



(12)

Patentschrift

(21) Aktenzeichen: **10 2014 216 227.0**
(22) Anmeldetag: **14.08.2014**
(43) Offenlegungstag: **18.02.2016**
(45) Veröffentlichungstag
der Patenterteilung: **18.06.2020**

(51) Int Cl.: **G01B 11/14 (2006.01)**
G01B 11/24 (2006.01)
G01B 11/25 (2006.01)
G01B 11/06 (2006.01)
G02B 21/34 (2006.01)

Innerhalb von neun Monaten nach Veröffentlichung der Patenterteilung kann nach § 59 Patentgesetz gegen das Patent Einspruch erhoben werden. Der Einspruch ist schriftlich zu erklären und zu begründen. Innerhalb der Einspruchsfrist ist eine Einspruchsgebühr in Höhe von 200 Euro zu entrichten (§ 6 Patentkostengesetz in Verbindung mit der Anlage zu § 2 Abs. 1 Patentkostengesetz).

(73) Patentinhaber:
Carl Zeiss Microscopy GmbH, 07745 Jena, DE

(74) Vertreter:
**Patentanwälte GEYER, FEHNERS & PARTNER
mbB, 80687 München, DE**

(72) Erfinder:
**Vogelgsang, Anke, 37081 Göttingen, DE; Mitzkus,
Reiner, 37085 Göttingen, DE; Pospiech, Matthias,
Dr., 30175 Hannover, DE**

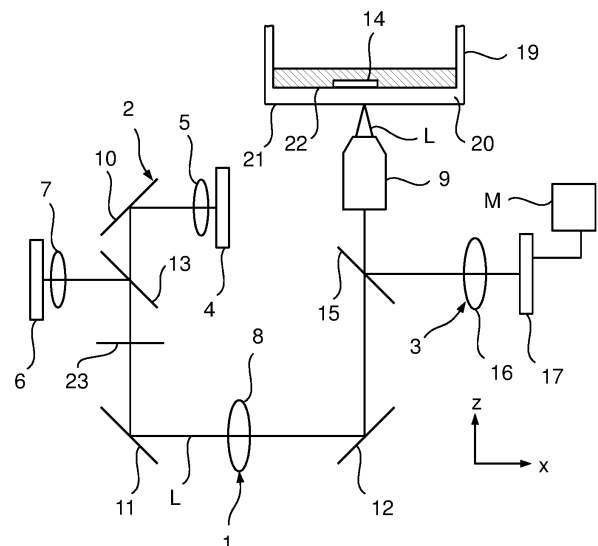
(56) Ermittelter Stand der Technik:

DE	196 43 018	B4
US	2012 / 0 092 461	A1
EP	2 172 799	A1

(54) Bezeichnung: **Verfahren und Vorrichtung zum Bestimmen eines Abstandes zweier voneinander entlang einer ersten Richtung beabstandeter optischer Grenzflächen**

(57) Hauptanspruch: Verfahren zum Bestimmen des Abstands zweier voneinander entlang einer ersten Richtung beabstandeter optischer Grenzflächen, bei dem folgende Schritte durchgeführt werden:

- Abbilden eines Musters in eine Ebene quer zur ersten Richtung und Aufnehmen eines Bildes des in der Ebene abgebildeten Musters,
- Wiederholen des Schrittes a) für verschiedene Positionen der Ebene, in die das Muster abgebildet wird, in der ersten Richtung, wobei die verschiedenen Positionen einen Bereich in der ersten Richtung abdecken, in dem die beiden optischen Grenzflächen liegen,
- Ermitteln eines ersten Bildes aus den Bildern von Schritt a), wobei die Ebene, in die das mit dem ersten Bild aufgenommene Muster abgebildet war, mit einer ersten der beiden optischen Grenzflächen zusammenfällt oder den geringsten Abstand entlang der ersten Richtung zur ersten optischen Grenzfläche im Vergleich zu den Ebenen, in denen das mit den anderen Bildern von Schritt a) aufgenommene Muster abgebildet war, aufweist, und Bestimmen der Position des ersten Bildes in der ersten Richtung,
- Ermitteln eines zweiten Bildes aus den Bildern von Schritt a), wobei die Ebene, in die das mit dem zweiten Bild aufgenommene Muster abgebildet war, mit einer zweiten der beiden optischen Grenzflächen zusammenfällt oder den geringsten Abstand entlang der ersten Richtung zur zweiten optischen Grenzfläche im Vergleich zu den Ebenen, in denen das mit den anderen Bildern von Schritt a) aufgenommene Muster abgebildet war, ...



Beschreibung

[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren und eine Vorrichtung zum Bestimmen des Abstandes zweier voneinander entlang einer ersten Richtung beabstandeter optischer Grenzflächen.

[0002] Dies ist beispielsweise im Bereich der Mikroskopie von Interesse, da hier die Dicke des Deckglases bei eingebetteten Proben, die Bodendicke bei Petrischalen oder bei Probengefäßen für inverse Mikroskopie (wie z.B. Multiwell-Platten, Standardmikroplatten, etc.) wichtig sind, um gegebenenfalls notwendige optische Korrekturen, wie z.B. eine automatische Fokuseinstellung, u./o. optische Korrektoreinstellungen an Mikroskopobjektiven durchführen zu können. Insbesondere im Hinblick auf vollautomatisierte mikroskopische Bildaufnahmeprozesse wird die Kenntnis der Dicke des Deckglases bzw. der Bodendicke immer wichtiger.

[0003] Aus der US 2012/0092461 A1 ist es bekannt, Muster in verschiedene Fokalebene zu projizieren und damit Bilder zur Konturerfassung der äußeren Oberfläche eines Objekts aufzunehmen. Die EP 2172 799 A1 beschreibt ein optisches System für ein Konfokalmikroskop, mit dem Körperoberflächen genau gescannt werden können.

[0004] Ausgehend hiervon ist es daher Aufgabe der Erfindung, ein Verfahren zum Bestimmen des Abstandes zweier voneinander entlang einer ersten Richtung beabstandeter optischer Grenzflächen bereitzustellen, das automatisch und berührungslos durchgeführt werden kann. Ferner soll eine entsprechende Vorrichtung zum Bestimmen des Abstandes zweier voneinander in einer ersten Richtung beabstandeter optischer Grenzflächen bereitgestellt werden.

[0005] Die Erfindung ist in den Ansprüchen **1** und **16** definiert. Vorteilhafte Ausgestaltungen sind in den abhängigen Ansprüchen angegeben.

[0006] Bildet man ein Muster in der ersten Richtung in die Grenzfläche der Böden von Petrischalen oder Probengefäßen, etc. ab, so wird das Muster anteilig an den Grenzflächen reflektiert. Durch Abbildung dieses Musters kann es anhand geeigneter Bildauswerteverfahren gegenüber den davon unabhängigen Bildinformationen und Störanteilen eindeutig voneinander getrennt werden.

[0007] Bei dem erfindungsgemäßen Verfahren kann das Bild im Schritt c) und/oder im Schritt d) basierend auf herkömmlichen Softwareautofokusverfahren z. B. auf Basis von Kontrast- und/oder Kantensteilheitsmethoden ermittelt werden.

[0008] Bei dem in Schritt a) verwendeten Muster kann es sich um ein streifengitterförmiges Muster handeln. Ferner kann die Faltung im Schritt c) und/oder d) so durchgeführt werden, dass mindestens eine Spalte entlang der Richtung der Gittermodulation des streifengitterförmigen Musters des jeweiligen Bildes von Schritt a), der Mittelwert von mehreren solchen Spalten oder die Summe von mehreren solchen Spalten bei der Faltung berücksichtigt werden.

[0009] Ferner ist es möglich, dass das Bild im Schritt c) und/oder im Schritt d) anhand einerusterspezifischen Auswertemethode z. B. anhand einer Faltung des jeweiligen Bildes von Schritt a) oder eines Teiles davon mit einem Soll-Muster ermittelt werden.

[0010] Das Soll-Muster kann beispielsweise simuliert werden. Es ist auch möglich, dass das Soll-Muster basierend auf dem im Schritt c) ermittelten Bild abgeleitet wird und dann zur Ermittlung des Bildes im Schritt d) mittels Faltung verwendet wird.

[0011] Bei dem erfindungsgemäßen Verfahren kann der mechanische Abstand der beiden optischen Grenzflächen berechnet werden, indem der Abstand der bestimmten Positionen des ersten und zweiten Bildes mit der Brechzahl des zwischen beiden optischen Grenzflächen vorhandenen Materials multipliziert wird. Insbesondere wird die Brechzahl für die Wellenlänge eingesetzt, mit der der Schritt a) durchgeführt wird.

[0012] Ferner können zur Ermittlung des Bildes im Schritt c) und/oder im Schritt d) die Bilder gefiltert werden.

[0013] Besonders bevorzugt ist die Filterung, wenn das Muster ein Gitter ist, das zumindest in einer Richtung eine konstante Periode aufweist. Beispielsweise kann das Gitter als Strichgitter ausgebildet sein.

[0014] In diesem Fall kann die Filterung im Frequenzraum durchgeführt werden. Dazu kann das entsprechende Bild in den Frequenzraum transformiert werden, im Frequenzraum eine Bandpassfilterung durchgeführt werden, wobei der Bandpassbereich auf die Gitterfrequenz eingestellt ist, und danach das gefilterte Bild wieder in den Objektraum transformiert wird.

[0015] Bei dem Muster kann es sich beispielsweise auch um eine Art Schachbrettmuster handeln. In diesem Fall kann zur Auswertung nur eine Reihe oder Spalte des Schachbrettmusters genutzt werden, die z.B. eine konstante Periode aufweist. Natürlich können auch mehrere Zeilen bzw. Spalten, die bevorzugt parallel verlaufen, zur Auswertung genutzt werden.

[0016] Es ist somit erfindungsgemäß möglich, von dem abgebildeten Muster nur einen Teil in dem auf-

genommenen Bild zur Ermittlung der gewünschten Bilder zu nutzen.

[0017] Bei dem erfindungsgemäßen Verfahren können die verschiedenen Positionen gemäß Schritt b) äquidistante Abstände aufweisen. Es ist jedoch auch möglich, dass die Abstände nicht konstant sind.

[0018] Insbesondere können bei dem erfindungsgemäßen Verfahren die verschiedenen Positionen gemäß Schritt b) einen kleineren Abstand in einem ersten Bereich um zumindest einen der beiden optischen Grenzflächen aufweisen im Vergleich zu einem an den ersten Bereich anschließenden zweiten Bereich. Somit kann man mit quasi höherer Auflösung die ersten Bereiche in der ersten Richtung durchfahren, in denen die optischen Grenzflächen liegen. Die Bereiche (erste und zweite) können beispielsweise aus bekannten Daten (wenn z.B. bekannt ist, welche Art von Deckglas oder Petrischale verwendet wird) oder aus einem ersten Abtastdurchlauf mit großer Schrittweite bestimmt werden. Bei dem Abtastdurchlauf kann es sich um die Aufnahme eines z-Stapels in gleicher Weise wie mit den Schritten a) und b) handeln. Es ist jedoch auch jede andere Art der Aufnahme von mehreren Bildern in unterschiedlichen Positionen entlang der ersten Richtung möglich.

[0019] So können bei dem erfindungsgemäßen Verfahren die verschiedenen Positionen gemäß Schritt b) in unterschiedlicher Schrittweite gefahren werden, wobei um die erwarteten Positionen der optischen Grenzflächen herum eine kleinere Schrittweite als zwischen den erwarteten Positionen der optischen Grenzflächen verwendet wird. Diese Vorgänge können auch iterativ getrennt mehrfach erfolgen, um die Genauigkeit zu erhöhen.

[0020] Des Weiteren können bei dem erfindungsgemäßen Verfahren die Schritte a) und b) mit zumindest zwei unterschiedliche Wellenlängenbereichen zur Abbildung des Musters durchgeführt werden, wobei dann im Schritt e) der Abstand für die beiden Wellenlängenbereiche (Abstand der Wellenlängenbereichs - Schwerpunktswellenlängen) berechnet werden. Wenn bekannt ist, dass die beiden optischen Grenzflächen entweder nur ein erstes oder ein zweites Material mit unterschiedlichen optischen Eigenschaften begrenzen, kann basierend auf den beiden wellenlängenabhängigen Abständen das tatsächlich vorliegende Material bestimmt werden.

[0021] Dazu kann beispielsweise der Betrag der Differenz der mechanischen Dicke eines Materials für beide Schwerpunktswellenlängen mit dem Betrag der Differenz der mechanischen Dicke des anderen Materials für beide Schwerpunktswellenlängen verglichen und daraus abgeleitet werden, welches Material vorhanden ist. Es werden somit die mechanische Dicke für beide Schwerpunktswellenlängen unter der

Annahme berechnet, dass entweder das erste oder das zweite Material vorliegt. Dann wird die Differenz der mechanischen Dicken für das jeweilige Material gebildet und die Beträge davon verglichen. Das Material, dessen Betrag den kleineren Wert aufweist, ist das tatsächlich vorliegende Material. In dieser Art und Weise kann automatisch eine Materialbestimmung durchgeführt werden.

[0022] Bei dem Muster kann es sich vorzugsweise um ein streifengitterförmiges Muster handeln. In diesem Fall weist das Muster nur in einer Richtung eine Periode auf und ist somit in einer Richtung intensitätsmoduliert.

[0023] Es ist jedoch auch möglich, dass das Muster gitterförmig ist und in zwei unterschiedliche Richtungen gleiche oder unterschiedliche Perioden aufweist.

[0024] Bei dem erfindungsgemäßen Verfahren wird im Schritt a) das abgebildete Muster bevorzugt vergrößert abgebildet.

[0025] Ferner wird ein Verfahren zur Bestimmung der Lage einer ersten optischen Grenzfläche beschrieben, bei dem folgende Schritte durchgeführt werden:

a) Abbilden eines Musters in eine Ebene parallel zur ersten optischen Grenzfläche und Aufnehmen eines Bildes des in der Ebene abgebildeten Musters,

b) Wiederholen des Schrittes a) für verschiedene Positionen der Ebene wobei die verschiedenen Positionen einen Bereich abdecken, in dem die erste optische Grenzfläche liegt,

c) Ermitteln eines ersten Bildes aus den Bildern von Schritt a), wobei die Ebene, in die das mit dem ersten Bild aufgenommene Muster abgebildet war, mit der ersten optischen Grenzfläche zusammenfällt oder den geringsten Abstand zur ersten optischen Grenzfläche im Vergleich zu den Ebenen, in denen das mit den anderen Bildern von Schritt a) aufgenommene Muster abgebildet war, aufweist, und

d) Bestimmen der Position der ersten optischen Grenzfläche anhand des ermittelten ersten Bildes.

[0026] Das Verfahren zur Bestimmung der Position einer ersten optischen Grenzfläche kann so weitergebildet werden, dass der Abstand der ersten optischen Grenzfläche zu einer zweiten optischen Grenzfläche bestimmt wird. Für die Bestimmung der Position der zweiten optischen Grenzfläche können auch bekannte Verfahren wie Software-Autofokusverfahren eingesetzt werden. Es ist auch möglich, das gleiche Verfahren wie zur Bestimmung der ersten optischen Grenzfläche mit den Schritten a) - d) durchzu-

führen. Die Positionen der beiden optischen Grenzflächen können zueinander lateral versetzt bestimmt werden.

[0027] Anhand der Position der beiden optischen Grenzflächen kann dann der gewünschte Abstand ermittelt werden.

[0028] Das Verfahren zur Bestimmung der Position einer ersten optischen Grenzfläche kann die gleichen Merkmale und Weiterbildungen aufweisen wie das bereits beschriebene Verfahren zum Bestimmen eines Abstandes zweier voneinander entlang einer ersten Richtung beabstandeter optischer Grenzflächen (einschließlich seiner Weiterbildungen).

[0029] Es wird ferner ein Verfahren zur Bestimmung des Abstandes zweier voneinander entlang einer ersten Richtung beabstandeter optischer Grenzflächen beschrieben, bei dem folgende Schritte durchgeführt werden:

a) Abbilden eines Musters in eine Ebene quer zur ersten Richtung und Aufnehmen eines Bildes des in der Ebene abgebildeten Musters,

b) Wiederholen des Schrittes a) für verschiedene Positionen der ersten Richtung, wobei die verschiedenen Positionen einen Bereich in der ersten Richtung abdecken, in dem eine erste der beiden optischen Grenzflächen liegt,

c) Ermitteln der Position entlang der ersten Richtung der zweiten optischen Grenzfläche durch ein optisches Verfahren,

d) Ermitteln eines ersten Bildes aus den Bildern von Schritt a), wobei die Ebene, in die das mit dem ersten Bild aufgenommene Muster abgebildet war, mit der ersten optischen Grenzfläche zusammenfällt oder den geringsten Abstand zur ersten optischen Grenzfläche im Vergleich zu den Ebenen, in denen das mit den anderen Bildern von Schritt a) aufgenommene Muster abgebildet war, aufweist, und Bestimmen der Position des ersten Bildes in der ersten Richtung, und

e) Berechnen des Abstandes anhand der Positionen aus den Schritten c) und d).

[0030] Für die Bestimmung der Position der zweiten optischen Grenzfläche gemäß Schritt c) können bekannte optische Verfahren, wie z.B. Verfahren zur Ermittlung der Fokusposition (z. B. Autofokusverfahren), verwendet werden.

[0031] Die erste Richtung ist bei den erfindungsgemäßen Verfahren insbesondere senkrecht zu den optischen Grenzflächen. Sie kann jedoch auch zumindest zu einer der optischen Grenzflächen einen Winkel von ungleich 90° aufweisen. Dies ist insbesondere dann der Fall, wenn die beiden optischen Grenzflächen nicht zueinander parallel ausgerichtet sind. Be-

vorzugt sind die beiden optischen Grenzflächen zueinander parallel.

[0032] Unter dem Schritt a) des Abbildens eines Musters quer zur ersten Richtung bei den erfindungsgemäßen Verfahren wird insbesondere verstanden, dass somit das Muster in einer Ebene parallel zur ersten oder zweiten optischen Grenzfläche abgebildet wird. Diese Ebene kann natürlich auch mit der ersten oder zweiten optischen Grenzfläche zusammenfallen.

[0033] Bei der Bestimmung der Position des ersten bzw. zweiten Bildes gemäß Schritten c) und d) kann beispielsweise die Position des ausgewählten ersten bzw. zweiten Bildes genutzt werden bzw. die Ebene, in die das mit dem ausgewählten ersten bzw. zweiten Bild aufgenommene Muster abgebildet war. Damit wird die Position der optischen Grenzfläche mit einem maximalen Fehler, der der verwendeten Schrittweite entspricht, in diesem Bereich bestimmt. Ferner kann in den Schritten c) und d) durch eine Interpolation ausgehend von dem bestimmten ersten bzw. zweiten Bild die Position der ersten bzw. zweiten optischen Grenzfläche mit höherer Genauigkeit bestimmt werden. Beispielsweise ist es möglich, die beiden Bilder zu nutzen, die die erste bzw. zweite optische Grenzfläche einschließen (entlang der ersten Richtung) und basierend darauf durch Interpolation zwischen diesen beiden Bildern die Position der ersten bzw. zweiten optischen Grenzfläche mit höherer Genauigkeit zu bestimmen. In diesem Fall können beispielsweise in den Schritten c) und d) jeweils diese beiden Bilder bestimmt werden.

[0034] Die erfindungsgemäßen Verfahren können insbesondere im Bereich der Mikroskopie angewendet werden. Besonders bevorzugt kann damit z.B. eine Dicke eines Deckglases oder die Dicke eines Bodens einer Petrischale oder eines sonstigen Probengefäßes für inverse Mikroskopie (wie z.B. Multiwell-Platten, Mikrotiterplatten, etc.) bestimmt werden.

[0035] Unter der Bestimmung des Abstandes wird hier insbesondere die Bestimmung des mechanischen Abstandes und/oder des optischen Abstandes (d/n ; d = Dicke; n = Brechungsindex des Materials zwischen den beiden optischen Grenzflächen) verstanden.

[0036] Die erfindungsgemäßen Verfahren können insbesondere im Bereich der mikroskopischen Beobachtung und Analyse von biologischen und/oder medizinischen Proben eingesetzt werden. In diesem Bereich werden häufig wässrige Proben über einen längeren Zeitraum (Stunden bis Tage) mikroskopisch beobachtet. Für eine korrekte Einstellung des Mikroskopobjektives ist es häufig erforderlich, die optische Weglänge zwischen der Probe und dem Objektiv genau zu kennen. Mit den erfindungsgemäßen Verfah-

ren können der Abstand zweier optischer Grenzflächen und somit z.B. die nicht genau bekannte Deckglasdicke bestimmt werden, so dass z.B. solche Einstellungen an einem Mikroskop oder einem sonstigen optischen Messsystem, durchgeführt werden können, die eine optische Abbildung oder eine optische Messung mit möglichst hoher Qualität ermöglichen. Dies kann insbesondere automatisch erfolgen.

[0037] Die Abbildung des Musters gemäß Schritt a) bei den erfindungsgemäßen Verfahren führt zu einer strukturierten Beleuchtung, die auch als intensitätsmodulierte Beleuchtung bezeichnet werden kann. Insbesondere wird das Muster in einem eingeschränkten Wellenlängenbereich abgebildet.

[0038] Das Muster wird bevorzugt in einer zur Fokusebene bei der Aufnahme konjugierten Ebene erzeugt und somit scharf in die Fokusebene abgebildet.

[0039] Die erfindungsgemäßen Verfahren können insbesondere in Auflicht- oder Durchlichtmikroskopen eingesetzt werden.

[0040] Es wird ferner eine Vorrichtung zum Bestimmen des Abstandes zweier voneinander entlang einer ersten Richtung beabstandeter optischer Grenzflächen und/oder zur Bestimmung der Lage einer optischen Grenzfläche bereitgestellt, die ein Beleuchtungsmodul zum Abbilden eines Musters in einer Ebene quer zur ersten Richtung, ein Abbildungsmodul zum Aufnehmen eines Bildes des in der Ebene abgebildeten Musters und ein Steuermodul aufweist, das dazu ausgebildet ist, die Schritte des erfindungsgemäßen Verfahrens (einschließlich seiner Weiterbildungen) auszuführen.

[0041] Die Vorrichtung kann insbesondere als Mikroskop ausgebildet sein. So kann sie beispielsweise als Auflichtmikroskop oder Durchlichtmikroskop ausgebildet sein.

[0042] Es versteht sich, dass die vorstehend genannten und die nachstehend noch zu erläuternden Merkmale nicht nur in den angegebenen Kombinationen, sondern auch in anderen Kombinationen oder in Alleinstellung einsetzbar sind, ohne den Rahmen der vorliegenden Erfindung zu verlassen.

[0043] Nachfolgend wird die Erfindung beispielsweise anhand der beigefügten Zeichnungen, die auch erfindungswesentliche Merkmale offenbaren, noch näher erläutert. Es zeigen:

Fig. 1 eine schematische Darstellung des Aufbaus einer Ausführungsform der erfindungsgemäßen Vorrichtung **1** zur Bestimmung des Abstandes zweier voneinander entlang einer ersten Richtung beabstandeter optischer Grenzflächen;

Fig. 2 eine vergrößerte Darstellung des Objektivs **9** und der Probe **14** der Vorrichtung **1** von **Fig. 1**;

Fig. 3 eine schematische Darstellung des Streifenrastergitters **24**, das in die Fokusebene abzubilden ist;

Fig. 4 eine Aufnahme des Bildes des Reflexes an der unteren Grenzfläche des Bodens **20** der Petrischale **19**;

Fig. 5 eine Aufnahme des Reflexes an der oberen Grenzfläche des Bodens **20** der Petrischale **19**;

Fig. 6 eine Darstellung eines y-z-Schnittes durch einen z-Aufnahmestapel im Bereich der unteren Grenzfläche **21**;

Fig. 7 ein y-z-Schnitt durch einen z-Aufnahmestapel über die gesamte Dicke des Bodens **20** der Petrischale **19**;

Fig. 8 eine aus **Fig. 7** abgeleitete Fokusfunktion;

Fig. 9 eine aus einem Maximumbild, das aus der Fokusfunktion gemäß **Fig. 8** ermittelt wird, erzeugter Linienschnitt;

Fig. 10 ein Soll-Gittersignal, das aus den Daten gemäß **Fig. 9** abgeleitet ist;

Fig. 11 ein Vergleich des Fokussignal mit dem gefalteten Intensitätsverlauf über z mit dem Soll-Gitter;

Fig. 12 ein weiterer Vergleich gemäß **Fig. 11**;

Fig. 13 ein Ablaufdiagramm für das erfindungsgemäße Verfahren;

Fig. 14 eine Darstellung gemäß **Fig. 2** zur Erläuterung einer weiteren Ausführungsform;

Fig. 15 eine Darstellung gemäß **Fig. 14** zur Erläuterung der weiteren Ausführungsform, und

Fig. 16 eine schematische Darstellung einer weiteren Ausführungsform der erfindungsgemäßen Vorrichtung **1**.

[0044] In **Fig. 1** ist schematisch der Aufbau einer Ausführungsform der erfindungsgemäßen Vorrichtung **1** zur Bestimmung des Abstandes zweier voneinander entlang einer ersten Richtung beabstandeter optischer Grenzflächen gezeigt. Bei dieser Ausführungsform ist die Vorrichtung **1** als inverses Mikroskop ausgebildet, das ein Beleuchtungsmodul **2** und ein Abbildungsmodul **3** umfasst. Das Beleuchtungsmodul **2** kann z.B. eine erste Lichtquelle **4** mit einer ersten Optik **5**, eine zweite Lichtquelle **6** mit einer zweiten Optik **7**, eine Beleuchtungsoptik **8** und ein Objektiv **9** aufweisen. Die erste Lichtquelle **4** kann z.B. Licht mit einer Schwerpunktswellenlänge von 420 nm und die zweite Lichtquelle **6** kann z.B. Licht mit einer Schwerpunktswellenlänge von 625 nm ab-

geben. Grundsätzlich kann Licht mit einer Wellenlänge aus dem sichtbaren Wellenlängenbereich, aus dem Infrarotbereich oder aus dem UV-Bereich verwendet werden. Ferner sind noch Umlenkspiegel **10**, **11** und **12** und ein Strahlvereiner **13** vorgesehen, so dass bevorzugt selektiv das Licht *L* der ersten oder zweiten Lichtquelle **4**, **6** über die Beleuchtungsoptik **8** und das Objektiv **9** zur Beleuchtung auf eine Probe **14** gerichtet werden kann.

[0045] Das Abbildungsmodul **3** umfasst das Objektiv **9**, einen Strahlteiler **15**, eine Abbildungsoptik **16** und eine Kamera **17**. Somit kann ein (bevorzugt vergrößertes Bild) der Probe **14** über das Objektiv **9**, den Strahlteiler **15** und die Abbildungsoptik **16** mit der Kamera **17** aufgenommen werden.

[0046] Ferner weist die Vorrichtung **1** noch ein Steuermodul *M* auf, das die Vorrichtung im Betrieb steuert und die nachfolgend beschriebene Auswertung und Abstandsbestimmung durchführt. Das Steuermodul *M* kann Teil der Vorrichtung **1**, als separates Modul ausgebildet oder eine Kombination von beidem sein.

[0047] In **Fig. 2** ist eine vergrößerte Darstellung des Objektivs **9** und der Probe **14** gezeigt. Die Probe **14** kann z.B. eine Zellprobe sein, die in einem flüssigen Medium **18** schwimmt, das in einer Petrischale **19** aufgenommen ist. Nachdem die Abbildung der Probe **14** durch den Boden **20** der Petrischale **19** erfolgt, ist es für eine Abbildung mit hoher Qualität notwendig, die genaue Dicke des Bodens **20** zu wissen, um sie bei der Abbildung berücksichtigen zu können.

[0048] Die Dicke des Bodens **20** und somit der Abstand von der unteren Grenzfläche **21** des Bodens **20** zur oberen Grenzfläche **22** des Bodens **20** kann wie folgt bestimmt werden.

[0049] Es wird in einer zur Fokusebene des Abbildungsmoduls **3** konjugierten Ebene **23** (**Fig. 1**) innerhalb des Beleuchtungsmoduls **2** ein Streifengitter **24** (wie es schematisch in **Fig. 3** dargestellt ist) angeordnet, so dass in der Fokusebene eine entsprechende streifengitterförmig strukturierte Beleuchtung vorliegt. Mit dieser Beleuchtung werden mittels des Abbildungsmoduls **3** mehrere Aufnahmen gemacht, wobei die Aufnahmen an unterschiedlichen *z*-Positionen erfolgen. Es wird somit ein sogenannter *z*-Stapel aufgenommen. Die *z*-Positionen sind so gewählt, dass sie einen *z*-Bereich **25** abdecken, innerhalb dem sowohl die untere Grenzfläche **21** als auch die obere Grenzfläche **22** liegen. Da an diesen Grenzflächen **21** und **22** Brechzahlspünge vorliegen, treten hier Reflexionen auf, wobei an anderen Stellen innerhalb oder außerhalb des Bodens **20** Störlicht auftreten kann. Die Reflexionen werden dazu genutzt den Abstand zwischen der unteren und oberen Grenzfläche **21**, **22** mit hoher Genauigkeit zu ermitteln.

[0050] An der unteren Grenzfläche **21** liegt der Brechzahlspünge aufgrund des Übergangs zwischen dem Material der Umgebung (beispielsweise Luft) und dem Material des Bodens **20** der Petrischale **19** und an der oberen Grenzfläche **22** liegt der Brechzahlspünge aufgrund des Übergangs zwischen dem Material des Bodens **20** der Petrischale **19** und dem Medium **18** vor.

[0051] Bei dem erfindungsgemäßen Mikroskop **1** wird somit ein vorbestimmter *z*-Bereich **25** durchgeföhren (die Fokusebene wird in *z*-Richtung verschoben), wobei stets in der Fokusebene eine scharfe Abbildung des Streifengitters und somit die gewünschte streifenförmig strukturierte Beleuchtung vorliegt. Das Durchföhren des vorbestimmten *z*-Bereiches kann beispielsweise mit äquidistanten Schritten erfolgen.

[0052] In **Fig. 4** ist die Aufnahme der Kamera **17** des Abbildungsmoduls **3** gezeigt, wenn die Fokusebene mit der unteren Grenzfläche **21** zusammenfällt. In **Fig. 5** ist die entsprechende Aufnahme gezeigt, wenn die Fokusebene mit der oberen Grenzfläche **22** zusammenfällt. Da die beiden Aufnahmen auf maximalen Bildkontrast normiert sind, sind die tatsächlich vorliegenden Intensitätsunterschiede nicht zu erkennen. Die Intensität der Aufnahme gemäß **Fig. 4** ist deutlich größer als bei der Aufnahme gemäß **Fig. 5**. Insbesondere ist der Kontrast bei Aufnahme der unteren Grenzfläche **21** größer als bei den anderen Aufnahmen. Bedingt durch die unterschiedlichen Abbildungseigenschaften können sich die Bilder des Musters von den Grenzflächen sowohl in der Intensität als auch vom Kontrast voneinander unterscheiden.

[0053] Des weiteren tritt der Effekt auf, dass das Gitter **24** scharf abgebildet wird, wenn z.B. die Fokusebene mit der unteren Grenzfläche **21** zusammenfällt. Mit zunehmendem Abstand der Fokusebene von der unteren Grenzfläche wird das Gitter **24** unscharf in der Aufnahme, wobei das Gittermuster mit gleicher Periode wiederkehrt und bei jeder Wiederholung einen abnehmenden Kontrast aufweist. Dies ist in **Fig. 6** verdeutlicht, bei der entlang der Abszisse die *z*-Position und entlang der Ordinate das aufgenommene Gitter in einer Richtung senkrecht zur Längsrichtung der Streifen des Streifengitters abgebildet ist. Aus dieser Darstellung eines *y-z*-Schnittes durch einen *z*-Stapel über einen Bereich von 200 μm mit einer Auflösung von 1 μm ergibt sich, dass die Gitterstruktur bei etwa 45 μm scharf abgebildet wird (hier liegt somit die untere Grenzfläche **21**) und das sich die Gitterstruktur nachfolgend in periodischen Abständen mit geringerer Intensität wiederholt.

[0054] Das gleiche Verhalten tritt im Bereich der oberen Grenzfläche **22** (mit geringerer Intensität und geringerem Kontrast) auf.

[0055] In **Fig. 6** ist nur ein Bereich um die untere Grenzfläche gezeigt. In **Fig. 7** ist in gleicher Weise wie in **Fig. 6** ein y-z-Schnitt durch die untere Glas-Luft-Grenzfläche (untere Grenzfläche **21**) und die obere Glas-Medium-Grenzfläche (obere Grenzfläche **22**) gezeigt. Man erkennt bei ca. 220 µm den Gitterreflex an der unteren Grenzfläche **21** mit hohem Reflexionsgrad und damit sehr gutem Kontrast in der Bildgebung. Bei ca. 780 µm ist der vergleichsweise schwache Reflex der oberen Grenzfläche **22** zu erkennen. Um aus diesen Daten der Positionen der scharf abgebildeten Gitterstruktur zu ermitteln, können typische Softwareverfahren zur Fokusbestimmung (nachfolgend auch Fokusfunktion genannt) eingesetzt werden. Aus den Positionen kann dann der Abstand der beiden Grenzflächen **21**, **22** entlang einer ersten Richtung (hier die z-Richtung) ermittelt werden.

[0056] In **Fig. 8** ist eine entsprechende Auswertung mit einer Fokusfunktion gezeigt. Dabei kann die nachfolgende Funktion $F(z)$ gemäß Gleichung 1

$$F(z) = \sum \sum |g(x, y + d) - 2g(x, y) + g(x, y - d)|^2$$

verwendet werden ($g(x, y)$ ist das auszuwertende Bild und $d = 5$). Diese Variante beruht auf einer Detektion von hoher Kantensteilheit und ist unter dem Namen second order squared gradient bekannt. In **Fig. 8** ist entlang der Abszisse die z-Position in µm und entlang der Ordinate die normalisierte Fokusfunktion aufgetragen.

[0057] Es zeigt sich, dass das Signalniveau an der oberen Grenzfläche **22** nur knapp oberhalb des Grundniveaus liegt und sich damit schwer vom Untergrund unterscheiden lässt.

[0058] Die Untersuchung der Bilder mit Funktionen zur Kontrast- und Kantensteilheit kann somit unter Umständen nicht empfindlich genug sein, um die Gitterstruktur an der oberen Grenzfläche **22** zu detektieren.

[0059] Eine bessere Auswertung kann dadurch erreicht werden, dass mindestens eine Spalte entlang der Richtung der Gittermodulation (in y-Richtung in **Fig. 4** und **Fig. 5**) oder der Mittelwert von mehreren Spalten (alternativ die Summe einer bestimmten Anzahl k von Spalten) des aufgenommenen Bildes mit einer erwarteten Gitterstruktur (auch als Soll-Gittersignal bezeichnet) gemäß der nachfolgenden Gleichung 2 gefaltet wird.

$$\text{Faltung}(x, y) = \frac{\sum_y (\text{Signal}(x, y, z) * \text{Gitter}(y))}{\sum_y \text{Signal}(x, y, z) + \sum_y \text{Gitter}(y)}$$

[0060] In Gleichung 2 bezeichnet $\text{Signal}(x, y, z)$ die mindestens eine Spalte des aufgenommenen Bildes und $\text{Faltung}(x, y)$ das erhaltene Faltungssignal. Statt der mindestens einen Spalte kann ein Mittelwert oder die Summe von mehreren Spalten des aufgenommenen Bildes als $\text{Signal}(x, y, z)$ für die Faltung gemäß Gleichung 2 genutzt werden. Die Mittelwertbildung und die Summation wird quer zur Richtung der Gittermodulation und somit entlang der x-Richtung in **Fig. 4** und **Fig. 5** durchgeführt. Natürlich kann auch das vollständig aufgenommene Bild als $\text{Signal}(x, y, z)$ in Gleichung 2 eingesetzt werden.

[0061] Die erwartete Gitterstruktur ($\text{Gitter}(y)$) kann z.B. basierend auf dem Reflexbild der unteren Grenzfläche **21** erzeugt werden. Dieses Reflexbild kann durch die oben beschriebene Fokusfunktion bestimmt werden. Danach wird ein Linienschnitt durch dieses Maximumbild erzeugt und so aufbereitet, dass es um Null zentriert ist (**Fig. 9**). In **Fig. 9** ist entlang der Abszisse die Ortskoordinate des Linienschnitts (in Pixeln des aufgenommenen Bildes) und entlang der Ordinate die normalisierte Intensität aufgetragen. Aus dem aufbereiteten Signal wird dann ein Soll-Gittersignal berechnet, das zur Faltung verwendet wird. Dieses Soll-Gittersignal kann den in **Fig. 10** gezeigten Verlauf aufweisen. Dabei ist entlang der Abszisse die Ortskoordinate des Linienschnitts (in Pixeln des aufgenommenen Bildes) und entlang der Ordinate ein auf 1 normalisierter Signalwert aufgetragen.

[0062] Wenn man nun basierend auf diesem Soll-Gitter gemäß **Fig. 10** das Faltungssignal auswertet, erhält man insbesondere im Bereich des Reflexes für die obere Grenzfläche **22** ein gut zu detektierendes Signal. Dies ist in **Fig. 11** schematisch dargestellt, wobei die Fokusfunktion mit durchgezogener Linie und das Faltungssignal gestrichelt dargestellt ist. Bei der Darstellung in **Fig. 11** ist entlang der Abszisse die z-Position in µm und entlang der Ordinate ein auf 1 normalisierter Funktionswert aufgetragen.

[0063] Ein weiterer Vorteil der Faltung liegt darin, dass man ein Signal erhält, das im wesentlichen nur auf die Abbildung des Musters sensitiv ist. Andere Strukturen mit hohem Kontrast oder ganz allgemeinen Helligkeitsschwankungen haben wenig bis gar keinen Einfluss auf die Auswertung. Dies ist in **Fig. 12** zu sehen, in der das gestrichelt dargestellte Signal der Faltung ein lokales Maximum an der oberen Grenzfläche **22** aufweist. Die Zellen (Probe **14**) werden deutlich oberhalb der oberen Grenzfläche **22** durch die Fokusfunktion (mit durchgezogener Linie dargestellt) erkannt. Bei diesem Beispiel würde eine Auswertung nur basierend auf der Fokusfunktion zu einer falschen Lage der oberen Grenzfläche **22** führen. Bei der Darstellung in **Fig. 12** ist in gleicher Weise wie bei der Darstellung in **Fig. 11** entlang der Abszisse die z-Position in µm und entlang der Ordinate der Funktionswert normalisiert auf 1 dargestellt.

[0064] Der Kontrast der Gitterabbildung wird durch die Auswertung der Faltung zwar verstärkt, jedoch hat der Kontrast einen linearen Einfluss auf das Signal. Ist entsprechend fast kein Signal von dem Gitter mehr vorhanden, so ist die Faltungsfunktion entsprechend schwach in ihrem Signalniveau. Es wird daher erfindungsgemäß der Wellenlängenbereich zur Beleuchtung möglichst so gewählt, dass ein guter Kontrast der Gitterabbildung gewährleistet wird. Dazu kann eine geeignete Lichtquelle ausgewählt werden.

[0065] In dem Ablaufdiagramm gemäß **Fig. 13** ist das beschriebene Vorgehen nochmals dargestellt.

[0066] Im Schritt **S1** wird ein Bildstapel bzw. z-Stapel erzeugt.

[0067] Diese Bilddaten werden im Schritt **S2** eingelesen, wobei die tatsächliche z-Position gemessen wird und z.B. eine zentrale Spalte ausgewählt wird, um somit im Schritt **S3** einen Stapel von Bildspalten $S(z)$ zu haben.

[0068] Aus dem Stapel von Bildspalten $S(z)$ wird im Schritt **S4** die Fokusfunktion berechnet, die im Schritt **S5** bereitsteht.

[0069] Im Schritt **S6** wird das Hauptmaximum ermittelt und dann im Schritt **S7** das Soll-Gitter oder Vergleichsgitter G berechnet.

[0070] Im Schritt **S8** wird basierend auf dem Stapel von Bilddaten $S(z)$ mit dem Vergleichsgitter G die Faltung berechnet, die im Schritt **S9** vorliegt. Basierend auf der berechneten Faltung werden dann im Schritt **S10** die beiden Reflexpositionen bestimmt.

[0071] Anhand der Reflexpositionen kann die Distanz der Fokuspositionen Δz bestimmt werden und somit zwischen der unteren und der oberen Grenzfläche **21** und **22** berechnet werden.

[0072] Ist das Material des Bodens **20** der Petrischale **19** bekannt, so kann man die Dicke des Bodens d durch $\Delta z \cdot n$ berechnen, wobei Δz die Differenz der z-Positionen zwischen den scharfen Gitterabbildungen und n der Brechungsindex des Bodens in Abhängigkeit der verwendeten Wellenlänge des Beleuchtungssystems ist.

[0073] Bei Anwendungen im biologischen Bereich werden in der Regel nur zwei Materialien verwendet. Entweder wird Glas mit der Bezeichnung D263M oder der Kunststoff Polystyrol (PS) verwendet. Diese Materialien unterscheiden sich in der Dispersion, was dazu verwendet werden kann, um diese Materialien automatisch unterscheiden zu können und somit das Material zu ermitteln.

[0074] Für die Ermittlung des Materials kann man wie folgt vorgehen.

[0075] Zuerst ermittelt man Δz für eine erste Wellenlänge und dann für eine zweite Wellenlänge, die sich signifikant unterscheiden. Als erste und zweite Wellenlänge können z.B. 420 nm und 625 nm verwendet werden.

[0076] Die Differenz der so ermittelten Dicken für ein Material muss ungefähr Null ergeben. Wenn man nun die Differenz der beiden Dicken für das Material D263M mit der Differenz der beiden Dicken für das Material Polystyrol vergleicht, ist eine Differenz betragsmäßig kleiner als die andere. Die betragsmäßig kleinere Differenz ergibt das tatsächlich vorhandene Material. Wenn also der Betrag der Differenz der Dicken für Polystyrol für beide Wellenlängen kleiner ist als der Betrag der Differenz für das Glas D263M, so handelt es sich um Polystyrol.

[0077] Bei eingebetteten Proben **14** kann der Brechungsindex des Einbettmediums **18** so dicht am Brechungsindex des Deckglases sein, dass der Reflex so schwach ist, daß kein Gitterbild ausgewertet werden kann.

[0078] In diesem Fall kann, wie in **Fig. 14** gezeigt ist, die obere Grenzfläche lateral versetzt an einer Position ermittelt werden, an der kein Deckglas vorhanden ist, so dass auch hier z.B. eine Grenzfläche zwischen Luft und dem Objektträger vorliegt. Die Bestimmung der oberen Grenze **22** kann ansonsten in der gleichen Art und Weise wie bisher beschrieben durchgeführt werden.

[0079] Alternativ ist es möglich, die obere Grenzfläche **22** dadurch zu bestimmen, dass man einen herkömmlichen Softwareautofokus nutzt, der auf die Ebene scharf stellt, in der die Probe liegt. Nachdem die Probe **14** in der Regel an der oberen Grenzfläche **22** liegt, kann somit auch die Position der oberen Grenzfläche **22** bestimmt werden.

[0080] In **Fig. 16** ist eine weitere Ausführungsform der erfindungsgemäßen Vorrichtung **1** zur Bestimmung des Abstandes zwei voneinander entlang einer ersten Richtung beabstandeter optischer Grenzflächen gezeigt, wobei gleiche Elemente der Vorrichtung **1** im Vergleich zu der bisher beschriebenen Vorrichtung **1** mit gleichen Bezugszeichen bezeichnet sind und zu deren Beschreibung auf die obigen Ausführungen verwiesen wird. Die Vorrichtung **1** gemäß **Fig. 16** unterscheidet sich von der Vorrichtung **1** gemäß **Fig. 1** im wesentlichen darin, dass das Beleuchtungsmodul **2** nur noch eine erste Lichtquelle **4'** mit der ersten Optik **5** aufweist, so dass auf die Umlenkspiegel **10**, **11** und den Strahlvereiniger **13** verzichtet werden kann. Die erste Lichtquelle **4'** ist so ausgebildet, dass sie selektiv Licht mit einer ersten Schwer-

punktswellenlänge und einer zweiten Schwerpunktswellenlänge abgeben kann.

[0081] Bei den Lichtquellen 4, 5, 4' kann es sich z.B. um LED handeln.

Patentansprüche

1. Verfahren zum Bestimmen des Abstands zweier voneinander entlang einer ersten Richtung beabstandeter optischer Grenzflächen, bei dem folgende Schritte durchgeführt werden:

a) Abbilden eines Musters in eine Ebene quer zur ersten Richtung und Aufnehmen eines Bildes des in der Ebene abgebildeten Musters,

b) Wiederholen des Schrittes a) für verschiedene Positionen der Ebene, in die das Muster abgebildet wird, in der ersten Richtung, wobei die verschiedenen Positionen einen Bereich in der ersten Richtung abdecken, in dem die beiden optischen Grenzflächen liegen,

c) Ermitteln eines ersten Bildes aus den Bildern von Schritt a), wobei die Ebene, in die das mit dem ersten Bild aufgenommene Muster abgebildet war, mit einer ersten der beiden optischen Grenzflächen zusammenfällt oder den geringsten Abstand entlang der ersten Richtung zur ersten optischen Grenzfläche im Vergleich zu den Ebenen, in denen das mit den anderen Bildern von Schritt a) aufgenommene Muster abgebildet war, aufweist, und Bestimmen der Position des ersten Bildes in der ersten Richtung,

d) Ermitteln eines zweiten Bildes aus den Bildern von Schritt a), wobei die Ebene, in die das mit dem zweiten Bild aufgenommene Muster abgebildet war, mit einer zweiten der beiden optischen Grenzflächen zusammenfällt oder den geringsten Abstand entlang der ersten Richtung zur zweiten optischen Grenzfläche im Vergleich zu den Ebenen, in denen das mit den anderen Bildern von Schritt a) aufgenommene Muster abgebildet war, aufweist, und Bestimmen der Position des zweiten Bildes in der ersten Richtung, und

e) Berechnen des Abstands anhand der bestimmten Positionen des ersten und zweiten Bildes.

2. Verfahren nach Anspruch 1, bei dem im Schritt c) und/oder im Schritt d) das erste und/oder zweite Bild basierend auf Kontrast und/oder Kantensteilheit ermittelt wird.

3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, bei dem im Schritt c) und/oder d) das erste und/oder zweite Bild mittels einer Faltung des jeweiligen Bildes von Schritt a) oder eines daraus erzeugten Teilbildes mit einem Soll-Muster ermittelt wird.

4. Verfahren nach Anspruch 3, bei dem basierend auf dem im Schritt c) ermittelten ersten Bild ein Soll-Muster abgeleitet wird, das zur Faltung verwendet wird.

5. Verfahren nach einem der obigen Ansprüche, bei dem im Schritt a) ein streifengitterförmiges Muster verwendet wird.

6. Verfahren nach Anspruch 3 und 5, bei dem im Schritt c) und/oder d) mindestens eine Spalte entlang der Richtung der Gittermodulation des streifengitterförmigen Musters des jeweiligen Bildes von Schritt a), der Mittelwert von mehreren solchen Spalten oder die Summe von mehreren solchen Spalten bei der Faltung berücksichtigt werden.

7. Verfahren nach einem der obigen Ansprüche, bei dem zur Ermittlung des ersten und/oder zweiten Bildes im Schritt c) und/oder d) die Bilder von Schritt a) gefiltert werden.

8. Verfahren nach einem der obigen Ansprüche, bei dem die verschiedenen Positionen gemäß Schritt b) äquidistante Abstände aufweisen.

9. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 7, bei dem die verschiedenen Positionen gemäß Schritt b) in einem ersten Bereich um die erste optische Grenzfläche kleinere Abstände aufweisen im Vergleich zu einem an den ersten Bereich anschließenden zweiten Bereich.

10. Verfahren nach Anspruch 9, bei dem die verschiedenen Positionen gemäß Schritt b) in einem dritten Bereich um die zweite optische Grenzfläche kleinere Abstände aufweisen im Vergleich zum zweiten Bereich, der zwischen dem ersten und dritten Bereich liegt.

11. Verfahren nach einem der obigen Ansprüche, bei dem die Schritte a) und b) für zumindest zwei unterschiedliche Wellenlängen zur Abbildung des Musters durchgeführt werden, wobei im Schritt e) der Abstand der Grenzflächen für die beiden Wellenlängen berechnet wird und basierend auf den beiden berechneten Abständen ermittelt wird, welches von zumindest zwei möglichen Materialien, die durch die beiden optischen Grenzflächen begrenzt sind, vorliegt.

12. Verfahren nach Anspruch 11, bei dem zur Bestimmung des Materials die Dispersion des Materials im Zusammenhang mit den Positionen der Grenzflächen bei den unterschiedlichen Wellenlängen verwendet wird.

13. Verfahren nach Anspruch 11 oder 12, bei dem zur Bestimmung des Materials der Betrag der Differenz der mechanischen Dicken eines Materials für beide Wellenlängen mit dem Betrag der Differenz der mechanischen Dicken des anderen Materials für beide Wellenlängen verglichen wird und daraus abgeleitet wird, welches Material vorhanden ist.

14. Verfahren nach einem der obigen Ansprüche, bei dem im Schritt a) das abgebildete Muster eine Periode aufweist, dessen Ortsfrequenz kleiner oder gleich ist als eine maximal übertragbare Ortsfrequenz bei der Abbildung in Schritt a).

15. Verfahren nach einem der obigen Ansprüche, bei dem der mechanische Abstand der beiden optischen Grenzflächen berechnet wird, indem der Abstand der bestimmten Positionen des ersten und zweiten Bildes mit der Brechzahl des zwischen beiden optischen Grenzflächen vorhandenen Materials multipliziert wird.

16. Vorrichtung zum Bestimmen des Abstandes zweier voneinander entlang einer ersten Richtung beabstandeter optischer Grenzflächen, mit einem Beleuchtungsmodul (2) zum Abbilden eines Musters in eine Ebene quer zur ersten Richtung, einem Abbildungsmodul (3) zum Aufnehmen eines Bildes des in der Ebene abgebildeten Musters und einem Steuermodul (M), das dazu ausgebildet ist, die Schritte eines der obigen Ansprüche auszuführen.

Es folgen 8 Seiten Zeichnungen

Anhängende Zeichnungen

Fig. 1

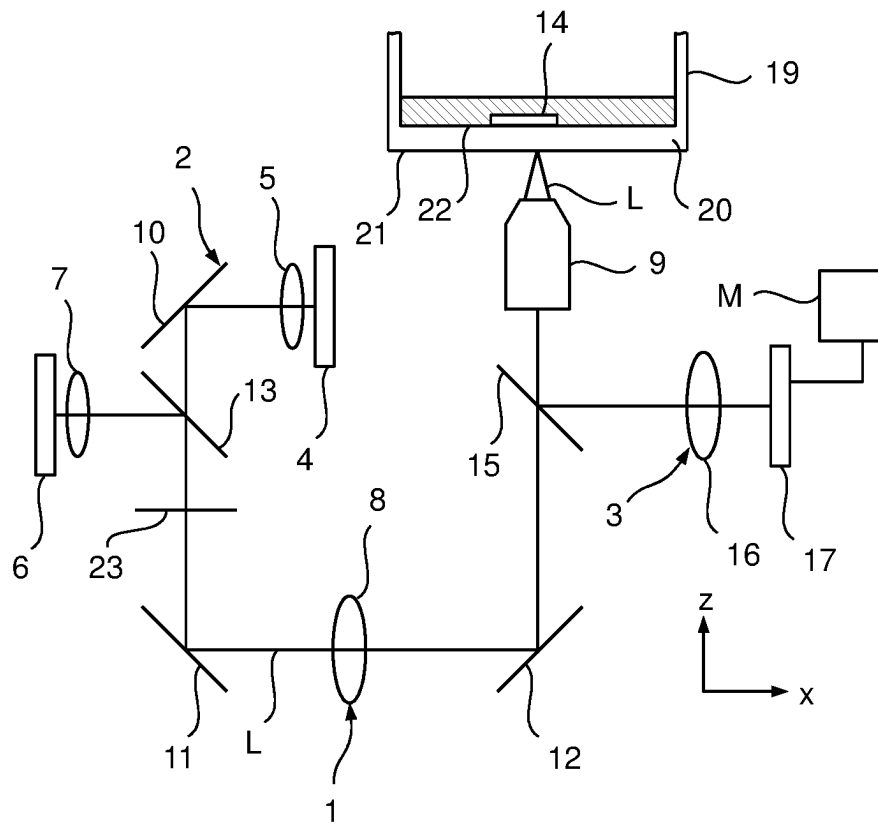


Fig. 2

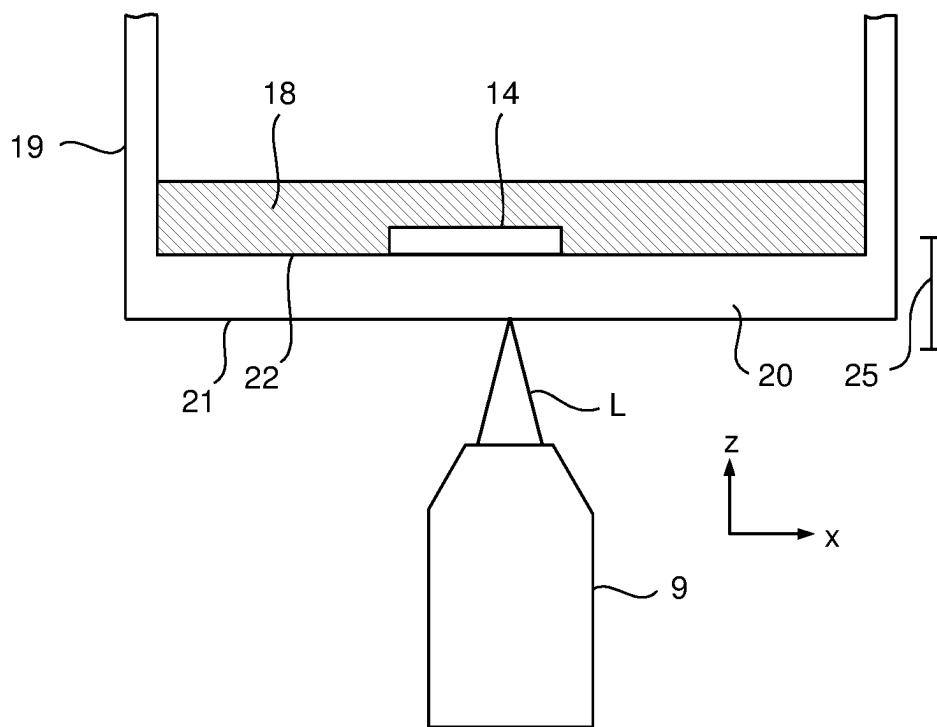


Fig. 3

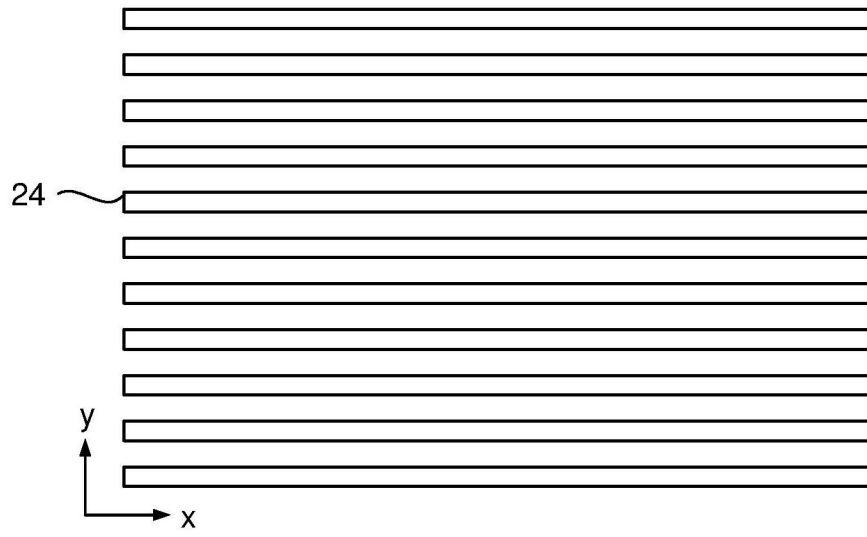


Fig. 4

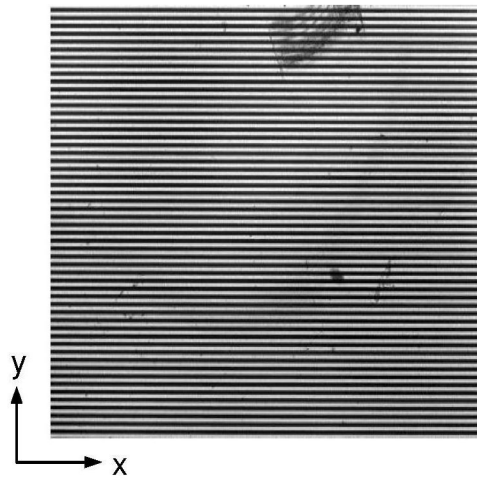


Fig. 5

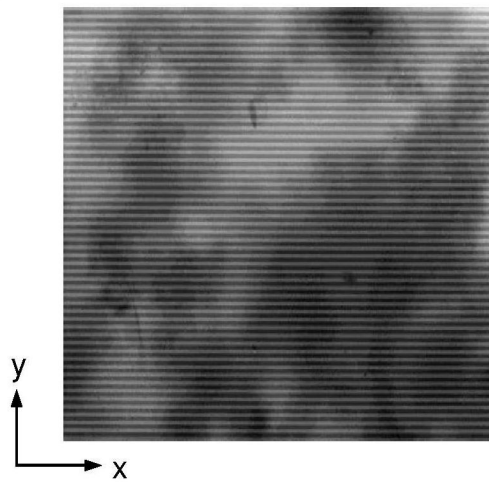


Fig. 6

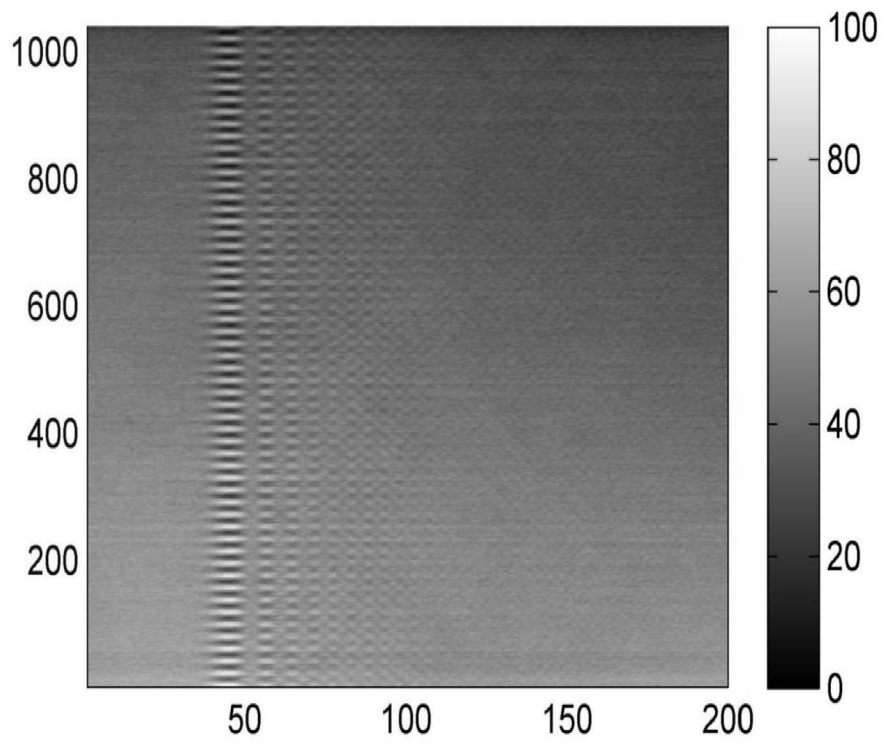


Fig. 7

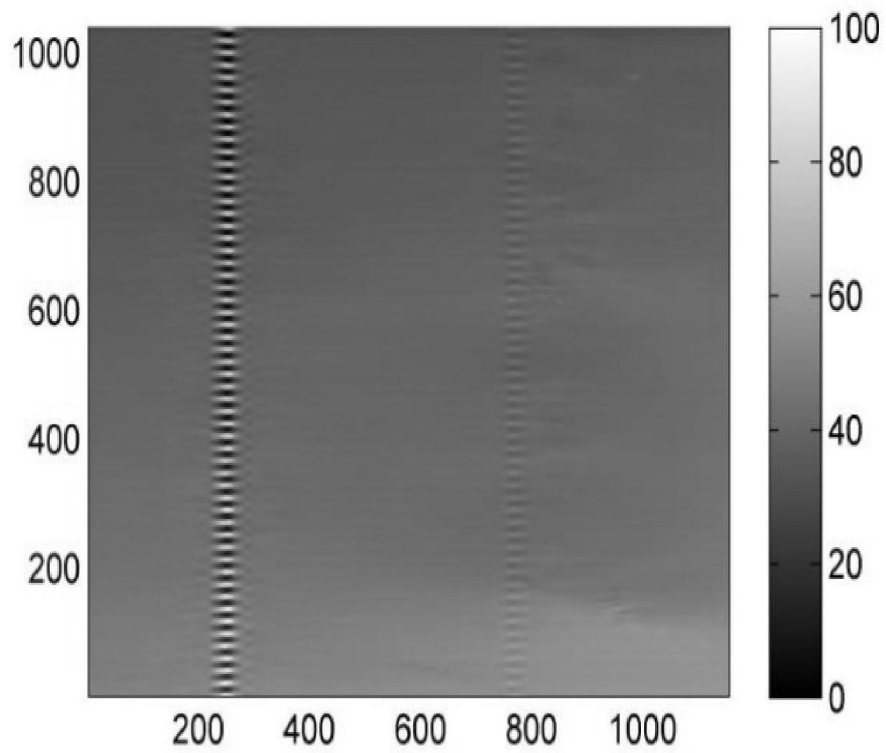


Fig. 8

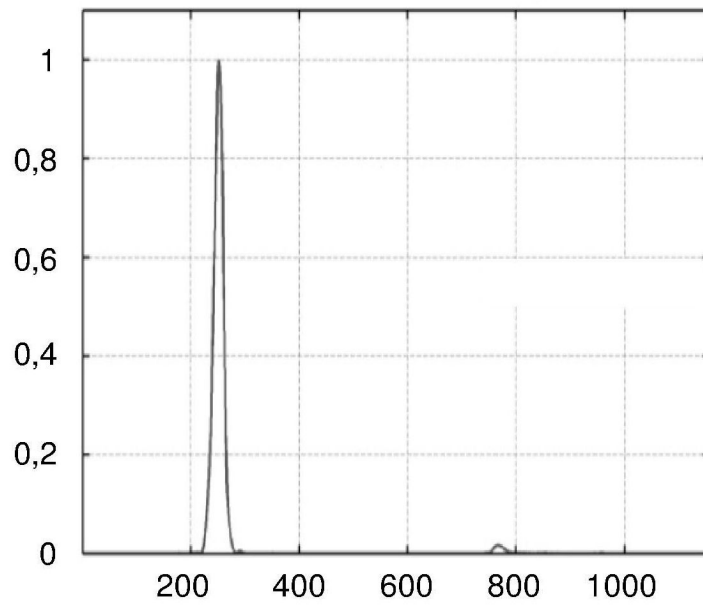


Fig. 9

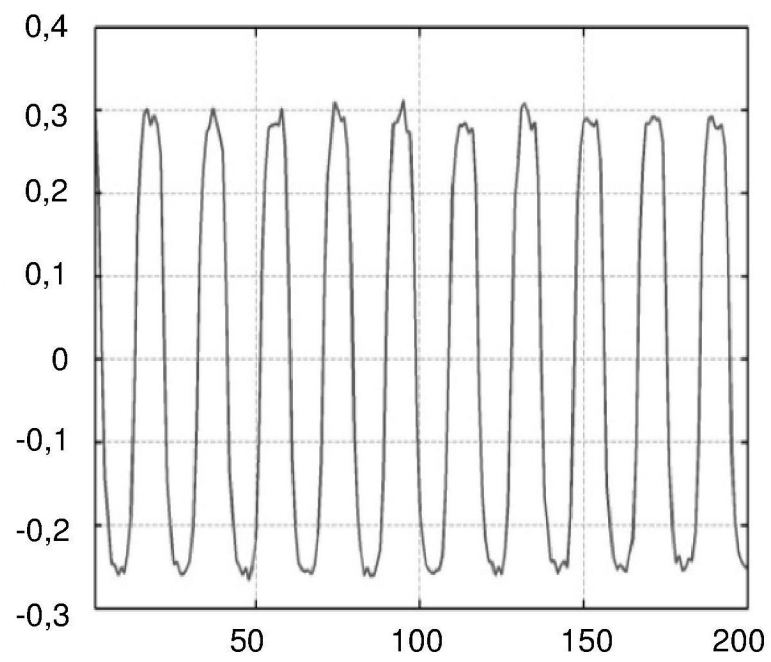


Fig. 10

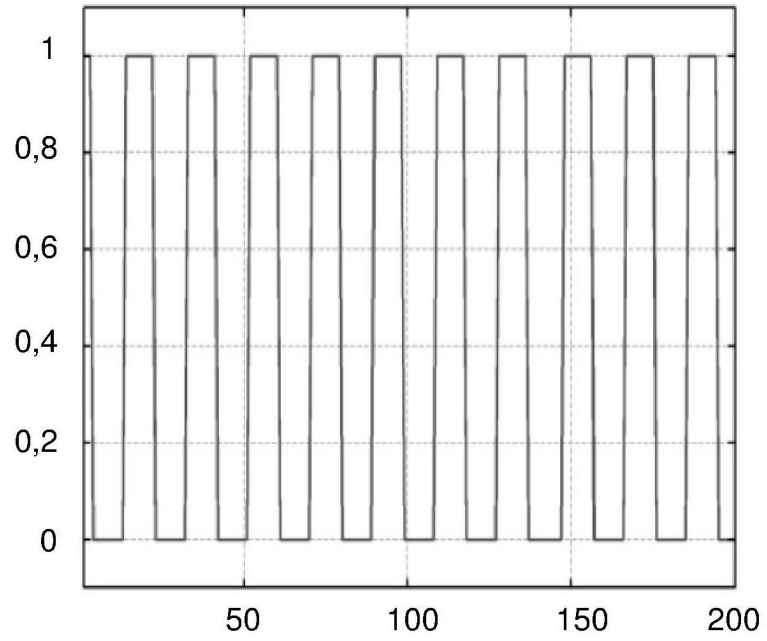


Fig. 11

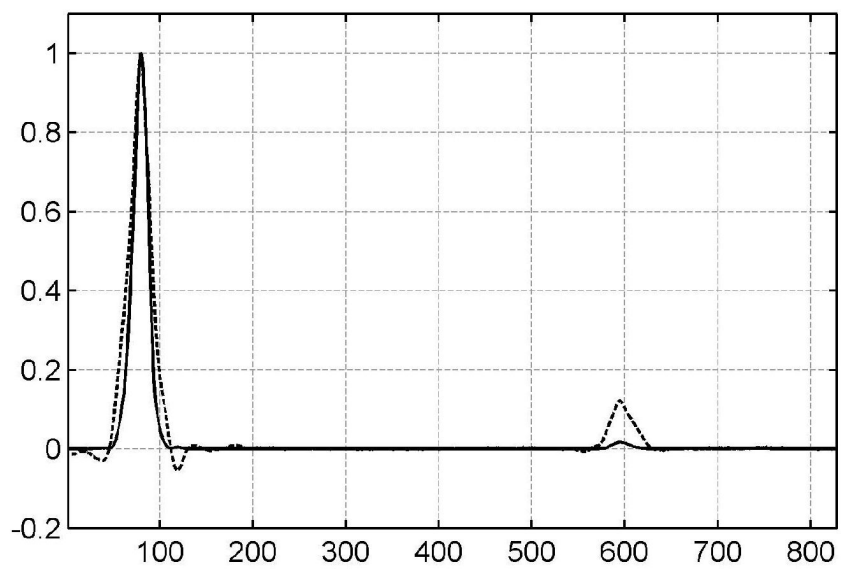


Fig. 12

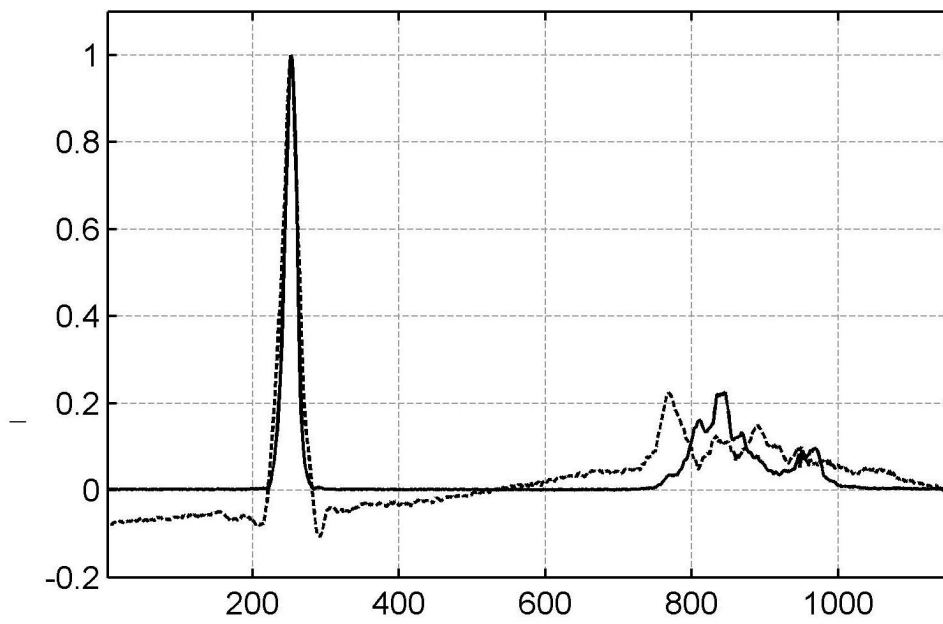


Fig. 13

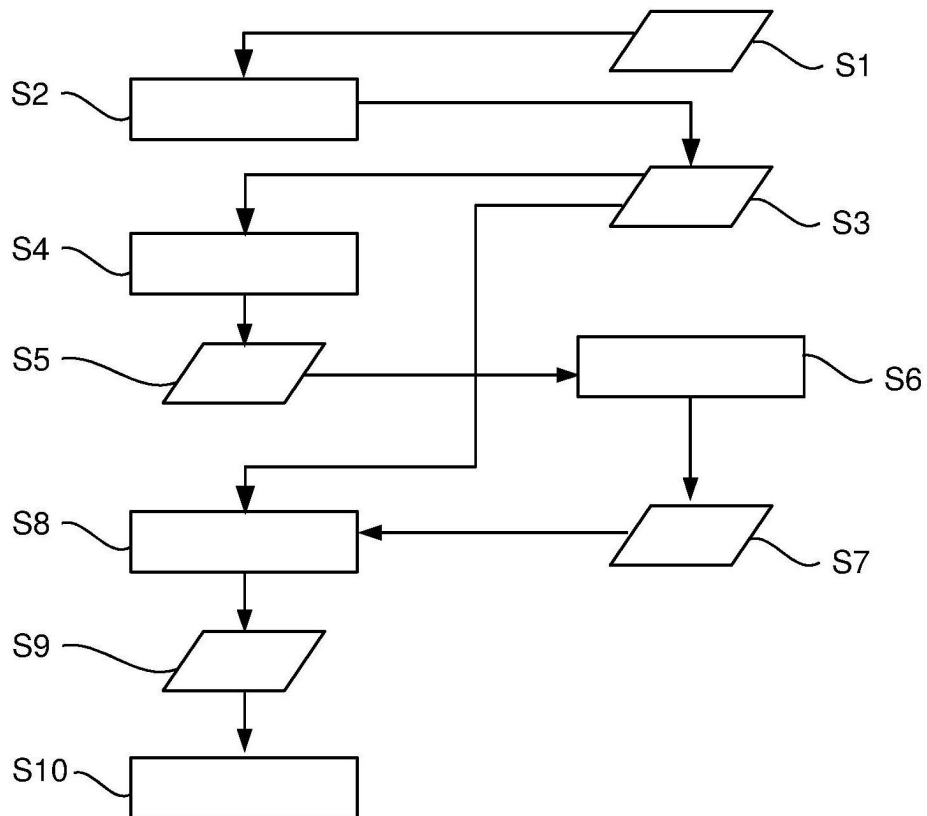


Fig. 14

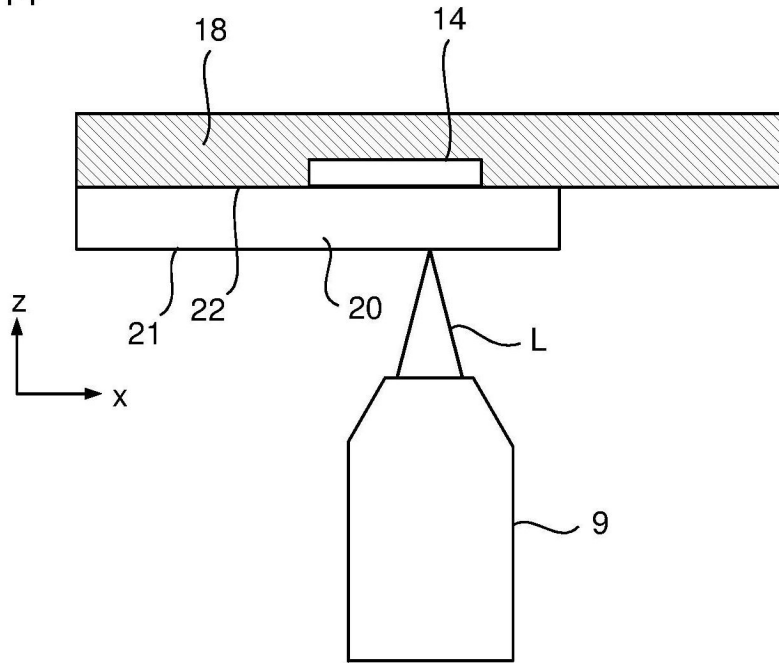


Fig. 15

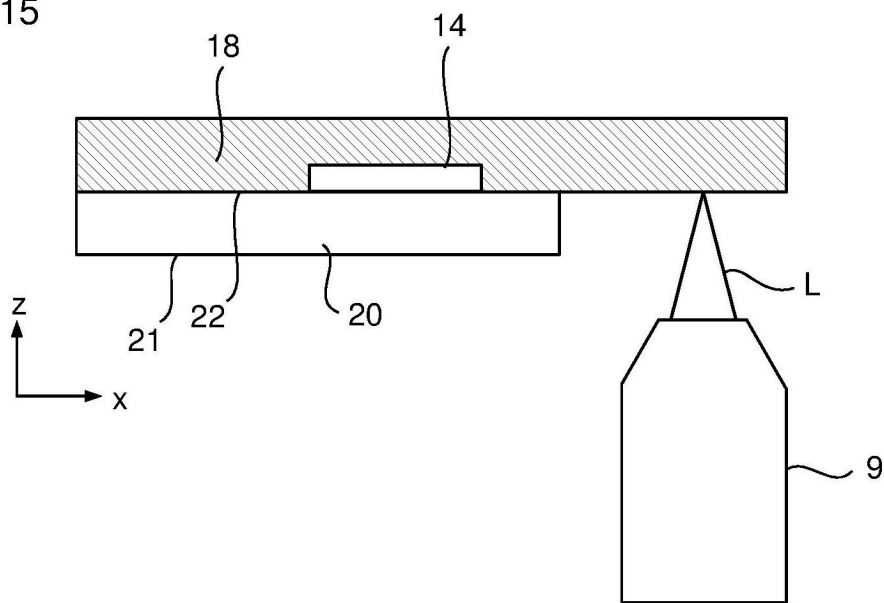


Fig. 16

