象平面全息术在全息显微镜中的应用

徐慎初　刘　守

（福建师范大学物理系）

提要：论述利用象平面全息术制作的全息显微镜消除斑纹效应同时保持象分辨率的原理，讨论了保持象分辨率的条件，给出消除斑纹效应以及白光重现的实验结果。

Application of image plane holography in holographic microscope

Xu Shenchu　Liu Shou

(Department of Physics, Fujian Normal University)

Abstract: This paper discusses the principles on the illumination of speckle effect and maintenance of resolution by holographic microscope using image plane holography, as well as the conditions for keeping the resolution of the image. Experimental results in eliminating the speckle effect and the reconstruction with white light are also presented.

消除或减弱由于相干照明而产生的斑纹效应，是全息显微镜研制中一个重要的课题。通常可以用减少照明的空间相干性和时间相干性的方法来消除或减弱斑纹[1]。但是，这样做会产生重现象的扩散，从而影响了象的分辨率。

重现象的最小可分辨的尺度 ΔS 和用光源直径 Δr 表示的照明光源空间相干性之间的关系是[2]

$$\Delta S=\frac{Z_1}{Z_r}\Delta r \tag{1}$$

其中，Z_1 是重现象到全息图的距离；Z_r 是照明光源到全息图的距离。

重现象的最小可分辨的尺度 $\Delta\sigma$ 和用光波波长宽度 $\Delta\lambda$ 表示的照明光源的时间相干性之间的关系是[2]

$$\Delta\sigma=\theta_r Z_1\frac{\Delta\lambda}{\lambda} \tag{2}$$

其中，θ_r 是照明光束对全息图平面的入射角；λ 是光波波长。

从(1)、(2)式看出，减小照明光源空间相干度（使 Δr 增大），或减小照明光源的时间相干度（使 $\Delta\lambda$ 增大），都影响了象的分辨率。

但是，如果对显微样品做成象平面全息图，情况就不一样。设重现象中心位于全息图平面（$Z_1=0$），重现象的其它部分位于全息图平面前后的空间（Z_1 很小）。由(1)、(2)式看出，只要 Z_1 足够小，减少光源的相干性，既可以消除斑纹，又不影响象的分辨率。具体来说，当我们减小照明光源的空间相干度（Δr 增大）时，只要 Z_1 足够小，Z_r 足够大，总可以使得象点扩散的距离 ΔS 小于记录全息图时光学系统衍射所限制的象的最小可分辨距离。既然照明光源上空间不相干的各点产生

收稿日期：1980年6月6日。

重现象中相应的象点都在这个象的最小可分辨单元内，在此单元内光不能按复振幅相干地相加，而只能按强度相加。于是，不同的分辨单元就不呈现亮暗随机分布的现象，也就是消除了斑纹。同样道理，当光源的时间相干性减少($\Delta\lambda$ 增大)时，只要 θ_r 和 Z_1 足够小，所产生的点象的色散都可以在重现象的最小可分辨单元内，按强度相加的结果也消除了斑纹。θ_r 愈小，色散也愈小，这可以理解为全息图上干涉条纹比较粗，使照明波长的变化引起衍射角的变化很小的缘故。由上述可知，用象平面全息术制作的全息显微镜，可以既消除斑纹效应又保持象的分辨率[3]。

为了保持重现象的分辨率，除了上述 Z_1 足够小、Z_r 足够大(用准直光)、θ_r 足够小的条件外，还要用全息方法消除成象物镜 L 带来的象差。设样品处光场复振幅分布为 $a(x_0, y_0, z_0)$，它在透镜前表面产生一个场为 E_1，透镜 L 的效应用 $e^{ik\phi(x_1, y_1, z_1)}$ 表示，$\phi(x_1, y_1, z_1)$ 包括透镜缺陷和象差。在透镜后表面的光场就是 $E_1 e^{ik\phi(x_1, y_1, z_1)}$。由衍射积分可得出在全息图平面上的场分布为 $E_2(x_2, y_2, z_2)$。准直参考波是 $E_c = b e^{i(k_y y_2 + k_z z_2)}$。如图 1 所示。

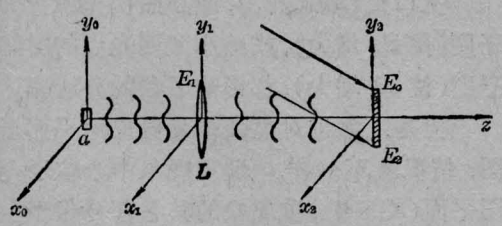


图1　全息图的记录

重现时全息图用 E_c 的共轭波 E_c^* 照明，E_c^* 的传播方向正好与 E_c 相反。重现波 $E_2^*(x_2, y_2, z_2)$ 传播到透镜 L 的后表面就成为 $E_1^* e^{-ik\phi(x_1, y_1, z_1)}$，透镜的效应仍然是 $e^{ik\phi(x_1, y_1, z_1)}$，于是透镜前表面的光场分布为 $E_1^* e^{-ik\phi(x_1, y_1, z_1)} \cdot e^{ik\phi(x_1, y_1, z_1)} = E_1^*$，它传播到原样品所在处的光场分布就是 $a^*(x_0, y_0, z_0)$。这样，我们就得到一个与原样品完全一样的实象，它是无象差的，并且可以用一个普通显微镜来观察[4,5]。如图 2 所示。

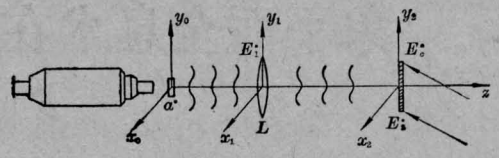


图2　无象差实象的重现

对于上述条件下的系统，象的分辨率只受成象物镜的衍射限制。从瑞利判据可以得出，样品的最小可分辨距离

$$\Delta S_0 = 1.2\lambda \frac{f}{D}(m+1) \tag{3}$$

其中 f 是成象物镜的焦距；D 是成象物镜的孔径；m 是物长对象长之比。可见，为提高系统的分辨率，应选择相对孔径 $\frac{D}{f}$ 比较大的成象物镜。

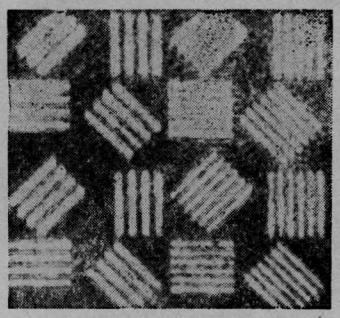
我们实验用的成象物镜焦距 10.5 厘米，孔径 2.33 厘米(相对孔径为 1:4.5)。样品距离成象物镜 13 厘米，它在全息底片上成一个放大 4.2 倍的象。按(3)式，我们的系统应能分辨样品上最小距离为 4.2 微米的两点。

样品用准直的激光照明，参考光也是经过准直的激光，它们的夹角 $\theta_r < 10°$。物光与参考光的光强比例为 1:6。激光源是波长为 6328Å 的 He-Ne 激光器。全息图用天津全息 I 型底片记录，底片曝光后用 D_{19} 显影液显影。

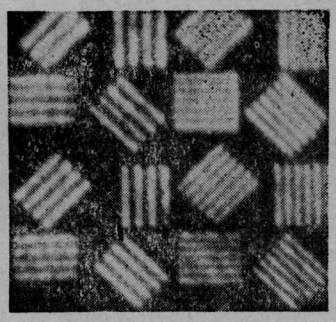
用激光重现时，激光束先经过一个准直镜，准直后的激光直径为 4 厘米。为了减小激光的空间相干度，在激光束进入准直镜前 1～2 厘米处，或在激光离开准直镜的位置上转动一个毛玻璃片，或安放乳浊液。当做白光重现时，用 f550 平行光管作照明光源。

当用 1 号鉴别率板作样品时，所得结果如图 3 所示。图 3 中的照片 (a) 是用激光重现的象，观察用显微物镜为 10×、0.25，照片中看到激光斑纹效应。照片 (b) 是用激光重现的象，但采取了减小空间相干度的措施，因

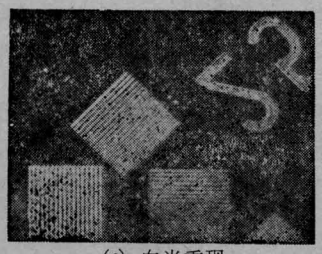
而消除了斑纹，显微物镜仍是10×、0.25。照片(c)给出白光重现的第25组(间隔5微米)的象，显微物镜为20×、0.45，说明确实是既消除了斑纹又保持了由系统衍射限制的象的分辨率。



(a) 激光重现，未消除斑纹



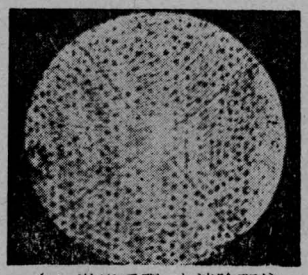
(b) 激光重现，消除斑纹



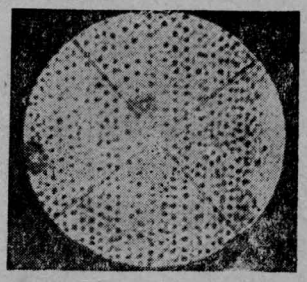
(c) 白光重现

图3 1号鉴别率板重现象的放大照片

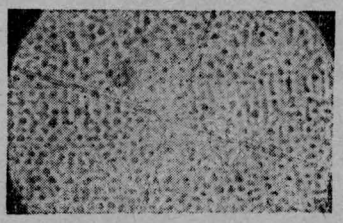
图4给出洋葱细胞切片重现象的放大照片，所用的显微物镜都是20×、0.45。照片(a)是用激光重现的象，由于未采取减小空间相干度的措施，这里除了存在激光斑纹外，还存在各种干涉和衍射的图样，它们损害了象的质量和分辨率。照片(b)是用激光重现时采取了减小空间相干度的措施，因而消除了激光斑纹，而且也消除了由于空间相干性而产生的各种干扰图样，使得每一个细胞核分辨得很清楚。照片(b)是从吸收全息图得到的，细胞核完全是黑的。照片(c)则是从漂白全息图得到的，这里的细胞核含有白的亮点，这说明漂白全息图对于观察显微样品精细结构的形状更有利，而吸收全息图则对观测小颗粒的大小比较有利[6]。



(a) 激光重现，未消除斑纹



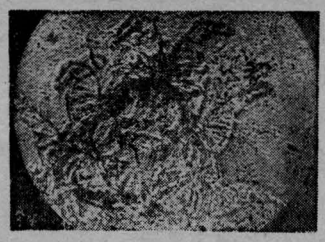
(b) 激光重现，消除了斑纹



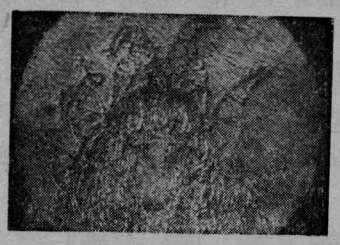
(c) 漂白全息图的激光重现(已消除斑纹)

图4 洋葱细胞切片重现象的放大照片

为了证明所得到的象是三维立体象，我们用寄生在社鼠身上的革螨作样品。观察时显微物镜为20×、0.45。图5中照片(a)和(b)是激光重现时，采取了消斑措施，得到的革螨上半身的不同深度的象。，照片(a)是腹部，照片(b)是背部。图5中照片(c)和(d)是用白光重现时，所得革螨下半身的不同深度的象，(c)是腹部，(d)是背部。这些照片说明，使用这种全息显微术所得到的象是三维立体象，但是不同深度的象在用普通显微镜

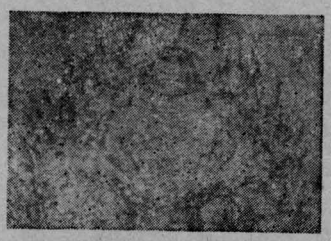


(*a*) 激光重现，上半身腹部



(*b*) 激光重现，上半身背部

(*c*) 白光重现，下半身腹部



(*d*) 白光重现，下半身背部

图 5　革螨样品重现象的放大照片

观察时，有互相重迭的现象存在。

这种结构的全息显微镜能记录保存样品的三维信息，观察时可以既消除斑纹效应又保持象的分辨率，所成象的质量可以很好，而且可以白光重现。因此，它在生物、医学等领域是有实用价值的。

参 考 文 献

[1] T. S. Mckechnie; "Speckle Reduction", in Laser Speckle and Related Phenomena (ed. by J. C. Dainty), 1975, 123～169.

[2] R. J. Collier et al.; Optical Holography, 1971, 204～206.

[3] M. E. Cox, K. J. Vahala; *Appl. Opt.*, 1978, **17**, No. 9, 1455～1457.

[4] L. Toth, S. A. Collins, Jr.; *Appl. Phys. Lett.*, 1968, **13**, No. 1, 7～9.

[5] R. A. Briones *et al.*; *Appl. Opt.*, 1978, **17**, No. 6, 944～950.

[6] P. Dunn, J. M. Walls; *Appl. Opt.*, 1979, **18**, No. 13, 2171～2174.