

界面における光散乱の記録と動態観察

川 田 善 正

ナノテクノロジーやバイオテクノロジーの進歩とともに、試料の界面をより高分解能で観察したいとの要求が高まっている。近接場光学（ニアフィールド）顕微鏡は、これまでの光学顕微鏡を大きく超える分解能を有し、これらの要求に応えることが可能である¹⁻⁴⁾。

近接場光学顕微鏡は、試料を照明したときに試料の界面に局在するエバネセント波を、微小開口や金属プローブを用いて、伝搬光に変換することによって検出する。さまざまな形状のプローブチップなどが提案され、また多彩な応用研究への展開が進められている²⁾。

従来の近接場光学顕微鏡は、微小開口を有するプローブの製作技術、高精度なプローブの走査技術がキーであり、また微弱な信号を高感度に検出する技術も必要となる。これらの各要素技術を総合することによって高分解能が実現できる。

本稿では、生物の動態や高速現象が観察可能な近接場光学顕微鏡として、試料界面での光散乱を有機感光薄膜に記録して検出する新しい形態の近接場光学顕微鏡を紹介する⁵⁻⁷⁾。試料界面の光散乱を一度に記録するため、記録の時間が十分速ければ、高速現象の観察が可能になる。また光強度分布の測定に微小開口をもつプローブや高感度検出器などが不要であるため、簡単に測定を行うことができる。

1. エバネセント場の記録

微細構造を有する試料に光を照射すると、試料界面にエバネセント波が形成され、試料の微細構造に応じた強度分布が形成される。エバネセント波は界面近傍に局在する非伝搬光であるため、図1に示すように界面から離れるに

たがって、強度分布はコントラストを失ってしまう。そこで近接場光学顕微鏡では、試料界面近傍に微小開口をもつプローブや金属プローブなどを挿入し、エバネセント波を伝搬光に変換して検出する。

同様の原理で、エバネセント波が存在する試料界面近傍に感光材料を配置すれば、試料の微細構造によって生じた光強度分布を記録することができる。光の強度分布を凹凸分布に変換すれば、その検出に光を利用する必要がなくなり、高分解能で観察することができる。凹凸分布を測定する方法には、原子間力顕微鏡（AFM）、走査型トンネル顕微鏡（STM）、走査型電子顕微鏡などが存在し、高分解能で検出することが可能だからである。

図2に光強度分布を凹凸分布に変換して検出する近接場光学顕微鏡の原理を示す。この顕微鏡では試料と感光薄膜との距離を十分小さくするために、薄膜上に直接試料を配置する。レーザー光で試料を照明し、試料界面近傍の光強度分布を感光薄膜表面の凹凸分布として記録し、試料を取り除いてから、AFMなどを用いて感光薄膜の表面を観察する。

本手法は次の特徴をもつ。

- 1) 試料の光学定数（吸収、屈折率など）で決まる光強度分布が観察可能
- 2) 近接場光学顕微鏡の検出システムとして非常に高い空間分解能を有するAFMやSTM等が利用可能
- 3) 試料の照明に短パルス光を用いることにより、高速現象が観察可能
- 4) 感光フィルムに記録して測定するため柔らかい生物試料などでも観察可能
- 5) いろいろな機能をもつ感光フィルム（波長特性、偏光特性など）を用いることにより、さまざまな機能をもつ近接場光学顕微鏡を実現できる

静岡大学工学部（〒432-8561 浜松市城北 3-5-1）
E-mail: kawata@eng.shizuoka.ac.jp

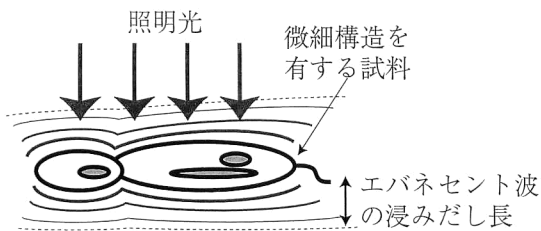


図1 微細構造を有する試料を照明した際に試料界面に生じるエバネセント場。

光強度分布を凹凸分布として記録する材料としては、アゾ色素を含むポリマーが有望である。近年、アゾ色素を含むポリマーに光を照射させると、その表面に凹凸分布が形成されることが報告されており^{8,9)}、簡単に表面レリーフグレーティングを作製する手法として注目されている。この方法では、光照射によってのみ表面形状を誘起することができ、現像などのプロセスは一切不要である。

図3(a) にアゾ色素を副鎖に有し、光照射によって表面形状が変化するウレタン-ウレア共重合体の化学構造を示す。この材料は、アゾ色素が副鎖として主鎖についているため、アゾ色素を凝縮することなく、高濃度にポリマー中に分散することが可能である。またこの材料は非線形性が高く、合成が容易との特徴ももっている¹⁰⁾。

図3(b) にウレタン-ウレア共重合体材料に干渉縞強度分布を記録し、AFM を用いて感光材料を観察した結果を示す。干渉縞は2重露光を行い、2回目の干渉縞は最初の干渉縞に対して、30度傾けて記録を行った。図2(b) をみると、干渉縞の強度分布に応じて、表面に凹凸分布が形成されていることがわかる。この結果から、ウレタン-ウレア共重合体材料を用いれば、光強度を感光薄膜表面の凹凸分布として記録できることがわかる。また、この材料に2重露光しても、最初の干渉縞による凹凸分布が消去されたり、変形したりしていないことがわかる。したがってウ

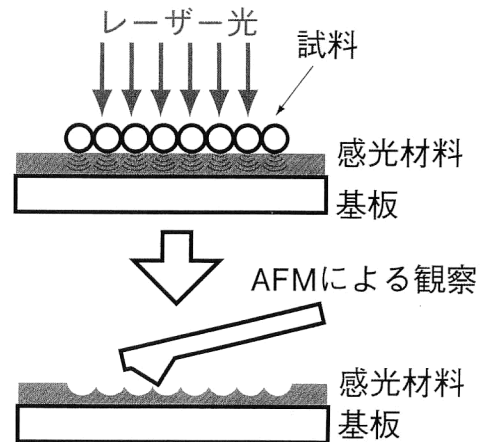


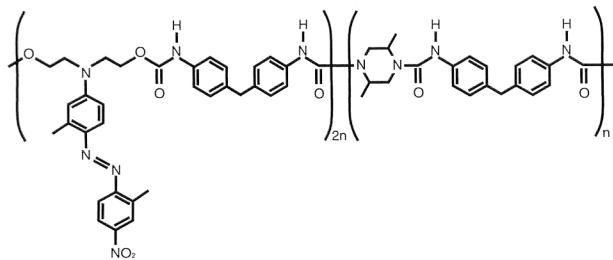
図2 試料近傍の光強度分布を凹凸分布に変換して検出する近接場顕微鏡の原理。

レタン-ウレア共重合体は光の強度分布に線形に凹凸分布を形成する特性をもつ。

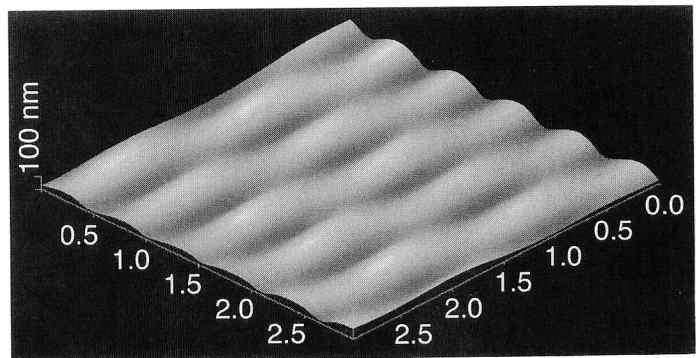
図4(a) に試料として、500 nm の微小球を観察した結果を示す。ガラス基板上にウレタン-ウレア共重合体をスピンコートし、試料を感光材料上に配置する。光源には、波長 488 nm、出力 30 mW のアルゴンレーザーを用いた。アルゴンレーザーからの光をレンズなどを用いずに試料に照射し、試料近傍の光の場の分布をウレタン-ウレア共重合体に記録する。形成された凹凸分布は AFM (セイコーインスツルメンツ, SPI-3700) を用いて検出した。

試料には、直径 500 nm のポリスチレン微小球を用いた。自己組織化のプロセスを利用して、微小球を六方細密状に並べた。光を照射したあと、感光材料を水洗し、試料を取り除いた。

ウレタン-ウレア薄膜上に光の強度分布によって形成された窪みが形成されていることがわかる。微小球が六方細密状に並んでいたため、光の強度分布によって形成された

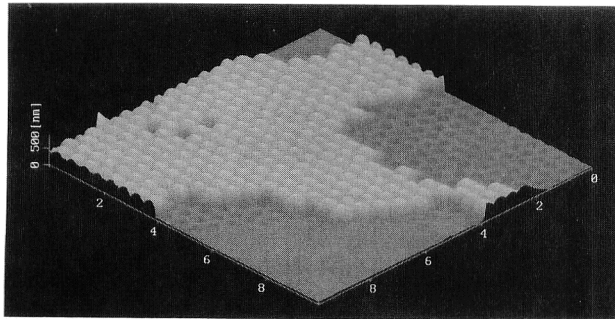


(a)

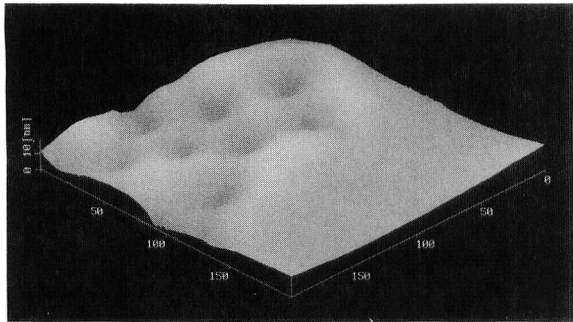


(b)

図3 (a) 副鎖にアゾ色素を有するウレタン-ウレア共重合体の構造、(b) 干渉縞記録後、AFM で感光薄膜表面を観察した結果。記録は2重に行っており、2回目の干渉縞は1回目のものに対して30度傾けて記録した。



(a)



(b)

図4 微小球の観察結果。(a) 直径 500 nm の微小球, (b) 直径 50 nm の微小球.

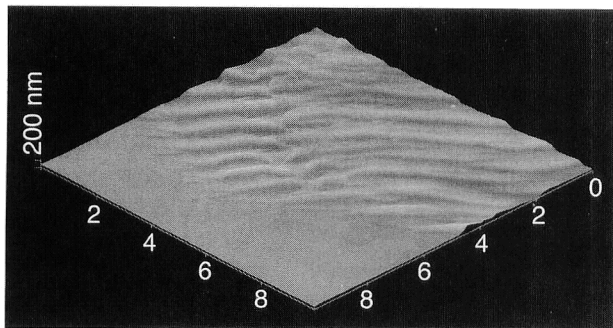


図5 ゾウリムシの繊毛の観察結果 (観察範囲 $10 \mu\text{m} \times 10 \mu\text{m}$).

窪みも六方細密状に形成されている。また、微小球と感光材料が接する下側に大きな光強度をもつ分布が形成されたことがわかる。図4(a)には、水洗によって取り除かれなかった微小球も観察されている。

図4(b)には直径 50 nm の微小球を観察した結果を示す。波長の 10 分の 1 程度の微小球が観察されている。波長の 10 分の 1 程度の構造を記録できていることから、エバネセント波によって生じた強度分布が記録できていることがわかる。また感光薄膜を用いた近接場顕微鏡が数十 nm の分解能を有することが確認できる。

2. 生物試料の動態観察

エバネセント波の強度分布を記録して AFM などを読み

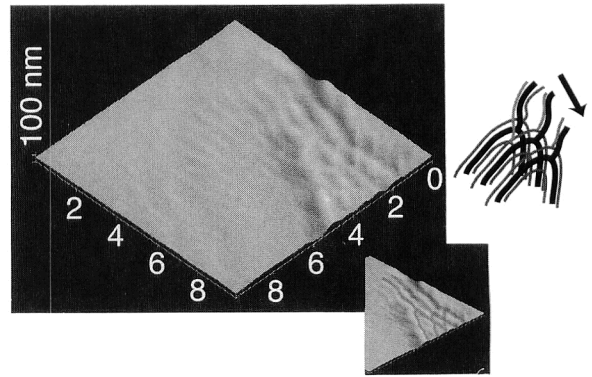


図6 ミドリムシの動態観察結果.

出す近接場光学顕微鏡の大きな特徴のひとつは、光を検出したり、散乱させるためのプローブを走査する必要がないため、生きた生物試料や高速現象のある瞬間を記録して観察したり、多重露光を行うことで、試料の移動の軌跡を記録したりすることが可能であることである。また AFM で生物試料を直接観察する場合は、柔らかい試料を観察することは難しいが、この方法では、感光材料に光強度分布を記録して検出するため、試料の柔らかさにはまったく依存しない観察が可能である。

図5に生物試料として、ゾウリムシの体の周りに生えている繊毛を観察した結果を示す。体の周りに生えている繊毛がコントラストよく観察されている。繊毛の先端部分が2つに分岐していることがわかる。100 nm 程度の分解能が実現できていることが確認できる。

図6にミドリムシの運動の軌跡を記録した結果を示す。この観察ではミドリムシにレーザー光を3回照射して、記録した。レーザー光の照射時間はそれぞれ 50 ms である。ミドリムシの移動している様子が、多重露光によって記録されていることがわかる。図6の挿絵にミドリムシの動きを模式的に示した。

近接場光学顕微鏡では、細胞内に存在する小器官が表面の十分近傍に存在すれば、内部の構造でも観察可能である。図7にミドリムシの核を観察した結果を示す。この観察結果では、細胞の内部に存在するミドリムシの構造が高分解能で観察できている。

3. 拡張型ミー散乱理論を用いた電場解析

図4(a), (b)に示した微小球の観察結果を確認するために、拡張型ミー散乱理論¹¹⁾を用いて、基板上に存在する微小球によって光が散乱される場合の光強度分布を解析した。開発した手法では、(1)微小球に入射する波面は任意形状のものに対応可能、(2)微小球と基板との多重散乱を考慮可能、(3)基板は多層膜構造でも取り扱いが可能、な

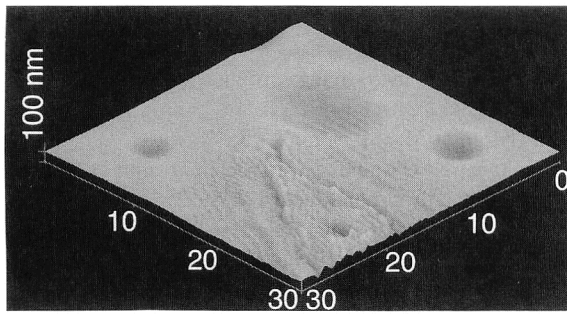


図7 ミドリムシの核の観察結果. 細胞内部の構造も感光薄膜からの距離が十分小さければ, 観察可能である.

どの特徴を有する^{12,13)}.

解析手法の具体的な計算手順は次の通りである. (1) Barton らによる拡張型ミー散乱¹¹⁾を用いて, 微小球に入射した光の散乱場を計算する (微小球に入射する光を任意形状の場合に取り扱いが行えるようにしたのが Barton らによる拡張である), (2) 基板表面状の微小球による散乱場を計算により求める, (3) 基板表面上の散乱場をフーリエ変換して, 平面波展開し, それぞれの平面波に対して基板によるフレネルの反射係数を掛け算することにより, 基板からの反射光を求める, (4) 基板からの反射光を微小球の位置まで伝搬させ, それを新しい微小球への入射光として, 拡張型ミー散乱理論を用いて散乱場を再度計算する (1)~(4) の手順を反復計算し, 計算結果が収束するまで行う. 微小球が誘電体の場合には3~4回の反復で計算は収束し, 微小球が金属の場合は, 散乱が大きいためより多くの反復計算が必要となるが, 7~8回の反復計算で十分収束した解を得ることができる.

図8に誘電体微小球が誘電体基板上に存在する場合の光の散乱場の解析結果を示す. (a), (b), (c) はレーザーが半径 λ の微小球の中心に, 開口数0.9のレンズで集光されている場合の計算結果である. (a) は基板と微小球の距離が無限大のとき (つまり基板が存在しない場合), (b) は基板と微小球の距離が 1.5λ のとき, (c) は基板と微小球の距離が 0.1λ のときの計算結果である. 基板と微小球との距離が小さくなると, 多重散乱によって, 微小球の基板側の部分に大きな強度分布が形成されることがわかる.

図8(d), (e), (f) は誘電体微小球の中心から右方向に 1.25λ の位置にレーザーを集光した場合の計算結果である. 基板との微小球の距離が大きなときは, 微小球内を伝搬する光が発生するが, 基板との距離が小さくなると, エバネセント波の領域内に基板が達するため, 微小球での散乱によって生じたエバネセント波が基板にカップリングアウトする. そのため, 基板の臨界角の方向に伝搬光が発生していることがわかる.

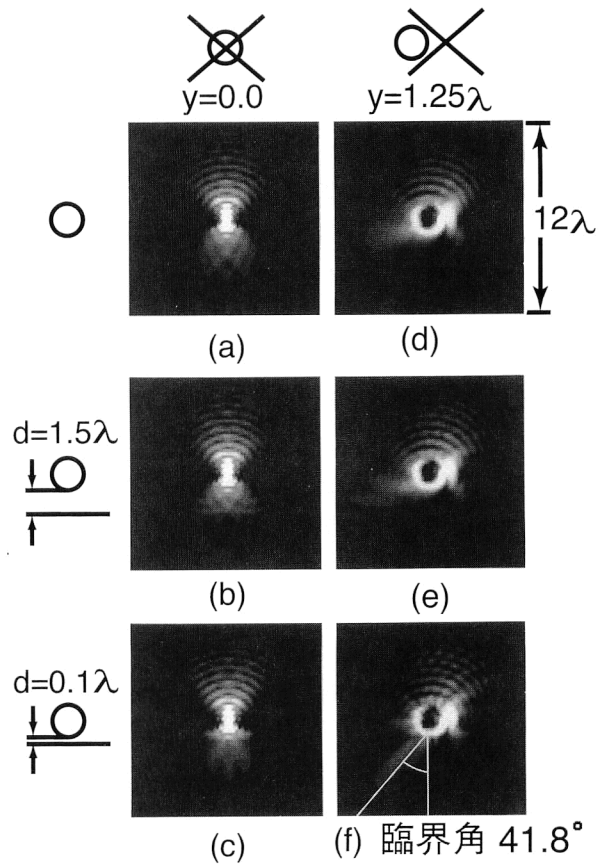


図8 基板上に存在する微小球にレーザーを集光したときの電場強度分布の解析結果. レーザーを球の中心に集光した場合の散乱場. (a) 基板なし, (b) 球と基板との距離 1.5λ , (c) 球と基板との距離 0.1λ , (d), (e), (f) はレーザーを球の中心から右方向に 1.25λ のところに集光した場合の計算結果.

これらの計算結果より, 微小球が基板と接する下の部分に大きな電場分布が形成されることがわかる. したがって球の下部には, 感光薄膜の表面のへこみが形成される. これは図4(a), (b)の実験結果と一致する.

このような解析は, 基板上に存在する微小球にレーザートラッピングした際に, 微小球に働く放射圧を解析する場合にも重要になる. 基板上に存在する微小球では, 基板と微小球との多重散乱が放射圧に大きく関係してくるため, 微小球を単独でトラッピングする場合と大きく異なるからである.

試料の近傍に存在する光の強度分布を感光材料の表面の凹凸分布に変換して検出する, 新しいタイプの近接場光学顕微鏡を紹介した. 微小球を試料として基礎実験を行い, 紹介した顕微鏡が数十ナノメートル以下の分解能を有することを示した. また, 生物試料に応用すれば, 生きた生物試料の動態観察が可能であることを示した.

これまで近接場光学顕微鏡は, 微小開口をもつプローブを作製する必要があり, その開口を通して検出した光を高

感度に測定しなければならず、高い測定技術を要求されるものであった。しかし、ここで紹介した手法を用いれば、非常に簡単に数十ナノメートルの分解能で、試料近傍の光強度分布を測定することが可能である。

今回紹介した手法および材料は、光学顕微鏡としての応用だけでなく、フォトリソグラフィ、高密度光メモリー^{14,15)}、ナノ加工などさまざまな応用への展開が期待できる。今後は、感光薄膜として用いる材料にいろいろな特性をもつものを用いることにより、さまざまな機能をもつ技術が実現できるので、種々の機能をもつ有機感光薄膜の開発が望まれる。

感光材料をご提供いただきました静岡大学工学部の江上力先生、杉原興浩先生、豊田中央研究所の土森正昭氏、渡辺修氏に感謝いたします。

文 献

- 1) D. W. Phol, W. Denk and M. Lanz: "Optical stethoscopy: Image recording with resolution $\lambda/20$," *Appl. Phys. Lett.*, **44** (1984) 651-653.
- 2) M. Ohtsu and H. Hori: *Near-Field Nano-Optics* (Plenum, New York, 1999).
- 3) Y. Inouye and S. Kawata: "Near-field scanning optical microscope with a metallic probe tip," *Opt. Lett.*, **19** (1994) 159-161.
- 4) Y. Kawata, C. Xu and W. Denk: "Feasibility of molecular-resolution fluorescence near-field microscopy using multiphoton absorption and field enhancement near a sharp tip," *J. Appl. Phys.*, **85** (1999) 1294-1301.
- 5) Y. Kawata, C. Egami, O. Nakamura, O. Sugihara, N. Okamoto, M. Tsuchimori and O. Watanabe: "Non-optically probing near-field microscopy," *Opt. Commun.*, **161** (1999) 6-12.
- 6) Y. Kawata, M. Murakami, C. Egami, O. Sugihara, N. Okamoto, M. Tsuchimori, O. Watanabe and O. Nakamura: "Nonoptically probing near-field microscopy for the observation of biological living specimens," *Appl. Phys. Lett.*, **78** (2001) 2247-2249.
- 7) H. Kitano, M. Murakami, Y. Kawata, C. Egami, O. Sugihara, N. Okamoto, M. Tsuchimori and O. Watanabe: "Non-optically probing near-field microscopy with the illumination of total internal reflection," *J. Microsc.*, (in press).
- 8) D. Y. Kim, L. Li, X. L. Jiang, V. Shivshankar, J. Kumer and S. K. Tripathy: "Polarized laser induced holographic surface relief gratings on polymer films," *Macromolecules*, **28** (1995) 8835-8839.
- 9) C. Egami, Y. Kawata, Y. Aoshima, H. Takeyama, F. Iwata, O. Sugihara, M. Tsuchimori, O. Watanabe, H. Fujimura and N. Okamoto: "Visible-laser ablation on a nanometer scale using urethane-urea copolymers," *Opt. Commun.*, **157** (1998) 150-154.
- 10) M. Tsuchimori, O. Watanabe, S. Ogata and A. Okada: "Stable second-order optical nonlinearity of urethane-urea copolymers," *Jpn. J. Appl. Phys.*, **35** (1996) L444-L446.
- 11) J. P. Barton, D. R. Alexander and S. A. Schaub: "Internal and near-surface electromagnetic fields for a spherical particle irradiated by a focused laser beam," *J. Appl. Phys.*, **64** (1988) 1632-1639.
- 12) W. Inami and Y. Kawata: "Analysis of the scattered light distribution of a tightly focused laser beam by a particle near a substrate," *J. Appl. Phys.*, **89** (2001) 5876-5880.
- 13) W. Inami and Y. Kawata: "Three-dimensional imaging analysis of confocal polarization microscopy using Mie scattering theory," *Appl. Opt.*, **39** (2000) 6369-6373.
- 14) S. Kawata and Y. Kawata: "Three-dimensional optical data storage using photochromic materials," *Chem. Rev.*, **100** (2000) 1777-1788.
- 15) C. Egami, Y. Kawata, Y. Aoshima, S. Alasfer, O. Sugihara, H. Fujimori and N. Okamoto: "Two-stage optical data storage in azo polymers," *Jpn. J. Appl. Phys.*, **39** (2000) 1558-1561.

(2001年2月15日受理)