

*К. т. н. Л. А. МИХЕЕНКО, к. т. н. В. Н. БОРОВИЦКИЙ*

Украина, НТУУ «Киевский политехнический институт»  
E-mail: volodymyr\_borovitsky@iss.org.ua

Дата поступления в редакцию  
17.10.2005 г.

Оппонент к. т. н. С. А. ГОРЬЕВ  
(ОНИИТТ, г. Одесса)

## ОСВЕТИТЕЛЬНЫЙ КАНАЛ ЦИФРОВОГО ОПТИЧЕСКОГО МИКРОСКОПА НА БАЗЕ ДИФФУЗНОГО ИЗЛУЧАТЕЛЯ

*Исследованы диффузные излучатели на основе интегрирующих сфер малого размера в качестве источников излучения в цифровых оптических микроскопах.*

Оснащение оптических микроскопов цифровыми камерами, которые соединены с персональными компьютерами с программами цифровой обработки изображений, существенно расширяет возможности наблюдения образцов [1, 2]. Во-первых, появляются возможности улучшения качества изображений цифровыми методами, автоматического анализа формы, размеров и ориентации наблюдаемых объектов. Во-вторых, существенно упрощается процесс получения, хранения, пересылки и визуализации изображений. В-третьих, персональный компьютер делает возможным дистанционное управление работой микроскопа, что позволяет освободить человека-оператора от выполнения рутинных операций.

Следует подчеркнуть, что использование цифровых камер и программ цифровой обработки изображений не только расширяет возможности, но и накладывает дополнительные требования как к изображающей, так и к осветительной системам микроскопа (рис. 1) [3]. Для изображающей системы основным требованием является согласование оптического разрешения и периода пространственной дискретизации в цифровой камере. Это требование может быть выполнено выбором соответствующего линейного увеличения изображающего канала [3]. Для осветительного канала наиболее важным является обеспечение высокой однородности освещения в плоскости изображения изображающего канала, где располагается матрица фоточувствительных элементов цифровой камеры [2].

При визуальном наблюдении зрительная система человека-оператора способна распознавать изображения объектов на неравномерном поле. Поэтому при визуальном наблюдении от осветительного канала не требовалось обеспечение высокой однородности освещения, а в отдельных случаях небольшая неоднородность освещения искусственно вводилась для обеспечения комфортных условий наблюдения. При использовании цифровых камер для регистрации изображений требования по обеспечению высокой однородности освещения существенно возрастают [2]. Во-первых, неоднородность освещения, которая не

несет полезной информации об изображении, приводит к тому, что только часть динамического диапазона камеры может быть использована для регистрации полезной информации [4]. Это приводит к снижению контраста цифровых изображений (что в конечном счете уменьшает пространственную разрешающую способность), к полной или частичной потере информации о малоконтрастных фрагментах изображения. Во-вторых, неоднородность освещения вносит ошибки в процессы автоматического анализа, измерения и распознавания изображений, которые в большинстве случаев основываются на сравнении амплитуд различных фрагментов цифрового изображения [4]. Так, неоднородность освещенности существенно затрудняет использование пороговых алгоритмов сегментации изображений.

Существующие методы увеличения однородности освещенности можно условно разделить на две группы — программные и оптические.

Сущность программных методов заключается в использовании специализированного программного обеспечения для снижения неоднородности в цифровых изображениях, т. е. в устранении последствий неоднородности освещенности [4]. Однако использование программ связано с дополнительными временными и экономическими потерями, т. к. эти программы требуют настройки под конкретные изображения, наличия калибровочных снимков и т. п. Также следует отметить невысокую эффективность этих программ для цифровых изображений, которые содержат фрагменты с существенно отличающимися оптическими свойствами и размерами. Поэтому, несмотря на большой прогресс в области программ для цифровой обработки изображений, в цифровой оптической микроскопии актуальной задачей является разработка такой осветительной системы оптического микроскопа, которая обеспечивает наивысшую однородность освещенности в плоскости изображения изображающего канала, где располагается матрица фоточувствительных элементов цифровой камеры [5].

Важнейшими преимуществами оптических методов снижения неоднородности является, во-первых, универсальность — не требуется настройка под отдельные изображения, калибровочные снимки. Во-вторых, экономичность, т. к. нет необходимости в приобретении дополнительных программ, выделении времени на настройку программ компенсации неоднородности и обработку всех полученных изображений.

## ВОПРОСЫ ПРИБОРОСТРОЕНИЯ

В большинстве случаев для обеспечения однородности освещенности используются диффузные оптические фильтры, оптические фильтры с переменным по полю коэффициентом пропускания, массивы микролинз, растровые и волоконные элементы, которые встраиваются в тракт осветительного канала микроскопа [6, 7]. При этом принципиальная схема освещения микроскопа в большинстве случаев остается без изменения. В ряде случаев такие решения не являются оптимальными: если используемая схема прин-

ципиально не обеспечивает высокой однородности освещенности, то установка дополнительных оптических элементов не всегда может исправить характерные особенности этой схемы. Более оптимальным является поиск такой схемы освещения в оптическом микроскопе, которая принципиально может обеспечить наивысшую однородность освещенности. Поэтому целью данной работы является поиск такой схемы осветительного канала, которая принципиально обеспечивает наивысшую степень однородности освещенности изображения.

### Изображающие (проекционные) осветительные системы оптического микроскопа

В настоящее время основной схемой осветительного канала оптического микроскопа является *схема освещения по Келеру* [8, 9]. Сущность этой схемы заключается в следующем (рис. 2):

— изображение источника излучения (в большинстве случаев это тело накала галогенной лампы или электрическая дуга газоразрядной лампы) формируется в передней фокальной плоскости конденсора. Это обеспечивает освещение поверхности наблюдаемого образца параллельными пучками лучей и тем самым исключает формирование расфокусированного изображения источника излучения на этой поверхности. При наблюдении в отраженном свете функцию конденсора осуществляет микрообъектив в обратном ходе лучей. Поэтому изображение источника излучения формируется в задней фокальной плоскости микрообъектива;

— изображение апертурной диафрагмы коллектива располагается в плоскости предметов изображающего канала (см. рис. 1). Для наблюдения поверхности образца необходимо, чтобы ее положение совпало с этой плоскостью предметов. Так как там располагается сфокусированное и четкое изображение апертурной диафрагмы, то процесс фокусировки существенно упрощается: по мере приближения поверхности образца к плоскости предметов изображение апертурной диафрагмы становится более резким. Следует отметить, что такое решение также повышает однородность освещения, т. к. распределение освещенности по полю апертурной диафрагмы достаточно однородное.

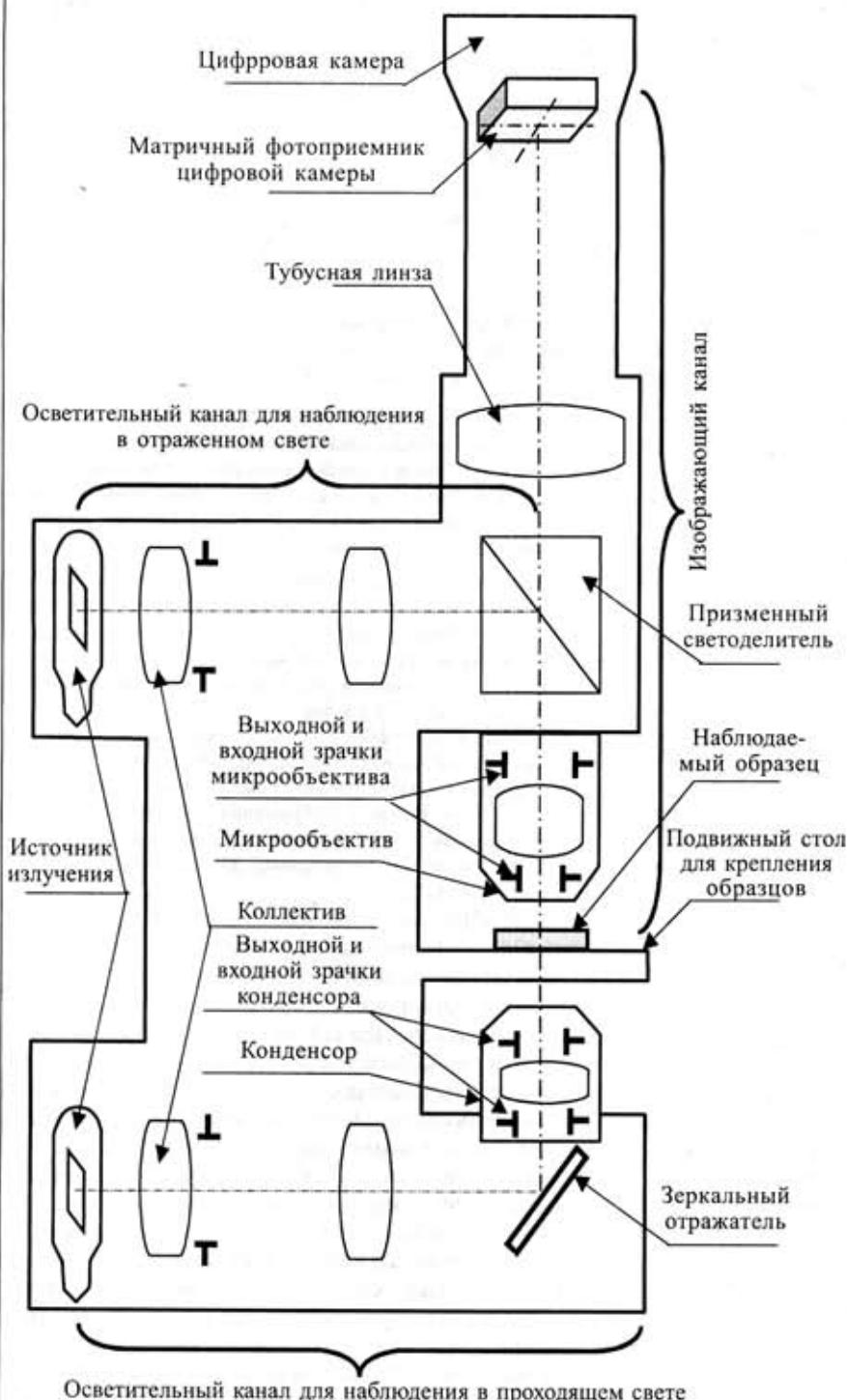


Рис. 1. Оптическая схема цифрового оптического микроскопа с осветительным каналом по схеме Келера

## ВОПРОСЫ ПРИБОРОСТРОЕНИЯ

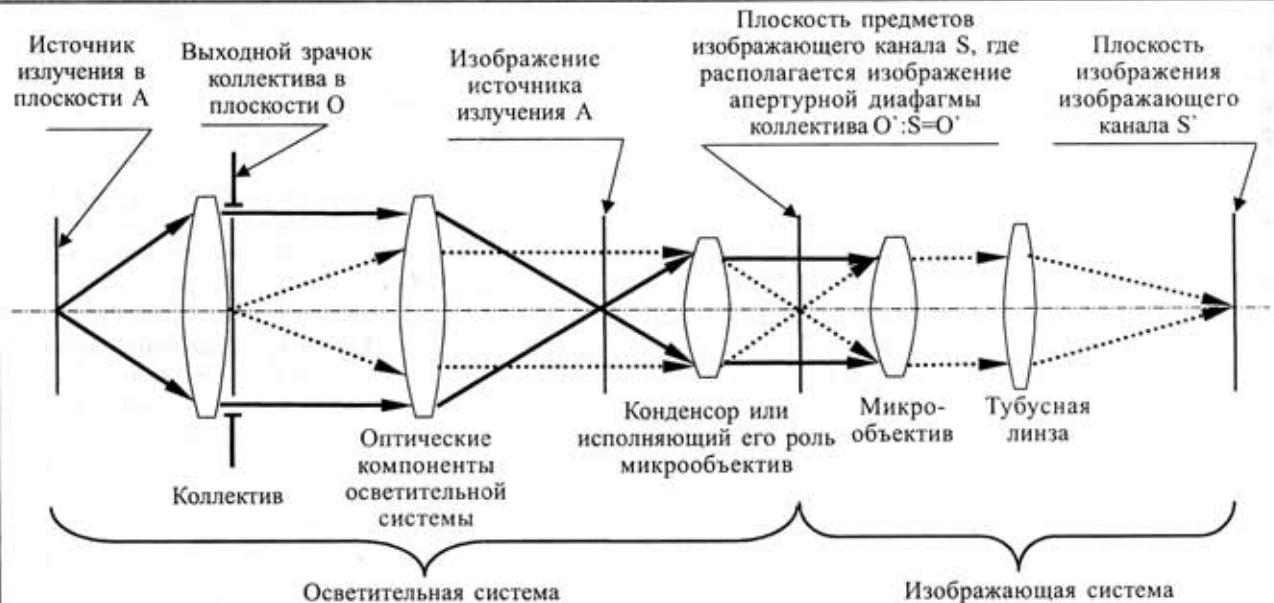


Рис. 2. Ход лучей в развернутой оптической схеме цифрового оптического микроскопа: осветительная система, в которой используется схема освещения по Келеру, и изображающая система в виде проекционной оптической системы из микрообъектива и тубусной линзы

Безусловно, схема освещения по Келеру полностью удовлетворяет требованиям к осветительной системе для визуального наблюдения — теоретически она обеспечивает однородность освещения до 98%. Однако для цифровых камер, динамический диапазон которых достигает  $2^{10}$ — $2^{14}$  (что соответствует дискретизации амплитуды с шагом 0,006—0,097 %), такая однородность уже не является приемлемой для регистрации малоконтрастных объектов или объектов малого размера.

Поэтому в современных микроскопах используются различные решения для повышения однородности освещенности. Так, в микроскопах компании «Лейка» применяются оптические фильтры с переменным пропусканием в центральной и краевых областях [5]. В микроскопах компании «Цейсс» используются специальные диффузионные оптические фильтры [9]. Также известны оптические методы повышения однородности, которые основаны на использовании растровых элементов из множества микролинз, волоконных шайб и ввода излучения в осветительную систему при помощи нерегулярных оптических волокон.

Эти решения, безусловно, повышают однородность освещенности, однако их использование не может полностью устранить следующие недостатки схемы освещения по Келеру с точки зрения обеспечения однородности освещения:

1. Для сбора как можно большей части оптического потока от источника излучения в микроскопе устанавливается коллектив с большой числовой апертурой. Ввиду того, что источник излучения — нить накала или газовый разряд — имеет определенную форму и конечные размеры, а числовая апертура является большой, то лучи, проходящие через краевые зоны коллектива, имеют значительный наклон к излучающей поверхности источника излучения. В результате плоскость апертурной диафрагмы коллектива, изображение которой формируется в плоскости предметов, освещена неравномерно. Как следствие, неравномерно освещается и поверхность образца.

2. При наблюдении в отраженном свете для обеспечения больших увеличений используются микрообъективы с малым фокусным расстоянием (1—2 мм) и большой числовой апертурой (0,9—1,4), которые выполняют роль конденсора осветительной системы. При наблюдении в проходящем свете также существует необходимость в использовании конденсоров с числовой апертурой, сравнимой с числовой апертурой микрообъективов, и которые также имеют малые фокусные расстояния. Из-за этого освещение

поверхности образца осуществляется параллельными пучками лучей, которые в краевых зонах поля зрения изображающего канала могут иметь значительный наклон к оптической оси микроскопа. В результате центральная зона поля зрения будет освещена сильнее, чем краевые области, что и обуславливает неоднородность освещенности на поверхности образца.

К перечисленным выше причинам неоднородности следует добавить такие факторы как наличие виньетирования наклонных пучков в осветительном и изображающем канале. Также определенный вклад вносит то, что при формировании изображений освещенность в центральной зоне формируется пучками лучей, которые имеют меньший наклон к оптической оси, чем пучки лучей, формирующие изображение в краевых зонах. Однако при малых размерах объектов (по сравнению с фокусными расстояниями соответствующих оптических систем) влияние этого фактора достаточно мало. Так, в изображающем канале поле зрения  $\pm 12,5$  мм в плоскости изображения при фокусном расстоянии тубусной линзы 200 мм соответствует достаточно малому углу наклона лучей ( $3,57^\circ$ ).

Таким образом, схема освещения по Келеру соответствует требованиям к осветительным системам для визуального наблюдения объектов, но имеет принципиальные ограничения с точки зрения обеспечения однородности освещения при использовании микрообъективов с большим увеличением. Это влияние неоднородности освещенности существенно усугубляется при использовании новых мегапиксельных цифровых камер с большими матрицами фоточувствительных элементов — от  $12,7 \times 9,5$  мм до  $15 \times 15$  мм вместо широко распространенных цифровых камер формата 2/3 дюйма —  $8,8 \times 6,6$  мм [1, 2]. Большие матрицы этих цифровых камер накрывают большую часть поля зрения изображающей системы, в том числе крайние зоны, где присутствует значительная неоднородность освещения.

Кроме схемы освещения по Келеру, известна схема *критического освещения* [8, 9]. Сущность критического освещения заключается в том, что изображение тела накала формируется на поверхности на-

блюдаемого образца, т. е. в плоскости  $O'$  (см. рис. 2) [8, 9]. Главным преимуществом такой схемы является потенциальная возможность получения высокой однородности освещения. Это обусловлено тем, что однородность освещенности изображения будет определяться однородностью яркости источника излучения. Такая схема может иметь такой же высокий коэффициент использования излучения, как и схема освещения по Келеру.

На практике обеспечение однородности и стабильности яркости источника излучения связано со значительными трудностями. Так, большинство экспериментов по созданию ламп со сплошным протяженным телом накала, которые имеют однородную яркость, не были успешными, это стало непреодолимым препятствием для широкого распространения схемы критического освещения в оптических микроскопах.

Также известна схема освещения, в которой изображение тела накала проецировалось в плоскость зрачка объектива [10]. Такая схема освещения получила широкое распространение в кинопроекционной технике, но редко упоминается в публикациях по оптической микроскопии [8, 9].

#### Осветительный канал оптического микроскопа на базе диффузного излучателя

*Принципиальная схема осветительного канала с диффузным излучателем.*

Обратим внимание на следующие обстоятельства: в схеме освещения по Келеру выходной зрачок коллектива играет роль вторичного излучателя, который проецируется в плоскость предмета микрообъектива. В схеме критического освещения изображение источника излучения проецируется в плоскость предмета микрообъектива. Очевидно, что если бы выходной зрачок коллектива удалось бы сделать протяженным равномерным излучателем, то такая схема освещения была бы наилучшей и свободной от перечисленных выше недостатков схем освещения по Келеру и критического освещения.

Известно, что в оптических измерениях используется протяженный равномерный излучатель на основе интегрирующей сферы. Этот излучатель широко используется в спектроскопии, измерениях луцистых потоков, измерениях характеристик оптических

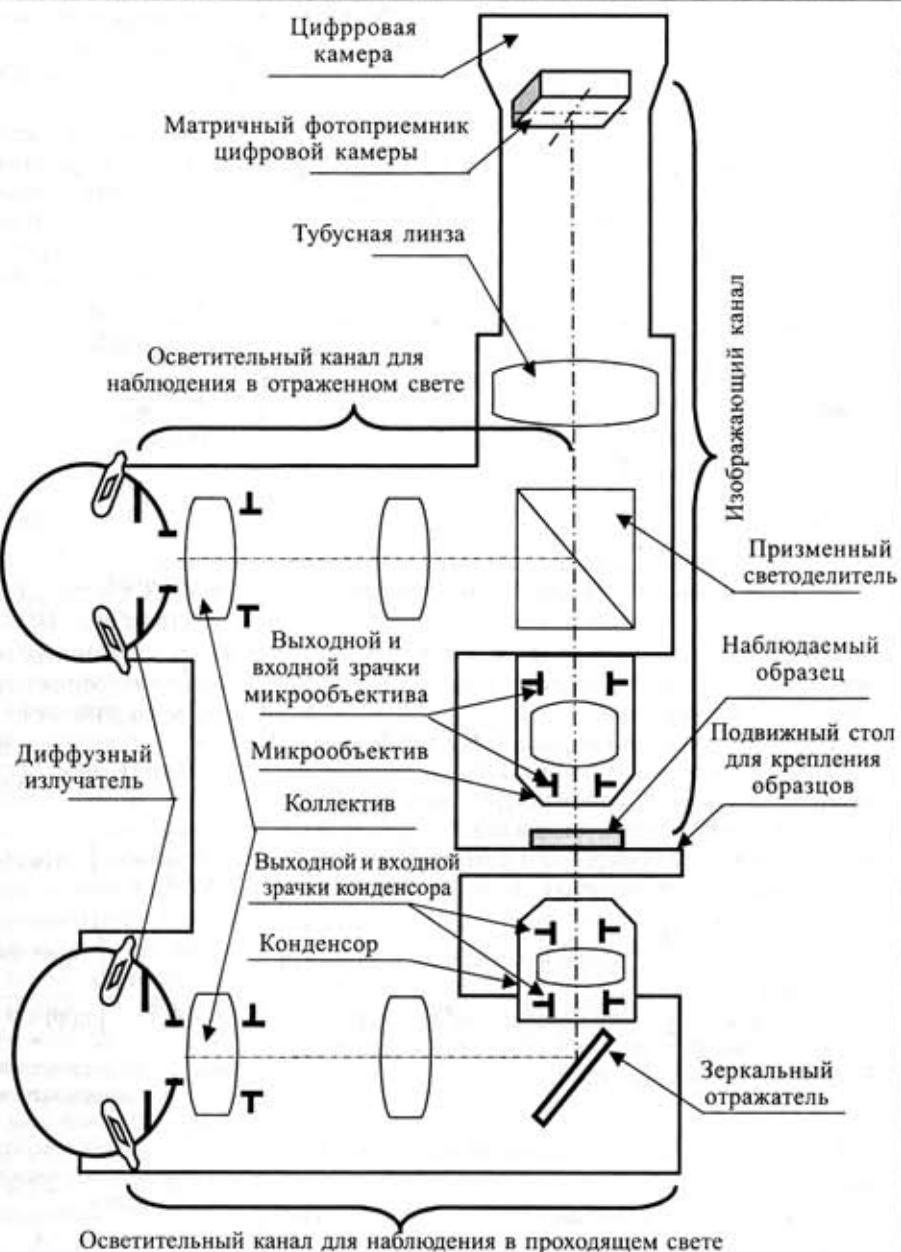


Рис. 3. Оптическая схема цифрового оптического микроскопа с осветительным каналом на базе диффузного излучателя

систем и т. п. Если в качестве источника излучения выбрать диффузный излучатель на основе интегрирующей сферы малого диаметра, то данная схема освещения будет как раз и обладать таким качеством как однородность освещенности, которое необходимо уже и для оптической микроскопии (рис. 3). Однако для реализации данной схемы освещения необходимо иметь соответствующие методику расчета и рекомендации для научно обоснованного выбора параметров излучателя.

#### Яркостное поле выходного зрачка ДИ.

Рассмотрим формирование освещенности внутренней поверхности сферы, воспользовавшись методом последовательных отражений [11, 12]. Пусть внутрь сферы от источника излучения попадает монохроматический поток  $\Phi_0$  и в районе точки  $M$  освещает некоторый элемент поверхности  $dA_M$  (рис. 4).

## ВОПРОСЫ ПРИБОРОСТРОЕНИЯ

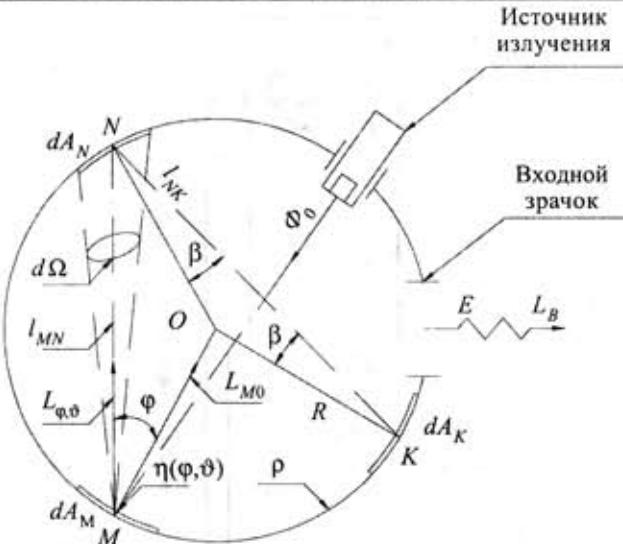


Рис. 4. Формирование яркостного поля выходного зрачка  $L_B$ , пропорционального освещенности на поверхности зрачка  $E$

При этом в точке  $M$  будет создана нулевая освещенность  $E_0 = E_M$ , определяемая отношением потока  $\Phi_0$  к освещаемой площади  $dA_M$ .

Образовавшееся при отражении и рассеянии от внутренней поверхности фотометрическое тело будем характеризовать двухмерной неселективной функцией  $\eta(\phi, \vartheta)$ . Тогда яркость площадки  $dA_M$  в направлении, определяемом полярным и азимутальным углами  $\phi$  и  $\vartheta$ , находится из следующего выражения:

$$L_{\phi, \vartheta} = L_{M0} \cdot \eta(\phi, \vartheta), \quad (1)$$

где  $L_{M0}$  — яркость площадки в направлении нормали к площадке  $dA_M$ .

Определим силу света площадки  $dA_M$  в направлении  $\phi$ , приняв допущение о том, что функция  $L_{\phi, \vartheta}$  является осесимметричной:

$$L_\phi = L_{M0} \cdot \eta(\phi).$$

В этом случае выражение для расчета силы света запишется так:

$$I_M(\phi) = L_{M0} \cdot \eta(\phi) \cdot \cos \phi \cdot dA_M. \quad (2)$$

Тогда поток, отраженный элементом  $dA_M$  в телесном угле  $2\pi$  стерадиан, можно представить следующим образом:

$$\Phi_M = \rho \Phi_0 = \int_{2\pi} I_M(\phi) d\Omega = dA_M L_{M0} \int_{2\pi} \eta(\phi) \cdot \cos \phi d\Omega, \quad (3)$$

где  $\rho$  — коэффициент отражения внутренней поверхности сферы.

Следовательно,

$$L_{M0} = \frac{\rho \Phi_0}{dA_M \Theta}, \quad (4)$$

где  $\Theta$  — эквивалентный телесный угол [13, с. 56]:

$$\Theta = \int_{2\pi} \eta(\phi) \cdot \cos \phi d\Omega.$$

Освещенность, создаваемая в любой точке сферы  $N$  от элемента  $dA_M$ , определяется из выражения

$$E_N = \frac{I_M(\phi)}{l_{MN}^2} \cos \phi = \frac{L_M \cdot \eta(\phi) \cdot \cos \phi \cdot dA_M}{4R^2 \cdot \cos \phi} = \frac{\rho \Phi_0 \cdot \cos \phi}{4R^2 \Theta}, \quad (5)$$

где  $R$  — радиус сферы.

Очевидно, что отклонение от свойств идеального рассеивателя внутренней поверхности сферы должно наиболее значительно сказываться при первом отражении. Расчет последующих отражений с учетом усреднения и свойств большинства покрытий можно выполнить в приближении диффузного рассеяния.

Определим освещенность произвольной точки  $K$ , обусловленную отражением от элемента  $dA_N$  потока, поступающего от площадки  $dA_M$ . Сила света элемента  $dA_N$  в направлении  $\beta$

$$I_{N, \beta} = L_N \cdot dA_N \cdot \cos \beta. \quad (6)$$

Для диффузно рассеивающей поверхности [14]

$$L_N = \frac{\rho}{\pi} E_N. \quad (7)$$

Поэтому

$$\begin{aligned} dE_K &= \frac{I_{N, \beta}}{l_{NK}^2} = \frac{L_N \cdot dA_N \cdot \cos \beta}{4R^2 \cdot \cos \beta} = \frac{\rho E_N \cdot dA_N}{4\pi R^2} = \\ &= \frac{\rho^2 \Phi_0 \cdot \eta(\phi) \cdot dA_N}{16\pi R^4 \Theta} = \frac{\rho^2 \Phi_0 \cdot \eta(\phi)}{4R^2 A_{\phi} \Theta} dA_N, \end{aligned} \quad (8)$$

где  $A_{\phi}$  — площадь внутренней поверхности сферы.

Вся внутренняя поверхность сферы создает в точке  $K$  освещенность

$$\begin{aligned} E_K &= \int_{A_{\phi} - A_o} dE_K = \frac{\rho^2 \Phi_0}{4R^2 A_{\phi} \Theta} \cdot \int_{A_{\phi} - A_o} \eta(\phi) \cdot dA_N = \\ &= \frac{\rho^2 \Phi_0}{4R^2 A_{\phi} \Theta} \cdot \int_{2\pi - \Omega_o} \eta(\phi) 4R^2 \cdot \cos \phi d\Omega = \\ &= \frac{\rho^2 \Phi_0}{4R^2 A_{\phi} \Theta} \cdot \frac{\int_{2\pi - \Omega_o} \eta(\phi) \cdot \cos \phi d\Omega}{\int_{2\pi} \eta(\phi) \cdot \cos \phi d\Omega} = \frac{\rho^2 \Phi_0}{A_{\phi}} \frac{A_o - A_o}{A_{\phi}} = \frac{\rho^2 \Phi_0}{A_{\phi}} \cdot A_o^*, \end{aligned} \quad (9)$$

где  $A_o$  — суммарная площадь всех отверстий в сфере (включая и площадь выходного зрачка  $A_B$ );

$\Omega_o$  — телесный угол, опирающийся на эквивалентное суммарное отверстие сферы;

$A_o^*$  — относительная эффективная рассеивающая поверхность сферы:

$$A_o^* = \frac{A_{\phi} - A_o}{A_{\phi}}.$$

При выводе (9) мы учитывали, что равные телесные углы, вершины которых находятся на поверхности сферы, вырезают на этой поверхности равные площадки.

Последующие отражения создают освещенность  $E_n$ , которая определяется следующим образом:

$$E_n = \rho A_o^* E_{n-1}. \quad (10)$$

Тогда полная (суммарная) освещенность любой точки сферы  $E_{\Sigma}$  будет равна

$$\begin{aligned} E_{\Sigma} &= E_N + E_K + \sum_{n=1}^{\infty} E_n = E_N + \frac{1}{1 - \rho A_o^*} E_K = \\ &= \frac{\rho \Phi_0 \eta(\phi)}{4R^2 \Theta} + \frac{1}{1 - \rho \cdot A_o^*} \frac{\rho^2 \Phi_0}{A_{\phi}} A_o^* = \frac{\rho \Phi_0}{4\pi R^2} \left[ \frac{\pi \eta(\phi)}{\Theta} + \frac{\rho A_o^*}{1 - \rho A_o^*} \right]. \end{aligned} \quad (11)$$

Выражение (11) описывает освещенность в любой точке сферы при любой (заданной) форме инди-

## ВОПРОСЫ ПРИБОРОСТРОЕНИЯ

*Рекомендуемые источники излучения для диффузных излучателей цифровых оптических микроскопов*

Тип лампы	Напряжение, В	Мощность, Вт	Продолжительность горения, ч	Габаритные размеры (не более), мм		Световой поток, лм
				Длина с учетом выводов	Диаметр	
КГМ 9-75	9	75	55	45	11	35*
КГМ 12-100	12	100	85	44	11	3000
КГМ 24-150	24	150	50	47	12,5	5000
КГМ 24-250	24	250	50	55	13	8500
КГМ 30-300-2	30	300	55	55	15	35*

\* Габаритная яркость  $\times 10^6 \text{ Кд/м}^2$ .

катрисы излучения источника и любом пространственном распределении потока после отражения от внутренней поверхности. Тогда, считая внутреннюю поверхность сферы ламбертовским отражателем [10], получаем:

$$E_{\Sigma} = \frac{\rho \Phi_0}{4\pi R^2} \frac{1}{1-\rho}. \quad (12)$$

Проанализируем вклад каждого из отражений в создание суммарного яркостного поля выходного зрачка диффузного излучателя (ДИ), воспользовавшись следующими соображениями. Вид фотометрического тела элемента  $dA_M$  определяется функцией  $\eta(\phi, \vartheta)$ , которая формируется индикаторисой источника излучения, рассеивающими свойствами покрытия и размерами освещаемой зоны (эффект усреднения). Графики коэффициентов яркости наиболее перспективных для ДИ покрытий [15—17] показаны на рис. 5. В таблице представлены отобранные нами галогенные лампы [18], имеющие относительно широкогородильные и равномерные индикаторисы излучения. Экспериментальные исследования этих ламп в комбинации с покрытиями на основе сернокислого бария и из обработанного алюминия показали, что даже при первом отражении в этом случае формируется фотометрическое тело, весьма близкое к ламбертовскому, а при последующих отражениях — практически от него не отличающееся.

Иначе обстоит дело с излучателями, имеющими узкие индикаторисы, в первую очередь светодиодами и лампами накаливания со специальным телом нака-

ла. Даже при использовании в целях усреднения значительного числа таких излучателей (в эксперименте более 12 светодиодов типа АЛ-107Б) вторичная освещенность имеет выраженный зонный характер, который полностью не сглаживается и при последующих отражениях. Фотометрическое тело при этом значительно отличается от ламбертовского.

Таким образом, если в ДИ используются рекомендуемые галогенные лампы, выражения (5), (9) и (11) для практического анализа можно упростить:

$$E_1 = E_N = \frac{\rho \Phi_0 \eta(\phi)}{4R^2 \Theta} = \frac{\rho \Phi_0}{4\pi R^2}; \quad (13)$$

$$E_2 = E_K = \frac{\rho^2 \Phi_0}{4R^2 \Theta} A^o; \quad (14)$$

$$E_{\Sigma} = \frac{\rho \Phi_0}{4\pi R^2} \left[ \frac{\pi \eta(\phi)}{\Theta} + \frac{\rho A^o}{1-\rho A^o} \right] \approx \frac{\rho \Phi_0}{4\pi R^2} \frac{1}{1-\rho A^o}. \quad (15)$$

Графики (13)–(15) показаны на рис. 6 и позволяют сделать следующие выводы.

1. Яркость выходного зрачка ДИ значительно увеличивается с ростом количества отражений.

2. Увеличение коэффициента отражения покрытия также ведет к увеличению яркости выходного зрачка, но одновременно усиливается влияние величины относительного отверстия ДИ ( $D^o$ ) на распределение освещенности в сфере. Для рассмотренных покрытий значения  $D^o$  должны находиться в пределах 0,2...0,3. При использовании покрытий с  $\rho > 0,9$  относительное отверстие ДИ следует уменьшать.

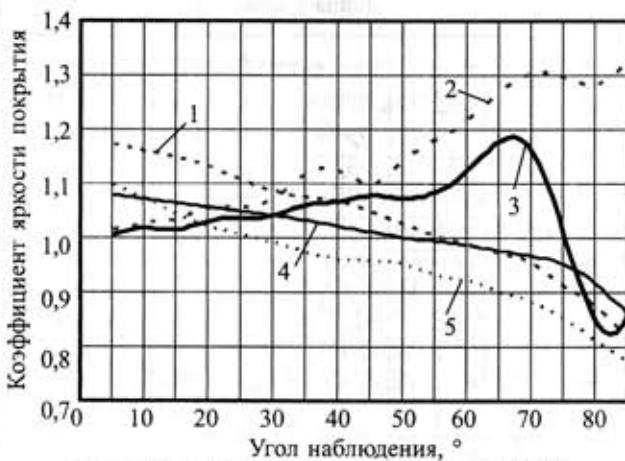


Рис. 5. Коэффициенты яркости покрытий ДИ:  
1 — сернокислый барий с ацетилцеллюлозой; 2 — алюминиевый рассеиватель; 3 — прессованный порошок сернокислого бария;  
4 — сернокислый барий с поливиниловым спиртом; 5 — напыленная окись магния

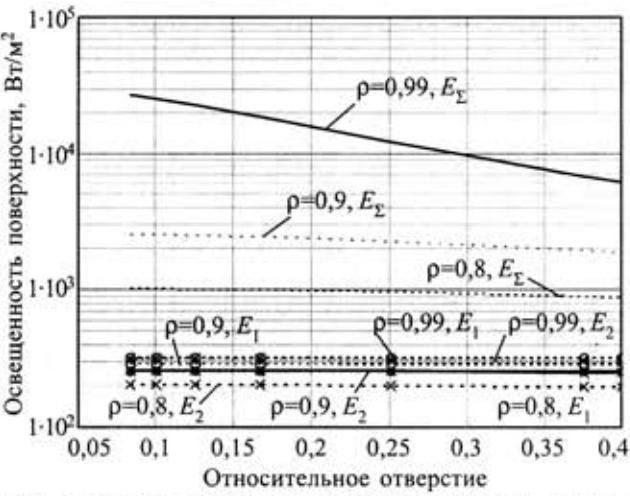


Рис. 6. Освещенность внутренней поверхности интегрирующей сферы для падающего потока  $\Phi_0=1000 \text{ Вт}$  и радиуса сферы  $R=0,5 \text{ м}$

## ВОПРОСЫ ПРИБОРОСТРОЕНИЯ

Если основной задачей ДИ является создание яркостного поля с высокой равномерностью, то не следует использовать высокоотражающие покрытия, особенно в комбинации с излучателями, имеющими узкую индикаторису и большое относительное отверстие.

Наиболее эффективной мерой уменьшения неравномерности яркости выходного зрачка является подбор источников излучения с минимальными размерами тела накала и широкоугольной индикаторисой. Относительное отверстие должно быть минимально возможным.

Для более точного анализа и при использовании любых источников излучения следует использовать формулы (5), (9) и (11), а функцию  $\eta(\phi, \vartheta)$  определять экспериментально. Однако, как показала практика, сделанные выводы остаются справедливыми.

### Цветопередача.

Цветопередача в микроскопе определяется спектральной характеристикой излучения ДИ, спектральными характеристиками пропускания осветительного и изображающего каналов и спектральной чувствительностью используемой цифровой камеры. В свою очередь спектральная характеристика ДИ формируется в основном под действием трех факторов — спектральной характеристики источника излучения, спектральной характеристики покрытия и количества эффективных отражений от стенок интегрирующей сферы. Отметим, что последнее обстоятельство

часто не учитывается, что приводит к погрешностям вычисления спектральной плотности энергетической яркости (СПЭЯ) выходного зрачка. На рис. 7 показаны спектральные характеристики покрытий, наиболее часто используемых в шаровых фотометрах и ДИ [19, 20], и на рис. 8 — СПЭЯ выходного зрачка, рас-

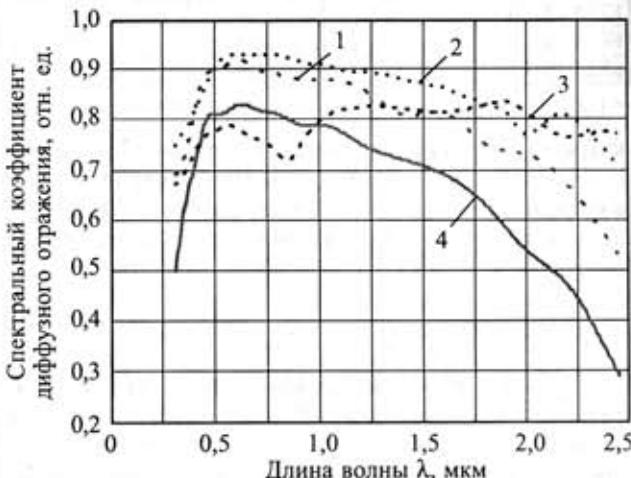


Рис. 7. Спектральные характеристики покрытий, наиболее часто используемых в шаровых фотометрах и ДИ:  
1 — алюмосиликат магния в поливинилбутирате; 2 — прессованный порошок сернокислого бария; 3 — алюминиевый рассеиватель; 4 — сернокислый барий в этилцеллюлозе

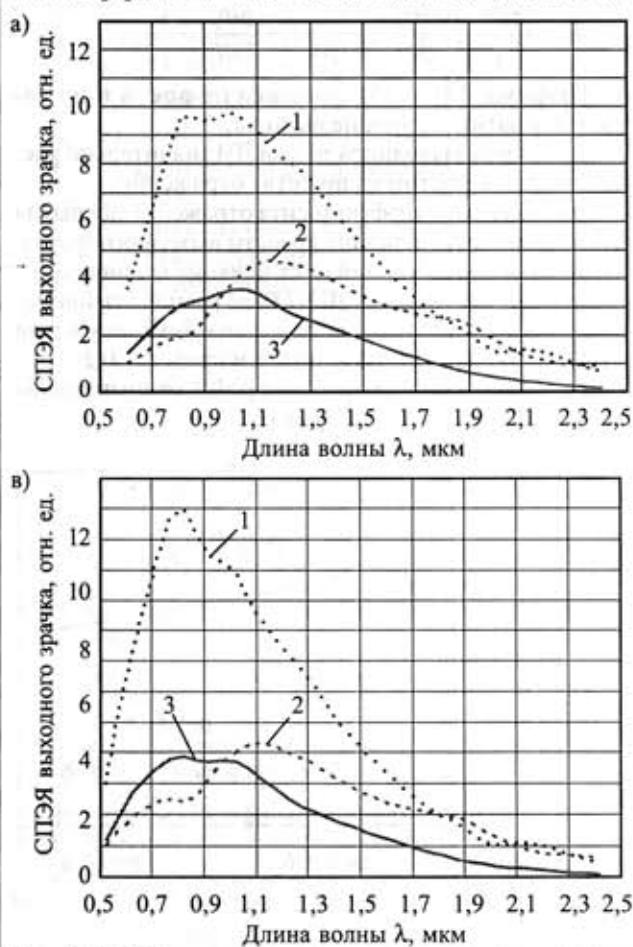
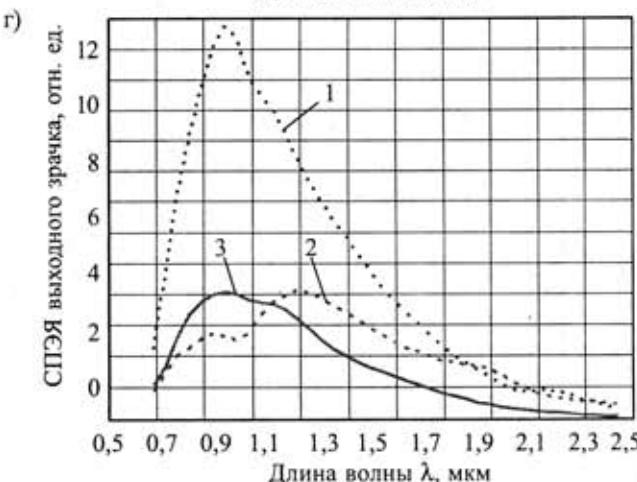
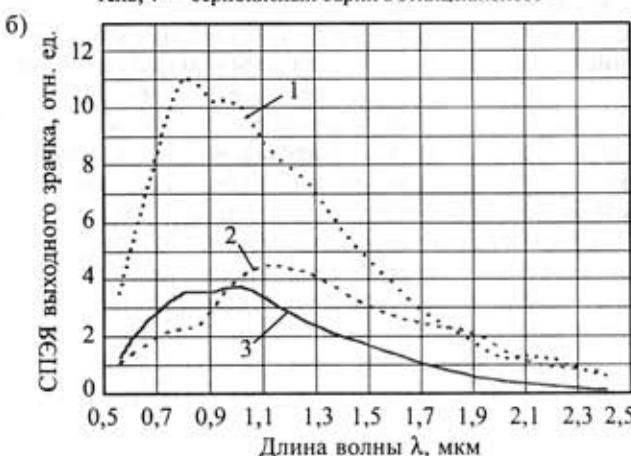


Рис. 8. СПЭЯ выходного зрачка для температур источника излучения 2400 K (a), 2600 K (b), 2800 K (c), 3000 K (d) при использовании следующих покрытий:  
1 — прессованный порошок сернокислого бария; 2 — алюминиевый рассеиватель; 3 — сернокислый барий в этилцеллюлозе



считанная с использованием (15) при замене интегральных значений  $\rho$  и  $\Phi_0$  на спектральные  $\rho(\lambda)$  и  $\Phi_0(\lambda)$ . При этом спектральная характеристика источников излучения рассчитывалась по обычной методике [11], но с учетом поправок, определяемых по реально измеренным характеристикам некоторых ламп накаливания [17, 21, 22].

Выполненные исследования позволяют сделать ряд практических выводов.

Лучшими фотометрическими характеристиками обладает покрытие из прессованного порошка сернокислого бария, но это покрытие недостаточно стойко к механическим воздействиям и быстро (в течение нескольких месяцев) заметно изменяет свои свойства. Поэтому если цифровой оптический микроскоп используется для измерения и сравнения оптических характеристик образцов, применение этого покрытия нежелательно.

Высокой стабильностью и достаточно хорошими фотометрическими свойствами отличаются покрытие на основе сернокислого бария в этилцеллюзоподобном (для видимой и ИК-области) и покрытие из обработанного алюминия (ближняя ИК- и видимая области). Весьма перспективным для диффузных излучателей является покрытие из прессованного политетрафторэтилена [23], имеющее коэффициент отражения больше 99% от ультрафиолетовой до ближней инфракрасной области и отличающееся хорошей стабильностью, но его технология в Украине пока не освоена.

Учитывая малый срок службы галогенных ламп, наиболее приемлемых для ДИ по фотометрическим соображениям (см. таблицу), они обычно эксплуатируются при пониженном напряжении. Анализ спектральной плотности энергетической яркости выходного зрачка при различных температурах излучателей показал, что даже при использовании наименее селективных покрытий это приводит не только к количественному, но и к качественному изменению спектра излучения выходного зрачка (рис. 8), учет которого только на основе законов теплового излучения, очевидно, является некорректным.

### Заключение

Предложена новая схема освещения для оптического микроскопа на основе диффузного излучателя и теория ДИ, позволяющая в первом приближении описать формирование яркостного поля выходного зрачка и его спектральную характеристику в зависимости от конструктивных параметров излучателя и используемых элементов. Получены инженерные формулы для расчета характеристик и параметров ДИ и оценки его точности. Разработаны рекомендации по проектированию осветительных каналов оптических микроскопов по заданным параметрам, опирающиеся на доступную в Украине элементную базу.

Дальнейшая работа предусматривает уточнение предложенной схемы осветительного канала оптического микроскопа с ДИ и ее всестороннее экспериментальное исследование.

### ИСПОЛЬЗОВАННЫЕ ИСТОЧНИКИ

1. Hand W. G. A practical guide to digital microscopy // Photonics Spectra. — 2001. — N 11. — P. 100—104.
2. Van Vliet L. J., Boddeke F. R., Sugar D., Yong I. T. Image detectors for digital image microscopy // In: Digital image analysis of microbes: imaging, morphometry, fluometry and motility techniques and applications, modern microbiological methods. — Chichester: John Wiley&Sons, 1998. — P. 37—64.
3. Боровицкий В. Н. Выбор цифровой камеры для оптического микроскопа // Технология и конструирование в электронной аппаратуре. — 2004. — № 1. — С. 21—26.
4. Likar B., Maintz B. A., Viergever M. A., Pernus P. Retrospective shading correction based on entropy minimization // Journal of Microscopy. — 2000. — Vol. 197. — P. 285—295.
5. Schonenborn J. The illumination optics in the new Leica DM R HCS microscope system // Leica — Microsystems Scientific and Technical Information, Edition CDR 1. — August, 1988. — P. 37—46.
6. Варламова Л. Л., Натаровский С. Н. Увеличение центрированной части оптической системы растрового осветителя // Оптико-механическая промышленность. — 1990. — № 3. — С. 37—40.
7. Жидкова Н. А., Калинина О. Д., Кучин А. А. и др. Использование линзовых растротов в осветителях микроскопов отраженного света // Там же. — 1988. — № 9. — С. 23—24.
8. Михель К. Основы теории микроскопа. — М.: Машиностроение, 1955.
9. Скворцов Г. Е., Панов В. А., Поляков Н. И., Федин Л. А. Микроскопы. — Л.: Машиностроение, 1967.
10. Pat. 1143287 USA. Lighting system for cinematographs / A. Kohler. — 1905.
11. Гуревич М. М. Фотометрия (теория, методы и приборы). — Л.: Энергоатомиздат, 1984.
12. Рвачёв В. П., Сахновский М. Ю. К теории и применению интегрального фотометра для исследования объектов с произвольными индикаторами рассеяния // Оптика и спектроскопия. — 1965. — Т. 18, вып. 3. — С. 486—494.
13. Сапожников Р. А. Теоретическая фотометрия. — М.: Энергия, 1977.
14. Kohler A. A new system of illumination for photomicrographic purpose // Zeitschrift fur wissenschaftl. Mikroskope. — 1983. — N 10. — P. 433—440.
15. Кунецкий М. Г., Гуминецкий С. Г., Сахновский М. Ю. и др. Исследование коэффициентов яркости покрытий из краски на основе BaSO<sub>4</sub> // Оптико-механическая промышленность. — 1981. — № 6. — С. 3—4.
16. Гутников Б. Я., Слепова В. А., Смирнова К. А. и др. Фотометрические свойства алюминиевых рассеивателей // Там же. — 1972. — № 8. — С. 54—56.
17. Иванов А. П. Оптика рассеивающих сред. — Минск: Наука и техника, 1969.
18. Лампы накаливания галогенные / Электротехника СССР. — Информэлектро, 1988.
19. Азаренок В. В. К вопросу покрытия фотометрических шаров // Светотехника. — 1978. — № 10. — С. 7—9.
20. Левинсон А. И., Королькова Н. М. Покрытие для интегрирующих сфер спектрофотометрических приборов // Оптико-механическая промышленность. — 1974. — № 11. — С. 33—37.
21. Смолкин М. Н., Никитичева А. М. Спектральная плотность излучения ламп накаливания // Оптико-механическая промышленность. — 1974. — № 9. — С. 14.
22. Бураковский Т. Инфракрасные излучатели. — Л.: Энергия, 1978.
23. Weidner V. R., Hisia J. J. Reflection properties of pressed polytetrafluoroethylene powder // J. Opt. Soc. of Amer. — 1981. — Vol. 71. — P. 856—861.