

РАСТРОВЫЕ ОСВЕТИТЕЛЬНЫЕ УСТРОЙСТВА ДЛЯ МИКРОСКОПОВ

© 2004 г. С. В. Златина*; О. Д. Калинина**; И. П. Козлова*; С. Н. Натаровский*, канд. техн. наук;
О. Н. Немкова*; Т. Ф. Селезнева*; Н. Б. Скобелева*

* ОАО "ЛОМО", Санкт-Петербург

** Санкт-Петербургский государственный университет информационных технологий,
механики и оптики, Санкт-Петербург

Предложена методика габаритного расчета осветительного устройства микроскопа, позволяющая учесть в начальной стадии влияние структуры светящегося тела источника света на светораспределение по поверхности освещаемого объекта или в плоскостях, сопряженных с ним.

Коды OCIS: 220.4830

Поступила в редакцию 09.06.2004.

В работе [1] приведены основные соотношения, позволяющие на стадии габаритного расчета микроскопа оценить влияние параметров линзового раstra (ЛР): апертуры линзового элемента раstra (ЛЭР), шага ЛР – на размер освещаемого поля, светораспределение и когерентность освещения. Последняя величина здесь определяется через множитель некогерентности (c) Рождественского [2] – на стадии габаритного расчета он более нагляден, чем степень когерентности освещения (μ), которая определяется через нормированный образ фурье-распределения интенсивности в плоскости зрачка осветительной системы [3]; параметр c определяется через отношение апертур осветительной (A_0) и изображающей (A) частей микроскопа:

$$c = A_0/A.$$

Отметим, что μ есть функция от c . Формула Рождественского для вычисления разрешающей способности микроскопа принимает вид

$$\Delta x = \lambda/A(c + 1). \quad (1)$$

Зависимость Δx от c рассмотрена в [3], где показано, что наилучшее разрешение имеет место при $c \approx 1,5$.

В [4] приведены результаты экспериментальных исследований светораспределения, создаваемого растровым осветительным устройством (РОУ) в простейших моделях биологических микроскопов и приведено сравнение теоретических кривых светораспределения с реальными. Теоретическая кривая, описывающая светораспределение $E(x)$, создаваемое РОУ на поверхности объекта, определяется по формуле

$$E(x) = h(x) * q(x), \quad (2)$$

где $*$ – оператор свертки, $h(x)$ – функция рассеяния точки (ФРТ) РОУ, $q(x)$ – светораспределение в идеальном изображении светящегося тела (СТ) источника света. Для простоты здесь рассматривается

одномерный случай. Функции $h(x)$ и $q(x)$ в [5] определялись через прямоугольную функцию.

$$h(x) = \text{rect}(x/2f'_k \text{tg} \sigma'_p) \text{ и } q(x) = \text{rect}(x/l\beta), \quad (3)$$

где f'_k – фокусное расстояние конденсора, σ'_p – апертурный угол ЛЭР, l – размер светящегося тела источника света, β – линейное увеличение центрированной части осветительного устройства (ОУ). Сумма знаменателей в (3) определяет размер освещаемого поля $2x$ [1]

$$2x = 2f'_k \text{tg} \sigma'_p + l\beta, \quad (4)$$

а их отношение определяет множитель некогерентности

$$c = l\beta/2f'_k \text{tg} \sigma'_p. \quad (5)$$

На рис. 1 приведены две оптические схемы ОУ микроскопа, отличающиеся тем, что во второй схеме между коллектором $\Phi_{\text{кол}}$ и конденсором Φ_k установлена телескопическая система ($\Phi_1 - \Phi_2$), позволяющая иметь действительным изображение освещаемой площадки, где можно установить полевую диафрагму (ПД). Также телесистема переносит изображение плоскости мультиплицированного изображения СТ в переднюю фокальную плоскость Φ_k и позволяет влиять на параметры, входящие в формулы (3), (4) [1].

Из хода кривых светораспределения, приведенных в [4], следует, что ход реальных кривых близок к теоретическим. Напомним, что при наших допущениях в (3) $E(x)$ в соответствии с (2), как это следует из [5], будет описываться трапецидальной функцией при $2f'_k \text{tg} \sigma'_p \neq l\beta$ или треугольной при $2f'_k \text{tg} \sigma'_p = l\beta$ (рис. 2).

Верхнее основание трапеции, которое может быть вычислено по формуле

$$2x_0 = 2f'_k \text{tg} \sigma'_p - l\beta, \quad (6)$$

определяет размер равномерно освещаемой зоны на объекте.

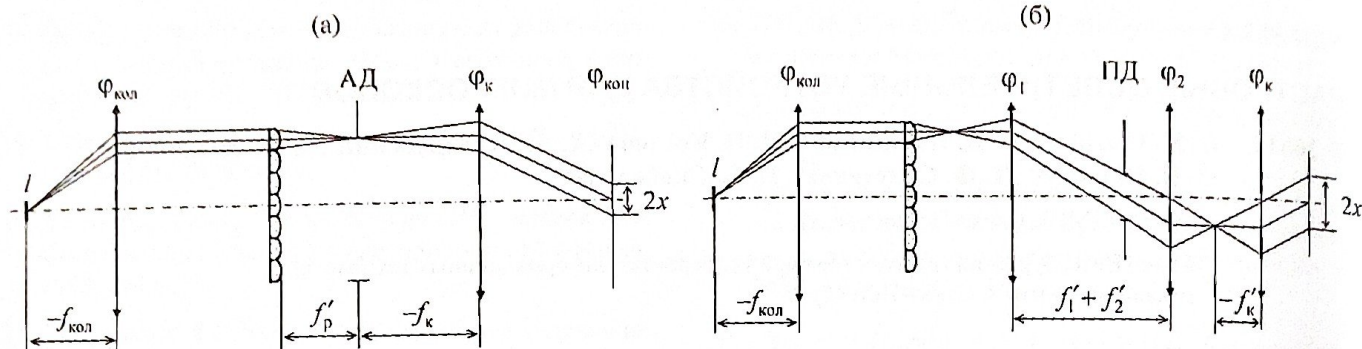


Рис. 1. Оптические схемы растрового осветительного устройства микроскопа без материальной полевой диафрагмы (а) и с ней (б).

Очевидным является желание выполнения равенства $x = x_0$, что возможно при работе как с точечным источником света ($l \rightarrow 0$ и $c \rightarrow 0$), так и с протяженным, выполняя условия $l\beta \gg 2f'_k \text{tg}\sigma'_p$, т. е. при $c \gg 1$. В первом случае $E(x)$ определяется ФРТ ОУ $h(x)$, для которой справедлива формула из [6]

$$h(x) \approx \text{rect}\left(x/2f'_k \text{tg}\sigma'_p\right) \left\{ \frac{\sin[\pi f'_x (2N+1)X]}{(2N+1)\sin(\pi f'_x X)} \right\}^2, \quad (7)$$

где $f'_x = x/\lambda f'_k$, X – шаг ЛР, $2N+1$ – число ЛЭР в ЛР, λ – среднее значение длины волны.

Из сравнения формул (7) и (3) понятно, что (3) описывается первым множителем в (7), т. е. огибающей кривой ФРТ. Кроме того, в случае хаотической упаковки ЛЭР в ЛР сомножитель в фигурных скобках, определяющий картину многолучевой интерференции, исчезает.

Отметим, что в (7) мы не учитываем aberrации ЛЭР, считая их пренебрежимо малыми, а также явления, описываемые в [7], которые мы постараемся учесть ниже.

Во втором случае $E(x)$ будет определяться функцией $q(x)$, что соответствует случаю критического освещения. На рис. 3а приведено изображение СТ лампы РН-8-20, а на рис. 3б – светораспределение в сечении этого изображения. Понятно, что такое све-

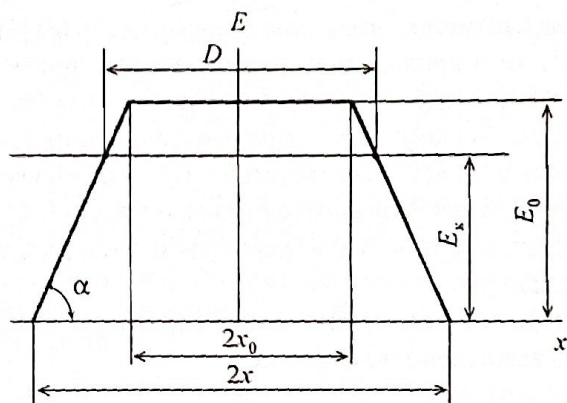


Рис. 2. Теоретическая кривая светораспределения при равномерном светящемся теле источника света.

тораспределение не может быть приемлемым, тем не менее при темнопольном освещении имеет место критическое освещение, но благодаря aberrационным характеристикам конденсора, например эпизеркала, структура изображения СТ сглаживается.

Использование ЛР в ОУ также позволяет “размыть” структуру СТ, сохранив необходимые условия для реализации освещения по методу Келера.

В этом случае в плоскости апертурной диафрагмы конденсора ϕ_k формируется мультиплицированное изображение СТ источника света. При анализе действия ОУ на рассматриваемой стадии расчета светораспределение по поверхности СТ источника света типа лампы накаливания может быть представлено в виде шпальной миры с прямоугольным распределением яркости в поперечном сечении шпалы или каким-либо иным, например

$$q(x) = |\cos 2\pi f_0 x| \text{rect}(x/l), \quad (8)$$

где f_0 – пространственная частота, l – размер СТ источника света (l кратно $1/f_0$).

Вернемся к рис. 1б, на котором приведена принципиальная оптическая схема ОУ, использованная при проектировании ОУ микроскопа типа МЕТАМ-ЛВ. Действие полевой диафрагмы может быть проиллюстрировано с помощью рис. 2. Значение величины E_k определяет освещенность на краю освещаемого поля и может быть определено по формуле

$$E_k = E_0(2x - D)/2l\beta, \quad (9)$$

где D – диаметр ПД, а крутизна спада освещенности определяется углом α , очевидно,

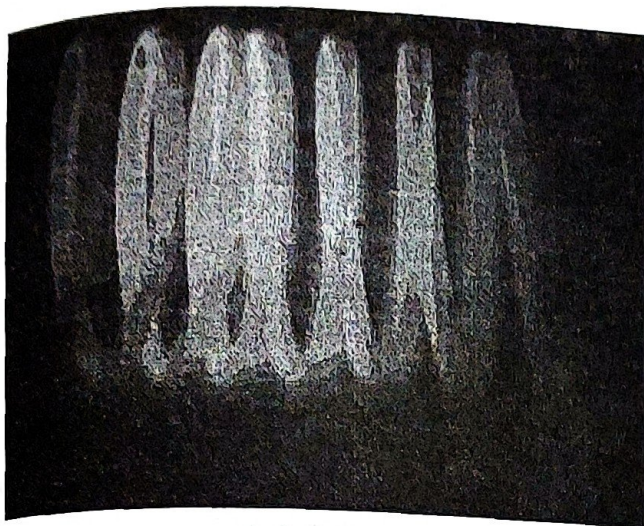
$$\text{tg}\alpha = E_0/l\beta. \quad (10)$$

Площадь под кривой $E(x)$ на рис. 2 можно понимать как световой поток освещающего пучка, поэтому энергетические потери при диафрагмировании η можно определить по формуле

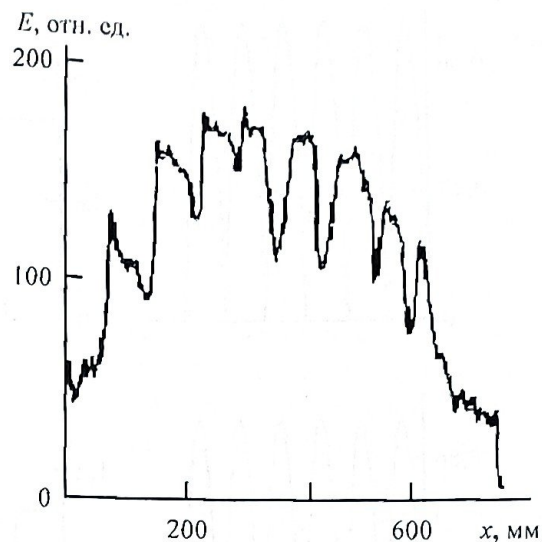
$$\eta = 1 - (S_n/S), \quad (11)$$

где $S = E_0(x + x_0)$ и $S_n = S - E_k(2x - D)/2$.

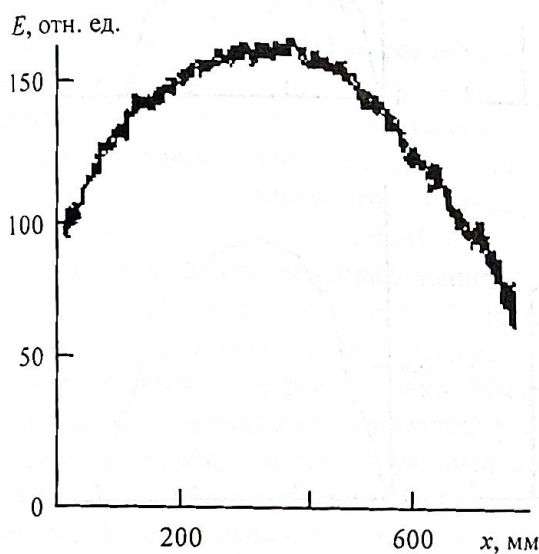
(а)



(б)



(в)



(г)

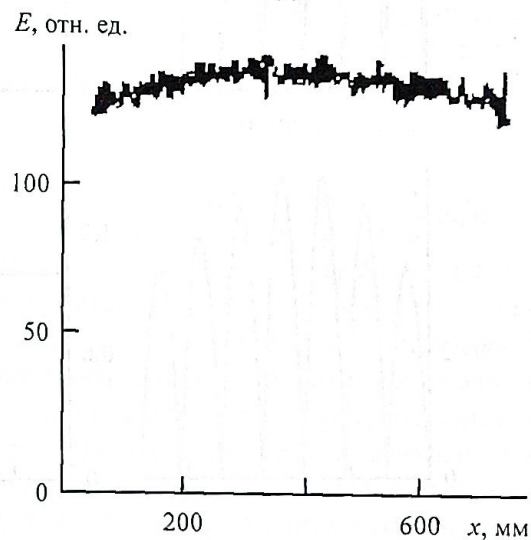


Рис. 3. а – изображение светящегося тела источника света; б – экспериментальная кривая светораспределения в изображении СТ в ОУ без рассеивателя; в, г – экспериментальные кривые светораспределения в изображении СТ в ОУ с рассеивателем с апертурой 0,02 (в) и 0,05 (г).

Коэффициент η можно сравнить с коэффициентом виньетирования по диаметру, который незначительно отличается от коэффициента виньетирования по площади [8]. На стадии габаритного расчета величины η достаточно.

Из (7) и (8) следует, что $h(x)$ и $q(x)$ – периодические функции, а наша задача заключается в создании на объекте светораспределения, близкого к равномерному, т.е. кривая $E(x)$ должна быть гладкой. Оценим порядок величин. Из (7) следует, что в $h(x)$ в точках освещаемого поля с координатами $\pm m(\lambda/X)f'_k$ будут максимальные значения интенсивности ($|m| = 0, 1, 2, \dots$). Количество максимумов интенсивности $(2m + 1)$ на поле размером $2f'_k \text{tg} \sigma'_p$ определяется по формуле

$$2m + 1 = 2X \text{tg} \sigma'_p / \lambda,$$

и при $X = 0,5 \text{ мм}$, $\text{tg} \sigma'_p \approx 0,02$, $\lambda = 600 \text{ нм}$ с точностью до целого $2m + 1 \approx 33$. Количество максимумов интенсивности в $q(x)$ для ламп накаливания (рис. 3а) гораздо меньше, в данном случае равно 7 и на один максимум $q(x)$ приходится около 5 максимумов $h(x)$, что при расчете $E(x)$ по формуле (2) позволяет в (7) пренебречь множителем в фигурных скобках. Из этого же соотношения между количеством максимумов $h(x)$ и $q(x)$ следует, что ЛР с такой апертурой ЛЭР позволит “размыть” периодическую структуру СТ источника света.

Для этого необходимо выполнить условие, если для $q(x)$ справедлива формула (7)

$$2f'_k \text{tg} \sigma'_p \geq 1/f'_0, \quad f'_0 = 1/X_0,$$

где X_0 – шаг витков изображения спирали СТ источника света.

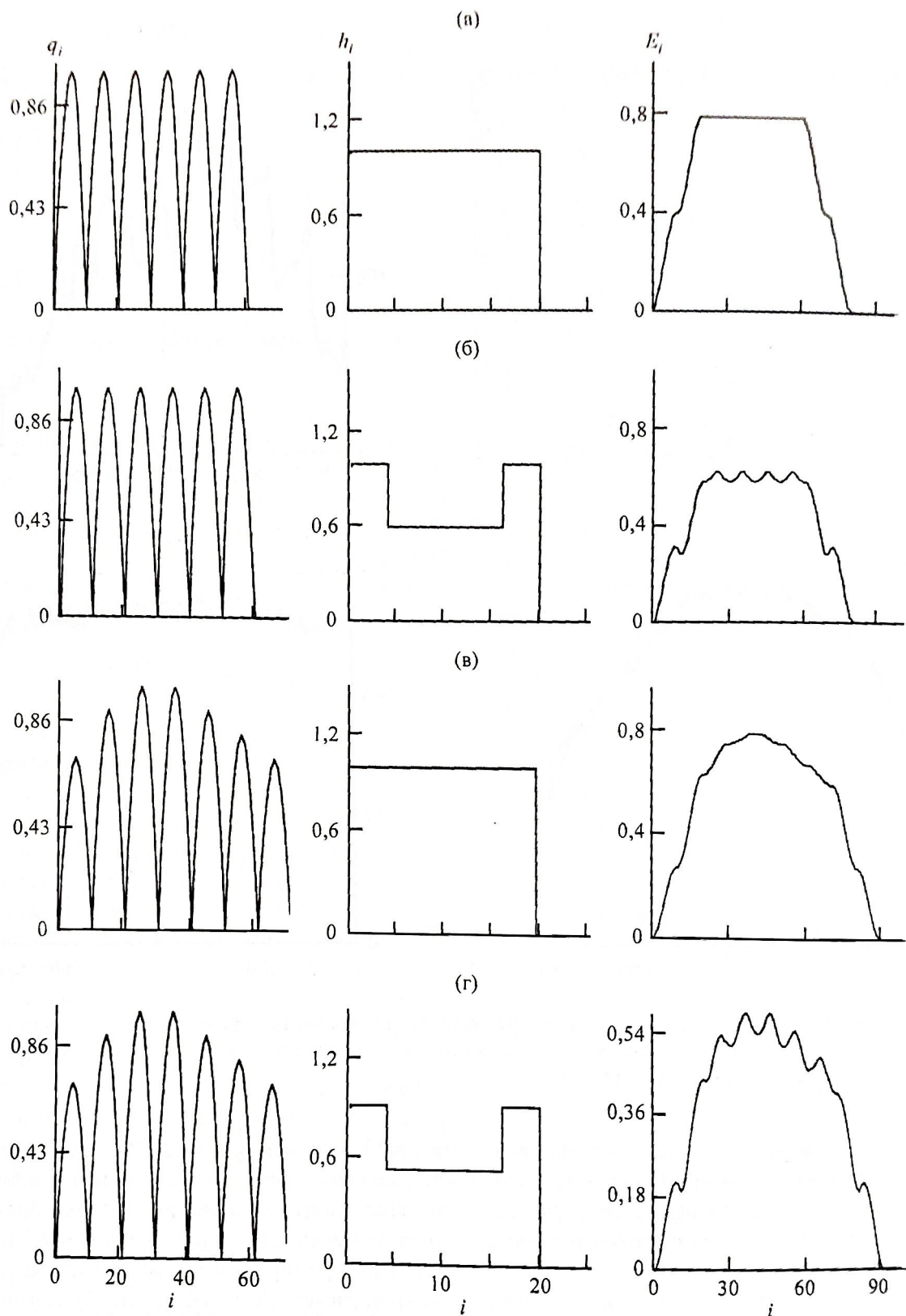


Рис. 4. Кривые светораспределения, полученные с помощью численного метода, при равной интенсивности светораспределения в изображении витков спирали СТ при равномерной ФРТ РОУ (а), при пиках на краях ФРТ РОУ (б); при неравномерном распределении в изображении витков спирали СТ при равномерной ФРТ РОУ (в) и при пиках на краях ФРТ РОУ (г).

Отсюда становится очевидной формула для вычисления c :

$$c \leq M/2, \quad (12)$$

где M — число витков в лампе. В нашем случае $c \leq 3,5$.

С другой стороны, значение c ограничивается условием устранения интерференционной картины из [3]

$$|\beta| \geq (\lambda/\lambda') f_n^*, \quad (13)$$

которое после ряда преобразований приходит к виду

$$c = l\beta/2f_k' \operatorname{tg} \sigma_p' \geq \lambda/2X \operatorname{tg} \sigma_p', \quad (14)$$

и при $\operatorname{tg} \sigma_p' \approx 0,02$ и $X = 0,5$ $c \geq 0,03$.

Область значений c может быть сужена, если с учетом (8) условие (13) отнести не ко всему СТ, а лишь к отдельному витку спирали, тогда правая часть (14) должна быть умножена на M и при $M = 7$ $c \geq 0,21$. Отметим, что в [9] эту величину для микроскопа определяют как $c \geq 0,25$. Из [1] соотношение между $2x$ и $2x_0$ имеет вид

$$2x_0 = 2x(c - 1)/(c + 1). \quad (15)$$

Откуда для крайних значений c имеем: при $c = 3,5$ $2x_0 \approx 1,11x$ и при $c = 0,25$ $2x_0 \approx 1,2x$, а при $c = 0,03$ $2x_0 \approx 1,88x$. Проверим это численным методом, решая (2) с учетом (7) и (8).

На рис. 4 приведены графики исходных функций $q(q(x))$, $h(h(x))$ и результат их свертки $E(E(x))$. В первом и втором случаях $h(x)$ имеет область существования, равную удвоенному шагу функции $q(x)$, но в первом она была постоянна во всей области, а во втором имела скачки на краях, которые в [7] определялись на основании теории катастроф. В обоих случаях в ходе кривых $E(x)$ просматривается трапецеидальное светораспределение, но во втором в зоне равномерного освещения ($2x_0$) заметно колебание значений $E(x)$, которое легко устраняется за счет небольшой дефокусировки. Мы рассматривали дефокусировку как уширяющий фактор [10], вводя в (2) вторую свертку с функцией, которую для простоты рассматриваем как прямоугольный импульс. Возвращаясь к рис. 4, следует отметить, что мы не учитываем действие нормирующих множителей, которые определяются из закона сохранения энергии. Из этого следует, что площади под кривыми $q(x)$ и $E(x)$ с учетом нормирующих множителей должны быть одинаковыми.

На рис. 3в приведена кривая, определяющая светораспределение в реальном изображении СТ источника света $q(x)$. Интенсивность в изображении витков СТ падает от центра к краю, что можно объяснить как особенностью свечения СТ, так и виньетированием оптической системы, стоящей между лампой и телекамерой, на которой фиксировалось изображение. Попутно отметим, что ОУ строилось по схеме, представленной на рис. 1, а изображение освещаемой зоны с помощью микрообъектива формировалось на матрице ПЗС-телекамеры. Формат матрицы составил $1/3''$, и ее размером определялся размер ПД в схеме по рис. 1б.

На рис. 3в, 3г приведены кривые $E(x)$ при значениях апертур ЛЭР, равных 0,02 и 0,05 соответственно. Из рис. 3в видно, что ЛР полностью сглаживает ход кривой $q(x)$ (рис. 3б), повторяя ход ее

оггибающей, и если бы интенсивность СТ по виткам была постоянной, то было бы получено равномерное светораспределение. Здесь ПЗС-матрица не ограничивает размер освещаемого поля $2x$, а при работе с ЛР, имеющим апертуру 0,05, ограничение имеет место. Из рис. 3г видим, что светораспределение заметно выравнивается, но падает значение освещенности. Введение ЛР с апертурой 0,02 приводит к уменьшению максимального значения освещенности на 11%, а при апертуре ЛР 0,05 максимальное значение освещенности падает на 23% по сравнению с максимальным значением освещенности в изображении светящегося тела (рис. 3б). При затягивании ПД, которое обеспечивает падение освещенности от центра к краю 50%, потери в соответствии с формулой (11) составляют 12%. Результат был получен численным интегрированием кривой.

На рис. 4в, 4г введена неравномерность светораспределения по виткам СТ в соответствии с ходом кривой $q(x)$ на рис. 3б. Из сравнения рисунков видно, что кривые достаточно точно повторяют друг друга по рис. 4в.

Кривые светораспределения, приведенные на рис. 3б, были получены экспериментально, а кривые по рис. 4 – численными методами, реализующими средствами "MathCAD" решение уравнения (2) с заданием $q(x)$ и $h(x)$ того или иного вида. И то, что результаты близки, говорит о достаточной для начальной стадии расчета микроскопа надежности методики. Одновременно можно сказать и о близости полученных результатов с использованием формул (4)–(6), (9)–(15), что также подтверждается практикой ОАО ЛОМО.

Формула (2) носит общий характер в теории образования изображения, поэтому результаты могут быть использованы не только для расчета РОУ, позволяя определять вид $q(x)$ и $h(x)$ в соответствии с решаемой задачей. Например, включив в рассмотрение микрообъектив, тубусную линзу и пр. в дополнение к $\Phi_{\text{кол}}$ и Φ_k (рис. 1), можно проанализировать светораспределение в плоскости полевой диафрагмы окуляра визуального канала микроскопа или в плоскости регистрации изображения фото- или телеканала.

ЛИТЕРАТУРА

1. Калинина О.Д., Натаровский С.Н. Линейное увеличение центрированной части оптической системы растрового осветителя // ОМП. 1990. № 3. С. 37–40.
2. Рождественский Д.С. Избранные труды. М.–Л.: Наука, 1964. 490 с.
3. Борн М., Вольф Э. Основы оптики. М.: Наука, 1970. 855 с.

4. Калинина О.Д., Селезнева Т.Ф., Натаровский С.Н. Растровые осветительные устройства для простейших моделей биологических микроскопов // Оптический журнал. 1997. Т. 64. № 9. С. 56–59.
5. Папулис А. Теория систем и преобразований в оптике. М.: Мир, 1971. 495 с.
6. Хваловский В.В., Натаровский С.Н., Наливайко В.И. Осветительное устройство с оптическим квантовым генератором в качестве источника света // Изв. вузов СССР. Приборостроение. 1978. Т. 21. № 6. С. 94–101.
7. Корнейчик В.Л. Дифракционные эффекты в осветителе с линзовым растром // Оптический журнал. 2000. Т. 67. № 11. С. 83–87.
8. Русинов М.М. Техническая оптика. Л.: Машиностроение, 1979. 498 с.
9. Слюсарев Г.Г. Методы расчета оптических систем. Л.: Машиностроение, 1969. 670 с.
10. Зейдель А.Н., Островская Г.В., Островский Ю.И. Техника и практика спектроскопии. М.: Наука, 1972. 375 с.

