



(10) **DE 11 2014 005 466 T5** 2016.08.18

(12)

Veröffentlichung

der internationalen Anmeldung mit der
(87) Veröffentlichungs-Nr.: **WO 2015/098018**
in deutscher Übersetzung (Art. III § 8 Abs. 2 IntPatÜG)
(21) Deutsches Aktenzeichen: **11 2014 005 466.6**
(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/JP2014/006182**
(86) PCT-Anmeldetag: **11.12.2014**
(87) PCT-Veröffentlichungstag: **02.07.2015**
(43) Veröffentlichungstag der PCT Anmeldung
in deutscher Übersetzung: **18.08.2016**

(51) Int Cl.: **A61B 8/14 (2006.01)**
G01N 29/00 (2006.01)

(30) Unionspriorität:
2013-267398 25.12.2013 JP

(71) Anmelder:
OLYMPUS CORPORATION, Tokyo, JP

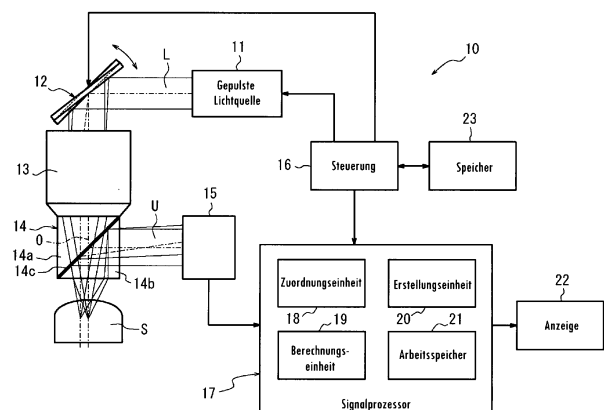
(74) Vertreter:
**Wuesthoff & Wuesthoff, Patentanwälte PartG
mbB, 81541 München, DE**

(72) Erfinder:
Murayama, Yoshiaki, Tokyo, JP

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

(54) Bezeichnung: **Photoakustisches Mikroskop**

(57) Zusammenfassung: Ein photoakustisches Mikroskop (10) umfasst eine Lichtquelle (11), eine Objektivlinse (13), einen Lichttaster (12) einen akustischen Wellendetektor (15) und eine Berechnungseinheit (19). Die Lichtquelle (11) strahlt Anregungslicht aus. Die Objektivlinse (13) fokussiert Anregungslicht innerhalb einer Probe. Der Lichttaster (12) tastet die Probe mit dem Anregungslicht ab. Der akustische Wellendetektor (15) detektiert akustische Wellen. Die Berechnungseinheit (19) verwendet einen Korrelationskoeffizienten, um eine Verschiebung der Wellenform aufgrund einer im Laufe der Zeit auftretende Änderung der photoakustischen Wellen zwischen einer Standardposition und einer Berechnungsposition zu berechnen. Die Berechnungseinheit (19) berechnet die Tiefe von der Standardposition an der Berechnungsposition aufgrund der Verschiebung.



Beschreibung

QUERVERWEIS AUF VERWANDTE ANMELDUNGEN

[0001] Die vorliegende Anmeldung beansprucht die Priorität der japanischen Patentanmeldung Nr. 2013-267398, eingereicht am 25. Dezember 2013, deren gesamte Offenbarung hierin durch Bezugnahme aufgenommen ist.

TECHNISCHER BEREICH

[0002] Diese Offenbarung betrifft ein photoakustisches Mikroskop.

HINTERGRUND

[0003] Photoakustische Wellen sind eine Art elastischer Welle, die während eines thermoelastischen Vorgangs erzeugt werden, der stattfindet, wenn eine Substanz mit Licht in einem Wellenlängenbereich bestrahlt wird, der von der Substanz absorbiert wird. Photoakustische Wellen haben daher Aufmerksamkeit als ein Verfahren für bildgebende Absorptionseigenschaften auf sich gezogen.

[0004] Ein photoakustisches Mikroskop, das photoakustische Wellen als Detektionssignale zu Bildgebungszwecken einsetzt, verwendet als Anregungslicht gepulstes Licht, das einem Wellenlängenbereich entspricht, der von einem unter Beobachtung befindlichen Gegenstand absorbiert wird. Das photoakustische Mikroskop fokussiert das Anregungslicht mit einer Objektivlinse, um innerhalb einer Probe unter Verwendung eines fokussierten Punkts abzutasten, und detektiert dann mit einem Wandler oder dergleichen eine photoakustische Welle, die an jeder Position des fokussierten Punkts erzeugt wird (siehe JP 2011-519281 A (PTL 1)). Mit einem solchen photoakustischen Mikroskop wird während des Abtastens der Probe mit dem fokussierten Punkt eine photoakustische Welle erzeugt, wenn an der Position des fokussierten Punkts eine absorbierende Substanz vorliegt. Daher können durch das Detektieren einer photoakustischen Welle die Absorptionseigenschaften in der Probe abgebildet werden.

LISTE DER BEZUGSVERWEISE

Patentliteratur

[0005]

PTL 1: JP 2011-519281 A

KURZDARSTELLUNG

(Technische Problemstellung)

[0006] Wird ein photoakustisches Mikroskop innerhalb des Bereichs der optischen Tiefe verwendet, die von der Oberfläche der Probe von Licht erreicht wird, kann die Tiefe der absorbierenden Substanz unterhalb der Oberfläche aufgrund der Zeitverzögerung von der Einstrahlung des Lichts bis zum Eintreffen einer photoakustischen Welle am Wandler berechnet werden. Es ist jedoch schwierig, die Berechnungsgenauigkeit der Zeitverzögerung zu erhöhen, da die Form der akustischen Welle kompliziert ist. Insbesondere ist eine Genauigkeit der relativen Tiefe einer Position in der absorbierenden Substanz bezüglich einer anderen Position wünschenswert, es war jedoch schwierig, die relative Tiefe der absorbierenden Substanz mit den gewünschten Genauigkeitsanforderungen zu berechnen.

[0007] Es wäre daher hilfreich, ein photoakustisches Mikroskop bereitzustellen, das die relative Tiefe einer absorbierenden Substanz mit einem hohen Genauigkeitsgrad berechnen kann.

(Problemlösung)

[0008] Ein photoakustisches Mikroskop gemäß der vorliegenden Offenbarung umfasst:
eine Lichtquelle, die Anregungslicht ausstrahlt;
eine Objektivlinse, die so konfiguriert ist, dass sie das Anregungslicht innerhalb einer Probe fokussiert;
einen Lichttaster, der so konfiguriert ist, dass er eine Positionsbeziehung zwischen der Probe und einer fokussierten Position des Anregungslichts ändert, das von der Objektivlinse fokussiert wird;

einen akustischen Wellendetektor, der so konfiguriert ist, dass er eine photoakustische Welle, die aufgrund von Einstrahlung mit dem Anregungslicht von der Probe ausgeht, detektiert; und
eine Berechnungseinheit, die so konfiguriert ist, dass sie einen Korrelationskoeffizienten verwendet, um relativ zu einer im Laufe der Zeit in einer photoakustischen Welle an einer Standardposition, die eine beliebige Position innerhalb eines Abtastbereichs der Probe ist, detektierten Änderung, eine Verschiebung der Wellenform aufgrund einer im Laufe der Zeit in einer photoakustischen Welle an einer Berechnungsposition innerhalb der Probe, die nicht die Standardposition ist, detektierten Änderung zu berechnen, und eine Tiefe der Berechnungsposition von der Standardposition basierend auf der Verschiebung zu berechnen.

(Vorteilhafte Wirkung)

[0009] Es wird daher ein photoakustisches Mikroskop bereitgestellt, das die relative Tiefe einer absorbierenden Substanz mit einem hohen Genauigkeitsgrad berechnen kann.

KURZE BESCHREIBUNG DER ZEICHNUNGEN

[0010] In den begleitenden Zeichnungen zeigen:

[0011] Fig. 1 schematisch die Hauptkonfiguration eines photoakustischen Mikroskops gemäß einer der offenbarten Ausführungsformen;

[0012] Fig. 2 eine grafische Darstellung, die die vom akustischen Wellendetektor in Fig. 1 detektierte Änderung der Intensität der akustischen Welle im Laufe der Zeit zeigt;

[0013] Fig. 3 ein Beispiel für ein Bild, das der Intensitätsverteilung der akustischen Wellen entspricht, die von einer Probe erzeugt werden;

[0014] Fig. 4 eine grafische Darstellung der Wellenform eines Ausgabesignals, das einer Standardposition zugeordnet ist;

[0015] Fig. 5 die Zeitposition des Suchzeitbereichs bezüglich der Zeitposition der Zielzeitdauer an der Standardposition;

[0016] Fig. 6 eine grafische Darstellung der Wellenform eines Ausgabesignals, das einer Berechnungsposition zugeordnet ist;

[0017] Fig. 7 die Beziehung zwischen einer Vielzahl von Zeitpositionen in der Zielzeitdauer der Wellenform, die an der Berechnungsposition extrahiert wurden;

[0018] Fig. 8 eine grafische Darstellung der Änderung des Korrelationskoeffizienten bezüglich der Verzögerungszeit; und

[0019] Fig. 9 eine grafische Darstellung der Lichtintensität bezüglich einer Position in Tiefenrichtung nahe der Position, die der Brennweite des Anregungslichts entspricht.

AUSFÜHRLICHE BESCHREIBUNG

[0020] Im Folgenden werden die Ausführungsformen mit Bezug auf die Zeichnungen beschrieben.

[0021] Fig. 1 zeigt schematisch die Hauptkonfiguration eines photoakustischen Mikroskops gemäß einer der offenbarten Ausführungsformen. Ein photoakustisches Mikroskop **10** lenkt Anregungslicht **L**, das von einer pulsierenden Lichtquelle **11** ausgestrahlt wird, mit einem Lichttaster **12** so um, dass das Anregungslicht **L** durch eine Objektivlinse **13** und einen photoakustischen Wellenreflektor **14** tritt, um das Innere einer Probe **S** als fokussierten Punkt zu bestrahlen. Eine photoakustische Welle **U**, die von der Probe **S** ausgeht, wird vom photoakustischen Wellenreflektor **14** in eine andere Richtung reflektiert als der optische Pfad des Anregungslichts **L** und wird von einem photoakustischen Wellendetektor **15** detektiert.

[0022] Beispielsweise strahlt die gepulste Lichtquelle **11** Anregungslicht **L** mit der Absorptionswellenlänge von Hämoglobin aus, wenn die Probe **S** ein lebender Organismus ist, und Blutgefäße in dem Organismus abgebildet werden sollen. Das Ziel der Beobachtung ist jedoch nicht auf Blutgefäße beschränkt. Diese Offenbarung

kann auch auf das Abbilden endogener Substanzen, wie Melanin, angewendet werden. In diesem Fall wird Licht im Absorptionswellenlängenbereich der zu beobachtenden Substanz als Anregungslicht L verwendet. Diese Offenbarung kann auch auf das Abbilden exogener Substanzen, wie fluoreszierendes Material, Metallnanopartikel und dergleichen, angewendet werden. In diesem Fall wird Licht im Absorptionswellenlängenbereich des angezielten fluoreszierenden Materials oder Licht im Resonanzwellenlängenbereich der angezielten metallischen Nanopartikel als Anregungslicht L verwendet. Liegt in der Probe S eine Vielzahl absorbierender Substanzen vor, wird bevorzugt Licht an der Peakwellenlänge des charakteristischen Absorptionsspektrums des unter Beobachtung befindlichen Gegenstands verwendet. In der gepulsten Lichtquelle **11** wird die Emissionszeiteinstellung des gepulsten Lichts von einer Steuerung **16** gesteuert.

[0023] Der Lichttaster **12** umfasst beispielsweise zwei Galvanometerspiegel, deren Antrieb von der Steuerung **16** synchron mit der Emissionszeiteinstellung der gepulsten Lichtquelle **11** gesteuert wird, so dass das Innere der Probe S von dem fokussierten Punkt des Anregungslichts L zweidimensional abgetastet wird. Da es für den Lichttaster **12** ausreicht, die relative Positionsbeziehung zwischen dem fokussierten Punkt des Anregungslichts L und der Probe ändern zu können, kann der Lichttaster **12** so konfiguriert sein, dass er stattdessen die Position der Probe oder die Position eines Tisches oder dergleichen, auf dem sich der Prüfkörper befindet, ändert.

[0024] Als Objektivlinse **13** werden Linsen mit verschiedenen Brennweiten angemessen ausgewählt und angebracht.

[0025] Der photoakustische Wellenreflektor **14** beinhaltet zwei rechtwinklige Dreiecksprismen **14a** und **14b**, deren geneigten Flächen mittels eines photoakustischen Wellenreflexionselements **14c** miteinander verbunden sind. Das photoakustische Wellenreflexionselement **14c** ist bezüglich des Anregungslichts L durchsichtig und wird auf der Seite der Probe S von einem Element mit einer anderen akustischen Impedanz als das rechtwinklige Dreiecksprisma **14b** ausgebildet, wie beispielsweise Silikonöl oder Luft. Da die Differenz zwischen der akustischen Impedanz des rechtwinkligen Dreiecksprisma **14b** und der akustischen Impedanz des photoakustischen Wellenreflexionselements **14c** eine vorgegebene Beziehung erfüllt, wird die photoakustische Welle U von dem photoakustischen Wellenreflexionselement **14c** reflektiert. Eine nicht dargestellte Linse für akustische Wellen kann auf der Seite der Probe S des rechtwinkligen Dreiecksprisma **14b** angeordnet sein.

[0026] Das Anregungslicht L, das durch die Objektivlinse **13** und den photoakustischen Wellenreflektor **14** tritt, wird auf die Fokussierungsposition der Objektivlinse **13** fokussiert. Die Probe S wird so angeordnet, dass sie mit dem fokussierten Punkt des Anregungslichts L überlappt. Die photoakustische Welle U, die von der Position des fokussierten Punkts des Anregungslichts L in der Probe S ausgeht, fällt auf das rechtwinklige Dreiecksprisma **14b**. An der Grenzfläche zwischen dem geraden Dreiecksprisma **14b** und dem photoakustischen Wellenreflexionsglied **14c** wird die photoakustische Welle U in eine andere Richtung als der optische Pfad des Anregungslichts L reflektiert und tritt aus dem rechtwinkligen Dreiecksprisma **14b** in den photoakustischen Wellendetektor **15** ein. Der Zwischenraum zwischen zumindest der Objektivlinse **13** und der Probe S und zwischen dem rechtwinkligen Dreiecksprisma **14b** und dem photoakustischen Wellendetektor **15** ist vorzugsweise mit einem Übertragungsmedium für photoakustische Wellen, wie Wasser, gefüllt, durch das sich die photoakustische Welle U leicht ausbreitet.

[0027] Der photoakustische Wellendetektor **15** kann beispielsweise ein Wandler sein, der die photoakustische Welle U detektiert, die aus dem rechtwinkligen Dreiecksprisma **14b** austritt. Der photoakustische Wellendetektor **15** gibt die Wellenform der Intensitätsänderung der photoakustischen Welle U im Verhältnis zur Änderung im Laufe der Zeit als Ausgabesignal an einen Signalprozessor **17** aus.

[0028] Der Signalprozessor **17** umfasst eine Zuordnungseinheit **18**, eine Berechnungseinheit **19**, eine Erstellungseinheit **20** und einen Arbeitsspeicher **21**.

[0029] Synchron mit dem Ansteuern des Lichttasters **12** durch die Steuerung **16**, d. h. synchron mit der Einstrahlungszeiteinstellung des Anregungslichts L beim zweidimensionalen Abtasten der Probe S auf einer Ebene, die rechtwinklig zur optischen Achse O der Objektivlinse **13** verläuft, ordnet die Zuordnungseinheit **18** auf Grundlage eines Ausgabesignals, das vom photoakustischen Wellendetektor **15** erhalten wurde, die Einstrahlungsposition des Anregungslichts L dem Ausgabesignal zu. Die Zuordnungseinheit **18** kann auch den Anfang des Ausgabesignals, d. h. den Anfang der Intensitätsänderung der photoakustischen Welle U im Verhältnis zur Änderung im Laufe der Zeit (siehe **Fig. 2**), der Emissionszeit des gepulsten Lichts an der Einstrahlungsposition zuordnen.

[0030] Wie unten beschrieben, berechnet die Berechnungseinheit **19** den Korrelationskoeffizienten zwischen dem Ausgabesignal an der Standardposition und an einer Berechnungsposition, die nicht die Standardposition ist, und berechnet aufgrund dieses Korrelationskoeffizienten die Tiefe an der Berechnungsposition.

[0031] Die Standardposition ist eine Position, an der eine der Substanz an der Berechnungsposition ähnliche Substanz vorliegt, und kann auf eine Position eingestellt werden, die von Licht mit ungefähr der gleichen Intensität bestrahlt wird, wie der des Lichts, das die Berechnungsposition bestrahlt. Ausführlicher ausgedrückt kann die Standardposition auf eine beliebige Position von allen Einstrahlungspositionen des Anregungslichts **L** eingestellt werden. Wie unten beschrieben kann die Standardposition von einem Beobachter eingestellt werden, der ein Zeigegerät, wie eine Maus, verwendet, um eine beliebige Position auf einem Bild zu kennzeichnen, das von der Erstellungseinheit **20** erstellt und auf einer Anzeige **22** angezeigt wird. Durch das automatische Analysieren des Ausgabesignals, das vom photoakustischen Wellendetektor **15** eingeholt wird, kann die Standardposition auf eine Position eingestellt werden, die eine hohe Intensität aufweist. Die Berechnung der Tiefe kann für eine absorbierende Substanz erfolgen, die eine photoakustische Welle **U** erzeugt. Daher kann der Beobachter, wie in **Fig. 3** gezeigt, einen beliebigen Punkt in einem Bild einer absorbierenden Substanz innerhalb eines Bilds **IM** kennzeichnen, das von der Erstellungseinheit **20** als eine Standardposition **SP** erstellt wurde (**Fig. 3**).

[0032] Innerhalb des Ausgabesignals, das der Standardposition **SP** zugeordnet ist, detektiert die Berechnungseinheit **19** den Zeitpunkt des Auftretens der photoakustischen Welle. Wie in **Fig. 4** gezeigt bezieht sich der Zeitpunkt des Auftretens auf den Zeitpunkt, zu dem der Absolutwert der Intensität der photoakustischen Welle **U** in der Wellenform, die dem Ausgabesignal entspricht, einen Schwellenwert überschreitet. Der Schwellenwert kann auf einen beliebigen Wert eingestellt werden, der weißes Rauschen ausschließen kann, das in dem Zustand auftritt, in dem die photoakustische Welle **U** nicht auftritt. Beispielsweise kann der Schwellenwert auf das Dreifache des quadratischen Mittelwerts der Amplitude des weißen Rauschens eingestellt werden, das gewöhnlich beprobt wird.

[0033] Aufgrund des detektierten Zeitpunkts des Auftretens ermittelt die Berechnungseinheit **19** die Zeitposition der Zielzeitdauer an der Standardposition **SP**. Die Zielzeitdauer bezieht sich auf die Zeitdauer, während der ein Teil der Wellenform, die dem Ausgabesignal entspricht, extrahiert wird, um den Korrelationskoeffizienten zu berechnen. Beim Ermitteln der Tiefe der Objektivlinse **13** wird die Zielzeitdauer zuvor so bestimmt, dass sie gleich oder größer als diese Tiefe dividiert durch die Schallgeschwindigkeit ist. Die Tiefe wird als die Tiefe, während einer Art Berek-Fotografie, $\pm \lambda / \text{NA}^2$ verstanden (wobei λ die Wellenlänge des Anregungslichts **L** und **NA** die numerische Apertur der Objektivlinse **13** ist). Die Zeitposition ist eine Koordinate entlang der Zeitkoordinatenachse und gibt eine bestimmte Zeit an. Die Zeitposition der Zielzeitdauer ist so eingestellt, dass die Mitte der Zielzeitdauer mit einer ab dem Zeitpunkt des Auftretens verstrichenen Zeit übereinstimmt, die gleich der Hälfte der gesamten Zielzeitdauer und des Suchzeitbereichs ist. Der Suchzeitbereich wird unten beschrieben. Die Berechnungseinheit **19** extrahiert die Wellenform der Zielzeitdauer an der Standardposition **SP** (siehe Kennzeichnung „**WF_{SP}**“ in **Fig. 4**). Die Zielzeitdauer kann in einem Speicher **23** im Zusammenhang mit der Objektivlinse **13** gespeichert werden.

[0034] Die Berechnungseinheit **19** bestimmt die Zeitposition des Suchzeitbereichs. Der Suchzeitbereich wird nun beschrieben. Wie unten beschrieben vergleicht die Berechnungseinheit **19** die Wellenform **WF_{SP}**, die an der Standardposition **SP** extrahiert wurde, mit der Wellenform an der Berechnungsposition **CP** (siehe **Fig. 3**). Zum Vergleich werden auch Wellenformen innerhalb der Zielzeitdauer an verschiedenen Zeitpositionen aus dem Ausgabesignal extrahiert, das der Berechnungsposition **CP** zugeordnet. Der Suchzeitbereich bezeichnet den Bereich von Zeitpositionen innerhalb des Ausgabesignals an der Berechnungsposition **CP**, an denen Wellenformen, die zum Berechnen des Korrelationskoeffizienten verwendet werden, extrahiert werden. Die Länge des Suchzeitbereichs kann auf einen beliebigen Wert eingestellt werden, der kleiner als der Emissionszyklus des gepulsten Anregungslichts **L** ist. Beispielsweise kann die Länge vorab auf das Doppelte des Ergebnisses aus dem Dividieren der zuvor erwähnten Tiefe der Objektivlinse **13** durch die Schallgeschwindigkeit eingestellt werden. Die Zeitposition des Suchzeitbereichs kann so auf eine Zeit eingestellt werden, dass die Mitte des Suchzeitbereichs mit der Mitte der Zielzeitdauer an der Standardposition **SP** übereinstimmt (siehe **Fig. 5**). Die Länge des Suchzeitbereichs kann im Speicher **23** gespeichert werden.

[0035] An der Berechnungsposition **CP** extrahiert die Berechnungseinheit **19** zuerst eine Wellenform **WF_{CP1}**. Der Anfang der Zielzeitdauer der Wellenform **WF_{CP1}** stimmt mit dem Anfang des Suchzeitbereichs überein (siehe **Fig. 6**). Die Länge der Wellenform **WF_{CP1}** ist vorzugsweise äquivalent zur Länge der Wellenform **WF_{SP}**. Die Berechnungseinheit **19** berechnet den Korrelationskoeffizienten zwischen den extrahierten Wellenformen

WF_{SP} und WF_{CP1} in der Zielzeitdauer an der Standardposition SP und der Berechnungsposition CP. Die Berechnungseinheit **19** speichert den berechneten Korrelationskoeffizienten im Arbeitsspeicher **21**.

[0036] Als Nächstes extrahiert die Berechnungseinheit **19** eine Wellenform in der Zielzeitdauer an der Berechnungsposition CP, indem sie die Zeitposition der Zielzeitdauer um eine Zeiteinheit Δt zurück verschiebt (siehe **Fig. 7**). Die Zeiteinheit Δt kann zuvor auf ein beliebiges Intervall eingestellt werden, beispielsweise das kleinste Zeitintervall des digitalisierten Ausgabesignals. Die Berechnungseinheit **19** berechnet den Korrelationskoeffizienten zwischen der Wellenform an der Standardposition SP und der neu extrahierten Wellenform der Zielzeitdauer an der Berechnungsposition CP. Die Berechnungseinheit **19** speichert den berechneten Korrelationskoeffizienten im Arbeitsspeicher **21**. Die Zeiteinheit Δt kann im Speicher **23** gespeichert werden.

[0037] Anschließend, während gleichzeitig die Zeitposition der Zielzeitdauer an der Berechnungsposition CP verschoben wird, bis das Ende der Zielzeitdauer mit dem Ende des Suchzeitbereichs übereinstimmt (siehe Kennzeichnung E in **Fig. 7**), extrahiert die Berechnungseinheit **19** wiederholt die Wellenform der Zielzeitdauer an der Berechnungsposition CP, berechnet den Korrelationskoeffizienten zwischen der neu extrahierten Wellenform und der Wellenform an der Standardposition SP und speichert den Korrelationskoeffizienten.

[0038] Die Berechnungseinheit **19** liest den im Arbeitsspeicher **21** gespeicherten Korrelationskoeffizienten an jeder einer Vielzahl von Zeitpositionen im Suchzeitbereich. Der Korrelationskoeffizient ist eine Funktion, die durch Gleichung (1) ausgedrückt wird, und gewöhnlich wird eine wie in **Fig. 8** gezeigte Kurve gezeichnet.

$$R(x, y, \tau) = \frac{\sum_{t=t_1}^{t_2} [a(x_b, y_b, t) - a_{ave,b}] \times [a(x, y, t - \tau) - a_{ave}]}{\sqrt{\sum_{t=t_1}^{t_2} [a(x_b, y_b, t) - a_{ave,b}]^2} \times \sqrt{\sum_{t=t_1}^{t_2} [a(x, y, t - \tau) - a_{ave}]^2}} \quad (1)$$

[0039] In Gleichung (1) ist $R(x, y, \tau)$ der Korrelationskoeffizient zwischen der Wellenform der Zielzeitdauer, wobei τ die Zeitposition ist, an der Berechnungsposition CP (Koordinaten x, y) und der Wellenform der Zielzeitdauer an der Standardposition SP (Koordinaten (x_b, y_b)). Außerdem ist $a(x_b, y_b, t)$ die Amplitude an der Standardposition SP (Koordinaten (x_b, y_b)) bei der Zeit t . Der Begriff $a(x, y, t - \tau)$ stellt die Amplitude an der Berechnungsposition CP dar, wenn die Zielzeitdauer eine Zeitposition ist, die um die Zeit τ im Verhältnis zur Zeitposition der Zielzeitdauer der Standardposition SP verschoben wird. Der Begriff t_1 stellt den Anfang der Zielzeitdauer an der Standardposition SP dar, und der Begriff t_2 stellt das Ende der Zielzeitdauer an der Standardposition SP dar. Der Begriff $a_{ave,b}$ stellt die durchschnittliche Amplitude an der Standardposition SP dar. Der Begriff a_{ave} stellt die durchschnittliche Amplitude an der Berechnungsposition CP dar.

[0040] Die Berechnungseinheit **19** berechnet die Differenz zwischen der Zeitposition der Zielzeitdauer an der Berechnungsposition CP und der Zeitposition der Zielzeitdauer der Standardposition SP für den höchsten Korrelationskoeffizienten aus den abgelesenen Korrelationskoeffizienten, und stellt die Differenz als die Verzögerungszeit $\tau_{max}(x, y)$ ein. Durch Multiplizieren der detektierten Verzögerungszeit $\tau_{max}(x, y)$ mit der Schallgeschwindigkeit berechnet die Berechnungseinheit **19** die relative Tiefe der Berechnungsposition CP im Verhältnis zur Standardposition SP an der Berechnungsposition CP. An anderen Berechnungspositionen CP berechnet die Berechnungseinheit **19** die relative Tiefe im Verhältnis zur Standardposition SP auf ähnliche Weise.

[0041] Die Berechnungseinheit **19** detektiert die Zeitposition, für die der Absolutwert der Amplitude des Ausgabesignals, das der Standardposition SP zugeordnet ist, am höchsten ist. Die Berechnungseinheit **19** berechnet die Tiefe der absorbierenden Substanz an der Standardposition SP auf Grundlage dieser Zeitposition, der Zeit der Emission des gepulsten Lichts und der Entfernung des photoakustischen Wellendetektors **15** von der Probenoberfläche. Die Entfernung des photoakustischen Wellendetektors **15** von der Probenoberfläche kann aufgrund der Zeit vom Emittieren eines Signals vom photoakustischen Wellendetektor **15** an die Probenoberfläche bis zum Eintreffen des von der Probenoberfläche zurückkehrenden Lichts beim photoakustischen Wellendetektor **15** berechnet werden.

[0042] Die Berechnungseinheit **19** berechnet die Tiefe jeder Berechnungsposition CP, indem sie die Tiefe der Standardposition SP zu der relativen Tiefe jeder Berechnungsposition CP addiert. Die Berechnungseinheit **19** speichert die berechnete Tiefe im Zusammenhang mit jeder Berechnungsposition CP im Arbeitsspeicher **21**.

[0043] In dem jeder Einstrahlungsposition des Anregungslichts L zugeordneten Ausgabesignal detektiert die Erstellungseinheit **20** das Maximum des Absolutwerts der Amplitude und die Zeitposition, an der das Maximum

vom photoakustischen Wellendetektor **15** detektiert wurde. Die Erstellungseinheit **20** berechnet einen Wert, der dem Maximum des Absolutwerts der Amplitude an jeder Einstrahlungsposition entspricht, als Leuchtdichtewert bei jeder Einstrahlungsposition. Mit anderen Worten erstellt die Erstellungseinheit **20** ein Bild IM (siehe **Fig. 3**), das den detektierten photoakustischen Wellen U und den Einstrahlungspositionen entspricht, die durch ein relatives Änderungsausmaß bezüglich der Probe an der fokussierten Position des Anregungslichts L bestimmt wird; d. h. ein Bild IM, das der Intensitätsverteilung der photoakustischen Wellen U der Probe S aufgrund der Ausgabesignale entspricht. Wie oben beschrieben überträgt die Erstellungseinheit **20** das unten beschriebene, nicht korrigierte Bild IM zum Anzeigen an die Anzeige **22**, um die Standardposition SP zu kennzeichnen.

[0044] Die Erstellungseinheit **20** berechnet den Leuchtdichtewert für die Einstrahlungspositionen jedoch nur so, dass die Zeitposition, an der das Maximum vom photoakustischen Wellendetektor **15** detektiert wird, in einem Zeitbereich liegt, der einer Tiefe entspricht, die das Doppelte der Tiefe von λ/NA^2 ist, und auf die Fokussierungsposition der Objektivlinse **13** zentriert ist. Mit anderen Worten bildet die Erstellungseinheit **20** nur absorbierende Substanzen ab, die in einem Bereich vorliegen, der die doppelte Schärfentiefe der Objektivlinse **13** ist.

[0045] Auf Grundlage der Tiefe der Standardposition SP und der von der Berechnungseinheit **19** berechneten Berechnungsposition CP korrigiert die Erstellungseinheit **20** die Leuchtdichte des Bilds IM in Übereinstimmung mit der Intensitätsverteilung der photoakustischen Wellen U. Die Amplitude der photoakustischen Welle U variiert abhängig von der Lichtintensität, mit der die absorbierende Substanz bestrahlt wird. Wie in **Fig. 9** gezeigt, erreicht die Lichtintensität an der Fokussierungsposition der Objektivlinse **13** ein Maximum und nimmt entsprechend der Entfernung von der Fokussierungsposition ab. Entsprechend nimmt die Intensität der photoakustischen Welle U von einer beliebigen absorbierenden Substanz entsprechend der Entfernung von der Fokussierungsposition ab. Daher führt die Erstellungseinheit **20** für absorbierende Substanzen, die auf einer beliebigen Tiefe vorliegen, Korrekturen aus, so dass das Bild IM auf der photoakustischen Welle U beruht, wenn Licht mit der gleichen Intensität eingestrahlt wird.

[0046] Die Lichtintensität im Verhältnis zum Abstand von der Fokussierungsposition kann anhand einer Punktspreizfunktion (PSF) berechnet werden, die für eine Kombination aus dem Anregungslicht L und der Probe S eindeutig ist. Zur Korrektur liest die Erstellungseinheit **20** aus einer zuvor gespeicherten PSF die Lichtintensität (Kennzeichnung „LI“) ab, die der Differenz in Tiefenrichtung zwischen (i) der Tiefe der Standardposition SP und jeder Berechnungsposition CP (siehe Kennzeichnung „D“) und (ii) der Fokussierungsposition entspricht. Die Erstellungseinheit **20** berechnet einen Korrekturkoeffizienten, indem sie die Lichtintensität an der Fokussierungsposition durch die abgelesene Lichtintensität dividiert. Die Erstellungseinheit **20** führt dann eine Korrektur aus, indem sie den Leuchtdichtewert und der Standardposition SP und an jeder Berechnungsposition CP mit dem Korrekturkoeffizienten multipliziert.

[0047] Eine Korrektur kann auch durchgeführt werden, um die Leuchtdichtewerte aller absorbierenden Substanzen in einer beliebigen Probe S in bestimmte Werte zu konvertieren. Die absorbierende Substanz, die mittels des photoakustischen Mikroskops **10** beobachtet wird, kann ein einziger Typ absorbierender Substanzen in einer beliebigen Probe S sein, wie eine Kapillare unter der Oberfläche der Proben S. Daher kann angenommen werden, dass für Licht mit der gleichen Intensität eine photoakustische Welle U mit der gleichen Intensität erzeugt wird.

[0048] Die Erstellungseinheit **20** stellt den Leuchtdichtewert wie oben beschrieben nur für absorbierende Substanzen ein, die innerhalb eines Bereichs, das heißt, einer Tiefe von λ/NA^2 von der Fokussierungsposition der Objektivlinse **13** vorliegen, insbesondere innerhalb eines Bereichs, der das Doppelte dieser Tiefe ist, um Aberration zu berücksichtigen. Die Erstellungseinheit **20** gibt das Bild IM mit korrigierten Leuchtdichtewerten an die Anzeige **22** zum Anzeigen aus.

[0049] Die Steuerung **16** steuert den Gesamtbetrieb des photoakustischen Mikroskops **10**. Der Speicher **23** ist mit der Steuerung **16** verbunden. Ein Betriebsprogramm und dergleichen für die Steuerung **16** sind nach Bedarf im Speicher **23** gespeichert. Der Speicher **237** kann ein interner Speicher der Steuerung **16** sein.

[0050] Das photoakustische Mikroskop gemäß der oben beschriebenen Ausführungsform kann aufgrund des Korrelationskoeffizienten die Zeitverzögerung des Eintreffens der photoakustischen Welle U am photoakustischen Wellendetektor **15** an der Berechnungsposition CP im Verhältnis zu der photoakustischen Welle U an der Standardposition SP mit einem hohen Genauigkeitsgrad berechnen. Die genaue Zeitverzögerung des Eintreffens und die Tiefe der absorbierenden Substanz sind korreliert. Daher kann in dieser Ausführungsform

die relative Tiefe der absorbierenden Substanz aufgrund der Zeitverzögerung des Eintreffens mit einem hohen Genauigkeitsgrad berechnet werden.

[0051] Das photoakustische Mikroskop dieser Ausführungsform korrigiert das Bild IM aufgrund der Tiefe der absorbierenden Substanz. Daher kann eine Fehlbestimmung des gleichen Typs absorbierender Substanzen als ein anderer Typ absorbierender Substanzen auf Grundlage einer Differenz der Leuchtdichte aufgrund einer Tiefendifferenz verhindert werden.

[0052] Das photoakustische Mikroskop dieser Ausführungsform korrigiert das auf der Tiefe basierende Bild IM auf Grundlage einer PSF, und kann daher die photoakustische Welle U in einem Strahlungszustand durch Licht mit der gleichen Intensität unabhängig von der Tiefe abbilden. Entsprechend kann der Beobachter einen besseren Eindruck vom Zustand der Probe S gewinnen.

[0053] Das photoakustische Mikroskop dieser Ausführungsform führt auch Korrekturen aus, um die Leuchtdichte unabhängig von der Tiefe auf einen konstanten Wert einzustellen. Daher kann eine Fehlbestimmung des gleichen Typs absorbierender Substanzen als ein anderer Typ absorbierender Substanzen verhindert werden. Außerdem ist eine Hochlast-Bildbearbeitung unnötig, da die Einstellung unabhängig von der Tiefe vorgenommen wird.

[0054] Das photoakustische Mikroskop dieser Ausführungsform bildet absorbierende Substanzen ab, die in einem Bereich vorliegen, der das Doppelte der Tiefe der Objektivlinse **13** ist, und ermöglicht somit eine visuelle Bestätigung von absorbierenden Substanzen, die in einem Bereich nahe der Position vorliegen, die der Brennweite entspricht. Absorbierende Substanzen außerhalb dieses Bereichs können abgebildet werden, indem die Fokussierungsposition der Objektivlinse **13** eingestellt wird.

[0055] Das photoakustische Mikroskop dieser Ausführungsform stellt die Leuchtdichte des Bilds IM der absorbierenden Substanzen ein, die im Tiefenbereich der Objektivlinse **13** vorliegen. Daher können absorbierende Substanzen, die in Tiefenrichtung nahe liegen, mit der gleichen Leuchtdichte angezeigt werden. Entsprechend kann der Beobachter zwischen einer Gruppe absorbierender Substanzen, die relativ nahe an der Position liegen, die der Brennweite entspricht, und einer Gruppe absorbierender Substanzen, die relativ weit von der Fokussierungsposition entfernt liegen, visuell unterscheiden.

[0056] Das photoakustische Mikroskop dieser Ausführungsform kann einen Korrelationskoeffizienten berechnen, der die Ähnlichkeit zwischen Wellenformen stark reflektiert, da die Zielzeitdauer auf einen Wert eingestellt ist, der größer oder gleich der Tiefe der Objektivlinse **13** dividiert durch die Schallgeschwindigkeit ist. Infolgedessen kann die relative Tiefe mit einem hohen Genauigkeitsgrad berechnet werden.

[0057] Mit dem photoakustischen Mikroskop dieser Ausführungsform ist die Mittenposition der Zielzeitdauer der Standardposition SP auf eine ab dem Zeitpunkt des Auftretens der photoakustischen Welle U verstrichene Zeit eingestellt, die gleich der Hälfte der gesamten Zielzeitdauer und des Suchzeitbereichs ist. Daher kann die Zielzeitdauer an der Berechnungsposition CP so eingestellt werden, dass sie am oder später als der Zeitpunkt des Auftretens der photoakustischen Welle U an der Standardposition SP liegt. Demnach kann eine unnötige Bearbeitungslast zum Berechnen des Korrelationskoeffizienten vor dem Auftreten der photoakustischen Welle U verhindert werden.

[0058] Es ist anzumerken, dass dem Fachmann aufgrund der in dieser Offenbarung beschriebenen Zeichnungen und Ausführungsformen verschiedene Änderungen und Abwandlungen offensichtlich sein werden. Daher versteht es sich, dass solche Änderungen und Abwandlungen in den Umfang der Offenbarung einbezogen sind.

Bezugszeichenliste

10	Photoakustisches Mikroskop
11	Gepulste Lichtquelle
12	Lichttaster
13	Objektivlinse
14	Photoakustischer Wellenreflektor
14a, 14b	Rechteckiges Dreiecksprisma
14c	Photoakustisches Wellenreflexionselement
15	Photoakustischer Wellenreflektor

16	Steuerung
17	Signalprozessor
18	Zuordnungseinheit
19	Berechnungseinheit
20	Erstellungseinheit
21	Arbeitsspeicher
22	Anzeige
23	Speicher
AM	Bild der absorbierenden Substanz
CP	Berechnungsposition
IM	Bild
L	Anregungslicht
O	Optische Achse
S	Probe
SP	Standardposition
U	Photoakustische Welle
WF_{SP}	Wellenform der Zielzeitdauer an der Standardposition
WF_{CP1}	Wellenform der Zielzeitdauer an der Berechnungsposition

Patentansprüche

1. Photoakustisches Mikroskop, das Folgendes umfasst:
eine Lichtquelle, die Anregungslicht ausstrahlt;
eine Objektivlinse, die so konfiguriert ist, dass sie das Anregungslicht innerhalb einer Probe fokussiert;
einen Lichttaster, der so konfiguriert ist, dass er eine Positionsbeziehung zwischen der Probe und einer fokussierten Position des Anregungslichts ändert, das von der Objektivlinse fokussiert wird;
einen akustischen Wellendetektor, der so konfiguriert ist, dass er eine photoakustische Welle, die aufgrund von Einstrahlung mit dem Anregungslicht von der Probe ausgeht, detektiert; und
eine Berechnungseinheit, die so konfiguriert ist, dass sie einen Korrelationskoeffizienten verwendet, um, relativ zu einer im Laufe der Zeit in einer photoakustischen Welle an einer Standardposition, die eine beliebige Position innerhalb eines Abtastbereichs der Probe ist, detektierten Änderung, eine Verschiebung der Wellenform aufgrund einer im Laufe der Zeit in einer photoakustischen Welle an einer Berechnungsposition innerhalb der Probe, die nicht die Standardposition ist, detektierten Änderung zu berechnen, und eine Tiefe der Berechnungsposition von der Standardposition basierend auf der Verschiebung zu berechnen.
2. Photoakustisches Mikroskop nach Anspruch 1, das weiterhin Folgendes umfasst:
eine Erstellungseinheit, die so konfiguriert ist, dass sie aufgrund einer Vielzahl von Kombinationen einer photoakustischen Welle, die vom akustischen Wellendetektor detektiert wird, und eines relativen Änderungsausmaßes der fokussierten Position des Anregungslichts durch den Lichttaster relativ zur Probe ein Bild erstellt, das einer Verteilung photoakustischer Wellen einer Probe entspricht.
3. Photoakustisches Mikroskop nach Anspruch 2, bei dem die Erstellungseinheit das Bild aufgrund der Tiefe korrigiert.
4. Photoakustisches Mikroskop nach Anspruch 3, bei dem die Erstellungseinheit das Bild aufgrund einer Punktspreizfunktion an einer Position korrigiert, die aufgrund der Tiefe entlang einer optischen Achse von der fokussierten Position der Objektivlinse verschoben wurde.
5. Photoakustisches Mikroskop nach Anspruch 2, bei dem die Erstellungseinheit eine Intensität einer photoakustischen Welle an einer absorbierenden Substanz innerhalb der Probe in einen konstanten Wert konvertiert.
6. Photoakustisches Mikroskop nach einem der Ansprüche 2 bis 5, bei dem die Erstellungseinheit aufgrund der Tiefe das Bild erstellt, das der Verteilung photoakustischer Wellen für eine absorbierende Substanz entspricht, die in der Probe in einem Bereich innerhalb einer doppelten Tiefe der Objektivlinse vorliegt.
7. Photoakustisches Mikroskop nach Anspruch 3 oder 4, bei dem die Erstellungseinheit aufgrund der Tiefe das Bild für eine absorbierende Substanz korrigiert, die in einem Bereich innerhalb einer doppelten Tiefe der Objektivlinse vorliegt.

8. Photoakustisches Mikroskop nach einem der Ansprüche 1 bis 7, bei dem die Berechnungseinheit den Korrelationskoeffizienten in einem Bereich innerhalb der doppelten Tiefe der Objektivlinse berechnet.

9. Photoakustisches Mikroskop nach einem der Ansprüche 1 bis 8, bei dem die Berechnungseinheit den Korrelationskoeffizienten zwischen einer Wellenform der photoakustischen Welle in einer Zielzeitdauer mit einer eingestellten Zeitposition an der Standardposition und einer Wellenform der photoakustischen Welle in der Zielzeitdauer an der Berechnungsposition berechnet, während eine Zeitposition der Zielzeitdauer an der Berechnungsposition innerhalb eines vorgegebenen Suchzeitbereichs verschoben wird, und die Tiefe an der Berechnungsposition aufgrund einer Zeitposition der Zielzeitdauer innerhalb des Suchzeitbereichs berechnet, die den Korrelationskoeffizienten maximiert.

10. Photoakustisches Mikroskop nach Anspruch 9, bei dem die Zielzeitdauer größer oder gleich der Tiefe der Objektivlinse dividiert durch die Schallgeschwindigkeit ist.

11. Photoakustisches Mikroskop nach Anspruch 9 oder 10, bei dem eine Zeitposition einer Mitte der Zielzeitdauer an der Standardposition eine ab dem Zeitpunkt des Auftretens der photoakustischen Welle verstrichene Zeit ist, die gleich der Hälfte der gesamten Zielzeitdauer und des Suchzeitbereichs ist.

Es folgen 9 Seiten Zeichnungen

Anhängende Zeichnungen

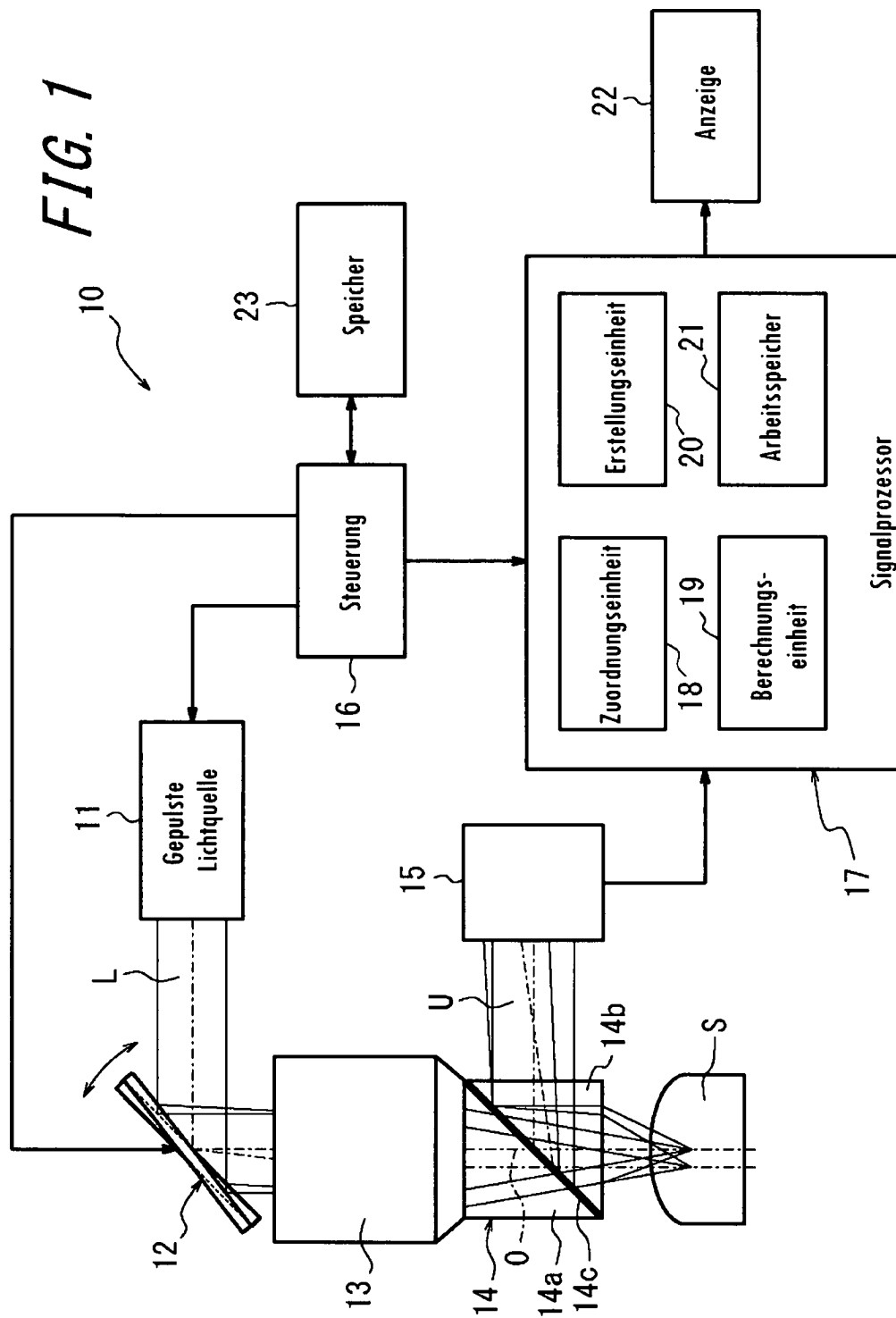


FIG. 2

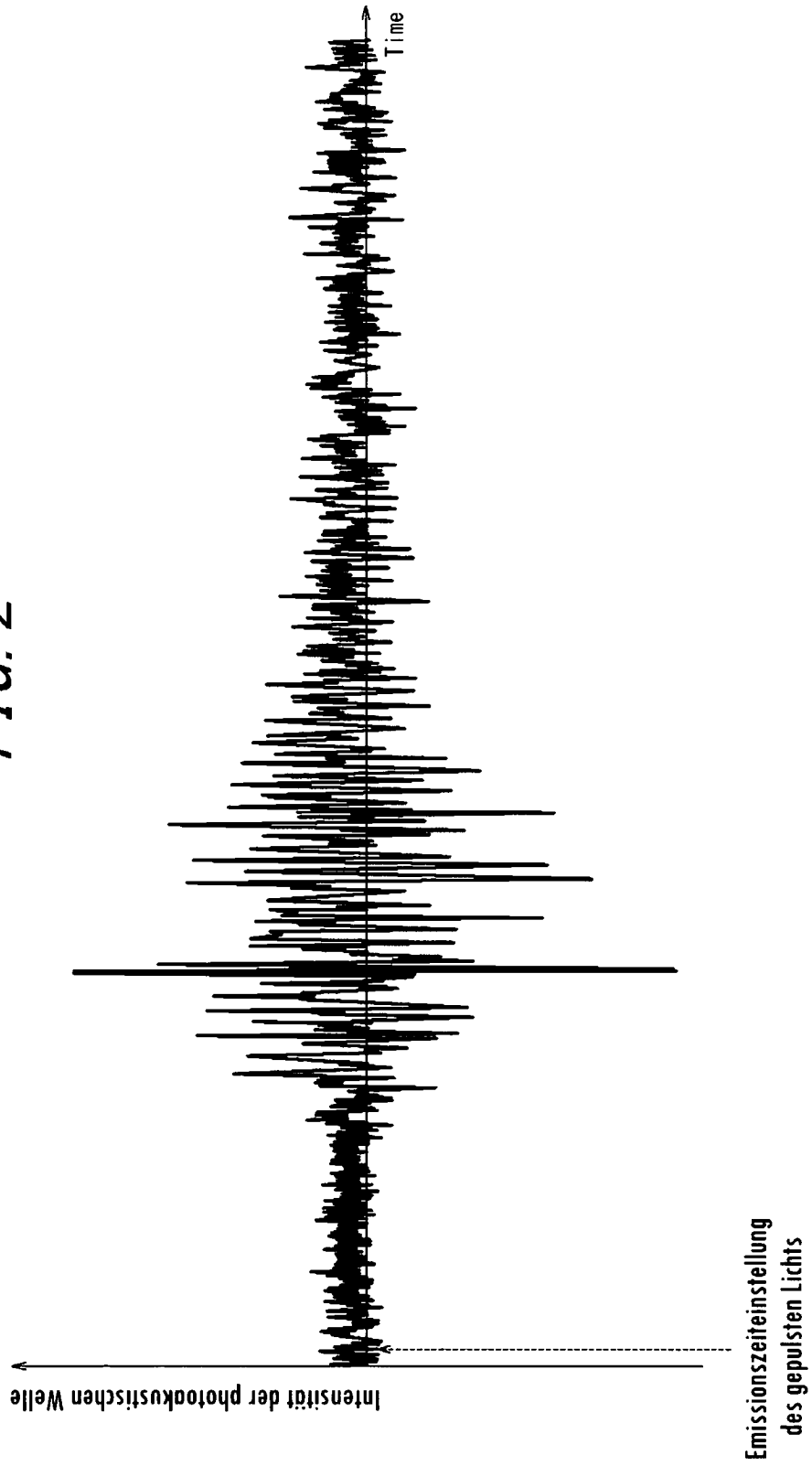
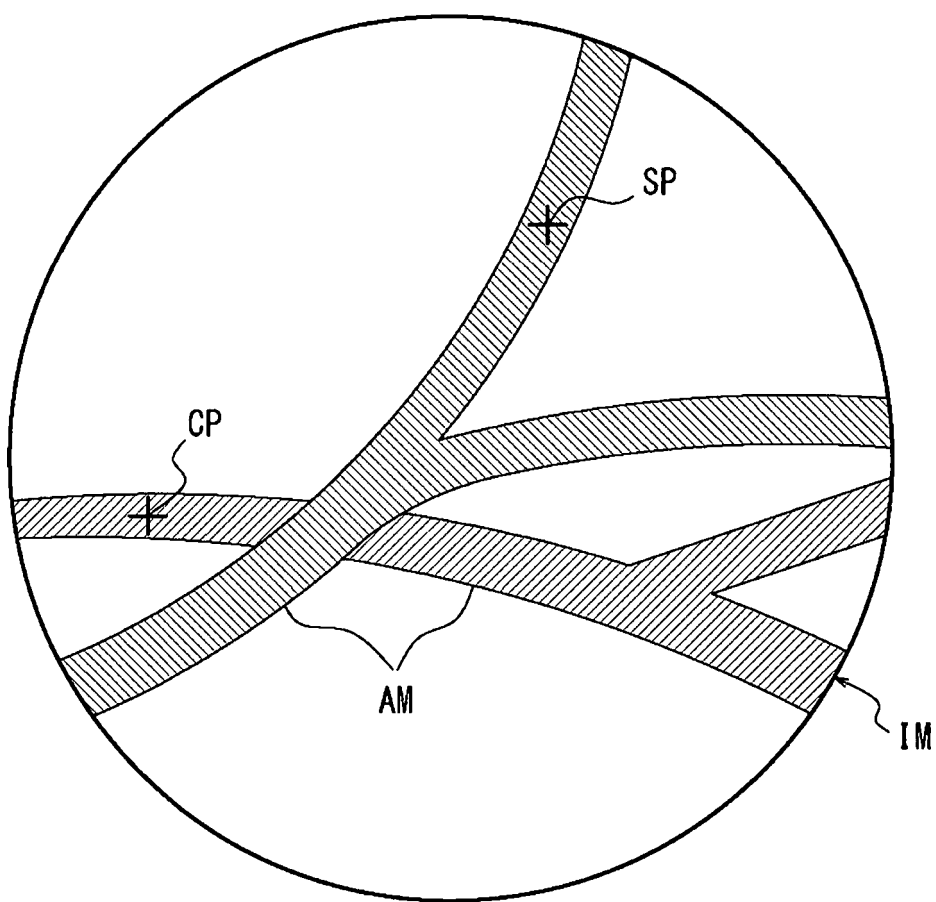


FIG. 3



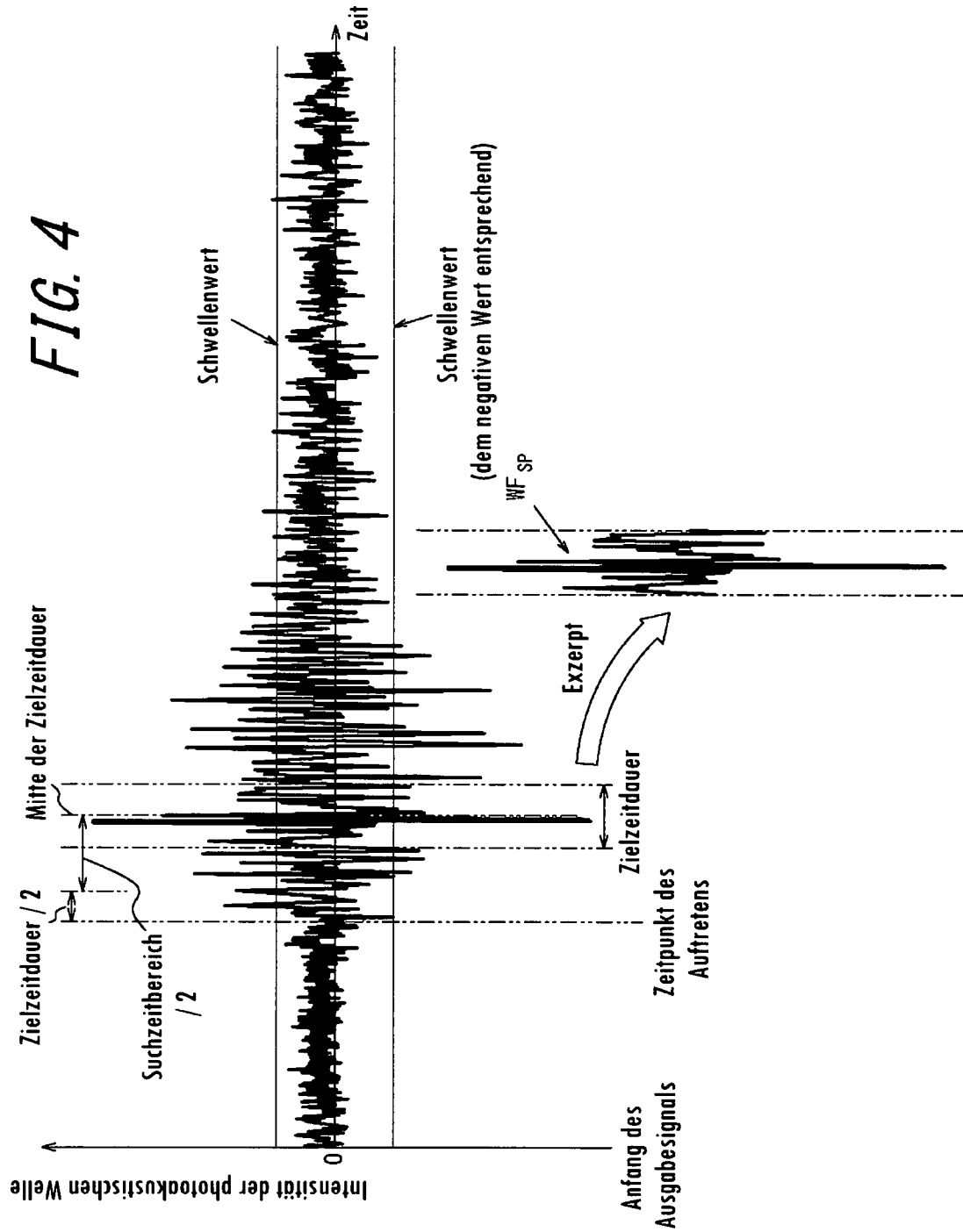
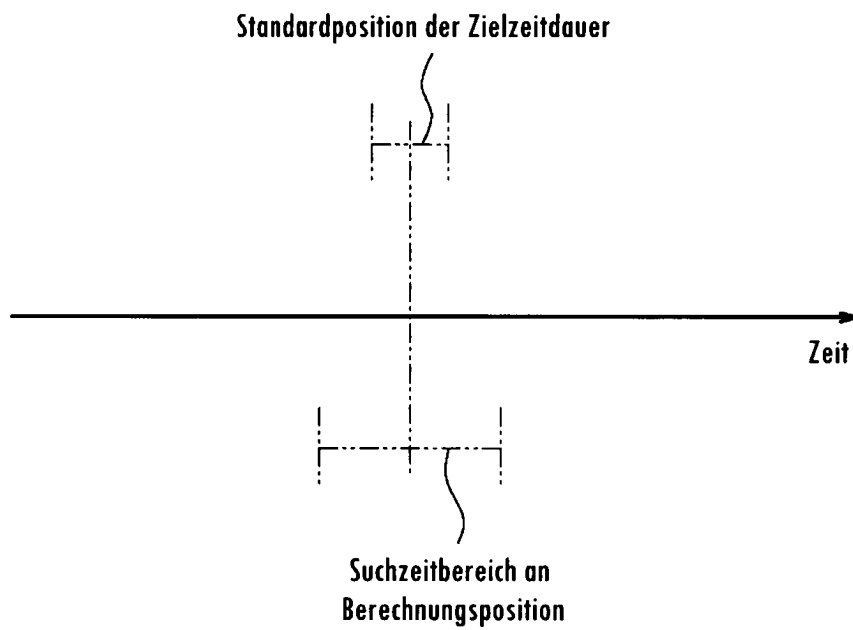


FIG. 5



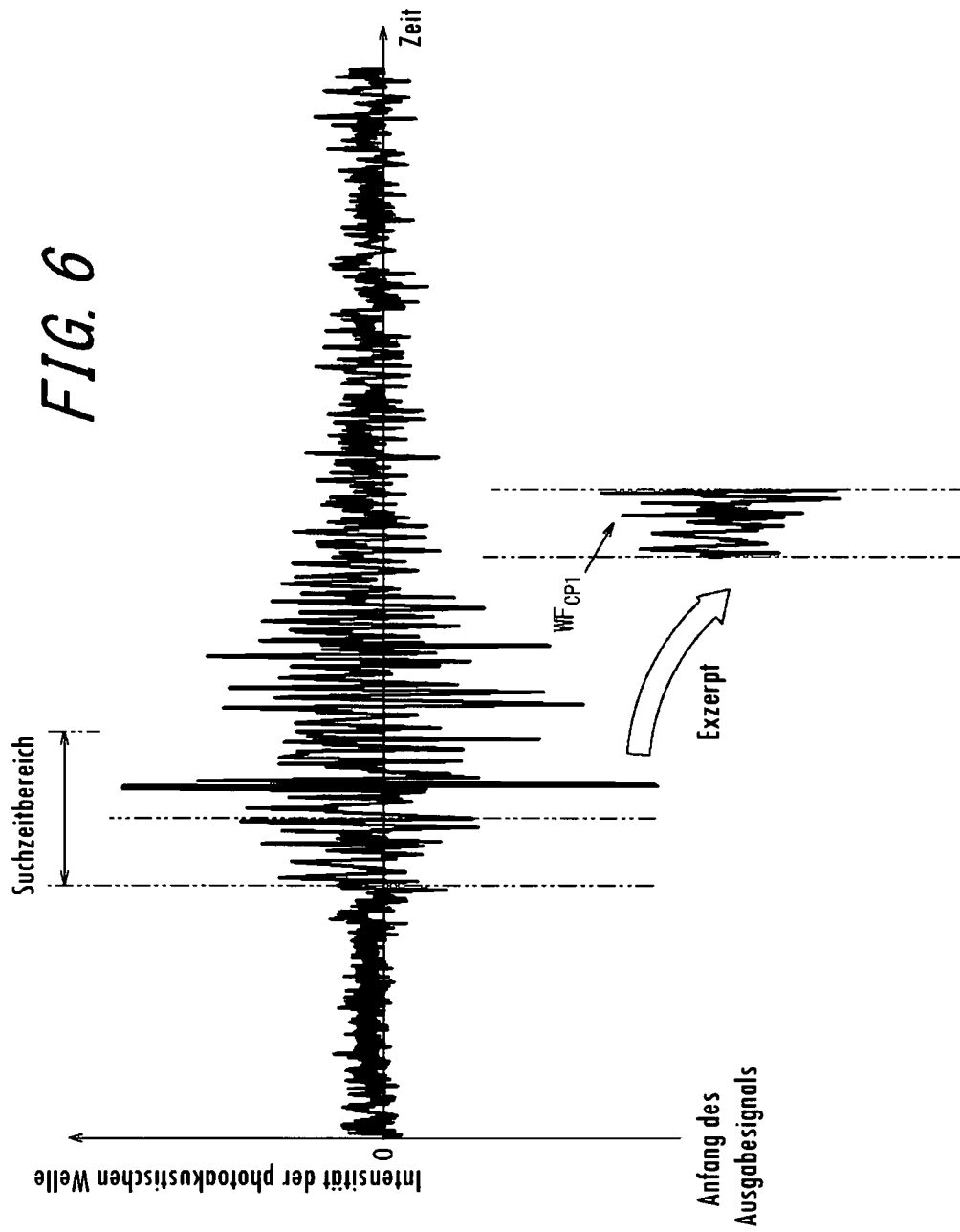


FIG. 7

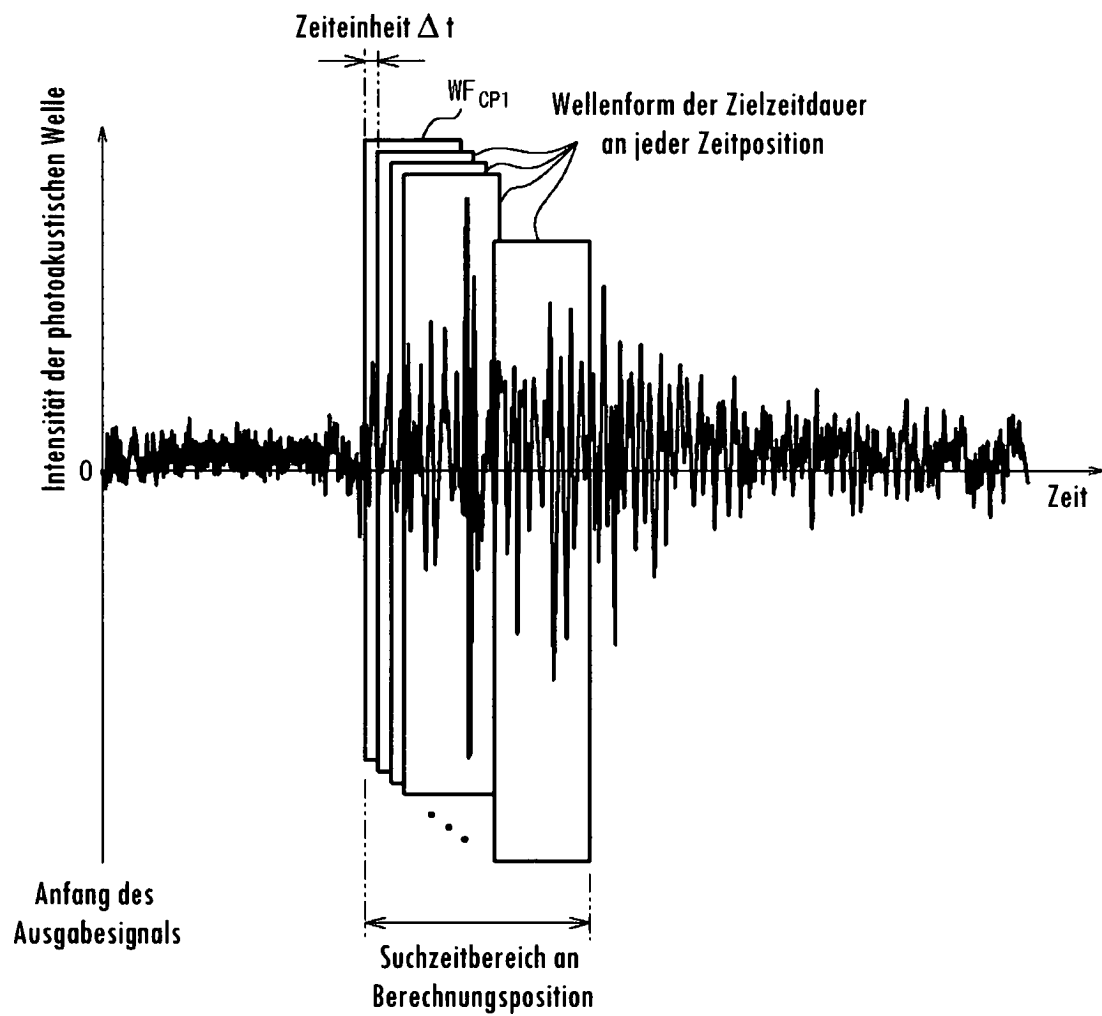


FIG. 8

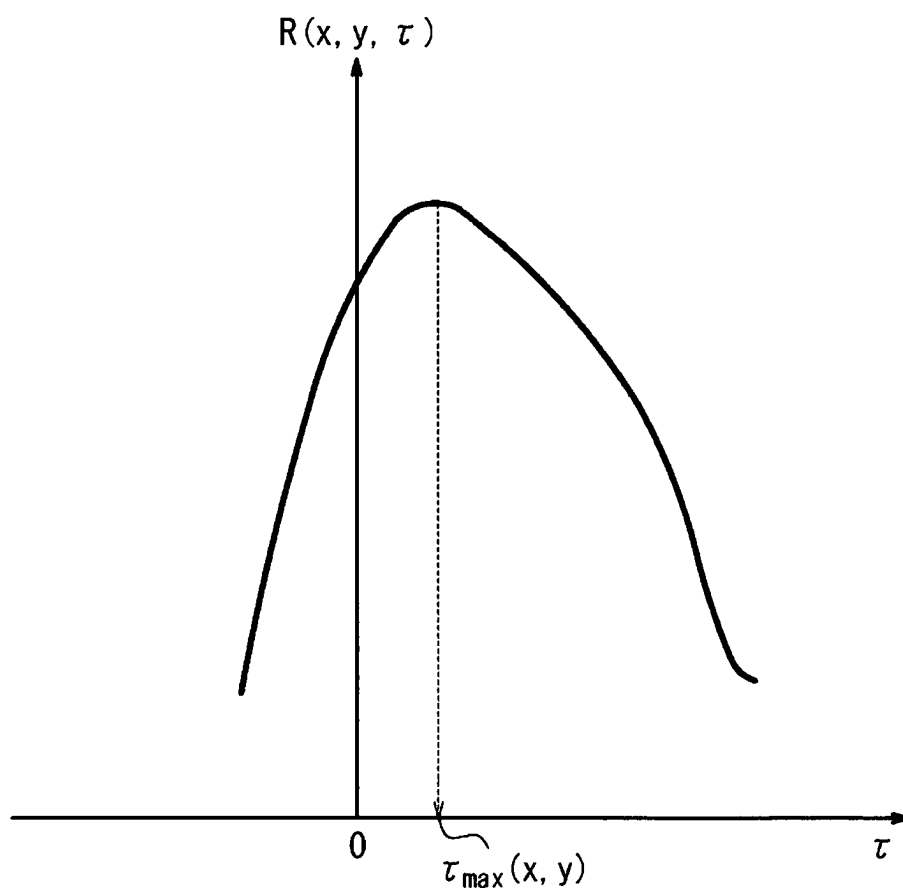


FIG. 9

