

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 993 994**

21 Número de solicitud: 202330568

51 Int. Cl.:

G02B 21/36

(2006.01)

12

PATENTE DE INVENCION CON EXAMEN

B2

22 Fecha de presentación:

07.07.2023

43 Fecha de publicación de la solicitud:

15.01.2025

Fecha de concesión:

19.05.2025

45 Fecha de publicación de la concesión:

26.05.2025

73 Titular/es:

**UNIVERSITAT DE VALÈNCIA (100.00%)
Avda. Blasco Ibañez, 13
46010 Valencia (Valencia) ES**

72 Inventor/es:

**MARTÍNEZ CORRAL, Manuel;
SAAVEDRA TORTOSA, Genaro;
TOLOSA RUIZ, Ángel;
SÁNCHEZ ORTIGA, Emilio y
INCARDONA, Nicolo**

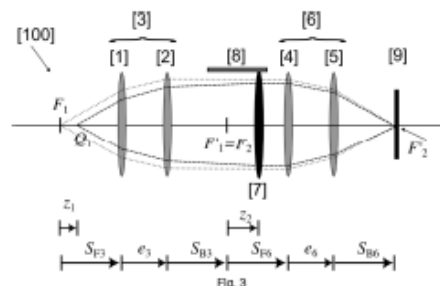
74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

54 Título: **Accesorio para la obtención de una pila de imágenes focales, microscopio que lo comprende y método de obtención de una imagen focal**

57 Resumen:

La presente invención se refiere a un accesorio que comprende un primer acoplamiento (3) convergente de lentes; un segundo acoplamiento (6) convergente de lentes, orientado de manera invertida a dicho primer acoplamiento (3); y una lente varifocal (7) desplazable a lo largo del eje óptico entre el primer y segundo acoplamiento (3, 6) en un medio mecánico (8), siendo dicho accesorio (100) acoplable a un microscopio huésped (200) de modo que el primer plano focal objeto, F_1 , es coincidente con el plano focal imagen, F'_1 , de la lente de tubo (203) del microscopio huésped (200); y dicha lente varifocal (7) es ajustable una distancia z_2 respecto con el primer plano focal imagen, F'_1 ; microscopio que lo comprende y método para la obtención de una imagen focal.



ES 2 993 994 B2

Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 41 LP 24/2015.
Dentro de los seis meses siguientes a la publicación de la concesión en el Boletín Oficial de la Propiedad Industrial cualquier persona podrá oponerse a la concesión. La oposición deberá dirigirse a la OEPM en escrito motivado y previo pago de la tasa correspondiente (art. 43 LP 24/2015).

DESCRIPCIÓN

Accesorio para la obtención de una pila de imágenes focales, microscopio que lo comprende y método de obtención de una imagen focal

5

Campo técnico de la invención

La presente invención se encuentra dentro del campo de la óptica. En concreto, se refiere a un accesorio para la obtención de una pila de imágenes focales acoplable a un microscopio huésped.

10

Antecedentes de la invención

Un microscopio óptico es un instrumento diseñado para proporcionar imágenes bidimensionales (2D) de muestras microscópicas esencialmente planas. Un microscopio óptico comprende un sistema óptico formado por diferentes elementos centrados con respecto a un eje de simetría, denominado eje óptico:

15

- Una platina. La platina es un medio de soporte donde se sitúa la muestra. Se trata de un medio desplazable mecánicamente en la dirección del eje óptico, es decir, axialmente.

20

- Un objetivo de microscopio. El objetivo está formado por al menos una lente y un diafragma de apertura. Dicho objetivo presenta una apertura numérica, NA, y una distancia focal objeto, f_{ob} , es decir, distancia entre la lente, o sistema de lentes, del objetivo de microscopio y el foco objeto, F_{ob} , punto que, tras pasar los rayos por él, se refractan paralelos al eje óptico.

25

- Una lente de tubo. La lente de tubo es una lente, o sistemas de lentes, configurada para recoger la luz que emerge del objetivo, y proporcionar una imagen real 2D de la muestra plana sobre su plano focal imagen, es decir, plano perpendicular al eje óptico que comprende el foco imagen, F'_T . La distancia focal imagen, f_T , depende del fabricante de la lente, o sistema de lentes, de tubo empleado. Tradicionalmente, los objetivos empleados en una microscopia definen una distancia focal, f_T , que oscila entre 150 – 200 mm.

30

35

- Un medio de registro fotosensible configurado para registrar la imagen formada en el plano focal imagen, F'_T , de la lente de tubo. El medio de registro fotosensible es un medio pixelado, como un sensor CCD o un CMOS, con un tamaño de pixel δ_p .

5 La distancia focal del objetivo, f_{ob} , permite definir un plano focal objeto, plano perpendicular al eje óptico que contiene al foco objeto, F_{ob} . Al situar una muestra en el plano focal objeto, el objetivo proporciona, en el infinito, una imagen de la muestra.

Adicionalmente, la distancia focal del objetivo, f_{ob} , también es la distancia entre el centro
10 óptico la lente, o sistema de lentes, del objetivo de microscopio y su foco imagen, F'_{ob} , aquel punto en el que, tras refractarse, coinciden los rayos que llegan al objetivo en dirección paralela al eje óptico. De modo similar al plano focal objeto, se puede definir un plano focal imagen del objetivo, F'_{ob} , como el plano perpendicular al eje óptico coincidente con el foco imagen. Típicamente, el diafragma de apertura se sitúa en el plano focal imagen del
15 objetivo F'_{ob} , y las lentes que lo componen están diseñadas para minimizar el efecto de las aberraciones.

De este modo, en la presente invención se designa indistintamente al foco objeto de una lente, F , y al plano focal objeto, que es aquél que es perpendicular al eje óptico y contiene
20 a dicho foco objeto, F . Esta forma de designar se aplicará también al foco imagen, F' , y al plano focal imagen.

Un microscopio óptico está representado por su aumento lateral, M_h , definido como el cociente entre el tamaño de la imagen y el tamaño del propio objeto, calculado como:

25

$$M_h = f_T / f_{ob} . \quad (1)$$

También se define la resolución espacial, que viene dada por el límite de resolución,

30

$$r_{lim} = \max \left\{ \frac{\lambda}{2NA} + \frac{\delta_p}{M_h}, 2 \frac{\delta_p}{M_h} \right\} , \quad (2)$$

que es la mínima distancia entre dos puntos situados en el plano objeto, por debajo de la cual no es posible distinguir sus imágenes.

Por último, se define la profundidad de campo, del inglés *Depth of Field* (DoF), que indica la longitud del intervalo axial, en torno al plano que contiene el foco F_{ob} , en el que se puede situar el objeto sin que la imagen pierda resolución, que puede ser calculada como:

$$DoF = \frac{\lambda}{NA^2} + \frac{\delta_p}{NA M_h} \quad (3)$$

donde

λ es la longitud de onda media de la luz emitida por la muestra.

δ_p es el tamaño de pixel del medio de registro fotosensible

10 NA es la apertura numérica del objetivo

M_h es el aumento lateral del microscopio

Los microscopios están preparados para enfocar a un único plano, específicamente el plano focal objeto (F_{ob}) del objetivo.

15

Como se indicaba anteriormente, para realizar las tareas de enfoque la platina es el elemento desplazado, de modo que se logra la modificación de los planos enfocados en el microscopio.

20 Para una muestra 2D, la platina es desplazada axialmente hasta que la muestra se sitúa en el plano focal objeto, F_{ob} , del objetivo. En ese caso, la imagen de la muestra cae sobre el medio de registro o sensor fotosensible.

En el caso de muestras 3D, sólo una sección de la muestra, aquella correspondiente a la
25 sección situada sobre F_{ob} , proporciona una imagen enfocada. El desplazamiento de la platina permite enfocar distintas secciones, transversales al eje óptico, de la muestra. Para capturar una pila de imágenes de secciones transversales de muestras 3D, es pues necesario un proceso de barrido mecánico axial en el que, en cada paso, se desplaza mecánicamente la platina. Sin embargo, es necesario esperar un tiempo hasta que se
30 estabilice el sistema para, finalmente, capturar la imagen con el sensor pixelado.

Sin embargo, todo este proceso puede resultar demasiado lento para el caso de que la muestra esté en movimiento. Incluso, en el caso de muestras estáticas, pero inmersas en un medio líquido, el barrido mecánico puede modificar las características de la muestra.

Para evitar estos problemas se conocen diferentes propuestas:

De acuerdo con E. J. Botcherby et al., "An optical technique for remote focusing in microscopy," Opt. Commun. 281(4), 880–887 (2008)., se propone un acoplamiento de tres microscopios alineados en serie. En este caso, un barrido axial del sensor, situado en el plano imagen del tercer microscopio, permite la obtención de una pila de imágenes focales libres de aberraciones. Sin embargo, esta solución requiere un elevado tamaño y presenta una gran sensibilidad a pequeños desalineamientos, lo que imposibilita o dificulta su empleo en numerosas aplicaciones.

Otra forma de abordar este problema fue planteada por S. Abrahamsson et al., "Fast multicolor 3D imaging using aberration-corrected multifocus microscopy," Nat. Methods 10, 60–63 (2013). En esta alternativa se emplea microscopía multifocal, en la que se inserta en el camino óptico del microscopio una matriz de fase con 3x3 focales diferentes. Esto permite la obtención simultánea de una pila de 9 imágenes focales. Sin embargo, esta técnica implica una reducción de la apertura numérica efectiva en un factor 1/3, lo que da lugar a imágenes de baja resolución.

También es conocido el empleo de la microscopia integral de Fourier (del inglés *Fourier integral microscopy*, también denominada *Fourier lightfield microscopy*), tal y como se aprecia en G. Scrofani et al., "FIMic: design for ultimate 3D-integral microscopy of in-vivo biological samples". Biomed. Opt. Express 9, 335-346 (2018). Esta técnica permite capturar, en una única toma y sin necesidad de barrido, una matriz de perspectivas ortográficas de la muestra 3D. La aplicación de algoritmos de renfoque permite calcular una pila de imágenes focales. Al igual que en el caso anterior, esta técnica tiene el defecto de reducir en, al menos, 1/3 la resolución de las imágenes.

Una solución alternativa se basa en el uso de lentes de potencia sintonizable eléctricamente. Estas lentes pueden tener naturaleza acusto-óptica (*Tunable acoustic gradient* (TAG) lens), estar basadas en efecto electro-wetting (electro-wetting liquid lens), ser nemáticas, o estar constituidas por una matriz de micro-espejos de inclinación sintonizable (Micro-mirror array lens (MMAS)).

Estas soluciones describen dispositivos incapaces de generar una corrección óptima de las aberraciones, ni las imágenes tienen un aumento independiente de la potencia de la

lente (o espejo) variable. Por este motivo, se requiere corregir el aumento y las aberraciones para cada imagen de la pila focal. Adicionalmente, en estas soluciones, la posición del plano focal enfocado no depende linealmente de la potencia de la lente.

5 Recientemente, el documento James A. Strother, "Reduction of spherical and chromatic aberration in axial-scanning optical systems with tunable lenses," Biomed. Opt. Express 12, 3530-3552 (2021) describe un sistema para la obtención de una pila de imágenes focales de microscopía confocal o *light-sheet*. Dicha solución describe un sistema que comprende tres grupos de lentes situadas consecutivamente sobre el mismo eje, siendo las primeras y últimas lentes de tubo destinados a corregir las aberraciones, y un grupo compuesto por una lente situada entre ambos grupos una lente sintonizable eléctricamente, como una lente líquida de efecto *electro-wetting*. Las relaciones entre las distancias, planos focales, de los diferentes elementos del sistema se diseñan según unas fórmulas para corregir las aberraciones.

15

A nivel de documentos de patentes, se puede destacar el documento US2020142188A1. Dicho documento hace referencia a un dispositivo para la obtención de imágenes focales desde un microscopio confocal, que comprende varios grupos de lentes situadas consecutivamente sobre el mismo eje, siendo algunas lentes esféricas y otras de tubo destinadas a corregir las aberraciones, y un grupo compuesto por una lente sintonizable eléctricamente (ETL), como una lente líquida.

20

Alternativamente, el documento US2018143419A1 divulga un dispositivo para la obtención de una pila de imágenes focales desde un microscopio óptico, que comprende tres grupos de lentes situadas consecutivamente sobre el mismo eje, siendo las primeras y últimas lentes de tubo y relé, destinados a corregir las aberraciones, y un grupo compuesto por una lente situada entre ambos grupos una lente sintonizable eléctricamente, como una lente TAG y un medio de registro fotosensible como un CMOS y medios de procesamiento de imágenes y comunicaciones.

25

30

En todos estos casos, los cambios en el voltaje provocan un cambio de potencia de la lente, que da lugar a un barrido axial no mecánico y por tanto libre de inercia o vibraciones. El problema de estas propuestas radica en la necesidad de corregir el aumento y las aberraciones para cada imagen de la pila focal. Es decir, ninguna de estas soluciones logra

la optimización óptica del microscopio en cuanto a la apertura numérica, profundidad de campo, aumento y resolución.

5 Por este motivo, no son capaces de acoplarse a cualquier microscopio, manteniendo las características ópticas de los microscopios, y aportando capacidad de enfoque sin vibraciones para obtener una pila de imágenes en microscopia confocal.

Por otro lado, debido a la dificultad en la caracterización de los sistemas ópticos, se ha descrito el empleo de un formalismo matricial (ABCD):

10

$$\begin{pmatrix} A & B \\ C & D \end{pmatrix}$$

Dicho formalismo matricial (ABCD) permite calcular la trayectoria de los rayos de luz que se propagan en un sistema óptico, relacionando la altura (con respecto al eje óptico) y la inclinación de cada rayo en dos planos transversales del sistema, siendo las matrices más
15 comunes:

- Matriz donde se describe la propagación de los rayos entre dos planos separados una distancia z ,

20
$$T = \begin{pmatrix} 1 & -z \\ 0 & 1 \end{pmatrix} \quad (4)$$

- Matriz donde se describe la refracción en una lente de distancia focal f ,

25
$$L = \begin{pmatrix} 1 & 0 \\ 1/f & 1 \end{pmatrix} \quad (5)$$

- Matriz donde se describe la propagación entre el plano F y el plano F' de una lente de distancia focal f ,

30
$$F = \begin{pmatrix} 0 & -f \\ 1/f & 0 \end{pmatrix} \quad (6)$$

En estas matrices, el elemento C corresponde a la potencia (o inversa de la focal) del sistema. Cuando dos planos relacionados por la matriz están conjugados, es decir, el segundo es imagen del primero, el elemento B es igual a 0. En este caso de planos

conjugados, el elemento A es igual al aumento lateral del sistema y el elemento D al aumento angular del sistema.

Es, por tanto, deseable un accesorio para la obtención de una pila de imágenes que proporcione un funcionamiento sencillo, robusto y portátil, de modo que dicho accesorio sea acoplable a cualquier microscopio manteniendo las características de dicho microscopio y aportando capacidad de enfoque rápido y sin provocar vibraciones o modificaciones en la escala de las respectivas imágenes de la pila focal, evitando los inconvenientes existentes en los dispositivos del estado de la técnica.

10

Explicación de la invención

El objeto de la presente invención es proporcionar una solución sencilla, robusta y portátil al problema de capturar pilas de imágenes focales libres de aberraciones, con aumento lateral constante y evitando vibraciones de carácter mecánico.

Específicamente, en un primer aspecto, la presente invención se refiere a un accesorio para la obtención de una pila de imágenes focales, acoplable a un microscopio huésped óptico.

Dicho accesorio es acoplable a un microscopio huésped formando un sistema óptico acoplado, donde dicho microscopio comprende, dispuestos consecutivamente de manera centrada con respecto a un eje óptico:

- un medio de soporte de una muestra-objeto,
- un objetivo que comprende al menos una lente con una distancia focal f_{ob} y un diafragma de apertura, definiendo un plano focal objeto que comprende un foco objeto F_{ob} ; un plano Q_0 , situado a una distancia z_0 respecto a F_{ob} , y un plano focal imagen que comprende a un foco imagen, F'_{ob} ; donde dichos planos son perpendiculares al eje óptico del microscopio; y
- una lente de tubo convergente, situada a una distancia d del foco imagen, F'_{ob} , definiendo dicha lente de tubo un plano imagen que comprende un foco imagen, F'_T , a una distancia f_T respecto a la posición de la lente de tubo.

El accesorio comprende un primer y un segundo acoplamiento convergente, y una lente varifocal dispuestas entre dichos acoplamientos convergentes.

El primer acoplamiento convergente de lentes comprende al menos una lente, pudiendo estar formado también por un sistema de lentes. Dicho primer acoplamiento de lentes presenta una distancia focal f_{AC1} y una potencia óptica P_{AC1} . De acuerdo con este primer acoplamiento convergente, se define un primer plano focal objeto, F_1 , un plano Q_1 , situado a una distancia z_1 respecto al plano focal objeto F_1 , y un primer plano focal imagen, F'_1 .

Por su parte, el segundo acoplamiento convergente de lentes, situado a una distancia del primer acoplamiento convergente, comprende al menos una lente, pudiendo estar formado también por un sistema de lentes. Dicho segundo acoplamiento convergente de lentes es

un acoplamiento de lentes orientado de manera invertida al primer acoplamiento convergente de lentes. De modo equivalente al primer acoplamiento, el segundo acoplamiento de lentes presenta una distancia focal f_{AC2} , y una potencia óptica P_{AC2} , definiendo un segundo plano focal objeto, F_2 , en este caso coincidente con el primer plano focal imagen, F'_1 , y un segundo plano focal imagen F'_2 .

Por último, la lente varifocal presenta una potencia P_L variable. La lente varifocal es desplazable a lo largo del eje óptico, en el espacio existente entre el primer y segundo acoplamiento convergente de lentes, al estar conectada mecánicamente con un medio mecánico de desplazamiento axial,

El acoplamiento entre el accesorio y el microscopio huésped se lleva a cabo de modo que el primer plano focal objeto, F_1 , sea coincidente con el plano focal imagen de la lente de tubo, F'_T , del microscopio al que se acopla el accesorio.

Adicionalmente, la lente varifocal, desplazable de manera centrada sobre el eje óptico, es ajustable una distancia z_2 respecto el primer plano focal imagen, F'_1 , siendo z_2 :

$$z_2 = \left(\frac{f_{AC1}}{f_T} \right)^2 (f_T - d) \quad (7)$$

donde

f_{AC1} es la distancia focal del primer acoplamiento convergente

f_T es la distancia focal de la lente de tubo del microscopio huésped

d es la distancia a la que se dispone la lente de tubo respecto con el plano F'_{ob}

De este modo, el sistema óptico acoplado, formado por el microscopio huésped y el accesorio según la presente invención, presenta un aumento lateral M , según el elemento A de la matriz de transferencia:

$$M = f_T f_{AC2} / (f_{ob} f_{AC1}) \quad (8)$$

En un segundo aspecto de la invención, se refiere a un microscopio que comprende un accesorio según lo descrito anteriormente acoplado a un microscopio huésped.

De este modo, como se mostró anteriormente, el microscopio según la presente invención presenta un aumento lateral, M , proporcional, o incluso igual, al aumento lateral del microscopio huésped, $M_h = f_T / f_{ob}$.

5 El factor de proporcionalidad f_{AC2} / f_{AC1} , permite ajustar el tamaño y resolución del sensor a las características del microscopio huésped empleado para acoplar el accesorio. Adicionalmente, se observa que este aumento lateral es independiente del valor de la potencia de la lente varifocal. P_L .

10 Por tanto, todas las imágenes de la pila obtenida por un microscopio según la presente invención son capturadas con un mismo aumento lateral, proporcional al aumento lateral del microscopio huésped. Es decir, el accesorio, permite modificar a voluntad el plano focal a enfocar, permitiendo obtener una pila de imágenes focal todas ellas con el mismo aumento.

15

Además, el accesorio no modifica la apertura numérica (NA) del microscopio según la presente invención. Sin embargo, al modificar el aumento del sistema, permite cambiar el tamaño efectivo, δ_p/M , de los píxeles del sensor. Teniendo en cuenta que la fórmula que determina el límite de resolución es:

20

$$r_{lim} = \max \left\{ \frac{\lambda}{2NA} + \frac{\delta_p}{M}, 2 \frac{\delta_p}{M} \right\}, \quad (9)$$

Esto permite mejorar el límite de resolución de todas las imágenes, en comparación con el proporcionado por el microscopio huésped.

25

La profundidad de campo de cada imagen también queda inalterada, salvo por la variación del valor de M

$$DoF = \frac{\lambda}{NA^2} + \frac{\delta_p}{NA M} \quad (10)$$

30

Por último, en un tercer aspecto de la invención, la presente invención se refiere a un método para la obtención de una imagen focal, donde dicho método comprende las siguientes etapas:

- acoplar un accesorio según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 en un sistema óptico de un microscopio, de modo que F_1 , coincide con el foco imagen de la lente de tubo, F'_T , del microscopio al que se acopla;

5 - ajustar la lente varifocal de dicho accesorio a una distancia z_2 , siendo la lente varifocal conjugada con el plano F'_{ob} ;

- ajustar la potencia óptica P_L , de modo que:

el plano focal objeto, F_{ob} , el plano focal objeto F_1 , correspondiente al primer acoplamiento (3), y el plano focal imagen F'_2 , correspondiente al segundo acoplamiento (6), del accesorio (100), forman planos conjugados,

10 o bien,

el plano Q_0 , el plano Q_1 , correspondiente al primer acoplamiento (3), y el plano focal imagen del accesorio F'_2 , correspondiente al segundo acoplamiento (6) del accesorio (100), forman planos conjugados; y

- registrar la imagen focal.

15

El registro, preferiblemente secuencial al modificar la potencia óptica de la lente varifocal, de la imagen focal puede realizarse gracias a un medio de registro dispuesto de manera asociada al microscopio de la presente invención. Dicho medio de registro está dispuesto para registrar una pila de imágenes generada en el plano F'_2 . Adicionalmente, una vez
20 registrada la pila de imágenes focales, ésta puede ser transmitida a unos medios de procesamiento de imágenes externos.

De este modo, la presente invención logra mejorar la capacidad de los accesorios acoplados en un microscopio huésped óptico, logrando la obtención mejorada de una pila
25 de imágenes focales.

De acuerdo con la configuración de la presente solución, se logra un equipo y un método que proporciona una mayor estabilidad, al eliminar las vibraciones generadas al emplear elementos móviles durante el registro de la pila de imágenes focales. Adicionalmente, dicha
30 configuración mantiene un aumento lateral proporcional al aumento lateral del microscopio huésped, con independencia de la potencia de la lente varifocal y el correspondiente plano de enfoque. Esto evita el paso de corregir la escala de cada imagen de la pila, como sí sucede en las soluciones actuales conocidas.

Al no existir vibraciones y mantener el aumento constante, se asegura la precisión y repetibilidad de las medidas derivadas del análisis 3D (topografía, rugosidad, volumen, etc.). Se logra, por tanto, una mejora en la precisión y fiabilidad de las medidas obtenidas.

5 Gracias a la configuración de la presente invención, se logra ajustar las propiedades fundamentales del microscopio huésped, como son su resolución lateral y axial, su profundidad de campo y su aumento. Por otro lado, al poder insertarse en un microscopio comercial, se puede hacer uso de todas las utilidades de éste, por ejemplo, los diversos tipos de iluminación. Asimismo, permite mejorar las prestaciones de otras técnicas de
10 imagen 3D típicas en microscopía, como imagen confocal o *light-sheet*.

En relación con el enfoque, permite ampliar el rango axial y su velocidad. La invención permite enfocar en un rango axial mucho mayor que el de un sistema piezoeléctrico, aunque ligeramente inferior al de un sistema motorizado, pero el proceso de enfoque de la
15 lente varifocal de la presente invención es muy rápido, muchas que un sistema mecánico motorizado y del orden del piezoeléctrico.

Todo ello con una reducción considerable en el coste en comparación con otros sistemas conocidos como los sistemas motorizados o sistemas piezoeléctricos. Asimismo, esta
20 reducción se extiende a los costes de mantenimiento, donde no se requiere el mantenimiento ni ajuste, y la calibración de paso del barrido axial que sí son requeridos en otros sistemas, como los sistemas mecánicos.

En las figuras de la presente invención, se hace referencia al siguiente conjunto de
25 elementos:

100	Accesorio acoplable
1	Primera lente del primer acoplamiento
2	Segunda lente del primer acoplamiento
30 3	Primer acoplamiento de lentes
4	Primera lente del segundo acoplamiento
5	Segunda lente del segundo acoplamiento
6	Segundo acoplamiento de lentes
7	Lente varifocal
35 8	Medio mecánico de desplazamiento axial

	9	Medio de registro
	10	Primera lente M12
	11	Segunda lente M12
	12	Primera carcasa
5	13	Segunda carcasa
	z_1	Separación axial del plano focal Q_1 respecto con el plano focal objeto del primer acoplamiento
	Q_1	Plano a una distancia z_1 respecto con el plano focal objeto F_1
	z_2	Separación axial de la lente varifocal del accesorio respecto con el foco imagen del primer acoplamiento
10		
	F_1	Plano focal objeto del primer acoplamiento
	F'_1	Plano focal imagen del primer acoplamiento
	f_{AC1}	Distancia focal del primer acoplamiento
	P_{AC1}	Potencia óptica del primer acoplamiento
15	F_2	Plano focal objeto del segundo acoplamiento
	F'_2	Plano focal imagen del segundo acoplamiento
	f_{AC2}	Distancia focal del segundo acoplamiento
	P_{AC2}	Potencia óptica del segundo acoplamiento
	s_o	Separación axial del plano focal objeto respecto con la carcasa de un primer acoplamiento que comprende un objetivo M12
20		
	s_1	Separación axial del plano focal imagen respecto con la carcasa de un primer acoplamiento que comprende un objetivo M12
	s_2	Separación axial del plano focal objeto respecto con la carcasa de un segundo acoplamiento que comprende un objetivo M12
25	s_3	Separación axial del plano focal imagen respecto con la carcasa de un segundo acoplamiento que comprende un objetivo M12
	s_{F3}	Separación axial del plano focal objeto respecto con la primera lente de un primer acoplamiento
	s_{B3}	Separación axial del plano focal imagen respecto con la última lente de un primer acoplamiento
30		
	s_{F6}	Separación axial del plano focal objeto respecto con la primera lente de un segundo acoplamiento
	s_{B6}	Separación axial del plano focal imagen respecto con la última lente de un segundo acoplamiento

	e_3	Separación axial entre lentes del primer acoplamiento
	e_6	Separación axial entre lentes del segundo acoplamiento
5	200	Microscopio huésped
	201	Medio de soporte / platina
	202	Objetivo del microscopio
	221	Lente del objetivo del microscopio
	222	Diafragma de apertura
10	203	Lente de tubo
	204	Eje óptico
	f_{ob}	Distancia focal de la lente del objetivo
	F_{ob}	Plano focal objeto que comprende el foco objeto del objetivo
	F'_{ob}	Plano focal imagen que comprende el foco imagen del objetivo
15	z_0	Separación axial entre el plano Q_0 y el plano objeto F_{ob}
	Q_0	Plano dispuesto a una separación z_0 con respecto al plano focal objeto F_{ob}
	F'_T	Plano focal imagen de la lente tubo
	d	Separación axial entre el foco objeto de la lente tubo y la lente de tubo
	f_T	Distancia focal de la lente de tubo
20		

Breve descripción de las figuras

La Figura 1 muestra un esquema de una realización de un microscopio huésped.

- 5 La Figura 2 muestra un esquema de una realización de un accesorio para la captura de una pila de imágenes focales, que comprende un primer y segundo acoplamiento convergente de lentes formado por un objetivo de lentes M12.

- La Figura 3 muestra un esquema de una realización de un accesorio para la captura de una pila de imágenes focales, que comprende un primer y segundo acoplamiento convergente de lentes formados por dos lentes convergentes.
- 10

Descripción detallada de la invención

15

En un primer aspecto de la invención, se describe un accesorio (100) acoplable a un microscopio huésped (200) formando un sistema óptico acoplado.

- Como se muestra en la Figura 1, un microscopio huésped (200), según la presente invención, comprende, dispuestos consecutivamente de manera centrada con respecto a un eje óptico (204):
- 20

- una platina, o medio de soporte (201), donde se sitúa una muestra-objeto,
- 25 - un objetivo (202) que comprende al menos una lente (221) con una distancia focal f_{ob} y un diafragma de apertura (222), definiendo un plano focal objeto, F_{ob} , que comprende el foco objeto de la lente (221), un plano Q_0 , situado a una distancia z_0 respecto al plano F_{ob} , y un plano focal imagen, F'_{ob} ; que comprende a un foco imagen, donde dichos planos son perpendiculares al eje óptico del
- 30 - una lente de tubo (203) convergente, situada a una distancia d del plano focal imagen, F'_{ob} , aquel plano que comprende al foco imagen de la lente (221) del objetivo (202), definiendo dicha lente de tubo (203) un plano imagen, F'_T , que

comprende el foco imagen de la lente de tubo (203), separado a una distancia f_T respecto a la posición de dicha lente de tubo (203);

Según la presente invención, el accesorio (100) comprende un primer y un segundo
5 acoplamiento (3, 6) convergente, y una lente varifocal (7) dispuestas entre dichos acoplamientos (3, 6) convergentes.

El primer acoplamiento (3) convergente de lentes comprende al menos una lente, pudiendo estar formado también por un sistema de lentes. Dicho primer acoplamiento (3) de lentes
10 presenta una distancia focal f_{AC1} y una potencia óptica P_{AC1} .

Por su parte, el segundo acoplamiento (6) convergente de lentes comprende al menos una lente, pudiendo estar formado también por un sistema de lentes. Dicho segundo acoplamiento (6) convergente de lentes es un acoplamiento de lentes orientado de manera
15 invertida al primer acoplamiento (3) convergente de lentes, si bien puede diferir en las lentes empleadas. De modo equivalente al primer acoplamiento (3), el segundo acoplamiento (6) convergente de lentes presenta una distancia focal f_{AC2} , y una potencia óptica $P_{AC2} = 1/f_{AC2}$, que pueden, o no, ser iguales a la distancia focal f_{AC1} y la potencia óptica $P_{AC1} = 1/f_{AC1}$ del primer acoplamiento (3) convergente de lentes.

20

Se puede definir, por tanto, un primer plano focal objeto, F_1 , un plano Q_1 , separado una distancia z_1 respecto al plano focal objeto, F_1 , y un primer plano focal imagen, F'_1 correspondientes al primer acoplamiento (3) convergente de lentes del accesorio (100), y un segundo plano focal objeto, F_2 , coincidente con el primer plano focal imagen, F'_1 , y un
25 segundo plano focal imagen F'_2 correspondiente al segundo acoplamiento (6) convergente de lentes.

De acuerdo con la presente invención, la lente varifocal (7) presenta una potencia P_L variable. Es decir, la lente varifocal (7) es una lente de potencia óptica variable, por ejemplo,
30 siendo sintonizable eléctricamente. Dicha lente varifocal (7) es desplazable, variando su posición axial a lo largo del eje óptico existente entre el primer y segundo acoplamiento (3, 6) convergente de lentes en un medio mecánico (8) de desplazamiento axial. Existe, por tanto, una conexión mecánica entre la lente varifocal (7) y el medio mecánico (8), de modo que un usuario puede ajustar la posición axial de la lente varifocal (7).

El rango de la potencia óptica de una lente varifocal (7) depende de la configuración establecida. Un valor estándar del dicho rango de potencia óptica es $-10 \text{ m}^{-1} < P_L < +10 \text{ m}^{-1}$. Un elevado valor en el rango de la potencia óptica supondría mejorar la capacidad de la lente, y daría lugar a un mayor número de aplicaciones del accesorio (100).

- 5 Por este motivo, una realización preferente de la presente invención comprende una lente varifocal (7) cuyo rango de potencia óptica es el mayor posible.

El acoplamiento entre el accesorio (100) y el microscopio huésped (200) se lleva a cabo de modo que el primer plano focal objeto, F_1 , sea coincidente con el plano focal imagen, F'_1 ,
10 de la lente de tubo (203) del microscopio huésped (200) al que se acopla el accesorio (100).

Consecuentemente, la lente varifocal (7), desplazable de manera centrada sobre el eje óptico, puede ser ajustada una distancia z_2 respecto con el primer plano focal imagen, F'_1 , siendo z_2 :

15

$$z_2 = \left(\frac{f_{AC1}}{f_T} \right)^2 (f_T - d) \quad (11)$$

donde

f_{AC1} es la distancia focal del primer acoplamiento (3) convergente

20

f_T es la distancia focal de la lente de tubo (203) del microscopio huésped (200)

d es la separación axial entre el plano focal objeto del objetivo (202) y la lente de tubo (203)

El desplazamiento axial de la lente varifocal (7) viene determinado por el medio mecánico (8) empleado. Este medio mecánico (8) presenta una conexión mecánica con la lente varifocal (7) y puede ser actuado manualmente, o bien estar configurado para una actuación electrónica. Gracias a esta capacidad de desplazamiento de la lente varifocal (7) el accesorio (100) puede ser acoplado a los diferentes microscopios comerciales, actuando dichos microscopios como el microscopio huésped (200) según la presente invención.

30

Aplicando un formalismo matricial, la matriz de transferencia ABCD entre los planos Q_1 y F'_2 se obtiene mediante el cálculo:

$$\mathbf{M}_S = \begin{pmatrix} 0 & -f_{AC2} \\ \frac{1}{f_{AC2}} & 0 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} 1 & z_2 \\ 0 & 1 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} 1 & 0 \\ P_L & 1 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} 1 & -z_2 \\ 0 & 1 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} 0 & -f_{AC1} \\ \frac{1}{f_{AC1}} & 0 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} 1 & z_1 \\ 0 & 1 \end{pmatrix}$$

$$\mathbf{M}_S = \mathbf{M}_1 \begin{pmatrix} 1 & z_1 \\ 0 & 1 \end{pmatrix} \quad (12)$$

donde,

5

$$\mathbf{M}_1 = \begin{pmatrix} -(f_{AC2}/f_{AC1})(1 - z_2 P_L) & f_{AC2} f_{AC1} P_L \\ -z_2^2 P_L / (f_{AC2} f_{AC1}) & -(f_{AC1}/f_{AC2})(1 + z_2 P_L) \end{pmatrix} \quad (13)$$

Por tanto,

$$10 \quad \mathbf{M}_S = \begin{pmatrix} -(f_{AC2}/f_{AC1})(1 - z_2 P_L) & -z_1(f_{AC2}/f_{AC1})(1 - z_2 P_L) + f_{AC2} f_{AC1} P_L \\ -z_2^2 P_L / (f_{AC2} f_{AC1}) & -z_1 z_2^2 P_L / (f_{AC2} f_{AC1}) - (f_{AC1}/f_{AC2})(1 + z_2 P_L) \end{pmatrix} \quad (14)$$

El valor de z_1 se obtiene de igualar a cero el elemento B de la matriz, esto es

$$z_1 = \frac{(f_{AC1})^2 P_L}{1 - z_2 P_L} \quad (15)$$

15

Por tanto, para cuantizar el efecto de la lente varifocal (7) en la posición del plano enfocado es necesario calcular matriz de transferencia, M_0 entre un plano Q_0 , separado a una distancia z_0 del plano focal objeto F_{ob} , y el plano F'_T .

20

$$\begin{aligned} M_0 &= \begin{pmatrix} 0 & -f_T \\ 1/f_T & 1 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} 1 & f_T - d \\ 0 & 1 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} 0 & -f_{ob} \\ 1/f_{ob} & 0 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} 1 & z_0 \\ 0 & 1 \end{pmatrix} \\ M_0 &= \begin{pmatrix} -f_T/f_{ob} & -z_0 f_T/f_{ob} \\ (f_T - d)/(f_T f_{ob}) & z_0(f_T - d)/f_T f_{ob} - f_{ob}/f_T \end{pmatrix} \end{aligned} \quad (16)$$

La matriz de transferencia entre un plano Q_0 y el segundo plano imagen F'_2 del accesorio (100), donde preferiblemente se dispone el medio de registro, se puede obtener como:

25

$$M_T = M_1 M_0 = \begin{pmatrix} A & B \\ C & D \end{pmatrix} \quad (17)$$

donde

30

$$A = (f_{AC2} f_T) / (f_{AC1} f_{ob}) \quad (18)$$

y

$$B = z_0 f_T f_{AC2} / (f_{ob} f_{AC1}) - f_{AC2} f_{AC1} P_L f_{ob} / f_T \quad (19)$$

5 También en este caso, el valor de z_0 se obtiene de igualar a cero el elemento B de la matriz:

$$z_0 = P_L f_{AC1}^2 f_{ob}^2 / f_T^2 \quad (20)$$

De este modo, se demuestra que existe una relación de proporcionalidad entre la potencia
10 óptica P_L de la lente varifocal (7), y la posición del plano focal enfocado, lo que permite
determinar las posiciones axiales de los elementos del accesorio (100), facilitando el
calibrado del sistema al lograr que el acoplamiento de un microscopio huésped (200) y el
accesorio (100), según la presente invención, presente un aumento lateral M , según el
elemento A de la matriz de transferencia:

15

$$M = f_T f_{AC2} / (f_{ob} f_{AC1}) \quad (21)$$

Es decir, el accesorio (100) está configurado para modificar a voluntad el plano focal
enfocado, permitiendo obtener una pila de imágenes focal, donde todas ellas presentan un
20 mismo aumento, sin modificar la apertura numérica (NA) del sistema, logrando una mejora
en el límite de resolución de todas las imágenes, en comparación con el proporcionado por
el microscopio huésped (200).

Opcionalmente, el accesorio (100) según la presente invención puede comprender,
25 además, un medio de registro (9) fotosensible configurado para registrar, secuencialmente,
la pila de imágenes focales generadas en el segundo plano focal imagen F'_2 .
Adicionalmente, dicho medio de registro fotosensible puede comprender a su vez un medio
de comunicación configurado para transmitir la pila de imágenes registradas por medio de
registro a un medio de procesamiento de imágenes.

30

En una primera realización de la invención, el accesorio (100) comprende un primer y
segundo acoplamiento (3, 6) convergente formado por un objetivo M12. Los objetivos M12
son objetivos con una buena corrección de aberraciones y son empleados para enfocar
objetos lejanos sobre un sensor de bajo coste, en una gran variedad de aplicaciones que
35 incluyen la videovigilancia, la inspección automotriz, la imagen forense, entre otras.

Como se muestra en la Figura 2, el accesorio (100) según esta primera realización comprende un primer acoplamiento (3) convergente formado por una primera lente M12 (10) y una primera carcasa (12), que se alarga respecto la primera lente M12 (10) en la dirección de la entrada de los rayos de luz en el eje óptico del accesorio (100).

La lente M12 (10) es una lente estándar comercial, que puede estar compuesta, a su vez, por un acoplamiento de varias lentes. De este modo, la lente M12 (10) comprendida en el primer acoplamiento (3) presenta una distancia focal f_{10} . Equivalentemente, la lente M12 (10) puede ser caracterizada por su potencia óptica $P_{10} = 1/f_{10}$.

Por su parte, la carcasa (12), preferiblemente de material plástico, sirve de soporte a la lente M12. Esta carcasa puede presentar una rosca que facilita su instalación centrada en el eje óptico del sistema. Según la fabricación de los objetivos M12 se pueden definir las distancias, s_0 y s_1 , entre cada uno de los extremos de la primera carcasa (12) y el primer plano focal objeto, F_1 , y el primer plano focal imagen, F'_1 , respectivamente.

Por tanto, la distancia focal del primer acoplamiento (3) es equivalente a la distancia focal de la primera lente M12 (10).

$$P_{AC1} = 1/f_{AC1} = P_{10} = 1/f_{10}$$

En este caso, el segundo acoplamiento (6) convergente presenta un conjunto de lentes similar al primer acoplamiento (3) convergente, comprendiendo una lente M12 (11). De este modo, la lente M12 (11) del segundo acoplamiento (6) presenta una distancia focal f_{11} . De forma similar al caso anterior, la lente M12 (11) puede ser caracterizada, también, por su potencia óptica $P_{11} = 1/f_{11}$. De este modo, de forma general, se puede definir la distancia focal del segundo acoplamiento (6) de la presente realización como:

$$P_{AC2} = 1/f_{AC2} = P_{11} = 1/f_{11}$$

A diferencia del primer acoplamiento (3) convergente, el segundo acoplamiento (6) convergente se encuentra dispuesto con una orientación invertida. Esta orientación es una orientación invertida respecto al diseño inicial de este tipo de lentes, cuyo objetivo era el enfoque de objetos lejanos sobre un sensor. Nuevamente, se pueden definir las distancias,

s_2 y s_3 , entre cada uno de los extremos de la segunda carcasa (13) y el segundo plano focal objeto F_2 y el segundo plano focal imagen, F'_2 , respectivamente.

En una realización preferente, donde el segundo acoplamiento convergente (6) comprende una lente M12 (11) y es igual al primer acoplamiento convergente (3), la separación de la primera y segunda carcasa (12, 13) a los focos correspondientes son coincidentes dos a dos. De este modo, debido a la orientación invertida del segundo acoplamiento convergente (6), se obtiene:

$$s_o = s_3 \quad \text{y} \quad s_1 = s_2$$

En esta realización, la variación de la posición axial de la lente varifocal (7) a lo largo del eje óptico entre el primer y segundo acoplamiento (3, 6) convergente viene determinada por el espacio existente entre la primera y segunda carcasa (12, 13).

En una realización preferente, donde $s_1 = s_2$, la distancia de ajuste, z_2 , de la lente varifocal (7) debe ser siempre inferior a esta distancia.

En una realización aún más preferente, el accesorio (100) puede comprender un medio de registro (9) fotosensible configurado para registrar la pila de imágenes focales, preferiblemente, de manera secuencial, aquella pila de imágenes generadas en el plano focal imagen F'_2 , tal y como se muestra en la Figura 2.

Como se indicaba, este medio de registro (9) fotosensible puede comprender además un medio de comunicación, no mostrado en la Figura 2, configurado para transmitir la pila de imágenes registradas a un medio de procesamiento de imágenes.

En una realización alternativa, como la mostrada en la Figura 3, el accesorio (100) comprende un primer acoplamiento (3) formado por una primera lente convergente (1) de potencia óptica $P_1 = 1/f_1$, y una segunda lente (2) convergente, separada una distancia e_3 respecto con la primera lente (1) convergente, de potencia óptica $P_2 = 1/f_2$.

De este modo, la potencia óptica, P_3 , correspondiente a esta realización particular del primer acoplamiento (3) puede ser definida como:

$$P_{AC1} = P_3 = P_1 + P_2 - e_3 P_1 P_2.$$

Equivalentemente, la distancia focal del primer acoplamiento (3) convergente de lentes puede definirse como:

5

$$P_{AC1} = 1/f_{AC1} = P_3 = 1/f_3$$

De este modo, se puede definir la posición de los focos, F_3 y F'_3 , de acuerdo con la distancia de dichos focos, F_3 y F'_3 , respecto con la primera lente convergente (1) y la segunda lente convergente (2) como:

10

$$S_{B3} = (1 - eP_1)/P_3. \quad (22)$$

$$S_{F3} = (1 - eP_2)/P_3. \quad (23)$$

Una realización preferente de la primera lente convergente (1) y la segunda lente convergente (2) es un lente del tipo singlete. En una realización aún más preferente, cada una de estas lentes comprende un doblete acromático, lo que permite, además, mejorar corrección de aberraciones.

15

De modo similar, el segundo acoplamiento (6) convergente está formado por una primera lente convergente (4). Esta primera lente (4) presenta una distancia focal, f_4 , y una potencia óptica $P_4 = 1/f_4$. Por su parte, la segunda lente convergente (5), separada una distancia e_6 respecto a la primera lente (4), presenta una distancia focal, f_2 , siendo su potencia óptica $P_5 = 1/f_5$.

20

De este modo, se define una potencia óptica de esta realización particular, P_6 , del segundo acoplamiento (6) puede ser definida como:

25

$$P_{AC2} = P_6 = P_4 + P_5 - e_6 P_4 P_5.$$

Equivalentemente, la distancia focal del primer acoplamiento convergente (3) de lentes puede definirse como:

30

$$P_{AC2} = 1/f_{AC2} = P_6 = 1/f_6$$

Igualmente, se puede definir la posición de los focos, F_6 y F'_6 , de acuerdo con la distancia de dichos focos, F_6 y F'_6 , respecto a la primera lente convergente (4) y la segunda lente convergente (5) del segundo acoplamiento (6) convergente como:

$$S_{B6} = (1 - e_6 P_4) / P_6. \quad (24)$$

$$S_{F6} = (1 - e_6 P_5) / P_6. \quad (25)$$

En esta realización, nuevamente, la lente varifocal (7) presenta una potencia óptica variable, P_L , por ejemplo, siendo sintonizada eléctricamente. Dicha lente varifocal (7) se encuentra unida mecánicamente con un medio mecánico (8), actuado manual o electrónicamente, por ejemplo, de tipo rosca, de modo que dicha lente varifocal (7) puede variar su posición axial.

Según la disposición seleccionada del conjunto de elementos de la presente invención se cumple que:

1.- El plano focal objeto, F_1 , correspondiente al primer acoplamiento (3) convergente de esta realización particular, coincide con el foco imagen, F'_T , de la lente de tubo (203) del microscopio huésped (200) al que se acopla el accesorio (100).

2.- El plano focal objeto, F_2 , correspondiente al segundo acoplamiento (6) convergente de esta realización particular, coincide con el plano focal imagen, F'_1 , del primer acoplamiento (3) convergente.

3.- La lente varifocal (7) se sitúa a una distancia z_2 respecto con el foco imagen F'_1 , siendo z_2 :

$$z_2 = \left(\frac{f_{AC1}}{f_T} \right)^2 (f_T - d) \quad (26)$$

Esta distancia asegura que la lente varifocal (7) se sitúa en el plano conjugado con el diafragma de apertura (222) del objetivo (202) comprendido en el microscopio huésped (200).

Además, en esta realización particular, debe cumplirse la condición

$$z_2 < S_{F6} \quad (27)$$

Como se observa, la configuración final de los acoplamientos puede ser diversa, sin requerir el empleo de un mismo tipo de lente en cada uno de los acoplamientos (3, 6) convergentes. Según el acoplamiento empleado la lente varifocal (7) variará su posición axial, determinada por el cálculo de la distancia z_2 , lográndose la conjugación de los planos deseados.

De este modo, el primer acoplamiento (3) convergente puede comprender una única lente, por ejemplo, una lente M12 (10), o conjunto de lentes, por ejemplo, una primera lente convergente (1) de potencia óptica P_1 , y una segunda lente convergente (2), separada una distancia e_3 respecto la primera lente convergente (1), de potencia óptica P_2 , u otra configuración de la lente seleccionada por un usuario.

Del mismo modo, el segundo acoplamiento (6) convergente puede comprender una lente, por ejemplo, una lente M12 (11), o un conjunto de lentes, por ejemplo, una primera lente convergente (4) de potencia óptica P_4 , y una segunda lente convergente (5), separada una distancia, e_6 , respecto la primera lente convergente (4), de potencia óptica P_5 .

En una realización preferente, las lentes convergentes (1, 2) y las lentes convergentes (4, 5), comprendidas en el primer y segundo acoplamiento (3, 6) convergente, respectivamente, pueden estar constituidas por al menos un doblete acromático.

Por tanto, el accesorio (100) según la presente invención puede configurarse según los intereses del usuario, intercambiando libremente el primer y segundo acoplamiento (3, 6) de dicho accesorio (100). En una realización preferente, la potencia óptica, P_{AC1} , del primer acoplamiento (3) convergente de lentes es igual a la potencia óptica, P_{AC2} , del segundo acoplamiento (6) convergente de lentes. Dicha realización preferente, permite mantener constante el aumento lateral del sistema y corresponderse con el aumento lateral del microscopio huésped (200) empleado para el acoplamiento del accesorio (100).

En un segundo aspecto de la invención, se describe un microscopio óptico que comprende un sistema óptico dispuesto centrado con respecto a un eje óptico formado por un accesorio (100) según el primer aspecto de la invención, acoplado al sistema óptico de un microscopio huésped (200). Este acoplamiento puede realizarse a través del puerto ocular

o de cualquiera de los puertos de cámara de los que disponga el microscopio huésped (200).

El microscopio obtenido de acuerdo con la presente invención presenta las siguientes condiciones de conjugación de planos:

- Cuando la lente varifocal (7) se ajusta a $P_L = 0$, los planos F_{ob} , F_1 y F'_2 forman planos conjugados.
- Cuando la lente varifocal (7) se ajusta a $P_L \neq 0$, los planos Q_0 , Q_1 y F'_2 han de estar conjugados.
- El plano coincidente con la distancia z_2 de la lente varifocal (7) es un plano conjugado con el plano F'_{ob} .
- La distancia z_2 debe ser siempre menor que la distancia existente al primer o segundo acoplamiento (3, 6) para permitir la colocación de la lente varifocal (7).

Por último, en un tercer aspecto de la invención, se describe el método de obtención de una imagen focal.

Dicho método comprende:

- acoplar un accesorio (100) según la presente invención en un microscopio huésped, de modo que F_1 , coincide con el foco imagen de la lente de tubo, F'_T , del microscopio huésped (200) al que se acopla;

- ajustar la lente varifocal (7) de dicho accesorio a una distancia z_2 , siendo z_2 :

$$z_2 = \left(\frac{f_{AC1}}{f_T} \right)^2 (f_T - d) ;$$

- ajustar la potencia óptica P_L , de la lente varifocal (7) de modo que:

el plano focal objeto, F_{ob} , el plano focal objeto F_1 , correspondiente al primer acoplamiento (3), y el plano focal imagen F'_2 , correspondiente al segundo acoplamiento (6), del accesorio (100) forman planos conjugados,

o bien

el plano, Q_0 , el plano Q_1 , correspondiente al primer acoplamiento (3), y el plano focal imagen F'_2 , correspondiente al segundo acoplamiento (6), del accesorio (100) forman planos conjugados; y

- 5 - registrar la imagen focal.

De manera específica, en una realización del accesorio (100) que comprenda un medio de registro (9) asociado al plano focal imagen F'_2 , el registro de la pila de imágenes focales se lleva a cabo registrando secuencialmente una pila de imágenes focales generada en el plano focal imagen F'_2 . Para ello, en una realización preferente, el método comprende, además, una etapa de relativa a la modificación de la potencia óptica P_L , de la lente varifocal (7) y el registro de una segunda imagen focal, de manera secuencial, dando lugar a una pila de imágenes focales.

- 15 Adicionalmente, dicho medio de registro puede conectado a otros equipos, y el método comprende, además, la etapa de transmitir la pila de imágenes registrada a unos medios de procesamiento de imágenes externos.

De este modo, cuando la lente varifocal (7) se ajusta a una potencia $P_L = 0$, el medio de registro (9), dispuesto para la detección de una pila de imágenes generada en el plano F'_2 está conjugado con el plano F_1 , y por tanto registra la imagen de la sección de la muestra situada en el plano F_{ob} del microscopio huésped (200) en que se acopla el accesorio (100).

Es importante señalar que, según la configuración elegida para el primer y segundo acoplamiento (3, 6) convergente del accesorio (100), esta imagen se puede registrar con un aumento $M = f_T/f_{ob}$, es decir, un aumento igual al aumento lateral, M_h , que presenta el microscopio huésped (200).

Por el contrario, cuando la lente varifocal (7) se ajusta a una potencia distinta de cero, que puede ser positiva o negativa, el medio de registro está conjugado con un plano situado a una distancia z_1 de F_1 , siendo z_1 .

$$z_1 = \frac{(f_{AC1})^2 P_L}{1 - z_2 P_L}$$

De este modo, se logra un accesorio (100) que permite la obtención de una pila de imágenes, de manera sencilla, robusta y portátil para un usuario. Dicho accesorio (100) es acoplable a cualquier microscopio comercial y es capaz de mantener las características de dicho microscopio y aportando capacidad de enfoque rápido. sin provocar vibraciones o

5 modificaciones en la escala de las respectivas imágenes de la pila focal, evitando los inconvenientes existentes en los dispositivos conocidos en el estado de la técnica.

Ejemplo 1

Para la determinación el acoplamiento de un microscopio según la presente invención se empleó un microscopio huésped (200) que presenta los siguientes parámetros:

5

(a) Objetivo (202): $f_{ob} = 10 \text{ mm}$, $NA = 0,4$;

(b) Lente de tubo (203): $f_T = 200 \text{ mm}$ separada una distancia $d = 20 \text{ mm}$ del objetivo.

10

Se emplea adicionalmente, un medio de registro (9) con un tamaño de pixel $\delta_p = 2,5 \mu\text{m}$, y una longitud de onda media de la luz emitida por la muestra $\lambda = 0,6 \mu\text{m}$.

De este modo, el microscopio huésped (200) presenta un aumento lateral, una resolución espacial y una profundidad de campo:

15

$$\begin{aligned} M_h &= 20, \\ r_{lim} &= 0,88 \mu\text{m}, \text{ y} \\ DoF &= 4,1 \mu\text{m}. \end{aligned}$$

20

De acuerdo con una primera realización de la invención, empleando un accesorio (100) que comprende un primer y segundo acoplamiento (3, 6) constituido por dos lentes M12 con distancia focal $f_{AC1} = f_{AC2} = 16 \text{ mm}$.

La lente varifocal (7) puede variar los valores de su potencia óptica en el rango:

25

$$-10 \text{ m}^{-1} < P_L < +10 \text{ m}^{-1}.$$

Se obtienen los siguientes resultados:

30

Posición lente varifocal (7): $z_2 = +1,2 \text{ mm}$.

El rango de planos enfocables al variar la potencia de la lente varifocal es:

$$-6,4 \mu\text{m} < z_0 < +6,4 \mu\text{m}$$

35

De este modo, el aumento lateral, la resolución espacial y la profundidad de campo de cada imagen de la pila obtenida con este accesorio es:

$$M = 20,$$

$$r_{lim} = 0,88 \mu m, y$$

$$DoF = 4,1 \mu m.$$

5 Alternativamente, con una segunda realización de la invención, empleando un accesorio (100) que comprende un primer y segundo acoplamiento (3, 6) convergente con dos lentes convergentes (1, 2) y dos lentes (4, 5), respectivamente, de distancia focal $f_1 = f_5 = 75 mm$ y $f_2 = f_4 = 50 mm$, separadas por una distancia $e_3 = e_6 = 40 mm$.

10 Las lentes del segundo acoplamiento (6) son iguales a las lentes del primer acoplamiento (3) convergente. De este modo, el primer acoplamiento (3) presenta un orden de lentes (1, 2), mientras que el segundo acoplamiento presenta un orden de lentes (4, 5), equivalente a las lentes (2, 1) del primer acoplamiento, de manera inversa como se ha descrito anteriormente.

15

Al emplear una lente varifocal (7) que presente una potencia óptica P_L en el rango:

$$-10 m^{-1} < P_L < +10 m^{-1}.$$

20 Se obtienen los siguientes resultados:

Primer acoplamiento (3) convergente: $S_{B3} = 20,6 mm$, $S_{F3} = 8,8 mm$

Segundo acoplamiento (6) convergente: $S_{F6} = 20,6 mm$, $S_{B6} = 8,8 mm$

Posición lente varifocal (7): $z_2 = +8,8 mm$.

25

El rango de planos enfocables al variar la potencia de la lente varifocal es:

$$-48,7 \mu m < z_0 < +48,7 \mu m$$

30 el aumento lateral, la resolución espacial y la profundidad de campo de cada imagen de la pila obtenida con este accesorio es:

$$M = 20,$$

$$r_{lim} = 0,88 \mu m, y$$

$$DoF = 4,1 \mu m.$$

5 Como se aprecia, de manera independiente de la realización del accesorio empleada, al presentar ambas realizaciones una distancia focal del primer acoplamiento (3) convergente igual a la distancia focal del segundo acoplamiento (6) convergente, los parámetros del microscopio resultante se corresponden con los parámetros del microscopio huésped (200). Ahora bien, según el accesorio (100) empleado, sí se puede lograr una variación, entre otros parámetros del rango de planos enfocables.

REIVINDICACIONES

1.- Un accesorio para la obtención de una pila de imágenes focales acoplable a un microscopio huésped formando un sistema óptico acoplado, donde dicho microscopio huésped (200) comprende, dispuestos consecutivamente de manera centrada con respecto a un eje óptico (204):

- un medio de soporte (201) de una muestra-objeto,
- un objetivo (202) que comprende al menos una lente (221) con una distancia focal f_{ob} y un diafragma de apertura (222), definiendo un plano focal objeto F_{ob} que comprende un foco objeto, un plano Q_0 , situado a una distancia z_0 respecto con el plano focal objeto F_{ob} , y un plano focal imagen F'_{ob} comprendiendo dicho plano focal imagen, F'_{ob} , un foco imagen; donde dichos planos son perpendiculares al eje óptico (204) del microscopio huésped (200); y
- una lente de tubo (203) convergente, situada a una distancia d respecto con el plano focal imagen, F'_{ob} , definiendo dicha lente de tubo (203) un plano focal imagen, F'_T , comprendiendo dicho plano focal imagen, F'_T , un foco imagen, a una distancia f_T respecto con la posición axial de la lente de tubo (203);

donde el accesorio (100) está caracterizado por comprender:

- un primer acoplamiento (3) convergente de lentes que comprende al menos una lente, donde dicho primer acoplamiento (3) convergente de lentes presenta una distancia focal f_{AC1} y una potencia óptica P_{AC1} , definiendo un primer plano focal objeto, F_1 , un plano Q_1 , situado a una distancia z_1 respecto con el plano F_1 , y un primer plano focal imagen, F'_1 ;
- un segundo acoplamiento (6) convergente de lentes que comprende al menos una lente, donde dicho segundo acoplamiento (6) convergente de lentes es un acoplamiento de lentes orientado de manera invertida a dicho primer acoplamiento (3) convergente de lentes, donde el segundo acoplamiento (6) convergente de lentes presenta una distancia focal f_{AC2} , y una potencia óptica P_{AC2} , definiendo un segundo plano focal objeto, F_2 , coincidente con el primer plano focal imagen, F'_1 , y un segundo plano focal imagen F'_2 ; y
- una lente varifocal (7), de potencia P_L variable, desplazable a lo largo del eje óptico entre el primer y segundo acoplamiento (3, 6) convergente de lentes en un medio mecánico (8) de desplazamiento axial,

siendo el accesorio (100) acoplable a un microscopio huésped (200) de modo que el primer plano focal objeto, F_1 , es coincidente con el plano focal imagen, F'_T , de la lente de tubo (203) del microscopio huésped (200); y dicha lente varifocal (7) es ajustable una distancia z_2 respecto con el primer plano focal imagen, F'_1 , siendo z_2 :

$$z_2 = \left(\frac{f_{AC1}}{f_T} \right)^2 (f_T - d) .$$

2. El accesorio para la obtención de una pila de imágenes focales según la reivindicación 1, donde el accesorio (100) comprende un medio de registro (9) fotosensible configurado para registrar, secuencialmente, la pila de imágenes focales generadas en el segundo plano focal imagen, F'_2 .

3. El accesorio para la obtención de una pila de imágenes focales según la reivindicación 2, donde dicho medio de registro (9) fotosensible comprende además un medio de comunicación configurado para transmitir la pila de imágenes registradas a un medio de procesamiento de imágenes.

4. El accesorio para la obtención de una pila de imágenes focales según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, donde el primer acoplamiento (3) convergente de lentes comprende una primera lente convergente (1) de potencia óptica P_1 , y una segunda lente convergente (2), separada una distancia e_3 respecto con la primera lente convergente (1), de potencia óptica P_2 , siendo la potencia del acoplamiento $P_{AC1} = P_1 + P_2 - e_3 P_1 P_2$.

5. El accesorio para la obtención de una pila de imágenes focales según la reivindicación 4, donde la primera y/o segunda lente convergente (1, 2) comprende un doblete acromático.

6. El accesorio para la obtención de una pila de imágenes focales según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, donde el primer acoplamiento (3) comprende una lente M12 (10) y una carcasa (12).

7. El accesorio para la obtención de una pila de imágenes focales según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, donde el segundo acoplamiento (6) comprende una primera lente convergente (4) de potencia óptica P_4 , y una segunda lente convergente (5), separada una distancia, e_6 , respecto con la primera lente convergente (4) del segundo

acoplamiento (6) convergente, de potencia óptica P_5 , siendo la potencia del acoplamiento $P_{AC2} = P_4 + P_5 - e_6 P_4 P_5$.

8. El accesorio para la obtención de una pila de imágenes focales según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, donde el segundo acoplamiento (6) comprende una lente M12 (11) y una carcasa (13).

9. El accesorio para la obtención de una pila de imágenes focales según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, donde la potencia óptica, P_{AC1} , del primer acoplamiento (3) convergente de lentes es igual a la potencia óptica, P_{AC2} , del segundo acoplamiento (6) convergente de lentes.

10. El accesorio para la obtención de una pila de imágenes focales según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, donde el medio mecánico (8) de desplazamiento axial es actuado manualmente.

11. El accesorio para la obtención de una pila de imágenes focales según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, donde el medio mecánico (8) de desplazamiento axial es actuado electrónicamente.

12. Microscopio óptico que comprende un sistema óptico dispuesto centrado con respecto a un eje óptico, donde dicho microscopio óptico caracterizado por que comprende un accesorio (100) según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, acoplado al sistema óptico de un microscopio huésped (200).

13. Método para la obtención de una imagen focal, donde el método comprende:
 - acoplar un accesorio (100) según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 en un microscopio huésped (200), de modo que F_1 , coincide con el foco imagen, F'_T , de la lente de tubo (203) comprendida en el microscopio huésped (200) al que se acopla;
 - ajustar la lente varifocal (7) de dicho accesorio (100) a una distancia z_2 , siendo z_2 :

$$z_2 = \left(\frac{f_{AC1}}{f_T} \right)^2 (f_T - d) ;$$

- ajustar la potencia óptica P_L , de la lente varifocal (7) de modo que:

el plano focal objeto, F_{ob} , el plano focal objeto F_1 , correspondiente al primer acoplamiento (3), y el plano focal imagen F'_2 , correspondiente al segundo acoplamiento (6), del accesorio (100) forman planos conjugados,

5 o bien

el plano, Q_0 , el plano Q_1 , correspondiente al primer acoplamiento (3), y el plano focal imagen F'_2 , correspondiente al segundo acoplamiento (6), del accesorio (100) forman planos conjugados; y

10 - registrar la imagen focal.

14. Método para la obtención de una imagen focal, según la reivindicación 13, donde el método comprende, una vez registrada la imagen focal, modificar la potencia óptica P_L , de la lente varifocal (7) y registrar una segunda imagen focal.

15

15. Método para la obtención de una imagen focal, según una cualquiera de las reivindicaciones 13 a 14, la imagen focal registrada es generada en el plano focal imagen del accesorio, F'_2 .

20

16. Método para la obtención de una imagen focal, según una cualquiera de las reivindicaciones 14 a 15, donde el método comprende, además, transmitir la imagen focal registrada a unos medios de procesamiento de imágenes externos.

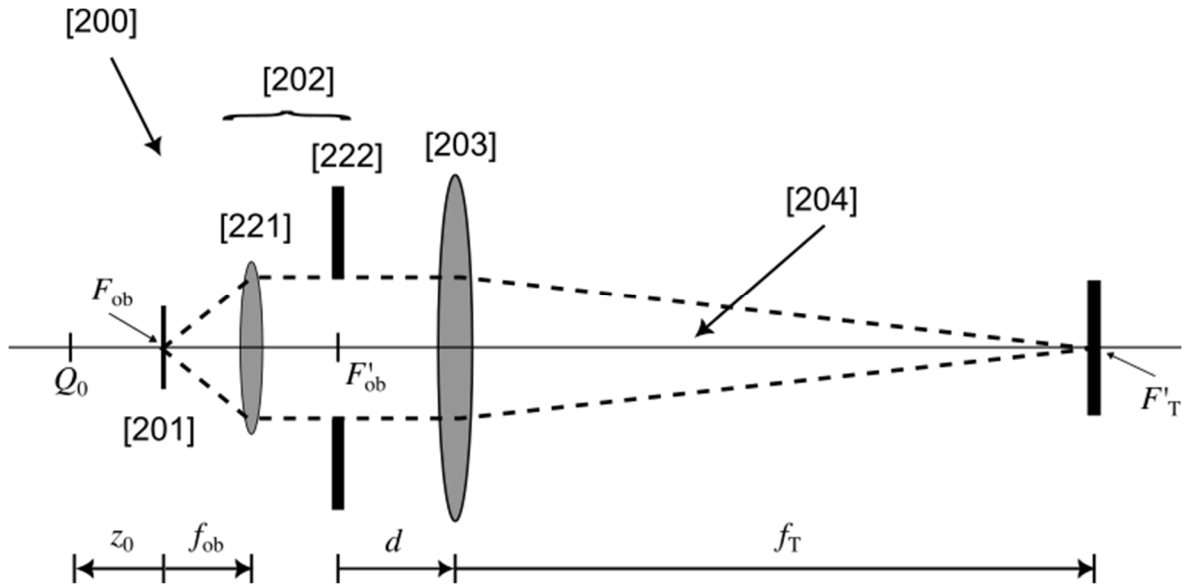


Fig. 1

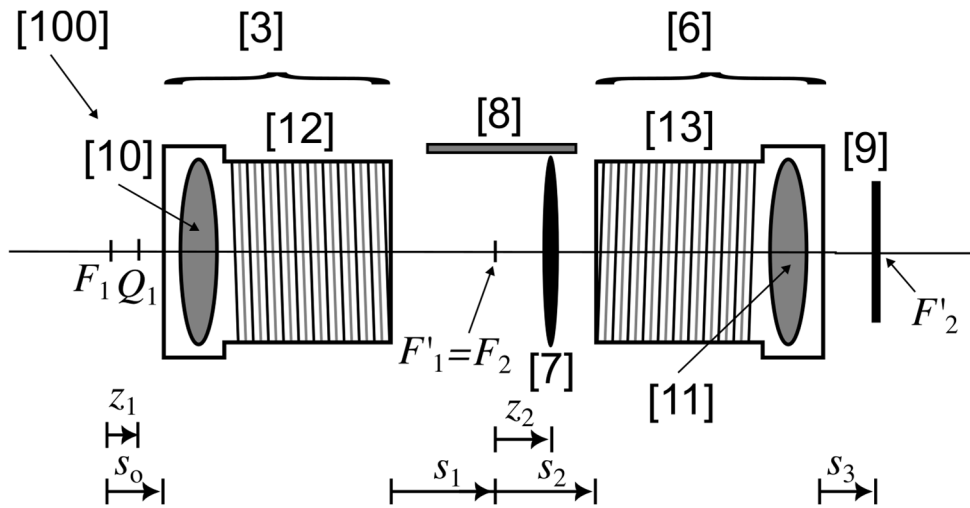


Fig. 2

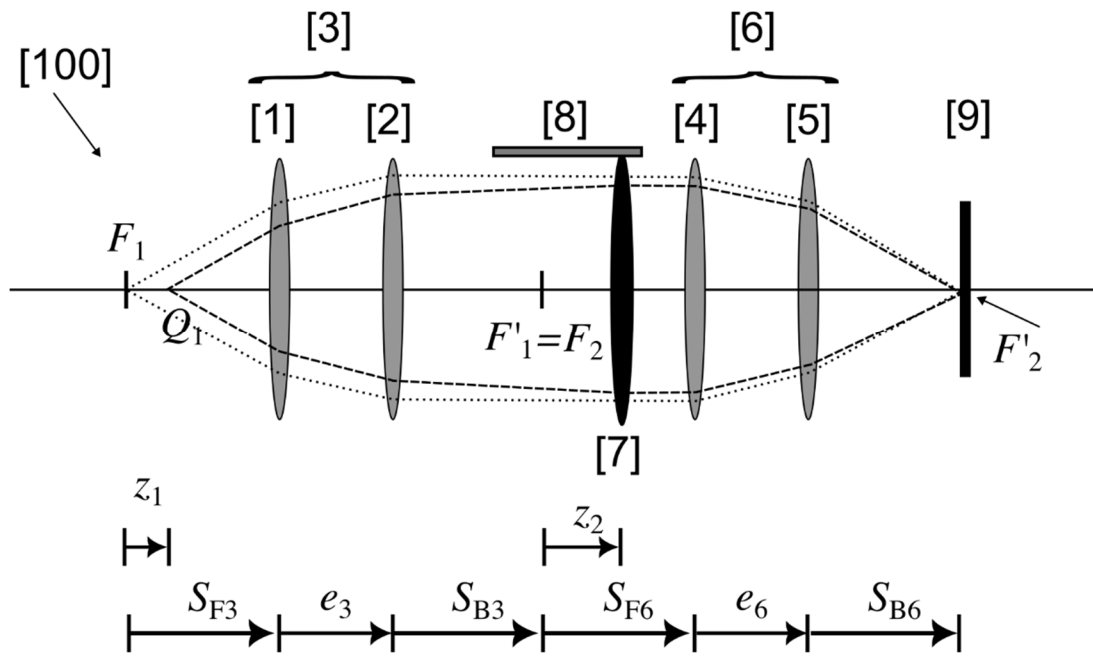


Fig. 3