

# 显微镜光学传递函数 测定中的几个问题

刘 斌 韩昌元

**摘要:** 本文首先综述了显微镜像质评价检验方法。提出用狭缝直接对星点衍射像进行线扩散函数抽样,把抽样数据送到电子计算机进行包括傅立叶变换在内的数学运算,得到光学传递函数的一种方法。

本文介绍仪器的结构、星点衍射像的形成及其强度分布测定的有关问题。最后介绍了研制成的仪器性能的测试方法及测试结果。

## 一、显微镜像质评价的历史回顾

长期以来,人们一直在寻求一种评价显微镜成像质量的准确方法。为此,我们将现有的种种方法,分为三类:目视检验;波差干涉检验;传递函数检验。光学传递函数是一种客观、全面、灵敏又能定量的像质判据和评价手段。

1. 目视检验是以目视观察星点目标经待测显微镜所成之像,根据星点像的光强分布情况,评价显微镜成像质量。也称星点检验。其实质,是把衍射受限系统所成星点像的光强分布(爱里斑)作为标准,与实际系统所成星点像的光强分布进行比较,了解被检光学系统成像质量的优劣。该方法简单、直观、能灵敏地反映出像质上的缺陷。由于目视检验不能定量,其检验结果,有时因人而异。对于系统的对称性像差,(如轴上点球差)不够灵敏。

星点检验的问题是由于星点衍射像的强度分布较难做到定量测定。

2. 波差干涉检验。为克服星点检验的缺陷,出现了波差测定干涉仪。其基本原理是通过对被检波面与已知波面所形成的干涉条纹的观察、测定,得出光学系统的波像差。测试精度高,可测得 $\lambda/10$ 波像差。

波差干涉仪,有二个问题尚待解决:(1)对目视光学仪器的检验,在普通白光照明,才符合其真实使用条件。白光干涉仪极难调整。目前都以激光作光源,限制了波差干涉仪只能测单色像差,测不出色差。(2)波差干涉检验,反映不出显微镜的杂光情况。

3. 光学传递函数检验。它包括了星点检验和波差干涉检验的信息,并克服了二者的不足。

光学传递函数与星点像的光强分布构成一对傅立叶变换关系,二者包含信息等价。因此,光学传递函数测试和星点检验一样,对小像差系统的像质鉴定非常灵敏。并且是客观、定量的测定,从而克服了星点检验的缺陷。

光学传递函数的测定采用白光照明,克服了干涉仪只能测单色像差的缺陷,而且杂光及各种像差的影响都反映在被测像面上,克服波差干涉仪不能反映杂光的不足。

光学传递函数理论和测试技术,已成为近代光学发展的重要方面。显微镜光学传递函数测定仪的研制,随着微机的普及应用,采用数字傅立叶分析法比光电傅立叶分析法及其他方法,更显示出优越性。

光电傅立叶分析法需要制做光栅盘。当空间频率很高时，光栅盘的制做困难，精度难保证。这种方案一般测定的空间频率不高。如英国的 SIRA，可测 100 倍显微物镜 ( $N.A = 1.3$ )，测定的空间频率最高为  $1000c/mm$ 。

数字傅立叶分析法是把星点或狭缝作为目标物，用刀口或狭缝扫描，测量经被测物镜成像的星点像或狭缝像，把扫描测得的光强分布函数输入到计算机，计算出光学传递函数。当这种仪器要测的空间频率很高时，要求目标星点或狭缝宽度要足够小，其尺寸要在被测系统理想衍射斑以内。显然，制做如此小的孔或狭缝是很困难的。这种目标的能量微弱，接收器很难接收其像的扫描输出。以上情况是制做这种光学传递函数测定仪的主要困难。

美国 Tropel 2000 型光学传递函数测定仪，为克服上述困难采用了补助物镜，把较大的星点孔目标物缩小成小的星点像。考虑到用  $N.A = 0.9$  的显微物镜作为补助物镜所引进的像差对测量结果的影响，该仪器限制被测系统的数值孔径最大不超过  $N.A = 0.65$ ，该仪器最高可测的空间频率达  $2000c/mm$ 。

我们为中国科学院“七五”重点课题“高档显微镜”研制的光学传递函数测定仪，无补助物镜，狭缝直接扫描星点像。当  $N.A = 1.4$ ，100 倍显微物镜，可测定的空间频率达  $4000c/mm$ 。

## 二、仪器简介

图 1 是显微物镜光学传递函数测定仪工作台图片。

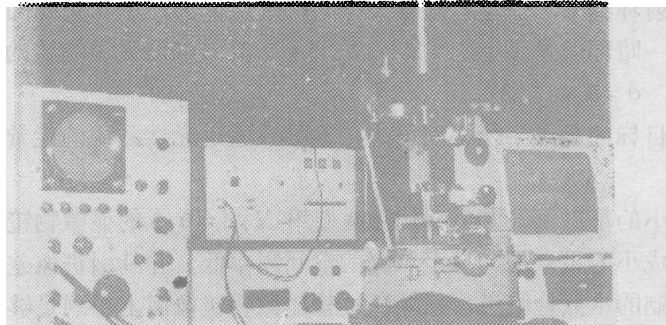


图 1

图 2 描述了该仪器的结构和工作原理。

光源为 50W 溴钨灯由 12V 直流稳压电源独立供电。滤光片使仪器光谱响应与人眼的光谱光视效率一致。目视分划板用于选择指定视场位置的星点位置。目视光路供目视检验或光学传递函数测定时对焦。狭缝宽  $0.01mm$  其宽度的附加卷积效果，数据处理时被纠正。聚光镜  $C_2$  起着在特制的高灵敏度光电倍增管接收面上光强分布均匀散布的作用。前置放大器将光电倍增管输出电流转换成电压送入快速 A/D 转换器。决定于狭缝位置的同步信号，控制中断定时器，并经中断控制逻辑形成中断请求信号，使计算机和仪器同步工作。微机作数据平滑、傅立叶变换、光学传递函数计算。结果从打印机输出和由显示器作图形显示。示波器辅助观察扫描输出的线扩散函数、调焦监视。

狭缝扫描运动由稳速电机带动凸轮推动狭缝平移组件实现。在采样周期  $1.4ms$  内狭缝移

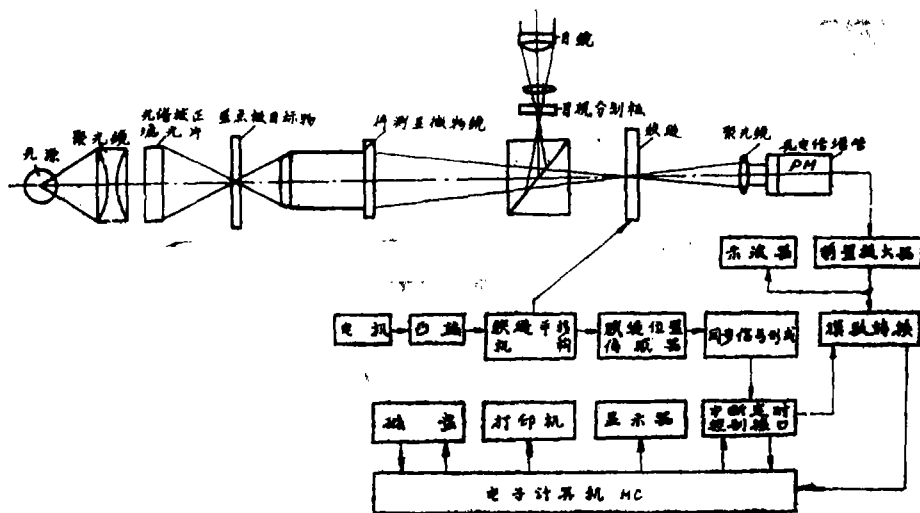


图2 显微镜光学传递函数测定仪原理图

动  $2.79\mu\text{m}$ ，相当于对线扩散函数每  $2.79\mu\text{m}$  抽样一次。当轴外点测定时，星点、扫描狭缝都将移到相应的轴外点，在子午、弧矢不同方向上扫描。

### 三、星点衍射像形成及强度分布测试

星点像的衍射环细节，当星孔尺寸大于某值时会消失。星孔允许的最大角直径应等于被检系统爱里斑第一暗环的角半径之半<sup>[1]</sup>。 $N.A = 1.3$ 的100倍显微镜的理想衍射斑半径为：

$$\delta = 0.61\lambda / N.A \approx \lambda / 2 \quad (1)$$

可见，作为目标的星点半径必须很小，这导致通过光学系统的能量十分微弱，其测量相当困难。

为获得如此小的星点像，Tropel 2000型用  $N.A = 0.9$ 的显微镜作补助物镜把较大的星点孔目标缩小成小的星点像，导至可测的空间频率低。并且引进像差。

我们通过特制的星点检验板，直接在被检显微镜像面上得到足够小星点像。

在像面上用细狭缝扫描星点像（图3），狭缝处任一位置  $x_0$  时，坐标为  $(x, y)$  的光能量都透过狭缝由光电倍增管接受转换成电信号（图2）。即狭缝沿  $x$  方向的扫描过程完成了点扩散函数沿  $y$  方向积分。在任一位置  $x_0$  处测得光能量都有：

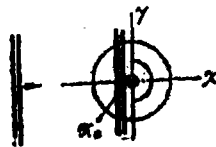


图3

$$LSE(x_0) = \int_{-\infty}^{\infty} PSF(x, y) dy \quad (2)$$

在像平面上星点像光强分布就可看成是线扩散函数  $LSF(x)$ 。对它进行傅立叶变换得维传递函数：

$$OTF(u) = \int_{-\infty}^{\infty} LSF(x) \exp(-2\pi jux) dx \quad (3)$$

实际测试过程是把连续函数离散化, 设采样间隔为 $\Delta x$ , 采样总点数 $N$ , 谱面上的频率间隔 $\Delta u$ , 有:  $\Delta u = 1/n\Delta x$  (4)

当均匀采样即 $\Delta x$ 为常数, 有:

$$OTF(n\Delta u) (= \Delta x \cdot \sum_{K=0}^{N-1} LSF(k\Delta x) \exp(-2\pi jnk/N)) \quad (5)$$

上式是快速傅立叶变换(FFT)的数学模型。并由此提出用细狭缝直接对被测物镜所成的星点像进行扫描, 对其线扩散函数抽样, 把抽样数据送进电子计算机进行包括傅立叶变换在内的数学运算, 得到光学传递函数的一种方法。并研制成仪器(图1、2)。

对星点像强度分布测试是仪器研制中难点。首先要满足如下基本要求:

1. 具有高增益、低噪声、小暗电流、高量子效率和好的温度性能, 光谱响应范围宽的光电倍增管, 满足对被扫描的星点像的微光探测的需要。

2. 具有高灵敏度、高精度、低噪声、快速响应的测量电路, 对光电倍增管输出的电流变换电压输出。为满足仪器即可测狭缝像又能测星点像, 增益调节范围 $>40\text{db}$ 。

3. 高速 A/D 转换器和相应的计算机接口。

4. 精确的中断定时电路, 保证采样点在像空间间隔上均匀。并且扫描狭缝应为匀速运动。保证:  $\Delta x = vT = \text{常数}$

式中:  $T$ —采样周期,  $v$ —狭缝速度。

图4是符合上述功能要求的测试系统原理电路图。图中PM是特制光电倍增管。直流法测量阳极输出电流, 用负高压电源。

采用优质运放3140(或7150)组成测量电路(图5原理电路)当输入阻抗 $R_{id}$ 无穷大时, 有:

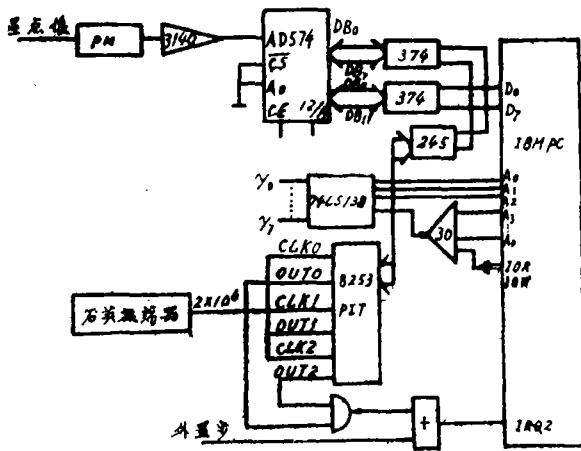
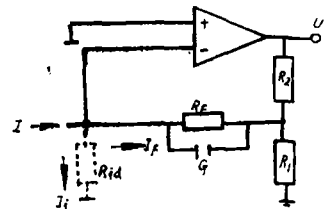


图4



5图

$$V = (-IR_f)(1 + R_2/R_1) + [(e_o + i_o R_f)(1 + R_2/R_1)] \pm E_n \quad (6)$$

式中  $e_o$ ,  $i_o$  是失调电压、反相端失调电流。  $E_n$  是运算放大器输出噪声。

考虑实际的  $R_{id}$  是有限值, 带来的测量误差(相对误差)为:

$$\epsilon = \frac{IR_f - I_f R_f}{IR_f} \approx \frac{R_f}{\beta R_{id} A_{od}} \quad (7)$$

式中  $\beta = R_1/(R_1 + R_2)$ ,  $A_{od}$  运放开环增益。

我们采用3140, 计算值  $\varepsilon = 4 \times 10^{-10}$ 。可忽略。

中断定时电路(图6)由8253可编程定时器组成。图7是时序图。外同步信号取决狭缝扫描位置, 使计算机和仪器同步工作, 控制采样起始时刻, 躲过扫描凸轮非线性区(约70°)。

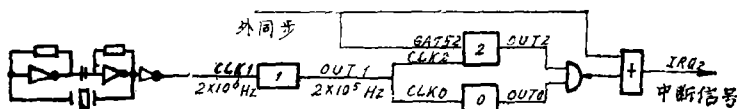


图6

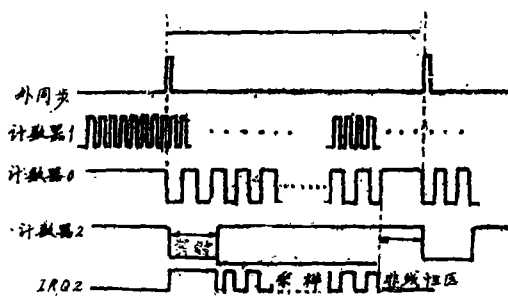


图7

选用A/D574做为模数转换器, 12比特, 转换时间25 $\mu$ s(包括软件时间)。AD574, 8253, 译码器、控制电路等集成于一块印刷电路板, 插入 IBM-PC 机箱内的扩展槽。AD574 和 8253作为CPU的一个外设, 计算机对它们直接寻址。

图8、图9是研制成的显微物镜光学传递函数测定仪, 对不同倍数、数值孔径不同方向上测得的星点强度分布情况。

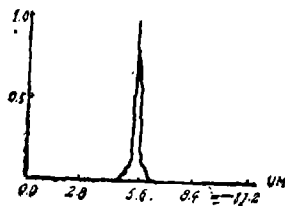


图8



图9

### 四、仪器的性能测试及分析

显微物镜光学传递函数测定仪的精度取决于它的信号接收和处理系统(包括光电探测、信号处理、中断定时同步接口、采样、A/D转换及数据处理过程)能否正确采集和处理像面上的光学像的光强分布。为此, 该仪器的技术性能测试, 以测量被测物镜像面上的狭缝或狭缝像的光学传递函数为主, 辅以稳定性测试, 重复性测试, 典型镜头的测量与分析。

#### 综合误差测试

取三个不同宽度的狭缝, 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。用本仪器分别对三个狭缝像采样、处理、傅立叶变换，求出傅立叶频谱。

测试得出的傅立叶谱  $MTF$  (测试)，是被测狭缝的频谱  $MTF$  (狭缝)，扫描狭缝频谱  $MTF$  (扫描缝)，理想光学系统频谱  $MTF$  (光学) 三者积：

$$MTF(\text{测试}) = MTF(\text{狭缝}) \cdot MTF(\text{扫描缝}) \cdot MTF(\text{光学}) \quad (8)$$

所以被测狭缝的频谱为：

$$MTF(\text{狭缝}) = MTF(\text{测试}) / MTF(\text{扫描缝}) \cdot MTF(\text{光学}) \quad (9)$$

用该仪器测出  $MTF$  (测试) 后，对扫描狭缝和理想光学系统的频谱的影响分别进行修正，最后得出被测狭缝的频谱  $MTF$  (狭缝)，根据实测出的狭缝宽度，计算出理论上的狭缝的傅立叶变换频谱  $MTF$  (理论)，比较归一代的  $MTF$  (狭缝) 和  $MTF$  (理论)，求出误差：

$$\Delta MTF = MTF(\text{理论}) - MTF(\text{狭缝}) \quad (10)$$

狭缝的调制传递函数  $MTF$  测试结果 (见表 1) 及其误差分析。

表 1 矩形狭缝传递函数测试

空间频率 $f$	0.0000	0.7005	1.4010	2.1015	2.8020	3.5025	4.2030	4.9035
$MTF$ (测试)	1.0000	0.9584	0.8409	0.6674	0.4644	0.2592	0.0763	0.0662
$MTF$ (扫描缝)	1.0000	0.9999	0.9997	0.9993	0.9987	0.9980	0.9971	0.9960
$MTF$ (光学)	1.0000	0.9926	0.9851	0.9777	0.9703	0.9628	0.9554	0.9480
$MTF$ (狭缝)	1.0000	0.9656	0.8539	0.6832	0.4792	0.2698	0.0800	0.0701
$MTF$ (理论)	1.0000	0.9615	0.8514	0.6847	0.4837	0.2745	0.0826	0.0706
误差	0.0000	-0.004	-0.002	0.001	0.005	0.005	0.003	0.001
空间频率 $f$	5.6040	6.3045	7.0050	7.7055	8.4060	9.1065	9.8070	10.5075
$MTF$ (测试)	0.1562	0.1914	0.1782	0.1298	0.0632	0.0069	0.0606	0.093
$MTF$ (扫描缝)	0.9948	0.9935	0.9919	0.9903	0.9884	0.9864	0.9843	0.9819
$MTF$ (光学)	0.9406	0.9331	0.9257	0.9183	0.9109	0.9035	0.8961	0.8887
$MTF$ (狭缝)	0.1669	0.2065	0.1941	0.1427	0.0701	0.0077	0.0687	0.1074
$MTF$ (理论)	0.1714	0.2149	0.2054	0.1549	0.0802	0.0001	0.0686	0.1135
误差	0.004	0.008	0.011	0.012	0.010	-0.008	-0.000	0.006

测试狭缝宽度：0.2196mm；扫描狭缝宽度：0.010mm；电机驱动电压：8.80V，倍增管高压：1460V，镜头参数：3倍

对测试结果分析知，对于轴上点，在像面上空间频率  $10c/mm$  内， $MTF$  最大误差不超过  $\pm 3.1\%$ ，(技术指标要求为  $\leq \pm 5\%$ )。

从测试结果知：在像面上空间频率  $10c/mm$  内，标准偏差为  $0.92\%$  (技术指标要求  $3\%$ )。

稳定性测试见表 2

装上任一被测物镜，某一宽度的狭缝进行测试，每隔半小时测一次，连续五次以像面上  $10c/mm$  处的  $MTF$  值评价稳定性，求出标准偏差。

标准偏差为

$$\sigma = 0.0048。$$

典型镜头的测试

表 2 稳定性测试

次 数	1	2	3	4	5
$MTF$	0.0959	0.0984	0.1043	0.0959	0.0958

我们使用该仪器测试了大量不同倍率、不同型号的显微物镜。结合镜头参数，对各个镜头的  $MTF$  进行分析，同时，把各镜头的  $MTF$  测试结果和其目视星点检验的结果加以比较，

从而考核了该仪器的实际使用效果。

由测得的 *MTF* 曲线图10、图11、图12、图13、图14图15，反映出；

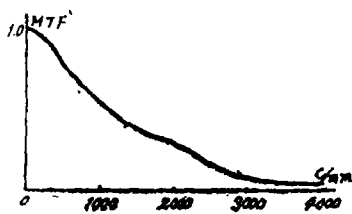


图10 Olympus (1) 日本  
100倍  $N.A = 1.25$  轴上子午方向

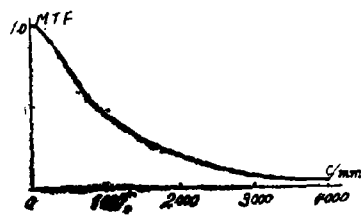


图11 Olympus (1) 日本  
100倍  $N.A = 1.25$  轴外像高5mm子午方向

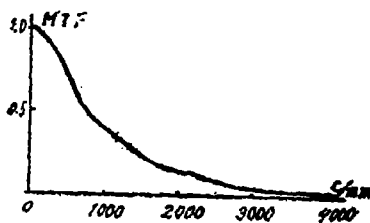


图12 Olympus(1)日本  
100倍  $N.A = 1.25$  轴外 像高5mm 弧矢方向

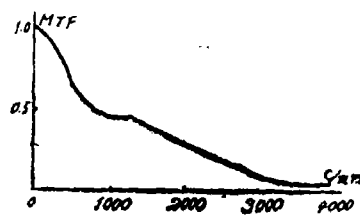


图13 上海 (中国) 100倍  $N.A = 1.25$   
轴上 子午方向

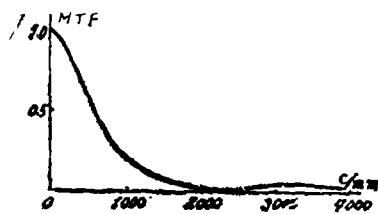


图14 上海 (中国) 100倍  $N.A = 1.25$   
轴外像高 5mm 子午方向

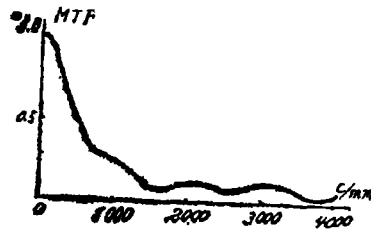


图15 上海 (中国) 100倍  $N.A = 1.25$   
轴外像高 5mm 弧矢方向

Olympus(1)100倍和“上海”100倍显微物镜的数值孔径相同( $N.A = 1.25$ )，前者是平像场、复消色差镜头，后者不是平像场、复消色差镜头。目视检验发现，Olympus (1) 的轴上点、轴外点的星点像都比较好。“上海”的轴上点像比较好，轴外点的星点像质量明显下降。从*MTF*测试曲线上看，Olympus(1)的轴外点(像高5mm处，子午、弧矢两方向)*MTF*和轴上点*MTF*比较，*MTF*值下降不多，“上海”的轴外点*MTF*和轴上点*MTF*曲线相比相差很多。其轴外点(像高5mm处，子午方向)*MTF*在空间频率2000*c/mm*处就截止了。可见，显微物镜平像场与否，对镜头成像质量的影响，明显、准确的反映在*MTF*测试数据上。同时，Olympus(1)是复消色差镜头，它的轴上点*MTF*也明显好于“上海”的轴上点*MTF*。

由此可见，该仪器测得的*MTF*，客观、准确的反映了显微镜的成像质量。

参 考 文 献

- [1] 苏大图, 《光学测量与像质鉴定》,北京工业学院出版社, 1988年 p53  
[2] 韩昌元, 《信息光学基础理论及其应用》,长春出版社, 1989年

**A Study of the OTF Measurement for the Microscopic Objectives**

Liu Bin Han Changyuan

**Abstract**

In this paper a review is given for the image quality test and evaluation of the microscopic objectives and a method of OTF measurement is suggested in which the star image is directly scanned by a slit for sampling the line spread function and transferred into a microcomputer numerically through a A/D converter for FFT calculation to obtain the OTF. The structure of the instrument and the measurement method are described. The performance examination of the instrument and several examples are presented.