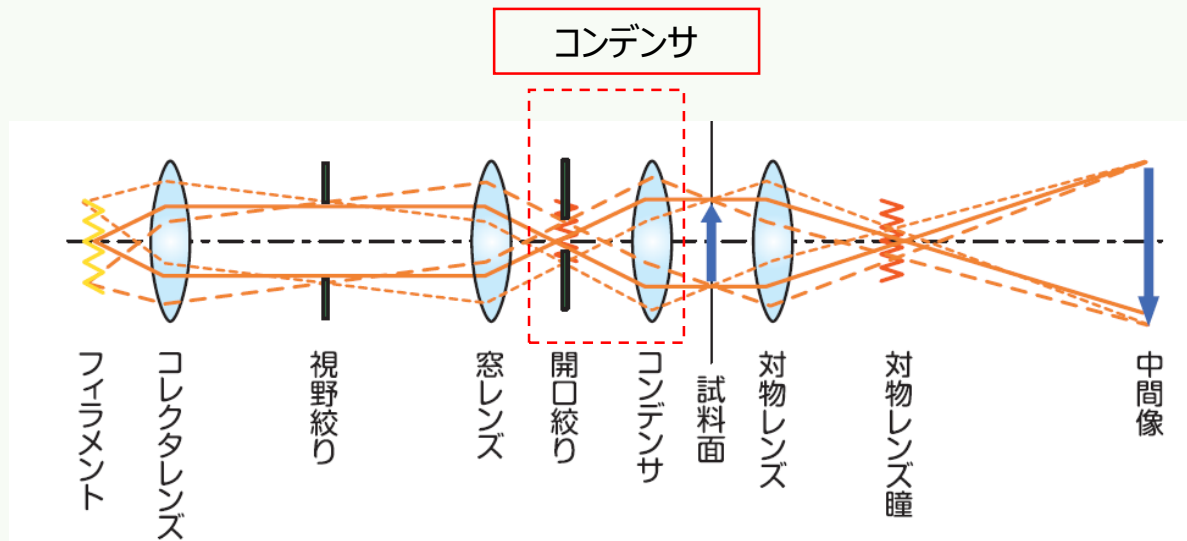
倍率 10×
視野数 22mm

めがねマーク

1.9 対物レンズ、接眼レンズ、コンデンサ

<コンデンサの役割>

- ① ケーラー照明の一部を構成し、実視野の範囲で試料を照明する。
- ② 用途に合わせて交換できる。
- ③ 開口絞りで像のコントラスト調整をする。
コントラストを強めたいときは絞る。絞りすぎると分解能が悪化する。
- ④ 位相差コンデンサ、ユニバーサルコンデンサでは、内蔵するリングスリットの切り替えができる。(位相差観察、分散観察用)



1.9 対物レンズ、接眼レンズ、コンデンサ

＜コンデンサの種類＞

- ① 偏光用、位相差用など、観察法に対応する種類がある。
複数の観察法を使う場合は、一台で対応できるコンデンサを使う。
- ② アスベスト分析には、偏光用、位相差用、ユニバーサルのいずれかを利用する。

コンデンサ種類	対応JIS 法	対応マニュアル法	留意点
ユニバーサル コンデンサ	JIS A1481-1 JIS A1481-2 JIS A1481-4 JIS K3850-1	定性分析法1 定性分析法2 定量分析法2	アスベスト分析法の すべての観察法に 対応可能。
位相差コンデンサ	JIS A1481-2 JIS K3850-1	定性分析法2	分散対物はリング遮 光マスク式のみ使用 可。
偏光コンデンサ	JIS A1481-1 JIS A1481-4	定性分析法1 定量分析法2	分散対物は中心遮 光マスク式のみ使用 可。

1.9 対物レンズ、接眼レンズ、コンデンサ

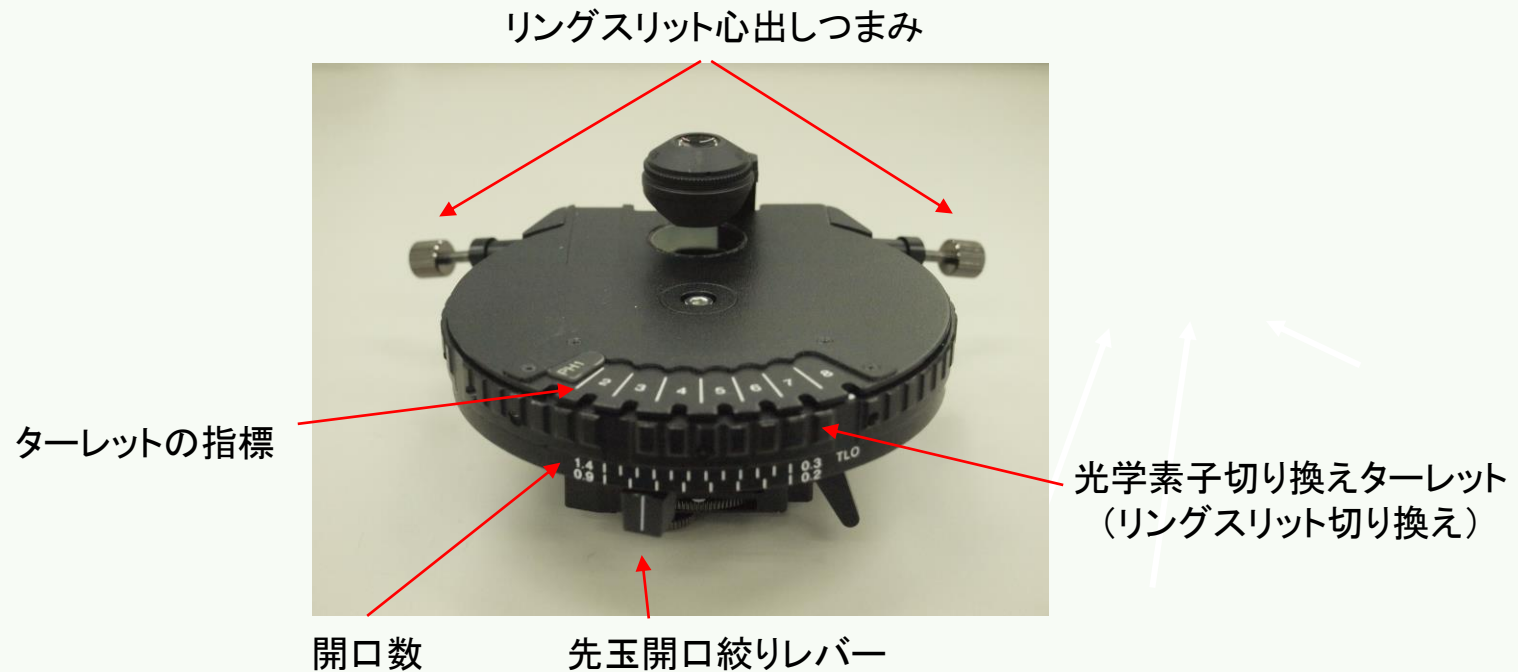
＜コンデンサの表示と外観：ユニバーサルコンデンサの例＞

① 開口数(NA)表示

NAは使う対物レンズより大きくなければならない。

② 開口絞りレバー

左側:NA最大 右側:NA最小



2 位相差顕微鏡の基礎知識(原理と構造)

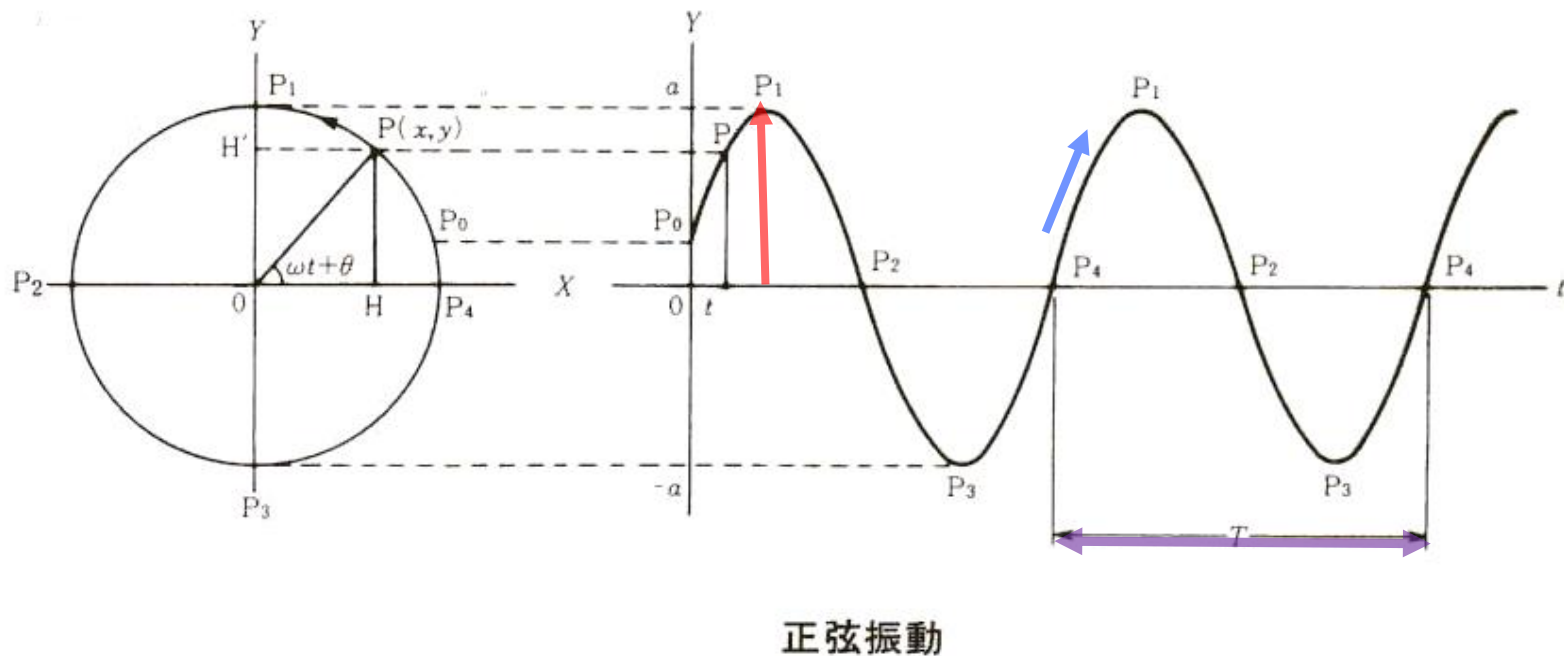
<キーワード>

位相・屈折率・直接光・回折光・結像光・瞳面・1/4波長・位相ずらしと吸収・同位相・逆位相・光の干渉・ブライト(ネガティブ)コントラスト・ダーク(ポジティブ)コントラスト・リング絞り(リング照明)・位相板・ハロ

2.1 位相差顕微鏡とは(物質の屈折率と光の位相変化)

位相差顕微鏡はどうして見えるのか

光は波であることから理解を進めます

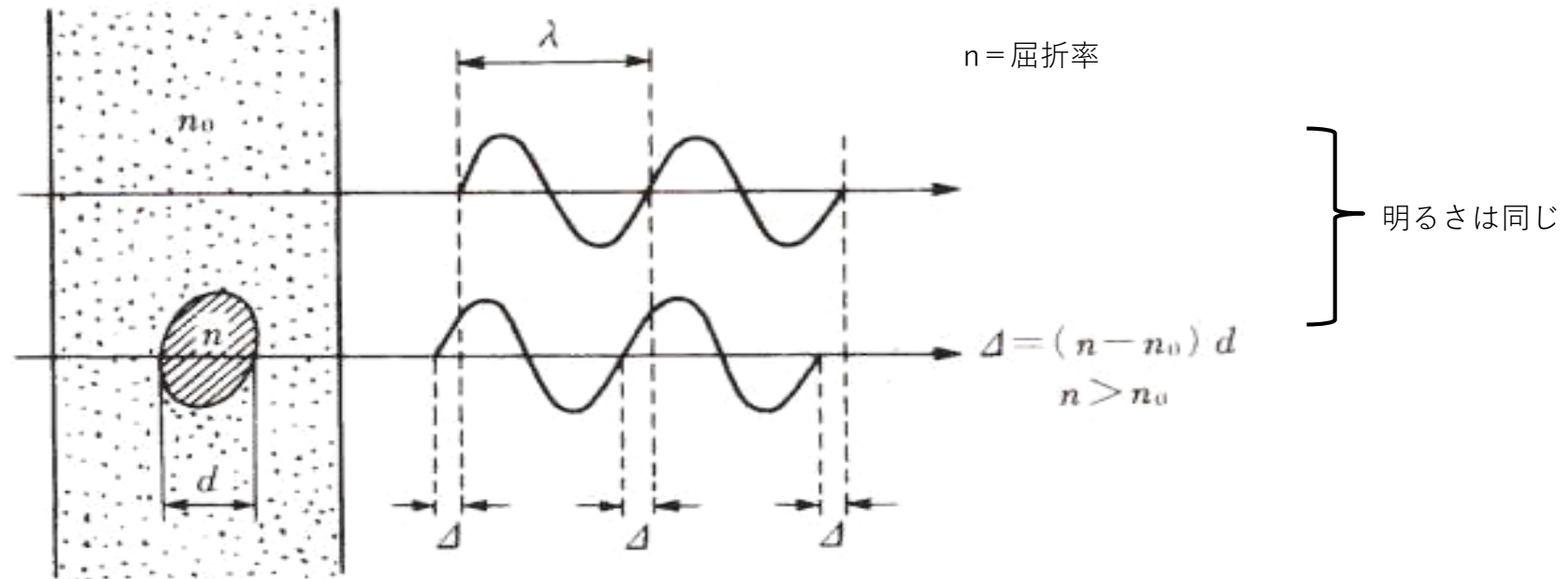


光の3要素のうち見えるのは、**振幅＝明暗**、**波長＝色**、**位相＝？**
液浸中のアスベストは位相物体のため、明視野観察ではほとんど見えません。

2.1 位相差顕微鏡とは(物質の屈折率と光の位相変化)

屈折率の違い

位相物体どうし (n_0 と n との屈折率の差) による光波の状態



光路差位相物体

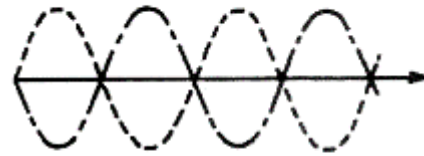
位相物体を通過した光は Δ 分だけ遅れていますが、人間の目にはわかりません。

2.1 位相差顕微鏡とは(物質の屈折率と光の位相変化)

無色透明体の屈折率を明暗に変える位相差顕微鏡

位相差顕微鏡は光が波であることと干渉（合成）する性質を利用して、光の位相をずらすことによって、明暗のコントラストを作ります。（理論は後述）

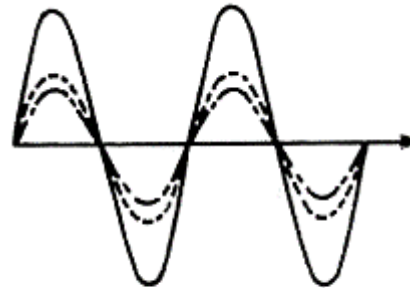
二つの光を逆位相で弱め合うようにして、屈折率の高い部分を暗く表現します。



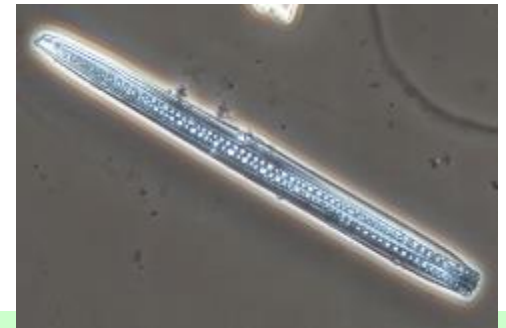
逆位相 ($\delta = 180^\circ$)



二つの光を同位相で強め合うようにして、屈折率の高い部分を明るく表現します。



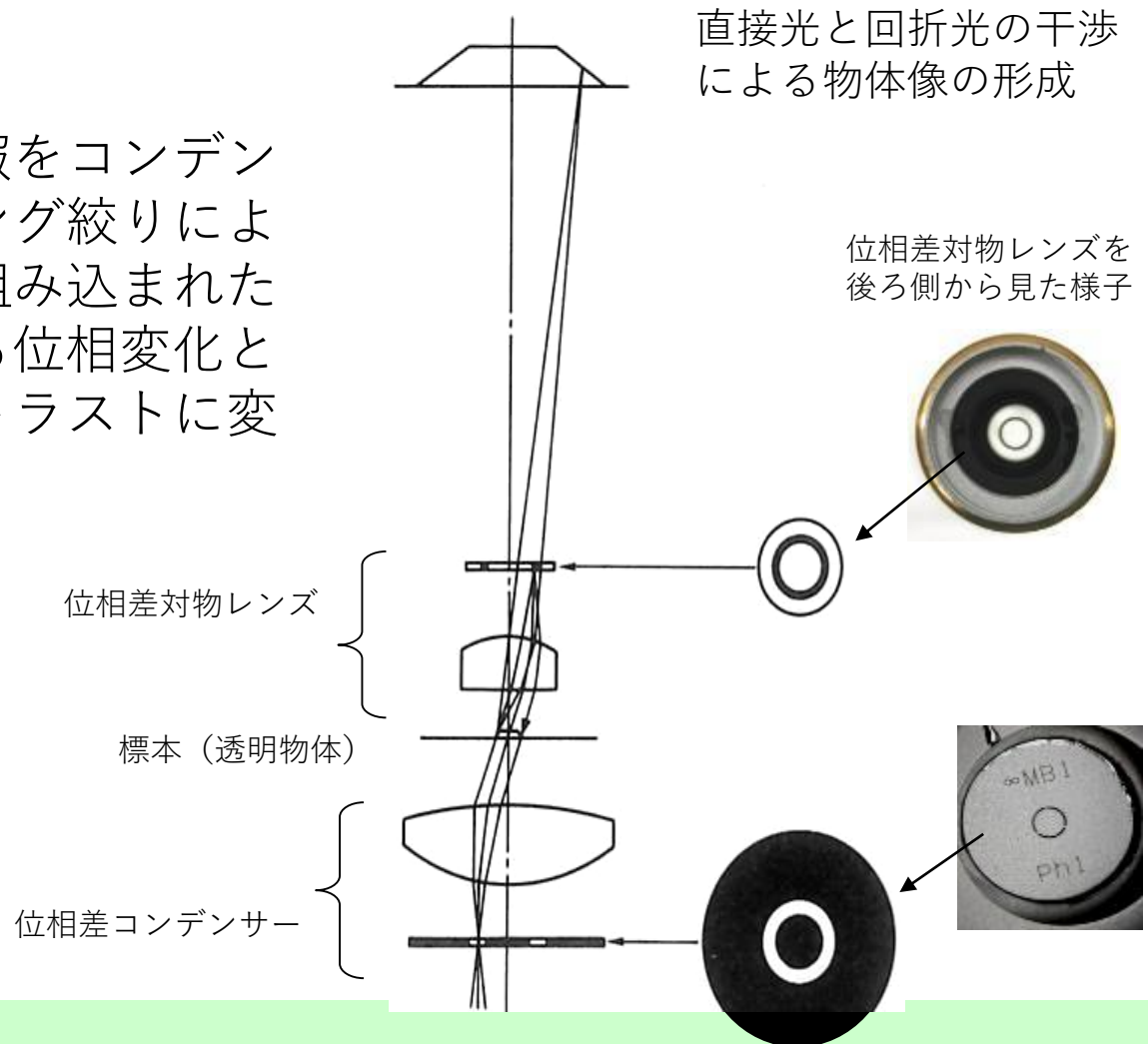
同位相 ($\delta = 0^\circ$)



2.2 位相差顕微鏡の光学系

位相差顕微鏡の光学系の配置と働き

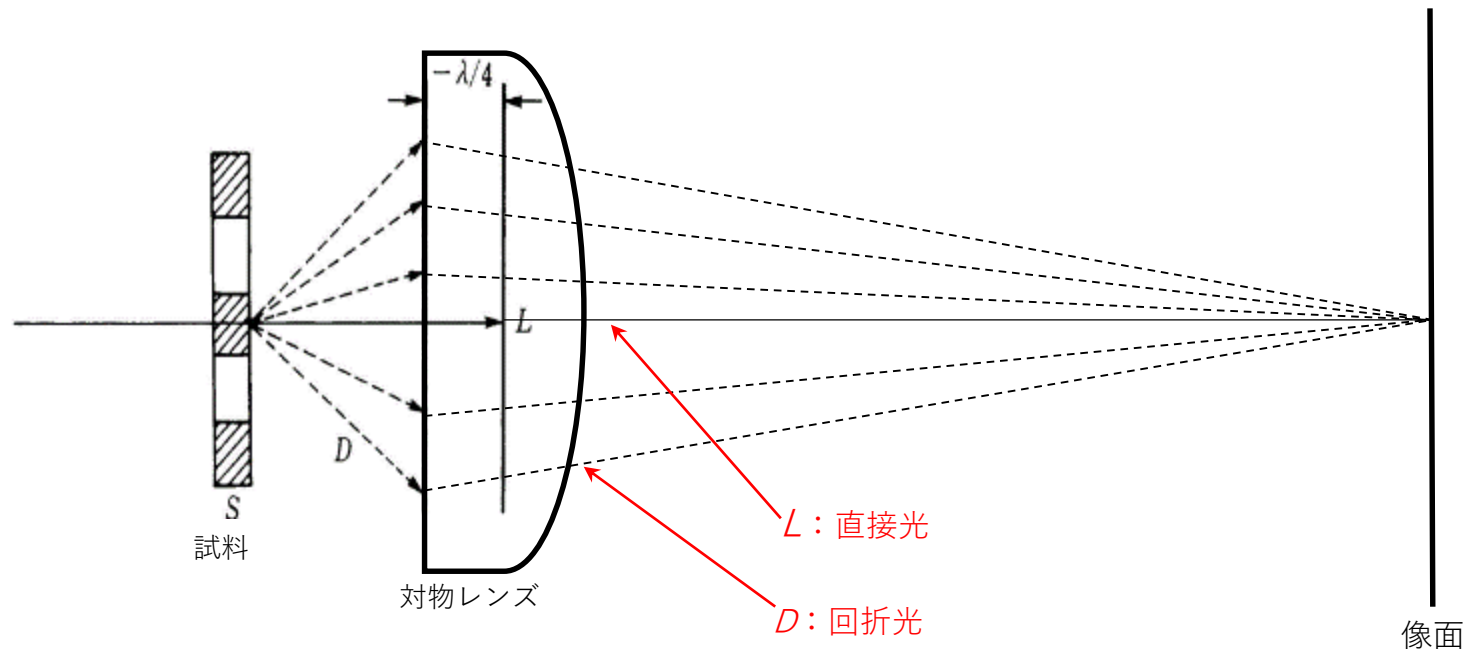
無色透明の物体の光情報をコンデンサーに組み込まれたリング絞りによる照明と対物レンズに組み込まれた位相リング（板）による位相変化と吸収により明暗のコントラストに変換します。



2.3 位相差コントラストの原理

顕微鏡の像の生成過程（直接光と回折光）

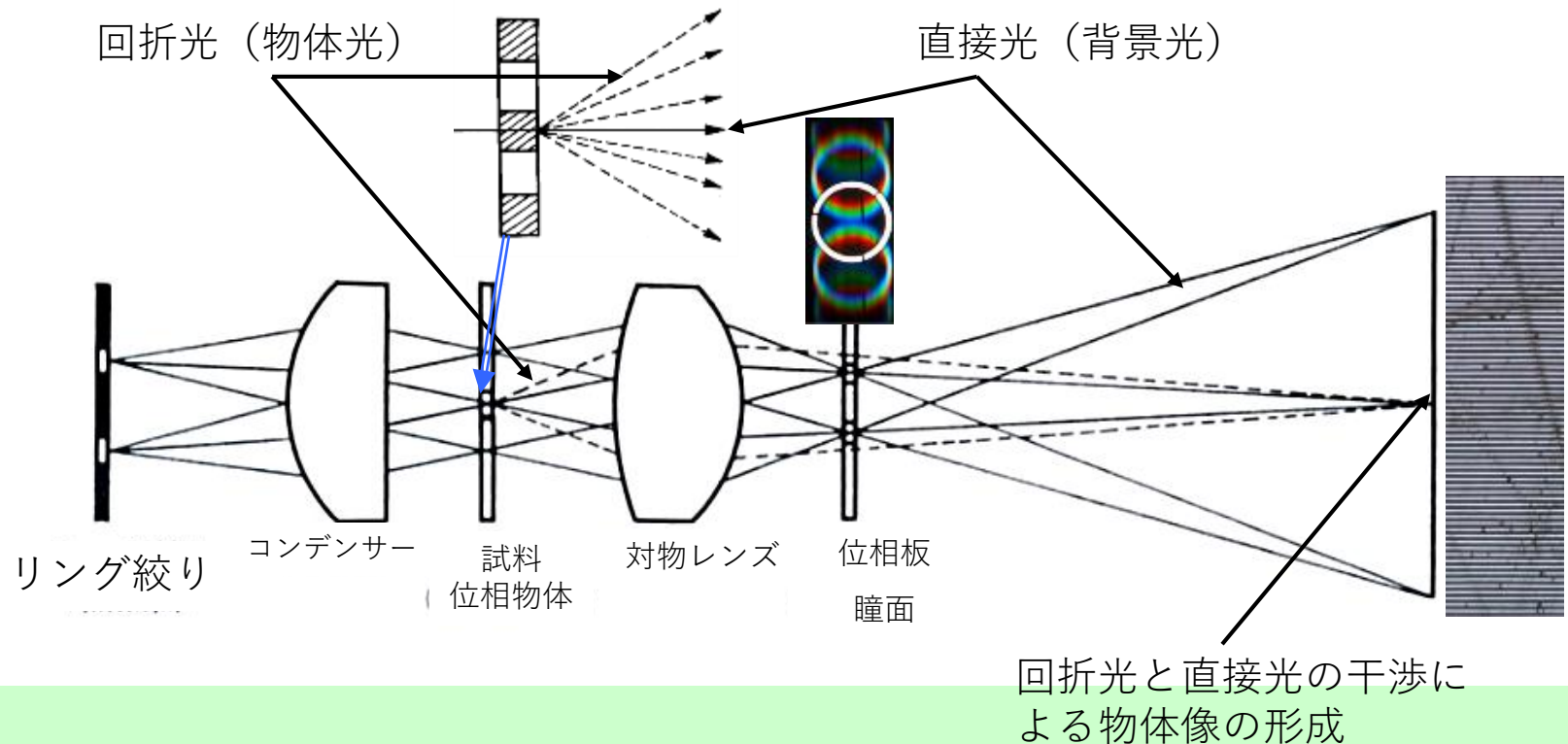
顕微鏡の像は、回折光と直接光で作られます。
試料 S を出た回折光 D と直接光 L は対物レンズを通過後像面に到達し、像を生成する光要素を伝播しています。しかし、試料に濃度がないたため像面では見えません。これを可視化する光学系が位相差顕微鏡ですが、どのような仕組みになっているのでしょうか。



2.3 位相差コントラストの原理

位相差顕微鏡光学原理図

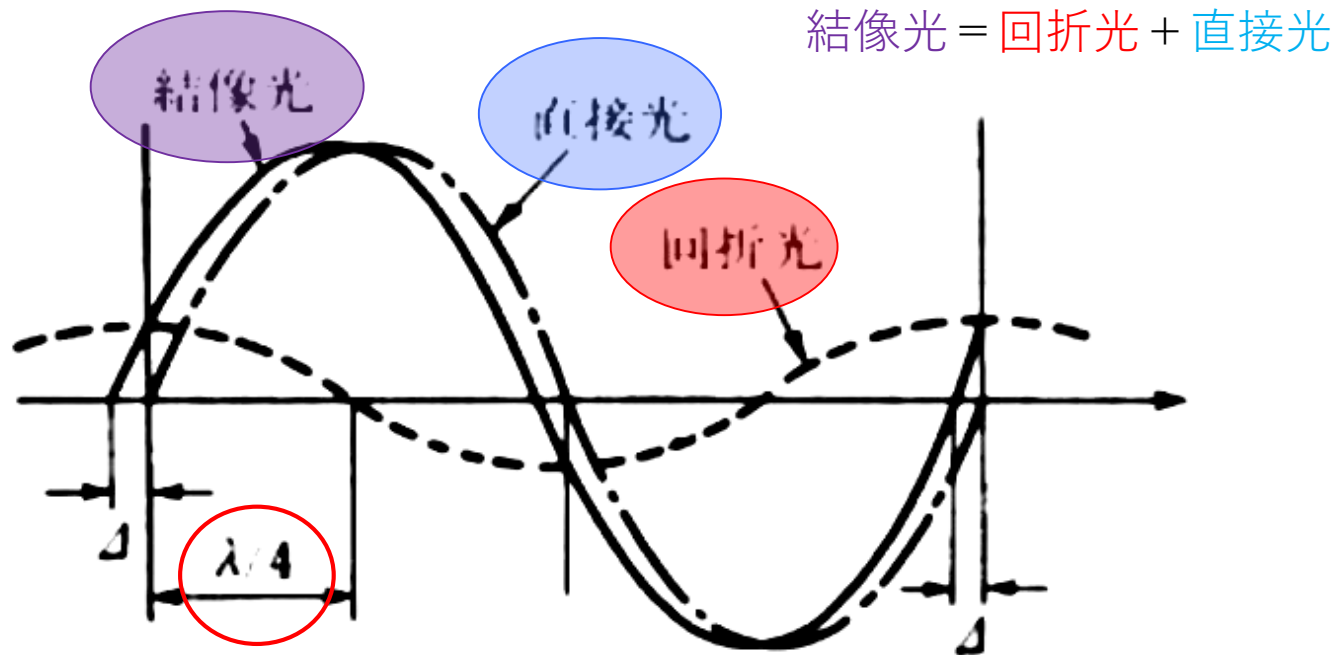
無色透明の物体の光情報である回折光をリング絞りの照明と位相板（リング）による位相ずらしと直接光の吸収作用により明暗のコントラストに変換します。



2.4 コントラストの種類

直接光と回折光の位相と結像光の明るさ

通常の対物レンズでは、物体と背景の明暗差はありません。

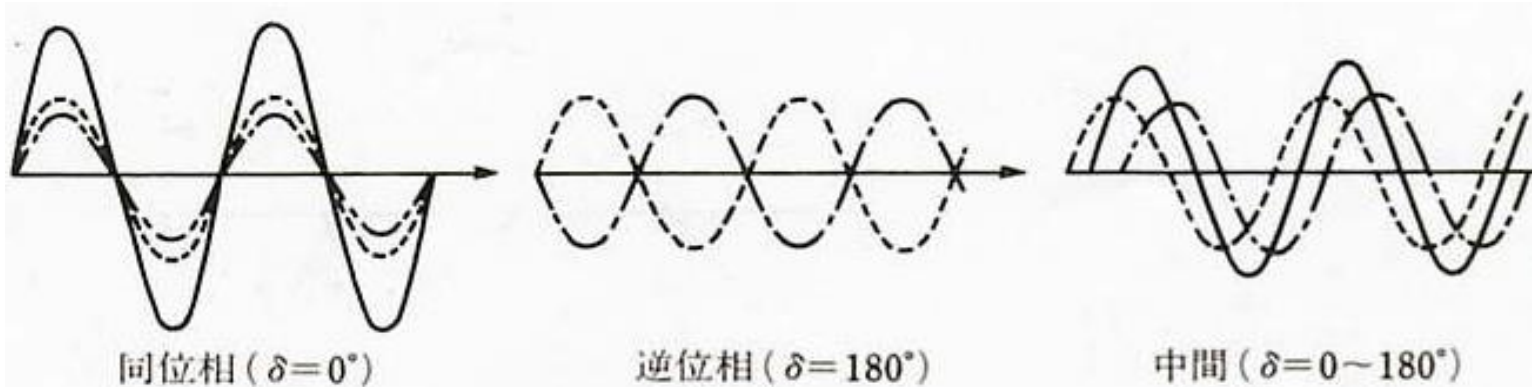


回折光が直接光に対して1/4波長遅れることについて着目し、それぞれの位相（直接光、回折光）をずらすことで、同位相または逆位相にしてコントラストを作ることができます。この働きをするのが、位相差対物レンズに組み込まれた位相板です。

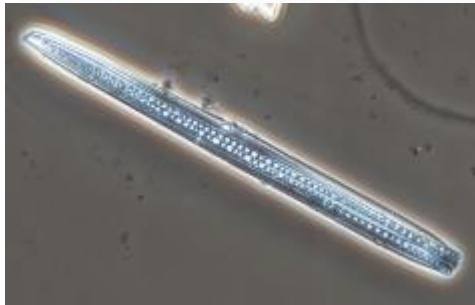
2.4 コントラストの種類

位相板による光の干渉（明るさの増減）

対物レンズの瞳面＝位相板で、直接光と回折光に細工（位相ずらしと吸収）をして明暗のコントラストを作ります。



ブライト（ネガティブ）コントラスト



ダーク（ポジティブ）コントラスト



直接光と回折光を逆位相にすることにより、位相物体を黒く（暗く）コントラストを付ける方式と同位相にして物体を白く（明るく）コントラストをつける方式で、同時に直接光にやや吸収を与えてコントラストが出やすくしています。

2.5 位相差像のハロ

位相差顕微鏡の特徴

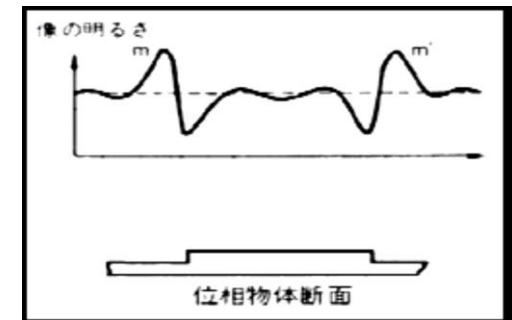
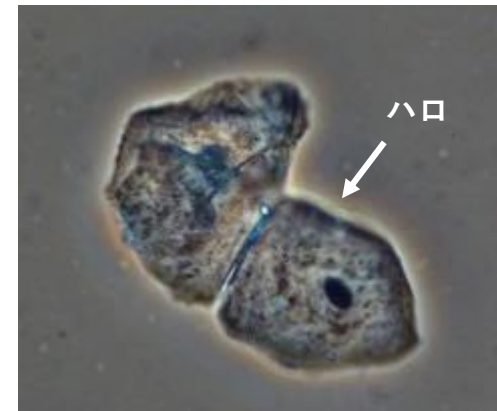
位相差観察では、解像力が高くかつコントラストの良い像が得られますが次のような特徴を理解しておくてください。

- ・ ハロ

位相差像の周辺にはハロと呼ばれる明暗の光輪（明暗の縁取り状の光）がでます。

物体が大きくなるとその強度は物体の端で強くなり、そのすぐ内側は弱くなります。

（右図 ラインプロファイル）



3 分散顕微鏡の基礎知識(原理と構造)

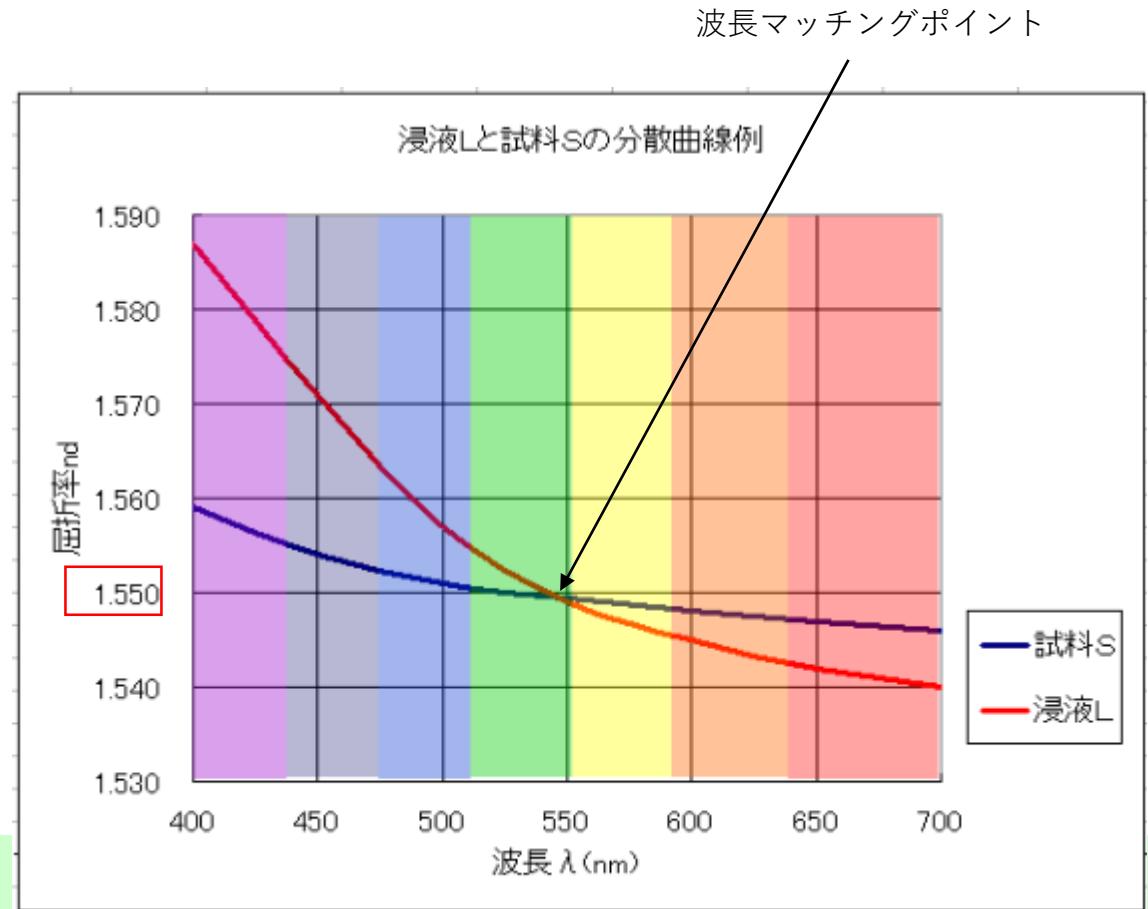
<キーワード>

分散・浸液・三原色・マッチングポイント・遮蔽板・分散曲線・温度管理・偏光板・セントラルストップ式・リングストップ式・昼光(色補正)フィルタ・色温度

3.1 光の分散と分散染色標本のマッチングポイント

分散染色法による発色の原理

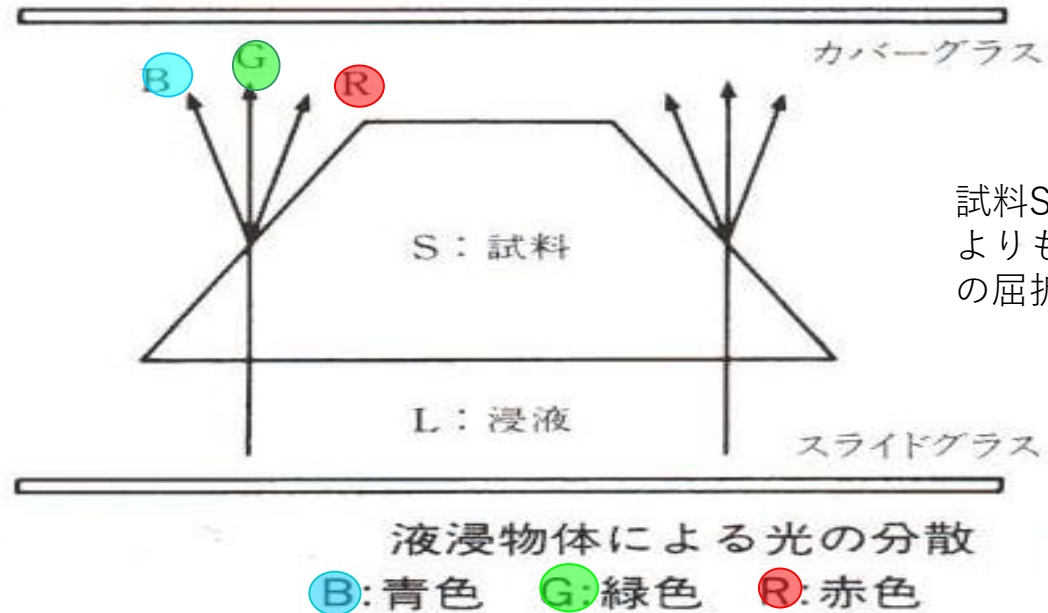
アスベスト繊維の分散特性は液体の分散特性とは異なることから、ある一定の屈折率が合致する液中では特異的なスペクトル（合成色）が出ます。これを分散色と呼んでいます。



3.1 光の分散と分散染色標本のマッチングポイント

アスベスト試料中の分散の概念図

アスベスト分散試料の中でどのようなことが起こっているのか
見てみましょう。



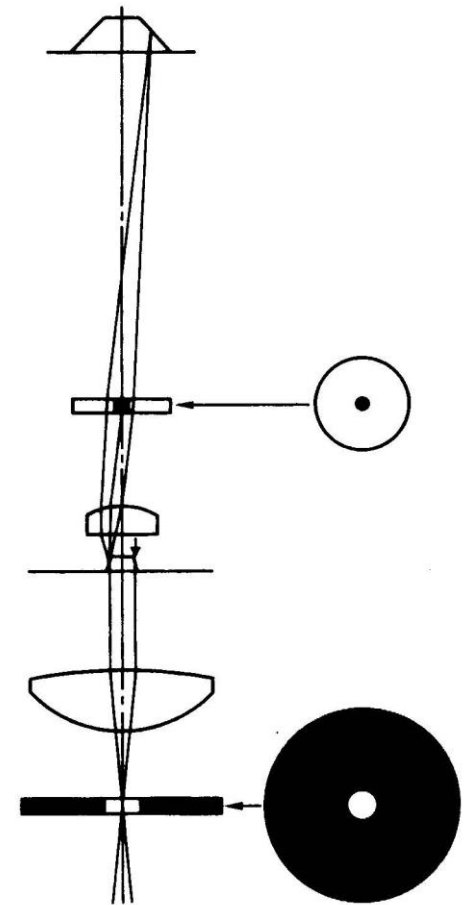
試料Sの屈折率が浸液Lの屈折率よりも小さく且つ緑色の波長での屈折率が合致したものと想定

屈折率が試料と浸液とも合致した緑の波長だけは直進し、その他の波長は屈折して進みます。

3.2 分散顕微鏡の光学系

中心遮蔽板（セントラルストップ）式分散染色光学系

分散染色法の顕微鏡光学系は、コンデンサの絞りを最小に絞った光束を試料に照射し、対物レンズの瞳面（後ろ側焦点面）にコンデンサー絞りと相似の径の遮蔽板を設けることで、分散観察を可能にしています。これによって、試料に照射された光（白色光）は浸液の屈折率に適合した以外の光（波長）は分散して、遮蔽されず像面に到達します。この方式による分散色が世界共通の定性分析のデーターとなっています。



円形状（Central Stop）の光源絞りマスクを使用した分散染色法の光学系

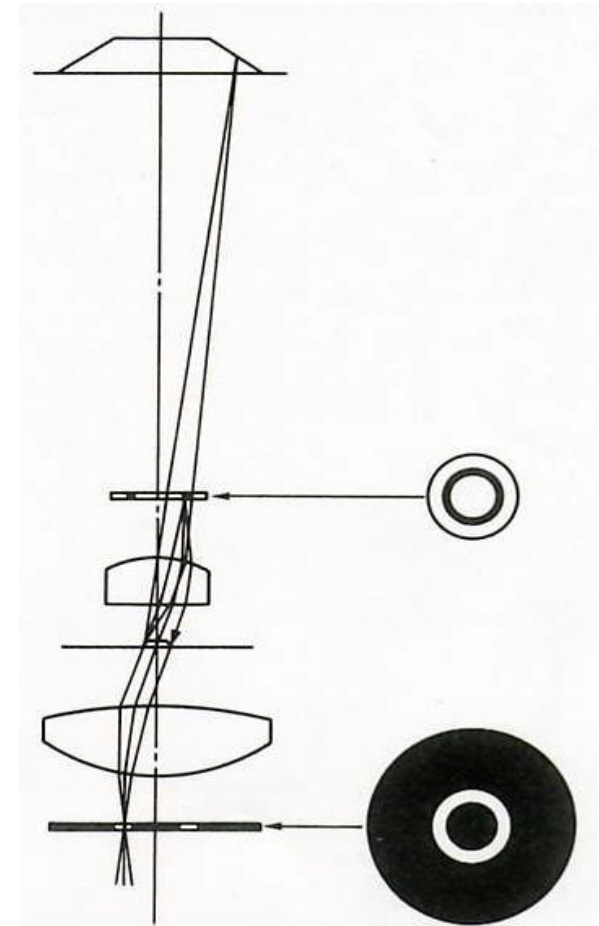
3.2 分散顕微鏡の光学系

リングストップ式分散染色光学系

リングストップ方式（位相差光学系方式）

セントラルストップ方式と同様の分散色が得られ、しかも分解能（解像力）を上げて高倍率の分散対物レンズを可能にしたリングストップ方式です。日本国内のアスベスト分析者のほとんどがこの方式の分散染色観察をしています。

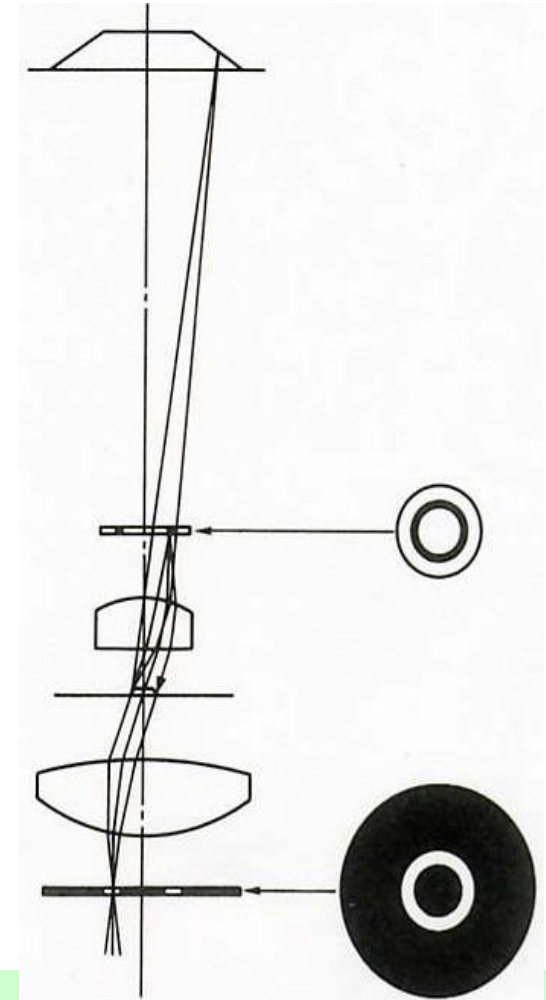
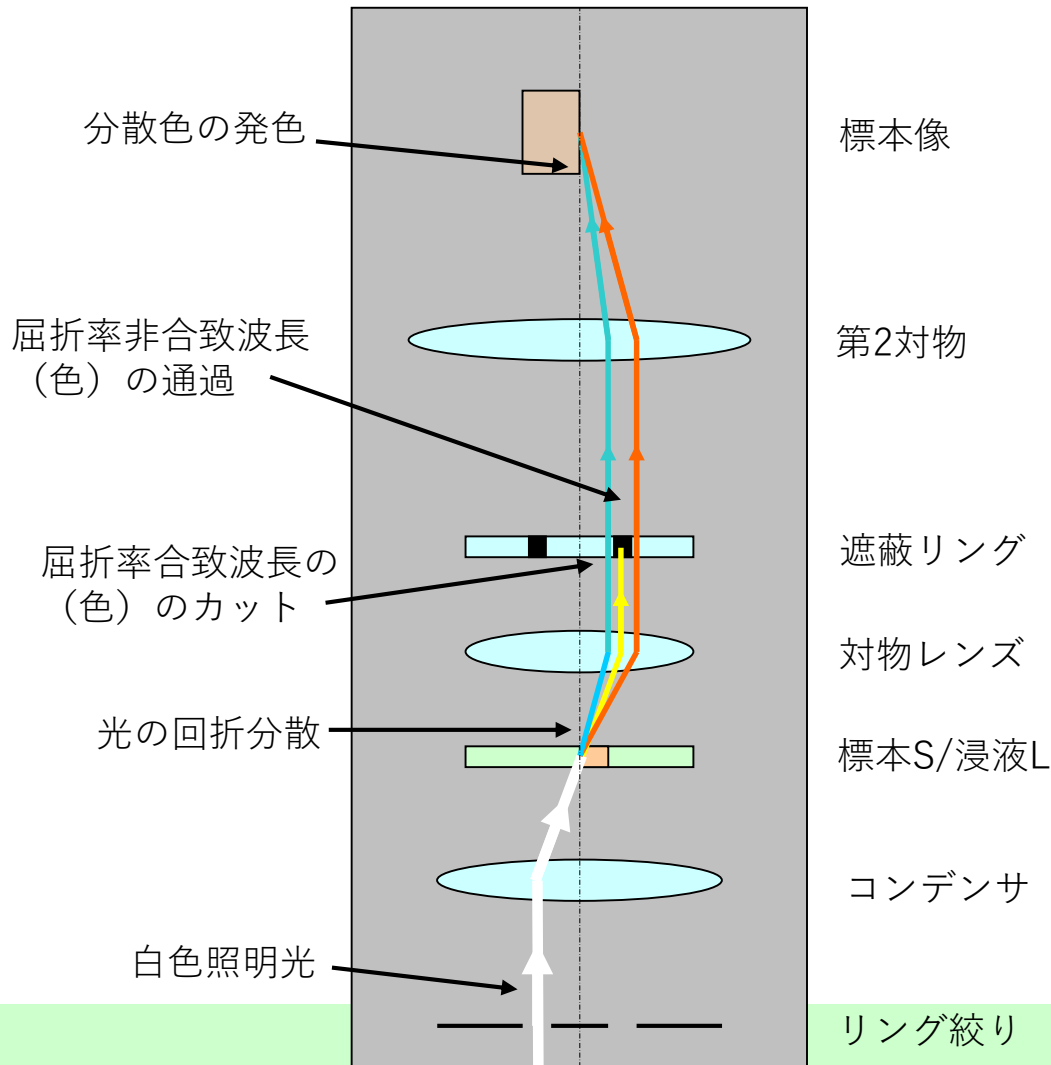
位相差顕微鏡として併用できるため、繊維数の計数に有利です。また、回転アナライザー装置を付加することにより複屈折の判定もでき、汎用性の広い顕微鏡となります。



リングス絞り照明（位相差）と
リングストップを使用した分散
染色法の光学系

3.2 分散顕微鏡の光学系

リングストップ式の分散色発生プロセス



3.3 分散染色法の原理

分散とは

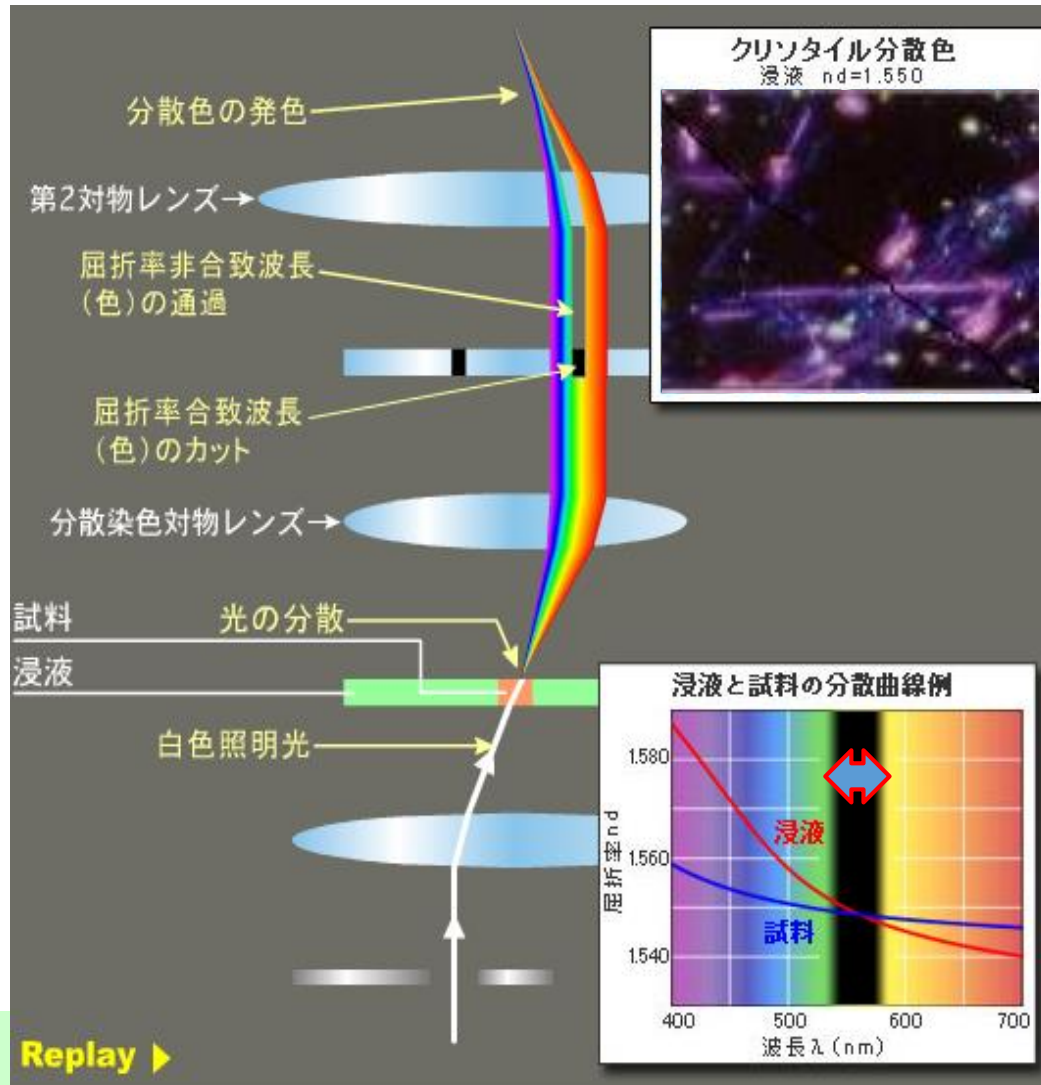
光が波長によりスペクトルに分散することを言います。
屈折によって、色（波長）ごとに光の進路がわかれる現象です。

アスベスト繊維の分散は液体の分散よりも小さいため、ある一定の屈折率を持つ液中では、特定のアスベストから特異的なスペクトルの合成色が観察でき、これを分散色と呼びます。

分散色の発色を理解するためには、色＝波長と分散現象を理解し、かつ顕微鏡の像生成を理解することから始まります。

3.3 分散染色法の原理

白色照明から分散色が出るまでのプロセス



白色光から550nm
近辺の波長（色）
が差し引かれた光
が分散色として観
察される。

3.4 分散色の温度依存性

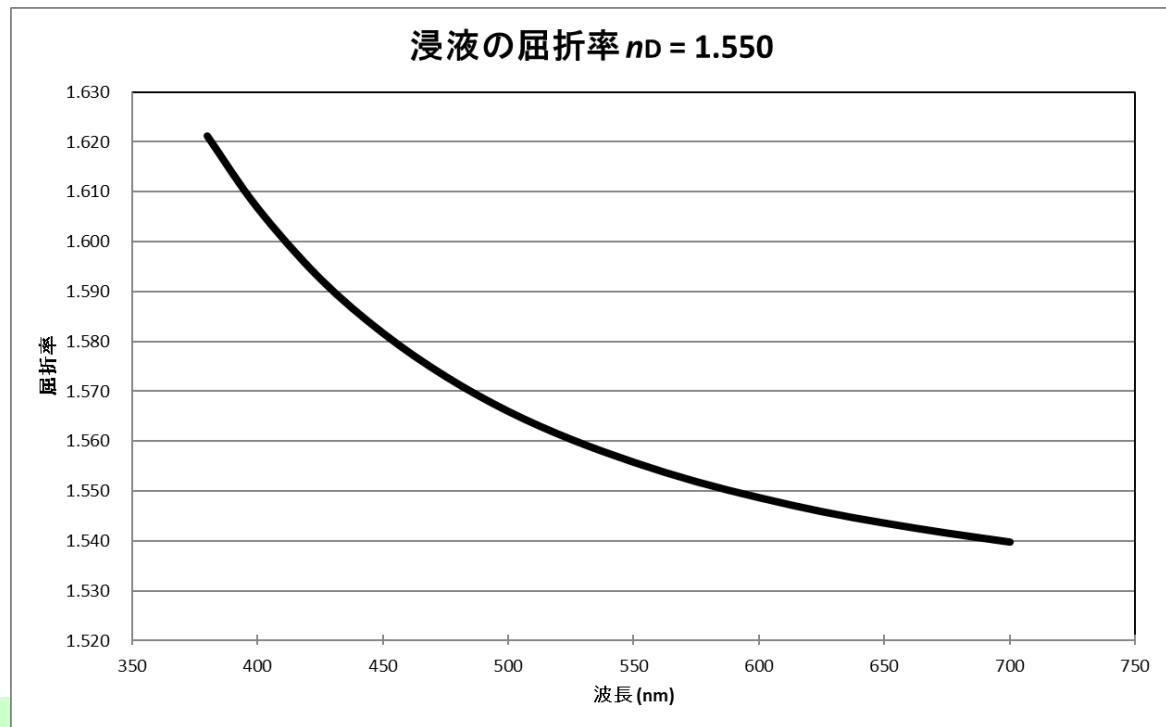
浸液は分光特性（分散曲線）が重要

普段は屈折率の数値に関心を寄せていますが、その数値は特定波長（D線589nm）での屈折率を表記しているだけで、他の波長では屈折率が分散色に影響してきます。このため、カーギル社製の屈折率をマクローン研究所が認定したものが使われます。下のグラフは、カーギル社が公開している波長ごとの屈折率をプロットして分散曲線を示したのもです。

屈折率 → $n_D^{25^\circ\text{C}} = 1.550$

↑ 温度管理

↑ 波長指定 D=589nm



3.4 分散色の温度依存性

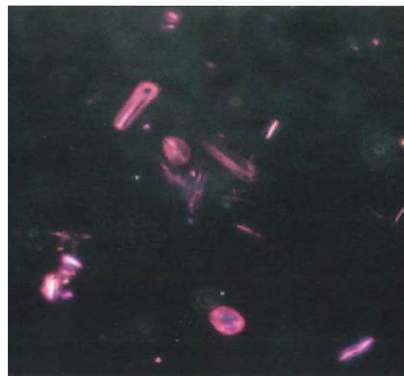
屈折液の温度管理・分散色の変化

屈折液は25°Cで屈折率が保証されています。温度が変化すると分散色も変化しますので、温度管理に注意が必要です。

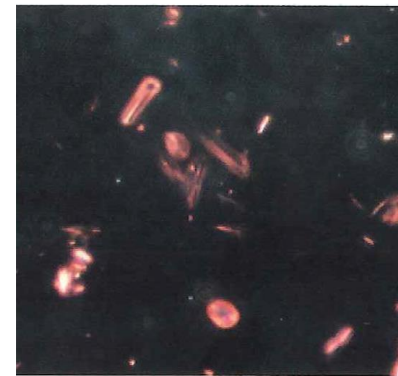
クリソタイル
 $n_D 1.550$



20°C

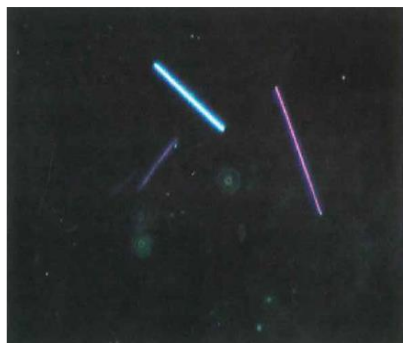


25°C



30°C

アモサイト
 $n_D 1.680$



3.5 偏光分散色

アスベストの種類	浸液屈折率	分散色	偏光振動方向 //	偏光振動方向 ⊥
クリソタイル	1.550	赤紫～青	橙)	青
アモサイト	1.680	桃	橙)	青
	1.700	青	濃青～紫	淡青
クロシドライト	1.680	橙～赤褐	濃橙	淡橙
	1.690	桃	桃	桃
	1.700	青	濃青	淡青
トレモライト	1.605	ゴールドンイエロー	ゴールドンイエロー	紫
	1.620	赤紫	橙	青
	1.640	青	青	青
アクチノライト	1.626・1.628	赤紫	桃	青
	1.630	桃	赤紫	青
アンソフィライト	1.605	ゴールドンイエロー	ゴールドンイエロー	赤紫
	1.618	赤紫	橙	青紫

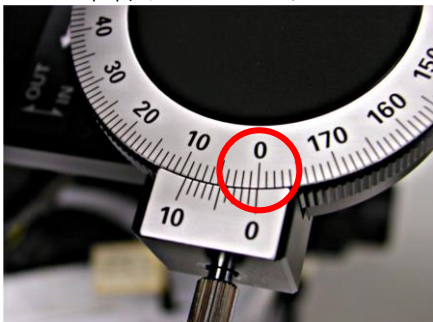
3.5 偏光分散色

分散色偏光解析の実際

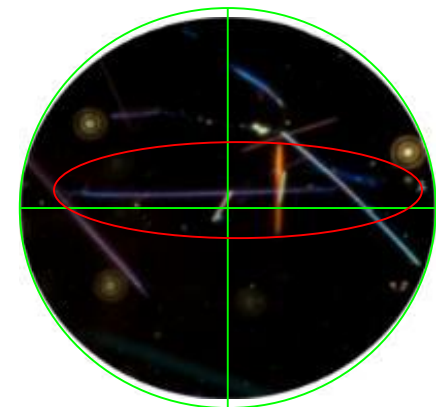
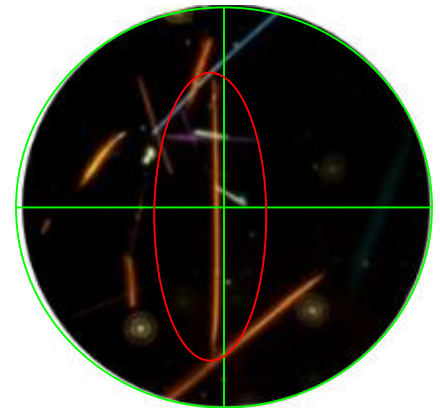
(偏光顕微鏡ステージ回転の場合)

偏光顕微鏡の場合は、ステージが円形回転ステーになっているため、アナライザのバーニヤ指標を0に固定して使用します。この位置でアナライザの振動方向が常に垂直方向になります。あとは、測定するアスベストのの伸長方向を接眼レンズの十字線を参照しながら、ステージを回転して垂直にした場合には振動方向と平行//、さらに回転して水平方向にした場合は振動方向に対して直交 $\perp$ の分散色を観察します。

回転アナライザー



円形回転ステージ



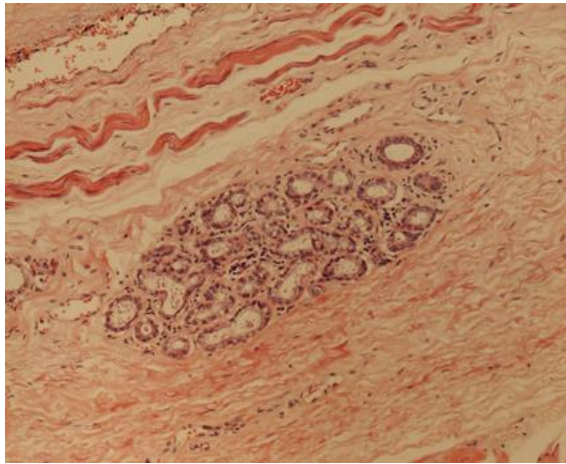
アナライザに替わってポラライザを使用する場合も同様です。
ただし、振動方向が90度変わることに注意

3.6 分散色における照明の色の影響

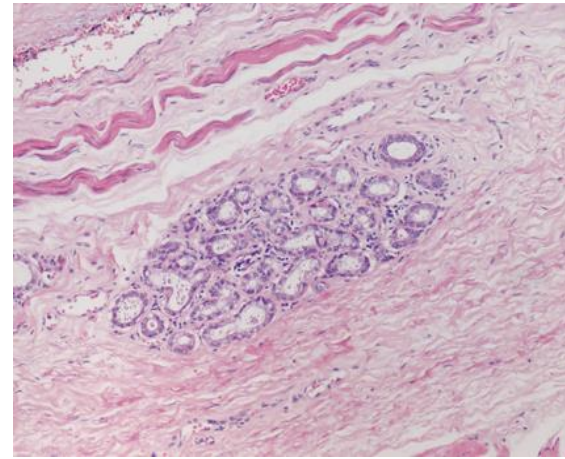
ハロゲンランプ光源

光源として使用しているハロゲンランプの光の色は、一般通念の「白」ではありません。

作例写真左はハロゲンランプそのままの光で撮影された色で、右は昼光（色補正）フィルタが挿入された色です。



昼光（色補正）フィルタなし

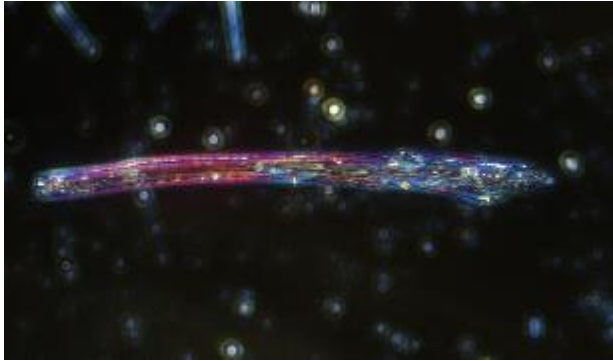


昼光（色補正）フィルタ挿入

ハロゲンランプでは電圧の変化によって色温度が変化するため、白色照明にするには、電圧を一定にして基準の色（色温度）にして、昼光（色補正）フィルタを挿入する必要があります。

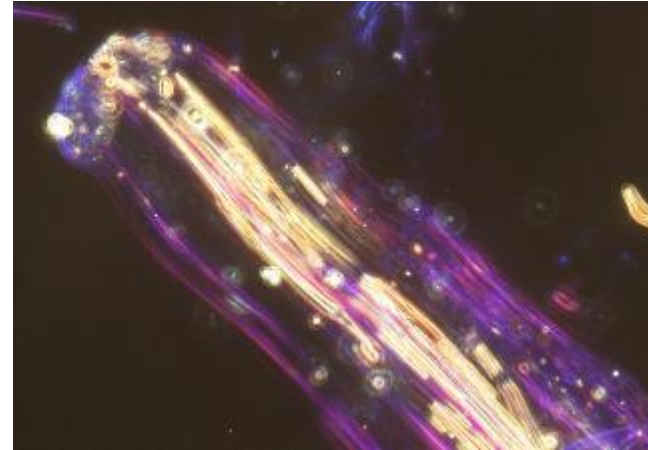
3.6 分散色における照明の色の影響

アモサイト

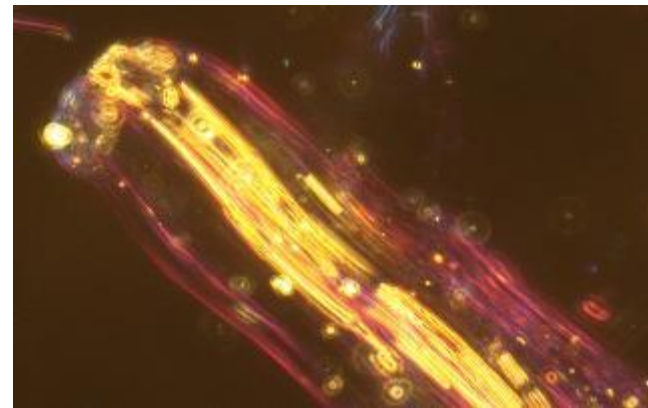
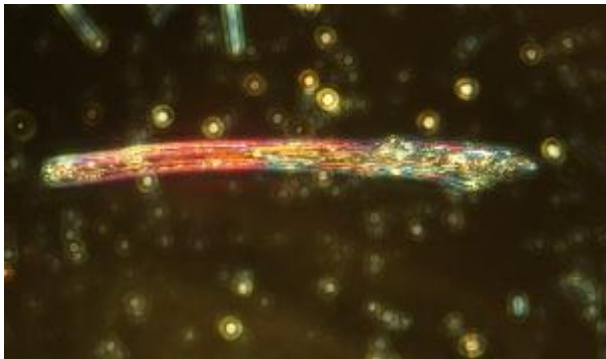


昼光（色補正）フィルタ IN
JIS A1481-1法

クリソタイル



昼光（色補正）フィルタ OUT
JIS A1481-2法



4 偏光顕微鏡の基礎知識(原理と構造)

<この章のキーワード>

自然光、直交ニコル(クロスポーラ)、平行ニコル、単ニコル(オープンポーラ)直線偏光、円偏光、楕円偏光、光学的異方体、複屈折、1軸結晶、2軸結晶、リターデーション、消光位、対角位、偏光干渉カラーチャート、鋭敏色、相加・相減、伸長の符号、直消光、斜消光、消光角、多色性、分散色

<偏光顕微鏡でできること>

- ① 微細な試料(結晶)の異方性を検出できる。
Ex) アスベストとロックウールの判別
- ② 異方体の複屈折(2つの屈折率差)の大小を判別できる。
Ex) 複屈折の評価
- ③ 異方体の屈折率の方向を判定できる。
Ex) 伸長の符号の評価、消光角の評価
- ④ 結晶の多色性を評価できる。
Ex) クロシドライトの多色性評価
- ⑤ 分散色による屈折率評価

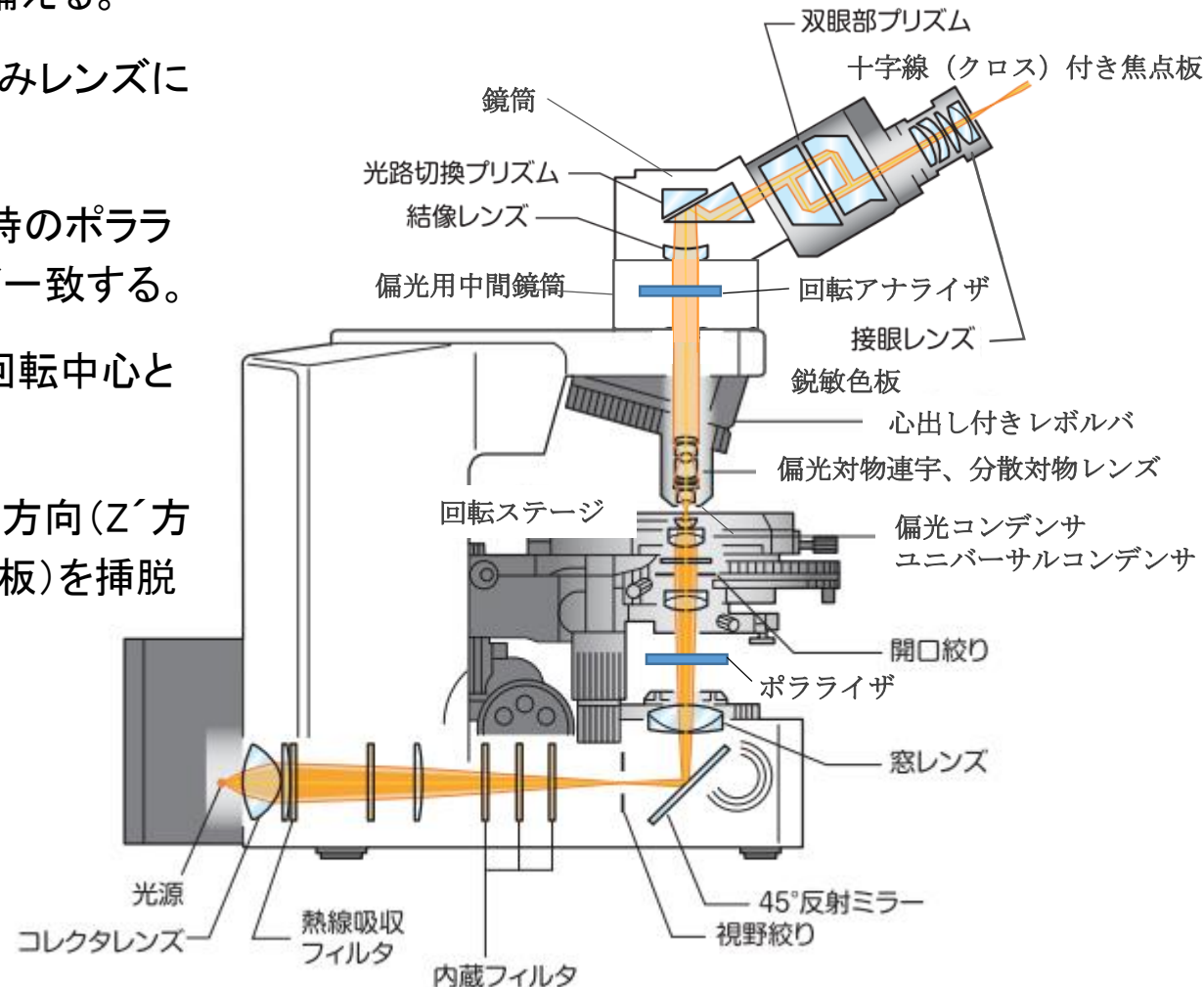
<理解のポイント>

- ・リターデーションとは何か。
- ・偏光干渉カラーチャートの使い方。
- ・リターデーションの相加、相減。

4.1 偏光顕微鏡の光学系

<偏光顕微鏡の特徴>

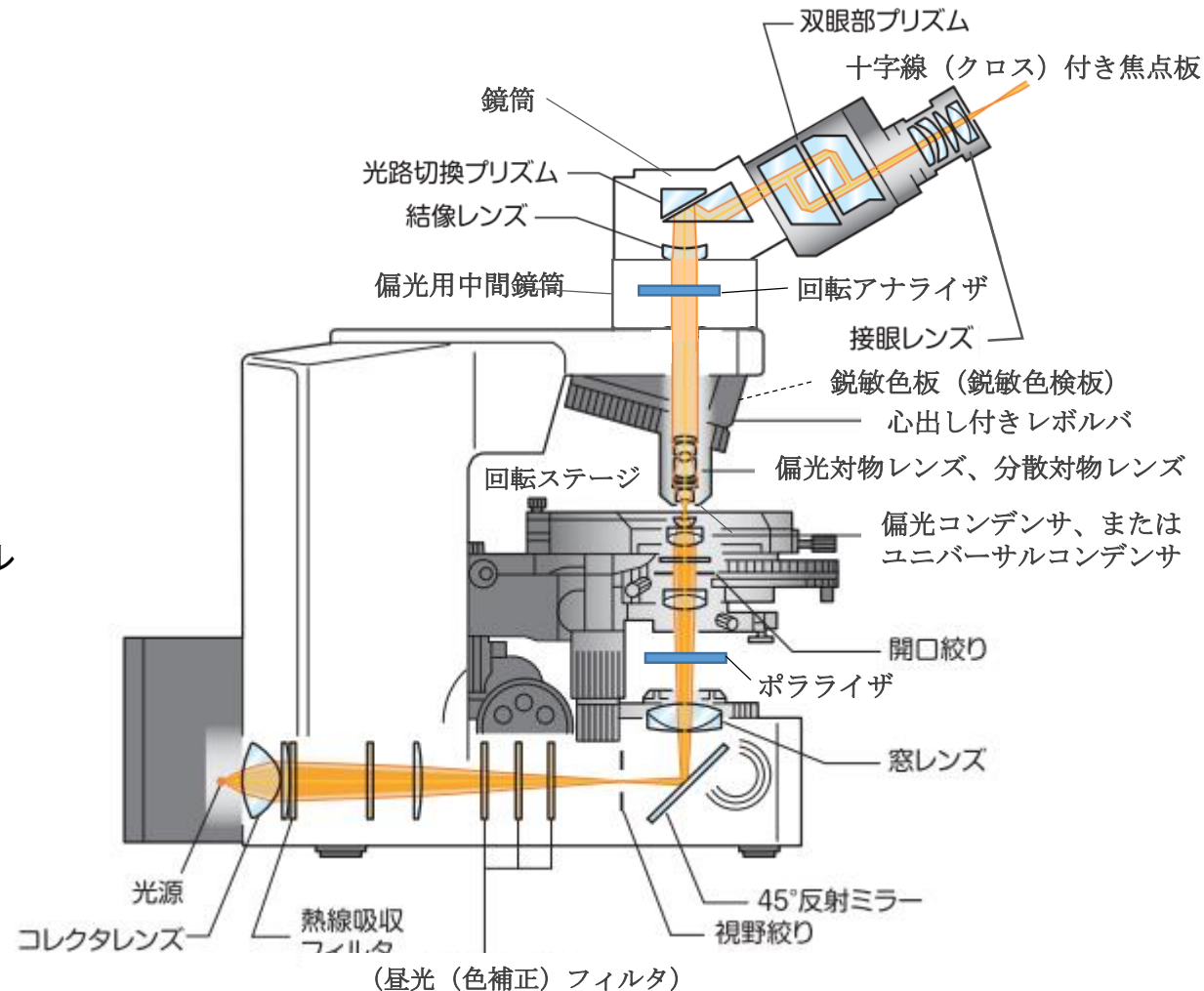
- ① 回転アナライザ、ポラライザを備える。
- ② 対物レンズ、コンデンサは無歪みレンズになっている。
- ③ 焦点板の十字線と直交ニコル時のポラライザ、アナライザの振動方向が一致する。
- ④ ステージの回転による視野の回転中心と十字線の中心を合わせられる。
- ⑤ 焦点板十字線の45° 方向に γ 方向(Z' 方向)を持つ鋭敏色板(鋭敏色検板)を挿脱できる。
- ⑥ 資料を昼光色で照明できる。



4.1 偏光顕微鏡の光学系

＜偏光顕微鏡の構成＞

- ① 十字線(クロスヘア)付き焦点板内蔵接眼レンズ
- ② 挿脱できる回転アナライザ
- ③ 挿脱できる鋭敏色板(鋭敏色検板)
- ④ 偏光対物レンズ、分散対物レンズ
- ⑤ 心出し付きレボルバ
- ⑥ (心出し付き)回転ステージ
- ⑦ 偏光コンデンサまたはユニバーサルコンデンサ
- ⑧ ポラライザ
- ⑨ 光源
LED光源
または
ハロゲンランプ光源
(昼光(色補正)フィルタ付属)

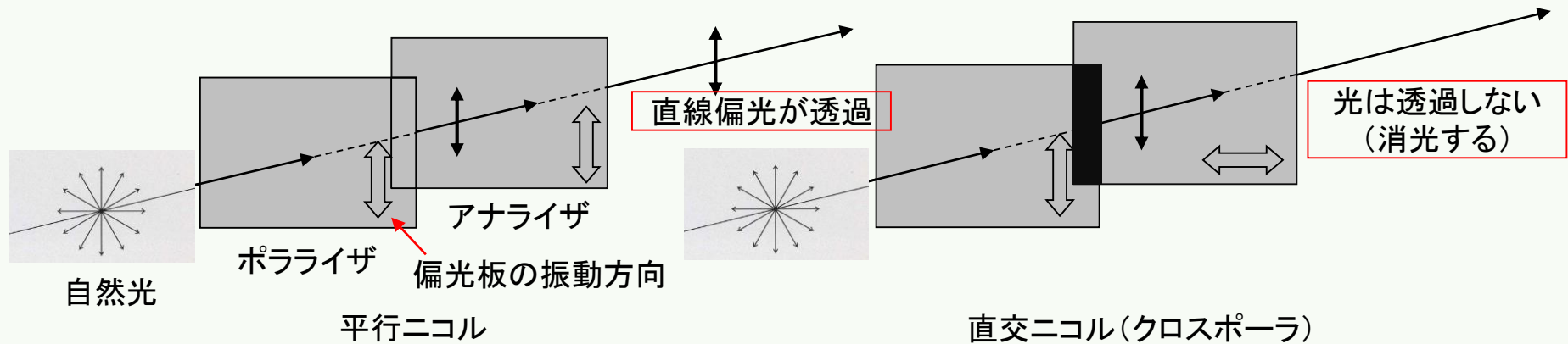


4.2 自然光と偏光

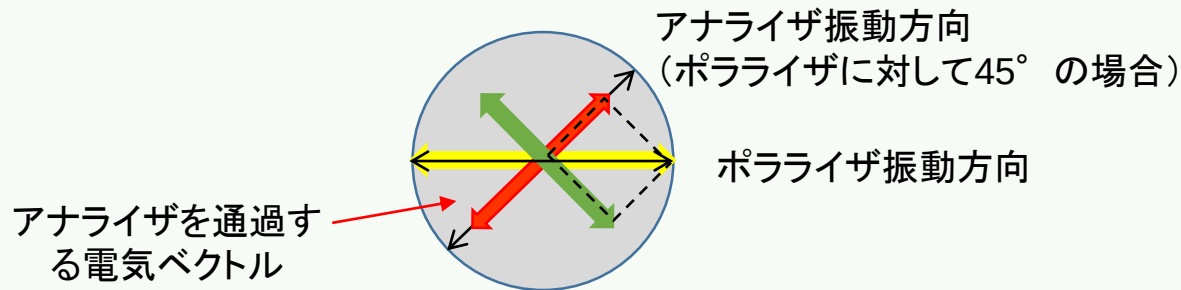
- ① 光を電気ベクトルで表すと、自然光(無偏光)は、電気ベクトルの振動方向があらゆる方向を向いている。
- ② 偏光は、電気ベクトルの振動方向に規則性がある。
- ③ 自然光が偏光板を通過すると電気ベクトルの振動方向が直線となり、これを直線偏光(または平面偏光)という。
- ④ 電気ベクトルの振動方向を、その偏光板の振動方向と呼ぶ。
- ⑤ 光路に2枚の偏光板を入れるとき、光源側の偏光板をポラライザ、その後方をアナライザという。
- ⑥ ポラライザは自然光を直線偏光に変換し、アナライザは偏光の干渉を検出する。
- ⑦ ポラライザ、アナライザの振動方向が同じときを平行ニコル、直交するときを直交ニコル(クロスポーラ)という。

4.2 自然光と偏光

- ⑧ 平行ニコルでは、直線偏光が透過する。直交ニコル(クロスポーラ)では透過光はない。この状態を消光という。



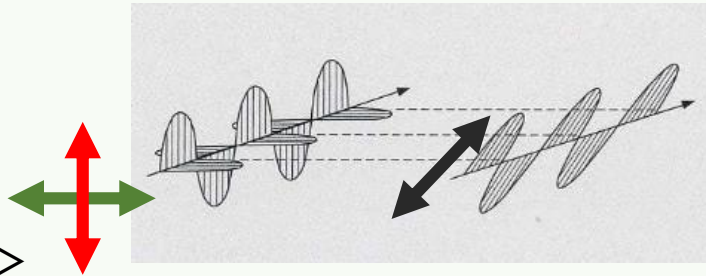
- ⑨ 直線偏光の電気ベクトルは直交する2つの電気ベクトルに分解できるので、平行ニコルと直交ニコル(クロスポーラ)の間の方位の場合は、そのなす角度に応じた強度の電気ベクトルの光が、アナライザを通過する。



4.3 偏光の種類

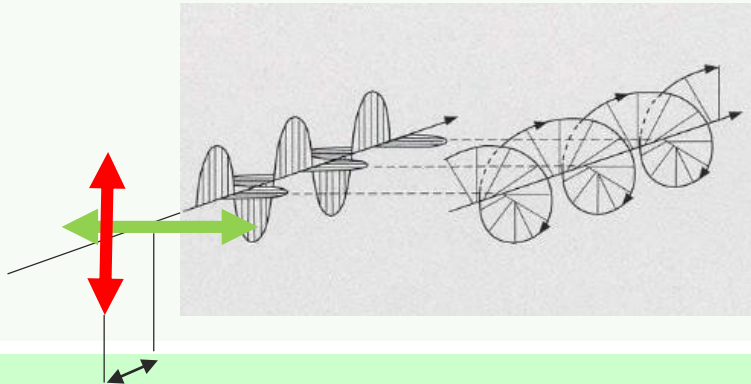
<直線偏光>

- ① 電気ベクトルの振動方向が同一平面内にあり、光の進行方向に対して垂直である。
- ② 位相のそろった直交する2つの電気ベクトルに分解できる。



<円偏光、楕円偏光>

- ① 光波の振幅ベクトルの先端が、円や楕円の軌跡を描く。さらに観測者から見てその軌跡の回転方向が右回り、左回りの2つある。
- ② 位相のずれた2つの直交する直線偏光の合成ベクトルの形になる。

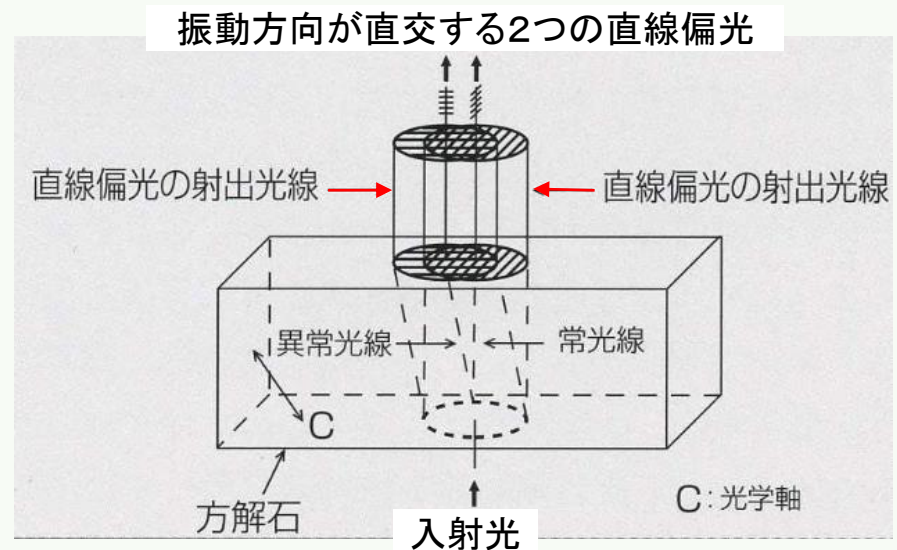


4.4 異方体と複屈折

- ① 結晶など、入射光を複屈折する透明体を異方体（または光学的異方体、異方性物質）という。
- ② 複屈折とは、異方体に入射した光が、速度が異なり振動方向が互いに直交する2つの直線偏光に変わる現象である。
- ③ 異方体には光学軸があり、光学軸と平行に入射する光に対しては複屈折を起こさない。
- ④ 方解石の複屈折では結晶が厚いので2重像に見えるが、顕微鏡試料は薄いので2重像にはならない。

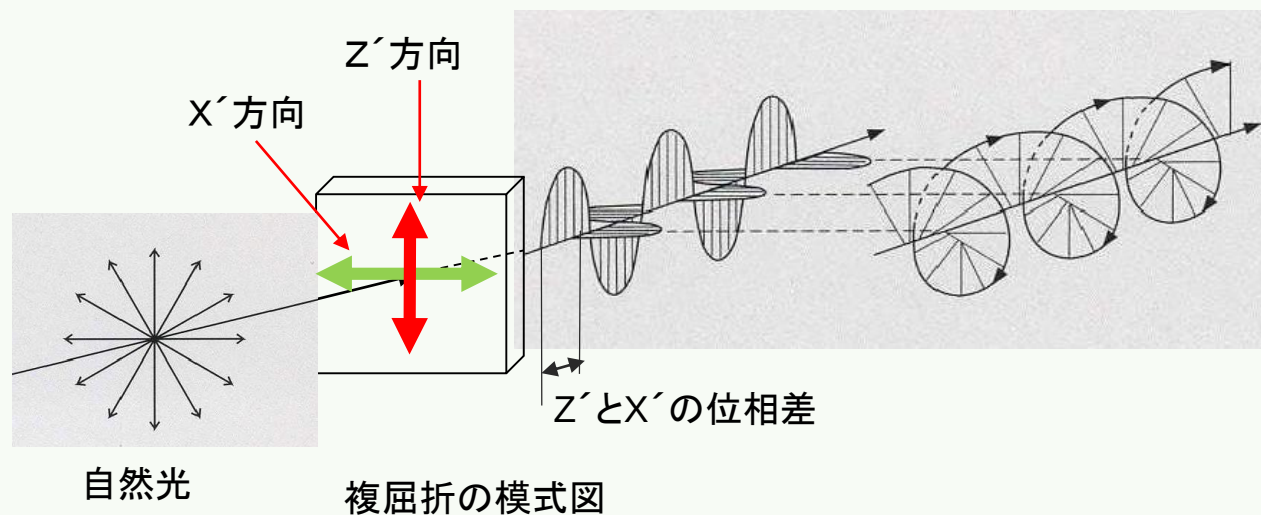


方解石の複屈折



4.4 異方体と複屈折

- ⑤ 複屈折は、自然光が異方体通過後に楕円偏光もしくは円偏光に変わる現象といえる。
- ⑥ 複屈折後に生じた振動方向が直交する2つの直線偏光は、異方体通過中に生じた速度差により、位相差のある状態になっている。
- ⑦ このときの2つの直線偏光で、速度の遅いほうの振動方向を Z' 方向、早いほうの振動方向を X' 方向と呼ぶ。 $\Rightarrow$ 異方体は常に Z' と X' の方向を持っている。
- ⑧ 異方体で、光学軸が1つのものを1軸性結晶、2つのものを2軸性結晶という。



4.5 1軸結晶、2軸結晶と屈折率記号

＜1軸性結晶：光学軸が1つ＞

- ① 2つの屈折率を持ち、光学軸に対する入射角に依存しない屈折率(記号 ω)と、入射角に依存する屈折率(記号 ε)がある。
- ② ω (固定値)によって屈折する光線を常光線、 ε によって屈折する光線を異常光線という。
- ③ $\omega \geq \varepsilon$ を正号結晶(水晶など)、 $\omega \leq \varepsilon$ を負号結晶(方解石など)という。

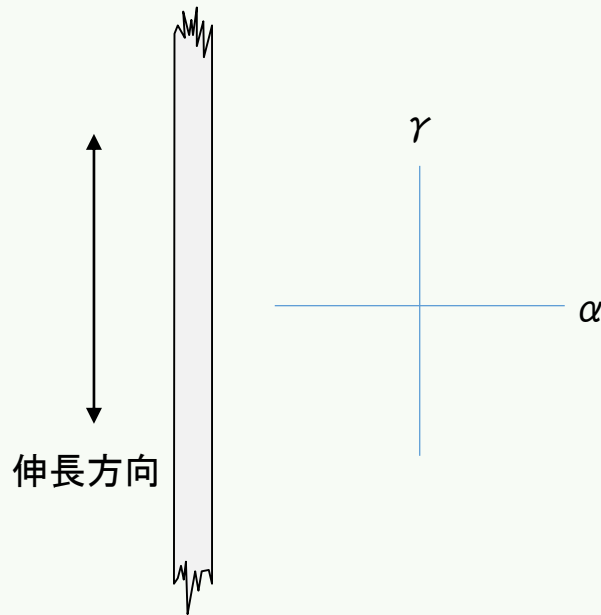
＜2軸性結晶：光学軸が2つ＞

- ① 蛇紋岩、角閃石などで、3つの屈折率を持ち、すべて入射角に依存して変化する。
- ② 屈折率記号が α 、 β 、 γ で、 $\alpha < \beta < \gamma$ である。
- ③ アスベストは母岩は2軸性結晶だが、繊維構造をしているので1軸性結晶と同様の光学特性を示す(重要)。そのため屈折率記号は、 α 、 γ ($\alpha < \gamma$)である。

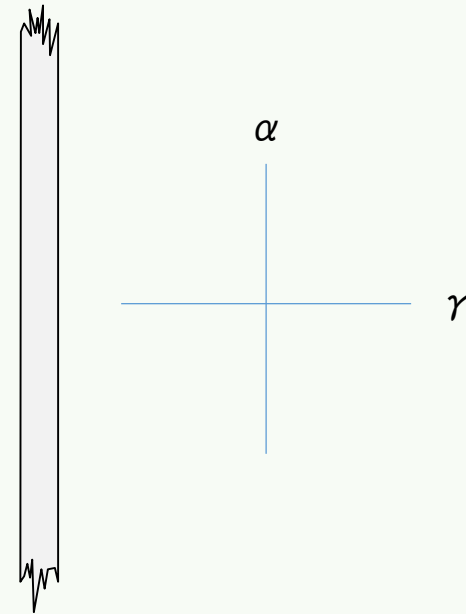
4.5 1軸性結晶、2軸性結晶と屈折率記号

＜アスベストの屈折率と方向＞

- ① アスベストは、繊維の伸長方向と幅方向に異なる2つの屈折率(α 、 γ : $\alpha < \gamma$)を持つ。
- ② 複屈折が起きると、 γ 方向(= Z')と α 方向(= X')に直線偏光が生ずる。
- ③ クリソタイル、アモサイトとクロシドライトでは、伸長方向と屈折率の方向が異なる特性である。⇒ 伸長の符号の正と負の違いに対応する。



クリソタイル、アモサイト
(伸長の符号: 正)

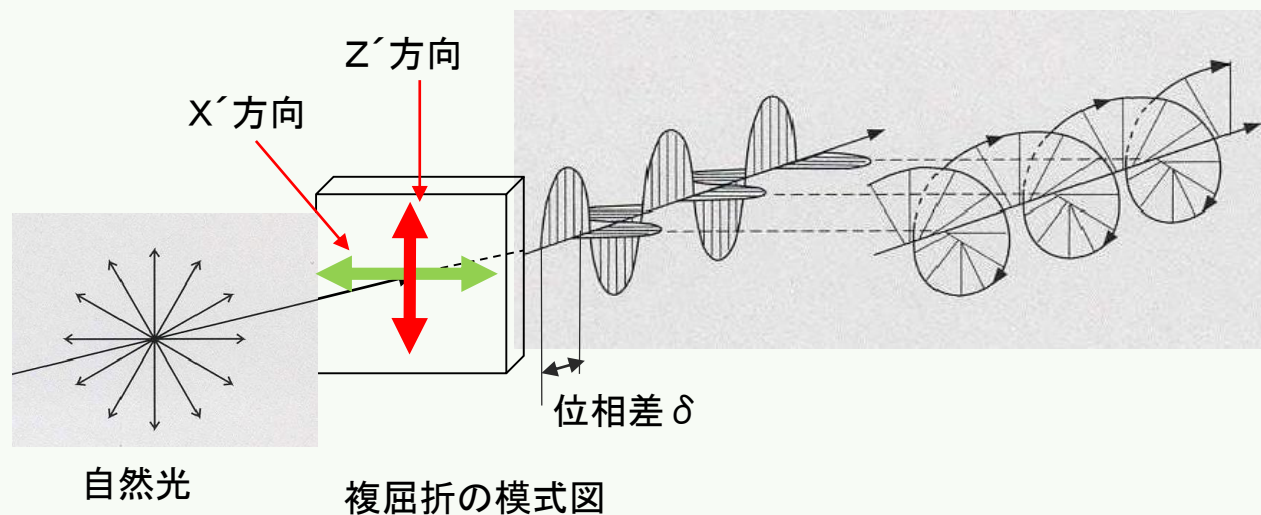


クロシドライト
(伸長の符号: 負)

4.6 リターデーション

- ① リターデーションとは、異方体の複屈折で生じたZ'方向とX'方向の位相差を光路差(距離)で表す量をいう。
- ② 偏光干渉色は、リターデーションの大きさで決まる。⇒ 色でリターデーションが分かる。
- ③ アスベストのリターデーションは、「厚さ×複屈折($\gamma - \alpha$)」である。
$$\delta = 2\pi d(\gamma - \alpha) / \lambda, \quad R = \delta \lambda / 2\pi = d(\gamma - \alpha)$$

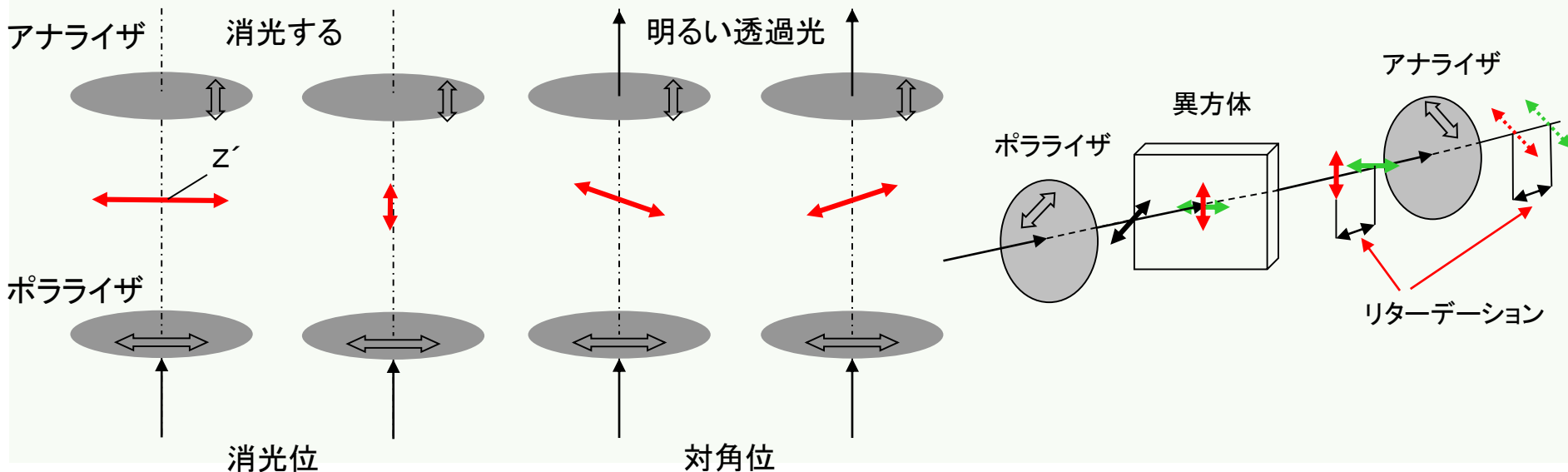
δ :位相差 λ :波長 R :リターデーション d :厚さ ($\gamma - \alpha$):複屈折
- ④ リターデーションは、複屈折が大きいほど、厚さが大きいほど大きい値になる。



4.7 直交ニコル(クロスポーラ)間の異方体による偏光干涉

＜消光位と対角位＞

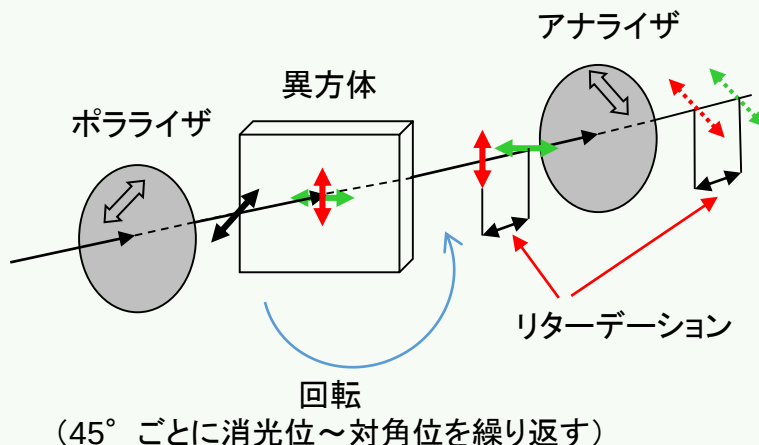
- ① ポラライザ、アナライザが直交ニコル(クロスポーラ)で、その間に異方体があるとき、異方体の Z' 方向とポラライザの振動方向が一致もしくは 90° をなすとき、入射光は消光する。このときの異方体の方位を消光位という。
- ② 異方体の Z' 方向がポラライザの振動方向と $\pm 45^\circ$ をなすとき。アナライザ射出光の強度が最も強い。このときの異方体の方位を対角位という。
- ③ 対角位の時に、リターデーションをもつ光が射出する。



4.7 直交ニコル(クロスポーラ)間の異方体による偏光干渉

＜直交ニコル(クロスポーラ)間の異方体の回転とアナライザ通過後の光の強度＞

- ① 異方体のZ'方向がポライザの振動方向と一致しているときの方位を 0° として、異方体を回転させると、回転角 θ と異方体のリターデーションに依存して、アナライザ通過光の強度が明暗の変化をする。
- ② $\theta = 0^\circ$ 、 $\sim 90n^\circ$ (n は整数)で消光する。(消光位)
- ③ $\theta = 45^\circ$ 、 $\sim 45 + 90n$ (n は整数)で、透過光の強度は波長とリターデーションで決まる。それにより偏光干渉色が決まる。(対角位)
- ④ かつ、リターデーションが波長の整数倍の値のとき、その波長は消光する。



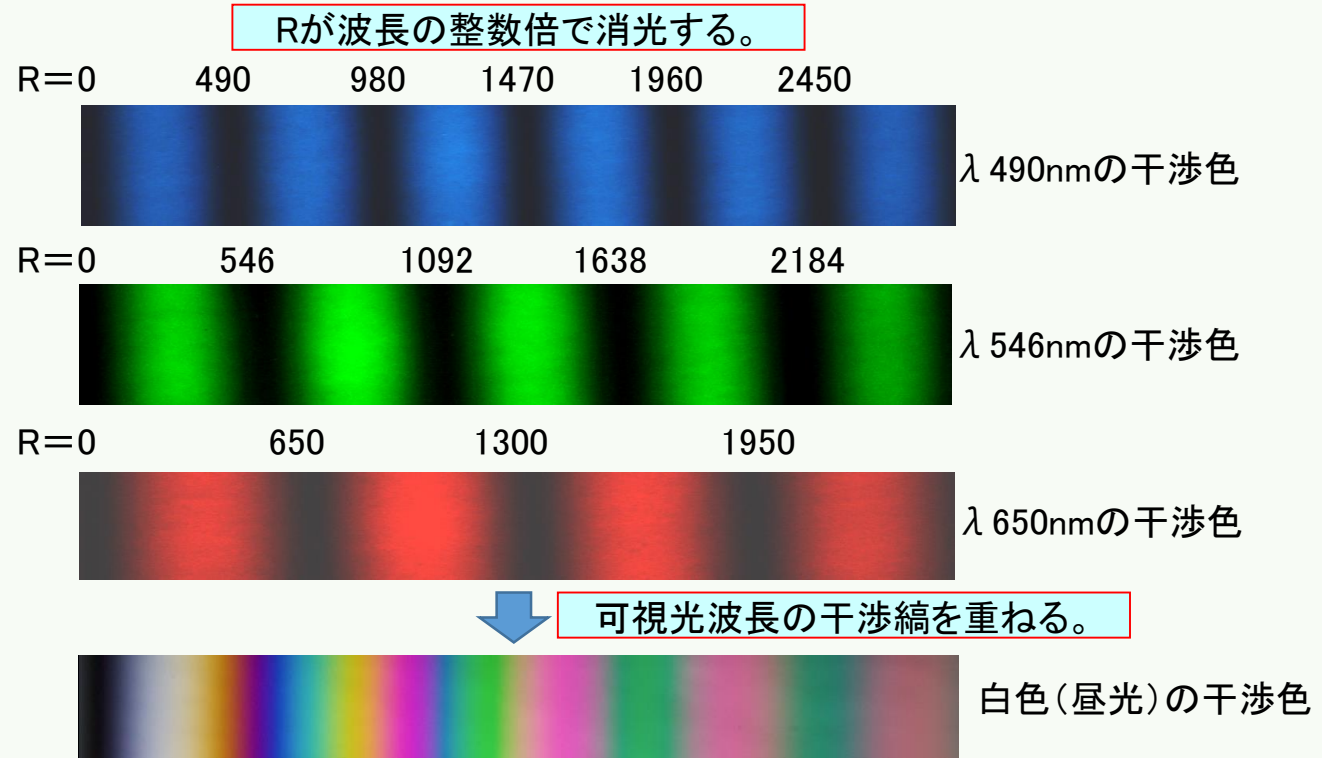
$$I(\theta) = I_0 \sin^2 2\theta \cdot \sin^2 (\delta/2) \\ = I_0 \sin^2 2\theta \cdot \sin^2 \left(\frac{\pi R}{\lambda} \right)$$

I_0 : 入射する光の強度 $I(\theta)$: アナライザ通過後の強度
 θ : 異方体の光学軸とポライザの振動方向がなす角度
 δ : 複屈折後の位相差
 R : リターデーション λ : 波長

4.7 直交ニコル(クロスポーラ)間の異方体による偏光干渉

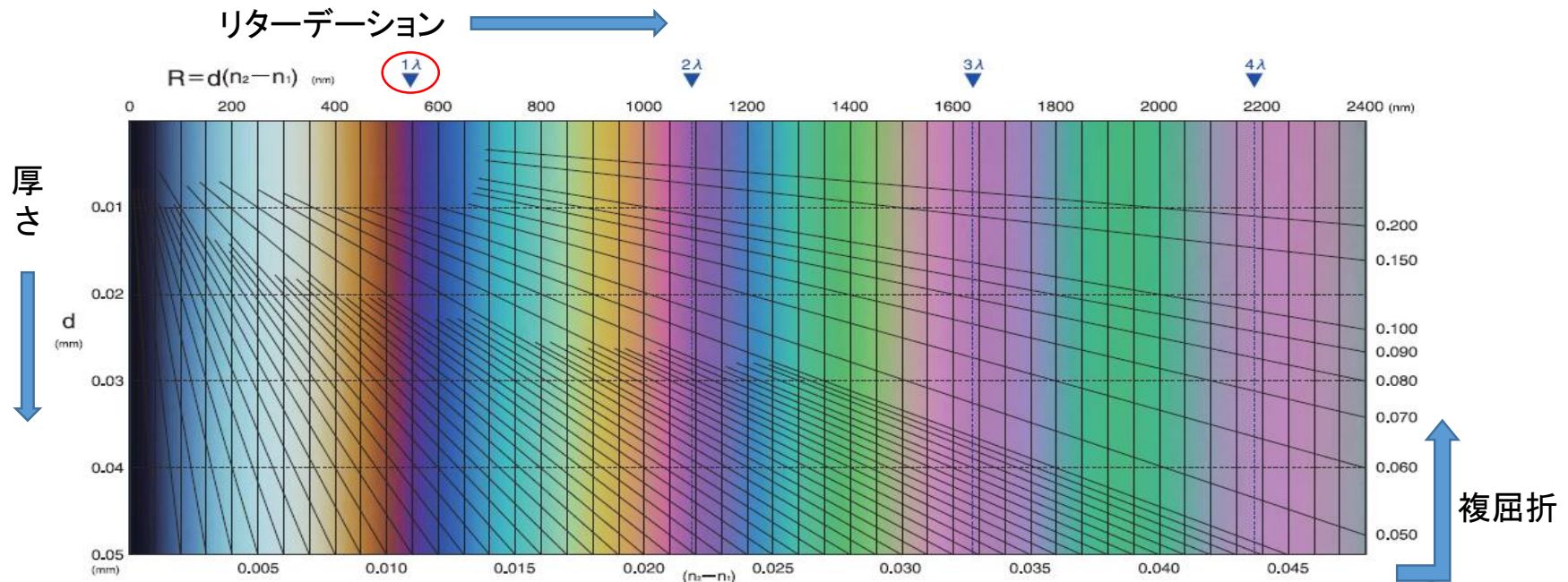
＜直交ニコル(クロスポーラ)間の異方体の回転とアナライザ通過後の光の強度＞
(石英くさびの干渉色)

- ⑤ リターデーションが0から一様に増加すると、単色ごとの透過光強度は、波長の整数倍毎の等間隔の明暗の縞になる(干渉縞)。波長が長いほど縞の間隔が広い。
- ⑥ 白色(昼光)における干渉色は、単色の干渉縞の和になる。



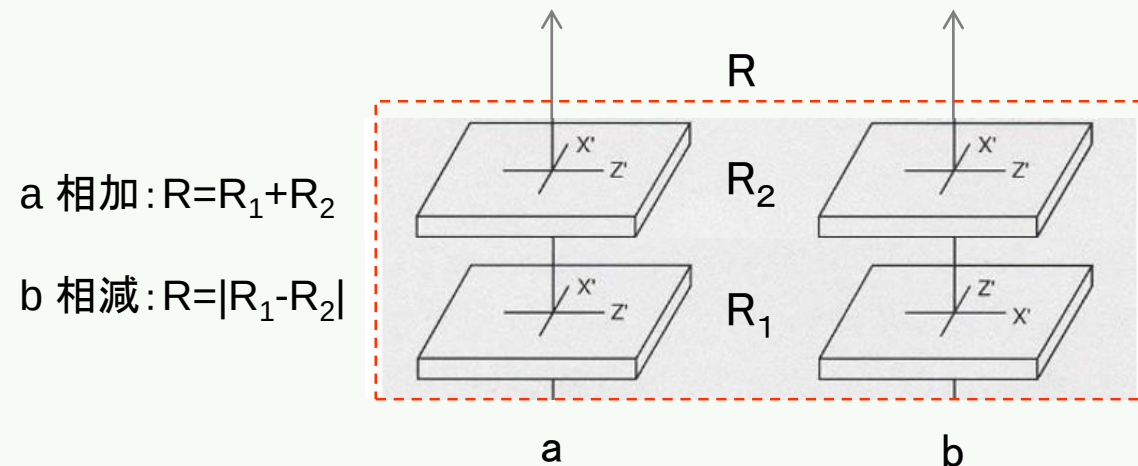
4.8 偏光干渉カラーチャート

- ① 昼光色下(白色)のリターデーション(単位: nm)に対応する偏光干渉色を示す。
⇒ 試料の対角位で示す干渉色からリターデーションや複屈折が分かる。
- ② 干渉色から、試料の厚さが分かれば複屈折が、複屈折が分かれば厚さが分かる。
- ③ リターデーション1 λ (波長530nm)の干渉色を鋭敏色(赤紫色)といい、その前後のリターデーションで黄～橙～赤紫～青と干渉色の変化が顕著である。リターデーションが400nm近傍以下では明暗の色を示す。



4.9 相加と相減

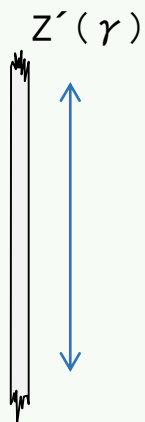
- ① 2つの異方体を重ねたとき、それぞれの $Z'(\gamma)$ 方向の方位によって、全体のリターデーションが決まる原則。
- ② 全体のリターデーションは、それぞれの $Z'(\gamma)$ 方向が平行であれば和(相加)になり、垂直であれば差(相減)になる。
- ③ 直交ニコル下で試料の異方性が確認できても Z' 方向は分からない。このとき、 Z' 方向が既知の鋭敏色板(鋭敏色検板)を組み合わせると、相加と相減の干渉色から試料の $Z'(\gamma)$ 方向の判定ができる。 $\Rightarrow$ 伸長の符号の判定に利用。



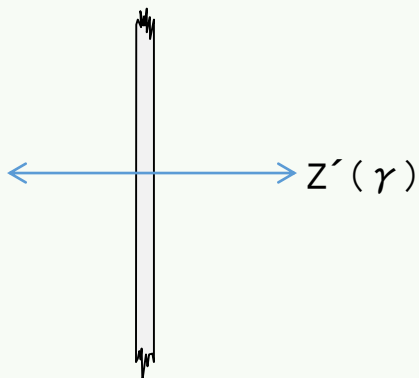
鋭敏色板(鋭敏色検板)の
 $\gamma (=Z')$ 方向表示

4.10 伸長の符号

- ① 伸長の符号(正または負)は、結晶の伸長方向と $Z'(\gamma)$ 方向との関係で定義する。
- ② 伸長の符号: 正 $\Rightarrow$ 結晶の伸長方向と $Z'(\gamma)$ 方向が一致(平行)。
- ③ 伸長の符号: 負 $\Rightarrow$ 結晶の伸長方向と $Z'(\gamma)$ 方向が直交(垂直)。
- ④ 結晶を鋭敏色板(鋭敏色検板)の γ 方向と同じ方位の対角位とし、鋭敏色板を入れると、結晶の干渉色は鋭敏色に対して相加または相減の干渉色を示す。
- ⑤ 結晶の干渉色が相加であれば、正。相減であれば、負と判定する。



伸長の符号: 正



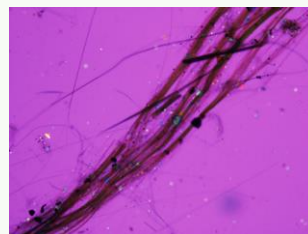
伸長の符号: 負



＜アモサイトの例＞

干渉色青は鋭敏色に対して相加のリターデーション。

$\Rightarrow$ 伸長の符号: 正



＜クロシドライトの例＞

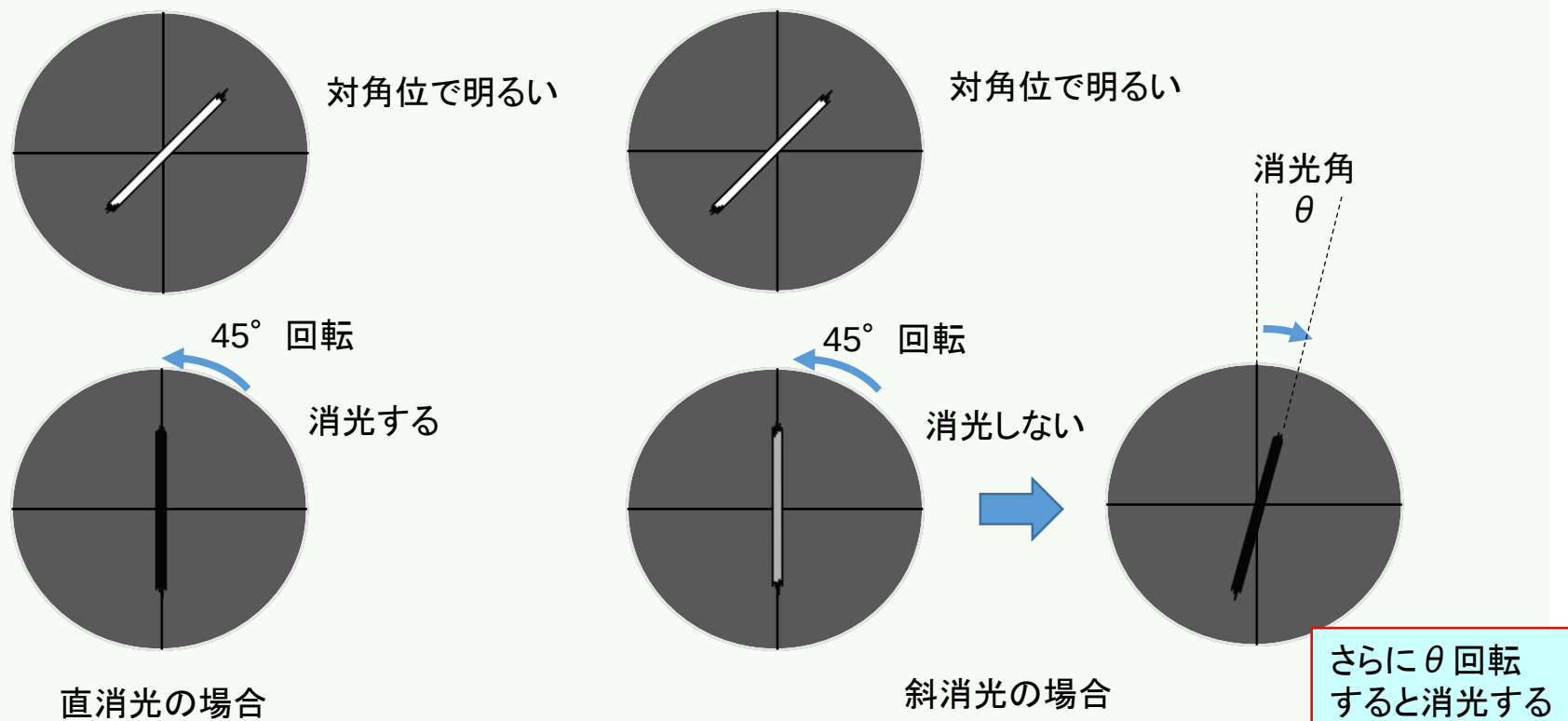
干渉色黄は鋭敏色に対して相減のリターデーション。

$\Rightarrow$ 伸長の符号: 負

視野背景は鋭敏色板(鋭敏色検板)の干渉色

4.11 直消光と斜消光

- ① 結晶の伸長方向を、ポラライザまたはアナライザの振動方向（水平または垂直方位）に合わせたとき消光することを直消光という。
- ② ポラライザまたはアナライザの振動方向に対して角度 θ ($0^\circ < \theta \leq 45^\circ$) のときに消光することを斜消光という。 θ を消光角といい回転ステージの角度で読み取ることができる。

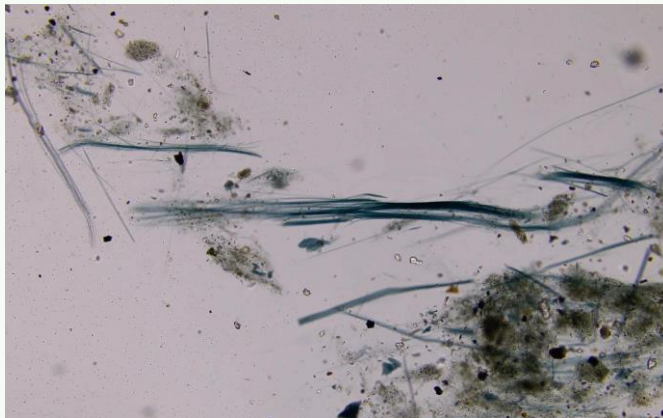


4.12 多色性

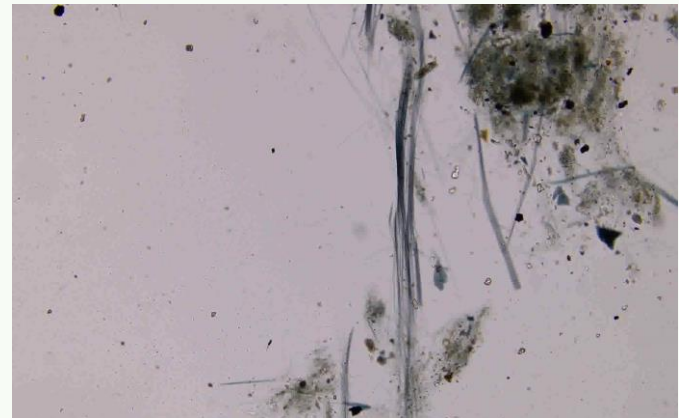
- ① 異方体で光の透過率が入射方向によって異なる性質を多色性という。
- ② γ 方向と α 方向で光の吸収が異なることで生ずる。
- ③ アナライザを光路から抜き、ポラライザのみの単ニコル(オープンポーラ)観察で評価する。
- ④ ポラライザの振動方向(水平方向の直線偏光)に対する光の吸収特性が色として観察される。

＜クロシドライトの多色性＞

結晶の伸長方向(α 方向)で光の吸収が大きく、透過光が青になる。
幅方向(γ 方向)は灰色になる。



↔
90°
ステージ回転



クロシドライトの多色性

4.13 偏光顕微鏡による分散観察

- ① 偏光顕微鏡のポラライザは原則として常時光路に入っている。
- ② したがって、偏光顕微鏡の分散観察は、アナライザを光路から抜いた単ニコル(オープンポーラ)で行う。
- ③ 多色性観察同様に、ステージを回転させて試料の方位を変え、2つの屈折率(γ 、 α)の分散色を評価する。
- ④ 分散色カラーチャートの分散色は、昼光色照明下の色なので、照明は必ず昼光色に合わせる。

アスベスト分析法による分散観察法の条件の違い

分析法	試料の回転	照明色 (色温度:ケルビン)	偏光板の使用	評価基準
偏光法	させる (回転ステージ)	昼光色 (5500K)	ポラライザ	分散色 カラーチャート
位相差分散法	しない (XYステージ)	暖色(ハロゲンランプの色) (3400K)	参考に回転アナライザを入れる	分散色一覧表

5 顕微鏡の基本の調整と操作

<キーワード>

ピント合わせ・光軸調整・視度補正(レチクルを挿入した場合)・眼福調整・視野絞りの調整・開口絞りの調整・アイポイント

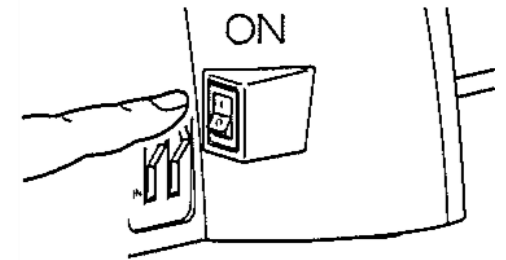
5.1 ピント合わせ法

明視野照明での顕微鏡観察の基本

まずは、明視野で顕微鏡が観察できること

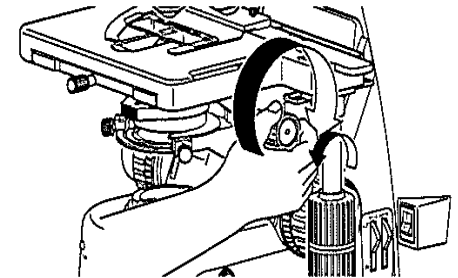
① 電源スイッチをONにする

電源スイッチを押して、顕微鏡の電源をONにします。
(透過照明用ランプが点灯します)



② コンデンサの位置を上限から少しだけ下げた位置にする

コンデンサ上下ノブを回し、コンデンサを上限位置にし（カチッと止まる位置）、そこから少しだけ下げた位置にします。



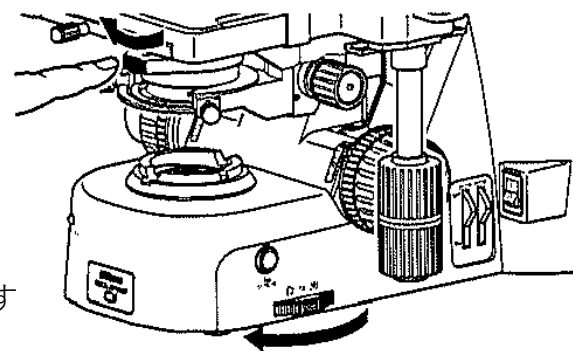
コンデンサが下げたまに
なっていることがよくあります。
注意しましょう。

5.1 ピント合わせ法

③ 視野絞り、開口絞りを全開にする

視野絞りダイヤル、開口絞りレバーをそれぞれ時計方向へ一杯まで回して各絞りを全開にします。

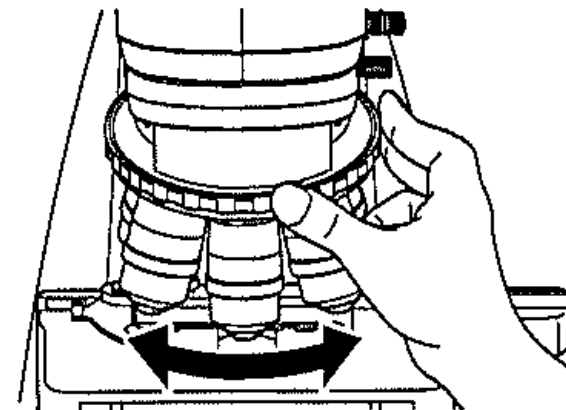
まずは顕微鏡が覗ける状態にするため、照明光を制御する絞り（視野絞り、開口絞り）は全開にしておきます。



④ 10×対物レンズを光路に入れる

レボルバを回して10×の対物レンズを光路に入れます。

レボルバは、クリック感が感じられるまで回します。



レボルバは時計方向に回すと倍率が上がるように装着されているのが通常です。また、対物レンズの倍率表示は倍率の数字を見るか、カラーコードを見ればわかるようになっています。

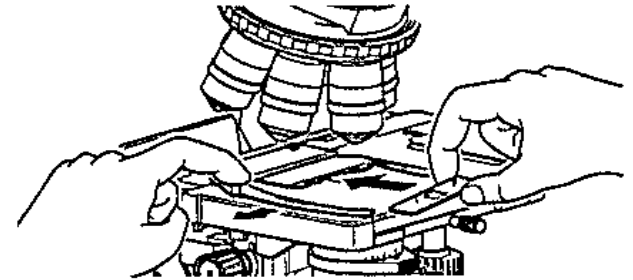
4×赤・10×黄・20×黄緑・40×水色・100×白

5.1 ピント合わせ法

⑤ 標本をセットし、検鏡部位を光路に入れる

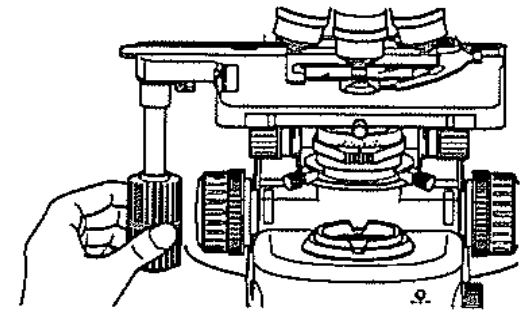
- i) 標本ホルダーの可動側の爪を開いて、標本をステージ上に置き、爪を静かに戻して標本を固定します。

*プレパラートの表裏を間違えないように、カバーガラスがついている方が表（上）になります。



- ii) ステージハンドルを回して、標本の検鏡部位を光路に入れます。
(カバーガラス下に封入されている試料部分に光が通る状態にする)

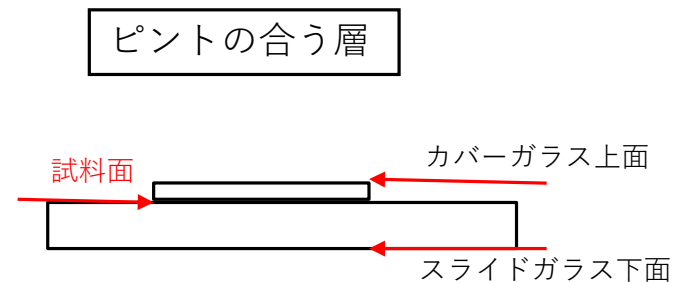
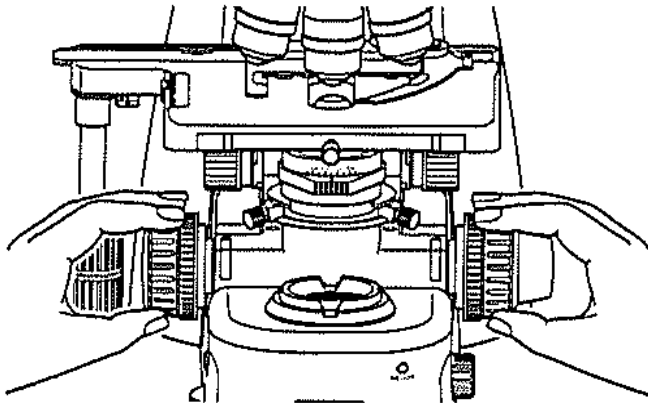
*光源が点灯していれば照明光の位置がわかるので、そのスポットの部分に標本部が照明光にくるようにします。



5.1 ピント合わせ法

⑥ 標本にピントを合わせる

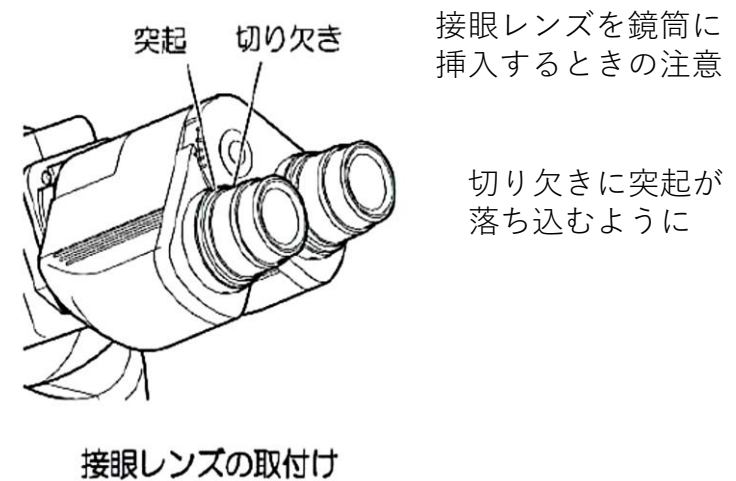
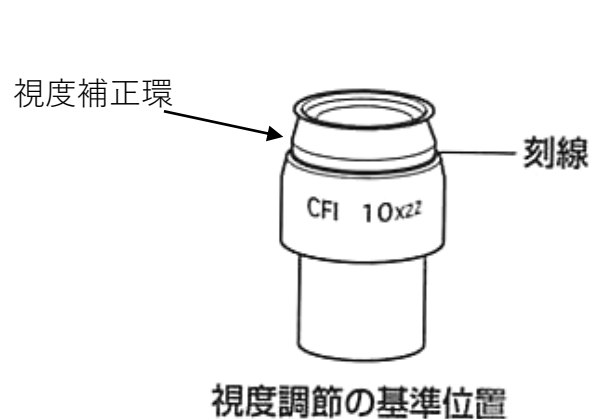
- i) 接眼レンズから覗く前に（標本を割ったり、破損させないために）粗動フォーカスハンドルを奥側に回して、ステージを上限位置まで上げておきます。接眼レンズから覗いて、粗動フォーカスハンドルでステージを下げる方向で標本にピントを合わせます。
- ii) 粗動フォーカスハンドルでほぼピントが合ったら、微動フォーカスハンドルを上下に回して正確にピントを合わせます。



5.2 視度調整

視力は個人それぞれ異なりますので、観察を始める前に必ず視度補正を行ってください。また、観察途中でも目の疲れによって視力が変化しますので、時々チェックすることが好ましいです。

視度補正の操作は左右の視力差を補正するだけでなく、対物レンズを切り換えたときのピントずれを少なく、顕微鏡の操作性を向上させます。
(同焦点性が良くなる)



5.2 視度調整

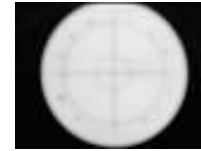
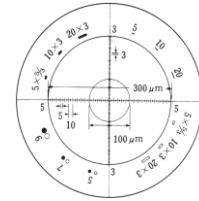
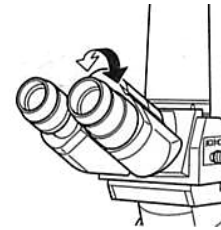
<アイピースグレイティクル（計数用焦点板）を挿入した場合の手順>

- ① 接眼レンズの補正環でアイピースグレイティクルに目の視度を合わせる。

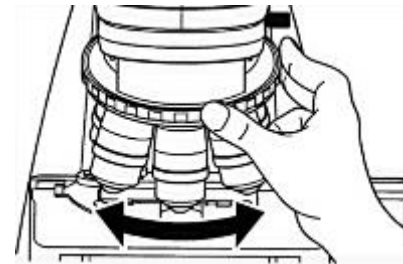
（位相差分散法では「利き目」側で合わせる）

（偏光法では「右目」側で合わせる）

最初に大きくぼかしてから、アイピースグレイティクルにピントを合わせる（雲霧法）



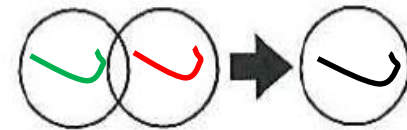
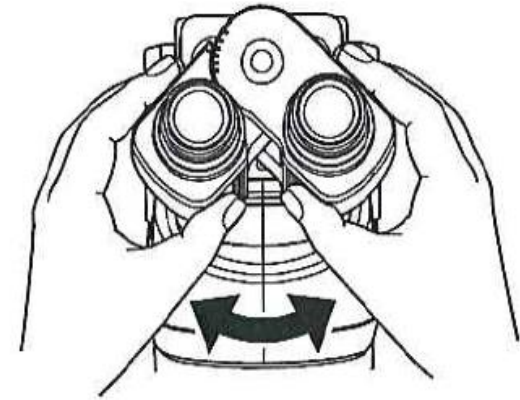
- ② アイピースグレイティクルの入った接眼レンズ側の目だけで、40×で標本にピントを合わせる。



- ③ 10×に戻してアイピースグレイティクルの入っていない接眼レンズの視度補正環で標本にピントを合わせる。

5.3 眼福調整

アイポイントに自分の瞳を置いて眼幅調整をします。



双眼部は平行光学系になっていますので、接眼レンズに目を近づけたら、すぐに覗き込まないで、壁など遠くを見る眼幅で、接眼レンズの像に目を落とす感じにすると、双眼視できます。

- ・ 双眼鏡のように折り曲げるようにして眼幅を調整します。

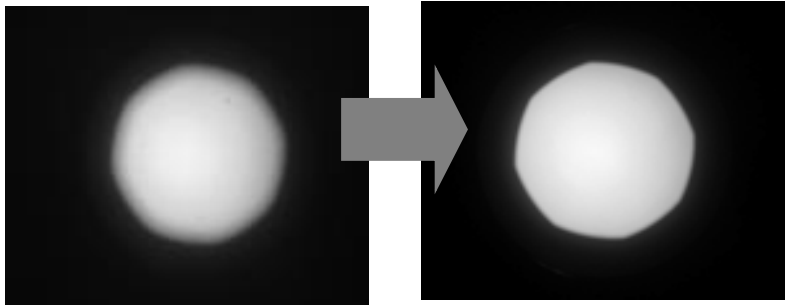
双眼視するには、遠くを見るような（開散状態）でピントを合わせる意識で眼幅を調整すると容易です。（双眼部の光軸は平行になっています）

5.4 視野絞りの調整

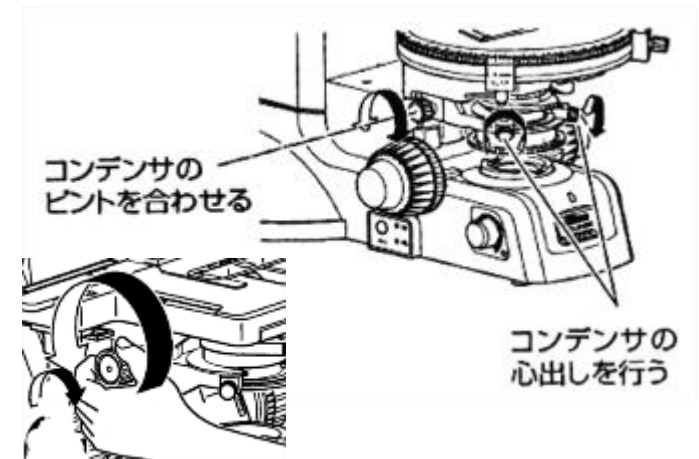
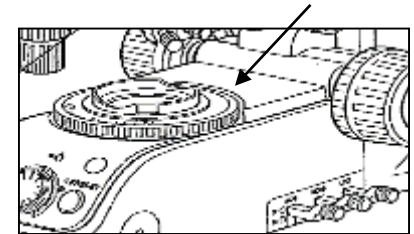
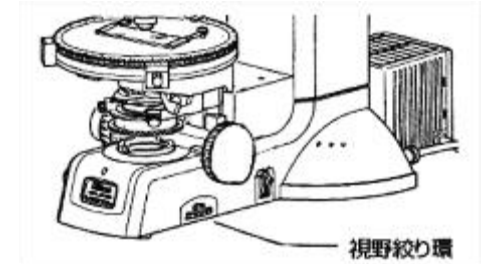
① 視野絞りのピント合わせ

視野絞りを視野内に見えるまで絞って、コンデンサの高さ調節によってピントを合わせます。

視野絞りのエッジがはっきりするまでピントを合わせます。



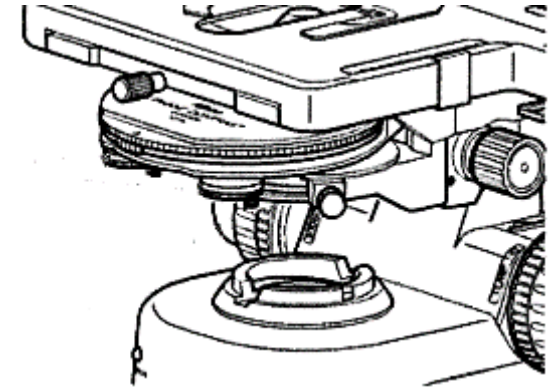
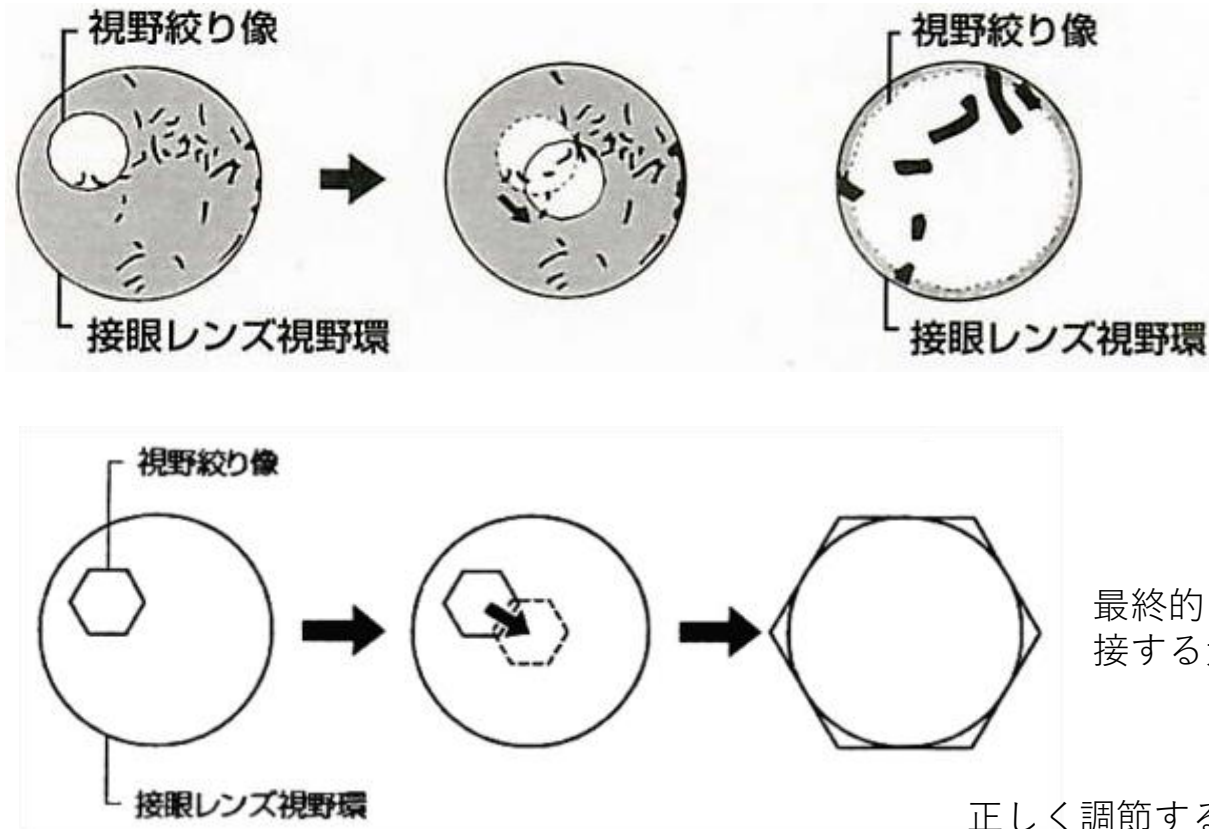
40×観察での視野絞り像は、10×に比べてエッジの明確さが落ちます。



5.4 視野絞りの調整

② 視野絞りのセンタリング

視野絞り像を中心に移動させます。操作はコンデンサ心出しネジ（2本）で視野絞りを移動させます。その後、接眼レンズ視野環に外接するまで視野絞りを広げます。



最終的には、接眼レンズの視野環に外接する大きさで視野絞りを調整します。

正しく調節することで、像のS/N比が上がります。

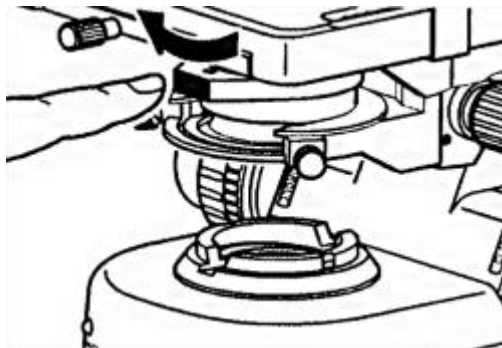
5.5 開口絞りの調整

開口絞り（コンデンサ絞り）は、対物レンズの性能を引き出す重要な役割を持っており、標本の状態に合わせて調整します。

対物レンズの持つ開口数に対して、開口絞りを70～80%にすると適切（標準的）な観察ができます。開口絞りを開けると解像力は高くなり、絞るとコントラストが上がり、焦点深度が深くなります。



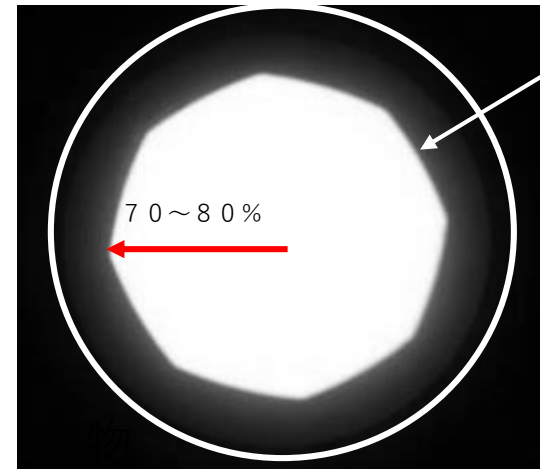
開口数



コンデンサ開口絞り



接眼レンズを引く抜いて
瞳面を見ます。



開口絞り像

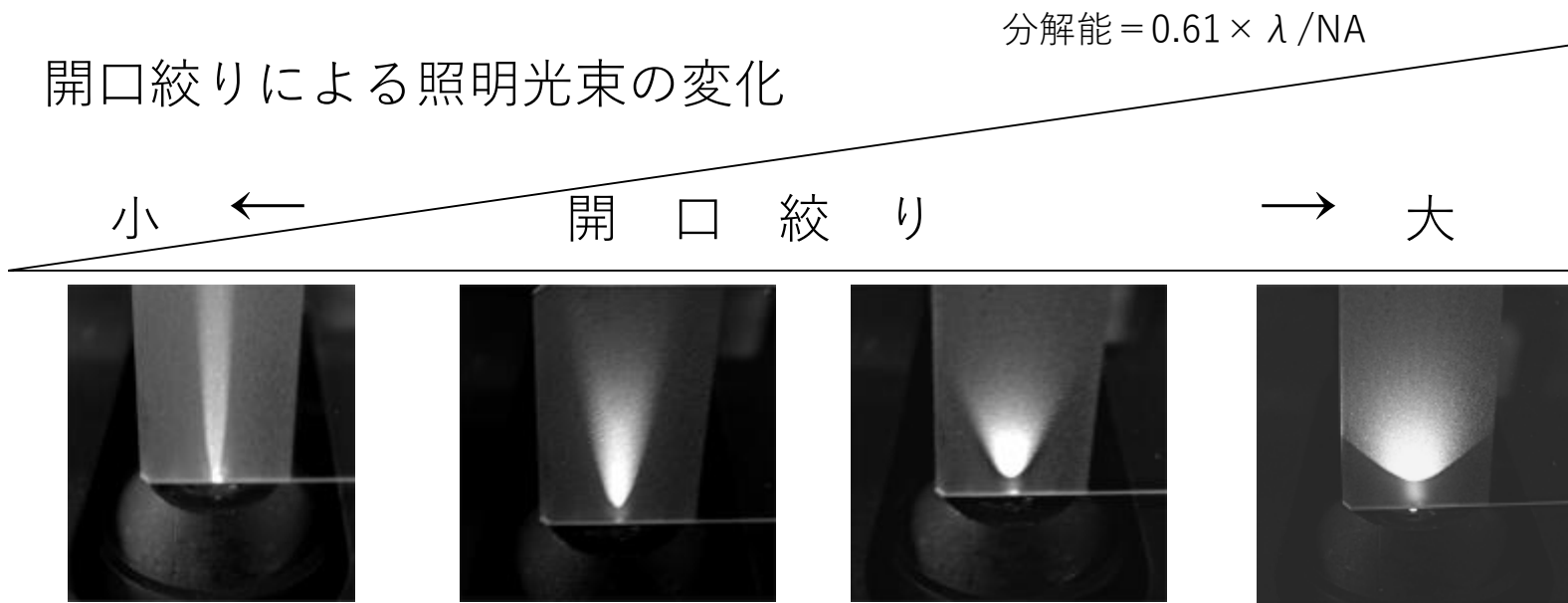
対物レンズの瞳面

5.5 開口絞りの調整

開口絞りの効果

開口絞りを開閉することによって、標本を照明する光束の角度が変わり、見え方が変化します。

開口絞り面に結像した光源像を大きく使うと解像力が上がり、小さく使うとコントラストが上がり、焦点深度も深くなります。



6 位相差顕微鏡・分散顕微鏡の調整

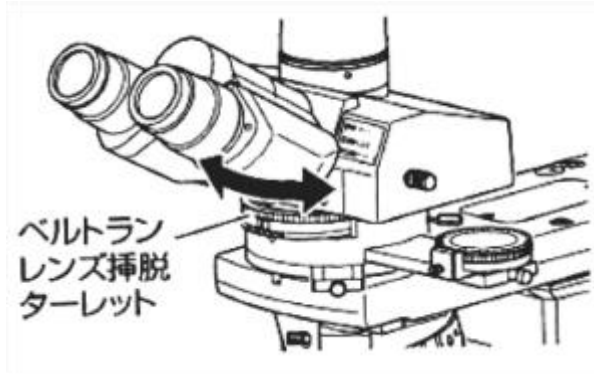
<キーワード>

心出し望遠鏡、位相板、リング絞り(Ph1、Ph2)、遮蔽板、色温度、

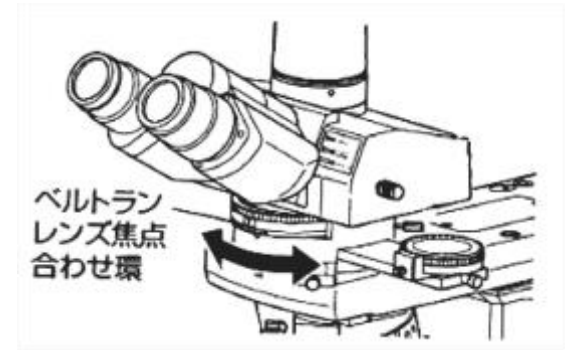
6.1 位相差顕微鏡の心出し調整

リング絞りと位相板の心だしは、ベルトランレンズを光路に入れるか、または心だし望遠鏡を使用を接眼部に差し込んで調節して行います。

ベルトラン
レンズを使用す
る場合



通常（標本）観察と対物レンズの瞳面の観察（B）との切り替えを行います。



対物レンズのリング像（瞳面）へのピント調整を行います。

心だし望遠鏡
を使用する場
合

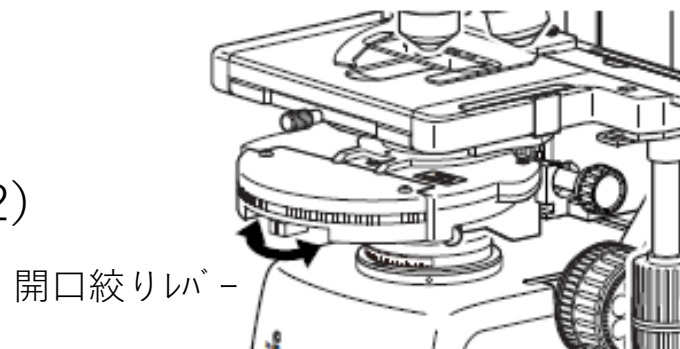


鏡筒の接眼レンズ（どちらか）を抜いて心だし望遠鏡を差込みます。接眼部のローレットを回して、リング像（瞳面）に視力を合わせます。（心だし望遠鏡は回転防止になっていないのでフランジ部を押さえて視度調整します。右図）

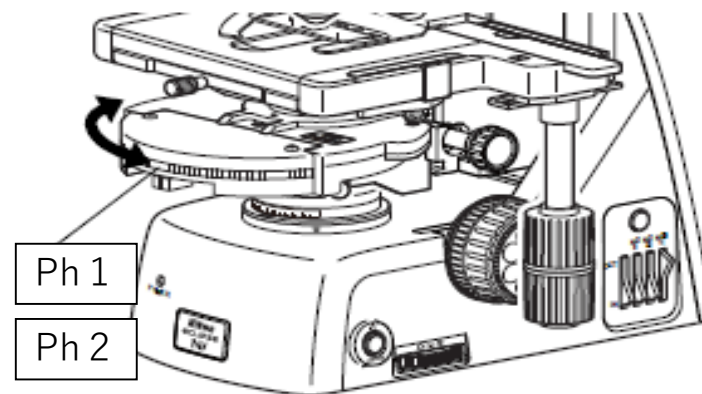
6.1 位相差顕微鏡の心出し調整

コンデンサの「リング絞り」と対物レンズの「位相板（リング）」の心だしを心だし望遠鏡（またはベルトランレンズ）を使って調整します。（リング同士の重ね合わせ）

- ① 開口絞りを開放にして（時計方向）
（コンデンサのターレットを回してPh 1, Ph2）
のポジションにします。



- ② 対物レンズを10Xにします。
（コンデンサと位相差対物レンズのPhコード
Ph1を合致させます）



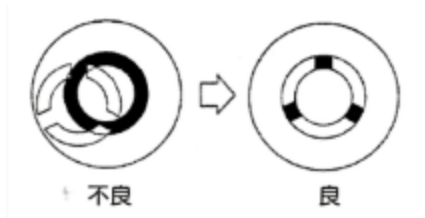
6.1 位相差顕微鏡の心出し調整

- ③ 鏡筒の接眼レンズ（どちらか）を抜いて、心だし望遠鏡を差込みます。接眼部のローレットを回して、リング像に視力を合わせます。（心だし望遠鏡は回転防止になっていませのでフランジ部を押さえて視度調整します。右図。ベルトランレンズを使うと便利）

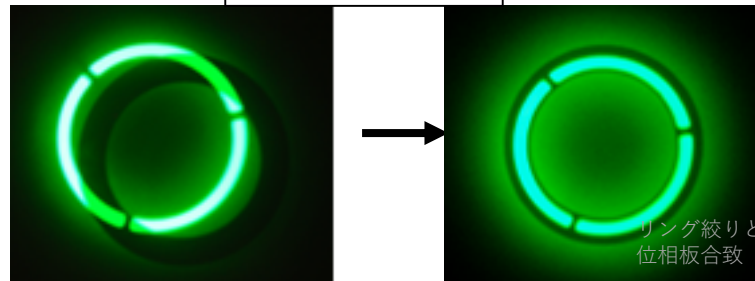


- ④ コンデンサの心だしねじ穴に工具を差し込んで、工具を回転させてリングの心だしをします（まわし過ぎるとネジが脱落するので注意）。

※工具差し込み状態は次ページ図参照



10X-Ph 1 の場合



リング絞り
位相板合致

40X-Ph2の場合



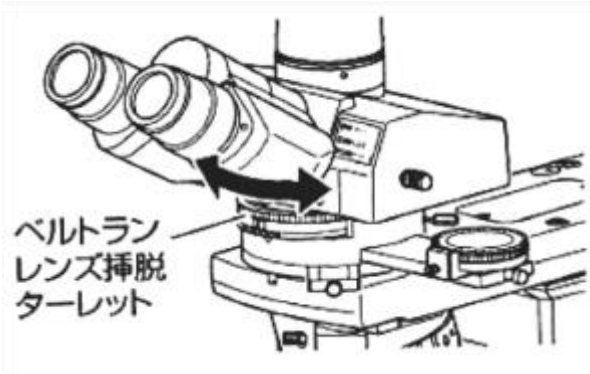
- ⑤ 40Xの対物レンズに切り換えて、Ph 2で同様に心だしをします。心だしが終われば工具を抜き取ります。

注意1：リング 合わせは標本の物体のない部分で、カバーガラス・スライドガラスを通して行います。

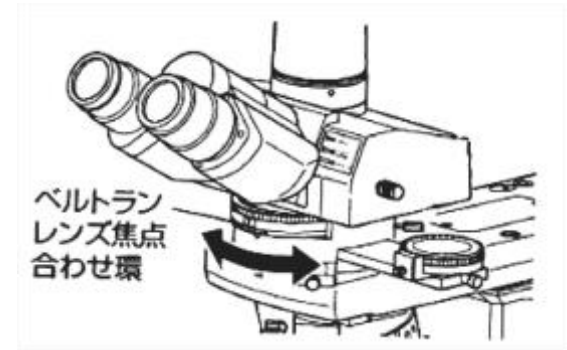
6.2 分散顕微鏡の心出し調整

リング絞りと遮蔽板の心だしは、ベルトランレンズを光路に入れるか、または心だし望遠鏡を使用を接眼部に差し込んで調節して行います。

ベルトラン
レンズを使用す
る場合



通常（標本）観察と対物レンズの瞳面の観察（B）との切り替えを行います。



対物レンズのリング像（瞳面）へのピント調整を行います。

心だし望遠鏡
を使用する場
合



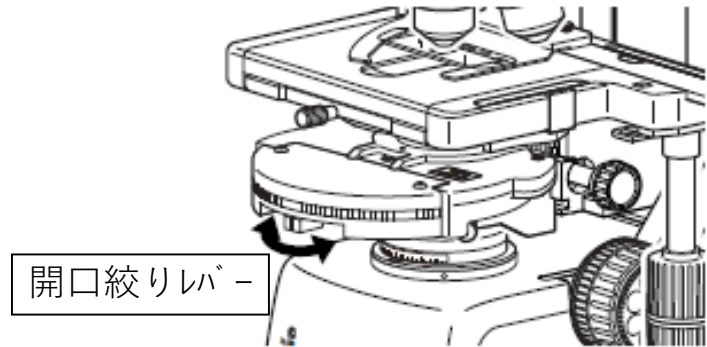
鏡筒の接眼レンズ（どちらか）を抜いて心だし望遠鏡を差込みます。接眼部のローレットを回して、リング像（瞳面）に視力を合わせます。（心だし望遠鏡は回転防止になっていないのでフランジ部を押さえて視度調整します。右図）

6.2 分散顕微鏡の心出し調整

コンデンサの「リング絞り」と対物レンズの「遮蔽板（リング）」の心だしを心だし望遠鏡（またはベルトランレンズ）を使って調整します。（リング同士の重ね合わせ）

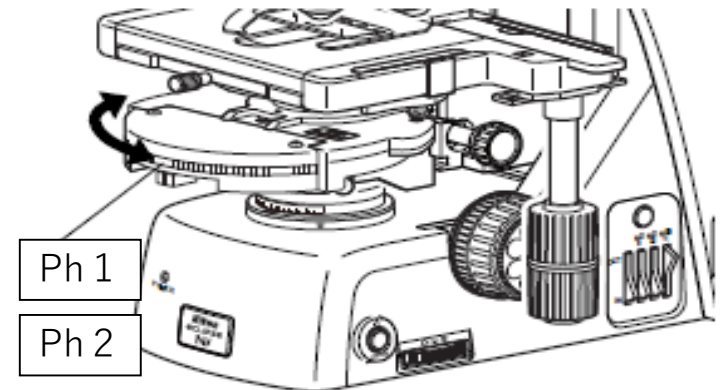
① 開口絞りを開放にして（時計方向）

コンデンサのターレットを回してPh 1（Ph 2）のポジションにします。



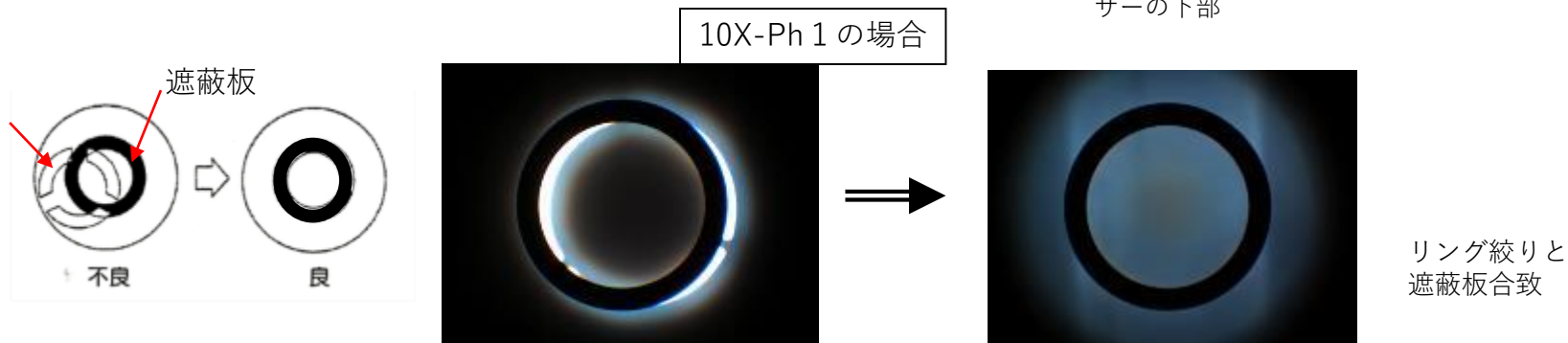
② 対物レンズを10X（40x）にします。

（コンデンサと分散対物レンズのPhコードを合致させます）



6.2 分散顕微鏡の心出し調整

- ③ リング絞り心だしノブクランプねじを僅かに緩めて（緩め過ぎると脱落するので注意）、リング絞り心だしノブを回転させてリング絞りの心だしをします。



遮蔽板の中にリング絞りを同心円状に合わせます。

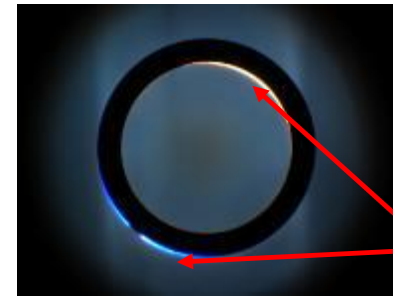
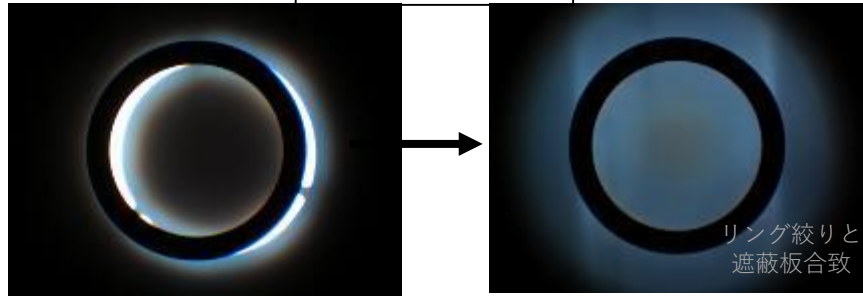
（位相板の場合はリング絞りが見えますが、分散の遮蔽板はリング絞りが見えないのでリングの内、外にリング絞りを移動させて同心円状に心だしします）

位相差ターレットコンデンサの場合は、10XとPh1の心だしが完了すれば40xとPh2の心だしは不要です。ユニバーサルコンデンサの場合は40Xの対物レンズに切り換えて、Ph2で心だしをします。心だしが終わればリング絞り心だしノブクランプねじを締め、心だし工具を抜き取ります。

6.2 分散顕微鏡の心出し調整

リング照明の心だしは、標本ごとに正確に調整するように心がけてください。分散効果が低下します。観察中も心出しのずれがないか注意が必要です。

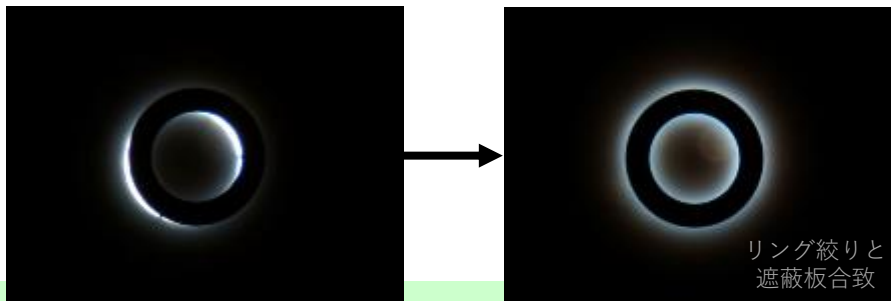
10X-Ph 1 の場合



カバーガラスのわずかな傾きで、リングの照明光が漏れます。

リング照明漏れ光

40X-Ph2の場合



7 偏光顕微鏡の調整

<この章のキーワード>

回転ステージの心出し調整、レボルバの心出し調整、直交ニコル(クロスポーラ)調整、定方位板による調整、

<適正に調整された偏光顕微鏡の状態>

- ① 視度、眼福が観察者に合わせて適正に調整されている。
- ② 焦点板の十字線とポラライザ、アナライザの振動方向が一致していて、ポラライザの振動方向が視野の水平方向である。
- ③ ステージを回転させたときの視野の中心位置と、焦点板の十字の中心が一致している。
- ④ 対物レンズを変換しても、視野の中心位置が変わらない。
- ⑤ ポラライザ、アナライザは、適正な直交ニコル(クロスポーラ)になっている。

7.1 回転ステージとレボルバの心出し調整

＜回転ステージの心出し調整＞（回転ステージ心出し機構がある場合）

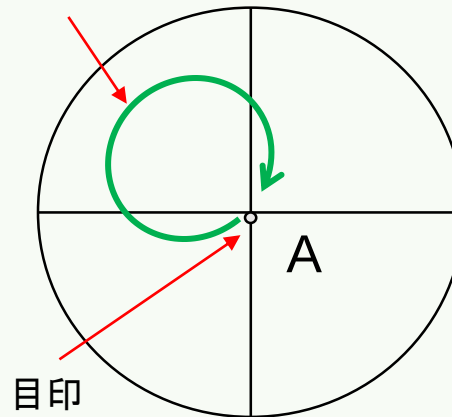
- ① 偏光10×対物レンズを光路に入れて、試料にピント合わせする。
- ② 点状の目印(A)を十字の中心に合わせて、ステージを一回転させる。
- ③ ステージをほぼ180° 回転させ、目印と中心までの距離の半分の位置に、心出しつまみで目印を移動させる。
- ④ 再度、目印を十字の中心に合わせる。
- ⑤ ②～③を繰り返すと、ステージの回転中心と目印の位置がほぼ一致する。

心だしつまみ(操作③)

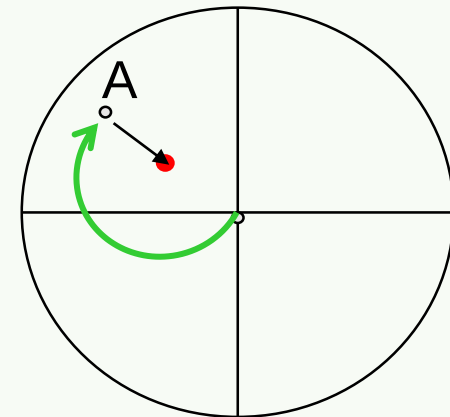


ステージつまみ(操作②、④)

この円弧の中心がステージの回転中心



操作②の視野

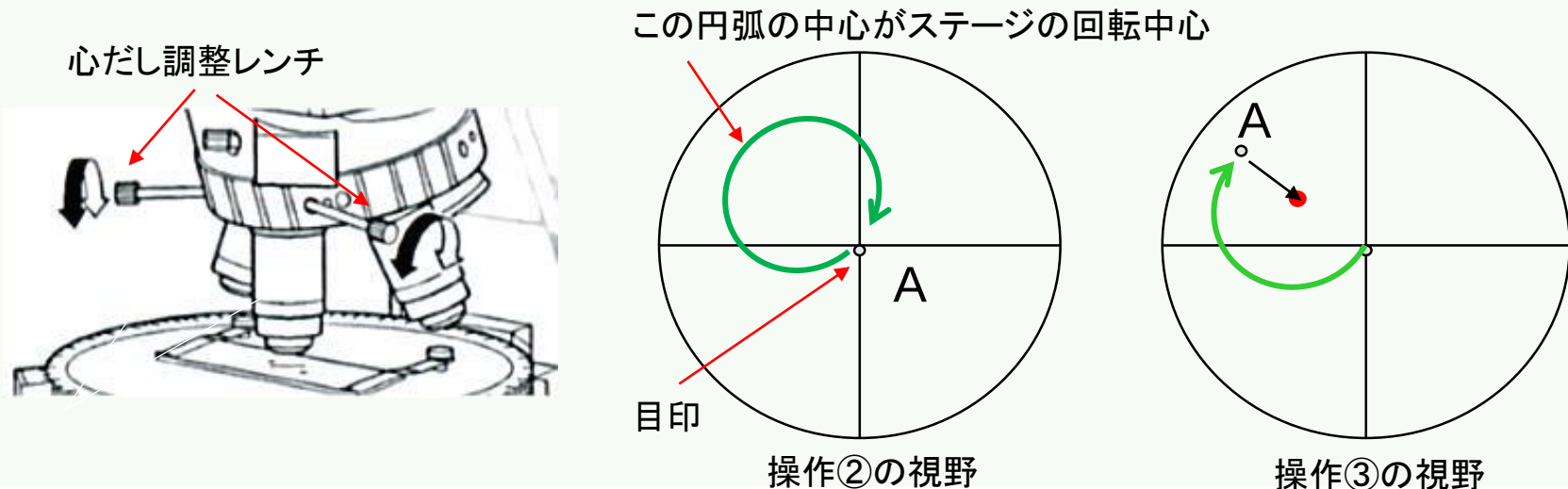


操作③の視野

7.1 回転ステージとレボルバの心出し調整

＜レボルバの心出し調整＞（回転ステージ心出し機構がない場合）

- ① 偏光10×対物レンズを光路に入れて、試料にピント合わせする。
- ② 点状の目印(A)を十字の中心に合わせて、ステージを一回転させる。
- ③ ステージをほぼ180° 回転させ、目印と中心までの距離の半分の位置に、心出し工具で目印を移動させる。
- ④ 再度、目印を十字の中心に合わせる。
- ⑤ ②～③を繰り返すと、ステージの回転中心と目印の位置がほぼ一致する。

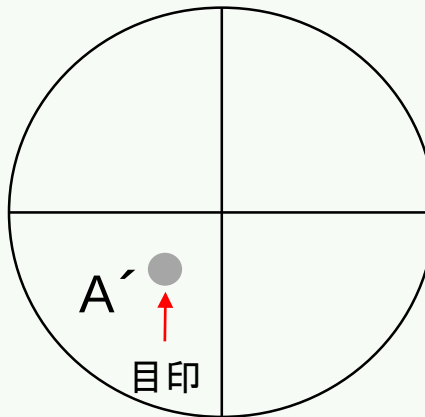
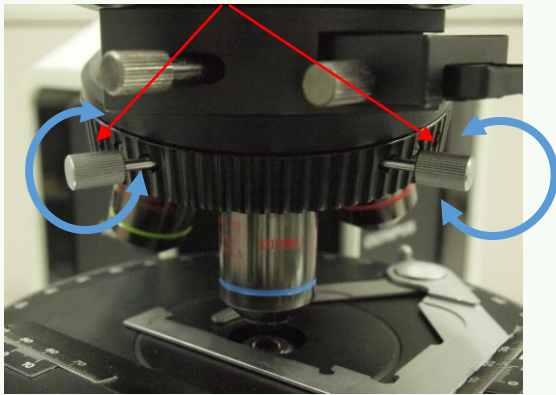


7.1 回転ステージとレボルバの心出し調整

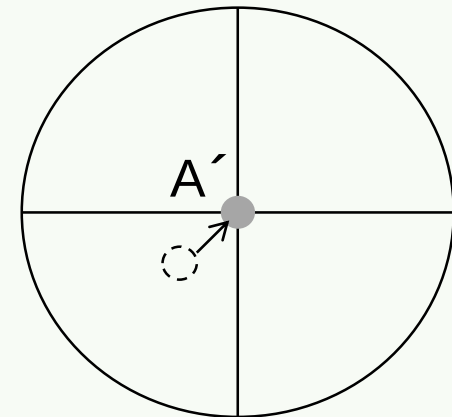
＜レボルバの心出し調整＞

- ① 偏光10×対物レンズを光路に入れて、点状の目印(A)を十字の中心に合わせる。
- ② 偏光40×対物レンズに変換して、ピントを合わせる(目印A')
- ③ 心出し調整レンチをレボルバの調整穴に入れる。
- ④ 左右のレンチを回して、目印(A')を十字の中心に合わせる。
- ⑤ 他の対物レンズも同様に調整する。

心だし調整レンチ



操作②の視野



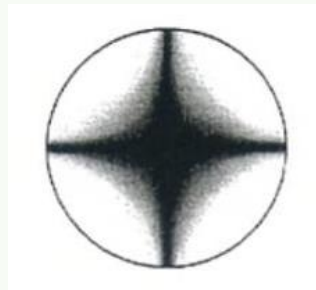
操作④の視野

7.2 直交ニコル(クロスポーラ)の調整

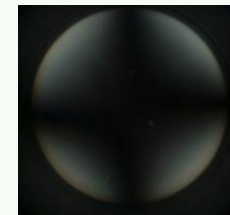
- ① 偏光40×対物レンズで試料にピントを合わせる。
- ② プレパラートをブランク(粒子や繊維が見えない)になる箇所に移動させる。
- ③ 照明を最大とし、コンデンサの開口絞りを全開にして、角度目盛り「0°」とした回転アナライザを光路に入れる。
- ④ 左右接眼レンズの一方を抜き取って、スリーブ内を覗き、対物レンズ瞳を見る。瞳上に黒い干涉縞(アイソジャイア)が見える。
- ⑤ ポラライザの回転ロックを解除して、ポラライザを僅かに回転させて、アイソジャイアを適正な形に調整する。



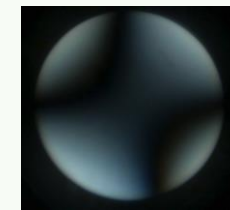
対物レンズ瞳に見えるアイソジャイア



適正なアイソジャイア
(拡大イラスト)



ほぼ適正

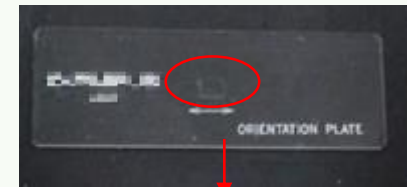


調整不十分

実際の写真

7.3 定方位板による調整(定方位板が付属する機種)

- ① 外部からの衝撃(腕をぶつけるなど)で、鏡筒の方位が動いてしまうと、焦点板の十字線の方位とポラライザ、アナライザの振動方向がずれてしまうことがある。
- ② 十字線の方位を偏光板の振動方向に合わせる調整に、定方位板(結晶片)を使う。
- ③ 直交ニコル(クロスポーラ)とし、偏光10×対物で基準へき開線にピントを合わせる。
- ④ 視野の中心でへき開線を水平方位にする。
- ⑤ ステージを回して、結晶部分が消光する位置でステージを固定する。
- ⑥ アナライザを抜いて、視野内の基準へき開線に改めてピントを合わせる。
- ⑦ 鏡筒の固定ねじを緩め、鏡筒方位を動かして、焦点板の水平線と基準へき開線を平行になるよう調整する。
- ⑧ 鏡筒固定ねじを締める。



定方位板の外観

結晶片

基準へき開線



アナライザを抜いた後の基準へき開線の拡大像(写真)

7.4 照明の色の調整

- ① ハロゲンランプ光源の場合は、昼光色に調整する必要がある。
- ② 透過照明の光路にフィルタ挿脱ノブがあるので、昼光(色補正)フィルタを光路に入れる。
(昼光(色補正)フィルタの名称は、メーカーにより異なるので、取扱説明書で確認する。)

* LED光源では、そのままで昼光色になっているので昼光(色補正)フィルタは不要である。

