レーザー偏光顕微鏡の開発と計量岩石組織学への応用

Development of a polarized laser scanning microscope and its use to quantitative analysis of rock textures

Abstract

清水以知子* 島田耕史**

Ichiko Shimizu and Koji Shimada***

2001年8月29日受付.

2002年2月19日受理.

* 東京大学大学院理学系研究科地球惑星科学専攻
Department of Earth and Planetary Science,
Faculty of Science, University of Tokyo,
Tokyo 113-0033, Japan

** 早稲田大学理工学研究科地質学部門
現所属: 東京大学大学院理学系研究科地球惑星科学専攻

Division of Geology, Graduate School of Science and Engineering, Waseda University,
Tokyo 189-8050, Japan

Present address: Department of Earth and Planetary Science, Faculty of Science, Tokyo 113-0033, Japan

A new method for quantitative analysis of rock texture using a laser scanning microscope (LSM) is proposed. We developed a polarized LSM to identify constituent minerals and analyze their optical properties. High resolution digital images of rock textures are obtained by our LSM system. Confocal images of rock specimens under reflected laser beams are used clearly to visualize grain boundaries, and further analyze the texture by the aid of digital image processing techniques. Polarized images of rock textures under blue (B), green (G), and red (R) laser beams can be superimposed to construct color (RGB) microscopic images. Optical properties of minerals such as reflectance and retardation are accurately measured by the LSM system. Spectroscopic imaging of rock texture is used to visualize spatial distribution of constituent minerals.

Key words: laser scanning microscope (LSM), polarized image, rock texture, image processing, particle analysis

はじめに

顕微鏡画像解析は、堆積岩・変成岩・火成岩・鉱石・隕石等、岩石組織を扱うすべての地球科学分野の共通の関心事である。岩石組織を特徴づける統計量には、空間分布に関するもの（鉱物のモード比や空間相関、割れ目の連結度やフラクタル次元、堆積縞のフーリエ解析）や、結晶粒子のサイズや形状に関するもの（結晶粒径分布、形態定向配列）があげられる。火成岩や変成岩などの結晶粒径分布や空間相関からは、核形成・結晶成長のダイナミクスに関する情報が得られ（清水（1994）、西山・宮崎（1994）、森下（1995）、小畑（2000）などの総説を参照）、変形・再結晶した岩石の軸率や粒径分布からは、歪量や歪速度または応力についての情報が得られる（清水，1998；Shimizu，1998b）。近年コンピュータの高速化にともない、岩石組織の計量をパーソナルコンピュータを用いた画像計測および画像処理で行うことが一般化してきた（Petruk，1989；Kanagawa，1990；森下・小畑，1995；Bjørnerud and Boyer，1996；Bons and Jessell，1996；池田ほか，1997）。画像入力には、光学顕微鏡写真や走査電子顕微鏡の反射電子線像（BEI）をイメージスキャナで読み取る、試料の研磨面や光学顕微鏡像を直接 CCD カメラで読み取るなどの方法も試みられており、モード解析や鉱物の空間分布の解析に一定の成果をおさめてきた。しかし、結晶の粒子解析においては同一鉱物相においても異なる結晶粒子を区別する必要があり、より一層の高い画質が求められる。従来の方法ではこれに耐える鮮明な画像が得られなかったため、実際上

は薄片写真から結晶粒界をトレースするなど（Kanagawa，1990；清水，1998）、手作業で入力画像を作り直していた。そのために多大な労力と時間が費やされ、結果の信頼性にも問題が残った。人為的な作業をできるだけ省き、より客観的なデータを得るためには、断線連結など画像処理上の工夫もさることながら、まずはじめに精度のよい顕微鏡画像を得ることが重要である。

本論文では、走査型レーザー顕微鏡（LSM: Laser Scanning Microscope）を、岩石組織のデジタル画像入力装置として用いる方法について報告する。LSM は試料面をレーザービームで走査し、反射光または透過光を検出器でとらえて電気信号に変え、CRT 上に表示する新しいタイプの顕微鏡である。レーザーの使用により鮮明な顕微鏡像が得られる上、輝度情報が走査画像として直接コンピュータに格納されるため、カメラやスキャナなどの間接入力による画像劣化がない。さらに LSM では共焦点法によって試料の 3 次元的な情報を得ることができるという利点もある。その一方、走査時間が短く、大気中で観察可能という簡便性を備えている。LSM はすでに材料・半導体等の工学分野で形状解析・非破壊検査のために利用されているほか、蛍光顕微鏡として医学・生物分野にも浸透しつつある（レーザー顕微鏡開発の歴史と応用については藤田（1995a, b）、大出（1990）などを参照）。しかし、鉱物を同定する手段に欠けていたため、地球科学分野での利用はこれまでほとんどなかった。そこで本研究ではまず岩石鉱物用に、偏光機能を備えた LSM を設計した。

レーザー顕微鏡の原理

LSM は、可視光または紫外・赤外領域のレーザーを光源とする走査型の光学顕微鏡である。レーザー光には

- (1) 単色性
- (2) 干渉性 (コヒーレンス)

という特性があり、その結果として優れた

- (3) 指向性 (平行性および収束性)

をもつ (飯島ほか, 1994)。LSM ではレーザーを回折限界まで絞り込んで、微小なスポットとして試料面上を走査する。試料からの反射光や蛍光、透過光は光電変換して CRT 上に画像として再構成する。レーザービームを走査する LSM の結像原理は通常の顕微鏡の並列結像方式とは異なり、走査型電子顕微鏡 (SEM : Scanning Electron Microscope) や超音波顕微鏡などと共通する。光源からの光を一樣に試料に照射する従来の光学顕微鏡では、各点から散乱した光がフレアとして重なり像が劣化するが、LSM では微小なレーザースポットを走査するため散乱光の影響の少ない鮮明な像が得られる。さらに LSM では共焦点 (confocal) 光学系の採用により、ピンボケが少なくコントラストのよい像を観察することができる。共焦点法は、ピンホールを通して焦点深度に合う像のみを結像させる方法である。Fig. 1 には一般的な反射モードにおける共焦点光学系を示した (ミラーを利用して透過共焦点光学系を実現している製品もある)。共焦点法により合焦点面の断層像を得ることを光学的セクションングと呼ぶ。様々な焦点深度の光学セクションから試料の 3 次元的な情報が得られることも、LSM の大きな特徴である。

以上のように LSM には従来の顕微鏡にない特徴を備えているが、'光学顕微鏡' であることには変わらないので、その空間分解能は光の波長に制約され、対物レンズの開口数 (Numerical Aperture, NA) に依存する。開口数は、焦点から対物レンズに向かって広がる光の最大角を α 、媒質の屈折率を n としたとき

$$NA = n \sin \alpha \quad (1)$$

で定義される。レンズの種類にもよるが、一般に、開口数は高倍率レンズほど大きく、たとえばオリンパスの 10 倍の対物レンズ (UPlan Apo $\times 10$) では $NA=0.4$ 、100 倍の油浸対物レンズ (MPlan Apo $\times 100$ Oil) では $NA=1.40$ などである。光学顕微鏡における分解能 (Rayleigh の基準による 2 点分解能) は、光学系が無収差で、試料からの光が互いに全く干渉し合わない (インコヒーレント結像) などの理想的な条件を満たすとき、通常、次式で与えられる (吉原, 1966) :

$$F_{xy} = 0.61 \times \frac{\lambda}{NA} \quad (2)$$

但し λ は入射光の波長 (単位 nm)。 F_{xy} は回折半径に等しく、2 点の光の強度分布の中央部の凹みがピークの 74 % となる距離に相当する。

共焦点レーザー顕微鏡 (confocal laser scanning microscope) ではピンホールによる回折が加わることににより、Rayleigh の意味での分解能が、(2) 式より若干向上する (Cox, et al. (1982), Wilson (1990), Pawley (1995), およ

Fig. 1. Principle of confocal microscopes.

L : laser source, O : objective lens, S : specimen, C : condenser lens, CP : confocal pin-hole, D : detector.

びオリンパス光学工業(株)の内部資料に基づく)。2 点からの光が干渉しあう場合 (コヒーレント結像、反射モードがこれにあたる) の理論分解能 F_{xy}^c は (2) 式の 1.08 倍、インコヒーレント結像 (蛍光モードに相当) の分解能 F_{xy}^i は 1.32 倍になる :

$$F_{xy}^c = 0.56 \times \frac{\lambda}{NA} \quad (3)$$

$$F_{xy}^i = 0.46 \times \frac{\lambda}{NA} \quad (4)$$

蛍光モードでは λ として励起光の波長をとる。いうまでもなく、短波長のレーザー光を用いるほど解像度はよくなる。前述の 100 倍の油浸対物レンズと 488 nm の Kr-Ar レーザー (青色) を用いた場合、(2)~(4) 式の F_{xy} , F_{xy}^c , F_{xy}^i の値はそれぞれ 213 nm, 195 nm, 160 nm となる。10 倍の対物レンズでは $F_{xy}=744$ nm, $F_{xy}^c=683$ nm, $F_{xy}^i=561$ nm である。

これらの理論式においては、レンズの瞳に入射する光の強度分布は一樣と仮定している。しかし、実際のレーザービームはガウス状の強度分布をもち、レーザースポットの半径 (ビームウエスト半径) ω は (2) 式で与えられる一般の回折スポット半径の 1/2 程度となる :

$$\omega = 0.32 \times \frac{\lambda}{NA} \quad (5)$$

これらのことも考慮して計算すれば、実質的な 2 点分解能はさらに狭まる。

深さ (z) 方向の分解能を反射光の強度分布の半値幅 ε_z で定義すると、

$$\varepsilon_z = 1.28 \times \frac{n\lambda}{NA^2} \quad (6)$$

となる。 n は媒質の屈折率。青色レーザーを照射し、100 倍の対物レンズと屈折率 1.516 の油浸オイルを用いた場合、 ε_z の値は 483 nm になる。

システム構成

市販されている共焦点走査型レーザー顕微鏡には、金属材

Fig. 2. Outlooks of a laser scanning microscope (LSM) of FLUOVIEW (OLYMPUS).

L: laser unit, S: scan unit, M: microscope, C: control unit.

料・半導体などの表面形状の計測を目的とした反射専用タイプと、蛍光観察を主目的とする医学・生物用タイプがある。後者の場合も、蛍光フィルタを外せば試料からの全反射像を得ることができる。筆者らはシステムの拡張性が高く、しかも比較的安価なオリンパス光学工業(株)製の生物用レーザー顕微鏡 FLUOVIEW を用いた。FLUOVIEW は可視レーザーによる反射像・蛍光像(青緑領域および赤領域の2種類)および透過像のうち、2チャンネルを同時に表示することが可能である。落射光学系(反射および蛍光観察)には共焦点法が用いられている。

FLUOVIEW は大きくレーザー発振部・スキャンユニット・顕微鏡本体・制御用パソコンの4つの部分よりなり、これに透過検出器やz駆動モータが付属している(Fig. 2)。光

学顕微鏡本体には肉眼透過観察用にハロゲンランプ、肉眼蛍光観察用に水銀ランプと蛍光フィルターを備えている。レーザーの水平(xy)方向走査はスキャンユニット内部のガルバノミラーの振動によって行っている。標本(ステージ)走査方式に比較して、走査範囲は顕微鏡の視野内に限られるが、1回の走査時間1.6~76.7秒という高速走査が実現されている(画質改善のため任意回数の走査の平均値または最大値をとることも可能)。ステージの上下移動は手動つまみのほかコンピューター制御されたzモータによっても行える。ステッピングモータの最小移動幅は $0.1\mu\text{m}$ (現行機種 FM300/FM500 では $0.025\mu\text{m}$)である。光検出器(光電変換器)には高感度の光電子増倍管(PMT: photomultiplier tube)を用いている。光電子増倍管はCCDイメージセンサに比べて雑音レベルが1,000分の1以下であるため、微弱な蛍光検出にも適しており、また増倍率Pを変えることにより広い輝度領域をカバーすることができる(藤田, 1995a, 第4章)。

造岩鉱物の同定には、偏光観察が不可欠である。そこで FLUOVIEW に以下の改良を加え、岩石組織の観察に最適なレーザー偏光顕微鏡(polarized laser scanning microscope)を設計した(Fig. 3)。

(1) Kr-Ar レーザーユニットにおいて、標準仕様の青色488 nm・緑色568 nm レーザーに加え、赤色647 nm レーザーを装備し、青(B)・緑(G)および赤(R)の3波長レーザー画像の重ね合わせによって、カラーR・G・B画像を構成することを可能とした。(註: 現行機種 FV300/FV500 ではHe-Ne レーザーの赤色633 nm も選択可能となった)。

(2) 顕微鏡本体には正立型偏光顕微鏡(BX-P)を用い、肉眼およびレーザー光による透過偏光観察を可能にした。

(3) 反射モードの観察においても偏光像(直交ニコル・単ニコル)が得られるよう、スキャンユニットに偏光フィルター(アナライザー・ポラライザー)を挿入した。

Fig. 3. Optical paths in the polarized LSM.

(a) Observation by naked eyes under transmitted-polarized light. (b)-(d): Observation by the LSM. (b) The transmitted-polarized mode. (c) The reflected-polarized mode. (d) The fluorescent mode. E: eye-piece, A: analyzer, O: objective lens, S: specimen, P: polarizer, H: halogen lamp, L: laser source, PMT: photomultiplier tube, F: filter.

透過レーザー観察における偏光フィルターは肉眼観察用のものと共用である (Figs. 3.a, 3.b). しかし, レーザーで観察する場合は, 肉眼観察の場合とは光路の向きが逆になる. すなわち, 上方ポーラーがポラライザー, 下方ポーラーがアナライザーとなる. そこで下方ポーラーを着脱可能なように改良にした. 上方ポーラーを入れた状態で下方ポーラーをはずすことにより単ニコルの状態が達成される.

レーザー画像はCRT上の矩形領域となるので, 試料ステージを回転させることなく消光位を変えられると都合がよい. そこで, 透過光路のポラライザー・アナライザーと反射光路のポラライザーを回転可能とした. 反射光路のアナライザーは現在のところ回転可能ではないが, 偏光面が 0° , 30° , 60° のフィルターのうち1つを挿入できるようにした. ここで注意すべきことは, ポラライザーに到達する入射レーザー光が強く偏光していることである. 透過モード用の上方ポーラーの回転角を変えて, 偏光状態を画像計測した結果, 青・緑レーザーでは視野の垂直方向からの 90° の位置に, またオブションで付けた赤色レーザーの場合は 76° の角度に受光強度の最大値があった. 楕円偏光の最小値/最大値の比はそれぞれ0.048と0.144で, 直線偏光にかなり近い. レーザー発振部からの出力が偏光しているほか, スキャナユニットの中の多数のミラーを反射する間にも偏光状態が変化することが原因である. 試料を無偏光の状態を観察したい場合には, $1/4$ 波長板を使う方法が考えられる. 偏光顕微鏡 (BX-P) に付属の検板 ($1/4\lambda=137\text{ nm}$) でもかなり偏光性が解消されるが, 精密な測定にはレーザー波長に合った検板を特別に用意する必要がある.

レーザー走査によって得られた輝度情報は各点12ビット (4,096階調), 最大 $1,024 \times 1,024$ 画素のデジタル画像として制御パソコンに格納される. (註: 現行機種 FLUOVIEW FV 300/FV500 では $2,048 \times 2,048$ 画素). 視野範囲は可変で, 同一の対物レンズの下で最大10倍までズームアップできる. これに応じて1画素あたりのステップ幅も変化し, たとえば100倍の対物レンズ使用時は最小 13.8 nm である. これは前節で述べた2点分解能に比べて十分小さいので, LSM像の解像度を決めるのは画素の大きさではなく光学系の性能ということができる.

画像計測やコントラスト調整, 簡単な画像演算などは本システム制御ソフトウェアの中で行うことができる. さらに FLUOVIEW 専用の画像ファイルを一般の TIFF 形式にコンバートすることによって, 他の画像処理アプリケーションに移して解析することが可能である. 本システムでは, 12ビット画像を (2バイト画像として) 解析できる画像処理ソフト Image Pro Plus ((株)プラネトロン製) を備えている. NIH Image などパソコン用汎用画像処理ソフトの多くは8ビット (256階調) 濃淡画像しか扱えないため, 精度を落としてセーブしなければならない. 画像処理の一般的手法については本稿では詳述しないが, 多くの解説書が出版されているので (たとえば尾崎・谷口 (1983) など) それらを参照されたい.

Fig. 4. A scanning image of a dislocation etch pit formed by a vacuum evaporation experiment of forsterite, captured by reflected laser beams. The sample is coated with a thin carbon film.

The depth of the etch pit was measured to be $14\mu\text{m}$ by the LSM. (Sample courtesy Harumi Inaba and Hiroko Nagahara).

LSMによる表面反射像

LSMでは電子顕微鏡のように真空引きをする必要がないため, チャージアップを防ぐための蒸着は不要であり, 通常の透過および反射顕微鏡用の試料をそのまま観察することができる. 反射モードの観察では, 試料の表面形状や反射率について知ることができる. 共焦点LSMでは, 受光強度が光軸 (z) 方向の深度や表面の傾斜に敏感なため, SEM像のような陰影のある像が得られる (Fig. 4). ステージを上下させると明るく反射する位置が変わり (Fig. 5.c), 表面の凹凸の深さを計測することができる. これはSEMにはない特徴である. 通常の反射顕微鏡では, 透過像 (非共焦点, Fig. 5.a) と同様, 焦点からはずれた部分もぼやけて重なって見えるが, LSMの反射像 (共焦点) では多数の光学セクションをMAX演算 (各 xy 座標の画素について, 複数の画像のうちのピーク値を記録する演算) によって重ね合わせることで, 長焦点画像 (スタック像) を構成することができる. Fig. 5(b) は z 方向に $10\mu\text{m}$ ほどの光学的セクション (Fig. 5.c) を, $170\mu\text{m}$ の範囲にわたって重ね合わせたスタック像である.

いくつかの鉱物種を含む岩石では, 各鉱物の反射率の違いにより輝度のコントラストが生じる. 研磨試料でも試料面の微妙な傾きや凹凸による濃淡 (シェーディング) が生じるので, 反射率のみに注目したい場合は上述のようなスタック像を用いるのがよい. 反射率の大きい不透明鉱物は, 適当な閾値を設けることにより画像抽出することができる (澤口・清水, 2002). 透明鉱物の場合も, 反射率は屈折率とともに若干変化する (鞠子, 1988). パイレフリンゼンスの高い方解石で

Fig. 5. LSM images of an NaCl crystal under transmitted light (a) and reflected light (b, c). (b) A deep focused reflected image composed of 18 optical sections of different focal depth. (c) Examples of optical sections.

は反射異方性も大きく、反射像において結晶ごとにコントラストが生じる。

あらかじめ岩石の研磨片を酸で腐食し、結晶粒界をエッチングしておくと、スタック像において粒界を可視化することができる(澤口・清水, 2002)。ここではマイロナイト化した石英岩 quartzite (韓半島京畿地塊産) の例を示す。薄片試料は鏡面研磨し、室温で二フッ化アンモニウム水溶液に浸して4分間エッチングし(Wegner and Christie, 1983)、流水で5分以上洗浄した上で観察した。鏡下では、著しく伸張した粗粒なりボン状石英と細粒の再結晶粒子が確認された。再結晶粒子の粒径は薄片の厚さ(約 $30\mu\text{m}$) よりも小さいため、透過像では粒子が重なり合ってしまう、個々の粒子を判別することは難しい。このような細粒試料には反射像による観察が有効である。

細粒結晶の集合部を LSM および通常の反射顕微鏡に CCD カメラをつけて取り込んだ画像を Fig. 6 に示す。いずれも対物レンズは 40 倍で、 $1,024 \times 768$ 画素のサイズで画像を取り込んだが、視野範囲が異なるので同一箇所を切り取って表示している。透明鉱物は一般に反射率が低いため、CCD 画像 (Fig. 6.b) では画面全体が薄暗く不鮮明となる。ところどころ明るく見えているのは干渉縞である。LSM 像 (Fig. 6.a) は 4 枚の反射光学セクションを合わせたスタック像である。LSM では高輝度のレーザー光源を有することに加え、受光感度のよい光電子増倍管を検出器に用いているため、透明鉱物でもコントラストの高い反射像が得られている。一方、コヒーレントなレーザーを用いているため、干渉縞もはっきりと現れている。

干渉縞は、結晶粒界やスライドガラス上面などから回折・散乱された光が互いに干渉し合っているもので、透明鉱物の反射像を高倍率(対物レンズ 40 倍〜)で観察したときに顕

著になる。そこで干渉縞を除去するため、カーボン蒸着によって表面反射を高めて同一箇所を観察した (Figs. 6.c, 6.d)。ここではまだ若干の干渉縞が残っているが、 $200\text{\AA}$ の金蒸着で、ほぼ完全に干渉縞が消えることを確認している。Figs. 6.e, 6.f は、カーボン蒸着後の反射像からそれぞれ粒界を抽出したものである。まず、バックグラウンドの平滑化処理をした上で、それぞれに最適な閾値を決めて 2 値化し、微小粒子(ノイズ)の除去を行った。閾値が低すぎると粒界が切れぎれになり、逆に高すぎるとノイズが増える。

上記の 2 値化画像の地の部分(白)を粒子とみなして粒子解析プログラムにかければ、結晶粒径(円相当径)・アスペクト比・円形度などの分布などを求めることができるが、その前にいくつかの画像修正が必要である。穴埋め処理、末端粒子の除去などは、標準的な画像処理ソフトウェアで自動的に行うことができる。しかし結晶粒界が 1 画素でも欠けてつながらず、隣りどうしの結晶が 1 つにカウントされてしまうときは、マニュアルで繋ぐという作業が必要となる。Fig. 6 の (e) と (f) の細部を比べてみると、LSM では CCD 像に比べて結晶粒界の連結性が大きく向上していることがわかる。Fig. 7 には Fig. 6 と同一薄片の、より広い領域を含む LSM 像をもとに粒径解析した結果を示す。

反射率の画像計測

反射率は鉱石などの不透明鉱物の同定手段として古くから研究されてきた。反射率には波長分散があるため、これまでハロゲン・タングステンランプなどの光を狭い波長領域のフィルターを通して照射していた。この点、レーザーは理想的な単色光源であるため、鉱物の反射率を測定するのに適している。従来の顕微鏡光度計による反射率計測では、絞りや焦点合わせにおける誤差がつきものだった(島, 1988)。十分

Fig. 6. Visualization of grain boundaries in a mylonitic quartzite from the Gyeonggi Massif, Korea.

The section was cut parallel to lineation and perpendicular to foliation. The surface of the section was polished and etched by an ammonium bifluorid (NH_4HF_2) solution before observation. (a), (b): Microscopic images of a fine-grained recrystallized part under reflected light. (a) A LSM images. Four optical sections were stacked in this images by the MAX operation. (b) An image obtained by an ordinary microscope equipped with a CCD camera. (c), (d): Images of the same area after coated with a carbon film, using the LSM (c) and the CCD camera (d). (e) and (f) are binary images converted from the grey scale images of (c) and (d), respectively.

大きな測定視野面積を確保するために絞りを広げると、試料面からの散乱光の影響も大きくなる。これに対して LSM では一定のビーム径をもつレーザーで走査しており、絞りの大小に伴う誤差を回避することができる。散乱光の影響が少なく、正確に合焦点位置を定めることができることも、共焦点 LSM の利点である。

同一条件で観察したとき、LSM 画像の各点の受光強度 I と反射率 R の間にはほぼ線形関係：

$$I = AR \quad (7)$$

が成り立つので、1 つまたは複数の反射率標準試料によって検量線を引き、係数 A の値を求めておけば、未知試料の反射率を画像情報から知ることができる。しかし、標準試料と未知試料の反射率が大きく異なる場合には、光電子増倍管の電

流増倍率 P をそれぞれ異なった値に設定しなければならない。同一試料で増倍率 P を変化させたときの、みかけの受光強度 I の変化は次式で表わされる：

$$I = aP^b : R = \text{一定} \quad (8)$$

但し a, b は装置の特性を表わす定数。したがって (7) 式の係数 A は P とともに変化し、

$$A = mP^b \quad (9)$$

の形の依存性があることがわかる。但し m は定数。したがって、

$$R = \frac{I}{mP^b} \quad (10)$$

反射率標準試料を用いて (7) 式の A を P の関数として求め、(9) 式を用いてフィッティングすれば b と m の値が定まる。そ

Fig. 7. The result of automatic grain size measurements done on the same section as Fig. 6, using an image of grain boundaries visualized by the LSM.

The total number of the grains analyzed is 350. (a) The linear frequency diagram. $D=2\sqrt{\text{area}/\pi}$ is apparent (or equivalent) diameter on a two dimensional section. 1 pixel $\approx 0.25\mu\text{m}$. (b) The logarithmic frequency diagram normalized by the median (D^*) of the apparent diameter. The right-skewed bell-shaped distribution is consistent with the theory of dynamic recrystallization (Shimizu, 1998a, 1999). The standard deviation in the natural logarithmic scale is 1.099.

ここで(10)式を用いて、未知試料の反射率を画像データからただちに求めることができる。この方法によるビトリナイト反射率の測定結果については別稿にて論ずる。

なお、異方性鉱物については通常、(a) ランダム偏光または円偏光している光源を用いて、試料の方位も任意で計測した値(ランダム反射率)を用いる、または(b) 直線偏光させた光を照射して試料ステージを回転させ、みかけの最大反射率および最小反射率を測定する(島, 1988; 鈴木・小田, 1995), の2通りの方法がとられている。LSMでは前述のように入射レーザー光がほぼ直線偏光しているので、(b)の方法で測定するのが適当である。

偏光像と鉱物の色抽出

透過モードにおいて、アナライザー・ポラライザーを装着した状態で、透明鉱物(光学的異方体)に波長 λ の単色光を通したときの入射光の振幅 A_0 と透過光の振幅 A の関係は、

Fig. 8. The intensity (L) of a transmitted laser beam through a transparent mineral (in crossed nicols) as a function of the retardation (R) of the sample.

The vertical scale is normalized by the intensity of the laser source (L_0). The plots are made for blue, green, and red lasers with the wavelengths of 488, 568, and 647 nm, respectively (a), and their combinations (b, c).

吸収や波長分散の影響がないとすると、坪井(1959)の(314.6)式:

$$A^2 = A_0^2 \sin^2 2\theta \sin^2 \left(\frac{\pi R}{\lambda} \right) \quad (11)$$

で与えられる。但し、 θ は光軸の水平回転角、 R はレタレーションで、薄片試料の厚さを d 、屈折率を n_1, n_2 ($n_2 > n_1$)とすると

$$R = d(n_2 - n_1). \quad (12)$$

透過光の強度 (明るさ) L は A^2 に比例するので, 入射光の強度を $L_0 = A_0^2$ としたとき,

$$L' = \frac{L}{L_0} = \sin^2 2\theta \sin^2 \left(\frac{\pi R}{\lambda} \right) \quad (13)$$

但し L' は透過率. $R \cdot G \cdot B$ それぞれのレーザー波長に対するレタデーションと透過光強度の関係は Fig. 8.a のようになる. 単色レーザー光による偏光像の例を Fig. 9 に示す. 消光位に近く, 肉眼で暗く見える石英結晶 (Fig. 9.a) でも, 画像のルックアップテーブルを変化させてコントラストを調整すると, 微妙な濃淡の違いが現れてくる (Fig. 9.b). このことは, LSM が広い輝度レンジの情報を高精度で保持していることの証である.

$R \cdot G \cdot B$ レーザーによる透過偏光画像にそれぞれ赤・緑・青を割りつけ, 重ねあわせることによって, 干渉色を表現することができる (Figs. 10, 11.a, 11.b). その際, RGB 各レーザー光の発振強度が異なるので, 入射光の強度に応じて規格化することが必要である. ここで表現される色は, 連続スペクトルである白色光の重ね合わせでできる干渉色 (Kato, 2001) とは同等ではないが, 一見して通常の薄片写真とかわらない画像が得られている. 鉱物鑑定にはこれでも十分であるが, レーザーの単色光は厳密には光の三原色に対応しないので, さらに肉眼観察における色に近づけるためには, 色座標空間を考慮した補正をするのがよいだろう. 各波長 λ の光の三刺激値 $\bar{r}(\lambda), \bar{g}(\lambda), \bar{b}(\lambda)$ は国際照明委員会 (CIE: Commission Internationale d'Eclairage) によって規定されている (色の表示については, たとえば久保田 (1964) を参照).

以上, LSM により干渉色を表現する方法について述べてきたが, 透過像 (単ニコル) における多色性, および反射像 (単・直交ニコル) における反射多色性・反射干渉色も, 同様の手続きで表わすことができる. LSM では光源や写真印刷の色調に左右されない数値化された色情報が得られるため, 鉱物や岩石組織の画像データベース構築に適している. また, 画像演算によって色 (干渉色, 多色性) の違いを強調したり, またこれを利用して特定の有色鉱物を抽出することもできる (Figs. 11.c, d).

鉱物の偏光特性の画像計測

前節では LSM においてカラー偏光画像を構成する方法について述べた. 多くの地質学研究者が偏光顕微鏡を用いた白色光源の下での肉眼鉱物鑑定に慣れ親しんでいる以上, このような表現も便宜上必要である. しかし干渉色を見る本来の目的は鉱物の光学的性質を調べることにあるので, LSM の分光顕微鏡としての特性を生かして, 直接, 鉱物の偏光特性を定量化することのほうが本質的である. ここでは透過モードにおけるレタデーションおよび複屈折の決定法について考えてみよう.

直交ニコルにおける透過光の強度は, 鉱物が完全に透明で吸収がないとき前出の (13) 式によって表わされるので, θ が消光位から 45° の位置になるようステージまたは上下偏光フィルターを回転させると, 透過率 L' は,

$$L' = \sin^2 \left(\frac{\pi R}{\lambda} \right) \quad (14)$$

これはレタデーション R の多価関数として表わされるので (Fig. 8.a), R のおよその値 (干渉色の次数) がわかっているれば, 上式を逆に解いて R を決定することができる. R の次数がわからない場合でも, $R \cdot G \cdot B$ のうち 2 つまたは 3 つのレーザー光源に対する透過光強度を測定することにより, 解を数値的に求めることができる (Fig. 8.b).

上記の (14) 式に基づくレタデーション決定法では一個一個の鉱物結晶についてステージもしくは偏光フィルターを回転しなければならないので, 多結晶全体にわたる画像処理には不向きである. そこで, (13) 式をそのまま使うかわりに $R \cdot G \cdot B$ レーザー画像の明るさの比をとれば, θ の効果を消去し, 透過光強度のみから R を決定することができる (Fig. 8.c). たとえば青・赤レーザーの透過率の比をとると,

$$\frac{L'_{488}}{L'_{647}} = \frac{\sin^2 \left(\frac{\pi R}{\lambda_{488}} \right)}{\sin^2 \left(\frac{\pi R}{\lambda_{647}} \right)} \quad (15)$$

ただし添字はレーザーの波長 (単位 nm) を表わす. この式を逆に解くことにより, レタデーション R が求まる. さらに薄片の厚さ d がわかれば, (12) 式より複屈折 $n_2 - n_1$ を求めることができる. d を求めるには試料面およびスライドガラス上面からの反射位置 (z 座標) の位置を測定すればよい. 一方, R の値を (11) 式に代入することにより, θ の絶対値が求まる. 符号は鋭敏検板を挿入したときの画像から, 光学性の正負を判定すればよい.

石英などの 1 軸性結晶の場合, 異常光 (光波の振動方向が c 軸と光の進行方向を含む面に平行) の屈折率 n_e と通常光 (振動方向が c 軸に直交) の屈折率 n_o は,

$$\frac{1}{n_e^2} = \frac{\cos^2 \phi}{\omega^2} + \frac{\sin^2 \phi}{\varepsilon^2} \quad (16)$$

$$n_o = \omega \quad (17)$$

を満たす (坪井 (1959) の (217.1) 式を変形). 但し ε, ω は主屈折率, ϕ は光軸の伏角. 1 軸性正号結晶では $\varepsilon \geq n_e = n_2 \geq n_o = n_1 \geq \omega$ であり, 負の結晶では $\omega \geq n_o = n_2 \geq n_e = n_1 \geq \varepsilon$ となる. そこで主屈折率が既知の鉱物に対して複屈折より n_e , さらに ϕ を求めることができる. したがって, 先に求めた θ とあわせて, 1 軸性結晶の光軸方位を薄片上でマッピングすることが原理的に可能である. 今後は, (15)~(17) 式を解くマクロプログラムを開発し, 画像処理ルーチンに組み込むことが課題である. 今回提案した LSM による手法とは異なるが, ユニバーサルステージを用いずに c 軸方位を光学的に決定する方法は他にも提案され, 石英や方解石について実用化されている (Price, 1980; Price and Williams, 1989; Heilbronner and Puli, 1993). 最近, SEM の後方電子散乱像 (Electron Backscatter Diffraction, EBSD) によって結晶方位をマッピングする方法も地球物質科学に応用されはじめているが, 研磨面の仕上げに時間を要するので, 目的に応じて光学的手法と使いわけていくのがよいだろう.

Fig. 9. Polarized LSM images of a biotite-quartz schist taken from the Ryoke metamorphic belt, using a blue laser beam of the wavelength of 488 nm.

(a) An original image captured by the LSM. (b) Contrast in dark quartz grains is enhanced by changing lookup table (LUT).

Fig. 10. (a) Polarized LSM images of a quartz-wedge test plate using red, green, and blue laser beams, respectively.

(b) Interference color of the test plate obtained by superposition of red, green, and blue laser images.

お わ り に

本報告ではレーザー顕微鏡について解説し、岩石組織学への応用について論じた。LSMは空間分解能においては電子顕微鏡や、トンネル顕微鏡 (STM: Scanning Tunnel Microscope), 原子間力顕微鏡 (AFM: Atomic Force Microscope) などの近接場顕微鏡にはるかに及ばないが、非破壊・非接触・大気中で観察可能という光学顕微鏡の長所を備えているため、結晶成長やアナログ変形実験の高温その場観察などへも応用できる。レーザー顕微鏡の光学系を利用した微分干渉法や微分位相差法では、光の波長よりはるかに小さいz方向の変化を検知することが可能であり、結晶のスパイラル成長におけるサブナノメートルのステップ構造が高いコントラストで観察されている (藤田, 1995 a)。

LSMはレーザー照射で生起する様々な光効果を検出する

ことにより、プロービング顕微鏡としても利用できる (大出, 1990; 藤田, 1995 a)。光による内部光電効果を可視化したOBIC (Optical Beam Induced Current) 顕微鏡は、半導体検査のために実用化されている。分光フィルターや分光プリズムによってフォトルミネッセンスを検出すれば蛍光顕微鏡、ラマン散乱光を検出すればラマン顕微鏡となる。FLUOVIEWではKr-Arレーザー照射によって励起される蛍光を検出するための蛍光フィルターを備えている。蛍光観察は、医学・生物学分野でのLSMの主要な用途である。各種の蛍光試薬によってDNA, RNAや抗体を標識し、共焦点LSMで観察することにより、生体組織や細胞の内部構造を3次元的に明らかにすることができる (LSMで使われているレーザー光は微弱であるため、生体標本に与える影響はほとんどない)。堆積物・堆積岩中の有機物の発する蛍光も、LSMによって検出することができる。また、真空ポンプに

Fig. 11. Color image processing of rock texture (the same section as Fig. 9) using polarized laser images. (a) Transmitted microscopic images of the biotite-quartz schist under crossed nicols obtained by red (R), green (G), and blue (B) laser beams. (b) A color image constructed by superposition of the R-, G-, and B-images. (c) Enhancement of interference color by image operations R-B (upper) and B-R (lower). (d) The image operation (R-B)OR(B-R). The result is represented by a pseudo-color represented by the color bar at the top-left.

よって蛍光樹脂を岩石の間隙中に染み込ませ、これを共焦点LSMで観察することにより、間隙の準3次元構造を可視化することができる(Fredrich et al., 1995; Onishi et al., 2001).

レーザー顕微鏡は新しく、それ自体が進化途上の技術である。岩石の組織や表面構造・物性を解析する手段として、今後さまざまな活用されることを期待したい。

謝 辞

本研究を進めるにあたってはオリンパス光学工業(株)とその関連会社に御協力いただき、手厚いサポートを賜った。オリンパス光学工業(株)光学機器開発部の島田佳弘氏、鈴木基彦氏には、レーザー顕微鏡の改良を担当していただいた。元オリンパス販売(株)の古川智洋氏には設計段階から相談に応じていただいた。オリンパスプロマーケティングの伊藤正明氏、KS オリンパス(株)の渡辺孝一氏、オリンパス販売(株)の加藤 誠氏には、日常的なサポートを賜り様々な便宜をはかっていただいた。池田 進(東京大学大学院)・中野司(産業技術総合研究所)の両氏には、丁寧な査読を賜り適切な助言をいただいた。稲葉治美・永原裕子(東京大学大学院)の両氏には、実験試料を提供いただいた。ここに感謝の意を表わしたい。本研究は平成9-11年度文部省科学研究費補助金基盤研究B(2)「レーザー偏光顕微鏡の開発と計量岩石組織学への応用」(研究代表者: 清水以知子, 課題番号09440173)によって助成された。

文 献

- Bjørnerud, M. G. and Boyer, B., 1996, Image analysis in structural geology using NIH Image. In De Paor, D. G., ed., *Structural geology and personal computers*, Elsevier Science, Oxford, 105-121.
- Bons, P. and Jessell, M. W., 1996, Image analysis of microstructures in natural and experimental samples. In De Paor, D. G., ed., *Structural geology and personal computers*, Elsevier Science, Oxford, 135-166.
- Cox, I. J., Sheppard, C. J. R., and Wilson, T., 1982, Super resolution by confocal fluorescent microscopy, *Optik*, **60**, 391-396.
- Fredrich, J. T., Menéndez, B. and Wong, T.-F., 1995, Imaging of pore structure of geomaterials, *Science*, **268**, 276-279.
- 藤田哲也(監修), 1995 a, レーザ顕微鏡の理論と実際, 第一巻, 学際企画, 183 p.
- 藤田哲也(監修), 1995 b, 共焦点レーザー顕微鏡の医学・生物学への応用, 第二巻, 学際企画, 199 p.
- Heilbronner, R. P. and Pauli, C., 1993, Integrated spatial and orientation analysis of quartz c-axes by computer-aided microscopy, *Jour. Struct. Geol.*, **15**, 369-382.
- 飯島徹穂・城 和彦・大竹祐吉, 1994, レーザ技術活用マニュアル, 工業調査会, 145 p.
- 池田 進・中嶋 悟・土山 明, 1997, 岩石組織の画像解析—その自動化における現状と問題点—, 鉱物雑, **26**, 185-196.
- Kanagawa, K., 1990, Automated two-dimensional analysis from deformed elliptical markers using an image analysis system, *Jour. Struct. Geol.*, **12**, 139-143.
- Kato, T., 2001, A method to synthesize interference color chart with personal computer, *Jour. Geol. Soc. Japan*, **107**, 64-67.
- 久保田広, 1964, 光学, 岩波書店, 429 p.
- 鞠子 正, 1988, 偏光の反射理論, 荻木浅彦編, 鉱石顕微鏡, テラ学術図書出版, 東京, 53-69.
- 森下律生, 1995, CSD理論とその火成岩への適用の問題点, 鉱物雑, **24**, 101-105.
- 森下律生・小畑正明, 1995, 鉱物の空間分布パターンからみた岩石組織定量化の試み, 地質雑, **101**, 489-498.
- 西山忠男・宮崎一博, 1994, 変成鉱物の粒径分布と空間分布, 鉱物雑, **23**, 91-103.
- 小畑正明, 2000, 岩石の組織学, 坂野昇平・鳥海光弘・小畑正明・西山忠男編, 岩石形成のダイナミクス, 東京大学出版会, 125-186.
- 大出孝博, 1990, レーザー走査顕微鏡の開発, 日経サイエンス, 10月号, 42-53.
- Onishi, C. T., Shimizu, I., and Shimamoto, T., 2001, Anisotropy of pore structure and permeability in granite: Preliminary results, *EOS Trans. AGU*, **82**, 47.
- 尾崎 弘・谷口慶治, 1983, 画像処理—その基礎から応用まで, 第2版, 共立出版, 288 p.
- Pawley, J. B., 1995, *Handbook of biological confocal microscopy*, 2nd ed., Plenum Press, New York, 632 p.
- Petrunk, W., 1989 ed., *Image analysis in earth sciences*, Mineral. Assoc. Canada, Toronto, 156 p.
- Price, G. P., 1980, The analysis of quartz c-axis fabrics by the photometric method, *Jour. Geol.*, **88**, 181-195.
- Price, G. P. and Williams, P. F., 1989, The photometric method of c-axis fabric analysis applied to calcite, *Tectonophysics*, **158**, 343-354.
- 澤口 隆・清水以知子, 2002, 走査型レーザー顕微鏡による岩石組織の可視化: 反射像と透過像, 地質雑, **108**, XI-XII.
- 島 敬史, 1988, 反射率-定量測定 I. 荻木浅彦編, 鉱石顕微鏡, テラ学術図書出版, 東京, 93-109.
- 清水以知子, 1994, 岩石の流動と再結晶粒径分布, 月刊地球, **16**, 749-754.
- 清水以知子, 1998, 岩石における動的再結晶, 地質学論集, no. 50, 1-12.
- Shimizu, I., 1998 a, Lognormality in crystal size distribution during dynamic recrystallization, *FORMA*, **13**, 1-11.
- Shimizu, I., 1998 b, Stress and temperature dependence of recrystallized grain size: A subgrain misorientation model, *Geophys. Res. Lett.*, **25**, 4237-4240.
- Shimizu, I., 1999, A stochastic model of grain size distribution during dynamic recrystallization, *Philos. Mag., A*, **79**, 1217-1231.
- 鈴木舜一・小田幸人, 1995, 西南日本内帯夾炭三畳系のビトリナイト反射異方性と熱構造, 地質雑, **101**, 605-614.
- 坪井誠太郎, 1959, 偏光顕微鏡, 岩波書店, 312 p.
- Wegner, M. W. and Christie, J. M., 1983, Chemical etching of deformation sub-structures in quartz, *Phys. Chem. Minerals*, **9**, 67-78.
- Wilson, T., 1990, *Confocal Microscopy*, Academic Press, London, 426 p.
- 吉原邦夫, 1966, 物理光学, 共立出版, 295 p.

(要 旨)

清水以知子・島田耕史, 2002, レーザー偏光顕微鏡の開発と計量岩石組織学への応用, 地質雑, 108, 306-317. (Shimizu, I. and Shimada, K., 2002, Development of a polarized laser scanning microscope and its use to quantitative analysis of rock textures, *Jour. Geol. Soc. Japan.*, 108, 306-317.)

走査型レーザー顕微鏡 (laser scanning microscope, LSM) によって岩石組織をデジタル画像として直接読み取り, 定量的に解析する方法を報告する. LSM はレーザーを光源とする走査型の光学顕微鏡である. レーザー光の指向性と, これを利用した共焦点法によって, 解像度のよい鮮明な画像が得られることに加え, 試料の深さ方向にも解像度をもつという利点がある. LSM を用いた表面形状解析では, 結晶粒界を鮮明に可視化することができる. 岩石鉱物の観察のため, 偏光フィルターを挿入して単ニコル・直交ニコル像の取得を可能にした. 光源には Kr-Ar レーザー (青・緑・赤の3波長同時発振) を備えており, カラー画像の取得や分光顕微鏡としての様々な応用が可能である. 得られたデジタル顕微鏡画像を用いて鉱物の光学的性質の画像解析や, 特定鉱物のマッピングなどの画像処理を行った.