

Vorstellung eines neuen Messverfahrens für dreidimensionale Aufnahmeeinheiten und seine experimentelle Überprüfung am Lichtmikroskop

Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Naturwissenschaften

vorgelegt beim Fachbereich Physik (13)
der Johann Wolfgang Goethe - Universität
in Frankfurt am Main

von
Eberhard Derndinger
aus Stuttgart

Frankfurt 2005
D 30

vom Fachbereich Physik (13) der
Johann Wolfgang Goethe - Universität als Dissertation angenommen.

Dekan: Prof. Dr. W. Aßmus

Gutachter: Prof. Dr. J. Hesse, Prof. Dr. R. Mester

Datum der Disputation: 6. Juli 2005

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	7
1.1	Arbeitsgebiete und Ziele.....	8
1.2	Geschichtlicher Hintergrund	10
2	Modellbildung	13
2.1	Grundlagen zur Modellbildung	13
2.1.1	Gleichungen zur Überprüfung von Linearität und Ortsinvarianz.....	13
2.1.2	Das allgemeine Übertragungsglied.....	15
2.1.3	Die Gleichungen der Fourier-Transformationen	16
2.1.4	Die einzelnen Schritte bei der Modellbildung	17
2.2	Die Zerlegung des Aufbaus in Komponenten	19
2.2.1	Das Objekt	22
2.2.2	Die dreidimensional-optische Abbildung in der Aufnahmeeinheit	23
2.2.2.1	Die geometrisch-optische Näherung.....	27
2.2.2.1.1	Die geometrisch-optische Näherung für absorbierende Objekte	28
2.2.2.1.1.1	Die lineare Näherung der Exponentialfunktion.....	31
2.2.2.1.1.2	Die Gleichungen für die Modellbildung.....	32
2.2.2.1.1.3	Die Berechnung von Punktantwort und Übertragungsfunktion	34
2.2.2.1.2	Die geometrisch-optische Näherung für Phasenobjekte	37
2.2.2.1.3	Die geometrisch-optische Näherung für transparente Selbstleuchter	38
2.2.2.1.3.1	Die Gleichungen für die Modellbildung.....	38
2.2.2.1.3.2	Die Berechnung von Punktantwort und Übertragungsfunktion	39
2.2.2.1.4	Zusammenfassende Diskussion.....	41
2.2.2.2	Die wellenoptische Beschreibung.....	42
2.2.2.2.1	Die Ausbreitung der Wellen durch den optischen Aufbau.....	42
2.2.2.2.1.1	Die Beleuchtungseinrichtung	42
2.2.2.2.1.2	Die Transmissionsfunktion von optischen Elementen	51
2.2.2.2.1.3	Die Ausbreitung zwischen den optischen Elementen.....	53
2.2.2.2.1.4	Die Umwandlung von Leistung in einem optischen Element	55
2.2.2.2.2	Die Berechnung der Punktantworten und Übertragungsfunktionen	56
2.2.2.2.2.1	Absorbierende Objekte und Phasenobjekte.....	56
2.2.2.2.2.1.1	Die Beleuchtungseinrichtung.....	57
2.2.2.2.2.1.2	Die Wellenausbreitung im Objektraum	60
2.2.2.2.2.1.2.1	Ankommende und abgehende Wellen bei Objektverschiebung	62
2.2.2.2.2.1.2.2	Die Transmissionsfunktion des Objekts.....	64
2.2.2.2.2.1.3	Die Transmissionsfunktion der opt. Abbildung durch L_2	66
2.2.2.2.2.1.4	Berechnung der Intensität des dreidimensional-optischen Bildes.....	68
2.2.2.2.2.1.5	Die Bildung des systemtheoretischen Modells.....	72

2.2.2.2.2.1.6 Graphische Darstellung verschiedener Übertragungsfunktionen	72
2.2.2.2.2.2 Transparente Selbstleuchter	76
2.2.2.2.2.2.1 Die Intensität des transparenten Selbstleuchters	76
2.2.2.2.2.2.2 Berechnung der Intensität des dreidimensional-optischen Bildes	77
2.2.2.2.2.2.3 Systemtheoretisches Modell und Übertragungsverhalten	79
2.2.2.2.3 Zusammenfassende Diskussion	81
2.2.2.2.3.1 Die Vernachlässigung der Streuung	81
2.2.2.2.3.2 Vergleich der effektiven Integrationsgebiete	82
2.2.2.2.3.3 Der Einfluss der Beleuchtungseinrichtung	83
2.2.2.2.3.3.1 Der nicht transparente Schirm mit einem Pinhole als Objekt	84
2.2.2.2.3.3.2 Die zweidimensional-optische Abbildung zweier kleiner Punkte	84
2.2.2.2.3.3.3 Die Linearisierung durch inkohärente Beleuchtung	87
2.2.2.3 Zusammenfassende Diskussion	88
2.2.3 Sensor und Elektronik in der Aufnahmeeinheit	91
2.2.3.1 Das Verhalten des CCD-Sensors	91
2.2.3.1.1 Das Rauschen bei der Aufnahme durch den CCD-Sensor	94
2.2.3.1.2 Tiefpassfilterung und Abtastung durch den CCD-Sensor	96
2.2.3.2 Das Verhalten der Analogelektronik	98
2.2.3.3 Das Wiederabtasten und das Verhalten des A/D-Wandlers	99
2.2.3.4 Die Vergrößerung durch den Sensor und die Analogelektronik	100
2.2.3.5 Die Modellbildung	100
2.2.3.6 Zusammenfassende Diskussion	101
2.2.4 Die Restaurationseinheit	102
3 Messverfahren	103
3.1 Die bekannten Verfahren	103
3.1.1 Die Verfahren mit einem optischen Ansatz	103
3.1.2 Die Verfahren mit einem direkten Ansatz	106
3.1.3 Die Verfahren mit einem linearen Ansatz	106
3.2 Das neue Verfahren, das vorgestellt werden soll	108
3.2.1 Suche und Diskussion von leistungsfähigeren Messverfahren	108
3.2.1.1 Punktförmige Anregung	109
3.2.1.2 Anregung mit weißem Rauschen	109
3.2.1.3 Anregung mit zweidimensionalem Rauschen	110
3.2.2 Das Verfahren für absorbierende Objekte	111
3.2.2.1 Das Messpräparat	112
3.2.2.2 Die systemtheoretischen Eigenschaften des Rauschmesspräparats	113
3.2.2.3 Die Übertragung der Messanregung durch die optische Abbildung	115
3.2.2.4 Das Bild des Rauschmesspräparats und seine Spektraldichte	116
3.2.2.5 Die Berechnung der Übertragungsfunktion	122

3.2.2.5.1 Die Berechnung der Phase der Übertragungsfunktion.....	123
3.2.2.5.1.1 Berechnung, falls die z-Proj. der Punktantwort punktsymmetrisch ist	123
3.2.2.5.1.2 Berechnung, falls die Punktantwort für $z = 0$ punktsymmetrisch ist	125
3.2.2.5.1.3 Vergleich der Wege zur Berechnung der Phase	129
3.2.2.5.2 Die Berechnung des Betrags der Übertragungsfunktion.....	129
3.2.2.6 Skizzierung des hier gewählten Berechnungswegs	132
3.2.2.7 Mit dem Rauschmesspräparat ermittelte Übertragungseigenschaften	134
3.2.2.8 Diskussion des Messergebnisses.....	138
3.2.3 Das Verfahren für Phasenobjekte	140
3.2.3.1 Das Messpräparat	140
3.2.3.2 Das Bild des Rauschmesspräparats und seine Spektraldichte.....	141
3.2.3.3 Die Berechnung der Übertragungsfunktion	145
3.2.3.3.1 Die Berechnung der Phase der Übertragungsfunktion.....	145
3.2.3.3.2 Die Berechnung des Betrags der Übertragungsfunktion.....	148
3.2.3.4 Die mit dem Rauschmesspräparat ermittelten Übertragungseigenschaften.	150
3.2.3.5 Diskussion des Messergebnisses.....	152
3.2.4 Das Verfahren für transparente Selbstleuchter	153
3.2.5 Zusammenfassende Diskussion zum neuen Messverfahren.....	155
3.2.5.1 Vergleich der Messverfahren mit einem linearen Ansatz.....	157
3.2.5.2 Berechnen der Pupillenfunktion aus der Punktantwort.....	158
4 Messungen.....	159
4.1 Anmerkungen zu Berechnungen und Messungen	160
4.2 Optischer Aufbau ohne Zentralblenden.....	161
4.3 Aufbau mit Zentralblende in der Objektivpupille	164
4.4 Aufbau mit Zentralblende in der Kondensorpupille.....	167
4.5 Zusammenfassende Bewertung	169
5 Die Bildgewinnung	170
5.1 Bildgewinnung als Teil der Informationsgewinnung	170
5.2 Die Bildrestauration.....	173
5.2.1 Wiener-Inversfilterung.....	173
5.2.1.1 Inversfilterung ohne Berücksichtigung von Näherungen	174
5.2.1.2 Berücksichtigung von Rauschen	175
5.2.2 Berücksichtigung von anderen Näherungen und Fehlern.....	176
5.2.3 Berücksichtigung eines eingeschränkten Objekt-Wertebereichs.....	177
5.3 Alternative Verfahren der Bildgewinnung	178
6 Ausblick.....	180

7 Anhang	182
7.1 Der Konvergenzfaktor bei der Fourier-Transformation	182
7.2 Die eindimensionale δ -Funktion	184
7.3 Die mehrdimensionale δ -Funktion	184
7.4 Tiefpassfilterung zur Glättung, und Mittelung	185
7.5 Der Fehler durch die Näherung für kleine Einfallswinkel	186
7.6 Die Bedeutung der Datensätze im Orts- und Frequenzbereich	188
7.7 Die Eigenschaften des Rauschens in den Rauschmesspräparaten.....	190
7.7.1 Definition und Eigenschaften von weißem Rauschen	190
7.7.2 Eigenschaften des Rauschens im experimentellen Teil dieser Arbeit	191
7.7.3 Diskussion.....	194
7.8 Der Algorithmus zum Randausgleich	194
7.8.1 Das Randproblem	194
7.8.2 Die Eigenschaften des in dieser Arbeit verwendeten Algorithmus	196
7.8.3 Der Algorithmus	197
7.8.4 Zusammenfassende Diskussion	198
7.9 Dokumentation der Experimente.....	199
7.9.1 Messung der Transmission des Interferenzfilters B	199
7.9.2 Die Partikelgröße in den Rauschmesspräparaten.....	199
7.9.3 Durchmesser der Austrittspupillen von Mikroskopobjektiven.....	201
7.9.4 Die Aufbauten und Einstellungen bei den Aufnahmen	202
8 Zusammenfassung	213
9 Literaturverzeichnis.....	214
9.1 Verweise	214
9.2 Quellen	217

1 Einleitung

Obwohl das Lichtmikroskop im Hellfelddurchlichtbetrieb schon seit langer Zeit (siehe Kapitel 1.2) mit einer großen Verbreitung verwendet wird, gibt es bis heute kein brauchbares Verfahren, mit dem seine, im Rahmen einer linearen Näherung betrachteten, dreidimensionalen Abbildungs- bzw. Aufnahmeeigenschaften gemessen werden können, wobei die dritte Dimension in z-Richtung durch die Aufnahme einer Fokuserie gewonnen wird. Dies ist überraschend und zeigt die Notwendigkeit, ein geeignetes Messverfahren zu finden.

Deshalb ist mit dieser Arbeit ein neues Messverfahren entwickelt worden, das dieses Messproblem weitgehend löst (siehe Abb. 1.1). Zwar ist das neue Messverfahren für die Verwendung am Lichtmikroskop entwickelt und mit diesem experimentell überprüft worden, es ist jedoch grundsätzlich nicht an das Lichtmikroskop gebunden. Aus systemtheoretischer Perspektive setzt es als Anforderungsprofil (siehe Abb. 1.1) im Wesentlichen nur drei Eigenschaften des zu messenden Übertragungsglieds voraus:

- Das Übertragungsglied muss ein dreidimensionales Übertragungsglied sein.
- Das lineare Verhalten des physikalischen Aufbaus tritt typischerweise nur in einem kleineren Arbeitsbereich auf. Diese Eigenschaft ist für das neue Messverfahren nicht notwendig, aber falls sie vorliegt, kann das neue Messverfahren seine Stärken voll zum tragen bringen.
- Das neue Messverfahren setzt einschränkend voraus, dass die Punktantwort bzw. die Übertragungsfunktion des zu vermessenden Übertragungsglieds im Wesentlichen gewisse Symmetrieeigenschaften besitzt.

Dieses Anforderungsprofil wird sehr häufig von Aufnahmeeinheiten erfüllt, nicht nur vom Lichtmikroskop im Hellfelddurchlichtbetrieb, wofür das Messverfahren entwickelt worden ist, sondern z. B. auch vom Elektronenmikroskop [1.1], vom Laser Scanning Mikroskop (LSM) [1.2] [1.3] [1.4] und von einer Reihe von weiteren, häufig mit der Entwicklung der Mikroelektronik entstandenen Geräten, die kleine Objekte sichtbar machen. Das in dieser Arbeit neu vorgestellte Messverfahren ist grundsätzlich für die meisten diese Geräte geeignet.

Das neue Messverfahren ist vor allem aus den folgenden Gründen nützlich:

- Ein Messverfahren, das ein neues Anwendungsprofil abdeckt, besitzt zumindest aus wissenschaftlicher Sicht und meist auch aus der Perspektive der Anwendung eine gewisse Bedeutung bzw. einen gewissen Nutzen.
- Dazu kommt, dass der Bedarf an Messungen und damit auch an Messverfahren eher steigt. So ist z. B. die Bedeutung der Qualitätssicherung nach ISO 9000 in den letzten Jahren gestiegen. Ein anderes Beispiel ist, dass der Käufer eines Mikroskopobjektivs immer mehr eine Messung der Abbildungseigenschaften seines gekauften Mikroskopobjektivs zur Qualitätsüberprüfung und Dokumentation nachfragt.
- Schließlich steigt (siehe auch Kapitel 1.2) die Anzahl der Anwendungen, in denen die Aufnahmeeinheit nur eine Komponente in einem größeren Aufbau (siehe z. B. auch Abb. 2.3) ist. In diesen Fällen wird häufig ein lineares Modell gebildet, um das

Verhalten der Komponenten und des gesamten Aufbaus beschreiben zu können, und es gibt dann auch einen Bedarf an geeigneten Messverfahren für diese Komponenten. Ein solches Messverfahren ist das neue, das in dieser Arbeit vorgestellt werden soll.

1.1 Arbeitsgebiete und Ziele

Das Ziel (siehe Abb. 1.1) dieser Arbeit ist, ein neues Messverfahren, das auf das gerade beschriebene Anforderungsprofil hin optimiert ist, vorzustellen und experimentell am Lichtmikroskop zu überprüfen.

Für die Entwicklung des neuen Messverfahrens (siehe Abb. 1.1) wird zunächst im Kapitel 2 mit einer detaillierten Aufbereitung (siehe Kapitel 2.1.4 einschließlich Kapitel 7.6 und siehe Abb. 2.3) das systemtheoretische Modell des experimentellen Aufbaus gebildet. Dabei sind die detaillierte Aufbereitung und das hier verwendete systemtheoretische Modell bisher nicht bekannt geworden, obwohl beides aus systemtheoretischer Sicht nur konsequent und nahe liegend ist. Die Aufbereitung führt z. B. dazu, dass im systemtheoretischen Modell (siehe rechte Seite der Abb. 2.3) nur die Größen des Objekts verwendet werden. Um dies zu erreichen, musste z. B. die dreidimensional-optische Abbildung (siehe Kapitel 2.2.2) in der Aufnahmeeinheit, ausgehend von den bekannten Arbeiten (vor allem [1.5] [1.6] [1.7] [1.8] [1.9]), mit den Kapiteln 2.2.2.1 und 2.2.2.2 so aufbereitet werden, dass z. B. aus der Intensität des dreidimensional-optischen Bilds im experimentellen Aufbau der Imaginärteil des komplexen Brechungsindex im systemtheoretischen Modell berechnet werden kann.

Im Kapitel 3.1 werden zunächst die bekannten Messverfahren für optische Aufbauten skizziert, um vor diesem Hintergrund im Kapitel 3.2 das neue Messverfahren zu entwickeln (siehe Abb. 1.1). Das neue Messverfahren verwendet zweidimensionale Rauschmesspräparate (siehe Abb. 3.4 und Abb. 3.17) und deckt durch die Berücksichtigung unterschiedlicher Symmetrieeigenschaften die Fälle absorbierende Objekte, Phasenobjekte und transparente Selbstleuchter ab. Wichtig ist, dass das neue Messverfahren auch die Phase der Übertragungsfunktion misst, falls die Symmetrieeigenschaften im oben beschriebenen Anforderungsprofil vorliegen.

Nach der Vorstellung des neuen Messverfahrens, werden im Kapitel 4 (siehe Abb. 1.1) drei durch Modifikationen des Strahlengangs unterschiedliche optische Aufbauten des Lichtmikroskops ausgewählt, um deren Punktantworten und Übertragungsfunktionen mit dem neuen und mit einem bekannten Messverfahren zu messen und außerdem zu berechnen. Die so gewonnenen Punktantworten und Übertragungsfunktionen ermöglichen eine vergleichende Bewertung des neuen Messverfahrens.

Zum Schluss der Arbeit wird beschrieben, wozu das neue Messverfahren verwendet werden kann (siehe Abb. 1.1). Der Ausblick im Kapitel 6 beschreibt vor allem welche Arbeiten noch durchgeführt werden müssen, um das neue Messverfahren anwendungsreif zu machen. Im Kapitel 5.2 wird eine Anwendung für das neue Messverfahren, die bekannte Wiener-Inversfilterung beschrieben, die im Kapitel 5.1 als Teil der Informationsgewinnung eingeordnet wird.

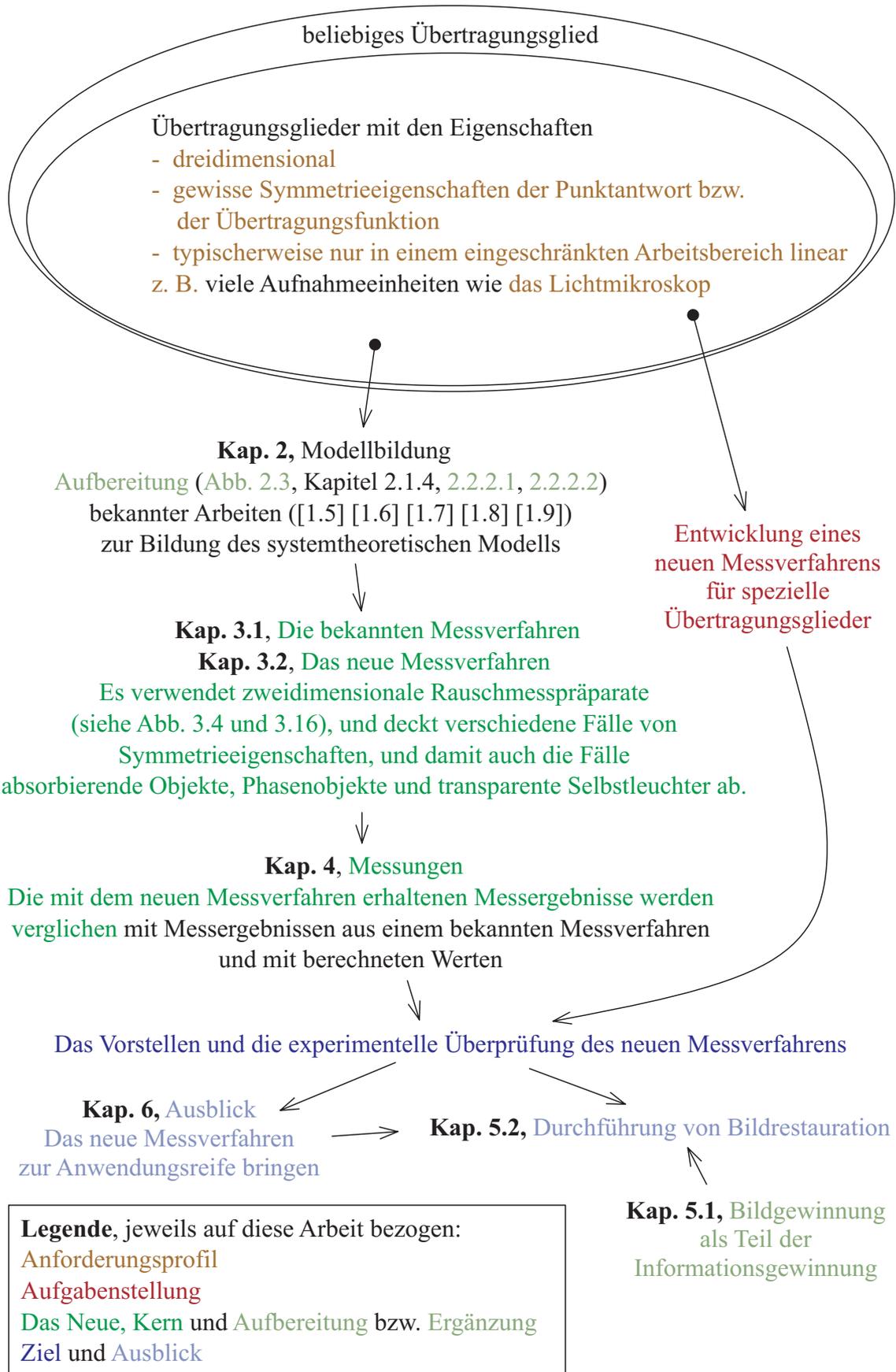


Abb. 1.1: Graphik zum Inhalt dieser Arbeit

1.2 Geschichtlicher Hintergrund

Am Anfang der Einleitung wurde festgestellt, dass das Lichtmikroskop im Hellfelddurchlichtbetrieb zwar schon seit langer Zeit mit einer großen Verbreitung verwendet wird, dass es aber überraschenderweise bis heute kein brauchbares Verfahren gibt, mit dem im Rahmen einer linearen Näherung seine dreidimensional-optischen Abbildungs- bzw. Aufnahmeeigenschaften gemessen werden können. Der letztlich ursächliche Grund dafür ist vermutlich die rasante technologische Entwicklung der Mikroelektronik und die sich parallel dazu entwickelnde Software-Technologie:

- Zwar konnte sich der Mikroskop-Nutzer auch schon vor 100 Jahren einen dreidimensionalen Eindruck eines Objekts verschaffen, indem er mit der Hand an der Fokussiereinrichtung die Fokusebene durch das Objekt auf und ab bewegte, aber erst seit kurzer Zeit kann mit der Entwicklung der Mikroelektronik eine Fokuserie im Rechner zu einem dreidimensionalen Bild des Objekts zusammengefasst werden.
- Dazu kommt, dass mit der Entwicklung der Mikroelektronik häufig verschiedene Komponenten miteinander verbunden werden, wie das Beispiel dieser Arbeit (siehe Abb. 2.3) zeigt. Um dann das Verhalten aller Komponenten im Zusammenspiel zu beschreiben, ist die Bildung eines linearen, systemtheoretischen Modells sinnvoll und es entsteht aus dieser Richtung die Notwendigkeit im Rahmen einer linearen Näherung die dreidimensionalen Abbildungs- bzw. Aufnahmeeigenschaften des Lichtmikroskops zu betrachten und zu messen.
- Schließlich gibt es noch den folgenden, hemmenden Einfluss, der einen eher praktischen Charakter besitzt. Die Experten für Systemtheorie kennen sich meist nicht so gut in der Optik aus und umgekehrt, obwohl es häufig durchaus ein gewisses Interesse am jeweils anderen Fachgebiet gibt. Ohne ein tiefes Verständnis der Probleme bei der linearen Näherung der dreidimensional-optischen Abbildung (siehe Kapitel 2.2.2.2.1.2 und 2.2.2.2.3) entsteht kein richtiges Verständnis für die Notwendigkeit eines neuen Messverfahrens und ohne gute Kenntnisse der Methoden der Systemtheorie kann das neue Messverfahren nicht entwickelt werden. Erst durch die leistungsfähige Mikroelektronik haben sich neue Möglichkeiten ergeben, die ein Zusammenspiel der Kenntnisse aus beiden Fachgebieten haben notwendig werden lassen.

Die Abb. 1.2 zeigt einen Überblick über den geschichtlichen Hintergrund zu dieser Arbeit. Obwohl optische Abbildungen schon seit über 3000 Jahren [1.10] genutzt worden sind, ist es erst vor gut 100 Jahren durch die grundlegenden Arbeiten von Abbe [1.11] gelungen auf die „Pröbelei“ zu verzichten und die Herstellung von Lichtmikroskopen auf Grund von Berechnungen durchzuführen. Dies hat zu einer guten und reproduzierbaren Abbildungsqualität nicht nur bei Lichtmikroskopen geführt. Anschließend haben vor allem Köhler [1.12] [1.13], van Cittert [1.14], Zernike [1.5] und Hopkins [1.15] [1.6] die Kenntnisse über die Funktionsweise des Lichtmikroskops erweitert und vervollständigt.

Außerdem wird in dieser Arbeit die aus der Nachrichtentechnik kommende und von Küpfmüller entwickelte Systemtheorie [1.16] als mathematisches Instrument verwendet. Es ist Küpfmüllers Idee gewesen, die Komponenten eines Aufbaus im Rahmen einer linearen Näherung als Übertragungsglieder zu beschreiben und auf die Untersuchung der Einzelheiten dieser Komponenten zunächst zu verzichten. Die Eigenschaften der Übertragungsglieder und die des gesamten Systems werden dann parallel sowohl im Zeitbereich als auch im

Frequenzbereich mit Hilfe der Fourier-Transformation und einer Reihe von Sätzen erfasst. Die Wurzeln [1.17] der Systemtheorie gehen zurück bis ins Jahr 1822, in dem Fouriers Arbeit über die „analytische Theorie der Wärme“ [1.18] [1.19] und damit die Fourier-Transformation veröffentlicht worden ist. Weitere wichtige Stationen sind die noch vor Fourier entwickelte Laplace-Transformation [1.20], die ebenfalls eine Spektraltransformation ist und die Heavisidesche Operatorenrechnung [1.21] [1.22] [1.23].

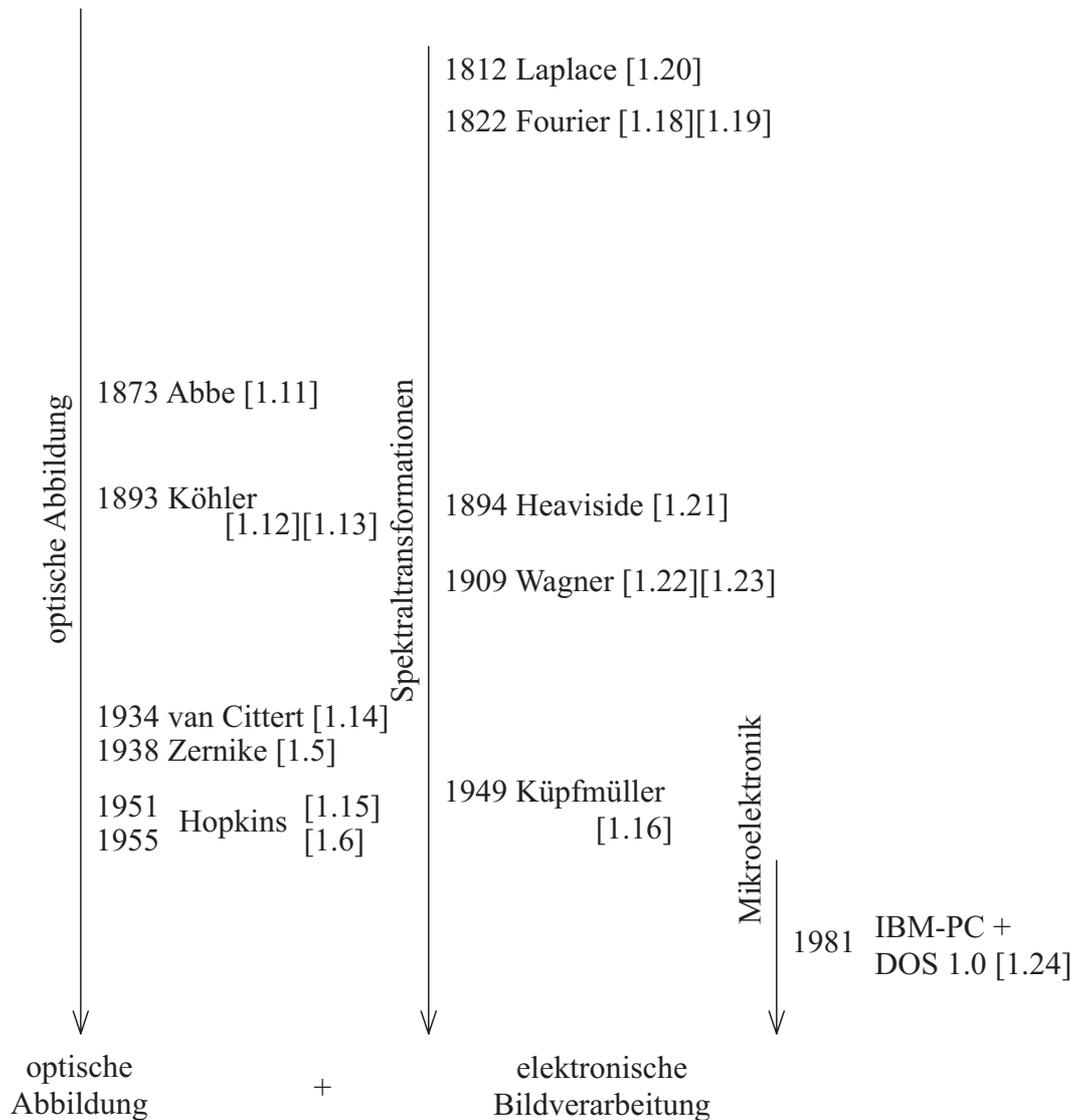


Abb. 1.2: Der geschichtliche Hintergrund zum neuen Messverfahren

Dagegen begann die Entwicklung der Mikroelektronik erst in den letzten Jahrzehnten. Vor gut 20 Jahren, im August 1981, ist der erste IBM-PC mit dem Betriebssystem DOS 1.0 ausgeliefert worden [1.24]. Heute steht der Personal Computer (PC) mit einer um Größenordnungen leistungsfähigeren Hard- und Software in jedem Sekretariat. Mit dem PC werden nicht nur Texte geschrieben, es werden auch Graphiken erstellt und farbige Bilder in Texte eingefügt. Dazu kommt, dass sich Texte, Graphiken und Bilder durch eine weltweite Vernetzung austauschen lassen. So ist heute ein Sekretariat ohne PC kaum mehr vorstellbar.

Die Skizze in der Abb. 1.2 veranschaulicht, wie kurz die Zeit für die Entwicklung der Mikroelektronik und die sich parallel dazu entwickelnde Software-Technologie ist, wenn man sie vergleicht mit der Zeit, die für die theoretische Erfassung der optischen Abbildung oder für die Entwicklung der Spektraltransformationen mit ihren Sätzen und Anwendungen erforderlich gewesen ist. Vor diesem Hintergrund ist es verständlich, dass der Impuls für diese Arbeit die rasante technologische Entwicklung der Mikroelektronik ist.

2 Modellbildung

Um das Verhalten des experimentellen Aufbaus für das neue Messverfahren und auch für die Bildgewinnung zu erfassen, wird in diesem Kapitel ein systemtheoretisches Modell des experimentellen Aufbaus gebildet. Dazu wird der experimentelle Aufbau in einzelne Komponenten zerlegt und jeder Komponente ein Übertragungsglied im Sinne der Systemtheorie [2.1] [2.2] zugeordnet.

2.1 Grundlagen zur Modellbildung

2.1.1 Gleichungen zur Überprüfung von Linearität und Ortsinvarianz

Voraussetzung für die Modellbildung ist jedoch, dass jede Komponente des experimentellen Aufbaus zumindest im Rahmen einer Näherung und in einem sinnvollen Arbeitsbereich ein lineares und ortsinvariantes Verhalten besitzt. In diesem Kapitel werden die Gleichungen [2.3] [2.4] zur Überprüfung dieses Verhaltens formuliert.

Die beliebigen, komplexen Funktionen $u(x_u, y_u, z_u)$, $u_1(x_u, y_u, z_u)$ und $u_2(x_u, y_u, z_u)$ sollen die Eingangsgrößen einer allgemeinen Komponente des experimentellen Aufbaus sein. Sie besitzen als Argumente die reellen Koordinaten x_u , y_u und z_u . Für jede einzelne dieser Funktionen stellen sich am Ausgang die ebenfalls komplexen Funktionen $v(x_v, y_v, z_v)$, $v_1(x_v, y_v, z_v)$ bzw. $v_2(x_v, y_v, z_v)$ mit den reellen Koordinaten x_v , y_v und z_v ein. Mit dem Zeichen $\mathcal{L}\{ \cdot \}$ als abgekürzte Schreibweise für die mathematische Beziehung zwischen der Eingangsgröße und der Größe am Ausgang gilt dann

$$v(x_v, y_v, z_v) = \mathcal{L}\{u(x_u, y_u, z_u)\} \quad (2.1)$$

$$v_1(x_v, y_v, z_v) = \mathcal{L}\{u_1(x_u, y_u, z_u)\} \quad (2.2)$$

und

$$v_2(x_v, y_v, z_v) = \mathcal{L}\{u_2(x_u, y_u, z_u)\} \quad (2.3)$$

Zwischen dem Koordinatensystem der Eingangsgrößen und dem Koordinatensystem der Größen am Ausgang bestehen dabei die Beziehungen

$$x_v = M_x \cdot x_u, \quad y_v = M_y \cdot y_u \quad \text{und} \quad z_v = M_z \cdot z_u \quad (2.4)$$

mit den reellen Vergrößerungsfaktoren M_x , M_y und M_z .

Eine solche Komponente zeigt ein lineares Verhalten, wenn für beliebige, komplexe Konstanten k , k_1 und k_2 die beiden Gleichungen (2.5) und (2.6), die für Linearität

$$k \cdot v(x_v, y_v, z_v) = \mathcal{L}\{k \cdot u(x_u, y_u, z_u)\} \quad (2.5)$$

und die für die lineare Überlagerung

$$\begin{aligned} & \mathcal{L}\{k_1 \cdot u_1(x_u, y_u, z_u) + k_2 \cdot u_2(x_u, y_u, z_u)\} \\ &= \mathcal{L}\{k_1 \cdot u_1(x_u, y_u, z_u)\} + \mathcal{L}\{k_2 \cdot u_2(x_u, y_u, z_u)\} \quad , \end{aligned} \quad (2.6)$$

erfüllt sind.

Sie zeigt ein ortsinvariantes Verhalten, wenn die Gleichungen

$$v(x_v - x_{v0}, y_v - y_{v0}, z_v - z_{v0}) = \mathcal{L}\{u(x_u - x_{u0}, y_u - y_{u0}, z_u - z_{u0})\} \quad (2.7)$$

und

$$x_{v0} = M_x \cdot x_{u0}, \quad y_{v0} = M_y \cdot y_{u0}, \quad z_{v0} = M_z \cdot z_{u0} \quad (2.8)$$

gültig sind. Dabei führt ein Versatz der Eingangsgröße um x_{u0} , y_{u0} und z_{u0} zu einem Versatz der Größe am Ausgang um x_{v0} , y_{v0} und z_{v0} .

Falls eine Komponente des experimentellen Aufbaus ein lineares Verhalten gemäß den Gleichungen (2.5) und (2.6) und ein ortsinvariantes Verhalten gemäß den Gleichungen (2.7) und (2.8) besitzt, kann dieser Komponente ein Übertragungsglied im systemtheoretischen Modell zugeordnet werden. Mit geeigneten Gleichungen lassen sich die Größen des experimentellen Aufbaus in die dazugehörigen Größen des systemtheoretischen Modells umrechnen. Nach der Zuordnung lässt sich jedes Übertragungsglied mit den gleichen Methoden der Systemtheorie erfassen und zwar unabhängig davon, aus welcher Komponente des experimentellen Aufbaus es gebildet worden ist. Jede Komponente des experimentellen Aufbaus wird damit zu einer „Blackbox“ im systemtheoretischen Modell.

2.1.2 Das allgemeine Übertragungsglied

Ausgehend von der gerade beschriebenen allgemeinen Komponente des experimentellen Aufbaus zeigt die Abb. 2.1 das zu dieser allgemeinen Komponente gehörende allgemeine Übertragungsglied. (siehe auch [2.1] [2.2])

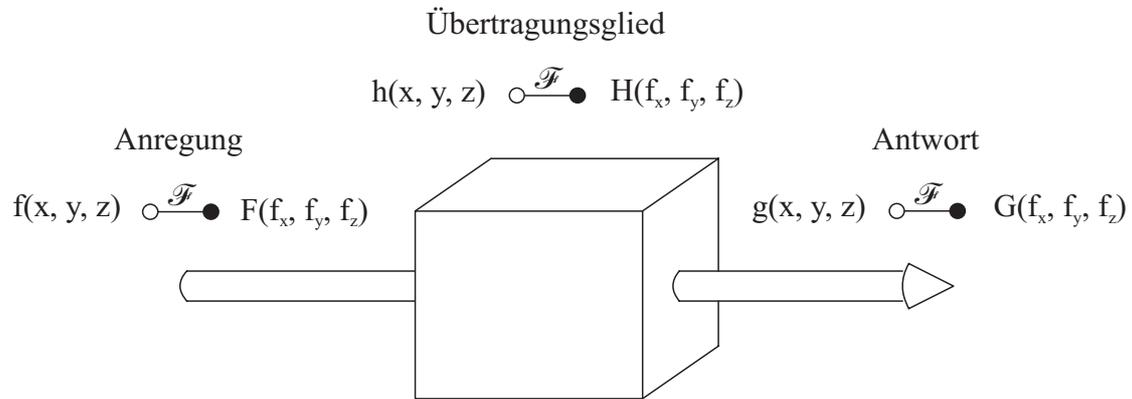


Abb. 2.1: Das allgemeine Übertragungsglied

Am Eingang des allgemeinen Übertragungsglieds liegt eine Anregung an. Sie wird im Ortsbereich durch die komplexe Funktion $f(x, y, z)$ mit den Ortskoordinaten x , y und z beschrieben. Das allgemeine Übertragungsglied selbst wird durch die komplexe Punktantwort $h(x, y, z)$ beschrieben. Die Anregung mit $f(x, y, z)$ führt zur komplexen Antwort $g(x, y, z)$ am Ausgang.

Mit den reellen Integrationsvariablen r , s und t gilt

$$g(x, y, z) = h(x, y, z) * f(x, y, z) = \int_{-\infty}^{+\infty} \int_{-\infty}^{+\infty} \int_{-\infty}^{+\infty} h(x-r, y-s, z-t) f(r, s, t) dr ds dt \quad . \quad (2.9)$$

Die Gleichung (2.9) zeigt die Verknüpfung von $h(x, y, z)$ mit $f(x, y, z)$ als Faltung mit dem Operator $*$. Das Ergebnis der Faltung ist das Faltungsprodukt $g(x, y, z)$.

In dieser Arbeit sind die Imaginärteile der Anregungen, Punktantworten und der Antworten häufig gleich Null, damit nehmen diese Funktionen häufig nur reelle Werte an.

2.1.3 Die Gleichungen der Fourier-Transformationen

Um die Eigenschaften des allgemeinen Übertragungsglieds im Rahmen des systemtheoretischen Modells besser zu erfassen, werden die Anregung, das Übertragungsglied und die Antwort sowohl im Ortsbereich, wie gerade demonstriert, als auch im Ortsfrequenzbereich (kurz: Frequenzbereich) beschrieben. (siehe auch [2.1] [2.2]) Auf diese Weise ergeben sich im Ortsfrequenzbereich die komplexen Funktionen $F(f_x, f_y, f_z)$, für die Anregung, $H(f_x, f_y, f_z)$, für die Übertragungsfunktion, und $G(f_x, f_y, f_z)$, für die Antwort. Die Funktionen besitzen als Argumente die zu x , y und z korrespondierenden reellen Ortsfrequenzen f_x , f_y und f_z .

Um vom Ortsbereich in den Ortsfrequenzbereich zu gelangen, wird eine Fourier-Transformation (2.10) durchgeführt. Um umgekehrt vom Ortsfrequenzbereich in den Ortsbereich zu gelangen wird eine Fourier-Rücktransformation (2.11) ausgeführt. Die Fourier-Transformation mit der abgekürzten Schreibweise $\mathcal{F}\{.\}$ und die Fourier-Rücktransformation mit der abgekürzten Schreibweise $\mathcal{F}^{-1}\{.\}$ werden in dieser Arbeit mit den Gleichungen

$$F(f_x, f_y, f_z) = \mathcal{F}\{f(x, y, z)\} = \int_{-\infty}^{+\infty} \int_{-\infty}^{+\infty} \int_{-\infty}^{+\infty} f(x, y, z) e^{-i2\pi(f_x x + f_y y + f_z z)} dx dy dz \quad (2.10)$$

und

$$f(x, y, z) = \mathcal{F}^{-1}\{F(f_x, f_y, f_z)\} = \int_{-\infty}^{+\infty} \int_{-\infty}^{+\infty} \int_{-\infty}^{+\infty} F(f_x, f_y, f_z) e^{i2\pi(f_x x + f_y y + f_z z)} df_x df_y df_z \quad (2.11)$$

ausgeführt. Dabei ist $f(x, y, z)$ eine komplexe Funktion im Ortsbereich wie z. B. die Anregung des allgemeinen Übertragungsglieds in Abb. 2.1 und $F(f_x, f_y, f_z)$ die dazugehörige komplexe Funktion im Ortsfrequenzbereich. In ihrer Schreibweise sollen sich die beiden korrespondierenden Funktionen in (2.10) und (2.11) dadurch unterscheiden, dass die Funktion im Ortsbereich klein und die im Ortsfrequenzbereich groß geschrieben wird.

Mit der Fourier-Transformation und der Fourier-Rücktransformation ergibt sich eine Korrespondenz zwischen dem Ortsbereich und dem Ortsfrequenzbereich, die in dieser Arbeit mit dem Symbol $\overset{\mathcal{F}}{\circ} \bullet$ gekennzeichnet wird (siehe auch Abb. 2.1).

Falls die Fourier-Transformation oder die Fourier-Rücktransformation nur auf spezielle Dimensionen angewendet wird, werden diese Dimensionen in dieser Arbeit durch eine entsprechende Indizierung der Symbole, \mathcal{F} bzw. \mathcal{F}^{-1} , gekennzeichnet.

Da in vielen Fällen, z. B. wenn der Integrand eine von Null verschiedene Konstante ist, die Integrale in (2.10) und (2.11) nicht konvergieren, wird in diesen Fällen, auch wenn dies nicht explizit angegeben wird, der Integrand vor der Integration mit einem Konvergenzfaktor multipliziert und ein Grenzübergang durchgeführt (Kapitel 7.1). Auf diese Weise kann in

einer ganzen Reihe von wichtigen Fällen doch noch eine Konvergenz der Fourier-Integrale erreicht werden.

Die im Ortsbereich formulierte Gleichung (2.9) kann mit (2.10) und (2.11) auch im Ortsfrequenzbereich dargestellt werden. Dies ergibt

$$G(f_x, f_y, f_z) = H(f_x, f_y, f_z) \cdot F(f_x, f_y, f_z) \quad . \quad (2.12)$$

Wenn z. B. beim allgemeinen Übertragungsglied die Antwort gleich der Anregung ist, dann wird in (2.12) die Übertragungsfunktion $H(f_x, f_y, f_z) = 1$ und in (2.9) die Punktantwort $h(x, y, z) = \delta(x, y, z)$. Dabei ist die Funktion $\delta(x, y, z)$ die dreidimensionale δ -Funktion, die an der Stelle $x = 0, y = 0, z = 0$ einen nadelförmigen Dirac-Impuls besitzt und sonst gleich Null ist (siehe Kapitel 7.3).

Aus (2.9) und (2.12) wird dann

$$g(x, y, z) = \delta(x, y, z) * f(x, y, z) = f(x, y, z) \quad | \quad h(x, y, z) = \delta(x, y, z) \quad (2.13)$$

und

$$G(f_x, f_y, f_z) = 1 \cdot F(f_x, f_y, f_z) = F(f_x, f_y, f_z) \quad | \quad H(f_x, f_y, f_z) = 1 \quad . \quad (2.14)$$

Die Gleichungen (2.9) bis (2.14) zeigen, dass die Punktantwort $h(x, y, z)$ eine Dichte ist, mit der die Anregung $f(x, y, z)$ im Rahmen der Faltung (2.9) gewichtet wird, um die Antwort $g(x, y, z)$ zu erhalten. Die Übertragungsfunktion ist ein Faktor mit der Einheit Eins, mit dem die Anregung im Frequenzbereich, die eine Spektraldichte ist, multipliziert wird, um die Antwort im Frequenzbereich zu erhalten.

2.1.4 Die einzelnen Schritte bei der Modellbildung

In den folgenden Kapiteln wird komponentenweise, in der Abb. 2.3 von unten nach oben, ein systemtheoretisches Modell des experimentellen Aufbaus gebildet, wobei die Modellbildung selbst, in der Abb. 2.3 von links nach rechts, genau genommen in mehreren Schritten erfolgt. Diese Schritte der Modellbildung werden im Folgenden näher erläutert:

- Der experimentelle Aufbau.

Der Ausgangspunkt der Modellbildung ist der experimentelle Aufbau (siehe Abb. 2.2) mit all seinen vielschichtigen Eigenschaften.

- Das physikalische Modell des experimentellen Aufbaus

Um den experimentellen Aufbau physikalisch zu erfassen, wird in einem ersten Schritt ein geeignetes physikalisches Modell des experimentellen Aufbaus gebildet. Dabei können, wie in dieser Arbeit, unterschiedliche physikalische Modelle einander gegenüber gestellt werden. Am Ende stehen die benötigten physikalischen Größen zur Verfügung.

- Das systemtheoretische Modell des experimentellen Aufbaus

Basierend auf dem physikalischen Modell wird im nächsten Schritt und im Rahmen einer linearen Näherung das systemtheoretische Modell des experimentellen Aufbaus gebildet (siehe auch Kapitel 2.1.1, 2.1.2 und 2.1.3).

Mit den Methoden der Systemtheorie lassen sich dann die Eigenschaften des experimentellen Aufbaus und der Messverfahren beschreiben und analysieren. Darüber hinaus kann das neue Messverfahren, das in dieser Arbeit vorgestellt wird, mit den Methoden der Systemtheorie entwickelt werden.

Die Beschreibung des experimentellen Aufbaus, die Bildung zunächst seines physikalischen, dann seines systemtheoretischen Modells wird im Kapitel 2 durchgeführt.

- Die numerischen Berechnungen im Rahmen des systemtheoretischen Modells

Bevor im Rahmen des systemtheoretischen Modells numerische Berechnungen mit einer FFT an meist experimentell gewonnenen Datensätzen möglich sind, müssen weitere Näherungen durchgeführt werden, um den verschiedenen Datensätzen im Orts- und Frequenzbereich geeignete, festzulegende Bedeutungen zu geben. Da dies einen eher handwerklichen Charakter hat, wird es meist nicht, oder in seltenen Fällen nur im Anhang (siehe Kapitel 7.6), beschrieben.

2.2 Die Zerlegung des Aufbaus in Komponenten

Die Abb. 2.2 zeigt ein Bild des experimentellen Aufbaus. In der Mitte ist das Lichtmikroskop abgebildet. Im schwarzen Rohr auf dem Lichtmikroskop ist ein Mikroskopobjektiv zur Nachvergrößerung eingebaut, das die Größe des Zwischenbilds an die Abmessungen des CCD-Sensors, der auf dem Rohr aufgeschraubt ist, anpasst. Links neben dem Mikroskop, in dem größeren Kasten, befindet sich die elektronische Steuereinheit für die rechnergesteuerte Fokussiereinrichtung. Rechts sieht man den Bildschirm der SUN-Workstation. Dabei ist der eigentliche Rechner auf dem Bild nicht zu sehen.

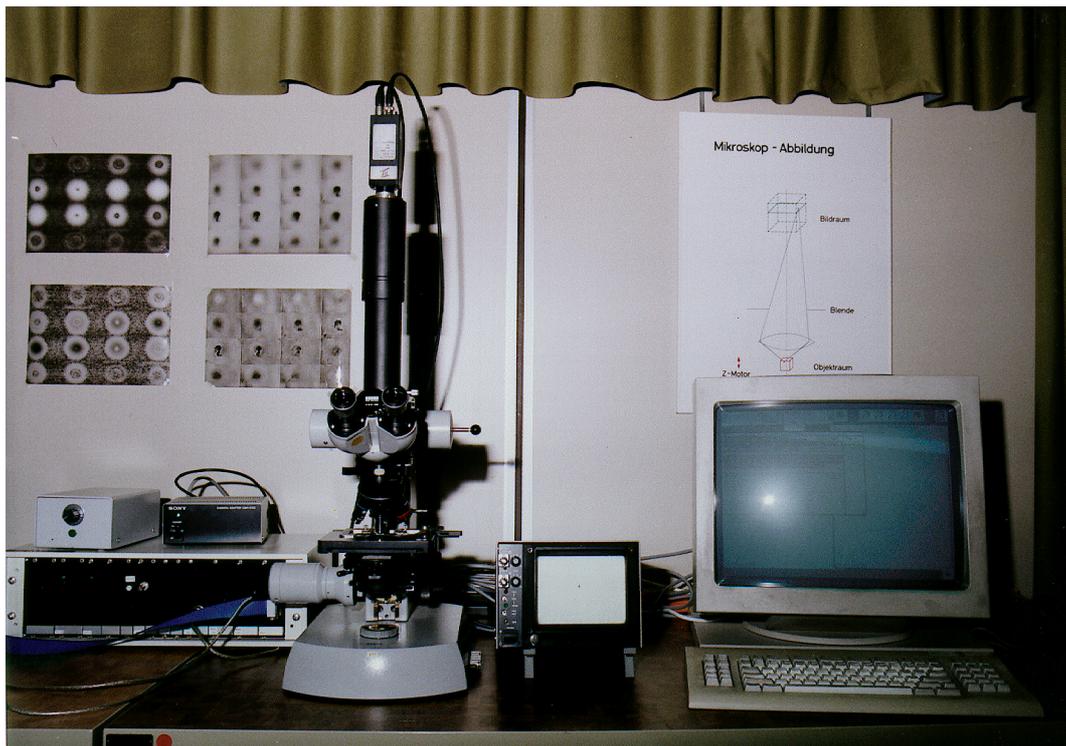


Abb. 2.2: Bild des experimentellen Aufbaus

In dieser Arbeit wird der in der Abb. 2.2 gezeigte experimentelle Aufbau für die Bildung des systemtheoretischen Modells in Komponenten zerlegt (siehe auch Kapitel 2.1.4). Wie die Zerlegung vorgenommen wird, zeigt die Abb. 2.3.

Die Abb. 2.3 zeigt auf der linken Seite die Komponenten des experimentellen Aufbaus. Ihnen werden auf der rechten Seite die Übertragungsglieder des systemtheoretischen Modells zugeordnet. Im experimentellen Aufbau und in seinem systemtheoretischen Modell läuft der Signalfluss von unten nach oben. Die Abb. zeigt am Anfang des Signalflusses, in den unteren zwei Dritteln der Abb., die dreidimensional-optische Aufnahmeeinheit und im oberen Drittel die Restaurationseinheit.

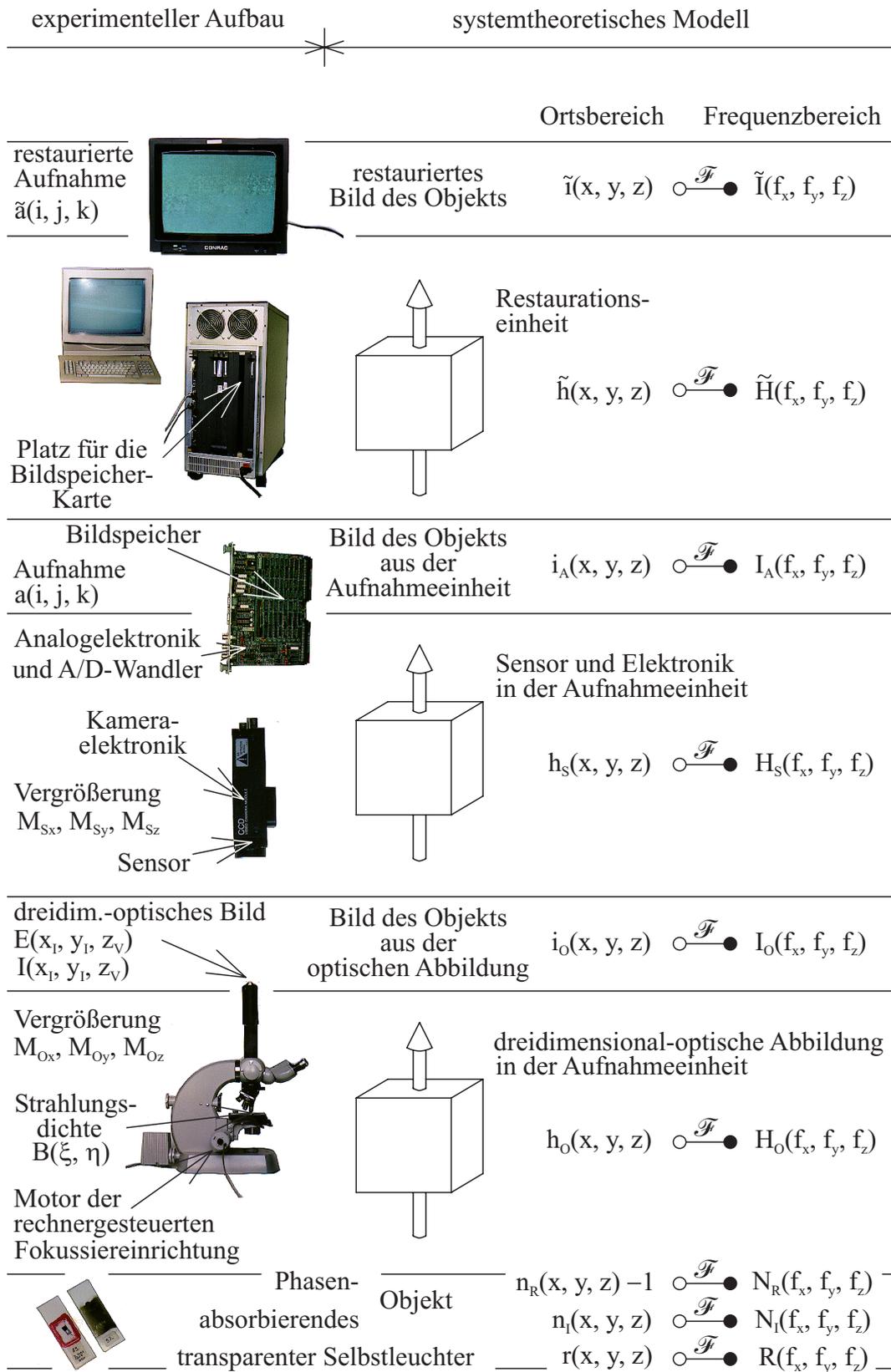


Abb. 2.3: Der experimentelle Aufbau und sein systemtheoretisches Modell

Die Aufnahmeeinheit besitzt dabei die charakteristische Eigenschaft, dass die Aufnahme aus ihr auch dann gewisse systematische Fehler besitzt, wenn die Aufnahmeeinheit optimal eingestellt und justiert worden ist. Bei der hier vorliegenden dreidimensional-optischen Abbildung werden diese systematischen Fehler z. B. durch ein begrenztes zweidimensional-optisches Auflösungsvermögen und eine begrenzte Tiefenschärfe hervorgerufen. Darüber hinaus kann auch Photonenrauschen eine Rolle spielen. Beim Sensor und der Elektronik in der Aufnahmeeinheit kann ein Tiefpass und Rauschen durch die Elektronik auftreten.

Die Aufteilung der Aufnahmeeinheit in die optische Abbildung, und in den Sensor und die Elektronik ist einerseits aufgrund der technischen Unterschiede nahe liegend. Dazu kommt, dass die Ermittlung der Aufnahmeeigenschaften der dreidimensional-optischen Abbildung eine zentrale Rolle in dieser Arbeit spielt und dass dafür die Aufnahmeeigenschaften des Sensors und der Elektronik getrennt erfasst werden sollen. Die Aufnahme aus der Aufnahmeeinheit wird schließlich im Bildspeicher abgelegt.

Unter Verwendung von Kenntnissen über das Verhalten der Aufnahmeeinheit führt die dritte Komponente des experimentellen Aufbaus eine Restauration im Rechner zur Kompensation der systematischen Fehler der Aufnahmeeinheit durch. Sie wird aufgrund ihrer Funktion Restaurationseinheit genannt und erzeugt die restaurierte Aufnahme.

Die Abb. 2.3 zeigt auch, wie die Größen des experimentellen Aufbaus zu Größen des systemtheoretischen Modells werden. Dazu das folgende Beispiel: Die Abb. zeigt links das dreidimensional-optische Bild im experimentellen Aufbau. Es besitzt, je nach dem, welches physikalische Modell zur Beschreibung der optischen Abbildung gewählt wird, die Bestrahlungsstärke $E(x_I, y_I, z_V)$ oder die Intensität $I(x_I, y_I, z_V)$. Beide Größen treten im experimentellen Aufbau auf. Dies zeigt sich auch darin, dass die Größen die Einheit W/m^2 und als Argumente die Koordinaten x_I, y_I der Bildebene und z_V für die Verschiebung des Objekts besitzen. Diesen Größen entspricht das Bild $i_O(x, y, z)$ des Objekts aus der dreidimensional-optischen Abbildung im systemtheoretischen Modell rechts. Da bei der Bildung des systemtheoretischen Modells die Einzelheiten des experimentellen Aufbaus nicht mehr zum tragen kommen, besitzt $i_O(x, y, z)$ die Einheit des Objekts und ist eine Funktion der Koordinaten x, y und z des Objektraums. Die Abb. zeigt auch, wie sich für die Komponenten des experimentellen Aufbaus Vergrößerungsfaktoren angeben lassen. Für die dreidimensional-optische Abbildung sind dies M_{Ox}, M_{Oy} und M_{Oz} . Solche Vergrößerungsfaktoren treten im hier gewählten systemtheoretischen Modell bereits vom Ansatz her nicht auf.

In den folgenden Kapiteln geht es zunächst darum, die zum Teil alternativen physikalischen Modelle des experimentellen Aufbaus mit ihren physikalischen Größen zu erfassen. Dabei werden typische Werte für diese Größen angegeben und die genauen Werte für jedes Experiment am Ende dieser Arbeit im Kapitel 7.9 dokumentiert. Mit den so gewonnenen Größen wird für jede Komponente untersucht, ob und ggf. unter welchen Voraussetzungen und Näherungen sie ein lineares (2.5) (2.6) und ortsinvariantes (2.7) (2.8) Verhalten besitzt. Falls beides vorliegt, wird schließlich das systemtheoretische Modell der Komponente gebildet.

2.2.1 Das Objekt

Das Objekt der dreidimensional-optischen Abbildung befindet sich im Objektraum mit den Ortskoordinaten x , y und z . Bei der Festlegung der Größen des Objekts können Effekte durch Streuung, Polarisation, Reflexion usw. noch unberücksichtigt bleiben, da sie erst im Zusammenhang mit der optischen Abbildung auftreten. Deshalb kann das Objekt durch drei Größen im Objektraum beschrieben werden:

Zwei davon sind die Größen für Absorption und Phase. Sie sind im Allgemeinen eine Funktion der Wellenlänge der elektromagnetischen Wellen, die durch das Objekt laufen. Zur Vereinfachung sollen in dieser Arbeit nur Wellen auftreten, die auf eine sehr lange Zeit bezogen die arithmetisch gemittelte Wellenlänge $\bar{\lambda}$ und das schmale spektrale Band der Breite Δ_λ besitzen. Im Rahmen einer Näherung ändern sich innerhalb dieses Bandes die Größen für Absorption und Phase nur in einem vernachlässigbaren Umfang. Absorption und Phase werden hier durch den Imaginärteil $n_I(x, y, z)$ und den Realteil $n_R(x, y, z)$ des komplexen Brechungsindex $n(x, y, z)$ beschrieben. Es ist

$$n(x, y, z) = n_R(x, y, z) + i n_I(x, y, z) \quad . \quad (2.15)$$

Bei der Modellbildung wird statt $n_R(x, y, z)$ die Differenz $n_R(x, y, z) - 1$ verwendet, weil sich damit der Fehler durch die lineare Näherung (2.82) der Exponentialfunktion deutlich reduzieren lässt, auch wenn dies von der Physik her möglicherweise ein wenig unanschaulich ist (siehe Abb. 2.3).

Das Objekt kann z. B. bei Fluoreszenz auch ein Selbstleuchter sein. Auch in diesem Fall sollen zur Vereinfachung nur Wellen mit den gerade definierten Größen $\bar{\lambda}$ und Δ_λ auftreten. Der Selbstleuchter besitzt bei der wellenoptischen Beschreibung die räumliche Intensität $I(x, y, z)$ bzw. bei Verwendung der geometrisch-optischen Näherung die räumliche spezifische Ausstrahlung $r(x, y, z)$. Beide Funktionen geben die in den 4π -Raum abgegebene Leistung je Einheitsvolumen an.

Im systemtheoretischen Modell gehören zu $n_I(x, y, z)$, $n_R(x, y, z) - 1$ und $r(x, y, z)$ mit (2.10) und (2.11) die drei korrespondierenden Funktionen $N_I(f_x, f_y, f_z)$, $N_R(f_x, f_y, f_z)$ und $R(f_x, f_y, f_z)$ im Ortsfrequenzbereich.

Das Objekt der dreidimensional-optischen Abbildung liegt innerhalb eines quaderförmigen Volumen V , dessen Seitenlängen v_x , v_y und v_z sind, und dessen Mittelpunkt im Ursprung des Objektraums liegt (siehe Abb. 2.5). Damit gilt

$$n_I(x, y, z) = 0 \wedge n_R(x, y, z) = 1 \wedge r(x, y, z) = 0$$

$$\left| \begin{array}{l} |x| \geq \frac{v_x}{2} \vee |y| \geq \frac{v_y}{2} \vee |z| \geq \frac{v_z}{2} \end{array} \right. \quad . \quad (2.16)$$

Schließlich liegt V immer innerhalb des Arbeitsbereichs der dreidimensional-optischen Aufnahmeeinheit bzw. des Lichtmikroskops.

2.2.2 Die dreidimensional-optische Abbildung in der Aufnahmeeinheit

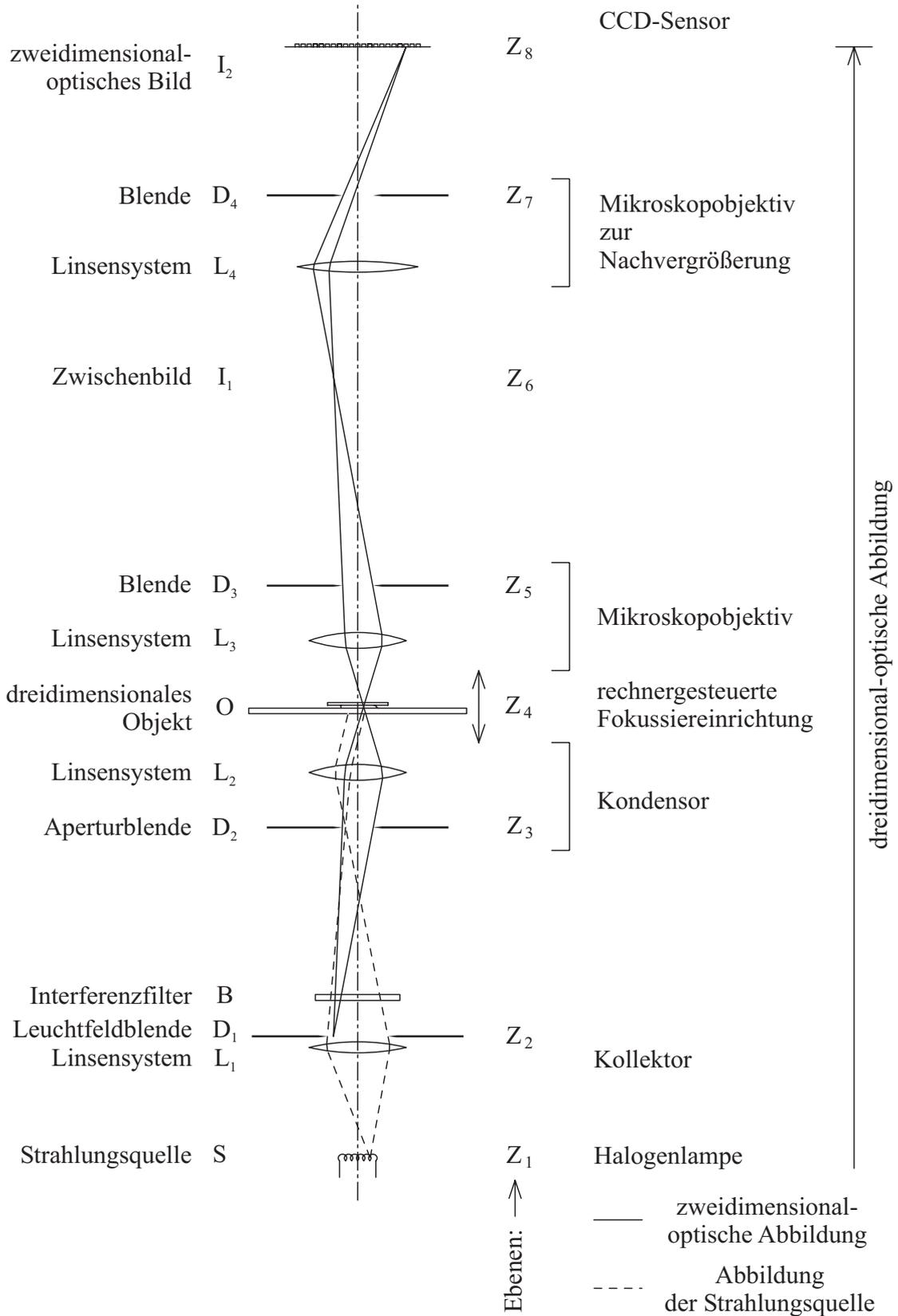


Abb. 2.4: Skizze der dreidimensional-optischen Abbildung

Element der optischen Abbildung	Bezeichnung	Eigenschaft	Größe	typischer Wert
zweidimensional-optisches Bild	I_2	Durchmesser	d_{I_2}	25mm
Blende im Mikroskopobjektiv zur Nachvergrößerung	D_4	Öffnungsdurchmesser (siehe Kapitel 7.9.3)	d_{D_4}	6mm bis 12mm
Linsensystem im Mikroskopobjektiv zur Nachvergrößerung	L_4	(objektseitige) Numerische Apertur	A_{NL4}	0,07 bis 0,25
- " -		Vergrößerung *)	M_{L4}	-2,5 bis -10
Zwischenbild	I_1	vom Mikroskopobjektiv zur Nachvergrößerung verwendeter Durchmesser des Zwischenbilds	d_{I_1}	2,5mm bis 10mm
Blende im Mikroskopobjektiv	D_3	Öffnungsdurchmesser (siehe Kapitel 7.9.3)	d_{D_3}	4mm bis 12mm
Linsensystem im Mikroskopobjektiv	L_3	(objektseitige) Numerische Apertur	A_{NL3}	0,45 bis 1,4
- " -		Vergrößerung *)	M_{L3}	-10 bis -100
rechnergesteuerte Fokussiereinrichtung	-	maximale mögliche Verschiebung des Objekts	z_{Vmax}	ca. 1mm
Objekt	O	-	-	-
Linsensystem im Kondensator	L_2	Numerische Apertur der Beleuchtungseinrichtung	A_{NL2}	0,3 bis 1,4
Aperturblende	D_2	Öffnungsdurchmesser	d_{D_2}	20mm
Interferenzfilter	B	gemittelte Wellenlänge des durchgelassenen und für die optische Abbildung verwendeten Wellenbands (siehe Kapitel 7.9.1)	$\bar{\lambda}$	575nm
- " -		Breite des durchgelassenen und für die optische Abbildung verwendeten Wellenbands (siehe Kapitel 7.9.1)	$\Delta\lambda$	50nm
einstellbare Leuchtfeldblende	D_1	Öffnungsdurchmesser	d_{D_1}	1mm bis 20mm
Linsensystem des Kollektors	L_1	-	-	-
Strahlungsquelle	S	Durchmesser	d_S	3mm

*) Die Aufschrift von Mikroskopobjektiven gibt regelmäßig den Betrag der Vergrößerung an.

Tab. 2.1: Die Eigenschaften der Elemente der optischen Abbildung

Ebene	Lage	Abstand zu Ebene	Größe	typischer Wert
Z_8	in der Bildebene des Mikroskopobjektivs zur Nachvergrößerung	Z_7	z_{87}	ca. 160mm
- " -	- " -	Z_6	z_{86}	205mm
Z_7	im hinteren Brennpunkt des Linsensystems L_4	Z_6	z_{76}	ca. 45mm
Z_6	in der Bildebene des Mikroskopobjektivs	Z_5	z_{65}	ca. 160mm
- " -	- " -	Z_4	z_{64}	205mm
Z_5	im hinteren Brennpunkt des Linsensystems L_3	Z_4	z_{54}	ca. 45mm
Z_3	im vorderen Brennpunkt des Linsensystems L_2	Z_4	z_{43}	ca. 30mm
Z_2	in der Objektebene des Linsensystems L_2	Z_4	z_{42}	ca. 140mm

Tab. 2.2: Die Abstände der Ebenen im optischen Aufbau

Die Abb. 2.4 zeigt als Skizze den experimentellen Aufbau der dreidimensional-optischen Abbildung in der Aufnahmeeinheit. Die Basis für diesen Aufbau bildet das große Forschungsmikroskop Universal der Fa. Carl Zeiss mit der Ausrüstung für Durchlicht im Hellfeld ID-Nr.: 49 17 48, das häufig auch Universal-Forschungsmikroskop genannt wird.

Auf der Fokussiereinrichtung des Mikroskops ist ein Motor angebracht, der über eine elektronische Steuereinheit mit dem Rechner verbunden ist (siehe auch Abb. 2.2). Diese rechnergesteuerte Fokussiereinrichtung ist als Zubehör zum Universal-Forschungsmikroskop erhältlich. Mit ihr lässt sich eine Fokussierserie aufnehmen, die zu einer dreidimensionalen Aufnahme im Rechner führt.

Das Universal-Forschungsmikroskop erzeugt zunächst das Zwischenbild I_1 . Dieses Zwischenbild wird mit einem schwach vergrößernden Mikroskopobjektiv zur Nachvergrößerung L_4 , D_4 (siehe auch Abb. 2.2) in das zweidimensional-optische Bild I_2 abgebildet. Die Nachvergrößerung dient zur Anpassung der zweidimensional-optischen Abbildung an den CCD-Sensor (siehe Kapitel 2.2.3.1.2).

Die Modifikationen des Strahlengangs, die in dieser Arbeit vorgenommen werden, sind Modifikationen der Blenden D_2 und D_3 . Hier sollen wahlweise Zentralblenden eingesetzt werden.

Ausgehend von der Abb. 2.4, die den Aufbau der dreidimensional-optischen Abbildung zeigt, veranschaulicht die Abb. 2.5 die Koordinatensysteme für den Objektraum. Die Abb. 2.5 zeigt zunächst die Koordinaten x , y und z des Objektraums. In ihm befindet sich das quaderförmige Volumen V , das durch den Arbeitsbereich des Mikroskops festgelegt wird und in dem das Objekt O liegt. In V liegen die Punkte P_0 und P_1 des Objekts O . Bei der in der Abb. gezeigten Stellung der rechnergesteuerten Fokussiereinrichtung liegt P_1 in der Objektebene Z_4 der zweidimensional-optischen Abbildung.

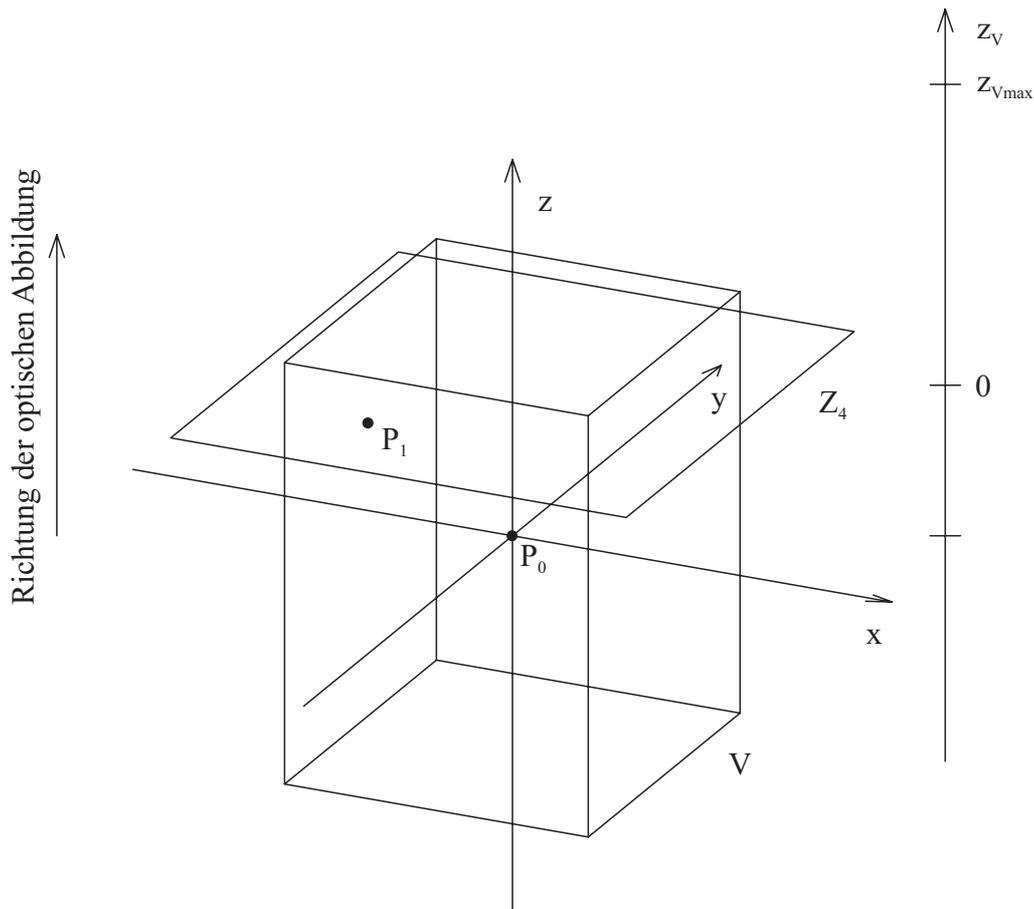


Abb. 2.5: Die Koordinatensysteme für den Objektraum

Durch die rechnergesteuerte Fokussiereinrichtung lässt sich das Objekt um z_V zwischen $-z_{V\max}$ und $+z_{V\max}$ verschieben. Dabei ist $z_{V\max}$ die maximale durch die rechnergesteuerte Fokussiereinrichtung mögliche Verschiebung. Nach einer Verschiebung des Objekts um z_V schneidet der Objektraum die Objektebene Z_4 bei

$$z = -z_V \quad . \quad (2.17)$$

Die zweidimensional-optische Abbildung bildet den in der Objektebene Z_4 liegenden Teil des Objekts O in das zweidimensional-optische Bild I_2 ab, das in der Bildebene Z_8 liegt. Die Abb. 2.6 zeigt das Koordinatensystem des Bilds I_2 in Z_8 . Da Abb. 2.5 und Abb. 2.6 miteinander korrespondieren, zeigt Abb. 2.6 auch das Bild Q_1 von P_1 . Dagegen ist das Bild Q_0 von P_0 nicht dargestellt, da P_0 nicht auf Z_4 liegt.

Durch Verschiebung des Objekts lässt sich mit zweidimensional-optischen Abbildungen eine Fokussiererei von zweidimensional-optischen Bildern aufnehmen. So entstehen eine dreidimensional-optische Abbildung und ein dreidimensional-optisches Bild.

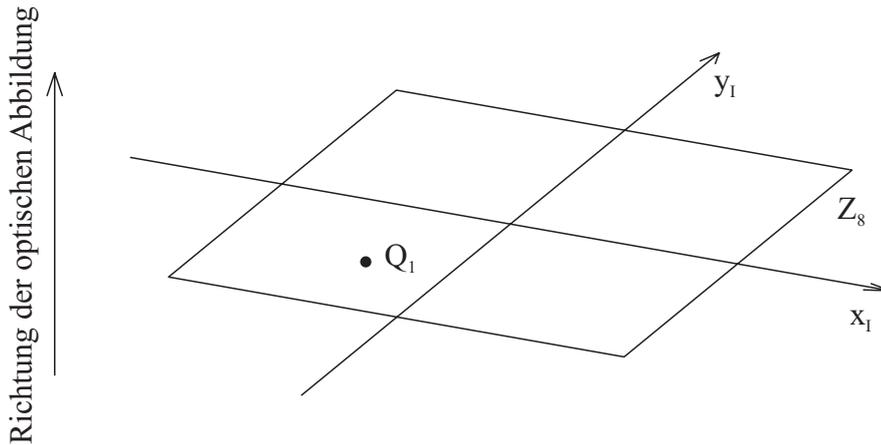


Abb. 2.6: Koordinatensystem des zweidimensional-optischen Bildes I_2 in Z_8

Für die dreidimensional-optische Abbildung lassen sich schließlich die reellen Vergrößerungen

$$M_{Ox} = M_{Oy} = M_{L4} \cdot M_{L3} \quad \text{und} \quad M_{Oz} = -1 \quad (2.18)$$

angeben (siehe Tab. 2.1) (2.17). Die Koordinaten x , y und z des Objekts werden mit diesen Vergrößerungen in die Koordinaten des dreidimensional-optischen Bildes x_I , y_I bei einer Verschiebung um z_V transformiert. Es gilt also

$$x_I = M_{Ox} \cdot x, \quad y_I = M_{Oy} \cdot y \quad \text{und} \quad z_V = M_{Oz} \cdot z \quad (2.19)$$

2.2.2.1 Die geometrisch-optische Näherung

Für die Modellbildung und zur Beschreibung verschiedener grundsätzlicher Aspekte der dreidimensional-optischen Abbildung, ist es hilfreich, eine geometrisch-optische Näherung der optischen Abbildung vorzunehmen und Effekte durch Streuung, Polarisation, Reflexion usw. zu vernachlässigen. Im Rahmen dieser Näherung geht die Wellenlänge $\bar{\lambda}$ der für die optische Abbildung verwendeten Wellen gegen Null [2.5] und es gilt

$$\bar{\lambda} \rightarrow 0 \quad (2.20)$$

2.2.2.1.1 Die geometrisch-optische Näherung für absorbierende Objekte

Mit der geometrisch-optischen Näherung soll zuerst die Abbildung eines nur absorbierenden Objekts beschrieben werden. Damit ist hier

$$n_R(x, y, z) = 1 \quad \text{und} \quad r(x, y, z) = 0 \quad . \quad (2.21)$$

Die Beleuchtungseinrichtung des Mikroskops erzeugt eine Strahlungsdichte in der Objektebene Z_4 . Diese Strahlungsdichte ist im Allgemeinen sowohl vom Ort auf Z_4 als auch von den Winkeln ξ und η abhängig, unter denen Strahlung auf Z_4 auftrifft (siehe Abb. 2.7). Da es ein konstruktives Ziel ist, eine Bestrahlung des Objekts zu erreichen, die in einem festgelegten Arbeitsbereich unabhängig vom Ort auf Z_4 ist, wird angenommen, dass die Strahlungsdichte bei einem vernachlässigbaren Fehler nur von ξ und η abhängig ist. So soll die Strahlungsdichte in der Ebene Z_4 mit $B(\xi, \eta)$ bezeichnet werden.

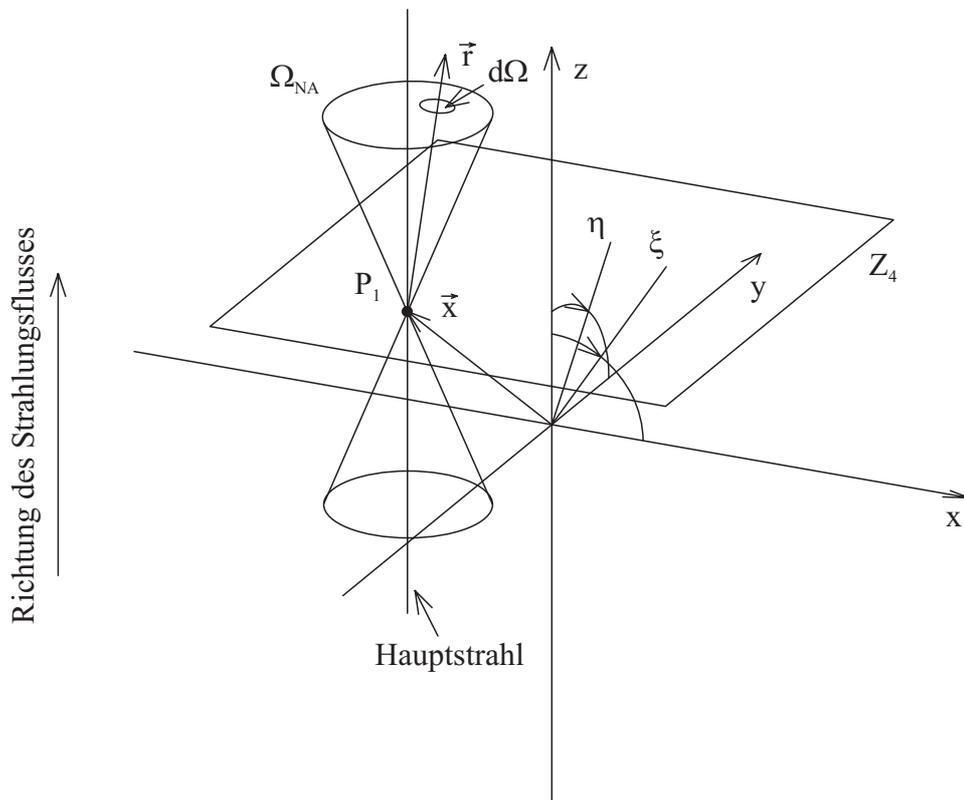


Abb. 2.7: Der Objektraum bei der geometrisch-optischen Näherung

Der von der Beleuchtungseinrichtung erzeugte Strahlungsfluss wird durch Absorption im Objekt reduziert. Im Sinne der Strahlungsfeldgrößen besitzt damit das Objekt zunächst den natürlichen Extinktionsmodul $m(\vec{x})$, der vom Ortsvektor

$$\vec{x} = \begin{pmatrix} x \\ y \\ z \end{pmatrix} \quad (2.22)$$

abhängig ist.

Die Abb. 2.7 veranschaulicht, wie sich Strahlung durch den Objektpunkt P_1 mit \vec{x} und entlang der Geraden

$$\vec{r}(r, \xi, \eta) = r \cdot \vec{r}_0(\xi, \eta) \quad | \quad |\vec{r}_0(\xi, \eta)| = 1 \quad (2.23)$$

bei $d\Omega$ ausbreitet. Unter Verwendung von $\vec{r}(r, \xi, \eta)$ kann die Transmission

$$T(\vec{x}, \xi, \eta) = \exp \left[- \int_{r=-\infty}^{r=+\infty} m(\vec{r}(r, \xi, \eta) + \vec{x}) dr \right] \quad (2.24)$$

des Objekts entlang einer Geraden angeben werden, wobei die Integration außerhalb des Volumens V (siehe Abb. 2.5) abgebrochen werden kann.

Die gesamte Strahlung, die durch P_1 dringt, breitet sich in einem doppelkegelförmigen Volumen aus. Die Öffnung dieses Volumens mit dem Raumwinkel Ω_{NA} wird in dieser Arbeit durch die Numerische Apertur A_{NL3} und durch die Blende D_3 des Mikroskopobjektivs L_3 , D_3 bestimmt. Da die Blende D_3 im hinteren Brennpunkt von L_3 liegt (siehe Tab. 2.2), ist der Hauptstrahl im Objektraum unabhängig von der Lage des Objektpunktes P_1 auf Z_4 immer parallel zur optischen Achse (siehe Abb. 2.4). Es liegt also ein objektseitig telezentrischer Strahlengang [2.6] (siehe auch Abb. 7.2) vor.

Der objektseitig telezentrische Strahlengang ist für die optische Abbildung durch das Lichtmikroskop charakteristisch. Wenn bei einem solchen Strahlengang die Abbildung einer Objektebene durch eine Verschiebung des Objekts entlang der optischen Achse defokussiert wird, dann liegt ein defokussierter Objektpunkt dieser Objektebene unabhängig vom Grad der Defokussierung immer auf dem gleichen Hauptstrahl und damit immer an der gleichen Stelle in der Bildebene. Durch den objektseitig telezentrischen Strahlengang wird ein „Atmen“ des Objekts bei Defokussierung verhindert. Dies ist für denjenigen Mikroskopbenutzer wichtig, der beim Hineinschauen in das Mikroskop das dreidimensionale Objekt durch hin- und herdrehen der Fokussierung erfassen möchte.

Nach dem Objekt breitet sich die Strahlung ggf. durch das Deckglas und anschließend durch die Objektive L_3 D_3 und L_4 D_4 aus. Für die hier durchgeführte geometrisch-optische Näherung wird angenommen, dass dabei keine Aberrationen oder Absorptionen auftreten. Schließlich trifft die Strahlung als Bild I_2 in der Bildebene Z_8 auf dem CCD-Sensor auf.

In der Abb. 2.8 ist die Bildebene Z_8 mit den Koordinaten x_I und y_I abgebildet. Die Abb. zeigt außerdem, wie der Strahlungskegel der optischen Abbildung von P_1 auf dem Bildpunkt Q_1 auftrifft. Zwischen dem Hauptstrahl des Strahlungskegels und der Senkrechten auf der Bildebene bei Q_1 liegt der Einfallswinkel $\theta(x_I, y_I)$. Der Wert des Einfallswinkels hängt von der Lage des Bildpunktes Q_1 auf Z_8 ab. Er soll immer ≥ 0 sein und er soll den Einfallswinkel im Bogenmaß angeben.

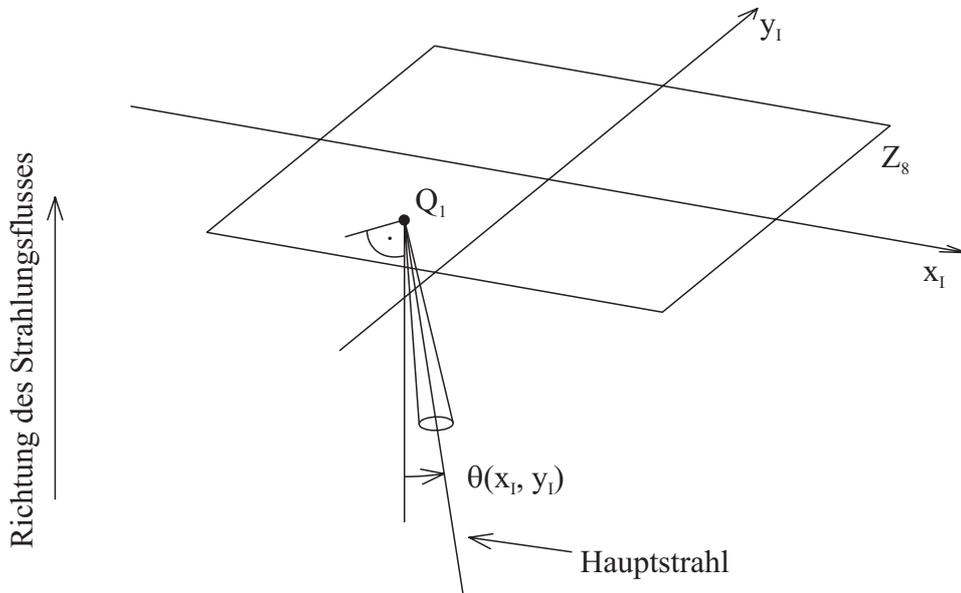


Abb. 2.8: Die Bildebene bei der geometrisch-optischen Näherung

Wie bereits angesprochen, ergibt die geometrisch-optische Analyse, dass aufgrund des objektseitig telezentrischen Strahlengangs bei einer Defokussierung des Objekts der Schwerpunkt des Bildes von P_1 auf Q_1 bleibt. Auf der anderen Seite tritt bei einer Defokussierung abhängig von $\theta(x_I, y_I)$ im Allgemeinen eine Verformung des Bildes auf, und bei der optischen Abbildung von P_1 eine Reduktion der Bestrahlungsstärke auf der Ebene Z_8 .

Für den in dieser Arbeit verwendeten experimentellen Aufbau ergibt die Abschätzung in Kapitel 7.5, dass die im Rahmen einer Näherung für kleine Einfallswinkel

$$\theta(x_I, y_I) \approx 0 \quad (2.25)$$

auf tretenden Fehler vernachlässigt werden können.

Für den konkreten experimentellen Aufbau und für das konkrete Objekt ist die (exakte) Bestrahlungsstärke des dreidimensional-optischen Bildes

$$E_e(x_I, y_I, z_V) = \frac{1}{M^2} \int_{\Omega_{NA}} B(\xi, \eta) \exp \left[- \int_{r=-\infty}^{r=+\infty} m(\vec{r}(r, \xi, \eta) + \vec{x}) dr \right] d\Omega \quad | \quad M \neq 0 \quad . \quad (2.26)$$

Dabei ist $M = M_{Ox} = M_{Oy}$ die reelle Vergrößerung der zweidimensional-optischen Abbildung von der Objektebene Z_4 in die Bildebene Z_8 (2.18).

In (2.26) wurden auf der linken Seite Größen verwendet, die dem Benutzer zugänglich sind, wie die Koordinaten x_I und y_I in der Bildebene und die Verschiebung des Objekts z_V . Auf der rechten Seite wurden dagegen die Größen des Objektraums verwendet. Dies soll den speziellen, hier vorliegenden Eigenschaften des experimentellen Aufbaus Rechnung tragen. Dabei werden die Größen des Objektraums mit (2.18) und (2.19) in diejenigen Größen, die dem Benutzer zugänglich sind, umgerechnet und umgekehrt.

2.2.2.1.1 Die lineare Näherung der Exponentialfunktion

Die Gleichung (2.26) zeigt, dass $E_e(x_I, y_I, z_V)$ mit der Exponentialfunktion über $m(\bar{x})$ kein lineares Verhalten besitzt. Um eine lineare Näherung zu erhalten, wird für (2.24) in (2.26) eine Reihenentwicklung der Exponentialfunktion durchgeführt

$$\begin{aligned} T(\bar{x}, \xi, \eta) &= \exp \left[- \int_{r=-\infty}^{r=+\infty} m(\bar{r}(r, \xi, \eta) + \bar{x}) dr \right] \\ &= 1 + \left(- \int_{r=-\infty}^{r=+\infty} m(\bar{r}(r, \xi, \eta) + \bar{x}) dr \right)^1 + \frac{1}{2!} (\dots)^2 + \frac{1}{3!} (\dots)^3 + \frac{1}{4!} (\dots)^4 + \dots \quad (2.27) \end{aligned}$$

Falls

$$\left(\int_{r=-\infty}^{r=+\infty} m(\bar{r}(r, \xi, \eta) + \bar{x}) dr \right)^{-1} \gg 1 \quad (2.28)$$

ist, können die Terme zweiter und höherer Ordnung in der Reihenentwicklung (2.27) vernachlässigt werden. Die Bedingung (2.28) ist gut erfüllt für Objekte, die einen geringen Extinktionsmodul und eine geringe Ausdehnung in $\bar{r}(r, \xi, \eta)$ -Richtung besitzen, also anschaulich ausgedrückt, für schwach absorbierende, dünne Objekte.

Aus (2.26) kann jetzt mit der linearen Näherung (2.27) und (2.28) der Exponentialfunktion die Bestrahlungsstärke

$$E_N(x_I, y_I, z_V) = \frac{1}{M^2} \int_{\Omega_{NA}} B(\xi, \eta) \left[1 - \int_{r=-\infty}^{r=+\infty} m(\bar{r}(r, \xi, \eta) + \bar{x}) dr \right] d\Omega \quad (2.29)$$

berechnet werden. Aus (2.29) lässt sich die Bestrahlungsstärke des zweidimensionalen Leerbilds

$$E_0 = \frac{1}{M^2} \int_{\Omega_{NA}} B(\xi, \eta) d\Omega \quad (2.30)$$

herausnehmen und so (2.29) zu

$$E_N(x_I, y_I, z_V) - E_0 = -\frac{1}{M^2} \int_{\Omega_{NA}} B(\xi, \eta) \int_{r=-\infty}^{r=+\infty} m(\vec{r}(r, \xi, \eta) + \vec{x}) dr d\Omega \quad (2.31)$$

umformen.

Wenn $m(\vec{x})$ die Eingangsgröße und $E_N(x_I, y_I, z_V) - E_0$ die Größe am Ausgang einer Komponente des experimentellen Aufbaus ist, erfüllt (2.31) die Bedingungen für lineares Verhalten sowohl nach (2.5) als auch nach (2.6). Darüber hinaus erfüllt diese Gleichung aufgrund der Näherung für kleine Einfallswinkel (2.25) auch die Bedingung für ortsinvariantes Verhalten nach (2.7) und (2.8). Damit sind die Voraussetzungen für die Bildung eines linearen, ortsinvarianten Modells, hier des systemtheoretischen Modells erfüllt.

2.2.2.1.1.2 Die Gleichungen für die Modellbildung

Wenn der Mikroskopbenutzer in das Lichtmikroskop hineinschaut und an der Fokussiereinrichtung dreht, um das Objekt zu erfassen, dann erhält er physikalisch gesehen das dreidimensional-optische Bild mit der Bestrahlungsstärke $E(x_I, y_I, z_V)$. Eine Analyse der Betrachtung durch den Mikroskopbenutzer zeigt, dass die Bestrahlungsstärke $E(x_I, y_I, z_V)$ das Objekt mit dem Extinktionsmodul $m(\vec{x})$ nicht direkt wiedergibt. Entsprechendes gilt, wenn das Mikroskop mit CCD-Sensor und Rechner eine Messeinrichtung für das Extinktionsmodul $m(\vec{x})$ ist. Eine solche Messeinrichtung muss am Ende auch einen Extinktionsmodul ausgeben. Die Angabe der Bestrahlungsstärke $E(x_I, y_I, z_V)$ ist da nicht voll befriedigend.

Deshalb wird jetzt aus (2.31) mit der experimentell gewonnenen Bestrahlungsstärke $E(x_I, y_I, z_V)$ das Bild des Extinktionsmoduls $i_m(x, y, z)$ aus der dreidimensional-optischen Aufnahmeeinheit berechnet, wobei das Bild des Extinktionsmoduls die Einheit und das Koordinatensystem des Objekts ohne die Vergrößerung der optischen Abbildung besitzt. Die Berechnung des Bilds des Extinktionsmoduls ist für die Bildung des systemtheoretischen Modells notwendig. Die experimentell gewonnene Bestrahlungsstärke ist die Größe des experimentellen Aufbaus und das Bild des Extinktionsmoduls die Größe im systemtheoretischen Modell (siehe Abb. 2.3).

Für die folgende Berechnung ist Δ_r eine, bezogen auf die Abmessungen der Strukturen im Objekt, kleine Entfernung in \vec{r} -Richtung (siehe Abb. 2.7). Bei der folgenden Umrechnung vom experimentellen Aufbau zum systemtheoretischen Modell wird eine dreidimensional-optische Abbildung zugrunde gelegt, die in sofern ideal ist, dass bei ihr im Gegensatz zu (2.31) nur das Extinktionsmodul innerhalb $\pm \Delta_r/2$ zum tragen kommt.

Die beiden Integrale in (2.31) werden zu

$$\int_{\Omega_{NA}} B(\xi, \eta) \int_{r=-\infty}^{r=+\infty} m(\vec{r}(r, \xi, \eta) + \vec{x}) dr d\Omega$$

$$\approx \int_{\Omega_{NA}} B(\xi, \eta) \int_{r=-\frac{1}{2}\Delta_r}^{r=+\frac{1}{2}\Delta_r} m(\vec{r}(r, \xi, \eta) + \vec{x}) dr d\Omega = \int_{\Omega_{NA}} B(\xi, \eta) d\Omega \int_{r=-\frac{1}{2}\Delta_r}^{r=+\frac{1}{2}\Delta_r} dr i_m(x, y, z) \quad (2.32)$$

umgeformt und aus der experimentell gewonnenen Bestrahlungsstärke $E(x_I, y_I, z_V)$ kann analog zu (2.31) und mit (2.30) das Bild des Extinktionsmoduls $i_m(x, y, z)$ berechnet werden:

$$E_N(x_I, y_I, z_V) - E_0 = -\frac{1}{M^2} \int_{\Omega_{NA}} B(\xi, \eta) d\Omega \int_{r=-\frac{1}{2}\Delta_r}^{r=+\frac{1}{2}\Delta_r} dr i_m(x, y, z)$$

$$i_m(x, y, z) = \frac{1}{\Delta_r} \frac{E_0 - E(x_I, y_I, z_V)}{E_0} \quad | \quad E_0 \neq 0 \quad (2.33)$$

Mit (2.33) erhält man nur dann ein Bild des Extinktionsmoduls, wenn $E_0 \neq 0$ ist. Dies ist, wie (2.30) zeigt, nur der Fall, wenn $\Omega_{NA} > 0$ ist und wenn bei der Integration über Ω_{NA} zumindest teilweise $B(\xi, \eta) > 0$ ist.

Durch Einsetzen von (2.31) in (2.33), kann schließlich die Beziehung zwischen dem Extinktionsmodul und seinem Bild mit

$$i_m(x, y, z) = \frac{1}{\Delta_r E_0} \frac{1}{M^2} \int_{\Omega_{NA}} B(\xi, \eta) \int_{r=-\infty}^{r=+\infty} m(\vec{r}(r, \xi, \eta) + \vec{x}) dr d\Omega \quad (2.34)$$

angeben werden.

Für die Berechnungen im Rahmen der geometrisch-optischen Näherung sind Strahlungsfeldgrößen verwendet worden. Um die Berechnungen auf die Größen des Objekts, wie sie im Kapitel 2.2.1 festgelegt worden sind, zu beziehen, muss das Bild des Extinktionsmoduls in (2.34) mit dem Verhältnis aus der Beziehung

$$m(\vec{x}) = \frac{4\pi}{\lambda} n_I(x, y, z) \quad (2.35)$$

[2.7] in das Bild des Imaginärteils des komplexen Brechungsindex

$$i_{\text{nl}}(x, y, z) = \frac{\bar{\lambda}}{4\pi} \frac{1}{\Delta_r} \frac{E_0 - E(x_I, y_I, z_V)}{E_0} \quad (2.36)$$

umgerechnet werden. Dabei ist $\bar{\lambda}$ wieder die arithmetisch über eine sehr lange Zeit gemittelte Wellenlänge.

2.2.2.1.1.3 Die Berechnung von Punktantwort und Übertragungsfunktion

Am Ende der Modellbildung kann die Punktantwort $h_{\text{OnI}}(x, y, z)$ der dreidimensional-optischen Aufnahmeeinheit für absorbierende Objekte berechnet werden. Dazu wird im Sinne von (2.9) und (2.13) die δ -Funktion $\delta(\vec{x}) = \delta(x, y, z)$ als Anregung in (2.34) eingesetzt:

$$h_{\text{OnI}}(x, y, z) = \frac{1}{\Delta_r E_0 M^2} \int_{\Omega_{\text{NA}}} B(\xi, \eta) \int_{r=-\infty}^{r=+\infty} \delta(\vec{r}(r, \xi, \eta) + \vec{x}) dr d\Omega \quad (2.37)$$

Da das Integral über r und damit auch das Doppelintegral in (2.37) nur dann ungleich Null ist, wenn die Integration über r unter dem Winkeln $\xi_\delta(\vec{x})$ und $\eta_\delta(\vec{x})$ durch den Ursprung läuft, in dem sich der Dirac-Impuls befindet (siehe auch Abb. 2.7), ist es hilfreich die δ -Funktion $\delta(\vec{x}) = \delta_{xy}(\vec{x}) \cdot \delta_z(\vec{x})$ zu $\delta_A(\vec{x}) \cdot \delta_r(\vec{x})$ umzuformulieren (siehe auch Kapitel 7.3) und so zu drehen, dass die Gerade der δ -Funktion $\delta_A(\vec{x})$ auf \vec{x} liegt. Aus dem gleichen Grund ist es möglich, die Integration über dem Raumwinkel mit $\frac{A_{\text{NA}}}{|\vec{x}|^2} = \Omega_{\text{NA}}$ und $\frac{dA}{|\vec{x}|^2} = d\Omega$

umzuformulieren in eine Integration auf der Tangentialebene zur Einheitskugel bei $\xi_\delta(\vec{x})$ und $\eta_\delta(\vec{x})$. Aus (2.37) wird dann

$$\begin{aligned} h_{\text{OnI}}(x, y, z) &= \frac{1}{\Delta_r E_0 M^2} \int_{A_{\text{NA}}} B(\xi, \eta) \int_{r=-\infty}^{r=+\infty} \delta_A(\vec{r}(r, \xi, \eta) + \vec{x}) \delta_r(\vec{r}(r, \xi, \eta) + \vec{x}) dr \frac{1}{|\vec{x}|^2} dA \\ &= \frac{1}{\Delta_r E_0 M^2 |\vec{x}|^2} \int_{A_{\text{NA}}} B(\xi, \eta) \delta_A(\vec{r}(r, \xi, \eta) + \vec{x}) dA \\ &= \frac{1}{\Delta_r |\vec{x}|^2} \frac{E(\xi_\delta(\vec{x}), \eta_\delta(\vec{x}))}{E_0} \quad | \quad |\vec{x}| \neq 0 \quad . \end{aligned} \quad (2.38)$$

Dabei ist

$$E(\xi_\delta(\vec{x}), \eta_\delta(\vec{x})) = \frac{1}{M^2} \int_{A_{NA}} B(\xi, \eta) \delta_A(\vec{r}(r, \xi, \eta) + \vec{x}) dA \quad . \quad (2.39)$$

Das Integral in (2.39) kann aus zwei Gründen zu Null werden. Zum einen kann der Dirac-Impuls der δ -Funktion außerhalb des Integrationsgebiets A_{NA} bzw. Ω_{NA} liegen. Dies tritt dann auf, wenn der im Ursprung liegende Dirac-Impuls durch die Numerische Apertur des Mikroskopobjektivs oder durch das Einfügen einer speziellen Blende D_3 außerhalb des Integrationsgebiets A_{NA} liegt. Eine solche spezielle Blende kann z. B. eine Zentralblende in der Austrittspupille des Mikroskopobjektivs sein.

Zum anderen kann für die beiden Winkel $\xi_\delta(\vec{x})$ und $\eta_\delta(\vec{x})$ die Strahlungsdichte $B(\xi, \eta)$ und damit auch das Integral den Wert Null annehmen. In einem solchen Fall erzeugt die Beleuchtungseinrichtung für $\xi_\delta(\vec{x})$ und $\eta_\delta(\vec{x})$ keine Strahlung auf Z_4 . Dies kann bei einer kleinen Numerischen Apertur A_{NL2} der Beleuchtungseinrichtung oder durch das Einfügen von speziellen Aperturblenden D_2 in die Beleuchtungseinrichtung auftreten. Eine solche spezielle Blende kann z. B. wieder eine Zentralblende sein.

Falls das Integral in (2.39) und damit $E(\xi_\delta(\vec{x}), \eta_\delta(\vec{x}))$ zu Null wird, wird auch die Punktantwort $h_{OnI}(x, y, z)$ in (2.38) zu Null. Damit besitzt die Punktantwort einen doppelkegelförmigen Umriss, wenn keine speziellen Blenden D_2 oder D_3 vorhanden sind (siehe Abb. 2.9).

Außerdem ist die Punktantwort von $\frac{1}{|\vec{x}|^2}$ abhängig. Damit besitzt die Punktantwort immer kleinere Werte, je weiter die Position auf die \vec{x} zeigt vom Ursprung entfernt ist. Andererseits führt diese Abhängigkeit dazu, dass die Werte der Punktantwort zum Ursprung hin, gegen unendlich gehen und dass die Punktantwort im Ursprung nicht definiert ist.

Schließlich soll noch daran erinnert werden, dass E_0 von Ω_{NA} abhängig ist (siehe (2.30)). Je größer Ω_{NA} ist, desto größer ist E_0 , wenn die Beleuchtungseinrichtung für all diese Winkel einen Strahlungsfluss erzeugt.

Weil die Punktantwort rotationssymmetrisch zur z -Koordinatenachse ist, zeigt die Abb. 2.9 [2.8] den Graphen der Ebene $y = 0$ aus der Punktantwort $h_{OnI}(x, y, z)$ für den üblichen Fall, dass keine speziellen Blenden D_2 im Kondensator oder D_3 im Mikroskopobjektiv vorhanden sind und dass die Strahlungsdichte $B(\xi, \eta)$ innerhalb des Integrationsgebiets Ω_{NA} konstant ist.

Die Abb. 2.9 veranschaulicht, wie Objektteile, die über oder unter der fokussierten Ebene liegen, unscharf zusammen mit der fokussierten Ebene abgebildet werden. Dies entspricht ja auch der Erfahrung mit dem Lichtmikroskop.

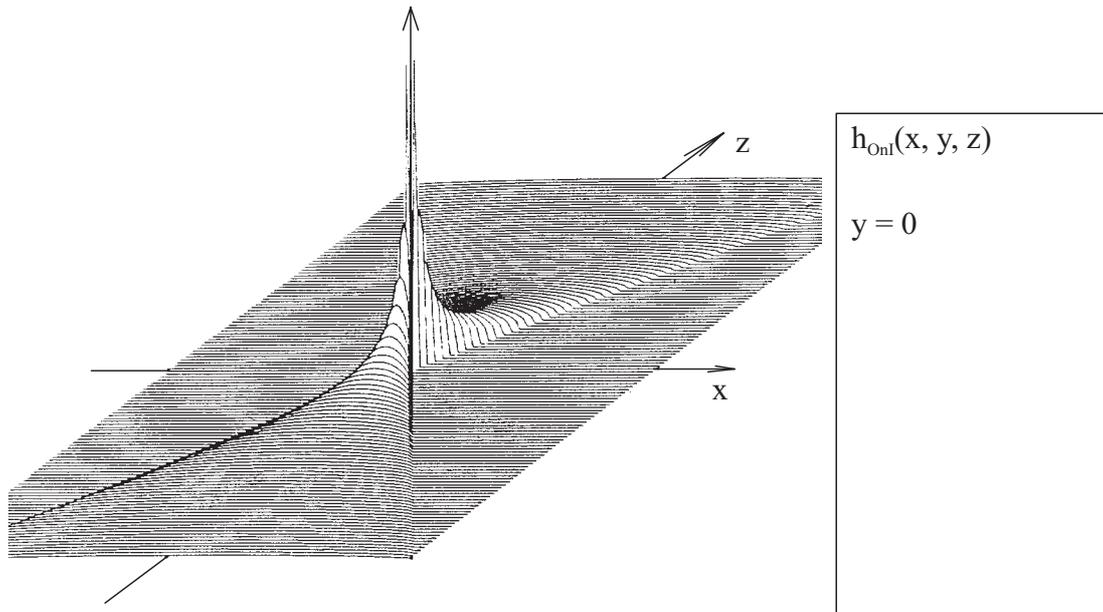


Abb. 2.9: Die Punktantwort für absorbierende Objekte

Zur Punktantwort gehört mit (2.10) die Übertragungsfunktion

$$H_{\text{Onl}}(f_x, f_y, f_z) = \mathcal{F}\{h_{\text{Onl}}(x, y, z)\} \quad (2.40)$$

der dreidimensional-optischen Abbildung für absorbierende Objekte. Da sie um die f_z -Koordinatenachse rotationssymmetrisch ist, zeigt die Abb. 2.10 [2.8] den Graphen der Ebene $f_y = 0$ aus der Übertragungsfunktion.

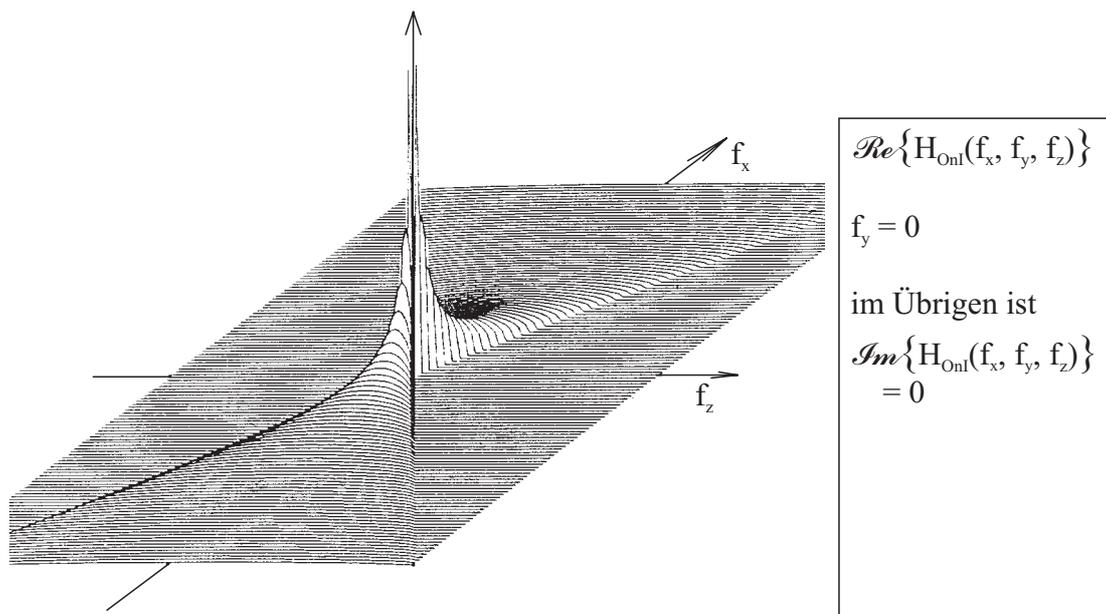


Abb. 2.10: Die Übertragungsfunktion für absorbierende Objekte

Die Abb. veranschaulicht, dass die Ortsfrequenzen eines Objekts, die sich innerhalb eines doppelkegelförmigen, rotations-symmetrisch um die f_z -Achse liegenden Volumens befinden, nicht durch das Lichtmikroskop übertragen werden. Dies gilt interessanterweise auch für ganz geringe Ortsfrequenz-Beträge. Diese Eigenschaft ist für das Lichtmikroskop charakteristisch. Anschaulich ausgedrückt bedeutet dies z. B. Folgendes: Wenn eine homogen absorbierende, dünne und ausgedehnt senkrecht zur optischen Achse liegende Schicht z. B. auf das Deckglas eines Präparats aufgebracht wird, dann kann die Lage dieser Schicht beim Hineinschauen in das Mikroskop nicht erkannt werden. Auch kann sie nicht von einer in gleichem Umfang absorbierenden Doppelschicht unterschieden werden. Eine solche Schicht bzw. Doppelschicht besitzt im Ortsfrequenzbereich nur Beiträge auf der f_z -Koordinatenachse. Zwar wird die optische Abbildung bei der Schicht und der Doppelschicht insgesamt dunkler, dies wird aber erst offensichtlich, wenn durch Vorwissen bekannt ist, dass die Abbildung ohne Präparat heller ist. Die Gesamthelligkeit bzw. das Leerbild ist ein Sonderfall (siehe z. B. (2.33) (2.36)).

Auch die Abb. 2.7 veranschaulicht, wie die dreidimensional-optische Abbildung der homogenen Schicht bzw. Doppelschicht bei allen abgebildeten Teilen des Objekts den gleichen Teil der Strahlung aus dem doppelkegelförmigen Integrationsgebiet durch Absorption herausnimmt.

2.2.2.1.2 Die geometrisch-optische Näherung für Phasenobjekte

In diesem Kapitel wird die dreidimensional-optische Abbildung von Phasenobjekten untersucht. Damit ist in diesem Kapitel

$$n_I(x, y, z) = 0 \quad \text{und} \quad r(x, y, z) = 0 \quad . \quad (2.41)$$

Wenn die optische Abbildung von Phasenobjekten mit den Methoden der geometrisch-optischen Näherung untersucht wird, dann stellt man fest, dass die Strahlen durch das Phasenobjekt auf eine („wilde“) Weise abgelenkt werden, die zu einer Bestrahlungsstärke $E(x_I, y_I, z_V)$ des dreidimensional-optischen Bilds führt, aus der das Phasenobjekt also die Funktion des Realteils des komplexen Brechungsindex $n_R(x, y, z)$ im Objekt, wenn überhaupt, dann nur unter Schwierigkeiten ermittelt werden kann.

Dies zeigt auch die Erfahrung. Wenn man in ein Lichtmikroskop im Hellfelddurchlichtbetrieb hineinschaut, erkennt man ein Phasenobjekt im Allgemeinen nur schlecht und schemenhaft. Dazu kommt, dass das optische Bild vor allem bei einer hohen Numerischen Apertur A_{NL2} der Beleuchtungseinrichtung einen nur geringen Kontrast besitzt. Deshalb wird das Lichtmikroskop im Hellfelddurchlichtbetrieb im Allgemeinen nicht zur Untersuchung von Phasenobjekten eingesetzt. Erst der Einsatz von speziellen Verfahren z. B. der Einsatz des Differenzial-Interferenz-Kontrast-Verfahrens (DIC) bietet gute Möglichkeiten Phasenobjekte zu erfassen.

Deshalb wird auf eine Untersuchung der Eigenschaften der dreidimensional-optischen Abbildung von Phasenobjekten mit Hilfe der geometrisch-optischen Näherung verzichtet.

2.2.2.1.3 Die geometrisch-optische Näherung für transparente Selbstleuchter

Schließlich bleibt die Beschreibung der dreidimensional-optischen Abbildung von transparenten Selbstleuchtern mit Hilfe der geometrisch-optischen Näherung. In diesem Fall ist

$$n_I(x, y, z) = 0 \quad \text{und} \quad n_R(x, y, z) = 1 \quad . \quad (2.42)$$

Die Beschreibung läuft hier ganz ähnlich wie die Beschreibung der Abbildung von absorbierenden Objekten. Der wesentliche Unterschied liegt in der Integration im Objektraum (siehe Abb. 2.7). Bei absorbierenden Objekten wird die Strahlung aus der Beleuchtungseinrichtung durch die Transmission des Objekts mit einer multiplikativen Verknüpfung der Absorption entlang einer Geraden reduziert. Dagegen wird bei transparenten Selbstleuchtern die von der räumlichen spezifischen Ausstrahlung $r(x, y, z)$ abgehende Strahlung entlang einer Geraden im Rahmen einer additiven Verknüpfung aufintegriert. Die so durch den transparenten Selbstleuchter abgehende Strahlung gelangt mit der optischen Abbildung durch das Lichtmikroskop in die Bildebene.

Ausgehend von (2.26) kann die Bestrahlungsstärke des dreidimensional-optischen Bildes mit

$$E_r(x_I, y_I, z_V) = \frac{1}{M^2} \frac{1}{4\pi} \int_{\Omega_{NA}} \int_{r=-\infty}^{r=+\infty} r(\vec{r}(r, \xi, \eta) + \vec{x}) dr d\Omega \quad | \quad M \neq 0 \quad (2.43)$$

angeben werden. Dabei wird nur die Näherung für kleine Einfallswinkel $\theta(x_I, y_I) \approx 0$ (2.25) durchgeführt. Ferner wird für die geometrischen Erfordernisse $r(x, y, z)$ durch $r(\vec{x})$ ersetzt.

Die Gleichung (2.43) zeigt die Integration der räumlichen spezifischen Ausstrahlung über r auf dem zu $d\Omega$ gehörenden Doppelkegel (siehe auch Abb. 2.7) und die Integration über Ω_{NA} , die dann zur Bestrahlungsstärke des dreidimensional-optischen Bildes führt. Die Gleichung (2.43) zeigt einen linearen Zusammenhang zwischen der räumlichen spezifischen Ausstrahlung $r(\vec{x})$ bzw. $r(x, y, z)$ und ihrem optischen Bild $E_r(x_I, y_I, z_V)$. Damit muss eine lineare Näherung, wie sie in Kapitel 2.2.2.1.1 für absorbierende Objekte notwendig gewesen ist, nicht durchgeführt werden.

Im Hinblick auf die Modellbildung erfüllt die Gleichung (2.43) die Bedingungen für lineares Verhalten nach (2.5) und (2.6). Durch die Näherung für kleine Einfallswinkel (2.25) erfüllt sie auch die Bedingungen für ortsinvariantes Verhalten nach (2.7) und (2.8). Damit sind die Voraussetzungen für die Bildung des systemtheoretischen Modells erfüllt.

2.2.2.1.3.1 Die Gleichungen für die Modellbildung

Für die Modellbildung und unter Annahme einer idealen dreidimensional-optischen Aufnahmeeinheit, wie dies für absorbierende Objekte bereits gemacht worden ist, können die beiden Integrale in (2.43) zu

$$\begin{aligned}
\int_{\Omega_{NA}} \int_{r=-\infty}^{r=+\infty} r(\vec{r}(r, \xi, \eta) + \vec{x}) dr d\Omega &\approx \int_{\Omega_{NA}} \int_{r=-\frac{1}{2}\Delta_r}^{r=+\frac{1}{2}\Delta_r} r(\vec{r}(r, \xi, \eta) + \vec{x}) dr d\Omega \\
&= \int_{\Omega_{NA}} d\Omega \int_{r=-\frac{1}{2}\Delta_r}^{r=+\frac{1}{2}\Delta_r} dr i_r(x, y, z) \quad (2.44)
\end{aligned}$$

umgeformt werden. Mit (2.43) und (2.44) lässt sich dann das Bild der räumlichen spezifischen Ausstrahlung $i_r(x, y, z)$ aus der experimentell gewonnenen Bestrahlungsstärke $E(x_I, y_I, z_V)$ des dreidimensional-optischen Bildes mit

$$i_r(x, y, z) = \frac{M^2 4\pi}{\Delta_r \Omega_{NA}} E(x_I, y_I, z_V) \quad | \quad \Omega_{NA} > 0 \quad (2.45)$$

berechnen. Dabei muss $\Omega_{NA} > 0$ sein oder, anschaulich ausgedrückt, das Mikroskopobjektiv muss zumindest ein wenig geöffnet sein, damit man das Objekt sieht.

Durch Einsetzen von (2.43) in (2.45) wird schließlich die Beziehung zwischen der räumlichen spezifischen Ausstrahlung des Objekts und seinem Bild berechnet

$$i_r(x, y, z) = \frac{1}{\Delta_r \Omega_{NA}} \int_{\Omega_{NA}} \int_{r=-\infty}^{r=+\infty} r(\vec{r}(r, \xi, \eta) + \vec{x}) dr d\Omega \quad (2.46)$$

2.2.2.1.3.2 Die Berechnung von Punktantwort und Übertragungsfunktion

Um die Punktantwort $h_{Or}(x, y, z)$ der dreidimensional-optischen Aufnahmeeinheit für transparente Selbstleuchter zu ermitteln, wird im Sinne von (2.9) und (2.13) die δ -Funktion in (2.46) eingesetzt. Die Punktantwort ist zunächst

$$h_{Or}(x, y, z) = \frac{1}{\Delta_r \Omega_{NA}} \int_{\Omega_{NA}} \int_{r=-\infty}^{r=+\infty} \delta(\vec{r}(r, \xi, \eta) + \vec{x}) dr d\Omega \quad (2.47)$$

Wie bereits bei den Berechnungen für absorbierende Objekte soll auch hier die δ -Funktion $\delta(\vec{x}) = \delta_{xy}(\vec{x}) \cdot \delta_z(\vec{x})$ zu $\delta_A(\vec{x}) \cdot \delta_r(\vec{x})$ umformuliert und so gedreht werden, dass die Gerade der δ -Funktion $\delta_A(\vec{x})$ auf \vec{x} und unter den Winkeln $\xi_\delta(\vec{x})$ und $\eta_\delta(\vec{x})$ durch den Ursprung

läuft (siehe Abb. 2.7). Außerdem wird die Integration über dem Raumwinkel mit $\frac{A_{NA}}{|\vec{x}|^2} = \Omega_{NA}$ und $\frac{dA}{|\vec{x}|^2} = d\Omega$ wieder in eine Integration auf der Tangentialebene zur Einheitskugel bei $\xi_\delta(\vec{x})$ und $\eta_\delta(\vec{x})$ umformuliert. So wird aus (2.47)

$$\begin{aligned}
 h_{Or}(x, y, z) &= \frac{1}{\Delta_r} \int_{A_{NA}} \int_{r=-\infty}^{r=+\infty} \delta_A(\vec{r}(r, \xi, \eta) + \vec{x}) \delta_r(\vec{r}(r, \xi, \eta) + \vec{x}) dr \frac{1}{|\vec{x}|^2} dA \\
 &= \frac{1}{\Delta_r |\vec{x}|^2} \int_{A_{NA}} \delta_A(\vec{r}(r, \xi, \eta) + \vec{x}) dA \\
 &= \frac{1}{\Delta_r |\vec{x}|^2} C(\xi_\delta(\vec{x}), \xi_\delta(\vec{x})) \quad | \quad |\vec{x}| \neq 0 \quad . \quad (2.48)
 \end{aligned}$$

Dabei ist

$$C(\xi_\delta(\vec{x}), \xi_\delta(\vec{x})) = \int_{A_{NA}} \delta_A(\vec{r}(r, \xi, \eta) + \vec{x}) dA \quad . \quad (2.49)$$

Das Integral in (2.49) wird dann zu Null, wenn der Dirac-Impuls der δ -Funktion außerhalb des Integrationsgebiets A_{NA} bzw. Ω_{NA} liegt. Dies ist dann der Fall, wenn der im Ursprung liegende Dirac-Impuls aufgrund der Numerische Apertur A_{NL3} des Mikroskopobjektivs oder durch das Einfügen einer speziellen Blende D_3 in das Mikroskopobjektiv außerhalb des Integrationsgebiets A_{NA} liegt. Eine solche spezielle Blende kann z. B. eine Zentralblende in der Austrittspupille des Mikroskopobjektivs sein. Wenn der Dirac-Impuls der δ -Funktion innerhalb des Integrationsgebiets A_{NA} liegt, dann wird $C(\xi_\delta(\vec{x}), \xi_\delta(\vec{x}))$ zu 1.

Damit besitzt die Punktantwort einen doppelkegelförmigen Umriss, wenn keine spezielle Blende D_3 in das Mikroskopobjektiv eingefügt worden ist. Ferner sind die Werte der Punktantwort wieder von $\frac{1}{|\vec{x}|^2}$ abhängig.

Die Punktantwort (2.48) (2.49) für transparente Selbstleuchter und die zu ihr gehörende Übertragungsfunktion

$$H_{Or}(f_x, f_y, f_z) = \mathcal{F}\{h_{Or}(x, y, z)\} \quad (2.50)$$

sind gleich der Punktantwort und der Übertragungsfunktion für absorbierende Objekte, wie der Vergleich mit (2.38) (2.39) zeigt (siehe auch Abb. 2.9 und Abb. 2.10).

2.2.2.1.4 Zusammenfassende Diskussion

Im Kapitel 2.2.2.1 ist die geometrisch-optische Näherung verwendet worden, um zunächst eine Reihe von grundlegenden Eigenschaften der dreidimensional-optischen Abbildung durch das Lichtmikroskop zu beschreiben. Darüber hinaus ist sie verwendet worden, um die Gleichungen für die Modellbildung zu veranschaulichen. Eine Bewertung der Ergebnisse des Kapitels 2.2.2.1 ergibt im Wesentlichen Folgendes:

Bei der dreidimensional-optischen Abbildung von absorbierenden Objekten, genauso wie bei der von transparenten Selbstleuchtern, liegt eine große und damit auch charakteristische Schwäche der dreidimensional-optischen Abbildung in der Tiefenauflösung. Diese Schwäche zeigt sich bereits bei der Verwendung der hier durchgeführten geometrisch-optischen Näherung. So zeigt das Beispiel der homogen absorbierenden, dünnen und ausgedehnt senkrecht zur optischen Achse liegenden Schicht (siehe Kapitel 2.2.2.1.1.3), dass bereits ihre Lage in der Tiefe nicht ermittelt werden kann und dass sie auch nicht von einer Doppelschicht unterscheidbar ist.

Dazu kommt natürlich immer auch der Wunsch einer besseren Auflösung der zweidimensional-optischen Abbildung, auch wenn die Auflösung durch die hier verwendete geometrisch-optische Näherung (2.20) nicht erfasst werden kann.

Die auftretenden Schwierigkeiten liegen jedoch nicht nur in der Auflösung. Die durchgeführten Analysen und Berechnungen haben gezeigt, dass die Bestrahlungsstärke des dreidimensional-optischen Bildes verwendet wird, um die optischen Eigenschaften des dreidimensionalen Objekts zu ermitteln (2.33) (2.36) (2.45). Dabei sind Näherungen (2.29) (2.32) (2.44) notwendig gewesen. So ist z. B. für die dreidimensional-optische Abbildung von absorbierenden Objekten die Beschränkung auf schwach absorbierende, dünne Objekte (2.28) notwendig gewesen.

In vielen, in der Praxis wichtigen Fällen kommt noch hinzu, dass die Objekte nicht ausschließlich Phasenobjekte, absorbierende Objekte oder transparente Selbstleuchter sind, sondern dass sie häufig mehrere dieser Eigenschaften besitzen. So wird ein biologisches Objekt mit einem fluoreszierenden Markierungsstoff normalerweise nicht nur ein Selbstleuchter sein, sondern auch einen spürbaren Phasenanteil und auch einen absorbierenden Anteil enthalten, die beide einen störenden Einfluss bei der Ermittlung der interessierenden räumlichen spezifischen Ausstrahlung des Selbstleuchters haben können. Auch der erfahrene Mikroskopbenutzer kann hier Schwierigkeiten bekommen.

Schließlich soll noch auf eine charakteristische Eigenschaft der dreidimensional-optischen Abbildung von stärker absorbierenden, dickeren Objekten hingewiesen werden. Diese charakteristische Eigenschaft liegt in einem Zusammenwirken von additiver Verknüpfung bei der Integration über Ω_{NA} und von multiplikativer Verknüpfung bei der Integration über r (2.26). Dieses Zusammenwirken erschwert normalerweise die Umrechnung von der Bestrahlungsstärke des dreidimensional-optischen Bildes auf die Absorption des Objekts. Dieses Zusammenwirken ist vermutlich eine der tieferen Ursachen für die Einschränkung auf schwach absorbierende, dünne Objekte (2.28) gewesen, da nur mit dieser Einschränkung aus der multiplikativen Verknüpfung bei der Integration über r eine additive werden konnte.

All dies setzt der Qualität der dreidimensional-optischen Abbildung und dem Rückschluss auf das Objekt gewisse Grenzen, die jedoch in vielen Fällen akzeptiert werden, wie die große Verbreitung des Lichtmikroskops zeigt.

Wie bereits angegeben, sind die Grundlagen zur geometrisch-optischen Näherung der dreidimensional-optischen Abbildung einschließlich ihrer graphischen Darstellung bekannt [2.8]. Lediglich die Berechnungen im Fall absorbierender Objekte und insbesondere die Umrechnung (siehe Kapitel 2.2.2.1.1.2 und 2.2.2.1.3.1 und Abb. 2.3) von der Bestrahlungsstärke des dreidimensional-optischen Bilds im experimentellen Aufbau in die Größen des Bilds aus der dreidimensional-optischen Abbildung im systemtheoretischen Modell sind bisher nicht bekannt geworden und deshalb neu, obwohl all dies nicht schwierig, eher nahe liegend und nur im Rahmen der Aufarbeitung (siehe auch Abb. 1.1) für das eigentliche Thema dieser Arbeit notwendig geworden ist.

2.2.2.2 Die wellenoptische Beschreibung

Im letzten Kapitel sind die Eigenschaften der optischen Abbildung durch das Lichtmikroskop mit Hilfe der geometrisch-optischen Näherung (2.20) berechnet worden. Mit dieser Näherung lassen sich vor allem verschiedene grundlegende Eigenschaften sehr anschaulich beschreiben. Außerdem kann mit ihr die Modellbildung sehr einfach durchgeführt werden.

Daran anknüpfend sollen jetzt die Eigenschaften der optischen Abbildung durch eine wellenoptische Beschreibung [2.9] genauer erfasst und berechnet werden.

2.2.2.2.1 Die Ausbreitung der Wellen durch den optischen Aufbau

Um dies zu erreichen, wird in den folgenden Kapiteln 2.2.2.2.1.1 bis 2.2.2.2.1.4 zunächst ganz allgemein und grundlegend die Ausbreitung elektromagnetischer Wellen von einer Quelle durch optische Elemente bis hin zur Bildentstehung beschrieben [2.9]. Zwar ist dies wissenschaftlich nichts neues, die Beschreibung soll jedoch das Verständnis dieser Arbeit erleichtern. Darauf aufbauend können dann im Kapitel 2.2.2.2.2 die Abbildungseigenschaften des gesamten Lichtmikroskops im Hellfelddurchlichtbetrieb oder im Aufbau für die Abbildung transparenter Selbstleuchter jeweils bei Modifikationen des Strahlengangs berechnet werden.

2.2.2.2.1.1 Die Beleuchtungseinrichtung

Erst rund 60 Jahre nachdem Abbe im Jahr 1873 seine grundlegenden Arbeiten über die zweidimensional-optische Abbildung [2.10] vorgelegt hatte, gelang van Cittert im Jahr 1934

[2.11] die wellenoptische Beschreibung der Beleuchtungseinrichtung des Lichtmikroskops. Gleich anschließend, vier Jahre später, formulierte Zernike [2.12] dasselbe mit einem anderen, einfacheren Ansatz. Zwar bereiteten von Laue [2.13] und Berek [2.14] mit ihren Arbeiten den Weg, aber erst die Arbeiten von van Cittert und Zernike haben zu einem Verständnis der Beleuchtungseinrichtung geführt, das auch heute noch die Grundlage für deren wellenoptische Beschreibung ist. Ausgehend von den von Zernike beschriebenen, grundlegenden Ansätzen, arbeitete Hopkins [2.15] die Ausbreitung elektromagnetischer Wellen durch den optischen Aufbau bis hin zur Bildentstehung aus. Er legte damit die Grundlage für das heutige Verständnis der optischen Abbildung im Hellfelddurchlichtbetrieb [2.16]. Beide, Zernike und Hopkins, verwenden das Huygens [2.17] [2.18] - Fresnel [2.19] Prinzip [2.20], das durch die Kirchhoffsche [2.21] [2.22] Beugungstheorie [2.23] auf eine fundierte mathematische Basis gestellt worden ist.

Die Skizze in der Abb. 2.11 zeigt einen relativ einfachen optischen Aufbau. Bereits mit diesem einfachen Aufbau lassen sich die Grundzüge einer wellenoptischen Beschreibung der Beleuchtungseinrichtung und der optischen Abbildung aufzeigen.

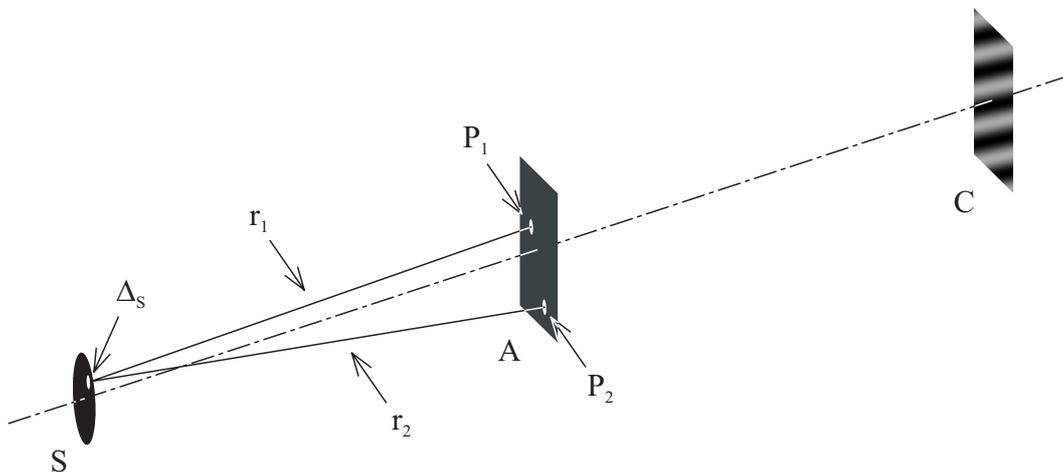


Abb. 2.11: Von Δ_S abgehende und bei A ankommende Wellen

Die geometrischen Entfernungen der optischen Elemente S, A und C zueinander sollen sehr viel größer sein, als die Abmessungen dieser Elemente selbst. Die optischen Elemente sind senkrecht zur optischen Achse, die mit einer Strich-Punkt-Linie eingezeichnet ist, angeordnet. Mit einer solchen Anordnung können z. B. die Auswirkungen von Ein- oder Ausfallwinkel auf die Berechnungen vernachlässigt werden.

Zur Vereinfachung sind alle Eigenschaften des optischen Aufbaus unabhängig von den Frequenzen der elektromagnetischen Wellen, die sich durch den optischen Aufbau ausbreiten. Da die Auswirkungen des optischen Aufbaus auf die Polarisation der elektromagnetischen Wellen nur gering sind, werden diese Auswirkungen hier vernachlässigt. Genauso wird die im Aufbau auftretende Streuung (siehe auch Kapitel 2.2.2.2.1.2) vernachlässigt. Die elektromagnetischen Wellen breiten sich zwischen S, A und C in einem homogenen, nicht absorbierenden Medium mit dem reellen Brechungsindex n_M aus.

Das Zeichen $\bar{}$ soll eine abgekürzte Schreibweise für die arithmetische Mittelung des Werts unter dem Balken über eine sehr lange Zeit sein.

In einem späteren Schritt der Berechnungen gehen von S homogen auf der ganzen Fläche und homogen in alle Richtungen unpolarisierte elektromagnetische Wellen in denjenigen Halbraum ab, der durch die Ebene in der sich S befindet und durch die Seite, in der A und C liegen, definiert ist. S besteht aus kleinen Teilen, deren Abmessungen sehr viel kleiner sind, als die Wellenlänge $\bar{\lambda}_M$ der von S abgehenden Wellen im Medium zwischen den optischen Elementen. Eines dieser Teile, das an einer beliebigen Stelle auf S liegt, ist als Δ_S in die Abb. 2.11 eingezeichnet.

Die hier auftretenden Wellen besitzen die reelle Frequenz $\bar{\nu}$. Die Differenz zwischen der hier auftretenden höchsten und niedrigsten Frequenz ist Δ_ν . Für die von S abgehenden elektromagnetischen Wellen ist

$$\frac{\Delta_\nu}{\bar{\nu}} \ll 1 \quad . \quad (2.51)$$

Sie werden deshalb (2.51) als quasimonochromatische Wellen bezeichnet. Im Medium zwischen den optischen Elementen breiten sich die Wellen mit der Geschwindigkeit

$$v_M = \frac{c}{n_M} \quad (2.52)$$

aus, wobei c die Lichtgeschwindigkeit im Vakuum ist. Mit der Ausbreitungsgeschwindigkeit v_M kann

$$\bar{\lambda}_M = \frac{v_M}{\bar{\nu}} \quad (2.53)$$

berechnet werden.

Für die jetzt folgenden Berechnungen gehen nur von Δ_S elektromagnetische Wellen ab. Sie kommen an dem nicht transparenten, schwach und diffus reflektierenden, ausgedehnten, ebenen Schirm A an. Der Schirm A besitzt zwei kleine Löcher, deren Mittelpunkte an beliebigen Punkten P_1 und P_2 der Ebene durch A liegen. Die Öffnungsdurchmesser dieser Löcher ist etwa gleich $\bar{\lambda}_M$. Zwischen dem Mittelpunkt von Δ_S und den Mittelpunkten von P_1 bzw. P_2 liegt die geometrische Entfernung r_1 bzw. r_2 .

Schon weil die von Δ_S abgehenden Wellen quasimonochromatisch sind, sind sie innerhalb eines kleinen Zeitabschnitts bei einem vernachlässigbaren Fehler stationär. Darüber hinaus sollen die von Δ_S abgegangenen und bei A ankommenden Wellen während derjenigen Zeit näherungsweise stationär sein, die sie brauchen, um die größte mögliche Entfernungsdifferenz

$r_1 - r_2$ zu durchlaufen. Anders ausgedrückt besitzen diese Wellen eine zeitliche Kohärenz, die gleich diesem Zeitabschnitt ist.

Ohne auf die physikalischen Einzelheiten beim Entstehungsprozess einer elektromagnetischen Welle in Δ_S näher einzugehen, sind mit den gerade festgelegten Kohärenzeigenschaften die Voraussetzungen für die kommenden Berechnungen gelegt worden.

Elektromagnetische Wellen, die an einem Punkt P im Raum ankommen, besitzen dort ein elektrisches Feld, dessen Richtung und Stärke statistische und oszillierende Eigenschaften [2.24] über t besitzt. Um die folgenden Berechnungen zu vereinfachen, wird die Ausbreitung der elektromagnetischen Wellen mit Hilfe analytischer Wellen beschrieben. deren skalare, komplexe Stärke $V(P, t)$ nicht mehr von der Richtung z. B. des elektrischen Felds der elektromagnetischen Wellen abhängig ist.

Falls die an einem Punkt im Raum ankommenden elektromagnetischen Wellen in einem Zeitabschnitt, in dem sie annähernd stationär sind, eine Stärke des elektrischen Felds besitzen, die nur in einer Richtung oszilliert, dann ist der Realteil der skalaren, komplexen Stärke $V(P, t)$ der analytischen Welle die Stärke dieses elektrischen Felds in dieser Richtung an diesem Punkt im Raum. In diesem Fall kann aus der Stärke des elektrischen Felds und mit (2.55) aus der Stärke der analytischen Welle die Leistung je Einheitsfläche an dem Punkt der Ebene berechnet werden, an dem die elektromagnetischen Wellen ankommen.

Auch falls die Richtung des elektrischen Felds der elektromagnetischen Wellen oszilliert, kann mit der Stärke der analytischen Wellen aufgrund ihrer Definition die Leistung je Einheitsfläche mit (2.55) berechnet werden.

Mit der Einführung der analytischen Wellen kann insbesondere die Berechnung der Leistung je Einheitsfläche im Sinne von (2.55) unter Berücksichtigung von Interferenzen durchgeführt werden, ohne dass die Richtung des elektrischen Feldes der elektromagnetischen Wellen explizit berücksichtigt werden muss. Die skalare komplexe Stärke $V(P, t)$ einer analytischen Welle wird im englischen mit „disturbance“ bezeichnet.

Eine analytische Welle, die von Δ_S abgegangen ist, besitzt, wenn sie bei P_1 ankommt, die Stärke

$$V\left(P_1, t - \frac{r_1}{v_M}\right) = A\left(t - \frac{r_1}{v_M}\right) \frac{e^{-i2\pi v(t - r_1/v_M)}}{r_1} \quad . \quad (2.54)$$

In (2.54) ist $A\left(t - \frac{r_1}{v_M}\right)$ die Amplitude und die Phase der Stärke des analytischen

Wellenfeldes auf einer geometrischen Einheitskugel um den Mittelpunkt von Δ_S zum Zeitpunkt t. In dem Zeitabschnitt, in dem die Welle bei einem vernachlässigbaren Fehler stationär ist, verändert sich auch A(t) nur in einem vernachlässigbaren Umfang.

Der Zähler im zweiten Faktor des Produkts drückt die oszillierende Eigenschaft der Stärke der analytischen Welle über der Zeit und die Phasenverschiebung durch die Verzögerung mit der

geometrischen Entfernung r_1 aus. Der Wert der Exponentialfunktion kann durch eine Ortskurve, die auf dem Einheitskreis in der komplexen Ebene liegt, geometrisch veranschaulicht werden. Da der Summand, der die Abhängigkeit von t ausdrückt, im Argument der Exponentialfunktion negativ ist, ändert sich der Winkel zwischen der Lage des Werts der Exponentialfunktion, dem Ursprung und der Lage des Werts Eins mit steigendem t in mathematisch positiver Richtung. Damit und aufgrund der Ausbreitungscharakteristik der Welle besitzt der Summand zur Beschreibung der Abhängigkeit von der Entfernung r_1 ein positives Vorzeichen. Der Nenner des zweiten Faktors beschreibt schließlich die Reduktion der Amplitude mit steigendem r_1 .

Wie gerade angesprochen, kann mit $V(P_1, t)$ die Intensität $I(P_1)$ am Punkt P_1 durch die von Δ_S abgegangene Welle angegeben werden [2.25]. Es ist

$$E(P_1) = I(P_1) = \frac{1}{Z} \left\langle \operatorname{Re}^2 \{V(P_1, t)\} \right\rangle = \frac{1}{Z} \frac{\langle V(P_1, t) \cdot V^*(P_1, t) \rangle}{2} \quad (2.55)$$

In (2.55) ist das Zeichen $\langle . \rangle$ (siehe Kapitel 7.4) die abgekürzte Schreibweise für eine Mittelung, über eine sehr lange Zeit, so dass sich der gemittelte Wert nicht mehr aufgrund der oszillierenden und statistischen Eigenschaften der Welle über t ändert. In dieser Arbeit wird mit dem Symbol $\operatorname{Re}\{ . \}$ die Bildung des Realteils aus dem Argument und mit $.^*$ der konjugiert komplexe Wert bezeichnet. Die positive, reelle Größe Z ist der Wellenwiderstand des Mediums zwischen den optischen Elementen. Der Wellenwiderstand von Vakuum beträgt 377Ω . Bei der Verwendung von Strahlungsfeldgrößen, wie dies im Kapitel 2.2.2.1 bei der geometrisch-optischen Näherung gemacht worden ist, wird üblicherweise der Buchstabe E für die Bestrahlungsstärke und der Buchstabe R für die spezifische Ausstrahlung verwendet. Für beides, also für die aus dem Halbraum kommende bzw. in den Halbraum abgehende Leistung je Einheitsfläche, wird bei wellenoptischen Beschreibungen meist der Buchstabe I für die Intensität verwendet. Damit ist in (2.55) die Intensität am Punkt P_1 gleich der Bestrahlungsstärke am Punkt P_1 , also $I(P_1) = E(P_1)$.

Um mit der Abb. 2.12 die Wellen, die von der ganzen Quelle S abgegangen sind, mit ihren örtlichen Kohärenzeigenschaften zu beschreiben, wenn sie bei A ankommen, wird zuerst nur eine von Δ_S abgegangene und bei A ankommende Welle mit einem Produkt aus zwei Gleichungen (2.54) für die beiden Punkte P_1 und P_2 charakterisiert. Dieses Produkt, das zunächst möglicherweise ein wenig willkürlich gewählt erscheint, ist ganz ähnlich formuliert wie das Produkt des eckig geklammerten Terms ganz rechts in (2.55). Es ist

$$\begin{aligned} \langle V(P_1, t) \cdot V^*(P_2, t) \rangle &= \left\langle A \left(t - \frac{r_1}{v_M} \right) \frac{e^{-i2\pi\bar{v}(t-r_1/v_M)}}{r_1} \cdot A^* \left(t - \frac{r_2}{v_M} \right) \frac{e^{i2\pi\bar{v}(t-r_2/v_M)}}{r_2} \right\rangle \\ &= \left\langle A \left(t - \frac{r_1}{v_M} \right) \cdot A^* \left(t - \frac{r_2}{v_M} \right) \right\rangle \frac{e^{i2\pi\bar{v}(r_1-r_2)/v_M}}{r_1 r_2} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
&= \left\langle A(t) \cdot A^* \left(t - \frac{r_2 - r_1}{v_M} \right) \right\rangle \frac{e^{i2\pi v(r_1 - r_2)/v_M}}{r_1 r_2} \\
&= \left\langle A(t) \cdot A^*(t) \right\rangle \frac{e^{i \frac{2\pi}{\lambda_M} (r_1 - r_2)}}{r_1 r_2} \quad . \quad (2.56)
\end{aligned}$$

Im Schritt von der ersten Zeile in (2.56) zur zweiten ist beim Zusammenfassen der beiden Terme mit den Exponentialfunktionen die cosinusförmige Abhängigkeit von der Zeit entfallen. Dies ist für die Formulierung der Gleichung (2.56) charakteristisch. Bei der Umformung von der zweiten zur dritten Zeile ist nur der zeitliche Ursprung verschoben worden. Aufgrund der Stationarität der Welle während des Zeitabschnitts, in der sie die Entfernungsdifferenz $r_2 - r_1$ durchläuft und damit auch aufgrund der Konstanz von $A^*(t)$ in diesem Zeitabschnitt, lässt sich die Umformung von der dritten zur vierten Zeile durchführen.

Ein Vergleich des eckig geklammerten Terms $\langle V(P_1, t) \cdot V^*(P_1, t) \rangle$ in (2.55) mit dem eckig geklammerten Term auf der linken Seite von (2.56) zeigt, dass im Gegensatz zum Term in (2.55) der in (2.56) aufgrund der Exponentialfunktion komplexe Werte annehmen kann. Dies ist für die Formulierung von (2.56) charakteristisch. Wenn die Punkte P_1 und P_2 zusammenfallen und wenn dadurch $r_1 = r_2$ wird, dann wird der Wert der Exponentialfunktion in (2.56) zu Eins und aus dem eckig geklammerten Term auf der linken Seite von (2.56) wird der eckig geklammerte Term $\langle V(P_1, t) \cdot V^*(P_1, t) \rangle$ in (2.55).

Es bleibt festzuhalten, dass der komplexe Wert des eckig geklammerten Terms auf der linken Seite in (2.56) im Wesentlichen nur vom Wert $\langle A(t) \cdot A^*(t) \rangle$ und den optischen Weglängen abhängig ist und dass er keine Abhängigkeit mehr von den oszillierenden und statistischen Eigenschaften der Welle besitzt.

Ein Teil der von Δ_S abgegangenen Welle gelangt durch die Löcher bei P_1 und P_2 hindurch und kommt schließlich am Schirm C an. Der Schirm C ist nicht transparent, diffus reflektierend und eben. Der durch die Löcher gelangte Teil der Welle erzeugt auf C ein cosinusförmiges Bild, das den komplexen Wert des eckig geklammerten Terms auf der linken Seite in (2.56) veranschaulicht. Da der in der Abb. 2.11 skizzierte optische Aufbau mit seinem Bild auf C letztlich das bekannte Youngsche Experiment [2.26] ist, kann auf die Beschreibung der Einzelheiten des cosinusförmigen Bildes auf C hier verzichtet werden.

Der in der Abb. 2.11 skizzierte optische Aufbau wird nun modifiziert. Jetzt gehen, wie die Skizze in der Abb. 2.12 zeigt, von der gesamten Quelle S Wellen ab und zwischen dem beliebig auf S angeordneten Punkt P und den beliebig auf A angeordneten Punkten Q_1 bzw. Q_2 liegen die geometrischen Entfernungen r_1 bzw. r_2 .

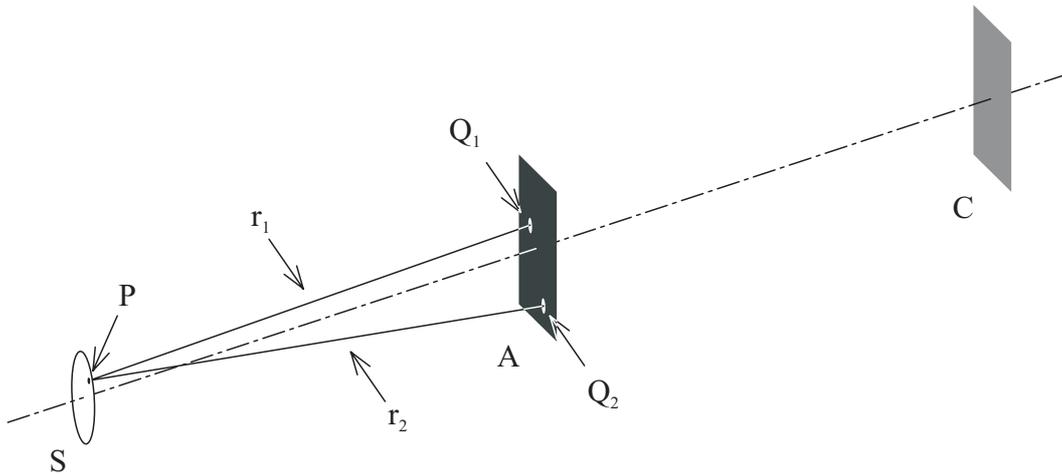


Abb. 2.12: Von S abgehende und bei A ankommende Wellen

Um alle von S abgegangenen und an den Punkten Q_1 und Q_2 ankommenden Wellen zu erfassen, wird die Gleichung (2.56) zu

$$\begin{aligned}
 J(Q_1, Q_2) &= \frac{1}{2\pi} 2Z \int_S I(P) \frac{e^{i \frac{2\pi}{\lambda_M} (r_1 - r_2)}}{r_1 r_2} dP \\
 &\approx \frac{1}{2\pi} 2Z \frac{1}{r_1^2} \int_S I(P) e^{i \frac{2\pi}{\lambda_M} (r_1 - r_2)} dP \quad (2.57)
 \end{aligned}$$

umgeformt. Statt des Werts $\langle A(t) \cdot A^*(t) \rangle$ für die Welle, die von Δ_S in S abgegangen ist, wird für (2.57) die Intensität $I(P)$ am Punkt P auf S verwendet.

In der ersten Zeile von (2.57) stehen vor dem Integral zwei Faktoren. Der eine, nämlich $2Z$, ist aus (2.55) bekannt. Der Quotient $1/(2\pi)$ ergibt sich daraus, dass die Wellen von der Quelle S homogen in den Halbraum abgehen. Zur Formulierung der zweiten Zeile kann aufgrund der Größenverhältnisse im optischen Aufbau bei einem vernachlässigbaren Fehler das Produkt $r_1 \cdot r_2$ durch r_1^2 ersetzt und vor das Integral gestellt werden.

Die komplexe Funktion $J(Q_1, Q_2)$ charakterisiert nun die von der gesamten Quelle S abgegangenen und an den Punkten Q_1 und Q_2 auf A ankommenden Wellen. Sie wird im Englischen „mutual intensity“ und im Deutschen Kohärenzfunktion genannt. Wie die folgenden Kapitel zeigen werden, spielt diese Kohärenzfunktion eine wichtige Rolle bei der wellenoptischen Beschreibung der Ausbreitung der elektromagnetischen Wellen durch das Lichtmikroskop. Mit solchen Kohärenzfunktionen lässt sich auch das cosinusförmige Bild auf C berechnen, das in dem, in der Abb. 2.11 gezeigten, optischen Aufbau entsteht.

skizzierten optischen Aufbau bilden die optischen Elemente S und L eine Beleuchtungseinrichtung für A.

Viele reale Quellen geben Wellen ab, deren Amplitude stark vom Ort abhängt, von dem die Welle abgegangen ist. Dagegen ist die Amplitude einer solchen Welle nur in einem geringen Umfang vom Raumwinkel abhängig. Deshalb werden Beleuchtungseinrichtungen häufig so konstruiert, dass die Quelle im Objektraum nach ∞ abgebildet wird. Eine solche Beleuchtungseinrichtung wird „Köhlersche Beleuchtung“ [2.27] [2.28] genannt. Dabei „verdichtet“ der Kondensor die Wellen, um das Objekt optimal zu beleuchten. So ist z. B. die in der Abb. 2.13 gezeigte Beleuchtungseinrichtung als Köhlersche Beleuchtung aufgebaut. Bei ihr ist L die Linse des Kondensors. Wie die Abb. 2.4 zeigt, besitzt in dieser Arbeit auch die Beleuchtungseinrichtung des Lichtmikroskops eine Köhlersche Beleuchtung.

Bereits eine geometrische Analyse der in der Abb. 2.13 skizzierten Beleuchtungseinrichtung zeigt Folgendes:

- Alle optischen Wege bei der optischen Abbildung von P durch L nach ∞ verlaufen zwischen L und A parallel.
- Der Winkel, unter dem die beiden optischen Wege mit den optischen Weglängen r_1 und r_2 auf A auftreffen, hängt nur vom Abstand des Punktes P von der optischen Achse ab. Anders ausgedrückt ist die Numerische Apertur bei der Beleuchtung von A eine Funktion der Größe der Fläche von S.
- Der Betrag der Differenz der optischen Weglängen r_1 und r_2 ist proportional zur Entfernung des Punktes Q_1 von Q_2 . Dabei ist bei den hier vorliegenden kleinen Winkeln die Entfernung von P zur optischen Achse bzw. der Winkel, unter dem diese beiden optischen Wege A erreichen, ein Proportionalitätsfaktor.
- Der Betrag von $r_1 - r_2$ ist ferner innerhalb eines gewissen Arbeitsbereichs unabhängig von der Entfernung zwischen der Beleuchtungseinrichtung und A.

Die mathematische Analyse der Gleichung (2.58) zeigt, dass die Kohärenzfunktion $J(Q_1, Q_2)$ auch unter Verwendung einer Besselschen Funktion erster Ordnung und erster Gattung [2.29] ausgedrückt werden kann [2.30]. Dies ist für die Gleichung (2.58) charakteristisch. Die gleiche Kohärenzfunktion $J(Q_1, Q_2)$ tritt auch bei einer kritischen Beleuchtung auf, also wenn bei einem optischen Aufbau S direkt auf den A abgebildet wird, solange nur die Apertur der Beleuchtungseinrichtung für die beleuchtete Ebene gleich bleibt [2.31]. Dies ergibt sich im Übrigen direkt aus dem van Cittert-Zernike-Theorem.

Bereits Zernike [2.12] hat gezeigt, dass die durch eine Beleuchtungseinrichtung in der Objektebene erzeugte Kohärenzfunktion, abgesehen von der Entfernung der Punkte im Objekt, nur von der Apertur der Beleuchtungseinrichtung abhängig ist. Dabei spielen Phasenaberrationen der Wellenfront z. B. durch eine schlecht korrigierte Beleuchtungsoptik genauso wie eine Defokussierung der Beleuchtungseinrichtung eine vernachlässigbare Rolle.

Dies zeigt auch die praktische Erfahrung. Der Kondensor einer Beleuchtungseinrichtung ist üblicherweise wesentlich einfacher und mit weniger Linsen aufgebaut als ein normales Mikroskopobjektiv. Dabei wird durchaus auch ein Kondensor für Ölimmersion eingesetzt, um die Apertur der Beleuchtungseinrichtung zu erhöhen. Außerdem wird zwar der Abstand

zwischen Mikroskopobjektiv und Objekt mit Hilfe der Fokussiereinrichtung genau eingestellt, um eine optimale optische Abbildung der interessierenden Objektebene zu erhalten. Dagegen wird der Abstand zwischen Kondensator und Objekt nur selten nachjustiert, da eine Defokussierung des Kondensators, z. B. weil eine andere Objektebene betrachtet oder ein anderes Objekt untersucht wird, praktisch keine Auswirkungen auf die zweidimensional-optische Abbildung hat. Bei den meisten Mikroskopen kommt noch hinzu, dass bei einer Betätigung der Fokussiereinrichtung nicht nur die Lage des Objekts in axialer Richtung verändert wird, sondern dass parallel dazu auch der Kondensator der Beleuchtungseinrichtung bewegt wird, so dass sich der Abstand zwischen Kondensator und Objekt nicht verändert.

Schließlich soll noch darauf hingewiesen werden, dass die Beweise und Berechnungen zu den gerade beschriebenen Eigenschaften der in der Abb. 2.13 gezeigten Beleuchtungseinrichtung nicht nur in den eingefügten Literaturangaben zu finden sind. Sie lassen sich auch mit den in den folgenden Kapiteln insbesondere im Kapitel 2.2.2.2.1.3 dargestellten Zusammenhängen berechnen und nachvollziehen. Auf diese Weise kann auch der Wert C in (2.58) berechnet werden.

2.2.2.2.1.2 Die Transmissionsfunktion von optischen Elementen

In diesem Kapitel wird der in der Abb. 2.13 skizzierte optische Aufbau so modifiziert, dass in ihm nur noch Wellen von einer nicht eingezeichnete Quelle, z. B. von der linken Seite, bei einem optischen Element A ankommen, das in einer Ebene senkrecht zur optischen Achse liegt. Dazu die Skizze in der Abb. 2.14.

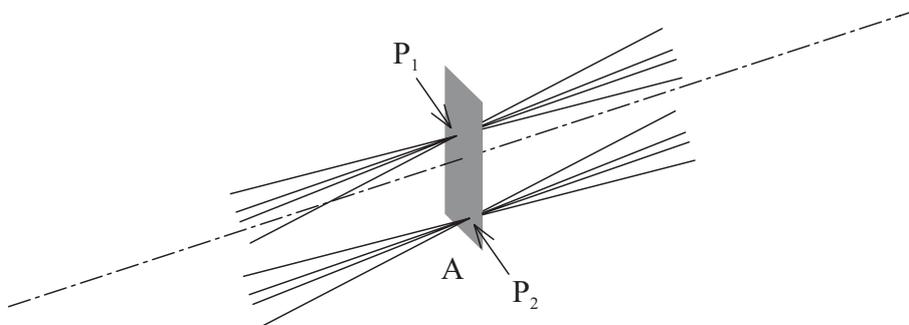


Abb. 2.14: Skizze zur Transmissionsfunktion

Die Skizze zeigt zunächst das optische Element A [2.32]. Es besteht aus einer Schicht, die eine über dem optischen Element A konstante geometrischen Dicke Δ_A , in der Größenordnung von $\bar{\lambda}_M$ besitzt. Die Eigenschaften dieser Schicht sollen unabhängig von den auftretenden Wellenlängen sein und sie sollen sich auf den optischen Wegen durch die Schicht nicht ändern. Die Eigenschaften der Schicht können sich jedoch langsam im Vergleich zu den auftretenden Wellenlängen und abhängig von der Lage auf der Ebene, in der A liegt, ändern, ohne dass die Voraussetzungen zur Anwendbarkeit der Kirchhoffschen Beugungstheorie (siehe Kapitel 2.2.2.2.1.2) verletzt werden. Die Punkte P_1 und P_2 liegen an beliebigen Stellen auf der Ebene durch A .

Mit durchgezogenen Linien sind schließlich verschiedene optische Wege an den Punkten P_1 und P_2 durch A veranschaulicht. Wie die Abb. zeigt, liegen diese Wege annähernd parallel zur optischen Achse. Im Allgemeinen werden die durch A laufenden Wellen durch die Schicht verzögert und in ihrer Amplitude reduziert.

So ergibt sich eine von der Lage des Punkts P auf der Ebene abhängige Transmissionsfunktion [2.33]

$$\begin{aligned} F(P) &= \frac{V_1(P, t)}{V_0(P, t)} = \exp\left(i \frac{2\pi}{\lambda_0} \Delta_A n_A(P)\right) \\ &= \exp\left(i \frac{2\pi}{\lambda_0} \Delta_A n_{AR}(P)\right) \cdot \exp\left(-\frac{2\pi}{\lambda_0} \Delta_A n_{AI}(P)\right) . \end{aligned} \quad (2.59)$$

In (2.59) ist $\bar{\lambda}_0$ die arithmetisch mittlere Wellenlänge im Vakuum und $n_{AR}(P)$ bzw. $n_{AI}(P)$ der Realteil bzw. der Imaginärteil des komplexen Brechungsindex $n_A(P)$ der Schicht als Funktion von P. Die Transmissionsfunktion gibt das Verhältnis der Stärke $V_1(P, t)$ der nach Durchlaufen der Schicht abgehenden Wellen zu der Stärke $V_0(P, t)$ der vor Durchlaufen der Schicht ankommenden Wellen an. Falls die Schicht des optischen Elements A bei P keinen Einfluss auf die Wellenausbreitung hat, wird $F(P)$ zu 1.

Wenn die Kohärenzfunktion

$$J_0(P_1, P_2) = \left\langle V_0(P_1, t) \cdot V_0^*(P_2, t) \right\rangle \quad (2.60)$$

für die an den Punkten P_1 und P_2 ankommenden Wellen bekannt ist, dann lässt sich mit (2.59) auch die dazugehörige Kohärenzfunktion

$$\begin{aligned} J_1(P_1, P_2) &= \left\langle V_1(P_1, t) \cdot V_1^*(P_2, t) \right\rangle \\ &= J_0(P_1, P_2) \cdot F(P_1) F^*(P_2) \end{aligned} \quad (2.61)$$

für die Wellen angeben, die nach Durchlaufen der Schicht des optischen Elements A von A abgehen [2.34]. Ohne Beugung zu berücksichtigen, lässt sich mit diesem Ansatz die Ausbreitung von Wellen durch Schichten berechnen. Dabei können diese Schichten stark beugend sein und auch die Form von Blenden annehmen.

Wenn der zweite Faktor in der zweiten Zeile von (2.59), der zur Berechnung der Amplitudenreduktion der Wellen durch die Schicht verwendet wird, wegen (2.55) zur Ermittlung der Leistungsreduktion quadriert wird, dann zeigt sich der Zusammenhang in (2.35) zwischen dem Imaginärteil des komplexen Brechungsindex und dem Extinktionsmodul aus einer grundsätzlicheren Perspektive. Vor diesem Hintergrund wird auch

klar, dass die Transmissionsfunktion in (2.59) nicht mit der Transmission, wie sie z. B. in (2.24) verwendet wird, verwechselt werden darf.

2.2.2.2.1.3 Die Ausbreitung zwischen den optischen Elementen

Um die Ausbreitung der elektromagnetischen Wellen zwischen den optischen Elementen zu beschreiben, wird der in der Abb. 2.14 skizzierte optische Aufbau modifiziert. Jetzt sind A und das in einer Ebene senkrecht zur optischen Achse neu eingefügte optische Element C optische Elemente wie Linsen, Schirme, Blenden usw.. Aufgrund der Anordnung des optischen Aufbaus soll die bei A auftretende Beugung nicht vernachlässigbar sein. Eine in diesem Rahmen mögliche Variante des optischen Aufbaus ist in der Abb. 2.15 skizziert. Bei dieser Variante ist das optische Element A eine Blende und das optische Element C ein nicht transparenter, diffus reflektierender, ausgedehnter, ebener Schirm. Zwischen P_1 auf A und Q_1 auf C liegt die geometrische Entfernung r_1 , zwischen P_2 und Q_2 die geometrische Entfernung r_2 .

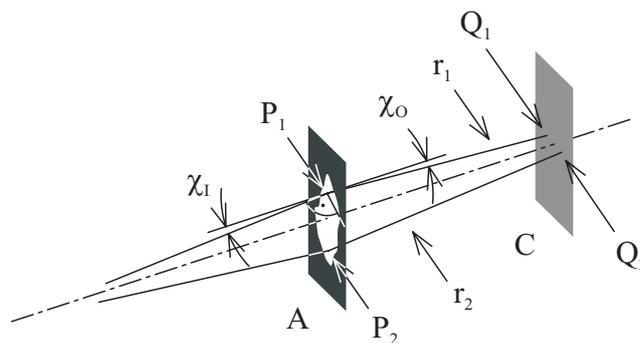


Abb. 2.15: Die Ausbreitung zwischen den optischen Elementen

Bei P_1 tritt Beugung auf. Sie führt [2.35] zu einer Multiplikation der Stärke der bei P_1 ankommenden analytischen Welle mit einem Neigungsfaktor

$$K(\chi_1, \chi_0) = -\frac{i}{2\lambda_M} (\cos(\chi_1) + \cos(\chi_0)) \quad (2.62)$$

aus der Fresnel-Kirchhoffschen Beugungsformel. Der Neigungsfaktor ist zum einen eine Funktion des immer positiven Winkels χ_1 zwischen dem hier eingezeichneten optischen Weg der bei P_1 ankommenden Welle und der zur Ebene in der A liegt senkrecht durch P_1 . Zum anderen ist der Neigungsfaktor in der selben Weise auch eine Funktion des Winkels χ_0 für den optischen Weg auf dem die Welle von P_1 abgeht. In (2.62) ist $\bar{\lambda}_M$ wieder die arithmetisch über eine sehr lange Zeit gemittelte Wellenlänge im Medium zwischen den optischen Elementen.

Da nach den eingangs festgelegten Abmessungen im optischen Aufbau nur kleine Winkel χ_I und χ_O auftreten, soll in den folgenden Berechnungen immer der Faktor

$$K(\chi_I, \chi_O) \approx K(0,0) = -i/\bar{\lambda}_M \quad | \quad \chi_I \approx 0 \wedge \chi_O \approx 0 \quad (2.63)$$

als Neigungsfaktor verwendet werden (siehe auch [2.36]). Aus (2.54) ergibt sich so mit der Entfernung r zwischen einem Punkt P auf A und einem Punkt Q auf C der von t unabhängige Faktor

$$L(r) = \frac{-i}{\bar{\lambda}_M} \cdot \frac{e^{i\frac{2\pi}{\bar{\lambda}_M}r}}{r} \quad (2.64)$$

Falls die Stärke einer am Punkt P ankommenden Welle bekannt ist, lässt sich mit diesem Faktor die Beugung bei P und das Durchlaufen der Entfernung r beschreiben, um schließlich die Stärke der am Punkt Q ankommenden Welle anzugeben.

Aus der Kohärenzfunktion $J_A(P_1, P_2)$ der bei A ankommenden Wellen lässt sich mit dem Faktor $L(r)$ aus (2.64), der Anwendung des Huygens - Fresnel Prinzips und dem aus (2.61) bekannten Ansatz die Kohärenzfunktion

$$\begin{aligned} J_C(Q_1, Q_2) &= \iint_{AA} J_A(P_1, P_2) \cdot L(r_1) L^*(r_2) dP_1 dP_2 \\ &= \iint_{AA} J_A(P_1, P_2) \frac{-i}{\bar{\lambda}_M} \frac{e^{i\frac{2\pi}{\bar{\lambda}_M}r_1}}{r_1} \cdot \frac{i}{\bar{\lambda}_M} \frac{e^{-i\frac{2\pi}{\bar{\lambda}_M}r_2}}{r_2} dP_1 dP_2 \\ &= \frac{1}{\bar{\lambda}_M^2} \iint_{AA} J_A(P_1, P_2) \frac{e^{i\frac{2\pi}{\bar{\lambda}_M}(r_1-r_2)}}{r_1 r_2} dP_1 dP_2 \\ &\approx \frac{1}{\bar{\lambda}_M^2 r_1^2} \iint_{AA} J_A(P_1, P_2) e^{i\frac{2\pi}{\bar{\lambda}_M}(r_1-r_2)} dP_1 dP_2 \end{aligned} \quad (2.65)$$

der bei C ankommenden Wellen angeben. Da aufgrund der eingangs festgelegten Abmessungen im optischen Aufbau für die Berechnung des Doppelintegrals bei einem vernachlässigbaren Fehler der Faktor $1/(r_1 r_2)$ wieder konstant ist, lässt er sich bei der letzten Umformung näherungsweise als $1/r_1^2$ vor das Doppelintegral stellen.

Die in (2.65) formulierte Beziehung besitzt grundlegende Bedeutung. Durch Schachteln (siehe z. B. (2.91)) solcher Gleichungen und (2.61) kann ganz allgemein die Ausbreitung von

Wellen durch einen optischen Aufbau unter Verwendung der Kirchhoffschen Beugungstheorie, also unter Berücksichtigung von Interferenzen und Beugung, berechnet werden.

2.2.2.2.1.4 Die Umwandlung von Leistung in einem optischen Element

Um schließlich die Umwandlung in einem optischen Element von in elektromagnetischen Wellen transportierter Leistung in Wärme physikalisch zu beschreiben, wird der optische Aufbau in der Abb. 2.15 noch einmal modifiziert (siehe Abb. 2.16). Das optische Element C ist jetzt z. B. eine Photoplatte oder ein Bildsensor, also optisch ein schwach transparenter, meist schwach und diffus reflektierender, ausgedehnter, ebener Schirm. Auf der Ebene, in der C liegt, befindet sich der Punkt Q. Ferner ist r_1 bzw. r_2 die geometrische Entfernung zwischen P_1 bzw. P_2 und Q.

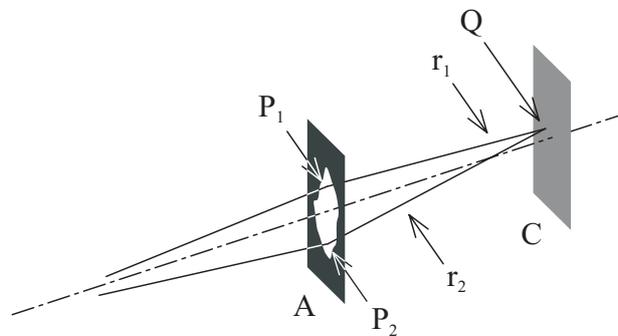


Abb. 2.16: Die Umwandlung von Leistung in einem optischen Element

Jetzt kann aus (2.65) mit (2.55) die Intensität

$$I(Q) = \frac{1}{2Z} J_C(Q, Q) = \frac{1}{2Z} \frac{1}{\lambda_M^2 r_1^2} \iint_{A A} J_A(P_1, P_2) e^{i \frac{2\pi}{\lambda_M} (r_1 - r_2)} dP_1 dP_2 \quad (2.66)$$

der bei C ankommenden Wellen berechnet werden. Sie ist im Allgemeinen von der Lage des Punktes Q auf der Ebene, in der C liegt, abhängig. Falls C eine Photoplatte ist, wird die Intensität in der Photoplatte umgesetzt und führt unter Beachtung der Belichtungszeit zu einer Schwärzung der Photoplatte.

Die Gleichung (2.66) enthält keinen Faktor $1/(4\pi)$ oder $1/(2\pi)$ als Ergebnis der Raumgeometrie, wie er bei der Verwendung von Strahlungsfeldgrößen auftritt. Da hier die Ausbreitung von Wellen zwischen A und C beschrieben wird, tritt ein solcher Faktor bereits vom Ansatz her nicht auf. Falls im Gegensatz zu den eingangs festgelegten Abmessungen im optischen Aufbau große Winkel auftreten, muss höchstens die Abhängigkeit des Neigungsfaktors $K(\chi_I, \chi_O)$ von den Winkeln χ_I, χ_O (2.63) berücksichtigt werden.

2.2.2.2.2 Die Berechnung der Punktantworten und Übertragungsfunktionen

Im Kapitel 2.2.2.2.1 wurden die grundlegenden Elemente für die wellenoptische Beschreibung der Ausbreitung von elektromagnetischen Wellen durch das Lichtmikroskop dargestellt. Mit diesen grundlegenden Elementen können jetzt die Punktantworten und die Übertragungsfunktionen der dreidimensional-optischen Abbildung berechnet werden [2.9] [2.37]. Dabei können die Berechnungen für absorbierende Objekte und Phasenobjekte im Hellfelddurchlichtbetrieb zusammengefasst werden, wie die folgenden Berechnungen zeigen werden.

2.2.2.2.2.1 Absorbierende Objekte und Phasenobjekte

Absorbierende Objekte und Phasenobjekte können durch einen von den Koordinaten x , y und z des Objektraums abhängigen, komplexen Brechungsindex $n(x, y, z)$ beschreiben (2.15) werden, der hier die gleichen Eigenschaften besitzen soll, wie sie in Kapitel 2.2.1 beschrieben worden sind. Damit ist hier die räumliche Intensität des Objekts

$$r(x, y, z) = 0 \quad . \quad (2.67)$$

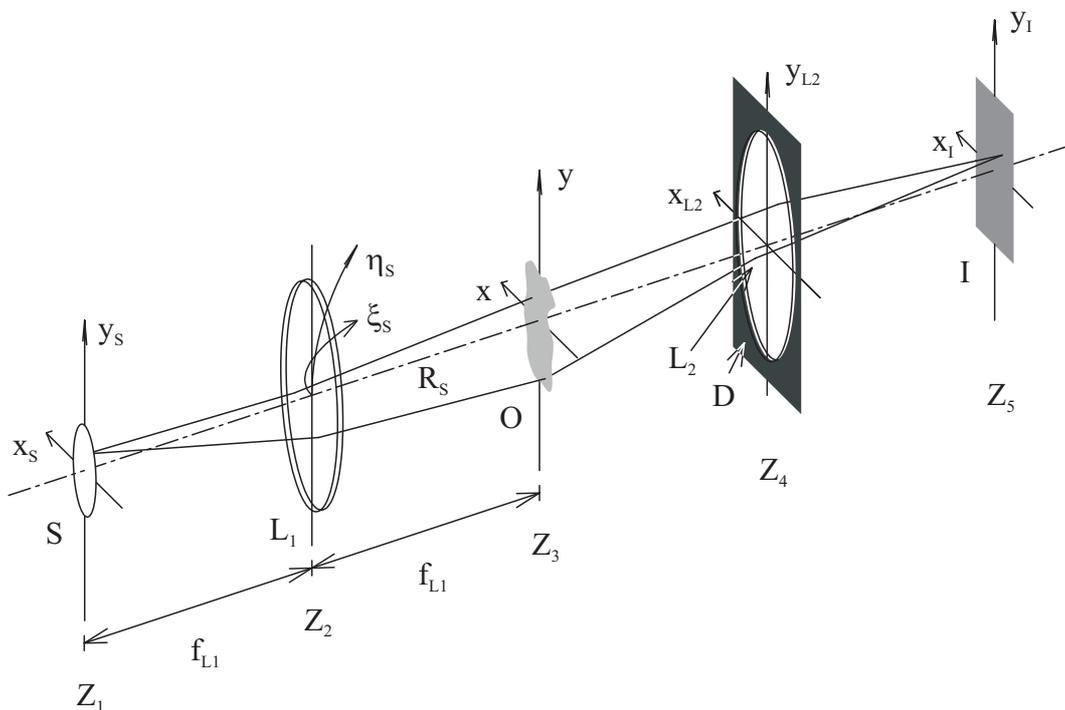


Abb. 2.17: Prinzipskizze der dreidimensional-optischen Abbildung

Aus der in der Abb. 2.4 gezeigten Skizze der optischen Abbildung ist für die folgenden Berechnungen die in der Abb. 2.17 gezeigte Prinzipskizze angefertigt worden. Dabei lassen sich die in der Abb. 2.4 gezeigten optischen Abbildungen durch das Mikroskopobjektiv $L_3 D_3$

und durch das Mikroskopobjektiv zur Nachvergrößerung L_4 D_4 zusammenfassen [2.38] zu einer optischen Abbildung durch die Linse L_2 mit der Blende D , wie dies in der Prinzipskizze der Abb. 2.17 gezeigt ist.

Zur Vereinfachung sind die Abmessungen der in der Abb. 2.17 skizzierten optischen Elemente S , L_1 , O , L_2 , D und auch I sehr viel kleiner als die geometrischen Entfernungen dieser optischen Elemente zueinander. Die in der Abb. skizzierten Ebenen Z_1 bis Z_5 sind senkrecht zur optischen Achse, die wieder mit einer Strich-Punkt-Linie eingezeichnet ist, angeordnet. Zwischen den optischen Elementen befindet sich ein Medium mit dem Brechungsindex

$$n_M = 1 \quad . \quad (2.68)$$

Alle Eigenschaften des in der Prinzipskizze gezeigten optischen Aufbaus sind wieder unabhängig von den auftretenden Frequenzen der elektromagnetischen Wellen. Da die Auswirkungen des optischen Aufbaus auf die Polarisation der elektromagnetischen Wellen gering sind, können sie wieder vernachlässigt werden, genauso wie die durch Streuung hervorgerufenen Fehler. Nur die Streuung im Objekt O muss separat im Kapitel 2.2.2.2.1.2 untersucht werden.

2.2.2.2.1.1 Die Beleuchtungseinrichtung

Die Prinzipskizze zeigt links, zentrisch zur optischen Achse, die Quelle S in der Ebene Z_1 . Diese Ebene Z_1 besitzt ein Koordinatensystem mit den reellen Koordinaten x_S und y_S , dessen Ursprung auf der optischen Achse liegt. Von der Quelle S gehen normalerweise homogen von der ganzen, kreisförmigen Fläche, jedoch immer homogen in alle Richtungen Wellen in denjenigen Halbraum ab, der durch die Ebene in der sich S befindet abgegrenzt ist und in dem sich der übrige optische Aufbau befindet.

Die von S abgehenden elektromagnetischen Wellen sind wieder quasimonochromatisch (2.51) und unpolarisiert. Außerdem besitzen sie wieder die arithmetisch über eine sehr lange Zeit gemittelte, reelle Frequenz $\bar{\nu}$ im sichtbaren Bereich. Das Zeichen $\bar{}$ ist dabei wieder die abgekürzte Schreibweise für die arithmetische Mittelung des Werts unter dem Balken über eine sehr lange Zeit. Bei (2.68) kann mit $\bar{\nu}$ und der Lichtgeschwindigkeit c die arithmetisch über der Zeit gemittelte Wellenlänge

$$\bar{\lambda} = \frac{c}{\bar{\nu}} \quad (2.69)$$

der von S abgegangenen Wellen im Medium zwischen den optischen Elementen berechnet werden.

Die von S abgegangenen Wellen laufen durch die Linse L_1 , die zentrisch zur optischen Achse in der Ebene Z_2 liegt, zur Ebene Z_3 . Dabei ist der Abstand zwischen Z_2 und Z_1 genauso wie

der zwischen Z_3 und Z_2 gleich der Brennweite f_{L1} der Linse L_1 . Dies führt dazu, dass die Quelle S durch die Linse L_1 nach ∞ abgebildet wird. Von einer Welle, die von einer Stelle auf S abgeht, sind zwei optische Wege in die Abb. 2.17 eingezeichnet. Sie laufen von S durch L_1 nach Z_3 .

Die optischen Elemente S und die als Kondensorlinse eingesetzte Linse L_1 bilden eine Köhlersche Beleuchtung der Objektebene Z_3 . Ein Vergleich mit der in der Abb. 2.4 skizzierten Beleuchtungseinrichtung zeigt, dass die hier vorliegende Köhlersche Beleuchtung der im experimentellen Aufbau dieser Arbeit entspricht.

Die Gleichung (2.58) gibt die Kohärenzfunktion für die Beleuchtung der Objektebene als Funktion der beiden in der Objektebene liegenden Punkte Q_1 und Q_2 an. Die Gleichung zeigt, dass die Kohärenzfunktion vom Abstand dieser beiden Punkte und nicht von ihrer absoluten Lage auf der Objektebene abhängig ist. Dies ist ja auch ein Ziel bei der Konstruktion von Beleuchtungseinrichtungen. Deshalb lassen sich die in der Abb. 2.17 von S abgegangenen Wellen, wenn sie bei Z_3 ankommen, durch eine komplexe Kohärenzfunktion $J_S(x_2 - x_1, y_2 - y_1)$ der Beleuchtungseinrichtung beschreiben, die von den beiden Differenzen $x_2 - x_1$ und $y_2 - y_1$ abhängig ist. Dabei sind x_1, y_1 und x_2, y_2 die Koordinaten des Objektraums von zwei Punkten auf der Ebene Z_3 , für die diese Kohärenzfunktion angegeben ist. Diese beiden Punkte sind innerhalb des Arbeitsbereichs der Beleuchtungseinrichtung beliebig auf Z_3 angeordnet.

Die Kohärenzfunktion $J_S(x_2 - x_1, y_2 - y_1)$ kann unter Verwendung von

$$\Delta_x = x_2 - x_1 \quad \text{und} \quad \Delta_y = y_2 - y_1 \quad (2.70)$$

mit

$$J_S(f, g) = \int_{-\infty}^{+\infty} \int_{-\infty}^{+\infty} J_S(\Delta_x, \Delta_y) e^{i2\pi(f\Delta_x + g\Delta_y)} d\Delta_x d\Delta_y \quad (2.71)$$

zunächst ganz formal in den f, g - Bereich transformiert werden. Dabei sind f und g reelle Ortsfrequenzen und $J_S(f, g)$ ist die Kohärenzfunktion der Beleuchtungseinrichtung im f, g - Bereich, die reell und positiv ist, wie die Gleichung (2.73) zeigen wird.

Wenn, wie hier, die Abmessungen der optischen Elemente sehr viel kleiner sind als die geometrischen Entfernungen dieser Elemente zueinander, dann können Näherungen zur einfacheren mathematischen Beschreibung der Abmessungen im optischen Aufbau verwendet werden [2.39]. Man spricht jetzt von Fraunhoferscher Beugung. Mit diesen Näherungen kann die Differenz $\sqrt{(r_1 - r_2)}/c$ aus (2.58) in die Summe $(f\Delta_x + g\Delta_y)$ in (2.71) umgeformt werden. Außerdem lassen sich mit diesen Näherungen und bei (2.68) die Ortsfrequenzen f und g mit

$$\frac{x_S}{f_{L1}} = \tan\left(\frac{\xi_S}{R_S}\right) \approx \frac{\xi_S}{R_S} \approx \sin\left(\frac{\xi_S}{R_S}\right) = \bar{\lambda}f \quad \text{und} \quad (2.72a)$$

$$\frac{y_S}{f_{L1}} = \tan\left(\frac{\eta_S}{R_S}\right) \approx \frac{\eta_S}{R_S} \approx \sin\left(\frac{\eta_S}{R_S}\right) = \bar{\lambda}g \quad (2.72b)$$

umrechnen und zwar zunächst in die Entfernungen ξ_S und η_S auf einer Referenzkugel mit dem Radius R_S um den Schnittpunkt der Ebene Z_3 mit der optischen Achse. Da aufgrund der eingangs festgelegten Abmessungen im optischen Aufbau nur kleine Winkel ξ_S/R_S bzw. η_S/R_S auftreten, können die Entfernungen auf der Referenzkugel näherungsweise sehr einfach in die Koordinaten x_S und y_S der Austrittspupille der Beleuchtungseinrichtung umgerechnet werden. Dies veranschaulicht im Übrigen auch die Abb. 2.17.

So ergibt sich mit (2.72a) und (2.72b) die Gleichung

$$J_S\left(\frac{x_S}{\bar{\lambda}f_{L1}}, \frac{y_S}{\bar{\lambda}f_{L1}}\right) = G_S(x_S, y_S)I_S \quad (2.73)$$

Sie gibt die Beziehung zwischen der Kohärenzfunktion der Beleuchtungseinrichtung im f, g -Bereich und der Pupillenfunktion $G_S(x_S, y_S)$ der Austrittspupille der Beleuchtungseinrichtung an. Dabei nimmt $G_S(x_S, y_S)$ aufgrund der Definition der Pupillenfunktion und aufgrund des physikalischen Charakters der Quelle S nur reelle Werte von Null bis Eins an. Ferner veranschaulicht die Abb. 2.17, wie für diejenige Fläche der Quelle S , von der Wellen abgehen, die Pupillenfunktion $G_S(x_S, y_S)$ Werte > 0 , wie z. B. Eins annimmt und wie die Pupillenfunktion außerhalb dieser Fläche zu Null wird. Abgesehen von einem konstanten Faktor, wie er z. B. in (2.57) verwendet wird und falls $G_S(x_S, y_S)$ gleich Eins ist, gibt schließlich I_S die Intensität in der Austrittspupille in Leistung je Einheitsfläche an.

Ein Vergleich von (2.71) mit (2.72) und (2.73) einerseits und (2.54) andererseits zeigt, dass in (2.71) genauso wie in (2.54) die mit der geometrischen Ausbreitung verbundene Phasenverschiebung rückgerechnet wird. So wird in (2.71) die Kohärenzfunktion

$J_S(x_2 - x_1, y_2 - y_1)$ in die Kohärenzfunktion $J_S\left(\frac{x_S}{f_{L1}\bar{\lambda}}, \frac{y_S}{f_{L1}\bar{\lambda}}\right)$ in der Austrittspupille der

Beleuchtungseinrichtung rückgerechnet und in (2.54) ist die Rückrechnung von P_1 nach Δ_S vorgenommen worden. Dabei wird für die Rückrechnung in (2.71), genauso wie es für die Rückrechnung in der grundlegenden Gleichung (2.54) gemacht worden ist, ein positives Vorzeichen im Argument der Exponentialfunktion verwendet.

Die Transformation in (2.71) lässt sich schließlich auch in eine Rücktransformation

$$J_S(\Delta_x, \Delta_y) = \int_{-\infty}^{+\infty} \int_{-\infty}^{+\infty} J_S(f, g) e^{-i2\pi(f\Delta_x + g\Delta_y)} df dg \quad (2.74)$$

umformulieren. Auf die Transformationen (2.71) und (2.74) können die aus der Systemtheorie bekannten Gesetzmäßigkeiten übertragen werden.

Zunächst werden mit den Gleichungen (2.71), (2.73) und (2.74) die Eigenschaften der partiell kohärenten Beleuchtung der in der Prinzipskizze gezeigten Beleuchtungseinrichtung beschrieben. Mit diesen Gleichungen lassen sich jedoch auch die kohärente und die inkohärente Beleuchtung als Spezialfall mathematisch beschreiben.

2.2.2.2.1.2 Die Wellenausbreitung im Objektraum

Um die Ausbreitung der Wellen, die von der Beleuchtungseinrichtung abgegangen sind, durch den Objektraum laufen und dann in Richtung auf das abbildende Objektiv abgehen, im Hinblick auf die dreidimensional-optische Abbildung zu beschreiben, gibt es grundsätzlich drei verschiedene Ansätze. Welcher dieser Ansätze zur Beschreibung der Wellenausbreitung im dreidimensionalen Objekt geeignet ist, hängt vom Verhältnis der Abmessungen der Objektstrukturen zur Länge der Wellen ab, die sich im Objekt ausbreiten.

- Falls die Wellenlänge im Vergleich zu den Abmessungen der Strukturen gegen Null geht, ist die geometrisch-optische Näherung (2.20) geeignet. Sie ist bereits zur Beschreibung grundsätzlicher Aspekte im Zusammenhang mit der Modellbildung verwendet worden (siehe Kapitel 2.2.2.1).
- Falls die Abmessungen der Strukturen deutlich größer als die Wellenlänge ist, kann die Ausbreitung der Wellen im dreidimensionalen Objekt mit Hilfe des Huygens [2.17] [2.18] - Fresnel [2.19] Prinzips [2.20] beschreiben und durch die Kirchhoffsche [2.21] [2.22] Beugungstheorie [2.23] vollständig mathematisch erfasst werden. In diesem Fall ist die durch das Objekt hervorgerufene Streuung vernachlässigbar.
- Falls die Abmessungen der Objektstrukturen in der Größenordnung der auftretenden Wellenlänge oder kleiner sind, tritt Streuung und Absorption auf. Die Ausbreitung von elektromagnetischen Wellen in solchen Objekten [2.40] wird üblicherweise abhängig von der Art der Objektstruktur durchgeführt (siehe auch Kapitel 2.2.2.3.1).

Eine Analyse dieser drei Ansätze zeigt sehr schnell, dass es keinen einfachen, grundlegenden Ansatz gibt, mit dem die Ausbreitung der Wellen durch ein mikroskopisches Objekt problemlos und fehlerfrei beschrieben werden kann. Deshalb soll für diese Arbeit eine Einschränkung durchgeführt, und verschiedene Näherungen verwendet werden.

Die erste Näherung besteht in der Vernachlässigung der im Objekt auftretenden Streuung [2.41]. Damit lässt sich die Ausbreitung der elektromagnetischen Wellen mit Hilfe der Kirchhoffschen Beugungstheorie mathematisch beschreiben [2.42] [2.43]. Mit ihr lassen sich übrigens auch Mehrfachbeugung und die Ausbreitung der Wellen vom dreidimensionalen Objekt in den gesamten 4π Raum hinein erfassen.

Wenn die Ausbreitung der Wellen durch das Objekt mit der Kirchhoffschen Beugungstheorie beschrieben wird, dann tritt im allgemeinen Mehrfachbeugung im Objekt auf, die zu einem nichtlinearen Zusammenhang [2.42] zwischen dem dreidimensionalen Objekt und seinem dreidimensionalen Bild führt.

Falls jedoch im Rahmen einer Einschränkung ein schwach beugendes dreidimensionales Objekt [2.44] [2.45] vorausgesetzt werden kann, ist die Amplitude der gebeugten Wellen deutlich geringer als die Amplitude der Wellen, die ungebeugt durch das Objekt laufen. Mit dieser Einschränkung lassen sich im Hinblick auf die dreidimensional-optische Abbildung durch das Lichtmikroskop die folgenden beiden Näherungen [2.42] durchführen. Da zum einen die Amplituden der Wellen, die durch Mehrfachbeugung entstanden sind, noch geringer sind als die Amplituden der Wellen, die durch einmalige Beugung entstanden sind, können diese durch Mehrfachbeugung entstandenen Wellen bei der wellenoptischen Beschreibung der optischen Abbildung vernachlässigt werden. Außerdem können Interferenzen zwischen einer Welle, die durch einmalige Beugung entstanden ist, mit all den anderen Wellen, die zumindest einmal im dreidimensionalen Objekt gebeugt worden sind, vernachlässigt werden.

Wenn so nur die erste Beugung durch das dreidimensionale Objekt berücksichtigt wird, dann spricht man von einer Bornschen [2.46] [2.47] Näherung erster Ordnung oder kurz von einer Bornschen Näherung. Obwohl die Bornschen Näherungen von der Atomphysik her kommen [2.48], lassen sich solche Näherungen auch bei der Ausbreitung elektromagnetischer Wellen mit Wellenlängen im sichtbaren Bereich durch ein mikroskopisches, dreidimensionales Objekt verwenden [2.42].

Wenn so Streuung vernachlässigt und eine Bornsche Näherung durchgeführt wird, dann kann im Arbeitsbereich (siehe Kapitel 2.2.1) eines beliebigen Aufbaus zur dreidimensional-optischen Abbildung die Abbildung jedes Punkts des Objektraums unabhängig [2.42] vom übrigen, beliebigen dreidimensionalen Objekt beschreiben und z. B. auf Linearität hin untersuchen werden.

Für das Lichtmikroskop im Hellfelddurchlichtbetrieb vereinfachen sich die Berechnungen noch weiter: Aufgrund der Telezentrie (siehe Abb. 7.2) im Objektraum ist die dreidimensional-optische Abbildung aller Punkte des Objekts, die auf einer Geraden parallel zur optischen Achse liegen, bei unterschiedlichen Werten z_V (siehe Abb. 2.18) gleich. Damit genügt die Untersuchung der dreidimensional-optischen Abbildung eines schwach beugenden, dünnen, bei $z=0$ senkrecht zur optischen Achse liegenden Objekts, um Linearität und Ortsinvarianz der dreidimensional-optischen Abbildung zu überprüfen.

Falls beides, Linearität und Ortsinvarianz, gegeben ist, kann das systemtheoretische Modell gebildet und die Punktantwort anhand der dreidimensional-optischen Abbildung eines schwach beugenden, punktförmigen Objekts P_0 im Ursprung des Objektraums (siehe auch Abb. 2.5) berechnet werden.

Bei der Verwendung der gerade beschriebenen, schwach beugenden, dünnen, bei $z=0$ senkrecht zur optischen Achse liegenden Objekte vereinfacht [2.49] [2.50] [2.51] [2.52] sich auch die Kirchhoffsche Beugungstheorie. Das Kirchhoffsche Integral [2.53] läuft dann innerhalb des Objektraums durch die Ebene $z=0$, in der die Beugung (siehe auch Kapitel 2.2.2.1.3) auftritt.

Zur Veranschaulichung der Verhältnisse soll am Ende des Kapitels noch angemerkt werden, dass in der Mikroskopie auch große Numerische Aperturen der Beleuchtungseinrichtung und der abbildenden Optik im Objektraum auftreten können, die zu großen Öffnungswinkeln α (siehe Abb. 2.18) führen. Bekanntermaßen wird die Numerische Apertur A_{NL2} der abbildenden Optik (siehe Abb. 2.17) auf der Objektseite mit

$$A_{\text{NL2}} = n_{\text{M}} \sin(\alpha_{\text{max}}) \quad | \quad 0 < \alpha_{\text{max}} < \pi / 2 \quad (2.75)$$

aus dem maximalen, hier im Bogenmaß angegebenen, Öffnungswinkel α_{max} berechnet, wobei α_{max} immer reell, positiv und aus Gründen des Aufbaus eines Lichtmikroskops kleiner als $\pi / 2$ ist. Bei $A_{\text{NL2}} = 0,9$ tritt so ein maximaler Öffnungswinkel von $\alpha_{\text{max}} = 0,36 \pi$ auf. Anders ausgedrückt sind dies $2 \times 64^\circ = 128^\circ$ für die gesamte Öffnung von $2\alpha_{\text{max}}$. Mit diesem Zahlenbeispiel werden auch die Fehler offensichtlich, die bei großen maximalen Öffnungswinkeln durch die Näherungen (2.63), (2.72) und (2.76) entstehen.

2.2.2.2.1.2.1 Ankommende und abgehende Wellen bei Objektverschiebung

Für eine wellenoptische Beschreibung der dreidimensional-optischen Abbildung eines schwach beugenden, dünnen, bei $z=0$ senkrecht zur optischen Achse liegenden Objekts können die Eigenschaften der Beleuchtungseinrichtung durch die Kohärenzfunktion in der Ebene $z=0$ des Objekts beschreiben werden. Wie im Kapitel 2.2.2.2.1.1 gezeigt, ist diese Kohärenzfunktion innerhalb des Arbeitsbereichs der Beleuchtungseinrichtung unabhängig [2.12] von Verschiebungen des zweidimensionalen Objekts. Dazu kommt, dass bei den meisten Mikroskopen, wie auch bei dem in dieser Arbeit verwendeten Universal-Forschungsmikroskop, die Fokussierungseinrichtung den Kondensator zusammen mit dem Objektisch und damit zusammen mit dem Objekt bewegt.

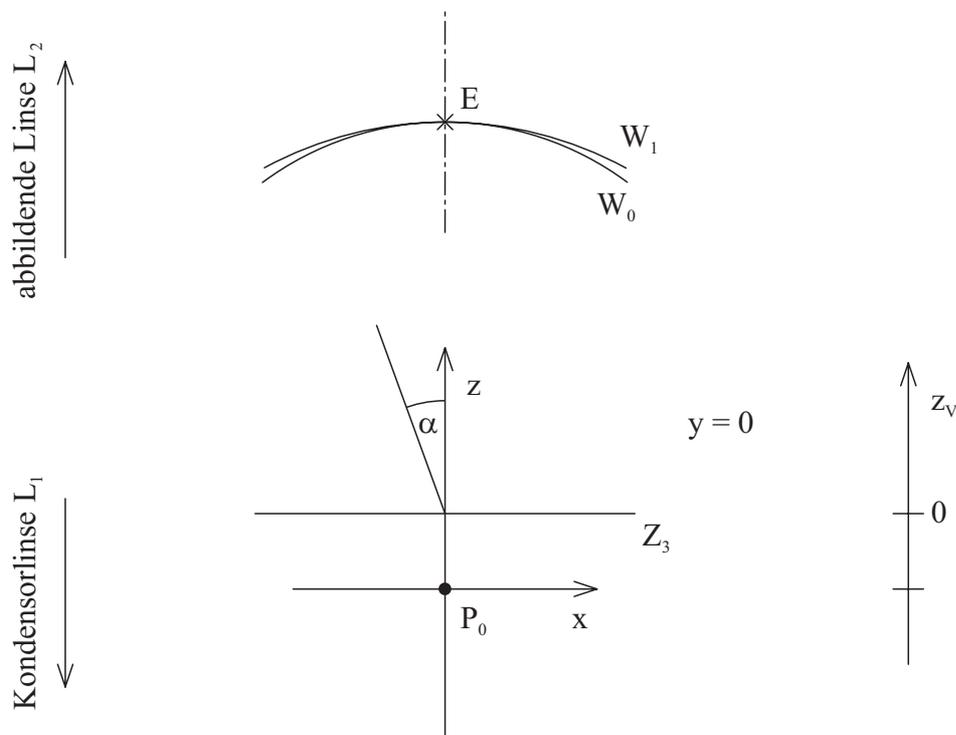


Abb. 2.18: Verschiebung des punktförmigen Objekts

Dagegen muss die Veränderung der in der Ebene Z_4 ankommenden Wellenfront, die durch eine Verschiebung des Objekts hervorgerufen worden ist, berücksichtigt werden. Dazu die Skizze [2.54] in der Abb. 2.18. Sie zeigt den Objektraum der Abb. 2.17 detaillierter. Sie zeigt zunächst die Koordinaten x und z des Objektraums, wie sie im Übrigen auch in der Abb. 2.5 verwendet werden. Dabei liegt die Ebene der Skizze in der Ebene $y = 0$ des Objektraums. Die Objektebene Z_3 ist hier als Gerade eingezeichnet. In der Skizze ist rechts ein eindimensionales Koordinatensystem abgebildet, um die Verschiebung z_V des Objekts anzuzeigen. In der Position, die in der Abb. 2.17 skizziert ist, ist das Objekt um z_{V1} entlang der optischen Achse verschoben.

Da aufgrund der Telezentrie (siehe Abb. 7.2) der optischen Abbildung die Änderung der Wellenfront aller Wellen, die von der Ebene $z = 0$ abgehen, als Funktion von z_V gleich ist, genügt die Beschreibung der Änderung für die optische Abbildung des Objektpunkts P_0 .

Die Skizze zeigt, wie die Wellenfront W_0 einer Welle, die vom Ursprung des Objektraums ohne eine Verschiebung des Objekts also bei $z_V = 0$ abgegangen ist, durch den Punkt E verläuft und wie diese Wellenfront zur Wellenfront W_1 wird, wenn das Objekt verschoben wird. Dabei liegt E auf dem Hauptstrahl der optischen Abbildung von P_0 und wesentlich weiter von P_0 entfernt, als z_{Vmax} , die maximal mögliche Verschiebung des Objekts.

In die Skizze ist außerdem der Winkel α des Objektpunkts P_0 für den Fall eingezeichnet, in dem P_0 in der Fokusebene Z_3 liegt. Er gibt den Winkel im Bogenmaß an, der zwischen dem Hauptstrahl, dem Objektpunkt P_0 und einem optischen Weg liegt, auf dem die von P_0 abgehende Welle läuft. Dabei nimmt der Winkel α , der in verschiedenen Ebenen liegen kann, nur reelle und positive Werte an, die kleiner als $\pi / 2$ sind.

Eine Verschiebung des Objekts um z_V führt so zu einer Verringerung des unter α geneigten optischen Wegs. Die Veränderung der optischen Weglänge ist [2.55]

$$- \cos(\alpha) z_V \quad | \quad 0 < \alpha < \pi / 2 \quad . \quad (2.76)$$

Gleichung (2.76) mit (2.53) in (2.54) eingesetzt ergibt

$$\exp\left[-i \frac{2\pi}{\lambda} \cos(\alpha) z_V\right] \quad (2.77)$$

zur Beschreibung der Phase der bei Z_4 ankommenden Wellenfront W_1 als Funktion von α .

Aus (2.77) und mit (2.72) kann schließlich die Veränderung der Wellenfront der bei Z_4 ankommenden Wellen im f, g - Bereich mit

$$\mathcal{D}(f, g, z_V) = \exp\left[-i \frac{2\pi}{\lambda} \sqrt{1 - \sin^2(\alpha)} z_V\right]$$

$$= \exp \left[-i2\pi\sqrt{\lambda^{-2} - (f^2 + g^2)} z_V \right] \quad (2.78)$$

angeben [2.56] werden. In (2.78) ist die Amplitude im f, g - Bereich konstant [2.57]. Dies hat seine Ursache darin, dass die Beleuchtungseinrichtung ebenfalls im f, g - Bereich mit $J_S(f, g)$ beschrieben wird.

Die üblicherweise und auch bei den numerischen Berechnungen in dieser Arbeit verwendete Abhängigkeit (2.76) geht im Rahmen einer Näherung [2.57] davon aus, dass die Phasenverschiebung der Wellenfront W_1 proportional zu z_V ist. Im Rahmen dieser Näherung ist (2.76) exakt. Natürlich lässt sich (2.76) weiter vereinfachen, um z. B. die numerisch aufwändige \cos -Funktion zu umgehen. Auf der anderen Seite ist es aber auch möglich, die mit (2.76) verbundenen Fehler zu reduzieren und bei der Beschreibung der Abhängigkeit von z_V nichtlineare Anteile zu berücksichtigen.

2.2.2.2.1.2 Die Transmissionsfunktion des Objekts

Bei der Beschreibung der Wellenausbreitung im Objektraum (siehe Kapitel 2.2.2.2.1.2) ist festgestellt worden, dass es für die Überprüfung von Linearität und Ortsinvarianz, und zur Berechnung der Punktantwort in dieser Arbeit ausreichend ist, die dreidimensional-optische Abbildung eines schwach beugenden, dünnen, bei $z = 0$ senkrecht zur optischen Achse liegenden Objekts zu untersuchen. Deshalb sollen zunächst die Gleichungen zur Transmissionsfunktion eines zweidimensional-optischen Elements, wie z. B. eines stark beugenden zweidimensionalen Objekts, formuliert werden.

Anknüpfend an die Berechnungen im Kapitel 2.2.2.2.1.2 lässt sich die Transmissionsfunktion $F(x, y)$ eines optischen Elements mit

$$F(f, g) = \int_{-\infty}^{+\infty} \int_{-\infty}^{+\infty} F(x, y) e^{i2\pi(fx+gy)} dx dy \quad (2.79)$$

in die Transmissionsfunktion dieses Elements im f, g - Bereich und mit

$$F(x, y) = \int_{-\infty}^{+\infty} \int_{-\infty}^{+\infty} F(f, g) e^{-i2\pi(fx+gy)} df dg \quad (2.80)$$

wieder zurück in den Ortsbereich transformieren.

Mit der Transmissionsfunktion $F(x, y)$ (2.79), der Kohärenzfunktion $J_S(x_1-x_2, y_1-y_2)$ (2.74) und mit (2.61) kann die Kohärenzfunktion

$$J_O(x_1, y_1; x_2, y_2) = J_S(x_1 - x_2, y_1 - y_2) F(x_1, y_1) F^*(x_2, y_2) \quad (2.81)$$

angeben werden. Sie beschreibt die Kohärenzeigenschaften der Wellen direkt nach dem optischen Element an den beiden Punkten x_1, y_1 und x_2, y_2 . Bei der Formulierung der Gleichung (2.81) wird der Neigungsfaktor (2.62), der bei der optischen Abbildung in der Ebene $z = 0$ auftritt, noch nicht berücksichtigt. Er wird erst im folgenden Kapitel 2.2.2.2.1.3 durch die Transmissionsfunktion der optischen Abbildung erfasst werden.

Jetzt soll die zweidimensionale Transmissionsfunktion eines dreidimensionalen Objekts, das innerhalb von $\pm \frac{1}{2} \Delta_z$ um die Ebene $z = 0$ schwach beugend ist und bei dem außerhalb dieses Objektteils keine Beugung auftritt, angegeben und mit T_{2d} indiziert werden. Die Transmissionsfunktion ist

$$\begin{aligned} F_{2d}(x, y) &= \exp \left(i \frac{2\pi}{\lambda} \int_{-\frac{1}{2}\Delta_z}^{+\frac{1}{2}\Delta_z} [n_R(x, y, z) + i n_I(x, y, z)] dz \right) \\ &= \exp \left(i \frac{2\pi}{\lambda} \Delta_z \right) \cdot \exp \left(i \frac{2\pi}{\lambda} \int_{-\frac{1}{2}\Delta_z}^{+\frac{1}{2}\Delta_z} [n_R(x, y, z) - 1 + i n_I(x, y, z)] dz \right) \\ &\approx 1 + i \frac{2\pi}{\lambda} \int_{-\frac{1}{2}\Delta_z}^{+\frac{1}{2}\Delta_z} [n_R(x, y, z) - 1] dz - \frac{2\pi}{\lambda} \int_{-\frac{1}{2}\Delta_z}^{+\frac{1}{2}\Delta_z} n_I(x, y, z) dz \approx \\ &1 + i \frac{2\pi}{\lambda} \Delta_z [n_{2dR}(x, y, z) - 1] - \frac{2\pi}{\lambda} \Delta_z n_{2dI}(x, y, z) \quad . \quad (2.82) \end{aligned}$$

Bei der Umformung von der ersten zur zweiten Zeile in (2.82) ist ein konstanter Faktor mit dem Betrag Eins, der für alle Wellen gleich ist und der deshalb auf die Berechnungen der optischen Abbildung keinen Einfluss hat, herausgenommen worden. Dadurch kann beim Übergang von der zweiten zur dritten Zeile der Fehler bei der linearen Näherung der Exponentialfunktion deutlich reduziert werden, auch wenn dies von der Physik her ein wenig unanschaulich sein mag. Die Umformung von der dritten zur vierten Zeile vereinfacht die weiteren Berechnungen. Die Wellenlänge ist wieder $\bar{\lambda}$ und Δ_z wieder eine kleine Ausdehnung in z-Richtung, mit

$$\Delta_z \ll \frac{\bar{\lambda}}{A_{NL2}^2} \quad . \quad (2.83)$$

2.2.2.2.1.3 Die Transmissionsfunktion der opt. Abbildung durch L_2

Die Prinzipskizze in der Abb. 2.17 und die Skizze in der Abb. 2.18 veranschaulichen, wie die Wellen, die von der Ebene $z = 0$ und damit in der Nähe der Ebene Z_3 abgegangen sind, bei der Ebene Z_4 ankommen. Dabei sind zwei Wege, auf denen sich zwei dieser Wellen ausbreiten, in die Prinzipskizze eingezeichnet.

Die Ebene Z_4 besitzt ein Koordinatensystem, dessen Ursprung sich auf der optischen Achse befindet und das die reellen Koordinaten x_{L2} und y_{L2} besitzt. In der Ebene Z_4 und zentrisch zur optischen Achse sind außerdem die Linse L_2 mit der Brennweite f_{L2} und die Blende D angeordnet. Die von der Ebene Z_4 abgegangenen Wellen kommen schließlich bei der Ebene Z_5 an. Die Ebene Z_5 besitzt ein Koordinatensystem mit den reellen Koordinaten x_I und y_I , dessen Ursprung auf der optischen Achse liegt.

Für die optische Abbildung von der Ebene Z_3 , mit dem Objekt O in die Ebene Z_5 auf der sich das Bild I zeigt, ergibt sich der Maßstab M .

Wenn wieder Näherungen zur einfacheren mathematischen Beschreibung der Abmessungen im optischen Aufbau verwendet werden [2.39], dann können die reellen Ortsfrequenzen f_I und g_I für das Bild analog zu (2.72a) und (2.72b) mit

$$\frac{x_{L2}}{R_{L2}} \approx \bar{\lambda} f_I \quad \text{und} \quad \frac{y_{L2}}{R_{L2}} \approx \bar{\lambda} g_I \quad (2.84)$$

berechnet werden. Da bei der Verwendung von Mikroskopobjektiven nur kleine Numerische Aperturen auf der Bildseite auftreten, die normalerweise deutlich unter 0,1 liegen, sind die Fehler der Näherungen in (2.84) gering.

Durch die zweidimensional-optische Abbildung wird das zweidimensionale Objekt in der Objektebene $z = 0$ mit den Koordinaten x und y in das Bild in der Bildebene Z_5 mit den Koordinaten

$$x_0 = Mx \quad \text{und} \quad y_0 = My \quad (2.85)$$

abgebildet. In (2.85) und in den Gleichungen der folgenden Kapitel soll der Index $_0$ darauf hinweisen, dass die indizierte Größe mit der Skalierung (2.85) aus der nicht indizierten im Objektraum berechnet worden ist.

Unter Verwendung von (2.64), (2.84) und (2.85) lässt sich so die Transmissionsfunktion

$$K(x_I - x_0, y_I - y_0, z_V) = \frac{1}{(\bar{\lambda} R_{L2})^2} \int_{-\infty}^{+\infty} \int_{-\infty}^{+\infty} G(x_{L2}, y_{L2})$$

$$\times \mathcal{D}_0 \left(\frac{x_{L2}}{\lambda R_{L2}}, \frac{y_{L2}}{\lambda R_{L2}}, z_V \right) e^{-i \frac{2\pi}{\lambda R_{L2}} [(x_1 - x_0)x_{L2} + (y_1 - y_0)y_{L2}]} dx_{L2} dy_{L2} \quad (2.86)$$

der zweidimensional-optischen Abbildung unter Berücksichtigung der Verschiebung um z_V angeben [2.58]. Sie gibt die komplexe Stärke der analytischen Wellenfelder der Wellen am Punkt x_I, y_I der Ebene Z_5 an, die aus der Welle entstanden sind, die vom Punkt x, y der Ebene $z = 0$ abgegangen und durch die Linse L_2 mit der Blende D gebeugt worden ist. Dabei sind die beiden, in der Ebene Z_3 und in der Ebene Z_4 auftretenden Neigungsfaktoren (2.63) berücksichtigt.

Die im Allgemeinen komplexe Funktion $G(x_{L2}, y_{L2})$ in (2.86) ist die Pupillenfunktion der zweidimensional-optischen Abbildung durch L_2 . Bei einer beugungsbegrenzten optischen Abbildung durch L_2 ohne Zentralblenden in der Pupille nimmt $G(x_{L2}, y_{L2})$ den Wert Eins innerhalb der Öffnung der Blende D und 0 an allen anderen Punkten an.

Auch die Transmissionsfunktion $K(x_I - x_0, y_I - y_0, z_V)$ lässt sich in den f, g -Bereich und wieder zurück transformieren. Wenn zur Formulierung der folgenden beiden Gleichungen vereinfachend die Argumente x_I und y_I bzw. f_I und g_I verwendet werden, dann ergibt sich für die Transformation in den f, g -Bereich

$$K(f_I, g_I, z_V) = \int_{-\infty}^{+\infty} \int_{-\infty}^{+\infty} K(x_I, y_I, z_V) e^{i2\pi(f_I x_I + g_I y_I)} dx_I dy_I \quad (2.87)$$

und für die Rücktransformation in den Ortsbereich

$$K(x_I, y_I, z_V) = \int_{-\infty}^{+\infty} \int_{-\infty}^{+\infty} K(f_I, g_I, z_V) e^{-i2\pi(f_I x_I + g_I y_I)} df_I dg_I \quad (2.88)$$

Ein Vergleich von (2.86) mit (2.88) unter Berücksichtigung von (2.84) zeigt, dass abgesehen von einer Konstanten

$$K \left(\frac{x_{L2}}{\lambda R_{L2}}, \frac{y_{L2}}{\lambda R_{L2}}, z_V \right) = G(x_{L2}, y_{L2}) \mathcal{D}_0 \left(\frac{x_{L2}}{\lambda R_{L2}}, \frac{y_{L2}}{\lambda R_{L2}}, z_V \right) \quad (2.89)$$

ist und dass die Pupillenfunktion $G(x_{L2}, y_{L2})$ sehr einfach in die Transmissionsfunktion $K(f_I, g_I, z_V)$ im f, g -Bereich umgerechnet werden kann.

2.2.2.2.1.4 Berechnung der Intensität des dreidimensional-optischen Bildes

Die Intensität des dreidimensional-optischen Bildes I eines zweidimensional-optischen Elements wie z. B. eines stark beugenden, zweidimensionalen Objekts mit der Transmissionsfunktion $F(x, y)$ kann aus (2.81) (2.82) und (2.86) unter Berücksichtigung der Defokussierung (2.78) um z_V und den bereits erwähnten geometrischen Näherungen [2.39] mit

$$I_n(x_I, y_I, z_V) = \int_{-\infty}^{+\infty} \int_{-\infty}^{+\infty} \int_{-\infty}^{+\infty} \int_{-\infty}^{+\infty} J_{S0}(x'_0 - x''_0, y'_0 - y''_0) F_0(x'_0, y'_0) F_0^*(x''_0, y''_0) \\ \times K(x_I - x'_0, y_I - y'_0, z_V) K^*(x_I - x''_0, y_I - y''_0, z_V) dx'_0 dy'_0 dx''_0 dy''_0 \quad (2.90)$$

berechnet [2.43] [2.59] werden. Wie allgemein üblich wird in (2.90) der Faktor $1 / (2Z)$, der in (2.66) noch verwendet worden ist, nicht wiederholt, um die Formulierungen zu vereinfachen. Aus den Koordinaten der beiden Punkte x', y' und x'', y'' der Objektebene lassen sich mit (2.85) die in (2.90) verwendeten Koordinaten x'_0, y'_0 und x''_0, y''_0 der über die optische Abbildung korrespondierenden Punkte der Bildebene berechnen. Auf die gleiche Weise lassen sich die Funktionen $J_S(\dots)$ und $F(\dots)$ in die Funktionen $J_{S0}(\dots)$ und $F_0(\dots)$ umskalieren.

Bis heute werden Gleichungen zur optischen Abbildung häufig analytisch gelöst. Mit der in den letzten 20 Jahren immer leichten Verfügbarkeit von leistungsfähigen Rechnern werden diese Gleichungen, vor allem wenn sie komplexer werden, jedoch immer häufiger numerisch gelöst. Diese Tendenz [2.60] hat sich auch bei der Anfertigung dieser Arbeit gezeigt. Die Berechnung von (2.90) wurde immer numerisch durchgeführt, sowohl im Fall absorbierender Objekte (für die Abb. 4.1 bis Abb. 4.3), als auch im Fall der Phasenobjekte (zur Berechnung von C_T in (3.54) für Abb. 3.24 bis Abb. 3.26).

Für ein erweitertes Verständnis der Gleichung (2.90) ist ihre Umformulierung [2.61] hilfreich. Dazu sollen $F_0(x'_0, y'_0)$, $F_0^*(x''_0, y''_0)$ und $J_{S0}(x'_0 - x''_0, y'_0 - y''_0)$ in der Form der Transformationen (2.74) und (2.86) in die Gleichung (2.90) eingesetzt, die Gleichsetzungen

$$f'_I x'_0 - f''_I x''_0 = (f'_I - f''_I) x_I - f'_I (x_I - x'_0) + f''_I (x_I - x''_0) \quad \text{und} \quad (2.91a)$$

$$g'_I y'_0 - g''_I y''_0 = (g'_I - g''_I) y_I - g'_I (y_I - y'_0) + g''_I (y_I - y''_0) \quad (2.91b)$$

verwendet und die neuen Integrationsvariablen

$$u' = x_I - x_1, \quad u'' = x_I - x_2 \quad \text{und} \quad (2.92a)$$

$$v' = y_I - y_1, \quad v'' = y_I - y_2 \quad (2.92b)$$

eingeführt werden. Jetzt lässt sich (2.90) zu

$$\begin{aligned}
I_n(x_I, y_I, z_V) &= \int_{-\infty}^{+\infty} \int_{-\infty}^{+\infty} \int_{-\infty}^{+\infty} \int_{-\infty}^{+\infty} T_n(f'_I, g'_I; f''_I, g''_I; z_V) \\
&\quad \times F_0(f'_I, g'_I) F_0^*(f''_I, g''_I) e^{-i2\pi[(f'_I - f''_I)x_I + (g'_I - g''_I)y_I]} df'_I dg'_I df''_I dg''_I \quad (2.93)
\end{aligned}$$

umformen, wobei in (2.93)

$$\begin{aligned}
&T_n(f'_I, g'_I; f''_I, g''_I; z_V) \\
&= \int_{-\infty}^{+\infty} \int_{-\infty}^{+\infty} \int_{-\infty}^{+\infty} \int_{-\infty}^{+\infty} J_{S0}(u'' - u', v'' - v') K(u', v', z_V) \\
&\quad \times K^*(u'', v'', z_V) e^{i2\pi[(f'_I u' + g'_I v') - (f''_I u'' + g''_I v'')]} du' dv' du'' dv'' \\
&= \int_{-\infty}^{+\infty} \int_{-\infty}^{+\infty} \int_{-\infty}^{+\infty} \int_{-\infty}^{+\infty} \int_{-\infty}^{+\infty} \int_{-\infty}^{+\infty} J_{S0}(f_I, g_I) K(u', v', z_V) \\
&\quad \times K^*(u'', v'', z_V) e^{i2\pi[(f_I + f'_I)u' + (g_I + g'_I)v' - (f_I + f''_I)u'' - (g_I + g''_I)v'']} df_I dg_I du' dv' du'' dv'' \\
&= \int_{-\infty}^{+\infty} \int_{-\infty}^{+\infty} J_{S0}(f_I, g_I) K(f_I + f'_I, g_I + g'_I, z_V) K^*(f_I + f''_I, g_I + g''_I, z_V) df_I dg_I \quad (2.94)
\end{aligned}$$

ist. In (2.94) ist bei der Umformung von der zweiten Zeile in die dritte statt $J_{S0}(u'' - u', v'' - v')$ die Formulierung gemäß (2.75) und bei der Umformung von der dritten Zeile in die vierte (2.87) verwendet worden. In einem gewissen Umfang ist durch die Umformung von (2.90) nach (2.93) und (2.94) eine Trennung der Objekteigenschaften von den Eigenschaften der optischen Abbildung einschließlich der Eigenschaften der Beleuchtungseinrichtung erreicht worden.

Die Abb. 2.19 veranschaulicht das effektive Integrationsgebiet des Doppelintegrals in der letzten Zeile von (2.94) für eine normale optische Abbildung ohne Zentralblenden. Die Kreisfläche C''' mit ihrem Mittelpunkt O''' zeigt das Gebiet, in dem die Kohärenzfunktion $J_{S0}(f_I, g_I)$ der Beleuchtungseinrichtung im f, g -Bereich des Bildes ungleich Null ist. Der Durchmesser der Kreisfläche C''' ist proportional zur Apertur der Beleuchtungseinrichtung. Die Kreisflächen C' und C'' mit ihren Mittelpunkten O' und O'' geben die Gebiete an, innerhalb derer $K(f_I + f'_I, g_I + g'_I, z_V)$ bzw. $K^*(f_I + f''_I, g_I + g''_I, z_V)$ bei $z_V = 0$ und einer beugungsbegrenzten optischen Abbildung gleich Eins sind. Dabei lässt sich aus der Apertur der optischen Abbildung durch L_2 und D auf der Bildseite mit (2.84) der Radius der Kreisflächen C' und C'' berechnen.

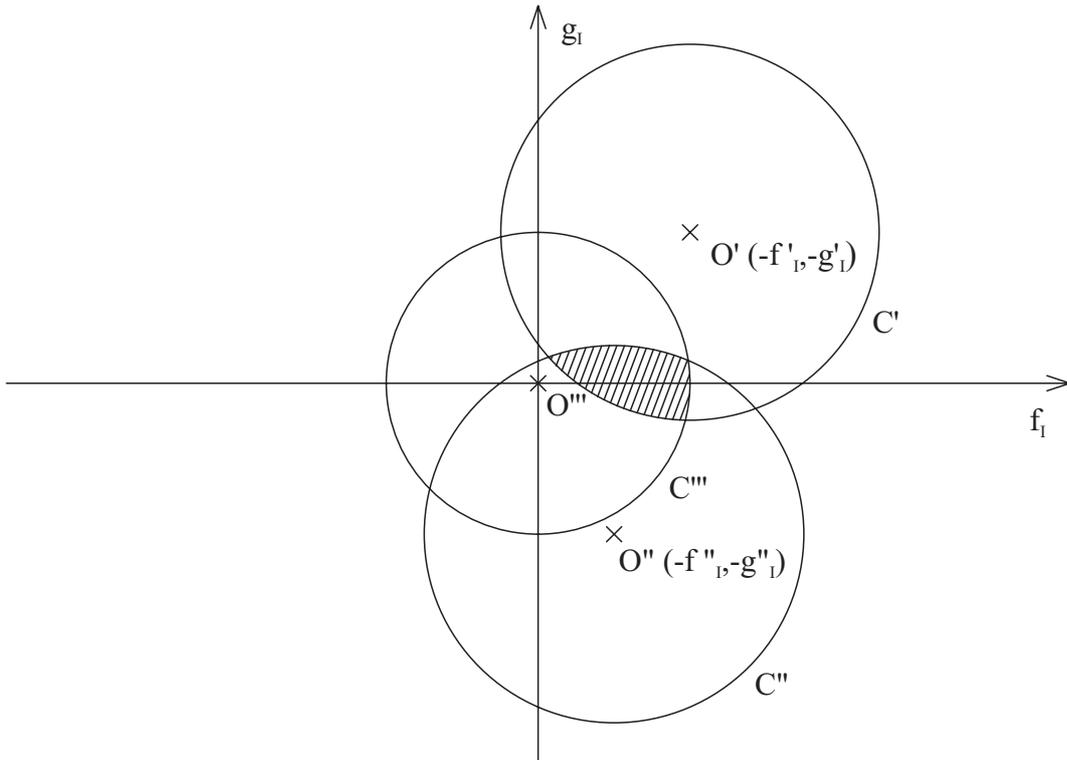


Abb. 2.19: Das effektive Integrationsgebiet im Hellfelddurchlichtbetrieb

Die Abb. veranschaulicht, dass für große Beträge von f'_I , g'_I , f''_I und g''_I kein schraffierter Bereich vorhanden ist, dass dann $T(f'_I, g'_I; f''_I, g''_I; z_V)$ zu Null wird und dass deshalb die Anteile von $F(x, y)$, die zu solch hohen Beträgen von f'_I , g'_I , f''_I und g''_I führen, nicht mehr im Bild I erscheinen.

Die Gleichung (2.90) mit dem Produkt $F_0(x'_0, y'_0) F_0^*(x''_0, y''_0)$ ist für optische Elemente wie z. B. stark beugende zweidimensionale Objekte formuliert worden. Gemäß der im Kapitel 2.2.2.2.2.1.2 beschriebenen Vorgehensweise soll jetzt dieses Produkt für ein dreidimensionales Objekt, das innerhalb von $\pm \frac{1}{2} \Delta_z$ um die Ebene $z = 0$ schwach beugend ist und bei dem außerhalb dieses Objektteils keine Beugung auftritt, formuliert werden, wobei zwischen absorbierenden Objekten und Phasenobjekten unterschieden werden soll. So wird aus dem Produkt in (2.90) die Summe für absorbierende Objekte

$$\begin{aligned}
 & F_{2d0}(x'_0, y'_0) F_{2d0}^*(x''_0, y''_0) \\
 &= 1 - \frac{2\pi}{\lambda} \Delta_z n_{2dI0}(x'_0, y'_0, z) - \frac{2\pi}{\lambda} \Delta_z n_{2dI0}(x''_0, y''_0, z) \\
 & \quad + \left(\frac{2\pi}{\lambda} \right)^2 \Delta_z^2 n_{2dI0}(x'_0, y'_0, z) n_{2dI0}(x''_0, y''_0, z)
 \end{aligned}$$

$$\approx 1 - \frac{2\pi}{\lambda} \Delta_z n_{2dI0}(x', y', z) - \frac{2\pi}{\lambda} \Delta_z n_{2dI0}(x'', y'', z) \quad (2.95a)$$

bzw. die Summe für Phasenobjekte

$$\begin{aligned} & F_{2d0}(x'_0, y'_0) F_{2d0}^*(x''_0, y''_0) \\ &= 1 + i \frac{2\pi}{\lambda} \Delta_z [n_{2dR0}(x'_0, y'_0, z) - 1] - i \frac{2\pi}{\lambda} \Delta_z [n_{2dR0}(x''_0, y''_0, z) - 1] \\ & \quad + \left(\frac{2\pi}{\lambda} \right)^2 \Delta_z^2 [n_{2dR0}(x'_0, y'_0, z) - 1] [n_{2dR0}(x''_0, y''_0, z) - 1] \\ & \approx 1 + i \frac{2\pi}{\lambda} \Delta_z [n_{2dR0}(x'_0, y'_0, z) - 1] - i \frac{2\pi}{\lambda} \Delta_z [n_{2dR0}(x''_0, y''_0, z) - 1] \quad . \quad (2.95b) \end{aligned}$$

Da jetzt für die Bornsche Näherung ein schwach beugendes Objekt vorausgesetzt wurde, kann der bilineare Term bei der Umformung in die letzte Zeile der beiden Gleichungen (2.95) bei einem geringen Fehler vernachlässigt [2.42] werden.

Wenn die Gleichung (2.95a) bzw. (2.95b) in (2.90) eingesetzt wird, dann ergibt sich jeweils eine Summe, die aus einer Konstanten für das Leerbild und aus zwei Summanden für die durch Beugung im Objektraum entstandenen Wellen besteht. Die beiden Summen sind

$$\begin{aligned} I_{nI}(x_I, y_I, z_V) &= I_0 + I_A \left(x_I, y_I, z_V, -\frac{2\pi}{\lambda} \Delta_z n_{2dI0}(x'_0, y'_0, z) \right) \\ & \quad + I_B \left(x_I, y_I, z_V, -\frac{2\pi}{\lambda} \Delta_z n_{2dI0}(x''_0, y''_0, z) \right) \quad \text{und} \quad (2.96a) \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} I_{nR}(x_I, y_I, z_V) &= I_0 + I_A \left(x_I, y_I, z_V, i \frac{2\pi}{\lambda} \Delta_z [n_{2dR0}(x'_0, y'_0, z) - 1] \right) \\ & \quad + I_B \left(x_I, y_I, z_V, -i \frac{2\pi}{\lambda} \Delta_z [n_{2dR0}(x''_0, y''_0, z) - 1] \right) \quad . \quad (2.96b) \end{aligned}$$

Ein Vergleich der hier durchgeführten Berechnungen mit den Berechnungen, die zuvor mit der geometrisch-optischen Näherung durchgeführt wurden, zeigt z. B., dass die Intensität in (2.96a) wegen (2.55) der Bestrahlungsstärke $E_N(x_I, y_I, z_V)$ in (2.29) entspricht.

2.2.2.2.2.1.5 Die Bildung des systemtheoretischen Modells

Nach der Subtraktion der Konstanten für das Leerbild werden die Bedingungen für lineares Verhalten gemäß (2.5) und (2.6) erfüllt. Da zusammen mit der Telezentrie (siehe Abb. 7.2) im Objektraum auch die Ortsinvarianz (2.7) (2.8) gegeben ist, ist die Bildung des linearen systemtheoretischen Modells möglich.

Zur Bildung des systemtheoretischen Modells und entsprechend den Berechnungen in Kapitel 2.2.2.1.1.2 kann mit der Annahme einer idealen dreidimensional-optischen Abbildung aus (2.96a) bzw. (2.96b) das Bild des Imaginärteils bzw. das Bild des Realteils des komplexen Brechungsindex berechnet werden (siehe auch Abb. 2.3 mit Beschreibung). Es ist

$$\frac{I_{nl}(\dots) - I_0}{I_0} = \frac{I_A(\dots) + I_B(\dots)}{I_0} = 2 \left[-\frac{2\pi}{\lambda} \Delta_z i_{nl}(x, y, z) \right]$$

$$i_{nl}(x, y, z) = -\frac{\bar{\lambda}}{4\pi \Delta_z} \frac{I_{nl}(x_I, y_I, z_V) - I_0}{I_0} \quad (2.97a)$$

$$\frac{I_{nR}(\dots) - I_0}{I_0} = \frac{I_A(\dots) + I_B(\dots)}{I_0} = 2 \left[\frac{2\pi}{\lambda} \Delta_z i_{nR}(x, y, z) \right]$$

$$i_{nR}(x, y, z) = \frac{\bar{\lambda}}{4\pi \Delta_z} \frac{I_{nR}(x_I, y_I, z_V) - I_0}{I_0} \quad (2.97b)$$

Gemäß der in Kapitel 2.2.2.2.2.1.2 beschriebenen Vorgehensweise lässt sich nun, wie üblich und im Kapitel 2.2.2.1.1.3 für die geometrisch-optische Näherung berechnet, durch Einsetzen der δ -Funktion die dreidimensionale Punktantwort und damit auch die dreidimensionale Übertragungsfunktion für die beiden Fälle berechnen.

2.2.2.2.2.1.6 Graphische Darstellung verschiedener Übertragungsfunktionen

Um die Eigenschaften der Übertragungsfunktionen zu veranschaulichen, zeigen die Abb. 2.20 bis Abb. 2.25 [2.62] die Graphen der Übertragungsfunktionen für absorbierende Objekte $H_{OnI}(f_x, f_y, f_z)$ und für Phasenobjekte $H_{OnR}(f_x, f_y, f_z)$ bei unterschiedlichen Verhältnissen

$$s = \frac{A_{NL1}}{A_{NL2}} \quad , \quad (2.98)$$

von Numerischer Apertur A_{NL1} der Beleuchtungseinrichtung im Objektraum zur Numerischen Apertur A_{NL2} der optischen Abbildung auf der Objektseite durch L_2 . Da die Übertragungsfunktionen immer rotationssymmetrisch um die f_z -Koordinatenachse sind, zeigen die

Abbildungen die Graphen der Ebene $f_y = 0$. Mit dem Symbol $\operatorname{Re}\{. \}$ wird wieder die Bildung des Realteils, und mit $\operatorname{Im}\{. \}$ die Bildung des Imaginärteils aus dem komplexen Argument bezeichnet.

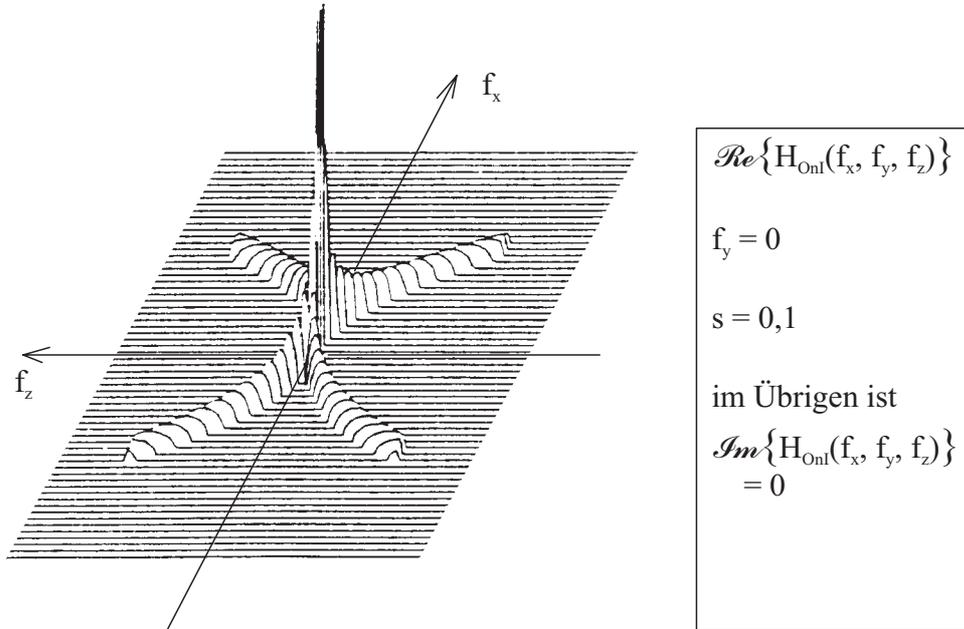


Abb. 2.20: Absorbierende Objekte; kleine Beleuchtungsapertur

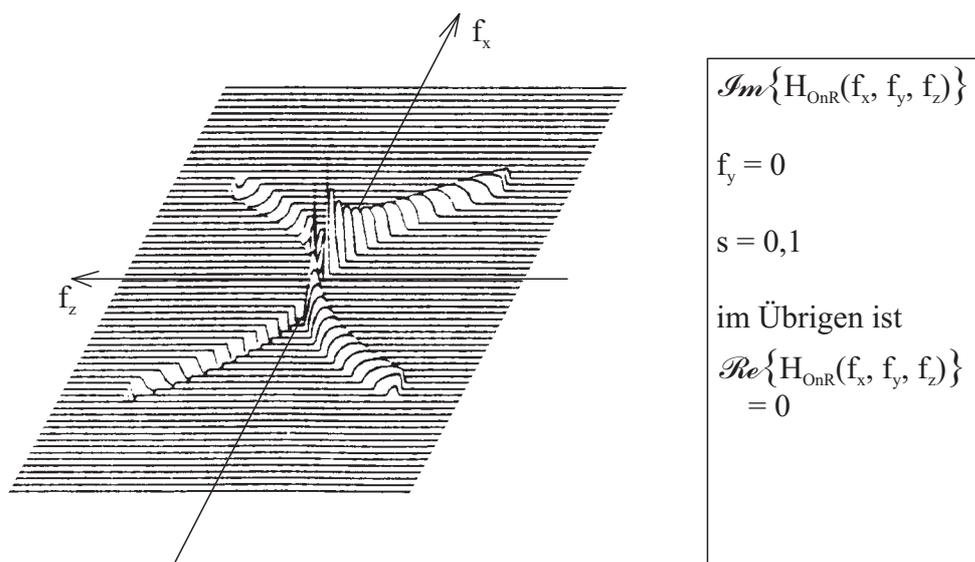
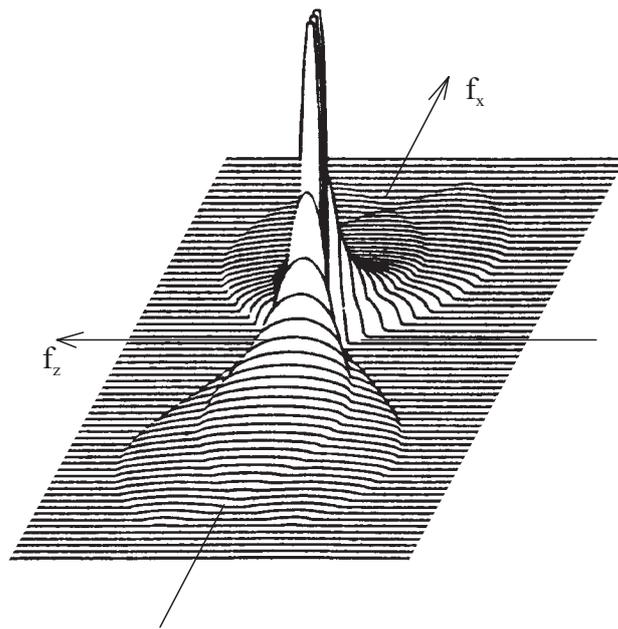


Abb. 2.21: Phasenobjekte; kleine Beleuchtungsapertur



$$\operatorname{Re}\{H_{\text{OnI}}(f_x, f_y, f_z)\}$$

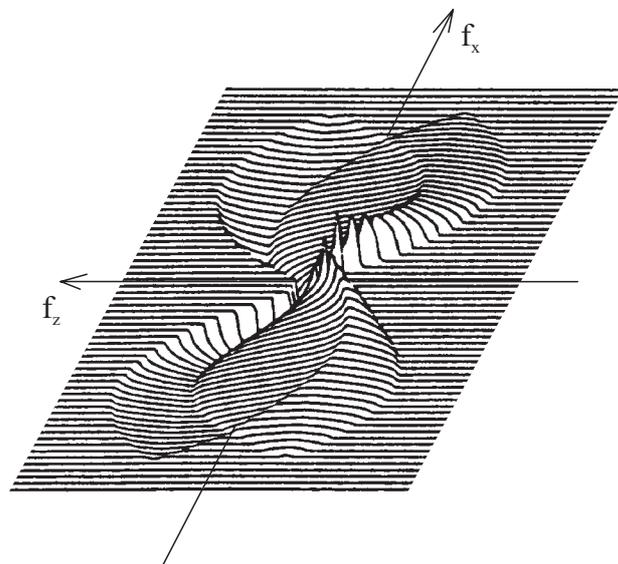
$$f_y = 0$$

$$s = 0,72$$

im Übrigen ist

$$\operatorname{Im}\{H_{\text{OnI}}(f_x, f_y, f_z)\} = 0$$

Abb. 2.22: Absorbierende Objekte; mittlere Beleuchtungsapertur



$$\operatorname{Im}\{H_{\text{OnR}}(f_x, f_y, f_z)\}$$

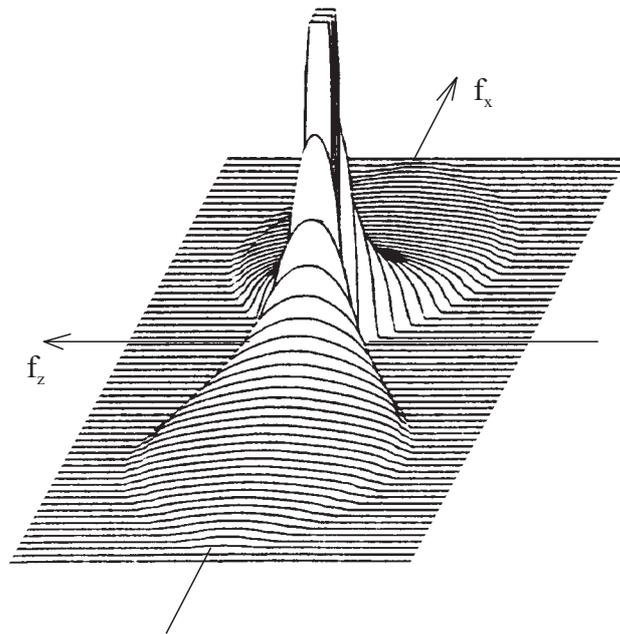
$$f_y = 0$$

$$s = 0,72$$

im Übrigen ist

$$\operatorname{Re}\{H_{\text{OnR}}(f_x, f_y, f_z)\} = 0$$

Abb. 2.23: Phasenobjekte; mittlere Beleuchtungsapertur



$$\operatorname{Re}\{H_{\text{OnI}}(f_x, f_y, f_z)\}$$

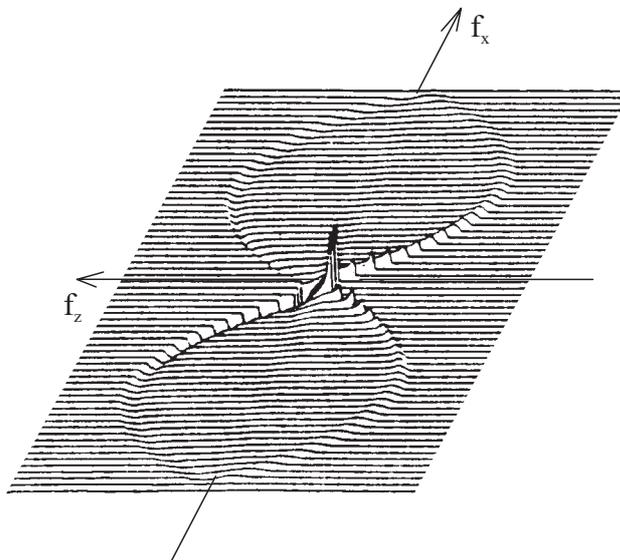
$$f_y = 0$$

$$s = 0,95$$

im Übrigen ist

$$\operatorname{Im}\{H_{\text{OnI}}(f_x, f_y, f_z)\} = 0$$

Abb. 2.24: Absorbierende Objekte; hohe Beleuchtungsapertur



$$\operatorname{Im}\{H_{\text{OnR}}(f_x, f_y, f_z)\}$$

$$f_y = 0$$

$$s = 0,1$$

im Übrigen ist

$$\operatorname{Re}\{H_{\text{OnR}}(f_x, f_y, f_z)\} = 0$$

Abb. 2.25: Phasenobjekte; hohe Beleuchtungsapertur

2.2.2.2.2 Transparente Selbstleuchter

Im vorangegangenen Kapitel 2.2.2.2.1 wurden die Abbildungseigenschaften des Lichtmikroskops im Hellfelddurchlichtbetrieb für absorbierende Objekte und für Phasenobjekte mit Hilfe der wellenoptischen Beschreibung berechnet. Jetzt sollen die entsprechenden Berechnungen für transparente Selbstleuchter durchgeführt werden. Damit besitzt das Objekt wieder die im Kapitel 2.2.1 beschriebenen Eigenschaften und es gilt

$$n_I(x, y, z) = 0 \quad \text{und} \quad n_R(x, y, z) = 1 \quad . \quad (2.99)$$

Entsprechend der Abb. 2.17 ergibt sich für transparente Selbstleuchter die folgende Prinzipskizze.

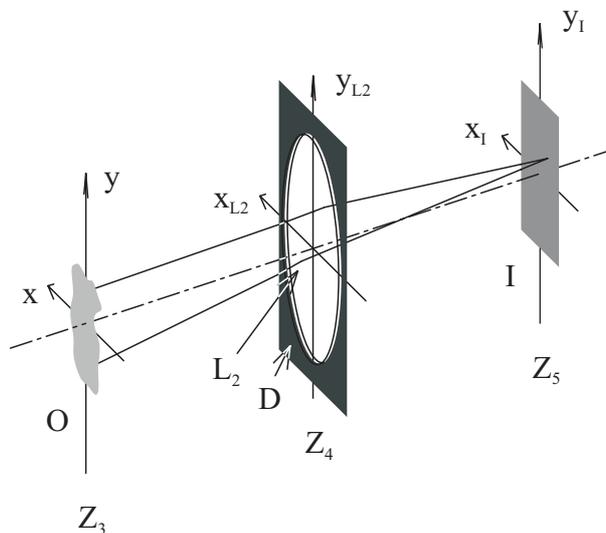


Abb. 2.26: Prinzipskizze der dreidimensional-optischen Abbildung

2.2.2.2.2.1 Die Intensität des transparenten Selbstleuchters

Beim transparenten Selbstleuchter ist aufgrund seiner physikalischen Eigenschaften die Ausbreitung der Wellen von jedem Punkt des Objektraums unabhängig vom übrigen, beliebigen dreidimensionalen Objekt. Beim Lichtmikroskop kommt noch hinzu, dass aufgrund der Telezentrie (siehe Abb. 7.2) im Objektraum die dreidimensional-optische Abbildung aller Punkte des Objekts, die auf einer Geraden parallel zur optischen Achse liegen, bei unterschiedlichen Werten z_V (siehe Abb. 2.18) gleich ist.

Damit genügt die Überprüfung der dreidimensional-optischen Abbildung eines dünnen, bei $z = 0$ senkrecht zur optischen Achse liegenden, transparenten Selbstleuchters, um Linearität und Ortsinvarianz zu überprüfen. Falls beides, Linearität und Ortsinvarianz, gegeben ist, kann wieder das systemtheoretische Modell gebildet und die Punktantwort anhand der

dreidimensional-optischen Abbildung eines punktförmigen Objekts P_0 (siehe auch Abb. 2.5) im Ursprung des Objektraums berechnet werden.

Um Linearität und Ortsinvarianz zu überprüfen und um ggf. die Punktantwort zu berechnen, wird jetzt die zweidimensionale Intensität eines dreidimensionalen Objekts angegeben, von dem innerhalb von $\pm \frac{1}{2} \Delta_z$ um die Ebene $z=0$ Wellen in den Halbraum der optischen Abbildung abgehen und von dem außerhalb dieses Objektteils keine Wellen abgehen. Die zweidimensionale Intensität dieses dreidimensionalen Objekts, die mit I_{2d} indiziert wird, ist

$$I_{2d}(x, y) = \frac{1}{2} \int_{-\frac{1}{2}\Delta_z}^{+\frac{1}{2}\Delta_z} r(x, y, z) dz \quad . \quad (2.100)$$

Dabei ist Δ_z wieder eine kleine Entfernung in z -Richtung für die (2.83) gilt.

2.2.2.2.2.2 Berechnung der Intensität des dreidimensional-optischen Bildes

Auch wenn die Amplituden der vom transparenten Selbstleuchter abgehenden Wellen über α und nicht über f, g konstant sind, kann bei den bereits vorausgesetzten kleinen Winkeln α mit (2.86) die Intensität des dreidimensional-optischen Bildes des im letzten Kapitel beschriebenen dünnen Objekts berechnet werden. Es ist

$$I_r(x_I, y_I, z_V) = \int_{-\infty}^{+\infty} \int_{-\infty}^{+\infty} I_{2d0}(x_0, y_0) \times K(x_I - x_0, y_I - y_0, z_V) K^*(x_I - x_0, y_I - y_0, z_V) dx_0 dy_0 \quad . \quad (2.101)$$

In (2.101) ist die Funktion $I_{2d}(x, y)$ aus (2.100) zu $I_{2d0}(x_0, y_0)$ umskaliert worden, um an Stelle der Koordinaten x und y des Objektraums mit (2.85) die dazugehörigen Koordinaten x_0 und y_0 des Bildraums verwenden zu können.

Für ein erweitertes Verständnis soll (2.101) mit einer Transformation der rechten Seite in den f, g - Bereich zu

$$I_r(x_I, y_I, z_V) = \int_{-\infty}^{+\infty} \int_{-\infty}^{+\infty} T_r(f_I, g_I, z_V) I_{2d0}(f_I, g_I) e^{-i2\pi(f_I x_I + g_I y_I)} df_I dg_I \quad (2.102)$$

umgeformt werden. Dabei ist

$$T_r(x_I, y_I, z_V) = \int_{-\infty}^{+\infty} \int_{-\infty}^{+\infty} K\left(f'_I + \frac{1}{2}f_I, g'_I + \frac{1}{2}g_I, z_V\right) \times K^*\left(f'_I - \frac{1}{2}f_I, g'_I - \frac{1}{2}g_I, z_V\right) df'_I dg'_I \quad (2.103)$$

Die Abb. 2.27 veranschaulicht das effektive Integrationsgebiet des Doppelintegrals in (2.103) für eine optische Abbildung ohne Zentralblende in der Ebene Z_4 . Die Kreisflächen C^* und C^{**} mit ihren Mittelpunkten O^* und O^{**} zeigen die Gebiete, innerhalb derer $K\left(f'_I + \frac{1}{2}f_I, g'_I + \frac{1}{2}g_I, z_V\right)$ bzw. $K^*\left(f'_I - \frac{1}{2}f_I, g'_I - \frac{1}{2}g_I, z_V\right)$ bei $z_V = 0$ und bei einer beugungsbegrenzten optischen Abbildung gleich Eins sind. Aus der Apertur der optischen Abbildung durch L_2 und D auf der Bildseite kann wieder der Radius der Kreisflächen C^* und C^{**} berechnet werden.

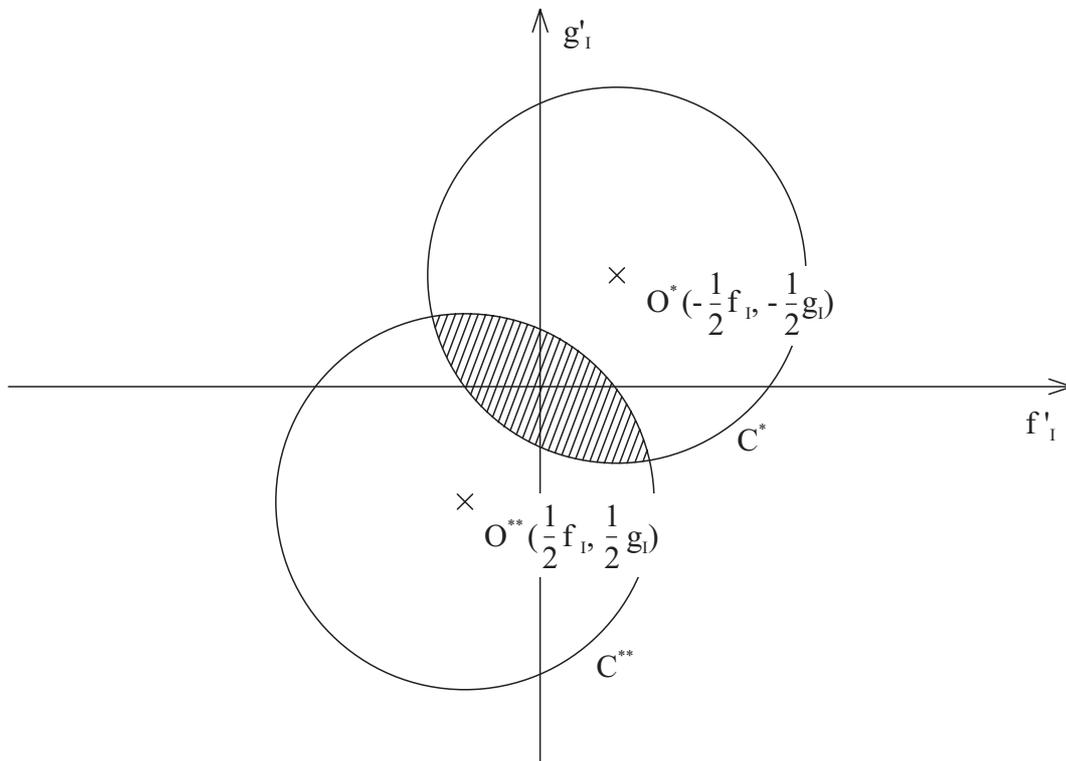


Abb. 2.27: Das effektive Integrationsgebiet bei transparenten Selbstleuchtern

Die Abb. 2.27 veranschaulicht, dass für große Beträge von f_I und g_I das effektive Integrationsgebiet zu Null wird und dass deshalb die Anteile des Objekts bzw. von $I_{2d}(x, y)$, die zu solch hohen Beträgen von f_I und g_I führen, nicht mehr im Bild $I_r(x_I, y_I, z_V)$ erscheinen.

Schließlich entspricht die Intensität $I_r(x_I, y_I, z_V)$ in (2.101) und in (2.102) wegen (2.55) der Bestrahlungsstärke $E_r(x_I, y_I, z_V)$ in (2.43).

2.2.2.2.2.3 Systemtheoretisches Modell und Übertragungsverhalten

Die Gleichungen (2.101) und (2.102) zeigen ein lineares Verhalten der dreidimensional-optischen Abbildung in der Aufnahmeeinheit gemäß (2.5) und (2.6). Im Vergleich zu den Berechnungen für absorbierende Objekte und Phasenobjekte zeigt sich, vereinfacht ausgedrückt, dass ein lineares Verhalten hier bei weniger Einschränkungen und Näherungen erreicht werden konnte. Zusammen mit der Telezentrie (siehe Abb. 7.2) im Objektraum ist auch die Ortsinvarianz (2.7) (2.8) gegeben. Damit ist die Bildung eines systemtheoretischen Modells möglich.

Die Gleichungen, die mit der geometrisch-optischen Näherung für die Modellbildung im Kapitel 2.2.2.1.3.1 aufgestellt worden sind, gelten hier entsprechend.

Durch Einfügen der δ -Funktion (siehe Kapitel 2.2.2.1.3.2) lässt sich die Punktantwort $h_{Or}(x, y, z)$ und mit (2.10) auch die dazugehörige Übertragungsfunktion $H_{Or}(f_x, f_y, f_z)$ der dreidimensional-optischen Abbildung berechnen. Da beide Funktionen rotationssymmetrisch sind, zeigt die Abb. 2.28 [2.63] den Graph der Ebene $y = 0$ aus der Punktantwort und die Abb. 2.29 [2.63] den der Ebene $f_y = 0$ aus der dazugehörigen Übertragungsfunktion.

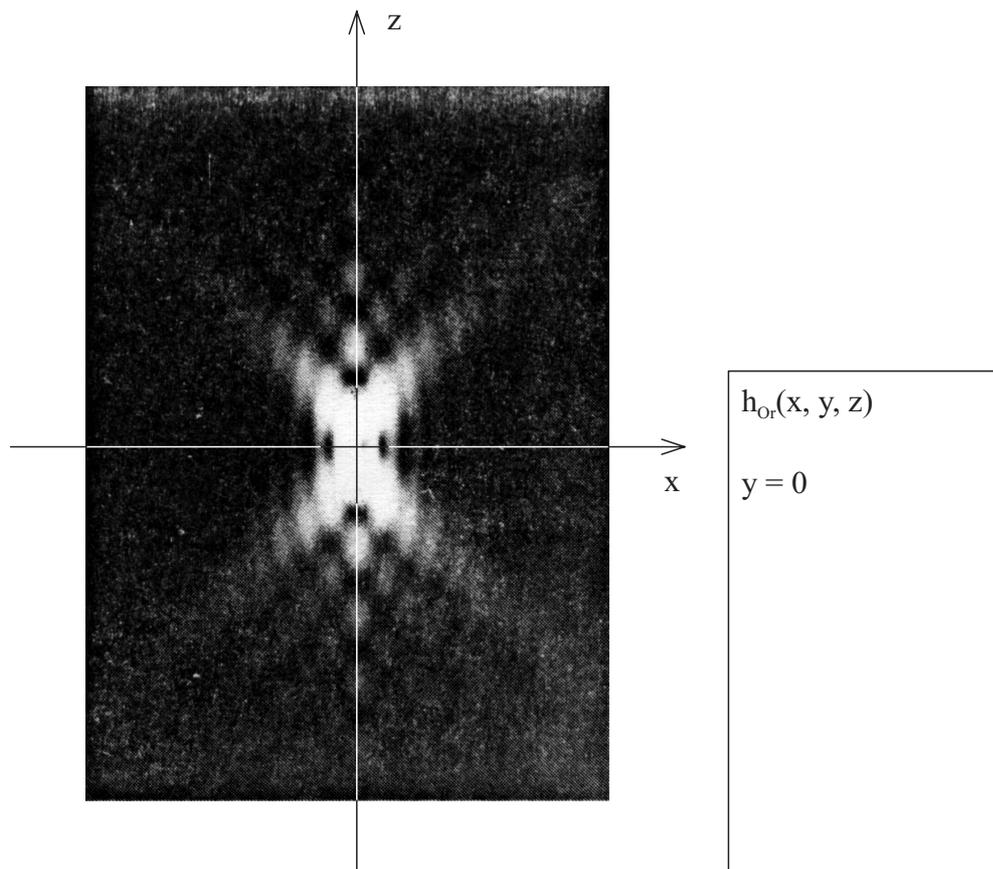


Abb. 2.28: Die Punktantwort für transparente Selbstleuchter

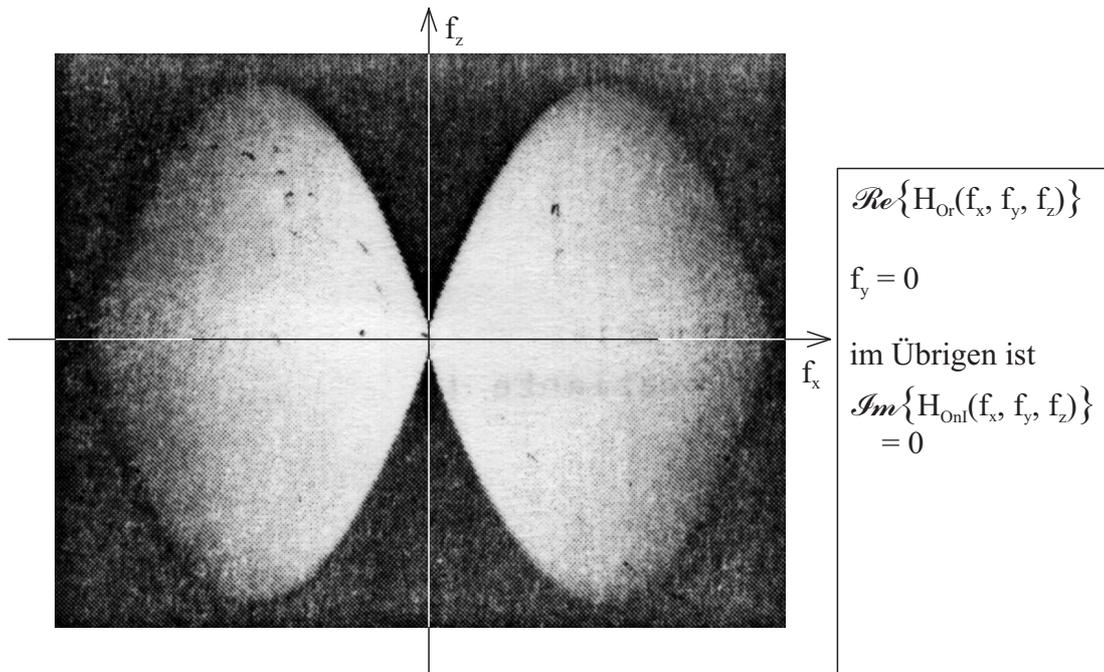


Abb. 2.29: Die Übertragungsfunktion für transparente Selbstleuchter

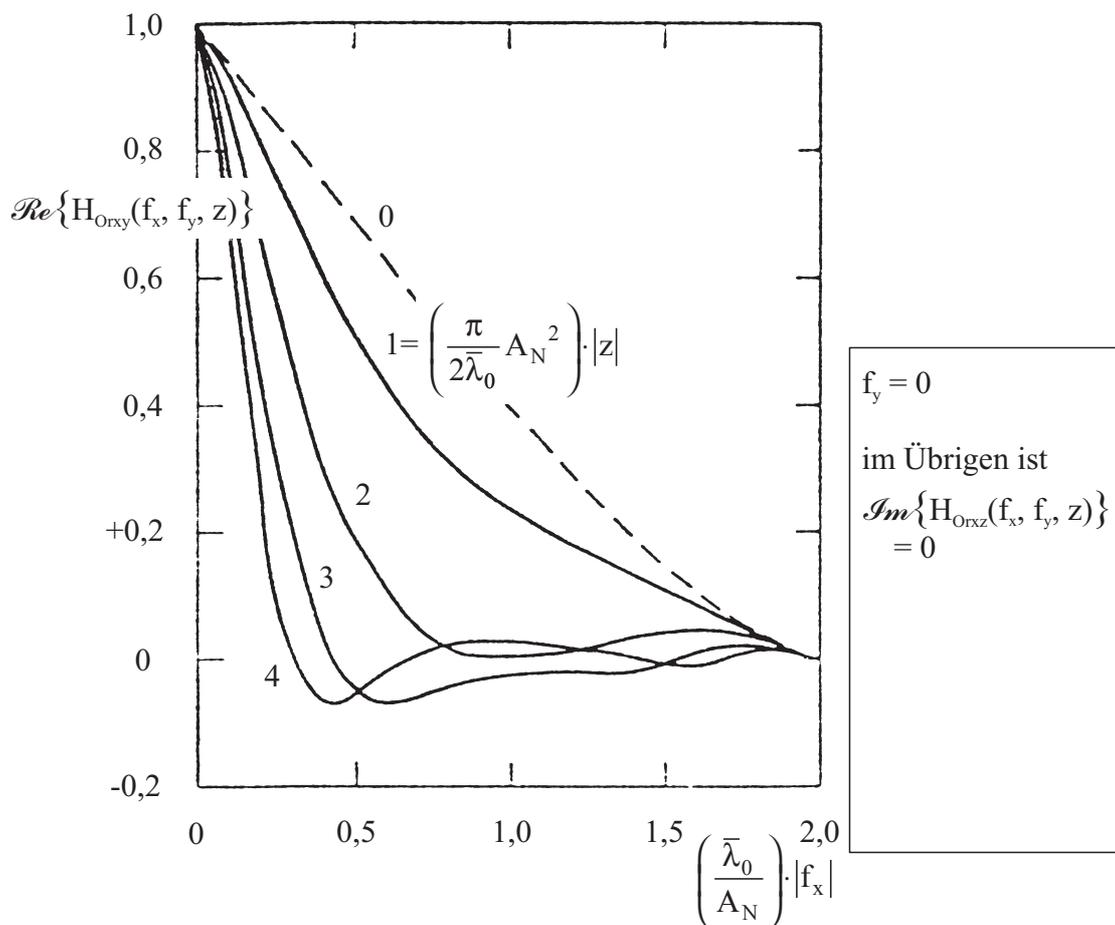


Abb. 2.30: Die von z abhängige zweidimensionale Übertragungsfunktion

Mit der Fourier-Transformation von $h_{\text{or}}(x, y, z)$ in x/y -Richtung, genauso wie mit der Fourier-Rücktransformation von $H_{\text{or}}(f_x, f_y, f_z)$ in f_z -Richtung, kann die in der Abb. 2.30 [2.54] dargestellte Funktion $H_{\text{orxy}}(f_x, f_y, z)$, die von z abhängige zweidimensionale Übertragungsfunktion, berechnet werden. In der Abb. ist $\bar{\lambda}_0$ die arithmetisch über eine sehr lange Zeit gemittelte Wellenlänge der vom transparenten Selbstleuchter abgehenden quasimonochromatischen Wellen im Vakuum, und A_N (siehe auch (2.75) bei (2.99)) die Numerische Apertur der abbildenden Optik im Objektraum.

2.2.2.2.3 Zusammenfassende Diskussion

Wenn die Linearität der von verschiedenen Stellen im dreidimensionalen Objekt abgehenden Wellen ggf. durch geeignete Einschränkungen und Näherungen gegeben ist (siehe Kapitel 2.2.2.2.1.2, insbesondere [2.42] und Kapitel 2.2.2.2.2.1), dann gibt es zwei, ein wenig unterschiedliche Wege, auf denen die dreidimensional-optischen Abbildungseigenschaften berechnet werden können. Auf dem einen Weg werden die Abbildungseigenschaften direkt [2.51] berechnet. Auf dem anderen, in dieser Arbeit gewählten, Weg werden die Abbildungseigenschaften über die zweidimensional-optische Abbildung bei Defokussierung berechnet. Zwar gibt es zum zweiten, in dieser Arbeit gewählten, Weg eine ganze Reihe von Arbeiten [2.12] [2.54] [2.57] [2.9] [2.64], jedoch sind die in dieser Arbeit gewählten Schritte der detaillierten Aufbereitung bisher nicht bekannt geworden und insofern zwar nahe liegend, aber neu.

Ausgehend von den Berechnungen, die in den letzten Kapiteln mit Hilfe der wellenoptischen Beschreibung durchgeführt wurden, werden in den folgenden Kapiteln die Ergebnisse der Berechnungen diskutiert und verschiedene Zusammenhänge aufgezeigt, um eine bessere Einschätzung der Eigenschaften der dreidimensional-optischen Abbildung, gerade auch im Hinblick auf die in dieser Arbeit zur Diskussion stehenden Messverfahren, zu ermöglichen.

2.2.2.2.3.1 Die Vernachlässigung der Streuung

Bei der wellenoptischen Beschreibung der optischen Abbildung, ist Streuung im optischen Aufbau vernachlässigt (siehe Kapitel 2.2.2.2.1.1) und die Kirchhoffsche Beugungstheorie verwendet worden. Dies ist aufgrund der Abmessungen des optischen Aufbaus, mit Ausnahme des Objekts, problemlos möglich.

Nur die Vernachlässigung von Streuung im Objekt ist im allgemeinen mit Fehlern verbunden, die nicht von vorn herein vernachlässigt werden können, weil die Abmessungen der Strukturen im dreidimensionalen Objekt in der Größenordnung der verwendeten Wellenlänge liegen können (siehe Kapitel 2.2.2.2.1.2.). Falls Streuung im Hellfelddurchlichtbetrieb auftritt, führt diese normalerweise zu einer Grundhelligkeit im optischen Bild. Um sie zu vermeiden, wird der Mikroskopanwender den beleuchteten Teil des Objekts nicht zu groß und die eingesetzte Beleuchtungsapertur nicht unnötig hoch einstellen.

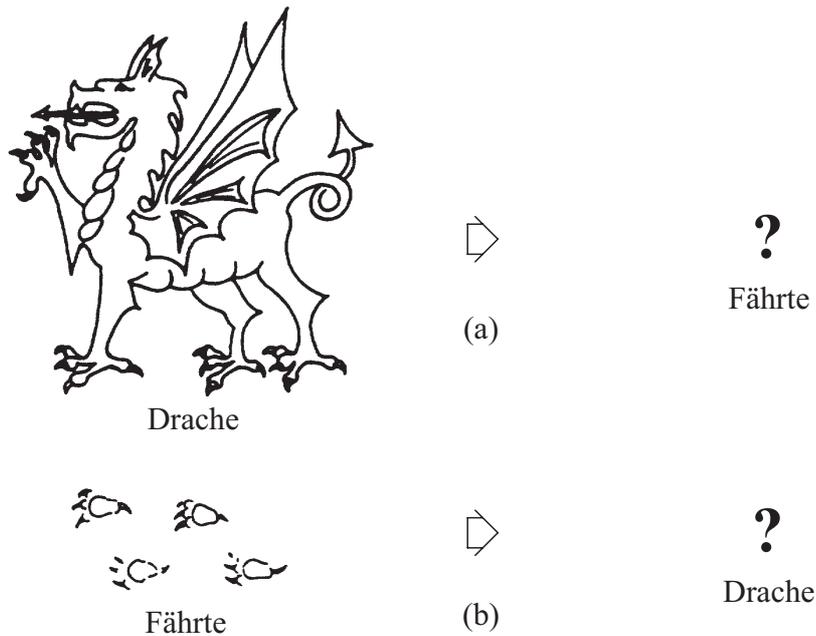


Abb. 2.31: Streuung als Problem mit einem Drachen

Andererseits muss Streuung nicht immer ein Problem sein. Streuung kann auch zur Ermittlung der Eigenschaften des Objekts genutzt werden [2.40]. So können Wellen, die durch Absorption und Streuung an kleinen, unbekanntem Partikeln entstehen, Informationen liefern, aus denen Rückschlüsse auf die Eigenschaften dieser Partikel gezogen werden können. Allerdings ist es normalerweise einfacher, ausgehend von bekannten Partikeln (Drache) die durch Absorption und Streuung dieser Partikel entstehenden Wellen (Fährte) zu berechnen (a), als umgekehrt von den durch Streuung entstandenen Wellen auf die unbekanntem Partikel (b) zu schließen (siehe Abb. 2.31).

Ein beliebig aus vielen Anwendungen herausgegriffenes Beispiel ist die Möglichkeit, Regen und Hagel aufgrund von zurückgestreuten Radarwellen zu unterscheiden. Auch die Streuung durch Partikel auf einer reflektierenden Oberfläche erlaubt Rückschlüsse auf die Partikel [2.65]. Dafür ist die Waferinspektion in der Halbleiterindustrie [2.66] ein typisches Beispiel. Um Streuung in der Lichtmikroskopie zu nutzen, wird das Mikroskop im Dunkelfeldbetrieb eingesetzt. Dazu wird es mit Blenden in den Pupillen so modifiziert, dass nur Wellen, die durch Streuung entstanden sind, abgebildet werden. So lässt sich im Dunkelfeldauflichtbetrieb z. B. die Streuung von Partikeln auf einer reflektierenden Oberfläche untersuchen.

2.2.2.2.3.2 Vergleich der effektiven Integrationsgebiete

Falls, wie in dieser Arbeit, die Kirchhoffsche Beugungstheorie zur wellenoptischen Beschreibung der optischen Abbildung verwendet wird, können viele Eigenschaften der dreidimensional-optischen Abbildung anhand der effektiven Integrationsgebiete (siehe Abb. 2.19 und Abb. 2.27) veranschaulicht werden.

Ein Vergleich dieser Integrationsgebiete zeigt, dass in der Abb. 2.27 die Mittelpunkte O^* und O^{**} punktsymmetrisch zum Ursprung des Koordinatensystems liegen, während dies in der Abb. 2.19 bezüglich der Mittelpunkte O' und O'' nicht der Fall ist. Darüber hinaus wird das Integrationsgebiet für den Hellfelddurchlichtbetrieb von der Apertur der Beleuchtungseinrichtung mit der Kreisfläche C''' begrenzt. Damit unterscheidet sich die Übertragungsfunktion für die optische Abbildung im Hellfelddurchlichtbetrieb (siehe Abb. 2.20 bis Abb. 2.25) von der für die optische Abbildung von transparenten Selbstleuchtern (siehe Abb. 2.29).

Interessanterweise unterscheiden sich die beiden Übertragungsfunktionen auch dann voneinander, wenn im Hellfelddurchlichtbetrieb ein absorbierendes Objekt verwendet wird und die Beleuchtungsapertur etwa gleich der objektseitigen Numerischen Apertur der abbildenden Optik ist (siehe Abb. 2.24 und Abb. 2.29). Auch eine deutliche Erhöhung der Numerischen Apertur der Beleuchtungseinrichtung führt nicht dazu, dass die Übertragungsfunktionen gleich werden (siehe Abb. 2.19 und Abb. 2.27). Allerdings werden die Übertragungsfunktionen immer ähnlicher und deshalb in vielen Fällen näherungsweise gleich gesetzt.

Beide Abbildungen (Abb. 2.19 und Abb. 2.27) zeigen, dass das effektive Integrationsgebiet für hohe Beträge von f_l und g_l zu Null wird. So besitzt die optische Abbildung Cut-off-Frequenzen, oberhalb derer keine spektralen Anteile des Objekts in das Bild der optischen Abbildung übertragen werden.

Ganz allgemein gilt, dass bei allen optischen Abbildungen solche Cut-off-Frequenzen auftreten [2.67] (siehe Abb. 2.20 bis Abb. 2.25 und Abb. 2.29), und zwar in allen drei Ortsfrequenzdimensionen. Außerhalb dieser Cut-off-Frequenzen tritt nur noch Streuung auf, die sich optisch ganz anders verhält (siehe Kapitel 2.2.2.2.3.1).

2.2.2.2.3.3 Der Einfluss der Beleuchtungseinrichtung

Aufgrund der Eigenschaften des Entstehungsprozesses besteht keine Kohärenz zwischen den Wellen, die von verschiedenen leuchtenden Punkten im transparenten Selbstleuchter abgehen. Deshalb interferieren in der Bildebene auch diese Wellen nicht miteinander. Damit erfüllt die dreidimensional-optische Abbildung transparenter Selbstleuchter von vorn herein die Bedingung für lineare Überlagerung gemäß (2.6), und zwar ohne dass Einschränkungen oder Näherungen erforderlich sind.

Dies ist im Hellfelddurchlichtbetrieb anders. Hier besitzen die Wellen, die im Objektraum ankommen und damit auch die Wellen die vom Objekt abgehen, eine partielle Kohärenz. Deshalb müssen, wie im Kapitel 2.2.2.2.1.2 ausgeführt, eine Einschränkung durchgeführt und verschiedene Näherungen verwendet werden, um zu einem linearen Verhalten und zu einer linearen Beschreibung der dreidimensional-optischen Abbildung im Hinblick auf die Bildung eines linearen Modells zu kommen.

Diese Zusammenhänge sollen in den folgenden Kapiteln veranschaulicht werden.

2.2.2.2.3.3.1 Der nicht transparente Schirm mit einem Pinhole als Objekt

Das erste Objekt, dessen beugungsbegrenzte optische Abbildung in diesem Zusammenhang untersucht wird, ist ein nicht transparenter, schwach und diffus reflektierender, ausgedehnt senkrecht zur optischen Achse liegender, ebener Schirm mit einem Pinhole, dessen Öffnungsdurchmesser deutlich kleiner ist als die verwendete Wellenlänge. Dieses Objekt soll im Hellfelddurchlichtbetrieb und mit einem optischen Aufbau, wie er in der Abb. 2.17 gezeigt ist, abgebildet werden. Dabei sollen Effekte durch Streuung genauso vernachlässigt werden, wie Effekte durch Polarisation.

Vom Pinhole dieses Objekts gehen Kugelwellen ab, die im optischen Aufbau gebeugt werden. Wenn die so durch Beugung entstandenen Wellen bei der Bildebene ankommen, dann erzeugen sie dort das optische Bild des Pinholes, ohne dabei mit anderen Wellen zu interferieren. Deshalb ändert sich die Form dieses optischen Bildes nie abhängig von der Kohärenzfunktion der Beleuchtungseinrichtung im Objektraum. Es ändert sich höchstens die Intensität dieses optischen Bildes.

Da die Kohärenzfunktion der durch die Beleuchtungseinrichtung in der Objektebene erzeugten Wellen im allgemeinen Auswirkungen auf die dreidimensional-optische Abbildung hat (siehe z. B. Abb. 2.20, Abb. 2.22 und Abb. 2.24), gehört die optische Abbildung des Pinholes nicht zu den in diesem Sinn allgemeinen Fällen.

Auch von einem einzelnen, leuchtenden Punkt in einem transparenten Selbstleuchter gehen Kugelwellen ab, die im optischen Aufbau gebeugt werden. Die so durch Beugung entstandenen Wellen erzeugen, wenn sie bei der Bildebene ankommen, ein Bild des leuchtenden Punkts. Auch hier interferieren die Wellen, wenn sie an der Bildebene ankommen, nicht mit anderen Wellen.

Da bei der dreidimensional-optischen Abbildung des Pinholes und bei der dreidimensional-optischen Abbildung eines leuchtenden Punktes im transparenten Selbstleuchter der gleiche physikalische Vorgang stattfindet, erzeugen beide das gleiche Bild, nämlich ein Airy [2.68] - Scheibchen [2.30].

2.2.2.2.3.3.2 Die zweidimensional-optische Abbildung zweier kleiner Punkte

Ohne auf die zugrunde liegenden Berechnungen näher einzugehen, soll im zweiten Beispiel [2.69] [2.31] eine normale, beugungsbegrenzte zweidimensional-optische Abbildung von zwei Punkten im Hellfelddurchlichtbetrieb, wie er in der Abb. 2.17 gezeigt ist, beschrieben werden. Effekte durch Streuung und durch Polarisation werden wieder vernachlässigt. In diesem Beispiel werden zwei Fälle unterschieden.

Im ersten Fall sind die Wellen, die von den beiden Punkten in der Objektebene abgehen inkohärent zueinander, wie dies z. B. bei der optischen Abbildung von Doppelsternen durch Teleskope der Fall ist. Hier kann zur Ermittlung der Auflösung das Rayleigh [2.70] - Kriterium herangezogen werden. Nach diesem Kriterium gelten die optischen Bilder zweier

Objektpunkte, von denen zueinander inkohärente Wellen abgehen, als aufgelöst, wenn das geometrisch-optische Bild des einen Punkts im ersten dunklen Ring des Beugungsbildes des anderen Punkts liegt. In der Mitte zwischen den beiden geometrisch-optischen Bildpunkten ergibt sich dann eine Intensität, die um 26,4% geringer ist als die maximale, an den beiden geometrischen Bildpunkten auftretende.

Der Abstand ρ_1 , bei dem die beiden Bildpunkte im ersten Fall das Rayleigh-Kriterium erfüllen, beträgt

$$\rho_1 = 0,61 \frac{\bar{\lambda}}{A_{NI}} \quad . \quad (2.104)$$

Dabei ist $\bar{\lambda}$ die arithmetisch über eine sehr lange Zeit gemittelte Wellenlänge und A_{NI} die Numerische Apertur auf der Bildseite der optischen Abbildung.

Im zweiten Fall befinden sich an den beiden Punkten in der Objektebene zwei im Vergleich zu $\bar{\lambda}$ kleine Löcher in einem nicht transparenten, ausgedehnt senkrecht zur optischen Achse liegenden, ebenen Schirm. Diese Löcher liegen in der Größenordnung von $\bar{\lambda}$ nahe beieinander und werden durch eine Beleuchtungseinrichtung beleuchtet. Jetzt besitzen die von den beiden Punkten abgehenden Wellen im Allgemeinen eine partielle Kohärenz, die von der Numerischen Apertur des Kondensors in der Beleuchtungseinrichtung und vom Abstand der beiden Löcher abhängig ist.

Um das Rayleigh-Kriterium auch im zweiten Fall anwenden zu können, soll statt dem Abstand in (2.104) der Abstand

$$\rho_2 = K(s) \frac{\bar{\lambda}}{A_{NI}} \quad (2.105)$$

definiert werden, bei dem die Intensität in der Mitte zwischen den beiden geometrisch-optischen Bildpunkten um 26,4% geringer ist, als die maximale, an den beiden geometrischen Bildpunkten auftretende Intensität. In (2.105) ist $K(s)$ eine Funktion, die von

$$s = \frac{A_{NB}}{A_N} \quad , \quad (2.106)$$

dem Verhältnis der Numerischen Apertur der Beleuchtungseinrichtung A_{NB} und der Numerischen Apertur der abbildenden Optik auf der Objektseite A_N , abhängt.

Um die Auflösung in den beiden Fällen miteinander vergleichen zu können, zeigt die Abb. 2.32 zum einen mit einer durchgezogenen Linie den Graph der Funktion $K(s)$ und zum Vergleich mit einer gestrichelten Linie den Faktor 0,61 aus (2.104). Die Abb. veranschaulicht, dass für $s < 1$ der Wert $K(s)$ größer als 0,61 und deshalb mit (2.105) ρ_2 größer als ρ_1 ist. Dies zeigt, dass bei gleicher Numerischer Apertur A_N der abbildenden Optik die Auflösung zweier Punkte, von denen inkohärente Wellen abgehen, besser ist als die Auflösung zweier kleiner,

nahe beieinander liegender Löcher, die von einer Beleuchtungseinrichtung beleuchtet werden, deren Wellen in der Objektebene eine partielle Kohärenz mit $s < 1$ besitzen.

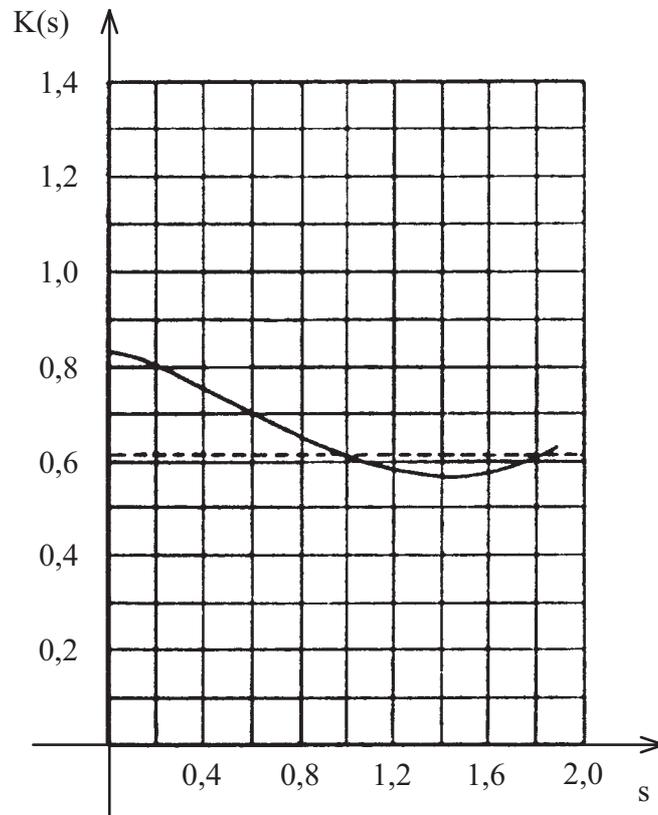


Abb. 2.32: Der Graph der Funktion $K(s)$

Interessanterweise führt eine Erhöhung der Numerischen Apertur A_{NB} der Beleuchtungseinrichtung bzw. des Verhältnisses s auf etwa 1,5 dazu, dass bei partiell kohärenter Beleuchtung die Auflösung zweier Objektpunkte gemäß dem gerade festgelegten Rayleigh-Kriterium für partielle Kohärenz besser ist, als die Auflösung von zwei Objektpunkten, von denen inkohärente Wellen abgeben.

So gesehen müssten Mikroskopbenutzer im Hellfelddurchlichtbetrieb eine Numerische Apertur des Kondensors verwenden, die um etwa den Faktor 1,5 größer ist als die der abbildenden Optik. Vor allem weil bei einer solch hohen Numerischen Apertur des Kondensors viel Streulicht auftritt, das die Grundhelligkeit im Bild erhöht und so z. B. dunkle Bildstellen überstrahlt und nutzbare Auflösung reduziert, wird meist eine Numerische Apertur des Kondensors eingestellt, die bei etwa $2/3$ und nicht über der Numerischen Apertur der abbildenden Optik liegt.

Aus einer anderen Perspektive zeigt das Beispiel, dass sich im Hellfelddurchlichtbetrieb die Form des Bilds von zwei nahe beieinander liegenden Löchern abhängig von der Kohärenz der Beleuchtungseinrichtung ändern muss. Nur wenn die Löcher so weit voneinander entfernt sind, dass zwischen den von den beiden Löchern abgehenden Wellen keine Kohärenz mehr auftritt, dann ist auch die Form des Bilds nicht mehr abhängig von der Kohärenzfunktion der Beleuchtungseinrichtung im Objektraum.

Dieses Beispiel zeigt im Übrigen auch, dass die Ortsinvarianz der Punktantwort für solche Objekte nicht erfüllt ist, die aus einem nicht oder nur sehr schwach transparenten Schirm bestehen, der wenige kleine, beliebig verteilte Löcher besitzt. Dabei stellt sich auch die Frage, ob es sinnvoll ist, die Ortsinvarianz der Punktantwort für solch spezielle Objekte zu untersuchen.

2.2.2.2.3.3.3 Die Linearisierung durch inkohärente Beleuchtung

Es hat sich gezeigt, dass für den Hellfelddurchlichtbetrieb im allgemeinen eine Einschränkung durchgeführt und Näherungen verwendet werden müssen, um ein lineares Modell der dreidimensional-optischen Abbildung zu erreichen. Eine wichtige Ursache dafür ist, dass die Wellen, die von der Beleuchtungseinrichtung am Objekt ankommen, partiell kohärent sind. Dies bedeutet umgekehrt, dass eine inkohärente Beleuchtung die Linearisierung der dreidimensional-optischen Abbildung vereinfacht.

Eine nur selten eingesetzte Möglichkeit, eine inkohärente Beleuchtung des Objekts zu erreichen, ist die, statt einer Beleuchtungseinrichtung mit einem Kondensator, wie dies in der Lichtmikroskopie üblich ist und auch in dieser Arbeit gemacht wird (siehe Abb. 2.4), eine Beleuchtungseinrichtung mit einer Ulbricht [2.71] - Kugel zu verwenden, wobei die Ulbricht-Kugel direkt hinter dem Objekt angeordnet wird.

Die Ulbricht-Kugel besitzt einen hohlen Innenraum und eine weiße, möglichst schwach absorbierende Kugelinnenwand. An einer Seite der Kugel ist eine Quelle angebracht, von der Wellen in den Innenraum der Kugel abgehen. Nach vielfacher Beugung und Streuung an der Kugelinnenwand gehen von einer Öffnung in der Kugelwand Wellen nach außen ab. Durch die vielfache Beugung und Streuung an der Kugelinnenwand besitzen die Wellen, die von der Ulbricht-Kugel nach außen abgehen, keine Kohärenz mehr. [2.72] In den meisten Fällen wird die Ulbricht-Kugel jedoch nicht für Beleuchtungseinrichtungen, sondern zur Messung von Intensitäten bzw. Bestrahlungsstärken verwendet (engl. „collecting sphere“).

Wenn eine Beleuchtungseinrichtung mit einer Ulbricht-Kugel für die optische Abbildung eingesetzt wird, dann sind die Wellen, die am Objekt ankommen praktisch völlig inkohärent zueinander. Damit können die Wellen, die vom Objekt wieder abgehen, nicht mehr miteinander interferieren.

In der Lichtmikroskopie wird die Ulbricht-Kugel praktisch nicht eingesetzt, weil mit ihr ein „Verdichten“ der von der Beleuchtungseinrichtung abgegebenen Wellen in den Objektraum hinein wie beim Kondensator nur sehr schwer möglich ist. Falls das „Verdichten“, also die Beleuchtung von nur dem Teil des Objekts, das mit der optischen Abbildung betrachtet wird, nicht gelingt, müsste das Streulicht aus anderen Teilen des Objekts und die sich daraus ergebende Grundhelligkeit im Bild akzeptiert werden, was man jedoch in den allermeisten Fällen nicht tun wird.

Einen anderen Ansatz macht die DIN 58 185 [2.73] und auch der BS 4779 [2.74], die beide Festlegungen für Messungen mit stark absorbierenden zweidimensionalen Objekten, wie z. B. mit zweidimensionalen Gittern, durchführen. Um ein lineares Verhalten zu erreichen, fordern

beide eine „hinreichende Inkohärenz“ durch eine hohe Numerische Apertur der Beleuchtungseinrichtung. Damit wird die Punktantwort der dreidimensional-optischen Abbildung im Hellfelddurchlichtbetrieb näherungsweise gleich der Punktantwort für transparente Selbstleuchter. Dieser Ansatz ist von vorn herein mit gewissen Fehlern [2.75] verbunden (siehe Kapitel 2.2.2.2.3.2), die jedoch in vielen Fällen akzeptiert werden können. Der große Vorteil dieses Ansatzes liegt darin, dass er zumindest im Rahmen einer Näherung ein lineares Verhalten erreicht.

Da jedoch in dieser Arbeit die Kohärenzfunktion der Wellen, die von der Beleuchtungseinrichtung abgegangen sind und die bei der Objektebene ankommen, berücksichtigt werden soll, und zwar sowohl bei der Modellbildung als auch für die Messung der Abbildungseigenschaften, führt die Verwendung einer Ulbricht-Kugel genauso wenig weiter wie die Näherung durch die Annahme einer hinreichender Inkohärenz. Dies ist für diese Arbeit von zentraler Bedeutung. Für den Hellfelddurchlichtbetrieb bleibt so als einzige Möglichkeit, eine Einschränkung auf schwach beugende Objekte (siehe Kapitel 2.2.2.2.1.2, ferner Kapitel 2.2.2.1.1.1) [2.44] [2.45] vorzunehmen.

2.2.2.3 Zusammenfassende Diskussion

In der ersten Hälfte des Kapitels 2.2.2 über die Modellbildung der dreidimensional-optischen Abbildung sind mit Hilfe der geometrisch-optischen Näherung grundlegende Eigenschaften der optischen Abbildung ermittelt worden. Dabei sind die Linearität und die Ortsinvarianz der dreidimensional-optischen Abbildung überprüft, und die Gleichungen zur Modellbildung und zur Berechnung der Punktantwort bzw. der Übertragungsfunktion erstellt worden. Um die Eigenschaften der optischen Abbildung genauer zu erfassen, sind anschließend, in der zweiten Hälfte des Kapitels 2.2.2, die Eigenschaften der dreidimensional-optischen Abbildung mit einer wellenoptischen Beschreibung unter Verwendung der Kirchhoffschen Beugungstheorie genauer berechnet worden.

In den wesentlichen, bekannt gewordenen Arbeiten [2.76] [2.37] [2.77] wird aus der optischen Abbildung eines experimentellen Aufbaus ein systemtheoretisches Modell gebildet, bei dem Intensitäten bzw. Kohärenzfunktionen in der Objektebene bzw. im Objektraum auftreten, die Eigenschaften der optischen Abbildung im systemtheoretischen Modell zu einer Transmission bzw. zu einer mit der Transmission verwandten Funktion werden, und im zweidimensionalen bzw. dreidimensionalen Bild wieder Intensitäten auftreten. Dabei wird typischerweise eine Vergrößerung der optischen Abbildung von Eins gewählt. Eine solche Modellbildung ist für diese Arbeiten sicherlich angemessen, da sie sich mit der optischen Abbildung beschäftigen.

Anders ist die Situation in dieser Arbeit: Das hier vorgestellte Messverfahren ist unabhängig von der Realisierung der einzelnen Komponenten, z. B. von den optischen Eigenschaften der Aufnahmeeinheit. Im systemtheoretischen Modell dieser Arbeit wird nur untersucht, wie das Signal des Objekts durch die Übertragungsglieder übertragen wird. Deshalb treten im systemtheoretischen Modell (siehe Abb. 2.3) dieser Arbeit nur Signale auf, die die Größen des Objekts, also Realteil und Imaginärteil des komplexen Brechungsindex bzw. räumliche

spezifische Ausstrahlung besitzen. Die in dieser Arbeit vorgenommene systemtheoretische Modellbildung ist zwar nahe liegend, aber bisher nicht bekannt geworden und deshalb neu.

Aufgrund der durchgeführten Berechnungen zeichnen sich zwei wesentliche Schwächen der dreidimensional-optischen Abbildung ab. Die eine Schwäche zeigt sich in dem doppelkegelförmigen, rotationssymmetrisch um die f_z -Achse liegenden Volumen, in dem die Beträge der Übertragungsfunktion für alle in dieser Arbeit verwendeten dreidimensional-optischen Abbildungen zu Null werden (siehe Abb. 2.10, Abb. 2.20 bis Abb. 2.25 und Abb. 2.29). Die zweite wesentliche Schwäche liegt darin, dass im Hellfelddurchlichtbetrieb eine Einschränkung durchgeführt und verschiedene Näherungen verwendet werden müssen (siehe Kapitel 2.2.2.2.1.2, ferner Kapitel 2.2.2.2.3.3 und auch Kapitel 2.2.2.1.1.1), um ein lineares, systemtheoretisches Modell bilden zu können.

Obwohl sich manche dieser Fehler in einem gewissen Umfang durch eine lineare Restauration kompensieren [2.64] [2.78] lassen, wie dies auch im Kapitel 5 dieser Arbeit diskutiert werden soll, bleibt die Frage, ob es angesichts der gerade geschilderten Schwächen nicht Modifikationen der dreidimensional-optischen Aufnahmeeinheit oder gar alternative Aufnahmeeinheiten gibt, mit denen sich bereits in der Aufnahmeeinheit Verbesserungen erreichen lassen.

Zunächst sind hier vor allem die in der Lichtmikroskopie bekannten Modifikationen, die zu Dunkelfeldbetrieb, Differential-Interferenz-Kontrast usw. führen, oder auch die konfokalen Verfahren zu nennen. Darüber hinaus zeichnen sich die folgenden Verbesserungsmöglichkeiten ab.

Eine ganz einfache Modifikation der dreidimensional-optischen Aufnahmeeinheit ist die, die dreidimensionale Aufnahme nicht durch eine Verschiebung des Objekts in z-Richtung zu erreichen, sondern dadurch, dass, möglicherweise mit einer weiteren Optik, auf der Bildseite der zweidimensional-optischen Abbildung Teilerspiegel so angeordnet werden, dass die gleichzeitige Aufnahme zweidimensional-optischer Bilder aus verschiedenen z-Ebenen im Objekt mit verschiedenen zweidimensionalen Sensoren möglich wird. Auf diese Weise lässt sich nicht nur eine videoschnelle, dreidimensionale Aufnahme ermöglichen, sondern es lässt sich ggf. auch der gewünschte Abstand der Ebenen im dreidimensionalen Objekt konstruktiv leichter verwirklichen. Allerdings sind die hohen Kosten eines solchen Aufbaus ein Nachteil.

Man kann auch versuchen, die Eigenschaften der dreidimensional-optischen Abbildung durch Zentralblenden in der Pupille der abbildenden Optik [2.79] oder auch durch Zentralblenden in der Pupille der Beleuchtungseinrichtung [2.80] zu verbessern, um entweder eine Auflösungsverbesserung oder eine Verbesserung des Signal / Rausch - Abstands zu erhalten. Dies ist auch eine Motivation für diese Arbeit gewesen. Darüber hinaus können durch solche Maßnahmen die Eigenschaften der optischen Abbildung an die durch die konkrete Anwendung gestellten Erfordernisse angepasst [2.79] werden.

Auf der anderen Seite können grundsätzliche Alternativen Verbesserungen bringen. Unter Verwendung einer dazu geeigneten alternativen Aufnahmeeinheit lässt sich so möglicherweise die Streuung im Objekt nutzen, um aus den Wellen, die durch Streuung entstanden sind, Rückschlüsse auf das Objekt zu ziehen [2.40] [2.81] [2.82] [2.83] [2.84] [2.85]. Schließlich soll noch auf holographische Verfahren [2.86] hingewiesen werden.

Außer den bekannten Modifikationen der dreidimensional-optischen Aufnahmeeinheit und den alternativen Aufnahmeeinheiten, die gerade teilweise aufgeführt worden sind, sind bei der Anfertigung dieser Arbeit Ansätze für neue Aufnahmeeinheiten entstanden, die im folgenden kurz skizziert werden sollen.

Um im Hellfelddurchlichtbetrieb die Einschränkung auf schwach beugende Objekte zu vermeiden, lässt sich möglicherweise ein tomographisches Verfahren für die groben Objektstrukturen entwickeln [2.87], das für die feinen, dann schwach beugenden Objektteile durch ein lineares Verfahren ergänzt wird, wie es in dieser Arbeit für die dreidimensional-optische Aufnahmeeinheit und für die sich daran anschließende Restauration eingesetzt wird.

Eine Analyse der Abb. 2.20 bis Abb. 2.25 im Hinblick auf alternative Aufnahmeeinheiten zeigt, dass die Übertragungsfunktionen für absorbierende Objekte immer die Symmetrie

$$H_{\text{OnI}}(f_x, f_y, f_z) = H_{\text{OnI}}(f_x, f_y, -f_z) \quad (2.107)$$

und die Übertragungsfunktionen für Phasenobjekte immer die Symmetrie

$$H_{\text{OnR}}(f_x, f_y, f_z) = -H_{\text{OnR}}(f_x, f_y, -f_z) \quad (2.108)$$

besitzen, wobei die Beträge der Übertragungsfunktion für Phasenobjekte bei größer werdenden Beleuchtungsaperturen immer kleiner werden. Möglicherweise lässt sich aus diesen Symmetrieeigenschaften (2.107), (2.108) und der Eigenschaft der immer kleiner werdenden Beträge eine neue, alternative optische Aufnahmeeinheit bilden (siehe auch [2.88]).

Die Schwäche der dreidimensional-optischen Abbildung durch das eingangs erwähnte doppelkegelförmige Volumen, in dem die Beträge der Übertragungsfunktionen zu Null werden, lässt sich möglicherweise dadurch beheben, dass zunächst das Objekt unter der dreidimensional-optischen Abbildung gedreht wird, um dabei eine Serie von dreidimensionalen Aufnahmen zu erhalten. Diese Serie müsste sich im Ortsfrequenzbereich mit Hilfe eines weiterentwickelten Wiener [2.89] [2.90] - Filters [2.91] zu einer einzigen Aufnahme zusammenfügen lassen, die im Ortsfrequenzbereich innerhalb eines annähernd kugelförmigen Volumens die Werte des dreidimensionalen Objekts enthält.

Am Ende dieses Kapitels bleibt festzuhalten, dass es eine ganze Reihe von Verfahren, Ansätzen und Ideen gibt, mit denen entweder die dreidimensional-optische Abbildung durch das Lichtmikroskop verbessert werden kann oder mit denen alternative Aufnahmeeinheiten entwickelt werden können.

2.2.3 Sensor und Elektronik in der Aufnahmeeinheit

Der Sensor und die Elektronik in der Aufnahmeeinheit bilden eine weitere Komponente des experimentellen Aufbaus (siehe Abb. 2.3). Zur Veranschaulichung zeigt die Abb. 2.33 drei Bilder von Teilen, die in dieser Arbeit typischerweise zur experimentellen Realisierung dieser Komponente eingesetzt worden sind. Zunächst zeigt die Abb. links eine geöffnete CCD-Kamera mit der darin eingebauten Elektronik. Das Videosignal aus der Kamera gelangt über ein Koaxialkabel (Mitte) in eine im Rechner eingebaute Bildspeicherkarte. Der Analogteil und der A/D-Wandler auf der Bildspeicherkarte sind in der Abb. rechts gezeigt.

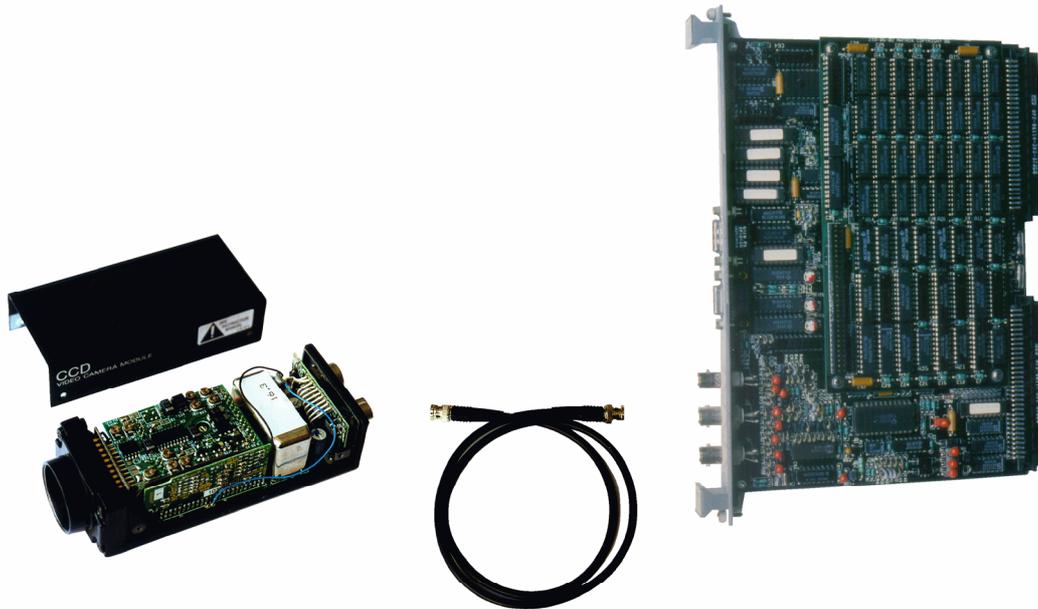


Abb. 2.33: CCD-Kamera und Bildspeicherkarte

Um ihr Verhalten zu beschreiben, wird die Komponente aufgeteilt in den CCD-Sensor, die Analogelektronik und in den A/D-Wandler.

2.2.3.1 Das Verhalten des CCD-Sensors

Die Abb. 2.34 zeigt den Interlinetransfer-CCD-Sensor, kurz Interline-CCD-Sensor, der in der Abb. 2.33 gezeigten Kamera und eine Skizze zur Anordnung der Sensorelemente, kurz Sels [2.92].

Wie in der Abb. 2.4 des Kapitels 2.2.2 dargestellt, liegt die Bildebene des zweidimensional-optischen Bilds in der Ebene Z_8 . In der Bildebene (siehe Abb. 2.6) liegt das Koordinatensystem mit den Achsen für x_1 und y_1 . Der Ursprung des Koordinatensystems ist auf der optischen Achse.

Das zweidimensional-optische Bild wird durch den CCD-Sensor abgetastet. Dabei wird eine Nummerierung der Spalten mit steigendem i_{Sel} in x_I -Richtung und eine Nummerierung der Sensorzeilen mit steigendem j_{Sel} in y_I -Richtung durchgeführt. Außerdem liegt das Sensorelement $i_{\text{Sel}} = 0, j_{\text{Sel}} = 0$ auf der optischen Achse (siehe Abb. 2.4). Die Anzahl der empfindlichen Sensorelemente in i_{Sel} - und j_{Sel} -Richtung, jeweils von einer Seite des CCD-Sensors zur anderen, ist n_{Seli} bzw. n_{Selj} . Dies führt dazu, dass die x -Koordinate für den Objektraum im normalen Videobild nach rechts und die y -Koordinate nach oben gerichtet ist. Damit läuft außerdem die Zählung der Sensorelemente so, wie das von der Kamera aufgenommene Bild mit dem Videosignal an einen Monitor gegeben und dort traditionell von oben links nach unten rechts angezeigt wird, also mit steigendem i_{Sel} auf dem Videobild nach rechts und bei steigendem j_{Sel} auf dem Videobild nach unten.

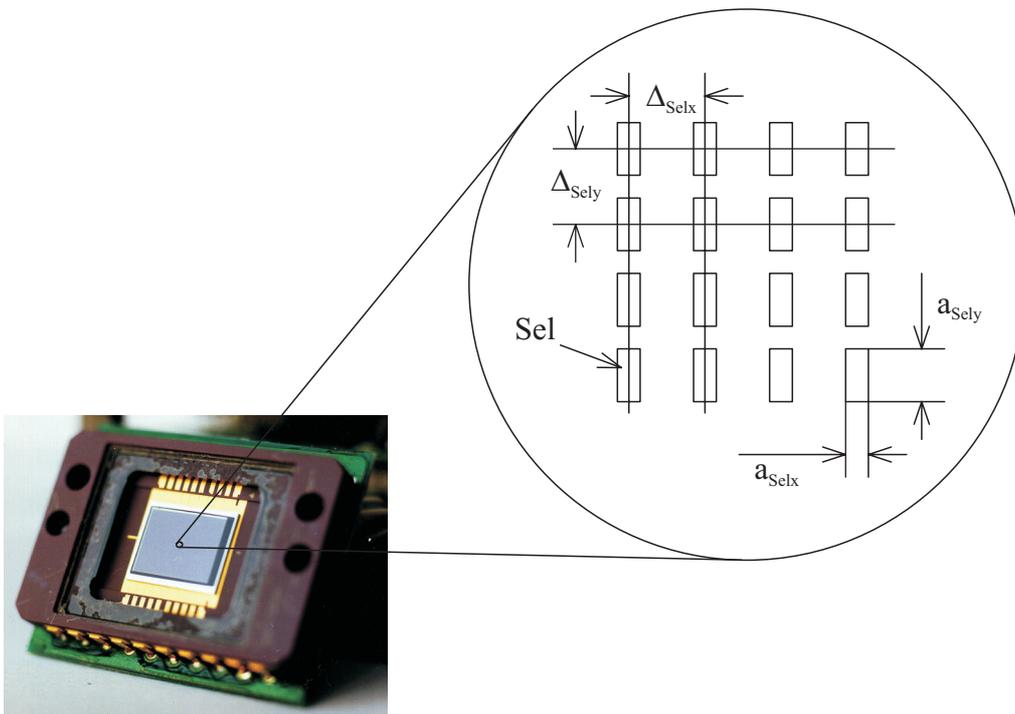


Abb. 2.34: Der CCD-Sensor

Wie die Skizze in der Abb. 2.34 zeigt, sind Δ_{Selx} und Δ_{Sely} die immer positiven geometrischen Abtastabstände des CCD-Sensors (engl. „pitch“) also die Abstände der Mittelpunkte von zwei benachbarten Sensorelementen in x_I - bzw. y_I -Richtung. Diese geometrischen Abtastabstände sind über dem ganzen CCD-Sensor bei einem vernachlässigbaren Fehler konstant [2.92]. Schließlich sollen die immer positiven Abmessungen der geometrischen Apertur eines Sensorelements in x_I - und y_I -Richtung a_{Selx} bzw. a_{Sely} sein. Die Tab. 2.3 zeigt typische Werte für die Größen eines CCD-Sensors.

Bei der Aufnahme des optischen Bilds durch den CCD-Sensor geschieht dann Folgendes: Die in die geometrische Apertur eines Sensorelements eindringenden Photonen lösen in einem wenige μm dicken Volumen Elektronen aus ihren Bindungen. Diese Elektronen werden häufig Photoelektronen genannt und laden die Kapazität des Sensorelements auf. Da nicht alle an der geometrischen Apertur eines Sensorelements ankommenden Photonen zu Photoelektronen werden, lässt sich ein über eine sehr lange Zeit arithmetisch gemitteltes Verhältnis

Q zwischen der Photoelektronenrate und der Photonenrate angeben, das als Quantenausbeute bezeichnet und in vielen Fällen auch in Prozent angegeben wird.

Eigenschaft	Größe	Wert		
		min.	typ.	max.
geometrischer Abtastabstand in x_I -Richtung	Δ_{Selx}	$5\mu\text{m}$		$25\mu\text{m}$
geometrischer Abtastabstand in y_I -Richtung	Δ_{Sely}	$3\mu\text{m}$		$15\mu\text{m}$
geometrische Apertur eines Sensorelements in x_I -Richtung <ul style="list-style-type: none"> • Frametransfer-CCD-Sensor • Interlinetransfer-CCD-Sensor • Fullframe-CCD-Sensor 	a_{Selx}		$1 \cdot \Delta_{\text{Selx}}$ $1/3 \cdot \Delta_{\text{Selx}}$	$1 \cdot \Delta_{\text{Selx}}$
geometrische Apertur eines Sensorelements in y_I -Richtung <ul style="list-style-type: none"> • Frametransfer-CCD-Sensor • Interlinetransfer-CCD-Sensor • Fullframe-CCD-Sensor 	a_{Sely}		$1 \cdot \Delta_{\text{Sely}}$ oder $2 \cdot \Delta_{\text{Sely}}$ bei field integration $0,6 \cdot \Delta_{\text{Sely}}$ oder $1,6 \cdot \Delta_{\text{Sely}}$ bei field integration	$1 \cdot \Delta_{\text{Sely}}$
Anzahl der Sensorelemente in i_{Sel} -Richtung	n_{Seli}		750	ca. 4000
Anzahl der Sensorelemente in j_{Sel} -Richtung	n_{Selj}		500	ca. 4000
zeitliche Apertur	a_t	ca. 10^{-5}s	40ms	ca. 10^4s
maximale, durch die Kapazität eines Sensorelements speicherbare Anzahl von Photoelektronen	n_{emax}		ca. 300 000	
Standartabweichung der Ausleseunsicherheit	σ_A		ca. 30	
von der Wellenlänge abhängige Quantenausbeute	Q		0,5	0,85

Tab. 2.3: Typische Werte für die Größen eines CCD-Sensors

Wie eine im Rahmen der Anfertigung dieser Arbeit durchgeführte Messung gezeigt hat, ist die Quantenausbeute der Sensorelemente genau so wie ihre geometrische Apertur bei einem vernachlässigbaren Fehler über dem ganzen Sensor gleich. Dies ist für CCD-Sensoren mit der hier verwendeten Anzahl von Sensorelementen inzwischen üblich.

Aufgrund der Konstruktion des CCD-Sensors ist die Anzahl der Photoelektronen, die durch die Kapazität eines Sensorelements gespeichert werden kann, auf eine maximale Anzahl n_{emax} begrenzt. Nachdem ein Bild innerhalb einer zeitlichen Apertur a_t aufgenommen worden ist, werden die Ladungen der Sensorelemente im CCD-Sensor fast ohne Verluste von Photoelektronen verschoben, um sie anschließend seriell auslesen zu können. Abhängig

davon, wie die Ladungen im CCD-Sensor verschoben werden, unterscheidet man Frametransfer-, Interlinetransfer- und Fullframe-CCD-Sensoren.

Beim Auslesen kann die Anzahl der Photoelektronen eines Sensorelements aus grundsätzlichen physikalischen Gründen nicht exakt erfasst werden. Es tritt eine Ausleseunsicherheit auf, die zu Ausleserauschen führt. Falls die Ausleseunsicherheit deutlich größer als ein paar Photoelektronen ist, kann sie bei einem vernachlässigbaren Fehler mathematisch durch einen Gaußprozess mit der Standardabweichung σ_A beschrieben werden.

Zum Schluss soll noch auf den folgenden Zusammenhang hingewiesen werden: Da die Photonen in Photoelektronen umgesetzt werden, die die Kapazität des Sensorelements aufladen und damit die Spannung an dieser Kapazität erhöhen, ist die Spannung für ein Sensorelement am Ausgang des CCD-Sensors proportional zur Anzahl der Photonen, die innerhalb der zeitlichen Apertur a_t an der geometrischen Apertur des Sensorelements angekommen sind. Damit sind die Spannung am Ausgang der CCD-Kamera und auch die Werte der Aufnahmen im Rechner proportional zur Photonennrate also letztlich proportional zur optischen Leistung.

2.2.3.1.1 Das Rauschen bei der Aufnahme durch den CCD-Sensor

Bei der Aufnahme von Bildern durch einen CCD-Sensor führt sowohl der Photonencharakter der durch den Sensor erfassten elektromagnetischen Wellen als auch die Ausleseunsicherheit im CCD-Sensor zu Rauschen in der Aufnahme.

Um das Photonenrauschen mathematisch zu beschreiben [2.93] [2.94] [2.95], soll die analytische, reelle Größe $\bar{r}_e(i_{\text{Sel}}, j_{\text{Sel}}, k_{\text{Sel}})$ diejenige rauschfreie Photonennrate sein, die durch das Sensorelement $i_{\text{Sel}}, j_{\text{Sel}}$ für die Aufnahme mit der fortlaufenden Aufnahme­nummer k_{Sel} erfasst wird. Diese Photonennrate bezieht sich auf die geometrische Apertur des Sensorelements $i_{\text{Sel}}, j_{\text{Sel}}$ und ist das arithmetische Mittel über der zeitlichen Apertur der Aufnahme k_{Sel} .

Für die folgenden Berechnungen besitzt jedes Sensorelement $i_{\text{Sel}}, j_{\text{Sel}}$ mehrere, mit den Indizes $\cdot 1, \cdot 2, \cdot 3$, usw. durchnummerierte und von k_{Sel} abhängige analytische Gaußprozesse. All diese Gaußprozesse sind in jeder Hinsicht voneinander statistisch unabhängig. Am Ausgang dieser Gaußprozesse treten die analytischen, dimensionslosen, reellen, Größen $g_1(i_{\text{Sel}}, j_{\text{Sel}}, k_{\text{Sel}}), g_2(i_{\text{Sel}}, j_{\text{Sel}}, k_{\text{Sel}}), g_3(i_{\text{Sel}}, j_{\text{Sel}}, k_{\text{Sel}})$ auf. Sie besitzen für das Sensorelement $i_{\text{Sel}}, j_{\text{Sel}}$ und über viele Aufnahmen k_{Sel} hinweg eine Gaußverteilung mit der Standardabweichung von Eins und dem Mittelwert von Null.

Jetzt lässt sich das Rauschen der durch das Sensorelement $i_{\text{Sel}}, j_{\text{Sel}}$ erfassten Photonen mit der Rauschleistung

$$\begin{aligned}
N_e(i_{\text{Sel}}, j_{\text{Sel}}, k_{\text{Sel}}) &= C \cdot \frac{\sqrt{\bar{r}_e(i_{\text{Sel}}, j_{\text{Sel}}, k_{\text{Sel}}) a_t}}{a_t} g_1(i_{\text{Sel}}, j_{\text{Sel}}, k_{\text{Sel}}) \\
&= C \cdot \sqrt{\frac{\bar{r}_e(i_{\text{Sel}}, j_{\text{Sel}}, k_{\text{Sel}})}{a_t}} g_1(i_{\text{Sel}}, j_{\text{Sel}}, k_{\text{Sel}}) \quad (2.109)
\end{aligned}$$

in der analytischen, rauschfreien und über die zeitliche Apertur von a_t arithmetisch gemittelten Signalleistung

$$S(i_{\text{Sel}}, j_{\text{Sel}}, k_{\text{Sel}}) = C \cdot \bar{r}_e(i_{\text{Sel}}, i_{\text{Sel}}, k_{\text{Sel}}) \quad (2.110)$$

angeben. Dabei ist

$$C = E_{\text{ph}} \quad , \quad (2.111)$$

gleich der Energie eines Photons.

Die zweite Rauschquelle ist die Ausleseunsicherheit. Wenn bereits eine Ausleseunsicherheit mit $\sigma_A \approx 30$ (siehe Tab. 2.3) oder mehr auftritt, dann lässt sich, wie bereits im letzten Kapitel erwähnt, auch die Ausleseunsicherheit bei einem vernachlässigbaren Fehler mathematisch mit einem Gaußprozess beschreiben, der eine Standardabweichung von σ_A und einen Mittelwert von Null besitzt.

So ergibt sich im Sinne der Gleichungen (2.109) bis (2.111) für das Sensorelement $i_{\text{Sel}}, j_{\text{Sel}}$ die durch die Ausleseunsicherheit hervorgerufene und von k_{Sel} abhängige Rauschleistung

$$N_A(i_{\text{Sel}}, j_{\text{Sel}}, k_{\text{Sel}}) = C \cdot \frac{\sigma_A}{a_t} g_2(i_{\text{Sel}}, j_{\text{Sel}}, k_{\text{Sel}}) \quad . \quad (2.112)$$

Zusammenfassend lässt sich die von k_{Sel} abhängige Leistung

$$P(i_{\text{Sel}}, j_{\text{Sel}}, k_{\text{Sel}}) = S(i_{\text{Sel}}, j_{\text{Sel}}, k_{\text{Sel}}) + N_e(i_{\text{Sel}}, j_{\text{Sel}}, k_{\text{Sel}}) + N_A(i_{\text{Sel}}, j_{\text{Sel}}, k_{\text{Sel}}) \quad (2.113)$$

für das Sensorelement $i_{\text{Sel}}, j_{\text{Sel}}$ angeben, die aus der analytischen, rauschfreien Signalleistung (2.110), der Leistung für das Photoelektronenrauschen (2.109) und der Leistung für die Ausleseunsicherheit (2.112) besteht. Falls $Q = 1$ ist, ist die Leistung $P(i_{\text{Sel}}, j_{\text{Sel}}, k_{\text{Sel}})$ gleich der Intensität des optischen Bilds innerhalb der geometrischen Apertur des Sensorelements $i_{\text{Sel}}, j_{\text{Sel}}$ und für die zeitliche Apertur a_t , die das Photonenrauschen und bereits das Rauschen durch die Ausleseunsicherheit enthält.

Unter Berücksichtigung der im letzten Kapitel beschriebenen Proportionalität lassen sich die Gleichungen (2.109) bis (2.113) umformulieren, um sie statt auf die Photoelektronenrate bzw. auf die Leistungen (2.113) auf Spannungen im Videosignal oder auf die digitalen Werte in der

Aufnahme zu beziehen. Dazu muss nur die Konstante C anders gewählt, und es müssen die Größen für die Leistungen in Größen für Spannungen oder digitale Werte umdefiniert werden.

Die Gleichung (2.109) zeigt, dass sich aus der Anzahl der Photonen, die durch den Sensor innerhalb a_t erfasst worden sind, durch Bilden der Quadratwurzel die Standardabweichung des Rauschens (siehe auch (2.112)) berechnen lässt. Dies ist für die Rauschleistung von Photonenrauschen charakteristisch.

Schließlich bleibt festzuhalten, dass bei dem gerade durchgeführten statistischen Ansatz zur Berechnung des Photonenrauschens die Festlegung auf eine zeitliche Apertur notwendig ist. Diese Festlegung führt zu einer maximalen Frequenz des am Sensorelement ankommenden optischen Signals, falls die Bedingung für das Shannonsche Abtasttheorem (siehe Kapitel 2.2.3.1.2) eingehalten werden soll.

2.2.3.1.2 Tiefpassfilterung und Abtastung durch den CCD-Sensor

Die Aufnahme eines zweidimensional-optischen Bildes durch einen CCD-Sensor lässt sich analytisch trennen in eine Tiefpassfilterung, die durch die geometrische Apertur der Sensorelemente verursacht wird, und in eine sich anschließende geometrische Abtastung durch einen zweidimensionalen Dirac-Puls, also durch ein zweidimensionales Punktfeld [2.96].

Der erste Schritt, die zweidimensionalen Tiefpassfilterung, kann mathematisch durch die Faltung der Intensität des zweidimensional-optischen Bildes mit einer reellen, rechteckigen Punktantwort beschreiben werden. Diese Punktantwort (2.120) ist eine Funktion der Transmission $t_{\text{Sel}}(x_I, y_I)$ eines Sensorelements. Die Transmission liegt zentrisch zum Ursprung. Sie besitzt den Wert Q innerhalb und den Wert Null außerhalb der geometrischen Apertur mit der Größe a_{Selx} und a_{Sely} (siehe Tab. 2.3 und Abb. 2.34).

Der zweite Schritt der Aufnahme durch den CCD-Sensor besteht aus der geometrischen Abtastung des analytisch tiefpassgefilterten, zweidimensional-optischen Bildes durch einen zweidimensionalen Dirac-Puls [2.96].

Mit der im Kapitel 2.2.3.1 beschriebenen Zählweise ergibt sich eine Vergrößerung durch die Abtastabstände der Sensorelemente als Verhältnis zwischen der Nummer der Spalten und Zeilen des CCD-Sensors und den Abmessungen des zweidimensional-optischen Bildes in der Bildebene von

$$M_{\text{Selx}} = -\frac{1}{\Delta_{\text{Selx}}} \quad \text{bzw.} \quad M_{\text{Sely}} = \frac{1}{\Delta_{\text{Sely}}} \quad . \quad (2.114)$$

Um bei der geometrischen Abtastung keine Fehler zu machen, die zu Aliasing [2.97] in der Aufnahme führen, muss das Shannonsche [2.98] [2.99] Abtasttheorem [2.100] eingehalten [2.101] werden. Nach diesem Theorem muss die höchste im kontinuierlichen Signal auftretende Frequenz kleiner als die halbe Abtastrate sein.

Für die Abtastung [2.96] des dreidimensional-optischen Bildes bedeutet dies, dass zunächst die höchste auftretende Ortsfrequenz in x_I - und in y_I -Richtung im zweidimensional-optischen Bild und auch die höchste auftretende Ortsfrequenz in z_V -Richtung (siehe Abb. 2.5) ermittelt werden muss, um die minimal mögliche Abtastrate in den drei Richtungen zu ermitteln.

Da die dreidimensional-optische Abbildung in allen drei Richtungen eine Cut-off-Frequenz besitzt, ab der das optische Bild keine spektralen Anteile mehr enthalten kann (siehe Kapitel 2.2.2.3.2), lässt sich die maximal im Bild auftretende Ortsfrequenz unabhängig von den Eigenschaften des Objekts angeben. So ergibt sich [2.102] auch für große Numerische Aperturen der abbildenden Optik im Objektraum und auf die Koordinaten des Objektraums (siehe Abb. 2.5) bezogen ein maximal möglicher Abtastabstand in x - und in y -Richtung von

$$\Delta_{x \max} = \Delta_{y \max} < \frac{\bar{\lambda}_0}{4A_N} \quad (2.115)$$

und in z -Richtung von

$$\Delta_{z \max} < \frac{\bar{\lambda}_0}{2 \left(n_M - \sqrt{n_M^2 - A_N^2} \right)} \quad (2.116)$$

der gemäß dem Shannonschen Abtasttheorem zur Abtastung zulässig ist. Dabei ist $\bar{\lambda}_0$ die arithmetisch über eine sehr lange Zeit gemittelte Wellenlänge (siehe z. B. auch (2.69)) der quasimonochromatischen Wellen im Vakuum, n_M der reelle Brechungsindex des Mediums zwischen dem Objekt und der Frontlinse der abbildenden Optik und A_N die Numerische Apertur (siehe z. B. auch (2.75)) der abbildenden Optik im Objektraum.

Die in (2.115) und (2.116) angegebenen maximalen, geometrischen Abtastabstände beziehen sich zunächst auf den idealen Extremfall der inkohärenten, beugungsbegrenzten optischen Abbildung von der Objektebene in die Bildebene ohne Rauschen. Falls Rauschen auftritt oder eine partiell kohärente optische Abbildung vorliegt, können die Abtastabstände auch größer gewählt werden, wobei in jedem einzelnen Fall geklärt werden muss, wie groß die maximalen Abtastabstände sind. Zusammenfassend bedeutet dies: Falls die Bedingungen (2.115) und (2.116) eingehalten werden, wird in jedem Fall auch das Abtasttheorem eingehalten.

Um das Abtasttheorem in x_I/y_I -Richtung auch dann einhalten zu können, wenn das verwendete Mikroskopobjektiv eine hohe Numerischen Apertur auf der Bildseite bzw. eine große Austrittspupille besitzt, ist in dieser Arbeit mit L_4 und D_4 ein Mikroskopobjektiv zur Nachvergrößerung verwendet worden (siehe Abb. 2.4) [2.38].

Dabei lassen sich zwei Tendenzen aufzeigen. Zunächst zeigt die Entwicklung der letzten Jahre, dass die Austrittspupillen von Mikroskopobjektiven immer größer werden. Damit wird die Numerische Apertur dieser Objektive auf der Bildseite größer, und es werden immer kleinere geometrische Abtastabstände bei einem gleich bleibenden Durchmesser des optischen Bilds notwendig. Außerdem zeigt sich, dass mit den immer kleiner werdenden Strukturgrößen von Halbleiterbauelementen die geometrischen Abtastabstände der CCD-Sensoren ebenfalls immer kleiner werden.

Wenn das zweidimensional-optische Bild eines Lichtmikroskops unter Beachtung des Shannonschen Abtasttheorems aufgenommen wird, dann macht die so gewonnene Aufnahme auf den menschlichen Betrachter häufig einen flauen, unscharfen Eindruck. Deshalb wird in vielen Fällen das Abtasttheorem bewusst verletzt, um eine Aufnahme zu erhalten, die als scharf eingeschätzt wird. Dies kann seine Ursache darin haben, dass die geringen Amplituden der hohen Ortsfrequenzen im zweidimensional-optischen Bild vom menschlichen Betrachter nicht mehr wahrgenommen werden können. Darüber hinaus scheint der menschliche Betrachter Aliasing-Fehler in elektronischen Bildern zu tolerieren, wie z. B. auch das Fernsehen zeigt.

Schließlich zeigt sich, dass aufgrund der begrenzten Leistungsfähigkeit von Elektronik, die sich auch in der Fernsehnorm widerspiegelt, häufig nur 512^2 Pixel große Aufnahmen aus optischen Bildern gemacht werden, obwohl z. B. moderne Mikroskopobjektive Aufnahmen mit zum Teil über 5000^2 Pixeln fordern, wenn das Abtasttheorem eingehalten und das ganze optische Bild erfasst werden soll. Auch deshalb wird man in vielen Fällen einen Kompromiss zwischen dem Einhalten des Abtasttheorems und dem Ausschnitt der Aufnahme aus dem zweidimensional-optischen Bild suchen.

2.2.3.2 Das Verhalten der Analogelektronik

Die Elektronik nach dem CCD-Sensor in der Kamera und die Analogelektronik auf der Bildspeicherkarte vor dem A/D-Wandler sollen im Hinblick auf die Modellbildung zusammen analysiert werden.

Wenn die Anlogschaltungen in der CCD-Kamera und auf der Bildspeicherkarte angemessen ausgelegt sind, dann ist das Rauschen durch die Analogelektronik, das sich ggf. in einem weiteren Summanden in (2.113) ausdrückt, kleiner als das Photonenrauschen (2.109) bei Vollaussteuerung des Sensorelements und etwa gleich groß, oder kleiner, als das Auslese-rauschen (2.112). Deshalb kann normalerweise das Rauschen der Analogelektronik unberücksichtigt bleiben.

Die Analogelektronik in der CCD-Kamera besitzt vor allem einen Tiefpassfilter, der das durch den CCD-Sensor örtlich diskretisierte Signal in ein kontinuierliches Signal am Ausgang der CCD-Kamera wandelt. Diese Aufgabe erfüllt der Filter in der CCD-Kamera in den meisten Fällen recht gut [2.103] [2.92]. So zeigt das mit einem Oszillographen aufgenommene Videosignal am Kameraausgang keine Diskretisierungsstufen mehr. Die im Rahmen dieser Tiefpassfilterung auftretende Verzögerung des Videosignals wird in der Regel durch eine entsprechende Verzögerung der Synchronisations-Impulse bereits in der CCD-Kamera kompensiert.

Auch vor dem A/D-Wandler auf der Bildspeicherkarte ist in der Regel ein Tiefpassfilter eingebaut. Bei teureren Bildspeicherkarten kann die Grenzfrequenz dieses Filters eingestellt und an die konkreten Anforderungen angepasst werden. Da die Tiefpassfilterung zur Erfüllung des Abtasttheorems bereits durch die optische Abbildung vorgenommen wird, besteht im experimentellen Aufbau dieser Arbeit die Aufgabe des Tiefpassfilters vor dem

A/D-Wandler nur darin, ein Rauschen der Analogelektronik durch eine zu hohe Bandbreite zu vermeiden.

Beide Tiefpassfilter wirken sich, wenn überhaupt, nur in i_{Sel} - und nicht in j_{Sel} -Richtung aus, da die Diskretisierung durch den CCD-Sensor in j_{Sel} -Richtung auch nach der Wandlung in ein kontinuierliches Signal zwischen dem CCD-Sensor und dem A/D-Wandler erhalten bleibt. Bei einer ausgewogenen Auslegung und Einstellung der Elektronik sollten beide Tiefpassfilter keine Auswirkungen auf die Aufnahme des zweidimensional-optischen Bildes in der Bildspeicherkarte haben.

Bei der im experimentellen Aufbau dieser Arbeit meistens verwendeten CCD-Kamera XC-77CE der Firma Sony waren keine Abweichungen der Eigenschaften der Analogelektronik von den Eigenschaften, die die Kamera idealerweise besitzen sollte, zu erwarten. Bei der experimentellen Durchführung dieser Arbeit sind auch keine solchen Abweichungen aufgetreten. Auf der anderen Seite ist bei der experimentellen Durchführung dieser Arbeit festgestellt worden, dass die in dieser Arbeit häufig verwendete Bildspeicherkarte VIP 1024 der Firma Matrox eine Tiefpassfilterung vor dem A/D-Wandler mit einer Grenzfrequenz durchführt, die ein wenig unter der Grenzfrequenz liegt, die diese Bildspeicherkarte bei ihrer Abtastrate und für diese Arbeit besitzen sollte. Die Grenzfrequenz des Tiefpassfilters auf der VIP 1024 lässt sich auch nicht an die experimentellen Erfordernisse anpassen.

2.2.3.3 Das Wiederabtasten und das Verhalten des A/D-Wandlers

Mit der Abtastung durch den A/D-Wandler tritt ein Wiederabtasten (engl. „resampling“) des bereits durch den CCD-Sensor in x_I -Richtung abgetasteten zweidimensional-optischen Bildes auf. Dies führt im Allgemeinen zu einer elektronischen Vergrößerung

$$M_{\text{ADx}} = \frac{f_{\text{AD}}}{f_{\text{Sel}}} \quad (2.117)$$

in Spaltenrichtung mit dem Verhältnis von Abtastfrequenz f_{AD} des A/D-Wandlers zur Frequenz f_{Sel} , mit der die Spannungen für die Sensorelemente mit der Spaltennummer i_{Sel} von der Kamera kommen.

Durch die Übertragung eines Pixel-clocks von der CCD-Kamera zur Bildspeicherkarte und damit zum A/D-Wandler kann bei sehr vielen Bildverarbeitungskarten jedem Sensorelement direkt ein Pixel der Aufnahme zugeordnet werden. Dies reduziert die durch das Wiederabtasten auftretenden Fehler [2.103] und führt dazu, dass M_{ADx} exakt zu Eins wird.

Falls keine Pixel-clock übertragen wird, erhält der A/D-Wandler den Takt eines Oszillators, der mit dem Zeilensynchronimpuls synchronisiert ist. In diesen Fällen orientiert sich die Abtastrate des A/D-Wandlers meist an der Fernsehnorm. Dies führt dazu, dass die Abtastabstände in x-Richtung z. B. 1,4-fach größer sind als in y-Richtung, wobei dieser Faktor für

die verschiedenen Fernsehnormen unterschiedlich ist. Damit ist M_{ADx} etwa gleich 0,7 (siehe auch Kapitel 7.9.4).

Bei einer sorgfältigen Auslegung sollte das Quantisierungsrauschen durch den A/D-Wandler kleiner als das Photoelektronenrauschen bei Vollaussteuerung (2.109) und etwa gleich oder in manchen Fällen auch kleiner als das Rauschen durch die Ausleseunsicherheit (2.112) sein. Damit lässt sich das Quantisierungsrauschen des A/D-Wandlers vor allem in der Nähe der Vollaussteuerung vernachlässigen.

2.2.3.4 Die Vergrößerung durch den Sensor und die Analogelektronik

Aus (2.114) und (2.117) ergeben sich vom optischen Bild bis zur Aufnahme im Rechner die Vergrößerungen

$$M_{Sx} = M_{Selx} \cdot M_{ADx} , \quad M_{Sy} = M_{Sely} \quad \text{und} \quad M_{Sz} = \frac{1}{\Delta_z} . \quad (2.118)$$

Dabei ist Δ_z der vorzeichenbehaftete Weg in der Koordinate z_V , um den das Objekt durch die rechnergesteuerte Fokussiereinrichtung von zweidimensionaler Aufnahme zu zweidimensionaler Aufnahme bewegt wird bzw. der vorzeichenbehaftete geometrische Abtastabstand in z_V -Richtung.

Die Koordinaten x_I , y_I und z_V des dreidimensional-optischen Bilds lassen sich mit diesen Vergrößerungen unter Verwendung der Gleichungen

$$i = M_{Sx} \cdot x_I , \quad j = M_{Sy} \cdot y_I \quad \text{und} \quad k = M_{Sz} \cdot z_V \quad (2.119)$$

und mit einer Diskretisierung in die Pixelkoordinaten i , j , k der dreidimensionalen Aufnahme aus der Aufnahmeeinheit transformieren.

2.2.3.5 Die Modellbildung

In den vorangegangenen Kapiteln sind die physikalischen Eigenschaften des Sensors und der Elektronik in der Aufnahmeeinheit, die eine weitere Komponente des experimentellen Aufbaus bilden, beschrieben worden. Im Hinblick auf die Modellbildung soll jetzt überprüft werden, ob diese Komponente ein lineares und ortsinvariantes Verhalten besitzt.

Wie im Kapitel 2.2.3.1 ausgeführt, ist die Spannung am Kondensator eines Sensorelements bei einem vernachlässigbaren Fehler proportional zur mittleren Intensität des zweidimensional-optischen Bildes innerhalb der geometrischen und zeitlichen Apertur. Dabei ist der Arbeitsbereich des Sensors aufgrund der maximalen, durch die Kapazität eines

Sensorelements speicherbaren Anzahl n_{emax} (siehe Tab. 2.3) von Photoelektronen begrenzt. Da außerdem die Eigenschaften der Sensorelemente über dem ganzen Sensor bei einem vernachlässigbaren Fehler gleich sind, besitzt der CCD-Sensor innerhalb seines Arbeitsbereichs ein lineares und ortsinvariantes Verhalten.

Auch die Elektronik (siehe Kapitel 2.2.3.2) in der Aufnahmeeinheit einschließlich dem A/D-Wandler (siehe Kapitel 2.2.3.3) zeigt ein lineares und zeitinvariantes Verhalten.

Deshalb besitzt die ganze Komponente ein lineares und ortsinvariantes Verhalten und erfüllt damit die Voraussetzungen (2.5) bis (2.8) für die Modellbildung.

Wie in den letzten Kapiteln gezeigt, muss bei einem ausgewogenen und guten Aufbau nur die Tiefpassfilterung durch den CCD-Sensor berücksichtigt werden. Der Sensor und die Elektronik in der Aufnahmeeinheit lassen sich dann im Rahmen einer systemtheoretischen Modellbildung mit der Punktantwort

$$h_S(x, y, z) = \frac{t_{\text{Sel}}(M_{Ox} \cdot x, M_{Oy} \cdot y)}{\int_{-\infty}^{+\infty} \int_{-\infty}^{+\infty} t_{\text{Sel}}(x_I, y_I) dx_I dy_I} \delta(z) \quad (2.120)$$

beschreiben. Dabei ist $\delta(z)$ die δ -Funktion (siehe Kapitel 7.2) in z-Richtung.

Auch hier kann die Punktantwort wieder in die Übertragungsfunktion

$$H_S(f_x, f_y, f_z) = \mathcal{F}\{h_S(x, y, z)\} \quad (2.121)$$

umgerechnet werden. Dabei sind f_x , f_y und f_z wieder die Ortsfrequenzen zu den Koordinaten x , y und z des Objektraums und das Zeichen $\mathcal{F}\{ \cdot \}$ ist wieder die abgekürzte Schreibweise für die Fourier-Transformation (2.10).

2.2.3.6 Zusammenfassende Diskussion

Es bleibt festzuhalten, dass auch dann, wenn Sensor und Elektronik gut und ausgewogen ausgelegt sind, diese Komponente des experimentellen Aufbaus einen Einfluss auf die Aufnahme hat. Der Einfluss besteht vor allem in einer Tiefpassfilterung, die im systemtheoretischen Modell mit der Punktantwort (2.120) bzw. mit der Übertragungsfunktion (2.121) erfasst wird.

Um diesen Einfluss zu reduzieren, kann mit einer höheren Vergrößerung durch das Mikroskopobjektiv zur Nachvergrößerung $L_4 D_4$ (siehe Abb. 2.4 und Tab. 2.1) und bei Verwendung des gleichen CCD-Sensors ein Überabtasten (engl. „oversampling“) erreicht werden. Dieses Überabtasten führt im Ortsfrequenzbereich dazu, dass das spektrale Band des

Signals, das durch den CCD-Sensor übertragen wird, kleiner wird und das Signal deshalb nur noch in einem geringeren Umfang durch den CCD-Sensor tiefpassgefiltert wird. Durch ein solches Überabtasten werden in vielen Fällen auch andere Fehler reduziert, wie z. B. eine eventuelle Tiefpassfilterung durch die Analogelektronik auf der Bildspeicherkarte.

2.2.4 Die Restaurationseinheit

Wie die Abb. 2.3 veranschaulicht, wird das dreidimensionale Objekt durch die dreidimensional-optische Abbildung und mit dem Sensor und der Elektronik in der Aufnahmeeinheit aufgenommen und im Rechner abgelegt. Die Aufnahme im Rechner besitzt jedoch im Allgemeinen eine Reihe systematischer Fehler, die in den Kapiteln 2.2.2 und 2.2.3 beschrieben worden sind.

Diese systematischen Fehler lassen sich in der Restaurationseinheit (siehe Abb. 2.3) im Rechner durch ein lineares Filter, dessen Berechnung im Kapitel 5 beschrieben werden wird, teilweise kompensieren (siehe auch Abb. 5.1). Die lineare Kompensation wird im systemtheoretischen Modell durch die Punktantwort $\tilde{h}(x, y, z)$ und die dazugehörige Übertragungsfunktion

$$\tilde{H}(f_x, f_y, f_z) = \mathcal{F}\{\tilde{h}(x, y, z)\} \quad (2.122)$$

beschrieben.

3 Messverfahren

Um die verschiedenen bekannten Verfahren zur Ermittlung von optischen Abbildungseigenschaften untereinander und mit dem Messverfahren, das in dieser Arbeit vorgestellt werden soll, besser vergleichen zu können, zeigt die Tab. 3.1 eine Einteilung. Sie ordnet die verschiedenen Verfahren nach dem Ansatz, mit dem sie arbeiten.

Ansatz	Methode	Berechnungsverfahren	Messverfahren
optisch	Analyse der optischen Wege	Strahldurchrechnung	z. B. interferometrische Messung
direkt	Überprüfung der optischen Abbildung	-	Auswertung der Bilder von typischen Objekten
linear	Systemtheorie	Berechnung der Punktantwort und der Übertragungsfunktion	systemtheoretische Auswertung der Bilder von speziellen Objekten

Tab. 3.1: Verfahren zur Ermittlung der optischen Abbildungseigenschaften

3.1 Die bekannten Verfahren

3.1.1 Die Verfahren mit einem optischen Ansatz

Sehr weit verbreitet sind die Verfahren, die einen optischen Ansatz verwenden. Sie untersuchen die optischen Wege durch den optischen Aufbau, um daraus auf die optischen Abbildungseigenschaften zu schließen. Sie werden in die erste Zeile der Tab. 3.1 eingeordnet.

Um die Abbildungseigenschaften zu berechnen bzw. zu simulieren, wird eine Strahldurchrechnung (engl. „ray tracing“) eingesetzt. Dazu gibt es Software, die in den letzten Jahren immer leistungsfähiger geworden ist, um auch schwierigere Fälle berechnen zu können. Dabei zeichnen sich noch deutlich leistungsfähigere Berechnungsmöglichkeiten ab, deren Realisierung aber erst möglich wird, wenn die üblicherweise verfügbare Rechenerleistung deutlich angestiegen sein wird.

Als Beispiel zeigt die Abb. 3.1 das Ergebnis der Strahldurchrechnung einer optischen Abbildung mit einem Triplets nach einem britischen Patent.

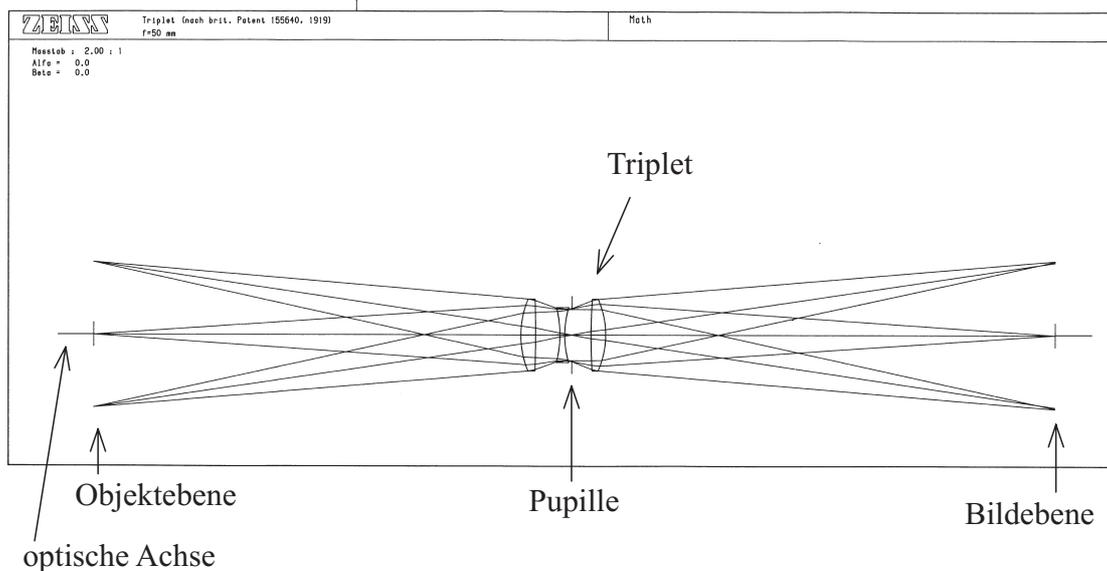


Abb. 3.1: Strahlenverlauf als Ergebnis der Strahlendurchrechnung

Die Abb. zeigt, wie von drei Punkten der Objektebene jeweils der Hauptstrahl und zwei Randstrahlen abgehen, durch das Triplet laufen und an der Bildebene rechts ankommen. Die Strahlendurchrechnung ergibt, dass die Strahlen, die von dem auf der optischen Achse liegenden Punkt der Objektebene, abgegangen sind, an sehr nahe beieinander liegenden Punkten der Bildebene ankommen. Dies ist für die beiden anderen Punkte, die am Rand des abgebildeten Objektfelds liegen, nicht der Fall. Deshalb treten bei der optischen Abbildung dieser Punkte, also am Bildrand, Aberrationen auf (siehe auch [3.1]).

Die Analyse der optischen Wege lässt sich nicht nur zur Berechnung, sondern auch zur Messung [3.2] von Abbildungseigenschaften einsetzen. Dabei werden meistens die optischen Weglängen über der Pupille vermessen.

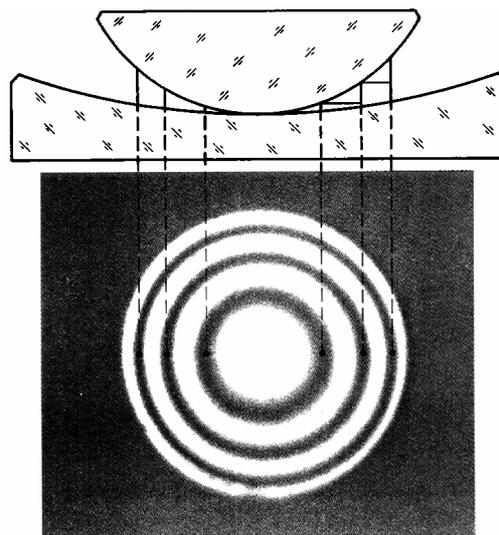


Abb. 3.2: Die Passeprüfung mit dem Probenglas

Zur Veranschaulichung zeigt die Abb. 3.2 ein einfaches, häufig eingesetztes Verfahren zur Überprüfung von Linsenoberflächen, nämlich die Passeprüfung mit dem Probenglas [3.3]. Falls die Passeprüfung einen Fehler anzeigt, führt dieser Fehler zu einer entsprechenden Verformung der in der Abb. 3.2 gezeigten Interferenzringe. Ein Beispiel [3.4] dazu zeigt die Abb. 3.3. Das linke Bild zeigt die Verformung der Interferenzstreifen durch einen Feinpassfehler. Nach der Aufbereitung im Rechner zeigt sich dieser Feinpassfehler z. B. als Erhöhung in einer Reliefdarstellung rechts.

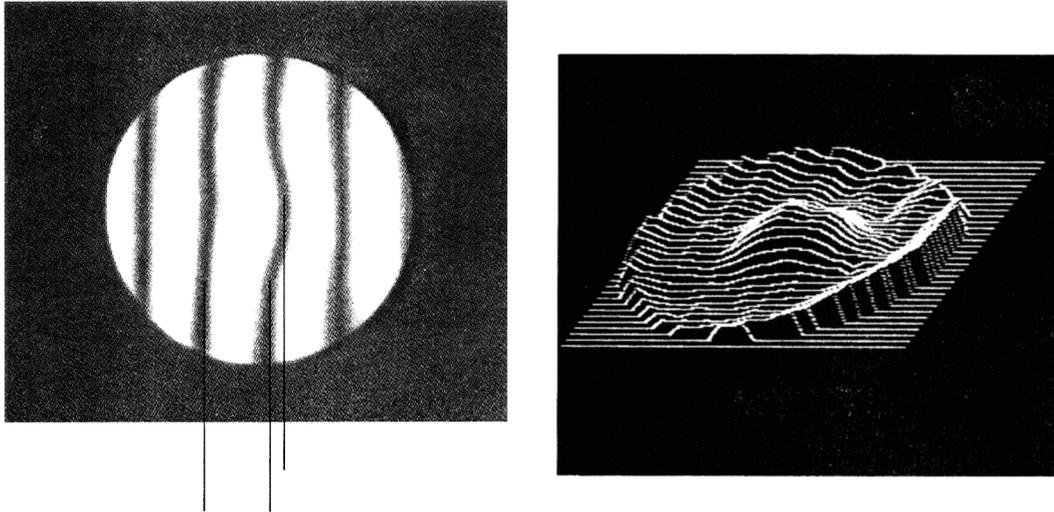


Abb. 3.3: Interferogramm und Reliefdarstellung eines Feinpassfehlers

Der große Vorteil der Verfahren, die einen optischen Ansatz verwenden, liegt darin, dass die mit ihnen gewonnenen Ergebnisse recht einfach Rückschlüsse auf die Vorgänge im optischen Aufbau ermöglichen. Dies erleichtert Verbesserungen, Korrekturen und Reparaturen des optischen Aufbaus.

Auf der anderen Seite besitzen diese Verfahren den systematischen Nachteil, dass ihre Ergebnisse nur mit einem gewissen Aufwand Schlüsse auf die optischen Abbildungseigenschaften ermöglichen. Dabei können auch systematische Fehler auftreten, wenn man z. B. an die Einschränkung und die Näherungen denkt, die bei der Beschreibung des Durchgangs der Wellen durch das dreidimensionale Objekt im Kapitel 2.2.2.2.1.2 beschrieben worden sind (siehe auch Kapitel 2.2.2.2.3).

3.1.2 Die Verfahren mit einem direkten Ansatz

Die Verfahren, die einen direkten Ansatz verwenden, werden in die zweite Zeile der Tab. 3.1 eingeordnet. Sie untersuchen die Abbildungseigenschaften direkt anhand der optischen Abbildung von Messobjekten. Dabei sollten die Messobjekte möglichst typisch für die konkrete Anwendung der optischen Abbildung sein.

Die Verfahren mit einem direkten Ansatz verwenden weder die physikalischen Eigenschaften, wie z. B. die gerade im Kapitel 3.1.1 beschriebenen optischen Eigenschaften des Aufbaus, noch irgendwelche Näherungen für einen linearen Ansatz (siehe Kapitel 3.1.3). Dies führt zum einen dazu, dass bei der Messung von optischen Abbildungseigenschaften keine Fehler durch die Verwendung von physikalischen Modellen oder durch lineare Näherungen entstehen. Dies ist ein systematischer Vorteil dieser Messverfahren. Das Fehlen eines physikalischen Modells bei diesem direkten Ansatz führt aber auch dazu, dass es keine Berechnungen oder Simulationen mit diesem Ansatz gibt.

3.1.3 Die Verfahren mit einem linearen Ansatz

Aufgrund der rasanten technologischen Entwicklung der Mikroelektronik sind in den letzten 20 Jahren viele Geräte entstanden, die außer ihren traditionellen optischen Komponenten auch elektronische Komponenten besitzen (siehe Kapitel 1), die die Signale aus den optischen Komponenten weiterverarbeiten. Dazu ist der experimentelle Aufbau dieser Arbeit, der ganz ähnlich auch als Gerät gekauft werden kann, ein nahe liegendes Beispiel. Um die Eigenschaften des gesamten Geräts zu beschreiben, wird dann häufig ein linearer Ansatz im Sinne der dritten Zeile der Tab. 3.1 verwendet, weil sich mit einem solchen linearen Ansatz alle Komponenten, durch die das Signal läuft, zusammenhängend beschreiben lassen. Vor diesem Hintergrund ist es nahe liegend, dass die Bedeutung der Verfahren, die einen linearen Ansatz zur Berechnung [3.5] oder zur Messung [3.6] der optischen Abbildungseigenschaften verwenden, in diesem Zeitraum gestiegen ist, obwohl die Grundlagen für diese Verfahren schon früher gelegt worden sind.

Auf der anderen Seite zeigt eine Analyse der bekannt gewordenen Messverfahren [3.6], die von ihrem Ansatz her ein lineares Verhalten der optischen Abbildung annehmen, dass diese Verfahren mit gewissen Schwierigkeiten und Problemen kämpfen. Dies hat seine Ursache darin, dass sie nur unter den folgenden Voraussetzungen arbeiten bzw. die folgenden Eigenschaften besitzen:

- Sie messen die optischen Abbildungseigenschaften meist nur für stark absorbierende Objekte wie Gitter, Punktquellen (z. B. beim Sternentest), Kanten [3.7], usw. [3.8] [3.9] (siehe Kapitel 2.2.2.2.1.2).
- Die Messverfahren setzen alle eine hinreichende Inkohärenz der Wellen im Objektraum voraus, wie dies auch die DIN 58 185 [3.10] oder der BS 4779 [3.11] fordert. Dies bedeutet für die optischen Abbildungen von beleuchteten Objekten, dass die Numerische Apertur der Beleuchtungseinrichtung deutlich größer sein sollte, als die der abbildenden Optik (siehe Kapitel 2.2.2.3.3.2) [3.12].
- Die bekannt gewordenen Verfahren messen meist nur die zweidimensional-optischen Abbildungseigenschaften.
- Bei manchen Messverfahren ist es schwierig, auf einen ausreichenden Signal / Rausch - Abstand zu kommen [3.13]. Solche Schwierigkeiten treten z. B. auch bei der Verwendung einer Punktquelle als Messobjekt auf.
- Bei manchen Messverfahren werden rotierende Objekte [3.8] [3.14] eingesetzt, um die optischen Abbildungseigenschaften zu ermitteln. Ein Problem dieser Verfahren ist, dass die Drehbewegung aufgrund ihrer Lagerung mit Kugellagern unregelmäßig ist.
- Es sind praktisch keine Verfahren mit einem linearen Ansatz bekannt geworden, die die dreidimensional-optischen Abbildungseigenschaften für Phasenobjekte ermitteln.

Es bleibt, darauf hinzuweisen, dass Auflösungstests (siehe Kapitel 2.2.2.3.3.2) im Hinblick auf die Einteilung in die Tab. 3.1 eine gewisse Sonderstellung besitzen. Die Auflösungstests gehen zwar von der Vorstellung aus, dass sich die optische Abbildung aus der Abbildung von Punkten zusammensetzt und dies ist sicher für die Verfahren mit einem linearen Ansatz charakteristisch, auf der anderen Seite ist das Bewertungskriterium, meist das Rayleigh-Kriterium, völlig untypisch für die Verfahren mit einem linearen Ansatz.

Im Ergebnis sollen in dieser Arbeit die Auflösungstest bei einer Einteilung im Sinne der Tab. 3.1 den Verfahren mit einem linearen Ansatz zugeordnet werden.

3.2 Das neue Verfahren, das vorgestellt werden soll

Die Zusammenstellung im letzten Kapitel hat gezeigt, dass kein Verfahren bekannt geworden ist, das bei einem linearen Ansatz in der Lage ist, die dreidimensionalen Übertragungseigenschaften der optischen Aufnahmeeinheit in jeder Hinsicht befriedigend zu messen. Es bleibt in vielen Fällen eine Diskrepanz zwischen der Leistungsfähigkeit der bekannt gewordenen Messverfahren und der Leistungsfähigkeit, die z. B. für eine Bildrestauration mit Wiener-Inversfilterung notwendig ist.

Von einem in jeder Hinsicht befriedigenden, gut arbeitenden Messverfahren muss Folgendes gefordert werden:

- Das Messverfahren muss die dreidimensionalen Übertragungseigenschaften vollständig ermitteln können. Dies bedeutet, dass es in der Lage sein muss, sowohl den Betrag, als auch die Phase der Übertragungsfunktion zu messen.
- Es muss die drei Fälle absorbierende Objekte, Phasenobjekte und transparente Selbstleuchter abdecken.
- Für die Fälle absorbierende Objekte und Phasenobjekte muss das Messverfahren die Übertragungseigenschaften für schwach beugende Objekte ermitteln, da nur für diese eine lineare Näherung der dreidimensional-optischen Aufnahmeeinheit möglich ist (siehe Kapitel 2.2.2.1.1.1, 2.2.2.2.1.2 und (2.95)).
- Darüber hinaus soll ein gutes Messverfahren robust arbeiten.

3.2.1 Suche und Diskussion von leistungsfähigeren Messverfahren

Ausgehend von den bekannt gewordenen Messverfahren (siehe Kapitel 3.1.3) und unter Berücksichtigung der Anforderungen an ein in jeder Hinsicht befriedigendes, gut arbeitendes dreidimensionales Messverfahren (siehe letztes Kapitel) ergibt sich jetzt die Suche nach einem möglichst geeigneten Verfahren.

3.2.1.1 Punktförmige Anregung

Verfahren, die eine punktförmige Anregung (siehe auch Kapitel 7.2 und 7.3) einsetzen, sind aus systemtheoretischer Sicht nahe liegend und in gewisser Hinsicht ideal (siehe auch Kapitel 2.1.2 und 2.1.3). Bei ihrer Realisierung lassen sich im Allgemeinen die beiden folgenden Probleme lösen:

- Falls es nicht gelingt, die punktförmige Anregung im Ursprung des Anregungsraums, zu positionieren, besitzt die Spektraldichte des Bilds der punktförmigen Anregung eine durch die Ablage der Anregung hervorgerufene, frequenzproportionale Phase. (siehe Verschiebungssatz [3.15]) Diese frequenzproportionale Phase lässt sich meist kompensieren, um die Phase der Übertragungsfunktion der Aufnahmeeinheit zu erhalten.
- Der Skalierungsfaktor (siehe (3.30)) zur Berechnung der Punktantwort aus dem Bild der punktförmigen Anregung wird in den allermeisten Fällen ermittelt werden können.

Dagegen gibt es meist das folgende, schlecht lösbare Problem:

- Die punktförmige Anregung bietet nur eine geringe Signalleistung. Dies führt häufig dazu, dass z. B. durch Schmutz hervorgerufene Störsignale das Messergebnis stark verfälschen, und dass meist hochfrequente Teile der zu messenden Übertragungsfunktion im Rauschen untergehen.

Diese im Allgemeinen auftretende Problematik zeigt sich auch bei den Messverfahren für die dreidimensional-optischen Abbildung. Zwar sind für den Fall des transparenten Selbstleuchters recht gut funktionierende Lösungen [3.16] (z. B. von Molecular Probes, Inc.; www.probes.com) entwickelt worden, die fluoreszierende Latexkügelchen verwenden. Dagegen sind für die Fälle absorbierende Objekte und Phasenobjekte keine Lösungen bekannt geworden.

3.2.1.2 Anregung mit weißem Rauschen

In der Nachrichtentechnik, in der meist zeitabhängige, also eindimensionale Signale auftreten, werden Anregungen mit weißem Rauschen (siehe Kapitel 7.7) eingesetzt, um Übertragungseigenschaften zu messen [3.17]. Vor diesem Hintergrund ist es nahe liegend, auch für die Messung der Übertragungseigenschaften der dreidimensional-optischen Aufnahmeeinheit dreidimensionales Rauschen einzusetzen.

Allerdings ist ein Messverfahren für optische Aufnahmeeinheiten, das eine dreidimensionale Rauschanregung verwendet, nicht bekannt geworden. Insbesondere gibt es dafür keine geeigneten Messpräparate.

Es lassen sich jedoch ganz allgemein die Eigenschaften von Messverfahren, die dreidimensionales Rauschen als Anregung einsetzen, skizzieren:

- Die Rauschanregungen können im Allgemeinen problemlos über einen großen Teil des Anregungsraums ausgedehnt werden.

Dies führt zu einer hohen Signalleistung für die Messung und damit zu einer hohen Robustheit des Messverfahrens.

Da fast immer nur die statistischen Eigenschaften der Rauschanregung bekannt sind, muss nach der Festlegung (siehe unten) der Phase der Übertragungsfunktion eine Mittelung (siehe Kapitel 7.7 und (7.17)) durchgeführt werden, um den Betrag der Übertragungsfunktion zu ermitteln.

- Diese Mittelung (7.17) kann über verschiedene Rauschmesspräparat-Exemplare erfolgen.
- Realistischerweise wird die Mittelung (7.17) entweder als Faltung der Übertragungsfunktion mit einem Tiefpass erfolgen, wobei sich die Phase der Übertragungsfunktion abhängig von der Frequenz nur in einem geringen Umfang ändern darf.

Alternativ kann diese Mittelung auch als Multiplikation im Ortsbereich durchgeführt werden.

- Da die Phase (siehe Kapitel 7.7) der Spektraldichte der Rauschanregung, abgesehen von ihren statistischen Eigenschaften, fast immer unbekannt ist, lässt sich aus der Antwort die Phase der Übertragungsfunktion nicht ermitteln. Dabei kann die Phase der Übertragungsfunktion beliebige, auch von der Frequenz abhängige Werte annehmen.

Um dennoch eine Aussage über die Phase zu erhalten, kann ggf. Vorabwissen über die Aufnahmeeinheit genutzt werden. Dieses Vorabwissen ist grundsätzlich fehlerbehaftet und wird deshalb im Allgemeinen in Form einer Wahrscheinlichkeitsdichtefunktion beschreiben werden. Basierend auf einer solchen Wahrscheinlichkeitsdichtefunktion kann dann eine möglichst gute Schätzung der Phase der Übertragungsfunktion durchgeführt werden. So kann als Vorabwissen z. B. bekannt sein, dass die Phase der Übertragungsfunktion näherungsweise gleich Null ist. Dann liegt ein Minimum-Phasen-System vor. Allerdings sind solche Wege letztlich unbefriedigend, weil die Phase der Übertragungsfunktion nicht gemessen wird.

Messverfahren, die reine, hier dreidimensionale Rauschanregungen verwenden, bieten nach einer Mittelung die Möglichkeit, den Betrag, jedoch nicht die Phase einer Übertragungsfunktion zu messen.

3.2.1.3 Anregung mit zweidimensionalem Rauschen

Verschiedene Stärken der in den letzten beiden Kapiteln beschriebenen Verfahrensansätze sollen jetzt miteinander verknüpft werden, um ein neues Messverfahren zu entwickeln und vorzustellen, das für das Lichtmikroskop im Hellfelddurchlichtbetrieb optimiert ist.

Bei der Entwicklung wurde berücksichtigt, dass die Punktantwort des Lichtmikroskops in z-Richtung häufig unsymmetrisch ist. Andererseits wird die Punktantwort um die z-Achse häufig näherungsweise punktsymmetrisch sein, zumindest bei Abbildungen in der Nähe der optischen Achse.

So entstand die Idee, ein zweidimensionales Rauschmesspräparat als Anregung für Messungen zu verwenden. Bei diesem Messpräparat tritt um eine Ebene senkrecht zur optischen Achse weißes Rauschen auf. In z-Richtung besitzt das Messpräparat eine punktförmige Anregung (siehe (3.3) und Abb. 3.5). Mit diesem „zweidimensionalen Rauschmesspräparat“ lassen sich gewisse, bei einer dreidimensional-optischen Abbildung besonders interessierende Eigenschaften der Phase der Übertragungsfunktion in f_z -Richtung messen, während durch Vorabwissen näherungsweise bekannte und deshalb weniger interessierende Phaseneigenschaften in f_x - und f_y -Richtung nicht gemessen werden können.

Bei der Ausarbeitung des Messverfahrens mit dem zweidimensionalen Rauschmesspräparat war sehr schnell klar, dass das Verfahren neue Möglichkeiten bietet. Es zeigte sich aber auch recht schnell, dass die durch die punktförmige Anregung in f_z -Richtung gemessene Phasenkomponente der Übertragungsfunktion nicht offen zugänglich ist, sondern mit geeigneten Berechnungen ermittelt werden muss.

Die Ausarbeitung des Verfahrens, insbesondere die gerade angesprochenen Berechnungen zur Ermittlung der Phasenkomponente der Übertragungsfunktion in f_z -Richtung, soll in den nächsten Kapiteln durchgeführt werden. Das Messverfahren besitzt verschiedene Varianten und ist für absorbierende Objekte, für Phasenobjekte und für transparente Selbstleuchter geeignet. Das Messverfahren wird für die Fälle absorbierende Objekte und für Phasenobjekte demonstriert werden. Dabei ist die mathematische Auswertung für transparente Selbstleuchter gleich der für absorbierende Objekte.

3.2.2 Das Verfahren für absorbierende Objekte

Zunächst soll das Messverfahren für absorbierende Objekte erarbeitet werden. Damit gilt für das in Kapitel 2.2.1 beschriebene Objekt

$$n_R(x, y, z) = 1 \quad \text{und} \quad r(x, y, z) = 0 \quad . \quad (3.1)$$

Hier sind x , y und z wieder die Koordinaten des Objektraums (siehe Abb. 2.5), $n_R(x, y, z)$ der Realteil des komplexen Brechungsindex $n(x, y, z)$ des Objekts und $r(x, y, z)$ die räumliche spezifische Ausstrahlung bzw. die räumliche Intensität des Objekts.

3.2.2.1 Das Messpräparat

Das neue Messverfahren, das in dieser Arbeit vorgestellt werden soll, verwendet ein Messpräparat mit einer schwach beugenden, hier also mit einer schwach absorbierenden, dünnen, ausgedehnt senkrecht zur optischen Achse liegenden Schicht. Die Dicke dieser Schicht ist deutlich kleiner als die Auflösungsgrenze der dreidimensional-optischen Abbildung in z-Richtung. Außerdem besitzt die Schicht als Signal in x/y-Richtung weißes Rauschen (siehe Kapitel 7.7).

Die Abb. 3.4 zeigt zwei solche zweidimensional-absorbierende Rauschmesspräparate, die typischerweise für die Experimente dieser Arbeit eingesetzt wurden.

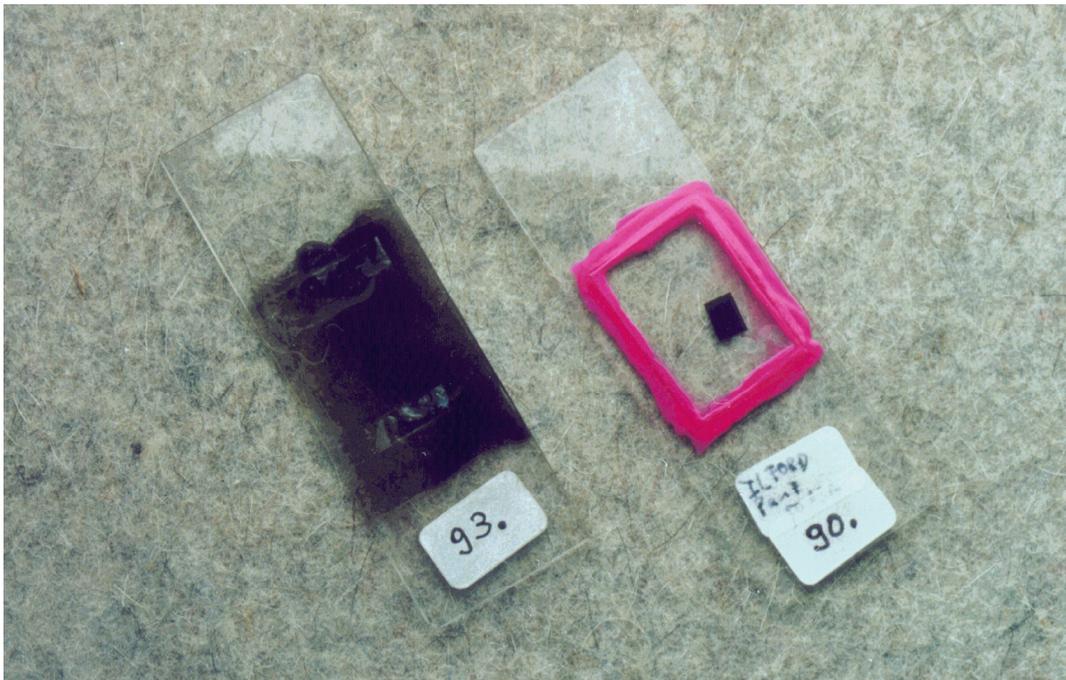


Abb. 3.4: Typische, zweidimensional-absorbierende Rauschmesspräparate

Wie die Abb. zeigt, ist das zweidimensional-absorbierende Rauschmesspräparat rechts mit Hilfe eines Schwarz / Weiß - Films hergestellt worden. Ein normaler Schwarz / Weiß - Film besitzt eine empfindliche Schicht mit einer typischen Dicke von $6\mu\text{m}$, die nach dem Entwickeln noch $4\mu\text{m}$ dick ist. Die Korngröße eines solchen Films liegt typischerweise bei unter $1\mu\text{m}$. Nur bei hochauflösenden Filmen und bei Röntgenfilmen, deren empfindliche Schicht genauso dick ist wie die von normalen Schwarz / Weiß - Filmen, liegt die typische Korngröße deutlich unter $1\mu\text{m}$.

Diese Eigenschaften zeigen (siehe (2.115) und (2.116)), dass ein zweidimensionales Rauschmesspräparat, das einen Schwarz / Weiß-Film verwendet, nur zur Vermessung von dreidimensional-optischen Aufnahmeeinheiten mit mittleren Numerischen Aperturen (2.75) der abbildenden Optik geeignet ist.

Eine Möglichkeit, Schwarz / Weiß-Filme für die Vermessung von hochaperturigen optischen Aufnahmeeinheiten zu verwenden, ergibt sich, wenn ein belichteter, hochauflösender Film oder ein belichteter Röntgenfilm eingesetzt wird, bei dem die Dicke der zunächst empfindlichen Schicht, die in vielen Fällen auf einer Glasplatte aufgebracht ist, nach der Belichtung z. B. durch Schleifen auf ein geeignetes Maß reduziert worden ist. Versuche haben jedoch gezeigt, dass es recht schwierig ist, die Schichtdicke auf diese Weise zu reduzieren.

Deshalb wurde nach einem anderen Ansatz zur Herstellung eines zweidimensionalen Rauschmesspräparats für hochaperturige Objektive gesucht. Dabei wurden in einem ersten Schritt Rußpartikel zur Herstellung der dünnen Schicht des Rauschmesspräparats ausfindig gemacht. Die Herstellung der dünnen Schicht durch Einrühren von Ruß in Gasoline und Einfügen der Ruß-Gasoline-Mischung zwischen Objektträger und Deckglas zeigte jedoch keine befriedigende Ergebnisse, weil ein Verklumpen der Rußpartikel und zwischen den Klumpen rußfreies Gasoline auftrat.

Statt zu versuchen, den Ruß in Gasoline einzurühren, ist es im Hinblick auf eine breitere Nutzung des in dieser Arbeit vorgestellten Messverfahrens möglicherweise erfolgreicher, die Technologien heranzuziehen, mit denen Partikel in Schwarz / Weiß- oder auch in Farbfilme eingebracht werden. Die Ergebnisse sind ja gut für das Messverfahren geeignet. Aufgrund der großen Umsätze, die mit diesen Filmen gemacht werden, ist anzunehmen, dass es auch umfangreiche technologische Erkenntnisse und Erfahrungen zum gleichmäßigen Verteilen von Partikeln in Filmschichten gibt.

Für diese Arbeit war der Versuch erfolgreich, den Ruß aus einer Streichholzflamme ohne eine Flüssigkeit direkt auf einen Objektträger aufzutragen. Das so gewonnene Rauschmesspräparat Nr. 93 ist auf der linken Seite der Abb. 3.4 abgebildet (siehe auch Kapitel 7.9.2).

3.2.2.2 Die systemtheoretischen Eigenschaften des Rauschmesspräparats

Das zweidimensionale Rauschmesspräparat wird physikalisch durch den Imaginärteil $n_{rI}(x, y, z)$ des komplexen Brechungsindex des Objekts beschrieben. Es soll mathematisch als Produkt (3.3) aus weißem Rauschen (siehe Kapitel 7.7), wie es bei den Experimenten dieser Arbeit auftritt, mit der reellen Größe $n_e(x, y)$, und aus einer geraden, reellen Funktion $g(z)$ (siehe auch Abb. 3.5 in z-Richtung), z. B. aus einer Gaußfunktion, mit der Normierung

$$\int_{-\infty}^{+\infty} g(z) dz = 1m \quad (3.2)$$

beschrieben werden. Dabei sind x , y und z wieder die Koordinaten des Objektraums (siehe Abb. 2.5).

Die Wahl einer Gaußfunktion für $g(z)$ ist nur eine Möglichkeit, das reale Rauschmesspräparat in z-Richtung mathematisch zu beschreiben. Falls ein Schwarz / Weiß - Film zur Herstellung des Präparats verwendet wird, ist die Wahl einer Rechteckfunktion sicher angemessener.

So ergibt die systemtheoretische Analyse des zweidimensionalen Rauschmesspräparats

$$n_{\text{rl}}(x, y, z) = n_e(x, y) g(z) \quad \xrightarrow{\mathcal{F}} \quad N_{\text{rl}}(f_x, f_y, f_z) = N_e(f_x, f_y) G(f_z) \quad , \quad (3.3)$$

wobei $N_{\text{rl}}(f_x, f_y, f_z)$ die Spektraldichte von $n_{\text{rl}}(x, y, z)$, $N_e(f_x, f_y)$ die von $n_e(x, y)$ (siehe Kapitel 7.7), und $G(f_z)$ die Spektraldichte von $g(z)$ ist. Da $g(z)$ gerade und reell ist, ist dies nach dem Zuordnungssatz [3.18] auch $G(f_z)$. Die Fourier-Transformation in (3.3) lässt sich unschwer nachvollziehen, weil sie nach x/y , und nach z separierbar [3.15] ist. Wenn z. B. zunächst die Transformation in x/y -Richtung durchgeführt wird, kann $g(z)$ als Konstante vor das Doppelintegral der Transformation stellen. Für die anschließende Transformation in z -Richtung ist $N_e(f_x, f_y)$ eine Konstante.

Die Abb. 3.5 soll (3.3) veranschaulichen. In die Ebenen $z = 0$ bzw. $f_z = 0$ wurden Quadrate eingezeichnet, um diese Ebenen graphisch hervorzuheben. Für die Realisierung der Graphik musste die Darstellung beider Funktionen abgebrochen werden, in x/y - bzw. f_x/f_y -Richtung an den Quadraten, und in f_z -Richtung bei einem großen Betrag von f_z .

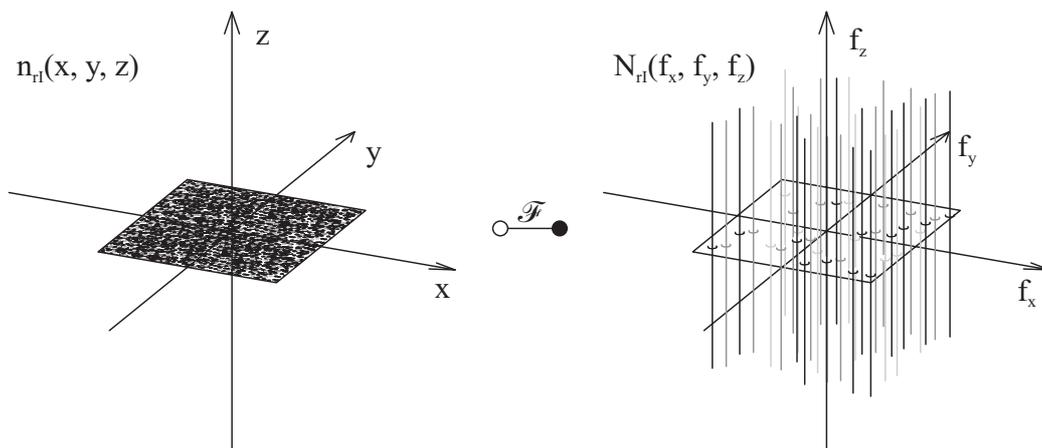


Abb. 3.5: Das Rauschmesspräparat und seine Spektraldichte

Die Abb. veranschaulicht, wie wichtig es für die Wahl eines geeigneten Rauschmesspräparats ist, ein Präparat mit einer dünnen, anregenden Schicht im Ortsbereich zu verwenden, um auch für große Beträge f_z eine große, zumindest innerhalb der Cut-off-Frequenzen (siehe Kapitel 2.2.2.2.3.2) immer positive (siehe (3.2)) Anregung mit $G(f_z) \approx 1$ zu erhalten. Auf der anderen Seite besitzen sehr dünne Schichten normalerweise auch eine sehr geringe Anregung, die den Einfluss von Störungen und Rauschen auf die Messung erhöht.

Darüber hinaus ist es wichtig, ein Rauschmesspräparat zu verwenden, dessen Spektraldichte $N_e(f_x, f_y)$ zumindest innerhalb der Cut-off-Frequenzen in x/y -Richtung eine möglichst weiße Anregung besitzt (siehe Kapitel 7.7). Schichten, bei denen $N_e(f_x, f_y)$ auch Anteile weit außerhalb der Cut-off-Frequenzen besitzt, haben häufig entsprechend geringere Anteile innerhalb der Cut-off-Frequenzen.

Es zeigt sich, dass die Suche nach einem geeigneten Rauschmesspräparat abhängt von der Numerischen Apertur des verwendeten Mikroskopobjektivs mit den Cut-off-Frequenzen

seiner dreidimensional-optischen Abbildung. Außerdem ist die Suche verbunden mit einem Ausbalancieren von verschiedenen systemtheoretischen Eigenschaften des Messpräparats.

3.2.2.3 Die Übertragung der Messanregung durch die optische Abbildung

Zur Beschreibung der Übertragungseigenschaften der dreidimensional-optischen Abbildung von absorbierenden Objekten soll wieder die Punktantwort $h_{\text{OnI}}(x, y, z)$ im Ortsbereich und die Übertragungsfunktion $H_{\text{OnI}}(f_x, f_y, f_z)$ im Ortsfrequenzbereich verwendet werden.

Da bei einer realen Messung das Koordinatensystem des zweidimensionalen Rauschmesspräparats, wie es im letzten Kapitel beschrieben worden ist, gegenüber dem Koordinatensystem des Objektraums (siehe Abb. 2.5) der Aufnahmeeinheit translatorisch versetzt und gedreht ist, wird für die folgenden Berechnungen zumindest der translatorische Versatz um x_0, y_0 und z_0 durch die Funktion [3.15]

$$v(x, y, z) = \delta(x - x_0) * \delta(y - y_0) * \delta(z - z_0)$$

$$\overset{\mathcal{F}}{\circlearrowleft} \bullet \quad V(f_x, f_y, f_z) = V_x(f_x) \cdot V_y(f_y) \cdot V_z(f_z) = e^{-i2\pi(f_x x_0 + f_y y_0 + f_z z_0)} \quad (3.4)$$

berücksichtigt und Fehler durch Drehung vernachlässigt.

Unter Berücksichtigung der Versatzes (3.4) ergibt sich das experimentell gewonnene Bild

$$i_{\text{OrI}}(x, y, z) = h_{\text{OnI}}(x, y, z) * v(x, y, z) * n_{\text{rI}}(x, y, z) \quad (3.5a)$$

des Messpräparats aus der dreidimensional-optischen Abbildung und die zu diesem Bild gehörende Spektraldichte

$$I_{\text{OrI}}(f_x, f_y, f_z) = H_{\text{OnI}}(f_x, f_y, f_z) \cdot V(f_x, f_y, f_z) \cdot N_{\text{rI}}(f_x, f_y, f_z) \quad (3.5b)$$

Es soll hier noch einmal erwähnt werden, dass die Antwort der optischen Abbildung für die Berechnungen nicht direkt im Rechner, sondern nur als Antwort der dreidimensional-optischen Aufnahmeeinheit, also vor allem einschließlich der Tiefpassfilterung (2.120) durch den Sensor in der Aufnahmeeinheit (siehe Kapitel 2.2.3), zur Verfügung steht (siehe Abb. 2.3). Deshalb wird zur Messung der optischen Abbildungseigenschaften im experimentellen Teil dieser Arbeit in der Regel eine Nachvergrößerung M_{L4} (siehe Tab. 2.1) gewählt, die doppelt so groß ist wie die Vergrößerung, die zur Erfüllung des Abtasttheorems (2.115) notwendig ist, um die Ortsfrequenzen der Spektraldichten, die durch den Sensor mit seiner Tiefpassfilterung übertragen werden, zu halbieren und damit den Einfluss dieser Tiefpassfilterung möglichst weit zu reduzieren. Für die Messung der Übertragungseigenschaften der dreidimensional-optischen Abbildung wird so näherungsweise das Bild aus der Aufnahmeeinheit mit dieser verdoppelten Nachvergrößerung an Stelle des Bilds aus der

optischen Abbildung herangezogen. Auf der anderen Seite ist eine solche Erhöhung der Nachvergrößerung natürlich nicht erforderlich, wenn die Übertragungseigenschaften der dreidimensional-optischen Aufnahmeeinheit insgesamt, also einschließlich dem Sensor, ermittelt werden sollen, um anschließend eine Restauration der Aufnahme vorzunehmen.

3.2.2.4 Das Bild des Rauschmesspräparats und seine Spektraldichte

Für die im Folgenden beschriebene Messung der dreidimensional-optischen Abbildungseigenschaften wurde der in Tab. 7.2 beschriebene experimentelle Aufbau verwendet. Er besitzt die im vorigen Kapitel 3.2.2.3 beschriebene Überabtastung, um die Eigenschaften der dreidimensional-optischen Abbildung zu ermitteln.

Die Abb. 3.6 zeigt die Aufnahme des zweidimensionalen Rauschmesspräparats aus der dreidimensional-optischen Aufnahmeeinheit. Sie liegt als dreidimensionaler Datensatz $a(i, j, k)$ im Rechner vor (siehe Kommentar zu Abb. 2.3).

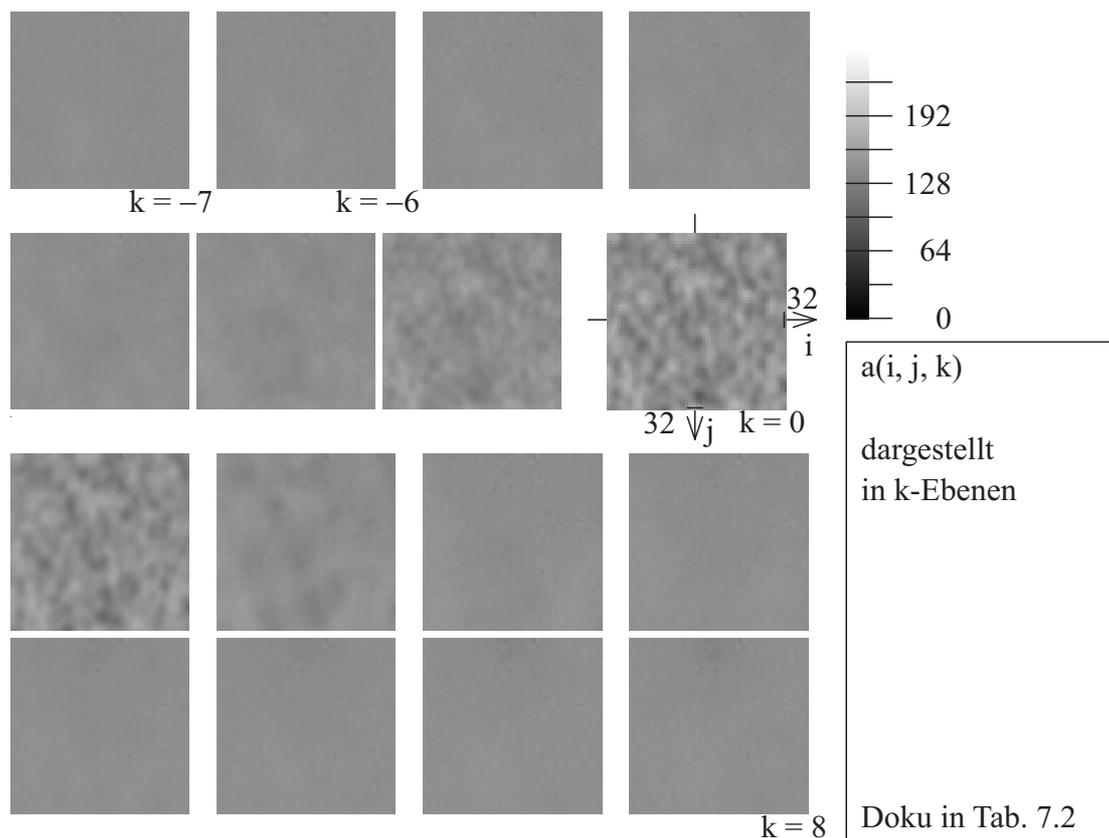


Abb. 3.6: Die Aufnahme des zweidimensionalen Rauschmesspräparats

Für ein besseres Verständnis der in der Abb. 3.6 gezeigten Aufnahme soll erwähnt werden, dass die Diagonale einer z -Ebene dieser Abb. nur zu etwa einem $1/50$ der Diagonalen des vom Mikroskop erzeugten zweidimensional-optischen Bilds gehört. Dies führt möglicherweise bei einer Betrachtung der Abb. 3.6 zu dem Eindruck, dass bei der Aufnahme eine

übermäßige Vergrößerung vorgenommen worden ist. Dieser Eindruck entsteht, obwohl das Abtasttheorem nur bei einer angemessenen Reserve eingehalten worden ist. Für diesen Eindruck der übermäßigen Vergrößerung gibt es zwei Gründe. Zum einen werden die hochfrequenten Anteile, für die das Abtasttheorem eingehalten werden soll, zwar von der dreidimensional-optischen Aufnahmeeinheit übertragen, sie zeigen sich aber aufgrund der Tiefpasseigenschaften der optischen Aufnahmeeinheit nur mit einer sehr geringen Amplitude in der Aufnahme und sind somit nur schlecht sichtbar. Darüber hinaus und wie bereits angesprochen (siehe Kapitel 2.2.3.1.2) ist der menschliche Betrachter aufgrund seiner Wahrnehmung sehr wohl bereit, eine gewisse Verletzung des Abtasttheorems zu akzeptieren, ohne dass diese Verletzung von ihm als störend empfunden wird.

Aus der in der Abb. 3.6 gezeigten Aufnahme wird das in der Abb. 3.7 gezeigte Bild $i_{\text{OrI}}(x, y, z)$ des zweidimensionalen Rauschmesspräparats aus der dreidimensional-optischen Abbildung in den folgenden Schritten berechnet:

- Subtraktion (2.97a) des Leerbilds, das hier durch Abschätzung aus der Aufnahme mit dem konstanten Wert $I_{0a} = 180$ angesetzt worden ist.
- Vorzeichenwechsel und Skalierung, um den Imaginärteil des komplexen Brechungsindex zu ermitteln (2.97a).
- Koordinatentransformation, um aus den Koordinaten i, j, k der Aufnahme die Koordinaten x, y, z des Objekts bzw. des Bilds des Objekts zu erhalten (2.19) (2.119). Dabei wird eine Spiegelung durchgeführt, um die negative Vergrößerung (2.114) in x -Richtung zu berücksichtigen.
- Spiegeln in y - und z -Richtung, um einen Graph zu erhalten, in dem die Koordinatenachsen in einer möglichst gewohnten Weise angeordnet sind.

Wie die Abb. 3.7 zeigt, besitzt das Bild des zweidimensionalen Rauschmesspräparats Werte etwa zwischen 0 und 0,01. Wie bereits dargestellt (2.97a), geben diese Werte den Imaginärteil des komplexen Brechungsindex nach der dreidimensional-optischen Aufnahmeeinheit (siehe auch Kommentar zu Abb. 2.3) an. Möglicherweise scheinen diese Werte viel zu gering zu sein. Der Imaginärteil des komplexen Brechungsindex von Ruß wird ganz grob bei mindestens Eins, eher deutlich darüber liegen. Wie bei der Bildung des systemtheoretischen Modells (2.97a) mit Hilfe einer idealen dreidimensional-optischen Abbildung beschrieben, bezieht sich jeder Wert des Bilds auf ein Volumen im Objektraum, das sich über Δ_z in z -Richtung erstreckt. Wenn die Partikel des Messpräparats eine Dicke von etwa 30nm (siehe Kapitel 7.9.2) besitzen, wenn hier $\Delta_z = 2,7\mu\text{m}$ ist und wenn von den Werten des zweidimensionalen Rauschmesspräparatsbilds ausgegangen wird, dann besitzt das Partikel des Messpräparats, zunächst unter der Annahme der idealen dreidimensional-optischen Abbildung, einen Imaginärteil des komplexen Brechungsindex von etwa $(2,7\mu\text{m} / 30\text{nm}) * 0,003 \approx 0,3$. Wenn in einem zweiten Schritt eine reale dreidimensional-optische Abbildung mit Beugung zugrunde gelegt wird, dann zeigt sich ein Partikel des Messpräparats im Bild über einige Volumenelemente sowohl in x/y -Richtung als auch in z -Richtung (siehe Abb. 3.7). Wenn dafür einen Faktor von 30 ansetzt wird, dann besitzt das Rußpartikel einen Imaginärteil des komplexen Brechungsindex von 10, und dieser Wert liegt im oben angesprochenen, erwarteten Wertebereich. Dabei ist Streuung nicht berücksichtigt (siehe Kapitel 2.2.2.2.1.2).

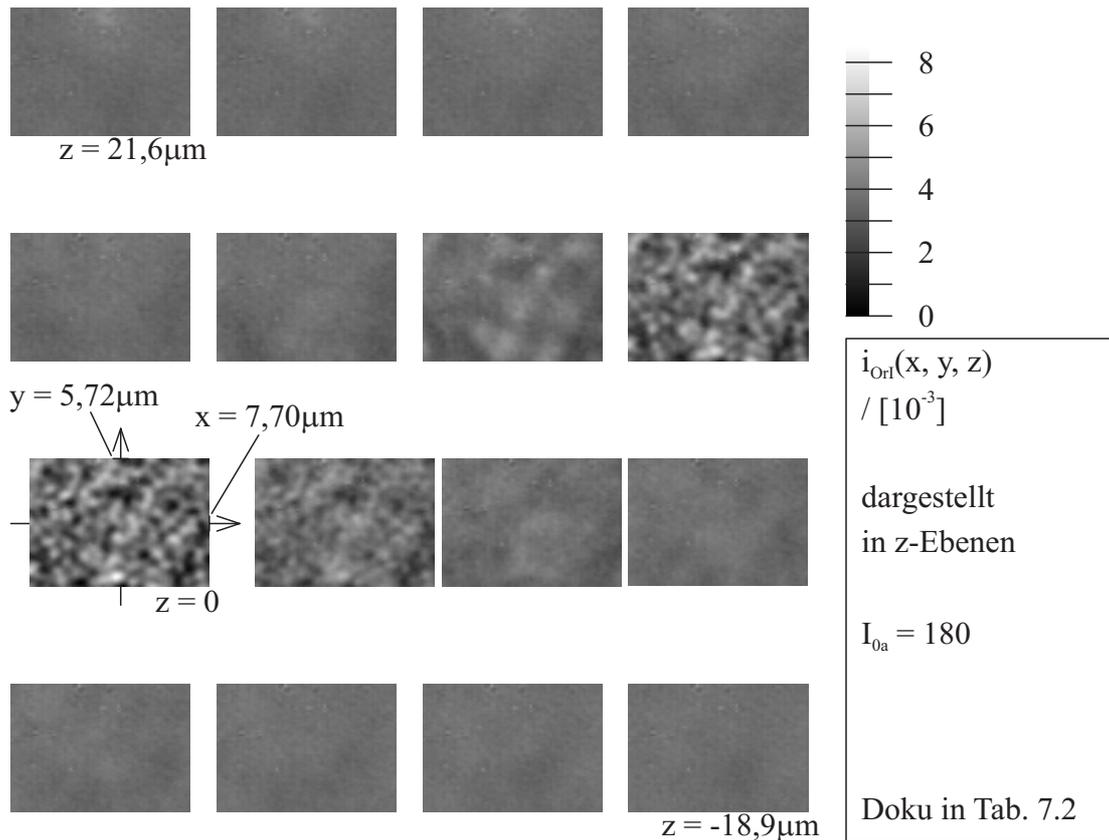


Abb. 3.7: Das Bild des zweidimensionalen Rauschmesspräparats

Im Hinblick auf die folgenden Berechnungen wird das Bild $i_{\text{Ori}}(x, y, z)$ des Rauschmesspräparats zunächst einer Fourier-Transformation unterzogen. Wie allgemein üblich, wird die diskrete Fourier-Transformation (siehe Kapitel 7.6) auch in dieser Arbeit mit der schnellen Fourier-Transformation (engl. „fast Fourier transform“), kurz FFT [3.19] vorgenommen. Vor der Fourier-Transformation wird ein Randausgleich zwischen gegenüberliegenden Rändern des Datensatzes durchgeführt, zu dem ein Algorithmus (siehe Kapitel 7.8) verwendet wird, der im Hinblick auf die Verhältnisse und Bilder dieser Arbeit entwickelt worden ist, um linienförmige Artefakte in der Spektraldichte zu vermeiden.

Durch die Fourier-Transformation des Bilds $i_{\text{Ori}}(x, y, z)$ wird $|I_{\text{Ori}}(f_x, f_y, f_z)|$, der in der Abb. 3.8 gezeigte Betrag der komplexen Spektraldichte, berechnet. Wenn in der Abb. 3.8 die Helligkeit der Grauwerte proportional zum Betrag der Spektraldichte dargestellt wäre, dann könnte nur ein gewisses Volumen, z. B. ein kleines um den Ursprung herum, sichtbar gemacht werden. Die Ursache dafür liegt im großen, 5,5 Größenordnungen umfassenden Wertebereich. Um diesen großen Wertebereich darzustellen zu können, sind die Werte zunächst auf $3 \cdot 10^{-5}$ begrenzt worden, dies betrifft vor allem den Wert im Ursprung, aber auch ein paar Werte in der Nähe des Ursprungs. Anschließend ist die Funktion $y = x^{0,25}$ für die Darstellung verwendet worden.

Im Hinblick auf die in den folgenden Kapiteln durchgeführten Berechnungen zeigt ein Vergleich der Abb. 3.8 mit der Übertragungsfunktion in Abb. 2.24, dass mit dem Rauschmesspräparat, abgesehen von einem gewissen statistischen Fehler, die Beträge der Übertragungsfunktion, zumindest vom Eindruck her, bereits recht gut ermittelt wurden.

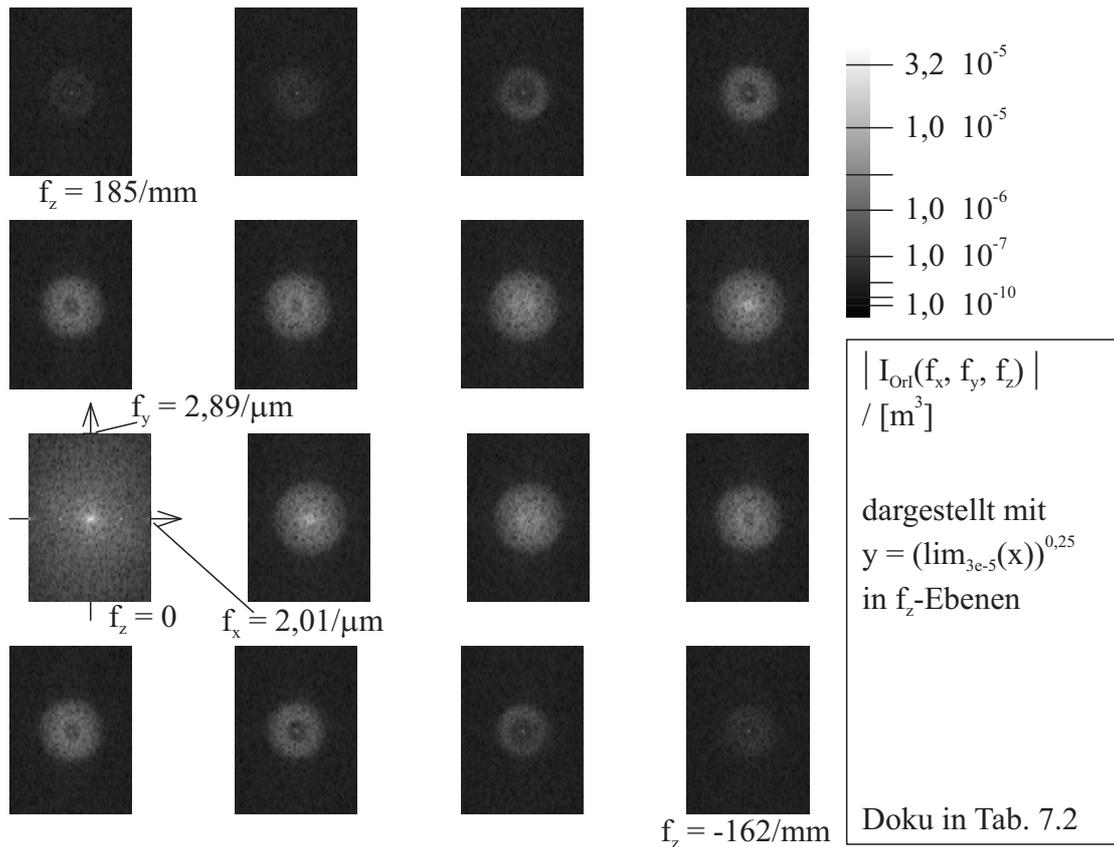


Abb. 3.8: Der Betrag der Spektraldichte des Rauschmesspräparatbilds

Auf der anderen Seite zeigen sich, gerade auch durch die gewählte Darstellungsfunktion, die folgenden, kleineren Unterschiede zwischen der, aufgrund der durchgeführten Berechnungen, (3.5b) erwarteten Spektraldichte und den experimentell gewonnenen Werten (siehe Abb. 3.8). Sie weisen auf die folgenden Messfehler hin:

- In der Ebene $f_z = 0$ tritt ein ziemlich gleichmäßiges, möglicherweise ein wenig zu den Rändern hin abfallendes Rauschen auf. Da dieses Rauschen spektrale Anteile außerhalb der Cut-off-Frequenzen (siehe Abb. 2.24) der dreidimensional-optischen Abbildung enthält, muss es nach der optischen Abbildung zum Signalfluss hinzugekommen sein. Weil es nur in der Ebene $f_z = 0$ auftritt, muss es im Ortsbereich als Bildanteil vorhanden sein, der in allen z -Ebenen gleich ist. Schließlich muss dieser Bildanteil auch im Ortsbereich weißem Rauschen ähnlich sein.

Damit kommen als Ursache z. B. Partikel und Schmutz in Frage, die sich auf dem Glas des CCD-Sensorgehäuses befinden und die auf den Sensor projiziert werden. Als Ursache sind ferner unterschiedliche Empfindlichkeiten der einzelnen CCD-Sensorelemente möglich.

- Auf der Geraden $f_y = f_z = 0$ sind bei $f_x \approx -2/\mu\text{m}$, $f_x \approx \pm 1/\mu\text{m}$ und $f_x \approx \pm 0,25/\mu\text{m}$ dirac-ähnliche Impulse sichtbar. Sie liegen bei der halben Abtastrate und bei 1/4 bzw. bei 1/16 der Abtastrate. Diese Impulse gehören zu einem Bildanteil im Ortsbereich, der in jeder Zeile des dreidimensionalen Bilds gleich ist.

Dieser Bildanteil kann auf Fehler bei der Abtastung durch den A/D-Wandler zurückzuführen sein. Es ist möglich, dass jeder zweite (bzw. jeder vierte) gewandelte

Wert ein wenig größer oder kleiner ist als der fehlerfreie Wert, z. B. weil ein Zähler auf der Bildspeicherkarte einen Einfluss auf die Wandlung hat. Darüber hinaus treten möglicherweise gewisse Probleme bei der analogen Tiefpassfilterung (siehe Kapitel 2.2.3.2) und bei der anschließenden Wiederabtastung (siehe Kapitel 2.2.3.3) durch den A/D-Wandler auf.

- Darüber hinaus zeigt die Abb. spektrale Anteile entlang der Geraden $f_x = f_y = 0$. Sie gehören zu einem Bildanteil, der zwar innerhalb einer z -Ebene konstant, aber von z -Ebene zu z -Ebene unregelmäßig groß ist. Da dieser spektrale Anteil wieder außerhalb der Cut-off-Frequenzen (siehe Abb. 2.24) liegt, muss er auch außerhalb der optischen Abbildung zum Signalfluss hinzugekommen sein.

Als Ursache kommt unterschiedliches Fremdlicht bei der optischen Abbildung durch das Mikroskop in Frage. Es wird durch die dreidimensional-optische Abbildung nicht gefiltert. Genauso sind als Ursache auch Intensitätsschwankungen der Beleuchtungseinrichtung denkbar.

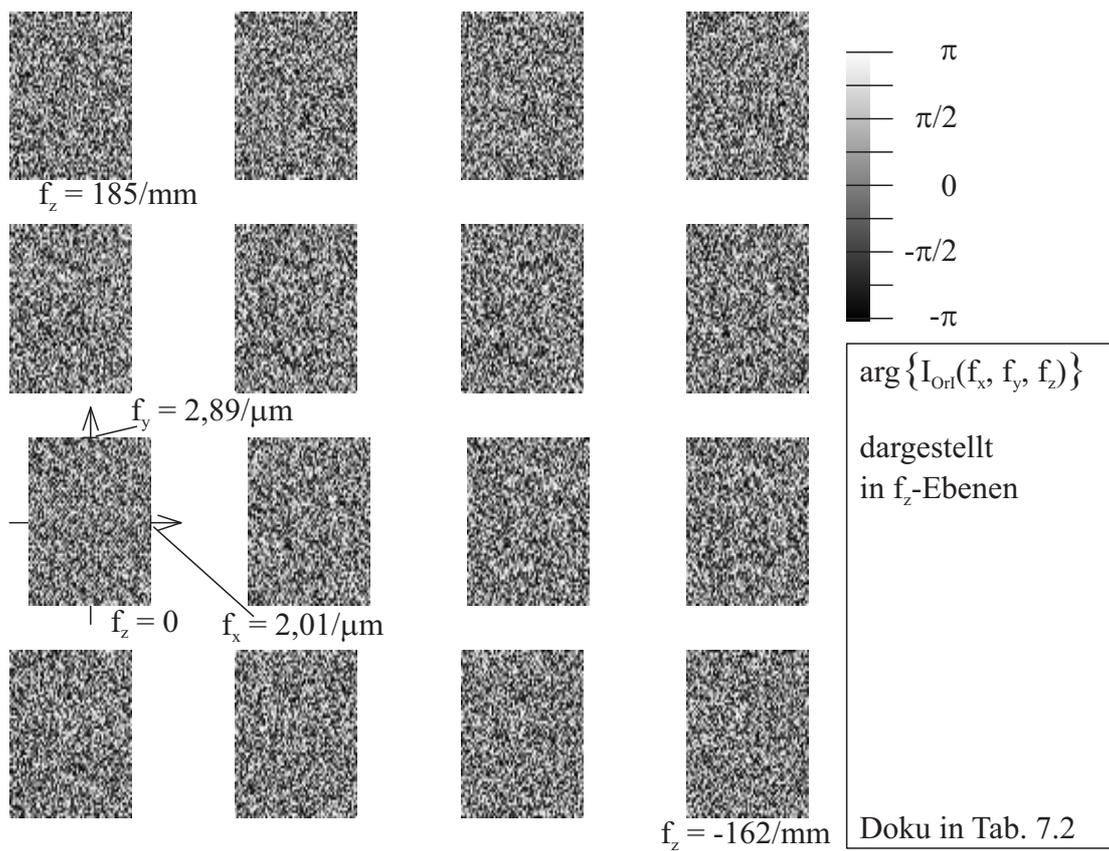
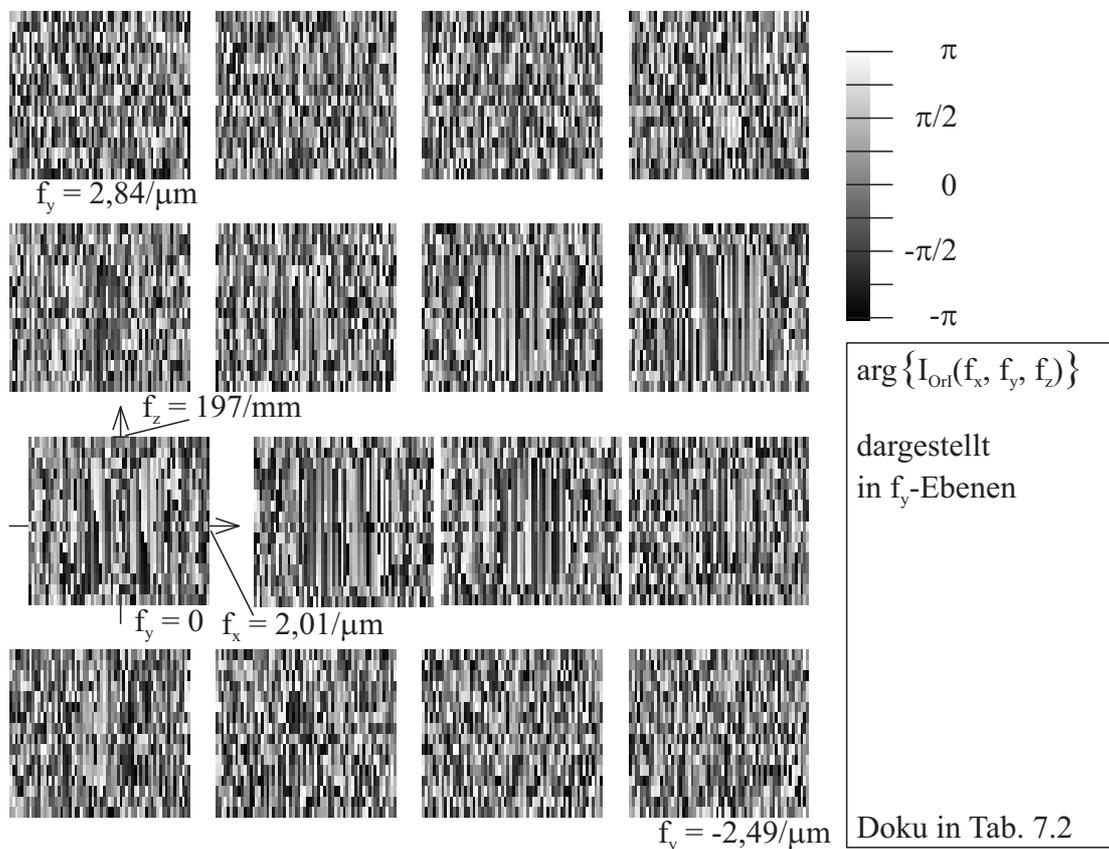
- Schließlich zeigen sich in einem geringeren Umfang noch weitere spektrale Anteile außerhalb der Cut-off-Frequenzen (siehe Abb. 2.24). Dies sind Anteile bei mittleren Beträgen von f_z und kleinen Beträgen von f_x und f_y . Ferner gibt es Anteile bei hohen Beträgen f_z und kleineren bis mittleren Beträgen f_x und f_y (siehe auch Abb. 4.1).

Woher diese Anteile kommen, ist nicht klar. Möglicherweise sind sie auf Streulicht zurückzuführen, das durch das Objekt entsteht und durch die Rechnung nicht erfasst wird (siehe Kapitel 2.2.2.2.1.2). Als weitere Ursache kommt eine bei der optischen Abbildung unscharfe Pupille in Betracht. Erfahrungen bei der numerischen Berechnung der Punktantwort gemäß den Gleichungen in den Kapiteln 2.2.2.2.1.4 und 2.2.2.2.1.5 haben gezeigt, dass unscharfe Pupillen zu unscharfen Begrenzungen des Spektralbereichs, der durch die dreidimensional-optische Aufnahmeeinheit übertragen wird, insbesondere in z -Richtung führen.

Ergänzend soll an dieser Stelle darauf hingewiesen werden, dass bei der Abtastung in z -Richtung die Übertragungsfunktion der dreidimensional-optischen Abbildung mit seinen Cut-off-Frequenzen sicher erfasst werden sollte. Auf der anderen Seite wurde akzeptiert, dass diejenigen spektralen Anteile, die nicht mehr der optischen Abbildung zugerechnet werden, mit den gewählten Abtastabständen z. B. in z -Richtung nicht mehr korrekt erfasst werden. (siehe auch Abb. 4.1)

Die Abb. 3.9 zeigt $\arg\{I_{\text{Ori}}(f_x, f_y, f_z)\}$ in f_z -Ebenen. Die Abb. zeigt, wie, zumindest vom Eindruck her, innerhalb einer f_z -Ebene die Phase jedes Werts unabhängig von der Phase der Nachbarwerte ist. Dies entspricht den durchgeführten Berechnungen (siehe Kapitel 3.2.2.2).

In der Abb. 3.10 ist die Phase in f_y -Ebenen dargestellt. Die Abb. veranschaulicht, wie sich die Phase der Spektraldichte innerhalb des durch die dreidimensional-optische Abbildung übertragenen Spektrums (siehe Abb. 2.24) und entlang von Geraden, für die f_x und f_y konstant sind, nur langsam verändert. Dies deckt sich mit den Berechnungen (siehe Abb. 3.5, (3.3) und (3.5b)). Eine detailliertere Analyse der Abb. 3.10 zeigt, dass die Phase entlang der gerade angesprochenen Geraden proportional mit steigendem f_z abnimmt. Gemäß dem Verschiebungssatz bedeutet dies, dass die Anregung durch das zweidimensionale Rauschmesspräparat im Ortsbereich um ein positives z_0 (3.4), also anschaulich ausgedrückt nach oben, versetzt (3.5b) ist. Dies zeigt auch Abb. 3.7.

Abb. 3.9: Die Phase der Spektraldichte in f_z -EbenenAbb. 3.10: Die Phase der Spektraldichte in f_y -Ebenen

Allerdings zeigen sich auch wieder Unterschiede zwischen den aufgrund der Berechnungen (3.5b) erwarteten (siehe Abb. 3.5) und den gemessenen (siehe Abb. 3.10) Phasen:

- Die Abb. 3.10 zeigt, dass die sich langsam, entlang der Geraden ändernde Phase häufig durch einen anderen Phasenwert in der Ebene $f_z = 0$ ersetzt ist.

Die Ursache dafür kann wieder (siehe Diskussion zu Abb. 3.8) in Partikel und Schmutz auf dem Glas des CCD-Sensorgehäuses und in unregelmäßigen Empfindlichkeiten der Sensorelemente des CCD-Sensors liegen.

3.2.2.5 Die Berechnung der Übertragungsfunktion

Um aus der Spektraldichte $I_{\text{OrI}}(f_x, f_y, f_z)$ des Rauschmesspräparatbilds die Übertragungsfunktion der optischen Abbildung zu berechnen, wird (3.5b) mit (3.3) und (3.4) zu

$$I_{\text{OrI}}(f_x, f_y, f_z) = H_{\text{OnI}}(f_x, f_y, f_z) \cdot V_x(f_x) V_y(f_y) V_z(f_z) \cdot N_e(f_x, f_y) G(f_z)$$

$$I_{\text{OrI}}(f_x, f_y, f_z) = H_{\text{OnI}}(f_x, f_y, f_z) \cdot V_z(f_z) \cdot N_V(f_x, f_y) G(f_z) \quad (3.6)$$

umgeformt. Bei der Umformung in (3.6) ist der Versatz in x/y-Richtung $V_x(f_x) \cdot V_y(f_y)$ und das zweidimensionale Rauschen $N_e(f_x, f_y)$ des Messpräparats zu $N_V(f_x, f_y)$ zusammengefasst worden. Da $N_e(f_x, f_y)$ und $N_V(f_x, f_y)$ die gleichen statistischen Eigenschaften besitzen (siehe auch Kapitel 3.2.2.2), ist die Umformung möglich, und die Umformung ist sinnvoll, weil sie die folgenden Berechnungen vereinfacht.

Die Gleichung (3.6) veranschaulicht das zu lösende Problem: Da im Allgemeinen das Produkt $V_z(f_z) \cdot N_V(f_x, f_y) \cdot G(f_z)$ unbekannt ist, bleibt dann auch die gesuchte Übertragungsfunktion $H_{\text{OnI}}(f_x, f_y, f_z)$ unbekannt. Nur wenn die Übertragungsfunktion gewisse, vor der Messung bekannte Eigenschaften besitzt, lassen sich aus der Spektraldichte des Rauschmesspräparatbilds ausreichend viele Eigenschaften des Produkts $V_z(f_z) \cdot N_V(f_x, f_y) \cdot G(f_z)$ gewinnen, um dann die Übertragungsfunktion berechnen zu können. Dabei ist es günstig, wenn die gerade angesprochenen Eigenschaften der Übertragungsfunktion das Messverfahren nur wenig einschränken und wenn die bei den Berechnungen auftretenden Fehler durch Näherungen gering bleiben.

In den folgenden Kapiteln werden Wege aufgezeigt, auf denen die Messung der Übertragungsfunktion ohne allzu gravierende Einschränkungen möglich ist. Dazu müssen verschiedene Voraussetzungen erfüllt sein. Diese sind bei den dazugehörigen Gleichungen (z. B. (3.8)) mit einem „V“ markiert, wobei fett gedruckte „V“ auf gravierendere Einschränkungen hinweisen. Möglicherweise gibt es noch weitere attraktive Wege zur Messung von $H_{\text{OnI}}(f_x, f_y, f_z)$, als die in den folgenden Kapiteln beschriebenen. Andererseits sind vor allem solche Wege einfacher zu finden, bei denen die Einschränkungen gravierender sind, so z. B. der Weg, bei dem $\arg\{H_{\text{OnI}}(f_x, f_y, f_z)\} \approx 0$ vorausgesetzt werden muss.

3.2.2.5.1 Die Berechnung der Phase der Übertragungsfunktion

Um die Phase der Übertragungsfunktion zu berechnen, soll (3.6) mit der reellen, positiven Funktion $G(f_z)$ (siehe Kapitel 3.2.2.2) zu

$$\begin{aligned} \arg \left\{ H_{\text{Onl}}(f_x, f_y, f_z) \right\} &= \arg \left\{ \frac{I_{\text{Orl}}(f_x, f_y, f_z)}{V_z(f_z)} \right\} - \arg \left\{ N_V(f_x, f_y) G(f_z) \right\} \\ &= \arg \left\{ \frac{I_{\text{Orl}}(f_x, f_y, f_z)}{V_z(f_z)} \right\} - \arg \left\{ N_V(f_x, f_y) \right\} \end{aligned} \quad (3.7)$$

umgeformt werden. Die Gleichung (3.7) zeigt, dass aus der experimentell gewonnenen Funktion $\arg \left\{ I_{\text{Orl}}(f_x, f_y, f_z) \right\}$ nur dann $\arg \left\{ H_{\text{Onl}}(f_x, f_y, f_z) \right\}$ berechnet werden kann, wenn $\arg \left\{ V_z(f_z) \right\}$ und vor allem $\arg \left\{ N_V(f_x, f_y) \right\}$ ermittelt werden können. Zur Ermittlung von $\arg \left\{ N_V(f_x, f_y) \right\}$ werden in den folgenden beiden Kapiteln zwei Lösungswege beschrieben.

3.2.2.5.1.1 Berechnung, falls die z-Proj. der Punktantwort punktsymmetrisch ist

Der erste Lösungsweg setzt im Wesentlichen voraus, dass die Projektion der Punktantwort in z-Richtung im Rahmen einer Näherung punktsymmetrisch zum Ursprung und reell ist, also

$$\int_{-\infty}^{+\infty} h_{\text{Onl}}(x, y, z) dz \approx \int_{-\infty}^{+\infty} h_{\text{Onl}}(-x, -y, z) dz \in \mathbb{R} \quad . \quad (3.8) \quad \boxed{\mathbf{V}}$$

Da $h_{\text{Onl}}(x, y, z)$ aus physikalischen Gründen reell (siehe Kapitel 2.2.2.1.1.3) ist, sind auch die beiden Integrale in (3.8) reell. Damit bleibt die einschränkende Voraussetzung der Punktsymmetrie, die bei den hier vorliegenden experimentellen Aufbauten im Rahmen einer Näherung erfüllbar ist.

Mit (siehe auch Kapitel 2.1.3)

$$H_{\text{Onlz}}(x, y, f_z) := \mathcal{F}_z \left\{ h_{\text{Onl}}(x, y, z) \right\} \quad (3.9)$$

und unter Verwendung des Projektionssatzes [3.15], der für $f_z = 0$ direkt aus der Gleichung für die Fourier-Transformation (2.10) hergeleitet werden kann, ist

$$H_{\text{Onlz}}(x, y, f_z) = \int_{-\infty}^{+\infty} h_{\text{Onl}}(x, y, z) dz \quad | \quad f_z = 0 \quad . \quad (3.10)$$

Durch Einsetzen von (3.10) in (3.8) ergibt sich

$$H_{\text{OnLz}}(x, y, f_z) \approx H_{\text{OnLz}}(-x, -y, f_z) \in \mathbb{R} \quad | \quad f_z = 0 \quad (3.11)$$

und aufgrund des Zuordnungssatzes [3.15]

$$H_{\text{OnI}}(f_x, f_y, f_z) \approx H_{\text{OnI}}(-f_x, -f_y, f_z) \approx \mathcal{Re}\{H_{\text{OnI}}(f_x, f_y, f_z)\} \quad | \quad f_z = 0 \quad (3.12)$$

Für den in diesem Kapitel beschriebenen Lösungsweg wird außerdem vorausgesetzt, dass das 3-fach-Integral der Punktantwort über x , y und z reell und positiv ist. Dann besitzt die Punktantwort anschaulich ausgedrückt einen positiven, reellen Gleichanteil. Es muss also

$$\int_{-\infty}^{+\infty} \int_{-\infty}^{+\infty} \int_{-\infty}^{+\infty} h_{\text{OnI}}(x, y, z) dx dy dz \in \mathbb{R} \quad \wedge \quad \int_{-\infty}^{+\infty} \int_{-\infty}^{+\infty} \int_{-\infty}^{+\infty} h_{\text{OnI}}(x, y, z) dx dy dz > 0 \quad (3.13a) \quad \boxed{\text{V}}$$

vorausgesetzt werden. Mit Hilfe des Projektionssatzes [3.15] in allen drei Dimensionen wird aus (3.13a)

$$H_{\text{OnI}}(f_x, f_y, f_z) \in \mathbb{R} \quad \wedge \quad |H_{\text{OnI}}(f_x, f_y, f_z)| > 0 \quad | \quad f_x = f_y = f_z = 0 \quad (3.13b) \quad \boxed{\text{V}}$$

Bei beliebigen dreidimensionalen Aufnahmeeinheiten wird (3.13) häufig schon aufgrund der systemtheoretischen Modellbildung erfüllt sein, wobei Fehler der Aufnahmeeinheit meist keine Rolle spielen werden. Dies trifft auch für die hier vorliegende Aufnahmeeinheit zu (siehe Abb. 2.20, Abb. 2.22 und Abb. 2.24).

Mit Blick auf (3.12) ist

$$|H_{\text{OnI}}(f_x, f_y, f_z)| \neq 0 \quad | \quad f_z = 0 \quad \wedge \quad \sqrt{f_x^2 + f_y^2} < f_{\text{rgl}} \quad (3.14) \quad \boxed{\text{V}}$$

eine weitere Voraussetzung, wobei f_{rgl} eine positive, reelle, möglichst hohe Grenzfrequenz ist. Im Fall beliebiger Aufnahmeeinheiten muss überprüft werden, ob (3.14) bei einer zufrieden stellend hohen Grenzfrequenz gültig ist. Hier ist (3.14) gültig, falls keine oder nur geringe Aberrationen auftreten (siehe z. B. Abb. 2.24). Ob (3.14) bei stärkeren Aberrationen gültig ist, kann meist noch anhand des Betrags der Spektraldichte des experimentell gewonnenen Rauschmesspräparatbilds überprüft werden.

Falls die Voraussetzungen (3.8), (3.13) und (3.14) erfüllt sind, ist

$$\arg\{H_{\text{OnI}}(f_x, f_y, f_z)\} \approx 0 \quad | \quad f_z = 0 \quad \wedge \quad \sqrt{f_x^2 + f_y^2} < f_{\text{rgl}} \quad (3.15)$$

und (3.7) kann auch unter Berücksichtigung von Handhabungsproblemen bzw. wenn $V_z(f_z) \neq 1$ ist wegen $V_z(f_z) = 1$ für $f_z = 0$ zu

$$\arg\{N_V(f_x, f_y)\} = \arg\left\{\frac{I_{\text{Orl}}(f_x, f_y, f_z)}{V_z(f_z)}\right\} - \arg\{H_{\text{Onl}}(f_x, f_y, f_z)\} \approx$$

$$\arg\{I_{\text{Orl}}(f_x, f_y, f_z)\} = P_{\text{NV1}}(f_x, f_y) \quad | \quad f_z = 0 \wedge \sqrt{f_x^2 + f_y^2} < f_{\text{rgl}} \quad (3.16)$$

umgeformt werden. Dabei ist $P_{\text{NV1}}(f_x, f_y)$ die auf dem hier beschriebenen Weg für den konkreten experimentellen Aufbau berechnete Näherung von $\arg\{N_V(f_x, f_y)\}$. Der Fehler der Näherung in (3.16) ist ganz wesentlich durch den Fehler der Näherung (3.8) bestimmt.

Schließlich wird (3.7) mit (3.16) und $V_z(f_z) \approx 1$ (siehe auch Diskussion zu (3.25)) zu

$$\arg\{H_{\text{Onl}}(f_x, f_y, f_z)\} \approx \arg\left\{\frac{I_{\text{Orl}}(f_x, f_y, f_z)}{V_z(f_z)}\right\} - P_{\text{NV1}}(f_x, f_y) \approx$$

$$\arg\{I_{\text{Orl}}(f_x, f_y, f_z)\} - P_{\text{NV1}}(f_x, f_y) \quad | \quad \sqrt{f_x^2 + f_y^2} < f_{\text{rgl}} \quad (3.17)$$

umgeformt, und damit $\arg\{H_{\text{Onl}}(f_x, f_y, f_z)\}$ (näherungsweise) ermittelt.

3.2.2.5.1.2 Berechnung, falls die Punktantwort für $z = 0$ punktsymmetrisch ist

Der zweite Lösungsweg zur Ermittlung der Phase der Übertragungsfunktion setzt im wesentlichen voraus, dass die Punktantwort in der Ebene $z = 0$ zumindest im Rahmen einer Näherung punktsymmetrisch zum Ursprung und reell ist. Dann ist

$$h_{\text{Onl}}(x, y, z) \approx h_{\text{Onl}}(-x, -y, z) \in \mathbb{R} \quad | \quad z = 0 \quad . \quad (3.18)$$

V

Da hier $h_{\text{Onl}}(x, y, z)$ aus physikalischen Gründen (siehe Kapitel 2.2.2.1.1.3) reell ist, kann diese Voraussetzung für den Wertebereich in (3.18) problemlos erfüllt werden. Es bleibt die einschränkende Voraussetzung der Punktsymmetrie, die jedoch hier im Rahmen einer Näherung erfüllbar ist.

Nach dem Zuordnungssatz [3.15] kann (3.18) mit

$$H_{\text{Onlxy}}(f_x, f_y, z) := \mathcal{F}_{xy} \{ h_{\text{Onl}}(x, y, z) \} \quad (3.19)$$

zu

$$H_{\text{Onlxy}}(f_x, f_y, z) \approx H_{\text{Onlxy}}(-f_x, -f_y, z) \approx \mathcal{Re} \left\{ H_{\text{Onlxy}}(f_x, f_y, z) \right\} \quad | \quad z = 0 \quad (3.20)$$

und nach dem Projektionssatz [3.15] weiter zu

$$\int_{-\infty}^{+\infty} H_{\text{Onl}}(f_x, f_y, f_z) df_z \approx \int_{-\infty}^{+\infty} H_{\text{Onl}}(-f_x, -f_y, f_z) df_z \approx \mathcal{Re} \left\{ \int_{-\infty}^{+\infty} H_{\text{Onl}}(f_x, f_y, f_z) df_z \right\} \quad (3.21)$$

umgeformt werden.

Für den in diesem Kapitel beschriebenen Lösungsweg wird außerdem vorausgesetzt, dass die zweidimensionale Übertragungsfunktion der dreidimensional-optischen Aufnahmeeinheit für $z = 0$ und $f_x = f_y = 0$ reell und positiv ist, oder anschaulich ausgedrückt einen reellen und positiven Gleichanteil besitzt. Es muss also mit (3.19)

$$H_{\text{Onlxy}}(f_x, f_y, z) \in \mathbb{R} \wedge H_{\text{Onlxy}}(f_x, f_y, z) > 0 \quad | \quad f_x = f_y = z = 0 \quad (3.22a)$$

V

vorausgesetzt werden. Mit Hilfe des Projektionssatzes [3.15] in z-Richtung kann (3.22a) zu

$$\int_{-\infty}^{+\infty} H_{\text{Onl}}(f_x, f_y, f_z) df_z \in \mathbb{R} \wedge \int_{-\infty}^{+\infty} H_{\text{Onl}}(f_x, f_y, f_z) df_z > 0 \quad | \quad f_x = f_y = 0 \quad (3.22b)$$

V

umgeformt werden. Bei beliebigen dreidimensionalen Aufnahmeeinheiten wird (3.22) häufig schon aufgrund der systemtheoretischen Modellbildung erfüllt sein, wobei Fehler der Aufnahmeeinheit meist keine Rolle spielen werden. Dies trifft auch für die hier vorliegende Aufnahmeeinheit zu [3.20] (siehe auch Abb. 2.30).

Ferner muss mit der positiven, reellen und möglichst hohen Grenzfrequenz $f_{\text{rg}2}$ und mit Blick auf (3.21)

$$\left| H_{\text{Onlxy}}(f_x, f_y, z) \right| = \left| \int_{-\infty}^{+\infty} H_{\text{Onl}}(f_x, f_y, f_z) df_z \right| \neq 0 \quad | \quad z = 0 \wedge \sqrt{f_x^2 + f_y^2} < f_{\text{rg}2} \quad (3.23)$$

V

vorausgesetzt werden. Die Voraussetzung (3.23) werden beliebige Aufnahmeeinheiten nur teilweise erfüllen. Hier ist (3.23) gültig, falls keine oder nur geringe Aberrationen auftreten (siehe z. B. Abb. 2.24, aber auch Abb. 2.22 ! und Abb. 2.20 !, ferner Abb. 2.30). Ob (3.23) bei starken Aberrationen gültig ist, kann meist noch anhand des Betrags der Spektraldichte des experimentell gewonnenen Rauschmesspräparatbilds überprüft werden.

Falls die Voraussetzungen (3.18), (3.22) und (3.23) erfüllt sind, ist

$$\arg \left\{ \int_{-\infty}^{+\infty} H_{\text{Onl}}(f_x, f_y, f_z) df_z \right\} \approx 0 \quad | \quad \sqrt{f_x^2 + f_y^2} < f_{\text{rg}2} \quad . \quad (3.24)$$

Da das Messpräparat auch bei sorgfältiger experimenteller Handhabung nur mit dem Versatz z_0 im Ursprung des Objektraums (siehe Abb. 2.5) positioniert werden kann (siehe Kapitel 3.2.2.3), und da dies bei dem hier beschriebenen Lösungsweg mathematisch wichtig ist, wird

$$V_z(f_z) \approx 1 \quad (3.25)$$

V

als Voraussetzung formuliert. Die am nächsten liegende und beste Möglichkeit, (3.25) bei einem geringen Fehler zu erfüllen, ist, neben einer sorgfältigen Handhabung, z_0 vor den Berechnungen zu ermitteln, und durch eine subpixelgenaue Verschiebung von $i_{\text{Onl}}(x, y, z)$ zu kompensieren. Unabhängig davon, ob eine solche Kompensation durchgeführt wird oder nicht, bleibt ein ggf. kleiner Wert $|z_0|$. Weil bei den Berechnungen (3.25) vorausgesetzt wird, ist für die Berechnungen der Versatz im Rauschmesspräparatbild, unabhängig von seiner Ursache, eine Eigenschaft der Aufnahmeeinheit. Dabei ist vor allem (3.18) immer für $z = 0$ gültig. Falls die Eigenschaften von $h_{\text{Onl}}(x, y, z)$ dies ermöglichen, kann auch eine gezielte Verschiebung, wie die um z_0 , mit geeigneter Koordinatentransformation durchgeführt werden, um vor allem (3.18) zu erfüllen. Schließlich bleibt bei vielen Aufnahmeeinheiten, insbesondere dann, wenn $|z_0|$ klein ist, die Möglichkeit, z_0 am Ende aller Berechnungen zu kompensieren.

Das Zeichen \approx soll im Folgenden zur Definition von Variablen verwendet werden, falls die Definition nur mit Hilfe einer Näherung möglich ist. Dabei soll der Betrag des mit der Näherung verbundenen Fehlers möglichst klein sein.

Falls $G(f_z)$ (siehe Kapitel 3.2.2.2) bei einem vernachlässigbaren oder akzeptablen Fehler innerhalb der Cut-off-Frequenzen konstant ist, wie in dieser Arbeit angenommen, ist es sinnvoll für diesen Wertebereich

$$C_G \approx G(f_z) \quad (3.26)$$

zu definieren. Weil $G(f_z)$ reell und positiv ist (siehe Kapitel 3.2.2.2), ist dies auch C_G . Schließlich ist (3.2) $C_G \approx 1m$.

Mit einem Rückgriff auf (3.6) kann jetzt $P_{NV2}(f_x, f_y)$, die auf dem hier beschriebenen Weg für den konkreten experimentellen Aufbau ermittelte Näherung von $\arg\{N_V(f_x, f_y)\}$, berechnet werden. Es ist

$$\int_{-\infty}^{+\infty} \frac{I_{\text{Orl}}(f_x, f_y, f_z)}{V_z(f_z)} dz = \int_{-\infty}^{+\infty} H_{\text{Onl}}(f_x, f_y, f_z) \cdot N_V(f_x, f_y) G(f_z) dz \approx$$

$$\int_{-\infty}^{+\infty} H_{\text{Onl}}(f_x, f_y, f_z) dz \cdot N_V(f_x, f_y) C_G$$

$$\arg\left\{\int_{-\infty}^{+\infty} \frac{I_{\text{Orl}}(f_x, f_y, f_z)}{V_z(f_z)} df_z\right\} - \arg\left\{\int_{-\infty}^{+\infty} H_{\text{Onl}}(f_x, f_y, f_z) df_z\right\} \approx \arg\left\{\int_{-\infty}^{+\infty} I_{\text{Orl}}(f_x, f_y, f_z) df_z\right\} =$$

$$P_{NV2}(f_x, f_y) \approx \arg\{N_V(f_x, f_y)\} \quad | \quad \sqrt{f_x^2 + f_y^2} < f_{\text{rg}2} \quad . \quad (3.27)$$

Beim Schritt von der ersten zur zweiten Zeile in (3.27) wurde die Näherung (3.26) verwendet, bei der Umformung in der dritten Zeile (3.25) und (3.24) genutzt, um mit dem reellen und positiven Wertebereich (siehe (3.26)) von C_G schließlich die letzte Zeile zu berechnen.

Der Fehler der Näherungen in (3.27) ist ganz wesentlich durch den Fehler der Näherung in (3.18) bestimmt. Dazu kommt ein weiterer Fehler, falls (3.25) oder (3.26) nur schlecht erfüllt ist und die optische Abbildung gewisse deutliche Aberrationen besitzt.

Gleichung (3.7) lässt sich schließlich mit (3.27) und (3.25) umformen zu

$$\arg\{H_{\text{Onl}}(f_x, f_y, f_z)\}$$

$$\approx \arg\{I_{\text{Orl}}(f_x, f_y, f_z)\} - P_{NV2}(f_x, f_y) \quad | \quad \sqrt{f_x^2 + f_y^2} < f_{\text{rg}2} \quad . \quad (3.28)$$

3.2.2.5.1.3 Vergleich der Wege zur Berechnung der Phase

Um die Phase der Übertragungsfunktion zu ermitteln, sind in den letzten beiden Kapiteln zwei verschiedene Wege beschrieben worden. Die Entscheidung darüber, welcher der beiden Wege geeigneter ist, hängt im Allgemeinen von

- der Erfüllbarkeit der Voraussetzungen,
- den Eigenschaften der Punktantwort bzw. der Übertragungsfunktion im Hinblick auf die unterschiedlichen Grenzfrequenzen f_{rg1} , f_{rg2} und von
- verschiedenen Fehlern durch Näherungen ab, die bei der Auswertung des Rauschmesspräparatbilds auftreten können.

Bei der hier vorliegenden dreidimensional-optischen Aufnahmeeinheit für absorbierende Objekte zeigt sich Folgendes:

- Beim ersten, im Kapitel 3.2.2.5.1.1 beschriebenen Lösungsweg ist die Grenzfrequenz f_{rg1} (3.14) bei kleinen (siehe Abb. 2.20) und mittleren (siehe Abb. 2.22) Beleuchtungsaperturen relativ klein. Deshalb kann auf diesem Weg $\arg \{H_{Oml}(f_x, f_y, f_z)\}$ nicht für all die Werte f_x , f_y und f_z ermittelt werden, für die $H_{Oml}(f_x, f_y, f_z)$ nennenswerte Beträge annimmt. Diese Einschränkung besteht beim zweiten, im Kapitel 3.2.2.5.1.2 beschriebenen Lösungsweg durch die im Vergleich zu f_{rg1} große Grenzfrequenz f_{rg2} (3.23) nicht.
- Dazu kommt, dass bei den experimentellen Aufbauten dieser Arbeit $\arg \{I_{Oml}(f_x, f_y, f_z)\}$ für $f_z = 0$ durch Störungen verfälscht (siehe Kommentar zu Abb. 3.10) wird. Diese Störungen führen bei der Verwendung des ersten Lösungswegs in (3.8) und damit in (3.12), (3.15) und letztlich in (3.16) zu Problemen.

Aus diesen beiden Gründen ist für die folgenden Berechnungen der zweite, im Kapitel 3.2.2.5.1.2 beschriebene Lösungsweg gewählt worden.

Es bleibt zu erwähnen, dass ein geringer statistischer Fehler von $P_{NV1}(f_x, f_y)$ bzw. $P_{NV2}(f_x, f_y)$ bei der Berechnung (siehe Kapitel 3.2.2.5.2) von $H_{Oml}(f_x, f_y, f_z)$ durch die Tiefpassfilterung zur Glättung mit $\langle \cdot \rangle$ (siehe (3.34)) reduziert wird.

3.2.2.5.2 Die Berechnung des Betrags der Übertragungsfunktion

Da $|V(f_z)| = 1$ ist, kann (3.6) zur Berechnung des Betrags der Übertragungsfunktion zu

$$\left| I_{Oml}(f_x, f_y, f_z) \right| = \left| H_{Oml}(f_x, f_y, f_z) \right| \cdot \left| N_V(f_x, f_y) G(f_z) \right| \quad (3.29)$$

umgeformt werden.

In (3.30a) und bei den anschließenden Berechnungen soll das Zeichen $\langle . \rangle$ (siehe Kapitel 7.4) die abgekürzte Schreibweise für eine Tiefpassfilterung in f_x - und f_y -Richtung zur Glättung sein. Der Faltungskern ist dabei so groß, dass der gefilterte Wert bei einem vernachlässigbaren oder akzeptablen Fehler gleich dem Erwartungswert (siehe auch Kapitel 7.7) des Arguments von $\langle . \rangle$ ist. Der Erwartungswert $E\{|N_V(f_x, f_y)|\}$ ist (siehe Kapitel 3.2.2.2) innerhalb der Cut-off-Frequenzen der zweidimensional-optischen Abbildung näherungsweise unabhängig von f_x und f_y . Er kann grundsätzlich durch eine Mittelung über viele Rauschmesspräparate oder durch eine Tiefpassfilterung über f_x und f_y zur Glättung berechnet werden. Außerdem kann auf $|N_V(f_x, f_y)|$ prinzipiell direkt, ohne die Verwendung der optischen Aufnahmeeinheit, oder indirekt, nach der optischen Aufnahmeeinheit, zugegriffen werden. Wegen der leichteren experimentellen Realisierbarkeit wird in dieser Arbeit die Tiefpassfilterung über f_x und f_y zur Glättung, und der Zugriff auf $|N_V(f_x, f_y)|$ nach der optischen Aufnahmeeinheit gewählt.

Um die Eigenschaften des Rauschmesspräparats für dieses Kapitel zu beschreiben, soll innerhalb der Cut-off-Frequenzen

$$C_r \approx \left\langle |N_V(f_x, f_y) G(f_z)| \right\rangle \quad (3.30a)$$

definiert werden, wobei C_r nur positive, reelle Werte annimmt (siehe Kapitel 3.2.2.2). Weil $G(f_z)$ innerhalb der Cut-off-Frequenzen positiv und reell ist (siehe Kapitel 3.2.2.2), kann (3.30a) mit (3.26) zu

$$C_r \approx \left\langle |N_V(f_x, f_y) C_G| \right\rangle = C_G \left\langle |N_V(f_x, f_y)| \right\rangle \quad (3.30b)$$

umgeformt werden.

Für viele, allgemeine Aufnahmeeinheiten wird die Lösung der (3.29) entsprechenden Gleichung einfach sein: Beide Seiten werden einer Tiefpassfilterung zur Glättung mit $\langle . \rangle$ unterzogen. Falls der Betrag der Übertragungsfunktion innerhalb der Kerngröße der Tiefpassfilterung zur Glättung für alle Werte f_x, f_y nur geringe relative Änderungen besitzt, kann er näherungsweise vor die spitzen Klammern gestellt werden. Falls dann noch C_r z. B. durch Vorabwissen bekannt ist oder ermittelt werden kann, lässt sich der gesuchte Betrag der Übertragungsfunktion vollständig berechnen. Da beim Lichtmikroskop der Betrag der Übertragungsfunktion in der Nähe des Ursprungs und innerhalb der Kerngröße der Tiefpassfilterung zur Glättung sehr hohe relative Änderungen über f_x, f_y besitzt (siehe Abb. 2.20, Abb. 2.22 und hier vor allem Abb. 2.24), muss ein anderer Berechnungsweg gefunden werden:

Nachdem $\arg \{H_{\text{Onl}}(f_x, f_y, f_z)\}$ auf einem der beiden, in den Kapiteln 3.2.2.5.1.1 und 3.2.2.5.1.2 beschriebenen Wegen (näherungsweise) ermittelt worden ist, kann (3.29) mit (3.30) und (3.19) weiter umgeformt werden. Es ist

$$\begin{aligned} & \left| I_{\text{Orl}}(f_x, f_y, f_z) \right| \cdot \exp\left(i \arg \{H_{\text{Onl}}(f_x, f_y, f_z)\}\right) \\ & \approx H_{\text{Onl}}(f_x, f_y, f_z) \cdot C_G \left| N_V(f_x, f_y) \right| \end{aligned} \quad (3.31a)$$

$$\begin{aligned} & \mathcal{F}_z^{-1} \left\{ \left| I_{\text{Orl}}(f_x, f_y, f_z) \right| \cdot \exp\left(i \arg \{H_{\text{Onl}}(f_x, f_y, f_z)\}\right) \right\} \\ & \approx \mathcal{F}_z^{-1} \left\{ H_{\text{Onl}}(f_x, f_y, f_z) \cdot C_G \left| N_V(f_x, f_y) \right| \right\} = \\ & H_{\text{Onlxy}}(f_x, f_y, z) \cdot C_G \left| N_V(f_x, f_y) \right| \quad . \end{aligned} \quad (3.31b)$$

Die Berechnungen (3.31) bis (3.34) können statt mit C_G auch mit $G(f_z)$ und $g(z)$ durchgeführt werden. Damit werden sie ein wenig präziser, allerdings auch umfangreicher. Da die ausführlichere Berechnung keine neuen Erkenntnisse bringt und das Ergebnis aus den beiden Berechnungswegen das gleiche ist, wurde in den Gleichungen (3.31) bis (3.34) der einfachere Berechnungsweg mit C_G dargestellt.

Weil $H_{\text{Onlxy}}(f_x, f_y, z)$ in (3.31b) nur geringe relative Änderungen [3.20] (siehe auch Abb. 2.30, wobei die inkohärente optische Abbildung im Fall des transparenten Selbstleuchters näherungsweise die gleichen Eigenschaften besitzt, wie die optische Abbildung im hier vorliegenden Fall mit hoher Beleuchtungsapertur) über f_x, f_y besitzt, können die Umformungen in (3.31c) durchgeführt werden. Aus (3.31b) wird

$$\begin{aligned} & \left\langle \mathcal{F}_z^{-1} \left\{ \left| I_{\text{Orl}}(f_x, f_y, f_z) \right| \cdot \exp\left(i \arg \{H_{\text{Onl}}(f_x, f_y, f_z)\}\right) \right\} \right\rangle \\ & \approx \left\langle H_{\text{Onlxy}}(f_x, f_y, z) \cdot C_G \left| N_V(f_x, f_y) \right| \right\rangle \approx \\ & H_{\text{Onlxy}}(f_x, f_y, z) \left\langle C_G \left| N_V(f_x, f_y) \right| \right\rangle \approx H_{\text{Onlxy}}(f_x, f_y, z) C_r \quad . \end{aligned} \quad (3.31c)$$

Falls $H_{\text{Onlxy}}(f_x, f_y, z)$ in einem Wertebereich von f_x, f_y und z keine vernachlässigbaren Werte annimmt, ist der Fehler, der bei der Umformung von der zweiten zur dritten Zeile in (3.31c) auftritt, umso geringer, je weniger sich $H_{\text{Onlxy}}(f_x, f_y, z)$ innerhalb der Kerngröße der Tiefpassfilterung zur Glättung mit $\langle . \rangle$ relativ ändert. Andernfalls, also wenn $H_{\text{Onlxy}}(f_x, f_y, z)$ nur vernachlässigbare Werte annimmt oder zu Null wird, ist der Fehler dieser Umformung aufgrund der Werte von $H_{\text{Onlxy}}(f_x, f_y, z)$ vernachlässigbar oder gleich Null.

Falls durch Vorabwissen über die dreidimensional-optische Aufnahmeeinheit bzw. nach der Fourier-Rücktransformation in z-Richtung (3.19) durch Vorabwissen über die zweidimensional-optische Aufnahmeeinheit bei Defokussierung bekannt ist, dass grobe Strukturen auch bei Defokussierung und bei geringeren Aberrationen mit einem vernachlässigbaren oder zumindest akzeptablen Fehler abgebildet werden, oder anders ausgedrückt falls

$$H_{\text{Onlxy}}(f_x, f_y, z) \approx 1 \quad | \quad f_x \approx 0 \wedge f_x \neq 0 \wedge f_y \approx 0 \wedge f_y \neq 0 \wedge z \approx 0 \quad (3.32)$$

V

ist, was meistens der Fall ist [3.20] (siehe auch Abb.2.30), kann aus (3.31c)

$$C_r \approx \left\langle \mathcal{F}_z^{-1} \left\{ \left| I_{\text{Orl}}(f_x, f_y, z) \right| \cdot \exp\left(i \arg\{H_{\text{Onl}}(f_x, f_y, z)\}\right) \right\} \right\rangle$$

$$| \quad f_x \approx 0 \wedge f_x \neq 0 \wedge f_y \approx 0 \wedge f_y \neq 0 \wedge z \approx 0 \quad , \quad (3.33)$$

und schließlich die gesuchte Übertragungsfunktion

$$H_{\text{Onlxy}}(f_x, f_y, z)$$

$$\approx \frac{1}{C_r} \left\langle \mathcal{F}_z^{-1} \left\{ \left| I_{\text{Orl}}(f_x, f_y, f_z) \right| \cdot \exp\left(i \arg\{H_{\text{Onl}}(f_x, f_y, f_z)\}\right) \right\} \right\rangle$$

$$H_{\text{Onl}}(f_x, f_y, f_z) = \mathcal{F}_z \{ H_{\text{Onlxy}}(f_x, f_y, z) \} \approx$$

$$\frac{1}{C_r} \mathcal{F}_z \left\{ \left\langle \mathcal{F}_z^{-1} \left\{ \left| I_{\text{Orl}}(f_x, f_y, f_z) \right| \cdot \exp\left(i \arg\{H_{\text{Onl}}(f_x, f_y, f_z)\}\right) \right\} \right\rangle \right\} \quad (3.34)$$

berechnet werden.

3.2.2.6 Skizzierung des hier gewählten Berechnungswegs

Die Abb. 3.11 zeigt den in den Kapiteln 3.2.2.5.1.2 und 3.2.2.5.2 beschriebenen und für die in Kapitel 3.2.2.7 durchgeführte Messung gewählten Berechnungsweg in Form einer Übersicht.

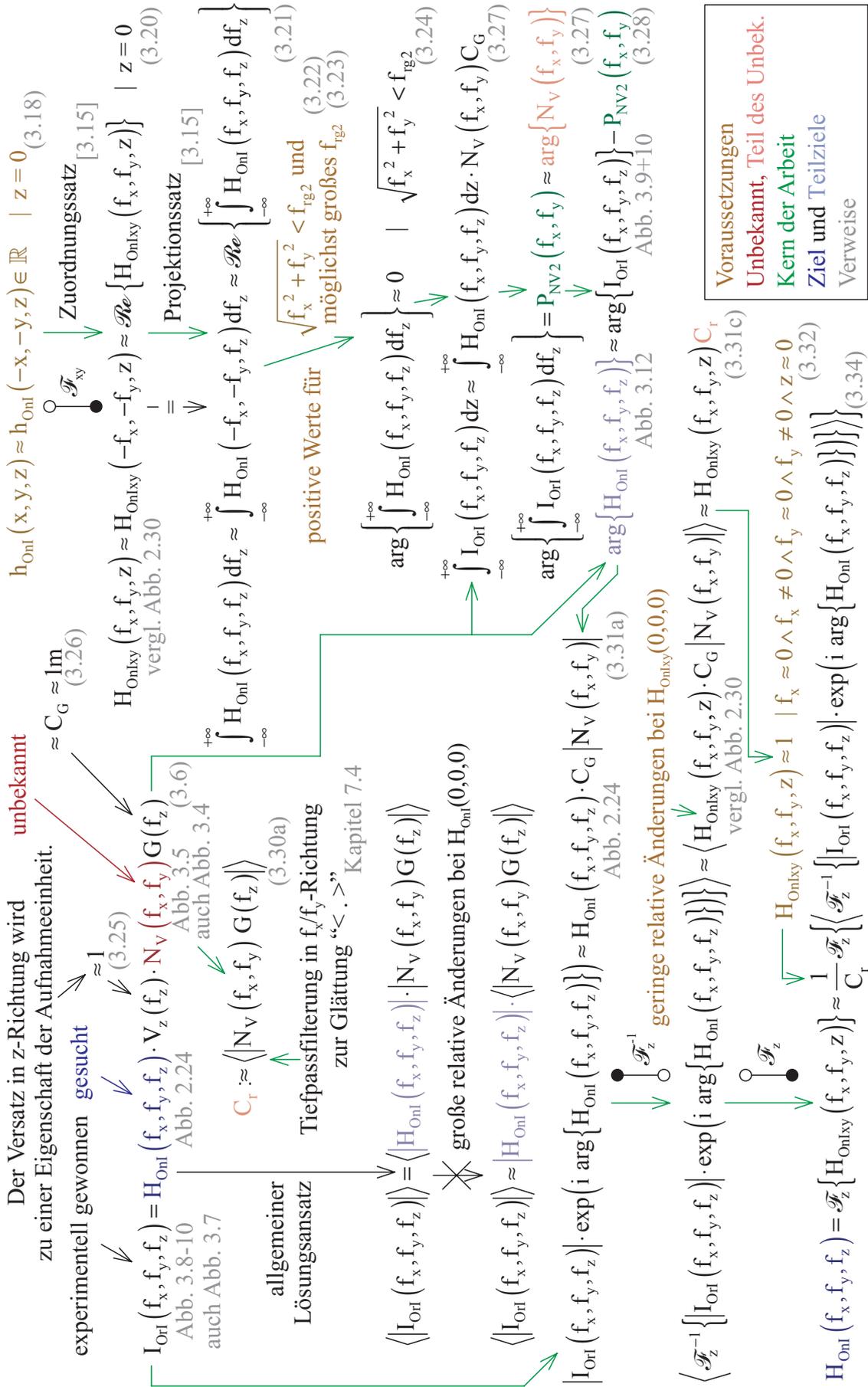


Abb. 3.11: Übersicht über den hier gewählten Berechnungsweg

3.2.2.7 Mit dem Rauschmesspräparat ermittelte Übertragungseigenschaften

Mit den in den vorangegangenen Kapiteln erarbeiteten Gleichungen, kann jetzt aus dem Rauschmesspräparatbild (siehe Abb. 3.7) mit seiner Spektraldichte (siehe Abb. 3.8, Abb. 3.9 und Abb. 3.10) die Punktantwort und die Übertragungsfunktion berechnet werden.

Dazu wird zunächst $\arg\{H_{\text{Onl}}(f_x, f_y, f_z)\}$ auf dem zweiten, im Kapitel 3.2.2.5.1.2 beschriebenen, Lösungsweg (näherungsweise) berechnet, wobei der Versatz um z_0 (siehe (3.4)) zu einer Eigenschaft der Aufnahmeeinheit geworden ist (siehe (3.25) mit anschließender Diskussion), und keine Probleme bei der Erfüllung der Voraussetzungen offensichtlich wurden. Im Rahmen der Anpassung an den hier vorliegenden experimentellen Aufbau sind die Werte der (diskretisierten) Ebene $f_z = 0$ bei der Integration in f_z -Richtung in (3.27) nicht berücksichtigt worden, um die in dieser Ebene auftretenden Störungen (siehe Kommentar zu Abb. 3.10) aus den Berechnungen herauszuhalten. So ergibt sich die in der Abb. 3.12 gezeigte Näherung von $\arg\{H_{\text{Onl}}(f_x, f_y, f_z)\}$ gemäß (3.28).

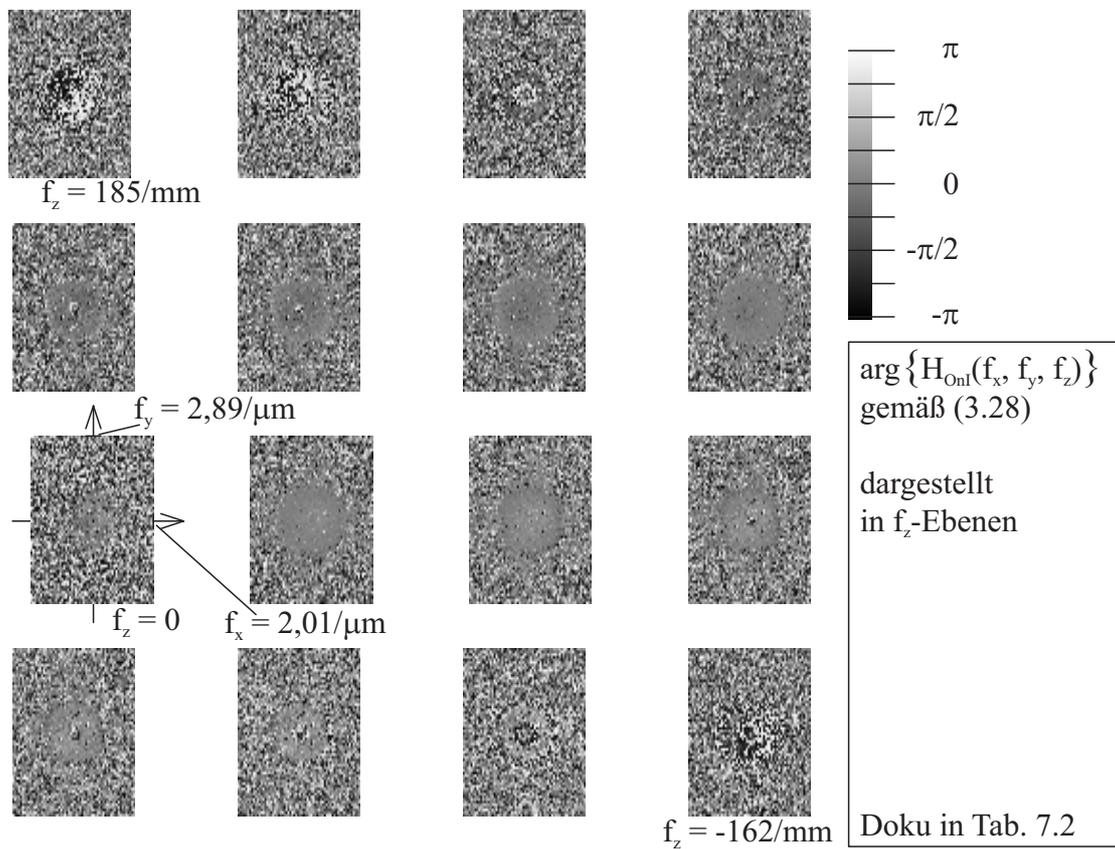


Abb. 3.12: Die Näherung der Phase der Übertragungsfunktion gemäß (3.28)

Die Abb. zeigt, dass die Näherung von $\arg\{H_{\text{Onl}}(f_x, f_y, f_z)\}$ gemäß (3.28) erwartungsgemäß (siehe Abb. 2.24) bei nennenswerten Beträgen von $I_{\text{Orl}}(f_x, f_y, f_z)$ (siehe Abb. 3.8) bzw. $H_{\text{Onl}}(f_x, f_y, f_z)$ Werte annimmt, die etwa gleich Null sind. Der Vergleich mit Abb. 3.16 ergibt, dass bereits hier alle wesentlichen Eigenschaften von $\arg\{H_{\text{Onl}}(f_x, f_y, f_z)\}$ ermittelt wurden. Die Abb. zeigt außerdem

- ein deutliches Rauschen in der Ebene $f_z = 0$.

Die Ursache dafür dürfte wieder (siehe Diskussion zu Abb. 3.8 und Abb. 3.10) in Partikel und Schmutz auf dem Glas des CCD-Sensorgehäuses und in unregelmäßigen Empfindlichkeiten der Sensorelemente des CCD-Sensors liegen.

Mit der Näherung von $\arg\{H_{\text{Onl}}(f_x, f_y, f_z)\}$ gemäß (3.28) kann jetzt auf dem im Kapitel 3.2.2.5.2 beschriebenen Weg $|H_{\text{Onl}}(f_x, f_y, f_z)|$ bzw. $H_{\text{Onl}}(f_x, f_y, f_z)$ berechnet werden:

Bei den in dieser Arbeit durchgeführten Messungen wurde die Tiefpassfilterung zur Glättung mit $\langle . \rangle$ in (3.31c) und damit in (3.33) und (3.34) nicht als Faltung im Frequenzbereich, sondern als Multiplikation im Ortsbereich ausgeführt. Dazu wurde eine gaußförmige Funktion verwendet, die unabhängig von z , und um die z -Koordinatenachse rotationssymmetrisch war. Die Funktion wurde so ausgelegt, dass sie für diejenigen Werte x , y und z , für die die Punktantwort nennenswerte Beträge annimmt, etwa den Wert Eins annimmt und sonst, also mit größer werdendem Abstand zur z -Koordinatenachse, gegen Null geht.

Die Ausführung von $\langle . \rangle$ in Form einer Multiplikation im Ortsbereich hat verschiedene Vorteile:

- Falls sich, wie in dieser Arbeit, die experimentell gewonnene Aufnahme $i_{\text{Orl}}(x, y, z)$ in x - und y -Richtung um ein Vielfaches weiter ausdehnt, als der Raum, in dem $h_{\text{Onl}}(x, y, z)$ nennenswerte Beträge besitzt, und dies wird bei einer guten experimentellen Durchführung in aller Regel der Fall sein, dann kann die gerade angesprochene gaußförmige Funktion sehr einfach so ausgelegt werden, dass durch die Filterung mit $\langle . \rangle$ nur vernachlässigbare zusätzliche Messfehler bzw. Artefakte entstehen.

Ein Vergleich der Anzahl von 512×512 Pixeln in x - und y -Richtung der experimentell (siehe Tab. 7.2) gewonnenen Aufnahme mit der gewählten Anzahl von 64×64 Pixeln bei der Darstellung von $h_{\text{Onl}}(x, y, z)$ (siehe z. B. Abb. 3.13) veranschaulicht diese Verhältnisse für die experimentelle Durchführung dieser Arbeit.

- Bei größeren Kernen der Faltung im Frequenzbereich ist der zeitliche Aufwand für die Multiplikation im Ortsbereich geringer.
- Bei der Gelegenheit der Multiplikation im Ortsbereich lässt sich ein möglicherweise durch die verschiedenen Näherungen noch vorhandener konstanter Fehler der Punktantwort relativ genau ermitteln und kompensieren, da durch Vorabwissen bekannt ist, dass die Punktantwort auch bei mittleren Aberrationen der dreidimensional-optischen Aufnahmeeinheit bei großen Entfernungen von der z -Koordinatenachse bei einem vernachlässigbaren Fehler zu Null wird.

Eine andere Möglichkeit, die Tiefpassfilterung zur Glättung mit $\langle . \rangle$ zu realisieren, ist, im Frequenzbereich entlang von Kreisen oder Kreisabschnitten zu filtern, die ihre Mittelpunkte auf der f_z - bzw. z -Koordinatenachse haben. Der Nachteil einer solchen Realisierung liegt darin, dass sie Messfehler durch Artefakte erzeugt, falls die Übertragungsfunktion nicht rotationssymmetrisch zur f_z -Koordinatenachse ist. Und rotationssymmetrisch muss die Übertragungsfunktion gemäß den Voraussetzungen nicht sein. Dazu kommt, dass bei einer solchen Realisierung der Faltungskern in der Nähe der optischen Achse aufgrund der geringen Kreisumfänge sehr klein wird, und damit die Glättung schlecht funktioniert. Diese Realisierung von $\langle . \rangle$ ist bei der Anfertigung dieser Arbeit zwar diskutiert worden, aber wegen der gerade beschriebenen Nachteile nicht zum Zuge gekommen.

Die Abb. 3.13 zeigt die mit dem zweidimensionalen Rauschmesspräparat gemessene Punktantwort $h_{\text{OnI}}(x, y, z)$ in z -Ebenen. Um die Einzelheiten und Fehler sichtbar zu machen, ist $h_{\text{OnI}}(x, y, z)$ in der Abb. 3.14 mit der Darstellungsfunktion $y = (x+10^{-3})^{0,5}$ in y -Ebenen abgebildet worden. Die Abb. 3.15 zeigt $|H_{\text{OnI}}(f_x, f_y, f_z)|$ und Abb. 3.16 schließlich $\arg\{H_{\text{OnI}}(f_x, f_y, f_z)\}$.

Für die Betrachtung von Abb. 3.15 soll daran erinnert werden, dass bei einer endlichen Anzahl von Fokusebenen, wie sie im Experiment auftritt, das Intergral von $h_{\text{OnI}}(x, y, z)$ über alle drei Dimensionen und damit aufgrund des Projektionssatzes [3.15] auch der (reelle) Wert im Ursprung von $H_{\text{OnI}}(f_x, f_y, f_z)$ gleich der Anzahl der Fokusebenen, hier also gleich 16 ist.

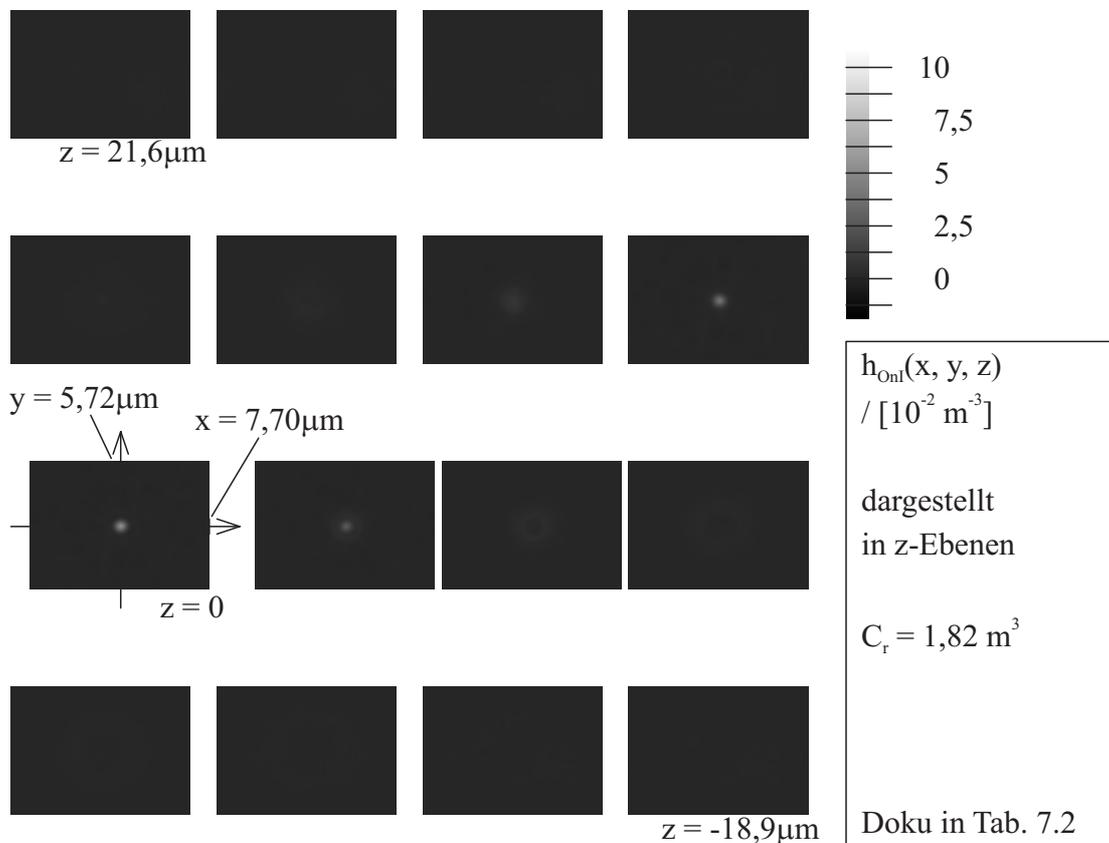


Abb. 3.13: Die gemessene Punktantwort in z -Ebenen

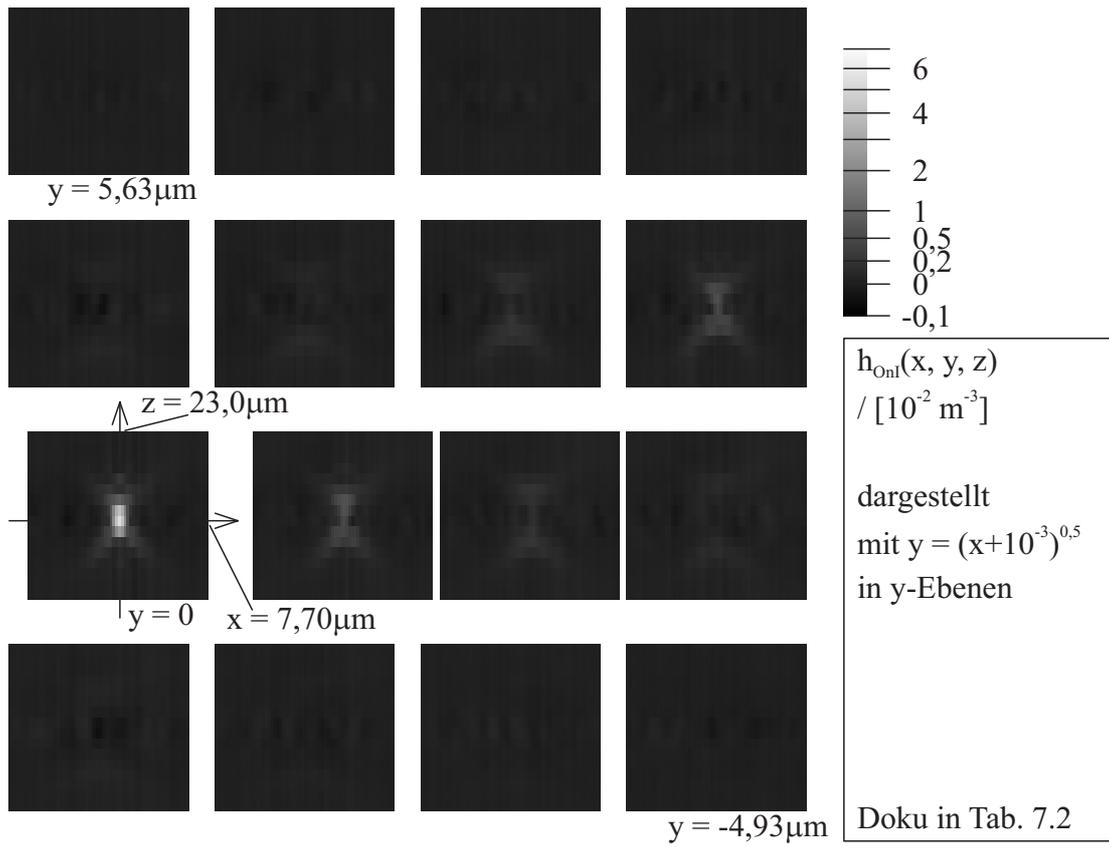


Abb. 3.14: Die gemessene Punktantwort in y -Ebenen

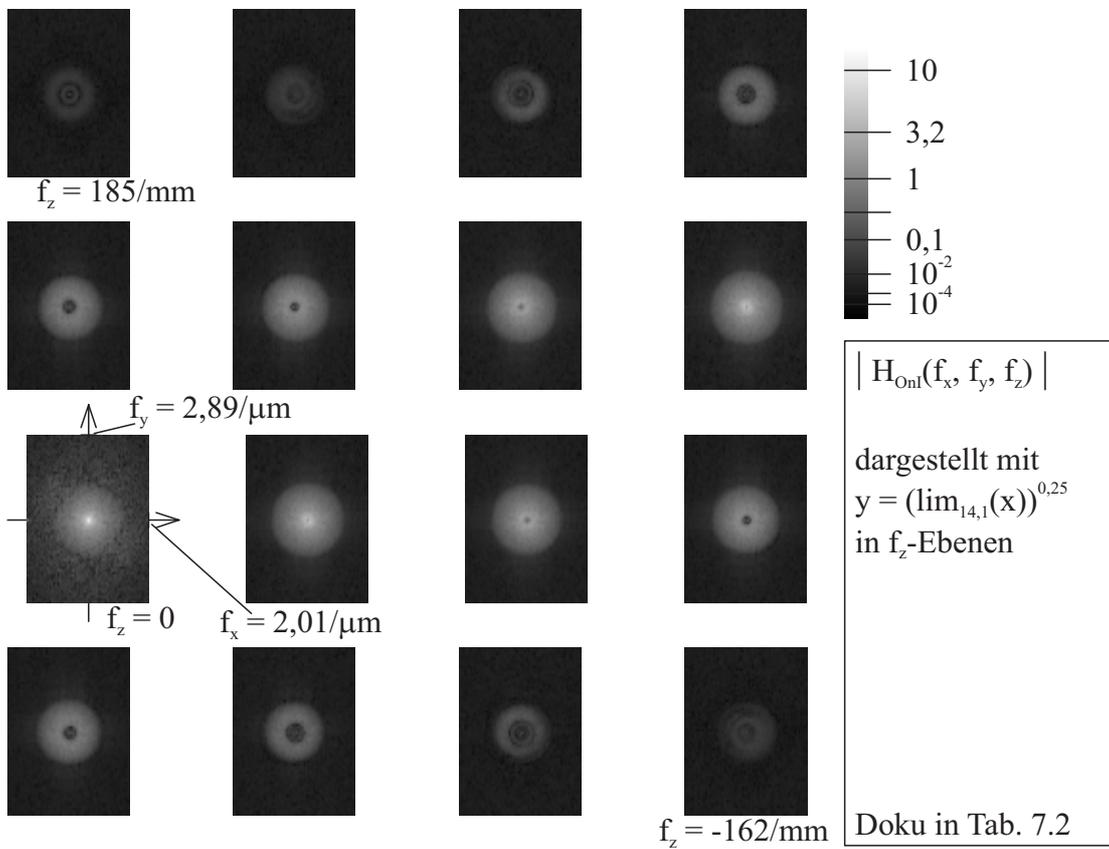


Abb. 3.15: Der Betrag der gemessenen Übertragungsfunktion in f_z -Ebenen

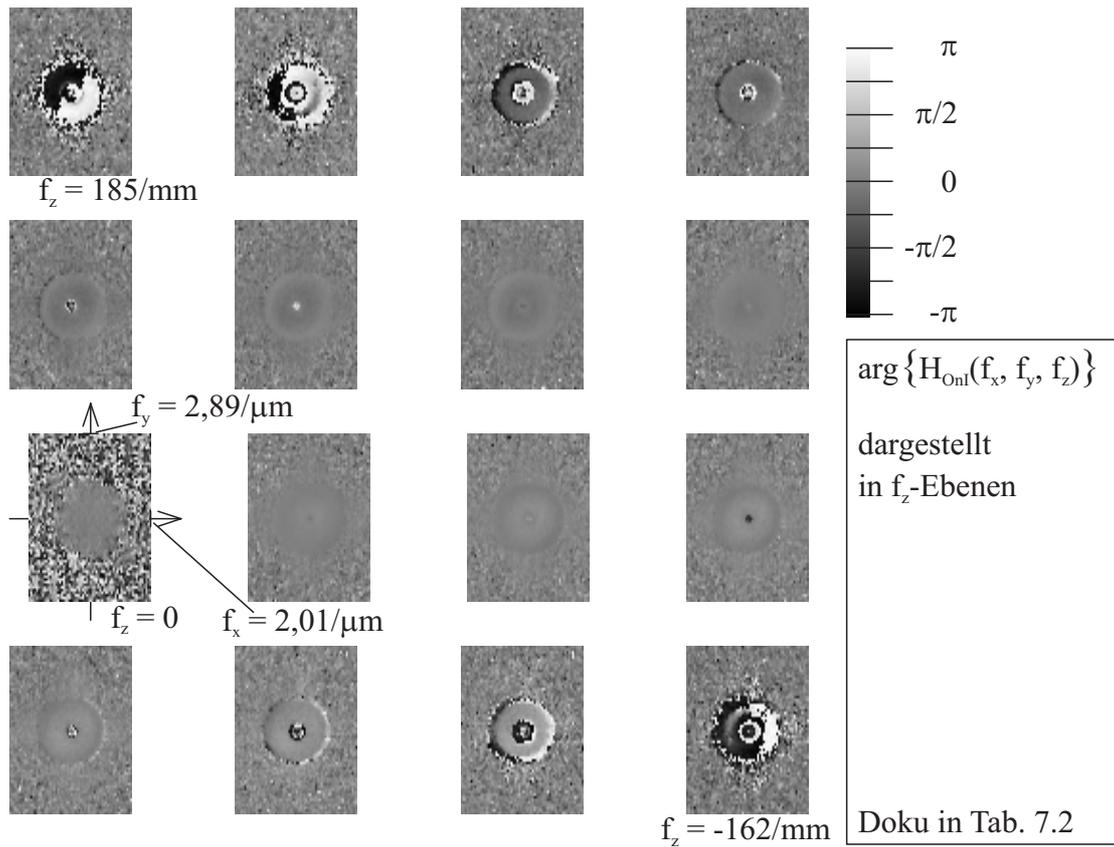


Abb. 3.16: Die Phase der gemessenen Übertragungsfunktion in f_z -Ebenen

3.2.2.8 Diskussion des Messergebnisses

Das in den letzten vier Abbildungen dargestellte Messergebnis zeigt Folgendes:

- Ein Vergleich der mit dem neuen Messverfahren gemessenen (siehe Abb. 3.15 und Abb. 3.16) und der gerechneten (siehe Abb. 2.24) Übertragungsfunktion ergibt, dass die beiden Übertragungsfunktionen zumindest qualitativ nur geringe Unterschiede besitzen. Dabei bleibt zu berücksichtigen, dass es hier nur darum geht, das neue Messverfahren vorzustellen.
- In der Abb. 3.13 liegt das Maximum der Punktantwort bei einem geringen, im μm -Bereich liegenden, positiven Wert z . Dies korrespondiert mit der f_z -proportionalen Phase der Übertragungsfunktion in der Abb. 3.16. Offensichtlich ist (3.25) nur näherungsweise erfüllt.
- Die Punktantwort in der Abb. 3.13 und auch in der Abb. 3.14 ist in der Ebene $z = -5,4\mu\text{m}$ eher ringförmig und in der Ebene $z = +5,4\mu\text{m}$ ein wenig scheibenförmig. Damit ist die Punktantwort in z -Richtung leicht unsymmetrisch. Diese Unsymmetrie korrespondiert (vermutlich) in der Abb. 3.16 mit einer sich mit dem Abstand zur f_z -Achse leicht ändernder Phase bei mittleren f_z -Beträgen.

Falls weist darauf hin, dass das neue, in dieser Arbeit vorgestellte, Messverfahren sehr wohl in der Lage ist, Abbildungsfehler eines Mikroskopobjektivs zu messen.

- In den Ebenen $f_z = \pm 139/\text{mm}$ der Abb. 3.15 und Abb. 3.16 weichen der Betrag und interessanterweise auch die Phase der Übertragungsfunktion besonders deutlich von einer zur f_z -Koordinatenachse rotationssymmetrischen Funktion ab.

Dies macht deutlich, dass der Algorithmus des Messverfahrens die Rotationssymmetrie von Punktantwort und Übertragungsfunktion nicht erzwingt.

Die Ursache für die Unsymmetrie liegt vermutlich darin, dass das zweidimensionale Rauschmesspräparat bei der Messung nicht ganz senkrecht (siehe Kapitel 3.2.2.3) zur optischen Achse lag. Möglicherweise wurde auch die Tischbewegung nicht völlig parallel zur optischen Achse durchgeführt.

- Zwar nicht in der Abb. 3.13, wohl aber in der Abb. 3.14, in der zur besseren Darstellung von kleinen Beträgen der Punktantwort die nichtlineare Darstellungsfunktion $y = (x+10^{-3})^{0,5}$ verwendet wurde, kommt ein geringes restliches Rauschen in und um die Ebene $z = 0$ zum Vorschein.

Vermutlich sind dies Reste der Anregung durch das Rauschmesspräparat. Dabei bleibt festzuhalten, dass diese Reste so gering sind, dass sie erst mit der nichtlinearen Darstellungsfunktion sichtbar werden.

- In der Abb. 3.16 ist außerhalb der Cut-off-Frequenzen der dreidimensional-optischen Abbildung bei niedrigen und mittleren Beträgen von f_z und unabhängig von f_x und f_y die Phase der Übertragungsfunktion etwa gleich Null.

Da außerhalb der Cut-off-Frequenzen der Betrag der Übertragungsfunktion (siehe z. B. Kapitel 2.2.2.2.3.2) zu Null wird und deshalb nur noch Rauschen in der Messung zu erwarten ist, müsste dort die Phase zwischen $\pm\pi$ statistisch gleich verteilt sein.

Die Ursache für den Unterschied zwischen dem tatsächlichen und dem erwarteten Messergebnis bleibt unklar. Möglicherweise spielen Artefakte eine Rolle, die beim Randausgleich nicht vollständig unterdrückt werden konnten (siehe Kapitel 7.8).

- In der Ebene $f_z = 0$ der Abb. 3.16 tritt wieder ein stärkeres Rauschen außerhalb der Cut-off-Frequenzen auf.

Die Ursache dafür wird wieder in Partikel und Schmutz auf dem Glas des CCD-Sensorgehäuses und möglicherweise auch in unregelmäßigen Empfindlichkeiten der Sensorelemente des CCD-Sensors vermutet.

- Bemerkenswert ist, dass keine Probleme oder Nachteile durch die für das Messverfahren notwendigen Voraussetzungen offensichtlich wurden.

3.2.3 Das Verfahren für Phasenobjekte

Anknüpfend an die letzten Kapitel, in denen das Messverfahren für absorbierende Objekte beschrieben wurde, wird jetzt ein entsprechendes Verfahren für Phasenobjekte erarbeitet. Damit gilt hier für das im Kapitel 2.2.1 beschriebene Objekt

$$n_1(x, y, z) = 0 \quad \text{und} \quad r(x, y, z) = 0 \quad . \quad (3.35)$$

3.2.3.1 Das Messpräparat

Als Messpräparat wird wieder ein schwach beugendes Objekt, hier also ein schwaches Phasenobjekt verwendet. Es enthält eine dünne, ausgedehnt senkrecht zur optischen Achse liegende Schicht, die deutlich dünner als die Auflösungsgrenze der dreidimensional-optischen Aufnahmeeinheit in z-Richtung ist. Diese Schicht besitzt als Signal in x/y-Richtung weißes Rauschen (siehe Kapitel 7.7).

Die Abb. 3.17 zeigt das in dieser Arbeit verwendete zweidimensionale Phasen-Rauschmesspräparat Nr. 10. Es wurde ganz ähnlich hergestellt wie das in der Abb. 3.4 links gezeigte Rußmesspräparat: Nach dem Anzünden eines Magnesiumstreifens mit Hilfe eines Gasbrenners bildeten sich Magnesiumoxid-Kristalle als weißer Rauch. Mit diesem Rauch wurden die Kristalle auf ein Objektträgerglas aufgetragen.

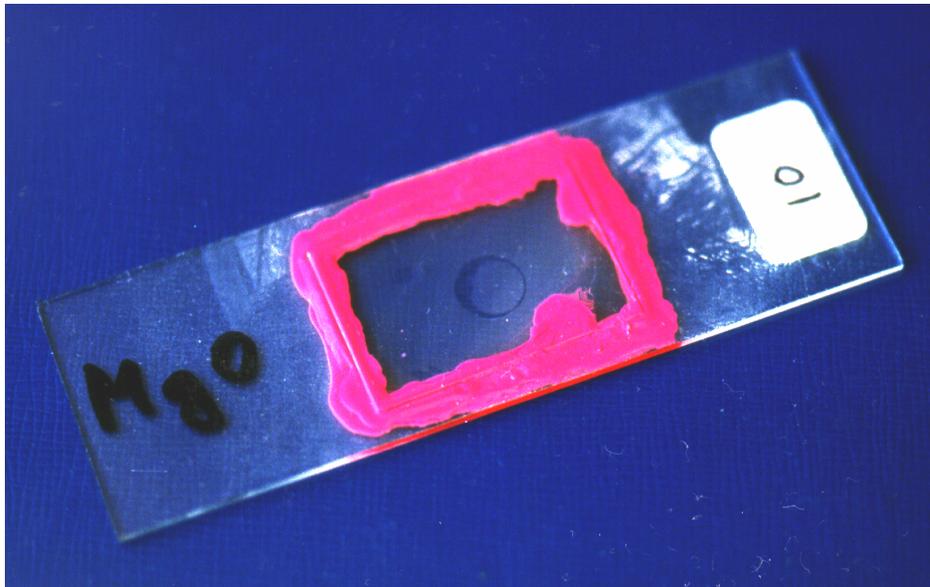


Abb. 3.17: Das verwendete zweidimensionale Phasen-Rauschmesspräparat

Die systemtheoretischen Eigenschaften des zweidimensionalen Phasen-Rauschmesspräparats entsprechen den in Kapitel 3.2.2.2 beschriebenen Eigenschaften des zweidimensional-absorbierenden Rauschmesspräparats. Damit ist

$$n_{rR}(x, y, z) - 1 = n_e(x, y) g(z) \quad \xrightarrow{\mathcal{F}} \quad N_{rR}(f_x, f_y, f_z) = N_e(f_x, f_y) G(f_z) \quad , \quad (3.36)$$

wobei $n_{rR}(x, y, z)$ der Realteil des Brechungsindex des zweidimensionalen Phasen-Rauschmesspräparats und $N_{rR}(f_x, f_y, f_z)$ die zu $n_{rR}(x, y, z) - 1$ (siehe auch (2.82)) gehörende Spektraldichte ist.

Die Übertragung der Messanregung für die hier vorliegenden Phasenobjekte entspricht der Übertragung für absorbierende Objekte (siehe Kapitel 3.2.2.3). Damit gilt für den Ortsbereich

$$i_{OrR}(x, y, z) = h_{OnR}(x, y, z) * v(x, y, z) * [n_{rR}(x, y, z) - 1] \quad (3.37a)$$

und für den dazugehörigen Frequenzbereich

$$I_{OrR}(f_x, f_y, f_z) = H_{OnR}(f_x, f_y, f_z) \cdot V(f_x, f_y, f_z) \cdot N_{rR}(f_x, f_y, f_z) \quad . \quad (3.37b)$$

3.2.3.2 Das Bild des Rauschmesspräparats und seine Spektraldichte

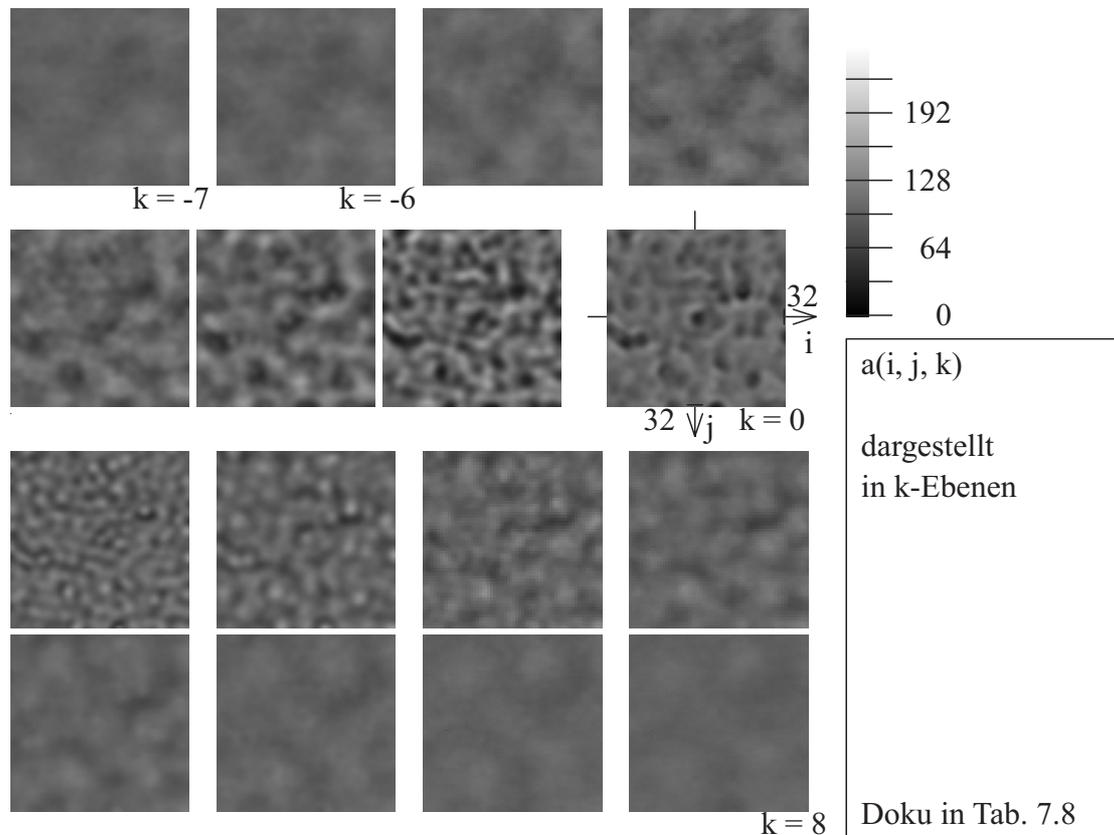


Abb. 3.18: Die Aufnahme des zweidimensionalen Rauschmesspräparats

Die Abb. 3.18 zeigt die Aufnahme des zweidimensionalen Phasen-Rauschmesspräparats aus der dreidimensional-optischen Aufnahmeeinheit. Wie in der Dokumentation (siehe Tab. 7.8) zur Aufnahme notiert, wurde für die dreidimensional-optische Abbildung des zweidimensionalen Phasen-Rauschmesspräparats eine Beleuchtungsapertur gewählt, die deutlich kleiner als die Apertur der abbildenden Optik ist.

Aus dieser Aufnahme kann mit (2.97b) das in der Abb. 3.19 gezeigte Bild $i_{\text{OrR}}(x, y, z)$ des zweidimensionalen Rauschmesspräparats aus der dreidimensional-optischen Abbildung berechnet werden. Die Abb. 3.19 vermittelt den Eindruck, dass die Kristalle des zweidimensionalen Rauschmesspräparats für $z > 0$ als helle Punkte und für $z < 0$ als dunkle Punkte erscheinen, wobei sie bei $z = 0$ schon ein wenig als dunkle Punkte sichtbar werden.

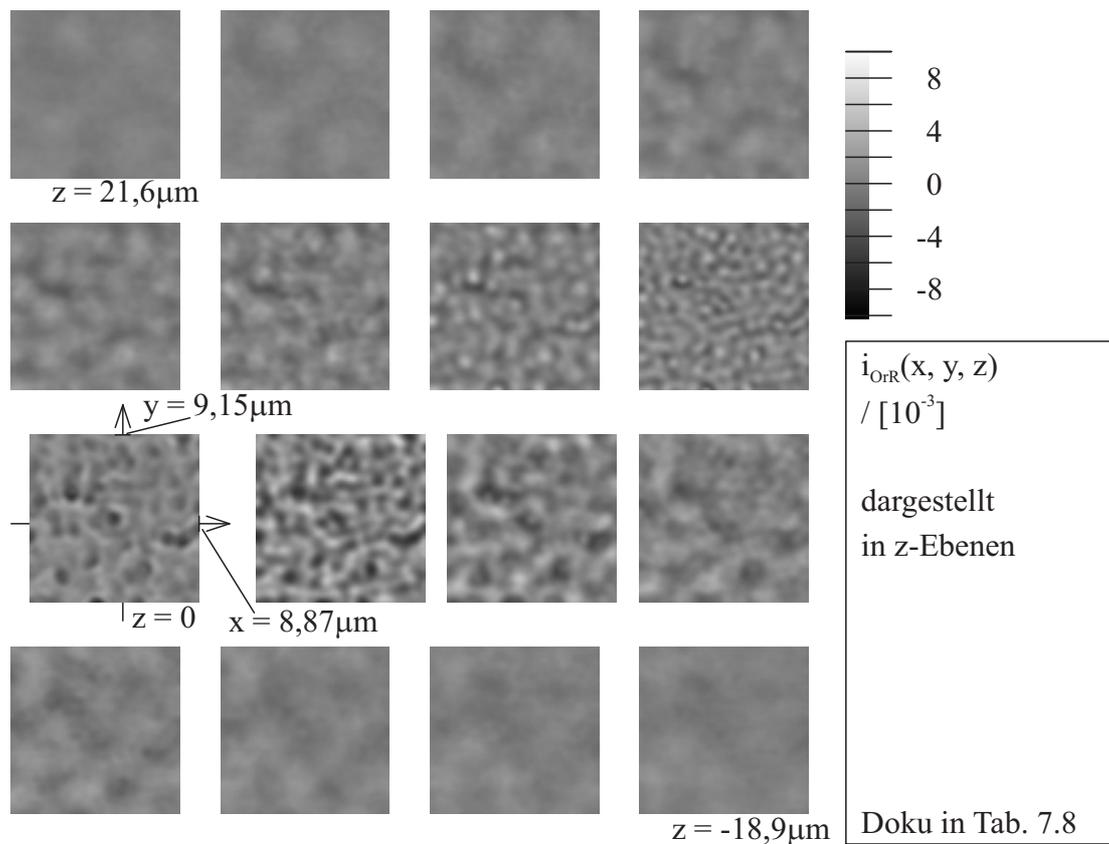


Abb. 3.19: Das Bild des zweidimensionalen Rauschmesspräparats

Nach der Fourier-Transformation dieses Bilds ergibt sich $|I_{\text{OrR}}(f_x, f_y, f_z)|$, der in der Abb. 3.20 gezeigte Betrag der komplexen Spektraldichte.

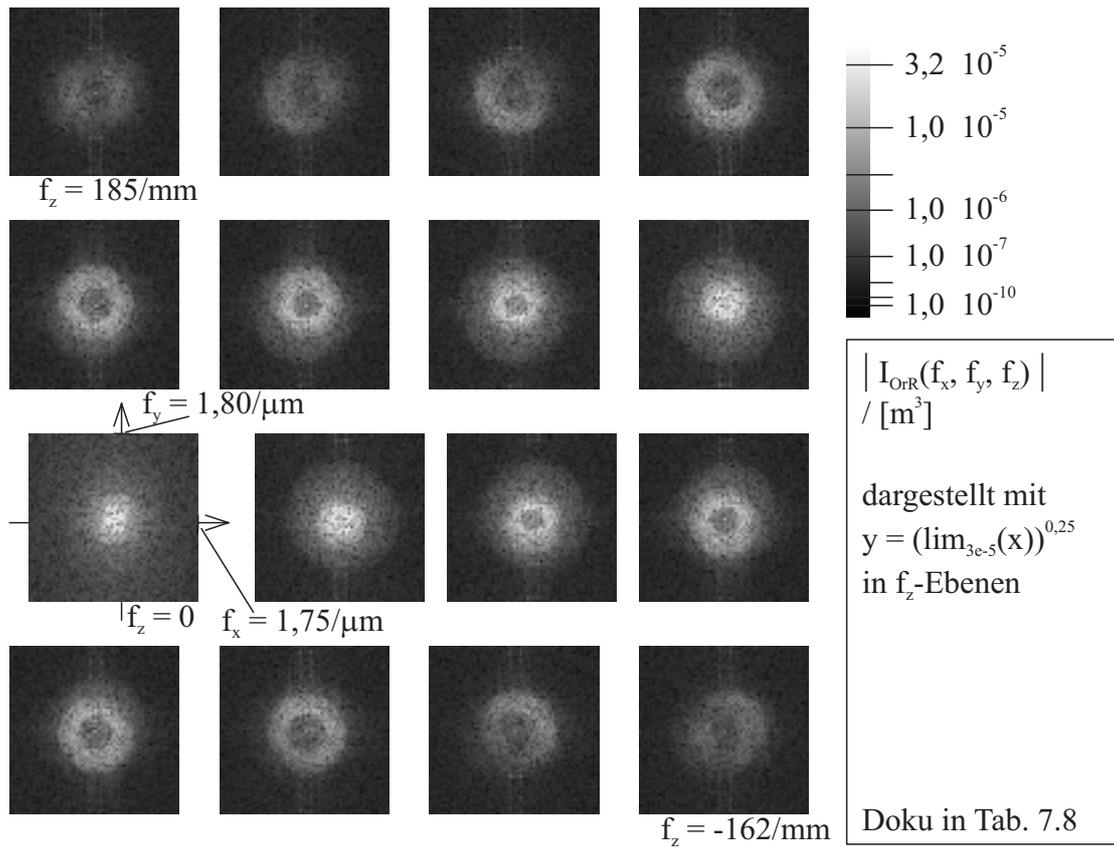
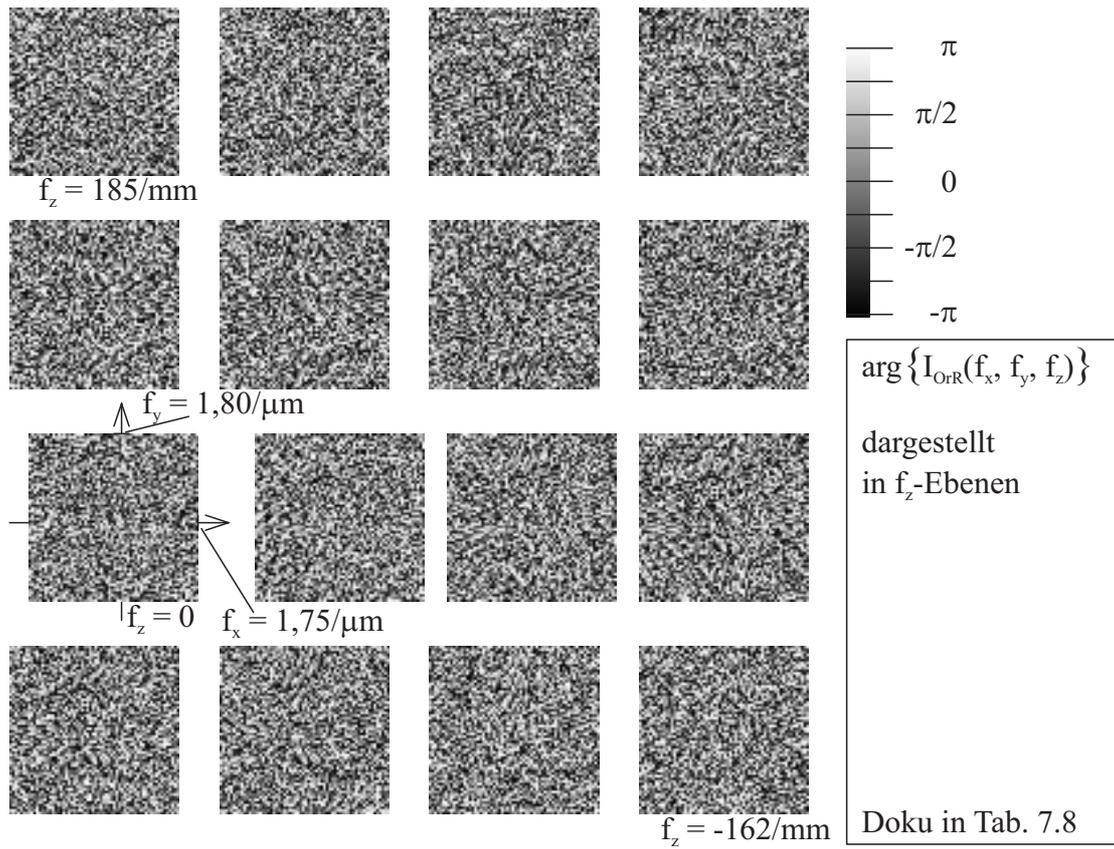
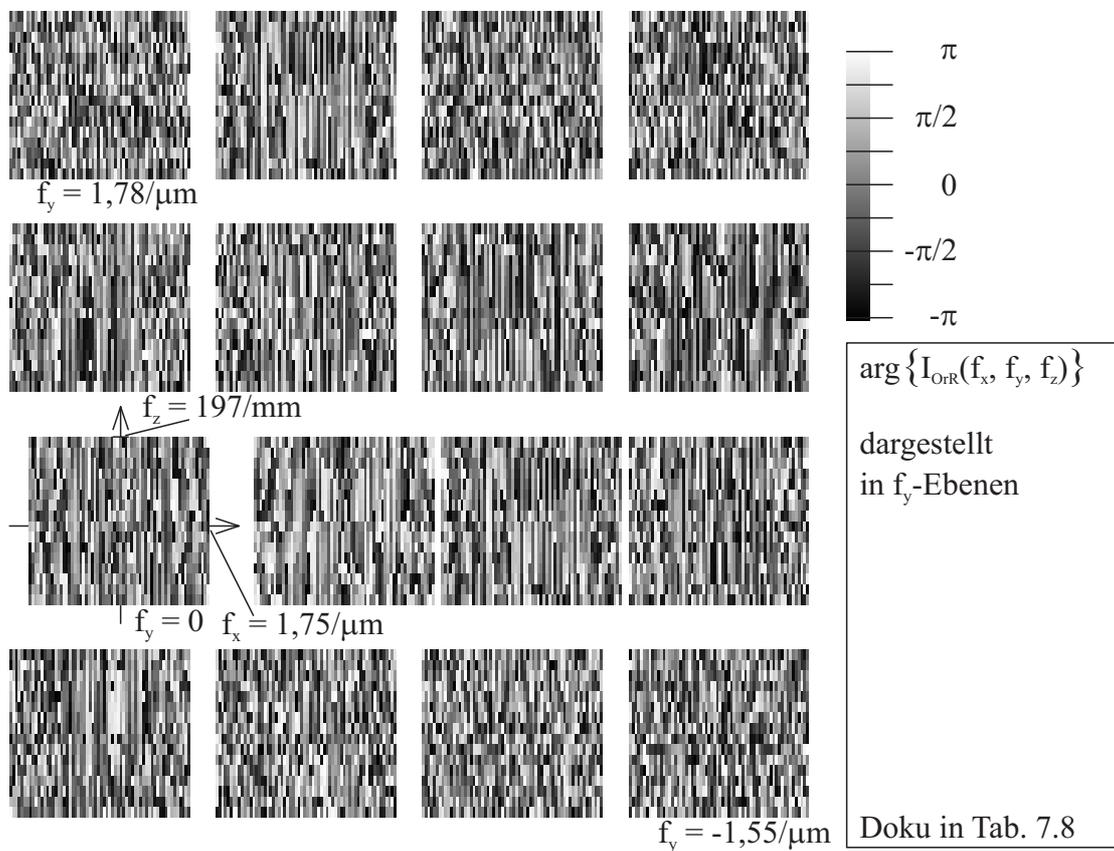


Abb. 3.20: Betrag der Spektraldichte des Rauschpräparatbilds

Im Hinblick auf die folgenden Berechnungen ergibt ein Vergleich der Abb. 3.20 mit der Übertragungsfunktion in der Abb. 2.21, dass der Betrag der Übertragungsfunktion bereits recht passabel ermittelt wurde. Dabei bleibt natürlich ein statistischer Fehler, der auf die statistischen Eigenschaften des Rauschmesspräparats zurückzuführen ist. Der Vergleich ergibt aber auch, dass ein kleiner Betrag in der gemessenen Übertragungsfunktion bei Ortsfrequenzen auftritt, bei denen er in der Rechnung gleich Null ist. Die Ursachen dafür sind die gleichen, die bereits bei der entsprechenden Diskussion (siehe Abb. 3.8) für das absorbierende zweidimensionale Rauschmesspräparat angesprochen wurden.

Zum Betrag in der Abb. 3.20 gehört $\arg\{I_{\text{OtR}}(f_x, f_y, f_z)\}$, die in der Abb. 3.21 in f_z -Ebenen und in der Abb. 3.22 in f_y -Ebenen dargestellte Phase. Die Diskussion zu der in diesen Abbildungen gezeigten Phase ergibt nur Punkte, die, möglicherweise mit einer etwas anderen Gewichtung, bereits bei der entsprechenden Diskussion (siehe Abb. 3.9 und Abb. 3.10) im Zusammenhang mit dem zweidimensional-absorbierenden Rauschmesspräparat angesprochen wurden.

Abb. 3.21: Phase der Spektraldichte des Rauschmesspräparatbilds in f_z -EbenenAbb. 3.22: Phase der Spektraldichte des Rauschmesspräparatbilds in f_y -Ebenen

3.2.3.3 Die Berechnung der Übertragungsfunktion

Um aus der Spektraldichte $I_{\text{OrR}}(f_x, f_y, f_z)$ des Rauschmesspräparatbilds die Übertragungsfunktion der dreidimensional-optischen Abbildung zu berechnen (siehe auch Kapitel 3.2.2.5), wird (3.37b) mit (3.36) und (3.4) zu

$$I_{\text{OrR}}(f_x, f_y, f_z) = H_{\text{OnR}}(f_x, f_y, f_z) \cdot V_x(f_x) V_y(f_y) V_z(f_z) \cdot N_e(f_x, f_y) G(f_z)$$

$$I_{\text{OrR}}(f_x, f_y, f_z) = H_{\text{OnR}}(f_x, f_y, f_z) \cdot V_z(f_z) \cdot N_V(f_x, f_y) G(f_z) \quad (3.38)$$

umgeformt. Dabei wurde $V_x(f_x) \cdot V_y(f_y) \cdot N_e(f_x, f_y)$ wieder zu $N_V(f_x, f_y)$ zusammengefasst.

3.2.3.3.1 Die Berechnung der Phase der Übertragungsfunktion

Für die Berechnung der Phase der Übertragungsfunktion aus dem Bild des zweidimensional-absorbierenden Rauschmesspräparats sind zwei Wege beschrieben worden. Der eine (siehe Kapitel 3.2.2.5.1.1) setzte im wesentlichen voraus, dass die z-Projektion der Punktantwort punktsymmetrisch ist, der andere (siehe Kapitel 3.2.2.5.1.2), dass die Punktantwort in der Ebene $z = 0$ punktsymmetrisch ist. Jetzt wird der zweite dieser Wege als Idee verwendet, um einen weiteren Weg zu bilden, mit dem aus dem Bild des zweidimensionalen Phasen-Rauschmesspräparats die Phase der Übertragungsfunktion berechnet werden kann.

So wird jetzt anknüpfend an (3.21)

$$\int_0^{+\infty} H_{\text{OnR}}(f_x, f_y, f_z) df_z \approx \int_0^{+\infty} H_{\text{OnR}}(-f_x, -f_y, f_z) df_z \quad (3.39) \quad \boxed{V}$$

vorausgesetzt. Falls in (3.39) eine Singularität im Ursprung der Übertragungsfunktion auftritt, können die Integrale problemlos statt bei 0 bei $+\varepsilon$, einem kleinen, positiven, reellen Wert beginnen. Da in dieser Arbeit eine solche Singularität auftritt (siehe Abb. 2.21, Abb. 2.23 und Abb. 2.25), liegt für die folgenden Berechnungen der Beginn der Integrale bei $+\varepsilon$, auch wenn dies in den folgenden Gleichungen nicht explizit formuliert wird.

Als weitere Voraussetzung soll zunächst ganz allgemein für die Übertragungsfunktion $H(f_x, f_y, f_z)$ ein Wertebereich

$$\phi(f_x, f_y) - \frac{\pi}{2} < \arg \left\{ \int_0^{+\infty} H(f_x, f_y, f_z) df_z \right\} < \phi(f_x, f_y) + \frac{\pi}{2} \quad (3.40)$$

angebar sein, wobei in den meisten Fällen an Stelle des reellen Winkels $\phi(f_x, f_y)$ im Bogenmaß auch eine Konstante ϕ verwendet werden kann.

Auf diese Arbeit bezogen wird

$$\phi_{\text{OnR}} - \frac{\pi}{2} < \arg \left\{ \int_0^{+\infty} H_{\text{OnR}}(f_x, f_y, f_z) df_z \right\} < \phi_{\text{OnR}} + \frac{\pi}{2} \quad (3.41a) \quad \boxed{\text{V}}$$

an Stelle von (3.40) vorausgesetzt. Wie die Berechnungen (siehe Abb. 2.21, Abb. 2.23 und Abb. 2.25) der Übertragungsfunktionen zeigen, ist (3.41a) für

$$\phi_{\text{OnR}} = -\frac{\pi}{2} \quad (3.41b)$$

erfüllt, wobei durchaus gewisse Aberrationen der optischen Abbildung auftreten können (siehe auch. Abb. 3.16). Falls (3.41) verletzt wird, zeigt sich dies auch nach allen Rechnungen in Form von Sprüngen der gemessenen Phase über dem Ortsfrequenzraum (siehe Diskussion zu (3.47)). Ohne irgendwelche Vor- oder Nachteile könnten die Integrale in diesem Kapitel (siehe z. B. (3.39) und (3.41)) auch von $-\infty$ bis 0 gehen (Zuordnungssatz [3.15] bei reeller Punktantwort).

Als weitere Voraussetzung soll wieder (siehe (3.25), einschließlich der Diskussion zu (3.25))

$$V_z(f_z) \approx 1 \quad (3.42) \quad \boxed{\text{V}}$$

sein. Außerdem gilt wieder (3.26), die positive, reelle Funktion $G(f_z) \approx C_G$.

Mit diesen beiden Näherungen kann für die zunächst wichtige Berechnung von $\arg \{N_V(f_x, f_y)\}$ und mit Blick auf (3.39) die Gleichung (3.38) nach

$$\int_0^{+\infty} I_{\text{OrR}}(f_x, f_y, f_z) df_z \approx \int_0^{+\infty} H_{\text{OnR}}(f_x, f_y, f_z) df_z \cdot N_V(f_x, f_y) \cdot C_G \quad (3.43)$$

umgeformt werden.

Die Summe aus (3.43) und aus der für $-f_x$ und $-f_y$ umformulierten Gleichung (3.43) führt mit (3.39) zu

$$\begin{aligned} & \int_0^{+\infty} H_{\text{OnR}}(f_x, f_y, f_z) df_z \cdot N_V(f_x, f_y) C_G + \int_0^{+\infty} H_{\text{OnR}}(-f_x, -f_y, f_z) df_z \cdot N_V(-f_x, -f_y) C_G \\ & \approx \int_0^{+\infty} H_{\text{OnR}}(f_x, f_y, f_z) df_z \left[N_V(f_x, f_y) + N_V(-f_x, -f_y) \right] C_G \approx \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
& \int_0^{+\infty} \mathbf{I}_{\text{OrR}}(f_x, f_y, f_z) df_z + \int_0^{+\infty} \mathbf{I}_{\text{OrR}}(-f_x, -f_y, f_z) df_z \\
& \arg \left\{ \int_0^{+\infty} \mathbf{H}_{\text{OnR}}(f_x, f_y, f_z) df_z \right\} + \arg \left\{ \mathbf{N}_V(f_x, f_y) + \mathbf{N}_V(-f_x, -f_y) \right\} \approx \\
& \arg \left\{ \int_0^{+\infty} \mathbf{I}_{\text{OrR}}(f_x, f_y, f_z) df_z + \int_0^{+\infty} \mathbf{I}_{\text{OrR}}(-f_x, -f_y, f_z) df_z \right\} . \quad (3.44)
\end{aligned}$$

Da $n_v(x, y)$ reell ist (siehe (3.36), (3.37) und (3.38)), ist nach dem Zuordnungssatz [3.15]

$$\mathbf{N}_V(f_x, f_y) = \mathbf{N}_V^*(-f_x, -f_y) . \quad (3.45)$$

Die Gleichung (3.45) zeigt, dass in (3.44) der Term

$$\arg \left\{ \mathbf{N}_V(f_x, f_y) + \mathbf{N}_V(-f_x, -f_y) \right\} = \arg \left\{ \mathbf{N}_V(f_x, f_y) + \mathbf{N}_V^*(f_x, f_y) \right\} \quad (3.46a)$$

und

$$\arg \left\{ \mathbf{N}_V(f_x, f_y) + \mathbf{N}_V^*(f_x, f_y) \right\} = 0 \quad \vee \quad \arg \left\{ \mathbf{N}_V(f_x, f_y) + \mathbf{N}_V^*(f_x, f_y) \right\} = \pm \pi \quad (3.46b)$$

ist, wobei für die konkrete Messung zunächst nicht bekannt ist, für welche Werte f_x, f_y der Term zu 0 bzw. zu $\pm\pi$ wird.

In den folgenden Berechnungen soll der Zusatz „! (a)“ zu einer Gleichung darauf hinweisen, dass die so bezeichnete Gleichung mit Hilfe der im Zusatz aufgeführten Gleichung (a) z. B. ohne Mehrdeutigkeiten um $\pm\pi$ berechnet werden kann. Damit kann jetzt (3.44) mit (3.46) und (3.41) weiter zu

$$\begin{aligned}
& \arg \left\{ \int_0^{+\infty} \mathbf{H}_{\text{OnR}}(f_x, f_y, f_z) df_z \right\} \approx \mathbf{P}_{\text{SH}}(f_x, f_y) := \\
& \arg \left\{ \int_0^{+\infty} \mathbf{I}_{\text{OrR}}(f_x, f_y, f_z) df_z + \int_0^{+\infty} \mathbf{I}_{\text{OrR}}(-f_x, -f_y, f_z) df_z \right\} - \\
& \arg \left\{ \mathbf{N}_V(f_x, f_y) + \mathbf{N}_V^*(f_x, f_y) \right\} =
\end{aligned}$$

$$\arg \left\{ \int_0^{+\infty} I_{\text{OrR}}(f_x, f_y, f_z) df_z + \int_0^{+\infty} I_{\text{OrR}}(-f_x, -f_y, f_z) df_z \right\} \quad ! \quad (3.41) \quad (3.47)$$

umgeformt werden. Falls $P_{\text{SH}}(f_x, f_y)$ und die unbekannte Funktion $\arg \left\{ \int_0^{+\infty} H_{\text{OnR}}(f_x, f_y, f_z) df_z \right\}$ in (3.47) zu unterschiedlichen Fällen in (3.46) gehören, führt dies zu einem Berechnungsfehler in (3.47) von $\pm\pi$. Günstig ist, dass ein solcher, gravierender Berechnungsfehler nur auftritt, wenn die Reserve, mit der (3.41) erfüllt ist, zu klein ist, um die Fehler durch die verschiedenen Näherungen bei der Berechnung von $P_{\text{SH}}(f_x, f_y)$ aufzufangen, oder falls (3.41) nicht erfüllt ist.

Das Einsetzen von (3.47) in die umgeformte Gleichung (3.43) ergibt die zunächst gesuchte Funktion

$$\arg \{N_V(f_x, f_y)\} \approx P_{\text{NV}}(f_x, f_y) := \arg \left\{ \int_0^{+\infty} I_{\text{OrR}}(f_x, f_y, f_z) df_z \right\} - P_{\text{SH}}(f_x, f_y) \quad . \quad (3.48)$$

Schließlich kann aus der umgeformten Gleichung (3.38) mit (3.48) und mit Hilfe von (3.42) und (3.26) die gesuchte Funktion

$$\arg \{H_{\text{OnR}}(f_x, f_y, f_z)\} \approx \arg \{I_{\text{OrR}}(f_x, f_y, f_z)\} - P_{\text{NV}}(f_x, f_y) \quad (3.49)$$

(näherungsweise) bestimmt werden.

3.2.3.3.2 Die Berechnung des Betrags der Übertragungsfunktion

Zur Berechnung des Betrags der Übertragungsfunktion wird (3.38) mit $|V(f_z)| = 1$ zu

$$\left| I_{\text{OrR}}(f_x, f_y, f_z) \right| = \left| H_{\text{OnR}}(f_x, f_y, f_z) \right| \cdot \left| N_V(f_x, f_y) G(f_z) \right| \quad (3.50)$$

umgeformt.

Da die zweidimensionalen Phasen-Rauschmesspräparate die gleichen geometrischen Eigenschaften besitzen wie die zweidimensional-absorbierenden, sind die Definitionen (3.26) und (3.30) auch hier gültig.

Nachdem $\arg \{H_{\text{OnR}}(f_x, f_y, f_z)\}$ auf dem im Kapitel 3.2.3.3.1 beschriebenen Weg (näherungsweise) ermittelt worden ist, kann (3.50) mit (3.26), (3.30) und

$$H_{\text{OnRxy}}(f_x, f_y, z) := \mathcal{F}_{xy} \{h_{\text{OnR}}(x, y, z)\} \quad (3.51)$$

(siehe auch Kapitel 2.1.3) genauso wie (3.31) umgeformt werden, um schließlich

$$\begin{aligned} & \left\langle \mathcal{F}_z^{-1} \left\{ \left| I_{\text{OrR}}(f_x, f_y, f_z) \right| \cdot \exp\left(i \arg\{H_{\text{OnR}}(f_x, f_y, f_z)\}\right) \right\} \right\rangle \\ & \approx H_{\text{OnRxy}}(f_x, f_y, z) C_r \end{aligned} \quad (3.52)$$

zu erhalten.

Falls als Vorabwissen über die Aufnahmeeinheit bekannt ist, dass mit der gerechneten (siehe Kapitel 2.2.2.2.2.1.4 bis 2.2.2.2.2.1.6) Übertragungsfunktion $H_{\text{OnRxyz}}(f_x, f_y, z)$ die Näherung

$$\begin{aligned} & \left| H_{\text{OnRxy}}(f_x, f_y, z) \right| \approx \left| H_{\text{OnRxyz}}(f_x, f_y, z) \right| \\ & \quad | f_x \approx 0 \wedge f_x \neq 0 \wedge f_y \approx 0 \wedge f_y \neq 0 \wedge z \approx 0 \end{aligned} \quad (3.53) \quad \boxed{\text{V}}$$

bei einem ausreichend geringen Fehler gültig ist, was meistens der Fall ist [3.20], kann die Konstante

$$\begin{aligned} C_r & \approx \frac{\left\langle \mathcal{F}_z^{-1} \left\{ \left| I_{\text{OrR}}(f_x, f_y, f_z) \right| \cdot \exp\left(i \arg\{H_{\text{OnR}}(f_x, f_y, f_z)\}\right) \right\} \right\rangle}{H_{\text{OnRxyz}}(f_x, f_y, z)} \\ & \quad | f_x \approx 0 \wedge f_x \neq 0 \wedge f_y \approx 0 \wedge f_y \neq 0 \wedge z \approx 0 \end{aligned} \quad (3.54)$$

in (3.52) ermittelt werden, wobei eine günstige Wahl der Werte f_x , f_y und z in (3.54) den Fehler bei der Ermittlung von C_r reduziert.

Mit C_r lässt sich schließlich aus (3.52) die gesuchte Übertragungsfunktion

$$\begin{aligned} H_{\text{OnR}}(f_x, f_y, f_z) & = \mathcal{F}_z \{H_{\text{OnRxy}}(f_x, f_y, z)\} \approx \\ & \frac{1}{C_r} \mathcal{F}_z \left\{ \left\langle \mathcal{F}_z^{-1} \left\{ \left| I_{\text{OrR}}(f_x, f_y, f_z) \right| \cdot \exp\left(i \arg\{H_{\text{OnR}}(f_x, f_y, f_z)\}\right) \right\} \right\rangle \right\} \end{aligned} \quad (3.55)$$

berechnen.

3.2.3.4 Die mit dem Rauschmesspräparat ermittelten Übertragungseigenschaften

Mit den im letzten Kapitel durchgeführten Berechnungen und den bei der Auswertung des Bilds des absorbierenden Rauschmesspräparats angesprochenen Einzelheiten kann die in der Abb. 3.23 gezeigte Phase der Übertragungsfunktion gemäß (3.49) gewonnen werden. Dabei wurde der von Handhabungsproblemen verursachte Versatz um z_0 (siehe (3.4)) wieder (siehe Diskussion zu (3.25)) zu einer Eigenschaft der Aufnahmeeinheit.

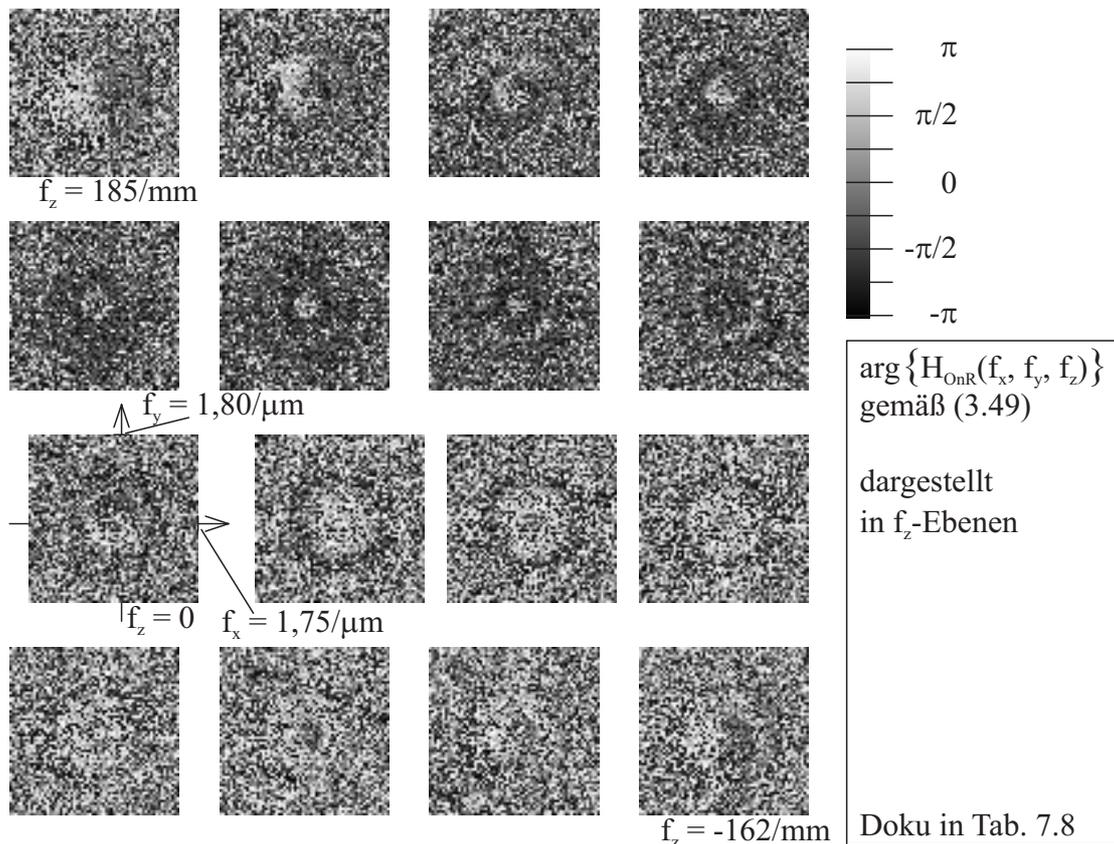


Abb. 3.23: Die Phase der Übertragungsfunktion gemäß (3.49)

Die Abb. 3.23 veranschaulicht, wie die Phase der Übertragungsfunktion bereits recht gut ermittelt worden ist. Für Ortsfrequenzen, an denen die Übertragungsfunktion nennenswerte Beträge gemäß der in der Abb. 3.20 dargestellten Messung bzw. Beträge > 0 gemäß Rechnung (siehe Abb. 2.21) besitzt, ist, wie mit (3.41) vorausgesetzt, $\arg\{H_{\text{OnR}}(f_x, f_y, f_z)\} \approx -\pi/2$ für $f_z > 0$ und $\arg\{H_{\text{OnR}}(f_x, f_y, f_z)\} \approx +\pi/2$ für $f_z < 0$.

Hier kommen bei der Berechnung der Übertragungsfunktion die gleichen Einzelheiten wie bei den Berechnungen für das absorbierende Messpräparat zum Tragen, nur der Wert C_T wird hier anhand der berechneten dreidimensionalen Übertragungsfunktion bei niedrigen Ortsfrequenzen ermittelt (3.53) (3.54).

Am Ende ergibt sich der in der Abb. 3.24 gezeigte Betrag und die in der Abb. 3.25 gezeigte Phase der Übertragungsfunktion. Aus beidem kann mit der Fourier-Rücktransformation die in der Abb. 3.26 dargestellte Punktantwort berechnet werden.

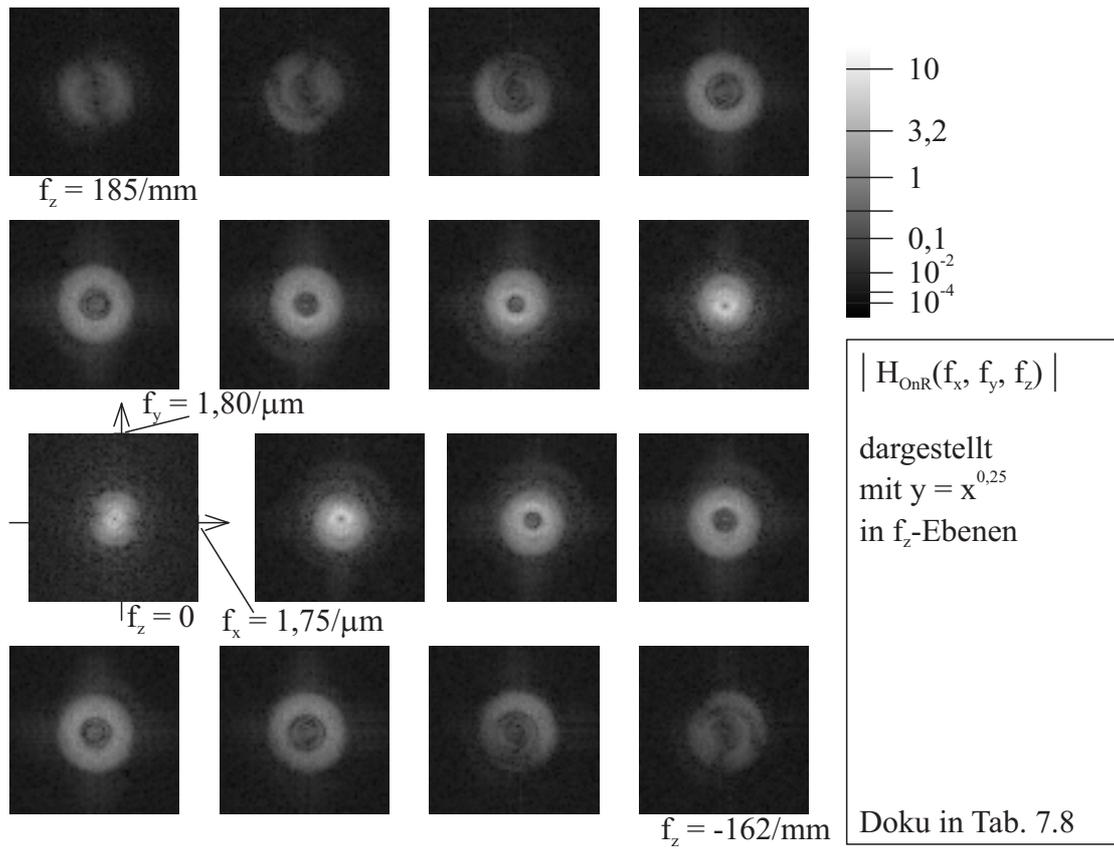


Abb. 3.24: Der Betrag der gemessenen Übertragungsfunktion

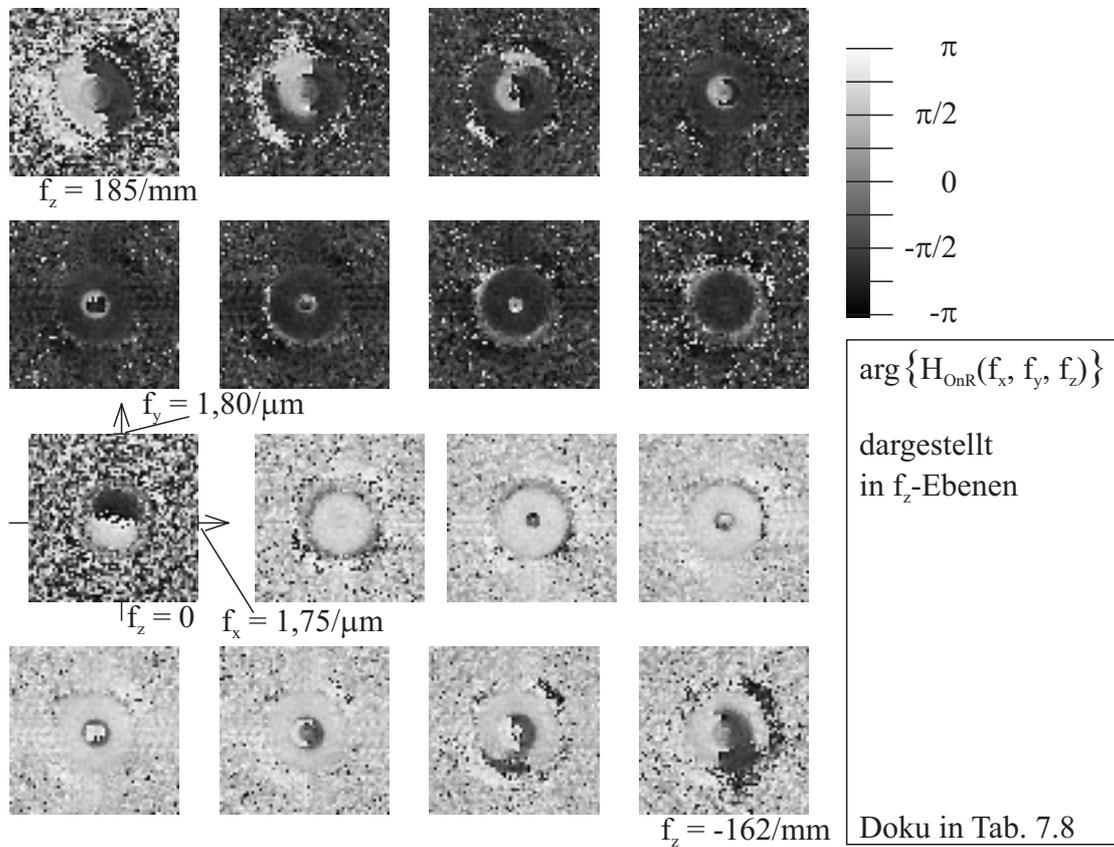


Abb. 3.25: Die Phase der gemessenen Übertragungsfunktion in f_z -Ebenen

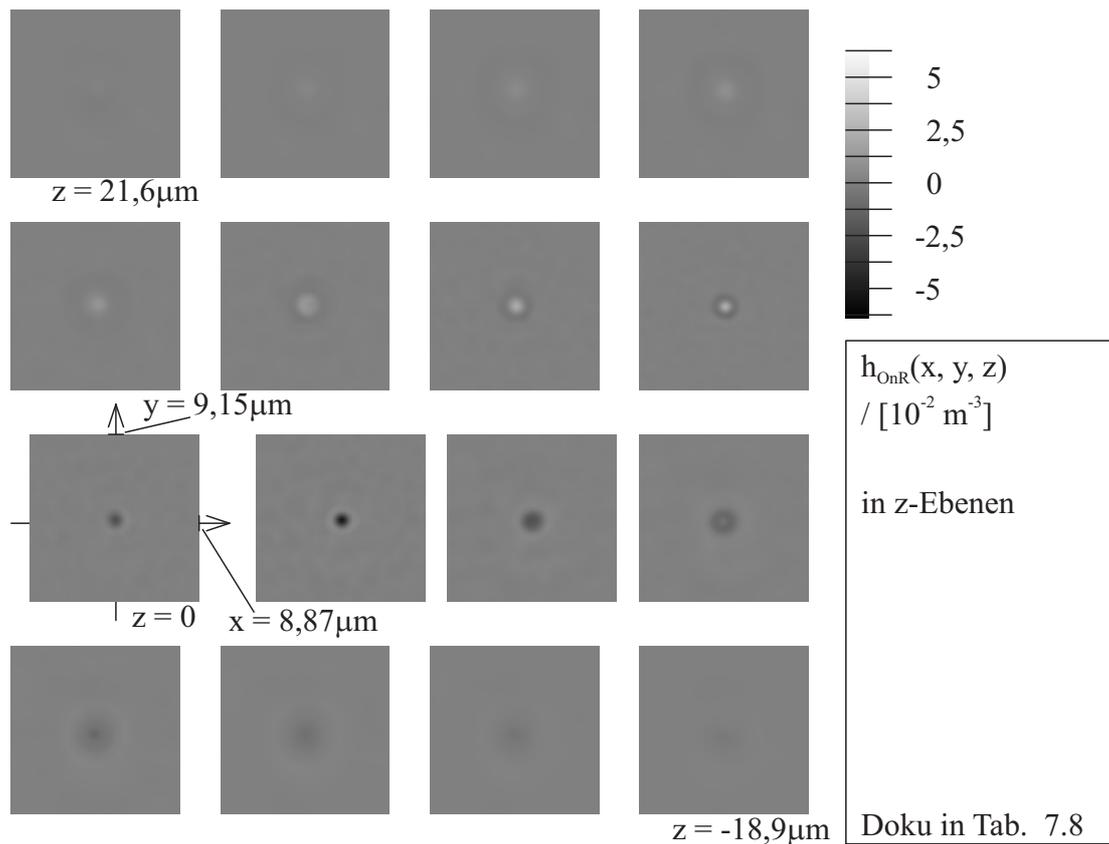


Abb. 3.26: Die gemessene Punktantwort in z-Ebenen

3.2.3.5 Diskussion des Messergebnisses

Das in den letzten drei Abbildungen dargestellte Messergebnis zeigt Folgendes:

- Der Vergleich von der durch Messung ermittelten und der berechneten Übertragungsfunktion (siehe Abb. 2.21 oder auch Abb. 2.23) zeigt, dass die beiden Übertragungsfunktionen zumindest qualitativ übereinstimmen. Im Halbraum $f_z > 0$, genauso wie im Halbraum $f_z < 0$, ist das Volumen, in dem die Übertragungsfunktion nennenswerte Beiträge besitzt, schalenförmig. Dabei bleibt zu berücksichtigen, dass es hier nur darum geht, das neue Messverfahren vorzustellen.
- Da die Punktantwort der Abb. 3.26 im Ursprung leicht negative Werte aufweist, ist sie um einen positiven Wert im μm -Bereich verschoben. Dies korrespondiert mit einer f_z -proportionalen und in der Abb. 3.25 dargestellten Phasenkomponente der Übertragungsfunktion: Für die Ortsfrequenzen mit $f_z > 0$, bei denen die Übertragungsfunktion nennenswerte Beiträge liefert, nimmt die Phase der Übertragungsfunktion mit steigendem f_z zu, wobei entsprechendes für $f_z < 0$ gilt.

Die Ursache dafür ist wieder, dass der Versatz mit $V_z(f_z)$ (siehe (3.38)) des Rauschmesspräparats (siehe Abb. 3.19) bei der Berechnung der Übertragungsfunktion näherungsweise gleich Eins gesetzt worden ist (3.42).

- Das Messergebnis (Abb. 3.25) zeigt, dass der Algorithmus des neuen Messverfahrens die Phase der Übertragungsfunktion nicht rotationssymmetrisch um die f_z -Koordinatenachse werden lässt. Dies wurde bereits bei der Messung für absorbierende Objekte beobachtet.
- Die gemessene Übertragungsfunktion weist eine Reihe von Eigenschaften auf, die die berechnete Übertragungsfunktion nicht besitzt:

Zunächst treten rauschähnliche Anteile in der ganzen Ebene $f_z = 0$ auf. Vermutlich liegt die Ursache dafür wieder in Partikel und Schmutz auf dem Glas des CCD-Sensorgehäuses und in unregelmäßigen Empfindlichkeiten der Sensorelemente.

Dann sind linienförmige spektrale Beiträge parallel zur f_x - und f_y -Achse und in der Nähe der f_z -Achse sichtbar. Sie können vermutlich auf Artefakte im Zusammenhang mit einem zu geringen Randausgleich (siehe Kapitel 7.8) zurückgeführt werden. Interessanterweise treten diese Artefakte hier auf und bei der Auswertung des Bilds des zweidimensional-absorbierenden Rauschmesspräparats nicht, obwohl in beiden Fällen der Randausgleich mit den gleichen Parametern durchgeführt wurde.

Bei höheren Beträgen von f_z besitzt die Übertragungsfunktion geringere Beträge, die, anschaulich ausgedrückt, wolkenähnlich um die f_z -Achse liegen. Sie korrespondieren offensichtlich mit entsprechenden Phasenwerten der Übertragungsfunktion. Diese Beträge sind in den gerechneten Übertragungsfunktionen gleich Null. Eine Erklärung für ihr Auftreten konnte nicht gefunden werden.

Die Abb. 3.25 zeigt, dass die Phase der Übertragungsfunktion für $f_z > 0$ häufig etwa gleich $-\pi/2$ und für $f_z < 0$ häufig etwa gleich $+\pi/2$ ist, wobei die Ebene $f_z = 185/\text{mm}$ aufgrund der Eigenschaften der FFT bei den hier vorliegenden reellen Punktantworten eine Sonderstellung einnimmt. Als Ursache dafür liegt die Voraussetzung (3.41) nahe.

3.2.4 Das Verfahren für transparente Selbstleuchter

Wie in den vorangegangenen Kapiteln für absorbierende Objekte und Phasenobjekte, wird jetzt in diesem Kapitel ein entsprechendes Messverfahren für transparente Selbstleuchter gesucht, das ein zweidimensional-fluoreszierendes Rauschmesspräparat verwendet.

Die gerechnete Punktantwort (siehe Abb. 2.28) und Übertragungsfunktion (siehe Abb. 2.29) für transparente Selbstleuchter zeigen, dass sie die Eigenschaften, insbesondere Symmetrieeigenschaften, besitzen, die in den Kapiteln 3.2.2.5.1.1 und 3.2.2.5.1.2 vorausgesetzt wurden, um aus der Spektraldichte des gemessenen Bilds des zweidimensional-absorbierenden Rauschmesspräparats die Phase der Übertragungsfunktion zu berechnen. Deshalb ist die Berechnung der Übertragungsfunktion für transparente Selbstleuchter aus dem Bild eines zweidimensional-selbstleuchtenden Rauschmesspräparats mit denselben Gleichungen (siehe Kapitel 3.2.2) möglich, die bereits bei der Berechnung der Übertragungsfunktion für absorbierende Objekte beschrieben wurden.

So bleibt als einziges, ein geeignetes zweidimensionales Rauschmesspräparat zu suchen bzw. zu entwickeln. Dabei kann, zumindest versuchsweise, auf die von Pawley bereits durchgeführte Herstellung [3.21] eines fluoreszierenden Gittermesspräparats zurückgegriffen werden. Die Abb. 3.27 zeigt den Aufbau seines fluoreszierenden Gittermesspräparates. Das Präparat besteht im Wesentlichen aus einem auf ein Deckglas aufgebracht, stark absorbierendes Gitter vor fluoreszierendem Immersionsöl.

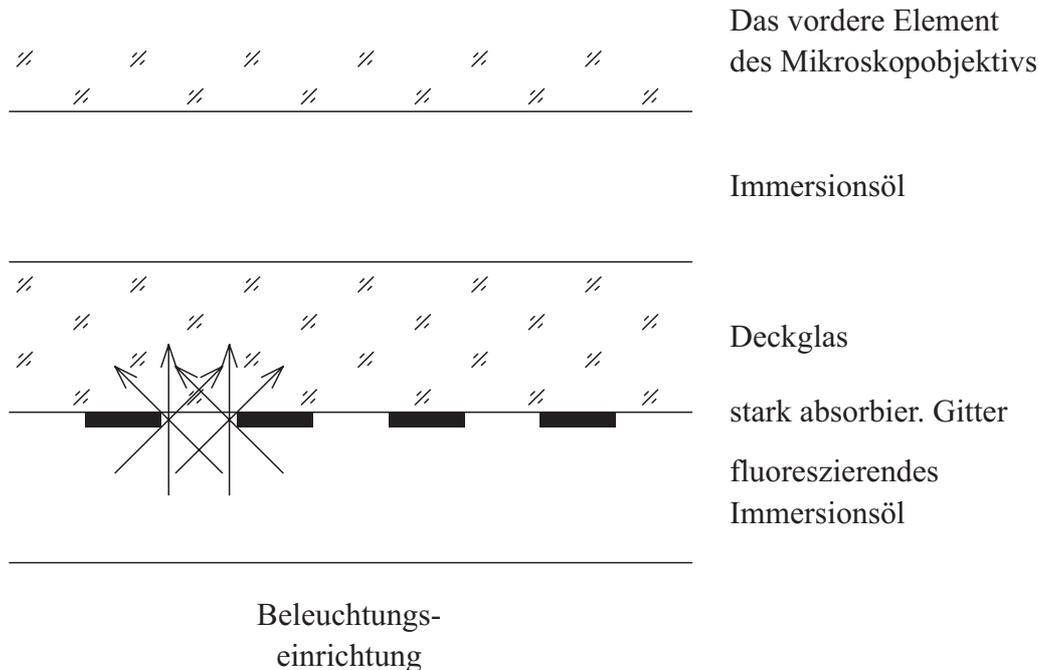


Abb. 3.27: Pawleys zweidimensional-fluoreszierendes Gittermesspräparat

Mit diesem Ansatz sollte auch ein zweidimensional-selbstleuchtendes Rauschmesspräparat herstellbar sein. Dabei müssten nur die Dicken der absorbierenden und der fluoreszierenden Schicht deutlich kleiner als die Tiefenschärfe der dreidimensional-optischen Abbildung sein.

Wenn so zur Herstellung eines zweidimensionalen Rauschmesspräparats für transparente Selbstleuchter die beiden (siehe Abb. 3.4), in dieser Arbeit vorgestellten zweidimensionalen Rauschmesspräparate für absorbierende Objekte herangezogen werden, dann wird hinter dem Schwarz / Weiß - Film bzw. der Rußschicht eine fluoreszierende Flüssigkeit oder eine fluoreszierende Folie angebracht. Alternativ lässt sich der Ruß gleich auf eine dünne fluoreszierende Folie auftragen.

Wie beschrieben (siehe Kapitel 2.2.2.2.2.1), besitzt der Kohärenzgrad der Beleuchtungseinrichtung bei der optischen Abbildung von transparenten Selbstleuchtern bereits vom Ansatz her keine Bedeutung. Genauso kann das lineare Verhalten der dreidimensional-optischen Abbildung von transparenten Selbstleuchtern problemlos vorausgesetzt werden (siehe Kapitel 2.2.2.2.2.2 oder auch (2.43)). Dies reduziert ganz allgemein die Schwierigkeiten bei der Messung der dreidimensionalen Übertragungsfunktion bzw. Punktantwort für den Fall des transparenten Selbstleuchters und vermindert deshalb die Bedeutung eines neuen,

besonders für schwierige Fälle ausgelegten, Messverfahrens, das ein zweidimensionales Rauschmesspräparat verwendet.

Dazu passt, dass es bereits recht gute Präparate bzw. Verfahren [3.16] gibt, mit denen die Punktantwort für transparente Selbstleuchter gemessen werden kann. So werden (z. B. von Molecular Probes, Inc.; www.probes.com) fluoreszierende Polystyrene- oder auch Latex-Kügelchen angeboten, mit denen sich die Punktantwort messen lässt. Darüber hinaus kann mit einem Messpräparat, das aus einer nicht transparenten, senkrecht zur optischen Achse liegenden Schicht besteht, wie z. B. aus einer Chromschicht, die ein Pinhole besitzt, aus dem Kugelwellen in Richtung auf das Mikroskopobjektiv abgehen, die Punktantwort der dreidimensional-optischen Abbildung von transparenten Selbstleuchtern relativ gut gemessen (siehe auch Kapitel 4.2) werden.

Andererseits bietet das neue Messverfahren für transparente Selbstleuchter den Vorteil eines hohen Signal / Rausch - Abstandes, wenn eine Aufnahme eingesetzt wird, die bezogen auf die Auflösung des Mikroskopobjektivs eine große Objektfläche in x/y-Richtung erfasst.

Aufgrund der gerade beschriebenen, eingeschränkten Bedeutung des neuen Messverfahrens für transparente Selbstleuchter, und weil die Algorithmen zur Berechnung der Phase der Übertragungsfunktion hier die gleichen sind wie bei absorbierenden Objekten (siehe Kapitel 3.2.2.5.1), ist auf die Entwicklung und Herstellung eines geeigneten Messpräparats und auf die Demonstration des Messverfahrens verzichtet worden.

3.2.5 Zusammenfassende Diskussion zum neuen Messverfahren

In den Kapiteln 3.2.2 bis 3.2.4 wurde demonstriert, wie aus dem Bild des zweidimensionalen Rauschmesspräparats (siehe Abb. 3.7 bzw. Abb. 3.19) die dreidimensionale Punktantwort (siehe Abb. 3.13 bzw. Abb. 3.26) berechnet werden kann, obwohl nie ein punktförmiges Objekt als Messpräparat verwendet wurde. Wie die Messergebnisse zeigen, können sogar Übertragungsglieder mit, durch Aberrationen hervorgerufenen, in z-Richtung unsymmetrischen Punktantworten (siehe Abb. 3.13 oder auch Abb. 3.16) vermessen werden.

Für das neue Messverfahren mussten zunächst die Voraussetzungen für die Bildung eines linearen Modells erfüllt sein (siehe Kapitel 2). Darüber hinaus mussten weitere Eigenschaften, insbesondere Symmetrieeigenschaften vorausgesetzt werden (vor allem (3.8), (3.14), (3.18), (3.23) bzw. (3.39), (3.41)).

Unter diesen Voraussetzungen und durch die Verwendung eines zweidimensionalen Rauschmesspräparats, also einer Kombination (siehe Kapitel 3.2.2.2) aus einer punktförmigen Anregung in z-Richtung und einer Anregung mit weißem Rauschen in x/y-Richtung, ist es möglich, die Phase der Übertragungsfunktionen zu berechnen (siehe Kapitel 3.2.2.5.1 bzw. Kapitel 3.2.3.3.1), obwohl bei reinen, hier dreidimensionalen Rauschmesspräparaten, die Phase der Übertragungsfunktion nicht mehr ermittelt werden kann [3.17]. Dies ist ein gewichtiger Vorteil des neuen Messverfahrens.

Es bleibt festzuhalten, dass für das Messverfahren keine spezifisch optischen Voraussetzungen eingehalten werden mussten.

So kann das neue Messverfahren auch zur Vermessung ganz anderer dreidimensionaler Übertragungsglieder eingesetzt werden, falls nur die gerade beschriebenen Voraussetzungen (siehe auch Kapitel 1 und Abb. 1.1) erfüllt werden. Dazu sollen beispielhaft die folgenden Aufnahmeeinheiten genannt werden:

Da ist zunächst die seit langem bekannte Elektronenmikroskopie [3.22] zu nennen, dann die konfokale Mikroskopie [3.23], die bereits 1957 entdeckt [3.24] [3.25] worden ist und seit den 80-er Jahren als Laser Scanning Mikroskop (LSM) mit der sich damals entwickelnden elektronischen Bildverarbeitung sehr stark an Bedeutung gewonnen hat. Dazu kommen neuere Aufnahmeeinheiten, wie das LSM bei Fluoreszenzanwendung mit Zwei- [3.26] oder auch Drei- [3.27] Photonenanregung [3.28]. Schließlich kommen möglicherweise auch noch das Standing Wave Fluorescence Microscope (SWF) [3.29], das Standing Near Field Optical Microscope (SNOM) [3.30], das Scanning Tunneling Microscope (STM) [3.31] und das 4PI Confocal Microscope [3.32] hinzu, wobei es vor allem bei den zuletzt genannten die verschiedensten Kombinationen gibt.

3.2.5.1 Vergleich der Messverfahren mit einem linearen Ansatz

Messpräparat zur Beschreibung des Verfahrens	Gitter, Siemensstern, Kante, usw.	Pinhole	fluoreszierendes Latexkügelchen	zweidim. Rauschmesspräparat
Charakterisierung der optischen Abbildung und des Objekts				
A zweidimensional-optische Abbildung von stark absorbierenden Objekten unter der Voraussetzung hinreichend inkohärenter Beleuchtung	✓	○	○	○
B zweidimensional-optische Abbildung von schwach absorbierenden Objekten bei partiell kohärenter Beleuchtung z. B. durch eine Zentralblende in der Kondensorpupille	○	–	–	○
C dreidimensional-optische Abbildung von schwach absorbierenden Objekten unter der Voraussetzung hinreichend inkohärenter Beleuchtung	–	○	○	✓
D dreidimensional-optische Abbildung von schwach absorbierenden Objekten bei partiell kohärenter Beleuchtung z. B. durch eine Zentralblende in der Kondensorpupille	–	–	–	✓
E zweidimensional-optische Abbildung von schwachen Phasenobjekten	○	–	–	○
F dreidimensional-optische Abbildung von schwachen Phasenobjekten	–	–	–	✓
G zweidimensional-optische Abbildung von transparenten Selbstleuchtern	✓	✓	✓	○
H dreidimensional-optische Abbildung von transparenten Selbstleuchtern	–	✓	✓	✓
I Punktantworten und Übertragungsfunktionen können aus den durchgeführten Messungen berechnet werden.	○	✓	✓	✓
K Modifikationen des Abbildungsstrahlengangs z. B. durch eine Zentralblende in der Objektivpupille können erfasst werden	✓	✓	✓	✓
L gewisse Symmetrieeigenschaften müssen zur Auswertung der Messaufnahmen nicht vorhanden sein	✓	✓	✓	–
M guter Signal / Rausch-Abstand	+	○	–	+

Tab. 3.2: Vergleich der Messverfahren mit einem linearen Ansatz

Die Tab. 3.2 führt im Rahmen einer zusammenfassenden Übersicht einen Vergleich der mit einem linearen Ansatz (siehe Tab. 3.1) arbeitenden Messverfahren durch. Aufgrund der ausführlichen Modellbildung im Kapitel 2, einschließlich einer detaillierten physikalischen Beschreibung der optischen Abbildung, und mit der Beschreibung des neuen Messverfahrens sollte die Tab. 3.2 selbsterklärend sein. Die in der Tab. genannten Modifikationen des Strahlengangs beziehen sich auf das Einfügen von Zentralblenden in die Objektivpupille bzw. in die Pupille des Kondensors.

3.2.5.2 Berechnen der Pupillenfunktion aus der Punktantwort

Bekanntermaßen lassen sich die Eigenschaften eines Objektivs durch eine komplexe Pupillenfunktion beschreiben, die die relative optische Weglänge und die Amplitudenreduktion der durch das Objektiv laufenden Wellen als Funktion der Position in der Pupille angibt (siehe Kapitel 2.2.2.2.1.3). Diese Pupillenfunktion wird durch die Messverfahren, die einen optischen Ansatz (siehe Kapitel 3.1.1) verwenden, gemessen. Aus dieser Pupillenfunktion und mit den im Kapitel 2.2.2.2 beschriebenen Gleichungen kann die dreidimensionale Übertragungsfunktion einer optischen Aufnahmeeinheit errechnet werden.

Es soll hier darauf hingewiesen werden, dass dies auch umgekehrt geht. Aus der Punktantwort bzw. aus der Übertragungsfunktion einer optischen Aufnahmeeinheit lässt sich auch die Pupillenfunktion berechnen [3.33] [3.34] [3.35] [3.36] [3.37] [3.38] [3.39] [3.40], wenn dabei gewisse Randbedingungen erfüllt werden.

Damit lassen sich die Ergebnisse aus Messverfahren mit einem linearen Ansatz, die die Punktantwort bzw. die Übertragungsfunktion ermitteln, wie das in dieser Arbeit vorgestellte Messverfahren und die Ergebnisse aus Messverfahren mit einem optischen Ansatz, ineinander umrechnen und miteinander vergleichen (siehe auch Tab. 3.1).

Darüber hinaus ist die Berechnung der Pupillenfunktion aus der Punktantwort bzw. aus der Übertragungsfunktion noch aus dem folgenden Grund interessant: Wenn die Ortsinvarianz der Punktantwort und die Symmetrieeigenschaften für das neue Messverfahren nur für den Teil des Objektraums erfüllt sind, der in der Nähe der optischen Achse liegt, dann lässt sich über die Berechnung der Pupillenfunktion und unter Verwendung von geometrischen Ansätzen zur Berechnung der außeraxialen optischen Weglängen auch eine Aussage über die optische Abbildung derjenigen Teile des Objektraums machen, die weiter von der optischen Achse entfernt sind. Dies erweitert die Möglichkeiten des neuen, in dieser Arbeit vorgestellten Messverfahrens.

4 Messungen

In diesem Kapitel sollen die Eigenschaften des neuen, in dieser Arbeit vorgestellten Messverfahrens anhand von charakteristischen Experimenten demonstriert werden. Dazu werden drei unterschiedliche optische Aufbauten des Lichtmikroskops im Hellfelddurchlichtbetrieb herangezogen:

- Aufbau ohne Zentralblenden (Abb. 4.1),
- Aufbau mit Zentralblende in der Objektivpupille (Abb. 4.2) und
- Aufbau mit Zentralblende in der Kondensorpupille (Abb. 4.3).

Für jeden dieser drei Aufbauten wird die Punktantwort und die Übertragungsfunktion für die dreidimensional-optische Abbildung von absorbierenden Objekten auf drei unterschiedlichen Wegen ermittelt, und zwar

- durch Berechnung (in den Abbildungen jeweils links),
- durch Messung mit dem bekannten Messverfahren, das ein Pinhole als Messpräparat verwendet (jeweils in der Mitte), und
- durch Messung mit dem neuen Messverfahren, das Gegenstand dieser Arbeit ist, also mit dem, das ein zweidimensional-absorbierendes Rauschmesspräparat verwendet (jeweils rechts).

4.1 Anmerkungen zu Berechnungen und Messungen

Im Kapitel 3.2.2.7 wurde, im Hinblick auf eine bessere Transparenz und eine Vereinfachung der Auswertung, der durch Handhabungsprobleme hervorgerufene Versatz um z_0 (siehe Kapitel 3.2.2.3) in z -Richtung nicht kompensiert (siehe auch Kapitel 3.2.2.5.1.2). Um für die folgenden Abbildungen einen besseren Vergleich der Messergebnisse untereinander und auch mit den Ergebnissen der Berechnungen zu erreichen, wurden die Punktantworten aller Messungen vor der Darstellung durch Multiplikation der Übertragungsfunktion mit einer frequenzproportionalen Phase subpixelgenau in den Ursprung verschoben.

Da die Punktantworten und Übertragungsfunktionen im wesentlichen rotationssymmetrisch um die z - bzw. f_z -Achse sind, wird, um eine bessere Vergleichbarkeit zu erreichen, in den folgenden Abbildungen vereinfachend nur die Ebene $y = 0$ bzw. $f_y = 0$ dargestellt.

Die in den folgenden drei Abbildungen gezeigten Berechnungen wurden gemäß (2.90) numerisch für einen $128 \times 128 \times 16$ großen Datensatz durchgeführt. Dazu wurde zuerst die Transmissionsfunktionen der optischen Abbildung durch $L_2 K(x_I, y_I, z_V)$ bzw. $K^*(x_I, y_I, z_V)$ gemäß (2.86) und (2.78) berechnet und in den Objektraum umskaliert. Die Kohärenzfunktion der Beleuchtungseinrichtung $J_S(\Delta_x, \Delta_y)$ wurde gemäß (2.74) berechnet.

Für die numerischen Berechnungen sind Abtastungen der Pupillenfunktionen notwendig, und zwar die Abtastung der Pupillenfunktion (2.89) in (2.86) und (2.73) in (2.74). Bei den hier durchgeführten Berechnungen wurde eine Skalierung gewählt, bei der sich die Pupillenöffnung für eine Numerische Apertur von Eins im Objektraum erstreckt über 64 Werte des Datensatzes. Vor der Abtastung wurden beide Pupillenfunktionen mit einer eindimensionalen, reellen Gaußfunktion, die eine Standardabweichung von 0,5 Abtastabständen des Datensatzes besaß, in radialer Richtung tiefpassgefiltert.

Um die Rechenzeit mit dem Vierfachintegral in (2.90) nicht ausufern zu lassen, musste die Datensatzgröße der Punktantwort auf $128 \times 128 \times 16$ beschränkt werden. Damit ist die Wahl der gerade angesprochenen Standardabweichung von 0,5 ein Kompromiss. Bei einem kleineren Wert für die Standardabweichung wird das Abtasttheorem stärker verletzt. Dies führt zu Artefakten, die sich vor allem in Beträgen der Übertragungsfunktion außerhalb der Cut-off-Frequenzen (siehe Kapitel 2.2.2.2.3.2) in f_z -Richtung und bei geringen Beträgen von f_x und f_y bemerkbar machen. Auf der anderen Seite entstehen bei einem größeren Wert für die Standardabweichung Artefakte, die sich in unscharfen Cut-off-Frequenzen der Übertragungsfunktion in f_z -Richtung bemerkbar machen.

Die Messung der Punktantwort und der Übertragungsfunktion mit Hilfe einer Punktlichtquelle als Anregung wird in der Literatur diskutiert [4.1], genauso wie z. B. die Messung mit linienförmigen Anregungen und Kanten (siehe Kapitel 3.1.3). Auch wenn bei der Anfertigung dieser Arbeit keine Literatur bekannt wurde, die die experimentelle Durchführung von Messungen der dreidimensionalen Punktantwort bzw. Übertragungsfunktion mit Hilfe eines Pinholemesspräparats beschreibt, sind solche Messungen nahe liegend. Darüber hinaus ist zu vermuten, dass irgendjemand solche nahe liegenden Experimente, bereits durchgeführt hat. Aus beiden Gründen wird die Messung mit dem Pinholemesspräparat als bekanntes Messverfahren für die folgenden Vergleiche herangezogen.

4.2 Optischer Aufbau ohne Zentralblenden

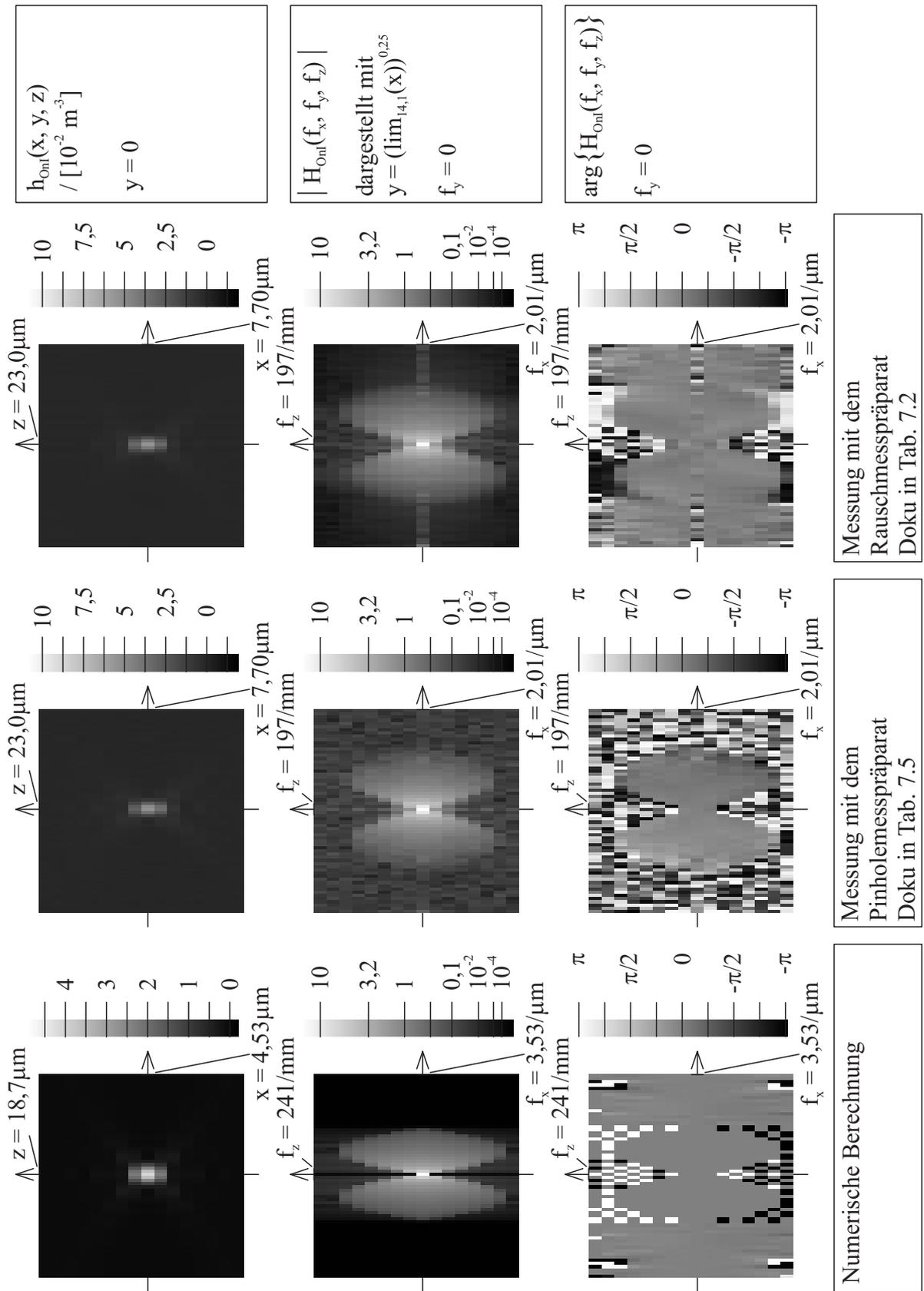


Abb. 4.1: Die Übertragungseigenschaften

Ein erster Blick auf die Abb. 4.1 zeigt, dass die drei Verfahren ähnliche Übertragungseigenschaften des optischen Aufbaus ergeben haben, und dass die hier ermittelten Eigenschaften den aus der Literatur [4.2] bekannten entsprechen.

Ein genauerer Vergleich der drei Punktantworten zeigt, dass sie praktisch gleich sind. Dabei muss der andere Maßstab der gerechneten Punktantwort im Vergleich zu den beiden gemessenen berücksichtigt werden. Das Integral über die drei örtlichen Dimensionen ergibt in allen drei Fällen etwa 16, die Anzahl der z-Ebenen bzw. den Wert im Ursprung der Übertragungsfunktion.

Die Analyse der Übertragungsfunktionen bezüglich der Cut-off-Frequenzen ergibt Folgendes:

Verfahren	Betrag der äußersten Cut-off-Frequenzen in $1/\mu\text{m}$	
	in f_x -Richtung	in f_z -Richtung
Numerische Berechnung	1,61	0,184
Messung mit dem Pinholemesspräparat	1,21	0,133
Messung mit dem Rauschmesspräparat	1,21	0,150
Gemäß (2.115) und (2.116)	1,57	0,186

Tab. 4.1: Die Cut-off-Frequenzen

Bei den beiden Messungen ist die äußerste Cut-off-Frequenz bei positiven f_z für positive Ortsfrequenzen f_x um etwa $0,02 \mu\text{m}^{-1}$ größer, als für negative Ortsfrequenzen f_x , wobei entsprechendes natürlich auch bei negativen f_z auftritt. In der gerade gezeigten Tab. 4.1 ist deshalb der Mittelwert eingetragen. Eine detaillierte Analyse dieser Scherung wird im nächsten Kapitel durchgeführt, weil sie sich dort wesentlich deutlicher in den Messergebnissen äußert.

Die Cut-off-Frequenzen der beiden Messungen differieren im Prozentbereich, wobei die Messung mit dem Rauschmesspräparat ein klein wenig höhere Cut-off-Frequenzen in z-Richtung ergeben als die Messungen mit dem Pinholemesspräparat. Damit decken sich die beiden Messungen recht gut, wobei vermutlich das Rauschmesspräparat aufgrund seines höheren Messsignals noch höhere spektrale Anteile in f_z -Richtung erfassen kann.

Die Beträge der äußersten, gemessenen Cut-off-Frequenzen liegen um 25% in f_x -Richtung und um 28% bzw. um 18% in f_z -Richtung unter den entsprechenden Cut-off-Frequenzen aus der numerischen Berechnung. Die Ursache dafür ist nicht klar. Vermutlich versinkt die gemessene Übertragungsfunktion bei steigenden Frequenzbeträgen schneller im Rauschen. Allerdings könnte mit einer geringeren Wahrscheinlichkeit auch ein Unterschied aufgetreten sein zwischen der von der Rechner-Software angeforderten Verschiebung des Objekts z_V und der tatsächlich vom Motor der rechnergesteuerten Fokussiereinrichtung durchgeführten Bewegung. Mit einer ebenfalls geringeren Wahrscheinlichkeit könnte die tatsächliche Numerische Apertur des Mikroskopobjektivs ein wenig kleiner sein, als die auf dem Objektiv

angegebene NA von 0,45. Der Unterschied von 25% in f_x -Richtung ist jedoch zu groß, um ihn allein mit Toleranzen bei der Angabe der NA zu erklären. Falls die Unterschiede tatsächlich auf Toleranzen bei der Angabe der NA zurückzuführen wären, müsste sich diese linear in x - bzw. f_x -Richtung ausdrücken und quadratisch in z - bzw. f_z -Richtung. Da auch dies nicht der Fall ist, kommen Toleranzen bei der Angabe der NA hier nicht zum Tragen. Es bleiben Schwierigkeiten bei der Erklärung der unterschiedlichen Ergebnisse. Vermutlich kommen verschiedene Ursachen ein wenig unglücklich zusammen.

Die Cut-off-Frequenzen aus der numerischen Berechnung liegen um 2,5% in f_x -Richtung und um -1,1% in f_z -Richtung über den Cut-off-Frequenzen, die sich aus den Gleichungen (2.115) und (2.116) ergeben. Beide Werte liegen im Bereich des Ablesefehlers.

Bei der Messung mit dem Rauschmesspräparat sind geringe, aus dem Rauschen ein wenig herausragende Beträge außerhalb der Cut-off-Frequenzen in f_z -Richtung sichtbar, zu denen Phasen gehören, die geringe statistische Eigenschaften über dem Ortsfrequenzraum besitzen. Woher diese Beträge kommen, bleibt unklar. Ob die Ursache in einer bei der dreidimensional-optischen Abbildung ein wenig unscharfen Pupille im Mikroskopobjektiv liegt, ist eher fraglich.

Mit eher noch geringeren Beträgen zeigen sich Anteile in der mit dem Rauschmesspräparat gemessenen Übertragungsfunktion für hohe Beträge f_x und innerhalb der äußeren Cut-off-Frequenzen in f_z -Richtung. Diese Anteile besitzen eine Phase von rund Null. Als Ursache für diese Anteile werden Nichtlinearitäten nach der Umwandlung der Photonen in Photoelektronen im CCD-Sensor und vor der digitalen Aufnahme vermutet. Aufgrund der Darstellungsfunktion zeigen sich ja bereits Anteile, die um einige Größenordnungen geringer sind als der Maximalwert der Übertragungsfunktion. Für diese Vermutung sprechen auch experimentelle Erfahrungen mit einer übersteuerten Röhrenkamera.

In der Ebene $f_z = 0$ der mit dem Rauschmesspräparat gemessenen Übertragungsfunktion werden Beträge mit dazugehörigen, statistisch gleich verteilt erscheinenden Phasen sichtbar, die von den Berechnungen her nicht zu erwarten sind. Die Ursache dafür wird wahrscheinlich wieder bei Partikeln und Schmutz auf der Abdeckung des CCD-Sensors liegen. Möglicherweise spielen auch unregelmäßige Empfindlichkeiten der Sensorelemente eine Rolle.

Vermutlich werden alle drei Effekte in der mit dem Pinholemesspräparat gemessenen Übertragungsfunktion nicht sichtbar, weil dort das Rauschniveau allgemein höher ist. Dieses höhere Rauschniveau wird außerhalb der Cut-off-Frequenzen im Bild sowohl des Betrags, als auch der Phase der mit dem Pinholemesspräparat gemessenen Übertragungsfunktion sichtbar. Dies deckt sich mit dem kleinen Messsignal beim Pinholemesspräparat.

4.3 Aufbau mit Zentralblende in der Objektivpupille

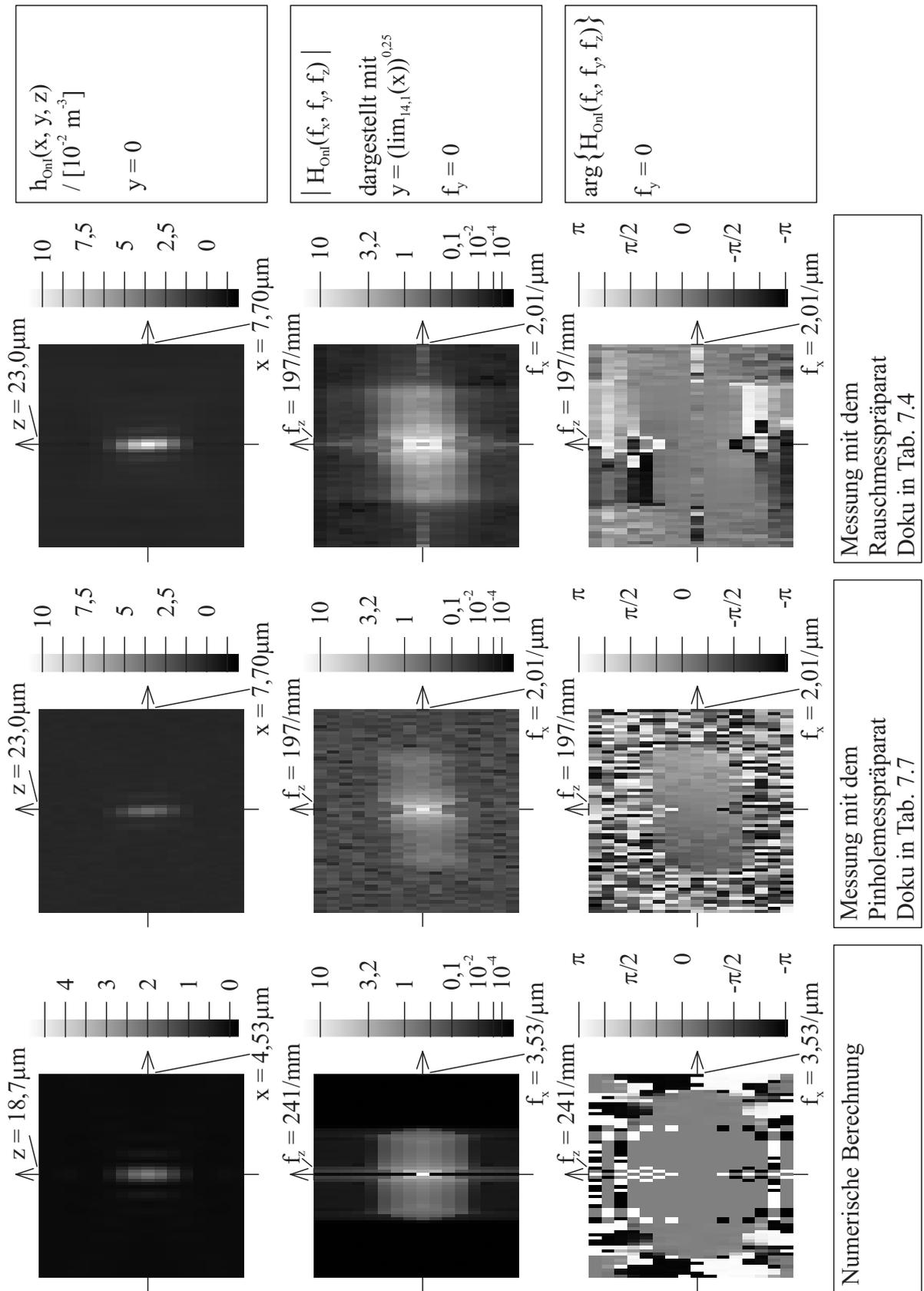


Abb. 4.2: Die Übertragungseigenschaften

Von kleineren Unterschieden abgesehen, auf die im Folgenden noch näher eingegangen werden wird, sind die auf den drei verschiedenen Wegen ermittelten Übertragungseigenschaften des optischen Aufbaus, der in der Pupille des Mikroskopobjektivs eine Zentralblende enthält, zumindest qualitativ gleich. Sie stimmen auch mit den aus der Literatur [4.3] bekannt gewordenen Übertragungseigenschaften zumindest qualitativ überein.

Die Analyse der Cut-off-Frequenzen ergibt Folgendes:

Verfahren	Betrag der äußersten Cut-off-Frequenzen in $1/\mu\text{m}$	
	in f_x -Richtung	in f_z -Richtung
Numerische Berechnung	1,61	0,104
Messung mit dem Pinholemesspräparat	1,23	0,064
Messung mit dem Rauschmesspräparat	1,15	0,070
Gemäß (2.115)	1,57	-

Tab. 4.2: Die Cut-off-Frequenzen

Die beiden Messungen zeigen eine Scherung [4.4] in der Übertragungsfunktion. Aufgrund dieser Scherung sind in die Tab. 4.2 wieder mittlere Werte für die Cut-off-Frequenzen in f_z -Richtung eingetragen. Eine ganz ähnliche, vermutlich die gleiche Scherung trat bereits zuvor bei den Messungen (siehe Abb. 4.1) ohne Zentralblenden auf. Sie ist ganz schwach auch bei den Punktantworten der Messungen in der Abb. 4.2 zu erkennen: Die Abbildung zeigt, wie das Maximum der Punktantwort bei $z = 7\mu\text{m}$ um etwa $-0,25\mu\text{m}$ weiter in x -Richtung liegt, verglichen mit dem Maximum bei $z = 0$. Unter der Annahme, dass der Grund für die Scherung immer der gleiche ist und wenn zur Analyse die ausführlichere Darstellung der Übertragungsfunktion in der Abb. 3.15 herangezogen wird, dann wird erkennbar, dass das Maximum der Scherung nicht mit einer Ebene durch zwei der drei Koordinatenachsen zusammenfällt. Als Grund für die Scherung wird vermutet, dass sich der Mikroskoptisch, auf dem das Messpräparat liegt, bei der Aufnahme der Fokussiererei um $0,1\mu\text{m}$ von Aufnahme zu Aufnahme radial zur optischen Achse bewegt hat. Eine solche Bewegung könnte das Ergebnis einer Temperaturdrift sein. Da die Scherung bei allen Messungen praktisch gleich ist, ist sie eher das Ergebnis einer systematischen Unregelmäßigkeit der z -Bewegung.

Die äußersten Cut-off-Frequenzen in den Messungen mit dem Rauschmesspräparat weichen um -6% in f_x -Richtung und um $+9\%$ in f_z -Richtung von den entsprechenden Cut-off-Frequenzen der Messungen mit dem Pinholemesspräparat ab. Möglicherweise liegt die Abweichung in f_x -Richtung an der Beleuchtung mit einem Kondensator (siehe Kapitel 2.2.2.2.3.3). In f_z -Richtung macht sich vermutlich das größere Signal beim Rauschmesspräparat bemerkbar, wobei die Cut-off-Frequenz in f_z -Richtung beim Rauschmesspräparat schlecht ablesbar ist. Dazu kommt, dass hier Ablesefehler im Prozentbereich sowieso angenommen werden müssen.

Die Cut-off-Frequenzen der Messung mit dem Pinholemesspräparat liegen um 24% für die f_x -Richtung und um 38% für die f_z -Richtung unter denen der numerischen Berechnung. Für die Messung mit dem Rauschmesspräparat liegen diese Prozentsätze bei 29% bzw. 33%. Hier kommen wieder die gleichen, bereits beim Aufbau ohne Blenden angegebenen Ursachen zum Tragen. Sofort einleuchtende Ursachen konnten auch hier nicht gefunden werden. Dabei muss berücksichtigt werden, dass die Übertragungsfunktion deutliche Beträge in f_x -Richtung bis zum auch aus der Literatur [4.3] bekannten, relativ abrupten Abfall bei den Cut-off-Frequenzen besitzt und dass sich deshalb die Cut-off-Frequenzen deutlich abzeichnen.

Das Maximum der Punktantwort aus der Messung mit dem Rauschmesspräparat ist sehr viel größer als das Maximum aus der Messung mit dem Pinholemesspräparat, das sich bezüglich des Werts des Maximums leicht vergleichen lässt (siehe Kapitel 7.6). Ferner ist der Wert im Ursprung der Übertragungsfunktion aus der Messung mit dem Rauschmesspräparat sehr viel niedriger als bei den Übertragungsfunktionen, die auf den beiden anderen Wegen ermittelt wurden. Die Ursache liegt in Fehlern bei der Ermittlung des Wertes C_r (siehe (3.33)) bzw. des Werts I_0 für das Leerbild (siehe (2.97a)). Die aufgetretenen Fehler liegen jedoch in einem für den Weg, auf dem die beiden Werte in dieser Arbeit ermittelt werden, charakteristischen Rahmen, auch wenn dies bei der Betrachtung der Abb. 4.2 ein wenig überraschend sein mag.

Die mit dem Rauschmesspräparat gemessene Übertragungsfunktion zeigt wieder geringe Beträge innerhalb der äußersten Cut-off-Frequenzen in f_x -Richtung und bei sehr hohen Beträgen f_z , genauso wie in der Ebene $f_z = 0$ und bei hohen Beträgen von f_x . Die Ursachen und ihre Bewertung sind die gleichen wie im letzten Kapitel bei den Messungen ohne Zentralblenden.

4.4 Aufbau mit Zentralblende in der Kondensorpupille

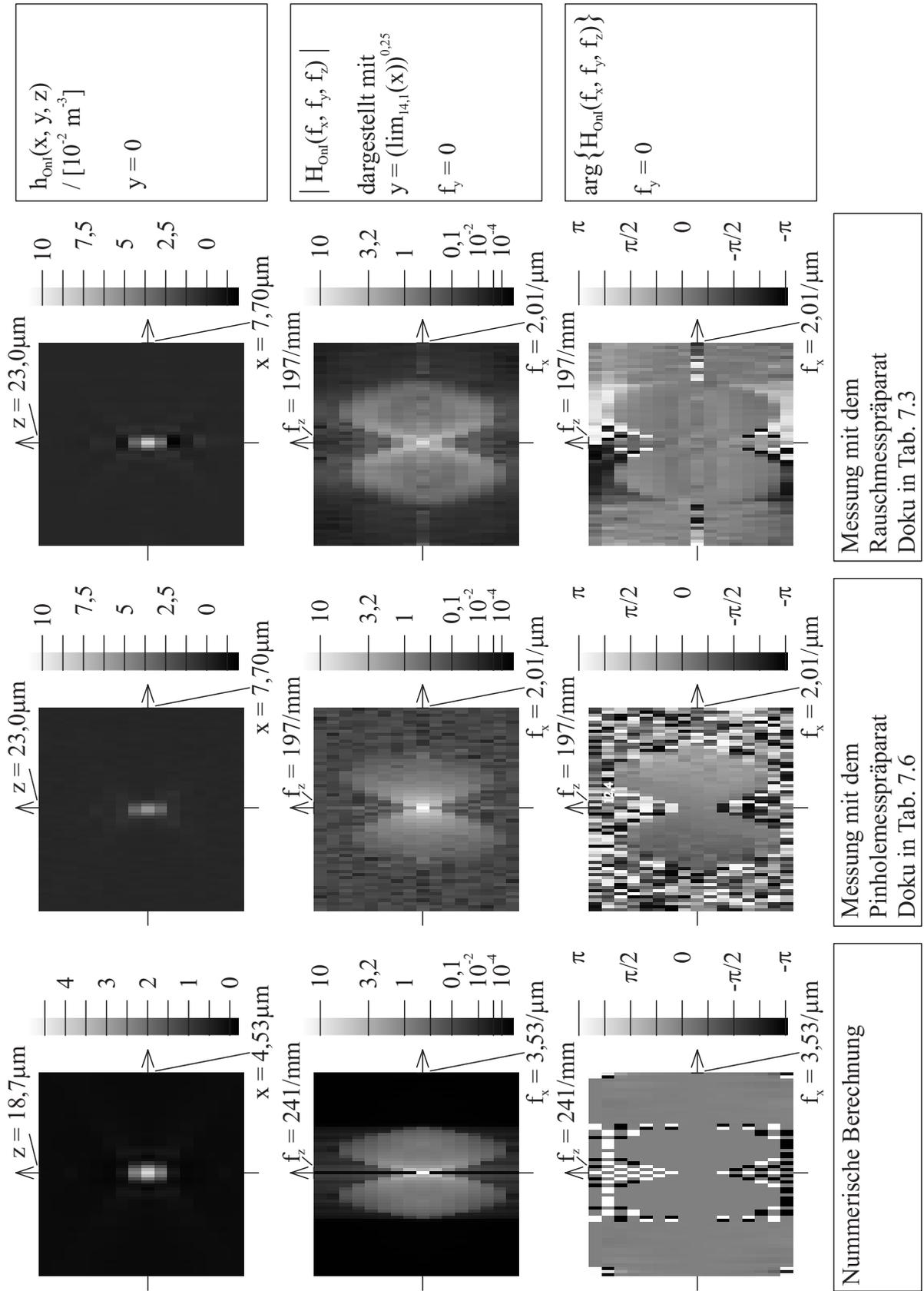


Abb. 4.3: Die Übertragungseigenschaften

Bei der Anfertigung dieser Arbeit ist keine Literatur bekannt geworden, in der die Berechnung der Punktantwort bzw. Übertragungsfunktion bei einer Zentralblende in der Kondensorpupille durchgeführt worden ist. Möglicherweise hat dies seine Ursache darin, dass die Gleichung (2.90) vor allem, wenn z. B. eine Zentralblende im Kondensator zu berücksichtigen ist, nicht mehr so einfach analytisch, wie dies traditionell bei der Beschreibung optischer Abbildungen gemacht wird, lösbar ist. Es zeigt sich eine Tendenz [4.5] zur numerischen Berechnung solcher Gleichungen. Da (2.90) bekannt ist, ist jedoch die ggf. numerische Berechnung von (2.90) auch unter Berücksichtigung einer Zentralblende in der Kondensorpupille kein Problem und nahe liegend.

Für die Analyse und Bewertung der Messergebnisse hier zunächst die Angabe der maximalen Cut-off-Frequenzen:

Verfahren	Betrag der äußersten Cut-off-Frequenzen in $1/\mu\text{m}$	
	in f_x -Richtung	in f_z -Richtung
Numerische Berechnung	1,61	0,184
Messung mit dem Pinholemesspräparat	1,15	0,133
Messung mit dem Rauschmesspräparat	1,21	0,139
Gemäß (2.115) und (2.116)	1,57	0,186

Tab. 4.3: Die Cut-off-Frequenzen

Die Unterschiede zwischen den Cut-off-Frequenzen gemäß (2.115) und (2.116) und denen aus der numerischen Berechnung werden wieder (siehe Kapitel 4.2) auf Ablesefehler zurückgeführt. Die Gründe für die niedrigeren Beträge der äußersten Cut-off-Frequenzen bei den Messungen im Vergleich zu den Beträgen bei der numerischen Berechnung sind die gleichen, die bereits in Kapitel 4.2 genannt und diskutiert worden sind.

Das Ergebnis aus der Messung mit dem Pinholemesspräparat differiert von dem der numerischen Berechnung in der Abb. links und deckt sich mit dem in der Abb. 4.1 gezeigten Ergebnis aus der Messung des dreidimensional-optischen Aufbaus ohne Zentralblenden mit dem Pinholemesspräparat. Vom Pinhole des Pinholemesspräparats gehen eben Kugelwellen ab unabhängig davon, ob eine Zentralblende in der Kondensorpupille vorhanden ist oder nicht (siehe Kapitel 2.2.2.2.3.3.1). Damit zeigt sich auch experimentell, dass die Übertragungseigenschaften der dreidimensional-optischen Abbildung bei Modifikationen des optischen Aufbaus durch Einfügen einer Zentralblende in die Kondensorpupille mit Hilfe eines Pinholemesspräparats nicht gemessen werden können. Der einzig feststellbare Unterschied zwischen den beiden gerade angesprochenen Messungen mit dem Pinholemesspräparat ist der hier geringere Betrag der äußersten Cut-off-Frequenzen in f_x -Richtung. Die Ursache dürfte in einem höheren Rauschniveau liegen, das beim Betrag der Übertragungsfunktion offensichtlich wird. Für diese Analyse sprechen auch Einträge in die Dokumentationen zu den beiden Experimenten: In der Dokumentation (siehe Tab. 7.5) zur Messung ohne Zentralblenden ist notiert, dass die Aussteuerung der CCD-Kamera „gut“ ist, während in der

Dokumentation (siehe Tab. 7.6) zur Messung mit der Zentralblende im Kondensator notiert ist, dass die Aussteuerung der CCD-Kamera nur „befriedigend“ ist.

Die Scherung in den gemessenen Übertragungsfunktionen wird wieder (siehe Kapitel 4.3) auf eine geringe Verschiebung des Messpräparats in radialer Richtung während der Aufnahme der Fokusserie zurückgeführt.

Die Beträge der äußersten Cut-off-Frequenzen differieren um einige Prozent bei den beiden Messungen. Die Ursache dafür wird im gerade angesprochenen, höheren Rauschniveau bei der Messung mit dem Pinholemesspräparat vermutet. Ferner können Ablesefehler eine Rolle spielen.

Der Vergleich zwischen dem Ergebnis aus der numerischen Berechnung und dem aus der Messung mit dem Rauschmesspräparat zeigt, dass die Punktantwort der Messung negative Überschwinger in z-Richtung besitzt, die im Ergebnis der Berechnung nicht sichtbar werden. Vermutlich korrespondiert dies mit höheren Beträgen der mit dem Rauschmesspräparat gemessenen Übertragungsfunktion vor den äußeren Cut-off-Frequenzen, also vor den Cut-off-Frequenzen bei hohen Beträgen von f_x , f_y und f_z . Diese Beträge sind bei der Messung mit dem Rauschmesspräparat höher als bei der numerischen Berechnung. Die Ursache dafür ist nicht klar geworden. Möglicherweise liegt sie in bevorzugten Ortsfrequenzen des Rauschmesspräparats in x/y-Richtung, die sich bei den anderen Messungen mit diesem Messpräparat nicht so stark bemerkbar gemacht haben.

Die kleineren Beträge der mit dem Pinholemesspräparat gemessenen Übertragungsfunktion bei hohen Beträgen von f_x und f_z dürften wieder die in Kapitel 4.2 beschriebenen Ursachen haben.

4.5 Zusammenfassende Bewertung

Die gezeigten Messergebnisse entsprechen im Wesentlichen den erwarteten Werten. Die Differenzen zwischen den Werten aus den Messungen und den erwarteten Werten sind meist gering und lassen sich in den aller meisten Fällen recht gut erklären.

Die Stärken des neuen Messverfahrens konnten experimentell bestätigt werden. Insbesondere konnte demonstriert werden, dass neue Messverfahren in der Lage ist, die Übertragungseigenschaften der dreidimensional-optischen Abbildung bei einer Zentralblende in der Kondensorpupille zu messen, dies gerade auch im Vergleich bzw. im Gegensatz zu den bekannten Messverfahren, wie z. B. dem, das ein Pinhole als Messpräparat verwendet.

5 Die Bildgewinnung

5.1 Bildgewinnung als Teil der Informationsgewinnung

In diesem Kapitel soll der Informationsfluss untersucht werden, der auftritt, wenn der Nutzer einer entsprechenden technischen Einrichtung Informationen über ein Objekt erhalten möchte. Dabei ist das hier anhand der Abb. 5.1 beschriebene Ergebnis nicht zwingend. Es lassen sich sicherlich auch andere Analysen zum Informationsfluss mit anderen Ergebnissen finden.

Die Skizze in der Abb. 5.1 zeigt links das Objekt, über das der Nutzer der Informationsgewinnung rechts eine Information erhalten möchte, wobei der Nutzer auch eine Maschine sein kann.

Im ersten Schritt wird mit der Aufnahmeeinheit, z. B. mit einem Mikroskop, eine Aufnahme des Objekts gemacht, die das Bild des Objekts zeigt. In der Terminologie dieser Arbeit ist das Bild des Objekts die Information über das Objekt, die in der Aufnahme gespeichert ist.

Da die Aufnahmeeinheit auch dann, wenn sie optimal justiert ist, systematische Fehler im Bild des Objekts erzeugt, ergibt sich ein Interesse, das Bild einer Restauration [5.1] [5.2] [5.3] in der Restaurationseinheit, z. B. im Rechner, zu unterziehen, um diese systematischen Fehler unter Verwendung von Kenntnissen über die Aufnahmeeinheit zu kompensieren.

Bei einigen Aufnahmeeinheiten, wie z. B. der Computer-Tomographie, liefert die Aufnahmeeinheit zunächst nur Bilder, im Beispiel Schattenbilder, die für den Nutzer nur sehr schlecht interpretierbar sind. Deshalb werden diese Aufnahmeeinheiten gleich mit einer Rekonstruktionseinheit [5.4] [5.5] versehen, die Aufnahmen erzeugen, deren Bilder problemlos vom Nutzer interpretiert werden können. Für diese Aufnahmeeinheiten ist es charakteristisch, dass sie mit den Rekonstruktionseinheiten zusammen in einem Gerät untergebracht sind.

In seltenen Fällen lässt sich Vorabwissen über das Objekt zur Restauration nutzen. Wenn z. B. von zwei Sternen, die mit dem Fernrohr nicht mehr richtig aufgelöst werden können, der Durchmesser und die Helligkeit bekannt sind, dann kann unter Verwendung dieses Vorabwissens und bei Vorliegen gewisser Voraussetzungen ein Bild berechnet werden, das diese beiden Sterne klar voneinander getrennt zeigt. Dafür hat sich der Begriff „super resolution“ [5.6] [5.7] eingebürgert, wobei dieser Begriff durchaus auch in anderen Zusammenhängen, wie z. B. bei der Bildrestauration verwendet wird.

Mit der Bildgewinnung entsteht eine Aufnahme, die ein restauriertes bzw. rekonstruiertes Bild des Objekts zeigt.

Das Bild des Objekts kann anschließend in der Auswertungseinheit z. B. mit einem Programm im Rechner ausgewertet [5.8] werden. Damit können die Teile bzw. Informationen des Bilds, die den Nutzer interessieren, aus dem Bild extrahiert werden. So wird z. B. aus dem Bild eines Kopfes der interessierende Schädelknochen herausgefiltert.

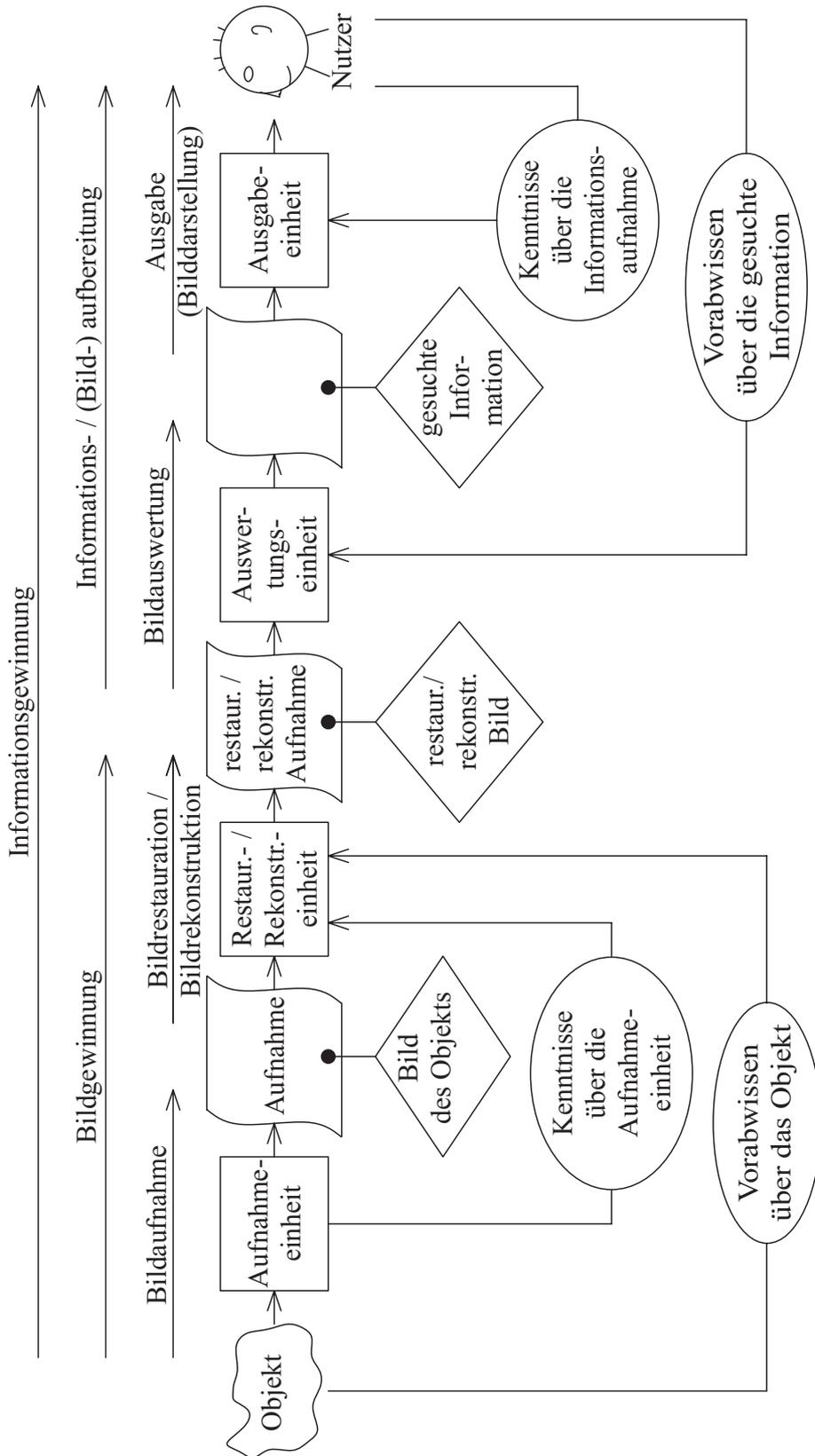


Abb. 5.1: Skizze zur Informationsgewinnung

Schließlich stellt die Ausgabeeinheit die gesuchte Information so dar, dass sie vom Nutzer möglichst optimal aufgenommen werden kann. Im Fall des gerade angesprochenen Beispiels könnte eine Stereodarstellung den Nutzer gut über die Oberfläche des Schädelknochens informieren. Bei Röntgenaufnahmen wird man an eine Änderung der Grauskala denken, um kleinere Unterschiede im Grauwert für den Nutzer besser sichtbar (engl. „enhancement“) [5.9] zu machen.

Die oben durchgeführte Analyse lässt sich auch ganz praktisch bei der Gerätekonstruktion nutzen. So wird die Restaurationseinheit häufig vom Hersteller der Aufnahmeeinheit, im Beispiel vom Mikroskophersteller, entwickelt. Dagegen werden Einheiten zur Informationsaufbereitung eher von Firmen hergestellt, die sich auf diese Informationsaufbereitung spezialisiert haben, z. B. von Softwarefirmen, die Programme für Bildverarbeitung und graphische Darstellung herstellen. Diese Firmen legen ihre Produkte meist so aus, dass sie Bilder auswerten können, die mit unterschiedlichen Aufnahmeeinheiten gewonnen wurden. Dies führt zu höheren Umsätzen mit denen die Leistungsfähigkeit dieser Software erhöht werden kann.

Zum Schluss dieses Kapitels noch ein praktisches Beispiel dafür, dass sich die gerade beschriebene Analyse nicht immer eindeutig durchführen lässt. Die folgende Abb. 5.2 zeigt genauso wie die Abb. 2.2 ein Bild des experimentellen Aufbaus dieser Arbeit.

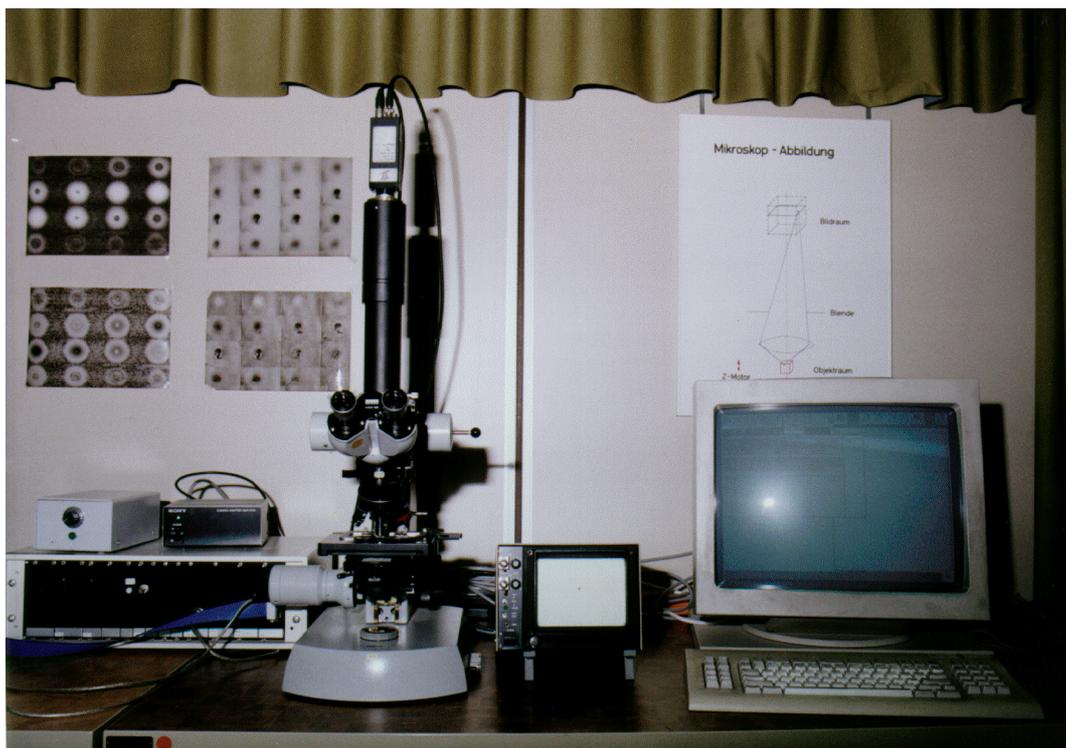


Abb. 5.2: Bild des experimentellen Aufbaus ohne Schärfung

Bei der Anfertigung der beiden Bilder wurde zunächst eine photographische Aufnahme gemacht. Anschließend wurde das Bild der Aufnahme mit einem Flachbettscanner in den Rechner eingescannt. Die Scannersoftware bietet dabei die Möglichkeit das Einscannen sowohl ohne, als auch mit 1-, 2-, 3- und 4-facher Schärfung durchzuführen, wobei unklar

bleibt, welcher Filteralgorithmus für die x -fache Schärfung verwendet wird. Die Abb. 2.2 zeigt die Aufnahme nach einer 4-fachen Schärfung, während für die Abb. 5.2 auf eine Schärfung verzichtet wurde. Die Unterschiede der beiden Bilder werden z. B. in der Lesbarkeit der Schrift auf dem Poster in der rechten Bildhälfte sichtbar.

Bei der Anwendung der in der Abb. 5.1 skizzierten Analyse ist die 4-fache Schärfung im Bild der Abb. 2.2 am besten als Teil der Ausgabeinheit einzustufen. Aus der Werbung ist bekannt, dass ein betrachtetes Bild im Allgemeinen als attraktiver angesehen wird, wenn es besonders scharf oder auch ein wenig überschärft ist. Dies führte dazu, dass in der Abb. 2.2 das 4-fach geschärfte Bild eingesetzt wurde.

Auf der anderen Seite kann man argumentieren, dass die Aufnahmeeinheit (Kleinbildkamera, Farbnegativfilm, photographischer Abzug, Scanner) und auch die Ausgabeinheit (die Abb. 5.2 bzw. Abb. 2.2) eine Tiefpassfilterung durchführen, die durch eine Restauration zum Beispiel mit einer 4-fach Schärfung im Rahmen einer Näherung kompensiert werden soll. Eine solche Begründung führt dazu, dass die 4-fach Schärfung eher eine Restauration ohne eine genauere Kenntnis des Verhaltens der Aufnahmeeinheit ist.

5.2 Die Bildrestauration

Für die Bildrestauration (siehe Abb. 5.1) gibt es grundsätzlich eine ganze Reihe [5.2] von Ansätzen und Verfahren. Welches in einem konkreten Aufbau eingesetzt werden kann, hängt entscheidend von den Eigenschaften des experimentellen Aufbaus ab.

5.2.1 Wiener-Inversfilterung

Aus diesen Verfahren zur Bildrestauration wird für den experimentellen Aufbau dieser Arbeit die Wiener-Inversfilterung [5.10] herausgegriffen. Die Wiener-Inversfilterung wurde unter dem Einfluss und während des zweiten Weltkriegs von Norbert Wiener erarbeitet und nach dem Krieg frei zugänglich veröffentlicht [5.11]. Dabei konnte Wiener auf die richtungsweisenden Arbeiten von Kolmogoroff [5.12] zurückgreifen [5.13]. Zur Wiener-Inversfilterung gehört eine umfangreichere Theorie [5.10], die auch die Randbedingungen und Einschränkungen der Wiener-Inversfilterung aufzeigt. Obwohl es zumindest bis in die 60er Jahre hinein Diskussionen [5.14] zum Beweis der Gültigkeit der Wiener-Inversfilterung gab, ist sie heute allgemein anerkannt und auch verbreitet.

Bei der Wiener-Inversfilterung eines Bildes aus einer Aufnahmeeinheit spielt die Kenntnis der Übertragungseigenschaften der Aufnahmeeinheit eine zentrale Rolle. Im Kapitel 4 wurde

gezeigt, wie die Übertragungseigenschaften sowohl berechnet als auch auf unterschiedlichen Wegen gemessen werden können. Es zeigte sich, dass die für den gleichen optischen Aufbau ermittelten Übertragungseigenschaften sehr wohl abhängen von dem Weg, auf dem diese Eigenschaften ermittelt wurden. So stellt sich die Frage, ob die Messung der Übertragungseigenschaften gerade auch mit dem neuen Messverfahren, das in dieser Arbeit vorgestellt wird, zu einer Verbesserung der Restauration mit der Wiener-Inversfilterung führt und warum dies so ist. Zumindest sind unterschiedliche Restaurationsergebnisse zu erwarten, je nach dem, auf welchem Weg die Übertragungseigenschaften ermittelt wurden.

Allerdings ist die Beantwortung dieser Fragen mit den dazugehörigen Experimenten, Untersuchungen und Diskussionen umfangreich. Dies vor allem dann, wenn die interessierenden Ursachen für die zu erwartenden, unterschiedlichen Restaurationsergebnisse erarbeitet werden. Dazu kommt, dass die Wiener-Inversfilterung grundsätzlich bekannt ist und ihre Anwendung bei Bildern aus der dreidimensional-optischen Aufnahmeeinheit, wie sie in dieser Arbeit vorliegen, ja bereits demonstriert [5.15] [5.16] wurde. So ist auch aus dieser Perspektive vor allem eine detaillierte Erarbeitung der Ursachen für die zu erwartenden, unterschiedlichen Restaurationsergebnisse interessant.

Vor diesem Hintergrund soll die Wiener-Inversfilterung in dieser Arbeit nur angesprochen, aber nicht detailliert angegangen werden, weil

- für eine detaillierte Ausarbeitung ein größerer Arbeitsaufwand nötig ist,
- diese Fragestellung ohne Schwierigkeiten abgetrennt werden kann und
- die Optimierung der Wiener-Inversfilterung in der gerade skizzierten Weise eher eine Technologieentwicklung ist.

5.2.1.1 Inversfilterung ohne Berücksichtigung von Näherungen

Zur Beschreibung eines Inversfilters [5.17] wird zunächst das allgemeine Übertragungsglied der Abb. 2.1 herangezogen. Um bei ihm aus der Spektraldichte $G(f_x, f_y, f_z)$ der Antwort die Spektraldichte $F(f_x, f_y, f_z)$ der Anregung zu berechnen, wird (2.12) zu

$$F(f_x, f_y, f_z) = \frac{1}{H(f_x, f_y, f_z)} G(f_x, f_y, f_z) \quad | \quad H(f_x, f_y, f_z) \neq 0 \quad (5.1)$$

umgeformt, wobei $H(f_x, f_y, f_z)$ wieder die Übertragungsfunktion ist. Falls $H(f_x, f_y, f_z)$ bekannt und ungleich Null ist, kann bei diesem allgemeinen Übertragungsglied aus der Antwort mit dem einfachen Inversfilter (5.1) die Anregung berechnet werden.

Bei der Bildung (siehe Kapitel 2) des systemtheoretischen Modells sind Näherungen notwendig gewesen. Wie in den nächsten Kapiteln gezeigt werden wird, ist es vorteilhaft, bei der Restauration des Bilds aus der Aufnahmeeinheit (siehe Abb. 2.3) die Eigenschaften des experimentellen Aufbaus in seinen Komponenten ohne diese Näherungen zu berücksichtigen und (5.1) nicht direkt zur Restauration zu verwenden.

5.2.1.2 Berücksichtigung von Rauschen

Eine Näherung bei der Modellbildung war die Vernachlässigung von weißem Rauschen.

Jetzt soll das im letzten Kapitel angesprochene allgemeine Übertragungsglied, das dort in so fern ideal war, als dass bei ihm kein Rauschen auftrat, modifiziert werden. Es soll additives weißes Rauschen auftreten. Aus (2.12) wird nun

$$G(f_x, f_y, f_z) = H(f_x, f_y, f_z) \cdot F(f_x, f_y, f_z) + N(f_x, f_y, f_z) \quad , \quad (5.2)$$

wobei $N(f_x, f_y, f_z)$ die Spektraldichte von weißem Rauschen (siehe auch Kapitel 7.7) ist.

Die Gleichung (5.2) kann zu

$$\frac{G(f_x, f_y, f_z)}{H(f_x, f_y, f_z)} = F(f_x, f_y, f_z) + \frac{N(f_x, f_y, f_z)}{H(f_x, f_y, f_z)} \quad | \quad H(f_x, f_y, f_z) \neq 0 \quad (5.3)$$

umgeformt werden. Um (5.3) zu veranschaulichen, lassen sich drei Fälle unterscheiden:

- Bei den Ortsfrequenzen, für die der erste Summand deutlich größer ist als der zweite, dominiert die Anregung. In diesem Fall kann Rauschen vernachlässigt und (5.1) direkt eingesetzt werden.
- Bei den Ortsfrequenzen, bei denen der zweite Summand deutlich größer ist als der erste, überwiegt das Rauschen deutlich. Dies kann das Ergebnis einer geringen Anregung $F(f_x, f_y, f_z)$ sein, oder es ist $H(f_x, f_y, f_z) \approx 0$ geworden. Da hier eine Restauration der Anregung $F(f_x, f_y, f_z)$ im Sinne von (5.1) realistischerweise nicht mehr möglich ist, wird, weil es hier keine bessere Alternative gibt, das Restaurationsergebnis bei diesen Ortsfrequenzen auf Null angesetzt.
- Im dritten Fall sind die Summanden etwa gleich groß. In diesem Fall muss ein optimaler Kompromiss gefunden werden.

Das Wiener-Inversfilter führt (5.1) so aus, dass die gerade angesprochenen drei Fälle optimal [5.18] berücksichtigt werden.

Unter verschiedenen Annahmen und Vereinfachungen [5.17] kann aus (5.3) der Faktor

$$\frac{1}{H(f_x, f_y, f_z)} \cdot \frac{|H(f_x, f_y, f_z)|^2}{|H(f_x, f_y, f_z)|^2 + \Gamma} \quad (5.4)$$

formuliert werden, der meistens zur Rückrechnung (siehe auch (5.1)) von der Antwort auf die Anregung im Rahmen einer Wiener-Inversfilterung verwendet wird. In (5.4) ist Γ eine dimensionslose, reelle Konstante, die einen Wert annimmt, der das Ergebnis von Vorabwissen

über das Signal- zu Rauschleistungsverhältnis in der Antwort $G(f_x, f_y, f_z)$ ist, und der die drei gerade angesprochenen Fälle optimal im Sinne der Wiener-Inversfilterung auswählt.

Um einen optimalen Wert Γ zu erhalten, muss Folgendes berücksichtigt werden:

- In der Aufnahme eines schwach beugenden Objekts tritt typischerweise nur ein in erster Näherung signalunabhängiges, weißes Rauschen, das Photonenrauschen (siehe Kapitel 2.2.3.1.1) des Leerbilds (siehe Kapitel 2.2.2.2.1.5) auf.
- In der Aufnahme eines transparenten Selbstleuchters tritt mit dem Signal (siehe Kapitel 2.2.2.2.2.2) auch ein zur Wurzel aus dem Signal bzw. aus der Spektraldichte proportionales Rauschen (siehe Kapitel 2.2.3.1.1) auf. Dazu kommt noch ein Signal unabhängiges Ausleserauschen (siehe Kapitel 2.2.3.1.1) des Sensors.

Das Design des Wiener-Inversfilters wird einfacher, wenn man sich klar macht, dass Γ in (5.4) nur im dritten Fall der Aufzählung, also wenn beide Summanden in (5.3) etwa gleich groß sind, genau bestimmt werden muss. In den beiden anderen Fällen, bei denen der Faktor (5.4) entweder zum Kehrwert der Übertragungsfunktion oder zu Null wird, genügt ein relativ grober Wert für Γ . Damit genügt auch für ein gutes Restaurationsergebnis normalerweise eine Schätzung der Konstanten Γ , die sich am Betragsquadrat der Spektraldichte des signalunabhängigen weißen Rauschens orientiert. Dies zeigt auch die Erfahrung bei anderen experimentellen Aufbauten [5.19].

Für die Wiener-Inversfilterung (siehe Abb. 2.3) in dieser Arbeit wird aus dem Faktor (5.4) die Übertragungsfunktion $\tilde{H}(f_x, f_y, f_z)$ in (2.122).

5.2.2 Berücksichtigung von anderen Näherungen und Fehlern

Es muss hier daran erinnert werden, dass der Fehler im Restaurationsergebnis auch davon abhängt, wie groß der Fehler der durch Rechnung oder Messung ermittelten Übertragungsfunktion ist (5.4). Bei der Berechnung der Übertragungsfunktion werden zahlreiche Näherungen (siehe Kapitel 2.2.2.2.1), die zur Modellbildung notwendig sind, gemacht. Hier kann diese Arbeit durch die Vorstellung des neuen Messverfahrens einen Beitrag leisten, weil jetzt die Messung der Übertragungsfunktion für schwach beugende dreidimensionale Objekte im Hellfelddurchlichtbetrieb möglich ist. Wobei natürlich auch eine gemessene Übertragungsfunktion Messfehler besitzt.

5.2.3 Berücksichtigung eines eingeschränkten Objekt-Wertebereichs

Eine Analyse der Inversfilterung gemäß (5.1) zeigt, dass $F(f_x, f_y, f_z)$ nur in dem Ortsfrequenz-Volumen angegeben werden kann, in dem $H(f_x, f_y, f_z) \neq 0$ ist. Außerhalb dieses Volumens ist $F(f_x, f_y, f_z)$ unbekannt und im Allgemeinen ungleich Null. Dies ist vor allem in den Fällen bedeutsam, in denen größere Betragsanteile von $F(f_x, f_y, f_z)$ nicht mehr in $G(f_x, f_y, f_z)$ enthalten sind und damit zumindest mit der Inversfilterung (5.1) bzw. mit der Wiener-Inversfilterung (5.4) nicht mehr restauriert werden können.

Dieses Problem tritt gerade auch bei der in dieser Arbeit zu untersuchenden dreidimensional-optischen Aufnahmeeinheit auf. Insbesondere bei kleinen Numerischen Aperturen des Mikroskopobjektivs ist ein großes doppelkegelförmiges Volumen um die f_z -Koordinatenachse in der Übertragungsfunktion vorhanden, innerhalb dessen die Übertragungsfunktion zu Null wird (siehe z. B. Abb. 2.20 bis Abb. 2.25). Anschaulich ausgedrückt ist vor allem bei diesen Mikroskopobjektiven die Auflösung in z -Richtung gering.

In manchen Fällen kann Vorabwissen (siehe Abb. 5.1) über das Objekt bzw. über die Anregung genutzt werden, um $F(f_x, f_y, f_z)$ für das Ortsfrequenz-Volumen, für das $H(f_x, f_y, f_z) = 0$ ist, doch noch zu restaurieren. Der Erfolg einer solchen, auf Vorabwissen basierenden, Restauration hängt jedoch sehr stark von verschiedenen Faktoren wie Signal / Rausch-Verhältnis, dem Objekt bzw. der Anregung, dem Umfang des Vorabwissens, usw. ab, und der Erfolg einer solchen Restauration ist häufig sehr gering.

Bei der hier zu untersuchenden dreidimensional-optischen Aufnahmeeinheit kann das Vorabwissen über die Anregung

$$f(x, y, z) \in \mathbb{R} \wedge f(x, y, z) > 0 \quad \text{bzw.} \quad \arg\{f(x, y, z)\} = 0 \quad (5.5)$$

genutzt werden, um $F(f_x, f_y, f_z)$ für das Ortsfrequenz-Volumen, für das $H(f_x, f_y, f_z) = 0$ ist, zu restaurieren. Algorithmisch kann dazu „Projections Onto Convex Sets“ (POCS) [5.20] verwendet werden. Zusammenfassend ist POCS ein iterativer Algorithmus, der die Restauration von $f(x, y, z)$ vom Ortsbereich in den Frequenzbereich und wieder zurück transformiert. Dabei wird als Einschränkung (engl. „constraint“) im Ortsbereich die Phase der Restauration auf Null gesetzt (5.5). Im Frequenzbereich wird die Restauration in dem Volumen, in dem $H(f_x, f_y, f_z) \neq 0$ ist, der Wiener-Inversfilterung (5.4) unterworfen und im übrigen Volumen unverändert gelassen.

Leider haben experimentelle Untersuchungen für die dreidimensional-optische Abbildung mit dem Lichtmikroskop im Hellfelddurchlichtbetrieb gezeigt, dass die Berücksichtigung von (5.5) mit Hilfe von POCS die Restaurationsergebnisse nur in einem sehr geringen, eher enttäuschenden Umfang verbessert.

5.3 Alternative Verfahren der Bildgewinnung

Bei der Anfertigung dieser Arbeit sind ein paar Ideen für alternative Verfahren der Bildgewinnung entstanden, die entweder nahe liegend sind oder bereits von anderen vorgeschlagen wurden, und die hier nicht auf ihre Realisierbarkeit hin untersucht wurden. Sie werden im Folgenden ohne Anspruch auf Vollständigkeit zusammengestellt:

- Kombination von Tomographie und Mikroskopie

Wenn die geometrisch-optische Näherung (2.20) für die dreidimensional-optische Abbildung im Lichtmikroskop ohne Fehler gültig wäre, dann ließe sich die Absorption im Objekt möglicherweise aus Projektionen berechnen. Die Algorithmen dafür sind ja bekannt [5.5] [5.21] [5.22]. Dabei müssten die Projektionen nicht unbedingt Parallelprojektionen sein. Der Sensor könnte in der Austrittspupille des Mikroskopobjektivs angebracht werden, um Parallelprojektionen zu erhalten. Das Objekt könnte in einem Röhrchen untergebracht werden, um es drehen zu können, und um damit weitere Projektionsrichtungen zu erhalten. Da jedoch das Lichtmikroskop vor allem bei den häufig interessierenden feinen Objektstrukturen an der mit der Wellennatur verbundenen Auflösungsgrenze arbeitet, sind diese tomographischen Ansätze nicht sehr Erfolg versprechend, weil deren Auflösung schlecht ist.

Aus einer anderen Perspektive veranschaulicht diese Überlegung, dass eine größere Numerische Apertur des Mikroskopobjektivs zu weiteren Projektionsrichtungen bzw. zu einer größeren Auflösung führt.

Es gibt jedoch eine mögliche Anwendung für die gerade durchgeführten Überlegungen. Wenn ein dickeres, stärker absorbierendes Objekt vorliegt, dann könnte die Ermittlung der Absorption von Teilvolumina des Objekts durch die gerade angesprochenen tomographischen Algorithmen erfolgen und die Ermittlung der Absorption feinerer Strukturen innerhalb dieser Teilvolumina im Rahmen einer linearen Näherung, wie sie z. B. in dieser Arbeit beschrieben wird.

- Vierdimensionale Aufnahme

Um das doppelkegelförmige Volumen, innerhalb dessen die Übertragungsfunktion zu Null wird (siehe z. B. Abb. 2.20 bis Abb. 2.25), zu füllen, könnte im Rahmen einer weiteren Idee der gerade angesprochene Aufbau mit dem Röhrchen verwendet werden, um mehrere dreidimensionale Bilder eines schwach beugenden Objekts zu machen, wobei von Aufnahme zu Aufnahme das Röhrchen so weit gedreht wird, dass das Volumen, innerhalb dessen die Übertragungsfunktion zu Null wird, gefüllt werden kann. Diese Serie von Aufnahmen kann als vierdimensionale Aufnahme bezeichnet werden.

Aus dieser vierdimensionalen Aufnahme muss dann z. B. durch eine Wiener-Filterung ein dreidimensionales Bild des Objekts gemacht werden. Wenn alles so wie beschrieben gelingt, kann damit das doppelkegelförmige Volumen mit Bildinformation gefüllt werden.

Anschaulich ausgedrückt wäre dann die Auflösung in allen drei Dimensionen praktisch gleich und so gut wie die radiale Auflösung.

Diese Idee ist unabhängig vom Objekttyp realisierbar, also unabhängig davon ob ein absorbierendes Objekt, ein Phasenobjekt oder ein transparenter Selbstleuchter vorliegt.

- Doppelt-dreidimensionale Aufnahme für Bilder beugender Objekte

Falls eine hohe Beleuchtungsapertur verwendet wird, wird die Übertragungsfunktion für Phasenobjekte zu Null (siehe Abb. 2.21, Abb. 2.23 und Abb. 2.25). Falls außerdem lineare Verhältnisse vorausgesetzt werden können, könnte dies genutzt werden, um allgemeine, beugende Objekte aufzunehmen, also Objekte die aus einem absorbierenden und einem phasenschieben Anteil bestehen [5.23].

Dabei werden z. B. zwei dreidimensionale Aufnahmen gemacht, die eine mit der gerade angesprochenen hohen Beleuchtungsapertur, die andere mit einer Beleuchtung, die eine Zentralblende in der Pupille der Beleuchtungseinrichtung besitzt und bei der sowohl der absorbierende Anteil, als auch der phasenschiebende Anteil des Objekts abgebildet wird.

Falls alles wie gewünscht gelingt, müsste sich dann mit der einen Aufnahme das Bild des absorbierenden Objekt-Anteils direkt angeben lassen und aus dem Bild, das beide Anteile enthält, müsste sich im Rechner das Bild des absorbierenden Objekt-Anteils subtrahieren lassen, um nur das Bild des phasenschiebenden Objekt-Anteils zu erhalten.

6 Ausblick

Mit dieser Arbeit konnte gezeigt (siehe Kapitel 3) werden, wie mit einer zweidimensionalen Rauschanregung nicht nur der Betrag, sondern auch die Phase der dreidimensionalen Übertragungsfunktion eines Übertragungsglieds, häufig einer Aufnahmeeinheit, gemessen werden kann, falls die Punktantwort bzw. die Übertragungsfunktion des Übertragungsglieds gewisse Symmetrieeigenschaften besitzt. Dabei konnten unterschiedliche Symmetrie-Fälle abgedeckt werden.

Das neue Messverfahren konnte am Beispiel des Lichtmikroskops experimentell überprüft (siehe Kapitel 3 und 4) werden. Dabei deckt das Verfahren die drei Fälle absorbierende Objekte (siehe Kapitel 3.2.2), Phasenobjekte (siehe Kapitel 3.2.3) und transparente Selbstleuchter (siehe Kapitel 3.2.4) ab, die unterschiedliche Symmetrieeigenschaften der Punktantwort bzw. Übertragungsfunktion besitzen.

Ausgehend von der Erarbeitung des neuen Messverfahrens, stellt sich jetzt die Frage, welche Themenfelder angegangen werden können bzw. welche detaillierter angegangen werden sollten.

- Zunächst sollte das mit dieser Arbeit erarbeitete Messverfahren für die Messungen am Lichtmikroskop optimiert werden. Dabei geht es zunächst um die Entwicklung einer Palette von Messpräparaten für die drei verschiedenen Objekttypen und für die verschiedenen Arbeitsbereiche (siehe Kapitel 3.2.2.2) der Mikroskopobjektive. Dazu kommt die Verringerung und Quantifizierung der Messfehler. Mit beidem kann ein für reale Messaufgaben nützliches Messinstrument mit bekanntem Messfehler entwickelt werden.
- Zur Beschreibung der Ausbreitung der elektromagnetischen Wellen im dreidimensionalen Objekt sind die Kirchhoffsche Beugungstheorie verwendet, eine Einschränkung vorgenommen und verschiedene Näherungen durchgeführt worden (siehe Kapitel 2.2.2.2.1.2). Zwar ist dies üblich und nur mit einem fairen Aufwand verbunden, aber andererseits treten hier schlecht abschätzbare Fehler auf, die groß sein können. Deshalb stellt sich die Frage nach einem rigoroseren physikalischen Modell, und einer Quantifizierung und Reduktion der mit diesem Modell verbundenen Fehler. Die in diesem Zusammenhang zu diskutierenden physikalischen Modelle sind grundsätzlich bekannt, allerdings müssen sie für die systemtheoretische Modellbildung aufbereitet werden.

Die Bearbeitung dieser Fragestellung ist schwierig, und das Ergebnis wird möglicherweise nur zu einer geringen Fehlerreduktion führen.

Vielleicht kann dann aber z. B. der mit dem zweidimensionalen Rauschmesspräparat im Fall der Zentralblende in der Kondensorpupille gemessene, und sich in der Abb. 4.3 zeigende, negative Überschwinger der Punktantwort in z-Richtung erklärt werden.

- Das neue Messverfahren, kann auch bei einer ganzen Reihe von anderen Übertragungsgliedern, insbesondere Aufnahmeeinheiten (siehe Kapitel 3.2.5) genutzt werden. Dafür wird in den meisten Fällen die Aufbereitung der physikalischen Beschreibung für die Modellbildung notwendig sein, ähnlich wie es in dieser Arbeit für das Lichtmikroskop

gemacht werden musste. Darüber hinaus müssen geeignete Messpräparate gefunden werden. Hier tun sich umfangreichere, aber lohnende, Arbeiten auf.

- Bei der Nutzung des Messverfahrens für andere Übertragungseinheiten, insbesondere Aufnahmeeinheiten, müssen bei Bedarf, basierend auf den in dieser Arbeit vorgestellten Berechnungswegen, neue Wege zur Ermittlung der Phase der dreidimensionalen Übertragungsfunktion gefunden werden, um Fälle mit anderen Symmetrieeigenschaften der Punktantwort bzw. Übertragungsfunktion abzudecken, oder um Probleme (siehe Kapitel 3.2.2.5.1.3) mit Störungen zu umgehen.

7 Anhang

7.1 Der Konvergenzfaktor bei der Fourier-Transformation

Das eindimensionale Integral für die Fourier-Transformation

$$U(f_x) = \int_{-\infty}^{+\infty} u(x) e^{-i2\pi f_x x} dx \quad (7.1)$$

konvergiert nur für „absolut integrierbare“ Funktionen $u(x)$. Dabei ist $u(x)$ eine komplexe Funktion im Ortsbereich, die über die Fourier-Transformation mit der ebenfalls komplexen Funktion $U(f_x)$ im Ortsfrequenzbereich korrespondiert. Das Argument x ist eine Variable des eindimensional-geometrischen Raums. Die dazu korrespondierende Ortsfrequenz ist f_x .

In vielen, in der Praxis häufig vorkommenden und wichtigen Fällen konvergiert das Integral in (7.1) nicht. Ein gutes Beispiel dafür ist der Fall, in dem $u(x)$ konstant und ungleich Null ist. Falls $u(x)$, wie im Beispiel, eine stationäre Funktionen ist, kann (7.1) durch Einfügen eines Konvergenzfaktors $\exp(-\varepsilon|x|)$ mit dem kleinen positiven reellen Wert ε umformuliert und mit der Bildung eines Grenzwertes gelöst [7.1] werden. Auf diese Weise können auch Funktionen transformiert werden, die mit einer beliebigen Potenz von x ansteigen, die für positive und negative Argumente unterschiedlich sein kann. Unter Verwendung des Konvergenzfaktors wird aus (7.1)

$$U(f_x) = \lim_{\varepsilon \rightarrow 0} \left(\int_{-\infty}^{+\infty} u(x) e^{-\varepsilon|x|} e^{-i2\pi f_x x} dx \right) \quad (7.2)$$

und das Integral in diesen weiteren Fällen lösbar.

Für die Fourier-Rücktransformation gilt sinngemäß das gleiche.

Falls die Orthogonalität der Dimensionen, wie z. B. bei kartesischen Koordinatensystemen, die in dieser Arbeit verwendet werden, vorausgesetzt werden kann, lässt sich der gerade beschriebene Ansatz auch auf mehrdimensionale Fourier-Transformationen übertragen [7.2].

Um die Funktionsweise des Konvergenzfaktors zu demonstrieren, soll ein Beispiel durchgerechnet werden. In ihm soll $u(x) = 1$ für $-\infty < x < +\infty$ sein und fourier-transformiert werden. Weil das Integral in (7.1) nicht konvergiert, wird der Konvergenzfaktor (7.2) eingeführt. Durch die Teilung des Integrationswegs in (7.2) ergibt sich

$$U(f_x) = \lim_{\varepsilon \rightarrow 0} \left(\int_{-\infty}^0 u(x) e^{+\varepsilon x} e^{-i2\pi f_x x} dx + \int_0^{+\infty} u(x) e^{-\varepsilon x} e^{-i2\pi f_x x} dx \right) \quad (7.3)$$

und nach der Lösung der Integrale

$$U(f_x) = \lim_{\varepsilon \rightarrow 0} \left(\frac{1}{\varepsilon - i2\pi f_x} + \frac{1}{\varepsilon + i2\pi f_x} \right) = \lim_{\varepsilon \rightarrow 0} \frac{2\varepsilon}{\varepsilon^2 + 4\pi^2 f_x^2} \quad (7.4)$$

Damit ist

$$U(f_x) = 0 \quad | \quad f_x \neq 0 \wedge \varepsilon = 0 \quad (7.5)$$

Allerdings bleibt die Frage wie $U(f_x)$ an der Stelle $f_x = 0$ außer mit (7.4) noch beschrieben werden kann. Dazu die folgende Abbildung.

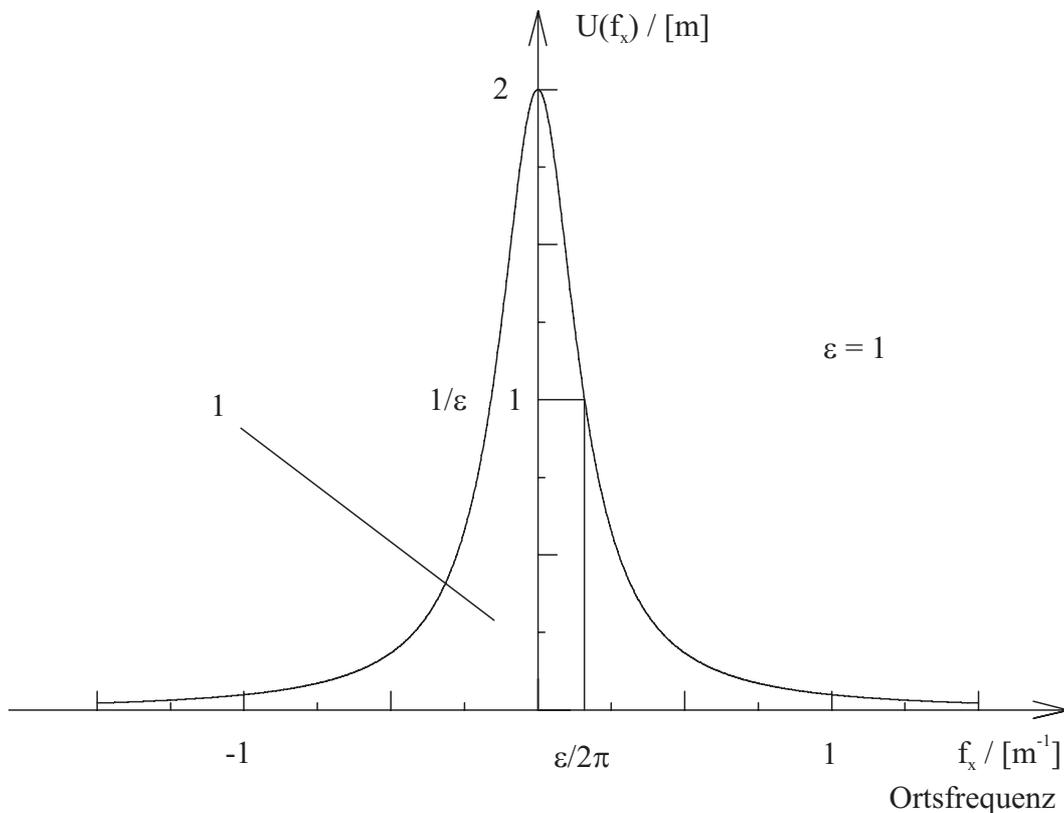


Abb. 7.1: Der Graph von $U(f_x)$ für $\varepsilon = 1$ und $u(x) = 1$

Die Abb. 7.1 zeigt den Graphen der Funktion $U(f_x)$. Sie veranschaulicht, wie die Funktion $U(f_x)$ für $\varepsilon \rightarrow 0$ immer höher und schmaler wird, ohne dass sich der Wert des Integrals

$$\int_{-\infty}^{+\infty} U(f_x) df_x \quad (7.6)$$

ändert. Nach dem Einsetzen von (7.4) in (7.6) ergibt die Berechnung des Integrals mit der Durchführung des Grenzübergangs

$$\lim_{\varepsilon \rightarrow 0} \int_{-\infty}^{+\infty} \frac{2\varepsilon}{\varepsilon^2 + 4\pi^2 f_x^2} df_x = 1 \quad . \quad (7.7)$$

Damit kann $U(f_x)$ an der Stelle $f_x = 0$ auch dadurch beschrieben, dass mit (7.6) und (7.7) das Integral von $U(f_x)$ über f_x gleich Eins ist.

7.2 Die eindimensionale δ -Funktion

Die Funktion $U(f_x)$ im Beispiel aus Kapitel 7.1 mit $u(x) = 1$ (7.4) wird auch als δ -Funktion bezeichnet. Damit ist hier

$$\delta(f_x) = U(f_x) \quad . \quad (7.8)$$

Das Integral der δ -Funktion von $-\infty$ bis $+\infty$ ist gleich Eins (siehe (7.6) (7.7)). Die Werte der δ -Funktion sind gleich Null für alle Werte des Arguments ungleich Null (siehe (7.5)). Bei $x = 0$ besitzt die δ -Funktion einen charakteristischen Impuls. Er wird Dirac-Impuls genannt.

7.3 Die mehrdimensionale δ -Funktion

Die mehrdimensionale δ -Funktion ist das Produkt von eindimensionalen δ -Funktionen für die einzelnen, orthogonal zueinander liegenden, Dimensionen [7.3].

In dieser Arbeit gibt die Indizierung an, aus welchen eindimensionalen δ -Funktionen sich eine δ -Funktion im dreidimensionalen Ortsbereich zusammensetzt. So ist z. B.

$$\delta_{xy}(x, y, z) = \delta(x) \cdot \delta(y) \quad . \quad (7.9)$$

Nur wenn sich die δ -Funktion aus den drei eindimensionalen δ -Funktionen der Koordinaten des dreidimensionalen Ortsbereichs zusammensetzt, wird die vereinfachte Schreibweise

$$\delta(x, y, z) = \delta_{xyz}(x, y, z) = \delta(x) \cdot \delta(y) \cdot \delta(z) \quad (7.10)$$

verwendet.

Die δ -Funktionen besitzen im dreidimensionalen Ortsbereich die folgenden Formen [7.4]: Die eindimensionale δ -Funktion besitzt einen Dirac-Impuls in Form einer Ebene. So besitzt z. B. die δ -Funktion $\delta_x(x, y, z)$ außerhalb der Ebene $x = 0$ den Wert Null und bei $x = 0$ den

ebenenförmigen Dirac-Impuls. Die zweidimensionale δ -Funktion besitzt einen Dirac-Impuls in der Form einer Geraden. Damit besitzt z. B. die δ -Funktion $\delta_{xy}(x, y, z)$ außerhalb der Geraden $x = 0, y = 0$, also außerhalb der z -Koordinatenachse immer den Funktionswert $\delta_{xy}(x, y, z) = 0$ und bei $x = 0, y = 0$ den Dirac-Impuls in der Form einer Geraden. Die dreidimensionale δ -Funktion $\delta_{xyz}(x, y, z) = \delta(x, y, z)$ besitzt schließlich einen punktförmigen Dirac-Impuls im Ursprung.

In den Fällen, in denen die Geometrie des dreidimensionalen Ortsbereichs im Vordergrund steht, wird statt der Darstellung mit Einzelargumenten auch eine vektorielle Schreibweise verwendet. So ist dann z. B.

$$\delta(\vec{x}) = \delta(x, y, z) \quad . \quad (7.11)$$

7.4 Tiefpassfilterung zur Glättung, und Mittelung

Für verschiedene Fälle dieser Arbeit soll

$$g(\vec{x}) = \langle f(\vec{x}) \rangle := f(\vec{x}) * h_m(\vec{x}) \quad (7.12)$$

als Tiefpassfilterung zur Glättung definiert und mit dem Zeichen $\langle . \rangle$ abgekürzt geschrieben werden. Der Vektor \vec{x} spannt einen reellen, im Allgemeinen mehrdimensionalen Raum auf, wobei statt der vektoriellen Schreibweise auch eine mit Einzelargumenten gewählt werden kann. Die komplexe Funktion $f(\vec{x})$ ist das Argument der Filterung, und kann statistische, hochfrequent oszillierende oder beide Eigenschaften besitzen. Diese Eigenschaften sind in verschiedenen Fällen unterschiedlich und werden deshalb an den verschiedenen Stellen dieser Arbeit genauer beschrieben. Die Filterung wird mit einer Faltung $*$ (siehe (2.9)) mathematisch beschrieben. Das Ergebnis der Filterung ist die komplexe Funktion $g(\vec{x})$. Die komplexe Funktion $h_m(\vec{x})$ soll die Eigenschaften der Filterung in (7.12) beschreiben und die Gleichungen

$$1 = 1 * h_m(\vec{x}) \quad \text{und} \quad (7.13a)$$

$$h_m(\vec{x}) \approx 0 \quad | |\vec{x}| > \frac{\Delta_m}{2} \quad (7.13b)$$

erfüllen. In jedem Fall, in dem die Tiefpassfilterung zur Glättung verwendet wird, müssen $h_m(\vec{x})$ und Δ_m angepasst werden. Falls $f(\vec{x})$ statistische Eigenschaften besitzt, ist bei einem vernachlässigbaren oder zumindest bei einem akzeptablen Fehler

$$g(\vec{x}) \approx E_k \{f(\vec{x})\} \quad . \quad (7.14)$$

Dabei ist $E_k \{ \cdot \}$ das Zeichen für die Bildung des Erwartungswerts über die Exemplare (siehe auch (7.17)). Falls $f(\bar{x})$ hochfrequent, oszillierende Eigenschaften besitzt, bildet $h_m(\bar{x})$ einen Filter, der nur diese Frequenzen bei einem vernachlässigbaren oder zumindest akzeptablen Fehler für $g(\bar{x})$ herausfiltert. Die Funktion $h_m(\bar{x})$ wird meist reell, symmetrisch zum Ursprung und typischerweise eine Gaußfunktion sein.

Falls Δ_m sehr groß gewählt werden kann, geht $\Delta_m \rightarrow \infty$, und aus der Tiefpassfilterung zur Glättung wird eine Mittelung, bei der der gemittelte Wert nicht mehr von $f(\bar{x})$ abhängig ist, $g(\bar{x})$ zu einer Konstanten wird, und in (7.13b) und (7.14) \approx durch $=$ ersetzt werden kann.

7.5 Der Fehler durch die Näherung für kleine Einfallswinkel

In Kapitel 2.2.2.1.1 ist mit (2.25) eine Näherung für kleine Einfallswinkel, für Winkel zwischen dem Hauptstrahl und der Senkrechten zur Bildebene bei der geometrisch-optischen Näherung der objektseitig telezentrischen, dreidimensional-optischen Abbildung gemacht worden. Im Folgenden wird der durch (2.25) hervorgerufene Fehler ermittelt.

Dazu zeigt die Skizze in Abb. 7.2 eine einfache, objektseitig telezentrische dreidimensional-optische Abbildung [7.5]. Die Skizze veranschaulicht, wie die vier Objektpunkte P_A bis P_D durch das Linsensystem L mit der Brennweite f und durch die Blende D abgebildet werden. Um eine objektseitig telezentrische optische Abbildung zu erhalten, liegt die Objektebene Z_O im vorderen Brennpunkt F und D im hinteren Brennpunkt F' von L . In der Skizze sind noch die Bildebene Z_I und die zu den Objektpunkten gehörenden Bildpunkte Q_A bis Q_D eingezeichnet.

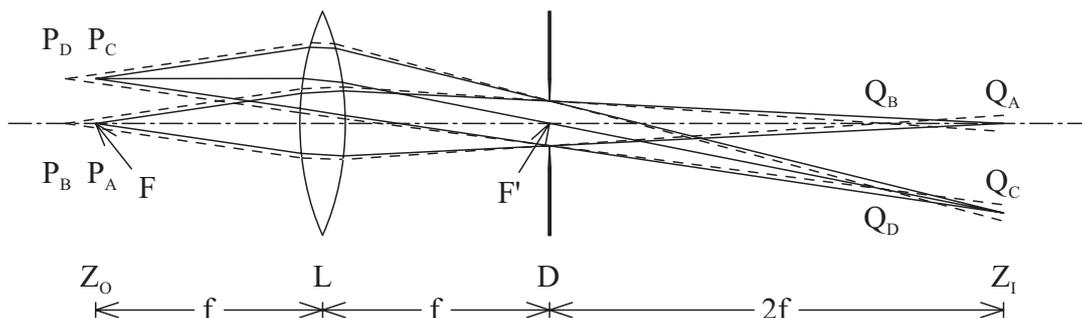


Abb. 7.2: Objektseitig telezentrische, dreidimensional-optische Abbildung

Wenn die Korrektur des Linsensystems L dazu führt, dass die Gerade durch Q_B und Q_D parallel zu Z_I ist, dann ist bei der Abbildung des Objektpunkts P_D die Bestrahlungsstärke auf der Bildebene Z_I an der Stelle Q_C aus zwei Gründen geringer, als die Bestrahlungsstärke bei der Abbildung des Objektpunkts P_B an der Stelle Q_A . Zum einen ist die Entfernung zwischen Q_C und Q_D größer als die zwischen Q_A und Q_B . Damit verteilt sich die Strahlung bei der dreidimensional-optischen Abbildung eines Punktes mit dem Quadrat der Entfernung auf eine

größere Fläche. Zum anderen tritt bei der dreidimensional-optischen Abbildung eines Punktes eine Reduktion der Bestrahlungsstärke mit dem Kosinus des Bestrahlungswinkels auf, in dem die Strahlen oder näherungsweise der Hauptstrahl der Abbildung von P_D auf Z_I auftrifft.

Zusätzlich treten bei nicht so gut korrigierten Linsensystemen im Bild der optischen Abbildung noch weitere Fehler, wie z. B. Bildfeldwölbung, Aberrationen usw. auf.

Für die dreidimensional-optische Abbildung in der Aufnahmeeinheit (siehe Abb. 2.4) ergibt sich nun die folgende Rechnung für den mit (2.25) verbundenen Fehler. Dabei soll zunächst im Rahmen einer Näherung angenommen werden, dass der Hauptstrahl der Abbildung eines Objektpunktes bei einem vernachlässigbaren Fehler durch den hinteren Brennpunkt des Mikroskopobjektivs zur Nachvergrößerung geht. Mit dieser Näherung ergibt sich durch einfache Geometrie eine Veränderung der Bestrahlungsstärke auf der Bildebene durch die Vergrößerung der Entfernung mit $\cos^2(\theta(x_I, y_I))$ und durch den Bestrahlungswinkel mit $\cos(\theta(x_I, y_I))$. Damit ist der durch die Näherung (2.25) hervorgerufene relative Fehler

$$F_E(x_I, y_I) = \cos^3(\theta(x_I, y_I)) - 1 \quad . \quad (7.15)$$

Der größte Betrag von F_E , nämlich der von $F_{E_{\max}}$, tritt beim größten auftretenden Einfallswinkel θ_{\max} auf. Da im experimentellen Aufbau dieser Arbeit im ungünstigsten Fall nur der Teil des Bildes I_2 verwendet wird, der am Rande des größten vom CCD-Sensor und der Elektronik in der Aufnahmeeinheit erfassten zweidimensional-optischen Bildes auftritt, berechnet sich $F_{E_{\max}}$ (siehe Abb. 2.4, und Tab. 2.2) zu

$$F_{E_{\max}} = \cos^3(\theta_{\max}) - 1 = \cos^3\left(\arctan\left(\frac{0,5d_{\text{CCD}}}{z_{87}}\right)\right) - 1 = -0,00093 \quad . \quad (7.16)$$

Dabei ist $d_{\text{CCD}} = 7,97\text{mm}$ die Diagonale der größten vom CCD-Sensor und der Elektronik in der Aufnahmeeinheit erfassbaren Aufnahme, wenn die Aufnahme eine Größe von 512^2 Pixeln und der CCD-Sensor einen geometrischen Abtastabstand von $11\mu\text{m}$ (siehe Tab. 2.3) besitzt.

Wie (7.16) zeigt, ist der Betrag dieses maximalen Fehlers etwa so groß, wie das systematische Quantisierungsrauschen des 8Bit A/D-Wandlers auf der Bildspeicherkarte (siehe Abb. 2.3). Deshalb und um den Aufwand für diese Arbeit zu reduzieren, soll der geringe, durch die Näherung (2.25) hervorgerufene Fehler vernachlässigt werden.

Bei dieser Gelegenheit lassen sich noch die folgenden beiden Punkte ergänzen:

- Mikroskopobjektive der neuesten Generation, die in dieser Arbeit noch nicht eingesetzt werden konnten, besitzen eine ICS-Optik. Wenn ein Objektpunkt mit einer solchen Optik abgebildet wird, dann tritt ein paralleles Strahlenbündel aus dem Mikroskopobjektiv aus, das anschließend durch eine Tubuslinse zum zweidimensional-optischen Bild fokussiert wird. Durch diese optische Anordnung von Mikroskopobjektiv und Tubuslinse trifft der Hauptstrahl der optischen Abbildung praktisch senkrecht auf der Bildebene auf. Damit ist bei der ICS-Optik der Fehler, der durch die Näherung (2.25) hervorgerufen wird, so gering, dass er problemlos vernachlässigbar ist.

- Bei Mikroskopobjektiven, die eine Vergrößerung kleiner als etwa 4 bzw. eine Numerische Apertur kleiner als etwa 0,1 besitzen, ist die optische Abbildung objektseitig nicht mehr telezentrisch.

7.6 Die Bedeutung der Datensätze im Orts- und Frequenzbereich

Im systemtheoretischen Modell des experimentellen Aufbaus dieser Arbeit gibt es kontinuierliche dreidimensionale Funktionen im Orts- und Frequenzbereich (siehe Abb. 2.3). Sie werden im Rechner in Form von endlichen Datensätzen erfasst, wobei die Datensätze für den Orts- und für den Frequenzbereich mit der FFT [7.6] ineinander umgerechnet werden (siehe auch Kapitel 2.1.4). Offensichtlich lassen sich nicht alle mit diesem systemtheoretischen Modell beschreibbaren Informationen durch die begrenzten Datensätze im Rechner erfassen. Dazu kommt, dass beim Schritt vom systemtheoretischen Modell zu den Datensätzen im Rechner das Abtasttheorem erfüllt und eine Diskretisierung durchgeführt werden muss. Dabei müssen Festlegungen getroffen und Näherungen durchgeführt werden.

In diesem Kapitel soll dargestellt werden, welche Festlegungen und Näherungen, bei welchen Datensätzen dieser Arbeit zum Tragen kommen, und welche Funktionen die Datensätze im systemtheoretischen Modell besitzen. Dabei wird hier auf eine detaillierte Beweisführung [7.7] verzichtet.

All dies soll zunächst für das Objekt (siehe Abb. 2.3) selbst und für die Bilder (siehe Abb. 2.3) des Objekts beschrieben werden, und zwar anhand des in der Abb. 7.3 gezeigten, frei gewählten, eindimensionalen Beispiels mit dem reellen Signal $s(x)$ und seiner komplexen Spektraldichte $S(f_x)$.

Durch die dreidimensional-optische Abbildung wurden alle Bilder des Objekts in allen drei Dimensionen des Frequenzbereichs tiefpassgefiltert. Dabei treten Cut-off-Frequenzen (siehe Kapitel 2.2.2.2.3.2) auf, außerhalb derer keine spektralen Anteile mehr übertragen werden. Erst nach dieser Tiefpassfilterung sind die optischen Bilder unter Einhaltung des Abtasttheorems (siehe Kapitel 2.2.3.1.2) abgetastet worden. Deshalb sollen die folgenden Festlegungen und Näherungen durchgeführt werden. Dies bedeutet für den Ortsbereich:

- Wegen der Tiefpassfilterung werden den Datensätzen für den Frequenzbereich finite Spektraldichten zugeordnet.
- Da die Spektraldichten finit sind, können diese im Ortsbereich nur durch infinite Signale fehlerfrei beschreiben [7.8] werden.
- Damit erfassen die Datensätze für den Ortsbereich nur Ausschnitte aus unendlichen Signalen. Diese Ausschnitte wiederholen sich periodisch in allen Richtungen [7.9].
- Da das Abtasttheorem eingehalten worden ist, kann [7.8] an jeder Stelle im Ortsbereich aus den benachbarten Werten des Datensatzes das kontinuierliche Signal berechnet werden.

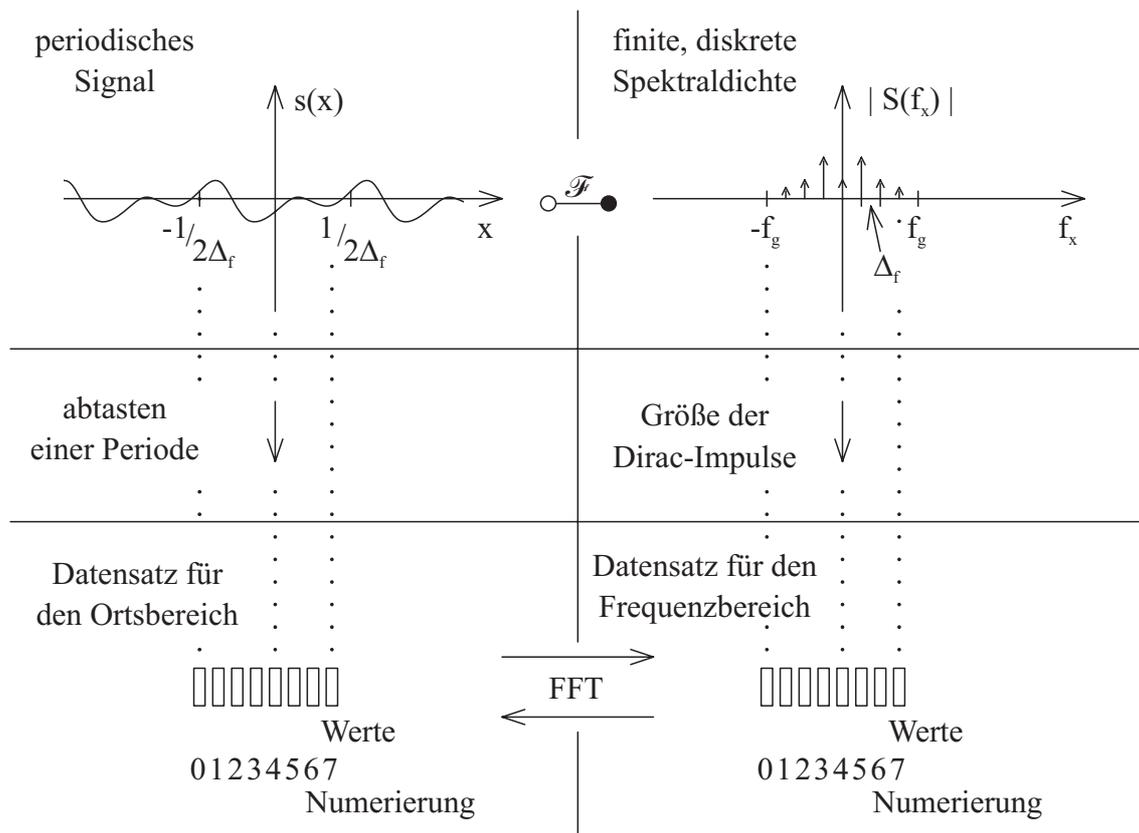


Abb. 7.3: Das periodische Signal im Ortsbereich und seine finite Spektraldichte

Falls, wie hier, die Spektraldichten finit sind und deshalb infinite Signale im Ortsbereich auftreten, gehört [7.9] zu jedem Wert der Datensätze für den Frequenzbereich ein Dirac-Impuls entsprechender Größe im Frequenzbereich. Dies bedeutet für den Frequenzbereich:

- Diejenigen spektralen Anteile, die zwischen diesen Dirac-Impulsen der finiten Spektraldichten liegen, sind gleich Null.
- Zu jedem Dirac-Impuls der finiten Spektraldichten gehört als direktes Ergebnis der Fourier-Rücktransformation eine im Allgemeinen oszillierende Signalkomponente im Ortsbereich.
- Daraus folgt, wie bereits angesprochen, dass alle Dirac-Impulse einer Spektraldichtefunktion [7.9] zusammen zu einem Signal im Ortsbereich gehören, das sich periodisch bis ins Unendliche wiederholt, wobei der Datensatz für den Ortsbereich genau eine Periode erfasst.

Die Festlegungen und Näherungen sind also ein Artefaktum der endlichen Datensätze für den Orts- und Frequenzbereich. Dabei werden die Festlegungen so gewählt, dass die Näherungen mit möglichst geringen Fehlern verbunden sind.

Außer dem gerade durchgesprochenen Objekt mit seinen Bildern verwendet das systemtheoretische Modell des experimentellen Aufbaus dieser Arbeit Punktantworten und Übertragungsfunktionen (siehe Abb. 2.3). Auch für diese sollen jetzt die entsprechenden Festlegungen mit Näherungen, die zu möglichst geringen Fehlern führen, getroffen werden.

Das Integral einer Punktantwort über alle Dimensionen, jeweils von $-\infty$ bis $+\infty$, konvergiert und nimmt üblicherweise den Wert Eins an. Ab einer nicht all zu großen Entfernung vom Ursprung nimmt die Punktantwort üblicherweise und auch in dieser Arbeit vernachlässigbare Werte an. Deshalb sollen die Punktantworten dieser Arbeit beim Schritt vom systemtheoretischen Modell zu den Datensätzen im Rechner außerhalb des mit dem dreidimensionalen Datensatz erfassten Volumens zu Null werden. Damit wiederholen sich die Übertragungsfunktionen periodisch. Das eingangs und in der Abb. 7.3 Dargestellte gilt hier entsprechend.

Schließlich müssen die Festlegungen mit ihren Näherungen auch so durchgeführt werden, dass die systemtheoretischen Berechnungen möglich sind. Die Überprüfung anhand der Gleichungen (2.9) und (2.12) zeigt, dass dies zumindest bei der systemtheoretischen Beschreibung des Signalfusses durch den optischen Aufbau, in der Abb. 2.3 von unten nach oben, möglich ist.

7.7 Die Eigenschaften des Rauschens in den Rauschmesspräparaten

Das neue Messverfahren, das in dieser Arbeit vorgestellt werden soll, verwendet zweidimensionale Rauschmesspräparate (Abb. 3.4 und Abb. 3.17). Im Folgenden werden die statistischen Eigenschaften des Rauschens [7.10] [7.11] [7.12] (ferner [7.13] [7.14] [7.15]) in diesen Präparaten vor allem im Hinblick auf die in dieser Arbeit durchzuführende schrittweise (siehe Kapitel 2.1.4) Modellbildung (siehe Kapitel 2) mit den dabei auftretenden Datensätzen im Rechner beschrieben.

7.7.1 Definition und Eigenschaften von weißem Rauschen

An den Ausgängen eines mathematisch idealen Zufallsprozesses soll Rauschen auftreten, das mit der reellen Größe $n_m(x, k)$ beschrieben wird. Dabei ist x eine Dimension des Raums. In einem anderen Zusammenhang könnte statt x auch die Zeit im Argument stehen. Die statistischen Eigenschaften der Signale an den Ausgängen sollen unabhängig vom örtlichen Ursprung sein. Damit ist der Zufallsprozess stationär. Die natürliche Zahl k ist die Nummer des einzelnen Exemplars dieses Zufallsprozesses. Die Signale an den Ausgängen der Exemplare des Zufallsprozesses sollen statistisch unabhängig voneinander sein und die gleichen statistischen Eigenschaften besitzen. Die statistischen Eigenschaften des Zufallsprozesses sollen über x und k gleich sein. Damit ist $n_m(x, k)$ ergodisch.

Für jeden Wert x soll $n_m(x, k)$ eine zum Ursprung symmetrische, gaußförmige Wahrscheinlichkeitsdichtefunktion $p_{mk}(n_m, x)$ mit der Standardabweichung $\sigma_{mk}(x)$ besitzen. Jedes Exemplar k von $n_m(x, k)$ besitzt die Wahrscheinlichkeitsdichte $p_{mx}(n_m, k)$ mit der Standardabweichung $\sigma_{mx}(k)$.

Mit der Entfernung x_I bzw. der Anzahl k_I und aufgrund der Ergodizität von $n_m(x, k)$ ist der Erwartungswert für die Signale an den Ausgängen dieses Zufallsprozesses

$$E\{n_m(x, k)\} = \lim_{x_I \rightarrow \infty} \left(\frac{1}{2x_I} \int_{-x_I}^{+x_I} n_m(x, k) dx \right) = \lim_{k_I \rightarrow \infty} \left(\frac{1}{k_I} \sum_1^{k_I} n_m(x, k) \right) = 0 \quad , \quad (7.17)$$

wobei die Grenzübergänge aufgrund der gerade beschriebenen statistischen Eigenschaften konvergieren. Die Grenzübergänge veranschaulichen auch, wie aus den statistischen Eigenschaften durch die Mittelung ein konstanter Erwartungswert wird.

7.7.2 Eigenschaften des Rauschens im experimentellen Teil dieser Arbeit

Ausgehend von dem gerade beschriebenen, mathematisch idealen, Zufallsprozess $n_m(x, k)$ soll jetzt zur Beschreibung des Rauschens in den Rauschmesspräparaten der Zufallsprozess $n_e(x, k)$ schrittweise (siehe Kapitel 2.1.4) und letztlich für die Berechnungen im experimentellen Teil dieser Arbeit definiert und beschrieben (siehe Abb. 7.4) werden.

Bis auf die im Folgenden beschriebenen Ausnahmen besitzen $n_m(x, k)$ und $n_e(x, k)$ die gleichen Eigenschaften. Die Dimensionen des Rauschens in den Rauschmesspräparaten werden vereinfachend zur eindimensionalen Entfernung x im Argument von $n_e(x, k)$ zusammengefasst. Die mit dem gleichen Verfahren hergestellten Rauschmesspräparat-Exemplare werden mit k durchnummeriert, wobei k realistischerweise nicht all zu hohe Werte annimmt. Entsprechend $n_m(x, k)$ gehört zu $n_e(x, k)$ die Wahrscheinlichkeitsdichtefunktion $p_{ex}(n_e, k)$ mit der Standardabweichung $\sigma_{ex}(k)$ und $p_{ek}(n_e, x)$ mit $\sigma_{ek}(x)$.

Bei der Bildung des systemtheoretischen Modells (siehe auch Kapitel 2.1.4) ergibt die Fourier-Transformation (siehe auch Kapitel 7.1) der Signale in x -Richtung die komplexen Spektraldichten

$$N_e(f_x, k) = \mathcal{F}_x \{n_e(x, k)\} \quad . \quad (7.18)$$

Dabei ist f_x die zu x gehörende reelle Ortsfrequenz. Um die durch den optischen Aufbau gestellten Anforderungen (siehe Kapitel 3.2.2.2) an die Rauschmesspräparate zu erfüllen, besitzen die Partikel dieser Präparate einen charakteristischen Durchmesser (siehe Kapitel 7.9.2) und damit die Spektraldichten $N_e(f_x, k)$ eine entsprechende Grenzfrequenz. Da diese Grenzfrequenz normalerweise außerhalb der Cut-off-Frequenzen der optischen Abbildung liegt (siehe Kapitel 3.2.2.2), und weil dort $N_e(f_x, k)$ für die Berechnungen und Messungen dieser Arbeit uninteressant ist, wird zur mathematischen Beschreibung von $N_e(f_x, k)$ näherungsweise eine positive reelle Grenzfrequenz f_g definiert, die mit der höchsten, durch die endlichen Datensätze (siehe Kapitel 7.6) erfassbaren, Frequenz zusammenfällt. Für $|f_x| < f_g$ sind die Eigenschaften von $N_e(f_x, k)$ unabhängig von f_g . Außerdem ist

$$N_e(f_x, k) = 0 \quad | |f_x| > f_g \quad . \quad (7.19)$$

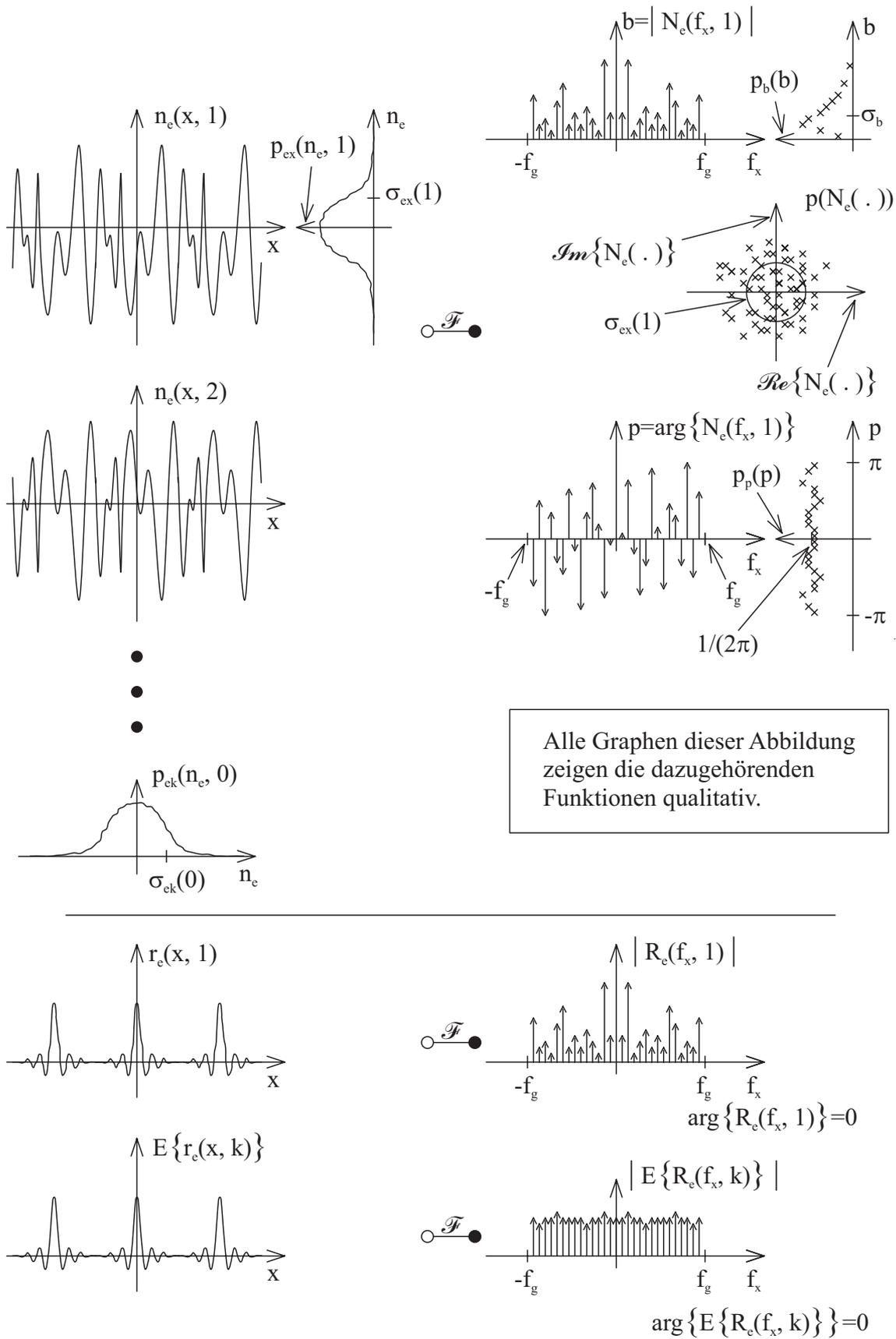


Abb. 7.4: Eigenschaften des Rauschprozesses bei den Datensätzen der Arbeit

Da für diese Arbeit das in Kapitel 7.6 dargestellte gilt, sind die Signale $n_e(x, k)$ über x periodisch, und die Spektraldichten $N_e(f_x, k)$ bestehen aus Dirac-Impulsen.

So ist aus dem mathematisch idealen Zufallsprozess $n_m(x, k)$ der letztlich auf die Berechnungen dieser Arbeit zugeschnittene Prozess $n_e(x, k)$ mit ein wenig anderen Eigenschaften geworden. Dabei kann die Definition des Zufallsprozesses auch auf Prozesse mit endlicher Grenzfrequenz f_g ausgedehnt werden. Man spricht von „in einem erweiterten Sinn stationären Zufallsprozessen“.

Für eine weitergehende Analyse des Zufallsprozesses $n_e(x, k)$ wird die Autokorrelationsfunktion

$$r_e(x, k) = \int_{-\infty}^{+\infty} n_e(\xi + x, k) n_e(\xi, k) d\xi \quad (7.20a)$$

mit der dazugehörigen Spektraldichte

$$R_e(f_x, k) = N_e(f_x, k) N_e^*(f_x, k) \quad (7.20b)$$

herangezogen, wobei $R_e(f_x, k)$ offensichtlich nur reelle Werte annimmt.

Die Abb. 7.4 zeigt (7.20) für $k = 1$. Ferner zeigt die Abb. die Graphen für die Erwartungswerte $E\{r_e(x, k)\}$ und $E\{R_e(f_x, k)\}$, wobei hier zur Bildung der Erwartungswerte eine Summe über k (siehe (7.17)) gebildet wurde.

Falls

$$f_g \rightarrow \infty \quad (7.21)$$

geht und

$$E\{R_e(f_x, k)\} = c \quad |f_x| < f_g \quad (7.22)$$

ist, wobei c ein positiver reeller Wert ist, erfüllen die Signale an den Ausgängen des Zufallsprozesses $n_e(x, k)$ definitionsgemäß die Bedingungen für „weißes Rauschen“.

7.7.3 Diskussion

Bei den meisten experimentellen Aufbauten zeigt sich, dass (7.21) nur näherungsweise erfüllt sein muss, um gute Ergebnisse zu erhalten. Ein zu hoher Wert f_g kann durchaus zu störenden Effekten führen. So gibt es häufig, wie auch in dieser Arbeit (siehe Kapitel 3.2.2.2), einen Wertebereich für f_g , innerhalb dessen sich in diesem Sinn optimale Ergebnisse erzielen lassen.

Die in der Abb. 7.4 dargestellten Graphen von (7.20) mit ihren Erwartungswerten veranschaulichen die Ähnlichkeit von weißem Rauschen und einem punktförmigen Signal im Ortsbereich.

Wenn zur Messung von Übertragungseigenschaften statt einer punktförmigen Anregung, mit der die Übertragungseigenschaften bekanntermaßen direkt und vollständig ermittelt werden können, weißes Rauschen als Anregung verwendet wird, dann muss aufgrund der von der punktförmigen Anregung abweichenden Eigenschaften des weißen Rauschens Folgendes berücksichtigt werden:

- Um Messergebnisse ohne die vom Rauschen herkommenden statistischen Eigenschaften zu erhalten, muss eine Mittelung entsprechend der Bildung eines Erwartungswerts durchgeführt werden. Eine theoretisch problemlose Mittelung ist die über k . Bei vielen Anwendungen, wie die in dieser Arbeit (siehe z. B. (3.31c) und Kapitel 7.4), wird eine an die Anwendung angepasste Mittelung über dem Ort (hier x) oder über der Frequenz (f_x) durchgeführt werden.
- Da die Phase der Rauschanregung im Frequenzbereich normalerweise unbekannt ist, kann in diesen Fällen auch die Phase der Übertragungsfunktion des zu vermessenden Übertragungsglieds nicht gemessen werden. In manchen dieser Fälle hilft Vorwissen über die Eigenschaften des Übertragungsglieds weiter, z. B. dann, wenn die Phase der Übertragungsfunktion des zu vermessenden Übertragungsglieds ungefähr gleich Null (Minimum-Phasen-System) ist.

7.8 Der Algorithmus zum Randausgleich

7.8.1 Das Randproblem

Wenn das in der Abb. 3.7 gezeigte Bild des zweidimensionalen Rauschmesspräparats direkt mit einer dreidimensionalen FFT transformiert wird, dann ergeben sich der in der Abb. 7.5 dargestellte Betrag und die in der Abb. 7.6 dargestellte Phase der Spektraldichte. Die Analyse der gezeigten Spektraldichte ergibt linienförmige Anteile auf Geraden in der Nähe der f_z -Koordinatenachse und in f_x - bzw. in f_y -Richtung. Entlang dieser Geraden verändern sich die Phasen dieser Anteile nur langsam. Es stellt sich die Frage, woher diese linienförmigen Anteile in der Spektraldichte kommen.

- Da die optische Abbildung Anteile mit Ortsfrequenzen, die über den Cut-off-Frequenzen (siehe Abb. 2.24) liegen, nicht mehr überträgt, müssen die linienförmigen Anteile nach der optischen Abbildung entstanden sein.

- Weil beim Betrieb des CCD-Sensors in seinem Arbeitsbereich solche linienförmige Anteile im Frequenzbereich nicht zu erwarten sind (siehe Kapitel 2.2.3.1) und der Sensor innerhalb seines Arbeitsbereichs betrieben wird, scheidet der Sensor als Ursache ebenfalls praktisch aus.
- Die Elektronik überträgt nur seriell bzw. im Bild in x-Richtung. Deshalb drücken sich die Eigenschaften und Fehler der Elektronik, falls sie überhaupt eine Rolle spielen, nur in Anteilen der Spektraldichte in f_x -Richtung aus. Da die linienförmigen Anteile sowohl in f_x -, als auch in f_y -Richtung auftreten, scheidet die Elektronik als Ursache ebenfalls aus.
- Als Ursache bleiben z. B. noch Artefakte, die außerhalb des experimentellen Aufbaus entstehen. Es bleibt zu klären, wo und wie sie entstehen.

Das Bild des zweidimensionalen Rauschmesspräparats mit seinem Spektrum wird im Rechner durch endliche Datensätze erfasst. Dies führt (siehe Kapitel 7.6) in dieser Arbeit dazu, dass sich das Bild des Rauschmesspräparats bei der Bearbeitung im Rechner periodisch wiederholt. Wenn die Bilder dabei an den Rändern aufeinander treffen, ergeben sich senkrecht zu den Rändern Sprünge, die proportional zur Signaldifferenz an den beiden, aufeinander treffenden Rändern sind. Sie zeigen sich im Frequenzbereich als Faltung.

Dies führt zu der Annahme, dass die in Abb. 7.5 und Abb. 7.6 auftretenden Linien Artefakte sind, die durch Signalsprünge an aneinander stoßenden, gegenüberliegenden Bildrändern hervorgerufen werden.

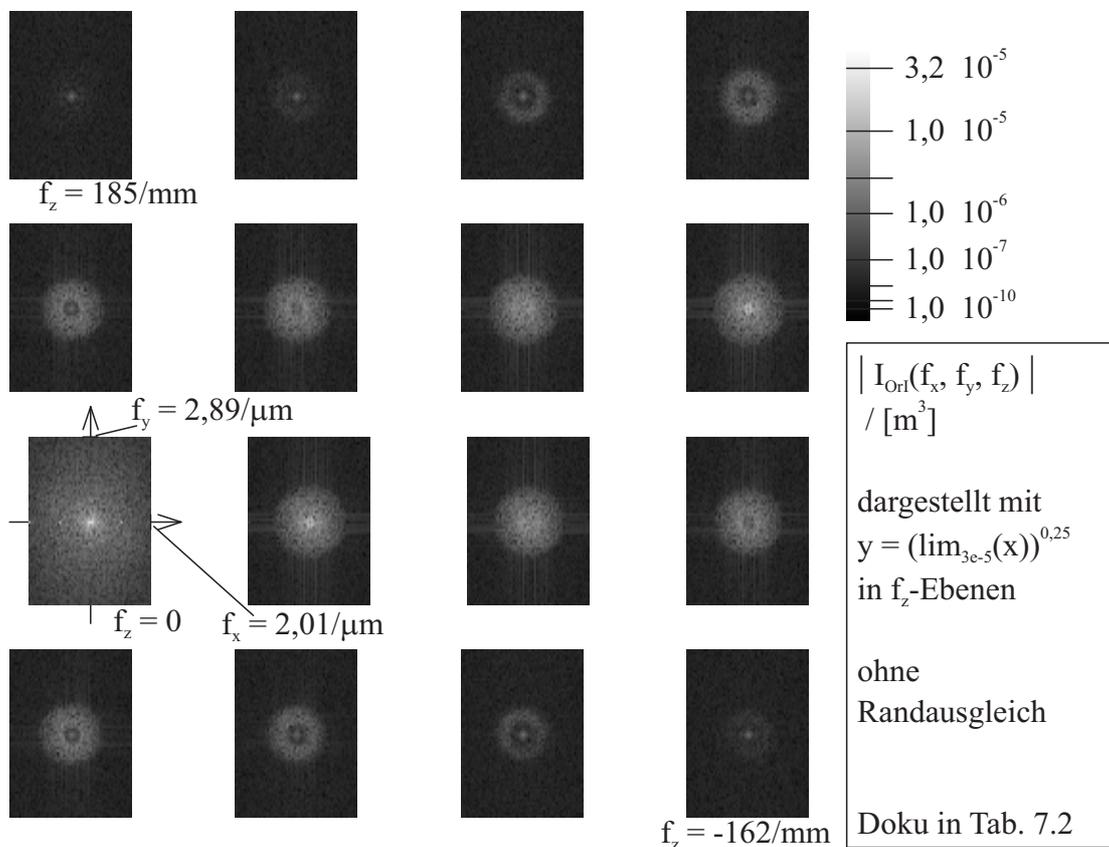


Abb. 7.5: Der Betrag der Spektraldichte, ohne Randausgleich

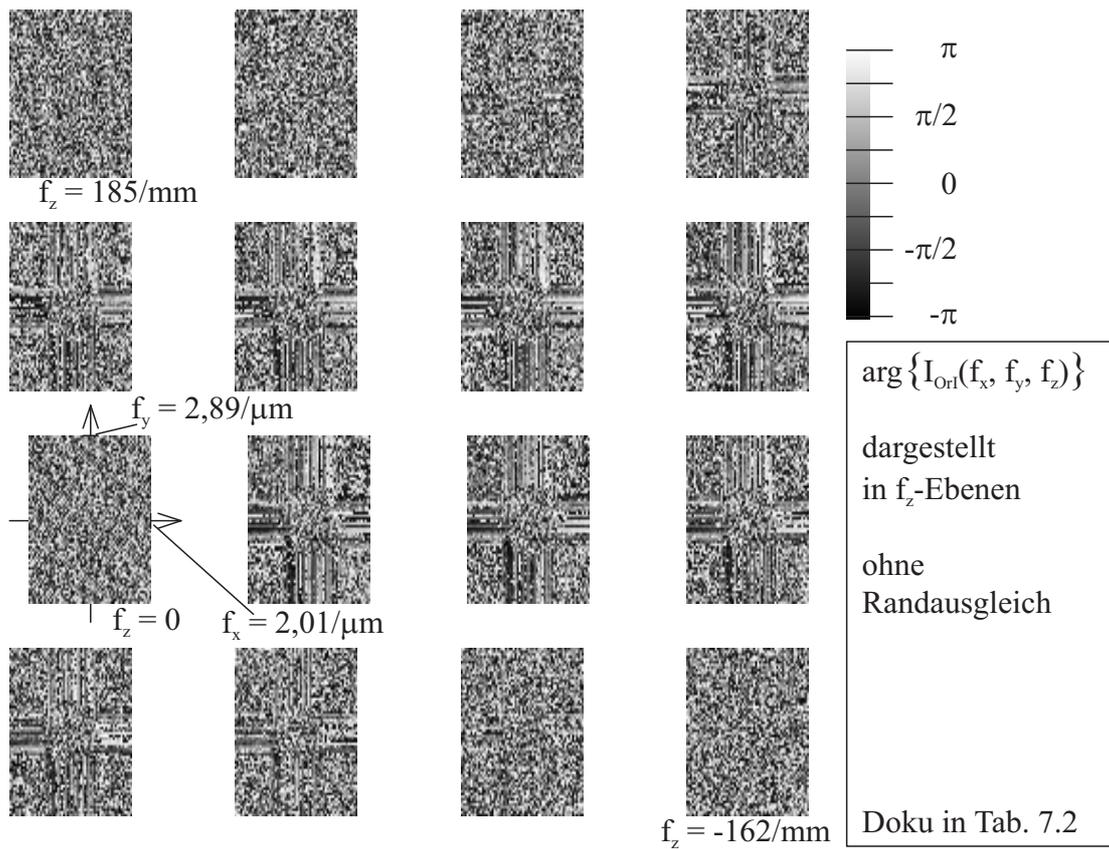


Abb. 7.6: Die Phase der Spektraldichte, ohne Randausgleich

7.8.2 Die Eigenschaften des in dieser Arbeit verwendeten Algorithmus

Zur Vermeidung von Fehlern, die an Rändern durch die periodische Wiederholung (siehe Kapitel 7.6; engl. „wraparound error“) [7.16] auftreten, werden in der Literatur verschiedene Ansätze vorgeschlagen [7.17] [7.18]. Sie lösen das Randproblem im Wesentlichen durch die Multiplikation des endlichen Datensatzes mit einer gaußförmigen Funktion. Der Nachteil dieser Ansätze liegt darin, dass ein relativ großer Teil des endlichen Datensatzes zu einem wenig nützlichen Randbereich wird.

Um diesen Nachteil zu vermeiden, ist zunächst eine Analyse des Randproblems für die in dieser Arbeit vorkommenden endlichen Datensätze im Ortsbereich durchgeführt worden:

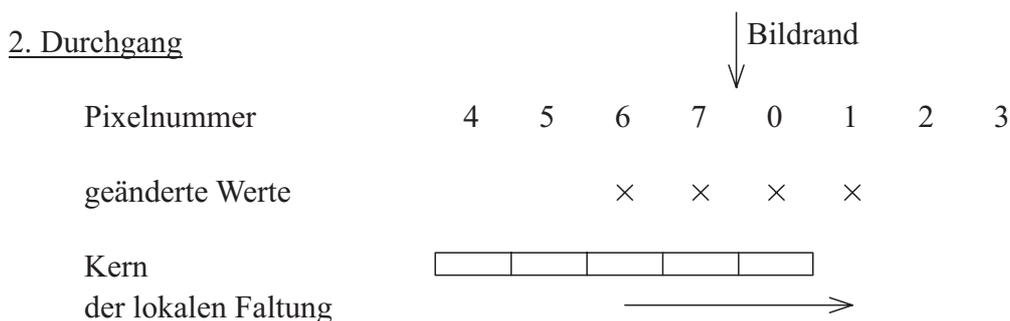
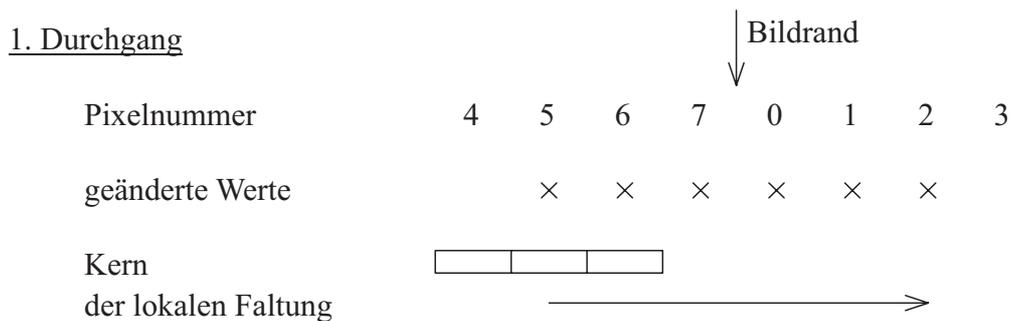
1. Bei der periodischen Fortsetzung treten vor allem an den x- und y-Rändern des fokussierten Rauschmesspräparats Sprünge auf. Sie sind einerseits das Ergebnis einer ungleichmäßigen Ausleuchtung des optischen Bilds, vor allem aber das Ergebnis des Bildinhalts (siehe Abb. 3.7), durch den bei der periodischen Fortsetzung hohe und niedrige Werte an den Rändern aufeinander treffen.
2. Diese Sprünge verlaufen immer senkrecht zu den Randflächen der dreidimensionalen Bilder.

3. Der Betrag der Spektraldichte eines Sprungs ist bekanntermaßen [7.1] im Wesentlichen umgekehrt proportional zum Betrag der Frequenz.

Basierend auf dieser Analyse ist ein faltungsähnlicher Algorithmus entwickelt worden, der gegenüberliegende Ränder aneinander angleicht, um die gerade angesprochenen Sprünge bei der periodischen Fortsetzung zu vermeiden. Der Algorithmus arbeitet nur am Rand (1), da das Randproblem nur dort auftritt. Er verwendet einen eindimensionalen Kern, da die Sprünge immer senkrecht (2) zu den Randflächen auftreten. Schließlich dämpft der Algorithmus am Rand gerade auch die niederfrequenten Anteile (3), wobei er mit steigendem Abstand zum Rand immer höherfrequente Anteile im Bild belässt.

7.8.3 Der Algorithmus

Die in der Abb. 7.7 gezeigte Skizze soll den in dieser Arbeit verwendeten Algorithmus zum Randausgleich am Beispiel eines 8 Pixel großen, eindimensionalen Bildes veranschaulichen.



usw.

Abb. 7.7: Skizze zur Veranschaulichung des Algorithmuses

Der Algorithmus arbeitet im Allgemeinen in mehreren Durchgängen. Im ersten Durchgang wird mit einem drei Elemente großen und mit jeweils $1/3$, also dem Kehrwert der Kerngröße, besetzten Kern eine lokale eindimensionale Faltung über den Bildrand hinweg durchgeführt. Im Beispiel der Skizze werden alle Pixelwerte, die höchstens drei Pixel Abstand vom Bildrand besitzen, verändert. Dieser Abstand vom Bildrand kann bei dem in dieser Arbeit verwendeten Algorithmus eingestellt werden.

Im zweiten Durchgang wird die Kerngröße um zwei, von drei auf fünf Elemente erhöht und eine weitere lokale Faltung durchgeführt, bei der nur noch diejenigen Pixelwerte verändert werden, die höchstens zwei Pixel Abstand vom Bildrand, also ein Pixel weniger, wie beim ersten Durchgang, besitzen.

Der Algorithmus führt so viele Durchgänge aus, bis der Abstand vom Bildrand, innerhalb dessen die Pixelwerte bei der lokalen Faltung verändert werden, gleich Null ist.

Nachdem der Randausgleich z. B. in x-Richtung durchgeführt worden ist, wird er auch an den Rändern der beiden anderen Richtungen ausgeführt.

7.8.4 Zusammenfassende Diskussion

Wenn die Sprünge am Rand des Rauschmesspräparatbilds (siehe Abb. 3.7) mit dem gerade beschriebenen Algorithmus geglättet werden, dann ergibt sich die in der Abb. 3.8 und in der Abb. 3.9 gezeigte artefaktfreie Spektraldichte. Dies zeigt, dass der Algorithmus seine Aufgabe erfüllt.

Es bleibt zu erwähnen, dass der Randausgleich am $512 \times 152 \times 16$ Pixel (siehe Tab. 7.2) großen Rauschmesspräparatbild mit einem Randabstand von jeweils zwei mal 20, 20 und 3 Pixeln durchgeführt worden ist. Damit liegt der für den Randausgleich benötigte Bildteil im Bereich von etwa 10%. Dies ist im Vergleich zu den in der Literatur (siehe Kapitel 7.8.2) vorgeschlagenen Algorithmen, bei denen durchaus 50% des Bilds zur Lösung des Randausgleichs verwendet werden, günstig.

7.9 Dokumentation der Experimente

7.9.1 Messung der Transmission des Interferenzfilters B

Die Transmission des Interferenzfilters B (siehe Abb. 2.4) ist mit einem Zeiss-Diodenzeilen-spektrometer MCS 210 unter Verwendung der Zeiss Halogenbeleuchtungseinrichtung CLH111 vermessen worden. Die Abb. 7.8 zeigt das Ergebnis dieser Messung.

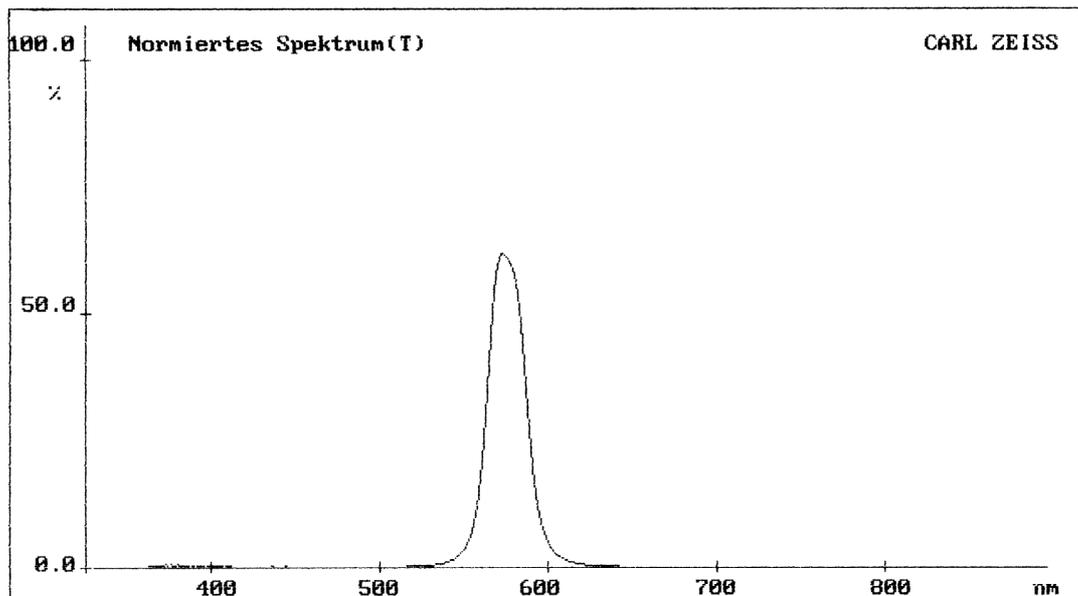


Abb. 7.8: Die Transmission des Interferenzfilters B über der Wellenlänge λ

Damit liegt die Wellenlänge $\bar{\lambda}$ der im experimentellen Teil dieser Arbeit verwendeten quasimonochromatischen Wellen bei 575nm (siehe auch Tab. 2.1).

7.9.2 Die Partikelgröße in den Rauschmesspräparaten

Um eine Aussage über den Betrag der Spektraldichte (siehe Kapitel 3.2.2.2) des in dieser Arbeit verwendeten zweidimensional-absorbierenden Rauschmesspräparats Nr. 93 machen zu können, ist die Größe der Partikel in der Rußschicht des Rauschmesspräparats mit einem Scanning Electron Microscope (SEM) 1450VP der Firma LEO vermessen worden.

Zunächst wurde versucht, die Partikel des Rauschmesspräparats Nr. 93 zu vermessen. Dabei stellte sich heraus, dass aufgrund des elektrisch nicht leitenden Objektträgers aus Glas die Auflösung des SEMs nur etwa genauso groß ist wie beim Lichtmikroskop. Um dennoch eine höhere Auflösung zu erzielen, ist der auf die gleiche Weise wie beim Präparat Nr. 93 hergestellte Ruß auf einen Aluminium-Träger, wie er in der Elektronenmikroskopie üblich ist,

aufgetragen worden. Dann wurde eine Stelle, an der der Aluminium-Träger vollständig von Rußpartikeln bedeckt war, mit dem SEM aufgenommen. Es entstand das in der Abb. 7.9 gezeigte Bild.

Bei der Auswertung der SEM-Aufnahme zur Bestimmung der Eigenschaften des Rauschmesspräparats Nr. 93 müssen die folgenden Punkte berücksichtigt werden:

- Da das Elektronenmikroskop bei einer ganz anderen Wellenlänge arbeitet, als das Lichtmikroskop, können sich die Rußpartikel in der SEM-Aufnahme ganz anders zeigen, als im Lichtmikroskop. Die Rußpartikel könnten in der SEM-Aufnahme z. B. gläsern aussehen.
- Das Bild des zweidimensionalen Rauchmesspräparats (siehe Abb. 3.7) legt den Schluss nahe, dass es im Wesentlichen nur eine Schicht mit Rußpartikeln besitzt, wobei zwischen den Partikeln Lücken auftreten. Im Vergleich dazu war die Rußschicht bei dem Präparat, das mit dem SEM untersucht worden ist, dick (siehe Abb. 7.9). Dies ist ein wichtiger Unterschied zwischen den beiden Präparaten.
- Durch die Ermittlung der Partikelgröße mit dem SEM ist eine Abschätzung darüber möglich, bis zu welchen Ortsfrequenzen f_x , f_y die Spektraldichte (siehe Kapitel 3.2.2.2) des zweidimensionalen Rauschmesspräparats noch einen deutlichen Betrag besitzt. Um dies zu charakterisieren wird die Grenzfrequenz f_g angegeben.

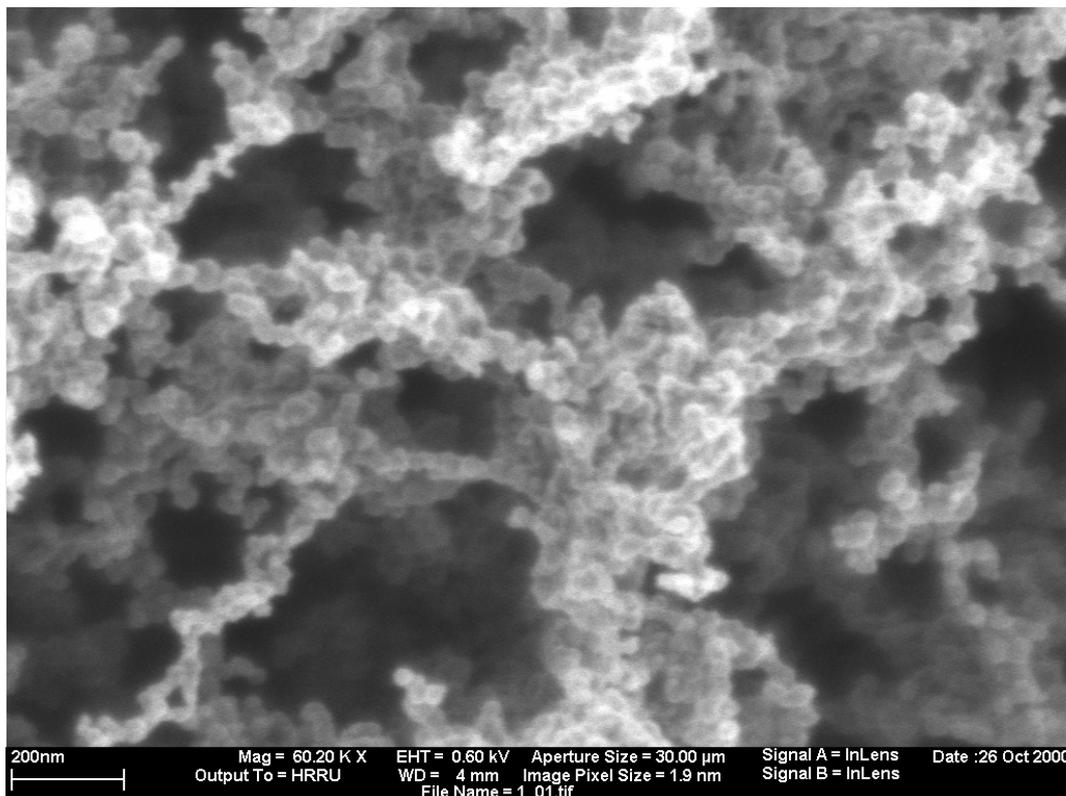


Abb. 7.9: SEM-Aufnahme der Rußpartikel

Durch die SEM-Aufnahme (siehe Abb. 7.9) kann ein Durchmesser der Rußpartikel von etwa 30nm ermittelt werden. Dabei sind die Rußpartikel in Strukturen mit charakteristischen

Abmessungen von ein paar 100nm miteinander verbunden. Im Rahmen einer einfachen Abschätzung wird der doppelte Partikeldurchmesser in etwa gleichgesetzt mit der Periode der Grenzfrequenz f_g . Damit liegt bei dem mit Ruß hergestellten Rauschmesspräparat f_g bei etwa $17\mu\text{m}^{-1}$.

Genauso, wie für die Rußpartikel, ist auch die Partikelgröße im zweidimensionalen Phasen-Rauschmesspräparat Nr. 10 (siehe Abb. 3.17) vermessen worden. Dabei musste wieder an Stelle des elektrisch nicht leitenden Objektträgerglases der für das SEM besser geeignete Aluminium-Träger verwendet werden. Die Abb. 7.10 zeigt das Messergebnis. Die Aufnahme zeigt rechteckige Elemente, MgO-Kristalle, mit Seitenlängen zwischen etwa 50nm und 200nm. Sie treten in Strukturen auf, die charakteristische Größen von einigen 100nm besitzen. Damit liegt die Grenzfrequenz f_g beim Rauschmesspräparat Nr. 10 bei etwa $5\mu\text{m}^{-1}$.

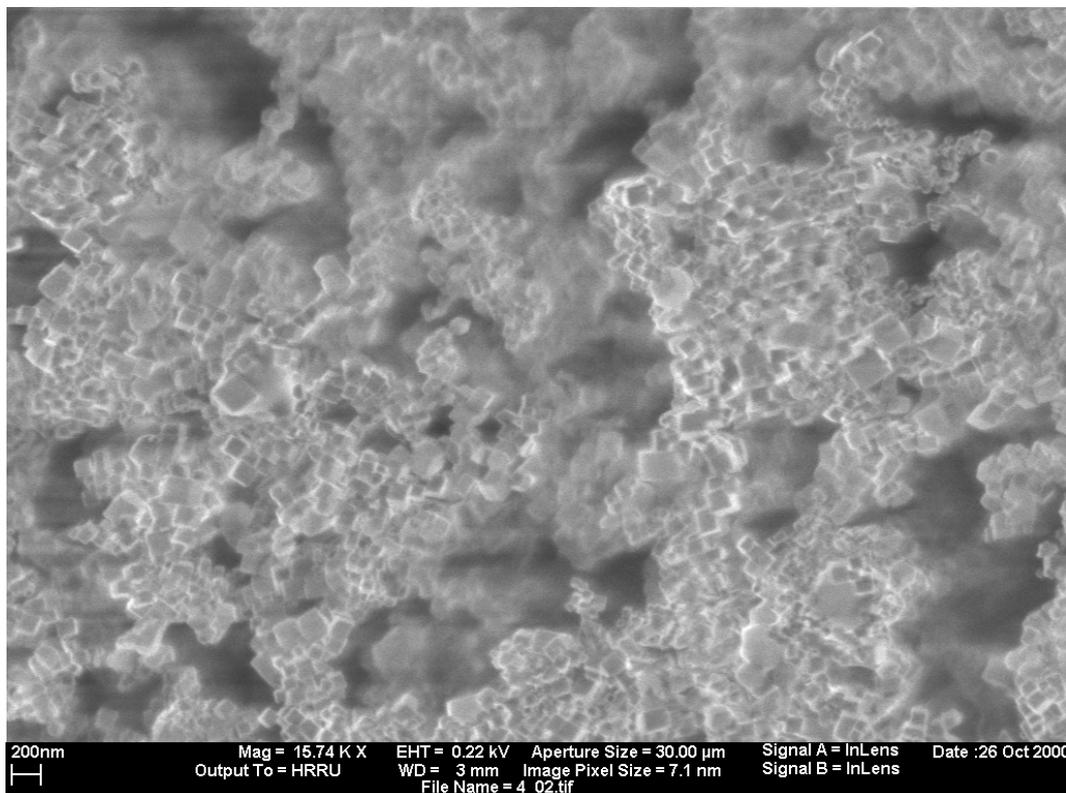


Abb. 7.10: SEM-Aufnahme der MgO-Partikel

7.9.3 Durchmesser der Austrittspupillen von Mikroskopobjektiven

Die Tab. 7.1 zeigt die Durchmesser der Austrittspupillen von verschiedenen, in dieser Arbeit verwendeten Mikroskopobjektiven. Die ersten vier Objektive werden besonders als Mikroskopobjektive zur Nachvergrößerung L_4 , D_4 und die letzten drei meist als Mikroskopobjektive L_3 , D_3 eingesetzt (siehe Abb. 2.4).

Objektiv	Ident-Nummer	Durchmesser ca.
Plan 2,5 / 0,08	46 01 10 - 9906	10mm
3,2 / 0,07	46 01 00 -9904	7mm
Plan 6,3 / 0,16	51 61 680	8mm
Planapo 10 / 0,32	46 04 40 - 9902	10mm
Plan 25 / 0,45	41 17 121	6mm
40 / 0,64	46 07 00 - 9903	5mm
Planapo 40 / 1,0 Öl mit Iris	51 76 071	8mm

Tab. 7.1: Die Durchmesser der Austrittspupillen

7.9.4 Die Aufbauten und Einstellungen bei den Aufnahmen

Die Tab. 7.2 bis Tab. 7.8 geben wichtige Teile der Dokumentation des experimentellen Aufbaus zu den verschiedenen Aufnahmen wieder. Die darin gewählten Bezeichnungen für die Elemente des optischen Aufbaus entsprechen den Bezeichnungen, die für die Abb. 2.4 gewählt wurden.

Filename zur Dokumentation	rash.nroff
Mikroskop	Universal-Forschungsmikroskop; Nr. 49 17 48
Beleuchtungseinrichtung	
Strahlungsquelle S	100 W Halogenlampe bei 10,3 V Betriebsspannung
Leuchtfeldblende D_1	Der Öffnungsdurchmesser d_{D_1} ist so eingestellt worden, dass der beleuchtete Objektteil nur geringfügig größer, als der aufgenommene ist.
Interferenzfilter B	Interferenzgrünfilter (siehe Kapitel 7.9.1) von Carl Zeiss; für $\bar{\lambda} = 575\text{nm}$
Aperturblende D_2	Öffnungsdurchmesser $d_{D_2} \approx 22\text{mm}$; ohne Zentralblende
Linsensystem L_2	$A_{NL_2} = 0,9$
Kondensortyp	Luftkondensator
Objekt O	zweidimensional-absorbierendes Rauschmesspräparat, hergestellt mit Ruß aus dem oberen Teil einer Streichholzflamme
Präparat Nr.	93
aufgenommene Position	15,4 / 100,6; Markierung rechts

rechergesteuerte Fokussiereinrichtung	Abtastabstand in z-Richtung, $\Delta_z = 2,7\mu\text{m}$; Bei der Aufnahme der Ebene $k = 0$ ist das Objekt am nächsten am Mikroskopobjektiv.
Mikroskopobjektiv	Plan 25 / 0.45; Nr. 41 17 121
Objektivtyp	Luftobjektiv
Linsensystem L_3	(objektseitige) Numerische Apertur $A_{NL3} = 0,45$; Vergrößerung incl. Optovar $M_{L3} = -50$
Blende D_3	Öffnungsdurchmesser $d_{D3} \approx 4,5\text{mm}$; keine Zentralblende
Teilerspiegelschieber	in der Position ohne Farbe, die ganze ankommende Strahlung gelangt zum CCD-Sensor
Mikroskopobjektiv zur Nachvergrößerung	Plan 2,5 / 0.08; Nr. 46 01 10 - 9906
Linsensystem L_4	nominale, objektseitige Numerische Apertur $A_{NL4} = 0,08$; Vergrößerung $M_{L4} = -2,5$
Blende D_4	Öffnungsdurchmesser $d_{D4} \approx 9\text{mm}$
CCD-Kamera	
Sensor	ICX024BL-3 von Sony (siehe Kapitel 2.2.3.1)
Hersteller	Sony
Model	XC-77CE
Gain	fix
Aussteuerung	gut
Laborraum	abgedunkelt
Framegrabber	
Hersteller	Matrox
Model	VIP1024
Vergrößerung M_{ADx}	0,72
Rechner	SUN
Aufnahme	
Filename	rash.s
Größe	$512 \times 512 \times 16$ Pixel
Format der Pixelwerte im File	short
Rauschreduktion	Summe über 16 Bilder
Leeraufnahme	ja
Filename	rash_1.s
Aufnahmebedingungen	wie bei rash.s, jedoch Teilerspiegelschieber auf schwarz, also keine Strahlung zur Kamera und keine zum Okular

Tab. 7.2: Absorbierendes Rauschmesspräparat; keine Zentralblenden

Filename zur Dokumentation	rash_zk.nroff
Mikroskop	Universal-Forschungsmikroskop; Nr. 49 17 48
Beleuchtungseinrichtung	
Strahlungsquelle S	100 W Halogenlampe bei 12 V Betriebsspannung
Leuchtfeldblende D_1	Der Öffnungsdurchmesser d_{D1} ist so eingestellt worden, dass der beleuchtete Objektteil nur geringfügig größer, als der aufgenommene ist.
Interferenzfilter B	Interferenzgrünfilter (siehe Kapitel 7.9.1) von Carl Zeiss; für $\bar{\lambda} = 575\text{nm}$
Aperturblende D_2	Öffnungsdurchmesser $d_{D2} \approx 22\text{mm}$; mit Zentralblende Nr. 6, einer 6mm großen Zentralblende
Linsensystem L_2	$A_{NL2} = 0,9$
Kondensortyp	Luftkondensator
Objekt O	zweidimensional-absorbierendes Rauschmesspräparat, hergestellt mit Ruß aus dem oberen Teil einer Streichholzflamme
Präparat Nr.	93
aufgenommene Position	15,4 / 100,6; Markierung rechts
rechnergesteuerte Fokussiereinrichtung	Abtastabstand in z-Richtung, $\Delta_z = 2,7\mu\text{m}$; Bei der Aufnahme der Ebene $k = 0$ ist das Objekt am nächsten am Mikroskopobjektiv.
Mikroskopobjektiv	Plan 25 / 0.45; Nr. 41 17 121
Objektivtyp	Luftobjektiv
Linsensystem L_3	(objektseitige) Numerische Apertur $A_{NL3} = 0,45$; Vergrößerung incl. Optovar $M_{L3} = -50$
Blende D_3	Öffnungsdurchmesser $d_{D3} \approx 4,5\text{mm}$; keine Zentralblende
Teilerspiegelschieber	in der Position ohne Farbe, die ganze ankommende Strahlung gelangt zum CCD-Sensor
Mikroskopobjektiv zur Nachvergrößerung	Plan 2,5 / 0.08; Nr. 46 01 10 - 9906
Linsensystem L_4	nominale, objektseitige Numerische Apertur $A_{NL4} = 0,08$; Vergrößerung $M_{L4} = -2,5$
Blende D_4	Öffnungsdurchmesser $d_{D4} \approx 9\text{mm}$
CCD-Kamera	
Sensor	ICX024BL-3 von Sony (siehe Kapitel 2.2.3.1)
Hersteller	Sony
Model	XC-77CE
Gain	fix
Aussteuerung	gut

Laborraum	abgedunkelt
Framegrabber	
Hersteller	Matrox
Model	VIP1024
Vergrößerung M_{ADx}	0,72
Rechner	SUN
Aufnahme	
Filename	rash_zk.s
Größe	$512 \times 512 \times 16$ Pixel
Format der Pixelwerte im File	short
Rauschreduktion	Summe über 16 Bilder
Leeraufnahme	ja
Filename	rash_zk_1.s
Aufnahmebedingungen	wie bei rash_zk.s, jedoch Teilerspiegelschieber auf schwarz, also keine Strahlung zur Kamera und keine zum Okular

Tab. 7.3: Absorbierendes Rauschmesspräparat; Zentralblende im Kondensator

Filename zur Dokumentation	rash_zo.nroff
Mikroskop	Universal-Forschungsmikroskop; Nr. 49 17 48
Beleuchtungseinrichtung	
Strahlungsquelle S	100 W Halogenlampe bei 12 V Betriebsspannung
Leuchtfeldblende D_1	Der Öffnungsdurchmesser d_{D1} ist so eingestellt worden, dass der beleuchtete Objektteil nur geringfügig größer, als der aufgenommene ist.
Interferenzfilter B	Interferenzgrünfilter (siehe Kapitel 7.9.1) von Carl Zeiss; für $\lambda = 575\text{nm}$
Aperturblende D_2	Öffnungsdurchmesser $d_{D2} \approx 22\text{mm}$; ohne Zentralblende
Linsensystem L_2	$A_{NL2} = 0,9$
Kondensortyp	Luftkondensator
Objekt O	zweidimensional-absorbierendes Rauschmesspräparat, hergestellt mit Ruß aus dem oberen Teil einer Streichholzflamme
Präparat Nr.	93
aufgenommene Position	15,4 / 100,6; Markierung rechts

rechnergesteuerte Fokussiereinrichtung	Abtastabstand in z-Richtung, $\Delta_z = 2,7\mu\text{m}$; Bei der Aufnahme der Ebene $k = 0$ ist das Objekt am nächsten am Mikroskopobjektiv.
Mikroskopobjektiv	Plan 25 / 0.45; Nr. 41 17 121
Objektivtyp	Luftobjektiv
Linsensystem L_3	(objektseitige) Numerische Apertur $A_{NL3} = 0,45$; Vergrößerung incl. Optovar $M_{L3} = -50$
Blende D_3	Öffnungsdurchmesser $d_{D3} \approx 4,5\text{mm}$; mit einer 3mm großen Zentralblende
Teilerspiegelschieber	in der Position ohne Farbe, die ganze ankommende Strahlung gelangt zum CCD-Sensor
Mikroskopobjektiv zur Nachvergrößerung	Plan 2,5 / 0.08; Nr. 46 01 10 - 9906
Linsensystem L_4	nominale, objektseitige Numerische Apertur $A_{NL4} = 0,08$; Vergrößerung $M_{L4} = -2,5$
Blende D_4	Öffnungsdurchmesser $d_{D4} \approx 9\text{mm}$
CCD-Kamera	
Sensor	ICX024BL-3 von Sony (siehe Kapitel 2.2.3.1)
Hersteller	Sony
Model	XC-77CE
Gain	fix
Aussteuerung	gut
Laborraum	abgedunkelt
Framegrabber	
Hersteller	Matrox
Model	VIP1024
Vergrößerung M_{ADx}	0,72
Rechner	SUN
Aufnahme	
Filename	rash_zo.s
Größe	$512 \times 512 \times 16$ Pixel
Pixelwertformat im File	short
Rauschreduktion	Summe über 16 Bilder
Leeraufnahme	ja
Filename	rash_zo_1.s
Aufnahmebedingungen	wie bei rash_zo.s, jedoch Teilerspiegelschieber auf schwarz, also keine Strahlung zur Kamera und keine zum Okular

Tab. 7.4: Absorbierendes Rauschmesspräparat; Zentralblende im Objektiv

Filename zur Dokumentation	pinh.nroff
Mikroskop	Universal-Forschungsmikroskop; Nr. 49 17 48
Beleuchtungseinrichtung	
Strahlungsquelle S	100 W Halogenlampe bei 12 V Betriebsspannung
Leuchtfeldblende D_1	Der Öffnungsdurchmesser d_{D1} ist so eingestellt worden, dass der beleuchtete Objektteil nur geringfügig größer, als der aufgenommene ist.
Interferenzfilter B	Interferenzgrünfilter (siehe Kapitel 7.9.1) von Carl Zeiss; für $\bar{\lambda} = 575\text{nm}$
Aperturblende D_2	Öffnungsdurchmesser $d_{D2} \approx 22\text{mm}$; ohne Zentralblende
Linsensystem L_2	$A_{NL2} = 0,9$
Kondensortyp	Luftkondensor
Objekt O	Pinhole im Gittermesspräparat
Präparat Nr.	69
aufgenommene Position	12,1 / 126,9; Beschriftung in Richtung Mikroskopbenutzer
rechnergesteuerte Fokussiereinrichtung	Abtastabstand in z-Richtung, $\Delta_z = 2,7\mu\text{m}$; Bei der Aufnahme der Ebene $k = 0$ ist das Objekt am nächsten am Mikroskopobjektiv.
Mikroskopobjektiv	Plan 25 / 0.45; Nr. 41 17 121
Objektivtyp	Luftobjektiv
Linsensystem L_3	(objektseitige) Numerische Apertur $A_{NL3} = 0,45$; Vergrößerung incl. Optovar $M_{L3} = -50$
Blende D_3	Öffnungsdurchmesser $d_{D3} \approx 4,5\text{mm}$; keine Zentralblende
Teilerspiegelschieber	in der Position ohne Farbe, die ganze ankommende Strahlung gelangt zum CCD-Sensor
Mikroskopobjektiv zur Nachvergrößerung	Plan 2,5 / 0.08; Nr. 46 01 10 - 9906
Linsensystem L_4	nominale, objektseitige Numerische Apertur $A_{NL4} = 0,08$; Vergrößerung $M_{L4} = -2,5$
Blende D_4	Öffnungsdurchmesser $d_{D4} \approx 9\text{mm}$
CCD-Kamera	
Sensor	ICX024BL-3 von Sony (siehe Kapitel 2.2.3.1)
Hersteller	Sony
Model	XC-77 _{CE}
Gain	fix
Aussteuerung	gut
Laborraum	abgedunkelt

Framegrabber	
Hersteller	Matrox
Model	VIP1024
Vergrößerung M_{ADx}	0,72
Rechner	SUN
Aufnahme	
Filename	pinh.s
Größe	$128 \times 128 \times 16$ Pixel
Format der Pixelwerte im File	short
Rauschreduktion	Summe über 16 Bilder
Leeraufnahme	ja
Filename	pinh_1.s
Aufnahmebedingungen	wie bei pinh.s, jedoch Teilerspiegelschieber auf schwarz, also keine Strahlung zur Kamera und keine zum Okular

Tab. 7.5: Pinholemesspräparat; keine Zentralblenden

Filename zur Dokumentation	pinh_zk.nroff
Mikroskop	Universal-Forschungsmikroskop; Nr. 49 17 48
Beleuchtungseinrichtung	
Strahlungsquelle S	100 W Halogenlampe bei 12 V Betriebsspannung
Leuchtfeldblende D_1	Der Öffnungsdurchmesser d_{D1} ist so eingestellt worden, dass der beleuchtete Objektteil nur geringfügig größer, als der aufgenommene ist.
Interferenzfilter B	Interferenzgrünfilter (siehe Kapitel 7.9.1) von Carl Zeiss; für $\lambda = 575\text{nm}$
Aperturblende D_2	Öffnungsdurchmesser $d_{D2} \approx 22\text{mm}$; mit Zentralblende Nr. 6, einer 6mm großen Zentralblende
Linsensystem L_2	$A_{NL2} = 0,9$
Kondensortyp	Luftkondensor
Objekt O	Pinhole im Gittermesspräparat
Präparat Nr.	69
aufgenommene Position	12,1 / 126,9; Beschriftung in Richtung Mikroskopbenutzer
rechnergesteuerte Fokussiereinrichtung	Abtastabstand in z-Richtung, $\Delta_z = 2,7\mu\text{m}$; Bei der Aufnahme der Ebene $k = 0$ ist das Objekt am nächsten am Mikroskopobjektiv.
Mikroskopobjektiv	Plan 25 / 0.45; Nr. 41 17 121

Objektivtyp	Luftobjektiv
Linsensystem L_3	(objektseitige) Numerische Apertur $A_{NL3} = 0,45$; Vergrößerung incl. Optovar $M_{L3} = -50$
Blende D_3	Öffnungsdurchmesser $d_{D3} \approx 4,5\text{mm}$; keine Zentralblende
Teilerspiegelschieber	in der Position ohne Farbe, die ganze ankommende Strahlung gelangt zum CCD-Sensor
Mikroskopobjektiv zur Nachvergrößerung	Plan 2,5 / 0.08; Nr. 46 01 10 - 9906
Linsensystem L_4	nominale, objektseitige Numerische Apertur $A_{NL4} = 0,08$; Vergrößerung $M_{L4} = -2,5$
Blende D_4	Öffnungsdurchmesser $d_{D4} \approx 9\text{mm}$
CCD-Kamera	
Sensor	ICX024BL-3 von Sony (siehe Kapitel 2.2.3.1)
Hersteller	Sony
Model	XC-77 _{CE}
Gain	fix
Aussteuerung	befriedigend
Laborraum	abgedunkelt
Framegrabber	
Hersteller	Matrox
Model	VIP1024
Vergrößerung M_{ADx}	0,72
Rechner	SUN
Aufnahme	
Filename	pinh_zk.s
Größe	$128 \times 128 \times 16$ Pixel
Format der Pixelwerte im File	short
Rauschreduktion	Summe über 16 Bilder
Leeraufnahme	ja
Filename	pinh_zk_l.s
Aufnahmebedingungen	wie bei pinh_zk.s, jedoch Teilerspiegelschieber auf schwarz, also keine Strahlung zur Kamera und keine zum Okular

Tab. 7.6: Pinholemesspräparat; Zentralblende im Kondensor

Filename zur Dokumentation	pinh_zo.nroff
Mikroskop	Universal-Forschungsmikroskop; Nr. 49 17 48
Beleuchtungseinrichtung	
Strahlungsquelle S	100 W Halogenlampe bei 12 V Betriebsspannung
Leuchtfeldblende D_1	Der Öffnungsdurchmesser d_{D1} ist so eingestellt worden, dass der beleuchtete Objektteil nur geringfügig größer, als der aufgenommene ist.
Interferenzfilter B	Interferenzgrünfilter (siehe Kapitel 7.9.1) von Carl Zeiss; für $\bar{\lambda} = 575\text{nm}$
Aperturblende D_2	Öffnungsdurchmesser $d_{D2} \approx 22\text{mm}$; ohne Zentralblende
Linsensystem L_2	$A_{NL2} = 0,9$
Kondensortyp	Luftkondensor
Objekt O	Pinhole im Gittermesspräparat
Präparat Nr.	69
aufgenommene Position	12,1 / 126,9; Beschriftung in Richtung Mikroskopbenutzer
rechnergesteuerte Fokussiereinrichtung	Abtastabstand in z-Richtung, $\Delta_z = 2,7\mu\text{m}$; Bei der Aufnahme der Ebene $k = 0$ ist das Objekt am nächsten am Mikroskopobjektiv.
Mikroskopobjektiv	Plan 25 / 0.45; Nr. 41 17 121
Objektivtyp	Luftobjektiv
Linsensystem L_3	(objektseitige) Numerische Apertur $A_{NL3} = 0,45$; Vergrößerung incl. Optovar $M_{L3} = -50$
Blende D_3	Öffnungsdurchmesser $d_{D3} \approx 4,5\text{mm}$; mit einer 3mm großen Zentralblende
Teilerspiegelschieber	in der Position ohne Farbe, die ganze ankommende Strahlung gelangt zum CCD-Sensor
Mikroskopobjektiv zur Nachvergrößerung	Plan 2,5 / 0.08; Nr. 46 01 10 - 9906
Linsensystem L_4	nominale, objektseitige Numerische Apertur $A_{NL4} = 0,08$; Vergrößerung $M_{L4} = -2,5$
Blende D_4	Öffnungsdurchmesser $d_{D4} \approx 9\text{mm}$
CCD-Kamera	
Sensor	ICX024BL-3 von Sony (siehe Kapitel 2.2.3.1)
Hersteller	Sony
Model	XC-77 _{CE}
Gain	fix
Aussteuerung	befriedigend
Laborraum	abgedunkelt

Framegrabber	
Hersteller	Matrox
Model	VIP1024
Vergrößerung M_{ADx}	0,72
Rechner	SUN
Aufnahme	
Filename	pinh_zo.s
Größe	128 × 128 × 16 Pixel
Format der Pixelwerte im File	short
Rauschreduktion	Summe über 16 Bilder
Leeraufnahme	ja
Filename	pinh_zo_1.s
Aufnahmebedingungen	wie bei pinh_zo.s, jedoch Teilerspiegelschieber auf schwarz, also keine Strahlung zur Kamera und keine zum Okular

Tab. 7.7: Pinholemesspräparat; Zentralblende im Objektiv

Filename zur Dokumentation	ph.nroff
Mikroskop	Universal-Forschungsmikroskop; Nr. 49 17 48
Beleuchtungseinrichtung	
Strahlungsquelle S	100 W Halogenlampe bei 9,8V Betriebsspannung
Leuchtfeldblende D_1	Der Öffnungsdurchmesser d_{D_1} ist so eingestellt worden, dass der Durchmesser des beleuchteten Objektteils etwa 4mal größer ist, als der Durchmesser des aufgenommenen Objektteils.
Interferenzfilter B	Interferenzgrünfilter (siehe Kapitel 7.9.1) von Carl Zeiss; für $\bar{\lambda} = 575\text{nm}$
Aperturblende D_2	speziell eingefügte Blende zur Reduktion der Beleuchtungsapertur auf ca. 0,1
Linsensystem L_2	$A_{NL2} = 0,32$, falls die speziell eingefügte Blende D_2 entfernt wird
Kondensortyp	Luftkondensator
Objekt O	zweidimensionales Phasen-Rauschmesspräparat, hergestellt mit Magnesiumoxidkristallen
Präparat Nr.	10
aufgenommene Position	11,5 / 97,4; Beschriftung rechts

rechnergesteuerte Fokussiereinrichtung	Abtastabstand in z-Richtung, $\Delta_z = 2,7\mu\text{m}$; Bei der Aufnahme der Ebene $k = 0$ ist das Objekt am nächsten am Mikroskopobjektiv.
Mikroskopobjektiv	Plan 25 / 0.45; Nr. 41 17 121
Objektivtyp	Luftobjektiv
Linsensystem L_3	(objektseitige) Numerische Apertur $A_{NL3} = 0,45$; Vergrößerung incl. Optovar $M_{L3} = -31,25$
Blende D_3	Öffnungsdurchmesser $d_{D3} \approx 4,5\text{mm}$; keine Zentralblende
Teilerspiegelschieber	in der Position ohne Farbe, die ganze ankommende Strahlung gelangt zum CCD-Sensor
Mikroskopobjektiv zur Nachvergrößerung	Plan 2,5 / 0.08; Nr. 46 01 10 - 9906
Linsensystem L_4	nominale, objektseitige Numerische Apertur $A_{NL4} = 0,08$; Vergrößerung $M_{L4} = -2,5$
Blende D_4	Öffnungsdurchmesser $d_{D4} \approx 9\text{mm}$
CCD-Kamera	
Sensor	ICX024BL-3 von Sony (siehe Kapitel 2.2.3.1)
Hersteller	Sony
Modell	XC-77BB _{CE}
Gain	fix
Aussteuerung	recht gut
Laborraum	leicht abgedunkelt
Framegrabber	
Hersteller	Eltec
Modell	CFG
Vergrößerung M_{ADx}	1,0
Rechner	SUN
Aufnahme	
Filename	ph.s
Größe	$512 \times 512 \times 16$ Pixel
Pixelwertformat im File	short
Rauschreduktion	Summe über 16 Bilder
Leeraufnahme	ja
Filename	ph_1.s
Aufnahmebedingungen	wie bei ph.s, jedoch Teilerspiegelschieber auf schwarz, also keine Strahlung zur Kamera und keine zum Okular

Tab. 7.8: Phasen-Rauschmesspräparat; ohne Zentralblenden

8 Zusammenfassung

Im Kapitel 1 „Einleitung“ wird aufgezeigt, wie die rasante technologische Entwicklung der Mikroelektronik nicht nur die Mikroskopie vorantreibt, sondern auch anderen, neuen Verfahren, wie z. B. dem Laser Scanning Mikroskop, zum Durchbruch verhilft. Damit verbunden ist ein Bedarf an neuen, geeigneten Messverfahren. Dazu stellt diese Arbeit ein neues, im Rahmen einer linearen Näherung arbeitendes, dreidimensionales Messverfahren vor, und demonstriert es am Beispiel des Lichtmikroskops im Hellfelddurchlichtbetrieb, wobei hier die 3. Dimension durch die Aufnahme einer Fokussierreihe entsteht.

Im Kapitel 2 „Modellbildung“ wird zuerst ein detailliertes, physikalisches Modell des experimentellen Aufbaus gebildet, um darauf aufbauend ein dreidimensionales, systemtheoretisches Modell anzufertigen, anhand dessen das neue Messverfahren erarbeitet werden kann. Dabei wird auch die Berechnung der dreidimensionalen Übertragungsfunktionen des Lichtmikroskops für die drei Fälle absorbierende Objekte, Phasenobjekte und transparente Selbstleuchter beschrieben.

Innerhalb des Kapitels 3 „Messverfahren“ werden im Kapitel 3.1 zunächst die bekannten Verfahren skizziert. Anschließend, dies ist der Kern der Arbeit, wird im Kapitel 3.2 das neue Messverfahren beschrieben. Es verwendet als Anregung zweidimensionales Rauschen, hier ein Rauschen um eine Ebene senkrecht zur optischen Achse. Das Verfahren wird zunächst für absorbierende Objekte, anschließend auch für Phasenobjekte ausgearbeitet, und dabei experimentell demonstriert. Von zentraler Beutung ist, dass das neue Messverfahren in der Lage ist, auch die Phase der dreidimensionalen Übertragungsfunktion aus den Bildern der Rauschanregung zu berechnen, falls die Übertragung durch die Aufnahmeeinheit gewisse, häufig bei einem vernachlässigbaren Fehler vorliegende, Symmetrieeigenschaften besitzt. Es werden verschiedene Fälle von Symmetrieeigenschaften berücksichtigt, um unterschiedliche experimentelle Gegebenheiten und die drei Fälle absorbierende Objekte, Phasenobjekte und transparente Selbstleuchter abzudecken.

Das Kapitel 4 „Messungen“ vergleicht die mit dem neuen Messverfahren, mit einem bekannten Messverfahren und durch Berechnung ermittelten Übertragungseigenschaften auch bei Modifikationen des Strahlengangs durch Einfügen von Zentralblenden in die Pupille des Objektivs und in die Pupille des Kondensors. Die auf unterschiedlichen Wegen ermittelten Übertragungseigenschaften werden miteinander verglichen. Der Vergleich veranschaulicht die Leistungsfähigkeit des neuen Messverfahrens.

Das Kapitel 5 „Die Bildgewinnung“ stellt verschiedene, mehr oder weniger bekannte Ansätze zur Nutzung des vorgestellten Messverfahrens zusammen, darunter vor allem auch die Wiener-Inversfilterung.

Schließlich möchte ich mich bei denen bedanken, die die Anfertigung dieser Arbeit unterstützt haben. Es waren eine ganze Reihe. Manche unterstützten mich mit kleineren Dingen. Einige haben die Arbeit kritisch gelesen, um Verbesserungen anzuregen. Die wichtigsten waren: Dr. Claus, Prof. Dr. Granzer, Dr. Großkopf, Dr. Grub, Prof. Dr. Hesse, Dr. Knapfer, Prof. Dr. Mester, Prof. Dr. Schmid, Dr. Siegel, Prof. Dr. Wolf

9 Literaturverzeichnis

9.1 Verweise

In Kapitel 1:

- | | | | | | |
|---|-----------------------|----|-----------------------------|----|-----------------------------|
| 1 | Ruska & Knoll 1931 | 10 | Hecht & Zajac 1974,
§1.2 | 18 | Fourier 1822 |
| 2 | Minsky 1961 | 11 | Abbe 1873 | 19 | Fourier 1884 |
| 3 | Minsky 1988 | 12 | Köhler 1893 | 20 | Laplace 1812 |
| 4 | Pawley 1995 | 13 | Köhler 1899 | 21 | Heaviside 1971 |
| 5 | Zernike 1938 | 14 | van Cittert 1934 | 22 | Wagner 1909 |
| 6 | Hopkins 1955 | 15 | Hopkins 1951 | 23 | Wagner 1950 |
| 7 | Stokseth 1969 | 16 | Küpfmüller 1949 | 24 | Schieb 1988,
Kapitel 1.2 |
| 8 | Streibl 1984 | 17 | Wunsch 1985 | | |
| 9 | Born & Wolf 1991, §10 | | | | |

In Kapitel 2:

- | | | | | | |
|----|--|----|-------------------------------------|----|--------------------------------------|
| 1 | Marko 1995 | 17 | Huygens 1690 | 33 | z. B. Born&Wolf 1991,
§14.6.1 |
| 2 | Bamler 1989 | 18 | Huygens 1890 | 34 | z. B. Born&Wolf 1991,
§10.5.3 (b) |
| 3 | z. B. Gaskill 1978
Kapitel 5-2 | 19 | Fresnel 1816 | 35 | Born & Wolf 1991,
§8.3.2 |
| 4 | z. B. Hecht & Zajac
1974 Kapitel 11.3.1 | 20 | Born&Wolf 1991, §8.2 | 36 | Stokes 1849 |
| 5 | Born & Wolf 1991,
§ 3.1 | 21 | Kirchhoff 1882 | 37 | Streibl 1984 |
| 6 | z. B. Räntsch 1949, S.
55 + 82 | 22 | Kirchhoff 1883 | 38 | Hauser 1962, II. |
| 7 | Born&Wolf 1991,
§13.1 | 23 | Born&Wolf 1991, §8.3 | 39 | Born & Wolf 1991,
§8.3.3 + 8.8.1 |
| 8 | Streibl 1984,
Kapitel 2.2 | 24 | z. B. Born&Wolf 1991,
§1.4.2 | 40 | Bohren & Huffman,
1983 |
| 9 | Born&Wolf 1991,
vor allem §10 | 25 | z. B. Bergmann 1987,
Kapitel 3.1 | 41 | Evans 1970 |
| 10 | Abbe 1873 | 26 | Young 1802 | 42 | Streibl 1984,
Kapitel 4.2 |
| 11 | van Cittert 1934 | 27 | Köhler 1893 | 43 | Born & Wolf 1991,
§10.5.3 |
| 12 | Zernike 1938 | 28 | Köhler 1899 | 44 | Menzel 1958 |
| 13 | Laue 1907 | 29 | z. B. Bronstein 1979,
Seite 399 | 45 | Slansky & Maréchal
1960 |
| 14 | Berek 1926 | 30 | z. B. Born&Wolf 1991,
§8.5.2 | 46 | Born 1926 |
| 15 | Hopkins 1951 | 31 | z. B. Born&Wolf 1991,
§10.5.2 | 47 | Born 1926 |
| 16 | Born&Wolf 1991,
10.4.4 | 32 | z. B. Born&Wolf 1991,
§8.6.1 (a) | | |

- | | | |
|---|--|---------------------------------------|
| 48 z. B. Mott & Massey
1965 | 65 Stover 1990 | 84 Fercher et alt. 1979 |
| 49 z. B. Pockels 1891 | 66 Alumot et alt. 1993 | 85 Wolf 1969 |
| 50 z. B. Sommerfeld 1959 | 67 Gröbler 1990,
Kapitel 3.3.1 | 86 Born & Wolf 1991,
§8.10 |
| 51 Streibl 1984, Kapitel 4 | 68 Airy 1835 | 87 Chiu et alt. 1979 |
| 52 Born & Wolf 1991,
§8.6.1 | 69 Hopkins & Barham
1950 | 88 Streibl 1984,
Kapitel 5.4. |
| 53 Born & Wolf 1991,
§8.3.1 | 70 Rayleigh 1879 | 89 Wiener 1950 |
| 54 Hopkins 1955 | 71 Ulbricht 1900 | 90 Kolmogoroff 1941 |
| 55 Hopkins 1950, S. 14 | 72 z. B. Kohlrausch 1968,
§5.2.4.7.5 | 91 Rosenfeld & Kak 1982 |
| 56 Streibl 1984,
Kapitel 4.3 | 73 DIN 58 185, Teil 2,
§4.1.2 | 92 Lenz 1988 |
| 57 Stokseth 1969 | 74 BS 4779, §4.1.4 | 93 z. B. Andrews & Hunt
1977, §2.5 |
| 58 Born & Wolf 1991,
§9.5.1 | 75 Hauser 1962, I. | 94 Mandel 1959 |
| 59 Hopkins 1953, 2.
GENERAL FORMULAE | 76 Born & Wolf 1991,
z. B. TABLE XXIV | 95 Gadsden 1965 |
| 60 Gröbler 1990,
Kapitel 3.3.4 | 77 Gröbler 1990 | 96 Bamler 1989,
Kapitel 4.1 |
| 61 Born & Wolf 1991,
§9.5.3 | 78 Streibl 1984, Kapitel 5 | 97 Pratt 1978, §4.2.2 |
| 62 Streibl 1984,
Kapitel 4.4 | 79 Born & Wolf 1991,
§8.6.2 | 98 Shannon 1949 |
| 63 Streibl 1984,
Kapitel 2.3 | 80 Hofmann & Heyer 1987 | 99 Whittaker 1915 |
| 64 Erhardt et alt. 1985 | 81 Carter 1970 | 100 Jerri 1977 |
| | 82 Carter et alt. 1974 | 101 Gaskill 1978, §7-8 |
| | 83 Dändliker & Weiss
1970 | 102 Gröbler 1990 Kapitel 4 |
| | | 103 Dähler 1987 |

In Kapitel 3:

- | | | |
|------------------------------------|---------------------------------------|---|
| 1 Birch & Marchant 1981 | 9 Bescós, J. &
Santamaria, J. 1981 | 17 z. B. Paola 1982 |
| 2 Malacara 1978 | 10 DIN 58 185, Teil 2,
§4.1.2 | 18 Marko 1995, Teil 1,
Kapitel 4.5 |
| 3 Spindler & Hoyer 1995,
S. I10 | 11 BS 4779, §4.1.4 | 19 Brigham 1997 |
| 4 Spindler & Hoyer 1995,
S. I11 | 12 Hopkins & Barham
1950 | 20 z. B. Born & Wolf
1991, § 9.5.2 und X |
| 5 Baker 1992, MS 59 | 13 Hong et alt. 1987 | 21 Pawley 1995,
Chapter 36 |
| 6 Baker 1992, MS 60 | 14 Baker 1965 | 22 Ruska & Knoll 1931 |
| 7 Hofmann & Nordwig
1980 | 15 Bamler 1989,
Kapitel 3.3 | 23 Pawley 1995 |
| 8 Shannon 1965 | 16 Gibson & Lanni 1991 | 24 Minsky 1961 |
| | | 25 Minsky 1988 |

- | | | |
|-----------------------|-----------------------------|----------------------------------|
| 26 Denk et alt. 1990 | 32 Hell & Stelzer 1992 | 37 Gonsalves 1976 |
| 27 Hell et alt. 1996 | 33 Artal et alt. 1988 | 38 Maeda & Kazumi 1981 |
| 28 Göppert-Mayer 1931 | 34 Barakat & Newsam
1980 | 39 Nahrstedt & Southwell
1984 |
| 29 Lanni 1986 | 35 Gerchberg 1986 | 40 Nieto-Vesperinas 1985 |
| 30 Synge 1928 | 36 Ghiglia et alt. 1987 | |
| 31 Binning 1982 | | |

In Kapitel 4:

- | | | |
|--------------------------------|--------------------------------|----------------------------------|
| 1 z. B. Shannon 1965 | 3 Streibl 1984,
Kapitel 2.3 | 5 Gröbler 1990,
Kapitel 3.3.4 |
| 2 Streibl 1984,
Kapitel 4.4 | 4 Bamler 1989,
Kapitel 3.3 | |

In Kapitel 5:

- | | | |
|----------------------------------|----------------------------------|---|
| 1 Rosenfeld & Kak 1982,
§7 | 8 Pratt 1978,
Chapter 17 → 20 | 16 Streibl 1984, Kapitel 5 |
| 2 Pratt 1978,
Chapter 13 → 16 | 9 Rosenfeld & Kak 1982,
§6 | 17 Rosenfeld & Kak 1982,
§7.2 + §7.3 |
| 3 Andrews & Hunt 1977 | 10 Deutsch 1965,
Chapter 11 | 18 Deutsch 1965,
Chapter 11.9 |
| 4 Rosenfeld & Kak 1982,
§8 | 11 Wiener 1950 | 19 Rosenfeld & Kak 1982,
§7.3 |
| 5 Kak & Slaney, 1987 | 12 Kolmogoroff 1941 | 20 Lenz 1986,
Chapter 1.2.4. |
| 6 Gröbler 1990,
Kapitel 2.4.4 | 13 Wiener 1950,
PREFACE | 21 Bamler 1989 |
| 7 Pratt 1978,
Chapter 15.6. | 14 Deutsch 1965,
Chapter 11.9 | 22 Chiu et alt. 1979 |
| | 15 Erhardt et alt. 1985 | 23 Streibl 1984,
Kapitel 5.4 |

In Kapitel 7:

- | | | |
|-------------------------------------|---|----------------------------------|
| 1 Marko 1995, Teil 1
Kapitel 1.4 | 7 Marko 1995, Teil 1
Kapitel 6, 7, 8 | 13 Müller 1990 |
| 2 Bamler 1989,
Kapitel 3.3 | 8 Marko 1995, Teil 1
Kapitel 6.1 | 14 Papoulis 1968, §8 |
| 3 Bamler 1989, Kapitel 3 | 9 Marko 1995, Teil 1
Kapitel 7.1 | 15 Cattermole & O'Reilly
1988 |
| 4 Bamler 1989,
Kapitel 3.1 | 10 Davenport & Root 1987 | 16 Pratt 1978, § 11.3 |
| 5 z. B. Rantsch 1949,
S. 55 | 11 Papoulis 1965 | 17 Erhardt, et alt. 1985 |
| 6 Brigham 1997 | 12 Lüke 1999, Kapitel 6 | 18 Pratt 1978, § 11.4 |

9.2 Quellen

- Abbe, Ernst (1873): „Beiträge zur Theorie des Mikroskops und der mikroskopischen Wahrnehmung“; Archiv für Mikroskopische Anatomie; Band 9; Seiten 413 → 468
- Airy, George Biddell (1835): „On the Diffraction of an Object-glass with Circular Aperture.“; Transactions of the Cambridge Philosophical Society; Vol. V., Part III, Chapter XII.; Seiten 283 → 291
- Alumot, David, Neumann, Gadi, Sherman, Rivi and Tirosh, Ehud (1993): „Dual sensor technology for high-speed detection of 0.1 micron defects“; proc. SPIE vol. 1926; Seiten 570 → 580
- Andrews, Harry C. & Hunt, Bobby Ray (1977): „Digital Image Restoration“; ISBN 0-13-214213-9; Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, New Jersey
- Artal, Pablo Santamaría, Javier und Bescós, Julian (1988): „Retrieval of wave aberration of human eyes from actual point-spread-function data“; J. Opt. Soc. Am. A; Vol. 5, No. 8; Optical Society of America; Seiten 1201 → 1206
- Baker, Lionel R. (1965): „Automatic Recording Instrument for Measuring Optical Transfer Functions“; Japanese Journal of Applied Physics; Vol. 4, Suppl. 1; Seiten 146 → 152
- Baker, Lionel R., Herausgeber (1992): „Selected Papers on Optical Transfer Function-foundation and theory“; SPIE milestone series; v. MS 59, II. Series., ISBN 0-8194-0994-4; SPIE - The International Society for Optical Engineering P.O.Box 10, Bellingham, Washington 98227-0010 USA
- Baker, Lionel R., Herausgeber (1992): „Selected Papers on Optical Transfer Function-Measurement“; SPIE milestone series; v. MS 60, ISBN 0-8194-0996-0; SPIE - The International Society for Optical Engineering P.O.Box 10, Bellingham, Washington 98227-0010 USA
- Bamler, Richard (1989): „Mehrdimensionale lineare Systeme, Fourier-Transformation und δ -Funktionen“; (Nachrichtentechnik Band 20), ISBN 3-540-51069-9; Springer, Berlin
- Barakat, Richard & Newsam, Garry (1980): „Numerically stable iterative method for the inversion of wave-front aberrations from measured point-spread-function data“; J. Opt. Soc. Am.; Vol. 70, No. 10, 10. Oct. 1980; Optical Society of America; Seiten 1255 → 1263
- Berek, M. (1926): „Über Kohärenz und Konsonanz des Lichtes.“; Zeitschrift für Physik; Band VI; Seiten 675 → 688; Band VII; Seiten 387 → 394; Band XL; Seiten 420 → 450
- Bergmann, Ludwig (1987): „Lehrbuch der Experimentalphysik / Bergmann • Schäfer“; Band III Optik, 8. Auflage, ISBN 3-11-010882-8; Walter de Gruyter & Co., Berlin, New York
- Bescós, J. & Santamaria, J. (1981): „Colour based quality parameters for white light imagery“; Optica Acta; Vol. 28(1); Seiten 43 → 55

- Binning, G.; Rohrer, H., Gerber, Ch. und Weibel, E. (1982): „Surface Studies by Scanning Tunneling Microscopy“; Physical review letters; Volume 49, Number 1; Seiten 57 → 61
- Birch, K. G. & Marchant, A. C. (1981): „Intercomparison of calculated and measured optical transfer function (OTF) for a standard triplet lens“; Proc. SPIE; Vol. 274; Seiten 52 → 59
- Bohren, Craig F. & Huffman, Donald R. (1983): „Absorption and Scattering of Light by Small Particles“; ISBN 0-471-05772-X; John Wiley & Sons, Inc., New York, Chichester, Brisbane, Toronto, Singapore
- Born, Max (1926): „Zur Quantenmechanik der Stoßvorgänge“; Zeitschrift für Physik; Band 37; Seiten 863 → 867
- Born, Max (1926): „Quantenmechanik der Stoßvorgänge“; Zeitschrift für Physik; Band 38; Seiten 803 → 827
- Born, Max & Wolf, Emil (1991): „Principles of Optics“; sixth (corrected) edition, ISBN 0-08-026481-6; Pergamon Press, Oxford, New York, ...
- Brigham, Elbert Oran (1997): „FFT-Anwendungen“; ISBN 3-486-21567-1; R. Oldenbourg, München, Wien
- British Standard BS 4779 (1971): „Recommendations for measurement of the optical transfer function of optical devices“; British Standards Institution, London
- Bronstein, I. N. & Semendjajew, K. A. (1979): „Taschenbuch der Mathematik“; 18. Auflage, ISBN 3 87144 016 7; Verlag Harri Deutsch, Thun, Frankfurt/Main
- Carter, William H. (1970): „Computational Reconstruction of Scattering Objects from Holograms“; J. Opt. Soc. Am., Vol. 60, No. 3, March 1970; Seiten 306 → 314
- Carter, William H. & Pin-Chin Ho (1974): „Reconstruction of Inhomogeneous Scattering Objects from Holograms“; Applied Optics Vol. 13, No. 1 January 1974; Seiten 162 → 172
- Cattermole, Kenneth W. & O'Reilly, Hohn J. (1988): „Rauschen und Stochastik in der Nachrichtentechnik“; ISBN 3-527-26615-1; VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim
- Chiu, M. Y., Barrett, H. H., Simpson, R. G., Chou, C., Arendt, J. W., Gindi, G. R.(1979): „Three-dimensional radiographic imaging with a restricted view angle“; J. Opt. Soc. Am., Vol. 69, No. 10, October 1979; Seiten 1323 → 1333
- Cittert, Pieter Hendrik van (1934): „Die wahrscheinliche Schwingungsverteilung in einer von einer Lichtquelle direkt oder mittels einer Linse beleuchteten Ebene“; Physica; I; Seiten 201 → 210
- Dähler, J. (1987): „Problems in Digital Image Acquisition with CCD Cameras“; Proceedings of the ISPRS, Intercommission Conference on Fast Processing of Photogrammetric Data, June 2-4; Interlaken, Switzerland; Seiten 48 → 59

- Dändliker, R. & Weiss, K. (1970): „RECONSTRUCTION OF THE THREE-DIMENSIONAL REFRACTIVE INDEX FROM SCATTERED WAVES“; Optics communications, Vol. 1, no. 7, February 1970; Seiten 323 → 328
- Davenport Jr., Wilbur B. & Root, William L. (1987): „An Introduction to the Theory of Random Signals and Noise“; IEEE Press, New York
- Denk, Winfried; Strickler, James H. und Webb, Watt W. (1990): „Two-Photon Laser Scanning Fluorescence Microscopy“; Science; Vol. 248; Seiten 73 → 76
- Deutsch, Ralph (1965): „ESTIMATION THEORY“; Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, N. J.
- Deutsches Institut für Normung e.V. DIN 58 185: „Optische Übertragungsfunktion“; Beuth-Vertrieb GmbH, Berlin
- Erhardt, A. Zinser, G. Komitowski, D. und Bille, J. (1985): „Reconstructing 3-D light microscopic images by digital image processing“; Applied Optics; Vol. 24, No. 4; Seiten 194 → 200
- Evans, E. (1970): „COMPARISON OF THE DIFFRACTION THEORY OF IMAGE FORMATION WITH THE THREE-DIMENSIONAL, FIRST BORN SCATTERING APPROXIMATION IN LENS SYSTEMS“; Optics Communications; Vol. 2, No. 7; Seiten 317 → 320
- Fercher, A. F. et al. (1979): „Image formation by inversion of scattered field data: experiments and computational simulation“; Applied Optics, 15 July 1979, Vol. 18, No. 14; Seiten 2427 → 2439
- Fourier, Jean Baptiste Joseph Baron de (1822): „THÉORIE ANALYTIQUE DE LA CHALEUR“; FIRMIN DIDOT PÈRE ET FILS, Paris
- Fourier, Jean Baptiste Joseph Baron de (1884): „Analytische Theorie der Wärme“; deutsche Ausgabe von B. Weinstein; Verlag von Julius Springer
- Fresnel, Augustin Jean (1816): „MÉMOIRE (I) Sur la Diffraction de la lumière, où l'on examine particulièrement le phénomène des franges colorées que présentent les ombres des corps éclairés par un point lumineux“; Annales de Chimie et de la Physique; 2. Sér., Jg. 1; Paris; Seiten 239 → 281
- Gadsden, M. (1965): „Some Statistical Properties of Pulses from Photomultipliers“; Applied Optics; Volume 4, No. 11; Seiten 1446 → 1452
- Gaskill, Jack D. (1978): „Linear Systems, Fourier Transforms, and Optics“; ISBN 0-471-29288-5; John Wiley & Sons, New York, Chichester, Brisbane, Toronto
- Gerchberg, R. W. (1986): „The lock problem in the Gerchberg - Saxton algorithm for phase retrieval“; Optik 74, No. 3; Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart; Seiten 91 → 93

- Ghiglia, Dennis C. Mastin, Gary A. and Romero, Louis A. (1987): „Cellular-automata method for phase unwrapping“; J. Opt. Soc. Am. A; Vol. 4, No. 1; Optical Society of America; Seiten 267 → 280
- Gibson, Sarah Frisken & Lanni, Frederick (1991): „Experimental test of an analytical model of aberration in an oil-immersion objective lens used in three-dimensional light microscopy“; J. Opt. Soc. Am. A; Vol. 8, No. 10; Optical Society of America; Seiten 1601 → 1613
- Göppert-Mayer (1931): „Über Elementarakte mit zwei Quantensprüngen“; Annalen der Physik; 9; Leipzig; Seiten 273 → 294
- Gonsalves, R. A. (1976): „Phase retrieval from modulus data“; J. Opt. Soc. Am.; Vol. 66, No. 9; Optical Society of America; Seiten 961 → 964
- Gröbler, Bernhard (1990): „Untersuchungen zur Bildübertragung in abtastenden Mikroskopen unter besonderer Berücksichtigung der 3-d Abbildung“; Dissertation; Diss. A; Brandenburgische Landeshochschule Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät, Potsdam
- Hauser, H. (1962): „Optische Übertragung bei partiell-kohärenter Beleuchtung, I. Die Grenzen der linearen Übertragung“ Optica Acta, Volume 9; Seiten 121 → 140
- Hauser, H. (1962): „Optische Übertragung bei partiell-kohärenter Beleuchtung, II. Die Übertragungstheorie mehrstufiger Abbildungssysteme“; Optica Acta; Volume 9; Seiten 141 → 148
- Heaviside, Oliver (1971): „Electromagnetic Theory“; kommentierter Nachdruck der drei 1893, 1899 und 1912 veröffentlichten Bände, third edition, ISBN 0-8284-0237-X; Chelsea Publishing Company, New York
- Hecht, Eugene & Zajac, Alfred (1974): „Optics“; Addison-Wesley Publishing Company Inc., Massachusetts, Amsterdam, ...
- Hell, Stefan W. & Stelzer, Ernst H. K. (1992): „Properties of a 4Pi confocal fluorescence microscope“; J. Opt. Soc. Am A; Vol. 9, No. 12; Seiten 2159 → 2166
- Hell, Stefan W.; Bahlmann, Karsten; Schrader, Martin; Soini, Aleks; Malak, Hendryk; Gryczynski, Ignacy und Lakowicz, Joseph R. (1996): „THREE-PHOTON EXCITATION IN FLUORESCENCE MICROSCOPY“; Journal of Biomedical Optics; Vol. 1, No. 1; Nellingham; Seiten 71 → 74
- Hofmann, C. & Nordwig, W. (1980): „Einfluß der Kohärenz auf die Kantenabbildung optischer Systeme“; Feingerätetechnik; 29. Jg. Heft 12; Seiten 558 → 560
- Hofmann, Christian & Heyer, Rolf (1987): „Bildgüte und Kohärenz bei der Mikrostrukturabbildung“; Bild und Ton; Jg. 40 Heft 2; Seiten 37 → 42
- Hong, Kyung Hee; Lee, In Won; Cho, Hyun Mo and Lee, Yun Woo (1987): „Enhancement of accuracy in OTF measurement“; Applied Optics; Vol. 26(20); Seiten 4423 → 4424

- Hopkins, H. H. & Barham, P. M. (1950): „The Influence of the Condenser on Microscopic Resolution“; Proc. Phys. Soc. Section B; Vol. 63, PART 10, No. 370 B; Seiten 737 → 744
- Hopkins, H. H. (1950): „WAVE THEORY OF ABERRATIONS“; Clarendon Press; Oxford
- Hopkins, H. H. (1951): „The concept of partial coherence in optics“; Proc. Roy. Soc. A; Vol. 208; Seiten 263 → 277
- Hopkins, H. H. (1953): „On the diffraction theory of optical images“; Proc. Roy. Soc., A; Vol. 217; Seiten 408 → 432
- Hopkins, H. H. (1955): „The frequency response of a defocused optical system“; Proc. Roy. Soc. A, Vol. 231; Seiten 91 → 103
- Huygens von Zuilichem, Christian (1690, fertiggestellt im Jahr 1678): „TRAITÉ DE LA LVMIÈRE. Où sont expliquées les causes de ce qui luy arrive dans la REFLEXION, & dans la REFRACTION. Et particulièrement dans l'étrange REFRACTION DV CRISTAL D'ISLANDE.“; PIERRE VAN DER AA, Marchand Libraire, Leide
- Huygens von Zuilichem, Christian (1890): „Abhandlung über das LICHT. Worin die Ursachen der Vorgänge bei seiner Zurückwerfung und Brechnung und besonders bei der eigenthümlichen Brechnung des isländischen Spathes dargelegt sind.“; Übersetzung von Herrn Rudolf Mewes, Herausgegeben von E. Lommel; Verlag von Wilhelm Engelmann, Leipzig
- Jerri, Abdul J. (1977): „The Shannon Sampling Theorem - Its Various Extensions and Applications: A Tutorial Review“; Proceedings of the IEEE; Vol. 65, No. 11; Seiten 1565 → 1596
- Kak, Avinash C. & Slaney, Malcolm (1987): „Principles of Computerized Tomographic Imaging“; ISBN0-87942-198-3; IEEE Press, New York
- Kirchhoff, Gustav Robert (1882): „Zur Theorie der Lichtstrahlen“; Berl. Ber.; Seite 641
- Kirchhoff, Gustav Robert (1883): „Zur Theorie der Lichtstrahlen“; Ann. d. Physik (2); Jg 18; Seiten 663 → 695
- Köhler, August (1893): „Ein neues Beleuchtungsverfahren für mikrophotographische Zwecke“; Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie; Band X, Heft 4; Seiten 433 → 440
- Köhler, August (1899): „Beleuchtungsapparat für gleichmässige Beleuchtung mikroskopischer Objecte mit beliebigem einfarbigem Licht“; Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie; Band XVI, Heft 1; Seiten 1 → 28
- Kohlrausch, F. (1968): „Praktische Physik“; 22., neubearbeitete und ergänzte Auflage, Band 1; B. G. Teubner, Stuttgart

- Kolmogoroff, A. N. (1941): „INTERPOLIROWANIE I EKSTRAPOLIROWANIE STAZIONARIYCH SLUTSCHAINYCH POSLEDOWATELNOSTEJ“ + „INTERPOLATION UND EXTRAPOLATION VON STATIONÄREN ZUFÄLLIGEN FOLGEN“; Izvestija Akademii nauk SSSR - Bulletin de l'academie des sciences de l'URSS, serija matematicheskaja - Série mathématique; 5; Moskau; Seiten 3 → 14
- Küpfmüller, Karl (1949): „Die Systemtheorie der elektrischen Nachrichtenübertragung“; S. Hirzel, Stuttgart
- Lanni, Frederick (1986): „Standing-Wave Fluorescence Microscopy“; Applications of Fluorescence in the Biomedical Sciences ed. by D. Lansing Taylor et al.; Alan R. Liss, Inc. New York; Seiten 505 → 521
- Laplace, Pierre Simon Comte (1812): „Théorie analytique des probabilités“; M^{ME} V^E Courcier, Imprimeur-Libraire pour les Mathématique, Paris
- Laue, Max von (1907): „Die Entropie von partiell kohärenten Strahlenbündeln“; Annalen der Physik; IV. Folge, Band 23, No. 6; Leipzig; Seiten 1 → 43
- Lenz, R (1988): „Zum optisch-photometrischen Kameramodell“; Informatik Fachberichte 180, Proceedings 10. DAGM-Symposium Zürich; ISBN 3-540-50280-7; Springer-Verlag; Seiten 180 → 189
- Lenz, Reiner (1986): „Reconstruction, Processing and Display of 3D-Images“; Linköping Studies in Science and Technology. Dissertations. No. 151, Department of Electrical Engineering, Linköping University, 58183 Linköping, Sweden; ISBN 91-7870-111-2, ISSN 0345-7524
- Lüke, Hans Dieter (1999): „Signalübertragung“; 7. Auflage, ISBN 3-540-65197-7; Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York
- Maeda, Junji & Murata, Kazumi (1981): „Retrieval of wave aberration from point spread function or optical transfer function data“; Applied Optics; Vol. 20, No. 2; Optical Society of America; Seiten 274 → 279
- Malacara, Daniel (1978): „Optical Shop Testing“; ISBN 0-471-01973-9; John Wiley & Sons, Inc., New York Chichester Brisbane Toronto
- Mandel, L. (1959): „Fluctuations of Photon Beams: The Distribution of the Photo-Electrons“; Proceedings of the Physical Society of London; vol. 74, 3; Seiten 233 → 243
- Marko, Hans (1995): „Systemtheorie: Methoden und Anwendungen für ein- und mehrdimensionale Systeme“; 3. neu bearb. und erw. Aufl., ISBN 3-540-58232-0; Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York London Paris Tokyo Hong Kong Barcelona Budapest
- Menzel, Erich (1958): „**Die Darstellung verschiedener Phasenkontrast-Verfahren in der optischen Übertragungstheorie**“; Optik; Jahrgang 15, Heft 8; Seiten 460 → 470

- Minsky, Marvin (patented 1961, filed 1957): „MICROSCOPY APPARATUS“; US Patent No: 3,013,467; US Patent Office
- Minsky, Marvin (1988): „Memoir on Inventing the Confocal Scanning Microscope“; SCANNING; Vol. 10, 4; Seiten 128 → 138
- Mott, N. F. & Massey, H. S. W. (1965): „The Theory of Atomic Collisions“; third edition; Oxford University Press, Amen House, London E.C.4, Glasgow, New York, Toronto, ...
- Müller, Rudolf (1990): „Rauschen“; zweite, überarbeitete und erweiterte Auflage, ISBN 3-540-51145-8; Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York
- Nahrstedt, David A. & Southwell, William H. (1984): „Maximum likelihood phase-retrieval algorithm: applications“; Applied Optics; Vol. 23, No. 23; Seiten 4328 → 4331
- Nieto-Vesperinas, M. (1985): „A study of the performance of nonlinear least-square optimization methods in the problem of phase retrieval“; Optica Acta; Vol. 33, No. 6; Seiten 713 → 722
- Paola, Mario di, Poterasu, Victor Florin, Muscolino, Giuseppe (1982): „STRUCTURAL PARAMETERS IDENTIFICATION IN THE FREQUENCY DOMAIN FOR A WHITE NOISE INPUT“; Rev. Roum. Sci. Techn. - Méc. Appl.; Tome 27, N° 2, ISSN 00 35-4074; Bucarest; Seiten 237 → 245
- Papoulis, Athanasios (1965): „Probability, Random Variables, and Stochastic Processes“; McGraw-Hill Book Company, New York, St. Louis, San Francisco, Toronto, London, Sydney
- Papoulis, Athanasios (1968): „Systems and Transforms with Applications in Optics“; McGraw-Hill Book Company, New York, St. Louis, San Francisco, Toronto, London, Sydney
- Pawley, James B. (1995): „Handbook of biological confocal microscopy“; 2nd ed., ISBN 0-306-44826-2; Plenum Press, a division of Plenum Publishing Corporation, New York & London
- Pockels, Friedrich (1891): „ÜBER DIE PARTIELLE DIFFERENTIALGLEICHUNG $\Delta u + k^2 u = 0$ UND DEREN AUFTRETEN IN DER MATHEMATISCHEN PHYSIK.“; Druck und Verlag von B. G. Teubner, Leipzig
- Pratt, William K. (1978): „Digital image processing“; ISBN 0-471-01888-0; John Wiley & sons, Inc., New York Chichester Brisbane Toronto
- Räntsch, Kurt (1949): „Die Optik in der Feinmeßtechnik“; Carl Hanser Verlag, München
- Rayleigh, Lord (1879): „Investigations in Optics, with special reference to the Spectroscope.“; Philosophical Magazine; 5. series, Vol. 8, No. 49; London; Chapter I, Seiten 261 → 274
- Rosenfeld, Azriel & Kak, Avinash C. (1982): „Digital Picture Processing“; Second edition Volume 1, ISBN 0-12-597301-2; Academic Press, Inc., Orlando, San Diego, New York, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo

- Ruska, E. & Knoll, M. (1931): „Die magnetische Sammelspule für schnelle Elektronenstrahlen“; Zeitschrift für technische Physik; Nr. 8; Leipzig; Seiten 389 → 399 + 448
- Schieb, Jörg (1988): „Das große Buch zu MS-DOS / PC-DOS“; 6. unveränderte Ausgabe, ISBN 3-89011-034-7; Data Becker GmbH, Düsseldorf
- Shannon, Claude E. (1949): „Communication in the Presence of Noise“; Proceedings of the I.R.E.; Jahrgang 37; Institute of Radio Engineers; Seiten 10 → 21
- Shannon, R. R. (1965): „The Testing of Complete Objectives“; APPLIED OPTICS and OPTICAL ENGINEERING; Volume III, Optical Components, Edited by Rudolf Kingslake; Academic Press, New York + London; Chapter 5 Seiten 183 → 229
- Slansky, Serge & Maréchal, André (1960): „Images en éclairage partiellement cohérent dans le cas de faibles contrastes.“; Académie des Sciences; 250; Paris; Seiten 4132 → 4134
- Sommerfeld, Arnold (1959): „Optik“; Band IV, 2. Auflage; Akademische Verlagsgesellschaft Geest & Portig K.-G., Leipzig
- Spindler & Hoyer (1995); Katalog; Spindler & Hoyer, (heute: www.linos.com), Göttingen
- Stokes, George Gabriel (1849): „ON THE DYNAMICAL THEORY OF DIFFRACTION“; Transactions of the Cambridge Philosophical Society; Volume IX; Seiten 1 → 86
- Stokseth, Per A. (1969): „Properties of a Defocused Optical System“; Journal of the optical society of America; Volume 59, Number 10; Seiten 1314 → 1321
- Stover, John C. (1990): „Optical Scattering, Measurement and Analysis“; ISBN 0-07-061814-3; McGraw-Hill, Inc., New York, St. Louis, San Francisco, ...
- Streibl, Norbert (1984): „Untersuchungen zur dreidimensionalen optischen Bildentstehung und Bildverarbeitung“, Dissertation; Naturwissenschaftliche Fakultäten der Universität Erlangen-Nürnberg
- Synge, E. H. (1928): „A Suggested Method for extending Microscopic Resolution into the Ultra-Microscopic Region.“; Philosophical magazine; 6; Kapitel Nr. VIII; Seiten 356 → 362
- Ulbricht, Friedrich R i c h a r d (1900): „Die Bestimmung der mittleren räumlichen Lichtintensität durch nur eine Messung“; Elektrotechnische Zeitschrift; Heft 29; Julius Springer, Berlin & R. Oldenbourg, München; Seiten 595 → 597
- Wagner, Karl Willy (1909): „Der Verlauf telegraphischer Zeichen in langen Kabeln“; Physikalische Zeitschrift, 10. Jahrgang, No. 23, Seiten 865 → 886
- Wagner, Karl Willy (1950): „Operatorenrechnung und Laplacesche Transformation“; 2. verbesserte Auflage; Johann Ambrosius Barth Verlag, Leipzig

- Whittaker, E. T. (1915): „On the Functions which are represented by the Expansions of the Interpolation-Theory.“, Proceedings of the Royal Society of Edingurgh; Section A, Mathematics, Jahrgang 35; Royal Society Edingurgh; Seiten 181 → 194
- Wiener, Norbert (1950, first published as a classified report to Section D₂, National Defense Research Committee in 1942): „EXTRAPOLATION, INTERPOLATION, AND SMOOTHING OF STATIONARY TIME SERIES“; The technology press of the MIT and John Wiley & Sons, Inc., New York
- Wolf, Emil (1969): „THREE-DIMENSIONAL STRUCTURE DETERMINATION OF SEMI-TRANSPARENT OBJECTS FROM HOLOGRAPHIC DATA“; Optics Communications, Vol. 1, number 4, September / October 1969; Seiten 153 → 156
- Wunsch, Gerhard (1985): „Geschichte der Systemtheorie: dynamische Systeme und Prozesse“; ISBN 3-486-29531-4; R. Oldenbourg, München, Wien
- Young, Thomas (1802): „An Account of some Cases of the Production of Colours, not hitherto described“; Philosophical transactions of the Royal Society of London; Jahrgang 92, Nr. 12; Kapitel XIV, Seiten 387 → 397
- Zernike, Fritz (1938): „The concept of degree of coherence and its application to optical problems“; Physica; V, no 8; Seiten 785 → 795

Lebenslauf

- 18.6.57 geboren in Stuttgart; Eltern: Hans-Otto Derndinger und Christa Derndinger geb. Aldinger
- '64 → '77 Volksschule / Hauptschule und Dillmann-Gymnasium in Stuttgart, Abitur
- '77 → '78 Grundwehrdienst
- '78 → '81 Studium der Elektrotechnik an der TU München, Vordiplom
- '81 → '82 Einjährige Reise durch Afrika (finanziert durch Fernsehreparaturen in München)
- '82 → '85 Fortsetzung des Studiums der Elektrotechnik an der TU München; Studienrichtung Informationstechnik (u. a. Signalverarbeitung); Schwerpunkt Kybernetik (u. a. Bildverarbeitung); Diplomarbeit über Bildauswertung bei Agfa; Dipl.-Ing. Elektrotechnik
- seit '85 beschäftigt in der Forschung bei Carl Zeiss in Oberkochen
- Tätigkeitsschwerpunkte:
- Experimentelle Arbeiten zur dreidimensionalen Wiener-Inversfilterung für das Lichtmikroskop
 - Erarbeitung eines parallel konfokalen Verfahrens für die Lichtmikroskopie, um z. B. Materialoberflächen wie Leiterkarten zu vermessen
- seit '93 Projektleiter
- seit '94 wissenschaftlicher Mitarbeiter
- 3 Projekte zum Laser Scanning Mikroskop (LSM): Erarbeitung von Varianten für die Bildaufnahme-Elektronik, Entwicklung eines Resonanzscanner-Zusatzes für die videoschnelle Bildaufnahme, theoretischer und experimenteller Vergleich von Sensoren zur Bildaufnahme (PMT, APD, APD mit Quench-Kreis)
 - Projekte zur Wafer-Inspektion, vor allem ein Projekt zur genauen Abstandsmessung zwischen Wafer-Oberfläche und Inspektions-Objektiv für das Autofokussystem
 - Z. Zt. Projekt zur automatischen Linsen-Inspektion

Meine akademischen Lehrer waren:

M. Claus, A. Führsich, F. Granzer, R. Großkopf, R. Grub, J. Hesse, K. Knupfer, H. Marko, R. Mester, H. Platzer, W. Schmid, D. Wolf