

Application News

No. S18

表面観察
Surface Observation

ありのままの食品観察を可能にする レーザー顕微鏡

The Laser Microscope to Enable the Sobering Food Observation

はじめに

Introduction

おなじ素材からの食品でも、加工と調理による形態の違いから、食感や外観が異なるものが多くあります。そのため、食品研究や品質管理では、形態の違いを画像として捉えることが重要です。

食品観察の多くは、凍結、脱水、薄片化などの適当な前処理を行ったうえで、光学顕微鏡、走査電子顕微鏡 (SEM)、透過電子顕微鏡 (TEM) などが利用されています。しかし、食品のありのままの観察や表面の形状の観察、液中での観察などは、電子線をもちいる SEM、TEM は適さない場合もあります。また、光学顕微鏡は要求される解像度が十分に得られない場合もあります。そこで、レーザー顕微鏡を提案します。

レーザー顕微鏡 (LSM) は、短波長レーザーと光学的な共焦点効果を利用した高分解能な顕微鏡です。試料前処理なしで簡便に、大気中、液中における高分解能な画像と 3 次元形状の取得ができる手法です。

T. Fujii A. Kogure R. Fuji

LSM の原理

Principle of Laser Scanning Microscope (LSM)

LSM の原理図を Fig. 1 に示します。レーザー光源から射出した光を、対物レンズにより試料上にレーザースポットとして照射し、二次元スキャナにより走査します。試料表面で反射された光は同じ光路を戻り、共焦点ピンホールを通過して光検出器で検出され共焦点画像が得られます。共焦点ピンホールは焦点位置以外からの反射光をカットし、焦点位置のみの光を通過させます。そのため、共焦点画像は試料上の同じ高さにある部分からの反射を捉えた画像となります。対物レンズを高さ方向 (Z 方向) に移動させながら共焦点画像を連続取得して積算することで、起伏がある試料表面でも視野全体に焦点の合ったコントラストの高いクリアな輝度像 (LSM 像) が得られます。また、最大反射 (輝度) が得られた高さ情報から三次元画像 (3D 像) が構築されます。

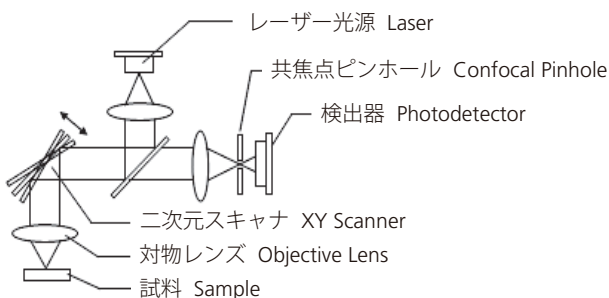


Fig. 1 LSM の原理図
Principle of Laser Scanning Microscope (LSM)

LSM と SEM の比較

Comparison of LSM and SEM

LSM と SEM の一般的な特徴を Table 1 に示します。LSM は前処理を必要としないためにさまざまな試料の高分解能観察を簡単に行えます。また、LSM は SEM ではできない三次元計測が行えます。

Table 1 LSM と SEM の特徴
General Features of the LSM and SEM

	LSM	SEM
前処理 Sample Preparation	必要なし No Need	必要 Need
環境 Environment	大気、液中 Atmosphere Liquid	真空/低真空 Vacuum Low Vacuum
観察視野 Field of view	数 mm~数十 μ m Several mm ~ several tens of μ m	数 mm~サブ μ m Several mm ~ submicron
倍率 Magnification	100倍~1万倍以上 100 times~ 10 thousand times	20倍~30万倍 20 times~ 300 thousand times
分解能 Resolution	良い Good	極めて良い Extremely Good
三次元計測 Three-dimensional Measurement	得意 Specialty	不可能 Impossible

レーザー顕微鏡 OLS

Laser Microscope OLS

レーザー顕微鏡 OLS4100 の外観を Fig. 2 に示します。この装置は波長 405 nm のレーザー光と白色 LED 光を使用しています。これらにより、高分解能な LSM 像とカラー光学観察像 (カラー像) が得られます。LSM における光学解像度は 120 nm です。得られた画像から寸法計測と形状計測を高精度で行うことができます。



Fig. 2 3D 測定レーザー顕微鏡 OLS4100
3D Measuring Laser Microscope OLS4100

OLS では、通常の大気環境における LSM 観察とカラー観察のほかに、油浸対物レンズによる観察、水浸対物レンズによる観察、微分干渉観察、簡易偏光カラー観察が行えます。

■油浸対物レンズ

Oil Immersion Objective Lens

油浸対物レンズ（油浸レンズ）を Fig. 3 に示します。油浸レンズと試料の間は、屈折率 $n_{oil} = 1.516$ (23 °C) の専用のイメージジョンオイルで満たします。通常の大気中で得られるレンズの最大の開口数が 0.95 であるのに対して、油浸レンズの場合、開口数は 1.40 になります。光学的な分解能は光源波長と対物レンズの開口数から決まります。大気観察と比較して油浸観察の場合は、光学分解能が約 1.5 倍向上します。

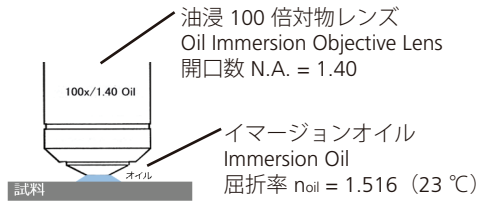


Fig. 3 油浸対物レンズと試料
Oil Immersion Objective Lens

■水浸対物レンズ

Water Immersion Objective Lens

水浸対物レンズ（水浸レンズ）を使用することで水中での観察が行えます。水浸観察は、試料を水中で評価することが必要な場合に有効な手法です。水浸レンズは、試料とレンズの間を水で満たして使用します。水浸レンズは水（屈折率 1.33）の中でも収差の影響が少なく、鮮明な観察が行えるようになっています。

水浸レンズの使用手法として、

- (A) カバーガラスを用いる方法
- (B) 水中にレンズを浸入させる方法

の 2 通りの手法を Fig. 4 に示します。

(A) の方法は、水を挟むことでカバーガラスの影響が減衰され、厚みのある透明体試料の内部観察や水中に入れられない液体状試料の観察に用います。

(B) は、水中で安定する試料に対する一般的な水中観察方法です。

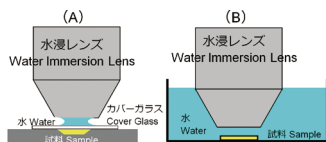


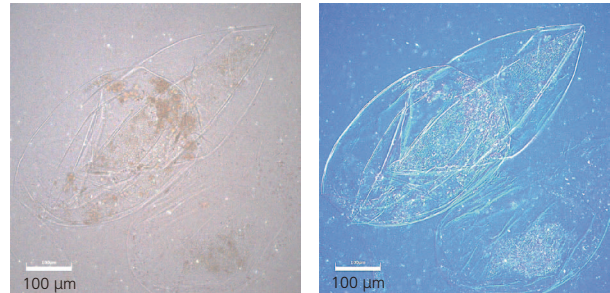
Fig. 4 水浸レンズの使用手法
(A) カバーガラスを用いる方法
(B) 水中にレンズを浸入させる方法
The Observation Method by Water Immersion Lens
(A) Using a Cover Glass,
(B) Observation in Water

■微分干渉観察

Differential Interference Contrast Observation

ノマルスキープリズムを光路中に入れることで微分干渉観察（DIC 観察）が行えます。DIC 観察ではプリズムにより 2 束に分けられた光線の光路差を干渉色の差としてコントラストを得ています。DIC 観察を利用して通常の観察で困難な微細な形状や透明体を立体的に捉えたい場合に有用な観察方法です。

野菜ジュースの観察例を Fig. 5 に示します。カラー観察では透明な細胞がはっきりしていません。DIC 観察では背景に対して透明な細胞を鮮明なコントラストで立体的に捉えています。



(a) カラー観察像
Color Optical Image
(b) カラーDIC観察像
Color DIC Image

Fig. 5 野菜ジュースの観察
Vegetable Juice

レーザー DIC 観察も可能です。この場合のコントラストは単調色で得られます。

■簡易偏光観察

Simple Polarization Observation

本体に内蔵されている偏光板（ポラライザとアナライザ）を光路に入れることで簡易的な偏光観察が行えます。偏光観察は結晶性をもつ試料に有用です。ブルーム現象を起こしたチョコレートの観察例を Fig. 6 に示します。白く観察されているのが肥大化した中性脂肪成分の結晶です。

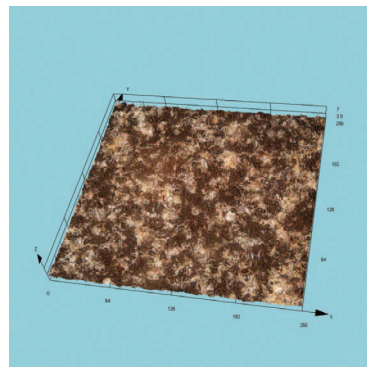


Fig. 6 ブルーム現象が発生したチョコレートの偏光カラー 3D 像
Simple Polarization Observation of Degradation (Bloom) Chocolate

■まとめ

Conclusion

食品のありのままの観察や形状の観察にレーザー顕微鏡 OLS を提案します。LSM をさまざまな食品に対して応用した例を他の号のアプリケーションニュースで紹介しています。

OLS 資料室のご案内 OLS 資料室では食品を含むさまざまなアプリケーションを紹介しています。http://www.an.shimadzu.co.jp/surface/spm/ols/4100/ols_index.htm