



(19)  
Bundesrepublik Deutschland  
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) DE 10 2004 044 343 A1 2005.07.28

(12)

## Offenlegungsschrift

(21) Aktenzeichen: 10 2004 044 343.2

(22) Anmeldetag: 14.09.2004

(43) Offenlegungstag: 28.07.2005

(51) Int Cl.7: G02B 21/00

(66) Innere Priorität:

103 43 379.1 17.09.2003

(74) Vertreter:

Röther, P., Dipl.-Phys., Pat.-Anw., 47279 Duisburg

(71) Anmelder:

NanoFocus AG, 46047 Oberhausen, DE

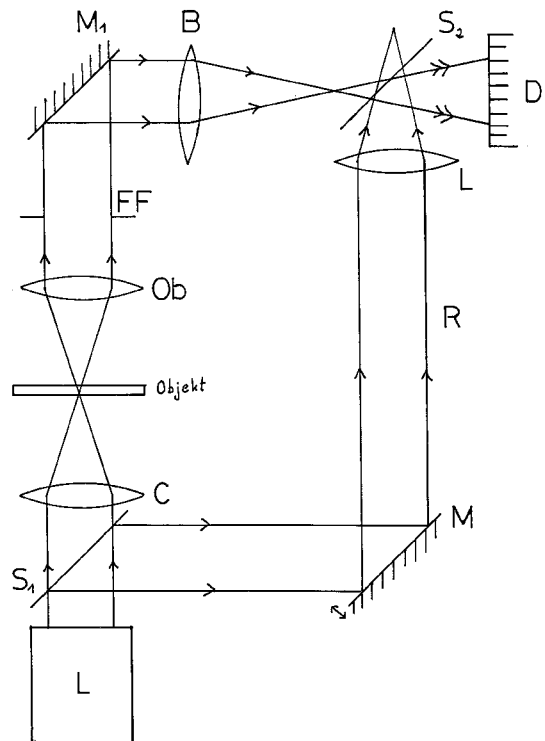
(72) Erfinder:

Velzel, Chris, Dr., 46047 Oberhausen, DE; Valentin, Jürgen, 46047 Oberhausen, DE

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

(54) Bezeichnung: **Hochauflösendes Mikroskop**

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft ein hochauflösendes Mikroskop mit kohärenter Beleuchtung, das dadurch gekennzeichnet ist, daß Amplitude und Phase der Objektwelle im Fernfeld gemessen werden und daß die Feldverteilung im Objektfeld aus diesen Daten rekonstruiert wird, wobei das durch Detektorrauschen entstehende Signal außerhalb von dem Bereich des Objektes auf Null gesetzt wird.



**Beschreibung**

## Stand der Technik

**[0001]** Die Erfindung betrifft ein hochauflösendes Mikroskop. Nach der Theorie der Superauflösung, wie sie in M. Bertero und C. de Mol „Progress in Optics“, 36, Seiten 129 bis 178, 1996 beschrieben ist, hängt die Auflösung eines Mikroskops von folgenden Parametern ab:

- von der Wellenlänge der Lichtquelle
- von dem Durchmesser des Objektfeldes
- von dem Signal-zu-Rausch-Verhältnis bei der Detektion des Bildes

**[0002]** Darüber hinaus ist aus V.P. Tychinsky „Optics Communications“ 81, 131 (1991) sowie M. Totzeck and M. Krumbügel „Optics Communications“ 112, 189 (1994) bekannt, eine kleine Lichtquelle (z.B. eine Laserquelle) auf das Objekt zu fokussieren, so daß das Verhältnis von Objektdurchmesser und Wellenlänge so klein wie möglich ist. Nach der erstgenannten Theorie ist dies die beste Voraussetzung, um eine Auflösung kleiner als eine halbe Wellenlänge zu erreichen. Tatsächlich haben Tychinsky und Nachfolger Objekte mit Details von der Größenordnung Wellenlänge/sechs aufgelöst. Das ist eine Verbesserung um einen Faktor drei gegenüber der Theorie von Abbe (die klassische Theorie der Auflösung).

**[0003]** Die Auflösung, die in den Arbeiten von Tychinsky und Nachfolger beschrieben wird, ist beschränkt durch das Rauschen des Detektors. In der Literatur über Detektoren (S. Inoue and K. Spring „Video Microscopy“, Plenum Press 2nd Edition, 1997, 2. Teil) wird angegeben, daß das Signal/Rausch-Verhältnis nicht viel größer als etwa 1000 sein kann. Das stimmt theoretisch mit einer Verbesserung der Auflösung (gegenüber Abbe) von einem Faktor drei bis vier überein.

## Aufgabenstellung

**[0004]** Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, ein Mikroskop zu entwickeln, dessen Auflösungsvermögen deutlich erhöht ist.

**[0005]** Die Erfindung beruht darauf, daß die Amplitude und Phase des von dem Objekt gestreuten Lichtes nicht wie bei Tychinsky und Nachfolger im Bildfeld (oder nahe am Bildfeld) gemessen wird, sondern im Fernfeld (d.h. in der hinteren Trennebene des Objektivs oder in einer mit dieser konjugierten Ebene).

**[0006]** Aus den im Fernfeld gewonnenen Daten der Amplitude und Phase der gestreuten Welle kann die Feldverteilung im Objektfeld rekonstruiert werden. Dazu gibt es bereits Algorithmen, z.B. den Algorithmus von Gerchberg (R. Gerchberg „Optica Acta“ 21, Seiten 709 bis 720 (1974)).

**[0007]** Die Erfindung beruht auf der Einsicht, daß das Rauschen der einzelnen Bildelemente (Pixel) des Detektors im Objektfeld über eine Fläche gestreut wird, dessen Durchmesser  $D_R$  gegeben wird durch

$$D_R = \lambda / \sin \epsilon \quad (1)$$

wobei  $\lambda$  die Wellenlänge ist und  $\epsilon$  der Winkeldurchmesser eines Pixels. Wenn das Objektfeld (wegen der fokussierten Beleuchtung) einen Durchmesser  $D_0$  hat, gegeben durch

$$D_0 = \lambda / \sin K \quad (2)$$

Wo  $K$  der Aperturwinkel des Objektivs ist, wird im Objektfeld nur ein Rauschen auftreten, das gegeben ist durch

$$\sigma_0 = \sigma_1 \left( \frac{\sin \epsilon}{\sin K} \right)^2 \cdot \frac{4}{\pi} \quad (3)$$

wobei  $\sigma_1$  das Rauschen des Detektors ist. Der „Verdünnungsfaktor“ ist gleich der Zahl der Bildelemente im Fernfeld; die Zahl kann von der Größenordnung  $10^6$  sein ( $1000 \times 1000$  Pixel).

**[0008]** Das Signal/Rausch-Verhältnis ist also gegeben durch

$$\frac{I_0}{\sigma_0} = \frac{I_0}{\sigma_1} \left( \frac{\sin K}{\sin \epsilon} \right)^2 \cdot \frac{\pi}{4} \quad (4)$$

wobei  $I_0$  die mittlere Intensität auf dem Detektor ist. Der Faktor  $I_0/\sigma_1$  kann von der Größenordnung  $10^3$  sein (s. Inoue and Spring). Zusammen mit einer Verbesserung von rund  $10^6$  kann man also ein Signal/Rausch-Verhältnis von rund  $10^9$  erwarten. Das wird zu einer Auflösung von  $\lambda/20$  führen bei der sachgemäßen Rekonstruktion des Objektfeldes (z.B. durch Benutzung des Algorithmus von Gerchberg s.o.).

## Ausführungsbeispiel

## Ausführungsbeispiele

**[0009]** In der **Fig. 1** ist ein Beispiel für die Ausführung der Erfindung für den Fall, daß das Objekt transparent ist, dargestellt (solche Objekte kommen öfters in der Medizin und Biologie vor).

**[0010]** Das Lichtbündel von der Laserquelle  $L$  (mit Strahlaufweitungsoptik) wird durch die Kondensorlinse  $C$  auf das Objekt fokussiert. Ein Teil des Bündels wird von dem Strahlteiler  $S_1$  umgeleitet und formt die Referenzwelle  $R$ .

**[0011]** Die durch das Objekt gestreute Welle wird durch die Objektivlinse  $Ob$  im Unendlichen abgebil-

det. Die hintere Brennebene FF (das Fernfeld) wird in dem Spiegel  $M_1$  auf dem Detektor D abgebildet, und zwar durch die Bertrand-Linse B. Eine zu B gleiche Linse L und ein zweiter Strahlteiler  $S_2$  sorgen dafür, daß die Referenzwelle mit der richtigen Krümmung auch den Detektor erreicht. Durch Parallelverschiebung des Spiegels M kann die Phase der Referenzwelle um einen Betrag von mindestens zwischen  $\Pi$  und  $-\Pi$  geändert werden. Das ermöglicht die Messung der Phase und Amplitude im Fernfeld.

**[0012]** Um eine optimale Auflösung zu bekommen, muß die numerische Apertur der Objektivlinse (Ob in [Fig. 1](#)) hoch sein. Man könnte z.B. hier das von der Firma Leica entwickelte 250 × Trockenobjektiv mit  $NA = 0.97$  benutzen. Auch kann man ein Immersionsobjektiv nehmen, wodurch das NA bis zu 1.5 gesteigert werden kann (s. Beyer und Riesenberg" Handbuch der Mikroskopie").

**[0013]** Durch die neuartige Methode der „Solid State Immersion" kann die NA bis zu Werten in der Höhe von 2.5 gesteigert werden. Das macht Auflösungen von Details in der Größe von  $\lambda/50$  oder etwa 10 nm ( $\lambda = 500$  nm) möglich.

**[0014]** In der [Fig. 2](#) ist ein Beispiel für die Ausführung der Erfindung für den Fall eines reflektierenden Objekts dargestellt. Solche Objekte kommen öfter in der Industrie vor (z.B. in der Halbleiterindustrie, wo zur Zeit Linienbreiten von 50 nm realisiert werden.

**[0015]** In dieser Figur ist Q die effektive Lichtquelle, ein Diaphragma, das von einem parallelen (Laser)-Bündel beleuchtet wird. Der Durchmesser dieses Diaphragma ist so gewählt, daß der erste dunkle Ring von dessen Bewegungsmuster auf dem Rand der Pupille der Objektivlinse Ob fällt. Dadurch entsteht auf dem Objekt ein nahezu uniformer Beleuchtungsfleck.

**[0016]** Von der Kondensorlinse C und der Objektivlinse Ob wird die Quelle Q auf das Objekt abgebildet, und zwar über den Strahlteiler S.

**[0017]** Das von dem Objekt gestreute Licht erreicht die hintere Brennebene FF der Objektivlinse; diese Ebene wird durch die Bertrandlinse B auf dem Detektor (z.B. ein CCD) abgebildet. Das von dem Strahlteiler S durchgelassene Licht aus der Richtung der Quelle wird von einem Spiegel R reflektiert und formt die Referenzwelle. Objektwelle und Referenzwelle interferieren auf dem Detektor; durch Parallelverschiebung des Spiegels R kann man die Phase der Referenzwelle ändern.

**[0018]** In der [Fig. 3](#) wird eine Alternative der Ausführung gemäß [Fig. 2](#) dargestellt. In der hinteren Brennebene ist ein sogenanntes Prisma nach Wolaston W introduziert. Dadurch entstehen auf dem

Objekt zwei Beleuchtungsflecken R und O, die als Objekt und Referenz auftreten. Die Lichtbündel der Beleuchtung, die nach R bzw. O führen, sind orthogonal polarisiert. Ein Analysator A vor dem Detektor D sorgt dafür, daß Objekt- und Referenzwelle interferieren können. Ein Kompensator K macht eine Änderung des Phasenunterschieds zwischen beiden Wellen möglich. Bertrandlinse (B), Objektivlinse (Ob) und Strahlteiler (S) sind wie in [Fig. 2](#) angeordnet.

### Patentansprüche

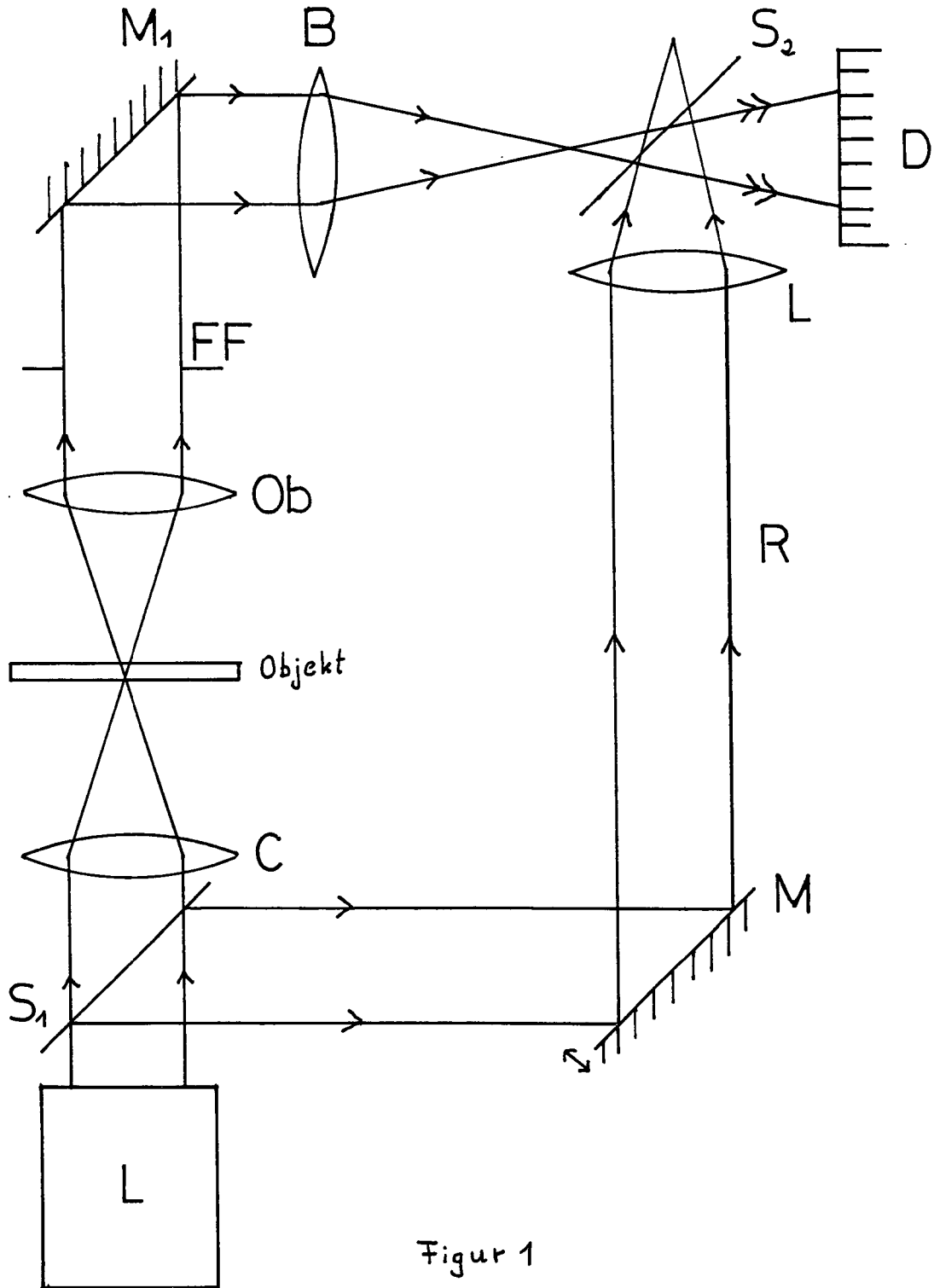
1. Hochauflösendes Mikroskop mit kohärenter Beleuchtung, **dadurch gekennzeichnet**, daß Amplitude und Phase der Objektwelle im Fernfeld gemessen werden und daß die Feldverteilung im Objektfeld aus diesen Daten rekonstruiert wird, wobei das durch Detektorrauschen entstehende Signal außerhalb von dem Bereich des Objektes auf Null gesetzt wird.

2. Hochauflösendes Mikroskop nach Anspruch 1 zur Benutzung bei transparenten Objekten.

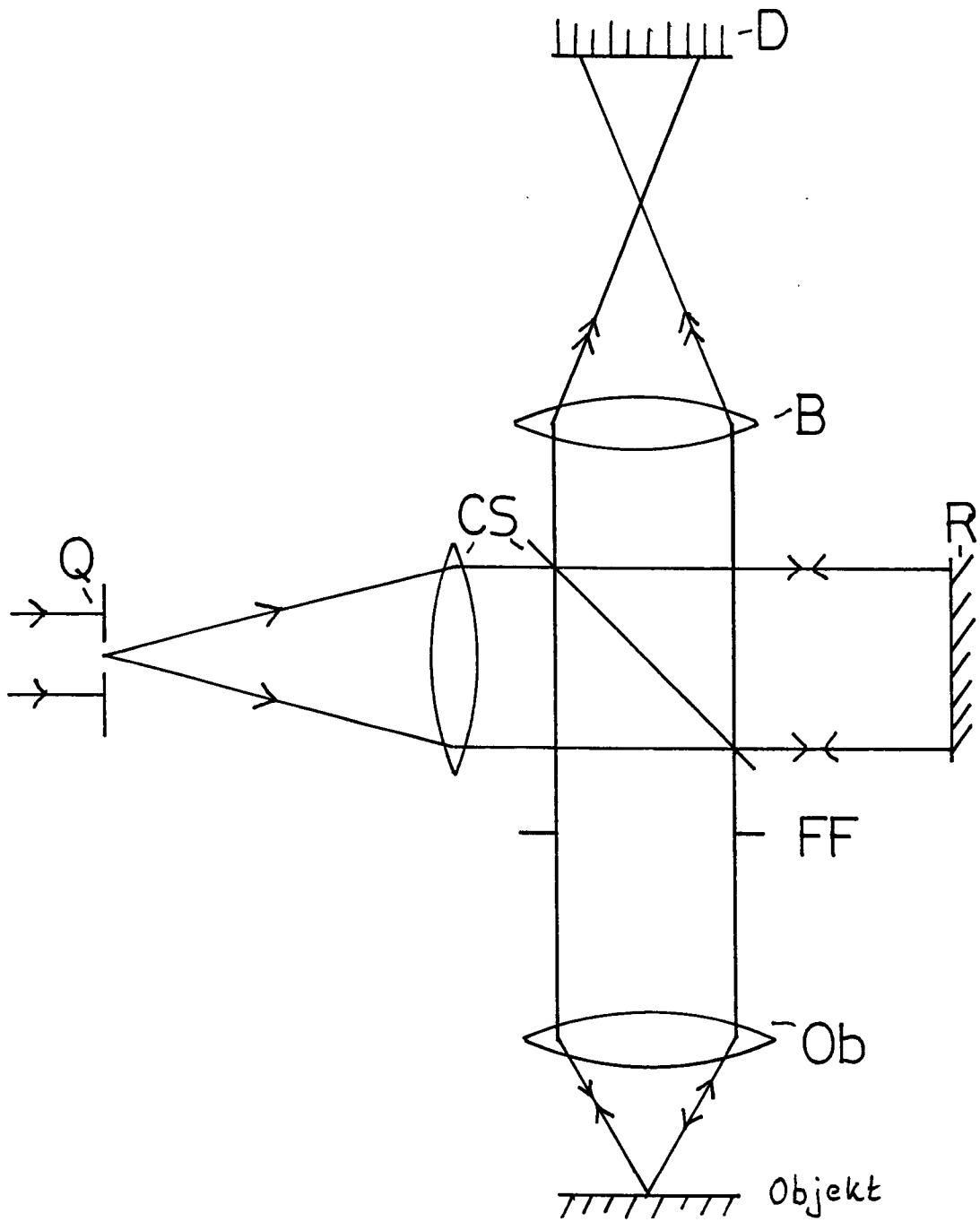
3. Hochauflösendes Mikroskop nach Anspruch 1 zur Verwendung bei reflektierenden Objekten.

4. Hochauflösendes Mikroskop nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß eine Polarisationsoptik angewendet wird.

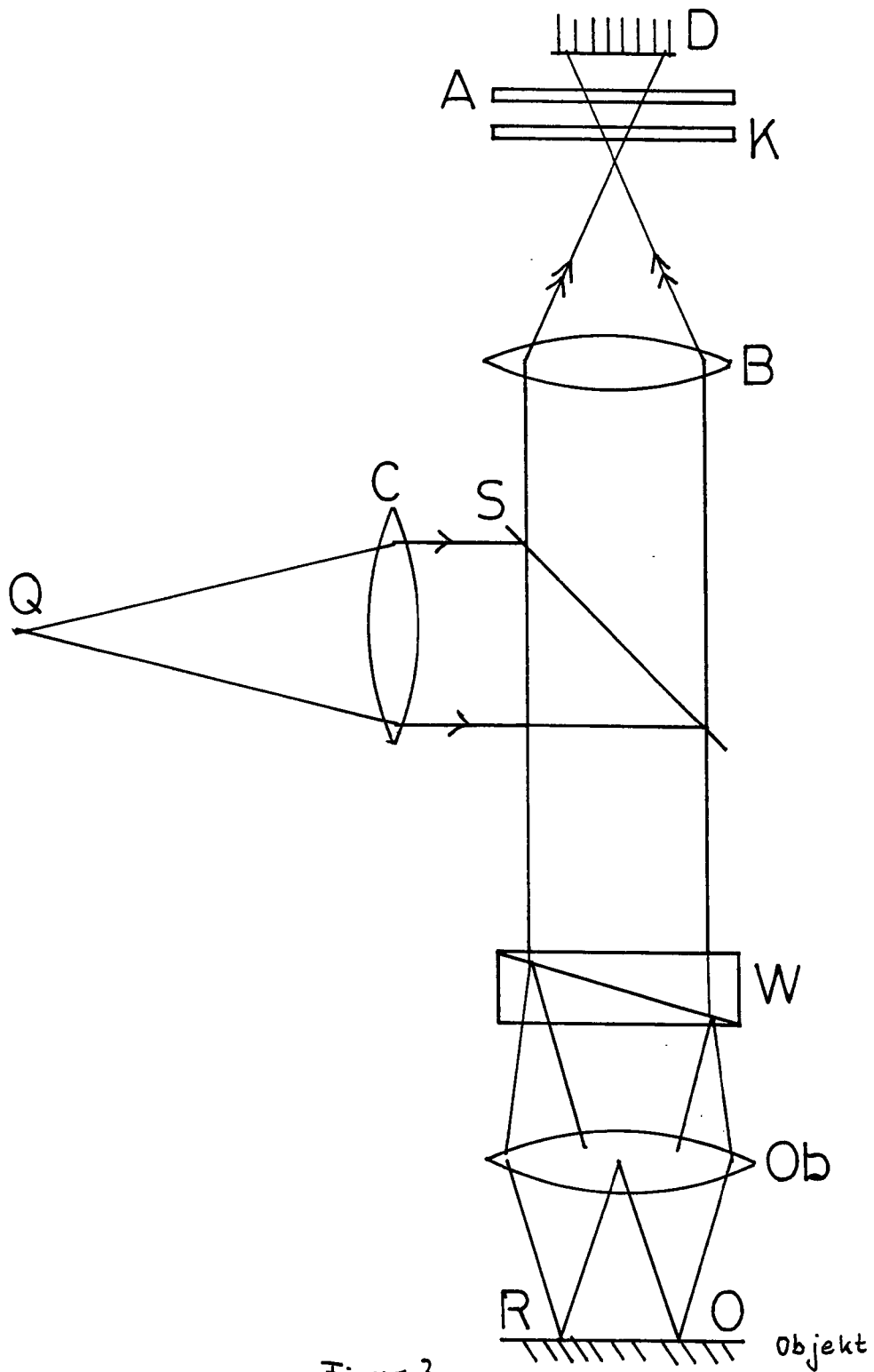
Es folgen 3 Blatt Zeichnungen



Figur 1



Figur 2



Figur 3