Фізичні основи, принципи та методи реєстрації даних

УДК 681.785.66; 681.7.013.82; 681.723.72

В. Н. Боровицкий

ТОВ «Інформаційні програмні системи» ул. Боженко, 15, 03680 Киев, Украина

Измерение функции рассеяния линии оптического микроскопа

Предложена методика экспериментального измерения функции рассеяния линии оптической системы микроскопа, которая основывается на использовании оптимальной линейной пространственной фильтрации цифрового изображения полуплоскости. Представлены функции рассеяния линии типовых оптических систем микроскопов, измеренные экспериментально по предложенной методике. Выполнен сравнительный анализ экспериментальных и теоретически рассчитанных функций рассеяния линии.

Ключевые слова: оптический микроскоп, пространственная разрешающая способность, функция рассеяния линии, цифровое изображении, измерение.

Введение

Известно, что достижение максимально возможной пространственной разрешающей способности (ПРС) является важнейшей задачей оптической микроскопии [1]. Характеристиками ПРС оптической системы (ОС) микроскопа являются функция рассеяния точки (ФРТ) и функция рассеяния линии (ФРЛ) [2]. Теоретические методы определения ФРТ и ФРЛ ОС достаточно подробно рассмотрены в литературе, и связь между ними известна [3–6]. Использование ФРЛ для оценивания ПРС ОС обеспечивает большее отношение сигнал/шум и является предпочтительным по сравнению с использованием ФРТ [2, 7]. Но и экспериментальное измерение ФРЛ, тем не менее, связано со значительными техническими трудностями, особенно в условиях многочисленных научных лабораторий и на производстве [7–9]. Поэтому существует острая необходимость в создании такой инженерной методики экспериментального измерения ФРЛ, которая в силу ее простоты и экономичности сможет широко использоваться в научных и производственных лабораториях.

© В. Н. Боровицкий

Сравнительный анализ экспериментальных методов оценивания пространственной разрешающей способности

Известные методики экспериментального оценивания ПРС можно разделить на несколько основных групп.

- 1. Определение ПРС по контрасту изображения штриховой миры [2, 7, 8]. Недостатками этой методики являются необходимость использования дорогих тест-объектов, таких как тест-объект Ричардсона, USAF, NBS или других, стоимостью порядка 1000 долларов США и выше [10, 11].
- 2. Непосредственное измерение ФРТ ОС микроскопа с использованием измерительного оптического микроскопа с существенно большей числовой апертурой [8]. Главным ограничением этой методики является невозможность ее применения для измерения ФРТ высокоапертурных ОС.
- 3. Непосредственное измерение ФРЛ как изображение объекта в виде тонкой линии [2]. Недостатками этой методики также является необходимость приобретения дорогих специализированных тест-объектов, а также значительные погрешности измерений из-за малого отношения сигнал/шум [2].
- 4. Регистрация функции рассеяния полуплоскости (ФРП) и вычисление ФРЛ методом пространственного дифференцирования [2]. К достоинствам этой методики следует отнести отсутствие необходимости в дорогих тест-объектах.
- 5. Интерференционные методы также могут быть использованы для оценки качества изображения, формируемого ОС [2, 7]. Однако применение таких методов требует наличия дорогостоящих специализированных интерферометров и компьютерных программ для анализа интерференционных картин [2, 7].

Выполненный сравнительный анализ методик экспериментального измерения ФРЛ показывает, что наиболее предпочтительной для массового применения является методика регистрации ФРП и вычисление ФРЛ методом пространственного дифференцирования. Однако ее широкое распространение сдерживается отсутствием математического аппарата, который должен обеспечить высокую точность вычисления ФРЛ. Поэтому целью данной работы является создание такой методики измерения ФРЛ, которая обеспечивает максимально возможную точность измерения за счет применения научно обоснованных процедур получения и обработки цифровых изображений полуплоскости.

Математический аппарат для вычисления функции рассеяния линии

Известно, что для получения Φ РЛ необходимо выполнить пространственное дифференцирование Φ РП [4–6]. Математически это может быть записано как в терминах пространственных координат, так и в терминах пространственных спектров [5]:

$$H_{L}(\upsilon_{X}) = F(h_{L}(x)) = F\left(\frac{dh_{P}(x)}{dx}\right) = H_{P}(\upsilon_{X}) \cdot i \cdot \upsilon_{X} =$$

$$= F(1(x)) \cdot H_{L}(\upsilon_{X}) \cdot i \cdot \upsilon_{X} = \frac{1}{i \cdot \upsilon_{X}} \cdot H_{L}(\upsilon_{X}) \cdot i \cdot \upsilon_{X} = H_{L}(\upsilon_{X}),$$
(1)

$$h_L(x) = \frac{dh_P(x)}{dx} = \frac{d(1(x) * h_L(x))}{dx},$$

где $h_L(x)$, $H_L(v_x)$ — ФРЛ как функция пространственных координат x и ее пространственный спектр как функция пространственных частот v_x соответственно;

 $h_P(x)$, $H_P(v_x)$ — ФРП как функция пространственных координат x и ее пространственный спектр как функция пространственных частот v_x соответственно;

1(x) — единичная функция; i — мнимая единица: $i^2 = -1$; F — символ операции преобразования Фурье; * — символ операции свертки.

При регистрации цифрового изображения ФРП всегда стараются обеспечить минимальный период пространственной дискретизации для наиболее точного определения формы ФРП [9]. В результате полоса пропускания ОС микроскопа в области пространственных частот может быть существенно меньше пространственной частоты Найквиста для цифровой камеры, которая используется для регистрации ФРП [9]. Математически это может быть записано для плоскости предмета ОС следующим образом [9]:

$$\upsilon_{MAX} = \frac{2 \cdot NA}{\lambda} \ll \upsilon_{N} = \frac{\beta \cdot \beta_{M} \cdot k_{D}}{2 \cdot p_{X}}, \tag{2}$$

где υ_{MAX} , υ_{N} — максимальная пространственная частота пропускания ОС и пространственная частота Найквиста цифровой камеры, записанные для плоскости предмета ОС микроскопа;

NA, λ , β , β_M — числовая апертура, рабочая длина волны, линейное увеличение в цифровом канале оптического микроскопа и линейное увеличение дополнительной ОС в цифровом канале оптического микроскопа соответственно;

 p_X , k_D — пространственный период фоточувствительных элементов цифровой камеры и коэффициент микросканирования, которые задают пространственную дискретизацию в цифровом изображении ФРП соответственно [9].

Известно, что пространственное дифференцирование приводит к усилению высоких пространственных гармоник, которые содержат шумовую составляющую, но могут уже не содержать полезного сигнала [4]. В результате этого уменьшается отношение сигнал/шум и, следовательно, снижается точность измерения ФРЛ. Для устранения этого недостатка задачу восстановления ФРЛ по цифровому изображению ФРП следует рассматривать как задачу определения оптимального линейного пространственного фильтра, который обеспечивает наибольшую точность восстановления размеров и геометрической формы ФРЛ [12].

Для получения решения данной задачи примем следующие допущения, приемлемые с точки зрения инженерной практики [4, 12]:

- 1) в качестве полезного (информационного) выходного сигнала будет рассматриваться ФРЛ дифракционно-ограниченной ОС, оптическая передаточная функция которой определена в диапазоне [$-\upsilon_{MAX}$, υ_{MAX}];
- 2) шумы описываются как стационарные, эргодичные случайные процессы [12]. Пространственный спектр мощности шумов является постоянной величиной

области пространственных частот в диапазоне [$-\upsilon_N$, υ_N]. Другими словами, принято допущение о том, что шум является белым [12];

3) цифровой фильтр для восстановления ФРЛ выбирается в виде пространственного фильтра с коэффициентами вида (-1, -1 ... -1, -1, 1, 1 ... 1, 1), в котором варьируемым параметром будет размер окна фильтра [13]. Первым преимуществом такого цифрового фильтра является то, что он есть сочетанием линейного пространственного фильтра высоких частот (для реализации пространственного дифференцирования) и фильтра низких частот (для подавления шума). Изменяя размер окна, можно добиться требуемого сочетания этих фильтров. Вторым преимуществом этого фильтра является то, что в области низких пространственных частот его функция передачи модуляции (ФПМ) будет монотонной и близкой к линейной функции, что необходимо для получения точных значений ФРЛ [4].

В качестве критерия оптимальности искомого цифрового пространственного фильтра рекомендуется выбрать отношение полезный (информационный) сигнал/шум [12]. То есть искомый фильтр должен обеспечить точное пространственное дифференцирование ФРП в полосе пространственных частот [$-\upsilon_{\text{MAX}}$, υ_{MAX}] [4]. При этом фильтр должен минимизировать шумовую составляющую в диапазоне пространственных частот [$-\upsilon_N$, υ_N].

Математически это может быть определено следующим образом: при использовании оптимального фильтра отношение сигнал/шум должно быть максимальным по сравнению со значением отношения сигнал/шум, которое обеспечивает цифровой фильтр для пространственного дифференцирования (1) с размером окна равным единице [13]. При этом в диапазоне пространственных частот [$-\upsilon_{\text{MAX}}$, υ_{MAX}] отличие между передаточными функциями оптимального фильтра и фильтра для пространственного дифференцирования должно быть очень малым. Это отличие можно характеризовать величиной максимальной относительной ошибки между передаточными функциями, нормированными по значению, на частоте υ_{MAX} (2) (рис. 1).

Запишем условие оптимизации линейного цифрового пространственного фильтра [12]:

$$k_{N}(w_{X}) = \frac{SNR(w_{X})}{SNR(w_{D})} = \frac{\int_{-\upsilon_{MAX}}^{\upsilon_{MAX}} S(\upsilon_{X}) \cdot H_{D}(\upsilon_{X}, w_{X}) \cdot d\upsilon_{X}}{\int_{-\upsilon_{MAX}}^{\upsilon_{MAX}} S(\upsilon_{X}) \cdot H_{D}(\upsilon_{X}, w_{X})|^{2} \cdot d\upsilon_{X}} \xrightarrow{W_{X}} \max$$

$$\frac{\int_{-\upsilon_{MAX}}^{\upsilon_{MAX}} S(\upsilon_{X}) \cdot H_{D}(\upsilon_{X}, w_{D}) \cdot d\upsilon_{X}}{\int_{-\upsilon_{N}}^{\upsilon_{MAX}} S(\upsilon_{X}) \cdot |H_{D}(\upsilon_{X}, w_{D})|^{2} \cdot d\upsilon_{X}}$$

$$(3)$$

при условии:

$$\varepsilon_{L}(w_{X}) = \max_{v_{X} \in [-v_{MAX}, v_{MAX}]} \left(\left| 1 - \frac{H_{D}(v_{X}, w_{X})}{H_{D}(v_{MAX}, w_{X})} \right| \right) \leq \varepsilon_{MAX} \ll 1,$$

где $H_D(\upsilon_X, w_X)$ — передаточная функция искомого линейного цифрового фильтра как функция пространственных координат и размера окна w_X , выраженного количеством дискретных отсчетов (пикселов). Согласно принятому допущению о виде фильтра эта функция рассчитывается следующим образом (рис. 1) (2) [4]:

$$H_{D}(\upsilon_{X}, w_{X}) = K_{D} \cdot \frac{\sin^{2}\left(\pi \cdot \frac{w_{X} \cdot p_{X}}{\beta \cdot \beta_{M} \cdot k_{D}} \cdot \upsilon_{X}\right)}{\left(\pi \cdot \frac{w_{X} \cdot p_{X}}{\beta \cdot \beta_{M} \cdot k_{D}} \cdot \upsilon_{X}\right)^{2}} \cdot (i \cdot \upsilon_{X}) =$$

$$= K_{D} \cdot \sin c^{2}\left(\frac{w_{X}}{2} \cdot \frac{\upsilon_{X}}{\left(\frac{\beta \cdot \beta_{M} \cdot k_{D}}{2 \cdot p_{X}}\right)}\right) \cdot (i \cdot \upsilon_{X}) = K_{D} \cdot i \cdot \upsilon_{X} \cdot \sin c^{2}\left(\frac{w_{X}}{2} \cdot \frac{\upsilon_{X}}{\upsilon_{N}}\right);$$

 $SNR(w_X)$, $SNR(w_D)$ — отношение сигнал/шум на выходе цифрового фильтра с размером окна w_X и на выходе цифрового фильтра для пространственного дифференцирования с размером окна $w_X = w_D = 1$ соответственно;

 $K_N(w_X)$, $\varepsilon_L(w_X)$ — отношение $SNR(w_X)$ к $SNR(w_D)$ и максимальная относительная ошибка между передаточными функциями $S(\upsilon_X)$ и $H_D(\upsilon_X, w_X)$ как функции от размера окна w_X соответственно;

 ε_{MAX} — максимальная допустимая относительная ошибка между передаточными функциями $S(\upsilon_X)$ и $H_D(\upsilon_X, w_X)$;

 $S(\upsilon_X)$ — передаточная функция линейного фильтра для пространственного дифференцирования ФРП в диапазоне пространственных частот [$-\upsilon_{\text{MAX}}$, υ_{MAX}], где присутствует полезный (информационный) сигнал для вычисления ФРЛ (рис. 1):

$$S(\upsilon_{x}) = \begin{cases} i \cdot \upsilon_{x}, \upsilon_{x} \in [-\upsilon_{\text{MAX}}, \upsilon_{\text{MAX}}], \\ 0, |\upsilon_{x}| > \upsilon_{\text{MAX}}, \end{cases}$$

где $G(v_X) = 1$ — пространственный спектр мощности шума равный, согласно принятому допущению, константе; K_D — нормирующий коэффициент.

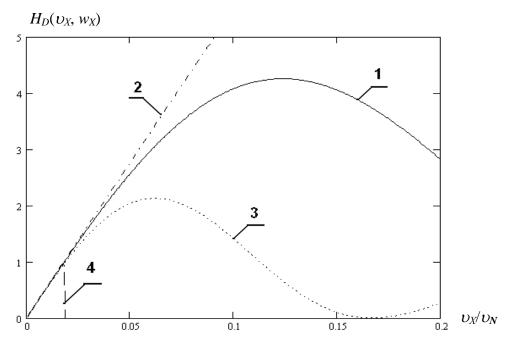


Рис. 1. Графики модуля нормированной передаточной функции цифровых фильтров для ОС микроскопа с микрообъективом $100\times/0.90$: 1 — оптимальный фильтр ($w_X = 6$); 2 — фильтр для пространственного дифференцирования ($w_X = w_D = 1$); 3 — неоптимальный фильтр ($w_X = 12$); 4 — модуль функции $S(v_X)$.

Условие оптимизации (3) при условии $\varepsilon_{\text{MAX}} << 1$ может быть преобразовано и приведено к следующему виду:

$$k_{N}(w_{X}) = \frac{\int_{-\upsilon_{MAX}}^{\upsilon_{MAX}} H_{D}(\upsilon_{X}, w_{X}) \cdot S(\upsilon_{X}) \cdot d\upsilon_{X}}{\int_{-\upsilon_{MAX}}^{\upsilon_{MAX}} H_{D}(\upsilon_{X}, w_{X})^{2} \cdot d\upsilon_{XX}} \approx \frac{\int_{-\upsilon_{MAX}}^{\upsilon_{MAX}} S^{2}(\upsilon_{X}) \cdot d\upsilon_{X}}{\int_{-\upsilon_{MAX}}^{\upsilon_{MAX}} H_{D}(\upsilon_{X}, w_{D}) \cdot S(\upsilon_{X}) \cdot d\upsilon_{X}} \approx \frac{\int_{-\upsilon_{N}}^{\upsilon_{MAX}} S^{2}(\upsilon_{X}) \cdot d\upsilon_{X}}{\int_{-\upsilon_{MAX}}^{\upsilon_{MAX}} S^{2}(\upsilon_{X}) \cdot d\upsilon_{X}} = \frac{\int_{-\upsilon_{MAX}}^{\upsilon_{MAX}} S^{2}(\upsilon_{X}) \cdot d\upsilon_{X}}{\int_{-\upsilon_{N}}^{\upsilon_{MAX}} S^{2}(\upsilon_{X}) \cdot d\upsilon_{X}} = \frac{\int_{-\upsilon_{N}}^{\upsilon_{MAX}} G(\upsilon_{X}) \cdot |H_{D}(\upsilon_{X}, w_{D})|^{2} \cdot d\upsilon_{X}}{\int_{-\upsilon_{N}}^{\upsilon_{N}} G(\upsilon_{X}) \cdot |H_{D}(\upsilon_{X}, w_{D})|^{2} \cdot d\upsilon_{X}} = \frac{\int_{-\upsilon_{N}}^{\upsilon_{N}} |H_{D}(\upsilon_{X}, w_{D})|^{2} \cdot d\upsilon_{X}}{\int_{-\upsilon_{N}}^{\upsilon_{N}} |H_{D}(\upsilon_{X}, w_{D})|^{2} \cdot d\upsilon_{X}} = \frac{\int_{-\upsilon_{N}}^{\upsilon_{N}} |H_{D}(\upsilon_{X}, w_{X})|^{2} \cdot d\upsilon_{X}}{\int_{-\upsilon_{N}}^{\upsilon_{N}} |H_{D}(\upsilon_{X}, w_{X})|^{2} \cdot d\upsilon_{X}} = (4)$$

$$= \frac{\int\limits_{-\upsilon_{N}}^{\upsilon_{N}} \left| K_{D} \cdot i \cdot \sin c^{2} \left(\frac{w_{D}}{2} \cdot \frac{\upsilon_{X}}{\upsilon_{N}} \right) \cdot \upsilon_{X} \right|^{2} \cdot d\upsilon_{X}}{\int\limits_{-\upsilon_{N}}^{\upsilon_{N}} \left| K_{D} \cdot i \cdot \sin c^{2} \left(\frac{w_{X}}{2} \cdot \frac{\upsilon_{X}}{\upsilon_{N}} \right) \cdot \upsilon_{X} \right|^{2} \cdot d\upsilon_{X}} = \frac{\int\limits_{-\upsilon_{N}}^{\upsilon_{N}} \sin c^{4} \left(\frac{1}{2} \cdot \frac{\upsilon_{X}}{\upsilon_{N}} \right) \cdot \upsilon_{X}^{2} \cdot d\upsilon_{X}}{\int\limits_{-\upsilon_{N}}^{\upsilon_{N}} \sin c^{4} \left(\frac{w_{X}}{2} \cdot \frac{\upsilon_{X}}{\upsilon_{N}} \right) \cdot \upsilon_{X}^{2} \cdot d\upsilon_{X}} \xrightarrow{W_{X}} \max$$

при условии:

$$\frac{\sum_{U_{X} \in \left[-\upsilon_{MAX}, \upsilon_{MAX}\right]} \left[\left[1 - \frac{\frac{H_{D}\left(\upsilon_{X}, w_{X}\right)}{H_{D}\left(\upsilon_{MAX}, w_{X}\right)}}{\frac{S\left(\upsilon_{X}\right)}{S\left(\upsilon_{MAX}\right)}} \right] \right] = \frac{1}{\sum_{U_{X} \in \left[-\upsilon_{MAX}, \upsilon_{MAX}\right]} \left[\left[1 - \frac{\frac{1}{\left(K_{D} \cdot i \cdot \sin c^{2}\left(\frac{w_{X}}{2} \cdot \frac{\upsilon_{MAX}}{\upsilon_{N}}\right) \cdot \upsilon_{MAX}\right)}}{\frac{S\left(\upsilon_{X}\right)}{\upsilon_{MAX}}} \cdot \frac{\left(K_{D} \cdot i \cdot \sin c^{2}\left(\frac{w_{X}}{2} \cdot \frac{\upsilon_{X}}{\upsilon_{N}}\right) \cdot \upsilon_{X}\right)}{\frac{S\left(\upsilon_{X}\right)}{\upsilon_{MAX}}} \right]} = \frac{1}{\sum_{U_{X} \in \left[-\upsilon_{MAX}, \upsilon_{MAX}\right]} \left[1 - \frac{1}{\sin c^{2}\left(\frac{w_{X}}{2} \cdot \frac{\upsilon_{MAX}}{\upsilon_{N}}\right)} \cdot \frac{\sin c^{2}\left(\frac{w_{X}}{2} \cdot \frac{\upsilon_{X}}{\upsilon_{N}}\right) \cdot \upsilon_{X}}{S\left(\upsilon_{X}\right)} \right]} \le \varepsilon_{MAX} \ll 1.$$

На рис. 2 представлены графики функций $\varepsilon_L = \varepsilon_L(w_X)$ и $k_N = k_N(w_X)$. Очевидно, что эти зависимости являются монотонными. Ошибка ε_L с увеличением размера окна w_X увеличивается из-за нелинейности ФПМ на участке $[-\upsilon_{\text{MAX}}, \upsilon_{\text{MAX}}]$ (рис. 1, 2). Отношение k_N с увеличением размера окна w_X существенно возрастает из-за того, что полоса пропускания фильтра становится уже, и меньшая доля шумовой составляющей сигнала проходит через эту полосу (рис. 1, 2). Поэтому размер окна w_X оптимального фильтра однозначно определяется из условия $\varepsilon_L(w_X) = \varepsilon_{\text{MAX}}$. Величину ε_{MAX} следует выбрать существенно меньше единицы, для инженерной практики значение $\varepsilon_{\text{MAX}} = 0.01$ является вполне приемлемым.

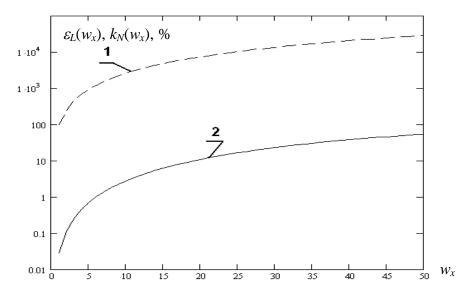


Рис. 2. Графики относительного значения отношения сигнал/шум $k_N = k_N (w_X)$ (1) и максимальной относительной ошибки $\varepsilon_L = \varepsilon_L (w_X)$ (2) как функций от размера окна пространственного фильтра для ОС микроскопа с микрообъективом $100 \times /0,90$

Из графика на рис. 2 следует, что для ОС с микрообъективом $100 \times /0,90$ размер окна оптимального фильтра составляет $w_X = 6$, что обеспечивает выполнение условия $\varepsilon_L(w_X) < \varepsilon_{\text{MAX}} = 0,01$. Приведенные на рис. 1 графики модуля передаточной функции оптимального и неоптимальных фильтров также подтверждают, что увеличение максимальной относительной ошибки и снижение полосы пропускания имеет место при увеличении размера окна фильтра. Для каждого конкретного случая измерения ФРЛ ОС микроскопа величина w_X может быть рассчитана по формулам (3)–(4) методом перебора значений w_X . Следует подчеркнуть, что предложенная процедура определения оптимального фильтра является простой и пригодной для инженерной практики. Очень важно, что такая процедура позволяет получить наиболее точное решение задачи восстановления ФРЛ по цифровому изображению ФРП.

Аппаратное и программное обеспечение для измерения функции рассеяния линии

Предлагаемая методика была применена для измерения ФРЛ ОС универсального контрольного микроскопа JenaTech компании Carl Zeiss Jena. Данный микроскоп имеет высококачественную ОС с бесконечной длиной тубуса, фокусное расстояние тубусной линзы равно 200 мм. Этот микроскоп имеет тринокуляр, позволяющий переключаться между визуальным каналом и цифровым каналом, к которому подключается цифровая камера при помощи соответствующего фототубуса. Используемая цифровая камера Nikon DXM 1200F с микросканированием и высокой чувствительностью позволяет получать высококачественные цветные цифровые изображения размером от 1280×1024 пикселов при низком разрешении и до 3840×3072 пикселов в режиме высокого разрешения [9]. Для автоматизации рутинных операций по наблюдению микрообъектов этот микроскоп

оснащен высокоточными моторизованными платформами для перемещения наблюдаемого образца и моторизованным приводом механизма точной фокусировки (рис. 3, 4).

Для получения цифрового изображения ФРП был применен эталон размеров микрообъектов, который содержал прямоугольники шириной от 1 мкм до 200 мкм. Очевидно, что из-за больших размеров прямоугольников этот тест-объект не может быть использован для непосредственного измерения ФРЛ, но он позволяет получить цифровые изображения полуплоскости. Существенное уменьшение периода пространственной дискретизации обеспечивается введением в оптикоэлектронный тракт дополнительного измерительного оптического микроскопа с конечной длиной тубуса (рис. 4, б). Этот микроскоп устанавливается на фототубус вместо цифровой камеры таким образом, чтобы плоскость предмета измерительного микроскопа располагалась в плоскости матрицы фоточувствительных элементов цифровой камеры. На измерительном микроскопе устанавливается цифровая камера таким образом, чтобы увеличенное изображение проецировалось на ее матрицу фоточувствительных элементов (рис. 4, а). В экспериментах использовался измерительный микроскоп с длиной тубуса 160 мм и микрообъективом 8×/0,20 [2]. Применение этого микроскопа при измерении ФРЛ имеет важное значение. Во-первых, существенно уменьшается период пространственной дискретизации ФРП, что приводит к повышению точности ее регистрации. Во-вторых, это позволяет существенно разделить пространственные спектры полезного (информативного) сигнала и шума, содержащего высокочастотные составляющие, в цифровом изображении полуплоскости, а также при помощи оптимальной пространственной фильтрации более точно выделить полезную составляющую и тем самым повысить точность расчета ФРЛ.

Важнейшим компонентом является разработанное автором программное обеспечение «Magic LSF Meter» для автоматического расчета ФРЛ. Эта программа позволяет получить массив измеренных значений ФРЛ, который дополняется массивами значений ФРЛ и ФРТ, рассчитанных теоретически. Программа генерирует подробный текстовый протокол измерения ФРЛ, который содержит описание исходных данных и файлов, таблицы со значениями ФРЛ, результаты сравнения значений ФРЛ, измеренных экспериментально и рассчитанных теоретически.

Экспериментальные результаты измерения функции рассеяния линии

Экспериментальные измерения ФРЛ ОС микроскопа осуществлялись со следующим набором высококачественных широкопольных микрообъективов планахроматов: $5\times/0,10$, $10\times/0,20$, $20\times/0,40$, $50\times/0,80$, $100\times/0,90$ [2]. Полученные экспериментальные результаты измерения ФРЛ сравнивались с теоретически рассчитанными ФРЛ дифракционно-ограниченных ОС, которыми являются указанные микрообъективы [3, 5, 6]. На рис. 5 представлены графики ФРЛ, которые получены в результате оптимальной пространственной фильтрации и усреднения большого (не менее 1000) выборок ФРЛ. В таблице приведены результаты расчета ширины нормированных ФРЛ и их сравнение с ФРЛ, рассчитанными теоретически для случая аналогичных дифракционно-ограниченных ОС.

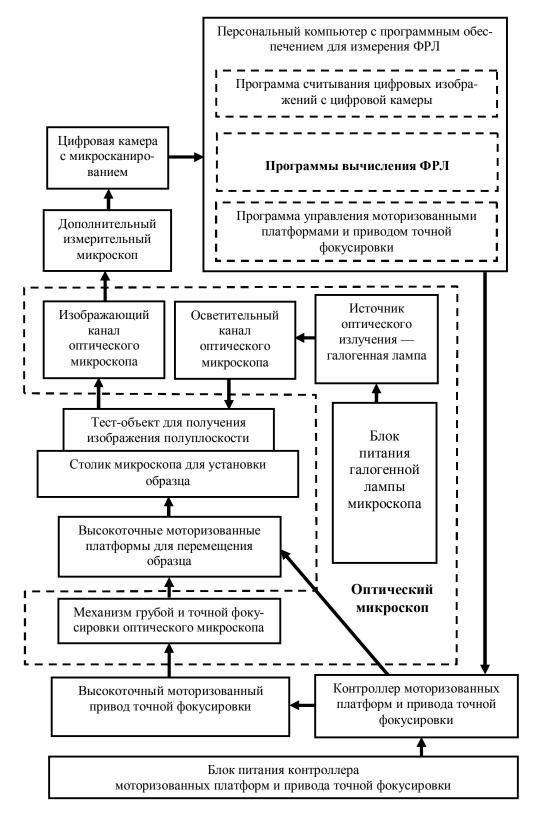


Рис. 3. Структурная схема аппаратно-программного комплекса для измерения ФРЛ оптической системы микроскопа





Рис. 4. Фотографии аппаратно-программного комплекса для измерения ФРЛ оптической системы микроскопа (а) и комплекта деталей измерительного оптического микроскопа (б)

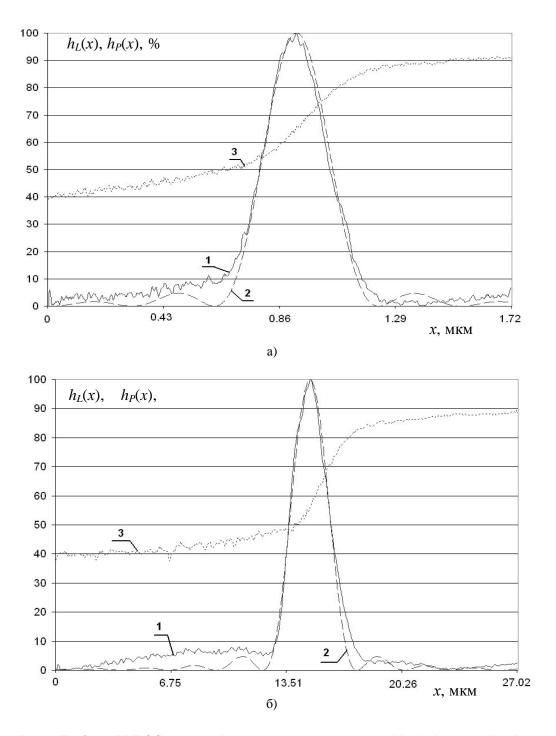


Рис. 5. Графики ФРЛ ОС с микрообъективами планахроматами $100\times /0.90$ (а) и $5\times /0.1$ (б): 1 — экспериментально измеренная ФРЛ; 2 — ФРТ дифракционно-ограниченной ОС; 3 — одно сечение экспериментально измеренной ФРП.

Результаты экспериментальных измерений функции рассеяния линии оптической системы микроскопа

		Плана-	системы микро Плана-	Плана-	Плана-	Плана-
Тип микрообъектива		хромат	хромат	хромат	хромат	хромат
		100×/0,90	50×/0,80	20×/0,40	10×/0,20	5×/0,10
Ширина нормированной ФРЛ на указанных уровнях, мкм	10 %	0,52	1,18	2,15	4,53	0,52
	20 %	0,47	0,95	1,90	3,79	0,42
	30 %	0,40	0,82	1,70	3,29	0,37
	40 %	0,35	0,74	1,50	2,89	0,31
	50 %	0,31	0,65	1,30	2,49	0,26
	60 %	0,27	0,54	1,16	2,21	0,22
	70 %	0,23	0,45	0,99	1,81	0,19
	80 %	0,20	0,38	0,76	1,42	0,15
	90 %	0,09	0,28	0,54	0,91	0,10
Относительное отклонение значений экспериментально измеренной ФРЛ и ФРЛ дифракционноограниченной ОС, %	10 %	-3,37	-15,28	-5,56	-11,11	-15,00
	20 %	-6,41	-4,69	-4,69	-4,69	-5,00
	30 %	-1,43	-3,57	-7,14	-3,57	-4,03
	40 %	1,61	-4,00	-6,00	-2,00	0,00
	50 %	0,00	-,55	-4,55	0,00	3,12
	60 %	2,08	0,00	-7,89	-2,63	5,95
	70 %	0,00	0,00	-9,38	0,00	4,29
	80 %	-9,38	-,85	-3,85	3,85	3,57
	90 %	27,27	-11,11	-5,56	11,11	7,50
Коэффициент корреляции между измеренной ФРЛ и ФРЛ дифракционно- ограниченной ОС		99,45	99,37	96,40	98,56	99,33

Следует обратить внимание на очень высокую степень сходства ФРЛ, измеренных экспериментально и рассчитанных теоретически для ОС микроскопов, которые существенно отличаются по линейному увеличению и числовой апертуре (см. таблицу). Коэффициент корреляции между экспериментальными и теоретическими данными принимает значения не менее 96 %, относительная ошибка измерения ширины нормированной ФРЛ на уровнях от 20 % до 80 % не превышает 10 %, а для большинства измерений относительная ошибка не превышает 12 %. Такая высокая точность была достигнута исключительно благодаря использованию предложенной методики оптимальной пространственной фильтрации.

Таким образом, высокая точность измерения ФРЛ в сочетании с экономичностью и простотой процедуры оценки ПРС ОС микроскопа делает возможным широкое распространение предложенной методики в научных и производственных лабораториях.

Выводы

- 1. Предложена методика экспериментального измерения ФРЛ ОС микроскопа, которая основывается на использовании оптимальной линейной пространственной фильтрации цифрового изображения полуплоскости вместо его пространственного дифференцирования.
- 2. Выполнены экспериментальные измерения ФРЛ высококачественных ОС с микрообъективами планахроматами 5×/0,10, 10×/0,20, 20×/0,40, 50×/0,80, 100×/0,90. Экспериментально полученные результаты измерения ФРЛ этих ОС оказались очень близкими к ФРЛ соответствующих дифракционно-ограниченных ОС: коэффициент корреляции от 96 % до 99 %, относительная ошибка измерения ширины ФРЛ на уровнях 20–80 % не превышает 10 %. Эти данные подтверждают то, что предложенная методика оценки ПРС ОС микроскопов обеспечивает получение достоверных результатов и может быть рекомендована для инженерной практики.
- 1. *Kapitsa H.G.* Mycroscopy from the Very Beginning. 2nd revised edition. Carl Zeiss Jena, 1997 48 p.
- 2. *Иванова Т.А.*, *Кирилловский В.К.* Проектирование и контроль оптики микроскопов. Ленинград: Машиностроение. Ленингр. отд-ние, 1984. 231 с., ил.
- 3. *Борн М., Вольф* Э. Основы оптики: Пер. с англ. С. Н. Бреуса / Под ред. Г. П. Мотулевича. М.: Наука. Гл. ред. физ.-мат. лит., 1973. 720 с.
- 4. *Сороко Л.М.* Основы голографии и когерентной оптики. М.: Наука. Гл. ред. физ.-мат. лит., 1971. 616 с., ил.
- 5. *Mahajan V.N.* Optical Imaging and Aberrations. Part II. Wave Diffraction Optics. Bellingham: SPIE Press, 2001. 464 p.
- 6. Williams C.S., Becklund O.A. Introduction to the Optical Transfer Function. Bellingham: SPIE Press, 2002. 414 p.
- 7. *Шульман М.Я.* Измерение передаточных функций оптических систем. Ленинград: Машиностроение. Ленингр. отд-ние, 1980. 208 с., ил.
- 8. *Кривояз Л.М.*, *Пуряев Д.Т.*, *Знаменская М.А*. Практика измерительной оптической лаборатории. М.: Машиностроение, 1974 332 с.
- 9. *Боровицкий В.Н.* Выбор цифровой камеры для оптического микроскопа // Технология и конструирование радиоэлектронной аппаратуры. 2004. № 1. С. 100-104.
- 10. Purity... Unity...Quality for Microscopy and Histology. Каталог компании Electron Microscopy Sciences. N XIV. Ft Washington: EMS, 2004. 624 p.
- 11. Optics and Optical Instruments. Каталог компании Edmund Industrial Optics. Barrington: Edmund Industrial Optics, 2006. 354 р.
- 12. Шестов М.С. Выделение оптических сигналов на фоне случайных помех. М.: Сов. радио, 1967. 348 с., ил.
- 13. *Шлюфер Е.* Обработка сигналов: цифровая обработка дискретизированных сигналов. К.: Либідь, 1992. 296 с., ил.