近接場走査顕微鏡*

岡崎 敏** 長村俊彦***

Near-field Scanning Optical Microscopy / Satoshi OKAZAKI and Toshihiko NAGAMURA

Key words: near-field scanning optical microscope, high-resolution optical microscope, fluorescence microscope, transmission image of lattices, fluorescence image of lattices, topographic image of surface, optical tip, piezoelectric scanning head

1. はじめに

近接場走査顕微鏡 (Near-Field Scanning Optical Microscopy, NSOM) は、従来の測光法の原理とは全く異なるエバネッセント光のトンネリング効果に基づくもので、結像の目的にはレンズを必要としない光学顕微鏡である。可視光領域で 20 nm の高分解能が得られることから最近特に注目されている。近接場測光法の原理については、かなり古く 1956 年に O'keefe¹⁾ により提案されていたが、可視光領域への NSOM の応用は走査トンネル顕微鏡 (STM) の開発によるマイクロ走査技術を利用して初めて実現された^{2)~4)}。

2. 近接場走査顕微鏡の原理

図 1 は、ピンホール型近接場走査顕微鏡の原理を模式的に示したものである。一口で言えば、入射光の波長よりも小さいピンホール (10 nm 径) を開けた金属スクリーンを試料表面に極めて接近 (<100 nm) させてマイクロレーザ光を照射し、試料の蛍光や透過光あるいは反射光を対物レンズで効率よく集光して検出する測光法である。実際には、先端にピンホールを開けた光学探針を二次元走査して試料表面の高分解能イメージングを行うために、図のように各種の測定方法が考えられている。

NSOM における分解能やコントラストについての

定量的な取扱いについては今後の課題であるが、単純な系について定性的には理解されている⁵⁾⁶⁾。図 2 は、純粋に磁気双極子だけによる励起を想定して、電場エネルギー密度 $|E|^2$ をピンホール面からの距離の関数として表している。横軸にはピンホール半径 a で規格化した距離が、縦軸にはエネルギー密度 $|E|^2$ をピンホール面の入射側の磁場エネルギー密度で規格化した値が対数表示されている。また、入射光の波長 λ はピンホール半径の 100 倍に見積られている。ピンホール面の最近傍では放射強度は相対的に大きくほぼ一定であり、ここがエバネッセント波帯である。ピンホール面から 10~100 nm 離れた領域での放射強度は距離の 3.7 乗に比例して減少する。この領域はエバネッセント波が消滅するところで近接場 (near-field) と呼ばれる。さらに、入射光の波長程度離れると遠隔場 (far-field) の領域になり、点光源からの光の放射と同じように強度が距離の 2 乗に反比例する。

結局、ピンホールを通った放射のうちごくわずかの放射が遠隔場に放射され、ほとんどはピンホールの周囲を行き来していると考えられる。したがって、近接領域に吸収体が存在するとエネルギーの減少に大きく関与するので、薄膜試料でもコントラストが強調されて観察されることになる。また、近接場走査蛍光顕微鏡⁷⁾⁸⁾ では、試料表面に存在する蛍光物質が相対的に強く励起される結果、試料表面の選択的な情報を得ることができる。

3. NSOM で期待できる分解能

NSOM の分解能は、近接場での放射強度がピン

* 原稿受付 平成 3 年 5 月 13 日

** 京都大学理学部 (京都市左京区北白川追分町)

*** (株)ユニソク (枚方市大峰元町 1-25-8)

図1 近接場測光法の模式図

a : ピンホール半径 (5 nm), λ : 入射光波長 (500 nm)

図2 ピンホール面からの距離と光の強度との関係

r_k : 石英チップ先端の曲率半径, d_p : 光の浸透距離

図3 光学探針先端部の拡大図とピンホールの有効半径 a_{eff}

ホールで大きくその周辺では急激に減少すると考えられるので、この領域に存在する物質に対する分解能はピンホールの径にほぼ等しくなることが予測される。

図3は、光学探針の先端部を模式的に示したものである。NSOMの分解能を決めるピンホールの有効径 a_{eff} は、光が金属被膜を浸透する深さ d_p と光学探針の曲率半径 r_k により式(1)で表される。

$$a_{\text{eff}} = d_p \sqrt{1 + r_k / d_p} \quad (1)$$

また、 d_p は金属の吸収係数 ϵ および入射光波長 λ により式(2)で与えられる。

$$d_p = \lambda / 4\pi\epsilon \quad (2)$$

すなわち、非常に鋭利な ($r_k \approx 0$) の探針の有効半径は d_p 値に等しくなり、またかなり鈍角な探針 ($r_k \approx 500$ nm) でもその10倍程度である。したがって、光遮蔽度の高いアルミニウム ($\epsilon = 6$ nm) で被覆した探針を用いた場合、10~50 nmの高分解能が期待できる。このようにNSOMの分解能が、入射光の波長には依存せずにピンホールの有効径によって決まる点は従来の測光法とは根本的に異なる。

3.1 NSOM装置の概要

図4に、筆者らのNSOM-STM測定装置の構成を示す。スキャンヘッド部に外側4電極のチューブ型圧電素子を採用し、さらにNSOM用光学探針とSTM用金属探針を規格化して、NSOMとSTMの両測定機能を持たせるよう設計した。NSOM測定で、試料表面が導電性を持つ場合には、STMのサーボ機構により近接場制御が容易に実現できる。一方、試料表面が導電性を持たない場合には、試料を平坦に展開した上で、STMの電流モードで探針を一定の高さに保ちながらX-Y走査を行う。X-Y走査用ドライブ電圧は、コンピュータ(PC 9801-RA)からD/Aコンバータを通してX,Y圧電に加えられる。検出部では、Z圧電のフィードバック電圧(STMモード)あるいは光電子増倍管の出力電圧(NSOMモード)がA/D変換されて画像処理ボードに入力され、高速リアルタイムで画像がモニタに表示される。X-Y走査範囲は、NSOM測定では $10 \times 10 \mu\text{m}^2 \sim 10 \times 10 \text{ nm}^2$, STM測定では $10 \times 10 \mu\text{m}^2 \sim 10 \times 10 \text{ Å}^2$ であり、最高走査速度は1画像(512×512画素, 256階調)当たり10秒である。

3.2 光学系

図5にNSOM装置の光学系の構成を示す。アルゴンレーザ光源(NEC GLG-3200, 2 W; ELG-3020, 50 mW)あるいはキセノンランプ光源(150 W)から

図4 近接場走査顕微鏡装置の構成図

図5 光学系構成図

の入射光が直接または石英ライトガイド ($400\ \mu\text{m}$) を通してレンズで光学探針の先端に効率よく集光され、ピンホールから試料表面に照射される。試料の蛍光や透過光は対物レンズで効率よく集光されて、石英ライトガイド ($200\ \mu\text{m}$) で光電子増倍管 (R 2949) に伝送されて検出される。蛍光測定の場合には、励起用バンドパスフィルタおよび検出用カットフィルタがそれぞれ図のように挿入される。XY テーブルには X-Y 粗動用マイクロメータが取り付けられているので、測定位置を光学顕微鏡で目視設定できる。

3.3 光学探針の製作

NSOM で高分解能を実現するためには、光学探針の製作が最重要となる。筆者らの光学探針の製作法は、シングルモード石英光ファイバ (三菱電線 STU-400, $400\ \mu\text{m}$ 径) を機械研磨して鋭利に加工した石英チップの先端部にアルミニウムを真空蒸着 ($500\ \text{\AA}$) する。さらに、アルミニウム膜の酸化を防

ぐために白金-パラジウム ($80:20$, $100\ \text{\AA}$) をスパッタリングした後、この金属被覆石英チップの先端にピンホールを次の手順で開孔する。まず、STM の粗動機構および微動機構を利用して、チップを導電性ガラス板に接近させる。次に、SOM 動作に切り換えて、さらに接近させてガラス面に軽く衝突させる。この時、先端の金属薄膜が破れて、針先からレーザ光がわずかに漏れると、SOM サーボ機構が働いて探針は自動的にガラス板から離れ開孔作業を終了する。

4. 測定例

4.1 透過光測定によるイメージング

図6は、カバーガラス上に分散させたラテックス小球 ($0.2\sim 0.5\ \mu\text{m}$) の透過光測定によるライン表示 NSOM 像である。Z 軸は透過光強度 ($10^3\ \text{count/s}$) を表している。ラテックス球により透過光強度が減少

図6 透過光測定によるラテックス小球のライン表示像

図7 ラテックス小球の三次元イメージ

図8 蛍光測定によるラテックス球の二次元イメージ

して凹状に観測されている。測定は、アルゴンレーザ (50 mW) 光を照射しながら、ラインスキャンモードで $10 \times 10 \mu\text{m}^2$ の範囲 (X 軸 128 点, Y 軸 128 ライン) を走査して、フォトン計数 (2 ms/dot) 方式で透過光を検出した。図 7 は、図 6 を三次元表示したラテックス球の NSOM 像である。同図では Z 軸を逆転して表示しているので、ラテックス球が凸状に観られる。ラテックス球のように高さのある試料の観測でも高分解能が得られていることは興味深い。

4.2 蛍光測定によるイメージング

蛍光ラテックス球の蛍光測定の結果を図 8 に示す。試料は、蛍光ラテックス球 ($1.2 \mu\text{m}$ 径) を分散させたコロジオン液をカバーガラス上にスピコートして展開させ、その表面に金をスパッタリングして作成し

た。測定は、キセノンランプ (150 W) を光源にして、励起用ガラスフィルタ (B 390) を用いて $400 \sim 500 \text{ nm}$ で励起し、検出側にゼラチンカットフィルタ (SC 54) を挿入して 540 nm より短い波長の光を遮断して行った。走査範囲は $10 \times 10 \mu\text{m}^2$ (512×512 画素) で、画像モードで測定した。白く光って見えるのが蛍光ラテックス球である。

5. 展 望

近接場走査顕微測光法は誕生したばかりの新しい光学顕微鏡であり、測定装置もまだ試作段階であるが、高分解能イメージングが実現できる可能性を十分に持っている。しかし、本法の実用化の点ではまだ多くの問題を抱えている。今後、光学探針の構造や製作方法の改良、近接場制御法の確立による再現性の向上など、さらに新しい展開が待たれる。

近い将来、STM や AFM との組合せにより、生体の微細構造の観測や固体表面状態の観測、さらに粒子や細胞レベルでの分光測定、あるいは微小領域での光化学反応の制御への応用など、本法の応用範囲は多岐にわたるものと期待する。

参 考 文 献

- 1) J. A. O'Keefe : Resolving Power of Visible Light, J. Opt. Soc. Am., **46**, 359, (1956).
- 2) A. Lewis, M. Isaacson, A. Harootunian and A. Murray : Scanning Optical Spectral Microscope, Biophys. J., **41**, 405 a, (1983).
- 3) D. W. Pohl, W. Denk and M. Lanz : Optical Stethoscopy : Image Recording with Resolution $\lambda/20$, Appl. Phys. Lett., **44**, 652, (1984).
- 4) G. A. Massey : Microscopy and Pattern Generation with Scanned Evanescent Waves, Appl. Opt., **23**, 658, (1984).
- 5) U. Durig, D. W. Pohl and F. Rohner : Near-field Optical Scanning Microscopy, J. Appl. Phys., **59**, 3318, (1986).
- 6) D. W. Pohl, U. Ch. Fischer and U. T. Durig : Scanning Near-field Optical Microscopy (SNOM), Proc. SPIE-Int. Soc. Opt. Eng., **897**, 84, (1988).
- 7) E. Betzig, M. Isaacson, H. Barshatzky, A. Lewis and K. Lin : Near-field Scanning Microscopy (NSOM), Proc. SPIE-Int. Soc. Opt. Eng., **897**, 91, (1988).
- 8) S. Okazaki, H. Sasatani, H. Hatano, T. Hayashi and T. Nagamura : Development of High-resolution Optical Scanning Fluorescence Microscopy, Mikrochim. Acta [Wien], **III**, 87, (1988).