

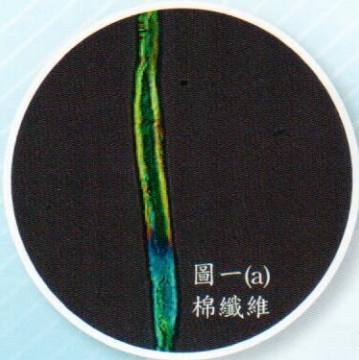
慢光與快光的交會

# 偏光顯微鏡之 原理與應用

陳用佛 / 中央警察大學鑑識科學學系助理教授

## 偏

光顯微鏡 (polarized light microscopy) 與現代化新式儀器相比或許是一個相對老舊且過時的一種儀器。但在許多分析案件中，偏光顯微鏡卻又呈現出其無可取代的功能。國際上有許多鑑識實驗室很頻繁且廣泛的使用它進行案件相關的未知樣品分析。有很多鑑識人員覺得其原理很難懂，而且需要很多經驗才能做出正確的分析結果判斷。筆者希望藉由本文能讓各位先進更瞭解偏光顯微鏡其光學原理、使用方法及功能以及其在鑑識科學上的應用，讓這個利器能夠被廣泛為台灣的鑑識人員使用。

圖一(a)  
棉纖維

在DNA技術尚未成熟前，顯微鏡是微量證物分析時的必要工具。已故國際知名的微量證物分析專家麥克隆博士（Dr. Walter Cox McCrone）累積多年的顯微鏡分析經驗，可以利用顯微鏡鑑定出數千種未知物。他也曾以顯微鏡分析多件歷史上具有爭議的案件，如耶穌裹屍布（Turin Shroud）以及文蘭地圖（Vinland map）之真偽。另外顯微鏡的使用在一些案件裡，可能會比新科技有更好的分析結果。如圖一，在偏光顯微鏡底下，我們可以因光學特性的差異分辨出棉纖維（cotton）與嫫縈纖維（rayon）的不同（棉纖維不具有消光性）；但若以紅外線光譜儀進行分析，由於它們的成分都是纖維素（cellulose），紅外線光譜儀的分析圖譜非常相似，反而不易判別其差異。這打破我們一定要用先進技術來解決鑑識問題的迷思，有時多花點時間瞭解證物的特性後再進行後續分析，會比直接採用先進儀器進行分析更能解決問題。相同的概念，如果想分析竊盜案現場的玻璃與嫌疑犯身上的玻璃是否相似，不一定需要採用感應式耦合電漿質譜分析儀（Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometer，ICP-MS）對玻璃樣品的元素成分進行微量分析。我們可以測得玻璃相對密度或折射係數（refractive index）來進行辨別。如果用簡單的方法可將兩者區別，就可免除採用昂貴的分析儀器對玻璃之組成進行元素分析。

圖一、棉纖維(a)在偏光下不具有消光性的光學特性，可用來與同為纖維素成分之嫫縈纖維(b)進行區隔。



圖一 (b) 嫫縈纖維

上偏光鏡

勃臣氏鏡

配件插孔

旋轉載台

下偏光鏡



圖二、三眼偏光顯微鏡。

## 偏光顯微鏡組成介紹

偏光顯微鏡與複式顯微鏡結構大致相同，由顯微鏡座（stand）、光源、光源光圈（field diaphragm）、聚光鏡（condenser）、載物台（stage）、物鏡（objective）、物鏡鼻輪（nosepiece）、鏡筒（tube）、目鏡（ocular）等組成之外，偏光顯微鏡尚含有下圖二所示之組件，細節說明如下：

### 偏光鏡（polarized light filter）：

偏光顯微鏡配有兩個偏光鏡，其中一片偏光鏡安裝於聚光鏡下與光源之間，稱為起偏鏡（polarizer）或稱下偏光鏡，另一片偏光鏡安裝於鏡筒物鏡與目鏡之間，稱為檢偏鏡（analyzer）或稱上偏光鏡。一般偏光顯微鏡之起偏鏡（polarizer）之限定振動方向為顯微鏡之左右（通常簡記為E-W），檢偏鏡（analyzer）之限定振動方向為顯微鏡之前後（通常簡記為N-S）。若僅插入起偏鏡，此時偏光顯微鏡為平面偏光組態（plane-polarization），可

以觀察比較檢體與固定介質（mounting medium）折射係數的大小，並可觀察檢體之多色性（pleochroism）；若同時插入起偏鏡及檢偏鏡時則為正交偏光（crossed-polarization），若無放置樣品或放置單一折射係數之樣品，如：無應力殘留之玻璃（strain-free glass）時，則沒有光線可以通過目鏡故觀察到全黑的狀況。

#### 旋轉載物台（rotary stage）：

以顯微鏡光軸為圓心旋轉之圓形載物台，邊緣刻劃有0至360度刻度並附有游標尺，可選擇與記錄檢體與偏光鏡所呈之角度，以利比較折射係數、觀察消光性（extinction）以及多色性等特徵。

#### 勃臣氏鏡（Bertrand lens）：

勃臣氏鏡位於檢偏鏡與目鏡之間，插入後可以觀察物鏡後焦點影像（back-focal-plane image），於偏光顯微鏡錐光組態（conoscopic configuration）下可以觀察干涉色圖樣（interference figure）。某些偏光顯微鏡並未搭配有勃臣式鏡，可以將目鏡取下直接觀察顯微鏡筒內影像也有相同的效果。

#### 配件插孔（accessory slot）：

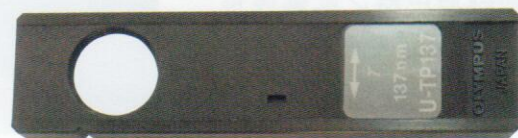
通常位於物鏡與檢偏鏡之間，同時與起偏鏡與檢偏鏡呈45度角（簡記為NW-SE方向），可插入延遲板（retardation plate）或消光器（compensator）等配件，協助偏光顯微鏡鏡檢觀察與判斷。

#### 延遲板（retardation plate）：

延遲板通常由石英、石膏、雲母等具有光學非均向性之晶體，以精準厚度所製成，來獲得特定或某範圍內之延遲波長，可由配件差孔（accessory slot）插入物鏡與檢偏器之間，以增加或減少延遲波長，當延遲板慢光方向與非均向性材料之慢光方向相同時，非均向性材料之干涉色則上升；若延遲板慢光方向與非均向性材料快光方向相同時，則非均向型材料之干涉色則下降，。如此可概略推斷非均向性材料於正交偏光下干涉色之顏色與級序（order），亦可判斷非均向性材料之快慢光方向及延性符號（sign of elongation）。

#### 石膏延遲板（gypsum plate, $1\lambda$ retardation plate）：

如下圖三所示，長條狀的金屬板中鑲嵌一個石膏晶體的切片，其快光與慢光的方向分別平行於金屬板的長邊與短邊，其延遲波長約550 nm，偏光顯微鏡實務應用上把550 nm視為 $1\lambda$ ，因此石膏延遲板也稱為 $1\lambda$ 延遲板（ $1\lambda$  retardation plate）。在正交偏光下，石膏延遲板



圖三、石膏延遲板

呈現第一級紫紅干涉色，若檢視非均向性材料時插入石膏延遲板，非均向性材料之干涉色則升高或降低一級。

#### 雲母延遲板 (mica plate, $1/4 \lambda$ retardation plate) :

如下圖四所示，長條狀的金屬板中鑲嵌一個雲母晶體的切片，其快光與慢光的方向分別平行於金屬板的長邊與短邊，其延遲波長約140 nm，約550 nm之 $1/4$ ，故雲母延遲板也稱為 $1/4 \lambda$ 延遲板 ( $1/4 \lambda$  Retardation plate)。在正交偏光下，雲母延遲板呈現第一級灰白干涉色，若檢視非均向性材料時插入石膏延遲板，非均向性材料之干涉色則升高或降低四分之一級。



圖四、雲母延遲板。

#### 石英楔 (quartz wedge, $1-4 \lambda$ retardation plate) :

如下圖五所示，石英楔為長條狀金屬板中鑲嵌一個加工成楔形之石英晶體所製成，石英晶體快光與慢光的方向分別平行於金屬板的長邊與短邊。石英之雙折射差為0.009，楔形晶體斜面與底面夾角約0.5度，持續推入石英楔可增加其厚度，使延遲波長逐漸增加，一般商業化產品設計約 $1-4 \lambda$ 。



圖五、石英楔

#### 消色 (compensator) :

如下圖六所示，非均向性材料之延遲波長可由消色器進行精密測量，消色器如同延遲板，於長條狀的金屬板中鑲嵌一個晶體，但其快光與慢光的振動方向則平行於金屬板的短邊與長邊，恰與延遲板之快慢光方向相反，並且配有一個晶體旋轉角度之調整鈕，藉由晶體的傾斜可獲得不同的延遲波長。操作時可使觀察檢體的慢光方向與消色器的快光方向平行，此時消色器產稱之延遲波長可以「補足」檢體之延遲波長，若調整消色器晶體旋鈕至檢體於正交偏光下呈現全黑消光時，此時消色器產生之延遲波長即為觀察檢體之延遲波長。常見的有Brace-Köhler消色器、Sénarmont消色器及Berek消色器，其中Berek消色器之延遲波長可達11000 nm，適合測量礦石、纖維等非均向性材料。



圖六、Brace-Köhler消色器

## 如何解讀偏光顯微鏡

### 正交偏光 (cross polarized light) :

起偏鏡或下偏光鏡 (lower polar ; polarizer) 位於光源與聚光鏡之間，它的作用是使通過樣品前的自然光變成偏光，而檢偏鏡或上偏光鏡 (upper polar ; analyzer) 位於目鏡與物鏡之間，它的物理作用與起偏鏡相同。當光線通過檢偏鏡時，如果是具有一定振動方向的偏光，旋轉偏光鏡時則視野上有明暗之變化；如果是沒有確定方向的自然光，旋轉檢偏鏡，因為光能通過，則視野始終是明亮的，故檢偏鏡又稱為分析鏡。當兩偏光鏡的偏振軸相互平行時，光線能全部通過檢偏鏡，視野最亮。上、下兩偏光鏡的偏振軸相互垂直時 (crossed polars)，光線完全不能通過檢偏鏡，視野最暗。因此，當固定其中一個偏光鏡，把另一個偏光鏡轉動 $180^\circ$ ，可觀察到視野有明暗交替出現的現象。上、下兩偏光鏡的偏振軸相互垂直，便組成所謂「正交偏光鏡」，此時沒有光線能通過目鏡，當無放置樣品時整個視野是暗的，用偏光顯微鏡觀察物質結晶狀態時，通常是在正交偏光鏡下觀察。

### 消光性 (extinction) :

在正交偏光鏡下觀察異向性物質時，受偏光鏡影響，會減小其強度使視野變暗或消失，這種現象叫消光；均向性物質則不受正交偏光影響，把載物台旋轉 $360^\circ$ ，都不會改變其強度，消光現象不變，這叫永久消光或全消光 (如下圖七所示)，永久消光是均向性物質的固有特徵，故消光現象可區分異向性物質及均向性物質。



圖七、具消光性晶體

平行消光 (parallel extinction) :

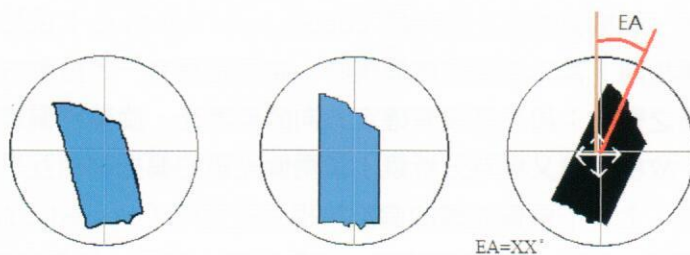
樣品消光發生於礦物解理或是其長軸與起偏鏡或檢偏鏡方向 (十字準線的垂直或水平方向) 重疊 (如下圖八所示), 此時其消光角度 (EA) = 0°。



圖八、平行消光晶體

斜消光 (inclined extinction) :

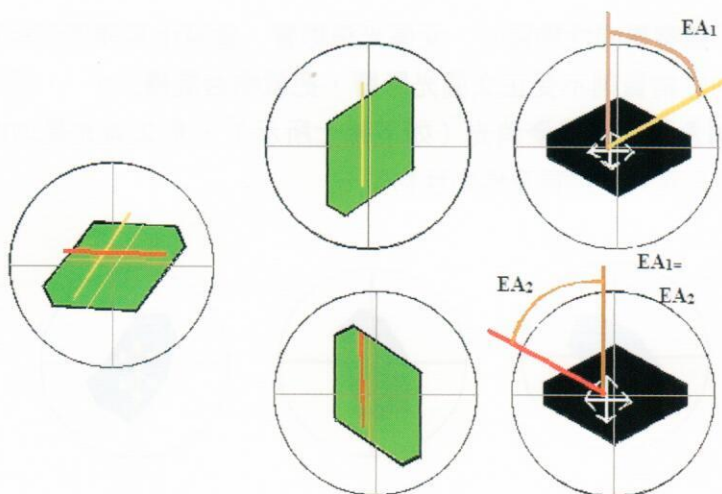
如下圖九所示, 樣品消光發生於礦物解理或是其長軸與起偏鏡或檢偏鏡方向夾角EA處, 此時EA > 0°



圖九、斜消光晶體

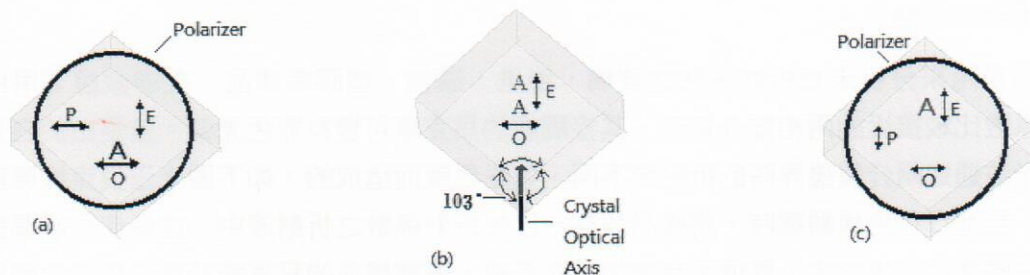
對稱消光 (symmetrical extinction) :

如下圖十所示, 樣品如有兩個解理或兩個不同結晶表面的礦物, 於每個解理 (表面) 與偏振方向之間可以量測到兩個消光角度, 若是兩個角度相同, 則稱對稱消光, 此時EA1 = EA2。



圖十、對稱消光晶體。

當光經過異向性物質某一特殊方向，速率皆一樣，即不會被分解成兩道偏光，稱此方向的軸為光軸（optical axis）。六方晶系如方解石、菱鐵礦等，以及正方晶系如魚眼石、白鎢礦等，只有一個光軸，稱為單軸晶體；像斜方晶系如乾石膏、輝鎊礦等，以及單斜晶系如雲母、石膏等，具有兩個這樣的方向，即具有兩根光軸，稱為雙軸晶體。如光線在單軸晶體內向外行進，其偏離光軸的光線，便會被分解成兩道速率不一樣的偏光，被分解的這兩道偏極化的光線，由於性質不一樣，因此給予不同名稱—尋常光線（快光，ordinary ray）和非尋常光線（慢光，extraordinary ray）。光線的光波在與光軸垂直的平面向外振動，同一時間內，各個方向行進同樣的距離，那麼這種光線的性質和普通光線一樣，屬於尋常光線或簡稱O-ray；光線的光波在含有光軸平面上向外振動，在同一時間內，各個方向行進不同的距離，這種光線的性質，因為和普通光線不一樣，不遵守司乃爾定律（Snell's law），屬於非尋常光線或簡稱E-ray。根據上述定義可知O-ray與E-ray振動的平面互相垂直。了解晶體此種性質後，就可來解釋將晶體放在兩組偏光方向正交的偏光鏡之間，旋轉晶體一圈的過程中，有時只有四個互相垂直的方位才會發生消光現象。當起偏鏡上來的光線速度方向和異向性晶體光軸平行時，效果與通過等向性物質一樣，完全被消光。若由起偏鏡上來的光線速度方向不與晶體光軸平行時，會被分解成O-Ray與E-Ray，因此將晶體旋轉一周 $360^\circ$ ，消光位置共有四個，即每轉 $90^\circ$ 就消光一次。舉例說明：有一石英晶體，柱面平放紙上，其長的方向表光軸的方向，如圖十一。設檢偏鏡與起偏鏡偏光方向分別為P與A方向如圖十一（a）所示。圖十一（b）通過晶體上來同時平行光軸的非尋常光線E，其振動的方向和通過起偏鏡的光振動方向P平行，所以再通過檢偏鏡時完全被阻截，即產生消光。如將晶體旋轉 $90^\circ$ 如圖十一（c）圖位置，通過晶體上來同時垂直光軸的尋常光線O，其振動方向和通過起偏鏡的光振動方向P平行，所以同樣被檢偏鏡所阻截即消光。所以晶體旋轉一周 $360^\circ$ ，消光位置共有四個，分別是 $90^\circ$ 、 $180^\circ$ 、 $270^\circ$ 以及 $360^\circ$ 。



圖十一、晶體特性

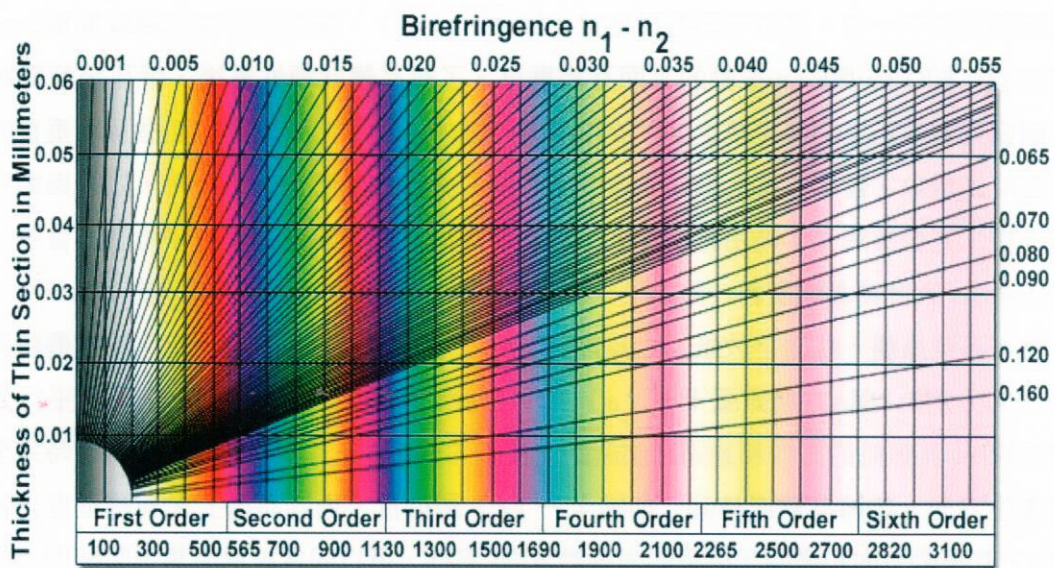


### 干涉色 (interference color) :

由於O-Ray和E-Ray光線在通過晶體時，速度快慢不同，因而會造成光程差 (retardation,  $\Delta$ )，光程差的大小視O-Ray和E-Ray在晶體中速度快慢差距，也就是雙折射係數差 (birefringence, Bi) 和晶體的厚度 (t) 而定，所以透出晶體後會在同一個平面發出干涉，造成干涉色。在偏光顯微鏡下看到的樣品所呈現的顏色就是干涉色，可由圖十二Michel-Levy干涉色表來得知其雙折射係數差。或是採用以下公式來求得Bi，而因為每種不同的樣品有其特殊的Bi值，因此我們可以用來分析未知物到底是什麼。

$$Bi = R_{\max} - R_{\min}$$

$$\Delta = t_{\mu m} \times Bi \times 1000 \text{ nm}$$

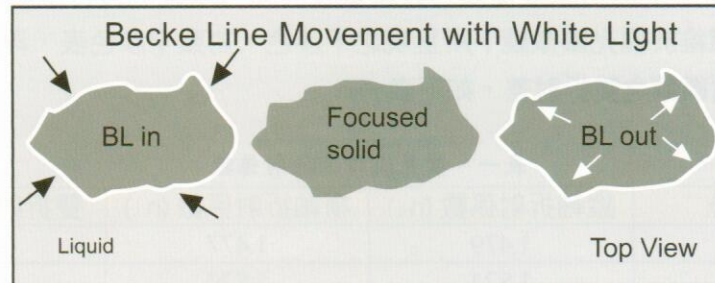


圖十二、Michel-Levy干涉色表。其圖形原始來源。  
(<http://micro.magnet.fsu.edu/primer/techniques/polarized/michel.html>)

### 貝克線 (Becke line) :

一般是用來分析未知折射係數之玻璃、纖維、礦物、塑膠等樣品。在顯微鏡下用白光觀察折射係數比較接近的兩相鄰介質時，其接觸處的貝克線可變為彩色光帶。這是由於白光中不同波長光波通過兩介質邊界時的折射角不同，發生色散而造成的。如下圖十三貝克線原理示意圖顯示，在進行貝克線觀察時，將樣品放在一已知折射係數之折射液中，並僅使用起偏鏡進行檢視，在將樣品對焦之後，降低平台增加工作距離，觀察樣品的貝克線若是往樣品內部偏移，則樣品折射係數大於浸液折射係數 (如圖十三左圖)；反之則浸液折射係數大於樣品折射係數 (如圖十三右圖)。分析人員可採用加入較高或較低折射係數之液體的方式來調整浸液之折射

係數，使得樣品折射係數與浸液折射係數無明顯差異，樣品於浸液中近乎消失之狀態，此時取出浸液後用折射儀（Abbe Refractometer）量測浸液之折射係數，便可得知未知樣品之折射係數。



圖十三、貝克線原理示意圖

### 多色性 (pleochroism)：

部份有顏色的異向性物質，在快光和慢光方向會分別吸收不同波長的色光，因此快慢光的顏色有差異。在不加入檢偏鏡的狀態下，旋轉載物台，可以觀察到樣品顏色的改變，當下偏光方向平行於快光方向時，可以觀察到快光的顏色；當下偏光方向平行於慢光方向時，可以觀察到慢光的顏色；當快慢光方向都不平行下偏光時，觀察到的顏色則是兩種顏色的混合色。這種顏色改變的現象稱為樣品的多色性。多向性顏色與干涉色無關。

## 偏光顯微鏡之應用

### 纖維之分析比對：

織物纖維（以下簡稱纖維）是鑑識科學中相當重要的物證之一，可用於關聯與重建犯罪事件。纖維跡證比對是鑑驗未知來源的纖維跡證，判斷是否與已知纖維標準品有相似之處。美國協同測試服務公司（Collaborative Testing Services, Inc）針對纖維鑑定能力測試所進行的統計調查結果，2010年參與纖維鑑定能力測試之實驗室中，絕大部份之實驗室運用了巨觀分析法（75%）、實體顯微鏡鏡檢法（94%）、比對顯微鏡鏡檢法（78%）、偏光顯微鏡技術（93%）、紅外線光譜法（93%）、顯微分光光譜法（57%）、螢光分析法（50%）、橫切面檢視法（63%）等鑑定法進行纖維鑑定。其中值得注意的是，使用偏光顯微鏡分析技術鑑定纖維之實驗室達93%，與使用紅外線光譜法相當，可見其重要性。纖維通常具有一個以上之光學折射係數，且會隨著光線照射纖維方向或角度之不同，而有不同折射係數，亦即纖維屬於非均向性材料，可於偏光顯微鏡正交偏光之組態下，觀察纖維所呈現之消光、干涉色等物理光學性質，推估或測量纖維之延遲波長，再配合光線通過之路徑長，即可獲得纖維之雙折射係數差，因不同種類之纖維具有不同偏光下特徵及雙折射差，故可運用偏光顯微鏡分析技術進行纖維鑑

定與比對，此外，偏光顯微鏡分析技術具有非破壞性、快速、微量即可分析，並有相關科學理論支持等優點，非常適合運用於鑑識科學物證分析。

偏光顯微鏡技術鑑定織物纖維種類，其關鍵在於如何準確地獲得纖維之雙折射差。傳統上，係以肉眼觀察纖維於偏光顯微鏡下所呈現之干涉色，對照干涉色表，再配合光線通過纖維之路徑長，進而推估纖維之雙折射差，如下表一。

表一、常見纖維的折射係數

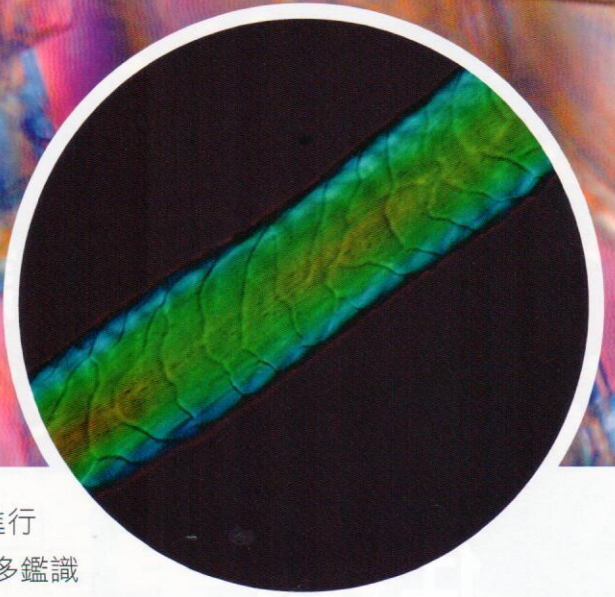
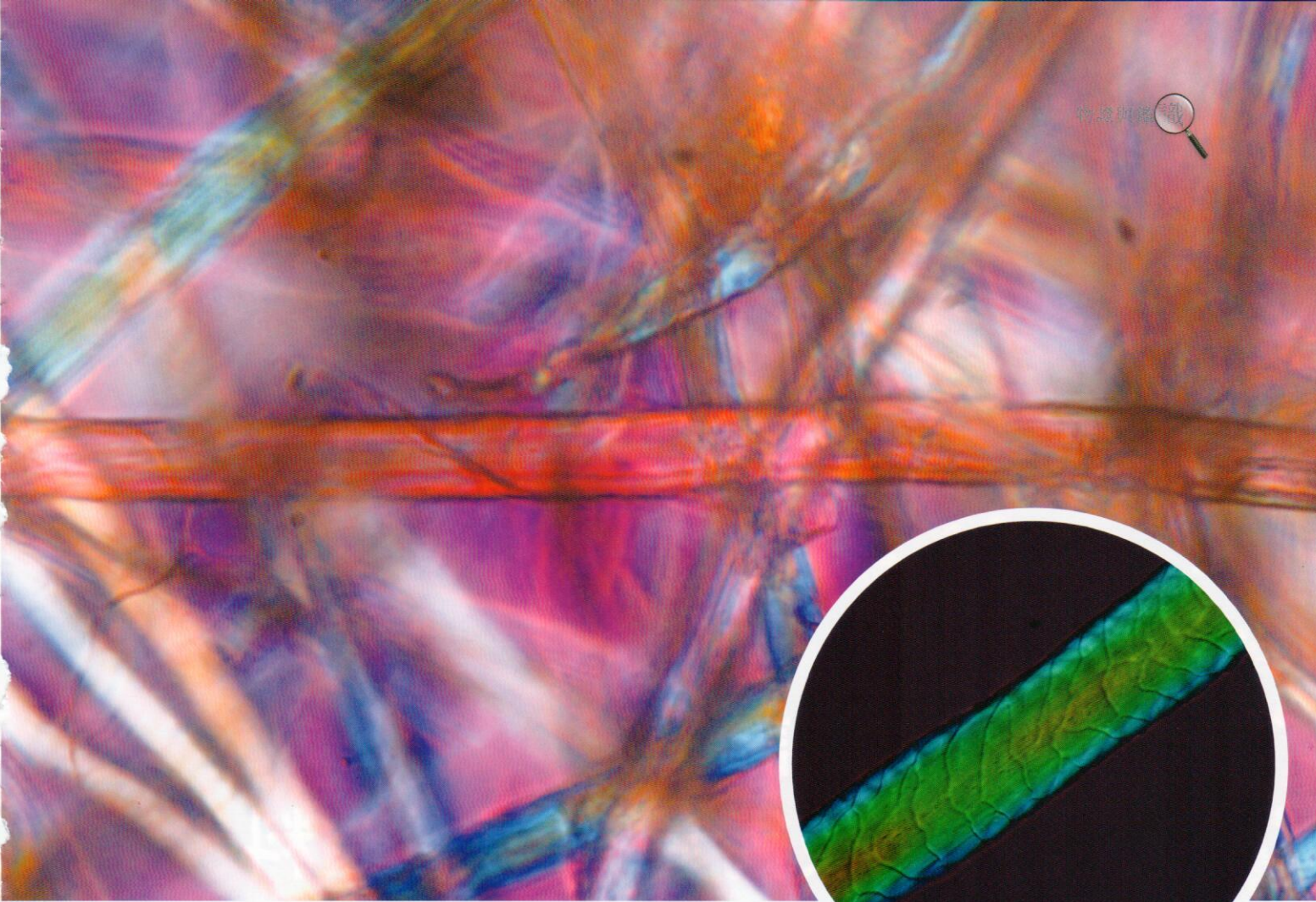
纖維成分	縱軸折射係數 ( $n_{  }$ )	橫軸折射係數 ( $n_{\perp}$ )	雙折射係數差 ( $B_i$ )
acetate	1.479	1.477	+0.002
acrylic	1.524	1.520	+0.004
rylon6	1.568	1.515	+0.053
rylon6.6	1.582	1.519	+0.063
polyester	1.710	1.535	+0.175
rayon	1.547	1.521	+0.026
polypropylene	1.530	1.496	+0.034
Saran	1.603	1.611	-0.008
cotton	1.580	1.533	+0.047
wool	1.556	1.547	+0.009
Flax	1.596	1.528	+0.068

#### 聚合物的結構分析：

聚合物的性能主要決定於它的結構。高分子聚集有兩種主要方式，即結晶態和無定形態。如果高分子鏈在空間三個方向上形成有序排列，這種有規律的排列結構稱為聚合物的結晶態結構；若高分子鏈成為無序排列，則稱為非晶相或稱為無定形結構。利用普通光學顯微鏡能直接觀察聚合物的外觀結構，如均勻性、粒子的大小及分佈等。不含填料和雜質的多數無定形聚合物，在顯微鏡下都是無色清澈透明的。但普通光學顯微鏡只能看到聚合物中的粒子形態，不能鑑別是晶體還是非晶體，而偏光顯微鏡利用晶體與非晶體對偏光有不同的反應，可以觀察到粒子是晶體還是非晶體。

#### 岩石或土壤中礦物比對：

利用偏光透過岩石或土壤樣品，就可以觀察到礦物內部細微結構，並藉由礦物的各種光學特性，作為鑑定礦物所屬種類的重要依據。在偏光顯微鏡下可觀察到礦物的晶形或集合體（如粒狀、針狀、放射狀、板狀、纖維狀等）、解理發達與否、單偏光下礦物的顏色和多色性（旋轉載物台所產生的顏色變化）、折射係數的大小，以及對某組解理的消光角和單光軸、雙光軸等干涉相等特性。



偏光顯微鏡由於其可對於未知分析物之光學特性進行分析，在鑑識科學上有極大的實用性，而在國內雖有許多鑑識科學領域先進知道此顯微鏡，但是真正用在實務案件的分析與偵察的協助上，可謂相當稀少。在熟習偏光顯微鏡的原理之後，可以發揮其分析證物的能力，讓我們在有限的儀器設備中，得到最多的分析資訊。筆者希望能以一系列偏光顯微鏡的科學原理、操作以及實際應用以及案件的分析，讓偏光顯微鏡對於微量證物的分析上所扮演的角色能更廣為大眾所知。偏光真的不難，而且多采多姿呢！**FACT**

**參考資料：**

1. Bloss, F. D., Optical crystallography. Mineralogical Society of America: Washington, D.C., 1999; p x, 239 p.
2. McCrone, W. C.; McCrone, L. B.; Delly, J. G., Polarized light microscopy. Ann Arbor Science Publishers: Ann Arbor, Mich., 1978; p vii, 251 p.
3. Saferstein, R., Forensic science handbook. 2nd ed.; Prentice Hall: Upper Saddle River, NJ, 2002.

