

## 定量位相顕微鏡の厚み測定分解能の考察

( 広島市大院・情報 )

○磯部 耕兵, 藤原 久志, 石渡 孝

**【序】** 定量位相顕微鏡は、試料透過光の位相情報を定量的に計測可能であり、様々な位相物体（生細胞や有機超薄膜など）の観測に応用できる。本研究では、この顕微鏡の厚み測定分解能を調べるため、任意の干渉縞画像を生成し解析するシミュレーションソフトを開発中である。現段階では、簡単のために1次元の干渉縞データを生成・解析するソフトの開発に取り組んでいる。

**【定量位相顕微鏡の概要】** 定量位相顕微鏡は、図1に示した「定量位相イメージング(QPI)ユニット」<sup>1)</sup>を通常の顕微鏡に接続することで構成可能である。

定量位相顕微鏡の原理は、次の通りである<sup>2)</sup>。まずQPIユニット内の透過型回折格子に顕微鏡による試料像を結像させる。すると結像された試料の物体光は回折格子により複数の光波面に分離される。このとき0次回折光(実線)は物体の位相情報を保持したまま空間フィルタの開口部を通過し、撮像素子上に再結像する。一方、1次回折光(点線)は空間フィルタのピンホールにて点光源に変換され、さらにレンズにて平面参照波となって撮像素子上に再結像する。その結果、図2の干渉縞画像が形成される。

何も物体がない時には、干渉縞は撮像面に等間隔で形成される。そして、位相物体が存在する時には、これを透過した光に位相遅れが生じ、図2の点線内のように縞の位置に変位が生ずる。この変位を解析することで試料透過による位相遅れを算出することが可能である。

**【干渉縞画像からの位相情報の抽出】** 図2の干渉縞画像の位置(x,y)における輝度値をg(x,y)とする。ここで、ある一定のy座標におけるx方向の輝度値変化は以下のように表せる<sup>3)</sup>。

$$g(x,y) = a(x,y) + b(x,y) \cos [2\pi f_0 x + \varphi(x,y)] \quad (1)$$

ここで、 $a(x,y)$ および $b(x,y)$ は光源の光量むらや光学系の不均一性によって生じる空間的な光強度分布である。そして、 $\cos [2\pi f_0 x + \varphi(x,y)]$ が干渉縞に相当する。この時、 $f_0$ が等間隔でならぶ干渉縞の空間周波数であり、 $\varphi(x,y)$ が位相物体の厚さに応じた位相遅れである。(1)式からの位相遅れの抽出は次の手順で行う。まず、(1)式を以下のように変形する。

$$g(x,y) = a(x,y) + c(x,y) \exp(2\pi i f_0 x) + c^*(x,y) \exp(-2\pi i f_0 x) \quad (2)$$

$$c(x,y) = (1/2)b(x,y) \exp [i\varphi(x,y)] \quad (3)$$

得られた(2)式に対して、フーリエ変換を行うと、

$$G(f,y) = A(f,y) + C(f - f_0,y) + C^*(f + f_0,y) \quad (4)$$

となり、図3aのフーリエスペクトルを得ることが出来る。次に、スペクトル成分 $C(f - f_0,y)$ を原点へ

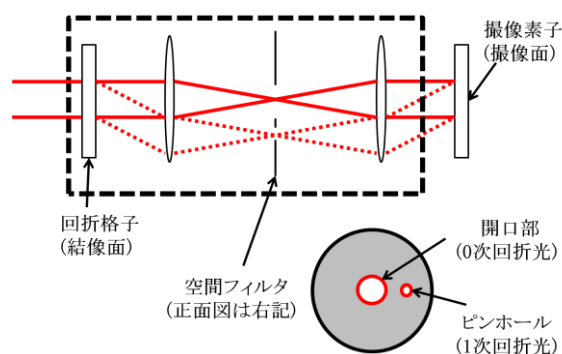


図1 定量位相イメージングユニット

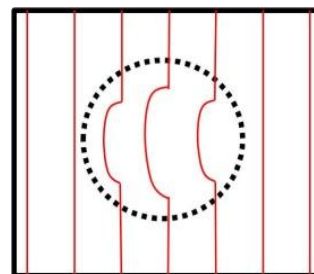


図2 干渉縞画像

移動し (図 3 b 参照)、逆フーリエ変換を行うことで  $c(x,y)$  を求めることが出来る (周波数推移の定理に基づく)。また、この操作により不要成分  $a(x,y)$  を除去できる。

そして、 $c(x,y)$  の実数部 (Re) と虚数部 (Im) は、

$$\text{Re}[c(x,y)] = (1/2)b(x,y)\cos[\varphi(x,y)]$$

$$\text{Im}[c(x,y)] = (1/2)b(x,y)\sin[\varphi(x,y)]$$

となる。これらを用いて、

$$\varphi(x,y) = \tan^{-1}[\text{Im}[c(x,y)]/\text{Re}[c(x,y)]] \quad (5)$$

から位相遅れ  $\varphi(x,y)$  を導くことが出来る。このとき、 $\text{Im}[c(x,y)]/\text{Re}[c(x,y)]$  の除算により、不要成分  $b(x,y)$  が除去できることに注意する。

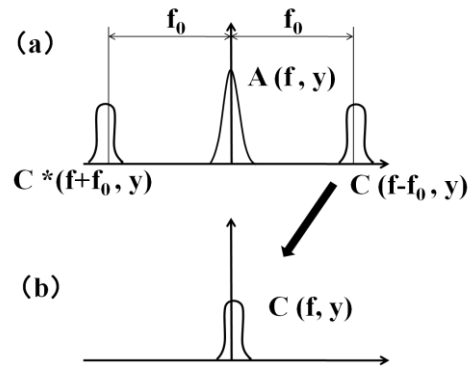


図 3 (a) 干渉縞のフーリエスペクトル (b) スペクトル成分  $C(f - f_0, y)$  の原点への移動

**【干渉縞解析のシミュレーション】** 今回のシミュレーションでは、干渉縞画像を撮影するカメラの 1 画素あたりのビット深度 (8, 10, 12bit) と厚み測定分解能の関係を調べた。

まず、解析用の仮想干渉縞の強度分布  $g(x,y)$  を計算する。このとき、干渉縞画像は水平方向 512 画素のカメラで撮影するものと想定する。干渉縞の空間周波数  $f_0$  は、今までの定量位相顕微鏡の仕様に基づき  $1/8$  (cycle/pixel) とした。

次に  $\varphi(x,y)$  を計算するにあたって、試料として図 4 のサンプル位相物体 (水) を仮定した。この位相物体の透過光は、膜厚が厚い部分では膜厚差  $\Delta d$  に応じた位相遅れ  $\Delta\varphi$  が生じる。この  $\Delta\varphi$  は、水と空気の屈折率を用いて (6) 式より算出する。

$$\Delta\varphi = 2\pi(n_{\text{H}_2\text{O}} - n_{\text{air}})\Delta d/\lambda \quad (6)$$

ここで、 $n_{\text{H}_2\text{O}}$ 、 $n_{\text{air}}$  は水及び空気の屈折率であり、 $n_{\text{H}_2\text{O}} = 1.3305$ 、 $n_{\text{air}} = 1.0002759$  という値を用いた<sup>4)</sup>。そして、 $\varphi(127,y) \sim \varphi(383,y) = 0$  とし、他の  $\varphi(x,y)$  の値を  $\Delta\varphi$  とした。以上の条件に基づき、ビット深度を変化させて  $g(x,y)$  を計算した。そして得られた仮想干渉縞を上述の方法で解析し、厚み測定分解能について調べた。

図 5 に、位相物体の膜厚差を  $d = 1$  (nm) とした場合の結果を示す。ここでは、得られた位相遅れ  $\varphi(x,y)$  を膜厚差に換算している。

図 5 の結果より、量子化された輝度値  $g(x,y)$  から位相物体の厚みの変化を nm オーダーで追うには、少なくともビット深度 10bit が必要と考えられる。

**【参考文献および情報】**

1) <http://www.piphotonics.co.jp/qpm/unit.html>

2) 藤原久志、石渡孝、池田貴裕、洲崎悦子 第 3 回分子科学討論会 1P099 (2009)

3) Takeda et al. *J.Opt.Soc.Am* **72**, 156 (1982)

4) 国立天文台編, 理科年表 (丸善, 東京, 1999)

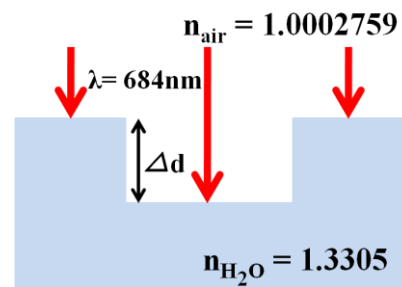


図 4 サンプル位相物体

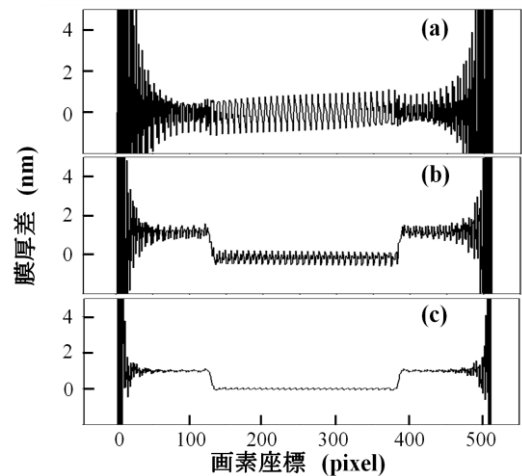


図 5 1 画素あたりのビット深度と干渉縞解析の結果 : (a) 8bit, (b) 10bit, (c) 12bit