

AMT FÜR ERFINDUNGS- UND PATENTWESEN

(21)	WP G 02 B / 301 401 5	(22)	02.04.87	(45)	21.02.90
------	-----------------------	------	----------	------	----------

(71)	VEB Carl Zeiss JENA, Carl-Zeiss-Straße 1, Jena, 6900, DD
(72)	Gröbler, Bernhard, Dipl.-Ing.; Freiberg, Klaus, DD

(54)	Anordnung zur Vermeidung des variablen Öffnungsfehlers in Rastermikroskopen mit z-Scan
------	--

(55) Rastermikroskop, konfokaler Strahlengang, z-Scan, Minimierung der Öffnungsfehler, bewegliche Mittel im Strahlengang, automatische Einstellung, Minimierung zu jedem z-Scanschritt

(57) Anordnung zur Vermeidung des variablen Öffnungsfehlers in Rastermikroskopen mit z-Scan, die Anwendung in Rastermikroskopen mit konfokalem Strahlengang findet und für Durchlicht- und für Auflichtverfahren geeignet ist. Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, eine Anordnung zu schaffen, bei der in Abhängigkeit von einer eingestellten Fokustiefe $z_1, z_2, \dots, z_n$ die entstehenden unterschiedlichen Öffnungsfehler minimiert werden. Die Aufgabe löst eine erfindungsgemäße Anordnung dadurch, daß die lichtbündelerzeugenden und -empfangenden Mittel und/oder mindestens Teile der das Lichtbündel beeinflussenden optischen Systeme beweglich entlang des Strahlenganges angeordnet sind und diese Mittel mit einer zentralen Steuereinheit über eine Stelleinrichtung in Wirkverbindung stehen.

Patentansprüche:

1. Anordnung zur Vermeidung des variablen Öffnungsfehlers in Rastermikroskopen mit z-Scan, eine Punktlichtquelle, einen Lichtdetektor mit punktförmiger empfindlicher Fläche und mindestens ein optisches System, zur Erzeugung von zur punktförmigen Lichtquelle optisch konjugierten Fokussen im Objekt und auf der punktförmigen empfindlichen Fläche des Lichtdetektors, sowie Mittel zur Abrasterung des Objektes aufweisend, **gekennzeichnet dadurch**, daß mindestens eines der Elemente Punktlichtquelle (1), Lichtdetektor (4) und besagtes optisches System beweglich entlang des Strahlenganges angeordnet ist, daß die beweglichen Elemente mit einer zentralen Steuereinheit (13) über eine Stelleinrichtung (10) in Wirkverbindung stehen und daß eine z-Scanstelleinrichtung (9) mit der zentralen Steuereinheit (13) und der Stelleinrichtung (10) verbunden ist.
2. Anordnung nach Anspruch 1, **gekennzeichnet dadurch**, daß das besagte optische System ein erstes optisches System (2) ist.
3. Anordnung nach Anspruch 1, **gekennzeichnet dadurch**, daß das besagte optische System aus einem ersten optischen System (2) und einem zweiten optischen System (3) besteht.
4. Anordnung nach einem der Ansprüche 2 und 3, **gekennzeichnet dadurch**, daß die Punktlichtquelle (1) und der Lichtdetektor (4) beweglich angeordnet sind.
5. Anordnung nach Anspruch 2, **gekennzeichnet dadurch**, daß das erste optische System (2) beweglich angeordnet ist.
6. Anordnung nach Anspruch 3, **gekennzeichnet dadurch**, daß das erste optische System (2) und das zweite optische System (3) beweglich angeordnet sind.
7. Anordnung nach einem der Ansprüche 2 und 3, **gekennzeichnet dadurch**, daß die Punktlichtquelle (1), der Lichtdetektor (4) und mindestens eines der optischen Systeme (2, 3) beweglich angeordnet sind.
8. Anordnung nach Anspruch 5, 6 oder 7, **gekennzeichnet dadurch**, daß die Teile (8, 11, 12) der optischen Systeme (2, 3) beweglich angeordnet sind.
9. Anordnung nach Anspruch 8, **gekennzeichnet dadurch**, daß eine Linse/Linsengruppe 11 und eine Linse/Linsengruppe (12) durch ein Koppellement (16) miteinander starr verbunden sind und daß das Koppellement (16) mit der Stelleinrichtung (10) in Wirkverbindung steht.

Hierzu 3 Seiten Zeichnungen

Anwendungsgebiet der Erfindung

Die Anordnung zur Vermeidung des variablen Öffnungsfehlers in Rastermikroskopen mit z-Scan findet Anwendung in Rastermikroskopen mit konfokalem Strahlengang und z-Scan. Sie ist für Durchlicht- und Auflichtverfahren geeignet.

Charakteristik des bekannten Standes der Technik

Es ist bekannt, daß Lichttrastermikroskope vom konfokalen Typ eine sehr geringe Schärfentiefe haben (US-PS 3013467). Es ist daher möglich, Intensitätskurven in Abhängigkeit von der Fokustiefe z im Objekt aufzunehmen, also z-Scanning durchzuführen. Dabei durchdringen im Falle von Durchlichtbeobachtung die beiden Hälften des Lichtbündeldoppelkegels verschiedene Schichtdicken des Objektes. Bei Verwendung von starken Trockenobjektiven oder von Immersionsobjektiven in Verbindung mit Objekten, die nicht genau die geforderte Brechzahl haben, kommt es beim Durchfokussieren zu verschiedenen starken Öffnungsfehlern in den Hälften des Lichtbündeldoppelkegels. Bei den hohen scheinbaren Aperturen des konfokalen Aufbaus kann dieser Öffnungsfehler nicht unberücksichtigt bleiben, wenn höchste Abbildungsgüte verlangt wird (Brakenhoff, G.I. et. al in Ash, E.A., Ed „Scanned image Microscopy“, London, 1980).

Ziel der Erfindung

Das Ziel der Erfindung besteht darin, eine Anordnung zur Vermeidung des variablen Öffnungsfehlers in Rastermikroskopen mit z-Scan zu schaffen, die technisch mit geringem Aufwand realisierbar ist.

Darlegung des Wesens der Erfindung

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, eine Anordnung zur Vermeidung des variablen Öffnungsfehlers in Rastermikroskopen mit z-Scan im konfokalen Strahlengang zu schaffen, bei der in Abhängigkeit von einer eingestellten Fokustiefe $z_{1,2,\dots,n}$ die entstehenden unterschiedlichen Öffnungsfehler durch eine selbsttätige Einrichtung stets minimiert werden.

Erfindungsgemäß wird die Aufgabe durch eine Anordnung zur Vermeidung des variablen Öffnungsfehlers in Rastermikroskopen mit z-Scan, eine Punktlichtquelle, einen Lichtdetektor mit punktförmiger empfindlicher Fläche und mindestens ein optisches System, zur Erzeugung von zur punktförmigen Lichtquelle optisch konjugierten Fokussen im Objekt und auf der punktförmigen empfindlichen Fläche des Lichtdetektors, sowie Mittel zur Abrasterung des Objektes aufweisend, dadurch gelöst, daß mindestens eines der Elemente Punktlichtquelle, Lichtdetektor und besagtes optisches System beweglich entlang des Strahlenganges angeordnet ist, daß die beweglichen Elemente mit einer zentralen Steuereinheit über eine Stelleinrichtung in Wirkverbindung stehen und daß eine z-Scanstelleinrichtung mit der zentralen Steuereinheit und der Stelleinrichtung verbunden ist.

Wird mittels der z-Scanstelleinrichtung nacheinander eine bestimmte Fokustiefe $z_{1,2,\dots,n}$ im zu betrachtenden Objekt eingestellt, so werden die entlang des Strahlenganges beweglichen Mittel bei jedem Scanschritt jeweils um einen definierten Weg $s_{1,2,\dots,n}$ verstellt, der so gewählt ist, daß beide Hälften des Lichtbündeldoppelkegels zusammen oder einzeln einen minimalen Öffnungsfehler aufweisen.

Die Realisierung der Einstellung des Weges $s_{1,2,\dots,n}$ erfolgt auf Signal der zentralen Steuereinheit über die Stelleinrichtung, wobei als Stelleinrichtung an sich bekannte, physikalisch wirkende Mittel Anwendung finden.

Vorteilhafte erfindungsgemäße Ausführungsformen bestehen darin, daß zur Durchführung von

- Auflichtmikroskopie ein erstes optisches System und

- bei Durchlichtmikroskopie ein erstes und ein zweites optisches System angewandt werden, weiterhin darin, daß das erste optische System oder daß das erste und das zweite optische System oder daß die Punktlichtquelle, der Lichtdetektor und mindestens eines der beiden optischen Systeme beweglich angeordnet sind.

Vorteilhaft ist auch, daß nur Teile der beiden optischen Systeme einzeln oder gemeinsam über ein mit ihnen starr verbundenes Koppellement bewegbar sind, wobei das Koppellement mit der Stelleinrichtung verbunden ist.

Dem Wesen der Erfindung entspricht es ferner, wenn vom Lichtdetektor statt des am Ort reflektierten oder des durchs Objekt transmittierten Lichtes Strahlung registriert wird, die durch andere optische Wechselwirkungen vom Objekt ausgeht, wie z. B. Streuung, Fluoreszenz und Beugung.

Ausführungsbeispiele

Die Erfindung wird anhand von Zeichnungen näher erläutert. Es zeigen

- Fig. 1: eine vereinfachte schematische Darstellung des Strahlenganges eines Rastermikroskopes, mit konfokalem Strahlengang und z-Scan, mit der erfindungsgemäßen Anordnung,
 Fig. 1 a: die einstellbare Fokustiefe $z_{1,2,\dots,n}$ im Objekt und
 Fig. 2 und 3: weitere vorteilhafte Ausführungsformen der in Fig. 1 dargestellten Grundvariante.

Fig. 1 zeigt eine vereinfachte schematische Darstellung des Strahlenganges sowie die Anordnung der wesentlichsten Elemente eines Rastermikroskopes. Das von einer Punktlichtquelle 1 erzeugte und ausgesandte Lichtbündel L gelangt nach Passieren eines ersten optischen Systemes 2, welches mindestens aus einer Linse/Linsengruppe besteht, zum Objekt 6. Vor dem Objekt 6 beeinflußt, trifft das Lichtbündel L nach Passieren eines zweiten optischen Systemes 3, welches mindestens aus einer Linse/Linsengruppe besteht, auf einen Lichtdetektor 4 mit punktförmiger empfindlicher Fläche auf.

Das Objekt 6 wird mittels einer in den Koordinaten x, y und z stellbaren Objekthalterung 8 gehalten. Die Objekthalterung 8 ist mit einer x,y-Scanstelleinrichtung 5 und einer z-Scanstelleinrichtung 9 verbunden.

Erfindungsgemäß sind das erste und zweite optische System 2 und 3 jeweils mit einer entlang des Strahlenganges beweglichen Linse/Linsengruppe 11 bzw. 12 versehen. Die Linsen/Linsengruppen 11, 12 stehen über eine Stelleinrichtung 10 mit einer zentralen Steuereinheit 13 in Wirkverbindung. Die z-Scanstelleinrichtung 9 ist mit der zentralen Steuereinheit 13 und mit der Stelleinrichtung 10 verbunden.

In der zentralen Steuereinheit 13 sind Informationen über das Objekt 6, z. B. Schichtdicke und Brechzahl, sowie die Beziehung zwischen Änderungsbetrag der Fokustiefe und Änderungsbetrag des Verstellweges der beweglichen Mittel gespeichert.

Wird mittels der z-Scanverstelleinrichtung 9, ausgehend von einem Signal der zentralen Steuereinheit 13, nacheinander eine bestimmte Fokustiefe $z_{1,2,\dots,n}$, siehe Figur 1 a, im zu betrachtenden Objekt 6 eingestellt, so werden die entlang des Strahlenganges beweglichen Mittel bei jedem Scanschritt z jeweils um einen definierten Weg $s_{1,2,\dots,n}$ verstellt, der so gewählt ist, daß die erste Hälfte 14 und die zweite Hälfte 15 des Lichtbündeldoppelkegels einen minimalen Öffnungsfehler aufweisen.

Der Lichtdetektor 4 liefert ein Signal, von dem die Intensität I(x, y) auf einem Display 7 abgeleitet wird. Das Display 7 ist mit den Elementen 4, 5 und 13 verbunden.

Figur 2 zeigt eine vorteilhafte Ausführungsform der erfindungsgemäßen Anordnung, bei der die einzelnen Teile des ersten und des zweiten optischen Systems 2 und 3 gleichermaßen ausgebildet sind. In dieser Ausführungsform erfolgt die Verstellung der Linsen/Linsengruppen 11 und 12 gleichsinnig. Die Linsen/Linsengruppen 11 und 12 sind durch ein Koppellement 16 miteinander verbunden.

In Figur 3 ist eine weitere vorteilhafte Ausführungsform der erfindungsgemäßen Anordnung dargestellt. Die Punktlichtquelle 1 und/oder der Lichtdetektor 4 sind beweglich entlang des Strahlenganges angeordnet. Bei dieser Ausführungsform sind die Verschiebewege der beweglichen Mittel 1, 4 größer als in den Ausführungsformen nach Fig. 1 und 2, die erforderlichen Führungsgenauigkeiten der nicht dargestellten Bewegungsmittel werden jedoch kleiner, wodurch der technische Realisierungsaufwand sinkt.

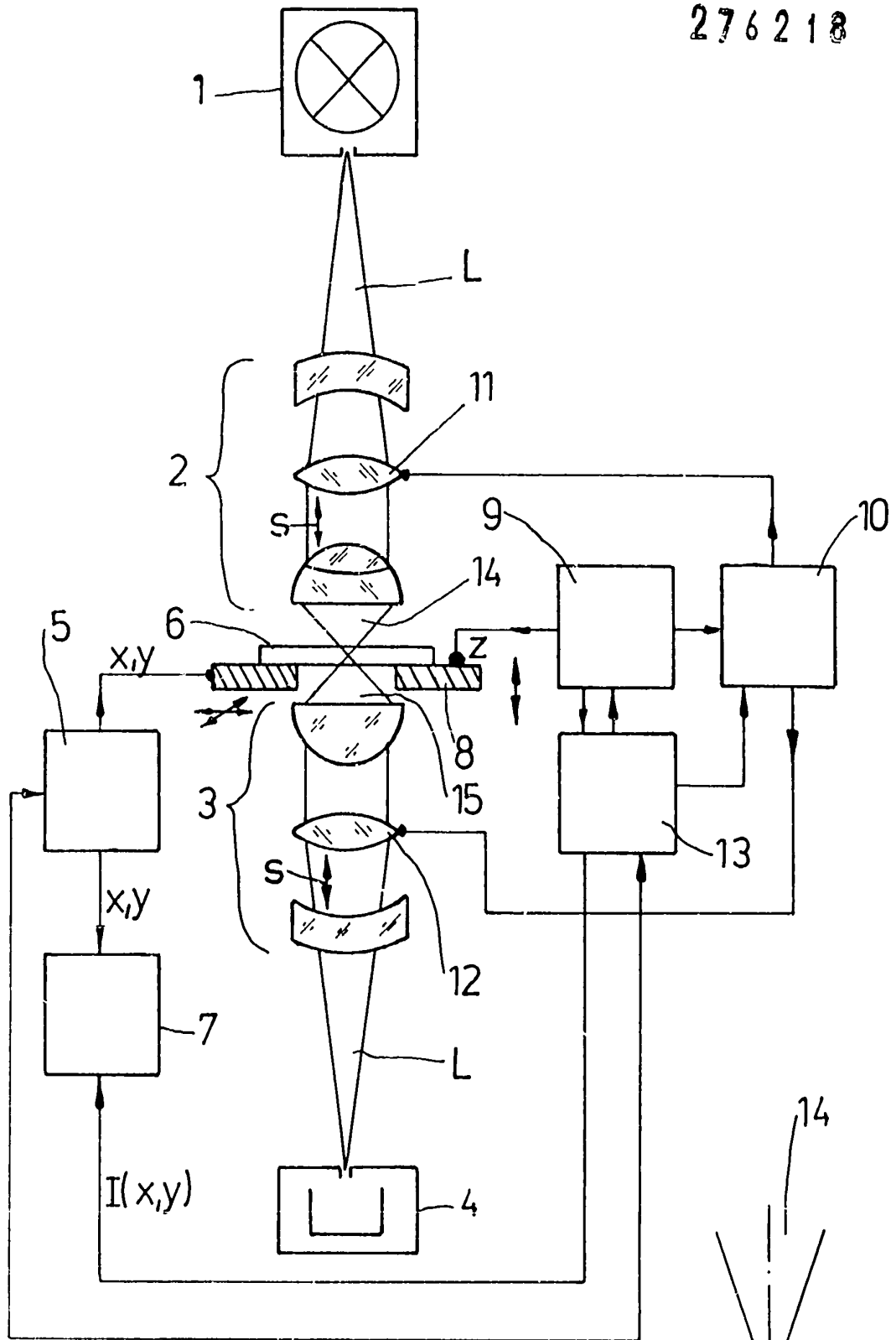


Fig.1

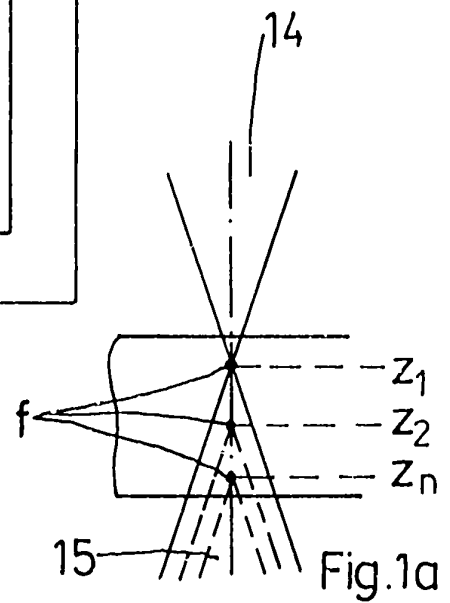


Fig.1a

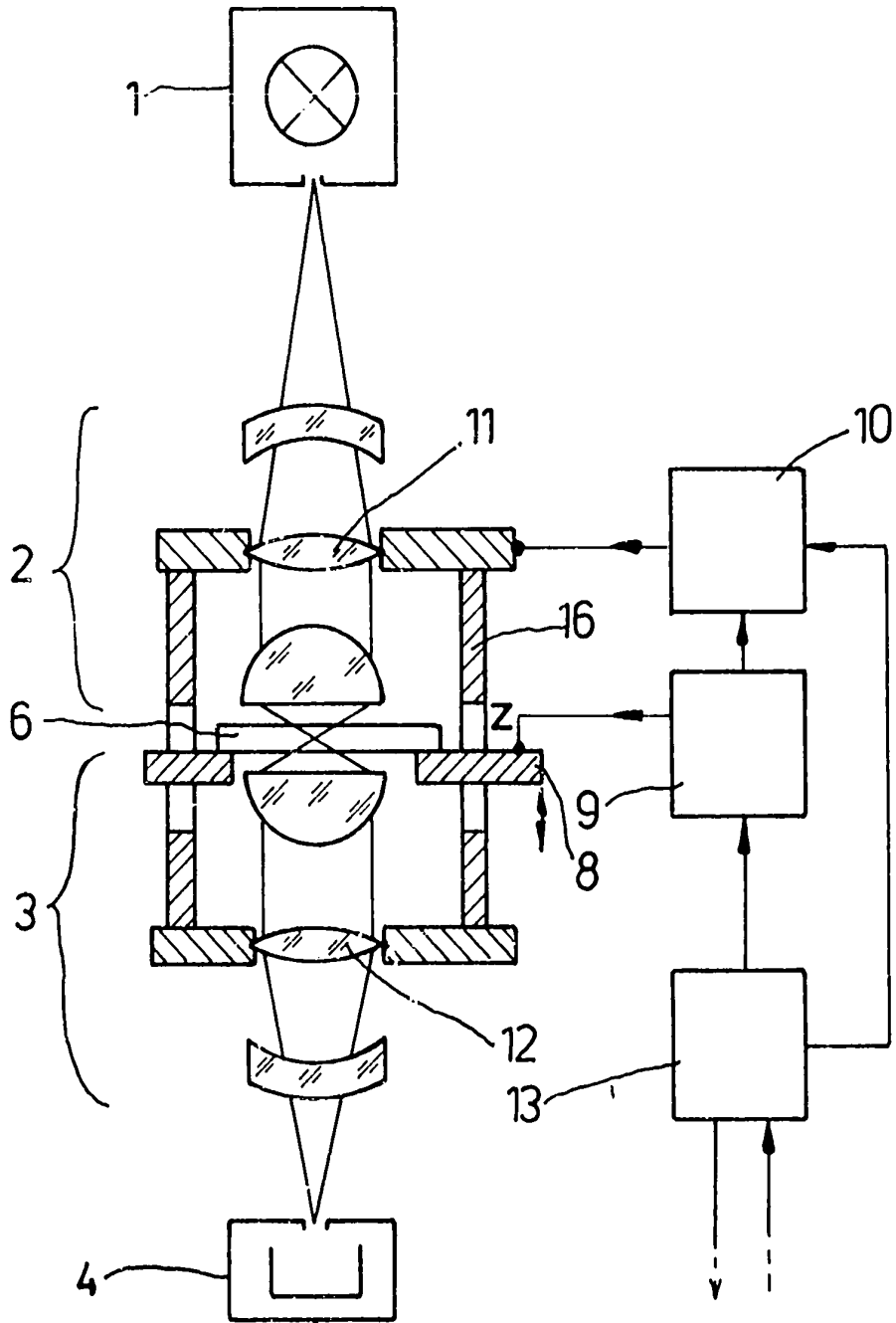


Fig. 2

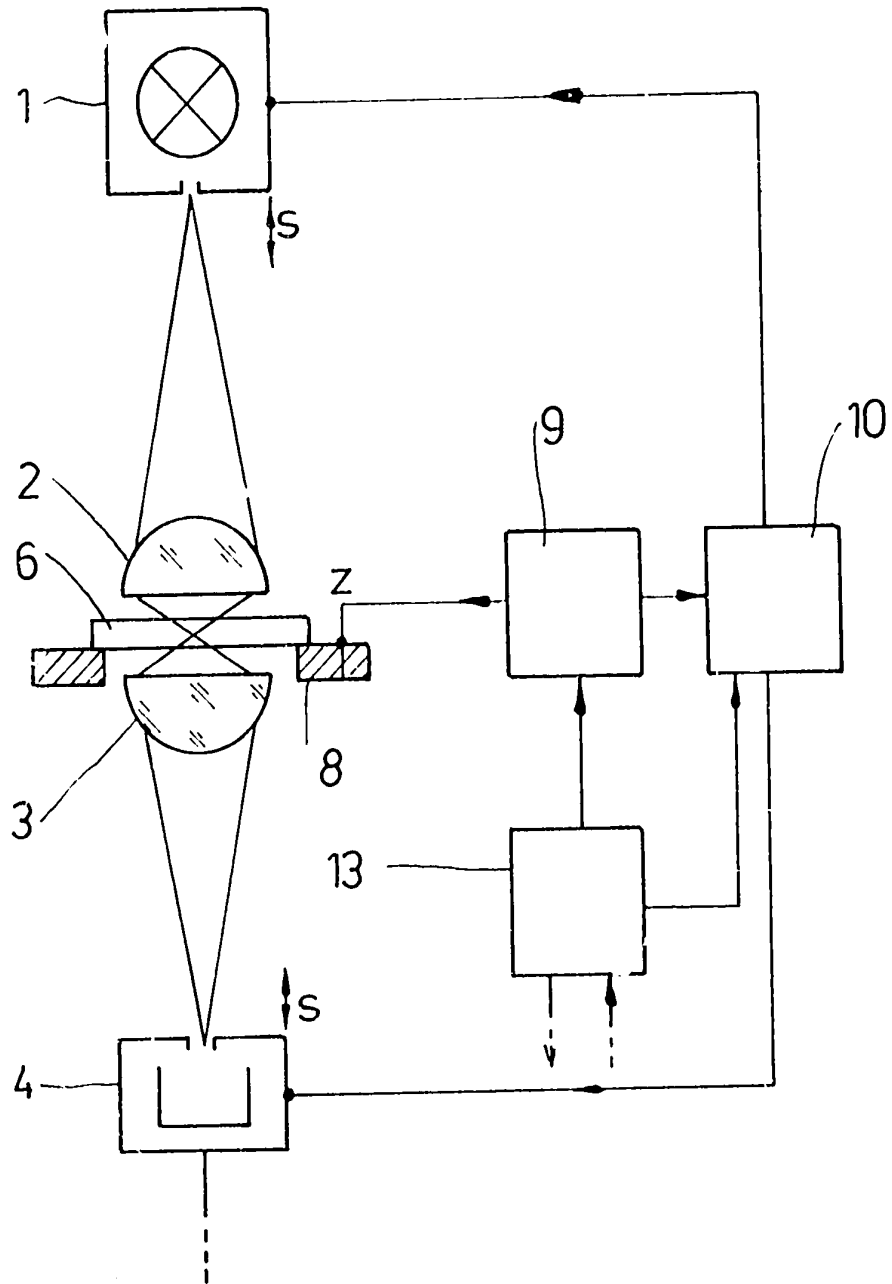


Fig. 3