



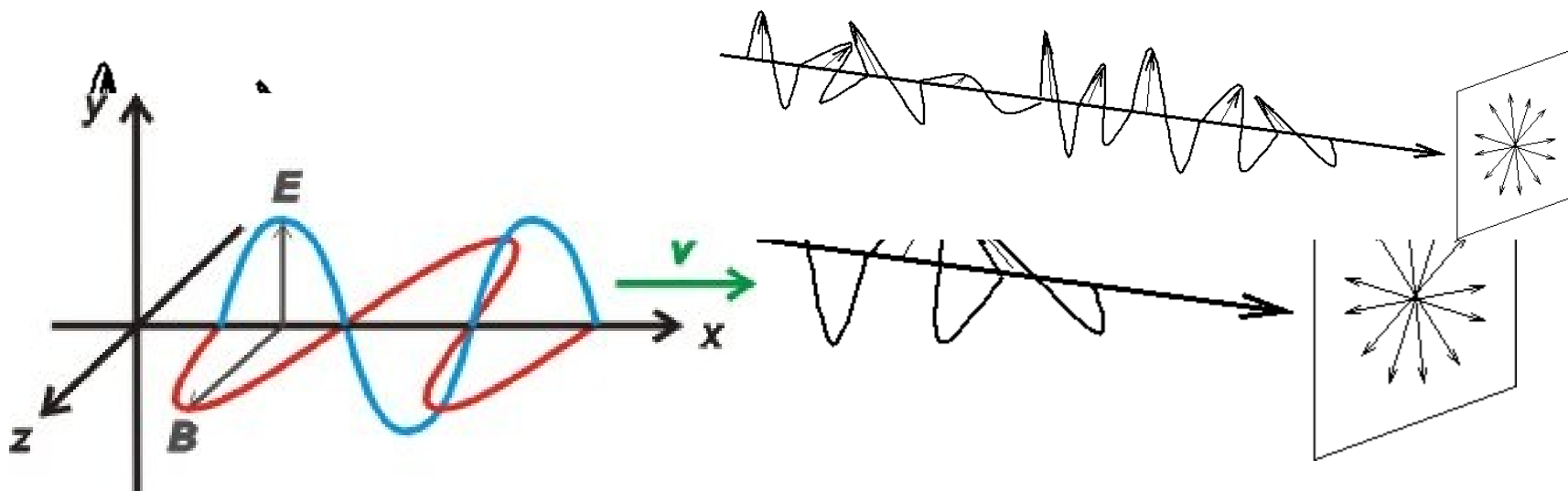
3.

# Diferenciální interferenční kontrast (DIC)

Podzim 2014

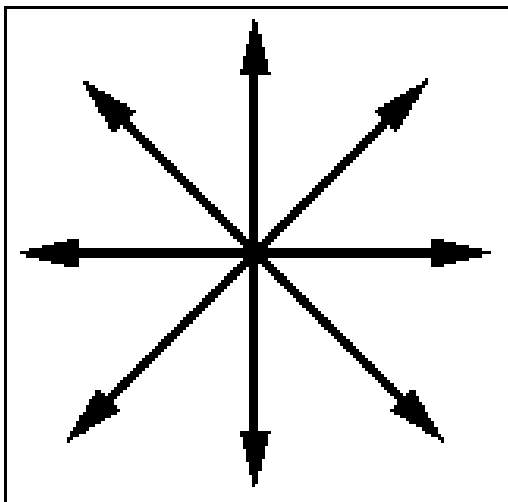
# Teorie - polarizace světla

- světlo patří mezi elektromagnetická vlnění
- dvě složky: elektrickou a magnetickou
- obě složky jsou na sebe navzájem kolmé a ještě navíc jsou obě kolmé na směr šíření světla → světlo je příčné elektromagnetické vlnění

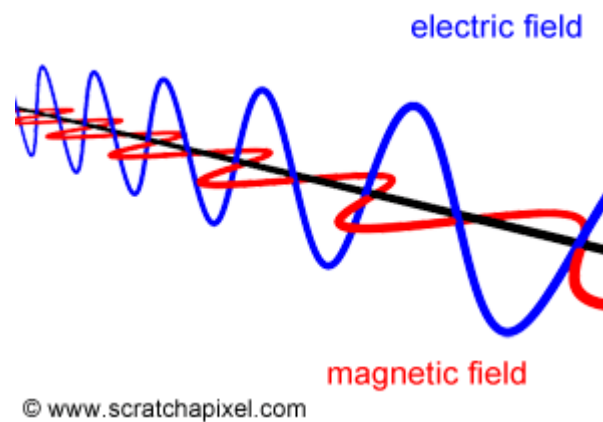


# Nepolarizované světlo

- obecně platí, že vektor intenzity elektrického pole může kmitat v libovolné kmitové rovině,
- může svírat s kladným směrem osy  $y$  libovolný úhel od  $0^\circ$  do  $360^\circ$  = **světlo nepolarizované**

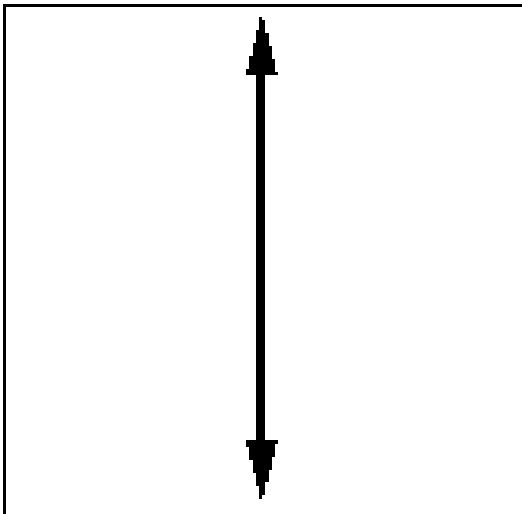


vlny kmitají všemi směry



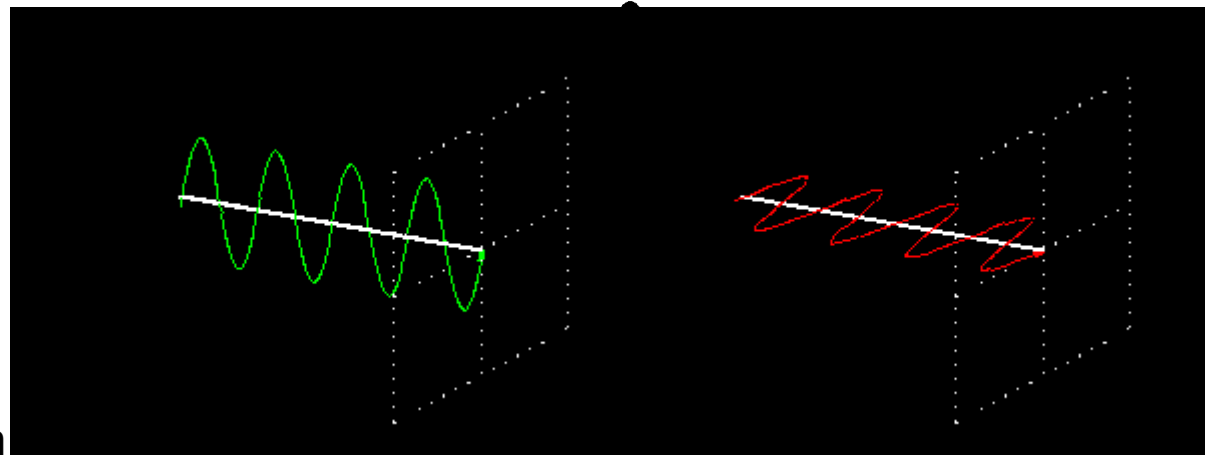
# Lineárně polarizované světlo

- z vln, které kmitají (víceméně) jen v jednom směru
- elektrická složka kmitá v jednom směru
- magnetická složka kmitá vždy ve směru kolmém



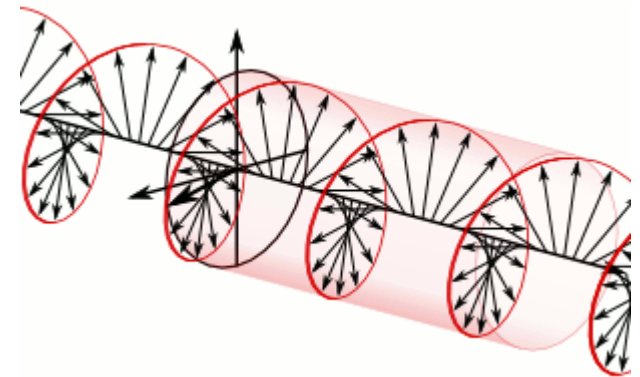
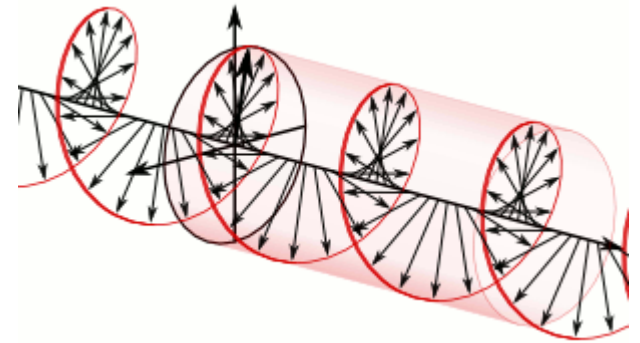
vlny kmitají jedním směrem

Vertikální a horizontální polarizace

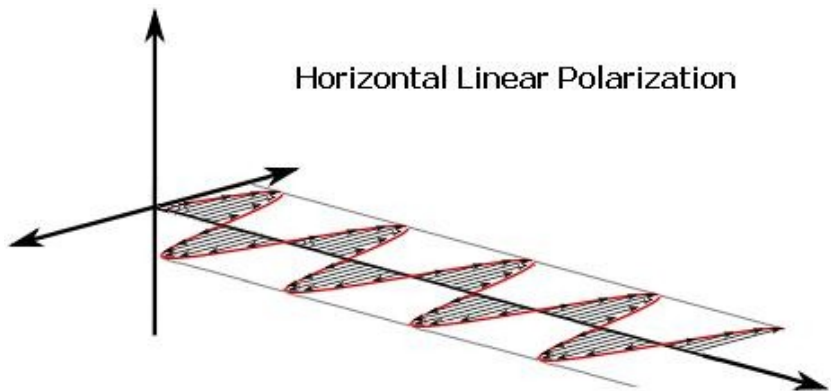


# Cirkulární polarizace

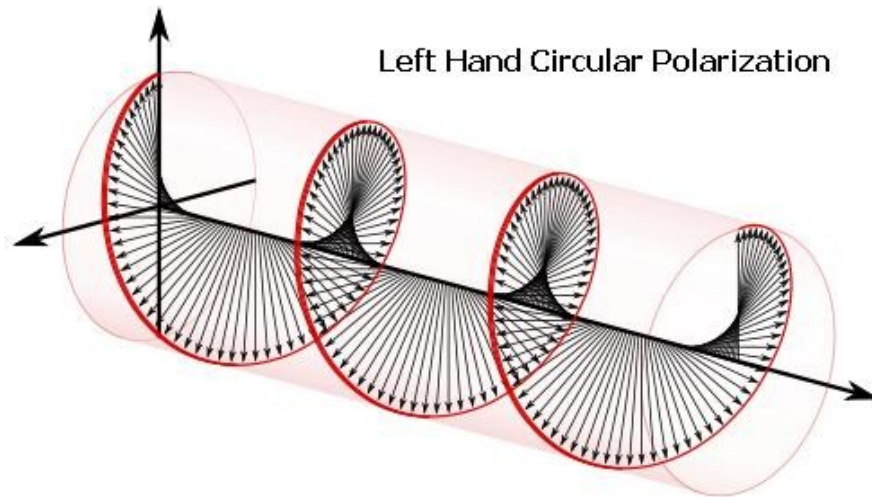
- Pravotočivá
- Levotočivá
  
- Cirkul. polar. filtr: mění světlo lineárně polarizované (vlny kmitající v jednom směru) na světlo kruhově (cirkulárně) polarizované
  
- (eliptická p.)



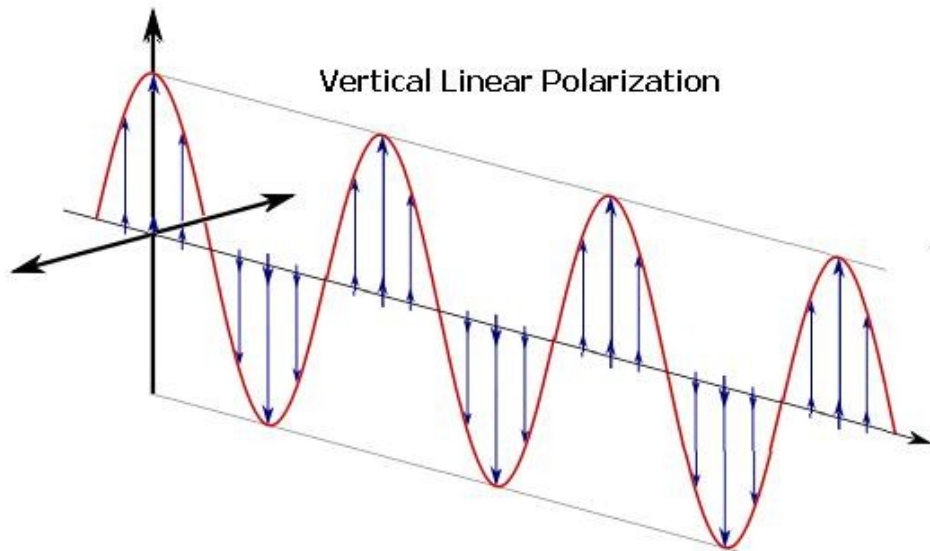
Horizontal Linear Polarization



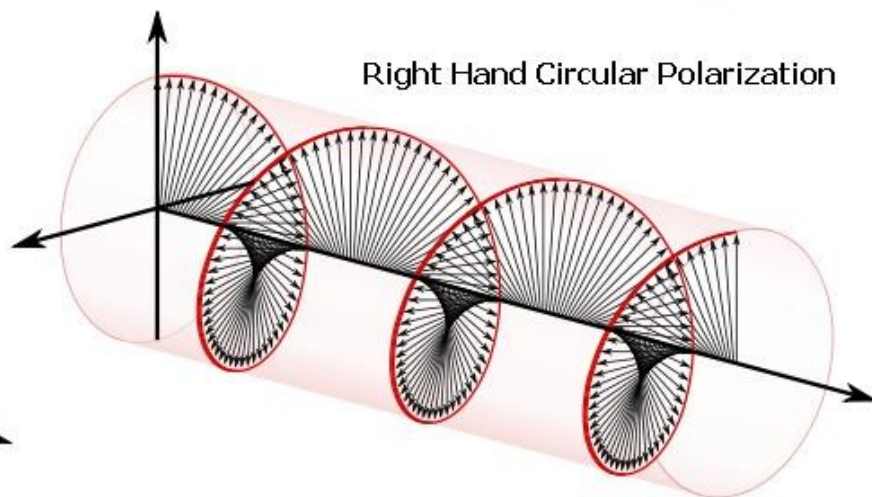
Left Hand Circular Polarization



Vertical Linear Polarization



Right Hand Circular Polarization

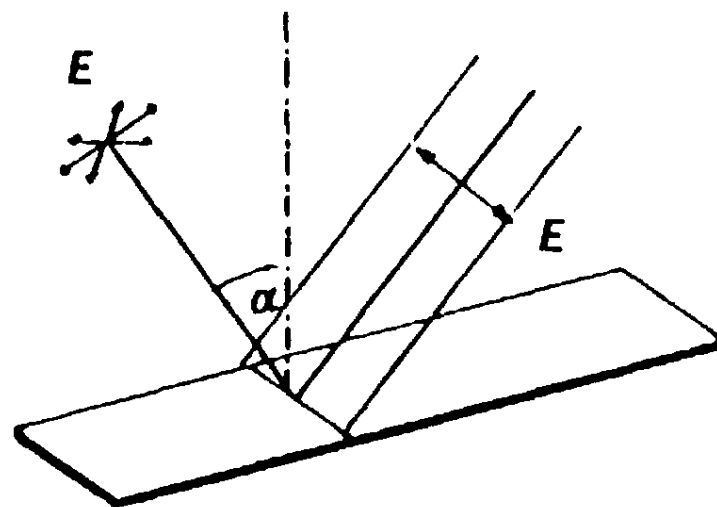
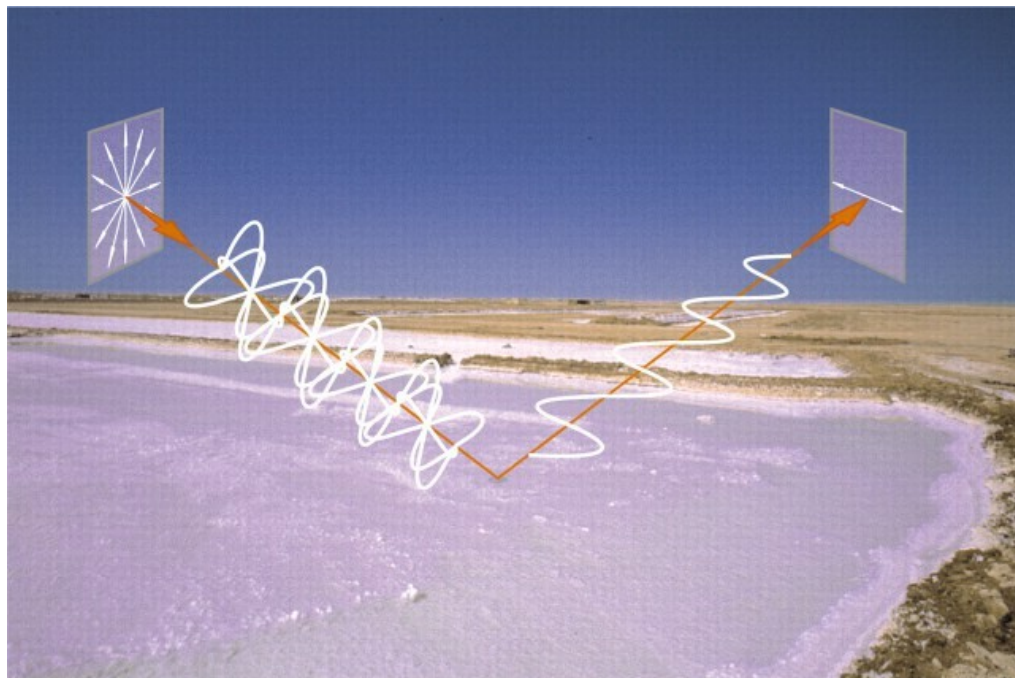


# Způsoby polarizace světla

- **odrazem světla** od nekovového lesklého povrchu (stupeň polarizace závisí na úhlu dopadu)
- **lomem světla** (při dopadu světla na rozhraní dvou prostředí se světlo láme a šíří se do druhého prostředí, dochází k částečné polarizaci),  
**dvojlomem** (tzv. anizotropních látkách – islandský vápenec, křemen, látkách krystalizujících v soustavě čtverečné, kosočtverečné, šesterečné, jednoklonné a trojklonné)
- **rozptylem světla** nárazem o částice
- pomocí tzv. **polaroidů** (polarizujícím materiálem)

# polarizace světla odrazem

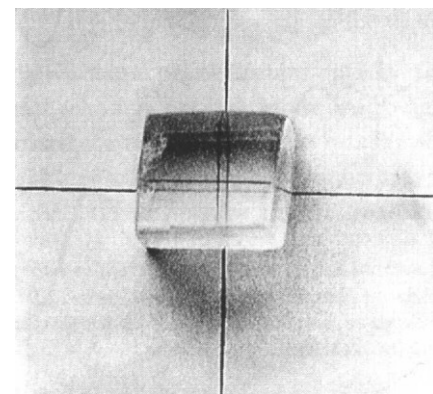
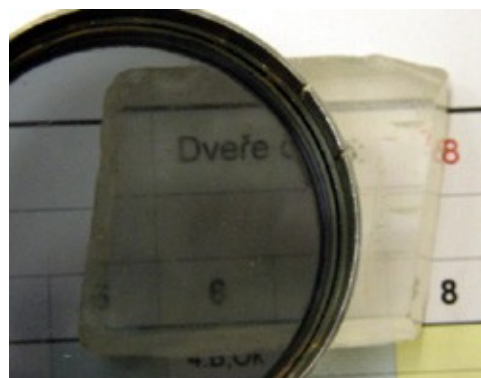
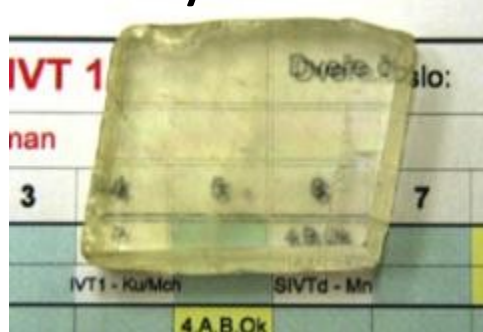
- od nekovového lesklého povrchu (stupeň polarizace závisí na úhlu dopadu)





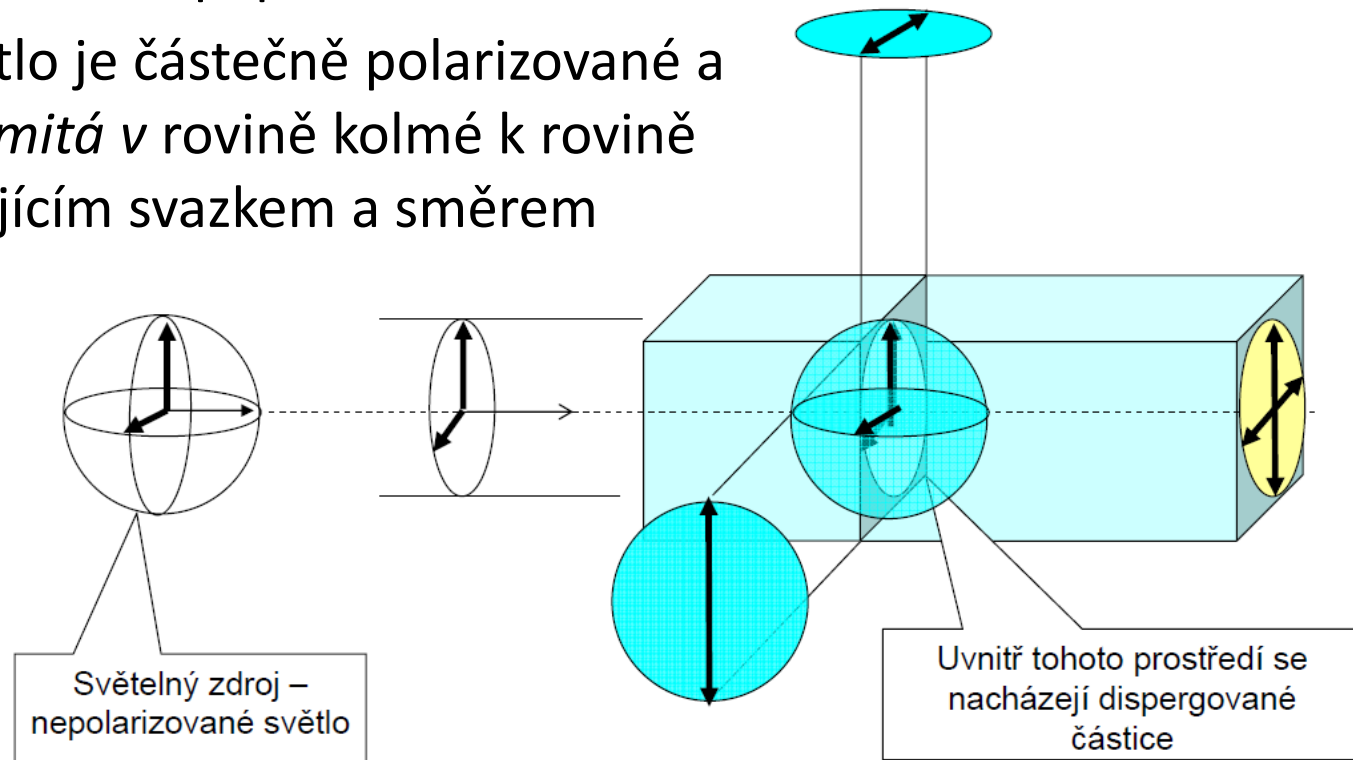
# polarizace světla dvojlomem

- tzv. anizotropní látky – islandský vápenec, křemen, látky krystalizujících v soustavě čtverečné, kosočtverečné, šesterečné, jednoklonné a trojklonné
- Dopadá-li na takovou látku nepolarizované světlo, rozdělí se při průchodu na dva paprsky – **řádny** (konstantní index lomu) a **mimořádný** (index lomu závisí na směru, v němž se světlo krystalem šíří).
- Říkáme, že nastal **dvojlom**.
- Oba paprsky jsou úplně lineárně polarizované a jejich intenzity elektrického pole kmitají v navzájem kolmých kmitových rovinách



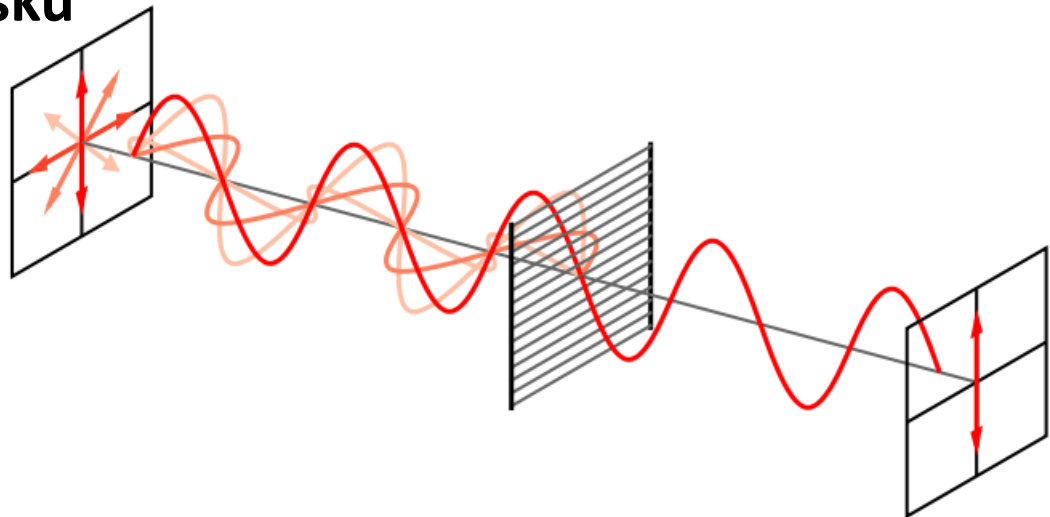
# Polarizace rozptylem světla nárazem o částice

- Polarizace světla nastává i při jeho rozptylu.
- Jedná se o řadu jevů vyvolaných jednak odrazem světla, jednak jeho ohybem.
- Při průchodu zkaleným prostředím se světlo **na malých částech ohýbá i rozptyluje**. Tím se stává cesta světelného paprsku viditelná.
- Rozptýlené světlo je částečně polarizované a jeho vektor  $E$  *kmitá* v rovině kolmé k rovině určené dopadajícím svazkem a směrem pozorování.



# polarizace světla polaroidy

- **polaroid** (nebo polarizační filtr) je speciálně vyrobený filtr pro získávání polarizovaného světla.
- dvě vrstvy průhledného plastu, mezi nimiž se nachází látka s relativně dlouhými molekulami (např. herapatit = periodid síranu chininového), které jsou při výrobě speciálně srovnány tak, aby jejich podlouhlé osy byly rovnoběžné
- látka vykazuje dvojlom; různě polarizované vlny se v ní různě absorbují; při vhodném uspořádání **vychází jen polarizované světlo mimořádného paprsku**



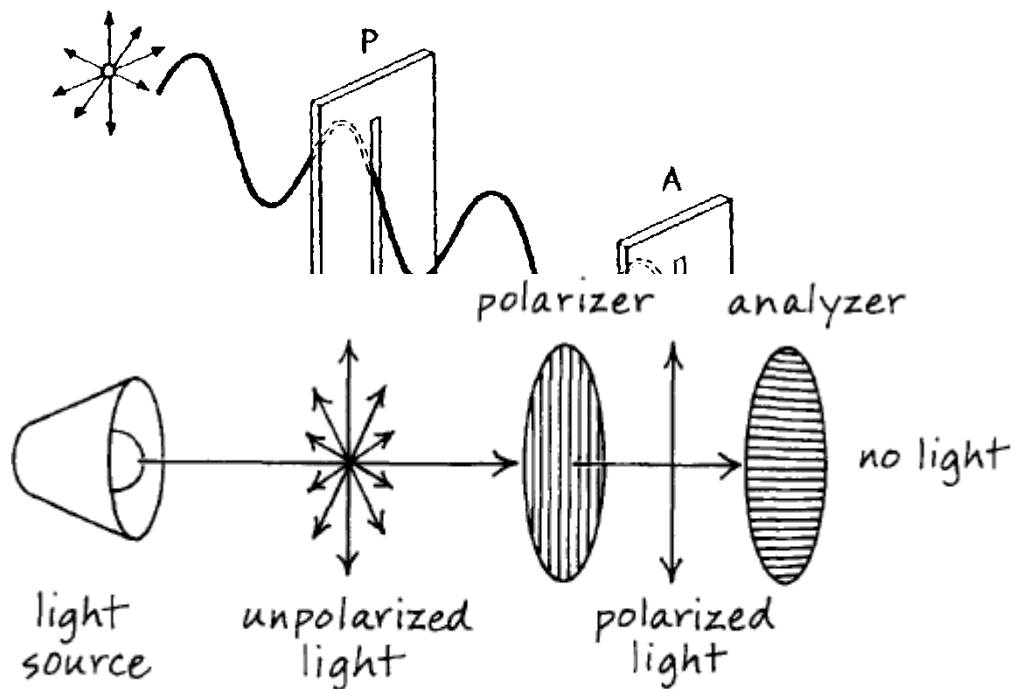


Figure 24.3

P - polarizátor - propouští pouze světlo kmitající v rovině štěrbině (lineárně polarizované)  
 A - analyzátor - ovlivňuje množství polarizovaného světla, pokud jsou štěrbině P a A navzájem kolmé, světlo neprochází a analyzátor se jeví jako temný

Zařízení, kterým se přirozené světlo mění na polarizované, se nazývá **polarizátor**. Jeho funkci ověříme **analyzátozem** - vložíme za polarizátor ještě jeden a při určitém natočení by světlo nemělo procházet.

# Využití polarizačních filtrů

- **snížení intenzity světla** (např. polarizační filtry na fotoaparát při fotografování sněhu nebo výloh = odlesky, polarizační brýle - motoristům tlumí odrazy od vozovky) + lcd displeje

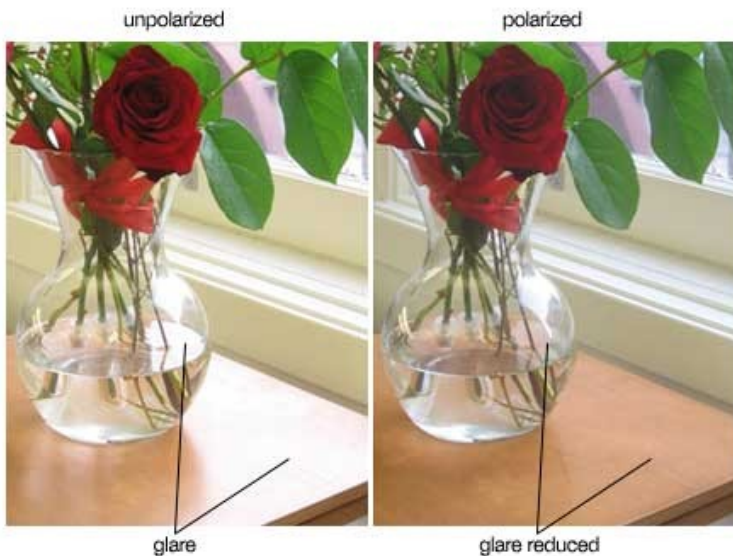
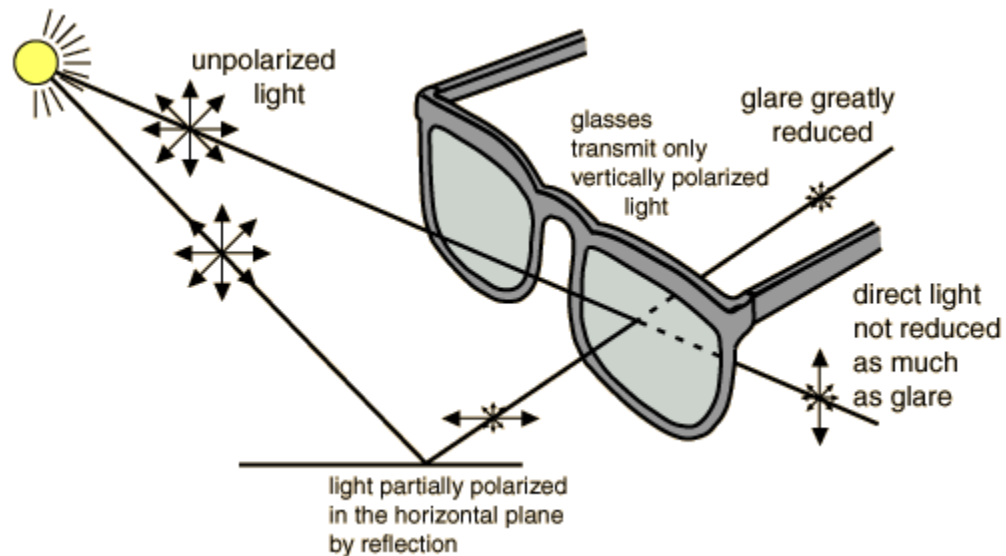




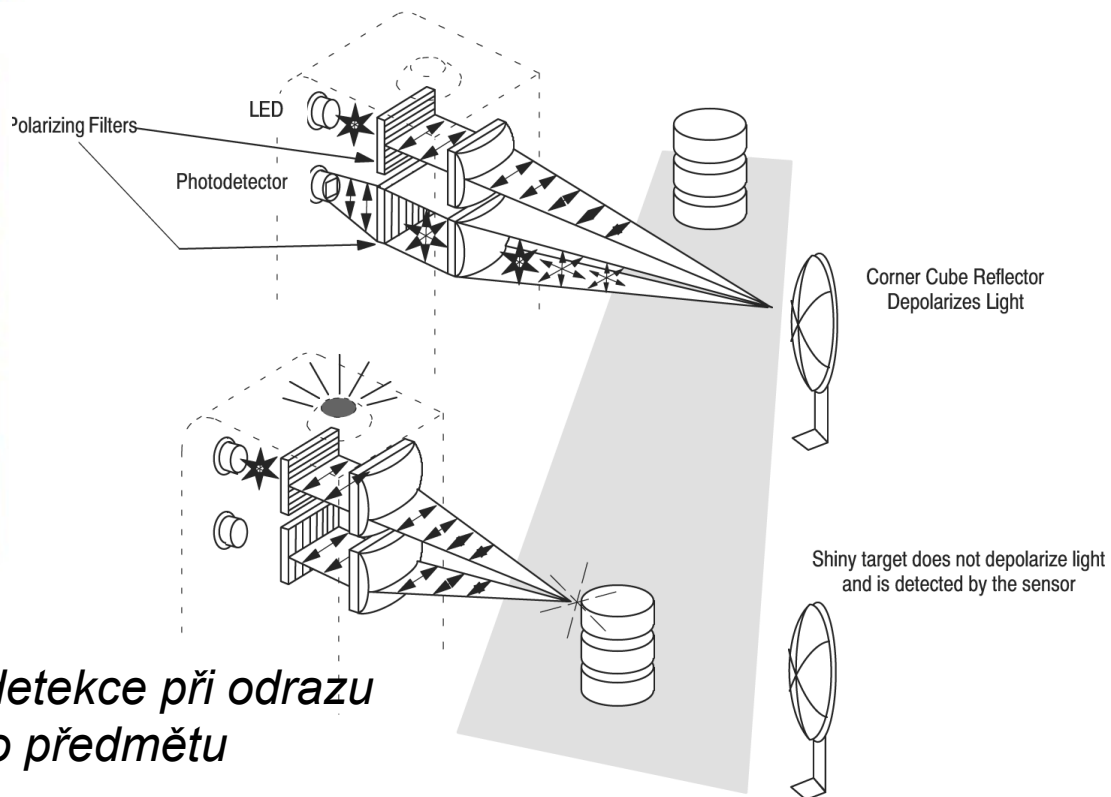
Obr.6 Pohled z automobilu bez polarizačních brýlí [13]



Obr.7 Pohled z automobilu brýlemi [13]



© 2006 Encyclopædia Britannica, Inc.



*zabránění falešné detekce při odrazu paprsku od lesklého předmětu*

# Využití polarizovaného světla v přírodě

- Někteří živočichové jsou schopni pozorovat polarizaci slunečního světla
- Polarizace slunečního světla procházejícího atmosférou je lineární a vždy kolmá ke směru, kde je slunce
- Světlo, které se po rozptylu šíří stejným nebo přesně opačným směrem, není polarizované
- Mnoho živočichů využívá tohoto jevu pro navigaci.
- Holubi, hmyz



- Jiné příklady:  
[http://www.schillerinstitute.org/educ/sci\\_space/2011/polarization\\_sensitivity.html](http://www.schillerinstitute.org/educ/sci_space/2011/polarization_sensitivity.html) (cephalopoda, shrimps, fish)



CHIOU, T., KLEINLOGEL, S., CRONIN, T., CALDWELL, R., LOEFFLER, B., SIDDIQI, A., GOLDIZEN, A., MARSHALL, J. (2008). Circular Polarization Vision in a Stomatopod Crustacean. *Current Biology* DOI:[10.1016/j.cub.2008.02.066](https://doi.org/10.1016/j.cub.2008.02.066).



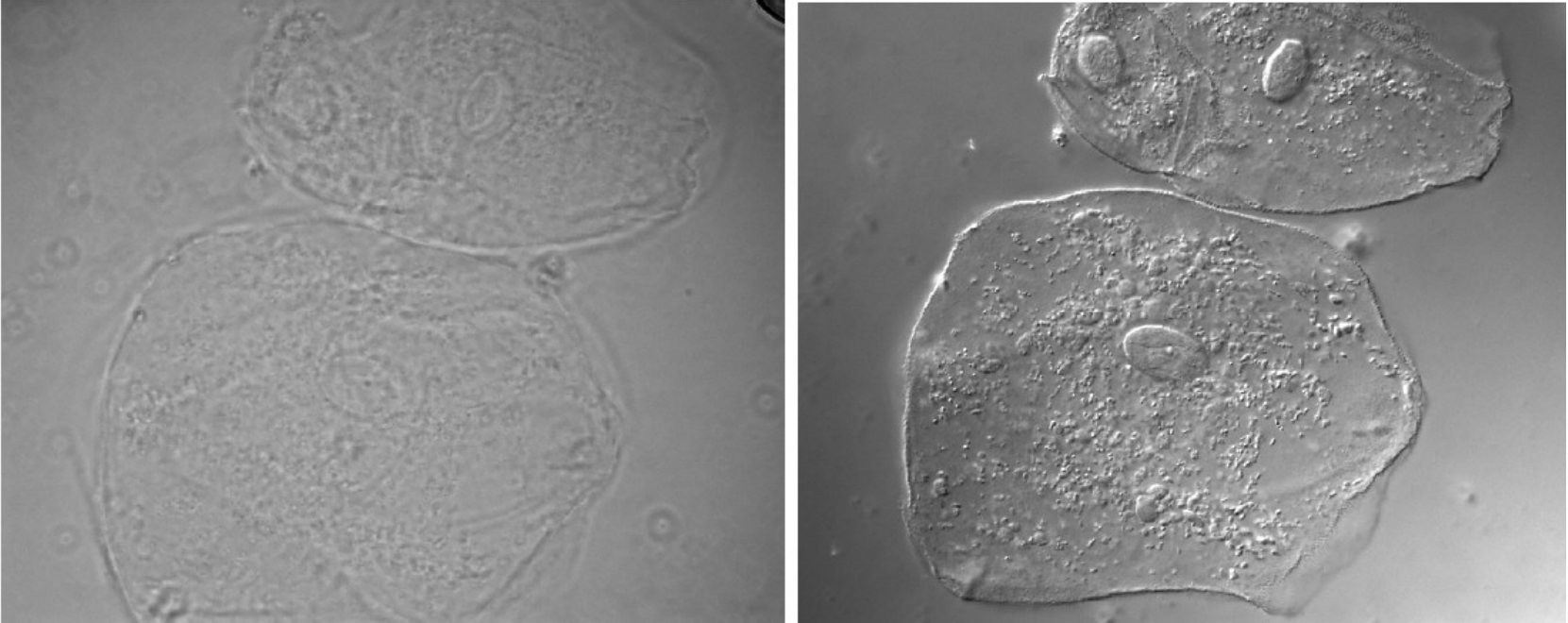
Milius, Susan (2003). "[Moonlighting: Beetles navigate by lunar polarity](#)". *Science News* 164(1):4.



*Scarabaeus zambesianus* prý umí pracovat s polarizovaným měsíčním světlem a díky tomu se dokáže orientovat i v noci. (Kredit: Lund University, dept. Of biology)

# Srovnání BF a DIC

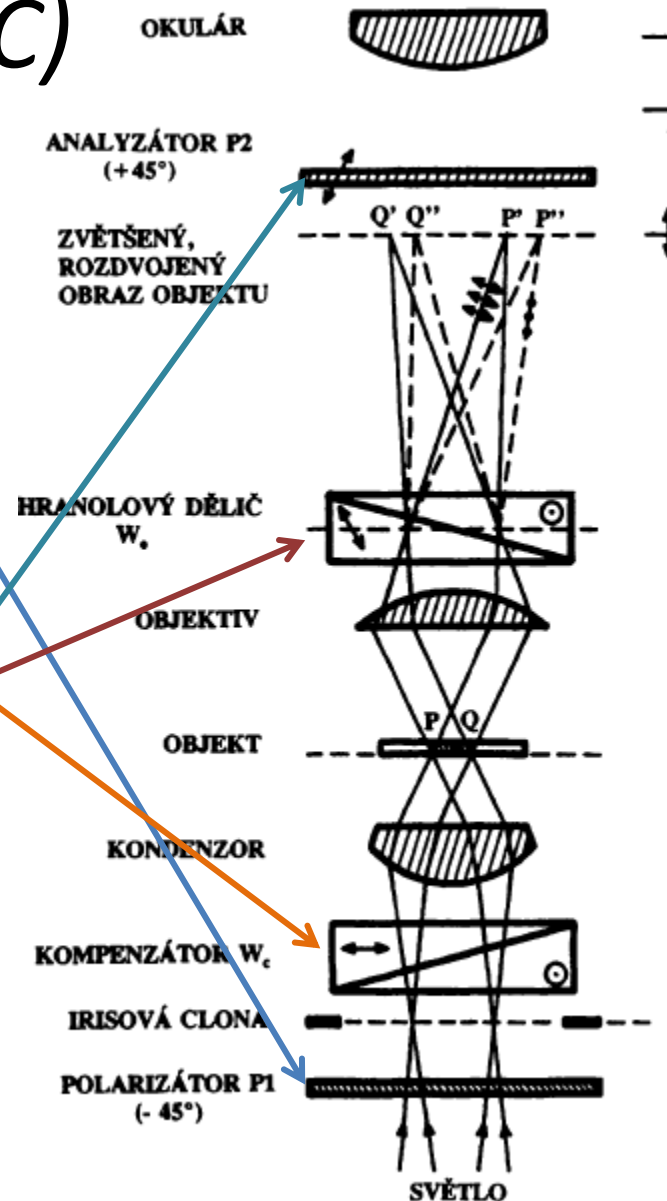
- Lidské bukové epitelální buňky



- DIC - **kontrastní metoda**, slouží – podobně jako mikroskopie s fázovým kontrastem – ke zvyšování kontrastu při **pozorování průhledných fázových objektů**
- její aplikace je rozsáhlejší a účinnější, než fázový kontrast
- je mnohem složitější a náročnější na technické vybavení mikroskopu

# Nomarského diferenciální interferenční kontrast (DIC)

- Od běžného mikroskopu se tato úprava liší pouze vloženým **párem Wollastonových hranolů** a **párem zkřížených polarizátorů**
- Světlo vstupující do kondenzoru je nejprve lineárně polarizováno polarizátorem P1.
- Pak prochází dvojlomným hranolovým děličem Wollastona typu ( $W_c$ ), přičemž směr jeho polarizace svírá s optickými osami hranolového děliče úhel  $45^\circ$ .
- Druhý Wollastonův hranol ( $W_o$ ), shodně orientovaný s hranolem  $W_c$ , se nachází těsně za zadní ohniskovou rovinou objektivu.
- Následuje polarizátor P2, který je kvůli lepšímu kontrastu zobrazení zkřížen s P1.



# Georges (Jerzy) Nomarski

- 1919 – 1997
- Polský fyzik a teoretik optiky
- Po WWII žil ve Francii
- vynálezce: Diferenciální interferenční kontrast (DIC) = Nomarského interferenční kontrast (NIC)
- Modifikace Wollastonova hranolu (1950s)



Georges (Jerzy) Nomarski  
(1919-1997)

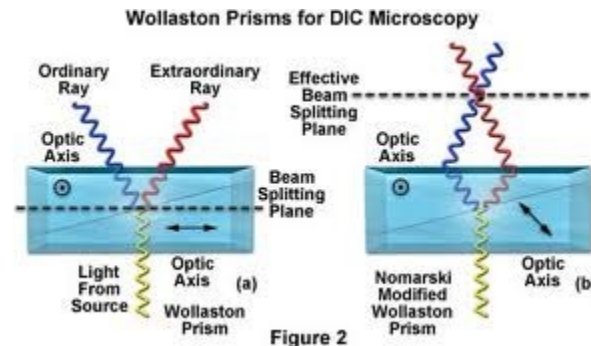
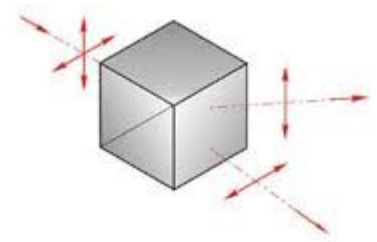
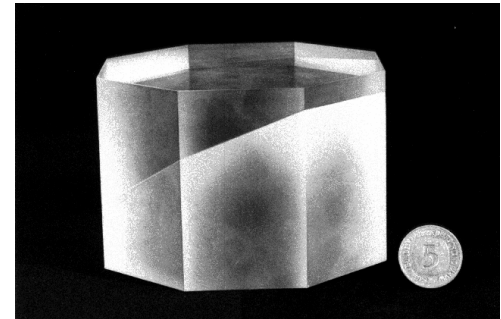


Figure 2

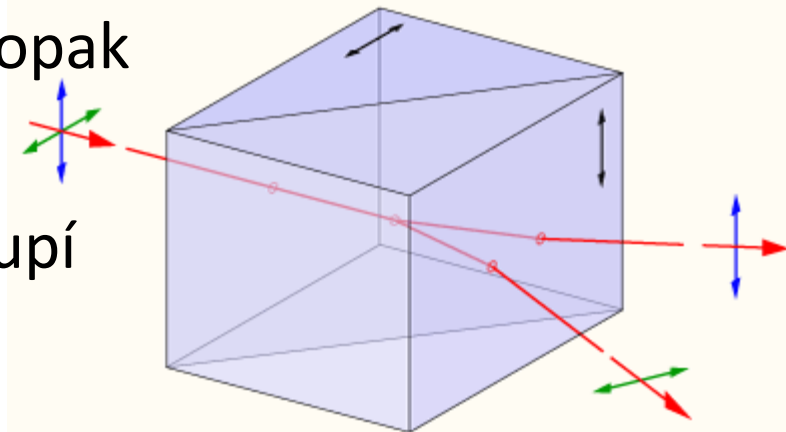
# William Hyde Wollaston

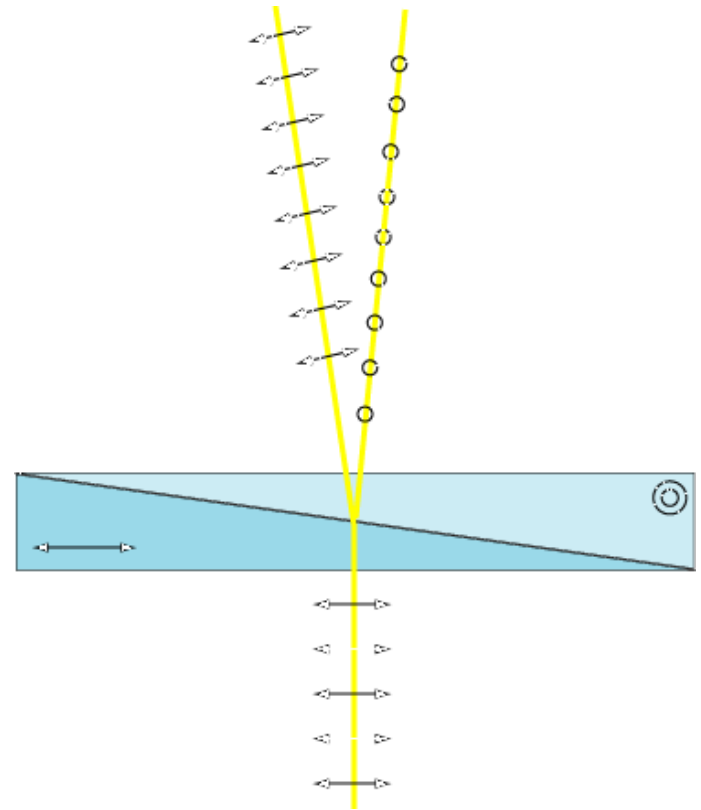
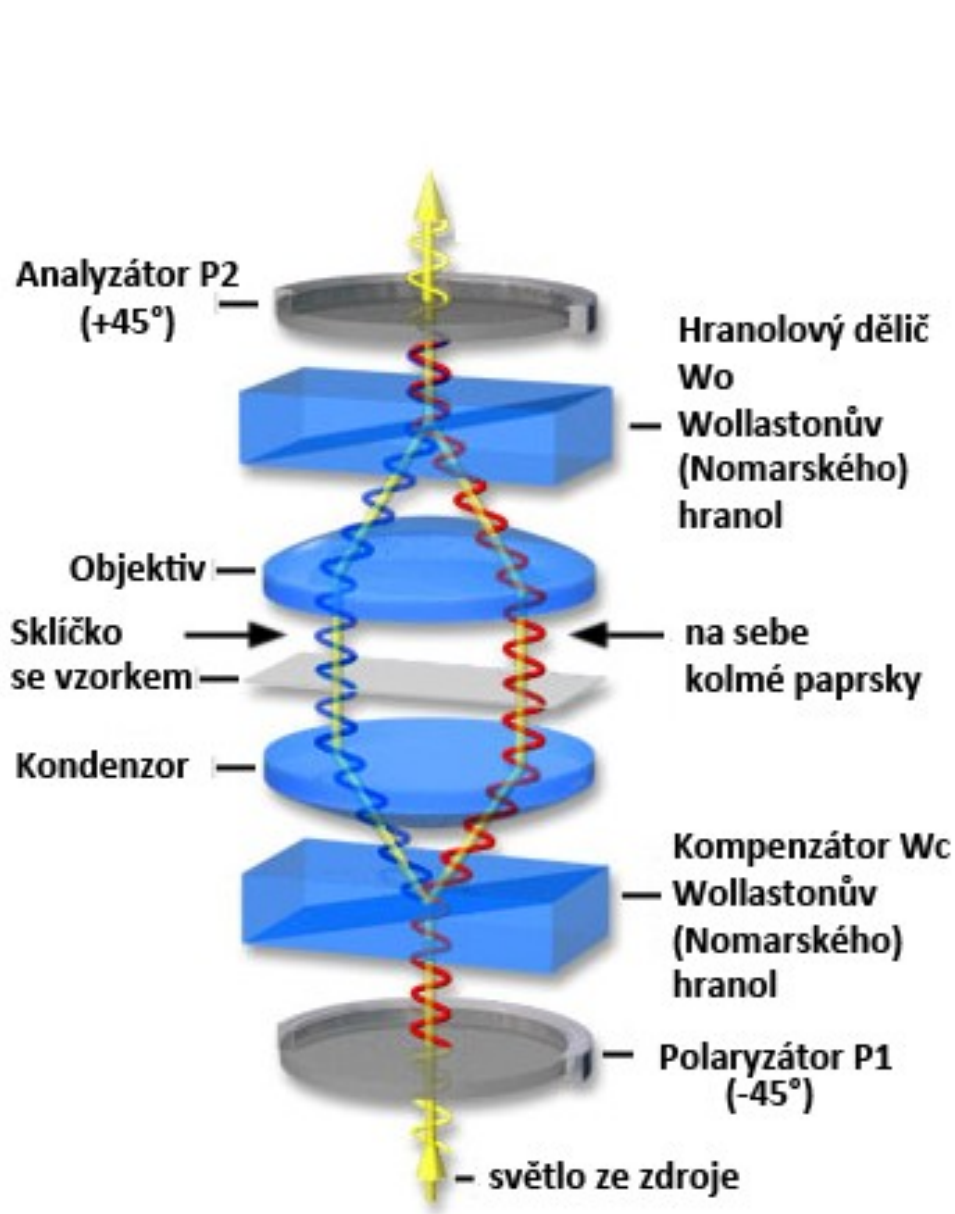
- 1766-1828
- Anglický chemik a fyzik (botanik, krystalograf, optik, astronom, mineralog)
- Vynalezl - **Wollastonův hranol**:  
rozděluje náhodně polarizované nebo nepolarizované světlo ve dva lineárně polarizované paprsky
- Zásadně důležitý v interferometrii a v diferenciální interferenční kontrastní mikroskopii (DIC)



# Wollastonův hranol

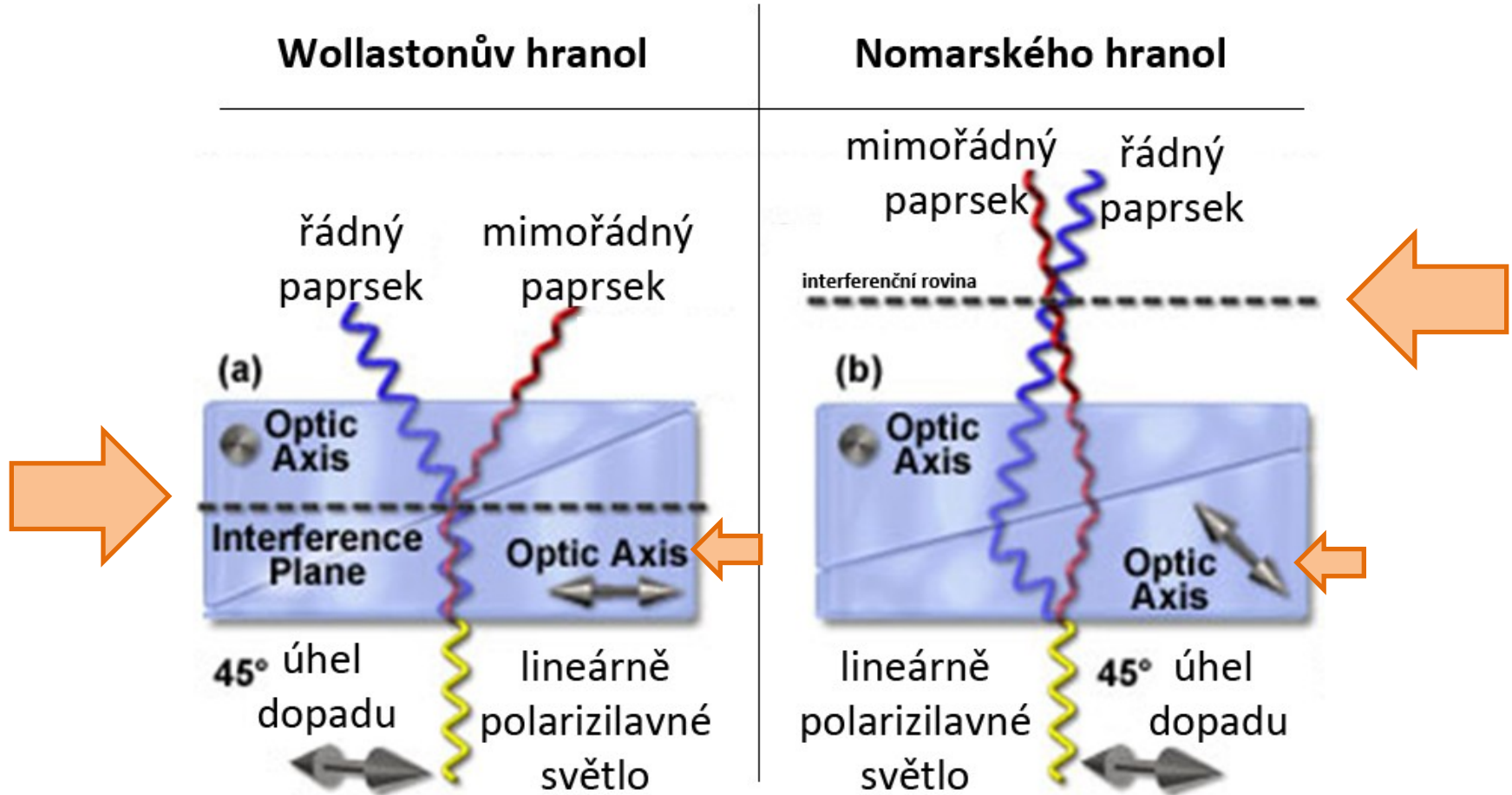
- ze dvou pravoúhlých hranolů se vzájemně kolnými optickými osami z islandského vápence spojenými k sobě svými bázemi
- paprsek přirozeného světla dopadá kolmo na stěnu,
- v hranolu vznikají paprsek řádný a mimořádný, které jdou stejným směrem kolmo k optické ose.
- ve druhém hranolu postupují oba paprsky také kolmo k optické ose, ale protože jsou optické osy obou hranolů navzájem kolmé, změní se paprsek řádný ve druhém hranolu v paprsek mimořádný a naopak
- Oba paprsky se tím značně rozestoupí





- dvojice paprsků (řádny a mimořádny)
- Jerzy Nomarski modifikoval Wollastonův hranol 1955
- vibrace v kolmých rovinách –bez interference
- lokální porovnání fázového posunu
- do stejné roviny -interference

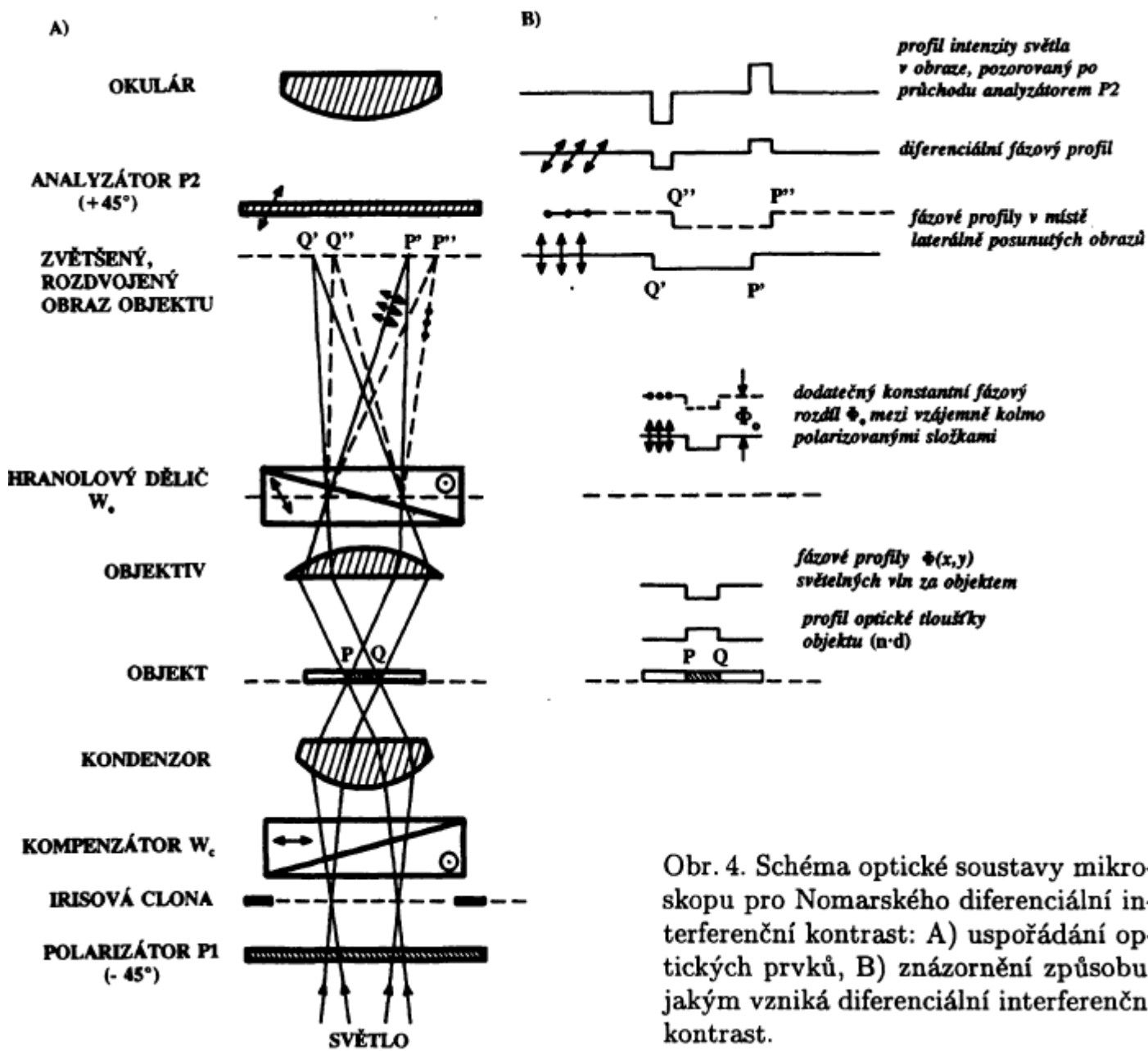
# Interferenční roviny a optické osy ve Wollastonově a Nomarského hranolu



**ANIMACE:**

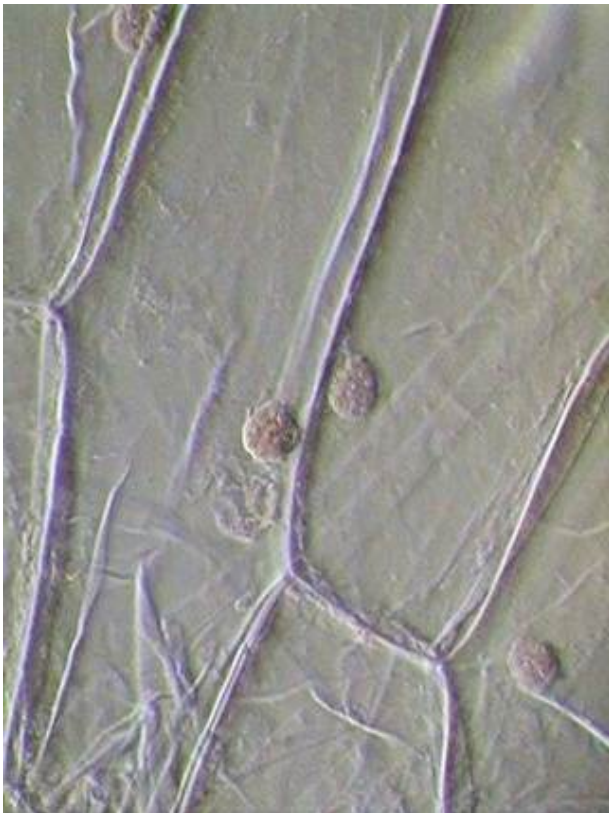
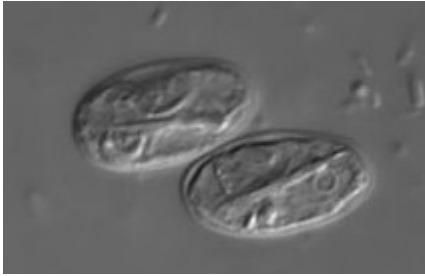
<http://www.olympusmicro.com/primer/java/dic/wollastonwavefronts/index.html>





Obr. 4. Schéma optické soustavy mikroskopu pro Nomarského diferenciální interferenční kontrast: A) uspořádání optických prvků, B) znázornění způsobu, jakým vzniká diferenciální interferenční kontrast.

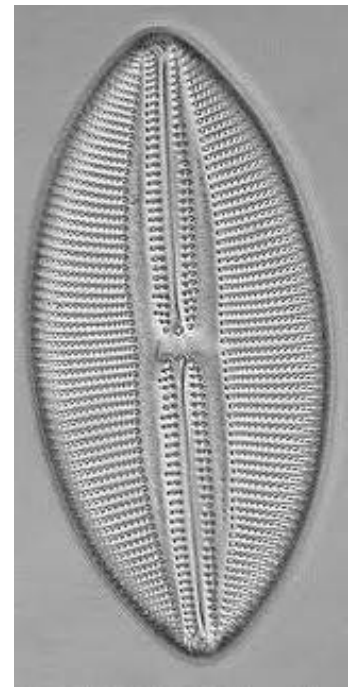
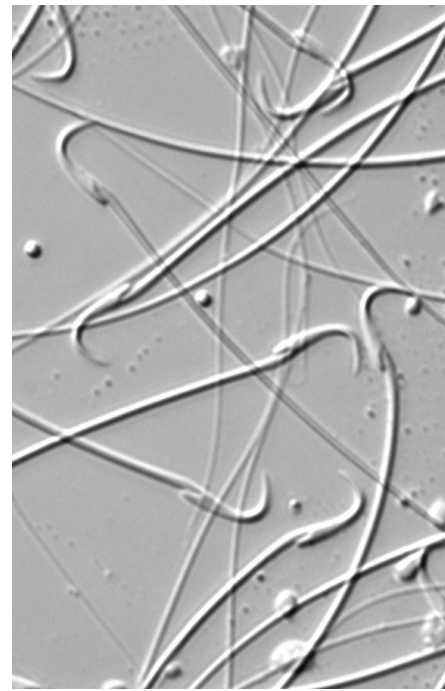
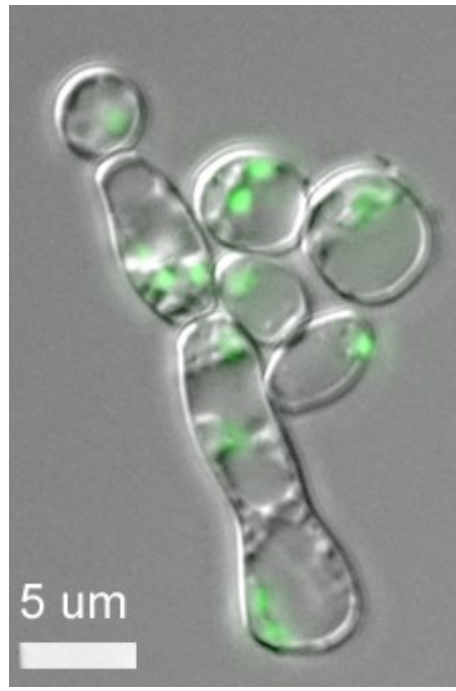
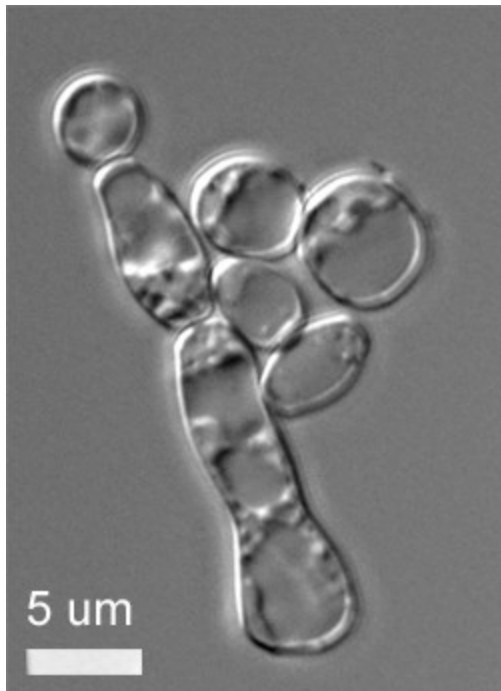
# Diferenciální interferenční kontrast

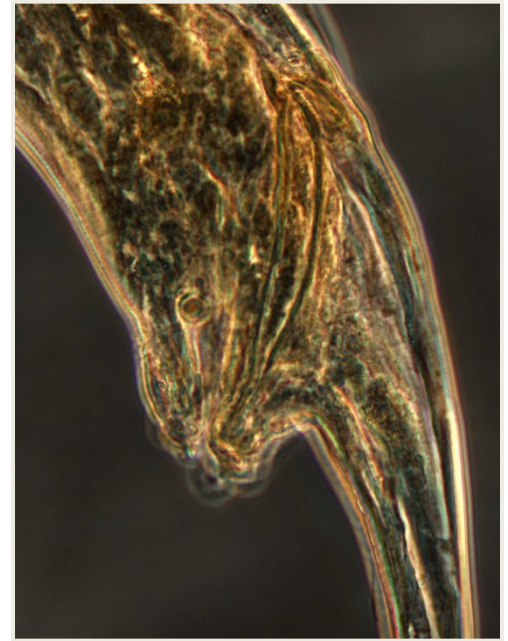


- konverze fázového posunu ve změnu amplitudy
- **pseudoprostorový efekt**  
(Zvětšený obraz vzorku se jeví jako šikmo osvětlený trojrozměrný objekt)

# Využití DIC

- průhledné fázové objekty rozptylující světlo
- bakterie, spermie, buňky, prvoci, vlákna, rozsivky, vlákna, chlupy, vlasy, živé organizmy ve vodě, radiolarie (mřížovky), koloidní suspenze, prášky, roztoky minerálních látek





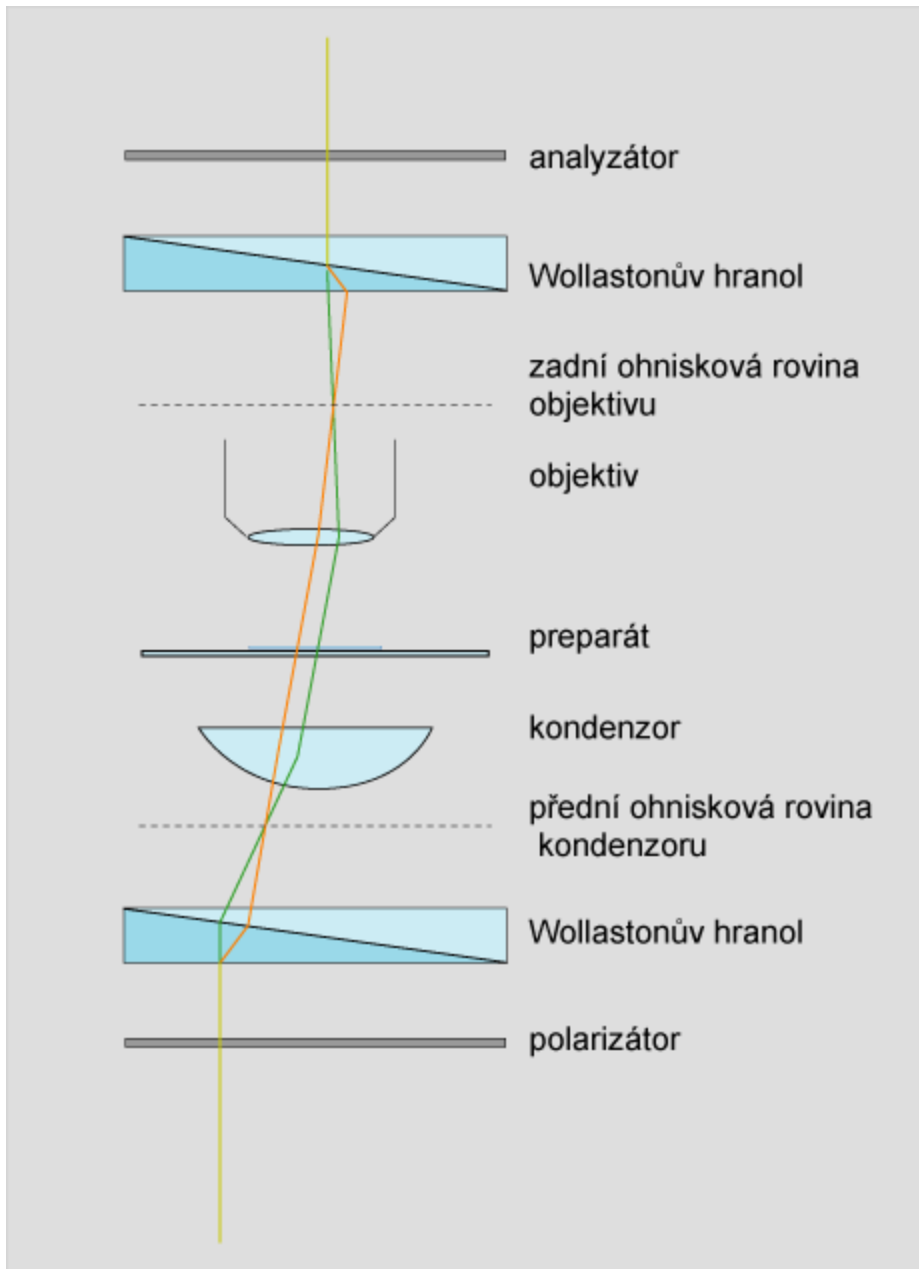
Bright field

Nomarski DIC

Phase contrast

# Vlastnosti DIC

- obrazy zkoumaných objektů jsou bez rušivého halo, které se často vyskytuje při fázovém kontrastu
- velmi malá hloubka ostrosti ( $< 0,25 \mu\text{m}$ )
- lze realizovat i při horním osvětlení (Reflexní diferenciální interferenční mikroskopie umožňuje například pozorování struktur na integrovaných obvodech)



výsledný obraz objektu podle: indexu lomu, tloušťky, orientace vůči rovině Wollastonova hranolu, otáčení světla objektem

nižší úbytek světla než FK, není omezená NA objektivu,

# Jak mikroskopovat

## seřízení:

- nastavení podle Köhlera
- skřížení polarizačních filtrů
- zařazení spodního hranolu odpovídajícího použitému objektivu
- nastavení horního pohyblivého hranolu - barva, jas pozadí,...

DIC bude prakticky vyzkoušen na parazitologii – přesun do  
A31, 3. patro