



MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(84) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF,

Veröffentlicht:

— mit internationalem Recherchenbericht

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

(57) Zusammenfassung: Verfahren und Anordnung zur konfokalen Durchlicht-Mikroskopie mit einer polychromatischen Lichtquelle und Spektrometer oder mit einer Wellenlängen-durchstimmbaren Lichtquelle sowie einer Kamera, insbesondere auch für die phasenauswertende Interferenz-Mikroskopie, insbesondere auch zur dreidimensionalen Vermessung oder Lokalisierung von einem oder mehreren Phasenobjekten in der mikroskopischen Skala wie bewegte, ungefärbte, lebende Zellen oder auch zur Auslesung von optischen Durchlicht-Datenspeichern. Im Detektionsstrahlengang erfolgt erfindungsgemäß eine chromatische Tiefenaufspaltung durch eine chromatische Brechkraft. Durchlicht-Mikroskope können auf dem Zemike-Interferenz-Phasenkontrast-, dem Nomarski-DIC-, dem Hoffman-HMC- oder auch auf dem Mach-Zehnder-Interferometer-Prinzip basieren. Der optische Gangunterschied in einem Phasen-Durchlicht-Mikroskop ist hierbei so eingestellt, dass Interferenzstreifen, auch insbesondere in Form eines Wavelets, auswertbar sind, wobei sich dünne Phasenobjekte durch lokale Phasenänderungen im Wavelet in Abhängigkeit von der Tiefenposition markieren. Im Beleuchtungsstrahlengang besteht eine zweite chromatische, entgegen gesetzt wirkende Brechkraft, so dass für dünne Phasenobjekte im Objektraum des Durchlicht-Mikroskops Konfokalität (A'li-B'li) besteht.

Anordnung und Verfahren zur konfokalen Durchlicht-Mikroskopie, insbesondere auch zur Vermessung von bewegten Phasenobjekten

Stand der Technik

Die Durchfokussierung spielt bei der konfokalen Mikroskopie seit Marvin Minski, [Patentschrift US 3,013,467 vom 19. Dezember 1961] eine funktionstragende Rolle. Es wurden bereits viele Anstrengungen unternommen, die Durchfokussierung ohne mechanisch bewegte Teile zu realisieren.

Im Fachaufsatz von Christopher J. Mann, Lingfeng Yu, Chun-Min Lo, and Myung K. Kim: „High-resolution quantitative phase-contrast microscopy by digital holography“ in OPTICS EXPRESS Vol. 13, No. 22, S. 8693-8698, 2005 wird ein holografisches, quantitatives Phasenkontrast-Mikroskopie-Verfahren beschrieben, bei dem die Objektinformationen außerhalb der Fokustiefe numerisch rekonstruiert werden. Deshalb ist für die dreidimensionale Erfassung eines Objekts vorteilhafterweise kein mechanisches Tiefen-Scannen erforderlich. Das Problem stellt hierbei jedoch das bei streuenden Proben nicht ganz vermeidbare Reststreulicht dar, dessen Einfluss hier durch die Nutzung der Informationen des Winkelspektrums zwar schon reduziert ist, bei sehr hohen Anforderungen aber dennoch etwas störend wirken kann. Außerdem ist die erreichbare Tiefenauflösung nicht in jedem Fall zufrieden stellend, beispielsweise, wenn eine Tiefenauflösung bzw. eine Auflösung der optischen Dicke von 10 nm und weniger gefordert ist.

Im Fachaufsatz von Christopher G. Rylander, Digant P. Davé, Taner Akkin, Thomas E. Milner, Kenneth R. Diller, and Ashley J. Welch: „Quantitative phase-contrast imaging of cells with phase-sensitive optical coherence microscopy“, OPTICS LETTERS Vol. 29, No. 13, S. 1509-1511, 2004 wird ein faserbasiertes optisches Kohärenz-tomografisches System auf der Basis des differentiellen Interferenzkontrastes (OCT-DIC) beschrieben. Dieses System wird zur quantitativen Vermessung von Zellbestandteilen eingesetzt, indem Änderungen des optischen Gangunterschiedes hochaufgelöst bestimmt werden. Jedoch ist es nicht möglich, Objekte in deutlich unterschiedlicher Tiefe gleichzeitig mit hoher Lateralauflösung zu erfassen, da dies die Begrenzung durch die wellenoptische Schärfentiefe verhindert.

In der Schrift US 6,091,496 wird kein Ansatz für die spektral-interferometrische Durchlicht-Mikroskopie dargestellt, jedoch findet sich ein erster Hinweis zu derselben in WO2006/042696, Seite 118 unter Verwendung eines Mach-Zehnder-Interferometers mit chromatischer Längsaberration und Kompensation derselben. Hier ist jedoch keine Lehre

gegeben, die Durchlicht-Mikroskopie für Phasenobjekte anzuwenden. In der Veröffentlichung von E. Papastathopoulos, K. Körner und W. Osten „Chromatically dispersed interferometry with wavelet analysis“, in OPTICS LETTERS, Vol. 31, No. 5, S. 589-591, 2006, ist das Verfahren der Spektral-Interferometrie mit chromatischer Tiefenaufspaltung des Detektionsfeldes im Objektraum mit der Analyse der entstehenden Wavelet dargestellt. Dieser Ansatz wurde jedoch nicht für die Durchlicht-Mikroskopie beschrieben.

Anwendungsgebiet der Erfindung

Die Erfindung zur Durchlicht-Mikroskopie kann für vielfältige Aufgaben in der Medizin und der Biologie, insbesondere zur Analyse von einzelnen, ungefärbten, unbehandelten, lebenden tierischen oder humanen Zellen sowie Kulturzellen eingesetzt werden, indem deren optische Dicke und Tiefenposition bestimmt wird. Insbesondere kann die Erfindung auch zur Analyse von Chromosomen in der Human- und Zytogenetik Anwendung finden. Beispielsweise sollen auch Bestandteile von Krebszellen hinsichtlich der optischen Dicken mit hoher Genauigkeit vermessen werden können.

Weiterhin kann die quantitative Bestimmung der Verteilung, der Position im Raum und der lateralen Abmessungen von opaken Mikropartikeln, beispielsweise auch von interstellarem Mikrostaub (star dust) in einem transparenten Medium erfolgen. Dieses muss zwischen Kondensor und Objektiv „eingebracht“ werden. Es ist möglich, mit der Erfindung die Verteilung und die lateralen Abmessungen von Mikrofasern in einem transparenten oder auch partiell trüben Medium, wie spezielle Kunststoffe, zu bestimmen, also die Erfindung für technische Applikationen einzusetzen. Im NIR-Bereich ist die Analyse von Si-Strukturen in Transmission durchführbar, wobei wegen der sphärischen Aberration die Strukturen eine näherungsweise konstante Dicke aufweisen sollten. Es ist mit der erfinderischen Lösung auch eine Kristall-Analyse durchführbar. Erfindungsgemäß kann auch die Bestimmung von Brechzahlveränderungen in transparenten Medien in der mikroskopischen Skala lateral hochgenau und tiefenaufgelöst erfolgen. Die genannten Anwendungen können im DUV-, UV-, VIS- oder auch im NIR-Bereich erfolgen. Dabei kann auch mit Immersionstechniken in Öl, Wasser oder Glyzerin gearbeitet werden, wobei jeweils speziell abgestimmte Objektive eingesetzt werden.

Der erfinderische Ansatz ermöglicht auch die Auslesung von Volumen-Datenspeichern, die in Transmission arbeiten, indem Änderungen des Brechungsindex im durchstrahlten Medium erfasst und ausgewertet werden.

Ziele der Erfindung

Das Ziel der vorliegenden Erfindung zur Durchlicht-Mikroskopie, insbesondere zur Vermessung der optischen Dicken von transparenten und partiell trüben Objekten, auch als Phasenobjekte bekannt, besteht darin, Neues für die gewerbliche Anwendung bereitzustellen.

Das Ziel ist hierbei insbesondere auch die quantitative Erfassung von dünnen Phasenobjekten, z.B. einzelne, auch ungefärbte, lebende Zellen.

Das technische Ziel der Erfindung besteht in der Erhöhung der Geschwindigkeit beim Messen der optischen Dicken und der Vergrößerung des nutzbaren Tiefenmessbereiches, insbesondere bei Verwendung von einem Abbildungssystem mit einer vergleichsweise hohen numerischen Apertur, beispielsweise im Bereich von 0,4 bis 1,25 (Wasserimmersion) oder 1,5 (Ölimmersion) auf Werte, die einem Mehrfachen der wellenoptisch gegebenen Schärfentiefe entsprechen.

Die mit dem erfinderischen Sensor beim Messen gewonnenen optischen Signale sollen mittels Strahlungsdetektor oder gerastertem Strahlungsdetektor wie eine Zeilen- oder eine Flächenkamera, erfasst werden.

Ein weiteres Ziel ist, eine Lehre zur Auslesung von Volumen-Datenspeichern zu geben, die in Transmission arbeiten.

Aufgabe der Erfindung

Es sollen in der Durchlicht-Mikroskopie, insbesondere zur Prüfung von Phasenobjekten beim optischen Antasten der Objekte in verschiedenen Tiefen des Objektraumes optische Signale aus diesen Tiefen ohne das mechanische Bewegen von Komponenten - insbesondere im Objektraum – gewonnen werden, um insbesondere auch die optische Dicke oder die Veränderung der optischen Dicke von einem Objekt oder dessen Bestandteilen oder auch von mehreren Objekten bestimmen zu können. Dabei soll eine zumindest näherungsweise beugungsbegrenzte laterale Abbildung des Objekts durch ein Abbildungssystem mit vergleichsweise hoher numerischer Apertur, insbesondere auch bei der Immersionstechnik, erfolgen.

Damit soll die erfinderische Aufgabe gelöst werden, für das Nomarski-Phasenkontrast-Verfahren, das Differenzielle Interferenzkontrast (DIC)-Verfahren, das Hoffmann-Modulationskontrast (HMC)-Verfahren oder mittels Mikroskopen auf Basis der Zwei-Strahl-Interferometrie, insbesondere auch mittels eines Mach-Zehnder-Interferometers, hochgenaue, quantitative Messungen der optischen Dicke oder der Dicken, einschließlich Variationen

derselben, von transparenten Objekten mit sehr hoher Auflösung durchzuführen. Hierbei geht es also insbesondere um eine Auflösung in der Tiefenrichtung in der Größe von wenigen Nanometern.

Andererseits soll beim Wellenlängen-Scan mittels einer zeitlich Wellenlängen-durchstimmbaren, spektral schmalbandigen Strahlungsquelle die erfinderische Aufgabe gelöst werden, dass elektromagnetische Interferenzmodulationen über der Zeit erzeugt werden, die eine hinreichend kleine und damit technisch gut auswertbare Frequenz aufweisen, um aus diesen Informationen insbesondere die optische Dicke oder die Veränderung der optischen Dicke bestimmen zu können. Diese erfinderische Aufgabe soll insbesondere für ein konfokales differentielles Interferenz-Mikroskop, insbesondere für das Normarski-DIC-Mikroskop, also auf der Basis polarisationsoptisch generierter Lateral-Shear, sowie auch ein konfokales Zwei-Strahl-Interferenz-Mikroskop, insbesondere auch für ein konfokales Mach-Zehnder-Interferenz-Mikroskop, gelöst werden.

Beschreibung der Erfindung anhand der Merkmale

Das Ziel der Erfindung wird mit den nachstehenden erfinderischen Merkmalen erreicht:

Hauptmerkmal: Erfindungsgemäß wird bei einem Verfahren zur Durchlicht-Mikroskopie, insbesondere auch zur quantitativen Prüfung von einem oder mehreren Objekten oder eines Teils oder Teilen desselben oder derselben im Objektraum

- mit einer polychromatischen Lichtquelle im Beleuchtungsstrahlengang und mit einem Spektrometer im Detektionsstrahlengang
- oder mit einer Wellenlängen-durchstimmbaren Lichtquelle im Beleuchtungsstrahlengang und mit Mitteln zur konfokalen Diskriminierung im Detektionsstrahlengang
- wie mehrere Mikroblenden
- oder eine mittels mehrerer gerasterter Mikrooptiken, wie gerasterte Mikrolinsen, mehrfach abgebildete Blende

sowie einer Kamera im Detektionsstrahlengang bei der Objektabbildung eine chromatische Tiefenaufspaltung mittels einer zumindest partiell chromatischen Brechkraft im Detektionsstrahlengang durchgeführt. So wird erreicht, dass Bilder der Mittelpunkte der Mikroblenden oder Bilder des Mittelpunktes der mehrfach abgebildeten Blende bei der Rückabbildung in den Objektraum dort eine chromatisch verursachte Tiefenaufspaltung erfahren. Damit sind diese Bilder bei einer polychromatischen Lichtquelle zu einem Zeitpunkt oder bei einer Wellenlängen-durchstimmbaren Lichtquelle sequentiell in der Lichtausbreitungsrichtung

separiert, so dass Objektpunkte aus unterschiedlichen Tiefen mittels der Mikroblenden oder der Mikrolinsen erfasst werden können.

So kann ein Wert für die Tiefenposition eines scharf abgebildeten Objektpunktes eines sehr dünnen Phasenobjektes sowie dessen Änderung der optischen Dicke in Bezug zum umgebenden Medium errechnet werden. Dies kann in einem Bereich z_c erfolgen, der ein Mehrfaches der wellenoptischen Schärfentiefe betragen kann. Bei einem opaken dünnen Mikropartikel in einem transparenten Medium kann die Wellenlänge der Abschattung bestimmt werden, woraus die Kontur von Mikropartikeln bestimmt werden kann.

Dabei kann die Quelle elektromagnetischer Strahlung breitbandig, beispielsweise im DUV UV-, im VIS- oder auch im IR-Bereich, ausgebildet sein und auch kurzgepulst werden, beispielsweise ein Kurzpulslaser, und dessen Pulse mit einer Kamera, die als Detektor dient, beispielsweise im 100 Hz-Bereich, synchronisiert werden. Dies ist für bewegte Mikroszenen von Vorteil. Andererseits kann auch ein Wellenlängen-durchstimmbarer Laser eingesetzt werden. Weiterhin kann auch eine spektral breitbandige Quelle elektromagnetischer Strahlung eingesetzt werden, beispielsweise auch ein fasergekoppelter, breitbandiger Weißlichtlaser, wobei hier ein steuerbarer Monochromator nachgeordnet ist, um die Wellenlänge durchzustimmen.

Merkmal 2. Weiterhin wird vorzugsweise bei dem erfinderischen Verfahren das Licht im Objektraum räumlich strukturiert, in dem mittels mehrerer Mikroblenden oder einer mittels mehrerer Mikrolinsen mehrfach abgebildete Makroblende ein Foki-Muster oder ein Fokuslinien-Muster im Objektraum vorbestimmt gebildet werden, und dabei im Beleuchtungsstrahlengang eine chromatische Tiefenaufspaltung dieser Foki oder Fokuslinien mittels zumindest partiell chromatischer Brechkraft durchgeführt wird, so dass diese Foki oder Fokuslinien in Lichtausbreitungsrichtung, also in der Tiefe, separiert sind. Dabei sind die zumindest partiell chromatische Brechkraft im Beleuchtungs- und die zumindest partiell chromatische Brechkraft im Detektionsstrahlengang so vorbestimmt eingebracht, dass im Objektraum der Betrag und die Richtung der chromatischen Tiefenaufspaltung der Foki oder der Fokuslinien zur Beleuchtung und im Detektionsstrahlengang der Betrag und die Richtung der chromatischen Tiefenaufspaltung der rückabgebildeten Mikroblenden oder der mehrfach abgebildeten Makroblende zumindest näherungsweise gleichgemacht sind. Dann sind im Objektraum die Bilder A' der Mittelpunkte A der Blenden BA des Beleuchtungsstrahlenganges oder die Bilder A' der Foki A und die Bilder B' der Mittelpunkte B der Blenden BB des Detektionsstrahlenganges, welche jeweils lateral und spektral korrespondieren, nämlich

beispielsweise $A'_{o_{\lambda_{\min}}}$ - $B'_{o_{\lambda_{\min}}}$ und $A'_{o_{\lambda_{\max}}}$ - $B'_{o_{\lambda_{\max}}}$, optisch konjugiert. So fallen deren Schärfeebenen im Objektraum zumindest näherungsweise zusammen. Demzufolge besteht Konfokalität von der Beleuchtung bis zur Detektion, da bei dünnen Phasenobjekten im Objektraum die Bilder A' und B' aller Wellenlängen zusammenfallen, beziehungsweise das Bild A'' unabhängig von der Wellenlänge auch mit dem Mittelpunkt B einer Mikroblende BB im Detektionsstrahlengang zusammenfällt. Durch die konfokale Diskriminierung im Detektionsstrahlengang wird das im Objektraum gegebenenfalls auftretende, probenverursachte Streulicht auf dem Weg zur Kamera stark reduziert.

Weiterhin können bei dem erfinderischen Verfahren zur Vergrößerung des Tiefenmessbereiches über die wellenoptische Schärfentiefe hinaus auch nur zwei monochromatische Quellen elektromagnetischer Strahlung unterschiedlicher Wellenlänge mit Frequenzmodulation eingesetzt werden, so dass das bekannte Heterodyn-Verfahren angewendet werden kann. Mit der Strahlung einer jeden Wellenlänge wird das Objekt in einer etwas anderen Tiefe abgetastet.

Merkmal 3. Weiterhin kommt vorzugsweise bei dem erfinderischen Verfahren zur Durchlicht-Mikroskopie das Verfahren der Dunkelfeldmikroskopie zur Anwendung. Damit werden nur dünne durchscheinende Objekte oder Objektdetails von der Kamera erfasst, die das Licht auch streuen oder beugen und sich außerdem auch noch zumindest näherungsweise in der Schärfeebene einer rückabgebildeten Blende zur konfokalen Diskriminierung befinden, wobei die Schärfeebene eine von Licht einer vorbestimmten Wellenlänge des Spektrums der polychromatischen Lichtquelle oder der Wellenlängen-durchstimbaren Lichtquelle ist. Objekte, die nicht das Licht streuen oder beugen, bleiben dunkel, da das direkt transmittierte Licht bekannterweise hierbei nicht erfasst wird. So kann in Abhängigkeit von der Intensität im Spektrum die Position eines Objektpunktes bestimmt werden, indem die Wellenlängenposition des Maximums der Intensität bestimmt wird und aus dieser die Tiefenposition. Dazu ist jedoch eine Wellenlängen-Tiefenpositions-Referenzierung des Dunkelfeldmikroskops erforderlich, wobei der Messbereich durch den Grad der chromatischen Tiefenaufspaltung vorgegeben ist, der aus dem Betrag der chromatischen Brechkraft resultiert. Die optische Dickendifferenz eines dünnen, durchscheinenden Objekts, welches sich aus der Differenz der Brechungsindizes zum umgebenden Medium ergibt, wobei das umgebende Medium beispielsweise bei biologischen Objekten Wasser sein kann, sollte dabei nur so groß sein, dass sich dadurch keine wesentlich größere optische Weglängenänderung als die wellenoptische Schärfentiefe ergibt, da dies zu einer Kontrastverschlechterung bei der

Abbildung streuender oder beugender Objekte führen kann. Anderenfalls kann hier vorzugsweise auch eine objektbezogene Anpassung des Abstandes von Kondensor und Objektiv, also eine axiale Verschiebung derselben, Abhilfe schaffen, welche die optische Dickendifferenz zwischen Objekt und Umgebungsmedium ausgleicht und somit wieder eine scharfe Objektanpassung ermöglicht. Es ist aber auch möglich, die Mikroblenden im Beleuchtungsstrahlengang oder Mikroblenden im Detektionsstrahlengang axial, also in der Tiefe, zu verschieben, um die bei dickeren Phasenobjekten gestörte Konfokalität wieder herzustellen. Bei vergleichsweise dicken Phasenobjekten, wobei hier „dick“ auf die wellenoptische Schärfentiefe der mikroskopischen Abbildung bezogen ist und hierbei in der Regel ein Mehrfaches derselben vorausgesetzt ist, kann durch die axiale Verschiebung von Komponenten zur Anpassung an die optische Dicke, nur das Streulicht aus dem dicken Objekt die konfokale Diskriminierung überwinden, so dass das Objekt eine höhere Intensität als das objektfreie Umfeld zur Abbildung bringt.

Die Dunkelfeldmikroskopie wird zwar vor allem für die visuelle Beobachtung eingesetzt. Jedoch kann bei dem erfinderischen Verfahren über der Wellenzahl beispielsweise ein Extremum bestimmt werden, wodurch auch quantitative Aussagen über das Objekt möglich sind.

Merkmal 4. Weiterhin kommt vorzugsweise bei dem erfinderischen Verfahren zur Durchlicht-Mikroskopie das Verfahren der Phasenmikroskopie auf der Basis der Interferenz von elektromagnetischen Wellen zur Anwendung. Dies ermöglicht eine besonders hohe Auflösung und fotometrische Sensitivität bei der Vermessung von Objekten.

Merkmal 5: Weiterhin kommt vorzugsweise bei dem erfinderischen Verfahren zur Durchlicht-Mikroskopie mit chromatischer Tiefenaufspaltung das Phasenkontrast-Verfahren, insbesondere auch das nach F. Zernike, das differentielle Phasenkontrast-Verfahren, insbesondere auch das nach G. Nomarski, auch als DIC-Verfahren (DIC: Differential interference contrast) bezeichnet, also Verfahren auf der Basis polarisations-optischer Shear-Interferometrie, das Hoffmann-HMC-Verfahren (HMC: Hoffmann modulation contrast) oder auch ein phasenmikroskopisches Verfahren nach dem Zweistrahl-Interferenz-Verfahren, insbesondere auch auf der Basis eines Mach-Zehnder-Interferometers, zur Anwendung. Dies sind eingeführte mikroskopische Verfahren, die durch die Anwendung der Erfindung für eine noch schnellere Objekterfassung, insbesondere auch zur hochgenauen Objektvermessung, genutzt werden können.

Merkmal 6: Weiterhin wird vorzugsweise bei dem erfinderischen Verfahren zur Durchlicht-Mikroskopie ein optischer Gangunterschied OPD (OPD: optical path difference) im

Strahlengang eines Phasen-Mikroskops eingeführt, der mindestens eine Wellenlänge der maximalen, detektierten Wellenlänge beträgt, vorzugsweise jedoch bis zu 100 Wellenlängen der maximalen, detektierten Wellenlänge. So werden Interferenzstreifen, insbesondere auch in Form eines Wavelets, auch als Müllersche Streifen oder Tolansky-Streifen bekannt, also Intensitätsverläufe über der Wellenlänge λ oder der Wellenzahl k , im detektierten Spektralbereich vorbestimmt gebildet. Dabei erzeugt ein dünnes und lateral kleines Phasenobjekt – beispielsweise in der Größenordnung der Ausdehnung des beugungsbegrenzten Punktbildes des Mikroskops – erfindungsgemäß eine lokale Phasenänderung in den Interferenzstreifen, also auch insbesondere in einem Wavelet. Diese lokale Phasenänderung wird ausgewertet. Ein lateral ausgedehntes Phasenobjekt, welches das Messfeld vollständig überdeckt, erzeugt eine Änderung der Frequenz im Interferenzmuster, also insbesondere auch in einem Wavelet, die über der Wellenzahl k zu einem veränderten Anstieg der Phase, also des Phasengradienten $d\phi/dk$ führt.

Insbesondere auch beim Nomarski-DIC-Verfahren können aufgrund der chromatischen Tiefenaufspaltung Zusatzinformationen gewonnen werden, indem beispielsweise über der Wellenzahl k ein Extremum bestimmt werden kann, wenn vorzugsweise ein hinreichend großer optischer Gangunterschied im DIC-Mikroskop mit polarisations-optischer Shear gegeben ist. Vorzugsweise kann dabei auch eine vergleichsweise dicke Verzögerungsplatte im DIC-Mikroskop verwendet werden, welche vorzugsweise einen optischen Gangunterschied zwischen den beiden Polarisationsrichtungen in der Größenordnung von 100 Wellenlängen der größten genutzten Wellenlänge aufweist, um die Genauigkeit der Phasenauswertestrategien zu erhöhen.

Weiterhin ist es möglich, ein unterschiedlich in beiden Polarisations-Richtungen, die Phase schiebendes LCD im DIC-Mikroskop einzusetzen, um den optischen Gangunterschied in Sublambda-Schritten für das Phasenschiebeverfahren vorbestimmt variieren zu können.

Der optische Gangunterschied kann im Interferometer so eingestellt werden, dass die Interferenzstreifen über der Wellenlänge, insbesondere auch in Form eines Wavelet, mittels eines Spektrometers detektiert werden können. Vorzugsweise kann dabei also ein optischer Gangunterschied von mehreren zehn bis zu einigen Hundert Wellenlängen der größten verwendeten Wellenlänge eingestellt werden, wobei hier bei einer Applikation im nahen Infrarotbereich vorzugsweise ein Wellenlängenbereich von etwa 150 nm ausgewertet wird. Dabei ist für genaue Messungen eine Referenzierung der Wellenzahl über der Tiefe notwendig.

Vorzugsweise kann in einem Mikroskop auf der Basis des Phasenkontrast-Verfahrens nach F. Zernike ein in Bezug auf die Lichtwellenlänge vergleichsweise dicker Phasenring eingebracht sein, der also einen optischen Gangunterschied von mehreren Wellenlängen einführt, vorzugsweise in der Größenordnung von 100 Wellenlängen der größten genutzten Wellenlänge. So können Zusatzinformationen gewonnen werden, indem bei lichtstreuenden Objekten eine Phasenvariation über der Wellenzahl – gegebenenfalls auch in Verbindung mit einer Intensitätsvariation - in einem Interferenzmuster ausgewertet werden kann.

Im erfinderischen Verfahren markieren sich lateral kleine und dünne Phasenobjekte durch lokale Phasenänderungen in den Interferenzstreifen über der Wellenlänge λ oder der Wellenzahl k , insbesondere auch in Form eines Wavelets, in Abhängigkeit von der optischen Dicke des oder der Phasenobjekte und auch in Abhängigkeit von deren Tiefenposition sowie also auch in Abhängigkeit von deren lateraler Ausdehnung. Der nutzbare Tiefenbereich Δz_c ist auch durch die Größe der chromatischen Tiefenaufspaltung im Abbildungsstrahlengang für die Objektbündel gegeben.

Die Gewinnung der Messgröße, beispielsweise die optische Dicke des Objekts in einer bestimmten Objektiefe, kann mittels der Auswertung der Interferenzstreifen, die auch als Müllersche Streifen bezeichnet werden, erfolgen. Dazu kann beispielsweise der Nulldurchgang der ersten Ableitung $d\phi/dk$ der Phasenkurve $\phi(k)$ hochgenau ausgewertet werden.

Die Art und Weise der Auswertung der Intensität des Interferenzmusters über der Wellenlänge, beziehungsweise der Phase ϕ über der Wellenzahl k , um eine Messgröße - wie beispielsweise eine Information über eine Änderung der optischen Dicke oder der optischen Dicken des Objekts - zu erhalten, ist in dieser Schrift kein erfinderischer Gegenstand.

Weiterhin können bei einem Wellenlängen-Scan mittels einer Wellenlängendurchstimmbaren, monochromatischen Strahlungsquelle elektromagnetische Interferenzmodulationen über der Zeit erzeugt werden, die durch die Größe des im Interferometer eingestellten Gangunterschiedes und die Geschwindigkeit des Wellenlängen-Scans eine technisch gut auswertbare Frequenz aufweisen.

Bei dem erfinderischen Verfahren zur Durchlicht-Mikroskopie ist es vorteilhaft, bei der mikroskopischen Objektabbildung die sphärische Aberration, also den Öffnungsfehler, hinreichend gut zu korrigieren, so dass eine zumindest näherungsweise beugungsbegrenzte Abbildung erfolgen kann.

Merkmal 7: Weiterhin wird vorzugsweise bei dem erfinderischen Verfahren zur Durchlicht-Mikroskopie die Phase der Interferenz, also insbesondere auch die in einem Wavelet gegebene Phase, ausgewertet. Dadurch kann eine Auflösung in axialer Richtung in der Größe von wenigen Nanometern erreicht werden, wobei dies stark von der Form des Interferenzmusters, also insbesondere auch eines Wavelets, sowie auch der Auswertestrategie abhängt. Dabei ist es auch möglich, dass eine mehrfache Phasenschiebung im Interferometer durchgeführt wird, um auch bei sehr dünnen Phasenobjekten noch sehr kleine Abweichungen von der zumindest näherungsweise geraden Phasenkurve detektieren zu können, wobei hier eine kleine lokale Abweichungen der Phase ϕ - im Sinne einer lokalen Störung des Phasenverlaufs $\phi(k)$, vorzugsweise mit einem lokalen Extremum - ja die Existenz eines Phasenobjektes anzeigt.

Merkmal 8: Weiterhin wird vorzugsweise bei dem erfinderischen Verfahren zur Durchlicht-Mikroskopie der optische Gangunterschied im Unendlich-Strahlengang oder im chromatisch schwach fokussierten Strahlengang der mikroskopischen Abbildung eingebracht. So werden Abbildungsfehler wie die sphärische Aberration minimiert oder weitgehend vermieden.

Das Verfahren der chromatischen Tiefenaufspaltung und Kompensation derselben in Verbindung mit konfokaler Diskriminierung ist für alle interferometrischen Verfahren einsetzbar, einschließlich in der digitalen Holografie in der mikroskopischen Skala.

Weiterhin kann es vorteilhaft sein, den Grad der Tiefenaufspaltung an das Messobjekt anzupassen, um dickere und auch dünnere Phasenobjekte jeweils optimal erfassen zu können.

Merkmal 9: Bei einer erfinderischen Anordnung zur Durchlicht-Mikroskopie, insbesondere auch mit Kondensor und Objektiv und insbesondere auch zur quantitativen Prüfung von einem Mikroobjekt im Objektraum, mit einer polychromatischen Lichtquelle im Beleuchtungsstrahlengang und mit einem Spektrometer im Detektionsstrahlengang oder einer Wellenlängen-durchstimbaren Lichtquelle im Beleuchtungsstrahlengang, mit Mitteln zur konfokalen Diskriminierung im Detektionsstrahlengang, wie mehrere Mikroblenden, vorzugsweise ein Mikroblenden-Array, oder eine mittels mehrerer Mikrolinsen mehrfach abgebildete Makroblende sowie einer Kamera im Detektionsstrahlengang sind Mittel mit zumindest partiell chromatischer Brechkraft zur chromatischen Tiefenaufspaltung im Detektionsstrahlengang angeordnet. Diese Mittel ermöglichen eine scharfe Abbildung von Objekten oder Objektdetails aus unterschiedlichen Tiefen des Objektraumes gleichzeitig, wodurch mittels einer spektralen Analyse des Lichts mehr Informationen im Vergleich zu einem mechanisch durchgeführten Tiefen-Scan gewonnen werden sollen. Die konfokale

Diskriminierung verringert sehr stark das Streulicht bei der optischen Abbildung, welches bei lichtstreuenden Proben wie biologischen Geweben oder partiell trüben Medien auftritt.

Merkmal 10: Weiterhin sind vorzugsweise bei der erfinderischen Anordnung zur Durchlicht-Mikroskopie die Mittel mit zumindest partiell chromatischer Brechkraft zur chromatischen Tiefenaufspaltung in der Fourier-Ebene, also der rückwärtigen Brennebene des Objektivs, oder in einer zu dieser optisch konjugierten Ebene angeordnet. Dadurch wird erreicht, dass der Abbildungsmaßstab bei der Detektion unabhängig von der Wellenlänge ist.

Merkmal 11: Weiterhin sind vorzugsweise bei der erfinderischen Anordnung zur Durchlicht-Mikroskopie Mittel mit zumindest partiell chromatischer Brechkraft zur chromatischen Tiefenaufspaltung im Beleuchtungsstrahlengang angeordnet. Weiterhin sind vorzugsweise Mittel zur strukturierten Beleuchtung des Objektraumes angeordnet. Mit diesen wird strukturiertes Licht, beispielsweise in Form eines Foki-Musters mit äquidistanten Fokusabständen, also eines Arrays von Lichtpunkten, erzeugt, wodurch sich das Streulicht bei der Abbildung des Objekts wesentlich reduzieren kann, da nur der Bereich des Objekts fokussiert beleuchtet wird, der auch detektiert wird. Dabei kann das Array von Lichtpunkten flächig, beispielsweise wie in DE 10 2006 007 172 A1 dargestellt, ausgebildet sein, wobei zur spektralen Detektion in dieser Anordnung eine hochpixlige Kamera eingesetzt wird. Es können beispielsweise 64×64 Objektpunkte gleichzeitig spektral analysiert werden.

Merkmal 12: Weiterhin sind vorzugsweise bei der erfinderischen Anordnung zur Durchlicht-Mikroskopie Mittel mit zumindest partiell chromatischer Brechkraft zur chromatischen Tiefenaufspaltung in der Fourier-Ebene, also der rückwärtigen Brennebene des Kondensors, oder in einer zu dieser optisch konjugierten Ebene angeordnet. Dadurch wird erreicht, dass der Abbildungsmaßstab bei der Beleuchtung unabhängig von der Wellenlänge ist.

Merkmal 13: Weiterhin ist vorzugsweise bei der erfinderischen Anordnung zur Durchlicht-Mikroskopie bei der Anwendung eines Nomarski-DIC-Mikroskops mit zwei Wollastonprismen ein optischer, doppelbrechender Verzögerer (Retarder) mit einem optischen Gangunterschied zwischen den beiden Polarisationsrichtungen zur Erzeugung von Interferenz, also Interferenzstreifen über der Wellenlänge λ oder der Wellenzahl k , insbesondere auch mit Interferenzstreifen in Form eines Wavelets, angeordnet. Dabei beträgt der optische Gangunterschied des doppelbrechenden Verzögerers mindestens eine Wellenlänge der maximalen, detektierten Wellenlänge, wobei der Verzögerer vorzugsweise im Raum zwischen den beiden Wollastonprismen des Nomarski-DIC-Mikroskops angeordnet ist. Die Auslegung des optischen Verzögerers ermöglicht es, die Ortsfrequenz der Interferenzstreifen,

insbesondere auch in Form eines Wavelets, so einzustellen, dass diese optimal an die spektrale Auflösung des Spektrometers angepasst ist, so dass eine Auswertung der Streifen noch technisch möglich ist.

Merkmal 14: Weiterhin ist vorzugsweise bei der erfinderischen Anordnung zur Durchlicht-Mikroskopie der optische, doppelbrechende Verzögerer in Form einer Kalkspatplatte (calcite plate) ausgebildet. Dieses Material weist eine besonders hohe Doppelbrechung auf.

Merkmal 15: Weiterhin sind vorzugsweise bei der erfinderischen Anordnung zur Durchlicht-Mikroskopie die Mittel mit chromatischer Brechkraft als diffraktiv-optische Elemente (DOEs) ausgebildet. Diese weisen eine hohe chromatische Aufspaltung auf.

Merkmal 16: Weiterhin sind vorzugsweise bei der erfinderischen Anordnung zur Durchlicht-Mikroskopie die Mittel zur konfokalen Diskriminierung im Detektionsstrahlengang, wie ein Mikroblenden-Array oder auch ein Mikrolinsen-Array, hochgenau lateral verschiebbar angeordnet. So kann mittels Lateral-Scan der Mittel zur konfokalen Diskriminierung eine lückenlose laterale Abtastung eines zumindest teilweise transparenten Objekts erfolgen.

Merkmal 17: Weiterhin sind vorzugsweise bei der erfinderischen Anordnung zur Durchlicht-Mikroskopie die Mittel zur Strukturierung des Lichts im Beleuchtungsstrahlengang, wie ein Mikroblenden-Array oder auch ein Mikrolinsen-Array, hochgenau lateral verschiebbar angeordnet. Diese Mittel werden synchron mit den Mittel zur konfokalen Diskriminierung im Detektionsstrahlengang verschoben, so dass die laterale Zuordnung der Bilder derselben im Objektraum bei der Verschiebung und bei der Bildaufnahme mittels Kamera stets erhalten bleibt. Dabei ist es vorzugsweise auch möglich, dass durch eine Faltung des optischen Strahlenganges die Mittel zur Strukturierung des Lichts im Beleuchtungsstrahlengang und die Mittel zur konfokalen Diskriminierung im Detektionsstrahlengang starr gekoppelt werden, wobei auch der Abbildungsmaßstab im Beleuchtungs- und im Detektionsstrahlengang gleich gemacht ist, so dass nur ein einziges mechanisches Scan-System zur lateralen Verschiebung derselben Mittel notwendig ist.

Merkmal 18: Für Applikationen in der biologischen Forschung kann die optische Kopplung der erfinderischen Anordnung zur Durchlicht-Mikroskopie, also vorzugsweise ein quantitatives Phasenmikroskop, mit einer optischen, rechnergesteuerten Pinzette durchgeführt werden. So können insbesondere auch lebende Zellen im Objektraum eines Phasenmikroskops vorbestimmt und hochpräzise bewegt werden. Dabei kann mittels Phasenmikroskops eine Zelle hinsichtlich ihrer optischen Dicke oder ihrer optischen Dicken vermessen werden. Insbesondere kann auch die laterale Variation der optischen Dicke einer

Zelle bestimmt werden. Außerdem ist eine Positionsbestimmung und Mikroformbestimmung von Zellen mit Hilfe einer optischen Pinzette möglich, indem beispielsweise ausgewählte Zellen in das Messvolumen zum Vermessen transportiert werden.

Weitere erfinderische Merkmale:

Es kann beim Mach-Zehnder-Interferometer auf der Basis der erfinderischen Anordnung eine Phasen-Schiebung mittels mechanischem Scan im Referenzarm durchgeführt werden. Insbesondere ist bei sehr schwachen Signalen aufgrund einer hohen und stark lichtschwächenden Objektdichte dadurch eine Verbesserung des Signal-Rausch-Verhältnisses erreichbar. Diese Phasen-Schiebung kann mittels mechanischem Scan an einem Winkelspiegel, aber auch mittels eines Phase-mostly-LCDs durchgeführt werden. Dieses LCD befindet sich dann vorzugsweise in einer Zwischenbildebene ZBE im Referenzstrahlengang. Es ist aber auch möglich, durch Amplitudenteilung Interferenzen über der Wellenlänge λ in verschiedener Phasenlage gleichzeitig auf einem Detektor aufzunehmen. Dies kann vorzugsweise auch unter Nutzung des zweiten Ausganges des Mach-Zehnder-Interferometers erfolgen.

Die zu messenden Phasenobjekte sollten bei der erfinderischen Anordnung im Messvolumen eher vereinzelt angeordnet sein, können aber auch gegebenenfalls übereinander liegen, wenn die partielle Transmission einer Kugelwelle zu einem Objektpunkt im Messvolumen immer noch gegeben ist, ohne dass die Beleuchtungsapertur wesentlich verringert wird. Anderenfalls wird die Auswertung sehr viel schwieriger oder ist gar nicht mehr möglich.

Weiterhin ist es möglich, mittels der erfinderischen Anordnung zusätzlich auch noch spektrale Informationen, beispielsweise im IR-Fluoreszenzlicht zur Stoffwechsel-Analyse lebender Zellen zu gewinnen, wobei dazu ein zusätzlicher Auskoppelstrahlengang in der Anordnung verwendet wird. Außerdem kann die NIR-Fourier-Transform-Spektroskopie oder die dispersive Spektroskopie zur Gewinnung weiterer Informationen mit der Durchlicht-Mikroskopie verbunden werden, indem dazu Licht aus dem Objektstrahlengang ausgekoppelt wird.

Es kann für biologische Objekte in Wasser-Immersions-Technik im optischen System eine Numerische Apertur von über 1 realisiert werden. Auch für technische Objekte in Öl-Immersion-Technik kann im optischen System eine Numerische Apertur von über 1 realisiert werden. Bei dicken Proben, wobei dick hier beschreibt, wenn die axiale Bildverschiebung die Größenordnung der mittleren Lichtwellenlänge oder mehr erreicht, muss deshalb wegen der wellenoptischen Schärfentiefe, die bei hoher Numerischer Apertur gering ist, gegebenenfalls eine axiale Nachjustierung an einem der beiden Mikroskopobjektive zur Abstandsanpassung erfolgen, damit die Konfokalität im optischen System erhalten bleibt. Es kann dann bereits ein

Öffnungsfehler bei der Abbildung auftreten, der jedoch durch ein adaptives optisches System behoben werden kann.

Weiterhin ist erfindungsgemäß bei einem erfindungsgemäßen Durchlichtmikroskop mit chromatischer Tiefenaufspaltung vorzugsweise der Kondensor mittels einer GRIN-Linse ausgebildet. Weiterhin ist erfindungsgemäß bei einem erfindungsgemäßen Durchlichtmikroskop mit chromatischer Tiefenaufspaltung vorzugsweise das Objektiv mittels einer GRIN-Linse ausgebildet. Dies führt jeweils zu einer sehr kompakten Anordnung.

Weiterhin ist erfindungsgemäß bei einem erfindungsgemäßen Durchlichtmikroskop mit chromatischer Tiefenaufspaltung vorzugsweise eine Kamera mit logarithmischer Kennlinie eingesetzt. Mit dieser ist in der Regel ein wesentlich größerer Helligkeitsbereich auf dem Objekt im Vergleich zu Kameras mit linearer Kennlinie erfassbar.

Weiterhin kann bei einem erfindungsgemäßen Durchlichtmikroskop im Objektstrahlengang vorzugsweise ein System aus einem elektrisch-steuerbaren, diffraktiv-optischen Element und einer elektrisch-steuerbaren Elektrowetting-Linse angeordnet sein, welche die mittlere Brechkraft des diffraktiv-optischen Elements zumindest teilweise kompensiert. Dabei kann der Grad der chromatischen Tiefenaufspaltung mittels diffraktiv-optischen Elements verändert werden, wobei die Nachregelung der Brechkraft der Elektrowetting-Linse die Schärferebenen und damit die Lage des Tiefenmessbereiches im Objektraum in der gleichen Tiefe hält. So kann eine optimale Anpassung des optischen Systems erreicht werden. Dies ist kann bei einer Anordnung mit Immersionsflüssigkeit im Objektraum vorteilhaft sein.

Weiterhin kann dem Detektor oder der Kamera des erfindungsgemäßen Durchlicht-Mikroskops vorzugsweise ein weiteres Zweistrahl-Interferometer vorgeordnet sein, mit welchem durch einen Scan des optischen Gangunterschieds in demselben eine spektrale Analyse der interferierenden Strahlung des Zweistrahl-Interferometers erfolgen kann.

Es ist auch möglich, für die Anwendung der Erfindung insbesondere auch ein invertiertes Mikroskop einzusetzen.

Beschreibung der Figuren

Die Figur 1 stellt eine Anwendung für ein quantitatives 3D-Durchlicht-Mikroskop für dünne Phasenobjekte auf der Basis eines Mach-Zehnder-Interferometers (MZI) dar, um die optische Dicke oder die Variationen der optische Dicke eines Objekts orts aufgelöst und hochgenau zu bestimmen. Hierbei ist die Anordnung als chromatisch-konfokales Spektral-Interferometer aufgebaut. Die Anwendung kann in der biologischen Forschung, beispielsweise zur hoch-

genauen Bestimmung der optischen Dicken von Zellbestandteilen in der Krebsforschung, in der medizinischen Diagnostik, aber auch für technische Applikationen genutzt werden.

Die Lichtquelle 1a ist als fasergekoppelter Weißlichtlaser ausgebildet. Das aus der Faser austretende Licht passiert einen Kollimator 2 und beleuchtet ein Mikrolinsen-Array 3, welchem ein Mikroblenden-Array 4 nachgeordnet ist, wobei die Mikroblenden jeweils in der Fokusposition der Mikrolinsen angeordnet sind. Die Figur 1a zeigt diesen Sachverhalt für eine Mikroblende BA mit dem Blendenmittelpunkt A, welcher auch einem Fokus entspricht und auch den Ursprung einer Kugelwelle K darstellt. Das Mikrolinsen-Array 3 und das Mikroblenden-Array 4 sind miteinander fest verbunden, wobei dieser Baugruppe ein hier nicht dargestellter schneller Präzisions-x-y-Scanner zugeordnet ist, der auch eine hochgenaue laterale Startposition aufweist. Die Kugelwelle K, die hier stellvertretend für eine Vielzahl von Kugelwellen dargestellt ist, wird am Strahlteiler 5 in eine Objektwelle und eine Referenzwelle aufgeteilt. Die von einer Mikroblende BA vom Mittelpunkt A derselben ausgehende Kugelwelle wird vom Objektiv 6 kollimiert, also in eine Planwelle gewandelt, d. h. der Punkt A wird nach Unendlich abgebildet und passiert dabei ein diffraktiv-optisches Element in Form einer Fresnelschen Zonenlinse 7 mit fokussierender Wirkung. Diese Zonenlinse 7 steht zumindest näherungsweise in einer Ebene PE'10, welche zur Pupillenebene PE10 und zur Fourier-Ebene eines nachgeordneten Kondensors 10 optisch konjugiert ist. Es erfolgt mittels dieser Fresnelschen Zonenlinse 7 in Abhängigkeit von der Wellenlänge eine unterschiedliche Fokussierung. Für die mittlere Wellenlänge λ_0 des Spektrums ist die Brechkraft der Fresnelschen Zonenlinse 7 mittels einer direkt nachgeordneten, schwach refraktiven Zerstreuungslinse 8 kompensiert, um nur geringe Abweichungen vom Zustand der idealen Kollimation zuzulassen, so dass für die mittlere Wellenlänge λ_0 stets nur eine plane oder sehr schwach gekrümmte Wellenfront entsteht. Die nachfolgende erste Abbildungsstufe 9 bildet die Fresnelsche Zonenlinse 7 in die Fourier-Ebene F10 des Kondensors 10 ab, die mit der Pupillenebene PE10 identisch ist, so dass dort sowohl schwach divergierende, zumindest näherungsweise plane, als auch schwach konvergierende Wellen in Abhängigkeit von der Wellenlänge vorhanden sind. So erfolgt mittels der Fresnelschen Zonenlinse 7 und des Wasser-Immersions-Kondensors 10 eine chromatische Tiefenaufspaltung im Objektraum, wodurch Kugelwellen unterschiedlicher Fokussierung je nach Wellenlänge entstehen, deren Zentren in der Tiefe verschoben sind, so dass bei der Abbildung des Punktes A hier die Foki $A'_{\lambda_{\min}}$ bis $A'_{\lambda_{\max}}$ entstehen. Die rückabgebildeten Bilder $B'_{\lambda_{\min}}$ bis $B'_{\lambda_{\max}}$ des korrespondierenden Punktes B der den Mittelpunkt einer konfokalen Mikroblende BB darstellt,

siehe auch Figur 1b, fallen mit den Foki $A'o_{\lambda_{\min}}$ bis $A'o_{\lambda_{\min}}$ zusammen. Der Kondensor 10 kann in der Tiefe und gegebenenfalls auch lateral nachjustiert werden, um die Konfokalität des Durchlicht-Mikroskops präzise sicherzustellen. Ein im Objektraum vorhandenes dünnes Phasenobjekt 11 verändert den optischen Gangunterschied, also verschiebt auch die Phase im MZI. Das Phasenobjekt 11 ist aber in der Regel optisch so dünn, dass die Konfokalität des Durchlicht-Mikroskops noch besteht, d. h. die objektverursachte optische Weglängenänderung noch unterhalb der wellenoptischen Schärfentiefe ist. Ein Wasser-Immersions-Objektiv 12 bildet das Objekt 11. Die vom Objektiv 12 erfassten Kugelwellen werden in näherungsweise plane oder schwach fokussiert oder divergierende Wellen gewandelt und treffen auf die zweite Abbildungsstufe 13, welche eine Abbildung auf das diffraktiv-optische Element in Form einer Fresnelschen Zonenlinse 14 mit divergierender Wirkung ermöglicht. Diese Fresnelsche Zonenlinse 14 steht zumindest näherungsweise in einer zur Pupillenebene und Fourier-Ebene F'_{12} konjugierten Ebene des Objektivs 12, also in der Ebene F''_{12} . Der Betrag der Brechkraft dieser Fresnelschen Zonenlinse 14 ist für jede Wellenlänge zumindest näherungsweise gleich der Fresnelschen Zonenlinse 14. Die nachfolgende, direkt nachgeordnete, schwach refraktive Sammellinse 15 kompensiert wieder die mittlere Brechkraft der Fresnelschen Zonenlinse 14. Im Ergebnis des Passierens der Fresnelschen Zonenlinse 14 ist die chromatische Aufspaltung des Beleuchtungsstrahlenganges, also die Tiefenaufspaltung durch die Fresnelschen Zonenlinse 7 kompensiert. Der nachgeordnete Winkelspiegel 16 bewirkt die Umlenkung auf das Tubusobjektiv 17 mit einer Wellenfront-Inversion. Nach dem Passieren des Strahlteilers 18, der hier zur Strahlvereinigung mit dem Licht aus dem Referenzstrahlengang dient, entstehen die Foki aller Wellenlängen durch die kompensierende Wirkung der Fresnelschen Zonenlinse 14 zumindest näherungsweise wieder in einer Ebene. In dieser Ebene befindet sich das zweite Mikroblenden-Array 25 zur konfokalen Diskriminierung. Die Figur 1b stellt das Mikroblenden-Array 25 mit der Mikroblende BB dar.

Die in Figur 1 am Strahlteiler 5 in den Referenzarm des MZI reflektierten Kugelwellen, bzw. das Referenzbündel, erfahren keine chromatische Aufspaltung. Die Abbildung im Referenzarm erfolgt über das langbrennweitige Objektiv 19, den Winkelspiegel 20, der eine für die Detektion der Müllerschen Streifen geeignete Einstellung des optischen Gangunterschieds im MZI ermöglicht. Beispielsweise ist mittels des Winkelspiegels 20 ein optischer Gangunterschied von $80\ \mu\text{m}$ für das MZI eingestellt. Die Abbildung im Referenzarm erfolgt weiterhin über das Keilplatten-Paar 21, das zum Dispersionsausgleich dient, wobei die Keilwinkel hinreichend klein gewählt sind, sowie die Objektive 22, 23 und 24, wobei eine Zwischenabbildung in der Ebene ZBE erfolgt. Hier entsteht das Bild $A'r$ von

BA sowie auch das rückabgebildete Bild $B'r$ des Mittelpunktes B der korrespondierenden Mikroblende BB. In der Zwischenbildebene ZBE kann für optisch dichte Proben ein Amplituden-Matching, also eine Anpassung der Intensität für die Referenzstrahlung durchgeführt werden. So stellt die Ebene ZBE also eine mögliche Position für ein LCD zwecks Amplituden-Matching und Phasen-Matching dar.

Die Einkopplung des Lichts aus dem Referenzarm in den Detektionsstrahlengang erfolgt über den Strahlteiler 18. In der Ebene des zweiten Mikroblenden-Arrays 25 fallen die kohärenten Foki des Objekt- und die des Referenzstrahlenganges $A''o_1$ $A''r_1$ zusammen, beispielsweise im Punkt B der Mikroblende BB zum interferierenden Fokuspunkt $A''or_1$. Durch das Mikroblenden-Array 25 erfolgt eine konfokale Filterung, hier beispielsweise in der Mikroblende BB mit dem Mittelpunkt B. Dem Mikroblenden-Array 25 ist ebenfalls ein hier nicht dargestellter, schneller Präzisions-x-y-Scanner zugeordnet, der synchron und hochgenau in Bezug auf den schnellen Präzisions-x-y-Scanner von der Baugruppe Mikrolinsen-Array 3 und Mikroblenden-Array 4 bewegt wird. So wird erreicht, dass in jeder Position eine Mikroblende des Mikroblenden-Arrays 4 auf eine und dieselbe, jeweils korrespondierende Mikroblende des Mikroblenden-Arrays 25 abgebildet wird, beispielsweise die Mikroblende BA auf die korrespondierende Mikroblende BB. So besteht im System Konfokalität, welche in der Regel auch durch dünne Phasenobjekte nicht wesentlich beeinflusst wird. Bei etwas dickeren Phasenobjekten erfolgt zum Herstellen der Konfokalität des Systems notwendigerweise eine axiale Nachjustierung am Kondensor 10, die auch von einer lateralen Nachjustierung begleitet sein kann. Die interferierenden Kugelwellen, die aus den Mikroblenden des Mikroblenden-Arrays 25 austreten passieren ein Spektrometer, welches aus der refraktiv-diffraktiven Baugruppe 27 und dem Abbildungssystem mit den Objektiven 26 und 28 besteht. Die spektral aufspalteten, interferierenden Bündel gelangen auf eine Kamera 29 und werden dort detektiert. Auf der Kamera 29 entsteht das Spektrum der Intensität über der Wellenlänge, die Müllerschen Interferenzstreifen, in Form eines Wavelets. Die Auswertung kann mittels der Auswertung der Phasenvariation über der Wellenlänge erfolgen, da die Intensität über der Wellenlänge vom optischen Gangunterschied im MZI abhängig ist. Die Auswertung der Interferenzstreifen wird in dieser Schrift nicht dargestellt.

Ein MZI in Figur 1 weist am Strahlteiler 18 einen zweiten Interferometer-Ausgang auf. So kann über ein feststehendes Mikroblenden-Array 30 und das Mikrolinsen-Array 31 und ein mikroskopisches Abbildungssystem 32 mit einem nicht dargestellten optischen Schmalbandfilter eine visuelle Beobachtung erfolgen, wenn der schnelle Präzisions-x-y-Scanner von

der Baugruppe Mikrolinsen-Array 3 und das Mikroblenden-Array 4 sich in der Startposition befinden, da das feststehende Mikroblenden-Array 30 auf diese Position hin lateral ausgerichtet ist. Durch einen Wechsel des optischen Schmalbandfilters kann eine andere Tiefe des Objektraumes scharf gesehen werden. Diese Möglichkeit der visuellen Beobachtung kann zu Forschungszwecken, aber auch für die Objektpositionierung mitverwendet werden.

Wegen der Beleuchtung des Objekts 11 mit einem Fokus-Muster ergibt sich ein verringerter Füllgrad, also ein „optisches Nadelkissen“ bei der optischen Abtastung. Dies kann jedoch mittels synchronisiertem Lateral-Scan von Mikroblenden-Array 3 und Mikroblenden-Array 4 sowie des Mikroblenden-Arrays 25 völlig ausgeglichen werden, so dass ein Vollbild des Objekts 11 gewonnen wird. Es gibt dabei zwei Modi:

1. Innerhalb der Zeit eines Kamera-Frames wird der Lateral-Scan ausgeführt, so dass eine Integration über alle Positionen erfolgt.
2. In jeder Position beim Lateral-Scan wird ein Bild aufgenommen, gespeichert und zu einem Datensatz verrechnet. Das ergibt gegenüber Modus 1 mehr laterale Informationen.

Die Komponenten Mikrolinsen-Array 3 und gekoppeltes Mikroblenden-Array 4 sowie das Mikroblenden-Array 25 werden beispielsweise gemeinsam in 10×10 Positionen gescannt, da das hierbei das Verhältnis des Fokusfleckdurchmessers zum Fokusabstand um 1:10 liegen soll. Am Besten wird in jeder Position ein Kamerabild mittels der Kamera 29 aufgenommen, die am besten als High-Speed-Kamera ausgebildet ist.

Das Spektrometer ist als ein Flächenspektrometer, wie in DE 10 2006 007 172 A1 dargestellt, mit einer 4 Mega-Pixel Kamera ausgebildet. Es werden beispielsweise 64×64 Objektpunkte gleichzeitig spektral, z.B. mittels 2048 Spektralelementen für jeden Objektpunkt des Objekts 11, analysiert, so dass beispielsweise $10 \times 10 = 100$ Scans mit je einer Detektion eines Bildes in jeder Scan-Position durch die Kamera 29 ausgeführt werden.

Die Figur 2 stellt die Bündel beim Durchlicht-Mikroskop mit chromatischer Aufspaltung der Bündel bei der Beleuchtung auf der Basis eines Mach-Zehnder-Interferometers im Objektstrahlengang des MZI von Figur 1 dar. Das Objekt 11 ist hierbei ein dünnes Phasenobjekt. Es ist der Bereich der Tiefenaufspaltung z_λ sowie der Bereich z_c , in welchem dünne Phasenobjekte erfasst werden können, dargestellt.

Die Figur 3 stellt den Strahlengang im Referenzarm des MZI von Figur 1 dar. Da es keine chromatischen Komponenten im Referenzarm gibt, fallen die Wellenfronten aller

Wellenlängen zusammen und der Punkt A liefert in der ZBE genau einen Bildpunkt A' für alle Wellenlängen.

Die Figur 4 stellt ein errechnetes Wavelet für drei übereinander liegende Phasenobjekte dar. In Figur 5 ist die zugehörige spektrale Phase über der Wellenzahl angegeben, wobei sich aus der Abweichung $\Delta\phi_o$ von der Phasengeraden, also der spektralen Phase $\phi(k)$, die optische Dicke des Phasenobjekts errechnen lässt. Figur 6 zeigt die erste Ableitung der spektralen Phase ϕ über der Wellenzahl k . Aus dem Nulldurchgang der differenzierten spektralen Phase $d\phi/dk$ kann die Position k_o des Phasenobjektes hochgenau bestimmt werden.

Die Figur 7 stellt eine wirtschaftlich und technisch sehr interessante Ausführung dar. Die Lichtquelle 1b ist als fasergekoppelter Wellenlängen-durchstimmbarer Laser ausgebildet. Das aus der Faser austretende Licht passiert einen Kollimator 2 und beleuchtet ein Mikrolinsen-Array 3, welchem ein Mikroblenden-Array 4 nachgeordnet ist, wobei die Mikroblenden, jeweils in der Fokusposition der Mikrolinsen angeordnet sind. Das Mikrolinsen-Array 3 und das Mikroblenden-Array 4 sind miteinander fest verbunden, wobei dieser Baugruppe ein hier nicht dargestellter schneller Präzisions-x-y-Scanner zugeordnet ist, der auch eine hochgenaue Startposition aufweist.

Die von einer Mikroblende vom Mittelpunkt A derselben ausgehende Kugelwelle wird vom Objektiv 6 kollimiert, also in eine Planwelle gewandelt, d. h. der Punkt A wird nach Unendlich abgebildet und passiert dabei im Bereich der Fourier-Ebene des langbrennweitigen Objektivs 6 einen Polarisator 33, ein Wollastonprisma 34 und ein diffraktiv-optisches Element in Form einer Fresnelschen Zonenlinse 7 mit fokussierender Wirkung. Am Wollastonprisma 34 erfolgt eine Aufspaltung in ordentliche und außerordentliche Bündel, die senkrecht zueinander polarisiert sind und einen sehr kleinen Winkel bei der Ausbreitung zueinander aufweisen.

Es erfolgt mittels Fresnelscher Zonenlinse 7 in Abhängigkeit von der Wellenlänge eine unterschiedliche Fokussierung. Für die mittlere Wellenlänge des Spektrums ist die Brechkraft der Fresnelschen Zonenlinse 7 mittels einer direkt nachgeordneten, schwach refraktiven Zerstreuungslinse 8 kompensiert, um nur geringe Abweichungen vom Zustand der idealen Kollimation zuzulassen. Die nachfolgende erste Abbildungsstufe 9 bildet die Fresnelschen Zonenlinse 7 in die Fourier-Ebene des Kondensors 10 ab, so dass dort sowohl schwach divergierende sowie zumindest näherungsweise plane als auch schwach konvergierende Wellen in Abhängigkeit von der Wellenlänge vorhanden sind. In dieser Abbildungsstufe 9 befindet sich ein optischer Verzögerer 35 mit einer dicken Kalkspatplatte, so dass eine

optische Verzögerung von etwa $80\ \mu\text{m}$ zwischen der senkrechten und der waagerechten Polarisationsrichtung, also den ordentlichen und den außerordentlichen Bündeln besteht. Anschließend erfolgt mittels des Wasser-Immersions-Kondensors 10 eine chromatische Tiefenaufspaltung im Objektraum, wodurch zwei Gruppen von Kugelwellen unterschiedlicher Fokussierung je nach Wellenlänge entstehen, deren Zentren in der Tiefe verschoben sind, so dass bei der Abbildung des Punktes A hier die Foki $A's_{\lambda_{\min}}$ bis $A's_{\lambda_{\max}}$ entstehen und $A'p_{\lambda_{\min}}$ bis $A'p_{\lambda_{\max}}$ die eine Lateral-Shear $2\Delta q$ zueinander aufweisen. Das ist in den Figuren 8 und 9 dargestellt. Der Wasser-Immersions-Kondensor 10 in Figur 7 kann in der Tiefe nachjustiert werden, um die Konfokalität des Durchlicht-Mikroskops sicherzustellen. Ein im Objektraum vorhandenes dünnes Phasenobjekt 11 verändert den optischen Gangunterschied, also verschiebt auch die Phase im Interferometer zwischen den Bündeln mit polarisationsoptischer Lateral-Shear. Das Phasenobjekt 11 ist aber in der Regel optisch so dünn, dass die Konfokalität des Durchlicht-Mikroskops noch besteht, d. h. die objektverursachte optische Weglängenänderung noch kleiner als der Bereich der wellenoptischen Schärfentiefe ist. Ein Wasser-Immersions-Objektiv 12 bildet das Objekt 11 ab sowie auch das Licht der unterschiedlich fokussierten Kugelwellen, so dass hier eine Hellfeldanordnung gegeben ist. Die vom Objektiv erfassten Kugelwellen werden in näherungsweise plane oder schwach fokussiert oder divergierende Wellen gewandelt und treffen auf die zweite Abbildungsstufe 13, welche als afokale Stufe eine Abbildung auf das diffraktiv-optische Element in Form einer Fresnelschen Zonenlinse 14 mit divergierender Wirkung ermöglicht. Diese Fresnelsche Zonenlinse 14 steht zumindest näherungsweise in der Pupillenebene. Der Betrag der Brechkraft dieser Fresnelschen Zonenlinse 14 ist für jede Wellenlänge zumindest näherungsweise gleich der Fresnelschen Zonenlinse 14. Die nachfolgende, direkt nachgeordnete, schwach refraktive Sammellinse 15 kompensiert wieder die mittlere Brechkraft der Fresnelschen Zonenlinse 14. Im Ergebnis des Passierens der Fresnelschen Zonenlinse 14 ist die chromatische Aufspaltung des Beleuchtungsstrahlenganges, als die Tiefenaufspaltung durch die Fresnelschen Zonenlinse 7 kompensiert. Der Polarisator 33, das Wollastonprisma 34 sowie das Wollastonprisma 36 und der Analysator 37 bilden mit den Mikroskop-Komponenten ein polarisationsoptisches Shear-Interferometer.

Der weitere Strahlengang entspricht dem bereits in der Figur 1 beschriebenen. Die chromatischen Wavelets entstehen hier jedoch in Abhängigkeit von der Wellenlängen-Durchstimmung mittels der Wellenlängen-durchstimbaren Lichtquelle 1b.

Die Figur 8 stellt den Strahlengang der Bündel im Objektraum beim Durchlicht-Mikroskop mit differentielltem Interferenz-Kontrast (DIC) nach Nomarski für dünne Phasenobjekte dar. Die Lateral-Shear beträgt hierbei etwa $0,5 \mu\text{m}$. Die Figur 9 stellt den Sachverhalt für eine einzelne Wellenlänge λ_i dar, wobei der vergleichsweise große optische Gangunterschied OPD hier symbolisch angedeutet ist.

Patentansprüche

1. Verfahren zur Durchlicht-Mikroskopie, insbesondere auch zur quantitativen Prüfung von einem oder mehreren Objekten (11) oder eines Teils oder Teilen desselben oder derselben im Objektraum,
 - mit einer polychromatischen Lichtquelle (1a) im Beleuchtungsstrahlengang und mit einem Spektrometer (26, 27, 28) im Detektionsstrahlengang
 - oder einer Wellenlängen-durchstimbaren Lichtquelle (1b) im Beleuchtungsstrahlengangund mit Mitteln zur konfokalen Diskriminierung (25, 30) im Detektionsstrahlengang, wie mehrere Mikroblenden (B) oder eine mittels mehrerer gerasterter Mikrooptiken - wie gerasterte Mikrolinsen - mehrfach abgebildete Blende, sowie einer Kamera (29) im Detektionsstrahlengang gekennzeichnet dadurch, dass bei der Objektabbildung eine chromatische Tiefenaufspaltung mittels zumindest partiell chromatischer Brechkraft im Detektionsstrahlengang durchgeführt wird, so dass Bilder der Mittelpunkte der Mikroblenden (25, B)' oder Bilder des Mittelpunktes der mehrfach abgebildeten Blende bei der Rückabbildung in den Objektraum dort eine chromatisch verursachte Tiefenaufspaltung erfahren, so dass diese Bilder ($B'_{o_{\lambda_{\min}}}$, $B'_{o_{\lambda_{\max}}}$) bei einer polychromatischen Lichtquelle zu einem Zeitpunkt oder bei einer Wellenlängen-durchstimbaren Lichtquelle sequentiell in der Lichtausbreitungsrichtung separiert sind.
2. Verfahren zur Durchlicht-Mikroskopie nach Anspruch 1, gekennzeichnet dadurch, dass das Licht im Objektraum räumlich strukturiert wird, in dem mittels mehrerer Mikroblenden (4, A) oder einer mittels mehrerer Mikrolinsen mehrfach abgebildete Makroblende
 - ein Foki-Muster
 - oder ein Fokuslinien-Musterim Objektraum vorbestimmt gebildet werden, und dabei im Beleuchtungsstrahlengang eine chromatische Tiefenaufspaltung dieser Foki oder Fokuslinien mittels zumindest partiell chromatischer Brechkraft durchgeführt wird, so dass die Bilder ($A'_{o_{\lambda_{\min}}}$, $A'_{o_{\lambda_{\max}}}$) in Lichtausbreitungsrichtung separiert sind und dass dabei die zumindest partiell chromatische Brechkraft im Beleuchtungs- und die im Detektionsstrahlengang so vorbestimmt eingebracht sind, dass im Objektraum der Betrag und die Richtung der chromatischen Tiefenaufspaltung der Foki oder der Fokuslinien zur Beleuchtung und im Detektionsstrahlengang der Betrag und die Richtung

der chromatischen Tiefenaufspaltung der rückabgebildeten Mikroblenden (25, BB) oder der mehrfach abgebildeten Makroblende zumindest näherungsweise gleichgemacht sind, so dass im Objektraum die Bilder (A') der Mittelpunkte (A) der Blenden (4, AB) des Beleuchtungsstrahlenganges oder die Bilder (A') der Foki (A) und die Bilder (B') der Mittelpunkte (B) der Blenden (25, BB) des Detektionsstrahlenganges, welche lateral und spektral korrespondieren, nämlich $A'o_{\lambda_{\min}}-B'o_{\lambda_{\min}}$ und $A'o_{\lambda_{\max}}-B'o_{\lambda_{\max}}$ optisch konjugiert sind.

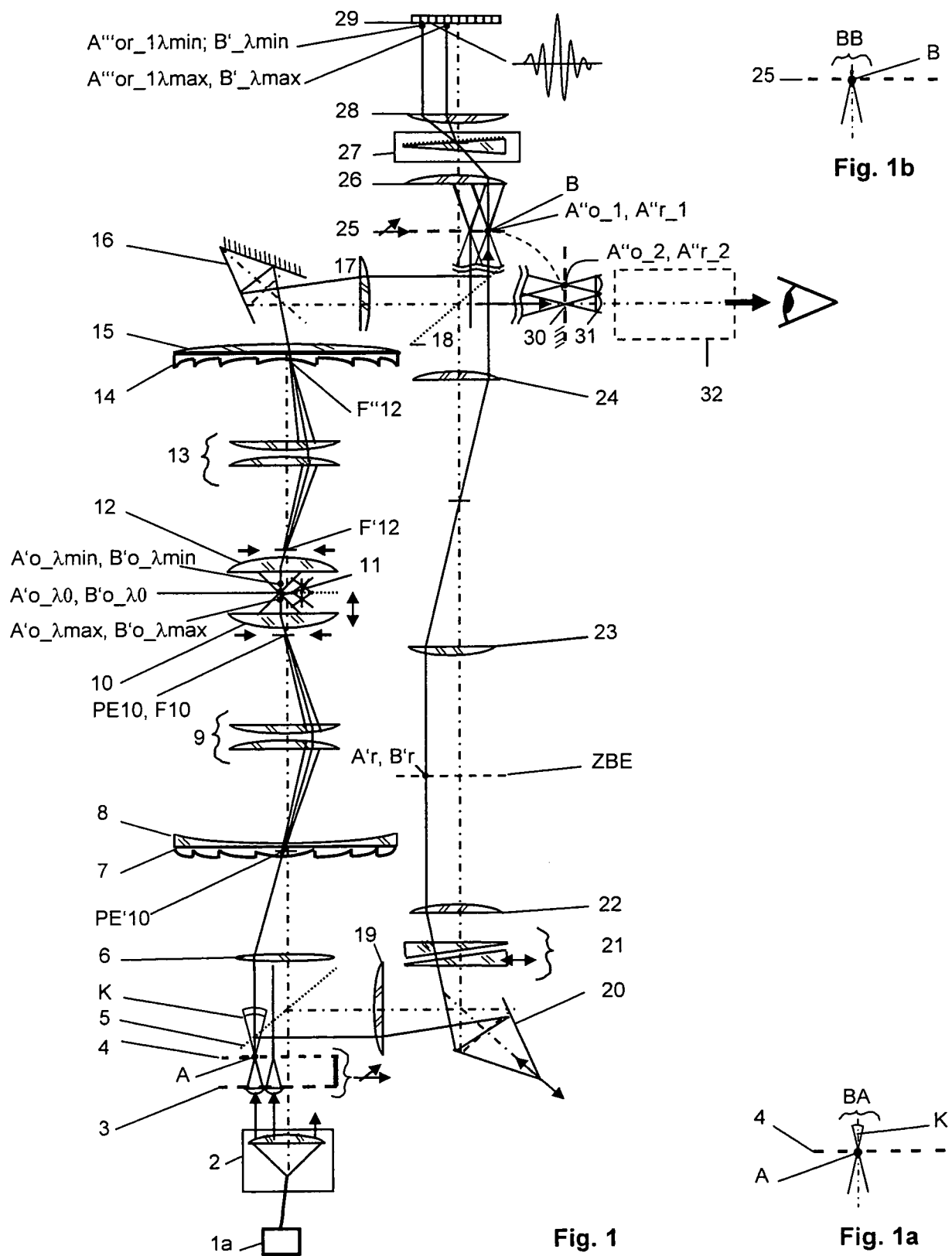
3. Verfahren zur Durchlicht-Mikroskopie nach mindestens einem der Ansprüche 1 und 2, gekennzeichnet dadurch, dass das Verfahren der Dunkelfeldmikroskopie zur Anwendung kommt.
4. Verfahren zur Durchlicht-Mikroskopie nach mindestens einem der Ansprüche 1 und 2, gekennzeichnet dadurch, dass das Verfahren der Phasenmikroskopie auf der Basis der Interferenz von elektromagnetischen Wellen zur Anwendung kommt.
5. Verfahren zur Durchlicht-Mikroskopie nach Anspruch 4, gekennzeichnet dadurch, dass das Phasenkontrast-Verfahren, insbesondere auch das nach F. Zernike, das differentielle Phasenkontrast-Verfahren, insbesondere auch das nach G. Nomarski, auch als DIC-Verfahren (DIC: Differential interference contrast) bezeichnet, das Hoffmann-HMC-Verfahren (HMC: Hoffmann modulation contrast) oder auch ein phasenmikroskopisches Verfahren nach dem Zweistrahl-Interferenz-Verfahren, insbesondere auch auf der Basis eines Mach-Zehnder-Interferometers, zur Anwendung kommen
6. Verfahren zur Durchlicht-Mikroskopie nach mindestens einem der Ansprüche 4 und 5, gekennzeichnet dadurch, dass ein optischer Gangunterschied im Strahlengang eines Phasen-Mikroskops eingeführt wird, der mindestens eine Wellenlänge der maximalen, detektierten Wellenlänge beträgt, so dass Interferenzstreifen, insbesondere auch in Form eines Wavelets, also Intensitätsverläufe über der Wellenlänge λ oder der Wellenzahl k , im detektierten Spektralbereich vorbestimmt gebildet werden, wobei ein dünnes und lateral kleines Phasenobjekt (11) eine lokale Phasenänderung in den Interferenzstreifen, insbesondere auch in Form eines Wavelets, erzeugt.
7. Verfahren zur Durchlicht-Mikroskopie nach Anspruch 6, gekennzeichnet dadurch, dass die Phase der Interferenz ausgewertet wird.
8. Verfahren zur Durchlicht-Mikroskopie nach mindestens einem der Ansprüche 5 bis 7, gekennzeichnet dadurch, dass der optische Gangunterschied im Unendlich-Strahlengang

oder im chromatisch schwach fokussierten Strahlengang der mikroskopischen Abbildung eingebracht wird.

9. Anordnung zur Durchlicht-Mikroskopie, insbesondere auch mit Kondensor (10) und Objektiv (12) und insbesondere auch zur quantitativen Prüfung von einem Mikroobjekt im Objektraum,
 - mit einer polychromatischen Lichtquelle (1a) im Beleuchtungsstrahlengang und mit einem Spektrometer (26, 27, 28) im Detektionsstrahlengang
 - oder einer Wellenlängen-durchstimbaren Lichtquelle (1b) im Beleuchtungsstrahlengang,mit Mitteln zur konfokalen Diskriminierung im Detektionsstrahlengang, wie mehrere Mikroblenden (25, B) oder eine mittels mehrerer Mikrolinsen mehrfach abgebildete Makroblende, sowie einer Kamera (29) im Detektionsstrahlengang, gekennzeichnet dadurch, dass Mittel (14) mit zumindest partiell chromatischer Brechkraft zur chromatischen Tiefenaufspaltung im Detektionsstrahlengang angeordnet sind.
10. Anordnung zur Durchlicht-Mikroskopie nach Anspruch 9, gekennzeichnet dadurch, dass die Mittel (14) mit zumindest partiell chromatischer Brechkraft zur chromatischen Tiefenaufspaltung in der Fourier-Ebene ($F'12$), also der rückwärtigen Brennebene des Objektivs (12), oder in einer zu dieser optisch konjugierten Ebene ($F''12$) angeordnet sind.
11. Anordnung zur Durchlicht-Mikroskopie nach Anspruch 9, gekennzeichnet dadurch, dass Mittel (7) mit zumindest partiell chromatischer Brechkraft zur chromatischen Tiefenaufspaltung im Beleuchtungsstrahlengang angeordnet sind.
12. Anordnung zur Durchlicht-Mikroskopie nach Anspruch 11, gekennzeichnet dadurch, dass Mittel (7) mit zumindest partiell chromatischer Brechkraft zur chromatischen Tiefenaufspaltung in der Fourier-Ebene, also der rückwärtigen Brennebene ($F10$), des Kondensors (10), oder in einer zu dieser optisch konjugierten Ebene ($PE'10$) angeordnet sind.
13. Anordnung zur Durchlicht-Mikroskopie nach mindestens einem der Ansprüche 9 bis 12, gekennzeichnet dadurch, dass bei der Anwendung eines Nomarski-DIC-Mikroskops mit zwei Wollastonprismen (34) (36) ein optischer, doppelbrechender Verzögerer einen optischen Gangunterschied zwischen den beiden Polarisationsrichtungen von mindestens einer Wellenlänge der maximalen, detektierten Wellenlänge erzeugt, wobei der

Verzögerer im Raum zwischen den beiden Wollastonprismen (34) (36) des Nomarski-DIC-Mikroskops angeordnet ist.

14. Anordnung zur Durchlicht-Mikroskopie nach Anspruch 13, gekennzeichnet dadurch, dass der optische, doppelbrechende Verzögerer in Form einer Kalkspatplatte (35) (calcite plate) ausgebildet ist.
15. Anordnung zur Durchlicht-Mikroskopie nach mindestens einem der Ansprüche 9 bis 14, gekennzeichnet dadurch, dass die Mittel mit chromatischer Brechkraft als diffraktiv-optische Elemente (7), (14) ausgebildet sind.
16. Anordnung zur Durchlicht-Mikroskopie nach mindestens einem der Ansprüche 9 bis 15, gekennzeichnet dadurch, dass die Mittel (25) zur konfokalen Diskriminierung im Detektionsstrahlengang lateral verschiebbar angeordnet sind.
17. Anordnung zur Durchlicht-Mikroskopie nach mindestens einem der Ansprüche 9 bis 15, gekennzeichnet dadurch, dass die Mittel (4) zur Strukturierung des Lichts im Beleuchtungsstrahlengang lateral verschiebbar angeordnet sind und synchron mit den Mitteln (25) zur konfokalen Diskriminierung im Detektionsstrahlengang verschoben werden, so dass die laterale Zuordnung der Bilder (A', B') derselben im Objektraum bei der Verschiebung und bei der Bildaufnahme mittels Kamera (29) stets erhalten bleibt.
18. Anordnung zur Durchlicht-Mikroskopie nach mindestens einem der Ansprüche 9 bis 17, gekennzeichnet dadurch, dass eine optische Kopplung der Anordnung zur Durchlicht-Mikroskopie mit einer optischen, rechnergesteuerten Pinzette durchgeführt wird.



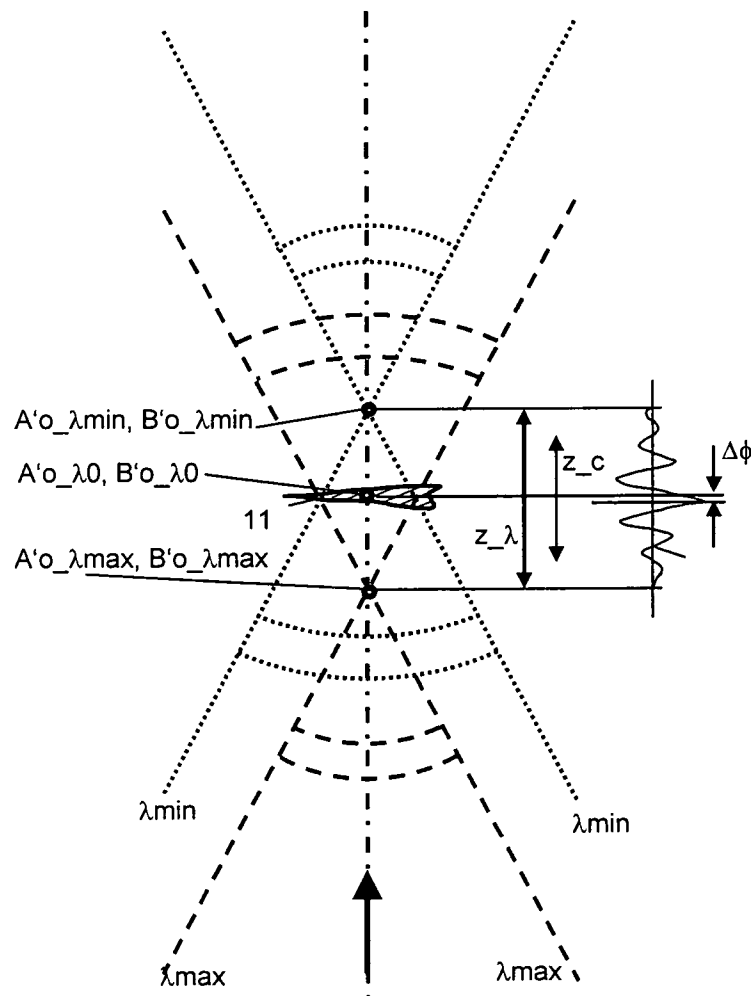


Fig. 2

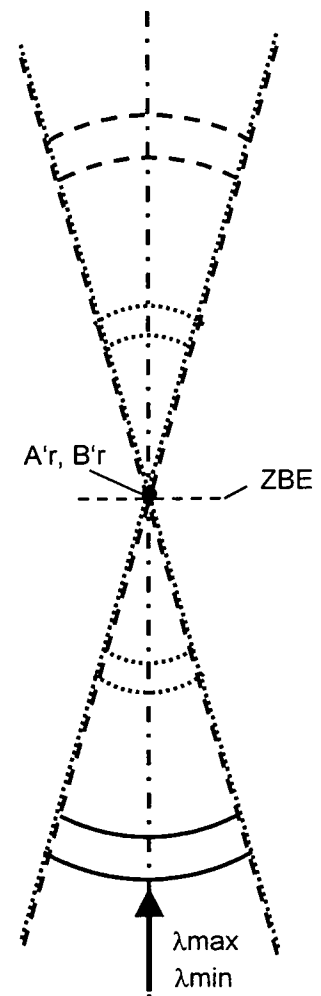


Fig. 3

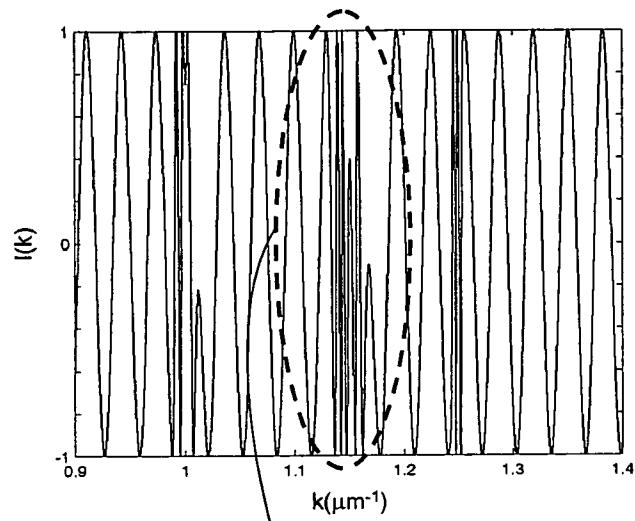


Fig. 4

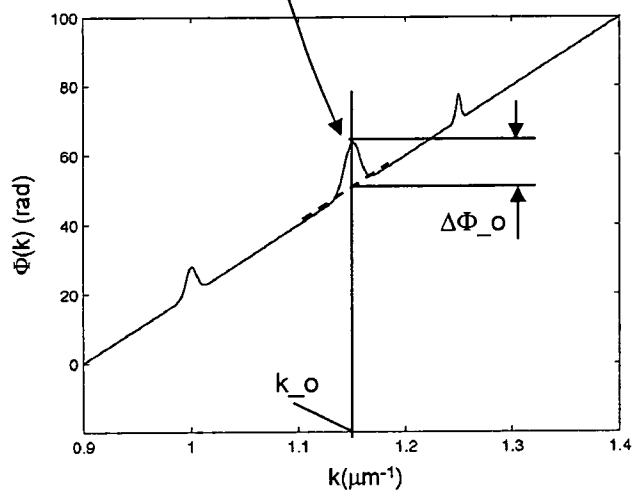


Fig. 5

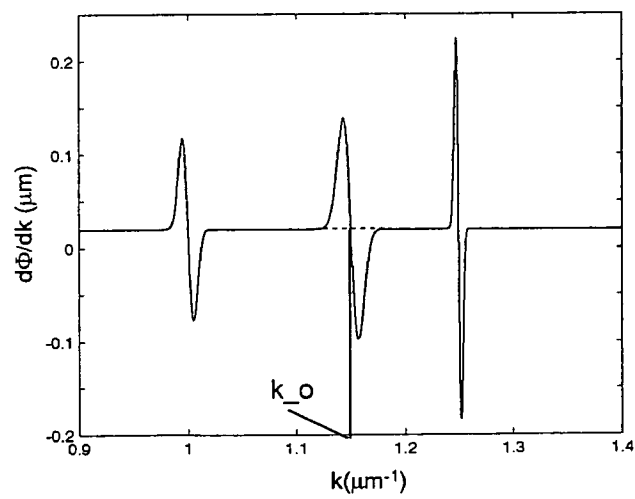


Fig. 6

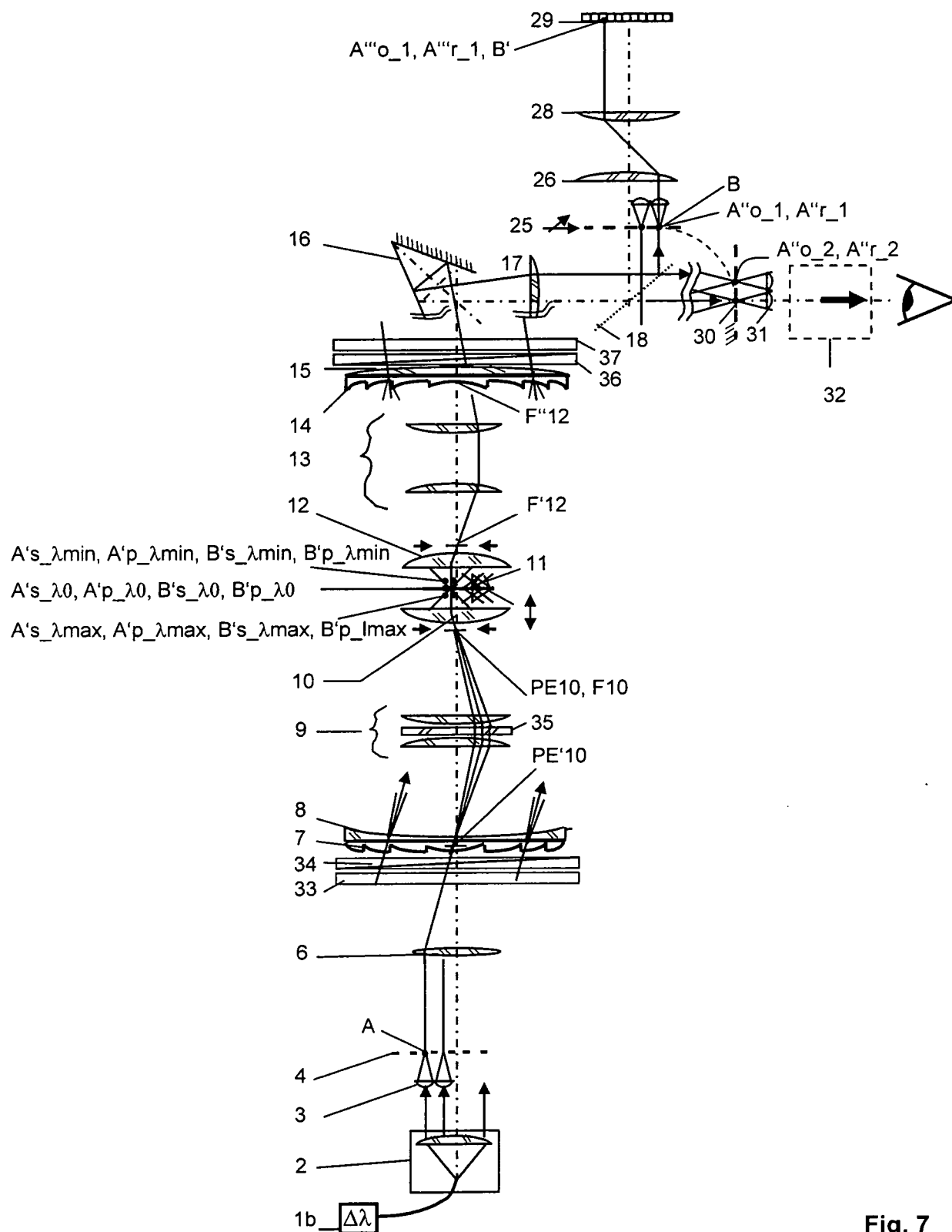


Fig. 7

05/55

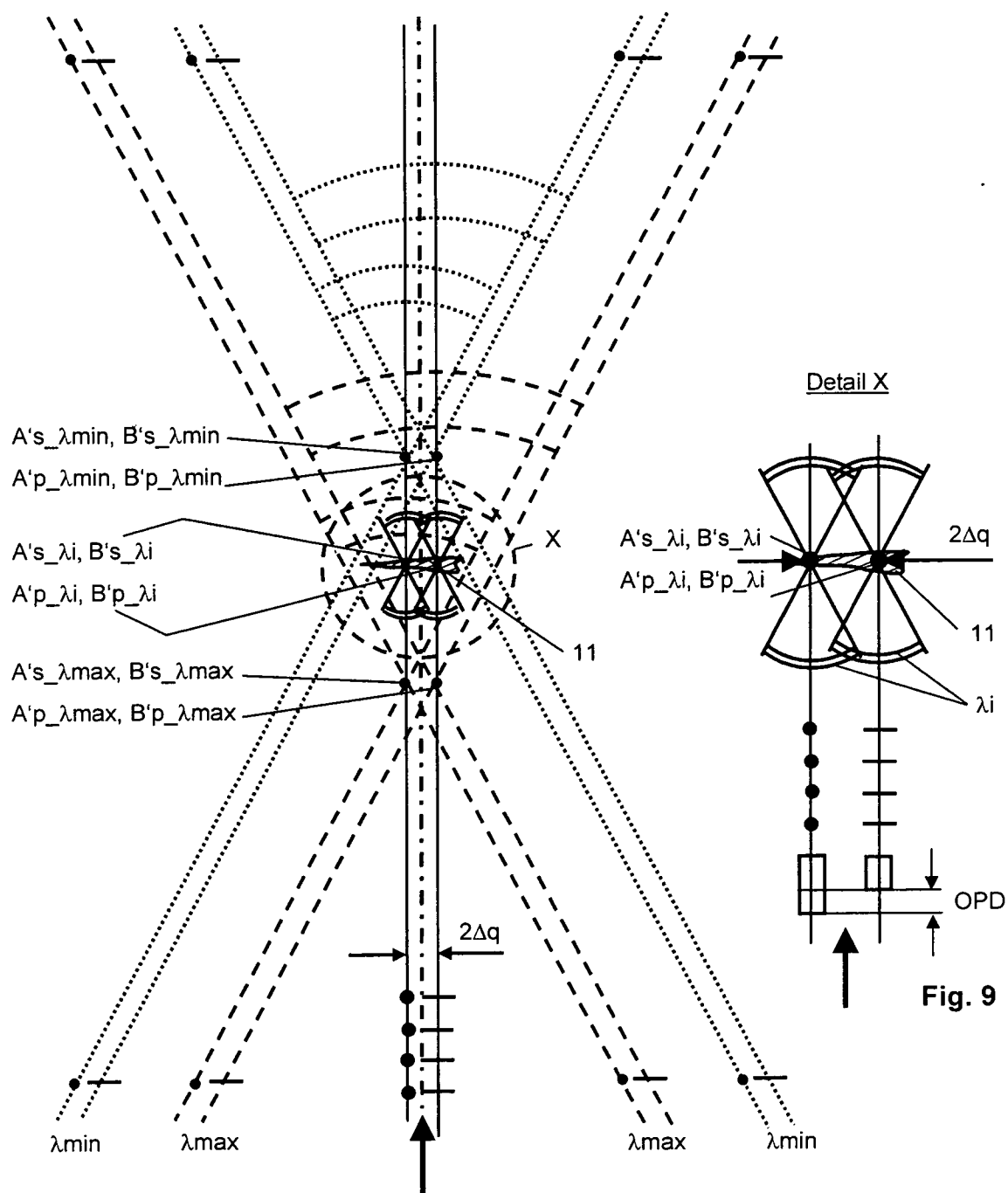


Fig. 8

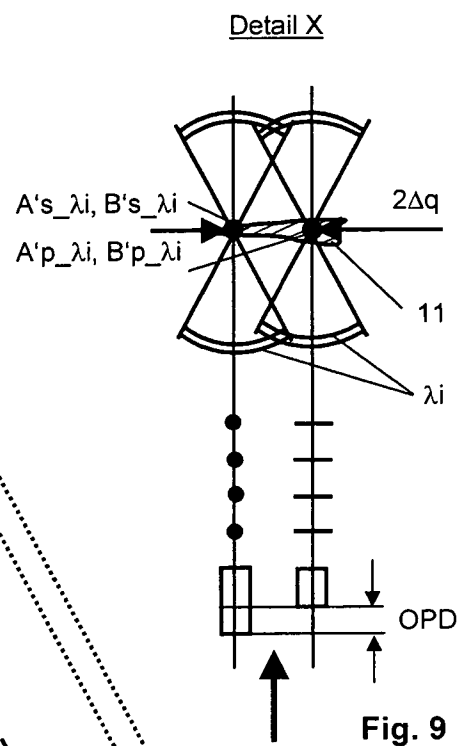


Fig. 9

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2007/003644

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. G02B21/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

G02B

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	DE 196 32 594 A1 (SCHWIDER JOHANNES PROF DR [DE]) 19 February 1998 (1998-02-19) column 1, line 65 - column 2, line 23; figure 4	1-18
Y	----- PAPASTATHOPOULOS E ET AL: "CHROMATICALLY DISPERSED INTERFEROMETRY WITH WAVELET ANALYSIS" OPTICS LETTERS, OSA, OPTICAL SOCIETY OF AMERICA, WASHINGTON, DC, US, vol. 31, no. 5, 1 March 2006 (2006-03-01), pages 589-591, XP001238939 ISSN: 0146-9592 cited in the application the whole document ----- -/--	1-18

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

A document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

E earlier document but published on or after the international filing date

L document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

O document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

P document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

T later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

X document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

Y document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

Z document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

2 August 2007

Date of mailing of the international search report

14/08/2007

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Lehtiniemi, Henry

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2007/003644

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2006/012872 A1 (HAYASHI TERUTAKE [JP] ET AL) 19 January 2006 (2006-01-19) abstract; figure 1 -----	1,9
A	EP 1 359 452 A1 (MAX PLANCK GESELLSCHAFT [DE]) 5 November 2003 (2003-11-05) abstract; figure 2 -----	1,9
A	TIZIANI H J ET AL: "THREE-DIMENSIONAL IMAGE SENSING BY CHROMATIC CONFOCAL MICROSCOPY" APPLIED OPTICS, OSA, OPTICAL SOCIETY OF AMERICA, WASHINGTON, DC, US, vol. 33, no. 10, 1 April 1994 (1994-04-01), pages 1838-1843, XP000434202 ISSN: 0003-6935 cited in the application the whole document -----	1,9
A	CHA S ET AL: "NONTRANSLATIONAL THREE-DIMENSIONAL PROFILOMETRY BY CHROMATIC CONFOCAL MICROSCOPY WITH DYNAMICALLY CONFIGURABLE MICROMIRROR SCANNING" APPLIED OPTICS, OSA, OPTICAL SOCIETY OF AMERICA, WASHINGTON, DC, US, vol. 39, no. 16, 1 June 2000 (2000-06-01), pages 2605-2613, XP000951755 ISSN: 0003-6935 abstract -----	1,9

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2007/003644

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
DE 19632594	A1	19-02-1998	NONE
US 2006012872	A1	19-01-2006	CN 1692296 A 02-11-2005
			CN 1991335 A 04-07-2007
			EP 1548481 A1 29-06-2005
			WO 2004036284 A1 29-04-2004
			KR 20050059221 A 17-06-2005
EP 1359452	A1	05-11-2003	WO 03093892 A1 13-11-2003

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2007/003644

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
INV. G02B21/00

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPC

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
G02B

Recherchierte, aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	DE 196 32 594 A1 (SCHWIDER JOHANNES PROF DR [DE]) 19. Februar 1998 (1998-02-19) Spalte 1, Zeile 65 - Spalte 2, Zeile 23; Abbildung 4	1-18
Y	PAPASTATHOPOULOS E ET AL: "CHROMATICALLY DISPERSED INTERFEROMETRY WITH WAVELET ANALYSIS" OPTICS LETTERS, OSA, OPTICAL SOCIETY OF AMERICA, WASHINGTON, DC, US, Bd. 31, Nr. 5, 1. März 2006 (2006-03-01), Seiten 589-591, XP001238939 ISSN: 0146-9592 in der Anmeldung erwähnt das ganze Dokument	1-18

-/--



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

- * Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :
- *A* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
- *E* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
- *L* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
- *O* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
- *P* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist
- *T* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist
- *X* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden
- *Y* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist
- *G* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

2. August 2007

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

14/08/2007

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Lehtiniemi, Henry

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2007/003644

C. (Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	US 2006/012872 A1 (HAYASHI TERUTAKE [JP] ET AL) 19. Januar 2006 (2006-01-19) Zusammenfassung; Abbildung 1 -----	1,9
A	EP 1 359 452 A1 (MAX PLANCK GESELLSCHAFT [DE]) 5. November 2003 (2003-11-05) Zusammenfassung; Abbildung 2 -----	1,9
A	TIZIANI H J ET AL: "THREE-DIMENSIONAL IMAGE SENSING BY CHROMATIC CONFOCAL MICROSCOPY" APPLIED OPTICS, OSA, OPTICAL SOCIETY OF AMERICA, WASHINGTON, DC, US, Bd. 33, Nr. 10, 1. April 1994 (1994-04-01), Seiten 1838-1843, XP000434202 ISSN: 0003-6935 in der Anmeldung erwähnt das ganze Dokument -----	1,9
A	CHA S ET AL: "NONTRANSLATIONAL THREE-DIMENSIONAL PROFILOMETRY BY CHROMATIC CONFOCAL MICROSCOPY WITH DYNAMICALLY CONFIGURABLE MICROMIRROR SCANNING" APPLIED OPTICS, OSA, OPTICAL SOCIETY OF AMERICA, WASHINGTON, DC, US, Bd. 39, Nr. 16, 1. Juni 2000 (2000-06-01), Seiten 2605-2613, XP000951755 ISSN: 0003-6935 Zusammenfassung -----	1,9

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2007/003644

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
DE 19632594 A1	19-02-1998	KEINE	
US 2006012872 A1	19-01-2006	CN 1692296 A	02-11-2005
		CN 1991335 A	04-07-2007
		EP 1548481 A1	29-06-2005
		WO 2004036284 A1	29-04-2004
		KR 20050059221 A	17-06-2005
EP 1359452 A1	05-11-2003	WO 03093892 A1	13-11-2003