

РАЗРАБОТКА ВЫСОКОАПЕРТУРНЫХ ОБЪЕКТИВОВ МИКРОСКОПОВ
С УВЕЛИЧЕННЫМ ПОЛЕМ ЗРЕНИЯ И РЕГИСТРАЦИЕЙ ИЗОБРАЖЕНИЯ НА ПЗС-ПРИЕМНИКАХ

А. Д. КОЖИНА*, Е. А. ЦЫГАНОК

Университет ИТМО, Санкт-Петербург, Россия

* adkozhiba@itmo.ru

Аннотация. Целью работы является усовершенствование световых микроскопов для биологических исследований, регистрирующих изображения на ПЗС-приемниках, обеспечивая работу без временных затрат на перефокусировку оптики. Показана перспективность и актуальность разработки высокоапертурных объективов микроскопов с увеличенным полем зрения, работающих совместно с матричным ПЗС-приемником изображения. Разработан высокоапертурный широкопольный объектив микроскопа, приведены его оптические характеристики и показана оптическая схема. Проведены оценка и расчет допусков для последующего изготовления по методу Монте-Карло.

Ключевые слова: высокоапертурный объектив, микроскопия, анализ крови, коррекция аберраций, микрообъектив, поле зрения

Благодарности: Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта НИРМА ФТ МФ Университета ИТМО.

Ссылка для цитирования: Кожина А. Д., Цыганок Е. А. Разработка высокоапертурных объективов микроскопов с увеличенным полем зрения и регистрацией изображения на ПЗС-приемниках // Изв. вузов. Приборостроение. 2022. Т. 65, № 8. С. 575—580. DOI: 10.17586/0021-3454-2022-65-8-575-580.

DEVELOPMENT OF HIGH-APERTURE MICROSCOPE OBJECTIVES
WITH AN ENLARGED FIELD OF VIEW AND IMAGE RECORDING ON CCD DETECTORS

A. D. Kozhina*, E. A. Tsyganok

ITMO University, St. Petersburg, Russia

* adkozhiba@itmo.ru

Abstract. The aim of the work is to improve light microscopes for biological research, which record images on CCD detectors, providing operation without time spent on optics refocusing. The prospects and relevance of the development of high-aperture microscope objectives with an enlarged field of view, operating in conjunction with a matrix CCD image detector, are shown. A high-aperture wide-field microscope objective has been developed, its optical characteristics are given, and the optical scheme is demonstrated. Evaluation and calculation of tolerances for subsequent manufacturing by the Monte Carlo method are carried out.

Keywords: high-aperture objective, microscopy, blood test, aberration correction, micro-objective, field of view

Acknowledgments: The study was supported by RPMA grant of School of Physics and Engineering of ITMO University.

For citation: Kozhina A. D., Tsyganok E. A. Development of high-aperture microscope objectives with an enlarged field of view and image recording on CCD detectors. *Journal of Instrument Engineering*. 2022. Vol. 65, N 8. P. 575—580 (in Russian). DOI: 10.17586/0021-3454-2022-65-8-575-580.

Введение. Одним из основных приборов, применяемых при исследовании биоматериала, является световой микроскоп для биологических исследований. В процессе его использования оператору приходится сменить несколько объективов для наблюдения предмета исследования с разными оптическими характеристиками. Объективы малого увеличения и малой числовой апертуры используются для наблюдения в широком поле зрения и поиска „аномалии“ в биоматериале. Обычно к ним относят объективы с увеличением $1-4\times$ и линейным полем зрения от 2 мм с апертурой не более 0,3. Объективы большого увеличения и высокой апертуры необходимы для детального рассмотрения „аномалии“ в биоматериале. К ним относят объективы, имеющие числовую апертуру более 0,5. Их линейное увеличение выше $40\times$, а линейное поле зрения менее 1 мм.

Целью статьи является усовершенствование световых микроскопов, регистрирующих изображения на ПЗС-приемниках, обеспечивая работу без временных затрат на перефокусировку оптики, что достигается высокоапертурными объективами с увеличенным полем зрения.

Одним из направлений использования биологического микроскопа является исследование клеток крови и выявление разных возбудителей болезней [1—4]. Размеры некоторых объектов представлены в табл. 1 [2—4].

Таблица 1

Исследуемый объект	Размер объекта, мкм
Клетки крови	
Эритроциты	6—9
Тромбоциты	2—5
Лейкоциты	
Нейтрофилы	10—15
Эозинофилы	12—17
Базофилы	9—12
Лимфоциты	6—18
Моноциты	18—20
Возбудители болезней	
Малярия (лат. <i>Plasmodium</i>)	2—3
Спирохеты (лат. <i>Spirochaetales</i>)	Длина 3—500, толщина 1,5
Трипаносомы (лат. <i>Trypanosoma</i>)	12—40
Микрофилярии (лат. <i>Onchocercidae</i>)	13—207

Современные объективы биологических микроскопов, представленные на рынке, работают либо с широким полем зрения, либо с высокой числовой апертурой [5—9]. Зачастую у современных объективов при апертуре свыше 0,5 линейный размер поля зрения в пространстве предметов составляет доли миллиметра. Этого недостаточно для корректного анализа биоматериала. У объективов, линейное поле зрения в пространстве предметов которых составляет не менее 2 мм, числовая апертура не превышает 0,3. Этого не всегда достаточно для корректного анализа биоматериала.

Кроме биологических микроскопов для исследования биоматериала используют зoоm-микроскопы. Они обеспечивают плавное изменение увеличения. Существуют комплексные модели типа ZEISS Axio Zoom.V16 [10—12]. В зависимости от выбранного увеличения микроскоп дает возможность рассматривать предметы размером от 1,25 до 20 мм. В стандартную комплектацию прибора входит объектив, позволяющий рассматривать объекты при числовой апертуре 0,25 и линейном поле зрения 1,25 мм при максимальном увеличении. Использование дополнительного объектива позволит работать при числовой апертуре 0,5 и линейном поле зрения 1,5 мм (при максимальном увеличении). Однако дополнительный объектив, весящий порядка 1,5 кг, не входит в комплект поставки. При этом сам микроскоп в минимальной комплектации имеет массу более 22 кг [10], что снижает возможность транспортировки прибора.

Более простые зoоm-микроскопы типа Микромед MC-5-ZOOM [13] и Levenhuk ZOOM 1T [14] хоть и обладают широким полем зрения, имеют низкое разрешение из-за большого рабо-

чего расстояния (свыше 100 мм). В среднем их поле зрения в зависимости от используемого увеличения составляет от 4 до 20 мм.

Проектирование оптической системы объектива микроскопа. Сложность разработки высокоапертурных объективов микроскопов обусловлена необходимостью коррекции наиболее влияющих aberrаций, связанных с высокой апертурой (сферическая aberrация, кома и сферохроматизм) [15]. При увеличении поля зрения возникает необходимость коррекции полевых aberrаций (кома, астигматизм, кривизна) [1, 16]. Кроме того, расширение поля зрения приведет к увеличенным диаметрам линз, это, в свою очередь, приведет к невозможности изготовления компонентов с большой оптической силой (из-за малости радиусов), которые необходимы в высокоапертурных объективах микроскопов.

В качестве базовой используется схема, включающая фронтальную и масштабно-компенсационную части с параллельным ходом луча между ними (рис. 1). Использование этой схемы позволяет получить необходимое увеличение оптической системы с помощью соотношения задних фокусных расстояний фронтальной и масштабно-компенсационной частей оптической системы. Для обеспечения широкого поля зрения и сохранения небольших габаритов приборов было выбрано увеличение $4\times$, соответствующее одному из стандартных увеличений микрообъективов.

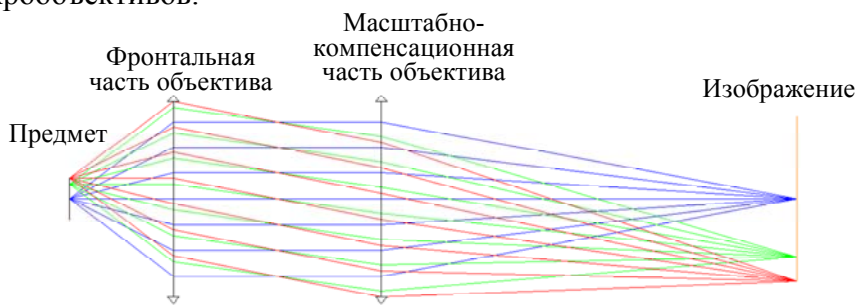


Рис. 1

Основная задача фронтальной части оптической системы объектива микроскопа — собрать лучи и уменьшить угол апертурного луча для последующих компонентов. С этой целью использовалась пара менисков. После уменьшения апертурного угла парой менисков компоненты оптической системы были рассчитаны по ходу первого параксиального луча через оптическую систему [17] для коррекции наиболее влияющих aberrаций: сферической aberrации, комы и хроматических aberrаций. Масштабно-компенсационная часть объектива используется для дополнительной коррекции aberrаций, связанных с высокой апертурой, и коррекции полевых aberrаций.

Рассчитанная схема (рис. 2) имеет числовую апертуру 0,5, линейное поле зрения 2 мм, увеличение $4\times$. Длина рассчитанной оптической системы не превышает 100 мм. Рабочее расстояние — от верхней поверхности покровного стекла до оправы первой линзы объектива — составляет 1,1 мм. В данной схеме не используются стекла с аномальным ходом дисперсии и кристаллы.

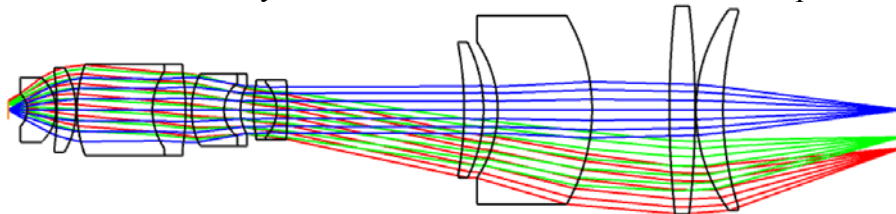


Рис. 2

Частотно-контрастная характеристика (ЧКХ) системы представлена на рис. 3 (черная кривая — ЧКХ дифракционного изображения, синяя — ЧКХ осевой точки поля, красные — ЧКХ на краю поля зрения). Видно, что на осевой точке и в точке поля $y = 0,707y_{\max}$ (зеленые кривые; зеленая и красная сплошные кривые — меридиональная плоскость, пунктирные — сагиттальная) достигнуто качество, близкое к дифракционному. Качество на крайней точке поля значительно

ниже, однако оно достаточно для того, чтобы заметить интересующий нас объект и впоследствии переместить столиком микроскопа в центр с целью его детального рассмотрения.

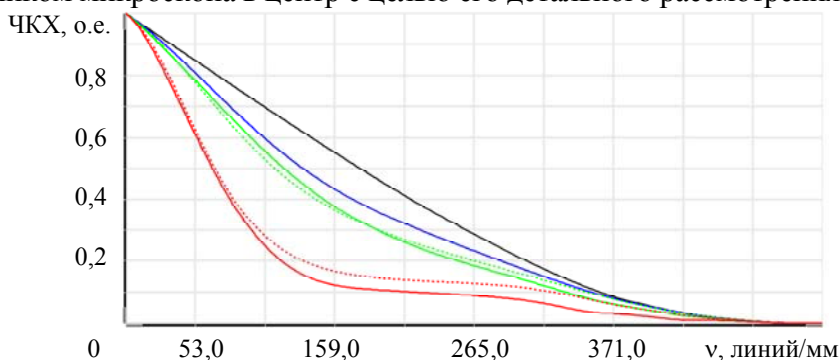


Рис. 3

Для обеспечения наилучшего качества изображения оптимальным будет использование матрицы 1/2" (диагональ 8 мм) с размером пиксела не более $2,4 \times 2,4$ мкм.

Анализ допусков. Для анализа допусков использован метод Монте-Карло. В табл. 2 приведены значения допусков и количество элементов или поверхностей, на которые они назначаются. Наиболее жесткие допуски накладываются на фронтальную часть микрообъектива, что объясняется высокими оптическими силами и, как следствие, малыми радиусами. Тем не менее, можно сказать, что требуемые допуски на изготовление оптических элементов приемлемы для микрообъективов.

Таблица 2

Параметр	Значение допуска	Число элементов (промежутков, поверхностей)
Допуск на общую ошибку, колец	1	5
	2	4
	3	12
Допуск на местную ошибку, колец	0,2	1
	0,3	20
Допуск на толщину оптических элементов, мм	0,002	1
	0,003	2
	0,005	1
	0,01	1
	0,03	2
	0,05	4
	0,1	1
Допуск на децентрировку поверхностей, мм	0,001	3
	0,002	6
	0,005	2
	0,01	3
	0,02	1
	0,03	6
Допуск на толщину воздушных промежутков, мм	0,003	1
	0,005	1
	0,01	1
	0,02	1
	0,03	1
	0,05	3
Допуск на децентрировку элементов, мм	0,002	3
	0,005	2
	0,01	1
	0,02	3
Допуск на наклон элементов, ...'	1	2
	3	6
	5	1

Заключение. Прибор, содержащий разработанный высокоапертурный объектив микроскопа с увеличенным полем зрения, обеспечит возможность наблюдения биологического образца без использования дополнительных объективов. Это позволит отказаться от перефокусировки, требующейся при смене объективов из-за падения глубины резкости.

Высокоапертурный объектив микроскопа не содержит стекол с аномальным ходом дисперсии и кристаллов. Он работает совместно с матричным ПЗС-приемником изображения, имеет линейное поле зрения в пространстве предметов не менее 2 мм, числовую апертуру в пространстве предметов не менее 0,5 и увеличение не менее $4\times$. Для осевой точки поля разрешающая способность составляет порядка 0,8 мкм и порядка 2,4 мкм — для крайних точек изображения. Данный объектив имеет приемлемые допуски на изготовление и сборку оптических компонентов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Andreev L. N., Tsyganok H. A., Kozhina A. D., Soshnicova J. B. Microlens design to explore biological tissues for parasitic diseases identification // Proc. of SPIE. 2020. Vol. 11548. DOI: 10.1117/12.2573711.
2. Байгишиева Н. Д., Багомедова Н. В., Байгишиева А. А. Фенотипические проявления сочетания серповидноклеточной анемии с альфа-талассемией // Вестник Ивановской медицинской академии. 2019. Т. 24, № 1. С. 47—50.
3. Войцеховская И. В., Козлова И. В., Сунцова О. В., Лусак О. В., Дорощенко Е. К., Джиев Ю. П. Циркуляция *Borrelia miyamotoi* в природных очагах Прибайкалья // Изв. Иркутского государственного университета. Сер. Биология. Экология. 2014. № 8. С. 56—65.
4. Мусыргалина Ф. Ф. Медицинская паразитология: учеб. пособие. Уфа: Изд-во ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России, 2018. 279 с.
5. High Performance ZEISS Objectives for Microscopy [Электронный ресурс]: <<https://www.zeiss.com/microscopy/int/products/microscope-components/objectives.html>>.
6. Thorlabs. Объективы для микроскопов [Электронный ресурс]: <<https://azimp.ru/thorlabs/microscope-objectives>>.
7. Frolov D. N., Vinogradova O. A., Frolov V. N. Optical design and unification of objectives: CCF PlanApo for 28 mm observation in the microscope // Proc. SPIE. Optics, Photonics, and Digital Technologies for Imaging Applications. 2018. Vol. 106791G. DOI: 10.1117/12.2306504.
8. Frolov D. N., Vinogradova O. A., Wen L., Jing F. Optical design of budget objectives for mass production microscopes // Proc. SPIE. Optoelectronic Devices and Integration VII. 2018. Vol. 10814. DOI: 10.1117/12.2500425.
9. Frolov D. N., Vinogradova O. A., Frolov V. N., Vakulov P. S. Optical design and unification of optical systems of objectives formicroscopes // Proc. SPIE. Optical Design and Engineering VII. 2018. Vol. 10690. DOI: 10.1117/12.2311799.
10. ZEISS Axio Zoom.V16 for Biology [Электронный ресурс]: <<https://www.zeiss.com/microscopy/int/products/stereo-zoom-microscopes/axio-zoom-v16.html>>.
11. Hoegeler A., Winterot J. Afocal zoom lenses and their applications // Proc. SPIE. Zoom Lenses IV. 2012. Vol. 8488.
12. Hoegeler A. Afocal zoom lenses for stereo surgical microscopes // Proc. SPIE. Zoom Lenses VI. 2019. Vol. 11106.
13. Микроскоп Микромед MC-5-ZOOM LED [Электронный ресурс]: <https://micromed-spb.ru/products/stereomikroskopy/Mikroskop-Mikromed-MS_5_ZOOM-LED>.
14. Levenhuk ZOOM 1T Trinocular Microscope [Электронный ресурс]: <<https://www.levenhuk.com/catalogue/microscopes/levenhuk-zoom-1t/#.YLkTjFAMzcc>>.
15. Andreev L. N., Ezhova V. V., Tsyganok E. A., Kozhina A. D. Compensators of Petzval field curvature and astigmatism // Journal of Optical Technology. 2021. Vol. 88, N 4. P. 175—177.
16. Andreev L. N., Tsyganok H. A., Ezhova V. V., Kozhina A. D. Design of compensators for microscope lens // Proc. of SPIE. 2020. Vol. 11548. P. 115480C.

17. Слюсарев Г. Г. Методы синтеза оптических систем. Л.: Машиностроение, 1975.

Сведения об авторах

- Анастасия Дмитриевна Кожина** — аспирант; Университет ИТМО, инженерно-исследовательский факультет; E-mail: adkozhina@itmo.ru
- Елена Анатольевна Цыганок** — канд. техн. наук; Университет ИТМО, инженерно-исследовательский факультет; доцент; E-mail: llenal@mail.ru

Поступила в редакцию 30.04.22; одобрена после рецензирования 24.05.22; принята к публикации 21.06.22.

REFERENCES

1. Andreev L.N., Tsyganok H.A., Kozhina A.D., Soshnicova J.B. *Proc. of SPIE*, 2020, vol. 11548, DOI: 10.1117/12.2573711.
2. Baigishieva N.D., Bagomedova N.V., Baigishieva A.A. *Bulletin of the Ivanovo Medical Academy*, 2019, no. 1(24), pp. 47–50. (in Russ.)
3. Voitsekhovskaya I.V., Kozlova I.V., Suntsova O.V., Lisak O.V., Doroshchenko E.K., Dzhioev Yu.P. *News of the Irkutsk State University. Series: Biology. Ecology*, 2014, no. 8, pp. 56–65. (in Russ.)
4. Musyrgalina F.F. *Meditsinskaya parazitologiya (Medical Parasitology)*, Ufa, 2018, 279 p. (in Russ.)
5. *High Performance ZEISS Objectives for Microscopy*, <https://www.zeiss.com/microscopy/int/products/microscope-components/objectives.html>.
6. <https://azimp.ru/thorlabs/microscope-objectives/>. (in Russ.)
7. Frolov D.N., Vinogradova O.A., Frolov V.N. *Proc. SPIE, Optics, Photonics, and Digital Technologies for Imaging Applications V*, 2018, vol. 10679, doi: 10.1117/12.2306504.
8. Frolov D.N., Vinogradova O.A., Wen L., Jing F. *Proc. SPIE, Optoelectronic Devices and Integration VII*, 2018, vol.10814, DOI: 10.1117/12.2500425.
9. Frolov D.N., Vinogradova O.A., Frolov V.N., Vakulov P.S. *Proc. SPIE, Optical Design and Engineering VII*, 2018, vol. 10690, DOI: 10.1117/12.2311799.
10. ZEISS Axio Zoom.V16 for Biology, <https://www.zeiss.com/microscopy/int/products/stereo-zoom-microscopes/axio-zoom-v16.html>.
11. Hoegle A., Winterot J. *Proc. SPIE, Zoom Lenses IV*, 2012, vol. 8488.
12. Hoegle A. *Proc. SPIE, Zoom Lenses VI*, 2019, vol. 11106.
13. https://micromed-spb.ru/products/stereomikroskopy/Mikroskop-Mikromed-MS_5_ZOOM-LED/. (in Russ.)
14. *Levenhuk ZOOM 1T Trinocular Microscope*, <https://www.levenhuk.com/catalogue/microscopes/levenhuk-zoom-1t/#.YLkTjFamzcc>.
15. Andreev L.N., Ezhova V.V., Tsyganok E.A., Kozhina A.D. *Journal of Optical Technology*, 2021, no. 4(88), pp. 175–177.
16. Andreev L.N., Tsyganok H.A., Ezhova V.V., Kozhina A.D. *Proceedings of SPIE*, 2020, Vol. 11548, pp. 115480C.
17. Slyusarev G.G. *Metody sinteza opticheskikh sistem (Methods for the Synthesis of Optical Systems)*, Leningrad, 1975. (in Russ.)

Data on authors

- Anastasiya D. Kozhina** — Post-Graduate Student; ITMO University, Faculty of Engineering Research; E-mail: adkozhina@itmo.ru
- Elena A. Tsyganok** — PhD; ITMO University, Faculty of Engineering Research; Associate Professor; E-mail: llenal@mail.ru

Received 30.04.22; approved after reviewing 24.05.22; accepted for publication 21.06.22.