

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 559 630**

51 Int. Cl.:

G02B 21/08 (2006.01)

G02B 21/12 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.04.2014 E 14164181 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.10.2015 EP 2793067**

54 Título: **Procedimiento para la iluminación de un objeto en un microscopio óptico digital, microscopio óptico digital y dispositivo de iluminación por luz incidente de campo claro para un microscopio óptico digital**

30 Prioridad:

19.04.2013 DE 102013006996

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

15.02.2016

73 Titular/es:

**CARL ZEISS MICROSCOPY GMBH (100.0%)
Carl Zeiss Promenade 10
07745 Jena, DE**

72 Inventor/es:

**TANDLER, HANS;
KNOBLICH, JOHANNES;
STEHR, DOMINIK;
GAIDUK, ALEXANDER;
GEISSLER, ENRICO;
BUCHHEISTER, JAN y
FUNCK, MAX**

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 559 630 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Procedimiento para la iluminación de un objeto en un microscopio óptico digital, microscopio óptico digital y dispositivo de iluminación por luz incidente de campo claro para un microscopio óptico digital

5 La invención se refiere a un procedimiento para la iluminación de un objeto en un microscopio óptico digital y a un microscopio óptico digital con un dispositivo coaxial de iluminación por luz incidente de campo claro.

Por el estado de la técnica se conocen distintas estrategias de iluminación para la microscopía óptica.

10 En primer lugar se diferencia entre microscopía de luz transmitida y microscopía por luz incidente. Especialmente en la microscopía por luz incidente, la muestra se ilumina desde la dirección del objetivo. Para ello se emplea, desde hace mucho tiempo, la así llamada iluminación de Köhler para poder influir, con independencia, en la abertura y el diámetro del objeto iluminado. Partiendo de una fuente de luz, la luz se conduce a través del diafragma que limita el campo luminoso hasta una zona en la que se pueden colocar filtros cromáticos y de reducción. Después, la luz pasa por el diafragma de abertura, incidiendo a continuación en un espejo semitransparente que desvía la mayor parte de la luz en dirección del objetivo que cumple también la función condensadora. Desde allí, el objetivo la enfoca en el objeto. Éste refleja la luz que pasa nuevamente por el objetivo. La luz atraviesa de nuevo el espejo semitransparente y se desvía en dirección de los oculares o del sistema de captación de imágenes. Después de pasar por los oculares, la luz incide en la retina del observador o en el sensor del sistema de captación de imágenes.

15 Como alternativa a la iluminación de Köhler se emplea la así llamada "iluminación crítica" o iluminación de Nelson, en la que el colector proyecta la imagen de la fuente de luz en el plano de preparaciones. Esto provocaba, hasta ahora, un campo visual iluminado de forma muy irregular así como una reproducción molesta de la fuente de luz en la preparación. Para poder iluminar el campo visual, a pesar de ello, de forma más regular, se pueden insertar, entre el colector y la preparación, cristales mates para producir una luz difusa. Sin embargo, en este proceso se pierde luz debido a la dispersión a través del cristal mate.

20 En el estado de la técnica se emplean cada vez más LEDs como fuente de luz para la iluminación, que se posicionan en la trayectoria de los rayos.

El documento WO 2007/111735, por ejemplo, describe un microscopio para el análisis de muestras biológicas con una fuente de iluminación LED realizada a modo de campo LED, que emplea el método de luz transmitida. Los LEDs se pueden conectar por separado, siendo posible la regulación de su claridad y color.

30 Por el documento EP 2 551 712 A1 se conoce un procedimiento de iluminación para un microscopio en el que la muestra se analiza empleando el método de iluminación de campo claro por luz transmitida o el método de iluminación fluorescente por luz incidente, utilizándose para la iluminación de campo claro por luz transmitida como fuente de luz un LED de luz blanca y conectándose para la iluminación fluorescente por luz incidente un shutter en un punto de la trayectoria de los rayos de iluminación de campo claro por luz transmitida.

35 El documento JP 2010-204531 A describe un microscopio Zoom con un sistema óptico de iluminación dotado de una fuente de luz LED.

El documento JP 2010-156939 A revela un microscopio con una unidad de iluminación LED perfeccionada a través de medidas ópticas.

Por el documento JP 2010072503 A se conoce un regulador de iluminación para un sistema de iluminación LED de un microscopio en el que se pueden intercambiar módulos LED con características grabadas.

40 La memoria JP 2009 063856 A describe un objetivo con una unidad de iluminación de campo oscuro LED anular. Este objetivo se puede emplear con un microscopio de campo claro.

Por el documento WO 2008/073728 A1 se conoce un microscopio con un sistema de iluminación LED que representa una iluminación de Köhler.

45 El documento DE 10 2006 016 358 A1 describe un microscopio portátil de viaje con una iluminación LED más eficiente.

50 El documento JP-A-2001154103 revela un procedimiento y un dispositivo para la iluminación de un objeto en un microscopio óptico digital en los que se realizan iluminaciones por luz incidente de campo claro y de campo oscuro. Debido al elevado número de piezas ópticas en la trayectoria de los rayos de la iluminación de Köhler, ocurre con frecuencia que la eficacia de la iluminación, especialmente de la iluminación de campo claro, deja mucho que desear, a pesar del empleo de LEDs. Este es un aspecto crítico, sobre todo en la microscopía digital, dado que el sensor debe procesar y representar las imágenes prácticamente en tiempo real y que una intensidad lumínica elevada aumenta la tasa de imágenes.

55 La invención se basa, por lo tanto, en la tarea de permitir en un microscopio digital una iluminación uniforme y altamente eficiente del objeto a observar, tanto en el campo claro coaxial de luz incidente como en el campo oscuro de luz incidente, con objeto de mantener los parámetros de iluminación pretendidos desde el objeto hasta el sensor

de captación de la imagen y de conseguir una elevada tasa de imágenes de hasta 30 imágenes/s. Al mismo tiempo se pretende crear con la iluminación del objeto condiciones favorables para variaciones de contraste.

La tarea se resuelve con un procedimiento para la iluminación de un objeto en un microscopio óptico digital según la reivindicación 1 y con un microscopio óptico digital con las características de la reivindicación 5.

5 Las ventajas de la invención deben verse especialmente en el hecho de que con un microscopio óptico digital es posible lograr de una manera más eficaz, a mejor precio y en un espacio menor, una iluminación óptima para diferentes casos de aplicación (campo claro, campo oscuro y combinación de ambos).

10 En un procedimiento según la invención para la iluminación de un objeto en un microscopio digital es posible llevar a cabo una iluminación por luz incidente de campo claro y una iluminación por luz incidente de campo oscuro de manera extraordinariamente eficiente y combinarlas. Para los dos tipos de iluminación se emplean diodos luminosos. Especialmente los diodos luminosos de semiconductores se proporcionan en muchas formas de realización y construcción distintas, por lo que se emplean en las variantes de realización preferidas de la invención.

15 Se pueden elegir, por ejemplo, diodos luminosos de alta potencia, diodos luminosos Dies (Chips), diodos luminosos SMD u otros. El experto en la materia puede seleccionar el diodo luminoso apropiado para cada caso de aplicación de entre un elevado número de variantes tecnológicas. También se pueden emplear de forma muy ventajosa diodos luminosos orgánicos en variantes de realización alternativas de la invención.

A través de la elección de las fuentes de luz y de la correcta combinación de los tipos de iluminación se crean, sobre todo, condiciones favorables para variaciones de contraste y la rápida captura de imágenes en la microscopía digital.

20 Con especial eficacia se emplean LED-Chips de sección transversal rectangular cuya relación de lados corresponde a la de un sensor de captación de imágenes de una unidad de captación de imágenes de un microscopio. De este modo, el campo del objeto se ilumina de manera que no se produzca ninguna luz parásita fuera de la zona de captación de imágenes.

25 La iluminación de campo claro y de campo oscuro se puede emplear, en función del caso de aplicación, por separado o combinada. Tanto en la iluminación de campo claro como en la iluminación de campo oscuro son posibles variaciones de la claridad, del color y/o del acimut.

Si los diodos luminosos de la iluminación de campo oscuro se conectan, por ejemplo, sucesivamente, es decir, alternando el acimut, se pueden obtener de las imágenes captadas informaciones 3D y calcular las topografías superficiales.

30 Gracias a los cortos tiempos de respuesta de los LEDs también es posible conectar modos de flash o estroboscópicos con los que se pueden reproducir ventajosamente objetos que se mueven rápidamente.

35 Un microscopio óptico digital según la invención comprende al menos un objetivo, un dispositivo de iluminación por luz incidente de campo claro, un dispositivo anular de iluminación por luz incidente de campo oscuro que puede funcionar respectivamente con diodos luminosos y, en una variante de realización preferida, con LEDs de luz blanca, y una unidad de control para el control simultáneo o separado del dispositivo de iluminación por luz incidente de campo claro y de campo oscuro.

40 De acuerdo con la invención, los dos dispositivos de iluminación se configuran a modo de una así llamada iluminación "crítica" o iluminación de Nelson, en la que la fuente de luz se reproduce en el plano del objeto. Como consecuencia de la óptica de iluminación, estructurada de manera muy eficiente en lo que se refiere al aprovechamiento de la luz y al coste, ésta se puede diseñar con medidas extraordinariamente reducidas y adaptar óptimamente al sensor a emplear.

45 La iluminación "crítica" se puede realizar con diodos luminosos por tener una extensión en profundidad menor y una homogeneidad mejor que las lámparas halógenas empleadas hasta ahora para este tipo de iluminación. Además ofrecen un rendimiento luminoso muy bueno. Gracias a las propiedades ventajosas del LED (especialmente en caso del LED rectangular) es suficiente que se emplee en la trayectoria de los rayos, en lugar de una óptica complicada, un homogeneizador comparativamente moderado para conseguir una iluminación homogénea del objeto.

En el caso del dispositivo de iluminación por luz incidente de campo claro, el homogeneizador puede ser, por ejemplo, una varilla de mezcla de luz que en una variante de realización preferida también se hace cargo de la correspondiente desviación del rayo de luz a la trayectoria de rayos del objeto, lo que permite suprimir el espejo de desviación.

50 La varilla de mezcla de luz se puede conformar ventajosamente a modo de varilla de mezcla de luz de conducción hueca extraordinariamente corta, dado que los requisitos de homogeneización por adaptación de la iluminación LED crítica tras la entrada del integrador hueco son pocas (relación $x : y$ - extensión fuente $\sim x : y$ - extensión varilla de mezcla $\sim x : y$ - extensión campo del objeto). No es necesario eliminar inhomogeneidades debido a un relleno inapropiado de la entrada de la varilla de mezcla, sino únicamente las inhomogeneidades por hilos Bonding de la propia fuente. Una varilla de mezcla de luz de conducción maciza se tendría que dimensionar más larga.

55 El dispositivo de iluminación por luz incidente de campo oscuro se configura preferiblemente en forma de anillo de iluminación para el acoplamiento al objetivo del microscopio óptico digital. El anillo de iluminación comprende, como

mínimo, dos diodos luminosos (identificados de aquí en adelante como LEDs) que se disponen preferiblemente de forma diametral en el anillo de iluminación orientado concéntricamente respecto al objetivo. Si se emplean más de dos diodos luminosos, éstos se disponen lógicamente repartidos por todo el perímetro del anillo de iluminación. El anillo de iluminación presenta ventajosamente un diámetro no mayor que el del propio objetivo, con lo que no se merma la capacidad de giro del objetivo en el microscopio digital.

El anillo de iluminación comprende ventajosamente un interfaz electrónico para el control de los diodos luminosos a través del objetivo que también debe presentar un interfaz. A través de este interfaz electrónico se realiza además un calibrado de los LEDs con la finalidad de ajustar los mismos valores de claridad para todos los LEDs y de grabar los ajustes de calibrado. El experto en la materia conoce estos interfaces electrónicos.

El anillo de iluminación se puede dotar alternativamente de diodos luminosos orgánicos que, en lo que se refiere a su extensión superficial, se pueden adaptar perfectamente al formato del sensor y que presentan una excelente homogeneidad, por lo que incluso se puede renunciar a un sistema óptico para la homogeneización moderada.

A continuación se explican por mayor detalle algunos aspectos parciales de la invención por medio de las figuras.

Se ve en:

Figura 1 una primera variante de realización preferida de un dispositivo de iluminación por luz incidente de campo claro en una representación de principio;

Figura 2 una segunda variante de realización preferida de un dispositivo de iluminación por luz incidente de campo claro en una representación de principio;

Figura 3 una tercera variante de realización preferida de un dispositivo de iluminación por luz incidente de campo claro en una representación de principio;

Figura 4 una variante de realización preferida de un dispositivo de iluminación de campo oscuro en una representación de principio en perspectiva.

La figura 1 muestra una primera variante de realización preferida de un dispositivo de iluminación por luz incidente de campo claro según la invención en una configuración de Nelson o así llamada iluminación "crítica". El dispositivo comprende como fuente de luz al menos un LED 01 dotado de un grupo de piezas ópticas correspondiente como colector 02. La luz irradiada por el LED 01 llega en una trayectoria de rayos de iluminación, por un plano 03 que conjuga con un diafragma de apertura 10 y a través de un sistema óptico intermedio 04, a un homogeneizador realizado en forma de varilla de mezcla de luz 06. En el plano conjugado 03 se puede emplear, en una variante de realización alternativa, un segundo diafragma de apertura variable para poder regular de forma independiente las aperturas de iluminación y de observación. Así se pueden mejorar especialmente los contrastes.

De manera ideal, en la entrada del homogeneizador se produce una imagen en la forma de realización representada del LED-Chip irradiado. Sin embargo, puede ser conveniente que esta imagen se desenfoque ligeramente para conseguir una primera confusión de los hilos Bonding de la fuente de luz. La varilla de mezcla de luz 06 consiste en esta variante de realización en una varilla recta de conducción hueca y sección transversal rectangular.

A la salida del homogeneizador 06 se dispone un diafragma de campo 07 preferiblemente variable de sección transversal rectangular en el formato o con la relación de lados del sensor de captación de imágenes no representado del microscopio. Variando la sección transversal, el dispositivo de iluminación se puede configurar ventajosamente para distintos ajustes Zoom del objetivo para que el tamaño de la iluminación del objeto corresponda en lo posible al tamaño del sensor de imágenes. En caso de cambio del objetivo, también es posible adaptar con este diafragma el tamaño de la iluminación del objetivo. En lo que se refiere a la eficacia de la iluminación, se ha podido comprobar que resulta especialmente ventajoso que la sección transversal de la varilla de mezcla de luz 06 y el LED-Chip también presenten el formato o la relación de lados del sensor de captación de imágenes.

A través de un espejo de desviación 08 la luz de iluminación se colima mediante otro sistema óptico intermedio 09 y cae, a través del diafragma de apertura 10, en un objetivo 12. El objetivo 12 genera la imagen del diafragma de campo variable 07 en el plano del objeto 13.

En la trayectoria de los rayos se dispone, como es conocido, un vidrio plano 11 para aportar la imagen captada al sensor de captación de imágenes.

Las ventajas de esta variante de realización radican especialmente en el hecho de que el grupo de piezas desde la fuente de luz hasta el espejo de desviación se puede configurar de forma muy compacta.

Una segunda variante de realización preferida del dispositivo de iluminación por luz incidente de campo claro se representa en la figura 2. Las mismas referencias se refieren a las mismas piezas. La variante de realización representada se diferencia de la variante descrita con anterioridad en que el homogeneizador se ha configurado a modo de elemento de mezcla de luz acodado 14. De este modo se puede suprimir ventajosamente el espejo de desviación. Esta variante de realización tiene una construcción aún más compacta.

En la variante de realización representada en la figura 3 se emplea, en lugar de un LED de semiconductor, un OLED 16 (diodo luminoso orgánico) que presenta el mismo formato que el sensor de captación de imágenes. Esta variante

de realización requiere muy poco espacio y es especialmente eficiente ya que los demás grupos de piezas ópticas, como los que se emplean normalmente para la iluminación de campo claro, no resultan necesarios. Por otra parte, los OLEDs se pueden fabricar económicamente puesto que se suelen obtener por la técnica de impresión. Se emplean preferiblemente OLEDs de luz blanca. Alternativamente se puede dimensionar, a través de divisores dicróicos, una iluminación RGB o provocar incluso, por medio de OLEDs monocromáticos, una excitación de fluorescencia.

En la figura 4 se representa un esquema de principio de una disposición de LEDs 17 en un anillo de iluminación. Los LEDs 17 se inclinan en un ángulo α respecto a un eje óptico 18 del objetivo no representado de modo que la luz se mezcla, homogeneiza y enfoca en el plano del objeto 13 por medio de un grupo de piezas ópticas 18 de acuerdo con las necesidades.

También en este caso se consigue con una iluminación crítica, es decir, la fuente de luz o el diodo luminoso se reproduce en el plano del objeto, una disposición más eficaz que requiere menos espacio.

Para mejorar la eficacia todavía más, resulta ventajoso orientar los LED-Chips rectangulares conforme a la forma rectangular del campo del objeto, en función de su posición en el anillo de iluminación. Así se consigue una eficacia aún mejor puesto que sólo se ilumina el área captada realmente por el sensor de imágenes.

Para simplificar el montaje puede ser ventajoso orientar los LED-Chips siempre desde el principio hacia el anillo concéntrico. Gracias a esta medida las piezas pueden tener la misma forma siendo el proceso de ajuste de los grupos individuales idéntico. Sin embargo, al mismo tiempo se produce una ligera pérdida de eficacia.

Lista de referencias

- 01 LED
- 02 Óptica de irradiación
- 03 Plano conjugado con el diafragma de abertura
- 04 Sistema óptico intermedio
- 05 -
- 06 Varilla de mezcla de luz
- 07 Diafragma de campo
- 08 Espejo de desviación
- 09 Sistema óptico intermedio
- 10 Diafragma de abertura
- 11 Vidrio plano
- 12 Objetivo
- 13 Plano del objetivo
- 14 Varilla de mezcla de luz, acodada
- 15 -
- 16 OLED
- 17 LED
- 18 Eje óptico del objetivo
- 19 Grupo de piezas ópticas

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento para la iluminación de un objeto en un microscopio óptico digital en el que se produce una iluminación por luz incidente de campo claro por medio de un dispositivo de iluminación con diodos luminosos (01) como fuente de luz, produciéndose además una iluminación por luz incidente de campo oscuro por medio de un dispositivo de iluminación anular con diodos luminosos (17) como fuente de luz mecánica y eléctricamente acoplable a un objetivo del microscopio óptico, pudiéndose controlar por separado y superponer la iluminación por luz incidente de campo claro y de campo oscuro, caracterizado por que la iluminación por luz incidente de campo claro y de campo oscuro se configura respectivamente a modo de "iluminación crítica" en la que una imagen de la fuente de luz se proyecta sobre un plano de objeto.
2. Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado por que la iluminación por luz incidente de campo claro y la iluminación por luz incidente de campo oscuro se llevan a cabo por medio de LEDs de luz blanca (01, 17).
3. Procedimiento según la reivindicación 1 ó 2, caracterizado por que el dispositivo de iluminación anular se puede controlar a través de un interfaz electrónico del objetivo, controlándose algunos o todos los diodos luminosos (01, 17).
4. Procedimiento según una de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizado por que la claridad de la imagen captada por medio de un diafragma de abertura variable y el tamaño del campo de un objeto a reproducir por medio de un diafragma de campo variable se pueden regular de forma independiente.
5. Microscopio óptico digital para el análisis de un objeto que comprende un objetivo, un dispositivo de iluminación de campo claro, un dispositivo de iluminación de campo oscuro y una unidad de control, comprendiendo el dispositivo de iluminación de campo claro al menos un diodo luminoso (01, 16) como fuente de luz y configurándose el dispositivo de iluminación de campo oscuro como iluminación anular con al menos dos diodos luminosos (17) como fuentes de luz que se acopla, a través de un interfaz electrónico, al objetivo, y pudiéndose controlar el dispositivo de iluminación de campo claro y el dispositivo de iluminación de campo oscuro a través de la unidad de control por separado o de forma simultánea, caracterizado por que el dispositivo de iluminación de campo claro y el dispositivo de iluminación de campo oscuro se configuran a modo de iluminación "crítica" en la que una imagen de la fuente de luz se proyecta sobre un plano de objeto (13).
6. Microscopio óptico según la reivindicación 5, caracterizado por que la fuente de luz del dispositivo de iluminación por luz incidente de campo claro es un LED de luz blanca de semiconductor (01) y por que en la trayectoria de rayos del dispositivo de iluminación por luz incidente de campo claro se dispone un homogeneizador.
7. Microscopio óptico según la reivindicación 6, caracterizado por que el homogeneizador es un elemento de mezcla de luz.
8. Microscopio óptico según la reivindicación 6 ó 7, caracterizado por que en la salida del homogeneizador se prevé un diafragma de campo (07) de sección transversal rectangular, presentando la sección transversal rectangular del diafragma de campo (07) la misma relación de lados que un sensor de imagen del microscopio óptico.
9. Microscopio óptico según la reivindicación 8, caracterizado por que el homogeneizador presenta la misma relación de lados que el LED de luz blanca de semiconductor.
10. Microscopio óptico según una de las reivindicaciones 7 a 9, caracterizado por que el elemento de mezcla de luz produce, entre un orificio de entrada y un orificio de salida de la luz, una desviación de 90°.
11. Microscopio óptico según una de las reivindicaciones 6 a 10, caracterizado por que el homogeneizador es una varilla de mezcla de luz guía-ondas (06, 14) de sección transversal rectangular.
12. Microscopio óptico según una de las reivindicaciones 8 a 11, caracterizado por que el tamaño del diafragma de campo (07) es variable.
13. Microscopio óptico según la reivindicación 5, caracterizado por que el diodo luminoso es un OLED (16).
14. Microscopio óptico según la reivindicación 5, caracterizado por que el dispositivo de iluminación de campo oscuro se ha realizado a modo de anillo de iluminación para el acoplamiento concéntrico a un objetivo del microscopio óptico, que comprende al menos dos diodos luminosos (17) dispuestos diametralmente en el anillo de iluminación.
15. Microscopio óptico según la reivindicación 14, caracterizado por que los diodos luminosos (17) presentan una sección transversal rectangular con una relación de lados parecida a una relación de lados de un sensor de imagen de una unidad de captación de imágenes del microscopio óptico, orientándose los diodos luminosos de manera que se ilumine un campo de objeto rectangular.



