

摘 要

微分干涉相衬显微技术属双光束偏振干涉技术。由于两束相干光的横向剪切量小于显微物镜的分辨率极限,使样品表面微观起伏的高度变化在相干背景上以强烈的光强和颜色变化表现出来,使之具有明显的阴影效果,具有很强的立体感,直观形象地反映出生物样品表面微观轮廓。微分干涉相衬显微镜具有纳米级的相位分辨率,可以看到一般光学显微镜难以观察到的微细结构。

本文首先详细分析了微分干涉相衬显微镜的光学系统原理,然后对显微镜光机结构做了简要分析。在现有的显微镜上,加装了起偏镜、检偏镜、Nomarski 棱镜。同时为了安装这些器件,设计了机械机构。对多种方案进行了考虑,最后选取了简便实用的方法。

Nomarski 棱镜设计是微分干涉相衬显微镜的关键技术。具体来说,就是通过改变 Wollaston 棱镜的一些参数的方法,使 Wollaston 棱镜的相干平面被移到棱镜外部,从而可以实现相干平面与物镜后焦面重合,使微分干涉相衬显微术在高放大倍率光学显微镜中得以运用。由于 Nomarski 棱镜的一些主要参数如楔块楔角、光轴倾角、分束角、相干平面位置相互关联,某些参数发生变化时,其他参数也会随之发生改变。基于这些变化关系,对 Nomarski 棱镜光学系统结构的设计公式进行了详细的推导。并用 Matlab 软件自编程序做了具体的设计实例计算。根据相干平面与系统物镜焦面重合且入射光线和相干面垂直的准则,建立了棱镜各参数间的关系模型。最后选取了一组适合本光学系统的 Nomarski 棱镜设计参数,并加工出了该棱镜。得到了一些有实用价值的结论,为进一步实现微分干涉相衬显微技术对生物细胞的定量测量奠定了基础。

关键词:微分干涉相衬, Nomarski 棱镜, 相干平面, 分束角

Abstract

Differential interference contrast (DIC) is a kind of technology of two beams of polarized light interference. Since that the lateral shear between the two beams is smaller than the value of resolution power of objective lens of the microscopy, microcosmic height change of the surface of the spaceman is exhibited on the interference background with the intense change of intension and color, so microcosmic profile of the spaceman can be visually reflected. Being of the phase resolution power of nm level, the DIC microscopy can discern the microcosmic structure which cannot be observed by the ordinary microscopy.

In this dissertation, the keystone of Differential Interference Contrast Microscope is analyzed, and the optics and machine frame of Microscope is illuminated briefly. Then the polarizer and the Nomarski prism are added in the existing microscope. At the same time, the machine structure is designed for fixing the addition part. In the end, a simple and feasible method was selected after considering many kinds of programs seriously.

The research on the Nomarski prism is the key technique of DIC design. Specifically, the advantage of the Nomarski prism which can move the plane of apparent splitting (PAS) out of the prism by changing the parameter of Wollaston prism is presented. Thereby Nomarski prism makes that the PAS coincides with the rear focal plane of the objective. The technic can be used in high enlargement ratio microscope. The working parameters of the Nomarski prism including its wedge angle, optical axis inclination angle, splitting angle, the distance from the exit face to the PAS are cross-correlation. In order to understand the parameters, Matlab software is used in calculating the relational expressions indicating the parameters. According to the principles of the ray path calculation an exact analysis of the working parameters of the Nomarski prism in DIC microscopic system and the formulas of designing the optical system, the model mathematics of Nomarski prism is built. By analyzing the results, a group of parameters of Nomarski prism is chosen. At last, Nomarski prism is processed and used in Differential Interference Contrast Microscope. Above this working, some valuable result is got and this will be useful in promoting the technique in biological cell's quantitative measurement.

Keywords: Differential interference contrast, Nomarski prism, Plane of apparent splitting, Splitting angle

湖北工业大学

学位论文原创性声明和使用授权说明

原创性声明

本人郑重声明：所呈交的学位论文，是本人在导师指导下，独立进行研究工作所取得的科研成果。除文中已经标明引用的内容外，本论文不包含任何其他个人或集体已经发表或撰写过的研究成果。对本文的研究做出贡献的个人和集体，均已在文中以明确方式标明。本声明的法律结果由本人承担。

学位论文作者签名：张黎星 日期：2009 年 5 月 23 日

学位论文版权使用授权书

本学位论文作者完全了解学校有关保留、使用学位论文的规定，即：学校有权保留并向国家有关部门或机构送交论文的复印件和电子版，允许论文被查阅和借阅。本人授权湖北工业大学可以将本学位论文的全部或部分内容编入有关数据库进行检索，可以采用影印、缩印或扫描等复制手段保存和汇编本学位论文。

学位论文作者签名：张黎星

指导教师签名：许忠保

日期：2009 年 5 月 23 日

日期：2009 年 5 月 23 日

第1章 引言

1.1 微分干涉相衬显微术的发展现状和应用概况

1665年, Rober Hooke 发明了第一台显微镜, 它的出现为人类打开了微观世界的大门。生物学家把显微镜作为一种主要工具来研究组织、器官或细胞构造及结构。借助于显微镜, 人们观察了微小物体的结构和特征, 由此奠定了细胞学和组织学的基础, 并对生物学、遗传学、微生物学、病理学和医学的发展起到了极大的促进作用。

光学显微镜从发明至今已有四百余年的历史, 经不断改进创新, 为适应生命科学发展的需要, 出现了各种功能的显微镜, 如明场显微镜、暗场显微镜、偏光显微镜、干涉显微镜、相衬显微镜、荧光显微镜等。这些显微镜都有其各自的优缺点, 适用于观察各种不同的对象。

1952年 Nomarski 发明干涉相位差光学系统。G.Nomarski 对 Wollaston 棱镜进行了改进, 使改进后棱镜的相干平面在其外部, 此种棱镜称 Nomarski 棱镜。此项发明不仅享有专利权并以发明者本人命名之。微分干涉相衬显微镜的研制成功对生物细胞学的发展起到了一个质的飞跃, 与其它双光束干涉显微术相比, 主要区别在于: 参加干涉的两个光束都通过物体, 光束的微小分离量是由 Nomarski 棱镜的剪切产生, 且其分离量略小于显微镜的分辨极限, 因而在视场中看不到干涉条纹, 通过调节 Nomarski 棱镜产生适当的程差, 能清晰地分辨这些透明或半透明物体的轮廓, 在视场中可以看到具有立体感的浮雕成像。

在我国由于设计和工艺加工的原因, 该技术未能得到运用。清华大学、华中科技大学以及上海光机所都对该技术做过一定的研究, 虽然得出了一些结论。但是未能将 Nomarski 棱镜加工出来。

而在德国, 美国, 日本等光学比较发达的国家都做出了微分干涉相衬显微镜, 尼康和奥林巴斯都有配套的产品。它们在金相、晶体、集成电路、光学、陶瓷工艺等众多的领域发挥了重大的作用, 该技术已成为国内外普遍使用的一种最有效的光学显微技术。

随着生物技术的发展, 对生物体的观察测量问题提出了更高的要求, 如蛋白质生长过程监测、植物胚胎结构观察等^[1-2]。但是由于生物体本身是透明体, 同时质地柔软, 所以使测量过程变得复杂化。由于透明体对光只产生相位的移动而不能显

著地改变光的振幅,所以使其图像在一般的光学仪器中不能被人眼观察,而需要对样品进行处理,比如染色等才能进行观察。但是由于这些处理过程也会相应的对样品有一定的影响,比如染色可能会引起生物的中毒,因此不能在生物的体内应用。因此在生物体的测量中,非染色的光学测量方法就非常重要了^[3]。

微分相衬干涉显微术具有其它光学显微术所不能达到的某些优越性能。其不仅具有纳米级的相位分辨率,可看到一般光学显微镜难以观察到的微细结构,而且还能使被观察样品的像具有很强的立体感^[4]。微分相衬干涉显微术中的关键技术是 Nomarski 棱镜设计。Nomarski 棱镜除了运用于微分相衬干涉显微镜中进行观察和定量测量,还广泛运用于其他检测设备:如在 Courtial 设计的 Fourier 光谱仪中测量波长^[6]等。

在机械构造方面,可以采用现有的筒长无限的光学系统,这种光学系统中间是平行光。而 Nomarski 的主要功能零件是 Nomarski 棱镜和起偏器、检偏器等所组成。如果通过适当的设计,把这些部件插入光学系统为筒长无限的显微镜光路中,就成为微分干涉相衬显微镜了。这样不仅原光路中的物镜能通用,甚至诸如目镜、聚光镜等也能通用了。

基于上述一些优点,该显微术已广泛用于有机物和无机物的显微观察,国外一些擅长生产显微镜的国家如西德早已在普通显微镜、偏光显微镜、倒置显微镜甚至在比较显微镜上都配有这种微分干涉相衬装置,以供选用。

下面将概述它在不同领域中的适用性。

1. 用于有机物观察

在细胞学方面。当使用相衬方法由于光晕效果不可能辨认出细节时例如妇科细胞检查中的细胞边界和红血球的观察都会出现讨厌的光晕现象,用微分干涉相衬法就能清晰而真实地体现出来

在植物学方面,它需要景深较浅的显微术,而微分干涉相衬法正好符合这一要求,它可显示植物细胞分裂时的轴纤维,而用其它显微术几乎是不明显的。

在组织学方面,它也能使用染色标本,从而能容易地检测出人的染色体,这要比用普通明视场显微观察来得快速和方便多^[6]。

在血液学方面,它能使未染色的红血球呈现出优良的像质,而这在相衬中由于严重的光晕是不可能的。

在神经学方面,它可以观察到人体神经节细胞业特别适合检查所谓反馈神经细胞。

在细菌学方面,如用相衬方法来观察细菌标本,则像的质量会因光晕而变差,这时用微分干涉相衬法就会表现其显著的优点^[7]。

在流体生物学方面,例如对硅藻的观察,它要比普通明视场和相衬观察优越,能给出细节丰富的三维像。

2. 用于无机物观察

在金相学方面,它能显现出普通明视场显微术所不能辨认的滑移带,以氯化钠晶体为例,用明视场显微术仅能见到晶体的外形而在相衬像中,因大部份被光晕所掩盖,也不清晰,然而在微分干涉相衬像中,则很清晰。此外对于碳化硅上的生长螺线、第二次重结晶时的螺线等检查也具有明显的优点

在半导体工艺学方面,它能完全适合硅单晶的检查。如果适当地蚀刻标本,则杂质的不均匀性等也能被观察出。

在矿物学方面,它能以彩色相衬形式显出显微硬度凹痕周围的破裂和凸出部分。

在玻璃工艺学方面,它能看清玻璃表面上的微小细节,这点要比其它显微术优越。

在塑料方面,它能以彩色相衬形式显出在普通明视场显微像中看不见的显微硬度压痕。

综上所述,微分干涉相衬显微术的适用范围是很广的,只是目前我国还不够普及和未被人们广泛地了解而已,如果能在设计、工艺上突破,加以宣传,则该显微术必定会受到各个行业的欢迎^[9]。

1.2 选题依据及研究目的

本课题来源于国家自然科学基金项目““微分干涉相衬层析显微术的研究”。

虽然 Nomarski 棱镜多年前就已经被提出并以得到广泛的应用,但国内有关具体参数的设计计算的公开资料不多。文献资料虽然对微分干涉相衬显微镜中的 Nomarski 棱镜参数做了相关的分析。但最后都没有得出一个具体的结果,未将其运用到光学系统中去。后续的机械构件设计、光学系统的调整、加工工艺都是一个复杂的过程。

本课题在分析 Nomarski 棱镜各个参数关系的基础上,根据相干平面与系统物镜焦面重合且入射光线和相干面垂直的准则设计出了符合该光学系统的 Nomarski 棱镜,并按照加工工艺加工出棱镜,最后设计加工机械结构。在对光学系统进行调整之后,能够达到一定的观察效果。

1.3 本论文所做的工作与内容安排

微分干涉相衬显微关键技术主要是 Nomarski 偏振分光棱镜设计及系统中各元件光轴间正确位置的确定。

为了最终设计出满足试验观察需要的显微镜装置,就必须对 Nomarski 棱镜的一些主要设计参数如楔块楔角、光轴倾角、分束角、相干平面出离量等,得出一系列数值解的分布和变化规律。本文基于这些参数变化规律,对 Nomarski 棱镜光学系统的计算公式进行了详细的推导,并运用 Matlab 软件自编程序并结合本显微镜光学系统做了具体的设计实例。在此基础上加工出了棱镜,并设计了夹具等机械构件。最后对光学系统进行调整,得出了实验结果。

全文内容的安排:

第一章,绪论。介绍生物体光学显微观察测量技术的发展和概况,并对相关的几种测量方法进行比较。说明了本论文所要做的工作。

第二章,介绍了微分干涉相衬显微镜的基本原理,以及整个光学系统及机械构件的组成。

第三章,利用光线追踪法,对 Nomarski 棱镜主要设计参数:楔块楔角 γ 、棱镜厚度 a 、光轴倾角 δ 、相干平面出离量 D 进行了严格的数学推导,得出各参数的计算公式,通过有关 Matlab 程序的计算分析了各参数之间的关系,完成了 Normaski 棱镜的整体设计框。

第四章,结合已有的光学系统,给出了设计实例,分析得出了实验结果。

第五章,微分干涉相衬显微镜光学系统的构建。通过 Nomarski 棱镜材料的检测试验,选取了合适的材料并设定了相应的棱镜基本光学参数。最后构建了微分干涉相衬显微镜光学系统试验装置。

第六章,全文总结与展望。

第 2 章 显微系统的基本原理

2.1 几种不同光学显微方法的比较

目前应用于生物学观察的光学显微技术除了常用的明视场技术和暗视场技术以外，还有偏光显微术、相衬显微术、微分干涉相衬显微技术等，下面对有关几种进行介绍并加以比较。

2.1.1 偏光显微术

偏光显微术是利用偏振光对样品进行各向异性即双折射性能检测的显微技术。将普通光改变为偏振光进行镜检的方法，以鉴别某一物质是单折射（各向同性）或双折射性（各向异性）。双折射性是晶体的基本特性。因此，偏光显微镜被广泛地应用在矿物、化学等领域，在生物学和植物学也有应用。偏光显微术的原理如下^[9]。

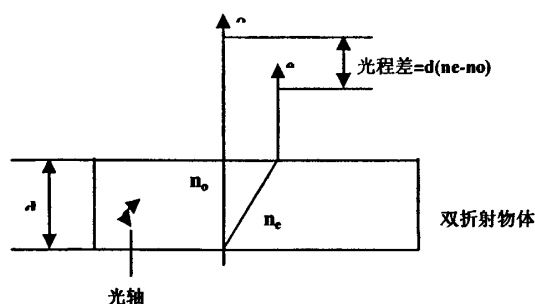


图 2.1 双折射物体的偏光干涉

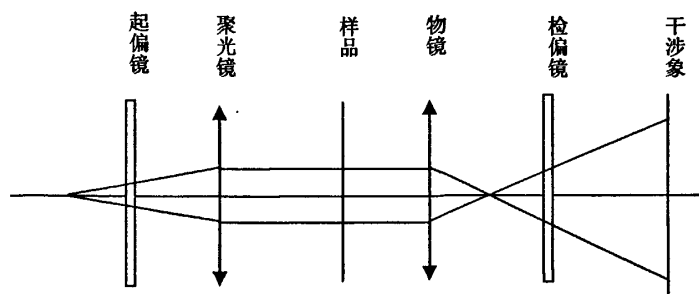


图 2.2 偏光显微术光学原理

如图 2.1 所示, 线偏振光透射到具有双折射性质的物体中, 分解成互相垂直的两束光, 因其折射率不同, 光束有超前和推迟之别, 随物体的厚度加剧, 光程差又为物体双折射性和厚度的乘积, 经过检偏镜将寻常光(o 光)和非常光(e 光)聚合而形成合成波, 产生干涉色。如图 2.2 所示, 偏光显微镜只需在光源和聚光镜之间加一块起偏镜, 在物镜和目镜之间的镜筒内放一块检偏镜就可以实现^[10]。总结偏光显微术的优点如下:

- (1) 结构简单, 容易由一般显微镜改装。
- (2) 对各向异性物体的观察具有显著的优势, 在生物医学领域有广泛的用途。

偏光显微术的缺点如下:

- (1) 应用范围相对比较狭窄, 只适用于具有双折射性的物质。
- (2) 没有涉及光学显微系统在相位变化方面分辨力的提高。

2.1.2 相衬显微术

相衬显微术是利用衍射和干涉现象, 把位相差改变为振幅差, 即把光程差改变为明暗差的显微方法。

若被检测物与其周围介质具有相同的吸收系数和颜色, 只在折射率上有微小的差别, 此时用一般显微镜观测这些物体非常困难。为此常将被检测物染色, 但是这种方法对有机体的生命有害, 甚至使有生命的被检物死亡。相衬显微术对上述矛盾给出了一个解决办法, 它是由荷兰物理学家 Zernike 首先提出的, 其原理如下^[11]。

如图 2.3 所示, 有一块透明的平行板, 其折射率在中间一小部分为 n_1 , 而其周围部分为 n 。以波长为 λ 的相干平行光直射, 透过该平板后, 由于中间小板部分与周围部分的影响, 该光束的波动方程分别为:

$$y_1 = a \cos(\omega t + \delta) \quad (2-1)$$

$$y = a \cos \omega t \quad (2-2)$$

式中, a 为振幅

δ 为光线 1、2 透过平板后的位相差, $\delta = \frac{2\pi}{\lambda} d(n - n_1)$

d 为平板的厚度

将透过小板的光线 2 的波动方程分解得

$$y_1 = a \cos(\omega t + \delta) = a \left[\cos \omega t - 2 \sin \frac{\delta}{2} \sin \left(\omega t + \frac{\delta}{2} \right) \right]$$

$$= a \cos \alpha t + 2a \sin \frac{\delta}{2} \cos(\alpha t + \frac{\delta}{2} + \frac{\pi}{2}) = y + y' \quad (2-3)$$

由上式可见，通过小板的光可以分为两部分，一部分称为直射光，其波动方程为 y ，另一部分为衍射光，其波动方程为 y' 。综合式(2-1)和式(2-2)，可以认为相干光束通过整个平板后分成两部分：一部分是通过整个平板(包括小板)的直射光，另一部分仅由小板引起的衍射光^[12-13]。相应的波动方程为：

$$\begin{cases} y = a \cos \omega t \\ y' = 2a \sin \frac{\delta}{2} \cos(\omega t + \frac{\delta}{2} + \frac{\pi}{2}) \end{cases} \quad (2-4)$$

通过小板 A 点的两束光经显微镜物镜后在象平面成 A' 点象(图 2.4a)，其振幅为

$$a^2 = a^2 + 4a^2 \sin^2 \frac{\delta}{2} + 4a^2 \sin \frac{\delta}{2} \cos(\frac{\delta}{2} + \frac{\pi}{2}) = a^2 \quad (2-5)$$

而直射光所达到象平面上各点振幅为 a ，显然它们的亮度相同，衬度

$k = \frac{a^2 - a'^2}{a^2} = 0$ ，在象平面上无法区别小板及其周围介质。

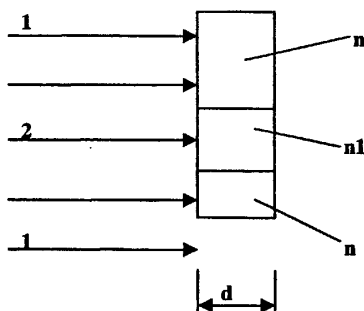


图 2.3 相干光通过透明平行平板

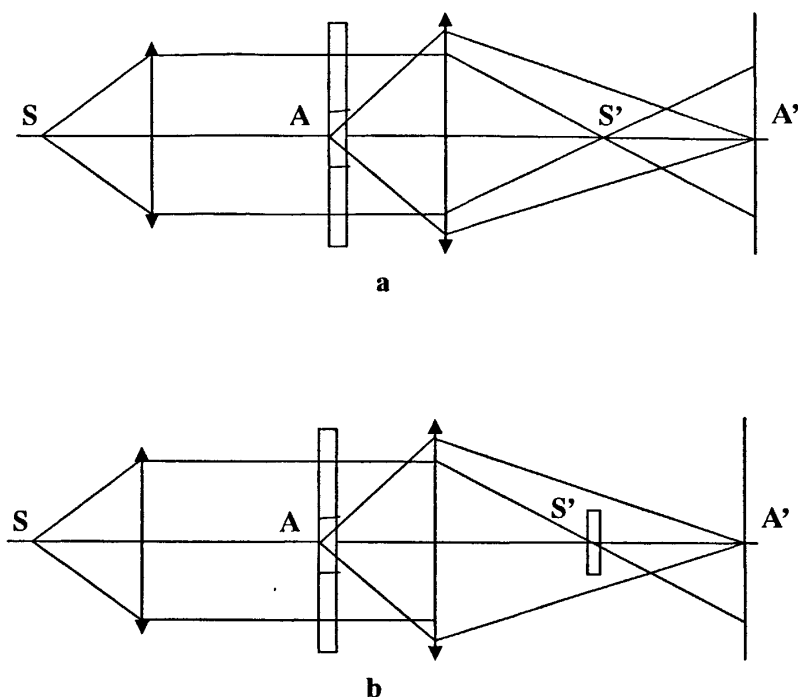


图 2.4 相衬显微术原理图

相板是在平行平板上镀一层或多层薄膜而成，因其折射率不同于周围介质，可用以改变光的位相。若在直射光的会聚点 S' 处放置一相板(图 2.4b)，则会使通过相板的直射光位相改变 δ_1 。衍射光只有小部分通过相板位相改变 δ_1 (设衍射光只有 $1/n$ 光强的通过相板，因常用圆环相板的圆环宽度一般为 S' 处衍射光直径的 $1/10$ 及衍射光强分布规律，可以使得 $n \gg 1$ ，而大部分不通过相板没有影响，故衍射光的波动方程由两部分组成，式(2-4)可以表达为

$$\begin{cases} y' = a \cos(\omega t - \delta_1) \\ y' = \frac{n-1}{n} 2a \sin \frac{\delta}{2} \cos(\omega t + \frac{\delta}{2} + \frac{\pi}{2}) + \frac{1}{n} 2a \sin \frac{\delta}{2} \cos(\omega t + \frac{\delta}{2} + \frac{\pi}{2} - \delta_1) \end{cases} \quad (2-6)$$

由于 $n \gg 1$ ，所以衍射光可以近似表示为 $y' = 2a \sin \frac{\delta}{2} \cos(\omega t + \frac{\delta}{2} + \frac{\pi}{2})$ 。

此时小板象中心 A' 点合成振幅为

$$a'^2 = a^2 [1 + 4 \sin^2 \frac{\delta}{2} + 4 \sin \frac{\delta}{2} \cos(\frac{\delta}{2} + \frac{\pi}{2} + \delta_1)] \quad (2-7)$$

其衬度为

$$k = \frac{a^2 - a'^2}{a^2} = -4 \sin \frac{\delta}{2} [\sin \frac{\delta}{2} - \sin(\frac{\delta}{2} + \delta_1)] \quad (2-8)$$

适当选取相板的厚度及材料(折射率), 可以使得 A' 点的衬度为极值, 即有

$$k_m = \pm 2\delta \quad (2-9)$$

显然, 此时小板的形状在显微镜下可以分辨。采用相板使得人的眼睛能感受物体折射率的微小差别(体现在光程差上)。通常人眼能感受的最小衬度 $k = 0.02$, 即有 $2\delta = 0.02$ 。在白光下折算成光程差为:

$$\Gamma = 0.001\mu m \quad (2-10)$$

即只要物体各部分有 $0.001\mu m$ 的光程差, 人眼就能感受到。

总结相衬显微术的优点如下:

- (1) 观察样品无需染色, 避免了其他方法对样品机能的影响, 是观察不吸收光的透明活体细胞或组织的有效办法^[14]。
- (2) 结构比较简单, 可以由明视场显微镜换上万能聚光镜和相衬物镜改装, 适合一般实验室的定性观察^[15]。
- (3) 提高了光学显微系统在微小相位变化方面的分辨能力。

相衬显微术的缺点如下:

- (1) 相衬显微镜在相衬像形成的过程中, 由于发生在具有不同光程区域边缘上的衍射会带来光晕效应和渐暗效应^[16]。
- (2) 由于上述效应使得实现定量测量产生困难。

2.1.3 微分干涉相衬显微术

微分干涉相衬显微术是一种利用偏振光干涉原理, 显微镜分辨极限以下的波面剪切干涉技术。主要有两组偏振光片和偏振分光棱镜(Wollaston 棱镜或 Nomarski 棱镜)组成。偏振分光棱镜有两块三角形的棱镜胶合而成, 它可把单一的一束偏振光线分开, 形成振动方向互相垂直的两束偏振光线。两个微分光线把样品表面微观起伏的高度变化以光强和干涉色的形式表现出来, 具有强烈的立体感。

微分干涉相衬显微镜本质上也是一种双光束干涉显微镜, 与其它双光束干涉显微镜的主要区别在于, 它采用了共光路干涉原理, 即它的两支相干光几乎重叠在一起而经过相同的光路, 因此对外界干扰如机械振动、空气扰动、温度起伏等对它们的影响相同, 不会引起附加的光程差, 因此外界环境的变化对测量结果无

影响。并且它不需要参考面, 适合在生产环境中使用^[17]。

微分干涉相衬显微术和相衬显微法相似, 是用以观察未染色不吸收光的透明活体细胞或组织的有效办法。主要优点有:

(1) 微分干涉相衬能将样品的光学厚度梯度如实的反映出来, 形成其他显微术所没有的三维立体浮雕图象, 而且细节的轮廓清晰^[18]。

(2) 极大地提高了光学显微镜相位分辨能力, 可以观察到纳米级相位变化。

(3) 对样品的适应性较广, 无论样品厚与薄, 折射率相差是否大, 染色与否, 是否活体等, 均能观察^[19]。

(4) 对外界环境的要求较低。

微分干涉相衬显微术的缺点有:

(1) 偏光棱镜设计、加工都比较复杂, 光学系统中各元件光轴间正确位置确定困难^[20]。

(2) 一般都认为微分干涉相衬显微测量方法只适用于定性观察, 而不能实现定量测量^[21-22]。

2.2 微分干涉相衬显微镜的基本原理

2.2.1 线偏振光干涉原理

根据光的干涉原理, 两束光波只有在频率相同、位相差稳定、振动方向一致时才会产生干涉现象。一束线偏振光进入晶体后, 分解成振动方向相互垂直的两束线偏振光, 由于它们具有不同的传播速度, 因此它们之间就产生位相差(或光程差), 位相差(或光程差)的大小取决于两束光的折射率以及在晶体内的传播距离。如果在出射光路中插入一块偏振镜, 这样可将两个具有一定位相差, 振动方向相互垂直的出射光波引导到同一偏振方向, 从而实现了干涉, 即光强随位相差变化的现象^[23]。

在研究偏振光干涉时, 经常要用到两块偏光镜, 一块称为起偏镜, 用以产生线偏振光, 另一块称为检偏镜, 它可以引导两个互相垂直并具有一定位相差的线偏振光在同一偏振面内产生干涉。由起偏镜产生的同一偏振光通过单轴晶体所产生的两束偏振光是可能相干的。只要用检偏镜把光振动面都投影到同一平面上, 两束光就会发生干涉^[24]。

下面具体分析平行光束在有起偏镜和检偏镜的情况下, 通过晶体后产生的干涉现象。参考图 2.5, 图 2.6:

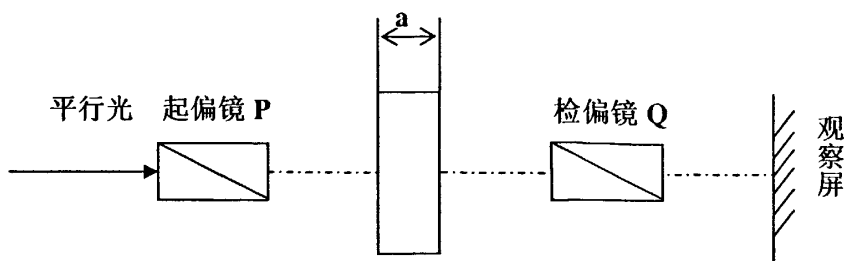


图 2.5 平行光偏光干涉装置

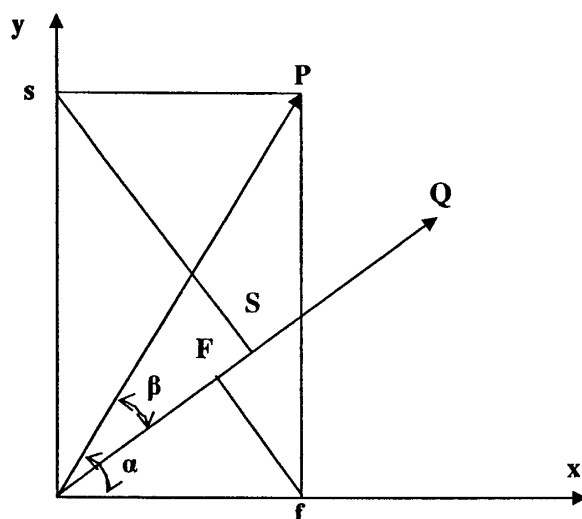


图 2.6 光波振动分量的分解

一束单色平面光波(波长 λ)通过起偏镜 P 变成线偏振光波，垂直投射到晶体上，在晶体中将被分解成振动方向相互垂直的两束光波，传播速度快光波的称为快波，相应的偏振方向称为快轴方向(图 2.6 x 轴方向)，传播速度慢光波的称为慢波，相应的偏振方向称为慢轴方向(图 2.6 y 轴方向)。如果投射到晶体中的沿起偏镜 P 方向振动的偏振振幅为 A_0 ，则沿快轴方向及慢轴方向的振幅分别为：

$$\begin{cases} A_f = A_0 \cos \alpha \\ A_s = A_0 \sin \alpha \end{cases} \quad (2-11)$$

式中 α 是起偏镜的透光轴与快轴的夹角。若晶体的厚度为 a ，则光通过晶体后，快波和慢波之间的光程差 Γ 和位相差 δ 分别为^[26]：

$$\Gamma = (n_f - n_s)a \quad (2-12)$$

$$\delta = \frac{2\pi}{\lambda}(n_f - n_s)a \quad (2-13)$$

设起偏镜与检偏镜透光轴之间的夹角为 β ，则上述两偏振光在检偏镜透光轴方向的振幅分别为

$$\begin{cases} OF = A_0 \cos \alpha \cos(\alpha - \beta) \\ OS = A_0 \sin \alpha \sin(\alpha - \beta) \end{cases} \quad (2-14)$$

由于它们之间的频率相同，振动方向相同，位相差恒定，所以满足相干条件，叠加后产生的偏振光干涉光强可用下面公式描述：

$$I = I_1 + I_2 + 2\sqrt{I_1 I_2} \cos \delta \quad (2-15)$$

式中 I_1 、 I_2 分别为

$$\begin{cases} I_1 = A_0^2 \cos^2 \alpha \cos^2(\alpha - \beta) \\ I_2 = A_0^2 \sin^2 \alpha \sin^2(\alpha - \beta) \end{cases} \quad (2-16)$$

代入上式得到通过检偏镜的光强

$$I = A_0^2 [\cos^2 \beta - \sin 2\alpha \sin 2(\alpha - \beta) \sin^2 \frac{\delta}{2}] \quad (2-17)$$

为了将问题简化，使得干涉后的光强度达到极值，对 α 和 β 角的值作如下选择^[26]：

(1) β 角取为零度，则起偏镜与检偏镜的透光轴平行，此时式(2-17)成为：

$$I = A_0^2 (1 - \sin^2 2\alpha \sin^2 \frac{\delta}{2}) \quad (2-18)$$

若 α 取 00, 900 或 1800，光强度达到极值，但起偏镜与 Nomarski 棱镜的这种相对位置将使得光在棱镜中不发生双折射，也就不会形成微分干涉相衬象。若 α 取 450 或 1350，虽可形成微分干涉相衬象但是光强为极小。 α 取上述值以外的其他值，则情况介于二者之间。因此实用上通常不取 β 角为零度。

(2) β 角取为 90°，则起偏镜与检偏镜的透光轴正交，此时式(2-17)成为：

$$I = A_0^2 \sin 2\alpha \sin^2 \frac{\delta}{2} \quad (2-19)$$

若 α 取 0°，90°或180°，棱镜不发生双折射，且 $I=0$ ，为极小值。视场处于全暗的消光位置。若 α 取 45°或135°，棱镜发生双折射，且光强为极大，式(2-19)成为

$$I = A_0^2 \sin^2 \frac{\delta}{2} \quad (2-20)$$

此时, 象面上各点的光强仅取决于两束偏振光的位相差。因此, 起偏镜与检偏镜正交, 且其透光轴与快轴夹角为 45° 或 135° 是可取的。

2.2.2 线偏振光微分原理

光源的平行光线先通过起偏器变成线偏振光, 通过半反半透镜到达 Romski 棱镜, 在棱镜里分成了互相垂直的两束先偏振光即 o 光和 e 光, 它们的振动方向相互垂直, 传播方向一致, 一个为非常光 e, 折射率为 n_e , 另一个为寻常光 o, 其折射率为 n_o 。当 e 光、o 光进入胶合面时, 即分裂成两束具有某夹角的线偏振光, 且折射时 e 光、o 光相互对换, 最后从棱镜下半部折射出的光为发散的两束光, 射向物镜, 这个发散光束的夹角称分束角, 发散光束的会聚平面称相干平面, 通常在棱镜的内部。Nomarski 棱镜的特点就是分束角特别小, 小到小于显微镜的分辨率角, 因而被称为“微分”。发射光束离开棱镜表面后会聚, 会聚平面称为相干平面^[27]。

从几何光学的观点来讲, 两束光分别从样品上的两点通过, 应该在目镜的视场里形成双像。但是由于两束光的横向剪切量小于显微镜的极限分辨率, 因此在视场中看不到双像, 而在图像的一侧可以隐约看到另一像的阴影, 产生了浮雕感。浮雕感产生的方向与光线分开方向一致。

如图 2.5 所示, 若一厚度为 d 的样品, 其细节 A 的折射率小于其周围 B 的折射率, 那么由 Nomarski 棱镜所分裂出来的两束位相差为 δ_0 的光线通过该样品后波面发生变化, 并产生横向位移 Δ 。两个光束在通过厚度均为 d 的细节 A (或周围 B) 时没有产生新的光程差, 即两束光的位相差不变, 仍然为 δ_0 , 所以干涉色不变。但是在通过细节交界处 C1 (或 C2) 时, 产生了新的光程差, 即两束光间的位相差改变为 δ_1 (或 δ_2)。所以在细节的边缘产生了不同的干涉色, 因而加强了衬度与浮雕感。

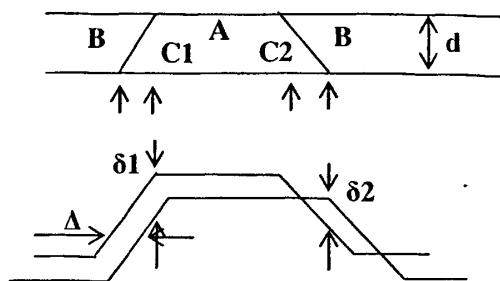
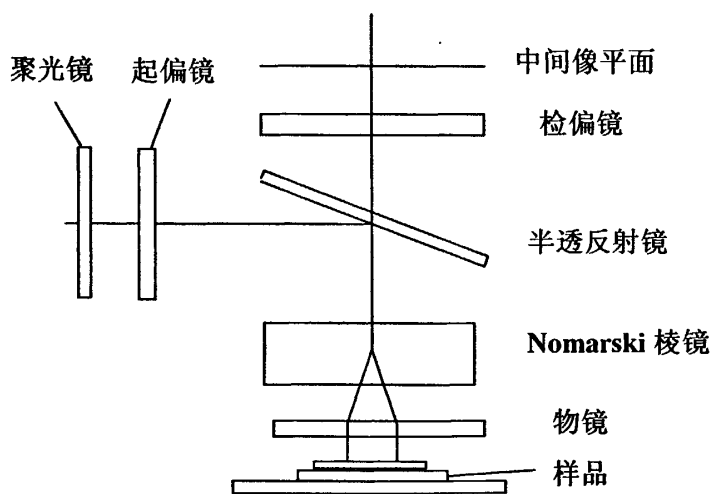
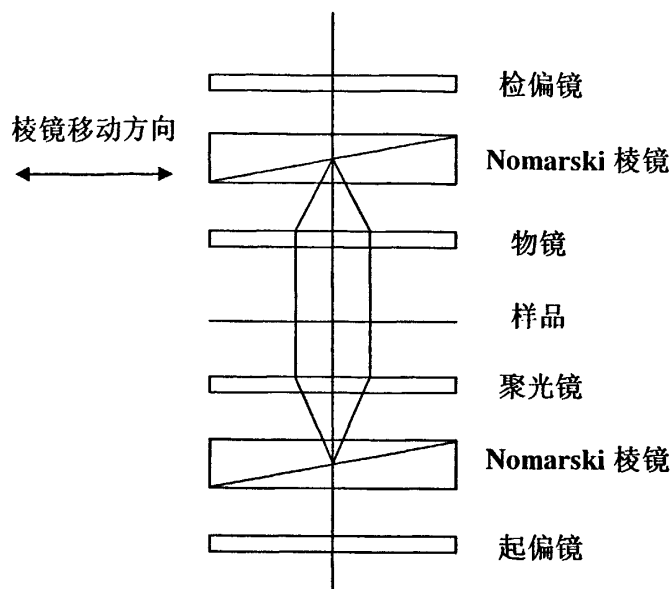


图 2.7 光线通过样品后波面变化示意图

2.2.3 光学系统原理



(a) 反射式



(b) 透射式

图 2.8 典型的微分干涉相衬显微镜系统

由以上光学系统可知, 物镜的后焦面应与复合光的相干平面重合, 要求物镜的焦距足够长, 对于高放大倍率物镜很难做到。所以将 Wollaston 棱镜中原来垂直于棱镜短边的光轴倾斜成某一角度 δ 。改变 δ 值从而改变其他参数, 使其符合光学系统的需要。最终将 Wollaston 棱镜的相干面移到了棱镜的外部。

综上所述, 在微分干涉相衬显微镜中要使物体产生具有三维立体感的浮雕像, 必须具备下列条件^[28]:

(1) 由 Nomarski 棱镜使两束光波形成一个横向剪切量, 此量应小于显微镜物镜的分辨率, 两束光波经过物体样品, 物镜, Nomarski 棱镜后, 将样品中横向分离值的光学梯度以光强衬比形式体现出来, 使它成为可见。

(2) 两束光波从样品反射经过 Nomarski 棱镜在纵向产生一个合适的光程差, 即两束光波各自形成的像在纵向有一个合适的分离, 以便物体样品上纵向厚度也以光强衬比形式体现, 使得像元上出现阴暗效果, 对像起到衬托作用。

(3) Nomarski 棱镜的相干面必须与物镜的后焦面重合^[29]。

2.3 机械机构

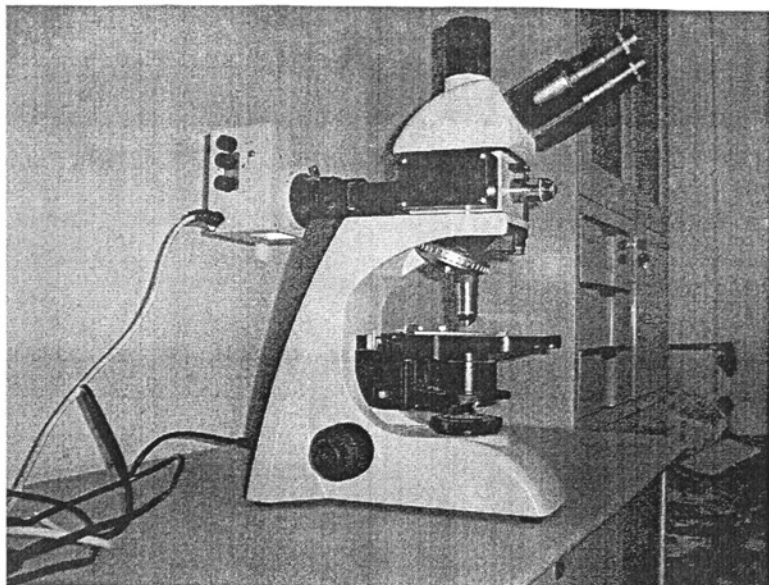


图 2.9 改装后的显微镜

上图是本文改装后的微分干涉相衬显微镜的实物图,它主要包括:

(1) 机械装置

显微镜的基本机械装置,其作用是固定与调节光学镜头,固定与移动标本等。主要有镜座、镜臂、载物台、镜筒、物镜转换器、与调焦装置组成。

①镜座和镜臂

1、镜座:作用是支撑整个显微镜。

2、镜臂:作用是支撑镜筒和载物台。

②载物台(又称工作台、镜台)

载物台作用是安放载玻片,形状有圆形和方形两种,其中方形的面积为 $190\text{mm}\times 140\text{mm}$ 。移动范围是 $78\text{mm}\times 55\text{mm}$ 。中心有一个通光孔,通光孔后方左右两侧各有一个安装压片夹用的小孔。

③镜筒

镜筒上端放置目镜,下端连接物镜转换器。机械筒长(从目镜管上缘到物镜转换器螺旋口下端的距离称为镜筒长度或机械筒长) 160mm 。

安装目镜的镜筒,是双筒显微镜,两眼可同时观察以减轻眼睛的疲劳。双筒之间的距离可以调节,而且其中有一个目镜有屈光度调节(即视力调节)装置,便于两眼视力不同的观察者使用。

④物镜转换器

物镜转换器固定在镜筒下端，有 3—4 个物镜螺旋口，物镜应按放大倍数高低顺序排列。旋转物镜转换器时，应用手指捏住旋转碟旋转，不要用手指推动物镜，因时间长容易使光轴歪斜，使成像质量边坏。

⑤调焦装置

显微镜上装有粗准焦螺旋和细准焦螺旋。显微镜粗准焦螺旋与装在同一轴上，大螺旋为粗准焦螺旋，小螺旋为细准焦螺旋。粗准焦螺旋行程 25mm，细准焦螺旋每圈 0.2mm，微调格值 $2\mu\text{m}$ 。

(2) 光学系统

该显微镜原是一台光学系统无限远色差校正光学系统，取 10X 无限远消色差物镜，物镜焦距 $f=8.719$ ，数值孔径 $N.A.=0.25$ ，目镜为 10X 大视野、高眼点平场目镜，视场数为 $\phi 20\text{mm}$ 。

(3) 加装的机械构件

为了加装起偏器、检偏器以及 Nomarski 棱镜。必须在合适的位置进行机械加工。如图 2.10 和 2.11 是安装起偏器和检偏器的位置。按照前面的干涉理论分析，起偏镜与检偏镜正交，且其透光轴夹角为 45° 或 135° 时，两个折射光具有相同的强度且干涉光强也最大。所以采用下图的安装方法，在具体使用时还要调整起偏镜与检偏镜头光轴的夹角。

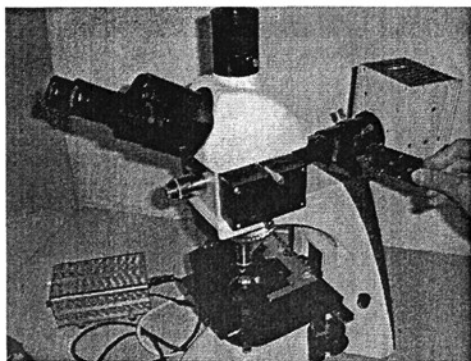


图 2.10 起偏器加装的位置图

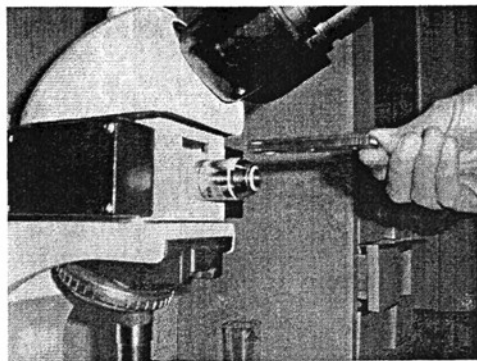


图 2.11 检偏器加装的位置图

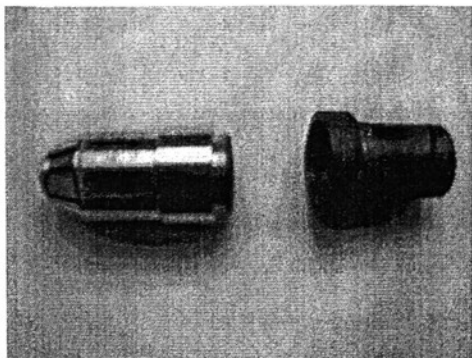


图 2.12 Nomarski 棱镜夹具的安装

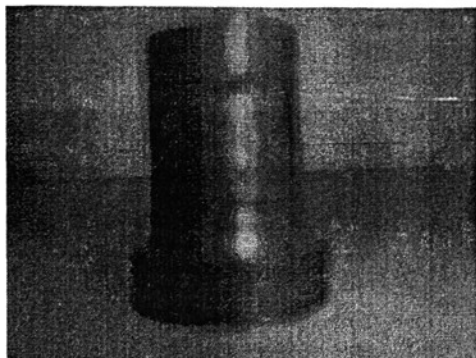


图 2.13 Nomarski 棱镜夹具

其中 Nomarski 棱镜的夹具设计是关键。夹具必须满足可以装夹 Nomarski 棱镜而且可调整棱镜的位置，以使 Nomarski 相干面和物镜的后焦面重合的要求。

在夹具的两端加工有螺纹连接，一边连接镜筒，一边连接物镜。在夹具的中间加工出一道可以安装 Nomarski 棱镜的小口，其倾斜度必严格满足棱镜的安装要求，才能保证入射角的角度，使其与相干面 Nomarski 棱镜垂直。同时该夹具可以自由调整高度，以足 Nomarski 棱镜的相干面与物镜的后焦面重合的原则。

第3章 Nomarski 棱镜的设计基础

3.1 Nomarski 棱镜各参数的推导

Nomarski 棱镜由两块单轴晶体偏振分光材料三角楔块胶合组成，两个楔块的光轴在空间上相互垂直。其中一个楔块的光轴垂直于包含有棱镜内部界面法线的入射平面，另一楔块的光轴位于入射面内并且与棱镜的入射和出射面形成一定的倾斜角。如图 3.3 所示，在这里把外界面和另一楔块的光轴之间的夹角称为光轴倾角 δ 。把外界面和中间界面之间的夹角称为楔块楔角 γ 。

Nomarski 棱镜主要设计参数有：楔块楔角、棱镜厚度、光轴倾角等参数决定了出射的非常光与寻常光之间的交角 ϵ （称为分束角）、相干平面位置及相干平面与系统光轴之间的交角、光程差等。这些参数对微分干涉相衬光学系统结构设计是很重要的^[30]。

3.1.1 分束角的设计计算

考虑到所有入射平面都有可能，这里假设所有的光波向量和传播方向始终保持在包含有棱镜内部分界面法线（如图 3.1 和图 3.2 所示）的入射平面上。如下面的图 3.3 所示，在此只取光线先经过光轴与入射面共面楔块，再从另一光轴与入射面垂直楔块的情况来讨论^[31-32]（其他情况可用同样方法得出）。

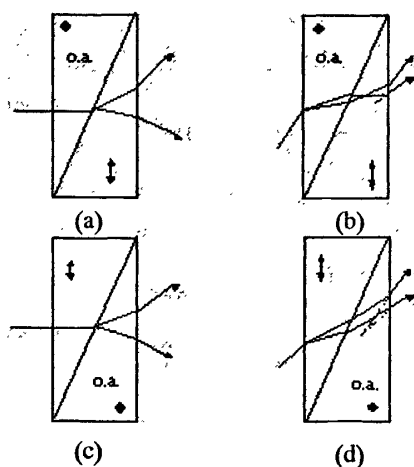


图 3.1 偏振光通过 Wollaston 棱镜

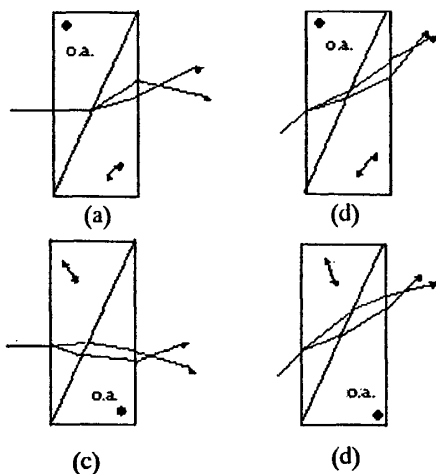


图 3.2 偏振光通过 Nomarski 棱镜

设线偏振光以入射角 α 入射到棱镜，楔块楔角为 γ ，寻常光在棱镜中的折射率为 n_o ，非常光在棱镜中最小的主折射率为 n_e 。棱镜的三个分界面把棱镜分为1、2、3、4区，其中入射角为 α 。如图 3.3 所示入射的线偏振光可分为振动方向垂直于纸面和平行于纸面的两束光。各个参数如图 3.3 所示。

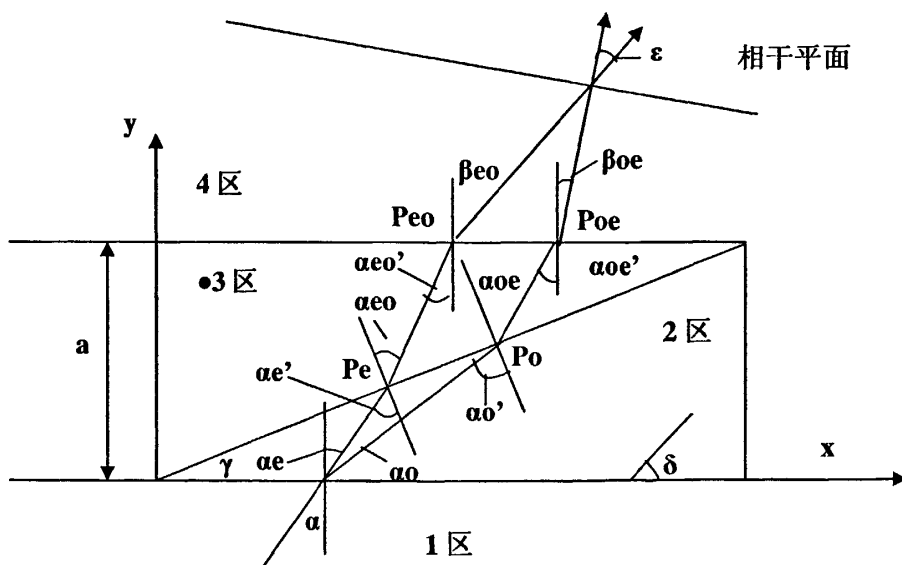


图 3.3 线偏振光入射 Nomarski 棱镜

3.1.1.1 入射线偏振光振动方向垂直于纸面

该线偏振光通过 1 区和 2 区之间的界面时有下式成立：

$$n_1 \sin \alpha = n_o \sin \alpha_o \quad (3-1)$$

其中 n_1 是光线在 1 区和 4 区的折射率。

即有 $\alpha_o = \sin^{-1}(\frac{n_1}{n_o} \sin \alpha)$ ，而光线在 2 区和 3 区之间的界面时的入射角可由下式得出^[33]：

$$\alpha_o' = \alpha_o + \gamma \quad (3-2)$$

光线通过 2 区和 3 区之间的界面时有下式成立：

$$n_o \sin \alpha_o' = n_e \sin \alpha_{oe} \quad (3-3)$$

即有 $\alpha_{oe} = \sin^{-1}(\frac{n_o}{n_e} \sin \alpha_o')$ ，由图 3.3，光线在 3 区和 4 区之间的界面时的入射角可由下式得出：

$$\alpha_{oe}' = \alpha_{oe} - \gamma \quad (3-4)$$

继续按 snell 折射定理得到光线离开 3 区和 4 区之间的界面时的出射角：

$$\beta_{oe} = \sin^{-1}(\frac{n_e \sin \alpha_{oe}'}{n_1}) \quad (3-5)$$

综合整理以上各式，从式(3-1)到式(3-5)。该偏振光的最终出射角 β_{oe} 可由下式求出：

$$\beta_{oe} = \sin^{-1}[n_e \sin[\sin^{-1}\{\frac{n_o}{n_e} \sin[\sin^{-1}[\frac{\sin \alpha}{n_o}] + \gamma\}] - \gamma]] \quad (3-6)$$

3.1.1.2 入射线偏振光振动方向平行于纸面

故该线偏振光通过 1 区和 2 区之间的界面时有下式成立：

$$n_1 \sin \alpha = n_\theta \sin \alpha_k \quad (3-7)$$

即有 $\alpha_k = \sin^{-1}(\frac{n_1}{n_\theta} \sin \alpha)$ ，其中 $n_\theta = \frac{n_o n_e}{(n_o^2 \sin^2 \theta + n_e^2 \cos^2 \theta)^{1/2}}$

从图 3.4 中还可以容易得出

$$\alpha_k = \frac{\pi}{2} - (\delta + \theta) \quad (3-8)$$

波法线在 2 区和 3 区之间的界面时的入射角可由下式得出：

$$\alpha_k' = \alpha_k + \gamma \quad (3-9)$$

波法线通过 2 区和 3 区之间的界面时仍遵从波法线折射定理有下式成立：

$$n_{\theta} \sin \alpha_k' = n_o \sin \alpha_{ko} \quad (3-10)$$

即有 $\alpha_{ko} = \sin^{-1}(\frac{n_{\theta}}{n_o} \sin \alpha_k')$ ，从图 3.4 波法线在 3 区和 4 区之间的界面时的入射角可由下式得出：

$$\alpha_{ko}' = \alpha_{ko} - \gamma \quad (3-11)$$

由于该偏振光在 3 区是寻常光，所以在 3 区和 4 区之间的界面上遵从 snell 折射定理，得到波法线离开 3 区和 4 区之间的界面时的出射角：

$$\beta_{ko} = \sin^{-1}(\frac{n_o \sin \alpha_{ko}'}{n_1}) \quad (3-12)$$

在 3 区该光线的方向与波法线一致，通过 3 区和 4 区之间的界面时入射角为：

$$\alpha_{eo}' = \alpha_{ko}' = \alpha_{ko} - \gamma \quad (3-13)$$

即有光线离开 3 区和 4 区之间的界面时的出射角：

$$\beta_{eo} = \beta_{ko} = \sin^{-1}(\frac{n_o \sin \alpha_{ko}'}{n_1}) \quad (3-14)$$

其最终出射角 β_{eo} 可由下列方程给出：

$$\beta_{eo} = \sin^{-1}[n_o \sin[\sin^{-1}\{\frac{n_{\theta}}{n_o} \sin[\sin^{-1}[\frac{\sin \alpha}{n_{\theta}}] + \gamma\}] - \gamma]] \quad (3-15)$$

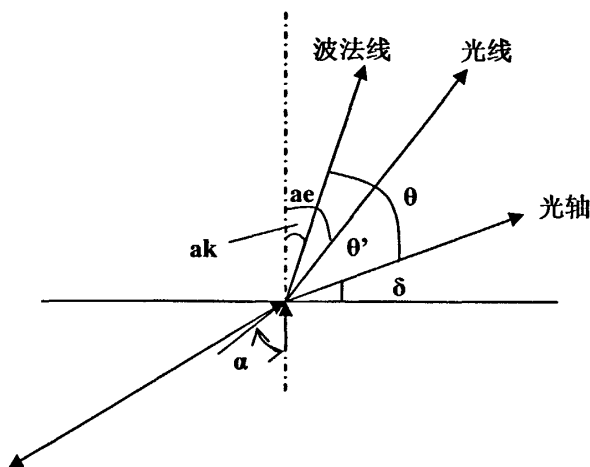


图 3.4 光轴、波法线和光线方向之间的关系

两条出射光线之间的夹角为分束角：

$$\varepsilon = \beta_{\infty} - \beta_{eo} \quad (3-16)$$

3.1.2 相干平面的位置及与系统光轴的关系

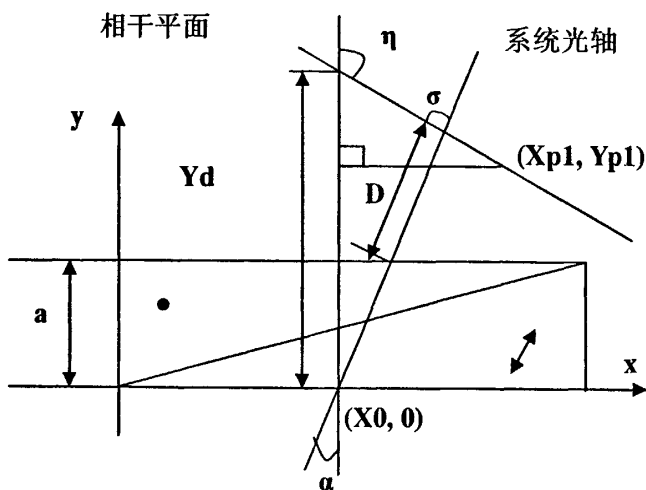


图 3.5 相干平面与入射角的关系

当把 Nomarski 棱镜放在两个交叉的起偏镜和检偏镜之间时, 偏振光会聚就会形成相干平面。相干平面位于两正交偏振光的相交处(如图 3.3)。光束交点的轨迹形成一个垂直于入射平面的平面。通过下面的一些方程可以得出相干平面的具体位置的计算。

再如图 3.5 建立直角坐标系, 用光线追踪法求出两线偏振光在 3 区、4 区交界面上的坐标值。此时需要注意在 1 区非常光取该光线方向而不是波法线方向, 如图 3.4 所示, θ , θ' , α_e 之间有下列关系式成立:

$$\begin{cases} \alpha_e = \frac{\pi}{2} - \delta - \theta' \\ \tan \theta' = \frac{n_o^2}{n_e^2} \tan \theta \end{cases} \quad (3-17)$$

设棱镜厚 a , 入射点的坐标为 $P_1 (X_0, 0)$ 。对于振动方向垂直于纸面的线偏振光, 在 2 区、3 区之间界面的坐标为 $P_o (X_o, Y_o)$, 并设:

$$\overline{P_1 P_o} = t_o = \frac{X_o \sin \lambda}{\cos(\alpha_o + \gamma)} \quad (3-18)$$

P_o 点坐标值 (X_o , Y_o) 可由下式给出:

$$\begin{cases} X_o = X_0 + t_o \sin \alpha_o \\ Y_o = t_o \cos \alpha_o \end{cases} \quad (3-19)$$

在 3 区、4 区之间界面, 即出射点的坐标为 P_{oe} (X_{oe} , a), 可由下式给出:

$$\begin{cases} X_{oe} = X_o + t_o \sin \alpha_o + (a - Y_o) \tan \alpha_{oe}' \\ Y_{oe} = a \end{cases} \quad (3-20)$$

同样, 对于振动方向平行于纸面的线偏振光, 在 2 区、3 区之间界面的坐标为

P_e (X_e , Y_e), 设

$$\overline{P_1 P_e} = t_e = \frac{X_o \sin \lambda}{\cos(\alpha_e + \gamma)} \quad (3-21)$$

P_e 点坐标值 (X_e , Y_e) 可由下式给出:

$$\begin{cases} X_e = X_0 + t_e \sin \alpha_e \\ Y_e = t_e \cos \alpha_e \end{cases} \quad (3-22)$$

在 3 区、4 区之间界面, 即出射点的坐标为 P_{eo} (X_{eo} , a), 可由下式给出

$$\begin{cases} X_{eo} = X_o + t_e \sin \alpha_e + (a - Y_e) \tan \alpha_{eo}' \\ Y_{eo} = a \end{cases} \quad (3-23)$$

这两条线偏振光在 4 区应该分别满足下列方程:

$$\begin{cases} y = a + \frac{x - X_{oe}}{\tan \beta_{oe}} \\ y = a + \frac{x - X_{eo}}{\tan \beta_{eo}} \end{cases} \quad (3-24)$$

可以得知光线的相交点有两种不同的情况。第一种情况是两光束直接相交在 4 区, 另一种情况就是两光束在 4 区分离, 但它们的反向延长线仍交于 4 区, 也就是说这种相交是虚的。可以肯定后种情况下光束同样来自 4 区之前的 3 区, 所以通过光束在 4 区投影的反向延长线的交点可以获得虚的相干平面 (如图 3.2 所示)。

因此, 计算出方程组 (3-24) 的解为两条出射光线交于点 P_2 (X_p , Y_p)

$$\begin{cases} X_p = \frac{X_{oe} \tan \beta_{eo} - X_{eo} \tan \beta_{oe}}{\tan \beta_{eo} - \tan \beta_{oe}} \\ Y_p = a + \frac{X_{oe} \tan \beta_{eo} - X_{eo} \tan \beta_{oe} - X_{oe}}{\tan \beta_{eo} - \tan \beta_{oe}} \end{cases} \quad (3-25)$$

从图 3.5 知, 相干平面与 y 轴不垂直而成 η 角, 为求相干平面相对于 y 轴的倾角 η , 只需取入射位置分别为 $(X_1, 0)$, $(X_2, 0)$ 的两条入射光线, 求出其对应相干平面上的两点为 (X_{p1}, Y_{p1}) , (X_{p2}, Y_{p2}) 即可计算出倾角:

$$\tan \eta = \frac{X_{p1} - X_{p2}}{Y_{p1} - Y_{p2}} \quad (3-26)$$

设此相干平面与系统光轴成角 σ , 它们满足 $\sigma = \eta - \alpha$ 从图 3.5 上可知要使得相干平面垂直于系统光轴, 只需:

$$\sigma = \eta - \alpha = \frac{\pi}{2} \quad (3-27)$$

3.1.3 光程差的计算

两束偏振光通过 Nomarski 棱镜后将会产生光程差。光程差同两束光的光学路径长度成正比。一束光的光学路径长度是它经过的物理路径长度以及沿该物理路径的折射率的乘积^[1]。oe 光的光学路径长度为:

$$\begin{aligned} OPL_{oe} = & n_o \sqrt{(X_o - X_0)^2 + Y_o^2} + n_e \sqrt{(X_{oe} - X_o)^2 + (a - Y_o)^2} \\ & + n_1 \sqrt{(X_p - X_{oe})^2 + (Y_p - a)^2} \end{aligned} \quad (3-28)$$

eo 光的光学路径长度为:

$$\begin{aligned} OPL_{eo} = & n_e \sqrt{(X_e - X_0)^2 + Y_e^2} + n_o \sqrt{(X_{eo} - X_e)^2 + (a - Y_e)^2} \\ & + n_1 \sqrt{(X_p - X_{eo})^2 + (Y_p - a)^2} \end{aligned} \quad (3-29)$$

由此得到光程差为:

$$\Gamma = OPL_{oe} - OPL_{eo} \quad (3-30)$$

位相差为:

$$\delta = \frac{2\pi}{\lambda} \Gamma \quad (3-31)$$

微分干涉相衬显微镜的折射过程如图 3.6 所示。Nomarski 棱镜倾斜一定角度来保证其相干平面与物镜后焦面的重合。一束线偏光入射到棱镜表面再分裂为两束正交的线偏振光会聚到相干平面上一点 A，通过样品、物镜后重新在相干平面相交于 B 后再被棱镜汇合。设入射光源为单色光，由于样品的表面变化，两束光的在中间像平面的强度可由下式表示：

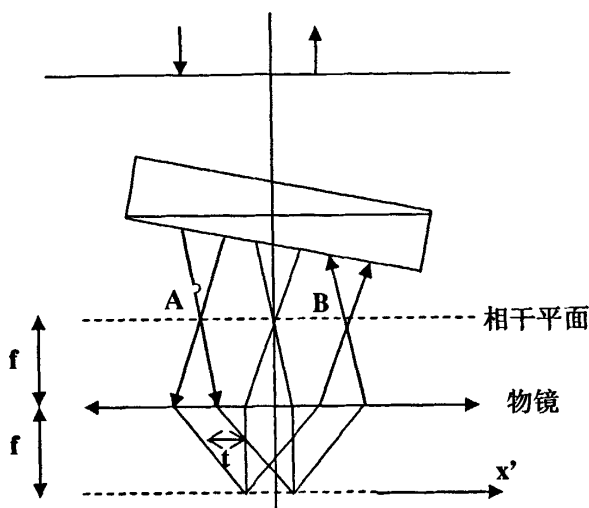


图 3.6 微分干涉相衬显微镜的折射

$$I = \sin^2 \left[\frac{\pi}{\lambda} (\Gamma_1 \pm t \frac{d\Gamma_2}{dx'}) \right] \quad (3-32)$$

其中， Γ_1 是由 Nomarski 棱镜引起的光程差， t 为将通过样品的两束光的横向剪切量， Γ_2 是由物镜引起的光程差， x' 是沿横向剪切方向的坐标。

3.2 设计参数相互关系分析

在做以下分析时，为了分析的方便，取入射角 $\alpha = 0^\circ$ 的特殊情况来了解各个参数之间的相互关系。

取棱镜材料为石英晶体，照明光源为波长 555nm。

3.2.1 分束角的关系分析

如图 3.3 所示，分束角的大小由两束偏振光 eo 光和 oe 光在 4 区的光线方向决定。这时 eo 光和 oe 光在离开棱镜表面时的最终出射角分别由下式表示。由上

面式(4-1)和式(4-2)求得两条出射光线之间的分束角^[34]：

$$\begin{aligned}\varepsilon &= \beta_{\omega} - \beta_{\sigma} \\ &= \sin^{-1}[n_e \sin[\sin^{-1}(\frac{n_o}{n_e} \sin \gamma) - \gamma]] - \\ &\quad \sin^{-1}[n_o \sin[\sin^{-1}(\frac{n_e}{n_o} \sin \gamma) - \gamma]]\end{aligned}\quad (3-33)$$

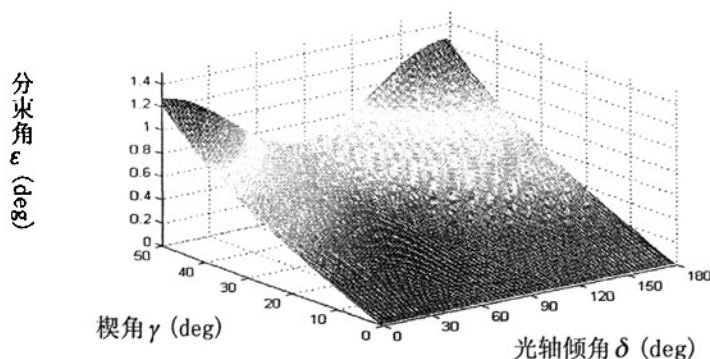


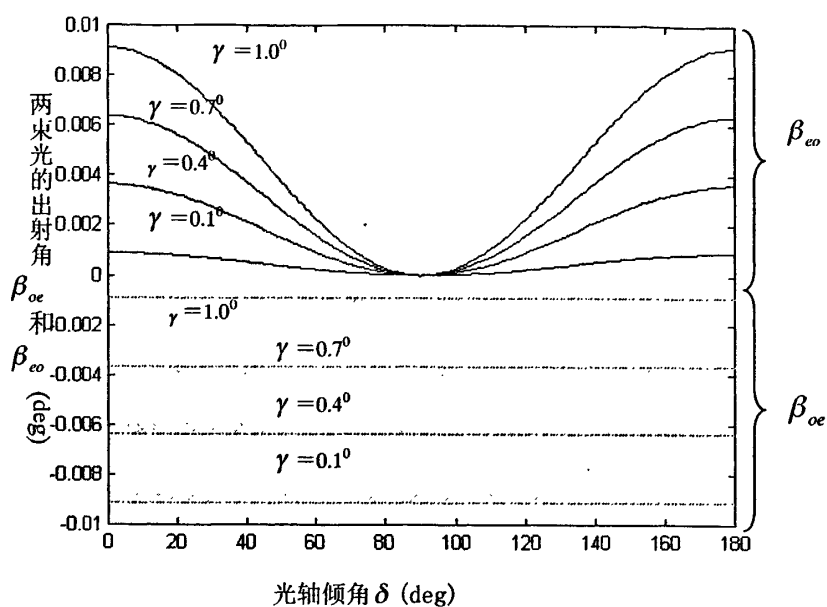
图 3.7 分束角 ε 随楔角 γ 及光轴倾角 δ 的变化图

由式(3-33)求得分束角 ε 、楔块楔角 γ 和光轴倾角 δ 三者的关系如图 3.7 所示。从图 3.7 上可以看出，分束角 ε 随棱镜的楔块楔角 γ 和光轴倾角的变化情况。再从图 3.8(b)上可以看出，当楔角 γ 一定时， ε 在 $\delta \in [0^\circ, 90^\circ]$ 区间随 δ 单调递减，在 $\delta \in [90^\circ, 180^\circ]$ ，区间随 δ 单调递增。在 $\delta = 90^\circ$ 时有最小值，在 $\delta = 0^\circ$ 或 180° 时有最大值，即当楔角为一确定值时，Wollaston 棱镜时的分束角 ε 最大^[35]。

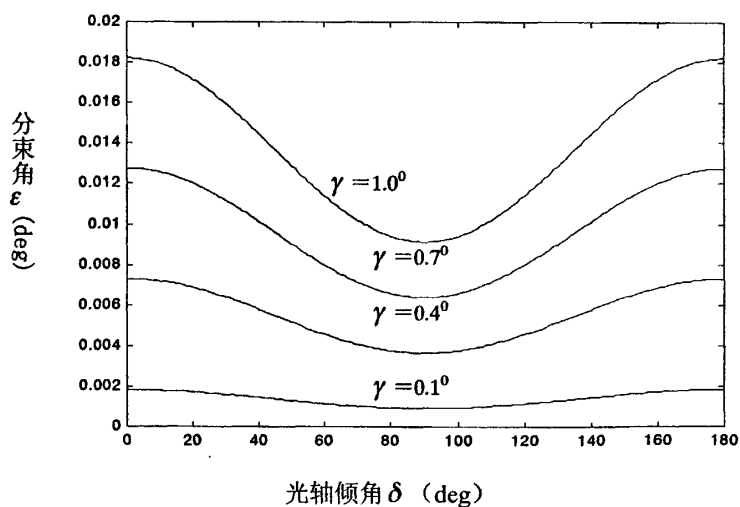
当 $\delta = 0^\circ$ 或 180° ，即为 Wollaston 棱镜，且入射角和楔块楔角都很小的情况下，分束角 ε 可以有下列近似表达式^[36]，其结果与式(4-3)的计算结果基本一致。

$$\varepsilon = 2(n_e - n_o) \tan \gamma \quad (3-34)$$

上述表达式说明在一定情况下的分束角 ε 可以直接由楔块楔角计算而不用考虑光轴倾角。



(a) γ 为不同值时的 $\delta - \beta_{eo}$ 和 $\delta - \beta_{oe}$ 曲线



(b) γ 为不同值时的 $\delta - \varepsilon$ 曲线

图 3.8 分束角 ε 、楔块楔角 γ 和光轴倾角 δ 的关系

3.2.2 相干平面倾角 η 、楔块楔角 γ 和光轴倾角 δ 之间的关系

在入射角 $\alpha = 0^\circ$ 条件下 Nomarski 棱镜垂直于显微系统的系统光轴方向，即

入射光线平行于系统光轴而垂直于棱镜的表面。

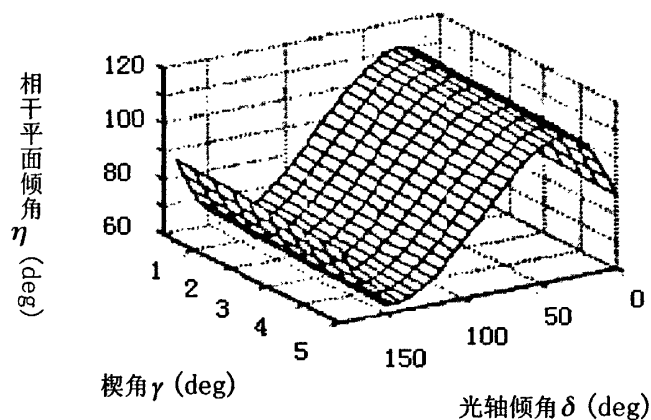


图 3.9 相干平面倾角 η 随楔角 γ 及光轴倾角 δ 的变化图

如图 3.9 所示, 当楔角 γ 在接近 0° 的较小范围内(如 5° 以内)时, 相干平面倾角 η 随楔角 γ 变化不大而基本上由光轴倾角 δ 来决定^[37]。当 δ 接近于 0° 或接近于 90° , 则此时的棱镜为 Wollaston 棱镜或 Rochon 棱镜。 η 在 90° 的一个极小的邻域内, 这就意味着相干平面基本平行于棱镜表面。如果此时棱镜表面垂直于系统的光轴, 则可认为相干平面近似垂直于显微系统的光轴。这也从另一方面说明了在 Nomarski 棱镜中, 当入射角 $\alpha = 0^\circ$ 时, 相干平面与棱镜表面不平行, 即相干平面与棱镜上表面有一倾斜角。

3.2.3 相干平面出离量 D 、楔块楔角 γ 和光轴倾角 δ 和棱镜厚度 a 之间的关系

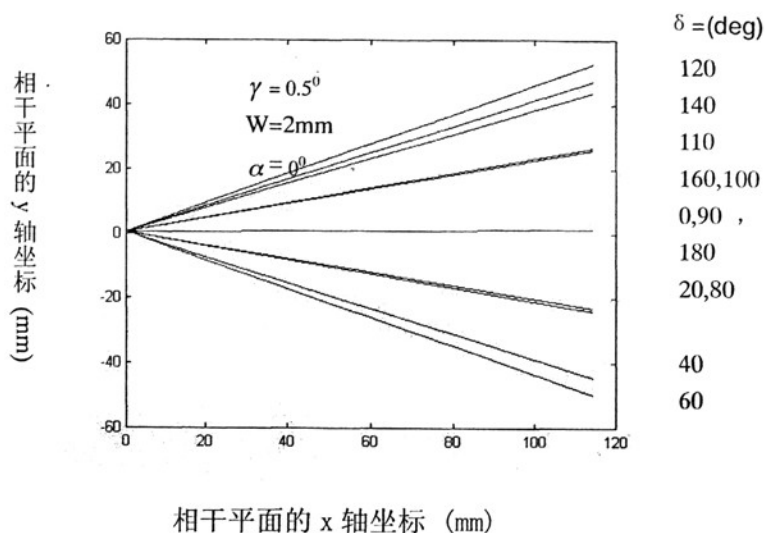
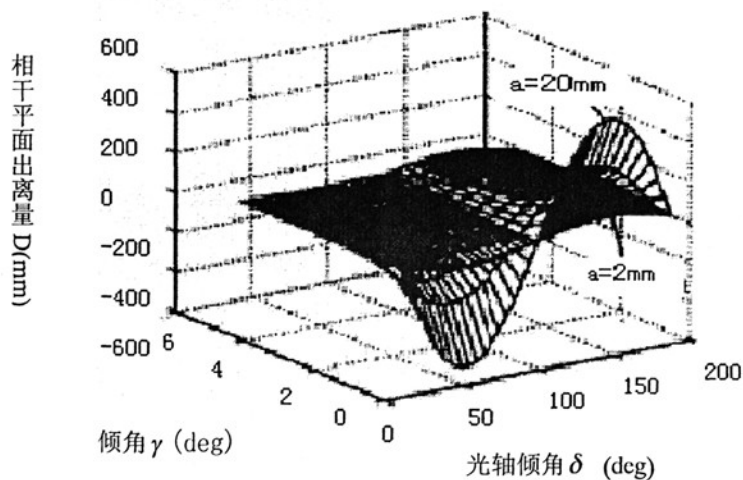
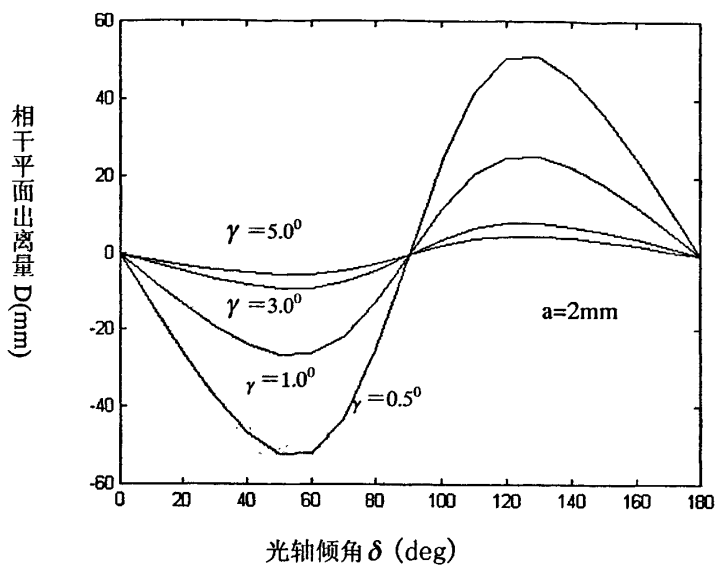


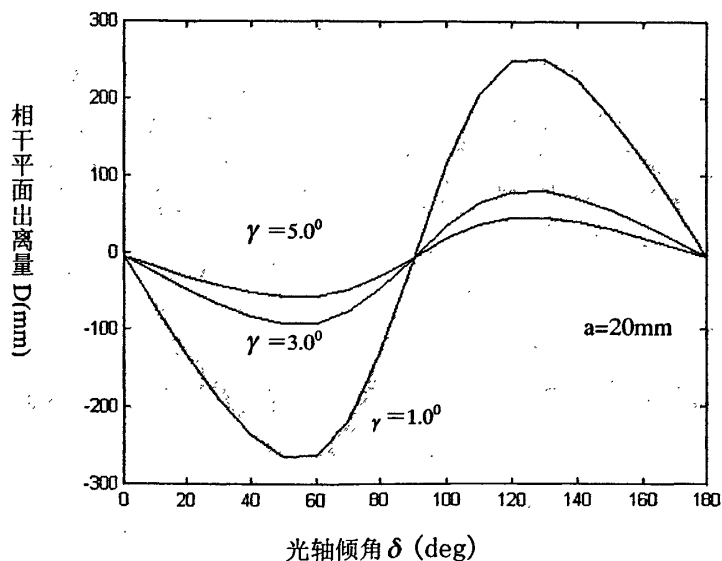
图 3.10 在 $\omega=2\text{mm}$ 、 $\alpha=0^\circ$ 和 $\gamma=0.5^\circ$ 的不同光轴倾角时的相干平面位置



(a) 相干平面出离量 D 随参数 γ 、 δ 和 a 的变化图



(b) 棱镜厚度 $a=2\text{mm}$ ，楔块楔角 γ 为不同值时的 $\delta - D$ 曲线



(c) 棱镜厚度 $a=20\text{mm}$ ，楔块楔角 γ 为不同值时的 $\delta - D$ 曲线

图 3.11 相干平面出离量 D 、楔块楔角 γ 、光轴倾角 δ 和棱镜厚度 a 之间的关系

由图 3.11 (a) 所示，随着棱镜厚度的增加，相干平面出离量的整体变化幅度也相应增加。在楔块楔角接近于 0° 时，仅仅由棱镜厚度就会引起相干平面出离量 d 发生显著变化。而楔块楔角越大时，由于棱镜厚度变化引起的相干平面出离量变化就越不明显^[38]。

3.2.4 光程差 Γ 、光轴倾角 δ 、棱镜厚度 a 和入射坐标 X_0 之间的关系

因为 oe 光和 eo 光在棱镜中的传播方向是与棱镜厚度无关的，而且寻常光和非常光的折射率也与棱镜厚度无关。只有光线的物理路径与棱镜厚度 a 有关。因此根据式(3-30)可以得出 Nomarski 棱镜引起的光程差 Γ 也是棱镜厚度 a 的线性函数。

根据式(3-31)， $\Gamma = OPL_{oe} - OPL_{eo}$ 可以得出 Nomarski 棱镜引起的光程差 Γ 是光轴倾角 δ 的函数，这从图 3.12 中也可以看出。当偏振光在 $[0, \frac{a}{2\tan\gamma}]$ 范围入射时， Γ 在 $\delta \in [0^\circ, 90^\circ]$ 区间随 δ 单调递增，在 $\delta \in [90^\circ, 180^\circ]$ 区间随 δ 单调递减。在 $\delta = 90^\circ$ 时有最大值，在 $\delta = 0^\circ$ 或 180° 时有最小值。当偏振光在 $[\frac{a}{2\tan\gamma}, \frac{a}{\tan\gamma}]$ 范围入射时， Γ 在 $\delta \in [0^\circ, 90^\circ]$ 区间随 δ 单调递减，在 $\delta \in [90^\circ, 180^\circ]$ 区间随 δ 单调递增。在 $\delta = 90^\circ$ 时有最小值，在 $\delta = 0^\circ$ 或 180° 时有最大值。

参考图 3.5 和图 3.12，当光线从坐标 $(0, 0)$ 位置入射时，两束线偏振光所经过的 2 区厚度为零，实际经过区域为仅 3 区。在 3 区 oe 光的折射率为 n_e ，eo 光的折射率为 n_o 。在光轴倾角 $\delta = 0^\circ$ ，即 Wollaston 棱镜情况时光程差为极小值

$$\Gamma = (n_o - n_e)a \quad (3-35)$$

当光线从坐标 $(0, a/\tan\gamma)$ 位置入射时，两束线偏振光所经过的 3 区厚度为零，实际经过区域为仅 2 区。在 2 区 oe 光的折射率为 n_o ，eo 光的折射率为 n_e 。在光轴倾角 $\delta = 0^\circ$ ，也即 Wollaston 棱镜情况时光程差为极大值

$$\Gamma = (n_e - n_o)a \quad (3-36)$$

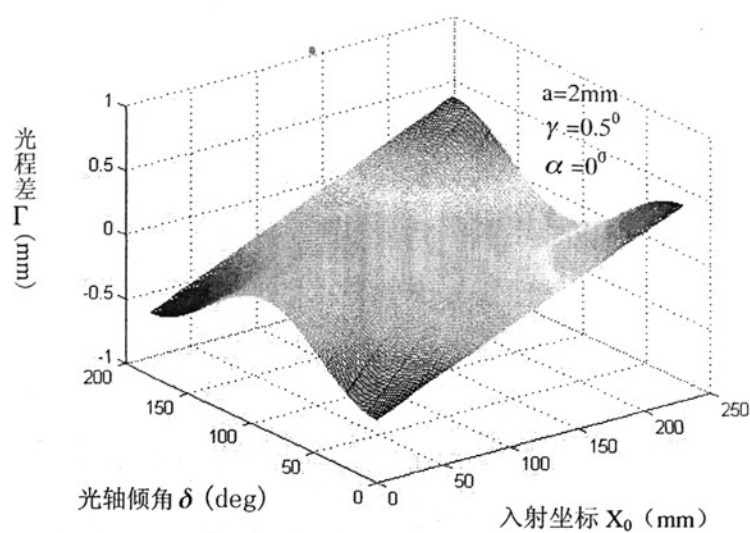


图 3.12 光程差 Γ 、光轴倾角 δ 和入射坐标 X_0 之间的关系

第4章 棱镜设计及加工实例

4.1 设计实例

经过综上的考虑之后决定采用以下设计方法，如下图所示：

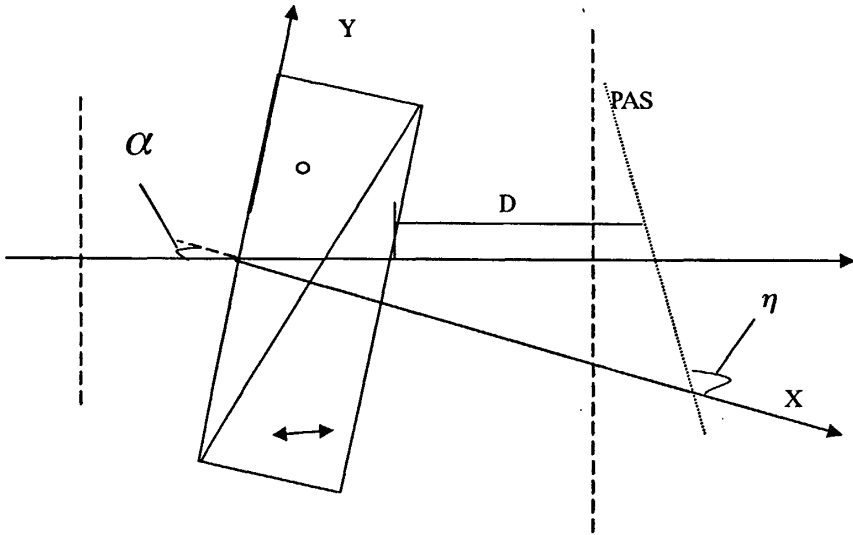


图 4.1 棱镜在光学系统中的位置

为了构建完整的光学系统，必须使系统光轴与棱镜的相干面垂直。所以就需
要条件 $\eta_1 - \alpha_1 = 90^\circ$ ，由上一章的公式推导可知：

$$\tan \eta_1 = \frac{X_{p1} - X_{p2}}{Y_{p1} - Y_{p2}} \quad (4-1)$$

$$\alpha_1 = \sin^{-1}(n_o \sin\{(\gamma - \cos^{-1}[\frac{n_e}{n_o} \times \cos(\delta - \gamma - \theta_e)])\}) \quad (4-2)$$

最后将(4-1)化简得：

$$\eta_1 = \tan^{-1}\left(\frac{A+B+C}{D+E}\right) \quad (4-3)$$

其中：

$$A = \tan \beta_4^{\circ} (\tan \gamma - \tan \beta_2^{\circ}) \times (\tan \gamma + \tan \beta_2^{\circ} - 2 \tan \alpha_3^{\circ}) \quad (4-4)$$

$$B = \tan \beta_4^{\circ} (\tan \gamma - \tan \beta_2^{\circ}) \times (2 \tan \alpha_3^{\circ} + \tan \gamma - \tan \beta_2^{\circ}) \quad (4-5)$$

$$C = (\tan \beta_4^{\circ} - \tan \beta_4^{\circ}) \times (\tan \gamma - \tan \beta_2^{\circ}) \times (\tan \gamma - \tan \beta_2^{\circ}) \quad (4-6)$$

$$D = (\tan \gamma - \tan \beta_2^{\circ}) \times (\tan \gamma + \tan \beta_2^{\circ} - 2 \tan \alpha_{3s}^{\circ}) \quad (4-7)$$

$$E = (\tan \gamma - \tan \beta_2^{\circ}) \times (2 \tan \alpha_3^{\circ} - \tan \gamma - \tan \beta_2^{\circ}) \quad (4-8)$$

由上一章的公式推导可以给出：

$$\beta_2^{\circ} = \sin^{-1} \left(\frac{\sin \alpha}{n_e} \right) \quad (4-9)$$

$$\beta_2^{\circ} = \sin^{-1} \left(\frac{\sin \alpha}{n_0} \right) \quad (4-10)$$

$$\alpha_3^{\circ} = \gamma + \sin^{-1} \left\{ \frac{n_e}{n_0} \cos \left[\sin^{-1} \left(\frac{\sin \alpha}{n_e} \right) - \gamma \right] \right\} - 90^{\circ} \quad (4-11)$$

$$\alpha_{3s}^{\circ} = \delta - \tan^{-1} \left(\frac{n_0^2}{n_e^2} \tan \theta_e \right) \quad (4-12)$$

$$\beta_4^{\circ} = \sin^{-1} \left[-n_0 \cos \left(\sin^{-1} \left\{ \frac{n_e}{n_0} \times \cos \left[\sin^{-1} \left(\frac{\sin \alpha}{n_e} \right) - \gamma \right] \right\} + \gamma \right) \right] \quad (4-13)$$

$$\beta_4^{\circ} = \sin^{-1} \left[-n_e(\theta_e) \cos \left(\sin^{-1} \left\{ \frac{n_0}{n_e(\theta_e)} \times \cos \left[\sin^{-1} \left(\frac{\sin \alpha}{n_0} \right) - \gamma \right] \right\} + \gamma \right) \right] \quad (4-14)$$

上式中： α_{3s}° 和 β_4° 是 θ_e 和 $n_e(\theta_e)$ 的函数

通过前面的分析可以有以下两式：

$$n_0 \sin \left[90^{\circ} - \gamma + \sin^{-1} \left(\frac{\sin \alpha}{n_0} \right) \right] = n_e(\theta_e) \sin (90^{\circ} + \delta - \gamma - \theta_e) \quad (4-15)$$

$$n_e(\theta_e) = \frac{n_0 n_e}{(n_0^2 \sin^2 \theta_e + n_e^2 \cos^2 \theta_e)^{\frac{1}{2}}} \quad (4-16)$$

由以上两式可以解出 θ_e ， $n_e(\theta_e)$ 也随之确定：

再解以下方程组：

$$\begin{cases} \eta = f(\delta, \gamma, \alpha) \\ \eta - \alpha = 90^{\circ} \end{cases} \quad (4-17)$$

最后化简的公式是一个超越方程，所以最后只能用迭代法来解决该问题^[39]。

可以知道 δ, γ, α 三者之间的变化关系

表 4.1 δ, γ, α 三个参数的变化关系

| γ (deg) | $\alpha_{\perp(\max)}$ (deg) | $\delta_{\alpha\perp(\max)}$ (deg) | $\delta_{\perp(\min)}$ (deg) | $\delta_{\alpha\perp(\min)}$ (deg) |
|----------------|------------------------------|------------------------------------|------------------------------|------------------------------------|
| 45 | -6.1413 | 31.4389 | -33.6526 | 123.6573 |
| 50 | -2.9395 | 33.4598 | -32.0161 | 124.6012 |
| 60 | 3.0347 | 37.2505 | -28.7029 | 126.5651 |
| 70 | 8.4289 | 40.7495 | -25.2678 | 128.6373 |
| 75 | 10.9074 | 42.4028 | -25.3038 | 129.6172 |
| 80 | 13.3282 | 44.2826 | -21.5529 | 133.2024 |
| 85 | 15.6026 | 44.6413 | -19.8100 | 132.4810 |
| 87 | 16.3890 | 45.9298 | -18.8825 | 132.5090 |
| 88 | 16.8150 | 46.1984 | -18.4771 | 132.7615 |
| 89 | 17.2367 | 46.4669 | -18.0677 | 133.0140 |
| 89.4 | 17.4042 | 46.5691 | -17.9027 | 133.1182 |

可以得出以下关系

以上是满足系统光轴与棱镜的相干面垂直的条件下得出的解。其解有很多

同时再考虑相干面的出离量 D 和 γ 以及 $\delta_{\alpha\perp}(\max)$ 的关系^[40]

$$D = \frac{X_{PAS} - \omega}{\cos \alpha} \quad (4-18)$$

可以得出以下具有代表性的值:

表 4.2 γ, α, D 三个参数的变化关系

| γ (deg) | $D_{\perp(\max)}$ (mm) | $\delta_{D(\max)}$ (deg) | $D_{\perp(\min)}$ (mm) | $\delta_{D(\min)}$ (deg) |
|----------------|------------------------|--------------------------|------------------------|--------------------------|
| 75 | 1.5806 | 40.0140 | -4.0989 | 134.1748 |
| 80 | 2.9632 | 41.5210 | -5.5187 | 136.6092 |
| 85 | 7.1683 | 41.5611 | -9.7041 | 136.0140 |
| 87 | 12.6725 | 42.4108 | -15.1961 | 136.4068 |
| 88 | 19.6274 | 42.6052 | -22.1505 | 136.6052 |
| 89 | 40.5017 | 42.8016 | -43.0243 | 136.8016 |
| 89.25 | 54.4197 | 42.8537 | -56.9425 | 136.8537 |
| 89.3 | 58.3964 | 42.8617 | -60.9191 | 136.8617 |
| 89.35 | 62.9850 | 42.8737 | -65.5077 | 136.8737 |
| 89.4 | 68.3333 | 42.8818 | -77.8610 | 136.8818 |
| 89.45 | 74.6651 | 42.8898 | -77.1877 | 136.8898 |
| 89.5 | 82.2573 | 42.9016 | -84.7799 | 136.0018 |

根据现有的光学系统参数: 光束的波长 $\lambda = 555nm$, 物镜 10 倍, 数值孔径

N. A=0.25, 物镜焦距 $f=8.719\text{mm}$, $\varepsilon = \frac{0.61\lambda}{f} = 0.9961 \times 10^{-4} = 0.0057^\circ$ 。以及筒长限制,

选定出离量 D 在 20mm 左右, 得出以下几组适合的值:

表 4.3 合适的几组值

| $\gamma (\text{deg})$ | $\delta (\text{deg})$ | $\alpha_1 (\text{deg})$ | $D (\text{mm})$ |
|-----------------------|-----------------------|-------------------------|-----------------|
| 89.25 | 43 | 17.2064 | 18.1478 |
| 89.30 | 43 | 17.2261 | 19.4740 |
| 89.35 | 43 | 17.2459 | 21.0042 |
| 89.40 | 43 | 17.2657 | 22.7895 |
| 89.45 | 43 | 17.2856 | 24.8994 |
| 89.50 | 43 | 17.3053 | 27.4313 |

最后选定的参数是:

$$\gamma = 89.4^\circ$$

W 即棱镜的厚度是 1mm

$$\delta = 43^\circ$$

在入射角 $\alpha = 0.2996$ 即 17.1658° 的情况下

$$\text{相干面倾角 } \eta = -1.281 + \frac{\pi}{2} = 0.3027 = 17.3434^\circ$$

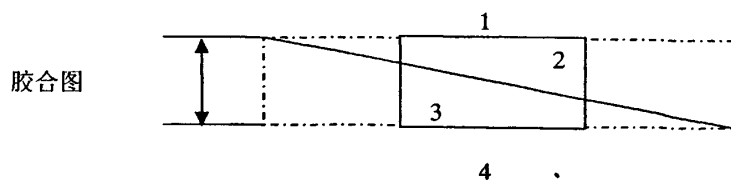
$$\theta_c = 0.5585$$

其中 D 约为 22.7048mm

入射光线与相干面垂直, 计算值有些误差。

4.2 棱镜加工实例

由于该 Nomarski 棱镜对加工精度的要求相当高, 而且设计参数的值也很小。棱镜的厚度只要求 1mm , 且楔块楔角 γ 要求加工到角度分的级别, 其误差范围也要求相当高^[41]。最后结合加工工艺的实际情况和各参数误差对实验结果的影响。给出了以下加工图纸。



1. 2. 3 为工作面

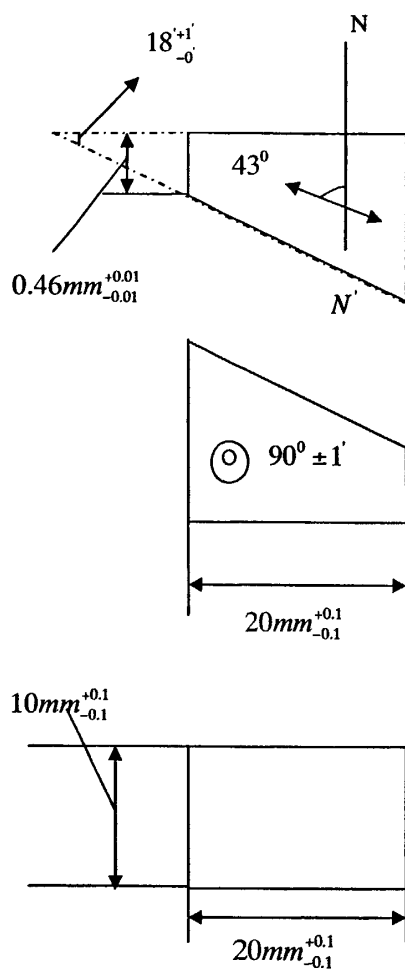
1. 4 的平行度为 $\pm 30''$

2. 3 的平行度为 $\pm 30''$

技术要求如下:

1. 材料: L-G
2. 面质: 40/20 (工作面)
3. 消光比 10^{-4}
4. 面形: $N=1$ $\Delta N = 0.2$ (工作面)
5. 光轴定向精度 $\pm 1'$

(a)



(b)

图 4.2 Nomarski 棱镜的加工图纸

图 4.2 (a) 是棱镜的加工胶合图，上面有棱镜的公差及技术要求。4.2 (b) 是棱镜的加工尺寸图。

4.3 结论

为了满足相干平面与物镜的后焦面重合，就必须使得相干平面在棱镜出射面一侧的外部，由于相干平面一般不与棱镜表面平行^[44]，同时还应将棱镜转过相应

的角度,使得 $\sigma = \eta - \alpha = 90^\circ$ 。从而满足相干平面与系统光轴垂直,这样得以实现 Nomarski 棱镜的结构设计。

相干平面离开棱镜表面的距离 D 受楔块楔角 γ 、光轴倾角 δ 和棱镜厚度 a 三者共同影响。为满足相干平面与物镜的后焦面重合,必须使得 D 为正值,在微分干涉相衬显微系统中,受系统机械结构的制约, D 一般为 20mm 左右。同时由于相干平面与棱镜出射面之间有夹角 η ,安装时需要把棱镜稍微倾斜,这样才能满足相干平面与系统光轴垂直且与物镜后焦面重合的条件。

第 5 章 显微镜光学系统的调试及结论

5.1 Nomarski 棱镜的材料选择

用于制造微分干涉相衬显微系统中棱镜的材料一般为石英晶体或方解石^[42]。

采用的光学系统为无限远色差校正光学系统，取 10x 物镜，无限远消色差物镜，数值孔径 $N.A.=0.25$ ，物镜焦距 $f=8.719\text{mm}$ 。

如取棱镜材料为方解石，光源波长为 555nm (此时折射率 $n_o=1.66046$ ， $n_e=1.48736$)，考虑到由显微镜物镜分辨率 σ 和焦距 f 决定了偏光棱镜的分束角 ε 的值^[43]：

$$\varepsilon = \sigma / f = 0.61\lambda / N.A. / f \quad (5-1)$$

将有关数据代入式 (5-1) 可以求得分束角 $\varepsilon = 1.55 \times 10^{-4} = 0.0177^\circ$ 。但是从下面的关系图 5.1 中发现对于方解石材料，在楔块楔角 γ 有效加工范围内不能实现上述分束角要求，所以虽然方解石常用于 Wollaston 棱镜制造但却不是制造 Nomarski 棱镜的合适材料。选者石英作为棱镜加工材料。

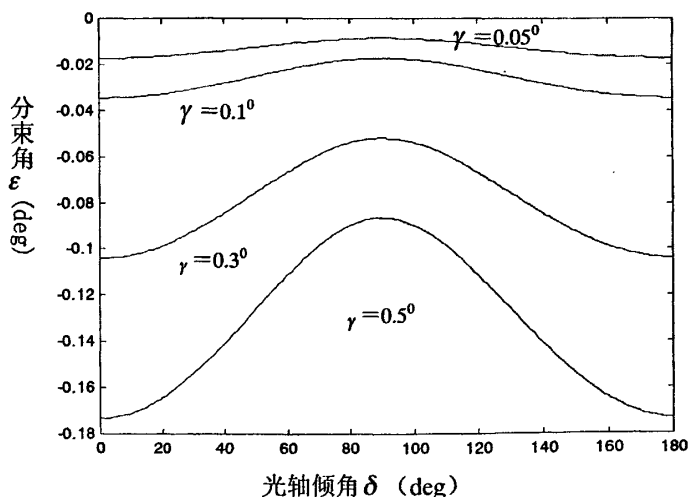


图 5.1 楔块楔角 γ 为不同值时的 $\delta - \varepsilon$ 曲线

5.2 微分干涉相衬显微镜试验装置

显微镜结构分光学、照明、机械三个系统, 决定成像质量好坏的是光学系统^[44]。微分干涉相衬显微镜光学系统主要包括 Nomarski 棱镜、目镜、物镜、聚光镜、起偏镜、检偏镜、光源、滤波片等。微分干涉相衬显微测量灵敏度高, 所以需要使用消色差物镜^[45]。

光源采用的是 6V/30W 卤素灯, 视场光栏, 中心可调。后加光学准直系统, 得到平行光。

显微镜镜架利用现有显微镜改装而成。选择无穷远色差校正光学系统, 改装了物镜镜筒。并且在合适上的位置进行了机械加工, 可以加入起偏和检偏器。

关于校正方法做以下介绍:

在物镜的上方加装了 Nomarski 棱镜的夹具。该夹具完全按照物镜镜筒的螺纹加工, 物镜可以加装在该夹具的下方, 同时另外一端可以安装在镜筒上。通过旋转螺纹可以调节相干面的位置, 从而使相干面和物镜的焦平面重合。

为了使光线射入棱镜时满足设计时的入射角 17.1658° , 必须使棱镜有一定的倾斜, 根据计算结果, 棱镜与水平面的夹角为 17.1658° 。

5.3 系统调试

测量系统要求起偏器透光轴方向、检偏器透光轴方向, Nomarski 棱镜光轴方向之间具有确定的位置关系, 同时要求载物工作台与反射镜工作台垂直且等光程, 这是我们工作的基础, 因此在测量前, 必须对微分干涉相衬层析显微镜系统进行调整。

5.3.1 起偏器检偏器相对零位的调整

将 $1/4$ 波片、Nomarski 棱镜和物镜移去光路, 载物工作台上放上平面反射镜, 然后在检偏器后放一检流计, 首先旋转起偏器至零位刻度, 再旋转检偏器至检流器输出为零^[46]。这时, 起偏器和检偏器 e 光轴夹角为 45° 。

5.3.2 Nomarski 棱镜相干面的调整

将起偏器与检偏器安装好了以后, 光源打开。先粗调棱镜的安装夹具与物镜后焦面的距离, 使 Nomarski 棱镜的相干面大致与物镜的后焦面重合。然后在载物

台上放置观察对象，通过旋转棱镜的安装夹具微调棱镜的相干面的位置，使之达到最好的观察效果即可^[47]。

5.4 图像实例

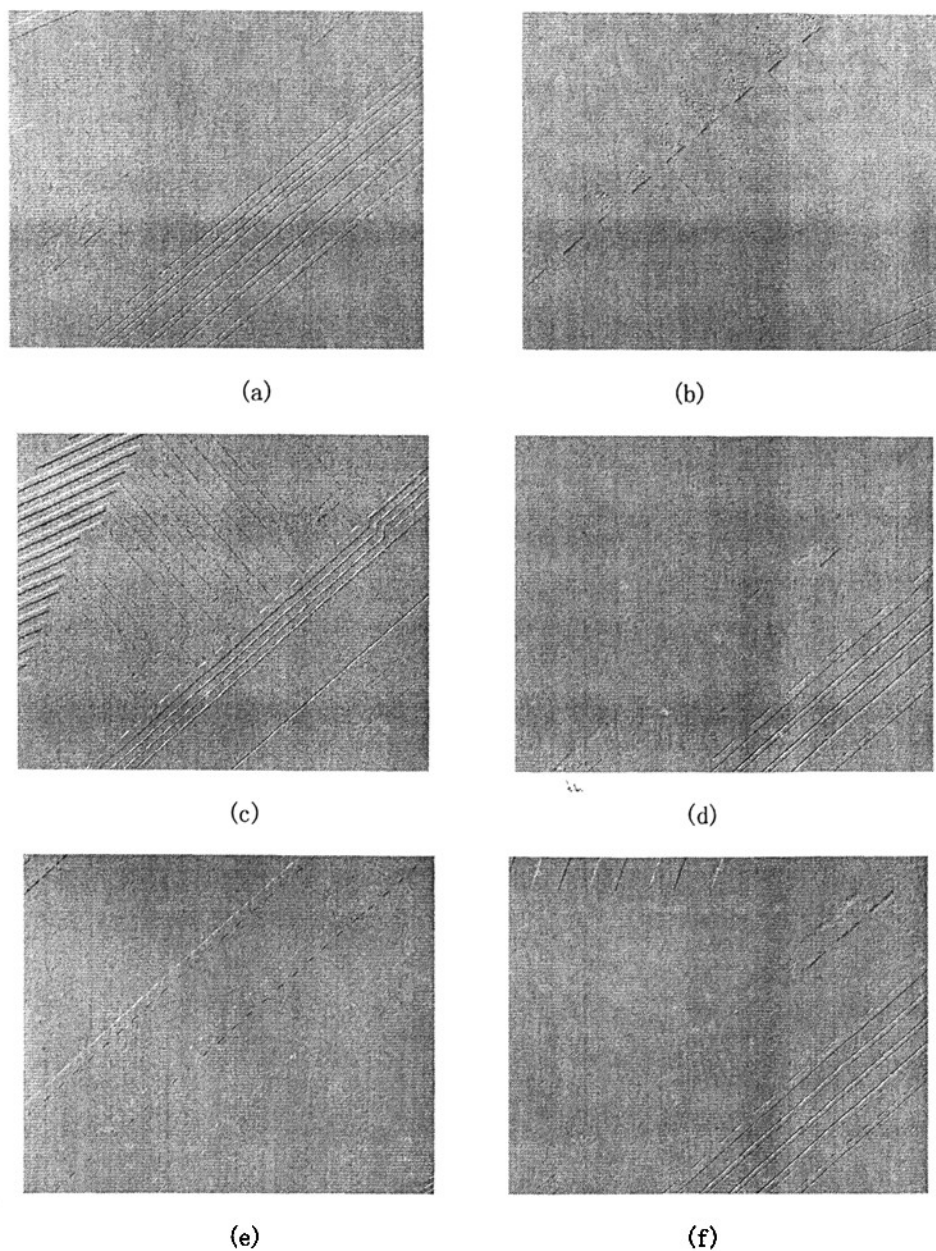


图 5.2 印刷电路板微分干涉图像

如图 5.2，是用反射式微分干涉相衬显微镜观察印刷电路板的图像。有一定

的浮雕般的立体感，但是效果不够好。由于设计及加工时都存在一定的误差，还有系统调整的不够精确，所以微分干涉相衬显微的效果不够好。

5.5 本章小结

通过对 Nomarski 棱镜材料的分析,选取了合适的材料并选定了相应的棱镜基本光学参数。最后构建了有效的微分干涉相衬显微镜光学系统试验装置，在此基础上调试了系统。得出了具有一定效果的微分干涉相衬图像。

第6章 全文总结与展望

本论文从晶体光学的基本原理出发,对线偏振光在晶体中传播的双折射、偏振以及偏光干涉等做了理论分析,阐明了在微分干涉相衬显微方法中 Nomarski 棱镜理论基础。对于 Nomarski 棱镜设计必需的几个重要参数,进行了公式推导。并对 Nomarski 棱镜的几个重要参数之间的相互关系通过 Matlab 软件作出了直观而形象的图表分析。最后结合光学系统的设计准则给出了一组合理的棱镜参数,并且加工了显微镜的结构件,组建微分干涉相衬显微系统。归纳起来具体作了以下几方面的工作。

(1) 从晶体光学基本原理出发,深入分析了线偏振光在各向异性介质中传播的双折射、干涉、偏振规律和特性。结合上述理论,分析了微分干涉相衬显微方法获得最佳干涉图像所需要的条件以及获得具有三维立体感浮雕图像的原因。对微分干涉相衬显微镜的关键技术, Nomarski 棱镜的设计做了深入的研究。

(2) 在分析 Nomarski 棱镜各个参数变化关系的基础上,结合 Nomarski 棱镜的相干面要与系统光轴垂直且与物镜后焦面重合的准则,得出了一组合适的参数。并在考虑现有加工工艺的基础了给出了公差范围,最后加工出 Nomarski 棱镜。

(3) 简要的分析了本显微镜的光机系统。对需要加装的零部件进行了机械构件的设计。

(4) 通过试验选择了合适的棱镜材料,构建了能应用于定性观察的微分干涉相衬显微镜试验装置,对系统进行了调试,最后得出了一定效果的图像。

该系统仍然有需要改进的地方。整个光机系统的设计还有提高的空间。尤其是 Nomarski 棱镜的加工工艺还有待于提高。Nomarski 棱镜的装夹工具也是很重要的一部分,要能够方便的调出效果做好的微分干涉图像。这都是需要继续研究的问题。

本文目前只是针对微分干涉相衬显微术的定性测量做了一定的研究,要实现微分干涉相衬显微方法的定量测量还有很多更为复杂的工作要进行,而设计出能实现定量测量的微分干涉相衬显微镜才是最终目的。

在前面已经初步讨论过,微分干涉相衬显微镜是把相位的变化转换成光强的变化,那么定量测量时就要把光强的变化再转变为相位的变化。但是直到最近几年还都认为,微分干涉相衬显微镜只适用于定性的形态观察而不能实现定量测量,主要有以下几个原因^[48-49]:

(1) 微分干涉相衬的图像产生的非线性导致没有合适的计算模型。

(2) 微分干涉相衬图像的光强分布并不与样品的基本参数直接相关。

(3) 由于微分干涉相衬显微镜中的 Normaski 棱镜存在一个通光方向,因此微分干涉相衬图像是与方向有关的,也就是所谓的方向敏感性。

(4) 微分干涉相衬显微镜也属普通的光学显微镜,因此存在着一个衍射极限的问题^[50]。

(5) 微分干涉相衬显微镜的图像是伪浮雕式的,它非常适合于观察,但是不能直接通过计算机的着色技术而产生三维显示。

在以上原因中,最难解决的就是计算模型问题,其次就是图像的方向敏感性问题。只要解决了这两个问题,定量化问题就可以解决^[51]。在计算机、图像处理等相关技术的发展和融合的基础上,国外已研制出了世界上第一台能实现定量测量的微分干涉相衬显微镜。

参考文献

- [1] 张丰德, 樊廷玉. 现代生物学技术[M]. 南开大学出版社, 1986: 78-90.
- [2] 陈祥, 宋晋生, 李言祥. 微分干涉相衬法在材料显微分析中的应用[J]. 实验与管理, 2003, 20 (3): 19-23.
- [3] 虞启琰, 王琳. 医用光学仪器[M]. 天津科学技术出版社, 1988: 77-88.
- [4] 岳成凤, 杨冠玲, 何振江, 饶明辉, 艾锦云. DIC 显微术及在大气颗粒物观察中应用的研究[J]. 光电工程, 2003, 30 (4): 46-49.
- [5] Allen R D, David G B and Nomarski G. The Zeiss-Nomarski differential interference equipment for transmitted-light microscopy. Z Wiss Mikrosk, 1969, 69: 193-221.
- [6] 张志利, 徐旒娴, 李文江. 透明体的光学定量测量. [J] 光学技术, 2001, 27 (2): 146-149.
- [7] 虞启琰, 齐麟. 医用显微镜之特种显微镜(上)[J]. 世界医疗器械, 1999, 5 (7): 62-64.
- [8] 陈峻堂. 微分干涉相衬显微术[J]. 光学仪器, 1984, 6 (1): 1-15.
- [9] 龙槐生. 光的偏振及其应用[M]. 机械工业出版社, 1989. 7: 56-78.
- [10] 李恭亮, 郭继华. 晶体光学原理[M]. 国防工业出版社, 1990: 74-98.
- [11] 弗朗松. 衬显微镜与干涉显微镜[M]. 科学出版社, 1966: 56-74.
- [12] 玻恩 M, 沃耳夫 E. 光学原理(上)[M]. 科技出版社, 1981: 98-189.
- [13] 玻恩 M, 沃耳夫 E. 光学原理(下)[M]. 科技出版社, 1981: 36-120.
- [14] Padawer J. The Nomarski interference microscopy an experimental basis for image interpretation[J]. J R Microsc Soc, 1968, 88: 3-349.
- [15] Cogswell C J, Sheppard C J R. Confocal differential interference contrast (DIC) microscopy: including a theoretical analysis of conventional and confocal DIC image[J]. Journal of Microscopy, 1992, Jan: 81-101.
- [16] Lessor D L, Hartman J S and Gordon R L. Quantitative surface topography determination by Nomarski reflection microscopy[J]. J Opt Soc Am, 1979, 69 (2): 357-366.
- [17] 陈晔. 微分干涉相衬显微术及其应用[J]. 南京林业大学学报, 1992, 16 (4): 69-73.
- [18] 许谊, 徐旒娴, 惠梅. 微分干涉相衬显微镜定量测量表面形貌[J]. 光学精密工程, 2001, 9 (3): 226-229.
- [19] Francon M and Mallick S. Polarization interferometers[J]. Wiley-interscience, New York, 1971, 12 (5): 56-89.
- [20] 许忠保, 叶虎年. 微分干涉相衬层析显微镜的相干传递函数[J]. 华中科技大学学报(自

- 然科学版), 2006, 34 (8): 65—67.
- [21] 高宏, 薛实福, 严普强. 微分干涉相衬显微镜定量测量技术[J]. 光仪技术, 1990, 11 (2): 24-28.
- [22] Bennett J M. Measurement and interpretation of fine form errors in optical surfaces[J]. Proc SPIE, 1983, 381: 190-208.
- [23] 李家泽, 朱保亮, 魏光辉. 晶体光学[M]. 北京理工大学出版社, 1989: 256-278.
- [24] 郁道银. 工程光学[M]. 机械工业出版社, 1999: 322-368.
- [25] Wood E. Crystals and light. Dover, New York, 1977, 12 (5): 56-89.
- [26] 陈怀安. 诺曼斯基棱镜的光路设计和计算[J]. 光学仪器, 1985, 7 (3): 36-40.
- [27] Simon M C. Wollaston prism with large splitangle[J]. Applied Optics, 1983, 25: 369-376.
- [28] Pluta M. Nomarski' s DIC microscopy[J]. a review. Proc SPIE, 1994, 1846: 10-24.
- [29] 徐旒娴, 张志利, 蔡昕. 改进型 Wollaston 棱镜设计[J]. 光学精密工程, 2001, 9 (2): 131-134.
- [30] 杨险峰, 叶梅, 叶虎年. Nomarski 偏光棱镜设计[J]. 光学仪器, 2002, 24 (6): 30-33.
- [31] Gleyzes P. Multichannel Nomarski microscopy with polarization modulation: Performance and application[J]. Optics Letters, 1997, 15: 1529-1531.
- [32] Bloss F D. An introduction to the methods of optical crystallography[J]. Holt, Philadelphia, Pa. 1961, 4 (6): 39-43.
- [33] Munster E B V, Vliet L J V and Aten J A. Reconstruction of optical pathlength distributions from images obtained by a wild-field differential interference contrast microscopy[J]. Journal of Microscopy, 1997, 188: 149-157.
- [34] Holzwarth G. Improving DIC microscopy with polarization modulation[J]. Journal of Microscopy, 1997, Dec: 249-254.
- [35] 程卫国, 冯峰, 姚东等. Matlab 5.3 应用指南[M]. 人民邮电出版社, 1999: 98-121.
- [36] 蔡昕, 徐旒娴, 张志利. 微分干涉相衬显微镜中偏光棱镜设计[J]. 光学技术, 2001, 27 (3): 229-234.
- [37] Wilk J. Localization of the point of beam shearing in birefringent prisms. Optyka, 1976, 11: 187-92.
- [38] Makosh G and Solf B. Surface profiling by electro-optical phase measurement[J]. SPIE Proceedings, 1981, 316: 42-6.
- [39] 谭浩强. C 程序设计[M]. 清华大学出版社, 1999: 56-15.
- [40] Montarou C C and Gaylord T K. Analysis and design of modified Wollaston prisms[J].

- Applied Optics, 1999, 38(31):6604—6616.
- [41] Simon M C. Ray tracing formulas for monoaxial optical components[J]. Applied Optics, 1983, 22:354-60.
- [42] 仲维卓. 人工水晶[M]. 科学出版社, 1994:102-36.
- [43] 王之江. 光学技术手册(上)[M]. 机械工业出版社, 1978:145-35.
- [44] 孙业英. 光学显微分析 [M]. 清华大学出版社, 1997: 85-56.
- [45] Wyant J C and Creath K. Recent advances in interferometric optical testing[J]. Laser Focus, 1985, 21: 118-132.
- [46] 惠梅, 李庆祥, 王东生, 徐毓娴. 移相式微分干涉相衬显微测量系统的研制[J]. 光电子·激光, 2002, 13 (11): 1141-1144.
- [47] 邱松华, 毛静华. 光学仪器装配与调整[M]. 机械工业出版社, 1989:123-201.
- [48] Preza C. Rotational-diversity phase estimation from differential interference contrast microscopy images[J]. J Opt Soc Am A , 2000, March:415-424.
- [49] 徐毓娴, 蔡昕, 董小满, 李文江. 可定量测量的透射式微分干涉显微系统. 清华大学学报(自然科学版), 2003, 43 (2): 149-151.
- [50] Pluta M. Advanced light microscopy. Elsevier Amsterdam, 1989.
- [51] Preza C. Rotational-diversity phase estimation from differential interference contrast microscopy images. J Opt Soc Am A, 2000, March:415-424.

致 谢

本论文的工作是在我的导师许忠保教授的悉心指导下完成的。整个论文的工作从选题、理论分析、实验设计、数据处理及科学表述，每一步都倾注了导师的心血。可以说，没有导师的教导和关怀，论文就很难顺利完成。在这三年学习生活中，导师渊博的知识，对待科学的严谨，和蔼、平易近人的风格感染了我，会让我在今后的生活中受益匪浅。在此，向我的导师许忠保教授表示深深地谢意。

感谢教研室的各位老师为我们的学业完成所付出的辛勤劳动，为我们提供了无私的帮助。

感谢同实验室的张楠，张慧华，张华，张爽，张凯同学的帮助，感谢他们对我的学习、生活的关心照顾和帮助。

同时，也感谢父母的关心和支持，使我能够在学校顺利完成我的学业。

谢谢所有关心和帮助过我的人！在此向他们表达我的感激之情。

附录 发表论文情况

[1] 许忠保, 张梨墨. 微分干涉相衬显微镜中 Nomarski 棱镜设计[J]. 湖北工业大学学报, 2006 (12)

· ISBN 1003-4684

[2] Hua ZHANG, Zhongbao XU, Shuomo ZHANG. Research of optical coherence tomography microscope based on CCD detector[C]. 2008 International Conference on Optical Instruments and Technology, Beijing, 2008, 7156, 7156 1K-1-71561K-8.

ISBN 9780819474001