

文章编号 1004-924X(2013)05-1151-09

电子目镜显微镜景深的确定与测量

孙丽存, 孟伟东, 李 强, 普小云*

(云南大学 物理科学技术学院 物理系, 云南 昆明 650091)

摘要:从景深的基本概念出发,研究了电子目镜显微镜的景深与其物理景深和几何景深之间的关系。提出物理景深与几何景深在数学上满足“相或”而非“求和”关系的观点,并以此推导出了电子目镜显微镜的景深满足的计算公式。设计了毛细管测量系统,用其测量了有效数值孔径不同时电子目镜显微镜(横向放大率为 20×10)的景深,以及有效数值孔径等于显微物镜数值孔径时,不同规格电子目镜显微镜的景深。实验测量结果与理论推导结果基本吻合,表明电子目镜读数显微镜的景深值等于物理景深与几何景深中的较大值,而不是两者之和。

关键词:电子显微镜;成像系统;景深;电子目镜;有效数值孔径;毛细管

中图分类号:TH742;O439 **文献标识码:**A **doi:**10.3788/OPE.20132105.1151

Calculation and measurement of depth of field for microscope equipped with electronic ocular

SUN Li-cun, MENG Wei-dong, LI Qiang, PU Xiao-yun*

(*Department of Physics, School of Physical Science and Technology, Yunnan University, Kunming 650091, China*)

* *Corresponding author, E-mail: xyphu@163.com*

Abstract: On the basis of principle of the Depth of Field (DOF), the relationship between the DOF of microscopic system with its geometric DOF and physical DOF was researched. A new view that the relationship between the geometric DOF and the physical DOF satisfies “OR” instead of “SUM” in mathematics was proposed. Based on the view, this paper deduced the DOF formulae for the microscope equipped with an electronic ocular. To verify the derived results, a capillary measurement system was designed. With the measurement system, the DOFs for a microscope with a transversal magnification of 10×20 was measured experimentally by varying its effective numerical apertures and those for different types of microscopes were also measured when the effective numerical apertures were equal to the nominal values of the objectives. Obtained results show that the measured DOFs are in good consistent with the data calculated by the deduced formula. The theoretical analysis and measured results both indicate that the DOFs for the microscope system should equal the larger value between the physical DOF and the geometric DOF rather than the sum of the two values.

Key words: electronic microscope; imaging system; depth of field; electronic ocular; effective numerical aperture; capillary

收稿日期:2012-10-30;修订日期:2013-01-18.

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No. 11164033);云南省应用基础研究基金资助项目(No. 2011FA006);云南省高校科技创新团队支持计划资助项目

1 引言

显微镜是观察微小物体或物体的微细部分时不可缺少的工具,根据图像获取技术的不同,它可以分为传统的目视显微镜以及现代的数码显微系统^[1]。带电子目镜的光学显微镜(简称电子目镜显微镜)是一种现代的数码显微系统,它用电子目镜替换了传统目镜,物镜对观察物成的放大实像位于目镜的物方焦距外,目镜对此放大像成实像于 CMOS(或 CCD,本文以 CMOS 为例)图像传感器上。CMOS 芯片内集成了 A/D 转换器,可以方便地将采集到的图像信息传输到计算机终端^[2]。与传统目镜相比,电子目镜使得观察过程更加方便简单。景深(DOF)是显微系统的重要技术参数之一,在传统的计算与分析中,数码显微系统的总景深通常由几何景深和物理景深两项相加组成^[3-6],但没有文献对其原因给出明确的解释,因此近年来有研究者对此观点提出质疑^[7-8]。本文认为,总景深等于几何景深与物理景深之和的观点是有待商榷的。因此本文从景深的基本概念出发,较为深入地分析了数码显微系统的几何景深以及物理景深,并提出几何景深与物理景深间的关系是一种数学上的“相或”关系。根据这个观点,推导出了数码显微系统的景深满足的数学形式,最后通过毛细管成像实验验证了所导出景深公式的正确性。

2 传统景深公式

任何光能接收器,例如眼睛、感光乳剂等的分辨率都是有限的,所以像平面上的像点不一定为一几何点,而是根据接收器的特性规定一个允许的数值。接收器所在的平面称为景像平面,在物空间与景像平面相共轭的平面称为对准平面。能成清晰像的最近的物平面称为近景平面,近景平面与对准平面间的距离称为前景深;能成清晰像的最远的物平面称为远景平面,远景平面与对准平面间的距离称为后景深;近景平面与远景平面之间的距离称为景深^[9]。

当显微系统聚焦于对准平面时,通过物镜所成的一次像位于中间像面上,当物点位于对准平

面之前或之后时,一次像也将位于中间像面之前或之后,相应的在接收器上所获得的图像就不再是一个几何点,而是一个弥散斑。当弥散斑的尺寸小于接收器的极限分辨距离时,所获得的像看起来仍然是清晰的,相应的物平面离开对准平面的距离就定义为几何景深,其计算公式为^[10]:

$$d_g = \frac{n}{M \cdot NA} e, \quad (1)$$

其中: n 为物方空间折射率, e 为探测器的极限分辨距离, M 为显微系统的横向放大率, NA 为物镜的数值孔径。

由于存在衍射效应,点物经透镜成像后不再是一个点像,而是形成一个三维的光能分布,垂直于光轴的像平面上光能分布是一个贝塞尔函数,其中心亮斑称为艾里斑,沿光轴方向的光能分布是一个 sinc 函数。显然,当接收器沿光轴方向移动时,接收器上的光强分布是不同的,一般认为光强变化在 20% 以内时是难以区分的。相应的点物移动的距离就定义为物理景深,其计算公式为^[11]:

$$d_p = \frac{n\lambda}{NA^2}, \quad (2)$$

其中: λ 为光波的波长。在传统分析中,数码显微镜的总景深是几何景深与物理景深之和^[3-6],即:

$$d_{\text{tot}} = d_g + d_p = \frac{n}{M \cdot NA} e + \frac{n\lambda}{NA^2}. \quad (3)$$

3 电子目镜显微镜景深公式的推导

3.1 电子目镜显微镜的成像光路

电子目镜显微镜主要由显微物镜和电子目镜两部分组成。显微物镜由一组透镜组成,本文将它简化为一片薄透镜 L_1 。电子目镜包括光学成像系统及电子处理系统两部分,光学成像系统可简化为一片薄透镜 L_2 ;电子处理系统则主要由 CMOS 图像传感器组成,它可以将光学系统得到的图像进一步放大。电子目镜显微镜的成像光路如图 1 所示,被观测物体 AB 经物镜 L_1 成像后在其共轭面形成一个倒立放大的实像 $A'B'$, $A'B'$ 位于透镜 L_2 的焦距以外,经透镜 L_2 成像后在 CMOS 图像传感器上形成一个倒立的实像 $A''B''$ 。通常情况下, L_2 对 $A'B'$ 起到缩小的作用, L_1, L_2 构

成电子目镜显微镜的光学成像系统,横向放大率分别记为 β_1, β_2 。

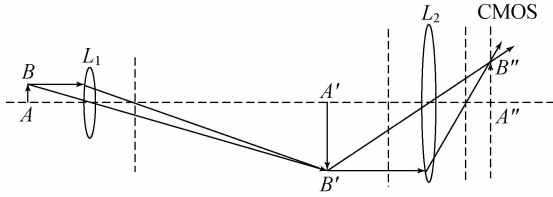


图1 电子目镜显微镜的成像光路图

Fig. 1 Optical path for microscope equipped with electronic ocular

3.2 几何景深公式推导

图2为电子目镜显微镜的几何景深原理图。图中,1为显微物镜的对准平面,经过 L_1, L_2 的共轭面分别为 $1', 1''$, $1''$ 为景像平面,也就是 CMOS 图像传感器所在的平面。当物点位于对准平面上时,它的像点位于 CMOS 阵面上。将物点向前平移至平面 2 时,其像点在共轭平面 $2''$,在 CMOS 平面上则形成弥散斑。当弥散斑的尺寸 e 刚好等于 CMOS 的极限分辨距离时,平面 1 与平面 2 之间的距离,即 s_1 与 s_2 的差值称为该系统的前景深,用 δs_{g1} 表示。设电子目镜显微镜的物方空间折射率为 n ,像方空间折射率为 1。

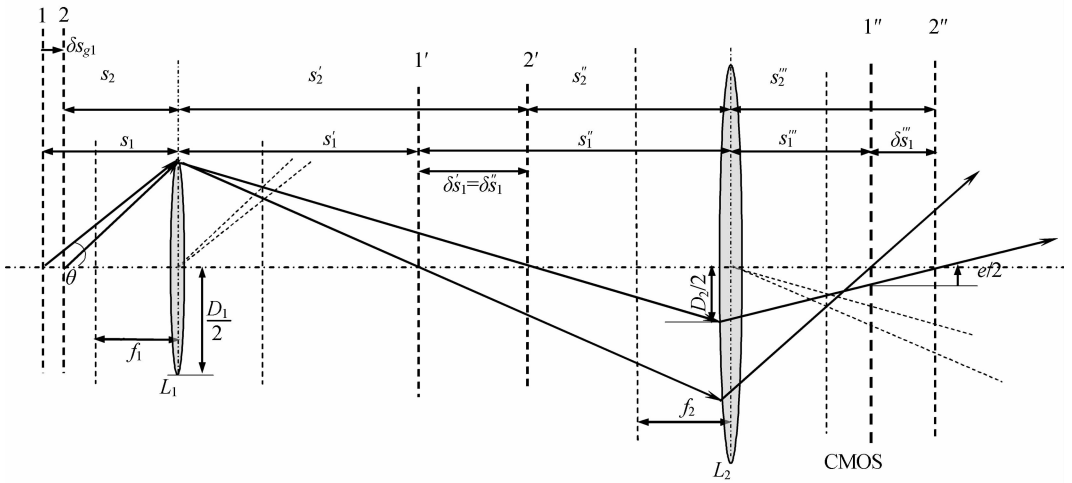


图2 几何景深原理图

Fig. 2 Principle of geometric DOF

由几何关系得出:

$$\frac{e/2}{D_2/2} = \frac{\delta s''_{g1}}{s''_2} = \frac{\delta s''_{g1}}{s''_1 + \delta s''_1} \approx \frac{\delta s''_{g1}}{s''_1}, \quad (4)$$

所以:

$$\delta s''_1 = \frac{e \cdot s''_1}{D_2}. \quad (5)$$

$\delta s''_1$ 在 L_2 的物空间对应的轴向距离为:

$$\delta s'_1 = \delta s''_1 = \frac{\delta s''_1}{\alpha_2}, \quad (6)$$

其中: $\alpha_2 = \beta_2^2 = \left(\frac{s''_1}{s'_1}\right)^2$, 为 L_2 的轴向放大率。

由几何关系还可得出:

$$\frac{D_2}{s''_2} = \frac{D_1}{s'_2}. \quad (7)$$

联立式(5)、(6)、(7)可解得:

$$\delta s'_1 = \frac{e}{(D_1/s'_1) \cdot \beta_2}. \quad (8)$$

同理可得:

$$\delta s_{g1} = \frac{\delta s'_1}{\alpha_1} = \frac{e}{(D_1/s_1) \cdot \beta_1 \beta_2}, \quad (9)$$

其中: D_1 为显微物镜孔径光阑的直径,当光轴上位于对准平面的物点发出的光可以覆盖整个显微物镜镜头时,显微物镜的 NA 为^[12] $n \sin \theta \approx n \frac{D_1/2}{s_1}$,

设电子目镜显微镜光学系统的放大倍数为 M , 即 $M = \beta_1 \beta_2$, 则式(9)可写为:

$$\delta s_{g1} = \frac{ne}{2M \cdot NA}. \quad (10)$$

电子目镜显微镜的后景深与前景深的推导过程一致,可近似认为后景深与前景深相等,因此电子目镜显微镜的几何景深可写为:

$$\delta s_g = 2\delta s_{g1} = \frac{ne}{M \cdot NA}. \quad (11)$$

式(11)与式(1)完全相同。当入射光线没有照

满整个显微物镜的镜头时,式(11)中的 NA 应替换为显微物镜的有效数值孔径^[13-14] $(NA)_{\text{eff}}$,即:

$$\delta s_g = \frac{ne}{M \cdot (NA)_{\text{eff}}}. \quad (12)$$

根据尼奎斯特定理^[15], CMOS 图像传感器的最大可分辨空间频率等于其空间采样频率的一半。设 CMOS 的基本像元尺寸为 b ,则 CMOS 图像传感器能够分辨的最小距离应该等于其像元尺寸的两倍,即式(12)中的极限分辨距离 $e=2b$ 。

3.3 物理景深公式推导

如图 3 所示,由于衍射效应,位于对准平面 1

轴上的点物 A 经透镜 L_1 后在中间平面 $1'$ 形成艾利斑 A' , A' 经透镜 L_2 后在景象平面 $1''$ (CMOS 平面) 仍然是一个艾利斑 A'' 。当点物 A 向左移动至 A_1 点时, A_1 在平面 $1''$ 上形成一个“弥散”的艾利斑 A''_1 。按物理景深的定义,当这个“弥散”艾利斑 A''_1 的光强下降到艾利斑 A'' 光强的 80% 时, A_1 与 A 之间的距离就是电子目镜显微镜的物理景深(后景深)。物理景深的严格计算需要用物理光学的方法^[7],而本文采用一种简化方法来推导电子目镜显微镜的物理景深。

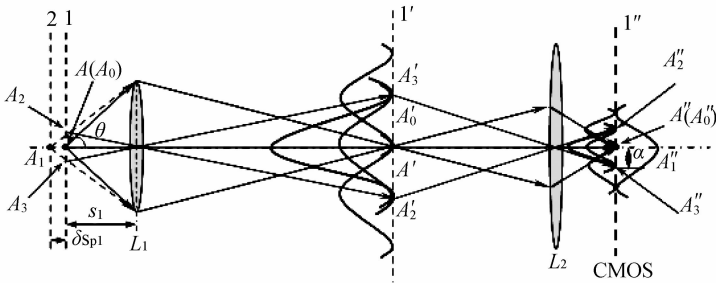


图 3 物理景深原理图

Fig. 3 Principle of physical DOF

点物 A 沿光轴向左边移动至 A_1 点的效果,等同于 A 点在对准平面 1 上离轴扩展为 $\overline{A_2 A_3}$, A_0 为 $\overline{A_2 A_3}$ 的中点。当 $\overline{A_0 A_2}$ 等于显微物镜 L_1 的分辨率时, $\overline{A_2 A_3}$ 两端点 A_2, A_3 的共轭点 A''_2, A''_3 与 A_0 的共轭点 A''_0 刚好可以分辨。此时,相应的 A_1 与 A 之间的距离即为显微系统的物理景深(后景深,用 δs_{p1} 表示),如图 3 所示。显微系统能分辨的物方两点间最短距离为^[16]:

$$\sigma = \frac{0.61\lambda}{NA}. \quad (13)$$

相应的,在 CMOS 平面上的最小分辨距离为:

$$a = \frac{0.61\lambda}{NA} M. \quad (14)$$

由几何关系可得:

$$\frac{\sigma}{\delta s_{p1}} = \frac{D_1/2}{s_1 + \delta s_{p1}} \approx \frac{D_1/2}{s_1} \approx NA/n. \quad (15)$$

所以:

$$\delta s_{p1} = \frac{n\sigma}{NA} = \frac{0.61n\lambda}{(NA)^2}. \quad (16)$$

其前景深与后景深的推导过程类似,在近似条

件下与后景深相等,因此电子目镜显微镜的物理景深可写为:

$$\delta s_p = 2\delta s_{p1} = \frac{1.22\lambda}{(NA)^2}. \quad (17)$$

当物点发出的光不能覆盖整个显微物镜的镜头时,其物理景深为:

$$\delta s_p = \frac{1.22\lambda}{(NA)_{\text{eff}}^2}. \quad (18)$$

将艾里斑的直径 $2a$ 看作由衍射效应所决定的 CMOS 的极限分辨距离,代替式(12)中的 e 值,得到的结果与式(18)相同。

3.4 电子目镜显微镜的总景深

由上述推导过程可见,轴上物点经电子目镜显微镜成像在景象平面上后,“弥散斑”和“艾里斑”在空间是相互重叠而并非相互连接的,在物空间与“弥散斑”对应的几何景深和与“艾里斑”对应的物理景深也应该是相互重叠的。因此,电子目镜显微镜的总景深与几何景深以及物理景深之间的关系是一种数学上的“相或”关系而非“求和”关系。当物镜的 NA 较小时,衍

射效应突出,景像平面上“艾里斑”的直径 $2a$ 大于 CMOS 的极限分辨距离 $e=2b$,物理景深起主导作用,电子目镜显微镜的总景深由式(18)确定;当物镜的 NA 较大时,景像平面上“艾里斑”的直径 $2a$ 小于 CMOS 的极限分辨距离 $e=2b$,几何景深起主导作用,电子目镜显微镜的总景深由式(12)确定。换言之,电子目镜显微镜的景深应为几何景深与物理景深中的较大值。因此,“总的景深等于几何景深与物理景深之和”的提法是不妥当的。根据以上分析,得出电子目镜读数显微系统的总景深公式为:

$$\delta_s = \begin{cases} \frac{1.22n\lambda}{(NA)_{\text{eff}}^2}, & a \geq b \\ \frac{2nb}{M(NA)_{\text{eff}}}, & a < b \end{cases} \quad (19)$$

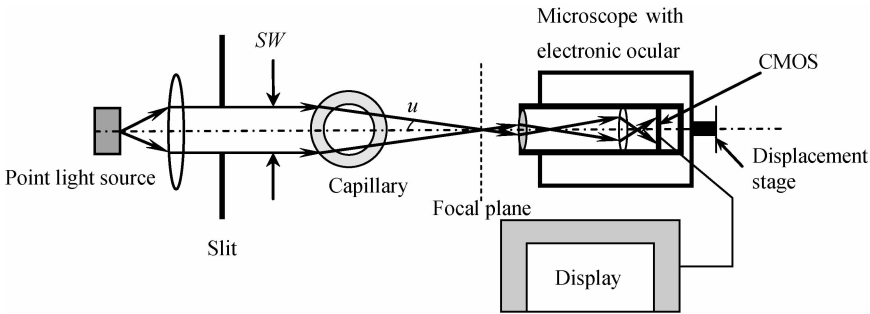


图 4 测量装置图
Fig. 4 Schematic of measuring setup

平行光经注有液体的毛细管折射后所形成的光束半角宽的正弦值为:

$$\sin u = \frac{h}{R} - \frac{h}{nr} + \frac{h}{n_0 r} - \frac{h}{Rn_0}, \quad (20)$$

式中: R, r, n_0 分别代表毛细管的外半径、内半径以及折射率, n 代表注入液体的折射率, h 代表缝宽。调整 h 或 n 的数值,可以方便地改变光束的半角宽 u 。由图 4 可以看出,当“亮线”发出的光完全覆盖镜筒时,物镜的镜筒外壳决定了显微物镜的孔径光阑,并确定了电子目镜显微镜的 $(NA)_{\text{eff}}$ (即显微物镜数值孔径的标称值);当光斑没有盖满镜筒时,光束张角 u 的大小决定了显微物镜的有效孔径光阑,并确定了电子目镜显微镜的 $(NA)_{\text{eff}}$ 。

所以电子目镜显微镜的 $(NA)_{\text{eff}}$ 为:

$$(NA)_{\text{eff}} = \begin{cases} \sin u, & \sin u \leq NA \\ NA, & \sin u \geq NA \end{cases} \quad (21)$$

4 实验验证

为了验证电子目镜显微镜的景深公式,本文设计了如图 4 所示的测量装置。点光源经准直后变成一束平行光,经过狭缝限宽后照射到注有液体的玻璃毛细管上,经折射后形成一束具有一定张角的会聚光束,在毛细管的焦平面处形成一条“亮线”^[17]。当该“亮线”位于显微物镜的工作距离时,可在计算机终端观察到一条最窄的清晰“亮线”。实验时,精密位移平台的调节精度为 $1 \mu\text{m}$ 。观察到的图像从模糊变为清晰,又从清晰变为模糊,图像刚好清晰时位移平台读数(记为 d_1)与到图像刚好模糊时位移平台读数(记为 d_2)的差值即为电子目镜显微镜的景深。

测量装置中的显微物镜与电子目镜可以方便地更换,同一个电子目镜经过软件处理后还可具有不同的分辨率,同时狭缝的宽度以及注入毛细管的液体种类都是很容易改变的。因此,毛细管成像系统是一个验证电子目镜显微镜景深与 $(NA)_{\text{eff}}$ 及显微镜规格之间关系的行之有效的测量装置,也是一个验证显微系统的景深与其几何景深、物理景深之间关系的行之有效的测量装置。

测量过程中,单色光 $\lambda=0.58 \mu\text{m}$;毛细管 $R=1.5343 \text{ mm}, r=1.1063 \text{ mm}, n_0=1.516$;显微物镜为 $10\times (NA=0.25), 20\times (NA=0.4)$ 两种规格;电子目镜为杭州荣耀科技有限公司生产的型号 G300UMD 的 $10\times (\beta_2=1/3), 20\times (\beta_2=2/3)$ 两种规格的电子目镜,两种电子目镜均有 $640\times 480, 1024\times 768, 2048\times 1536$ 三种分辨率,相应的像元尺寸为 $9.6 \mu\text{m}\times 9.6 \mu\text{m}, 6.4 \mu\text{m}\times 6.4 \mu\text{m}, 3.2$

$\mu\text{m} \times 3.2 \mu\text{m}$, 相应的 e 值大小为 19.2, 12.8, 6.4 μm 。

表 1 列出了显微物镜为 $20\times$, 电子目镜为 $10\times$ 时, 在不同液体、不同缝宽、不同分辨率下电子目镜显微镜的景深值。表 2 列出了狭缝宽度 $h=1.6 \text{ mm}$, 毛细管内注入液体为喹啉时, 不同电子目镜显微镜在不同分辨率下的景深值。

$(NA)_{\text{eff}}$ 是由式(21)计算出的测量系统的有效数值孔径; $2a$ 由式(14)确定, $2b$ 由电子目镜的分辨率确定; $\delta s_g, \delta s_p$ 分别是根据式(12)、(18)计算出的显微系统的几何景深与物理景深; 测量值 d_1, d_2 为多人多次测量的平均值; $\delta_s \pm \sigma$ 代表电子目镜显微镜景深的测量值及其多次测量结果的标准偏差。

表 1 有效数值孔径不同时 20×10 电子目镜显微镜的景深

Tab. 1 DOF results for 20×10 microscope with different effective numerical apertures

liquid	h /mm	$(NA)_{\text{eff}}$	$2a$ / μm	$2b$ / μm	δs_p / μm	δs_g / μm	d_1 /mm	d_2 /mm	$\delta_s \pm \sigma$ / μm
Water $n=1.3333$	0.8	0.114	41.4	19.2		25.3	10.7004	10.7572	56.8 ± 4.2
				12.8	54.4	16.8	10.7001	10.7558	55.7 ± 3.9
				6.4		8.4	10.7006	10.7568	56.2 ± 4.5
	1.2	0.175	27.0	19.2		16.5	10.7154	10.7408	25.4 ± 2.9
				12.8	23.1	11.0	10.7162	10.7407	24.5 ± 2.6
				6.4		5.5	10.7160	10.7401	24.1 ± 2.8
1.6	0.240	19.7	19.2		12.0	10.7204	10.7346	14.2 ± 2.1	
			12.8	12.3	8.0	10.7201	10.7344	14.3 ± 2.0	
			6.4		4.0	10.7206	10.7341	13.5 ± 2.0	
Glycerol $n=1.4732$	0.8	0.167	28.2	19.2		17.2	9.5928	9.6196	26.8 ± 2.7
				12.8	25.4	11.5	9.5934	9.6192	25.8 ± 2.6
				6.4		5.7	9.5924	9.6190	26.6 ± 3.0
	1.2	0.256	18.4	19.2		11.3	9.5987	9.6118	13.1 ± 1.8
				12.8	10.8	7.5	9.5993	9.6104	11.1 ± 1.6
				6.4		3.8	9.5999	9.6101	10.2 ± 1.5
1.6	0.355	13.3	19.2		8.1	9.6013	9.6091	7.8 ± 0.8	
			12.8	5.6	5.4	9.6022	9.6077	5.5 ± 0.6	
			6.4		2.7	9.6021	9.6079	5.8 ± 0.6	
Quinoline $n=1.6221$	0.8	0.212	22.3	19.2		13.6	9.0697	9.0851	15.4 ± 1.6
				12.8	15.7	9.1	9.0701	9.0847	14.6 ± 1.4
				6.4		4.5	9.0696	9.0848	15.2 ± 1.6
	1.2	0.326	14.5	19.2		8.8	9.0723	9.0819	9.6 ± 1.0
				12.8	6.6	5.9	9.0735	9.0802	6.7 ± 0.6
				6.4		2.9	9.0732	9.0801	6.9 ± 0.7
1.6	0.40	11.8	19.2		7.2	9.0726	9.0804	7.8 ± 0.7	
			12.8	4.4	4.8	9.0739	9.0787	4.8 ± 0.5	
			6.4		2.4	9.0739	9.0784	4.5 ± 0.6	

由表 1 可看出, 狭缝宽度以及毛细管中注入的液体折射率对电子目镜显微镜的 $(NA)_{\text{eff}}$ 都有较大的影响^[18], 景深的大小对于 $(NA)_{\text{eff}}$ 的变化非常敏

感。在 $(NA)_{\text{eff}}$ 值较小时(如表 1 中第二行: $n=1.3333$, 狭缝宽度 $=0.8 \text{ mm}$, $(NA)_{\text{eff}}=0.114$), $2a$ ($41.4 \mu\text{m}$) $> 2b$ ($19.2 \mu\text{m}$), 景深测量值 ($\delta_s = 56.8$

μm)接近物理景深值($\delta_{s_p} = 54.4 \mu\text{m}$)而非物理景深与几何景深($\delta_{s_g} = 25.3 \mu\text{m}$)的和($\delta_{s_p} + \delta_{s_g} = 79.7 \mu\text{m}$)。在 $(NA)_{\text{eff}}$ 值较大时,如表中第九行: $n = 1.6221$,狭缝宽度 = 1.6 mm , $(NA)_{\text{eff}} = 0.40$, $2a (11.8 \mu\text{m}) < 2b (19.2 \mu\text{m})$,景深测量值($\delta_s = 7.8 \mu\text{m}$)接近几何景深值($\delta_{s_g} = 7.2 \mu\text{m}$),而非物理景深($\delta_{s_p} = 4.4 \mu\text{m}$)与几何景深的和($\delta_{s_p} + \delta_{s_g} = 11.6 \mu\text{m}$)。表中的其它数据也反映了相同的规律。

对于 20×10 的电子目镜显微镜,由式(19)可以算出:若电子目镜的分辨率为 640×480 ,当 $0.246 < (NA)_{\text{eff}} \leq 0.4$ 时, $2a < 2b (19.2$

$\mu\text{m})$,其景深值取决于几何景深的大小;当 $0 < (NA)_{\text{eff}} < 0.246$ 时, $2a > 2b (19.2 \mu\text{m})$,其景深值取决于物理景深的大小。若电子目镜的分辨率为 1024×768 ,当 $0.368 < (NA)_{\text{eff}} \leq 0.4$ 时, $2a < 2b (12.8 \mu\text{m})$,其景深值取决于几何景深的大小;当 $0 < (NA)_{\text{eff}} < 0.368$ 时, $2a > 2b (12.8 \mu\text{m})$,其景深值取决于物理景深的大小。若电子目镜的分辨率为 2048×1536 ,则在整个有效数值孔径范围 $0 < (NA)_{\text{eff}} \leq 0.4$,景像平面上“艾里斑”的直径 $2a$ 均大于 CMOS 的极限分辨距离 $2b (6.4 \mu\text{m})$,其景深值取决于物理景深的大小。表 1 中的数据与上述结论均相符。

表 2 不同规格电子目镜显微镜的景深值
Tab.2 DOF results for different microscopes

objective	ocular	$(NA)_{\text{eff}}$	$2a$ / μm	$2b$ / μm	δ_{s_p} / μm	δ_{s_g} / μm	d_1 / mm	d_2 / mm	$\delta_s \pm \sigma$ / μm
10×	10×	0.25	9.1	19.2	11.3	23.0	9.667 4	9.692 1	24.7±2.5
				12.8		15.4	9.674 9	9.690 7	15.8±1.7
				6.4		7.7	9.678 8	9.690 3	11.5±1.4
10×	20×	0.25	18.2	19.2	11.3	11.5	9.678 2	9.691 0	12.8±1.5
				12.8		7.7	9.678 7	9.690 1	11.4±1.3
				6.4		3.8	9.678 8	9.690 7	11.9±1.4
20×	10×	0.40	11.4	19.2	4.4	7.2	9.072 6	9.080 4	7.8±0.7
				12.8		4.8	9.073 9	9.078 7	4.8±0.5
				6.4		2.4	9.073 9	9.078 4	4.5±0.6
20×	20×	0.40	22.8	19.2	4.4	3.6	9.073 7	9.078 5	4.8±0.6
				12.8		2.4	9.073 9	9.078 2	4.3±0.4
				6.4		1.2	9.073 6	9.078 0	4.4±0.5

由表 2 可看出,当 CMOS 的分辨率较高(b 值较小, $a > b$)时,电子目镜显微镜的景深主要取决于其物理景深的大小,此时的景深值决定于显微物镜的 NA,而与目镜的放大倍数无关。

表 1、表 2 的数据均证明了式(19)的正确性。电子目镜显微镜的景深取决于其物理景深、几何景深中的较大值,而不等于两者之和。当物理景深较大时,电子目镜显微镜的景深与光波波长成正比,与 $(NA)_{\text{eff}}$ 的平方成反比;当几何景深较大时,电子目镜显微镜的景深与 CMOS 像元的大小成正比,与 $(NA)_{\text{eff}}$ 成反比,与光学成像系统的横向放大率成反比。

5 结 论

本文研究了电子目镜显微镜的景深与其物理景深和几何景深之间的关系,推导并验证了电子目镜显微镜的景深取决于其物理景深和几何景深中的较大值,而不是传统观点认为的物理景深与几何景深之和。随着图像传感技术的日渐成熟,图像传感器的像元尺寸必将越来越小,因此可以预想电子目镜读数显微镜的景深大小将主要由衍射极限决定,即景深值等于其物理景深。此时,电子目镜显微镜的景深与光波波长成正比,与 $(NA)_{\text{eff}}$ 的平方成反比。本文推导出的景深公式对电子目镜显微镜的设计和合理使用具有重要的参考价值。

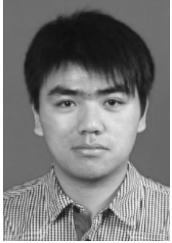
参考文献:

- [1] 王莉,蒋洪,孙丽丽. 显微镜的发展综述[J]. 科技信息, 2009(11):117-120.
WANG L, JIANG H, SUN L L. The development of the microscope [J]. *Science & Technology Information*, 2009(11): 117-120. (in Chinese)
- [2] 曲宏松,张叶,金光. 基于数字域 TDI 算法改进面阵 CMOS 图像传感器功能[J]. 光学精密工程, 2010, 18(8):1896-1903.
QU H S, ZHANG Y, JIN G. Improvement of performance for CMOS area image sensors by TDI algorithm in digital domain [J]. *Opt. Precision Eng.*, 2010, 18(8): 1896-1903. (in Chinese)
- [3] KENNETH R. Depth of Field and Depth of Focus [EB/OL]. <http://www.microscopyu.com/articles/formulas/formulasfielddepth.html/>, microscopy. [2012-06-12]
- [4] MICHAEL B. *Handbook of Optics, Volume. I* [M]. New York: McGraw-Hill Press, 2009:18-20.
- [5] 苏大图. 光学测量[M]. 北京:机械工业出版社, 1988:25-27.
SU D T. *Optical Measurement* [M]. Beijing: China Machine Press. 1988:25-27. (in Chinese)
- [6] 王自强,包正康. 光学测量[M]. 杭州:浙江大学出版社, 1989:26-27.
WANG Z Q, BAO ZH K. *Optical Measurement*. [M]. Zhejiang: Zhejiang University Press, 1989: 26-27. (in Chinese)
- [7] 王志坚,王鹏. 瑞利判断与斯托列尔准则(兼论光学系统景深与清晰度法定焦精度)[J]. 电子学报, 2000, 29(7):621-625.
WANG ZH J, WANG P. Rayleigh criterion and K Strehl criterion (moreover discussion for optical system depth of field and confirming focus accuracy with resolution method) [J]. *Acta Photonica Sinica*, 2000, 29(7):621-625. (in Chinese)
- [8] CHEN X D, REN L Q, QIU Y C, *et al.*. New method for determining the depth of field of microscope systems[J]. *Applied Optics*, 2011, 50(10): 5524-5533.
- [9] 石顺祥,张海兴,刘劲松. 物理光学与应用光学[M]. 西安:西安电子科技大学出版社, 2000:353-357.
SHI SH X, ZHANG H X, LIU J S. *Physical Optics and Applied Optics* [M]. Xi'an: Xidian University press, 2000:353-357. (in Chinese)
- [10] SHINYA I, KENNETH R S. *Video Microscopy: The Fundamentals* [M]. Berlin: Springer Press, 1997:48.
- [11] 毛文炜. 光学工程基础[M]. 北京:清华大学出版社, 2006:181-184.
MAO W W. *Optical Engineering Foundation* [M]. Beijing: Tsinghua University Press, 2006: 181-184. (in Chinese)
- [12] BORN M, WOLF E. *Principles of Optics* [M]. Beijing: Science Press, 1978:186-188.
- [13] 黄伟同,杨藏海,罗祖宁,等. 自聚焦透镜的有效半径和有效数值孔径[J]. 安徽大学学报(自然科学版), 1993, 4:17-21.
HUANG W T, YANG Y H, LUO Z N, *et al.*. Effective radius and effective numerical aperture of the self-focusing lens array[J]. *Journal of Anhui University Natural Science Edition*, 1993, 4: 17-21. (in Chinese)
- [14] 李强,韩广辉,邢曼男,等. 用毛细管焦点法精确测量微量液体的折射率[J]. 光学学报, 2009, 29(9): 2468-2472.
LI Q, HAN G H, XING M N, *et al.*. Measuring refractive index of micro-quantity liquid by focus method [J]. *Acta Optica Sinica*, 2009, 29(9): 2468-2472. (in Chinese)
- [15] GROSS H, ZUGGE H, PESCHKA M. *Handbook of Optical Systems, Volume. I* [M]. Berlin: Wiley-VCH Press, 2007:125.
- [16] 赵凯华. 光学[M]. 北京:高等教育出版社, 2004: 193-194.
ZHAO K H. *Optics* [M]. Beijing: Higher Education Press, 2004:193-194. (in Chinese)
- [17] 李强,苏光辉,张瑞凯,等. 透明毛细管管壁折射率的无损测量[J]. 光学精密工程, 2010, 18(6): 1265-1270.
LI Q, SU G H, ZHANG R K, *et al.*. Nondestructive measurement of refractive index of transparency capillary [J]. *Opt. Precision Eng.*, 2010, 18(6):1265-1270. (in Chinese)
- [18] 邢曼男,白然,普小云. 精确测量微量液体折射率的新方法[J]. 光学精密工程, 2008, 16(7):1196-1201.
XING M N, BAI R, PU X Y. Novel measuring method for refractive index of micro-quantity liquid [J]. *Opt. Precision Eng.*, 2008, 16(7): 1196-1201. (in Chinese)

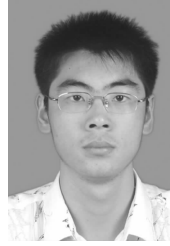
作者简介:



孙丽存(1990—),女,山东济宁人,2010年于云南大学获得学士学位,主要从事液体折射率测量及成像分析方面的研究。E-mail:aliceckczy@126.com



孟伟东(1989—),男,河南郑州人,硕士研究生,2007年在河南科技大学获得学士学位,主要研究方向为毛细管成像分析。E-mail:mengweidong19890213@126.com



李强(1987—),男,云南昆明人,博士研究生,助教,2011年于云南大学获得光学硕士学位,主要从事光学系统成像及液体折射率测量领域的研究。E-mail:liqiang_ynu@126.com



普小云(1957—),男,云南昆明人,教授,博士生导师,1982年于云南大学获得学士学位,1987年于中科院北京物理所获得硕士学位,2000年于香港中文大学获得博士学位,现为云南大学物理科学技术学院副院长,主要从事光学和光电子学领域的科研和教学工作。E-mail:xypu@163.com

(本栏目编辑:曹金)

(版权所有 未经许可 不得转载)