На правах рукописи

Минаев Владимир Леонидович

НИЗКОКОГЕРЕНТНАЯ ФАЗОВАЯ МИКРОСКОПИЯ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ТРЕХМЕРНЫХ ОБЪЕКТОВ

01.04.05 – оптика

ΑΒΤΟΡΕΦΕΡΑΤ

диссертации на соискание ученой степени доктора технических наук

Москва 2018

Работа выполнена в Федеральном государственном унитарном предприятии «Всероссийский научно – исследовательский институт оптико-физических измерений» (ФГУП «ВНИИОФИ»)

Научный консультант: доктор технических наук, профессор, Левин Геннадий Генрихович

Официальные оппоненты:

Каленков Сергей Геннадьевич, доктор физико-математических наук, профессор, ФГБОУ ВО «Московский государственный машиностроительный университет (МАМИ)», директор научно-технического центра «Оптоэлектроника»

Одиноков Сергей Борисович, доктор технических наук, доцент, ФГБОУ ВО «Московский государственный технический университет имени Н.Э. Баумана (национальный исследовательский университет)» (МГТУ им. Н.Э. Баумана), профессор кафедры "Лазерные и оптико-электронные системы",

Телешевский Владимир Ильич, доктор технических наук, профессор, ФГБОУ ВО «Московский государственный технологический университет «СТАНКИН» (МГТУ «СТАНКИН»), зав. кафедрой «Измерительные информационные системы и технологии»

Ведущая организация: ФГБОУ ВО «МИРЭА - Российский технологический университет» (РТУ МИРЭА)

Защита состоится «____»___2019г. в _____ на заседании диссертационного совета Д308.006.01 при «Всероссийском научно-исследовательском институте оптико-физических измерений» по адресу: 119361, г. Москва, ул. Озерная, 46

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГУП «ВНИИОФИ» и на сайте <u>http://www.vniiofi.ru/disser.html</u>

Автореферат разослан «____»___2018г.

Ученый секретарь диссертационного совета, кандидат технических наук

1 ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ. АКТУАЛЬНОСТЬ ПРОБЛЕМЫ, ЦЕЛЬ И ОСНОВНЫЕ ЗАДАЧИ ДИССЕРТАЦИИ

Фазовыми называются такие объекты, которые изменяют фазу комплексной амплитуды волнового фронта зондирующего оптического излучения и описываются эйкональным приближением решения скалярного волнового уравнения.

Фазовые объекты широко распространены в науке и технике. К отражающим фазовым объектам можно отнести изделия микроэлектроники, МЭМС структуры, оптические зеркальные поверхности, подложки лазерных зеркал, структурированные покрытия, и пр. Примером прозрачных фазовых объектов могут служить оптические волокна, микрорезонаторы, оптические микродетали, а также биологических микрообъекты, такие как живые клетки, ткани, бактерии и т.п. Также фазовыми объектами являются отражающие поверхности или прозрачные изделия, изготовленные с помощью аддитивных технологий.

Возникающая при взаимодействии с такими объектами модуляция фазовой составляющей поля, связана с их пространственными локальными параметрами: трехмерным распределением показателя преломления для прозрачных объектов и двумерным распределением высот профиля поверхности для отражающих объектов. Исходя из локальных параметров, можно вычислить важные интегральные параметры, такие как шероховатость поверхности, морфологические характеристики клеток, массу сухого вещества клетки и пр.

Современный уровень развития науки и техники требует бесконтактных измерений локальных и интегральных параметров статических и динамических фазовых объектов с высокой разрешающей способностью и точностью, что является актуальной проблемой.

Так, при производстве лазерных зеркал, необходимо измерять форму поверхности и шероховатость на уровне единиц ангстрем. При производстве оптических волокон и их заготовок, измерение профиля показателя преломления или пространственного распределения показателя преломления также является важной задачей. Также важным направлением является исследование внутренней

структуры прозрачных изделий, изготовленные по аддитивным технологиям.

актуальной Особенно проблема является исследования живых биологических клеток. По сути это прозрачные динамические трехмерные объекты со сложной внутренней структурой. При этом необходимо исследовать не только их интегральные характеристики (объем, вес. параметры формы), но И пространственные распределения различных веществ внутри клетки в динамике. Например, изменение формы эритроцита при воздействии на него различных веществ или изменение структуры нейрона при проведении через него нервного импульса и пр.

Одним из количественных методов получения информации о фазовой модуляции электромагнитного поля исследуемым объектом, или как ее по-другому называют фазовым изображением, является метод интерферометрии. Информация фазовом изображении закодирована в интерферограммах, получаемых с 0 помощью фазового микроскопа. С момента появления методы фазовой микроскопии, такие как метод фазового контраста Цернике, метод дифференциального интерференционного контраста Номарского, носили качественный характер. В середине 60-х годов начинают появляться отдельные алгоритмы расшифровки интерферограмм, бурное развитие которых приходится на середину 80-х годов и связано с появлением доступных ПЭВМ и систем захвата изображений. Однако, использование когерентных источников излучения приводило к большому уровню шумов и низкому качеству интерферограмм. С начала 2000-х годов стали разрабатываться схемы с использованием источников света, имеющих низкую когерентность. Объединение этих двух достижений позволило вывести фазовую микроскопию на высокий уровень точности измерения фазовой составляющей комплексной амплитуды волнового фронта.

Фазовое изображение несет информацию об интегральных и локальных параметрах исследуемого фазового объекта. Для прозрачного объекта оно является его томографической проекцией. По набору полученных под разными углами проекций с помощью методов вычислительной томографии можно восстановить локальный параметр – трехмерное пространственное распределение показателя

преломления. Это позволяет сочетать методы фазовой микроскопии и оптической томографии и открывает новое направление - томографическая фазовая микроскопия, a фазовый микроскоп со встроенной системой углового зондирования становится фазовым томографическим микроскопом. Таким образом, сформулировать исходя ИЗ вышеизложенного можно цель диссертационной работы.

Цель и основные задачи диссертации

Разработка и исследование методов и аппаратуры для фазовой микроскопии и томографии, использующих низкокогерентное оптическое излучение, для прецизионных измерений интегральных и локальных параметров трехмерных фазовых объектов.

Цель предопределила основные <u>задачи</u>, решаемые в диссертационной работе:

1. Анализ методов реконструкции фазовых изображений по интерферограммам.

2. Исследование метода фазовых шагов и разработка метода измерения фазового сдвига между интерферограммами на основе спектрального анализа разностных интерферограмм.

3. Анализ влияния элементов оптической системы микроскопа на формирование фазового изображения.

4. Исследование прозрачных объектов методами низкокогерентной фазовой микроскопии.

5. Разработка методов и аппаратуры томографической фазовой микроскопии.

6. Разработка методов и аппаратуры томографической фазовой микроскопии по дифференциальным проекциям.

7. Исследование отражающих объектов методами низкокогерентной фазовой микроскопии.

8. Разработка параметрического ряда автоматизированных фазовых микроскопов в низкокогерентном свете.

Научная новизна работы

 Впервые проведено численное моделирование метода фазовых шагов с фиксированным фазовым сдвигом, которое установило его предельные возможности.

2. Впервые проведен спектральный анализ и численное моделирование метода вычисления фазового сдвига между интерферограмами по разности между ними, что позволило определить ограничения метода и предложить пути повышения точности вычисления фазовых сдвигов.

3. Впервые был разработан и экспериментально опробован метод динамической фазовой микроскопии на основе метода фазовых шагов с предварительным определением сдвига между интерферограммами и устройство его реализующее, позволяющий получать фазового изображения динамического фазового объекта с частотой до 30 Гц.

4. Впервые предложен и экспериментально исследован двухиммерсионный метод измерения показателя преломления нанообъемов жидкостей с использованием автоматизированного фазового микроскопа.

5. Впервые проанализирована погрешность измерения массы сухого вещества клетки на фазовом микроскопе и влияющие на нее параметры.

6. Впервые предложен и экспериментально опробован метод DIC томографии, позволяющий получать дифференциальные проекции в параллельных пучках и реконструировать по ним DIC томограммы.

7. Впервые предложен и экспериментально опробован метод реконструкции томограмм с использованием локальных алгоритмов, позволяющий исследовать прозрачные динамические фазовые объекты.

8. Впервые продемонстрирована возможность использования фазового микроскопа для измерения наноперемещений объектов.

Практическая ценность и использование результатов работы

фазовых изображений, Алгоритмы получения методы измерения интегральных и локальных параметров статических и динамических фазовых объектов, а также фазовые микроскопы их реализующие, использованы во ФГУП «ВНИИОФИ». ФГУП «ВНИИМС», Центре Аналитической Микроскопии (Пущино), Московском Областном Научно-Исследовательском Институте им. Владимирского (МОНИКИ), на кафедре биофизики Биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова, НИИ РЛ МГТУ им. Н.Э. Баумана, и ООО «ВЕСТТРЭЙД ЛТД». Методы и принципы, изложенные в диссертационной работе, могут быть использованы для создания фазовых микроскопов и томографических фазовых микроскопов, а также для модернизации имеющихся интерференционных микроскопов.

Апробация работы, публикации

Основные материалы, представленные в диссертации, были доложены на:

- «Научной сессии МИФИ 2003», 2003 г.;

- 7-ой международной научно-технической конференции «Оптические методы исследования потоков», 2003 г.;

- «Научной сессии МИФИ 2004», 2004 г.;

- Научно-практической конференции «Голография в России и за рубежом. Наука и практика», 2004г.;

- International Conference and Exhibition MicroScience-2004, 2004 г.;

- 15-ой научно-технической конференции «Фотометрия и ее метрологическое обеспечение», 2005 г.;

- 9-ой международной научно-технической конференции «Оптические методы исследования потоков», 2005 г.;

- Научно-практической конференции «Голография в России и за рубежом. Наука и практика», 2005г.

- International Conference «Focus on Microscopy», 2007 г.;

- 16-ой научно-технической конференции «Фотометрия и ее метрологическое обеспечение», 2006 г.;

- Международном форуме по нанотехнологиям Rusnanotech'08, 2008 г.

- 18-ой научно-технической конференции «Фотометрия и ее метрологическое обеспечение», 2009 г.;

- Научно-практической конференции «Голография в России и за рубежом. Наука и практика», 2009г.;

- Международном форуме по нанотехнологиям Rusnanotech, 2009 г.;

- The IASTED International Conference on Automation, Control and Information Technology, 2010 г.;

- Конференция «Цитоморфометрия-2010», 2010 г.;

- Научно-практической конференции «Голография в России и за рубежом. Наука и практика», 2010г.;

- Международном форуме по нанотехнологиям Rusnanotech, 2010 г.;

- «Научной сессии НИЯУ МИФИ 2011», 2011 г.;

- Научно-практической конференции «Голография в России и за рубежом. Наука и практика», 2012г.;

- Научно-практической конференции «Голография в России и за рубежом. Наука и практика», 2013г.;

- Первая Всероссийская научно-техническая конференция «Метрология в нанотехнологиях», 2014 г.;

- «Focus on Microscopy», 2015 г.;

- SPIE «Advanced Microscopy Techniques IV; and Neurophotonics II», 2015 г.;

- V съезд биофизиков России, 2015 г.;

- 12-ая Международная научно-практическая конференция «Голография. Наука и практика», 2015 г.;

- 13-ая Международная научно-практическая конференция «Голография. Наука и практика», 2016 г.;

- 14-ая Международная научно-практическая конференция «Голография. Наука и практика», 2017 г.

- 15-ая Международная научно-практическая конференция «Голография. Наука и практика», 2018 г.

По теме диссертации опубликовано 75 научных работ, в том числе 36 тезисов докладов на отечественных и зарубежных научно – технических конференциях, 34 статьи в журналах «Optics Letters» (США), «Applied Optics» (США), «Microscopy and Analysis» (Англия), «Оптика и спектроскопия», «Приборы и техника эксперимента», «Автометрия», «Измерительная техника», «Метрология», «Оптический журнал» и «Оптико-электронные измерения. Сборник статей», 1 патент на полезную модель, 4 свидетельства о госрегистрации программ для ЭВМ.

Структура и объем работы

Диссертация состоит из введения, шести глав, заключения, списка литературы и приложения.

Общий объем составляет 284 страницы печатного текста, в том числе 91 рисунок, 17 таблиц, 26 страниц списка литературы.

Основные положения, выносимые на защиту

1 Предельное значение среднего квадратического отклонения от плоскости, которое достигается при реконструкции фазы из интерферограмм методом фазовых шагов по алгоритму Харихарана-Швайдера с фиксированным фазовым сдвигом, равным $\pi/2$, по 9-ти интерферограммам, полученным на длине волны λ , с динамическим диапазоном 235 градаций, в отсутствии шумов, составляет не более $\lambda/5000$.

2 Вычисление фазовых сдвигов по дисперсии от разности между тремя интерферограммами и их аподизация в пространственной области позволяет уменьшить относительную погрешность вычисления фазового сдвига до 0,06%.

3 В микроскопе Линника с монохроматическим протяженным пространственно-некогерентным источником света формируемое им изображение представляет собой сумму интерферограмм, образуемых точечными источниками,

а контрастная интерференционная картина наблюдается в плоскости изображения предметного и опорного зеркал.

4 Фазовый микроскоп с монохроматическим пространственнонекогерентным источником света, в котором при осуществлении фазового сдвига плоскость опорного зеркала остается оптически сопряженной с плоскостью регистратора, позволяет измерять высоту исследуемого объекта с аксиальным разрешением 0,25 нм.

5 Использование дифференциальных проекций, получаемых в сдвиговом томографическом микроскопе общего пути, при сдвиге в направлении, ортогональном плоскости зондирования, позволяет реконструировать томограммы с использованием инверсного преобразования Радона.

6 Использование дифференциальных проекций, получаемых в сдвиговом томографическом микроскопе общего пути, при сдвиге в направлении, параллельном плоскости зондирования, позволяет реконструировать томограммы с использованием локальных алгоритмов реконструкции.

2 СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во **ВВЕДЕНИИ** сформулированы актуальность проблемы, цель работы и определены основные научно-технические задачи, решаемые в диссертации.

В ПЕРВОЙ ГЛАВЕ рассмотрено понятие фазового объекта, как объекта исследования в фазовой микроскопии. Показано, что прозрачные ФО описываются трехмерным пространственным распределением показателя преломления n(x,y,z), а отражающие ФО описываются двумерным распределением высот h(x,y). Величиной, измеряемой с помощью фазового микроскопа, является двумерное распределение сдвига фазы электромагнитного излучения, вносимого исследуемым объектом, или его **фазовое изображение** $\phi(x,y)$. При этом для прозрачных объектов оно связано с двумерным распределением оптической разности хода $\Delta(x,y)$, соотношением (1):

$$\varphi(x, y) = \frac{2\pi}{\lambda} \Delta(x, y), \qquad (1)$$

где λ – длина волны света, $\Delta(x, y) = \int_{z=0}^{z=h(x,y)} (n(x, y, z) - n_0) dz$, h(x,y) –

геометрическая длина пути световой волны, n(x,y,z) и n_0 - показатели преломления объекта и окружающей среды.

Для отражающего фазового объекта его фазовое изображение связано с топограммой поверхности h(x,y) соотношением (2):

$$\varphi(x, y) = \frac{4\pi}{\lambda} h(x, y) .$$
⁽²⁾

Рассмотрены различные типы ФО: трехмерные, осесимметричные и двумерные.

Показано, что с точки зрения томографии фазовое изображение является проекцией, полученной при оптическом зондировании объекта в направлении (θ, ϕ) к оси z, т.е.

$$\varphi(x, y; \theta, \phi) = \frac{2\pi}{\lambda} \int \left(n(x - z \cdot tg\theta \cdot \sin\phi, y - z \cdot tg\theta \cdot \cos\phi, z) - n_0 \right) dz.$$
(3)

По набору таких проекций, полученных под различными углами, с помощью методов вычислительной томографии, может быть восстановлено пространственное распределение показателя преломления n(x,y,z) – локальный параметр фазового объекта.

Рассмотрены пространственные и временные методы вычисления фазы волнового фронта, основанные на цифровом анализе интерферограмм. Преимуществом пространственных методов является то, что для вычисления фазы требуется одна интерферограмма. Они основаны на анализе интерферограммы в пространственной (метод скелетизации) или частотной плоскости (фурье-метод) и требуют достаточно большого числа полос на интерферограмме.

Временные методы или методы фазовых шагов обладают большей точностью измерения по сравнению с пространственными методами, однако для получения фазовых изображение требуется не менее 3-х интерферограмм. Увеличение числа шагов повышает точность измерения, однако ограничивает диапазон временных частот, которые могут быть зарегистрированы при

исследовании динамического фазового объекта. Также эти методы требуют наличия оптической схемы, в которой можно обеспечить фазовый сдвиг, и самого фазосдвигающего устройства. Методы фазовых шагов в зависимости от величины фазового сдвига могут быть с фиксированным или произвольным сдвигом.

Для определения предельных возможностей различных методов фазовых шагов с целью их использования для высокоточных измерений, например, шероховатости в ангстремном диапазоне высот, было проведено численное моделирование.

Для исследования статических фазовых объектов был выбран метод фазовых шагов с фиксированным фазовым сдвигом между интерферограммами, основанный на аппроксимации синусоидального сигнала по методу наименьших квадратов с весовыми коэффициентами (алгоритм Харихарана-Швайдера). Моделирование состояло в том, что синтезировались двумерные интерферограммы в полосах конечной ширины, задающие идеальную плоскость. Их размерность и число градаций (диапазон 100 и 235), соответствовали размеру кадра, получаемого с помощью фазового микроскопа. На них накладывались аддитивные шумы. Полученные интерферограммы использовались для вычисления топограммы плоскости с помощью данного алгоритма. Результат оценивался по двум (PV)показателям: максимальному отклонению плоскости ОТ И среднеквадратическому отклонению от плоскости (СКО). Для уменьшения влияния шумов использовалось два типа усреднения: усреднение интерферограмм сдвига усреднение измерений. Путем вариации фазового И между интерферограммами и интенсивности интерференционного сигнала, проверялось влияние нелинейности работы фазосдвигающего устройства и изменения интенсивности источника излучения на результаты измерений (рис. 1).



Рисунок 1 - Графики зависимости СКО отклонений от плоскости в зависимости от: а - числа усреднений интерферограмм; б – числа усреднений измерений; в – числа усреднений интерферограмм при усреднении по 10 измерениям; г – от ошибки фазового сдвига. Диапазон градаций интерферограмм 100 и 235.

Было получено, что предельное значение среднего квадратического отклонения от плоскости, которое достигается при реконструкции фазы из интерферограмм методом фазовых шагов по алгоритму Харихарана-Швайдера с фиксированным фазовым сдвигом, равным $\pi/2$, по 9-ти интерферограммам, полученным на длине волны λ , с динамическим диапазоном 235 градаций, в отсутствии шумов, составляет не более $\lambda/5000$. Это первое научное положение.

Также было показано, что при уменьшении динамического диапазона до 100 градаций, с сохранением остальных условий, СКО увеличивается до 0,23 нм. Добавление шума приводит к увеличению СКО до 0,80 нм для диапазона 100 градаций и до 0,34 нм для диапазона 235 градаций. Усреднение интерферограмм (от 2 до 20) приводит к уменьшению СКО: от 0,60 нм до 0,30 нм для диапазона 100

градаций и от 0,25 нм до 0,13 нм для диапазона 235 градаций. Усреднение фазовых изображений (от 2 до 20) приводит к уменьшению СКО: от 0,59 нм до 0,33 нм для диапазона 100 градаций и от 0,25 нм до 0,18 нм для диапазона 235 градаций. Совместное усреднение интерферограмм (от 5 до 15) и фазовых изображений (10) приводит к уменьшению СКО: от 0,28 нм до 0,24 нм для диапазона 100 градаций и от 0,12 нм до 0,11 нм для диапазона 235 градаций. Неэквидистантность шагов проявляется в появлении второй гармоники на фазовых изображениях и увеличении СКО. Линейное изменение амплитуды интерферограмм проявляется в появлении первой гармоники на фазовых изображениях и увеличении СКО. Общий вывод исследования данного метода состоит в том, что для уменьшения ошибки измерения необходимо проводить усреднение как исходных интерферограмм, так и полученных результатов, а также необходимо повышать разрядность исходных интерферограмм И осуществлять лучшую калибровку фазосвдигающего устройства.

Для исследования динамических фазовых объектов был выбран самокалибрующийся алгоритм, который предусматривает предварительное определение фазовых между интерферограммами сдвигов по самим интерферограммам с последующим восстановлением фазовых изображений по методу фазовых шагов. Для его реализации был разработан новый метод измерения фазового сдвига по разности между тремя интерферограмами и проведен его спектральный анализ. Он позволил вывести основные формулы для вычисления фазовых сдвигов (4) и определить пути повышения точности алгоритма. Показано, что для точного определения фазового сдвига необходимо учитывать дисперсию от разности между тремя интерферограммами:

$$\delta_{12} = 2 \arccos\left(\frac{\sigma_{23}^{2} + \sigma_{13}^{2} - \sigma_{12}^{2}}{2 \cdot \sigma_{23} \cdot \sigma_{13}}\right), \tag{4}$$

$$\Gamma \mathcal{A}e \ \sigma_{12}^{2} = \frac{1}{Nx \cdot Ny} \sum_{Nx} \sum_{Ny} [I_{1}(x, y) - I_{2}(x, y)]^{2} - \frac{1}{(Nx \cdot Ny)^{2}} \left(\sum_{Nx} \sum_{Ny} [I_{1}(x, y) - I_{2}(x, y)]\right)^{2}, \qquad (4)$$

$$\sigma_{23}^{2} = \frac{1}{Nx \cdot Ny} \sum_{Nx} \sum_{Ny} [I_{2}(x, y) - I_{3}(x, y)]^{2} - \frac{1}{(Nx \cdot Ny)^{2}} \left(\sum_{Nx} \sum_{Ny} [I_{2}(x, y) - I_{3}(x, y)]\right)^{2}$$

$$\sigma_{13}^{2} = \frac{1}{Nx \cdot Ny} \sum_{Nx} \sum_{Ny} [I_{1}(x, y) - I_{3}(x, y)]^{2} - \frac{1}{(Nx \cdot Ny)^{2}} \left(\sum_{Nx} \sum_{Ny} [I_{1}(x, y) - I_{3}(x, y)]\right)^{2}$$

 $I_1(x,y), I_2(x,y) I_3(x,y)$ - распределение интенсивности трех интерферограмм, *Nx*, *Ny* – число пикселей по x и y.

Для этого было проведено численное моделирование, где в качестве исходных данных использовались три интерферограммы в полосах конечной ширины с заданными фазовыми сдвигами. Их размерность и число градаций соответствовали размеру кадра, получаемого с помощью фазового микроскопа. На них накладывались аддитивные шумы. Результат моделирования оценивался по относительной погрешности вычисления фазового сдвига.

Была исследована зависимость относительной погрешности вычисления фазового сдвига от величины шума для различных фазовых сдвигов (рис. 2a) и числа полос при уровне шума 1% (рис. 2б). Также было показано, что погрешность вычисления фазовых сдвигов минимальна, когда на интерферограммах присутствует целое число полос или дробная часть полосы близка к π (рис. 2в). Поэтому при настройке интерферометра на полосы конечной ширины следует добиваться, чтобы в поле зрения было целое число полос. Либо проводить вычисление фазового сдвига по части интерферограммы, в которой остается целое число полос, путем наложения маски или же использовать аподизацию интерферограмм в пространственной области. Это позволяет уменьшить относительную погрешность вычисления фазового сдвига до 0,06%.



16

В

Рисунок 2- Зависимость относительной погрешности вычисления фазового сдвига от величины шума для различных фазовых сдвигов (а) и числа полос при уровне шума 1% (б), от дробной части полосы для сдвига π/2 без аподизации и с аподизацией двумерной функцией Гаусса (в).

Таким образом, вычисление фазовых сдвигов по дисперсии от разности между тремя интерферограммами и их аподизация в пространственной области позволяет уменьшить относительную погрешность вычисления фазового сдвига до 0,06%. Это второе научное положение.

Также был рассмотрен метод вычисления фазовых сдвигов между интерферограммами основанный на преобразовании Фурье. Все представленные методы расшифровки интерферограмм реализованы в ПО «WinPhast».

Во **ВТОРОЙ ГЛАВЕ** рассмотрено влияние различных факторов на качество формируемого в фазовом микроскопе интерференционного изображения и восстанавливаемого по нему фазового распределения.

Проведенный анализ методов реконструкции фазы волнового фронта показал, что важным фактором, определяющим точность измерения фазового распределения, является уровень шумов на исходных интерференционных изображениях. Фотометрические шумы, связанные с приемником, могут быть уменьшены за счет использования усреднений, однако существуют еще и шумы, связанные с источником излучения. В частности, высокая пространственная и временная когерентность источника приводит к возникновению спекл-шума и паразитных полос на восстановленном фазовом изображении (рис. 3).





Для подавления этих шумов необходимо уменьшать степень пространственной или временной когерентности источника. Для уменьшения пространственной когерентности требуется преобразовать точечный источник в набор точечных некогерентных источников со случайной начальной фазой. Для этого может быть использован, например, вращающийся матовый диск и пр. Для уменьшения временной когерентности необходимо использовать источники с достаточно широким спектром излучения, например, светодиоды, лампы со светофильтрами и пр.

С этой цель было исследовано формирование интерференционного изображения в фазовом микроскопе по схеме Линника с протяженным источником монохроматического пространственно-некогерентного излучения. Исключительная особенность данной схемы заключается в возможности работы с протяженным источником. В этом случае точечные источники, на которые можно разбить протяженный источник света, некогерентны между собой (рис. 4).



Рисунок 4 – Схема микроскопа Линника: 1 – пространственнонекогерентный (протяженный) источник монохроматического света; 2, 11 – линзы; 3 – светоделитель; 4, 8 – передние фокальные плоскости микрообъективов; 5, 9 – микрообъективы; 6 – объект; 7, 10 –предметное и опорное зеркала; 12 – плоскость регистратора

Поэтому интерферограмма I(x,y) для такого пространственнонекогерентного источника света будет формироваться как сумма элементарных интерферограмм от каждого точечного источника $i(x,y; \theta, \varphi, \alpha)$ (5):

$$i(x, y; \theta, \phi, \alpha) = 1 + \cos\left[\frac{2\pi}{\lambda}(\Delta(x, y; \theta, \phi) + x \cdot \sin\alpha)\right],$$
(5)

где α - угол между предметным и опорным пучками для данного положения точечного источника; *θ*, *φ* - полярный и азимутальный углы единичного вектора зондирования. Для непрерывного набора источников можно записать:

$$I(x, y) = \iint_{\theta, \phi} i(x, y; \theta, \phi) \sin \theta d\theta d\phi$$
(6)

Область локализации интерференционных полос в микроскопе Линника с протяженным источником пространственно-некогерентного света совпадает с плоскостью изображения зеркал предметного и опорного каналов, где все элементарные интерферограммы будут суммироваться без поперечного смещения и формировать контрастную суммарную интерферограмму. В другой плоскости, из-за расходимости пучков, они будут смещаться, и видность суммарной интерферограммы уменьшится. Для подтверждения этого факта было проведено численное моделирование и экспериментальная проверка зависимости видности полос от дефокусировки при различном положении апертурной диафрагмы микроскопа (рис. 5).



Рисунок 5 – Зависимость видности полос V от дефокусировки Z при различных положениях апертурной диафрагмы 1/1 (а), 2/3 (б), ½ (в). Сплошные линии и точки – теоретические и экспериментальные зависимости.

Таким образом, в микроскопе Линника с монохроматическим протяженным пространственно-некогерентным источником света формируемое им изображение представляет собой сумму интерферограмм, образуемых точечными источниками, а контрастная интерференционная картина наблюдается в плоскости изображения предметного и опорного зеркал. Данное утверждение является третьим научным положением.

При формировании интерферограммы фаза результирующего волнового поля описывается разностью фаз полей, отраженных от исследуемого объекта и опорного зеркала:

$$I(x, y) = \left| Ae^{i\frac{2\pi}{\lambda}2z_{o6}(x,y)} + Be^{i[\frac{2\pi}{\lambda}2z_{on}(x,y)+\varphi(x,y)]} \right|^{2} = ,$$

$$= |A|^{2} + |B|^{2} + 2|A||B|\cos\left\{\frac{4\pi}{\lambda}[z_{o6}(x,y) - z_{on}(x,y)] - \varphi(x,y)\right\}$$
(7)

где A и B – амплитуды, соответственно, объектного и опорного пучков, $z_{o6}(x,y)$ и $z_{on}(x,y)$ – высота профиля рельефа поверхности, соответственно, объекта и опорного зеркала в точке (x,y), λ - длина волны, $\phi(x, y)$ – фаза комплексной

амплитуды волнового фронта, характеризующая аберрации оптической схемы микроскопа.

Поэтому другим важным фактором, влияющим на фазовое изображение, является качество опорного волнового фронта: он должен вносить минимальный вклад в измеряемую величину, а также быть неизменным в процессе фазового сдвига.

Форма опорного волнового фронта определяется волнистостью и шероховатостью опорного зеркала $z_{on}(x,y)$, поэтому для уменьшения его влияния необходимо снижать шероховатость опорного зеркала до минимально возможной величины, например, для этого можно использовать в качестве опорного зеркала моноатомный слой.

Часто для реализации метода фазовых шагов в фазовом микроскопе используется перемещение опорного зеркала с помощью пьезопривода. Это приводит к его дефокусировке в процессе измерений. В диссертационной работе предлагается новый способ фазового сдвига, который не вызывает дефокусировки опорного зеркала и тем самым обеспечивает высокую точность измерения. Он заключается в том, что опорное зеркало перемещается вместе с микрообъективом. Это приводит к тому, что плоскость опорного зеркала остается оптически сопряженной с плоскостью регистратора в процессе фазового сдвига (рис. 5).



Рисунок 5 – Возможные способы фазового сдвига в микроскопе: а) исходное состояние б) сдвиг зеркала; в) сдвиг зеркала и микрообъектива. 1 – зеркало; 2 – микрообъектив; 3 – объектив; 4 – плоскость регистратора; 5 – плоскость фокусировки.

Данное решение было реализовано в микроскопе Линника с протяженным пространственно-некогерентный источником монохроматического света МИА-1М. Проведенные измерения партии подложек лазерных зеркал с различной шероховатостью показали, что его аксиальная разрешающая способность микроскопа МИА-1М достигает 0,25 нм (рис. 6).



Рисунок 6 - Совместные измерения партии подложек лазерных зеркал на фазовом микроскопе МИА-1М и сканирующем микроскопе белого света Zygo NewView 6200.

Таким образом, фазовый микроскоп монохроматическим С пространственно-некогерентным источником света, котором В при осуществлении фазового сдвига плоскость опорного зеркала остается оптически сопряженной с плоскостью регистратора, позволяет измерять высоту исследуемого объекта с аксиальным разрешением 0,25 нм. Это четвертое научное положение.

Для повышения точности измерений была разработана новая конструкция микроскопа Линника с супергладким опорным зеркалом, состоящим из моноатомного слоя кремения. Это позволило увеличить разрешающую способность до 0,06 нм и зафиксировать перепад в один моноатомный слой – 3,14 Å (рис. 7).



Рисунок 7 – а - Топограмма моноатомной структуры кремния, полученной на фазовом микроскопе. Поле зрения 150х150 мкм. Красным выделена зона моноатомного слоя; б - Сечение топограммы

При исследовании отражающих фазовых объектов, состоящих из участков с разными материалами необходимо учитывать влияние комплексного показателя преломления n'=n-*ik* этих материалов на фазу отраженного света. Ошибка измерения высоты профиля поверхности без учета этого факта может составлять несколько десятков нанометров.

Сдвиг фазы при отражении может быть интерпретирован как смещение границы раздела воздух-поверхность вглубь объекта на величину *∆h*:

$$\Delta h = \frac{\Delta \varphi \cdot \lambda}{4\pi},\tag{8}$$

где λ – длина волны излучения, $\Delta \varphi = arctg \left| \frac{2k}{1 - n^2 - k^2} \right|$.

Таким образом, для получения истинного профиля поверхности таких объектов, необходимо проводить корректировку измеренных данных с учетом оптических констант материалов отражающих поверхностей. Для конкретного материала оптические константы n и k могут быть взяты из справочника или измерены с помощью эллипсометра.

Для исследования этого факта были проведены сравнительные измерения толщины алюминиевого покрытия, напыленного на кремниевую пластину. Измерения участка одного и того же объекта проводились на трех типах микроскопов: сканирующем интерференционном микроскопе белого света Zygo NewView 6200 (Zygo Corp., США), автоматизированном интерференционном микроскопе МИА-1М (ВНИИОФИ, Россия) и атомно-силовом микроскопе Solver Pro (НТ-МДТ, Россия). Эксперименты показали, что поправки, связанные с эффектом изменения фазы на границе раздела кремний – воздух и алюминий – воздух, вычисленные по эллипсометрическим данным, дают более близкое к измеренному на атомно-силовом микроскопе значению высоты слоя алюминия, чем для поправок, вычисленных по справочным данным.



Рисунок 8 – Результаты измерения высоты слоя алюминия на кремниевой подложке на трех микроскопах.

Таблица 1 – Результаты измерения высоты слоя алюминия на кремниевой подложке на трех микроскопах

Микроскоп	Измеренное значение, нм	Измеренное значение с учетом поправки из справочника, нм	Измеренное значение с учетом поправки по данным эллипсометрии, нм
Zygo NewView	70,1	82,6	94,9
МИА-1	70,3	82,6	93,8
Solver Pro	99,3	-	-

проф. В.П. Тычинским, показали, что Исследования, проведенные латеральная разрешающая способность фазового микроскопа может превосходить латеральную разрешающую способность обычного оптического микроскопа. Используя автоматизированный фазовый микроскоп по схеме Линника, было экспериментально исследовано его латеральное разрешение. В качестве объекта исследовались ступеньки различной высоты. Полученные результаты показали, что пространственное разрешение фазового микроскопа зависит не только от длины волны, но и от высоты фазовой ступеньки. Наилучшее разрешение было получено на длине волны 633 нм для объекта, имеющего номинальную высоту ступеньки 179,4 нм. Кроме того, при определённых соотношениях между длиной волны λ и высотой ступеньки h, a именно, если $\lambda/4 \approx$ h, пространственное фазовых изображений может превосходить пространственное разрешение разрешение традиционных изображений, оптических ограниченное дифракционным пределом разрешения Аббе. Полученные экспериментальные результаты в целом согласуются с результатами, полученными проф. В.П. Тычинским с использованием фазовых объектов в виде латексных сфер.

ТРЕТЬЯ ГЛАВА посвящена использованию автоматизированного фазового микроскопа для исследования различных прозрачных фазовых объектов.

Фазовое изображение прозрачного объекта несет количественную информацию о распределении показателя преломления в интегральном виде. Для однородных объектов по нему можно вычислить показатель преломления и геометрические характеристики. Для неоднородных объектов можно вычислить различные интегральные характеристики: объем, площадь, морфометрические параметры, массу сухого вещества клеток, инкремент показателя преломления и др.

Одним из применений автоматизированного фазового микроскопа является рефрактометрия нанообъемов (1 – 0.001 нл) жидких и твердых веществ. Для этого был разработан двухимерсионный метод измерения показателя преломления. Метод состоит в том, что измеряются фазовые объемы V_1 и V_2 микровпадин профиля кюветы с различными жидкостями. Для реализации этого метода вначале

регистрируют Φ_1 микровпадины с «референтным» раствором с известным показателем преломления n_1 , а затем - Φ_2 с искомым раствором с неизвестным показателем преломления n_2 . Вычисление фазовых объемов по полученным фазовым изображениям выполняется цифровым способом по следующим формулам:

$$V_{1} = \iint_{S} \varphi_{1}(x, y) dx dy = \frac{4\pi}{\lambda} n_{1} \iint_{S} h(x, y) dx dy,$$

$$V_{2} = \iint_{S} \varphi_{2}(x, y) dx dy = \frac{4\pi}{\lambda} n_{2} \iint_{S} h(x, y) dx dy.$$
(10)

Отношение фазовых объемов дает отношение показателей преломления измеряемых жидкостей:

$$n_2 = n_1 \cdot \frac{V_2}{V_1}.\tag{11}$$

Данный метод реализован в Государственном первичном эталоне ГЭТ 203 - 2010 единицы показателя преломления и обеспечивает расширенную неопределенность измерения показателя преломления 0,000015 (при коэффициенте охвата k=3).

Наиболее широкое применение автоматизированный фазовый микроскоп находит для исследования живых клеток, являющихся прозрачными объектами (рис. 9). По фазовым изображениям могут быть вычислены различные морфометрические характеристики, которые несут ценную информацию о живой клетке и могут быть использованы для диагностики ее состояния.





В

Известно, что по фазовому изображению может быть вычислен важный количественный интегральный параметр - масса сухого вещества клетки *m* по следующей формуле:

$$m = \frac{M + (n_{im} - n_w) \cdot V}{100 \cdot \alpha}, \qquad (12)$$

Г

0.15

0 1

0.05

где α - удельный инкремент (приращение) показателя преломления растворенного вещества, n_{im}- показатель преломления иммерсионной жидкости, Мнулевой момент фазового изображения, n_w - показатель преломления водной фазы клетки, V- объем клетки. В диссертационной работе исследованы факторы, влияющие на погрешность измерения массы сухого вещества. Также представлены результаты экспериментов по измерению инкремента показателя преломления

биологических клеток во времени, которые показали, что изменение этой величины носит периодический характер (рис. 10).

Икремент показателя преломления, мкм.куб/г 2*10⁹ 1.8*10⁹ 1.6*10⁹ 0 20 40 60 80 100 120 140 160 180 Время, мин

Рисунок 10 – График изменения инкремента показателя преломления клеточного вещества эритроцита.

Длина волны зондирующего излучения 633 нм.

В **ЧЕТВЕРТОЙ** ГЛАВЕ приведено описание схем томографических фазовых микроскопов на основе микроскопа Линника и микроскопа со сдвиговым интерферометром.

Фазовое изображение прозрачного объекта представляет томографическую проекцию и по набору таких проекций, полученных под разными углами, может быть реконструирована его внутренняя структура.

Для создания томографического микроскопа необходимо решить несколько задач:

1 Восстановить фазу волнового фронта, прошедшего через объект с максимальной точностью, т.к. решается некорректная задача томографической реконструкции;

2 Получить проекции в максимально возможном угловом диапазоне (от 0 до 180 град), который ограничен числовой апертурой микрообъектива;

3 Обеспечить максимальное число проекций за малый период времени.

Как было отмечено выше, для повышения качества фазовых изображений необходимо использовать низкокогерентное излучение. Такое излучение используется в микроскопе Линника. Поэтому был разработан томографический микроскоп, построенный по этой схеме с пространственно-некогерентным источником монохроматического излучения, который описан в Главе 2. Для обеспечения углового зондирования объекта параллельным пучком изображение источника 1 (рис. 4) смещается в передней фокальной плоскости микрообъектива (рис. 11 а). При этом диапазон углов ограничен его числовой апертурой.



Рисунок 11 – а – принцип углового зондирования в томографическом микроскопе Линника; б – эквивалентная схема зондирования объекта.

В работе представлены результаты экспериментов с живыми клетками – лимфоцитами. Клетки находились в физиологическом растворе между покровным стеклом и зеркалом. Они сканировались по двумерной траектория типа «квадрат». Диапазон изменения угла зондирования по углу θ для составил ±45°. Всего было зарегистрировано 43 двумерные проекции на сетке 256×256 при размере кадра 23×23 мкм. Погрешность реконструкции фазы волнового фронта 0,25 нм.

Для получения проекций был использован метод фазовых шагов, а для реконструкции томограммы комбинированный итерационный алгоритм сART. На рис. 12 приведены проекции и 3D реконструкция внутренней структуры лимфоцита в виде изображения трех изоповерхностей оптической плотности 22%, 50%, 82%

от максимального значения. Реконструкция выполнена Пикаловым В.В. (Институт теоретической и прикладной механики СО РАН).



Рисунок 12 – Проекции и 3D томограмма лимфоцита.

Основной недостаток данной схемы связан с тем, что она работает на «отражение» - исследуемый объект располагается на зеркале и излучение дважды проходит через него, это приводит к усложнению объекта реконструкции (рис. 11 б).

Для решения этой проблемы была разработана схема «на просвет» с однократным прохождением излучения через объект на основе микроскопа со сдвиговым интерферометром (рис. 13а).

Данная В ней схема имеет ряд преимуществ. используется немонохроматический пространственно-когерентный источник излучения (точечный светодиод), что позволяет получать интерферограммы высокого качества и добиваться погрешности реконструкции фазы волнового фронта до 0,1 нм. Для создания наклонного пучка используется одноосевое гальваническое зеркало и иммерсионные микрообъективы с числовой апертурой 1,3, что обеспечивает максимальный угол зондирования 67 град. При этом плоскость xz в которой лежат волновые вектора зондирующих плоских пучков является зондирования. Для получения интерферограмм используется плоскостью сдвиговый интерферометр, что значительно упрощает конструкцию, однако, при этом восстанавливаются не сами фазовые изображения, а производные от них – т.н. дифференциальные проекции.

Сдвиг пучков обеспечивается за счет наклона зеркала М1. При этом возможно два варианта сдвига: перпендикулярно (рис. 13б) и параллельно (рис. 13в) плоскости зондирования.



Рисунок 13 – а – Схема томографического фазового микроскопа: LED – точечный светодиод; L0 – коллимирующий объектив; M0 - гальваническое зеркало; M1 – зеркало; L1, L2 – линзы; O1, O2 – микрообъективы; F1, F2 – фурье-объективы; CK – светоделительный кубик; M2 – зеркало на пьезоприводе; ПЗС – ПЗС-камера; сдвиг пучков перпендикулярно (б) и параллельно(в) направлению зондирования.

В первом случае (рис. 13б) уравнение дифференциальной проекции можно записать в следующем виде (13):

$$\frac{\partial R(p, y; \theta)}{\partial y} = \iint \left(\frac{\partial n(x, y, z)}{\partial y} \right) \delta(p - x \cos \theta - z \sin \theta) dx dz , \qquad (13)$$

где $R(p, y; \theta) = \iint n(x, y, z) \delta(p - x \cos \theta - z \sin \theta) dx dz$ - уравнение «обычной» проекции (преобразование Радона). Из (13) следует, что дифференциальная проекция также является преобразованием Радона от следующей функции:

$$DIC(x, y, z) = \frac{\partial n(x, y, z)}{\partial y}.$$
(14)

DIC(x,y,z) представляющую собой частную производную 1-го порядка от исходной функции n(x,y,z) по направлению сдвига. Поэтому для реконструкции томограмм такого объекта, которую можно назвать DIC-томограммой, можно использовать инверсное преобразование Радона. Восстановленная томограмма представляет собой набор DIC изображений, поэтому это направление оптической микротомографии было названо нами DIC томографией.

Для экспериментальной апробации были проведены эксперименты по DIC томографии нейтрофила. Для получения проекций использовался метод фазовых шагов, реализуемый за счет перемещения опорного зеркала M2 с помощью пьезопривода. Для реконструкции DIC томограммы применялся итерационный алгебраический ART алгоритм. На рис. 14 представлены результаты сравнения DIC изображения, полученного для z = 0 и сечения DIC томограмы, полученного для того же значениях z. Из него видно, что при сравнении одной и той же области, DIC томограмма имеют лучшую детализацию и контраст.



Рисунок 14 – Сравнение DIC изображения (слева) и 2D сечения 3D DIC томограмы (справа) одной и той же центральной плоскости z=0.

Таким образом, использование дифференциальных проекций, получаемых в сдвиговом томографическом микроскопе, при сдвиге в направлении, ортогональном плоскости зондирования, позволяет реконструировать томограммы с использованием инверсного преобразования Радона. Это пятое научное положение.

Во втором случае (рис. 13б) при сдвиге вдоль плоскости зондирования получаемая проекция будет иметь вид (15):

$$\frac{\partial R}{\partial p} = \iint n(x, y, z) \frac{\partial \delta(p - x\cos\theta - z\sin\theta)}{\partial p} dx dz$$
(15)

Для реконструкции по таким проекциям нельзя использовать инверсное преобразование Радона, но можно использовать т.н. локальные алгоритмы. Это оказывается очень полезно при исследовании динамических объектов, т.к. дает возможность быстрого вычисления искомого распределения показателя преломления в интересующей точке или области без проведения полной реконструкции.

Путем суммирования обратных проекций (15) можно получить т.н. суммарное изображение:

$$b(x,z) = \int_{0}^{\pi} \frac{\partial R(p,x\cos\theta + z\sin\theta;\theta)}{\partial p} d\theta$$
(16)

которое связано с исходной функцией через преобразование Гильберта *H*_z:

$$b(x,z) = -2\pi H_{z}[n(x,z)].$$
(17)

Рассмотренный локальный алгоритм был численно промоделирован на фантоме (рис. 15а), имеющем оболочку и две неоднородности. Для проверки локальности были получены суммарные изображения из «широких» (рис. 15б) и «узких проекций» (рис. 15в), (область проекций выделена красным кружком) которые совпали. Моделирование также показало, что на суммарном изображении хорошо видны основные элементы фантома с выделенными границами присутствующей резкой неоднородности и хорошей передачей плавной неоднородности.

Также было проведено экспериментальное исследование по локальной томографии эритроцита лягушки. Получены его дифференциальные проекции (рис. 15 г), из которых составлена синограмма, из нее выделены «узкие проекции» (рис. 15 д) и суммарное изображение (рис. 15е). Красным овалом выделена область ядра клетки, на которой отчетливо видна его мелкая структура. Таким образом, данный метод открывает новые возможности для исследования динамических процессов внутри живых клеток.



Рисунок 15 а – изображение фантома; б – суммарное изображение, полученное из «широких» проекций; в – суммарное изображение, полученное из «узких» проекций; г - 2D дифференциальная проекция эритроцита лягушки; д - синограмма из 1D дифференциальных проекций, полученных по центральному сечения, отмеченному красной линией на рис. г; е - суммарное изображение, восстановленное из "узких" проекций, выделенных на синограмме двумя красными линиями.

Таким образом, использование дифференциальных проекций, получаемых в сдвиговом томографическом микроскопе, при сдвиге в направлении параллельном плоскости зондирования, позволяет реконструировать томограммы с использованием локальных алгоритмов реконструкции. Это шестое научное положение.

ПЯТАЯ ГЛАВА посвящена использованию автоматизированного фазового микроскопа с низкокогерентным источником для исследования отражающих фазовых объектов.

Рассмотрены методические аспекты измерения шероховатости супергладких поверхностей фазовом микроскопе. Показано, на что при измерении среднеквадатического отклонения от плоскости поверхностей, шероховатость которых соизмерима шероховатостью опорного зеркала необходимо С корректировать полученные результаты в соответствии с:

$$\sigma(z_{o\delta}) = \sqrt{\sigma^2(\Delta z_{o\delta}) - \sigma^2(z_{on})}, \qquad (18)$$

где $\sigma(\Delta z_{ob})$ – измеренное СКО объекта, $\sigma(\Delta z_{ob})$ – СКО опорного зеркала.

Важным моментом обработки является выбор частоты среза фильтра, позволяющего разделить высокочастотную (шероховатость) и низкочастотную (волнистость) составляющие измеренного профиля. В работе использован цифровой фильтр Гаусса, описанный в международном стандарте ISO 16610-21-2011. Показано, что при этом необходимо учитывать характер низкочастотной составляющей профиля.

Для проверки правильности полученных выводов были проведены сравнительные измерения шероховатости 11 подложек лазерных зеркал на сканирующем интерференционном микроскопе белого света Zygo NewView 6200 и автоматизированном фазовом микроскопе МИА-1М с источником монохроматического пространственно-некогерентного излучения (рис. 6).

Высокое разрешение фазового аксиальное микроскопа позволяет использовать его для измерения высоты слоев кремниевых структур, которые могут быть использованы как эталоны высоты в субнанодиапазоне. Проведенная модификация фазового микроскопа МИА-1М (микроскоп МИА-2) и использование немонохроматического пространственно-когерентного излучения, позволила обеспечить измерение высоты моноатомного слоя высотой 3,1Å с погрешность 0,6 Å. На микроскопе были исследованы меры высоты, состоящие из моноатомных слоев кремния.

Высокая аксиальная чувствительность фазового изображения позволяет использовать его для определения перемещений в нанодиапазоне. Существуют разные методы измерения таких малых перемещений, наиболее известными из которых являются сканирующая электронная микроскопия, атомно-силовая микроскопия, ёмкостной метод. Однако оптические методы имеют ряд преимуществ: бесконтакность, доступность прецизионных оптических элементов и систем.

В работе проведён сравнительный анализ известных методов субпиксельной регистрации и обработки изображений и выбран алгоритм, наиболее подходящий для фазовых изображений. Численным моделированием показана возможность определения малых перемещений объекта с помощью выбранного алгоритма и выполнены оценки влияния шумов измерений.

Проведены эксперименты по оценке погрешности перемещения ступенчатого объекта с помощью нанопозиционера и фазового микроскопа, которые показали, что абсолютная погрешность может достигать единиц нанометров.

ГЛАВА ШЕСТАЯ посвящена описанию параметрического ряд автоматизированных фазовых микроскопов, созданных во ФГУП «ВНИИОФИ» (рис. 16). К ним относятся: автоматизированный фазовый микроскоп МИА-1М (Федеральный информационный фонд СИ № 48171-11), автоматизированный фазовый микроскоп МИА-2, динамический фазовый микроскоп МИА-Д (Федеральный информационный фонд СИ № 48172-11), томографический фазовый микроскоп DIC-TOMO, томографический фазовый микроскоп МИА-ТОМО. Для поверки разработанных приборов, а также для проведения калибровок и государственных испытаний других видов фазовых микроскопов, разработано метрологическое обеспечение: «Государственный вторичный эталон единицы длины в области измерения параметров шероховатости Rmax в диапазоне от 0,02 до 1,80 мкм и Ra номинального значения 0,0015 мкм» (2.1.ZZA.0034.2015).







В







Г



Д



3 ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В процессе выполнения диссертационной работы были получены следующие результаты:

1 Проведено численное моделирование метода фазовых шагов, которое показало, что совместное усреднение интерферограмм и фазовых изображений позволяет существенно уменьшить ошибку реконструкции;

2 Проведен спектральный анализ метода вычисления фазового сдвига по разностным интерферограммам, который позволил выявить и объяснить некоторые ограничения метода, а также предложить меры для повышения его точности;

3 Разработан и экспериментально опробован метод динамической фазовой микроскопии на основе метода фазовых шагов с определением сдвига между интерферограммами и устройство его реализующее, позволяющий проводить ФО динамического объекта с частотой до 30 Гц;

4 Исследован механизм образования контрастной интерференционной картины в микроскопе Линника с широким источником пространственнонекогерентного света и показано, что область ее локализации наблюдается в узкой зоне вблизи плоскости фокусировки предметного и опорного зеркал микроскопа;

5 Экспериментально продемонстрировано, что латеральное разрешение фазового микроскопа зависит не только от длины волны, но и от высоты измеряемой фазовой ступеньки;

6 Предложен и экспериментально исследован двухиммерсионный метод измерения показателя преломления нанообъемов жидкостей с использованием автоматизированного фазового микроскопа;

7 Теоретически и экспериментально исследованы факторы, влияющие на случайную погрешность измерения массы сухого вещества клетки, на автоматизированном фазовом микроскопе

8 Предложен и экспериментально опробован метод DIC томографии позволяющий получать дифференциальные проекции в параллельных пучках и реконструировать по ним сдвиговые томограммы.

9 Предложен, теоретически и экспериментально опробован метод реконструкции томограмм с использованием локальных алгоритмов, позволяющий исследовать прозрачные динамические фазовые объекты;

10 Продемонстрированы возможности использования автоматизированного фазового микроскопа с низкокогерентным источником света по схеме Линника для исследования супергладких поверхностей и моноатомных наноструктур кремния;

11 Продемонстрирована возможность использования фазового микроскопа для измерения наноперемещений объектов.

Таким образом, в настоящей работе решена актуальная научно-техническая проблема разработки методов и аппаратуры для прецизионных измерений параметров трехмерных фазовых объектов, что имеет существенное значение для оптической микроскопии и оптической томографии.

4 СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Вишняков Г.Н., Левин Г.Г., Минаев В.Л. Томографическая микроскопия трехмерных фазовых объектов в пространственно-некогерентном свете// Оптика и спектроскопия. – 2003.- том 95.- №1. - С. 142-146.

2. Минаев В.Л. Конфокальный микроскоп для интерференционной томографии фазовых объектов: Тез. докл. Научная сессия МИФИ - 2003.- М., 2003.- С. 210-211.

3. Минаев В. Л., Сухоруков К.А. Реализация метода динамической фазовой микроскопии: Тез. докл. Седьмая международная научно-техническая конференция «Оптические методы исследования потоков». - М., 2003.- С. 75.

4. Левин Г.Г., Вишняков Г.Н., Минаев В.Л. Использование автоматизированного микроинтерферометра МИИ-4 для измерения сухого веса одиночных клеток : Тез. докл. Пятнадцатая научно-техническая конференция «Фотометрия и ее метрологическое обеспечение». –М., 2003.- С. 123.

5. Метелин В.Б., Минаев В.Л., Валов А.Л., Конрадов А.А., Василенко И.А., Бабакова С.В. Компьютерная фазово-интерференционная микроскопия в биологии и медицине // Сборник научных трудов. -2003.- г. Красноярск. -С.10.

6. Левин Г.Г., Ковалев А.А., Минаев В.Л., Сухоруков К.А. Оценка точности измерения сухой массы клетки на автоматизированном интерференционном микроскопе// Измерительная техника. - 2004. - №4. - С.62-67.

Vishnyakov G.N., Levin G.G, Minaev V.L., Pickalov V.V., Likhachev A.V.
 Tomographic interference microscopy of living cells // Microscopy and Analysis. 2004.
 Vol. 87. P. 19-21.

8. Вишняков Г.Н., Левин Г.Г., Минаев В.Л. Томографическая интерференционная микроскопия живых клеток: Тез. докл. Научно-практическая конференция «Голография в России и за рубежом. Наука и практика». –М., 2004.-С. 70.

9. Levin G.G, Vishnyakov G.N., Minaev V.L. Tomographic interference microscopy of living cells // International Conference and Exhibition MicroScience-2004.- 2004 - P.26.

10. Минаев В.Л. Автоматизированный интерференционный микроскоп Линника: Тез. докл. Пятнадцатая научно-техническая конференция «Фотометрия и ее метрологическое обеспечение». –М., 2005.- С. 100.

11. Вишняков Г.Н., Левин Г.Г., Минаев В.Л. Использование многоракурсного зеркального конденсора для интерференционного томографического микроскопа: Тез. докл. Девятая международная научнотехническая конференция «Оптические методы исследования потоков».-М., 2005.-С. 124.

12. Ломакин А.Г., Минаев В.Л. Измерение интегральных и локальных параметров зеркальных и фазовых объектов на автоматизированном интерференционном микроскопе Линника // Метрология (Ежемесячное приложение к ж-лу «Измерительная техника»).- 2005. - №11.- С.30.

13. Минаев В.Л. Улучшение качества интерференционных томографических проекций: Тез. докл. Девятая международная научнотехническая конференция «Оптические методы исследования потоков».-М., 2005.-С. 498.

14. Минаев В.Л., Вишняков Г.Н., Левин Г.Г. Автоматизированный интерференционный микроскоп: Тез. докл. Научно-практическая конференция «Голография в России и за рубежом. Наука и практика». –М., 2005.- С. 71.

15. Минаев В.Л. Интерференционные методы измерения интегральных и локальных параметров фазовых объектов // Оптико-электронные измерения. Сборник статей / Под ред. В.С. Иванова. – М. – Университетская книга. – 2005.-С.380.

16. Ломакин А.Г., Минаев В.Л. Интерференционная профилометрия
 зеркально-отражающих поверхностей // Измерительная техника. - 2006. - №12. С.16 - 19.

17. Минаев В.Л. Интерференционные методы измерения интегральных и локальных параметров фазовых микрообъектов // Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата технических наук / Всероссийский научно-исследовательский институт оптико-физических измерений. Москва, 2006

18. Минаев В.Л. Интерференционные методы измерения интегральных и локальных параметров фазовых микрообъектов диссертация на соискание ученой степени кандидата технических наук // Москва, 2006

19. Vishnyakov G., Levin G., Minaev V. Tomographic microscope with wideangle illumination // International Conference «Focus on Microscopy». 2007. P.296.

20. Левин Г.Г., Минаев В.Л., Моисеев Н.Н., Илюшин Я.А. Определение наноперемещений объекта по оптическому фазовому изображению: Тез. докл. научно-технологических секций Международного форума по нанотехнологиям Rusnanotech'08, том 1. – М., 2008.-С.197-199.

21. Минаев В.Л., Мищенко С.Я. Исследование частотной характеристики пьезокорректора // Тез. докл. Восемнадцатая научно-техническая конференция «Фотометрия и ее метрологическое обеспечение». –М., 2009.- С. 143.

22. Левин Г.Г., Вишняков Г.Н., Минаев В.Л., Ломакин А.Г. Динамические фазовые измерения на интерференционном микроскопе // Тез. докл. Научно-практическая конференция «Голография в России и за рубежом. Наука и практика». –М., 2009.- С. 71.

23. Вишняков Г.Н., Левина Э.Ю., Минаев В.Л., Моисеев Н.Н., Цельмина И.Ю. Применение интерферометра "белого света" для измерения профиля и шероховатости оптических деталей // Сборник тезисов докладов научнотехнологических секций международного форума по нанотехнологиям. М. -2009.

24. Левин Г. Г., Минаев В. Л., Моисеев Н. Н., Золотаревский С.Ю. Применение оптических интерферометров в эталонном комплексе по определению шероховатости поверхности // Сборник тезисов докладов научно-технологических секций международного форума по нанотехнологиям Rusnanotech'09. М. -2009.

25. Минаев В.Л., Лощилов К.Е. Влияние эффекта изменения фазы отраженной волны на измерения формы поверхности объектов // Измерительная техника.- 2010. - №7.- С.36 - 38.

26. Левин Г. Г., Илюшин Я. А., Минаев В. Л., Моисеев Н. Н. Определение наноперемещений объекта по оптическому фазовому изображению // Измерительная техника.- 2010. - №7.- С.38 - 42.

27. Levin G., Vishnyakov G., Moiseev N., Minaev V. Influence of phase changes on reflection on surface measurements in optical profilometry // The IASTED International Conference on Automation, Control and Information Technology 2010. Vol. 1. P.279-281.

28. Levin G., Minaev V., Moiseev N. Definition of object near nanometer shifting by 2D optical path difference // The IASTED International Conference on Automation, Control and Information Technology. 2010. Vol. 1. P.282-286.

29. Вишняков Г.Н., Левин Г.Г., Минаев В.Л., Юсипович А.И. Динамическая фазовая микроскопия живых клеток // Тез. докл. «Цитоморфометрия-2010». –М., 2010.- С. 10-12.

30. Вишняков Г.Н., Левин Г.Г., Минаев В.Л. Волоконно-оптический интерферометр для микроскопа // Сборник трудов 7-ой международной научнотехнической конференции «Голография. Наука и практика». – М. 2010.-С.88-90.

31. Вишняков Г.Н., Левин Г.Г., Минаев В.Л., Ломакин А.Г. Измерение показателя преломления жидких веществ при помощи автоматизированного интерференционного микроскопа // Сборник трудов 7-ой международной научнотехнической конференции «Голография. Наука и практика». – М.2010.-С.237-240.

32. Левин Г.Г., Вишняков Г.Н., Минаев В.Л., Ломакин А.Г. Динамический интерферометр // Патент на полезную модель (Россия) № 96234 от 17.02.2010, Бюл. № 20.

33. Минаев В. Л., Лощилов К.Е., Ломакин А.Г., Золотаревский С.Ю. Интерференционный метод измерения показателя преломления нанообъемов жидких и твердых веществ // Сборник тезисов докладов научно-технологических секций международного форума по нанотехнологиям Rusnanotech'10. М. - 2010.

34. Корнышева С.В., Ломакин А.Г., Минаев В.Л. Измерение показателя преломления микрообъемов жидких веществ // Тезисы докладов. Научная сессия НИЯУ МИФИ-2011. Научно-техническая конференция-семинар по фотонике и информационной оптике.- М., 2011.- С. 26-27.

35. Илюшин Я.А., Левин Г.Г., Минаев В.Л., Моисеев Н.Н. О точности относительного позиционирования растровых космических снимков // Тезисы

докладов. Девятая открытая Всероссийская конференция «Современные проблемы дистанционного зондирования Земли из космоса» Москва, ИКИ РАН, 14-18 ноября 2011 г.

36. Загубиженко М.В., Юсипович А.И., Пирутин С.К., Минаев В.Л., Кудряшов Ю.Б. Использование метода лазерной интерференционной микроскопии для исследования состояния перитонеальных макрофагов мыши, облучённых уф(б) светом // Радиационная биология. Радиоэкология.- 2011.- Том. 51.-№6.- С. 715.

37. Минаев В.Л. Интерференционный микроскоп для измерения формы поверхности в микро и нанодиапазонах // Метрология - 2012 - №7 - С.19-24.

38. Минаев В.Л. Динамический интерференционный микроскоп для измерения параметров живых биообъектов // Метрология - 2012 - №8 - С.24-27.

39. Минаев В.Л., Вишняков Г.Н. Интерференционный профилометр для измерения формы поверхности отражающих объектов // Метрология - 2012 - №9.-С.20 - 23.

40. Минаев В.Л., Левин Г.Г. Волоконно-оптический интерферометр для измерения показателя преломления удаленных объектов // Метрология - 2012 - №11.- С.3 – 5

41. Вишняков Г. Н., Левин Г.Г., Минаев В.Л., Моисеев Н.Н., Цельмина И.Ю. Автоматизированный интерферометр для контроля плоских и сферических оптических элементов // Сборник трудов 9-ой международной научно-технической конференции «Голография. Наука и практика». – М.2012

42. Вишняков Г. Н., Левин Г.Г., Минаев В.Л., Цельмина И.Ю. Интерференционная микроскопия для измерения шероховатости оптических деталей // Сборник трудов 9-ой международной научно-технической конференции «Голография. Наука и практика». – М.2012

43. Минаев В.Л., Юсипович А.И. Использование автоматизированного интерференционного микроскопа в биологических исследованиях // Измерительная техника - 2012 - №7.- С.66–69.

44. Свидетельство о госрегистрации программы для ЭВМ № 2012660300 «WinPhast», Левин Г.Г., Вишняков Г.Н., Минаев В.Л., Ломакин А.Г., Приоритет

изобретения 27 сентября 2012 г., зарегистрировано в Гос. Реестре РФ 14 ноября 2012 г.

45. Свидетельство о госрегистрации программы для ЭВМ № 2012660301 «WinPhastRadius», Левин Г.Г., Вишняков Г.Н., Минаев В.Л., Ломакин А.Г., Приоритет изобретения 27 сентября 2012 г., зарегистрировано в Гос. Реестре РФ 27 сентября 2012 г.

46. Свидетельство о госрегистрации программы для ЭВМ № 2012619707 «WinPhastDinamic», Левин Г.Г., Вишняков Г.Н., Минаев В.Л., Ломакин А.Г., Приоритет изобретения 05 сентября 2012 г., зарегистрировано в Гос. Реестре РФ 26 октября 2012 г.

47. Вишняков Г.Н., Левин Г.Г., Минаев В.Л., Цельмина И.Ю. Интерференционная микроскопия субнанометрового разрешения по глубине // Сборник трудов 10-ой международной научно-технической конференции «Голография. Наука и практика». – М. 2013.

48. Вишняков Г.Н., Левин Г.Г., Минаев В.Л., Цельмина И.Ю. Интерферометр фазового сдвига для контроля плоских и сферических оптических деталей // Оптический журнал – 2013, Том 80, №5, С.76-82.

49. Левин Г.Г., Вишняков Г.Н., Моисеев Н.Н., Минаев В.Л. О латеральном разрешении интерференционного микроскопа // Измерительная техника - 2013 - №5.- С.16-19.

50. Вишняков Г.Н., Левин Г.Г., Минаев В.Л., Цельмина И.Ю. Интерференционная микроскопия субнанометрового разрешения по глубине. Численное моделирование // Оптика и спектроскопия. – 2013.- том 115.- № 6 - С. 1039. doi: 10.7868/S0030403413120222.

51. Левин Г.Г., Моисеев Н.Н., Минаев В.Л. Сравнение латеральных разрешений оптического и интерференционного микроскопов // Измерительная техника - 2013 - №9.- С.48 – 50.

52. Левин Г.Г. Вишняков Г.Н. Минаев В.Л. Автоматизированный интерференционный микроскоп для измерения динамических фазовых объектов // Приборы и техника эксперимента - 2014 - №1 .- С. 79-84. doi:

10.7868/S0032816214010066.

53. Вишняков Г.Н., Левин Г.Г., Минаев В.Л., Цельмина И.Ю. Интерференционная микроскопия субнанометрового разрешения по глубине. Экспериментальные исследования// Оптика и спектроскопия. – 2014.- Том116. - № 1- С.170. doi: 10.7868/S003040341401022X.

54. Левин Г.Г., Моисеев Н.Н., Илюшин Я.А., Минаев В.Л. Влияние фокусировки на латеральное разрешение интерференционного микроскопа // Измерительная техника - 2014 - №.1- С.45-48.

55. Вишняков Г.Н., Золотаревский Ю.М., Минаев В.Л., Моисеев Н.Н., Латышев А.В., Щеглов Д.В. Измерение профиля наноструктуры из моноатомных слоев кремния на интерференционном микроскопе МИА-1М // Первая Всероссийская научно-техническая конференция «Метрология в нанотехнологиях». 2014. М.: ФГУП «ВНИИОФИ», 2014, с. 41.

56. Levin G., Vishnyakov G., Minaev V. LED interference microscope for living cells tomography // «Focus on Microscopy 2015 Göttingen, Germany March 29 - April 1, 2015» . 2015, P. 388.

57. Vishnyakov G., Levin G., Minaev V., Nekrasov N. Advanced method of phase shift measurement from variances of interferogram differences // Applied Optics. 2015. Vol. 54. № 15. P. 4797-4804. doi: 10.1364/AO.54.004797.

58. Levin G., Vishnyakov G., Minaev V., Latushko M., Pickalov V., Belyakov V., Sukhenko V., Demyanenko A. Shearing interference microscopy for tomography of living cells // Proceeding of SPIE. Advanced Microscopy Techniques IV and Neurophotonics II 95360G. 2015. Vol. 9536. doi: 10.1117/12.2183717.

59. Левин Г.Г., Вишняков Г.Н., Минаев В.Л., Латушко М.И., Бочкарева С.С., Пикалов В.В., Максимов Г.В. Новые аспекты исследования живых клеток методом оптической микротомографии // V СЪЕЗД БИОФИЗИКОВ РОССИИ 4-10 октября 2015 г.Ростов-на-Дону, Южный федеральный университет Тезисы докладов, Южный федеральный университет. – 2015. - С. 32.

60. Вишняков Г.Н., Левин Г.Г., Минаев В.Л. Сдвиговая интерференционная микроскопия и микротомография с излучением от точечного

светодиода // Сборник трудов 12-й международной научно-технической конференции «Голография. Наука и практика». - С.121-124.

61. Вишняков Г.Н., Левин Г.Г., Минаев В.Л. Спектральный анализ метода измерения фазового сдвига по интерферограммам // Измерительная техника. - 2015
- №.11- С.34-37.

62. Вишняков Г.Н., Левин Г.Г., Минаев В.Л. Метод измерения фазового сдвига на основе фурье-анализа разностных интерферограмм // Оптика и спектроскопия. 2015. Т. 118. № 6. С. 1005-1011. doi: 10.7868/S0030403415060240.

63. Vishnyakov G., Levin G., Minaev V., Latushko M., Nekrasov N., Pickalov V. Differential interference contrast tomography // Optics Letters. 2016. Vol. 41. №13. P. 3037-3040. doi: 10.1364/OL.41.003037.

64. Вишняков Г.Н., Левин Г.Г., Минаев В.Л., Локальная томографическая фазовая микроскопия ПО дифференциальным проекциям // Оптика И 2016.спектроскопия. том.121 _ № 6. _ C.1020-1028. doi: 10.7868/S0030403416120278.

65. Минаев В.Л., Вишняков Г.Н., Левин Г.Г. Интерференционный микроскоп Линника с супергладким опорным зеркалом // Сборник трудов 13-ой международной научно-технической конференции «Голография. Наука и практика».- 2016.- С.374-377.

66. Левин Г.Г., Минаев В.Л., Илюшин Я.А., Ошлаков В.Г. Калибровка матричных фотоприемников и прецизионное позиционирование объектов по растровым изображениям // Измерительная техника – 2017.- № 6- С.37-41.

67. Вишняков Г., Левин Г., Минаев В. Аппаратура ВНИИОФИ для интерференционных измерений // Сборник трудов 14-ой международной научнотехнической конференции «Голография. Наука и практика».- 2017. С.26-31.

68. Вишняков Г., Левин Г., Минаев В. Автоматизированные интерференционные приборы ВНИИОФИ // Автометрия. – 2017. – Том 53. – №5, С.131 – 138. doi: 10.15372/AUT20170513.

69. Минаев В.Л., Левин Г.Г., Латышев А.В., Щеглов Д. В. Измерения профиля поверхности моноатомной многослойной наноструктуры кремния интерференционным методом // Измерительная техника – 2017.- № 11- С.12-14.

70. Левин Г.Г., Минаев В.Л., Миньков К.Н., Ермаков М.М. Исследование твердых прозрачных объектов методом оптической томографии // Сборник трудов 15-ой международной научно-технической конференции «Голография. Наука и практика». - 2018. С. 27-28

71. Миньков К.Н., Минаев В.Л., Левин Г.Г. Исследование внутренних неоднородностей показателя преломления оптического диэлектрического резонатора с модами шепчущей галереи методом оптической томографии // Труды школы-семинара «Волны-2018». Спектроскопия и томография. С.46-47.

72. Минаев В.Л. Вишняков Г.Н. Левин Г.Г. Интерференционный микроскоп с низкокогерентным источником и супергладким опорным зеркалом // Приборы и техника эксперимента - 2018 - №6 .- С. 79-84.

73. Левин Г.Г., Минаев В.Л., Миньков К.Н., Ермаков М.М., Самойленко А.А. Исследование внутренней структуры микрорезонаторов методом оптической томографии// Оптика и спектроскопия [в печати]

74. Свидетельство о госрегистрации программы для ЭВМ № 2018619613 «Система хранения данных для автоматизированных интерферометров и оптических микротомографов», Левин Г.Г., Минаев В.Л., Шумский Е.В., Ермаков М. М. зарегистрировано в Реестре программ для ЭВМ 09 августа 2018 г.

75. Вишняков Г.Н., Левин Г.Г., Минаев В.Л., Ермаков М.М. Исследование метода локальной оптической томографии по дифференциальным проекциям // Оптика и спектроскопия [в печати].