

令和 4 年 4 月 26 日現在

機関番号：24403

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K05311

研究課題名(和文)幾何学的位相シフトを用いたワンショット点回折干渉顕微鏡の開発

研究課題名(英文)Development of a one-shot point diffraction interference microscope using a geometric phase shift

研究代表者

水谷 彰夫(MIZUTANI, Akio)

大阪府立大学・工学(系)研究科(研究院)・講師

研究者番号：50400700

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文):本研究では、リアルタイムにワンショットで透明物体の位相像を観察できる顕微鏡の開発を行った。我々が開発してきたピンホール内部と外部で金属細線の方向を互いに直交させたワイヤーグリッド偏光ピンホール(WGP)を適用した点回折干渉顕微鏡(PDIM)に幾何学的位相シフトと偏光カメラを導入することでこれを実現した。偏光カメラのフレームレートである60fpsで位相像の撮影ができ、位相像の算出・表示まで逐次行う場合は12fpsでの観察が可能となった。また、偏光カメラのピクセル配列によって生じるアーティファクトについて検討し、提案の5×5画素の適切な重み分布によって、低減できることを示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究が他の定量位相顕微鏡と異なるのは、ワイヤーグリッド偏光ピンホール(WGP)のピンホール径がスポット径(エアリーディスク)程度の5マイクロメートルと小さいため、共通光路型で物体光と参照光を精度よく分離でき、その結果、正確な位相分布の測定が可能なことである。この顕微鏡がリアルタイム測定できるようになることで、病気による細胞の形態変化だけでなく、たとえば紫外線硬化樹脂の硬化過程の測定などの正確でリアルタイムの位相分布が必要な工業製品分野での応用が期待される。

研究成果の概要(英文):A microscope that can observe the phase image of a transparent sample in real time has been developed. We introduced a geometric phase shift and a polarization camera to our developed point-diffraction interference microscope (PDIM) with a wire-grid polarization pinhole (WGP) in which the directions of metal wires are orthogonal to each other inside and outside the pinhole. The phase image can be taken at 60 fps, which is the frame rate of the polarization camera, and it is possible to observe at 12 fps when the phase image is calculated and displayed sequentially. We also examined the artifacts caused by the pixel arrangement of the polarization camera and showed that they can be reduced by the proposed appropriate weight distribution of 5x5 interpolation kernel.

研究分野：計測工学

キーワード：幾何学的位相 偏光カメラ ワンショット位相分布測定

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

透明物体の位相像を正確に観察できる顕微鏡が実現できると、病気による細胞の形態変化だけではなく、マイクロレンズアレイのような工業製品の形状あるいは屈折率分布を精度よく求めることができる。位相差顕微鏡で得られるのは、エッジを強調した像であり定量的な位相像ではない。オフ軸型デジタルホログラフィック顕微鏡 (DHM) では、ワンショットで位相像が得られるが解像度が低下してしまう[1]。インライン型 DHM では、位相シフトが必要となる。本研究では、我々が開発したピンホール内部と外部で金属細線の方向を互いに直交させたワイヤーグリッド偏光ピンホール (WGP) を適用した点回折干渉顕微鏡 (PDIM) を用いる。これは、共通光路型であり振動などの外乱に強く、ピンホール径はスポット径 (エアリーディスク) 程度の $5\mu\text{m}$ と小さいため、物体光 (高次回折光) と参照光 (0 次光) を偏光で精度よく分離でき、その結果、正確な位相分布を得ることができる。従来は、インライン型 DHM と同様に、位相シフト像を複数枚撮影する必要があるが、動的物体のリアルタイム観察ができなかった。

2. 研究の目的

幾何学的位相シフトと偏光カメラを導入し、ワンショットで位相像の取得が可能な測定システムを開発する。偏光カメラとは、マイクロ偏光子アレイ： $0^\circ, 45^\circ, 90^\circ, 135^\circ$ の4方向を画素に配置したカメラである。幾何学的位相シフトは、 $1/4$ 波長板を通して物体光と参照光を右回りと左回りの円偏光とすると、カメラ前の偏光子の向きによって、 $0^\circ, 90^\circ, 180^\circ, 270^\circ$ の位相差が得られる方法であり、波長依存しない $1/4$ 波長板を用いると、位相差が波長に依存しない。多波長法により、波長ごとの位相差が得られると、位相接続が不要で波長以上の光路差が測定可能となる。

3. 研究の方法

(1) 二波長法に、回転偏光板と通常のカメラを用いることで幾何学的位相シフトの有効性の確認を行う。

(2) 幾何学的位相シフトと偏光カメラで、位相像のリアルタイム観察を行う。また、偏光カメラのピクセル配列によるアーティファクトの抑制のための適切な画素補間方法を開発する。

4. 研究成果

(1) 位相接続が不要で波長以上の光路差の物体が測定可能な方法に二波長法がある[2]。二つの波長から合成波長と呼ばれる見かけ上、より長い波長を生成することで、測定範囲を拡大する方法である。PDIM に二波長法を適用することで単一波長を超える高さを持つ試料の計測を可能にした。具体的には、光源を RGB レーザーにし、緑色光 (波長 522 nm) と赤色光 (波長 638 nm) を用いた。シングルモードファイバー出力の RGB レーザーは高価だったため、マルチモードファイバー出力の RGB レーザーを用いた。PDI では、数 μm のスポット径を得るためにシングルモード出力が必要なため、マルチモードファイバーからシングルモードファイバーへ変換した。その際損失が大きく、もともと出力の低い青色光 (波長 405 nm) は特に出力が低くなりノイズが多い画像となったため、青色光は用いなかった。

合成波長が拡大されると、位相ノイズも単一波長のときより増えてしまうおそれがある。そこで、幾何学的位相シフトを用いて安定した位相シフトを行うことと、それぞれの波長で求めた位相差から高さを求めなおすことで、一波長法で求めた場合と同程度の高さ分解能を得る。

光学系を図 1 に示す。緑色光と赤色光のレーザー光源をスイッチで切り替えて入射する。光源からのビームはビームエキスパンダによってビーム径を拡大した平行光として試料に照射される。試料で散乱される光を物体光、試料を直進して透過する光を参照光とする。試料を透過した光は、対物レンズとレンズ L1 によって、L1 の焦点面に中間拡大像をつくる。レンズ L2 の焦点位置に、WGP を設置すると、偏光板(LP1)によって直線偏光にされた光は、ピンホール内部では参照光として水平偏光成分が透過し、ピンホール外部では物体光として垂直偏光成分が透過する。次に、進相軸が 45° に設定された $1/4$ 波長板(QWP) と進相軸に対して透過軸が φ に設定された偏光板(LP2)を通ることで、二つの光に 2φ の幾何学的位相シフトが与えられる。 522 nm と 638 nm の二波長それぞれに対して LP2 を回転し撮影することで 4 ステップ位相シフト ($0^\circ, 90^\circ, 180^\circ, 270^\circ$) では計 8 枚の干渉像が得られ、それらから位相分布を算出する (4 ステップ位相シフトでの高さ分解能は 50 nm)。ここではさらにノイズを低減するため、 10° ずつ 36 ステップの位相シフトを行った。段差サンプルの位相像を屈折率から高さ分布に変換した断面プロファイルを図 2 に示す。触針式段差計で求めた段差は $1.337\mu\text{m}$ であった。破線で示す従来の一波長法では、波長を超える高さのため正しく測定できていない。一方、実線で示す二波長法では誤差 1% 以下で正しい高さが求められている。今回の構成では $4.8\mu\text{m}$ までの高さを測定できる。さらに、それぞれの単一波長で求めた位相差から高さを求めなおしているため、二波長法でも一波長法と同程度の 20 nm の高さ分解能が得られている。エッジでの高さの飛びは、画像のボケが原因である。

ただ現状、レンズの色収差の影響により、波長ごとに WGP の位置調整が必要である。これを解決するには、アクロマティックレンズを用いるか、二波長の波長差を小さくする方法がある。

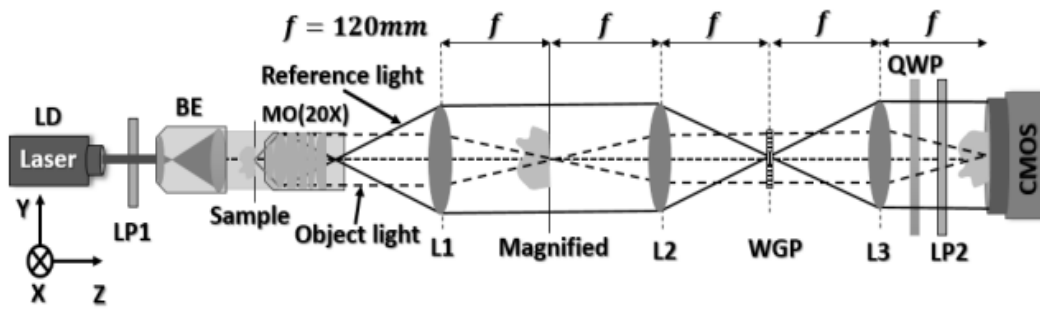


図1 幾何学的位相シフトを用いた点回折干渉顕微鏡の概略

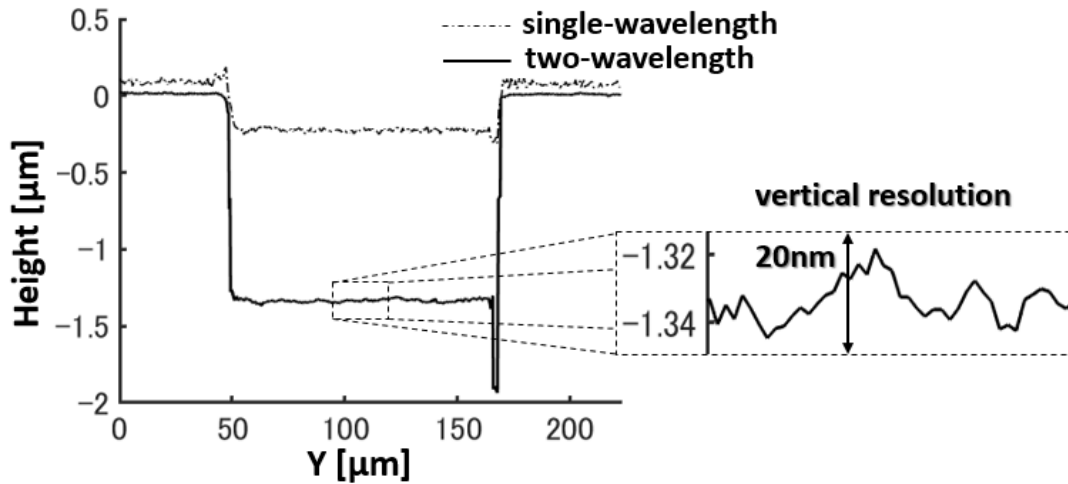


図2 単一波長（破線）と二波長（実線）から得られた断面プロファイル

(2) これまでに、動的試料の観察のために、液晶位相シフタを用いて 1/4 波長ずつの位相シフトを与えた 4 枚の干渉強度画像から位相像を算出する方法で、8 コマ/秒の位相像を撮影できていた。本研究では、カメラのフレームレートを最大限に利用するために、偏光カメラを用いた点回折干渉顕微鏡を開発する。図 1 の偏光板(LP2)とカメラを偏光カメラに置き換えることで、ワンショットで偏光イメージを撮影して位相像を算出し、カメラのフレームレートでの位相像撮影を可能にする。

偏光カメラは各画素上に画素と同じ大きさのマイクロ偏光子を取り付けたものである。マイクロ偏光子は図 3 に示すように透過軸方向が 0° , 45° , 90° , 135° で異なるワイヤグリッド偏光子で構成されている。物体光と参照光は各画素の透過軸方向にそらえられて干渉し、その強度がカメラに記録される。結像された物体光の位相分布は、図 3 の赤枠で囲まれた領域のように 4 画素を 1 組として、4 つの干渉光強度から算出される。

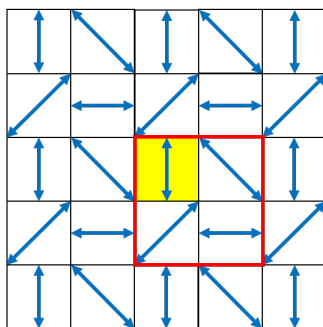


図 3 偏光カメラの偏光子の組み合わせ。各四角はイメージセンサの単位ピクセルであり、矢印は偏光の透過方向を示す。赤枠は位相像の算出に必要な 1 組のピクセルの組み合わせ。

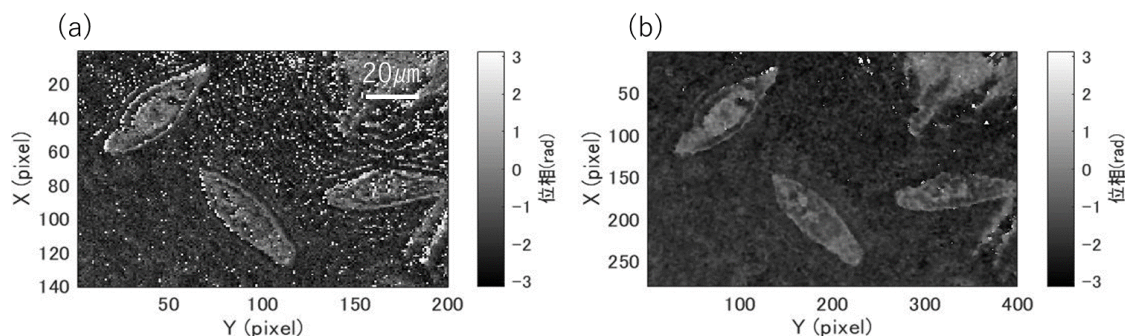


図4 ミドリムシの位相像. (a) 4画素1組で算出された位相像, (b) 5×5のカーネルによる内挿補間を行った位相像.

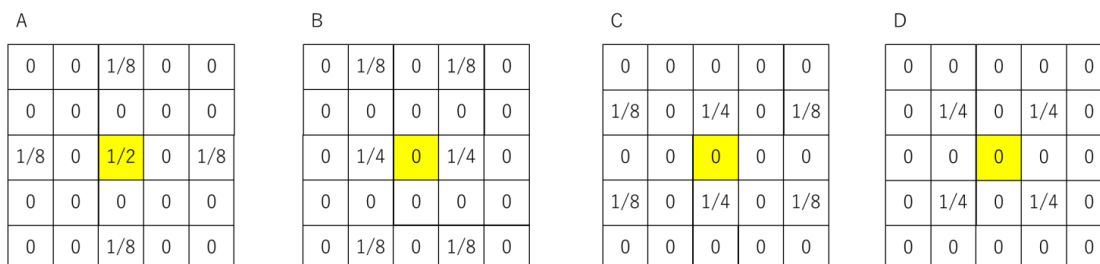


図5 データ内挿のための5×5のカーネル. 黄色部分の値を内挿するための重み配置. Dは従来通りの直近近似.

まず、位相物体としてガラス基板上に $100\ \mu\text{m}$ 角の矩形穴をもつ電子線レジストパターンを用いた。段差計で求めたレジストの膜厚は $108\ \text{nm}$ であった。光源には波長 $669\ \text{nm}$ の SLD を用いた。レジストの屈折率が 1.552 なので、 $0.560\ \text{rad}$ の位相の段差をもつ。得られた位相像の断面から求めた位相差は $0.566\ \text{rad}$ であり、理論値とよく一致した。

次に、ミドリムシを試料に、その移動を $60\ \text{fps}$ のフレームレートで撮影した。観察された位相像のスナップショットを図 4(a)に示す。1ピクセルの大きさは $3.45\ \mu\text{m}$ である。動画撮影では、 $60\ \text{fps}$ のフレームレートで撮影したものを記録して後で位相分布を算出する方法と、偏光画像を撮影しながら逐次に位相像を算出・表示する方法がある。後者の場合、位相計算に時間がかかり、表示できるのは $12\ \text{fps}$ であった。従来の液晶位相シフタを用いて $8\ \text{fps}$ で撮影したときは、メチルセルロース溶液を用いてミドリムシの動きを遅くしていたが、今回は真水のままで動きをとることが出来た。偏光カメラはカメラのピクセルを4個1組で扱って位相を算出している。この4枚のピクセルの位置は厳密には異なっているので、位相が急に変化する場所では、正確な位相を算出できず、誤った位相が現れる。図 4(a)に現れる白点はこれが理由であり、偏光カメラの構造によって生じるアーティファクトである。アーティファクトを低減するために、ピクセルの補間を行う。例えば、図 3の黄色のピクセルは縦偏光の情報をもつが、 45° 偏光の情報はない。そこで左右(または上下または斜め)の 45° 偏光の輝度値から内挿によって黄色のピクセル位置での 45° 偏光の輝度を推定することになる。

本研究では、直近の上下左右斜めの画素値から内挿するのではなく、図 5 に示す 5×5 画素の重み分布(カーネル)を使って各偏光方向の画素輝度値を内挿する。直近画素だけを使った内挿では、内挿方法(左右画素の平均や上下画素の平均など)によって推定されるデータが持つ空間周波数が異なってしまう。図 5の重み配置は、内挿されるデータの空間周波数がほぼ等しくなるように設定している。図 4(b)は、画素の内挿補間を行って位相分布を算出した結果であり、アーティファクトが低減されている。

謝辞

実験に使用したミドリムシを提供頂いた高知大准教授有川幹彦氏に感謝する。

<引用文献>

- [1] P. Marquet, *et al.*, *Opt. Lett.*, **30**, 468 (2005).
- [2] K. Creath, *Appl. Opt.*, **26**, 2810 (1987).

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 A. Mizutani, K. Fujiki, K. Harada and H. Kikuta
2. 発表標題 Quantitative Phase Imaging of Moving Samples by a High-Speed Phase Shifting Point-Diffraction Interference Microscope with a Wire Grid Polarization Pinhole
3. 学会等名 Imaging and Applied Optics Congress 2020 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 水谷彰夫、菊田久雄
2. 発表標題 偏光に依存しない色消しメタレンズのための正方形ナノピラーによるアスペクト低減
3. 学会等名 2020年春季 第67回応用物理学会学術講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 水谷 彰夫, 曹 礼禧, 菊田 久雄
2. 発表標題 二波長法による幾何学的位相シフト点回折干渉顕微鏡の計測範囲の拡大
3. 学会等名 2021年秋季 第82回応用物理学会学術講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 宮崎寛隆, 馬 瑞辰, 水谷彰夫, 菊田久雄
2. 発表標題 偏光カメラを用いたリアルタイム計測可能なワンショット点回折干渉顕微鏡
3. 学会等名 2022年度精密工学会春季大会学術講演会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 位相差顕微鏡および位相差顕微鏡システム	発明者 水谷彰夫	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、2022-029753	出願年 2022年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------