

Nikon

# OPTIPHOT 位相差装置 Ph

K.O

このたび、ニコン顕微鏡位相差装置Phをお買い上げいただきありがとうございました。

この装置は生物顕微鏡OPTIPHOTまたはLABOPHOTに取り付けて使用するもので、位相差検鏡の他に暗視野検鏡(10×~40×)も可能になっています。

顕微鏡装置は高度の精密機械で、その構造および機能は微妙です。鏡基に付属の使用説明書と併せてこの使用説明書を良くお読みになり、正しくご使用下さい。

## 取扱い上の注意点

1. 衝撃を与えないよう、取扱いは慎重に行ってください。
2. 振動の少ない所に置き、直射日光の当たる所、ほこりの多い所、高温、多湿の場所での使用は避けて下さい。
3. レンズ類にはほこり、指紋などをつけないよう注意して下さい。  
レンズ、ミラーなどの汚れは、像の見えを低下させます。
4. 本体のランプ交換、ヒューズ交換は、メインスイッチをOFFにし、電源コードのプラグを抜いてから行って下さい。

## 手入れおよび保守

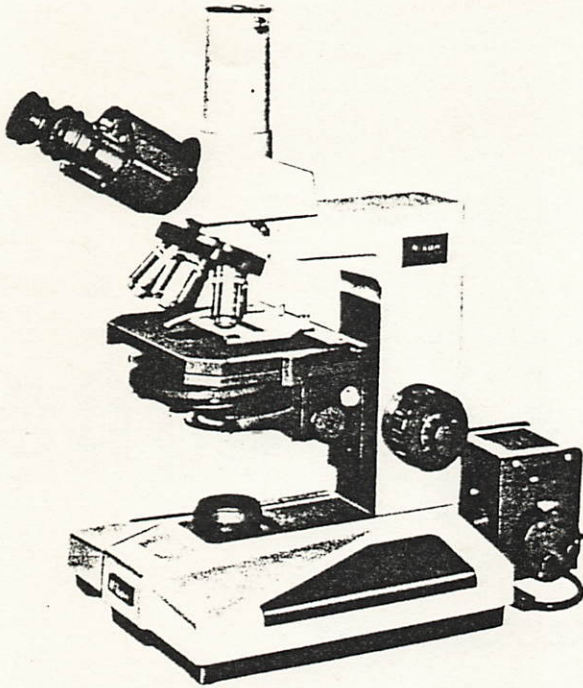
1. レンズの清掃は、ほこりを柔らかな毛筆(刷毛)で払うか、ガーゼで軽く拭き取って下さい。  
指紋または油類の汚れの場合のみ、無水アルコール(エタノール、メタノールのどちらでも良い)を柔らかい清潔な木綿布か、指定のレンズティッシュ、またはガーゼにわずかに含ませてから拭いて下さい。対物レンズおよび油浸用オイルの清掃には石油ベンジンのみ使用して下さい。  
アルコールや石油ベンジンは引火性が高いので、取扱い中には、火気、電源スイッチのON-OFFに十分注意して下さい。
2. 各部の清掃の際、塗装部分、プラスチック部分は有機溶剤(アルコール、エーテル、シンナーなど)の使用は避けて下さい。付属のシリコンクロスの使用をお勧めします。
3. 各部の分解は性能を害する恐れがありますから避けて下さい。
4. 使用しないときは、付属のビニールカバーをかぶせて、湿気が少なく、カビの発生しにくい場所に保管して下さい。  
特に対物レンズ、接眼レンズは乾燥剤を添えて、容器(デシケータなど)に保管することをお勧めします。
5. 本機の性能維持のため、定期点検をお勧めします。(ご購入先かもよりの当社営業所にご相談下さい。)

# 目 次

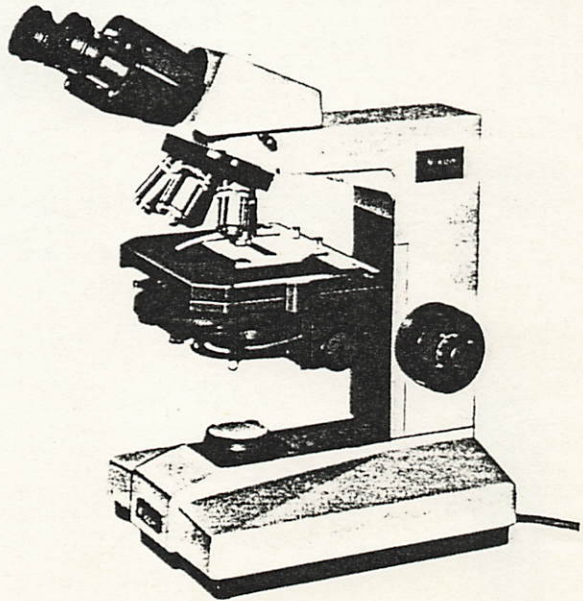
I. 各部の名称と機能	4
II. 組立て	6
1. 対物レンズの取付け	6
2. 光源の心出し	6
3. ターレットコンデンサの取付け	7
III. 検鏡準備	8
1. フィルタ	8
2. ターレットコンデンサの心出し	8
3. 位相差用リング絞りの心出し	8
IV. 検鏡法	10
1. 位相差検鏡	10
1) 検鏡手順	10
2) 検鏡上の注意	11
2. 暗視野検鏡	11
3. 明視野検鏡	11
V. 特性と原理	12
1. 位相差用対物レンズの特性	12
2. 位相差像の特性	13
3. 位相差顕微鏡の原理	13
VI. 写真撮影	16
VII. 仕 様	16
VIII. 使用上の問題点と対策	17



# I. 各部の名称と機能



OPTIPHOT XF-Ph

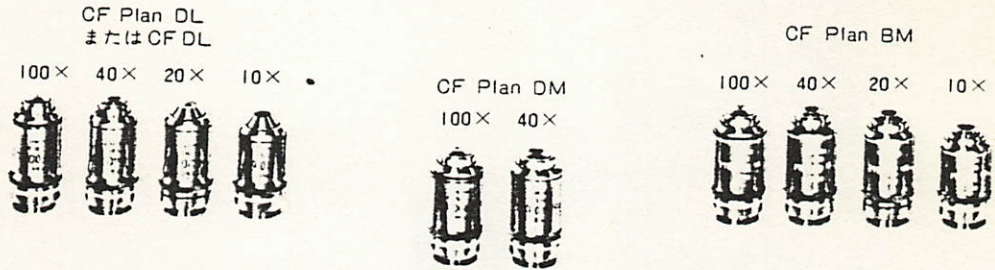


LABOPHOT YB-Ph

# 位相差装置Ph

## 位相差用対物レンズ

レンズ外高のDL, DM, BMの表示はそれぞれ、ダークコントラスト一般用、ダークコントラスト低位相差用、ブライツコントラスト用であることを示します。  
また、Ph1~Ph4の表示は、ターレットコンデンサのリング絞りの大きさに対応した、対物レンズ側の記号です。リング絞りの記号はこの記号に合わせます。  
(お買い求めいただきましたセットによって、セットに含まれる対物レンズの種類、本数は異なります。)



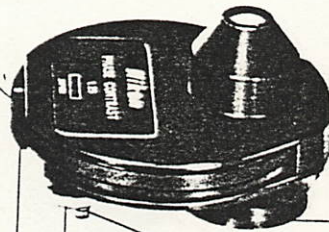
## 位相差用ターレットコンデンサ

### 倍率表示銘板

〔Ph1〕～〔Ph4〕はリング絞りの大きさを示す記号でそれぞれ位相差対物レンズ10～100×用です。使用対物レンズの記号と同じ記号にセットします。  
〔DF〕は暗視野用リングで10×～40×共用です。  
〔0〕は明視野用中空穴です。

### 開口絞りつまみ

明視野の場合、開口を絞るのに利用します。



### ターレット

ターレットを回転させ、対物レンズの倍率に合わせて、リング絞りを切り替えます。

### 取付けマウント

### 心出しノブ

ノブの回転によりターレット全体を心出しします。

### クランプねじ

リング絞りの心出しが終わったら、クランプねじを締めて、心出しノブを固定します。

## 心出し望遠鏡



ローレット部を押さえて接眼部を回し、対物レンズの位相板リングにピントを合わせます。

## フィルタ

φ45mm

グリーン干渉フィルタ

断熱フィルタ





## II. 組立て

この装置を生物顕微鏡OPTIPHOTあるいはLABOPHOTに組み立てる際には、それぞれに付属の使用説明書も併せてお読み下さい。

### 1. 対物レンズの取付け

- レボルバに一般用の対物レンズが取り付けられている場合には、これを外します。
- レボルバを時計方向に回転した場合に、Ph記号の数字が大きくなるよう位相差用対物レンズを取り付けます。(図2)

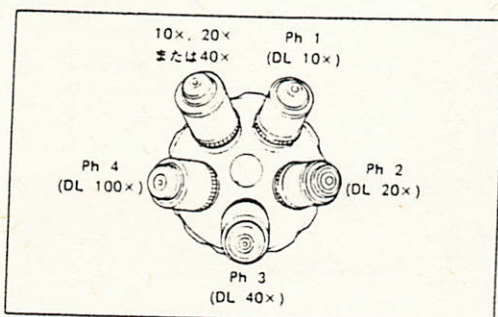


図2

〔注〕ターレットの〔DF〕の位置には、対物レンズ10×～40×共用の暗視野リングが入っていますので、一般用の10×か20×あるいは40×対物レンズを取り付けておくと、標本さがしのファイリングとして利用できます。  
ニコン位相差用対物レンズには表1のような種類がありますから、使用目的に応じて、選んでご使用下さい。

### 2. 光源の心出し

位相差法では、一般観察と比べてその像は暗く光量が不足しがちですので、ランプの心出しを正確に行う必要があります。

#### ●OPTIPHOTの場合

- 電源コードをコンセントに差し込みます。
- ND 2, ND 16フィルタをフィルタ受けに落とし込みます。
- メインスイッチをONにし、指示計目盛を6にします。
- ステージに標本を載せ、10×対物レンズでピントを合わせます。このとき、開口絞り、視野絞りは全開にして行って下さい。
- P. 8 2. の要領で、コンデンサレンズの心出しを概略行います。(10×対物レンズのみにて可)
- フィールドレンズ上にランプ心出し工具をかぶせ、その上にNDフィルタを1枚、フィルタ受けから外して載せます。(図3)

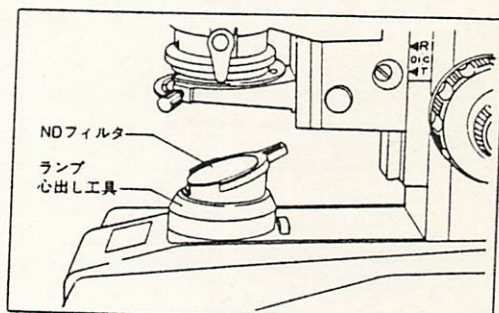


図3

表1 位相差用対物レンズ

種類	倍率	開口数 (N.A.)	作動距離 (mm)	焦点距離 (mm)	カバーガラス厚さ (mm)	備 考	
アクロマート	ドライ	CF DL 10×	0.25	5.6	16.6	—	位相コントラストDL(一般用)
		CF DL 20×	0.40	2.23	8.8	0.17	位相コントラストDL(一般用)
	オイル	CF DL 40×	0.65	0.53	4.4	0.17	位相コントラストDL(一般用) 安全装置付き
プランアクロマート	ドライ	CF DL 100×	1.25	0.14	1.8	0.17	位相コントラストDL(一般用) 安全装置付き
		CF Plan DL 10×	0.25	7.1	16.7	—	位相コントラストDL(一般用) BM(反転コントラスト用)の2種、超広視野共用
		CF Plan DL 20×	0.40	1.4	8.4	0.17	位相コントラストDL(一般用) BM(反転コントラスト用)の2種、超広視野共用
	オイル	CF Plan DM 40×	0.65	0.48	4.1	0.17	位相コントラストDL(一般用) DM(低位相差用)、BM(反転コントラスト用)の3種 安全装置付き、超広視野共用
		CF Plan DM 100×	1.25	0.20	1.8	0.17	位相コントラストDL(一般用) DM(低位相差用)、BM(反転コントラスト用)の3種 安全装置付き、超広視野共用



- 7) 開口絞りを閉じて、ランプハウスクランプねじを緩めて、ランプハウスを前後させ(図4)、開口絞り面にフィラメント像を結像させます。結像の状態は、NDフィルタからの反射で開口絞り面を見ながら行います。

[注] アクロマチック・アブラナートコンデンサ使用の場合、レンズ面からの反射によるフィラメント像(赤紫色)と、開口絞り上に結像するフィラメント像(青白色)を間違えることがあります。視野絞りを絞り込みますと、赤紫色の像が消えて見易くなります。

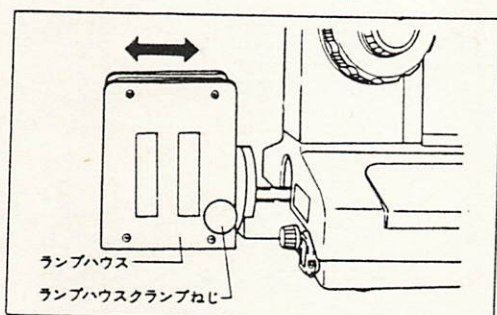


図4

- 8) 図5のソケットスリーブクランプねじを緩めてから、ランプ左右心出しねじとランプ上下心出し環を操作して、図6のようにフィラメントの心出しをします。

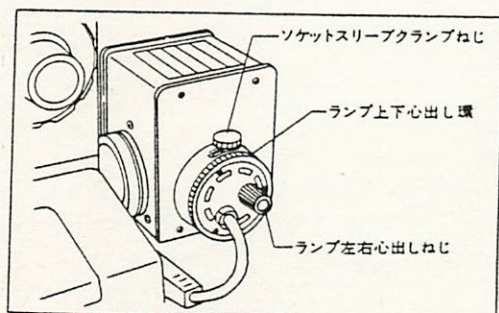


図5

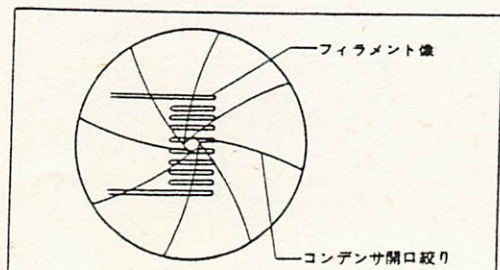


図6

- 9) 図7のように拡散板のマット面を鏡基側に向け、フィルタ受けの最も鏡基側の溝に落とし込みます。

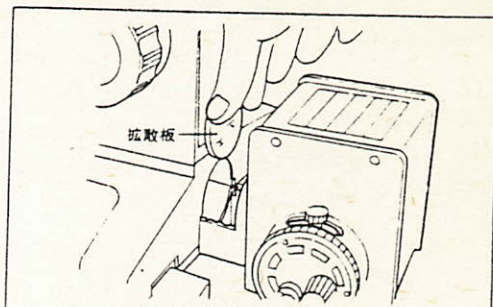


図7

以上の操作は、電球交換の際にも再度行って下さい。

#### ● LABOPHOTの場合

ランプはプリセントラ式ですので心出しの必要はありません。

### 3. ターレットコンデンサの取付け

- 1) コンデンサ上下動ハンドルを操作して、コンデンサキャリアを最下部にし、一般用コンデンサを外します。
- 2) ターレットコンデンサを図8のように、水平にコンデンサキャリアに押し込み、キャリアの溝にターレットコンデンサのピンをはめ込ませてから、クランプねじでしっかり固定します。(ターレットを回転しても緩むことのないよう固定して下さい。)

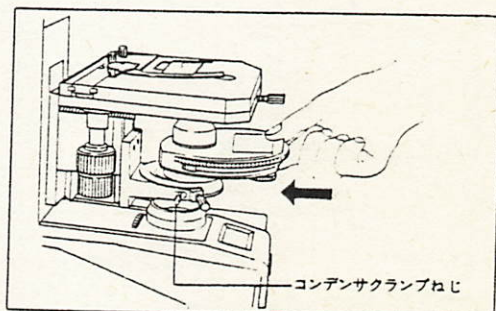


図8

- 3) コンデンサ上下動ハンドルを操作して、ターレットコンデンサを最上部に移動させます。



### III. 検鏡準備

#### 1. フィルタ

##### ●OPTIPHOTの場合

- 1) 一般検鏡と同様に、NCB10フィルタをフィルタ枠に入れ、鏡基ベース部のフィルタ受けに落とし込みます。(図9)

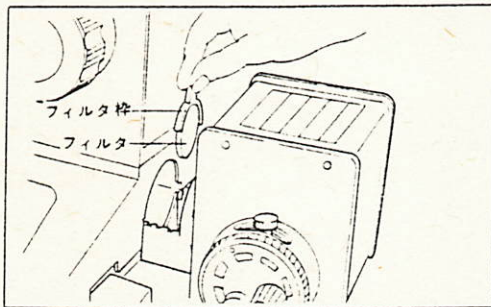


図9

- 2) 単色光での検鏡には、グリーン干渉フィルタ(外径45mm)をフィルタ枠に入れ、鏡基ベース部のフィルタ受けに入れます。
- 3) 照明光の熱による標本の変形、変質、または生体の死滅などを極力防止したい場合には、断熱フィルタ(外径45mm)をフィルタ枠に入れ、鏡基ベース部のフィルタ受けに入れます。

##### ●LABOPHOTの場合

この鏡基の場合には、昼光色フィルタ、グリーン干渉フィルタ、断熱フィルタは、そのまま鏡基フィールドレンズの上に載せて使用します。

#### 2. ターレットコンデンサの心出し

- 1) メインスイッチをONにしてランプを点灯し、OPTIPHOTの場合には指示計目盛を7にし、LABOPHOTの場合には5にします。
- 2) 標本をステージ上に載せます。
- 3) コンデンサのターレットを〔0〕の位置にし、対物レンズをPh1(10×)にします。
- 4) 標本にビントを合わせます。
- 5) 鏡基ベース部の視野絞り環を操作して、視野絞りを最小に絞ります。
- 6) コンデンサ上下動ハンドルを操作して、視野絞りを標本面に結像させます。
- 7) 視野絞りが接眼の視野に対して偏心しているときは、コンデンサ心出しねじで同心となるよう調節します。(図10-1)

- 8) 対物レンズをPh3(40×)に切り替え、視野絞りが図10-2のように接眼レンズとほぼ同じになるように、絞りの大きさを調節します。偏心している場合は、コンデンサ心出しねじで正しく心出します。

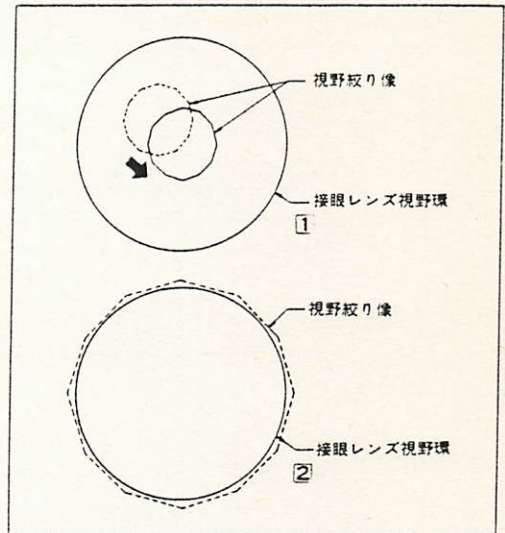


図10

#### 3. 位相差用リング絞りの心出し

- 1) 対物レンズをPh1(10×)に切り替え、コンデンサのターレットを回転して〔Ph1〕の位置にします。
- 2) ステージハンドルを操作して、標本を、標本中の物体のない部分でかつカバーガラスのかかった部分に移動させます。
- 3) 鏡筒から接眼レンズを取り外し、代わりに心出し望遠鏡を入れます。
- 4) 心出し望遠鏡のローレット部を押さえ、接眼部を回し、対物レンズの位相板リングにビントを合わせます。(図11)

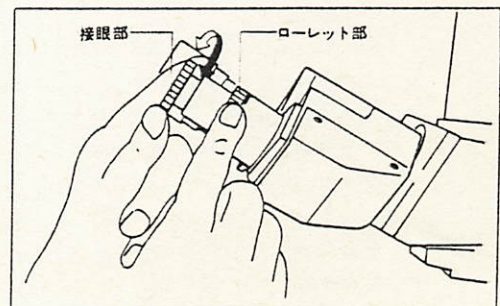


図11

- 5) 対物レンズの位相板リングとコンデンサのリング紋りがずれている場合には、2個の心出しノブのクランプねじを緩めてから、図12のように心出しノブを操作して、ターレット全体を動かしてリング合せを行い、完了後クランプねじを締めます。

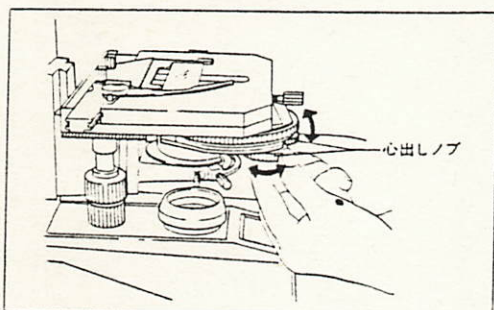


図12

図13のようにリング同士がずれている場合には、著しくコントラストが劣りますので、二つのリングは正しく重ね合わさっている必要があります。

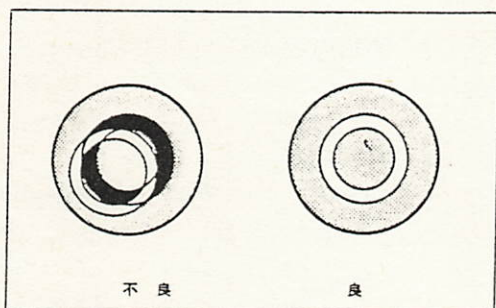


図13

(注) 本装置のターレットは、(Ph1)のリング紋りを基準に他のリング紋りをあらかじめ調整してありますので、(Ph1)で心合せを行えば、一般には、他の倍率での心合せをする必要はありません。ただし、コンデンサ側リング紋りと対物レンズ側位相板リングの重なり具合により、位相差像が微妙に変わりますので、厳密に観察したり、写真撮影する場合には、各倍率ごとにリング紋りと位相板リングが同心円になっているか確認して下さい。また、リング紋りと位相板リングをわずかに偏心させることによるシャドウイング効果により、立体的な像が表われますので、標本に応じて活用して下さい。



# IV. 検鏡法

## 1. 位相差検鏡

### 1) 検鏡手順

#### ● OPTIPHOTの場合

- (1) メインスイッチをONにしてランプを点灯し、指示計目盛を7にします。
- (2) 防塵キャップを取り除き、必要なフィルタを落とし込みます。
- (3) ステージに標本を置き、10×対物レンズ(Ph1)でピントを合わせます。
- (4) 眼幅と視度の調節をします。
- (5) 照明が正しく行われているか確認します。
- (6) コンデンサの心出しを確認します。
- (7) リング絞りの心出しを確認します。
- (8) 使用したい位相差用対物レンズ(Ph1, Ph2, Ph3, Ph4)に切り替えます。
- (9) 使用対物レンズのPh記号に合わせて、コンデンサのターレットを切り替えます。  
(厳密に使用する場合は、各倍率ごとにリング絞りの心出しを確認して下さい。)
- (10) 明るさをNDフィルタまたはランプ電圧で調節します。6~12でご使用下さい。
- (11) 視野絞りを調節します。

#### ● LABOPHOTの場合

- (1) メインスイッチをONにしてランプを点灯し、調光ダイヤルの目盛を4にします。
- (2) 防塵キャップを取り除き、フィールドレンズの上に昼光色フィルタを載せます。
- (3) ステージに標本を置き、10×対物レンズ(Ph1)でピントを合わせます。
- (4) 眼幅と視度の調節をします。
- (5) コンデンサの心出しを確認します。
- (6) リング絞りの心出しを確認します。
- (7) 使用したい位相差用対物レンズ(Ph1, Ph2, Ph3, Ph4)に切り替えます。
- (8) 使用対物レンズのPh記号に合わせて、コンデンサのターレットを切り替えます。  
(厳密に使用する場合は、各倍率ごとにリング絞りの心出しを確認して下さい。)

以上の操作により位相差検鏡ができます。位相差法では、対物レンズの種類によって見え方が異なりますので、P.12の特性を参考にして、標本の位相差に適合した対物レンズを選択する必要があります。

## 2) 検鏡上の注意

位相差像は標本の位相差や形状、またリング絞りの心出し程度、対物レンズの特性などによって、その見え方が左右されますので次の点に注意して下さい。

### (1) リング絞りのセンタリングを狂わせない標本を選ぶ

光を散乱させたり、レンズまたはプリズム作用がある標本は、リング絞りのセンタリングを狂わせます。

特に生きた厚い標本、粗大標本、マイクロプレートを使用する場合などは、レンズまたはプリズム作用でセンタリングがずれて見えを悪くしますので注意が必要です。

なお、物体の回折によるずれは影響ありません。

### (2) ラチチュードおよびコントラストに適した標本を選ぶ

ゲークコントラストの場合、標本の位相差と対物レンズのラチチュードとの適合に注意しなければなりません。

位相差標本を作成するとき、標本の厚さおよび封入剤、培養液などの屈折率によって位相差を加減することができます。

また、DL対物レンズでコントラストが弱い標本は、DM対物レンズで検鏡すると良い結果が得られる場合があります。

### (3) 染色標本

濃淡あるいは染色の度の強い標本は位相差法には適しません。淡い染色、脱色した標本、電子顕微鏡用の超薄切片などは適します。

### (4) リング絞りの心出し

位相差検鏡において、対物レンズの位相板リングとコンデンサのリング絞り像とを完全に重ね合わせる操作は、位相差効果を保つために重要です。

検鏡前には必ずチェックをして下さい。

## 2. 暗視野検鏡

1) コンデンサのターレットを〔DF〕に合わせます。

2) 使用する対物レンズ(10×~40×)を光路に入れます。

以上の操作により暗視野検鏡ができ、標本中の目的物をさがすファインディングとして利用できます。またブライアントラスト像との比較もできます。

スライドガラスが厚い場合には、コンデンサ上下動ハンドルを操作して、制限いっぱいまでコンデンサを上げると、暗視野効果が上がります。

## 3. 明視野検鏡

1) コンデンサのターレットを〔0〕に合わせます。

2) 使用する明視野対物レンズを光路に入れます。

以上の操作により、明視野検鏡ができ、標本中の目標物をさがすファインディングとして利用できます。(このとき開口絞りを絞ると見易くなります。)



# V. 特性と原理

## 1. 位相差用対物レンズの特性

位相差法は一般明視野法と異なり、位相差用対物レンズの性能の良否のみならず、標本の位相差の大小やその配列の疎密によって見え方が変わってきます。

対物レンズの位相板の特性が標本によく適合したとき非常に良い見えとなり、適合していないとかえって悪い見えとなり失望されることがあります。

そこで位相差法の能力を表現するために、便宜上物体をその位相差に応じて表2のように区分しています。

位相差法は、位相差の小さい ( $\lambda/100 \sim \lambda/2$ ) 物体の検出にすぐれていて、最低位相角にして  $2 \sim 3^\circ$  に達するともいわれています。その反面、粗大な位相差物体では位相差法の光学的条件を損ない、従来の方法に劣ります。

ニコン位相差用対物レンズには像のコントラストにより、ダークコントラスト（ポジティブコントラスト）とブライツコントラストの2種類があります。

ダークコントラストは明視野法と同じように比較的明るい背景の中に、位相差の大きな物体が黒く見えます。この対物レンズには、位相板の吸収量によりコントラストを変えたDLとDMの2種があります。

ブライツコントラストは暗視野法に類似していて、比較的暗い背景の中に、位相差の大きい物体が明るく見えます。この対物レンズはBM1種類です。

ダークコントラスト対物レンズでは、標本の位相差量が増加するにしたがって像の暗さも増しますが、ある限度をこすと逆に像は明るくなりだし、あるところで背景と同じ明るさになりますので、暗い像ほど位相差量が大きいとはいえません。この範囲内での位相差量では像自体はシャープですが、これを過ぎると背景よりも明るく輝きだし観察できません。

このようにダークコントラスト対物レンズでは、標本の位相差に量的制約を受けます。この位相差の許容量をラチチュード (Latitude) と呼び、この値が大きいほど位相差法に適し、DL対物レンズがこれに属します。しかしDL対物レンズは低位相差の標本に対してはコントラストが不足します。したがってラチチュードの狭い硬調コントラストのDM対物レンズが適応します。

一方ブライツコントラスト対物レンズは、ラチチュードが広く使いやすいといえますが、暗視野的見え方ですので、顆粒細菌などの形態やその検出、計数に適しています。

表3に位相差用対物レンズの使用特性を示します。

一般に低位相差の標本では、吸収の強い対物レンズ (DM) を、高位相差の標本では吸収の弱い対物レンズ (DL) を用いるのが原則です。位相板が標本に適していないと、物体の周囲に強いハロー (後述) を有し、物体の一部が光って輪郭が見えなくなってしまう

表2 位相差物体の区分

位 相 差		区 分	例	明視野法による見え方
角 度 ( $^\circ$ )	波 長 ( $\lambda$ )			
0~45	$0 \sim \frac{1}{4}$	低	バルサム中の血球	標本と封入剤の間の位相差がごく少ない場合で、明視野法ではほとんど見ることは不可能
45~90	$\frac{1}{8} \sim \frac{1}{4}$	中	グリセリン中の血球	上記の差が少しあるもので、明視野でいっぱい絞るとやっとわずかに見える
90~180	$\frac{1}{4} \sim \frac{1}{2}$	高	生理食塩水中の血球	上記の差がかなり強いもので、絞ってみるとある程度まで見える
180以上	$\frac{1}{2}$ 以上	粗大	ミルクの脂肪小滴	上記の差が著しいもので、少し絞れば相当明瞭に見える



表3 位相差用対物レンズの使用特性

位相差用対物レンズ		見え方	コントラスト		ラチチュード	適応例
ダーク コントラスト	DL	明視野法に似て大略位相差の大きい物体が暗く見える。したがって比較的明るい視野の中に像が黒く出る。	Micro コントラストを主とした細部観察に適す	中間調 (利用範囲が広い)	低および中域の位相差並びに吸収物体 (染色物体)	菌の芽胞、一般の生の細胞、少し厚い標本、菌、染色標本、虫卵、脂肪球、結晶類など
	DM	硬調 (利用範囲が比較的狭い)		低域の透明物体		
ブライ ト コントラスト	BM	暗視野法に似て大略位相差の大きい物体が明るく見える。したがって比較的暗い視野の中に像が明るく出る。	Macro コントラストを主とした細かい繊維や顆粒などの形態、検出、計算に適す		ほとんど全域	菌や原虫類の鞭毛、フィブリン原繊維、微細顆粒、血球計算など

す。このときにはさらに吸収の弱い対物レンズを用い、コントラストが弱くうすらとしか見えない場合には、さらに吸収の強い対物レンズを用います。

ダークコントラストからブライ  
トコントラストに切り替えて見ると、一般にコントラストは逆転するはずですが、どちらでも光って見えるものは、屈折率や厚みの大きいものであると判断されます。

## 2. 位相差像の特性

### 1) ハロー

位相差法では位相板を使用していますので、ハロー（光輪）という特殊現象が加わります。ハローとは位相差像の周囲に明暗の光輪ができる現象で、これは位相板の回折による光学現象で、ダークコントラストでは明るく、ブライ  
トコントラストでは暗く縁どられます。このためハロー部の微細構造は消失しますが、微少物体の周囲には少なくなり、DL対物レンズはDMに比べて減っています。

### 2) 分解能

位相差像の分解能は明視野法と同じですが、微細構造の描写力は減じず、粗大構造は分解しないという現象があります。

## 3. 位相差顕微鏡の原理

屈折率または厚さの変化によって特徴づけられる物体は位相物体と呼ばれます。この透明な物体は、通常の方法では見ることはできません。今平行平面を持つガラス板の中に、厚さ  $e$  で、板の他の部分の屈折率  $n'$  とは異なった屈折率  $n$  を持つ小部分を考えてみます。

(図14)

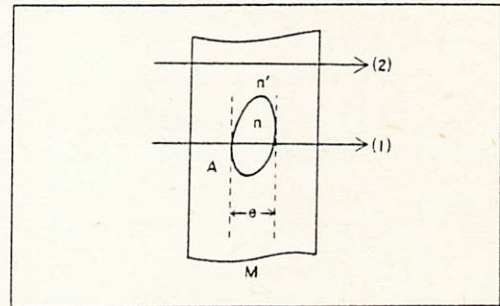


図14

A領域を通る光線(1)と、そのそばを通る任意の光線(2)との図の光路差は  $\delta = (n - n')e$  で与えられます。Aは、光路差  $\delta$  によって特徴づけられる位相物体です。以後、 $\delta$  およびその位相差  $\phi = 2\pi\delta/\lambda$  は小さいと仮定します。 $\lambda$  は使用波長です。

光路長の変化だけによって特徴づけられ、振幅の変化にはならないこのタイプの物体は、



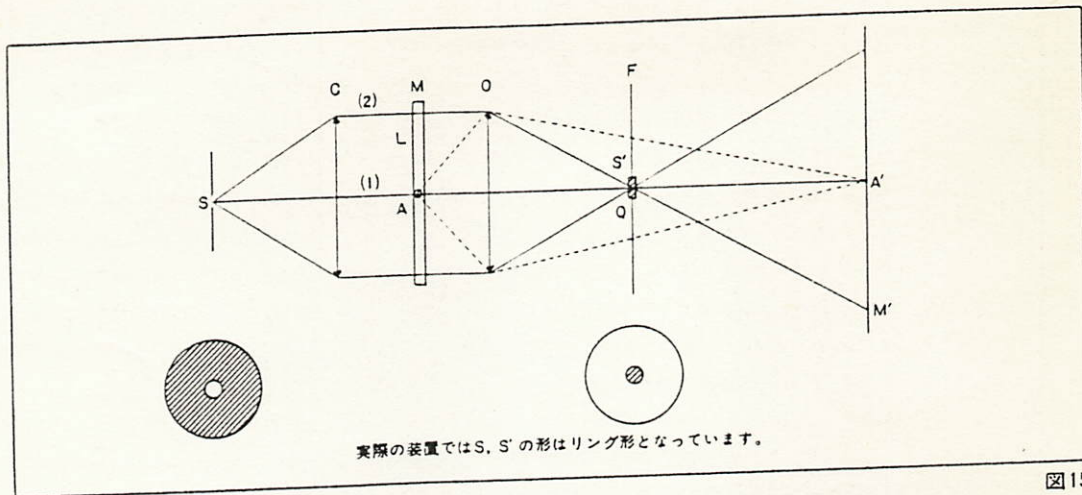


図15

普通の観察法によって見ることはできません。位相差法は、物体の位相の変化を像における振幅の変化に変換できます。

例として、図14に描かれた透明物体を考えます。

Mにある物体はコンデンサレンズCの焦点に置かれた点光源Sにより、平行光線で照明されます。(図15) Mにある物体の媒質を通る光線(2)は、まず対物レンズOにより、対物レンズOの焦点F(点光源Sの像S')に集光され、それからMの像M'に広がり、これは直接波と呼ばれます。一方、位相差φを生ずる物体Aを通る光線(1)はあらゆる方向に回折され、対物レンズOにより像A'を形成するように収斂します。この光は回折波と呼ばれます。像A'は、直接波と回折波が干渉してできています。

この現象をフレネルの図(図16)上に表して

みます。Oを原点とし、この点を出て、物体の考えている点の振幅に比例する長さを持つベクトルONをひきます。同じ点の位相φはx軸となす角φで表されます。物体は透明であるから、NはOを中心とした単位円上にあります。位相φだけが、物体の一つの点から他の点へと変化します。もし、Aによって回折されたすべての光が、Oによって集光されるならば、振動の状態はM'においてMに同じです。図16はM'における像内の振幅および位相をも同時に表しています。

ベクトルONを二つの直交するベクトルOH、HNとに分解します。φは小さいと仮定されているから、点Hは実際上円周とx軸との交点とみなされます。M'上の一点における振動は、直交方向OHおよびHNの二振動を合成した結果です。振幅OHは、物体の位相ずれのない(φ=0)領域内の振幅であり、物体

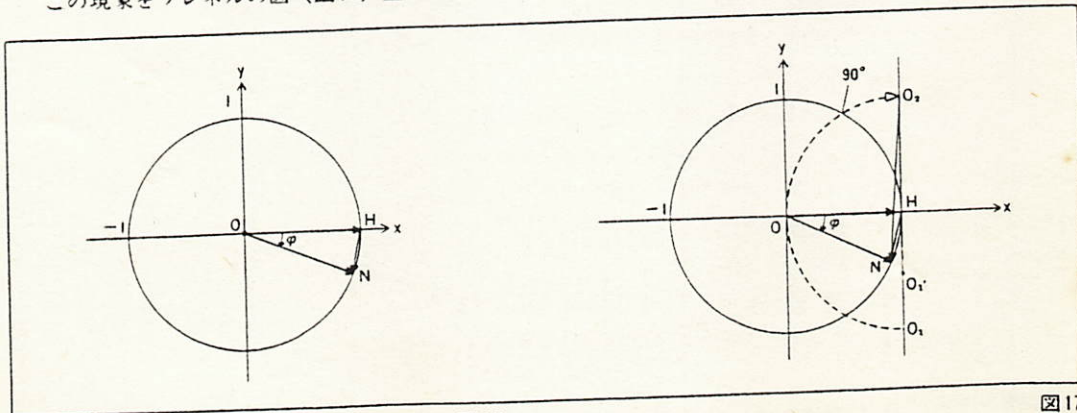


図16

図17

がない場合に得られる直接光の振幅です。振幅HNは、図15のAで回折された光の振幅を表しています。

物体がなければ ( $\phi = 0$ )、振幅HNは0になります。像A'における強度  $I = ON^2 = OH^2 + HN^2$  は、視野のその他の部分における強度と同じであり、物体は見えません。S' (図15) に小さな透明板Qを置いてみます。直接光はQを通るが、回折光はこの部分で非常に広がっており、事実上、板Qは回折光に何の影響も与えないと考えることができます。

板Qに、以下に述べるような光学的厚さを与えます。Qを通る直接光の振動が、Qを通らない回折光の振動に対して、 $\lambda/2$ 波長だけ遅れるようにします。これはフレネルの図(図17)では、ベクトルOHを、Hを中心に  $90^\circ$  ( $\lambda/2$ 波長) 回転して、原点OをO<sub>2</sub>に持つことに相当します。

この状態で、像A'における振幅はO<sub>2</sub>H + HN =  $1 + \phi$  となり、また強度は  $\phi^2$  を無視して、 $I_1 = 1 + 2\phi$  となります。A'の像の外部では、 $\phi = 0$ 、強度  $I_2 = 1$  です。したがって像A'はコントラスト

$$\gamma = \frac{I_1 - I_2}{I_2} = 2\phi \dots \dots \dots (1)$$

を持って見えます。

もし物体Aが位相の遅れ  $\phi$  をおこすならば、すなわち光路長の増大を生ずるならば、A'における強度は視野の他の部分に比べてより大きくなり、位相のコントラストはブライアントコントラスト (ネガティブコントラスト) となります。

回折光に対して、直接光を遅らせずに、 $\lambda/2$ 波長だけ直接光の位相差を進める板QをS'に置いてみます。この場合、原点はO<sub>1</sub>に移り、 $I_1 = 1 - 2\phi$  となります。コントラストは再び  $2\phi$  ですが、もしAが位相  $\phi$  の遅れをおこすならば、A'における強度は視野の他の部分におけるよりも小となり、位相コントラストはダークコントラスト (ポジティブコントラスト) となります。

回折光の振動に対して、直接光の位相を変えられることができる板Qは、位相板と呼ばれます。

眼の認知できる最小のコントラストは0.02です。はっきり見える極限の位相差は  $2\phi = 0.02$  で与えられ、これは約  $10\text{\AA}$  の光路差に当たります。位相板を吸収性のものにするによって、この方法の感度を増大させることができます。位相板の吸収を数Dによって特徴づけることにします。直接光の強度が  $1/D$  になるとします。すなわち、フレネルの図 (図17) 上では、原点が、次の条件を満足するようなO<sub>1</sub>'に移ることに相当します。

$$\left(\frac{HO_1}{HO_1'}\right)^2 = D$$

像A'の強度は次のようになります。

$$I_1 = \left(\frac{1}{\sqrt{D}} + \phi\right)^2 = \frac{1}{D} (1 + 2\phi\sqrt{D})$$

視野のその他の部分では ( $\phi = 0$ )、 $I_2 = 1/D$  となります。像のコントラストは

$$\gamma = 2\phi\sqrt{D} \dots \dots \dots (2)$$

となり、もとより  $\sqrt{D}$  倍されます。原理上、もし  $D = 2500$  ならば、 $1\text{\AA}$  程度の光路差を0.1に等しいコントラストで観測することができます。したがって、位相差法は、相当な感度を持っていることとなります。

参考文献 1) M. Franpon : Progress in Microscopy (Pergamon, 1961)  
2) M. Franpon : Diffraction Coherence in Optics (Pergamon, 1966)



## VI. 写真撮影

位相差法での写真撮影も明視野の場合と特に異なることはありません。ただ像が暗くなります。

1. コントラストを高める場合には、グリーンフィルタを必ず使用します。
2. 電圧とフィルタの選択は表4のようになります。

表 4

### ●OPTIPHOTの場合

フィルム	電 圧	フィルタ
カラー フィルム	9	NCB10
モノクローム フィルム	8	NCB10 を外す
——	6以上	NCB10 を外す

### ●LABOPHOTの場合

フィルム	電 圧	フィルタ
カラー フィルム	5.5	NCB10
モノクローム フィルム	——	NCB10 を外す
——	適当電圧	NCB10 を外す

3. カバーガラス、対物レンズ、接眼レンズの汚れはフレアの原因となり、像のコントラストを害しますので、これを除外する必要があります。  
また視野紋りを撮影範囲のみに絞って照明することもフレアを減少させます。

詳しくは、鏡基付属の使用説明書をご覧ください。

## VII. 仕 様

### 1. ターレットコンデンサ

開口数：N.A. 1.25

ターレット：6ヶ穴

- ・明視野用中空穴(開口絞り付き)
- ・位相差用リング絞り (Ph 1, Ph 2, Ph 3, Ph 4 各1個、心出しはターレット移動式)
- ・暗視野用リング (10×～40×共用1個)

### 2. 心出し望遠鏡

倍率：5×～12×

鏡筒差し込み式

### 3. フィルタ

グリーン干渉フィルタ (φ=45)

断熱フィルタ (φ=45)

### 4. 位相差用対物レンズ

表5参照

表5 位相差用対物レンズ

種 類	倍 率	開口数 (N.A.)	作動距離 (mm)	焦点距離 (mm)	カバーガラス 厚さ(mm)	備 考	
アクロマート	ドライ	CF DL 10×	0.25	5.6	16.6	—	位相コントラストDL(一般用)
		CF DL 20×	0.40	2.23	8.8	0.17	位相コントラストDL(一般用)
		CF DL 40×	0.65	0.53	4.4	0.17	位相コントラストDL(一般用) 安全装置付き
	オイル	CF DL 100×	1.25	0.14	1.8	0.17	位相コントラストDL(一般用) 安全装置付き
プランアクロマート	ドライ	CF Plan DL 10× BM 10×	0.25	7.1	16.7	—	位相コントラストDL(一般用) BM(反転コントラスト用)の2種、超広視野共用
		CF Plan DL 20× BM 20×	0.40	1.4	8.4	0.17	位相コントラストDL(一般用) BM(反転コントラスト用)の2種、超広視野共用
		CF Plan DL 40× DM 40× BM 40×	0.65	0.48	4.1	0.17	位相コントラストDL(一般用) DM(低位相差用)、BM(反転コントラスト用)の3種 安全装置付き、超広視野共用
	オイル	DL 100× CF Plan DM100× BM100×	1.25	0.20	1.8	0.17	位相コントラストDL(一般用) DM(低位相差用)、BM(反転コントラスト用)の3種 安全装置付き、超広視野共用

## VIII. 使用上の問題点と対策

問 題 点	原 因	対 策
リング絞り像がくずれている、または見えない	<ul style="list-style-type: none"> <li>● コンデンサ上下位置不良。</li> <li>● カバーガラス、スライドガラス、対物レンズ、コンデンサレンズ面の水、油、指紋などによる汚れ。</li> <li>● ホールガラスがレンズ状である。</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>→ コンデンサを上下動して正位置にする。</li> <li>→ 無水アルコールで清掃する。対物レンズだけは、石油ベンジンで清掃する。</li> <li>→ スライドガラスに孔をあけ、底部にカバーガラスを接着した正式のホールガラスを使用する。</li> </ul>
リング合せが正しく行われない	<ul style="list-style-type: none"> <li>● コンデンサ作動距離不足。</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>→ 厚い培養ビンやシャーレは使わない。</li> </ul>
コントラストが悪い	<ul style="list-style-type: none"> <li>● リング合せが十分でない。</li> <li>● 標本の位相差が大きすぎる。</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>→ 心出し望遠鏡にて再度心出しを行う。</li> <li>→ 標本の位相差を調整する。標本を薄く、あるいは標本に近い屈折率の封入剤を用いる。</li> </ul>

絶えず製品の改良を実施しておりますので、内容の一部に改良前のものが掲載されている場合もありますが、ご了承下さい。