

研究

同心ヘテロダイン光プローブを用いる レーザー走査顕微鏡

合崎紳一郎*・小松 進一

早稲田大学理工学部応用物理学科 〒169 東京都新宿区大久保 3-4-1

(1994年4月4日受付, 1994年10月25日受理)

Concentric Heterodyne Optical Probe for Laser Scanning Microscope

Shinichiro AIZAKI and Shinichi KOMATSU

Department of Applied Physics, Waseda University,
3-4-1, Okubo, Shinjuku-ku, Tokyo 169

(Received April 4, 1994; Accepted October 25, 1994)

We had developed a laser scanning microscope (LSM) with a differential heterodyne optical probe. This LSM had the optical probe formed as the small crossing region of two incident laser beams whose frequencies were slightly different from each other. In this study we changed the shape of the $\lambda/2$ plate from a rectangle to an annulus in order to form a coaxial laser beam whose "core" and "clad" have different frequencies. By this improvement the probe becomes circular symmetry and the imaging quality becomes direction independent. Another configuration for differential heterodyne detection using two photomultipliers was examined also. The contrast of the beat signal and the resultant image quality were fairly improved.

1. はじめに

本論文で述べるレーザー走査顕微鏡は、周波数が互いにわずかに異なる2本の入射レーザービームを顕微鏡対物レンズで集光してできる微小な交差部分を光プローブとしている。この交差領域では、二つのレーザー光がその周波数差によってヘテロダイン干渉を起こしている。このためプローブ内からの散乱光はビート成分を含むが、プローブ外からの散乱光はビート成分を含まない。このレーザー走査顕微鏡は散乱光を光検出器で光電変化し、検出信号をロックインアンプで測定することにより、SNを向上させている。

これまでのわれわれの研究で、この方法が結晶内等の

光散乱体の3次元検出に有効であることが示されている¹⁾。しかし従来の方法では入射ビームの形状が等方的でないため光プローブに異方性が生じ、顕微鏡の結像特性に方向依存性があった。

本研究では、入射ビームの形状を同心型にして、ヘテロダイン光プローブに回転対称性を持たせた²⁾。この改良によって、顕微鏡の結像特性の方向依存性を解消することが可能となった。

2. ヘテロダイン光プローブを用いる レーザー走査顕微鏡

実験に用いたレーザー走査顕微鏡の構成を Fig. 1 に示す。光源として2周波直交偏光を出力するゼーマンレーザー³⁾を用いる。ゼーマンレーザーを出た光はビームエクスパンダーによってビーム幅が広げられた後、その半分の領域に1/2波長板(HWP)が入れられる。Fig. 2 のように、二つのレーザー光の周波数を ν_1 , ν_2 、偏光方

* 現在：オリンパス光学工業(株) 〒192 八王子市石川町2951

Present address: Olympus Optical Co., Ltd., 2951, Ishikawa-cho, Hachioji 192

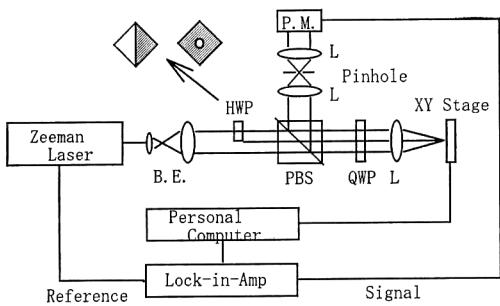


Fig. 1 Laser scanning microscope with a differential heterodyne optical probe. B. E.: beam expander, HWP: half wave plate, PBS: polarizing beam splitter, QWP: quarter wave plate, L: lens, P. M.: photomultiplier tube.

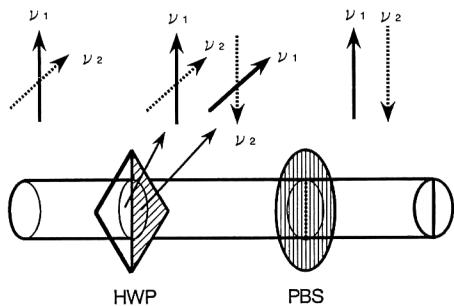


Fig. 2 Change of polarization states of two incident laser beams whose frequencies are ν_1 and ν_2 .

向を矢印の方向で示すと、HWP を通った方のビームは偏光方向が 90° 回転され、その後に置かれた偏光ビームスプリッターを通過することによって互いに直交する直線偏光成分のうちの一方のみが取り出される。その結果 HWP を通った方の光ビームと通らない方の光ビームでは互いに周波数が異なり、それらの偏光方向はそろっている。このとき波長板の形状によってビームの分かれ方が決定される。

2 本のビームを顕微鏡対物レンズで集光すると、その焦点付近で 2 本のビームが交差する領域としてヘテロダイン光プローブが形成される。もしプローブ内に散乱体が存在すれば、散乱光は 2 本のビームの周波数差のビート信号を含む。

散乱光は顕微鏡対物レンズを戻り、 $1/4$ 波長板 (QWP) を通り偏光ビームスプリッターで反射され検出部に向かう。その途中で、交差領域以外からの迷光をより完全に除去するための対物レンズとピンホール ($10 \mu\text{m}\phi$) で構成される共焦点系を通過した後、散乱光は光電子増倍管

で電気信号に変換され、ロックインアンプを用いた同期検出によりビート信号の強度が測定される。

試料の散乱体の 2 次元分布像を得るために試料を XY パルスステージに載せ、ステージとロックインアンプをパーソナルコンピュータで制御している。

本研究では HWP の形状を従来の開口の右半分を覆うものから¹⁾、中心部に円形の穴を開けたものに変更し、顕微鏡の結像特性を等方的にすることを図った²⁾。この 2 種類のプローブ形状について解析と実験を行い、両者の結像特性の比較を行った。

3. ヘテロダイン光プローブ結像特性の比較

集光レンズの焦点付近に形成される光プローブ特性の比較を焦点面上において行うため、Fig. 1 の偏光ビームスプリッター直後の透過光の複素振幅 $U(x_0, y_0)$ をフーリエ変換する。焦点面における複素振幅は

$$g(x, y) = g_i(x, y) \int_{-\infty}^{\infty} U(x_0, y_0) \exp \left(-i 2\pi \frac{x_0 x + y_0 y}{\lambda f} \right) dx_0 dy_0 \quad (1)$$

となる⁴⁾。ただし、積分中の $U(x_0, y_0)$ として従来型では

$$U(x_0, y_0) = \begin{cases} u & -a \leq x_0 \leq 0, -a \leq y_0 \leq a \\ u \exp(i 2\pi \Delta f t) & 0 \leq x_0 \leq a, -a \leq y_0 \leq a \end{cases} \quad (2)$$

また同心型では

$$U(x_0, y_0) = \begin{cases} u & 0 \leq \sqrt{x_0^2 + y_0^2} \leq \frac{a}{\sqrt{2}} \\ u \exp(i 2\pi \Delta f t) & \frac{a}{\sqrt{2}} \leq \sqrt{x_0^2 + y_0^2} \leq a \end{cases} \quad (3)$$

を与える。ここで Δf はゼーマンレーザーから出力される二周波光の差周波数である。

焦点面における強度分布は (1) の絶対平方をとることによりそれぞれ

$$I = I_0 \operatorname{sinc}^2 \left(\frac{\pi a x}{\lambda f} \right) \operatorname{sinc}^2 \left(\frac{2\pi a y}{\lambda f} \right) \cdot \left\{ 1 + \cos \left(2\pi \Delta f t - \frac{2\pi a y}{\lambda f} \right) \right\} \quad (4)$$

$$I = I_0 \left[\left\{ \frac{J_1(2\pi\rho a)}{2\pi\rho a} \right\}^2 - \frac{J_1 \left(2\pi \rho \frac{a}{\sqrt{2}} \right)}{2\pi \rho \frac{a}{\sqrt{2}}} \right] \left\{ \frac{J_1(2\pi\rho a)}{2\pi\rho a} \right. \\ \left. - \frac{1}{2} \frac{J_1 \left(2\pi \rho \frac{a}{\sqrt{2}} \right)}{2\pi \rho \frac{a}{\sqrt{2}}} \right\} + I_0 \frac{J_1 \left(2\pi \rho \frac{a}{\sqrt{2}} \right)}{2\pi \rho \frac{a}{\sqrt{2}}} \left\{ \frac{J_1(2\pi\rho a)}{2\pi\rho a} \right\}$$

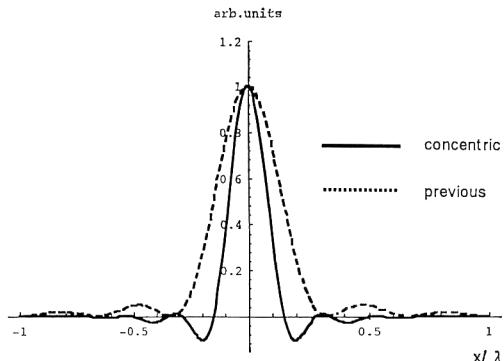


Fig. 3 Profile of a concentric type heterodyne probe compared with a previous type.

$$\frac{1}{2} \frac{J_1\left(2\pi\rho\frac{a}{\sqrt{2}}\right)}{2\pi\rho\frac{a}{\sqrt{2}}} \cos(2\pi\Delta ft) \quad (5)$$

となる。式(4), (5)で示される強度分布は時間とともに変動し、プローブ特性に寄与する周波数 Δf の \cos 成分がビート信号の交流成分に対応する。式(4), (5)の交流成分の振幅を計算し、図示したものが Fig. 3 である。横軸の $x/\lambda f$ はプローブの中心を通って、光軸に垂直な面内の座標を規格化したもの。この図では省略しているが、従来型のプローブの y 方向の幅は、 x 方向の幅の $1/2$ になっており、方向依存性がある。これに対して同心型のプローブでは式(5)の分布が半径 $\rho = \sqrt{x^2 + y^2}$ の関数で表せることから、プローブ形状が等方的となる。また x 方向については Fig. 3 より分解能の改善も期待できる。

4. 実験および結果

本実験ではビート周波数 68 kHz のゼーマンレーザーを用いた。実験は従来型と同心型のプローブの結像特性の方向依存性の有無を確認するためにマイクロスケールを水平と垂直の 2 方向に置きそれぞれのプローブについて測定した。その結果を Fig. 4 に示す。Fig. 4(a) はマイクロスケールの概略図で四角で囲った内部を測定している。(b), (c) の従来型の結果では 2 本のビームは図の水平方向に交差している。またマイクロスケールを垂直に置いた時(c), (e) の測定結果では横方向の相対的な位置はずれている。従来型の結果では Fig. 4(b) の方向では目盛りが普通に観察されるのに対して(c)の方向では目盛りの先端部分だけが強く観察され、結像特性に方向依存性があることがわかる。これに対し同心型のプローブでは(d), (e) どちらの方向からも同様に観察

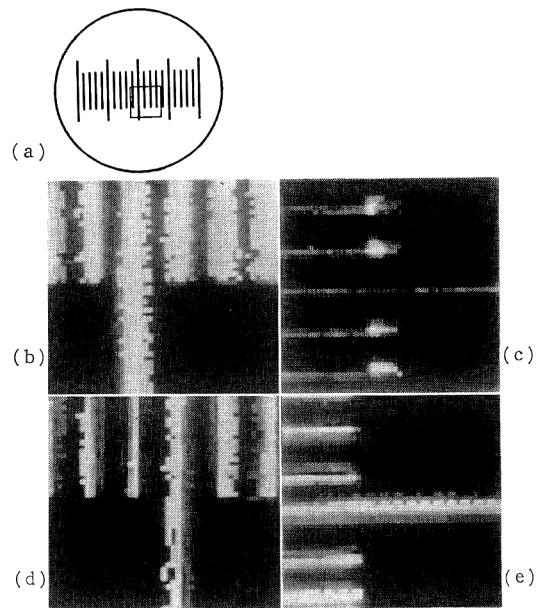


Fig. 4 LSM images ($50 \times 50 \mu\text{m}^2$ 1 μm step) of a microscale whose outline is sketched in Fig. 4(a), Fig. 4(b) and 4(c) are obtained with a previous type of heterodyne LSM, and Fig. 4(d) and 4(e) are obtained with a concentric type.

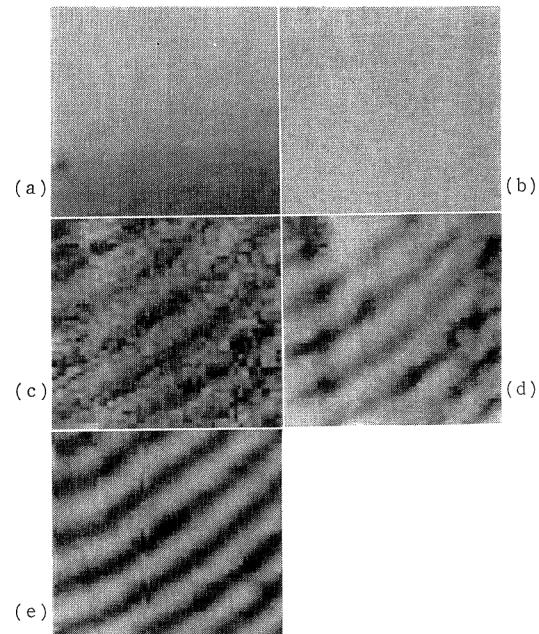


Fig. 5 LSM image ($100 \times 100 \mu\text{m}^2$ 2 μm step) of LiNbO_3 crystal obtained with a concentric type LSM, by focussing on (a) the surface, and (b) 200 μm , (c) 400 μm , (d) 600 μm , (e) 800 μm beneath the surface

され方向依存性が解消されているのがわかる。分解能について縦方向 (y 方向) に対しては悪くなっているが、横方向 (x 方向) に対しては期待どおり良くなっている。

次に同心型のヘテロダイン顕微鏡を用いて LiNbO_3 を観察した。結果を Fig. 5 に示す。表面付近から $200 \mu\text{m}$ ごとに内部の方向へ $800 \mu\text{m}$ まで観察した。結晶内には光学顕微鏡・偏光顕微鏡・微分干渉顕微鏡では観察されない縞状の構造が観察された。

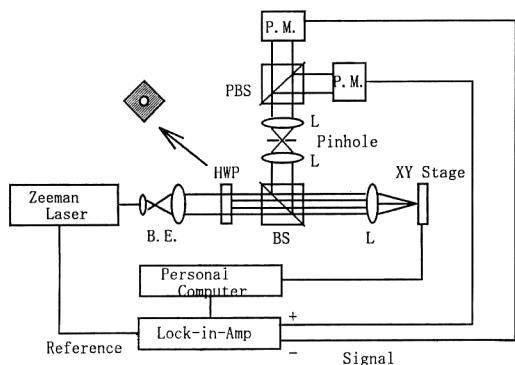


Fig. 6 Differential heterodyne detection for LSM.

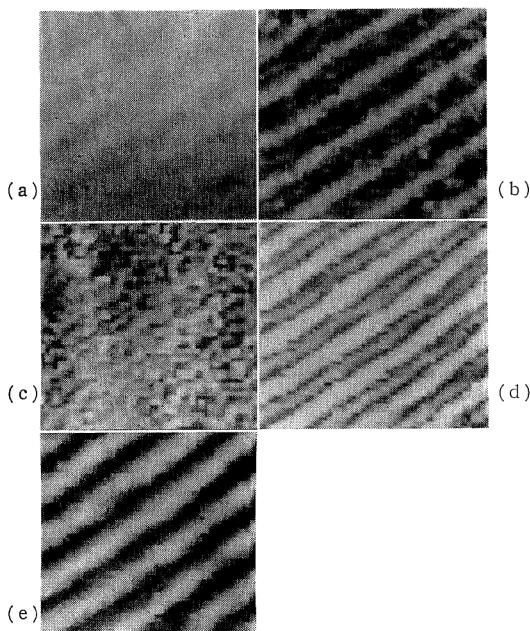
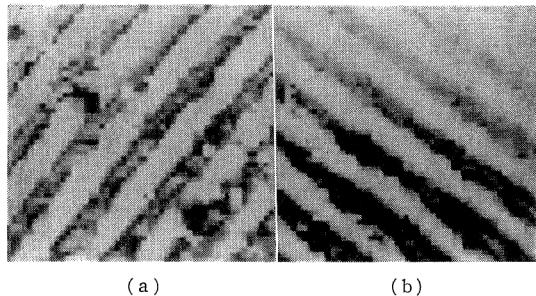


Fig. 7 LSM image ($100 \times 100 \mu\text{m}^2$ $2 \mu\text{m}$ step) of LiNbO_3 crystal obtained with differential heterodyne detection LSM, by focussing on (a) the surface, and (b) $200 \mu\text{m}$, (c) $400 \mu\text{m}$, (d) $600 \mu\text{m}$, (e) $800 \mu\text{m}$ beneath the surface.

また Fig. 6 に示すように散乱光検出部分をフォトマールを 2 個使用した差動ヘテロダイン検出型に変更したものを用いて LiNbO_3 を観察したところ Fig. 7 のような結果が得られた。Fig. 5 と同様の縞状の構造が観察され、顕微鏡像のコントラストについては Fig. 5(e) と Fig. 7(e) を比較すると 0.87 から 0.98 となり、向上が見られた。

現在のところ Fig. 7 の縞模様の原因については不明であり、他の測定方法による検証が今後必要と考えられるが、測定系に起因するアーティファクトでないことを確かめるために結晶を回転させたり、異なる結晶にえて、観察した。その結果を Fig. 8~10 に示す。以後の観察結果は Fig. 6 の光学系を用いて測定した。Fig. 8



(a) (b)

Fig. 8 LSM image ($100 \times 100 \mu\text{m}^2$ $2 \mu\text{m}$ step) of LiNbO_3 crystal obtained with differential heterodyne detection LSM. The image (a) is obtained under similar condition as Fig. 7(b), while the image (b) is obtained by rotating the crystal by 90 degrees.

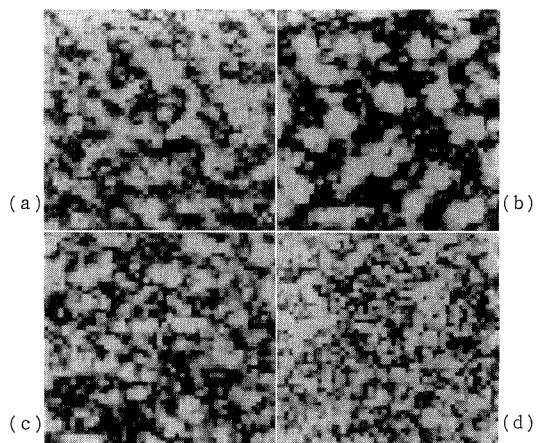


Fig. 9 LSM image ($100 \times 100 \mu\text{m}^2$ $2 \mu\text{m}$ step) of another LiNbO_3 crystal obtained with differential heterodyne detection LSM, by focussing on (a) the surface, and (b) $200 \mu\text{m}$, (c) $400 \mu\text{m}$, (d) $600 \mu\text{m}$ beneath the surface.

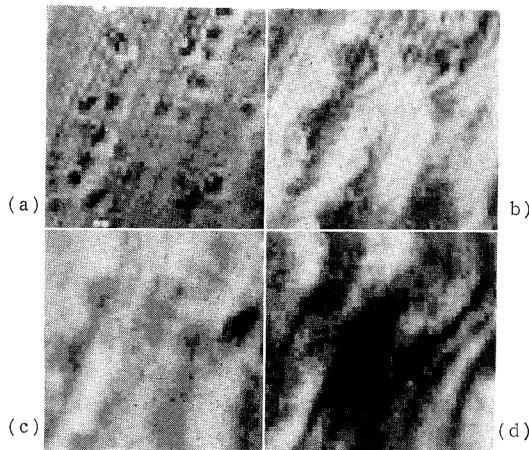


Fig. 10 LSM image of a third LiNbO_3 crystal.
Conditions are the same as in Fig. 9.

は Fig. 7 で観察した結晶を面内に 90° 回転させて観察した結果で、縞が結晶とともに回転しており、縞が結晶に起因していることがわかる。Fig. 9, 10 は、その他 2 種類の LiNbO_3 について観察した結果で、(a)~(d) の順に表面付近、表面下 $200 \mu\text{m}$, $400 \mu\text{m}$, $600 \mu\text{m}$ を観察したもので、これらにおいては Fig. 8 のような規

則的な縞構造は見られない。

5. ま と め

ヘテロダイン光プローブを用いるレーザー走査顕微鏡のビームの分け方を同心状に変更することにより顕微鏡観察時における結像特性の方向依存性を取り除くことができた。

またヘテロダインレーザー顕微鏡の検出系を差動型にすることにより顕微鏡像の画質の向上が得られた。

文 献

- 1) S. Komatsu, H. Suhara and H. Ohzu: "Laser scanning microscope with a differential heterodyne optical probe," *Appl. Opt.*, **29** (1990) 4244-4249.
- 2) 合崎紳一郎, 小松進一: “同軸ヘテロダイン光プローブを用いるレーザー走査顕微鏡”, 第 52 回応用物理学会学術講演会講演予稿集, No. 3 (1991) p. 874; 同(II), 第 54 回応用物理学会学術講演会講演予稿集, No. 3 (1993) p. 850.
- 3) 高崎 宏, 梅田倫弘: “周波数安定化横ゼーマンレーザーとその応用 (1), (2)”, O plus E, No. 19 (1981) pp. 66-78 および No. 20 (1981) pp. 88-87.
- 4) 飯塚啓吾: 光工学 (共立出版株式会社, 1983).