

# 显微镜光学传递函数测定

迟学芬 刘 斌 韩昌元 李 炜

**摘要:** 本文介绍了显微镜光学传递函数测定仪的研制工作, 包括仪器的基本工作原理, 仪器电路设计、计算机接口设计、软件系统设计。并介绍了仪器的技术性能测试结果, 仪器的使用效果。

## 一、前 言

目前, 国内外显微镜生产厂家和检验部门对显微镜成像质量的检验大部分都以目视星点检验为主。目视星点检验不能定量, 而且和人的主观因素有关, 不能客观地准确反映显微镜成像质量。为此, 最近有少数单位研制了波差测定干涉仪, 用干涉法检验显微镜成像质量, 可是, 干涉仪检验反映不出杂光的影响, 有的显微镜虽然波像差小, 干涉检验的结果是好的, 但由于杂光大, 对比度不好, 使用效果差。我们研制的显微镜光学传递函数测定仪, 用光学传递函数评价显微镜成像质量, 克服了目视星点检验和干涉检验的不足。

显微镜一般是成像质量理想, 数值孔径很大的光学系统, 它的光学传递函数接近理想, 并且空间频率很高。目前, 在国内外关于显微镜光学传递函数测定的报导中, 所测定的空间频率 $2000\text{c/mm}$ 是最高的, 而我们研制的显微镜光学传递函数测定仪, 由于使用了理想的星点目标, 采用了良好的信号接收、数据处理方法, 测到的最高空间频率可达 $4000\text{c/mm}$ , 接近显微镜的截止频率, 可以客观、全面地评价显微镜的成像质量。

## 二、仪器的工作原理

仪器的原理示意图如图 1。图中  $S$  为光源,  $C_1$  为聚光镜,  $F$  为光谱校正滤光片,  $O$  为星点板目标物,  $MO$  为待测显微镜,  $BS$  为分束棱镜,  $I$  为目镜分划板,  $E$  为目镜,  $NS$  为扫描狭缝,  $C_2$  为聚光镜,  $PM$  为光电倍增管,  $M$  为电子学放大器,  $OS$  为示波器,  $A/D$  为  $A/D$  转换器,  $TC$  为中断定时电路,  $MC$  为 IBM-PC 微机,  $PR$  为打印机,  $DS$  为磁盘,  $MN$  为 IBM-PC 微机显示器。

星点目标物经待测显微镜成像在像面上。在主机和控制电路的控制下, 在像面上用线性凸轮推动扫描狭缝对星点像进行扫描, 并由光电倍增管接收星点像能量信号。该信号经放大电路放大后, 进入  $A/D$  转换器的模拟量输入端, 经  $A/D$  转换后, 由主机读入内存。微机经数据处理、快速傅立叶变换 (FFT) 后, 显示器输出测得的显微镜线扩散函数图形、光学传递函数图形、打印机输出所需的各种数据、示波器显示扫描波形。光路  $E$ 、 $I$  用于目视检验和对焦等。

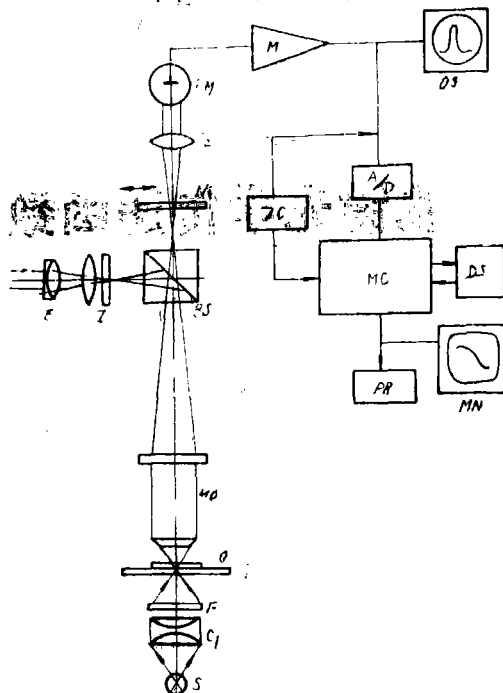


图1 仪器原理示意图

### 三、仪器的电路设计、计算机接口设计

仪器的硬件电路主要包括三大部分：信号接收、放大电路、中断定时电路、计算机接口电路。

高倍显微物镜数值孔径大，理想衍射盘半径是  $\lambda/2$  的量级，因此，作为目标的星点半径必须十分小，通过光学系统的光能量也就十分微弱。我们采用特制的高灵敏度光电倍增管和快速低噪声运算放大器，完成了弱信号的接收、放大，得到了理想的信噪比。

快速傅立叶变换 (FFT) 程序的数学模型为：

$$OTF(n\Delta u) = \Delta x \cdot \sum_{K=0}^{N-1} LSF(K \cdot \Delta x) \cdot e^{-2\pi i \cdot n \cdot K \cdot \Delta u \cdot \Delta x}$$

其中  $\Delta x$  为像面上的采样间隔， $\Delta u$  为谱面上上的频率间隔， $N$  为采样点数。

由上式可知，能否保证  $\Delta x$  为常数，即能否在像面上均匀采样，直接影响 FFT 的精度，从而影响我们评价显微镜质量的准确度。因此，中断定时精度至关重要。

我们选用 8253 可编程间隔定时器作为中断脉冲发生器。8253 和其它电路结合形成中断定时电路。

8253 有三个独立的 16 位计数器 (0, 1, 2)，计数速率高达 2MHz，它的工作方式既可受软件控制，又可受外部硬件控制，三个计数器既可独立计数又可联合计数。

由前文对该仪器工作原理的介绍知，对星点像的扫描是由线性凸轮推动狭缝运动实现的，凸轮有约  $70^\circ$  的非线性区，采样必须躲过该区域，以保证采样均匀。这些要求决定了 8253 三个计数器的工作方式，即计数器 1, 0 联合发出中断定时脉冲，计数器 0, 1, 2 联合完成延时 (躲过非线性区)。计时起点可由外部信号控制，中断信号的频率可由程序设定。8253 的工

作可由软件控制, 这给实验和实际测试带来极大方便。当要改变采样频率和采样区域时, 只需改变控制程序, 无需做硬件电路的调整, 这保证了中断定时的稳定性和可靠性。

我们选用  $A/D574$  做为模数转换器。  $A/D574$  和 8253 芯片及其它控制电路、译码电路等集成在一块线路板上, 插入 IBM-PC 机箱内的扩展槽。  $A/D574$  和 8253 作为 CPU 的一个外设, 主机对它们进行直接寻址, 并用软件命令控制它们的工作状态。

#### 四、仪器的数据处理系统

该仪器的软件包括数据采集和数据处理两部分。

我们用 8088 汇编语言完成了数据采集软件, 该部分作为一个子程序, 用 Basic 语言主程序调用。

数据处理软件主要包括平滑处理、数据重排序、背景噪声处理、 $FFT$ 、插值、图形显示等。下面介绍背景噪声处理和数据重排序。

##### 1. 背景噪声处理

星点板是由在载玻片上镀膜制得。星点板的衬底不可能完全不透光, 总有些光透加在星点上, 经待测物镜, 进入接收系统, 形成背景光。所以, 未作消噪声处理的星点像示意图如图 2。



图 2 有背景噪声的星点像

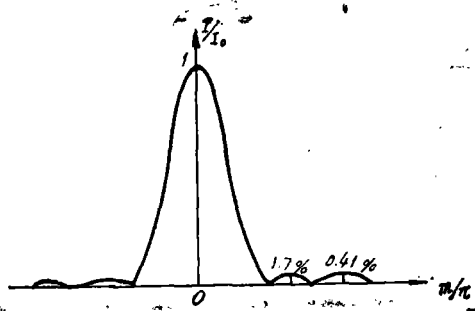


图 3 夫琅和费衍射像光强分布

背景噪声的大小, 视星点板衬底情况而异。如果把这样的信号直接做  $FFT$ , 必然带来零点错误。我们根据夫琅和费衍射理论处理了这一问题。

根据夫琅和费衍射理论, 具有圆形光瞳的理想光学系统的夫琅和费衍射像强度分布为:

$$I(\theta) = I_0 \left[ \frac{2J_1(x)}{x} \right]^2$$

$$x = \frac{2\pi a}{\lambda} \sin \theta$$

光强分布示意图如图 3, 理论上的计算知, 84% 左右的能量集中在中心爱里盘内, 其它 16% 的能量分布于其它各级亮环中。设中心点能量为 1, 则二级极大处能量下降为 1.7%, 第三级极大处能量为 0.4%, 到第五级以外, 能量将微乎其微。

实际光学系统和理想光学系统有差异, 主要是能量分散些, 其它各衍射环的能量要略大于 16%, 但到了第五级衍射亮环以外, 能量仍将足以小到探测器无法接收的量级。据以上分析, 我们由待测物镜参数和像面上的采样间隔推算出第五级衍射亮环的位置, 该位置以外的

数据点一律用软件置为零。这样处理后，消除了背景噪声，修正了零点错误，传递函数的精度得到提高。

## 2、数据重排序

设采样得到的一组  $N$  个离散数据，在第  $N_0$  个数根点处有最大值，如图 4。

我们以  $N_0$  点为对称点，把数据平移对调，得到如图 5 新的数据分布形式，这就是数据的重排序。

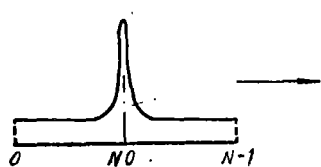


图 4 原始数据分布

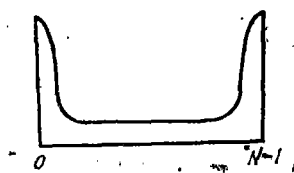


图 5 重排序后数据分布

数据的重排序对于数据处理的精度和传递函数的计算都很重要。

实际测量中，我们取多组数据的平均值作为最后离散线扩散函数数据。各组数据是在凸轮不同的扫描采样周期得到的，如果每个采样周期的起始点在空间位置上微有差别，则各组数据的最大值将错开，如图 6 所示。注意到中心处能量变化很陡峭，如果把各组数据直接相加求平均，则将引起较大的偏差。数据重排序后（如图 7），各组数据的最大值对齐，再相加求平均，误差就小多了。

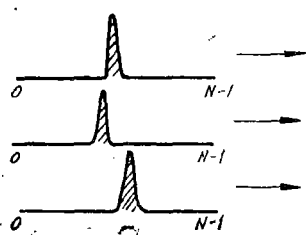


图 6

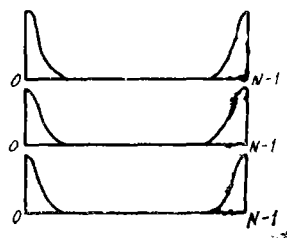


图 7

再者，由傅立叶变换的性质知，如果  $f(x)$  的傅立叶变换为  $F(u)$ ，则  $f(x + x_0)$  的变换为  $F(u) \exp [i 2\pi u x_0]$ ，即像面上的位移，将在谱面上增加一位相因子。重排序后，数据分布确定，消除了这一因子，使各次测得的位相传递函数 (PTF) 具有可比性。

## 五、仪器性能分析及测试

该仪器的精度取决于仪器的信号接收和处理系统（包括光电接收、中断定时、A/D 转换数据处理等）能否正确的采集和处理像面上的光学像的光强分布。为此，该仪器的性能测试以测试像面上的狭缝像为主。

我们取多个不同宽度的优质狭缝，在万能工具显微镜下精确测出它们的宽度。用一优质低倍显微物镜对被非相干光照明的狭缝成像。用本仪器对狭缝像进行扫描、接收、处理、

FFT, 求出它们的傅立叶频谱。再对扫描狭缝的影响及理想光学系统的影响进行修正, 得出实际被测狭缝的傅立叶频谱。把狭缝的实测频谱和理论计算得出的狭缝频谱相比较, 得出仪器精度。

该仪器对于轴上点MTF测试, 在显微物镜的像面上空间频率  $10c/mm$  以内, MTF最大误差不超过  $\pm 3.1\%$ 。

重复性测试得出, 在像面空间频率  $10c/mm$  以内, MTF 标准偏差为  $0.92\%$ 。

## 六、显微物镜实测结果

我们用该仪器测试了三个100倍显微物镜 (Olympus  $N.A. = 1.4$ ; Nikon  $N.A. = 1.35$  松江  $N.A. = 1.35$ ) 测试结果如图8、图9、图10、图11。所示。

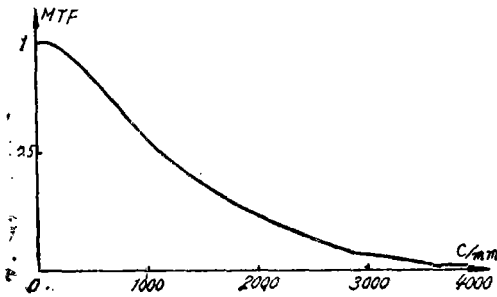


图8 Olympus 显微物镜

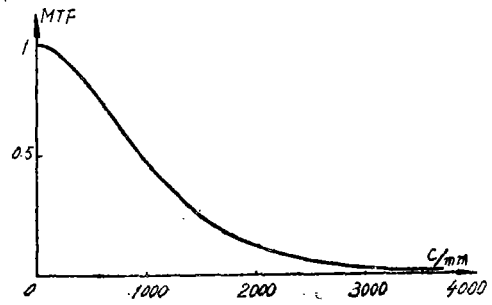


图9 Nikon 显微物镜

从测试结果分析知, 该仪器正确反映了显微物镜成像质量, 且测试结果和目视检验结果一致。

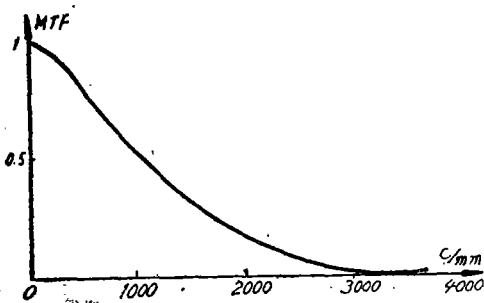


图10 松江显微物镜

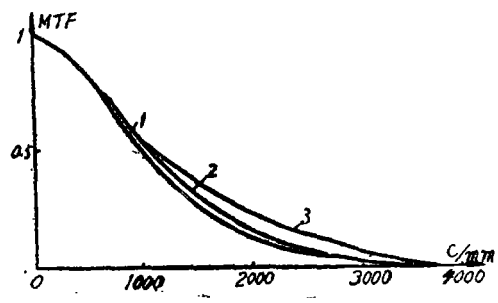


图11 图标1—松江显微物镜;  
2—Nikon显微物镜, 3—Olympus显微物镜

## OTF Measurement of the Microscope Objectives

Chi Xuefen Liu Bin Han Cangyuan Li Wei

### Abstract

This paper describes the instrument for measuring OTF of the microscope objectives. It covers the principle, circuit design, computer interface and soft ware system as well as the performance and its effect.