

显微镜译文集

华东地区光学仪器情报网

1985.1

前 言

随着科学技术、工业生产、医疗卫生以及生物工程等方面的不断发展，对光学显微镜的需求不断增加，对成象质量和仪器的功能都提出了新的要求。组织出版本专辑的目的在于介绍这一领域里的进展，报导和推广国外关于显微镜方面的新技术、新产品、新工艺和新的测试方法。专辑的内容对科研、生产或使用单位都有一定参考价值。

本专辑由上海光学仪器研究所、江南光学仪器厂、芜湖光学仪器厂和上海勤奋仪器厂的有关人员共同收集了近几年显微镜方面的最新国外文献二十四篇。编译过程中主要由徐宁曾、徐海良等组稿、审校和编辑加工。由于水平所限，不足之处在所难免，敬请批评指正。

机械部华东地区光学仪器情报网

一九八四年十一月

目 录

一、显微镜

新式反射荧光显微镜·····	(1)
FLUOVAL2新型荧光显微镜·····	(4)
观测低折射率物质的光学显微镜·····	(9)
一种新型的双体显微镜—观察三维立体像和作比较观察·····	(11)
白光干涉测量显微镜·····	(13)
光学显微镜在材料分析中的关键作用·····	(15)

二、成像特性和测试

环形镜头成像特性·····	(18)
反射光显微镜中象的杂光系数的测定·····	(25)
中心屏蔽对反射光显微镜中象的杂散光的影响·····	(27)
显微镜中物镜和目镜之间放大率的分配对象质的影响·····	(30)
显微镜分辨率·····	(32)
显微镜筒长校正器·····	(36)
测量显微镜物镜调制传递函数的装置·····	(43)

三、部件及附件

八十年代的显微镜光学部件·····	(47)
新型大视场显微镜物镜·····	(55)
解剖显微镜暗场照明锥体·····	(60)
长时间观察活试样的温度可控制的显微镜载物台·····	(61)
程序控制温度的显微镜工作台·····	(64)
改进弱相衬物体清晰度的显微镜附件·····	(68)

四、其他

显微镜转换器截球体结构对物镜定中心精度的影响·····	(69)
显微镜光学元件定中心·····	(72)
高分辨率宏观照相术—缩小了宏观和微观之间的差距·····	(75)
微型光学透镜的机械化生产·····	(78)
日本工具显微镜标准·····	(84)

新式反射荧光显微镜

Horst Bruch, Boto Röhler

从近来引入的荧光显微诊断方法的许多独特性能来看,反射光激发技术是荧光激发技术中首屈一指的。这项技术的发展归功于PLOEM[1]的大量研究工作。

反射光荧光激发在以下各个方面优于透射荧光激发:

因为物镜相当于一个聚光器。将激发光集中到物方视场上,同时不再要调节聚光器。

大多数情况下,面对物镜的标本表面各层次被激发,这样就能使荧光辐射直接进入物镜。因而荧光辐射在标本中的散射和标本本身的吸收大大地避免了。这对于观察较厚的标本或者观察荧光色素陷入表面的物体是最有利的。

这些优点对于设计专门用于反射荧光激发的折叠式反光镜(双色分光镜)是很重要的。这些反射镜能形成较高反差的荧光照片。因为它们能够将几乎是所有的激发光集中到试样上,并能透光荧光,这对分离激光与反射光是有利的。激发光的反射和荧光辐射光的透射比是可以调节的,以此来适应紫外光、紫光、蓝光和绿光激发的需要(参看表1)。

LABOVAL 2a—f1型显微镜(图1略)就是按照这个反射激发荧光显微术的发展趋势而设计的。

这台仪器补充了我们荧光设备的范围。在许多常规的荧光显微术应用中,它比FLUOVAL2[2]更经济,它占用较小的空间,容易操作而且价格较便宜。

它的设计是建立在经过时间考验的LABOVAL2型显微镜基础上的。在精心制作这种专用的荧光显微镜时,优先考虑了使用上的方便和稳定性。激发光源,反射荧光照明器和显微镜牢固地用底座相互连接在一起,底座能使仪器长期保持调节好的状态。

荧光显微镜观察的主要目的是要准确无误地将试样在颜色和衬度方面的诊断特征显示出来。由于被观察的荧光强度是很低的,所以用复消色差物镜作为色差校正过的高倍物镜。

荧光显微镜的质量和通用性在很大程度上取决于滤色镜和分光镜的性能范围。为了准确无误地分离激发光和荧光,必须将激发光束分光和抑制滤光镜的光谱特性,改变成符合现场要求。于是将单个的滤光镜以及滤光镜系统按特定的目的组合起来。

耶那厂制造的花色品种齐全的激发滤光镜可用于350至550nm光谱范围。这意味着值得用荧光显微术研究的物体的科学信息都能获得。

大量生物标本除了不需要特定的荧光以外也不需要非特定的荧光。例如在蓝光激发时激发光的紫外光部分产生的非特定的荧光。这部分光能显著减少,只需在激发滤光镜组中加进长波可通过的滤色镜(G型滤光镜)。用这种被称为窄谱带技术的反射光激发的改型。特定的荧光不会明显减弱,但衬度会明显地改善。

首先在FLUOVAL—2型显微镜上试用的a.f1型滑座被选择作为一种实用的滤色镜或分光镜兼容的组合装置。它们能够根据用户或者制造者的意图而配备。

表1列出了用宽谱带和窄谱带技术激发紫外光,紫光、蓝光和绿光所用的各种现有的滤光镜和滑座。

双色分光镜装在a.fl型滑座中，並且调节好。激发光滤光镜和抑制滤光镜座由工厂分别配备。基本的滤色片组1.0，3.0，和4.0，5.0或6.0和7.0。这就是说提供给用户的a.fl型滑座马上就能用。滤色镜当然也可由用户更换。滤色镜组中的4.0，6.0和7.0是高质量的金属多层干涉滤光镜，是短波可通过的滤光镜，可用窄谱带技术来作研究工作。

1.1、4.1、6.1和7.1项包括用于窄谱带技术的附加滤光镜（G型滤光镜）和一个能使短波通过的可变的红色抑制滤光镜（B型滤光镜）。它们作为基本滤光镜组的一部分提供给用户使用。

a.fl型滑座备有接受附加的滤光镜的装置。反射光照明器配有一条附加的滤光镜滑座。如表1所示，可以从a.fl型滑座的两种型号中选择：

为给定的激发模式专门设计的有一个滤光镜系统的滑座，带有通孔，可用于荧光反射光激发和在透射光路中用于明场或相衬技术。

用于多重，特别是双重荧光染色的有三个专用滤光镜系统的滑座。可以用简单的操作转换成另一种激发方式，或转换成另一种透射光照明技术。

(下转第8页)

表1: afl滑座和反射荧光激发用的一套与a-fl型滑座一起使用的滤光镜一览表

激 发 方 式	a.fl型滑座	滤光镜组编号	激 发 滤 色 镜	滤色镜组阻挡滤色镜
紫 外 光 (即SITC)	410-1/0	1.0	U205	G243
		1.1	G257, G258(两只分离的)	G244
紫 光 激 发 (即FIF)	450-3/0	3.0	B422(两只分离的)	G441/G245
		4.0	KP425 + B422	G255
		4.1	G257, GG257	
蓝 光 激 发 (即FITC)	510-5/0	5.0	G257, G259, G241(两只分离的)	G251
		6.0	B429, B222, B426	G247/G245
		6.1	(两只分离的)KP490 + B229	G247/G245
绿 光 激 发 (即TRITC)	570-7/0	7.0	G243, G255, G260, G226/B228	G249/G245/O262
		7.1	两只分离的KP560 + B424 + G247 B243, G249, G441/B427	O263 O264 R274
多 种 激 发 多种及双荧光色素	410/510/570	见上		

注: afl型滑座上的数字表示与它配套使用的光学功能模块。例如510-6/0表示一个双色TS510分光镜加上一组6.0的滤光镜或通孔。

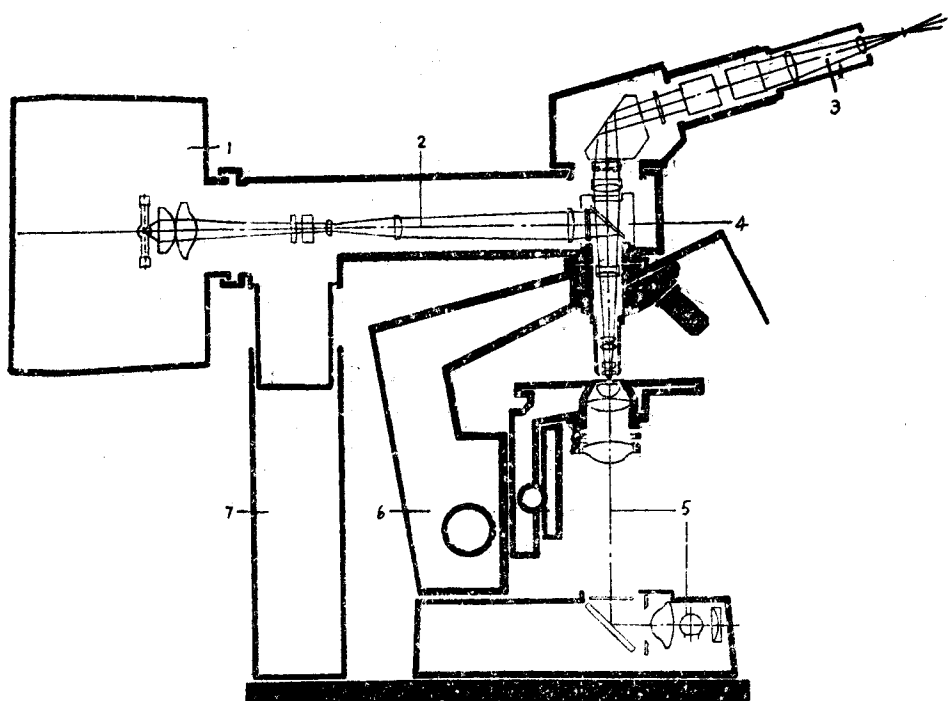


图8 LABOVAL 2a-f1型反射荧光显微镜光路图

1. HBO 50 荧光灯 2. 反射荧光光路 3. 观察光路 4. a-f1型滑座带有荧光滤光镜系统用于反射光激发
5. 6V/5W灯的透射光路 6. LABOVAL2主体 7. 荧光反射光照明器用的底板和支架

表2:

按用途分组的反射荧光激发滤光镜组合

激发方式	方法	序号	激发滤光镜	阻挡滤光镜	荧光素/方法	用途
紫外光	宽谱带	1	U205	G243	DANS (二氨基萘磺酸)	免疫学
	(窄谱带)	2	U205, G257	G243	BAO (双氨基萘重氮氯化物) SITS (4-乙酰酰异硫氰酸根络二苯乙烯2,2'磺酸) MPS (甲基绿色焦宁二苯乙烯)	细胞学 血清学
紫光	宽谱带	3	B422, B422	G441/G245	FIF (甲奎吡啶磺)	生物产生的聚酰胺
	宽谱带	4	KP425, B422	G255	吡啶磺 铂柯因	核酸, 血清学
	(窄谱带)	5	KP425, B422, G241	G255	硫核黄素S衍生物	微生物学 肺结核诊断和研究
蓝光	宽谱带	6	B426	G246/G245	FITC (异硫氰酸盐荧光素)	免疫学
	宽谱带	7	2×KP490, B229	G247/G245	铂柯因 硫核黄素S	参看紫光激发
	窄谱带	8	2×KP490, B229 G243	G247/G245	吡啶黄奎那文殊	遗传学 (染色体)
	窄谱带	9	2×KP490 B229 G255	G247/G245	碱芥末	
绿光	宽谱带	10	2×KP560 B424 G247	O263	TRITC (四甲基异硫氰酸盐若丹明)	
	窄谱带	11	2×KP560, B424 G249	O263		免疫学
	窄谱带	12	KP560, B424, B423	O263	若丹明B	微生物学

FLUOVAL2—新型荧光显微镜

Ludwig Otto · Bodo Röhler · Horst Bruch

在最近十年荧光显微术的快速发展对荧光显微镜特性改进不断发生影响。现在很多生物化学反应能通过荧光显微镜及荧光显微镜光度计进行研究及测量。结果，仪器的应用范围大大地扩展了。

我们重新设计的FLUOVAL型显微镜[1]，称为FLUOVAL2型显微镜[图1装有照相机的FLUOVAL2型万能显微镜(略)及图2]，在方法及技术方面遵循以下这些趋向。首先，需要提供新型滤光片及其组合，并以与新技术相适应的方式进行安排。在现代荧光显微术中需要大量滤光片组合。滤光片要适应各种荧光技术的要求。此外，当物体特性或标本制备技术效果允许优先使用入射光路荧光激发时，垂直照明器需要用二向性分光镜。

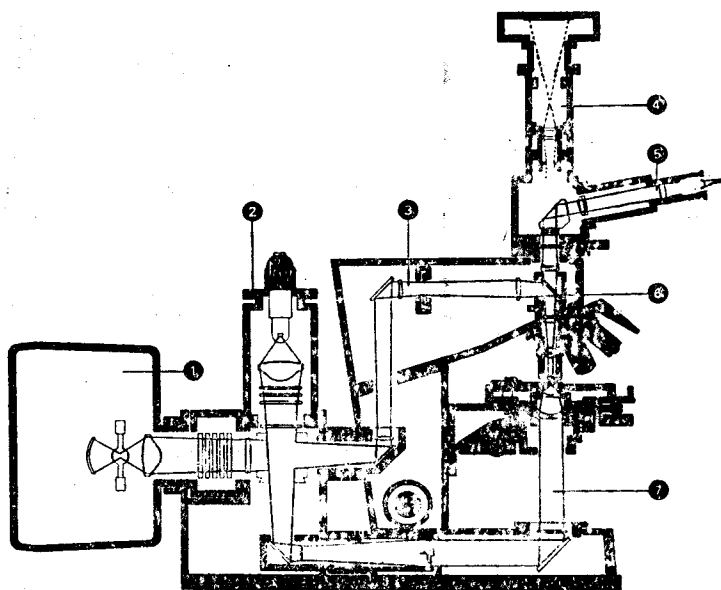


图2 FLUOVAL2型荧光显微镜光路图

1. HBO 202型荧光灯及相应的滤光片盒； 2. 6V/15W灯； 3. 入射光路； 4. 照相系统光路；
5. 光学观察光路； 6. 带有二向性分光镜的a.fl型滑座； 7. 透射光路。

在荧光显微术中，激发光是通过激发滤光片得到的（图3及图6），而通过合适的遏制滤光片进行观察。

在激发区域滤光片有高的透光率（80~95%），在预定的荧光素开始发射区域透光率很快降低至小于0.1%。于是能够利用狭带激发（狭带技术）的优点（图5），从而能阻止不希望有的初级及次级荧光。

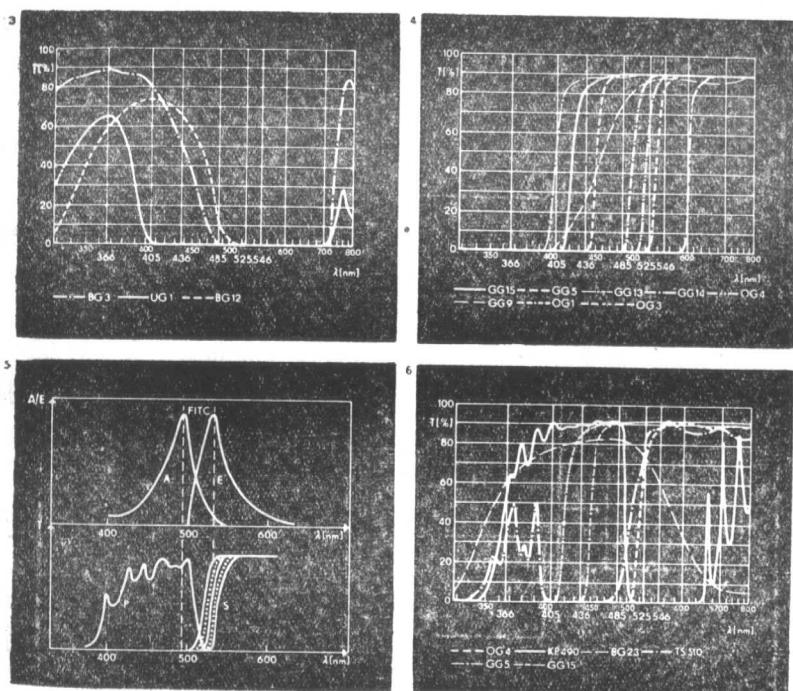


图3 用于宽带激发的荧光激发滤光片
(有色玻璃)的透光率曲线。

图4 用于荧光观察的遏制滤光片以及用于狭带技
术的紫外线防护滤光片的透光率曲线。

图5 最适用于荧光素FITC吸收及发射峰值的初级、激发、次级及遏制滤光片。为了达到最佳可能的衬度考虑了初级及次级滤光片的精确背景点调节。A/E对发射的相对吸收。A吸收。E发射；T透光率。P初级滤光片。S次级滤光片。

图6 FITC滤光片组的透光率曲线，滤光片组包括用于狭带技术的干涉滤光片 KP490 及玻璃滤光片(GG有色玻璃片)。

依据所使用的各种滤光片组合，可区分为宽带，狭带及选择激发。所观察的荧光可由抑制狭带滤光片或某区域的隔离方法来加以限制。过去FLUOVAL配备有色玻璃滤光片用作激发滤光片，具有宽的通光带在激发光遏制区的透过率稍有降低，由于只要求宽带激发，所以叫做宽带技术。

这种激发方法被成功地用于荧光的激发（吸收）及发射峰值宽到足以互相区分的所有场合中的透射及入射光中。宽带激发滤光片提供足够强的荧光激励。借助合适的斜率遏制滤光片可使激发光线排除在光学观察光路外。以这种方式有可能确定激发辐射的峰值及对应于荧光素的荧光颜色。

典型的例子表示在图7（略）上：由一种荧光素吡啶黄素发射出来的荧光来检验核酸。

现有的激发荧光的最佳手段是新研制的可透过短波的金属薄膜滤光片，是随FLUOVAL 2提供的选购件。这些滤光片是中性的，激发峰值与发射峰值相互靠得很近，由于，荧光能够在激发光峰值附近狭窄的区域中被激发出来不受激发光干扰。

入射光激发的成功很大程度上取决于二向性分光镜。分光镜打算与激发滤光片和遏制滤光片组件匹配。在FITC入射光激发中需要用短波能通过的滤光片及两片KP—490滤光片来

防止HBO—202型光源的546nm的强绿色汞线引起荧光图象变亮并转变为绿色。使用一种BG 23/3型附加蓝滤光片使得在视场中不会显现出能通过短波的滤光片的低红光透光率。严格的狭带技术会要求能通过短波的滤光片与玻璃滤光片相组合(图6)。图8(略)给出了狭带激发的例子。

最广泛使用的荧光色素FITC被应用于免疫学、医学科学、生物学及有关领域。图9说明FITC在农业上的应用。

在所有荧光显微镜研究中, W301g型吸热滤光片应放置在朝向光源的滤光片座中以防止损害标本的有机组织和防止红外辐射损伤观察者眼睛。

图11列出滤光片的应用范围。一些滤光片组及其各自应用概括在表1中。

采用新的能通过短波的滤光片系统装置, 现在350至560nm间的整个激发区已能用于荧光显微镜技术。另一种新装置是二向性分光镜。其荧光及光学特性将是下期刊物的课题。

图7用吖啶黄素Feulgen染色法测定白细胞及淋巴细胞中的DNA。(略)

图8被脊髓灰质炎感染的FL细胞及用FITC示踪的FL细胞。(略)

图9荧光显微镜显示花粉管生长在仿Solnum晚香玉型组织中: 苯胺蓝示踪的。(略)

图10带有激发及遏制滤光片组的a.fl型滑座。(略)

有两个重要问题需要解决。首先, 设计光谱特性能适应特定方法的新型滤光片及分光层。其次, 滤光片、分光镜及滤光片/反光镜组合的安排要能适应现场对操作简便的要求, 并尽可能防止由于疏忽插错滤光片。

技术上上述要求可用滑座(a.fl型滑座)来达到。这些滑座装有制造厂安装的或使用者安装的滤光片(图10)(略)

这种方法有几个优点: 观察者可以使入射光激发荧光显微术与其他方法(优先的是明场、相衬、暗场等)相结合, 或者替换地使用两种任何方法。入射光激发及不同光谱区域的另一种选择是替换使用两种或多种荧光素。

二向性分光镜牢固地固定在滑座中。滤光片不固定地放置在座子中, 它很容易通过放松挡嘴来替换。

s.fl型滑座装置是灵活的, 并能立即调好去适应新标本制备技术。改进的滑座装有合适的滤光片及分光镜组件, 或者将新型滤光片提供给使用者以便自行更换。

激发及遏制滤光片分别装在盒内及转盘内。这一点在FLUOVAL显微镜上证明是成功的。入射光路及透射光路中装一组激发滤光片仍然是优点。

荧光显微术的许多现代技术有赖于光源及滤光片组的有目的的组合作用以便得出最佳效果。因此, 如在FLUOVAL显微镜中一样, 照明器是快速变换型。HBO202型高质量荧光灯是作为一种标准组件提供的。它可用XBO150W灯或12V/100W卤素灯来替代。

采用mf显微照相机可进行摄影。为此目的, 新仪器额外配备三管成像共轭镜筒。这种装置设计成通过装有取象框的PK6.3X可调目镜进行双目观察调节时可得到清晰的图象。还有, 这种镜管的观察窗安排成较方便的观察角 10° 。

长期以来就认识到光度计研究对于荧光显微术是一种不可缺少的预备工作。例如, 在眼睛能察觉某些生物现象造成的荧光强度变化之前很久, 光度计就能记录并定量评价其变化[2, 3]。因此FLUOVAL 2型显微镜像它的被替代物一样配有附加的显微镜光度计。于是这种仪器就能转变成一台荧光显微镜光度计[4]。

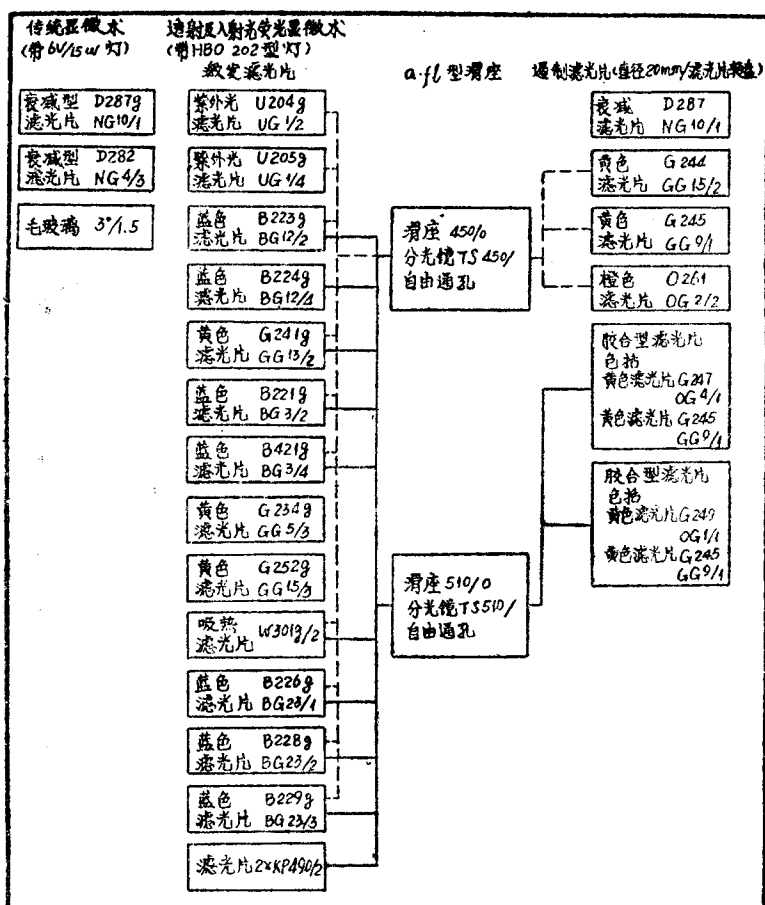


图 11 用于荧光显微镜及传统显微镜的滤光片 (直径 50mm)

表 1:

适合于特定用途的滤光片组合

激发类型	方法	顺序号	激发滤光片	遏制滤光片	荧光素 / 方法	用途
紫外光	宽带	1.	UG1/4	GG15/2	DANS (蔡胺二磺酸)	免疫学
	狭带	2.	UG1/4 及 GG13/2	GG15/2	BAO (双氨基酚) 丹磺酰氯离子 氨基磺黄素 SITS (4-乙酰胺异硫氰酸根络二 苯乙烷 2, 2'-双磺酸) MPS (甲基-绿色焦宁二苯乙烷)	细胞学 血清学
紫光	宽带	3.	BG3/4 及 BG3/2	OG4/1/GG9/1	FIF (甲奎诱导荧光) 吖啶黄素 钨钨因, 硫核黄素 吖啶衍生物	生源膜 核膜 血清学 微生物学, 肺结核诊断及研究
蓝光	宽带	4.	BG12/4	OG4/1/GG9/1	FITC (荧光非异硫氰酸根络)	免疫学, 微生物学
	宽带	5.	2xKP490 及 BG23/3	OG4/1/GG9/1 OG4/1	吖啶衍生物	参照紫光激发
	狭带	6.	5. 及 GG15GG9/1	OG4/1/	钨钨因, 硫核黄素 S, 吖啶黄素	遗传学 (染色体)
	狭带	7.	5. 及 GG5	GG9/1	奎纳克林芥子	

参 考 文 献

- (1) OTTO, L.: The new fluorescence microscope FLUOVAL Jena Review 17 (1972) 2, 72—74.
- (2) KÖRTING, P. H.—J. HINTERSIN and G.—R. VOSS: Fluorometrische Bestimmung der relativen Virusmenge in Zellen, Acta Histochem. 50 (1974) 84—90.
- (3) KÖRTING, P. H.—J. HINTERSIN and G.—R. VOSS: Estimation of the relative amount of antigen in cells, using the FLUOVAL Photometric Fluorescence Microscope Photometer, Jena Review 19 (1974) 4, 212—215.
- (4) BÖRNER, G.: The Jena—made Fluorescence Microscope Photometer FLUOVAL photometric, Jena Review 19 (1974) 4, 211.

译自Jena Review 4/1978 PP170—176

阮银藩译 徐宁曾校

(上接第2页)

一个6V/5W的灯泡安装在底座内部。它的亮度可以无级调节,可供观察者用于明场、暗场和相衬的透射光技术。所有的技术可同反射荧光交替使用或同时使用。所有这些照明装置都是遵照柯勒照明原理制造的。

HBO 50型激发光源已被证明最适用于常规检验,並作为标准件提供给用户。必要时它可快速换用12V/100W卤素灯(用扭转锁紧接头)。仪器配有显微摄影装置用来照相。

这台仪器所用的技术原理加上适应性强的全套滤光镜系统。使LABOVAL 2af型显微镜成为现代的荧光常规诊断的重要工具。有名的例子标有FITC, TRITC, FIF和SITS字样。在表2中有更多的实例。

由于具备上述这些特点,本仪器可用于生物学和医学中的免疫学方面,以及细胞学、血清学、遗传学、神经生理学等各种不同的研究工作。

参 考 文 献

- (1) PLOEM, J. S. Z. Wiss. Mikroskopie 68 (1967) 129—142.
 - (2) OTTO, L., B. RÖHLER and H. BRUCH: Jena Review 23 (1978) 4, 170—176.
 - (3) MARUWEIT, HANDWERGER and DOUGLAS: J. Immunol. Method 15 (1977) 239—245.
- 图2a—2c、图4、图5和图6全部略。

译自Jena Review 4/1979 P. 160—163

徐德培译 徐宁曾校

观测低折射率物质的光学显微镜

Jeffrey Ira Siegel

显微镜的成象质量取决于待测物体表面反射光的多少。对反射率低的物质如塑料，煤或陶瓷制品等，利用一个消反射系统可大大提高成象的质量，增强对比度。

用入射光显微镜观测试样时，其成象质量与样品表面反射的照明光同光学系统的反射光之比有关。在观测非金属或绝缘材料等低折射率物质时，这个比值尤其重要。

当光垂直照射到折射率分别为 n_1 和 n_2 ($n_1 > n_2$) 的两种介质分界面上时，其反射率的百分比由下式表示：

$$\left[(n_1 - n_2) / (n_1 + n_2) \right]^2 \times 100$$

由此可得，对折射率为1.5的玻璃，在每个玻璃与空气交界面上的反射率为4%。

该结论不论是对试样还是对显微镜系统的光学元件都是正确的。在一台显微镜中有许多这样的玻璃和空气的交界面。如果制造厂不采取预防措施，这些4%的反射率累加起来能达到原来光源强度的50%或更高。

因此显微镜中的光学元件都要镀膜，通常还要镀多层膜，以减小在这些交界面上的反射比。当镜片面对光源的一面镀膜以后，入射光在膜层上面以及膜层和玻璃的交界面上都要发生反射。

如选择膜厚正好为 $\lambda/4$ (λ 为入射光特定的波长)，这样从两个交界面上反射的光的位相差为 $\lambda/2$ 。如果再能选择膜层的折光率 $n_{\text{膜}}$ ，使 $n_{\text{膜}} = \sqrt{n_{\text{玻璃}}}$ ，这时两交界面上反射光的量也正好相等。

满足上述条件的光（波长为 λ ），由于干涉相消，其反射率为零。同时波长接近 λ 的光，其反射率也相应减小。

采用附加的膜层也可以消除其他波长光的反射。这样处理的结果，反射光中波长 λ 的光从光谱中消除了，膜层显得带有与它消除的光互补的颜色。

作为波长的函数的反射率曲线表明任何透镜适当镀膜以后，可使每个空气—玻璃交界面的反射率损失降到1%以下。

但是高级光学系统都是由大量镜片组成的，以便达到齐明（消球差）和复消色差（对两种色光或更多种色光同时消球差和色差）的目的。

这些系统内部的总反射率有可能接近于某些固有反射率较低的试样的反射率。这时最后的象就会变模糊。

一般地说，当试样的反射率低于10%时，如观察者仍然采用入射光照明试样表面来进行显微观测，就会出现一些特殊的问题。如观察煤、陶瓷、塑料、许多生物试样和其他物质等。

为解决上述问题，可以采用抗反射系统。实际上，抗反射系统是利用加到显微镜中的一个起偏振镜，一个检偏振镜和一个位置合适可以转动的 $\lambda/4$ 波长片（由双折射晶体做成）来达到消除内反射的目的（结构见附图）。

起偏振镜放在物镜前方的光路中。这种结构使物镜表面透射的和反射的光变成线性偏振

光。

附图及说明:

内反射可通过镜头镀膜来控制。上图分别给出了未镀膜、镀单层膜和镀多层膜的镜片表面的反射率。

中图说明双折射晶体把线性偏振光分解成振动方向互相垂直的两个分量。

左下图简要给出了物镜后部镜片表面的反射光线的路径。右下图表示理想状况下成像偏振光的振动方向。在该结构中,偏振光波平行于检偏振镜。因此可以无损失地通过检偏振镜。

检偏振镜放在观测系统(双筒观察镜、TV或摄影系统)的前方,其偏振方向与起偏振镜的成 90° 角。由镜面反射的光保持其偏振方向即与检偏振镜的偏振方向成 90° 角。不能透过检偏振镜。于是观测物象时预先就消除了这部分反射光。

透过物镜的入射光通过位于物镜前镜之前的 $\lambda/4$ 双折射晶体。双折射晶体将线性偏振光分解成互相垂直的两部分。

转动双折射晶体到适当的位置,使两个互相垂直的分量强度相等。用 $\lambda/4$ 的(双折射)晶体使一个分量与另一个分量的位相差正好是 $\lambda/4$ 。

光射到试样上时,一部分散射掉,另一部分反射回物镜孔中。当光线再次通过 $\lambda/4$ 晶体时,两列波的位相差增加到 $\lambda/2$ 。从而导致合成的重新组合的光的方向旋转 90° 角。

这时偏振光的偏振方向与检偏振镜的偏振方向平行。可以毫无损失地透过检偏振镜。由它所成的象既清晰,衬度又高。

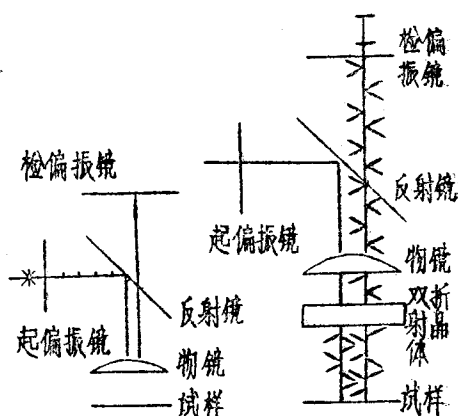
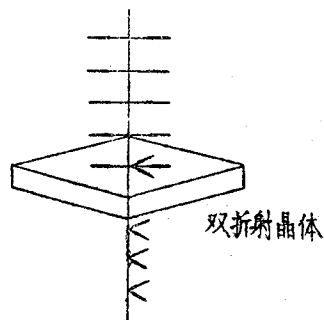
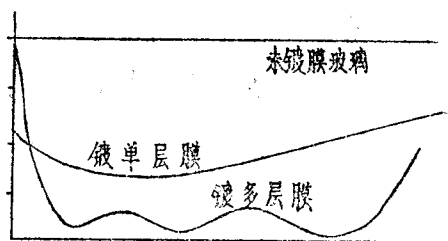
这种技术也可用在反射相衬显微术中。它是在1967年由J.S. Ploem博士首先提出的。反射相衬技术用来研究玻璃基片(通常为盖玻片)上细胞的生长情况。细胞壁和基片之间的距离决定了光的干涉是相长(出现亮区)还是相消(出现暗区)。

通过对干涉环图形的研究,研究人员就可以对细胞和基片之间的附着特性进行分析。但困难的是,在该系统中,细胞的折射率接近于基片的折射率,这种情况造成反射率很低。

这样直接观测反射光成象,其衬度一般都比较低。因此,早期许多改善反射相衬成象的工作都是由抗反射物镜来完成的。

近几年来,这种抗反射物镜已应用到新兴的工业部门和生物医学部门。它在岩相学(岩

(下转第12页)



一种新型的双体显微镜

—观察三维立体像和作比较观察

P. R. Seymour

为满足在可变的放大率下观察立体透明照片，并区分外形相似的物体的双重需要，产生了双体显微镜的设想。

1. 仪器的结构

该仪器的主要部分是两台Kyowa型单筒显微镜，配有10倍目镜和0.7倍至4.5倍的变焦距物镜，每只目镜和变焦距物镜都能单独操作。两台显微镜装在一个底盘上。左边的显微镜固定在底盘上，右边的显微镜可以沿水平导槽移动，以便能根据操作者两眼距离的不同进行调节。从左边或右边调节齿轮齿条系统使显微镜聚焦。整个双头部件装在立柱上并可绕其转动。立柱再由支承接头联接到长臂支架上。长臂和重型支架使光学部件下有足够的工作空间。

双体显微镜提供了两个独立的视场，每只眼睛看一个。将两张透明照片放在简单的照明平台上，每个视场放一张。仔细调节两张透明照片，使两个像重合。重迭的像就是非常逼真的三维像。若使两张照片分别放在两个视场中，靠拢但不使图像重迭，即可进行比较观测。

2. 仪器的应用

该仪器最早是用来帮助鉴别害虫。如观察毛虫以及其他幼虫的立体透明照片，比较苍蝇的翅膀等。

现在还没有找到一种完全满意的方法来保存软体幼虫，使其特征能象活着时那样。试样的冷冻干燥和彩色照相是两种较好的方法，最好的冷冻干燥样品虽然不错，但样品的毛变得非常脆弱，很难保存下来，其他一些重要特征也极易受损。更不能令人满意的是，这种方法对某些样品经常造成一些无法预料的破坏和颜色变化。彩色照相虽能再现样品的外貌，但它只能提供一个平面的受限制的像。立体透明照片除提供三维像外，还有其他优点。它有较大的视场深度，有很好的分辨率，此外还能观测到用上述两种方法无法观测到的物体的精细结构。立体透明照片还给出较好的弯曲物体表面的距离感。为了得到最佳效果，拍照时要使用慢速、微粒胶卷。加灰色和有色的滤色片反复试拍来调节色平衡，再分别对刚杀死的幼虫的背面和侧面进行拍照，两次拍照的部位应稍有倾斜。以便重迭观察。为了使幼虫体以近似自然的姿态保存下来，所要遵循的程序已有过叙述^[1]，在此不再重复。

苍蝇的翅膀为其鉴别提供了某些线索。苍蝇的翅膀由交叉连接的翅脉支撑的薄膜组成。翅脉的排列方式就是苍蝇种类的特征，同时还反映了不同种群之间的关系。但翅膀的大小是不同的，不但不同种类的苍蝇的翅膀如此，即使是同一种类的也是如此。双体显微镜的最大优点就是通过连续变倍物镜的独立调节，可以并列观察同样大小的两个翅膀的像，使观察者能迅速看出翅脉交叉形状的差异。

该仪器在上述两个生物学领域所引起的作用,显示了该仪器的一些独到之处。我们希望其他领域的读者能扩展其应用范围。

参 考 文 献

[1] Seymour, P.R. (1981) Entomologist's Gaz. 32, 4.

译自: LABORATORY PRACTICE September 1981 PP. 878—879 黄银生译 徐宁曾校

(上接第10页)

石研究)、地质学以及矿物学等方面的应用范围也正在扩大。科技人员需要观察低折射率材料时对这些补偿物镜的需求都在继续增加。

(照片三张略)

译自INDUSTRIAL RESEARCH & DEVELOPMENT—June 1981 PP106—108

黄银生译 徐宁曾校

白光干涉测量显微镜

H · J CAULFIELD

Vienot等人对使用白光干涉测量法分两步取得显微镜深度变换作了介绍。该过程使用全息干涉测量作为显示装置,以单一的几乎是瞬息即成的方式完成。

这里我们将介绍一种全新的显微镜。这种新型显微镜主要按照Vienot等人最近介绍的白光干涉测量方法设计而成,可以称之为白光干涉测量显微镜WHIM。本篇文章中,我们将介绍白光干涉测量显微镜WHIM怎样工作。

这种显微镜的目的是以二维的方式(称之为 u 和 v)记录下一个小的三维物体的精确图像。我们称显微镜的光学轴为 Z ,两个正交座标为 x 和 y 。令物体表面为 $S(x, y, z)$ 。普通光学显微镜变换:

$$m_x \rightarrow u \text{ 和 } m_y \rightarrow v$$

式中 m 为放大率,我们看到的是

$$S_{z1\Delta_z}(u, v) \approx \int_{z-\Delta_z/2}^{z+\Delta_z/2} S(u/m, v/m, Z) dz \quad (1)$$

式中, Δ_z 为焦深

实际上,我们得到的焦点数为 N 的透镜横向分辨率大约为

$$\Delta_x = \Delta_y \approx 2.44N\lambda \quad (2)$$

式中, λ 是使用的波长,焦深为

$$\Delta_z \approx 5N^2\lambda \quad (3)$$

(由分辨率、焦深的定义和透镜象差决定)。使用白光干涉测量显微镜WHIM,我们变换

$$m_1 x \rightarrow u, \quad (4a)$$

$$m_2 z \rightarrow v, \quad (4b)$$

式中, m_1 和 m_2 为单独变化的放大率。我们看到的是:

$$S_{y, \Delta_y} \approx \int_{y-\Delta_y/2}^{y+\Delta_y/2} S(u/m_1, y, v/m_2) dy \quad (5)$$

式中 Δ_y 是一个可以选择的、与 m_1 和 m_2 无关的自由变量。这样,白光干涉测量显微镜进行微观工作,它的激光立体测量仪[3, 4]则进行宏观工作。实际上,白光干涉测量显微镜WHIM概念的含义是光谱范围的工作(例如白光干涉测量)与瞬时范围的工作(激光立体测量)所作的最新比较。

白光干涉测量显微镜WHIM是白光干涉测量学[1, 2]与全息摄影光谱学[6, 7]的简单结合。Vienot等人[1, 2]已将白光干涉测量法用于显微术,但是需要将特殊装置中相干光束所照明的 $u(=m_1 x)$ 对 σ (特殊波数)的半透明“瞬息全息图”记录下来,在 σ 方向进行傅里叶转换,而在 x 方向成象。他们还使用傅里叶转换光谱仪作显示装置[1]。参考平面

的深度变化 Δz 导致光谱波数变化

$$\Delta \sigma = \frac{1}{(2\Delta z)}$$

(6)

白光干涉测量显微镜直接进行傅里叶转换，不需要中间记录。

按照Vienot等人的观点[1, 2]设计而成的显微镜如图1所示。“白色的”光源LS[波

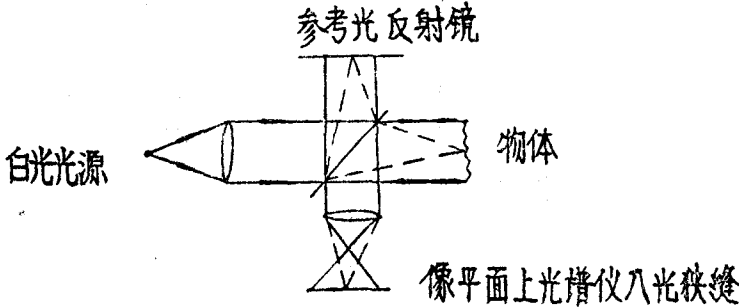


图1 基于Vienot等人[1, 2]设想的白光干涉测量显微镜。被测试物体成像于光谱仪狭缝上，狭缝选择该图象部分作光谱分析。

数扩展大于 $1/(\alpha\Delta z_0)$ ，式中 Δz_0 是要分辨的最小深度变化)用透镜L1校准。这种准直光束用分光器BS分离开。一部分光被引向物体O，另一部分光被引向参考镜RM。来自两个方向的组合光束被透镜L2会聚，进入光谱仪S的狭缝。光谱仪使光谱色散得出O，它是x的函数(x表示狭缝方向)。y值由狭缝截取物体O的图象部分决定。 Δy 值由狭缝宽度决定。

这里提出的改革是用全息照相光谱仪[6, 7]代替色散光谱仪。全息照相光谱仪将一束光分为两部分，然后以一定角度重新组合，形成干涉图。容易看出，这样形成的干涉图是输入 σ 分佈[6, 7]的傅里叶变换的空间显示。但是输入 σ 分佈是白光干涉测量仪[1, 2]中光程差的傅里叶变换。然而，因为参考反光镜RM是平的，光程差随x变化完全是由于物体O中相应的Z的变化而引起的。这样，干涉图是 m_1x 对 m_2z 的显示。狭缝的像必须聚焦在像平面上，其方向垂直于图2的平面。为简单起见，柱面透镜从图2上省去。Z放大率容易计算。

波数差 $\Delta\sigma$ 产生最终象平面上的间距 Δv ，由下式得出

$$\Delta v = \frac{1}{2\Delta\sigma \sin\theta} \quad (7)$$

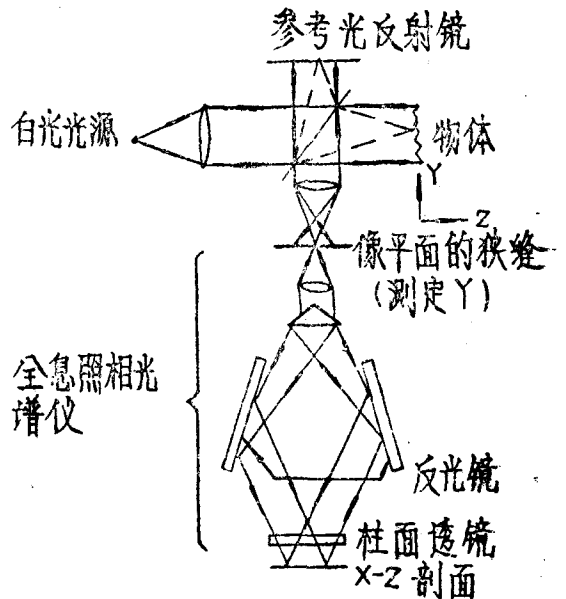


图2 直接读出白光干涉测量显微镜

(下转第17页)