

共焦激光扫描显微镜光学系统的信息量*

李爱民 陶纯堪

(南京理工大学光学系, 南京 210014)

提要 用光学信息论本征理论讨论共焦激光扫描显微镜光学系统的成像关系, 获得在理想成像及有像差时系统的光学信息量的表达式。

关键词 光学信息论, 扫描显微镜, 共焦成像

1 引言

共焦激光扫描显微镜(CLSM)是一种新颖的三维显微成像系统。它借助于扫描技术和共焦原理, 实现高分辨、大纵深的显微成像, 在生物、医学和半导体工业中有广泛的应用。

按照信息论的观点, CLSM的成像过程是信息量的传递过程。然而, 至今尚无人对这一重要的信息传递过程进行严格的讨论。本文仅从光学角度出发, 研究 CLSM光学系统成像的传输机理。

众所周知, 一个光场的信息量为^[1]

$$I = N_{\text{DOF}} \log_2(1 + m) \quad (1)$$

式中 m 为被测物分布的动态范围, N_{DOF} 为光场的自由度数。因此, 自由度数 N_{DOF} 是光学信息量 I 的主要组成部分。本文以 N_{DOF} 表示信息量。

尽管普通光学系统成像自由度理论^[2~7]的发展已较为完善, 但它并不适用于 CLSM, 因为 CLSM的成像特性不同于一般光学成像系统, 它是基于扫描技术逐点一维成像, 而普通光学系统是二维并行成像。

2 CLSM的成像特性

CLSM是由聚焦光点扫描物体, 并用探测器接收共轭像点的光强获得图像。为了简单起见, 只讨论一维情况, 所得结果不难推广到二维情况。

如图1所示, 透镜 L_1 的光瞳函数为 $p_1(\xi_1)$ (通过的空间频率从 $-\nu_1$ 到 ν_1), 它使点光源 S 发出的光在复振幅透过率为 $O(x)$ 的物体 (大小从 $-X/2$ 到 $X/2$) 上聚焦, 物体在 x 平面内移动以便扫描成像, 透射光经透镜 L_2 (其光瞳函数为 $p_2(\xi_2)$, 通过的空间频率从 $-\nu_2$ 到 ν_2) 由点探测器 S' 接收。于是, 透过物体的光场分布为

* 国家自然科学基金资助项目。

收稿日期: 1993年10月11日; 收到修改稿日期: 1994年1月10日

$$U_1(x; x_s) = h_1(x)O(x + x_s) \quad (2)$$

其中 x 为物面坐标, $-x_s$ 代表扫描位置, $h_1(x)$ 是透镜 L_1 的脉冲响应函数。忽略常数因子, $h_1(x)$ 与 $p_1(\xi_1)$ 关系如下^[8]

$$h_1(x) = \int_{-\infty}^{+\infty} p_1(\xi_1) \exp\left(-\frac{jk}{d_1}\xi_1 x\right) d\xi_1 \quad (3)$$

其中 k 为波数。

探测器平面上的光场复振幅分布为

$$U_2(x_2; x_s) = \int_{-\infty}^{+\infty} h_1(x) O(x + x_s) h_2(x_2; x) dx \quad (4)$$

其中

$$h_2(x_2; x) = \int_{-\infty}^{+\infty} p_2(\xi_2) \exp[-(jk/f)(x_2 + Mx)\xi_2] d\xi_2 \quad (5)$$

$$M = f/d_2$$

对于点探测情况, 即 $x_2 = 0$, 有

$$U_2(x_s) = \int_{-\infty}^{+\infty} h_1(x) h_2(x) O(x + x_s) dx \quad (6)$$

其中

$$h_2(x) = \int_{-\infty}^{+\infty} p_2(\xi_2) \exp[-(jk/d_2)x\xi_2] d\xi_2$$

对(6)式作变量替换, 得

$$U_2(x_s) = \int_{-x/2}^{x/2} h_1(x - x_s) h_2(x - x_s) O(x) dx \quad (7)$$

由上式可知, 成像积分核为

$$S(x - x_s) = h_1(x - x_s) h_2(x - x_s) \quad (8)$$

探测光强为 $|U_2|^2$, 并用数字图像处理技术进行处理, 即可获得一幅被测物的显微图像。

CLSM 光学系统的信息量, 可分为理想成像和有像差两种情况加以研究。

3 理想光学系统的信息量

无像差理想成像时, 积分核为

$$S(x - x_s) = \frac{\sin[2\pi\nu_1(x - x_s)]}{\pi(x - x_s)} \cdot \frac{\sin[2\pi\nu_2(x - x_s)]}{\pi(x - x_s)} \quad (9)$$

像公式为

$$U_2(x_s) = \int_{-x/2}^{x/2} \frac{\sin[2\pi\nu_1(x - x_s)]}{\pi(x - x_s)} \cdot \frac{\sin[2\pi\nu_2(x - x_s)]}{\pi(x - x_s)} O(x) dx \quad (10)$$

因为积分核满足 Hermitian 条件, 由积分方程理论知, 存在正交归一的本征函数组 $\{\varphi_n(x)\}$, 满足本征方程

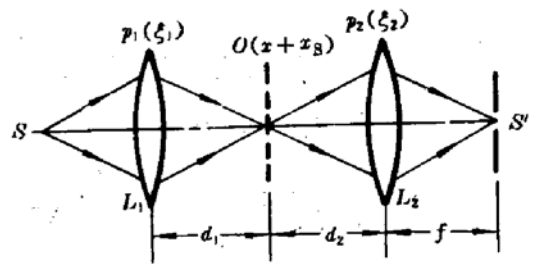


Fig. 1 The principle of CLSM

$$\lambda_n \varphi_n(x_s) = \int_{-x/2}^{x/2} S(x - x_s) \varphi_n(x) dx \quad (11)$$

设物复振幅分布为

$$O(x) = \sum_{n=0}^{\infty} o_n \varphi_n^{(T)}(x) \quad (12)$$

其中

$$\begin{aligned} \varphi_n^{(T)}(x) &= \varphi_n(x) \text{rect}(x/X) \\ \text{rect}(x) &= \begin{cases} 1, & |x| \leq 1/2; \\ 0, & |x| > 1/2 \end{cases} \end{aligned}$$

则像复振幅分布为

$$U_2(x_s) = \sum_{n=0}^{\infty} \lambda_n o_n \varphi_n(x_s) \quad (13)$$

$\{\lambda_n\}$ 为一组本征值, 它满足

$$\lambda_0 > \lambda_1 > \lambda_2 > \dots \quad (14)$$

λ_n 明显不为零的本征函数的个数就是自由度 N_{DOF} 。与每个 λ_n 对应的本征函数是信息的携带元, 它携带信息从系统的物方传递到像方。本征值 $\lambda_n \rightarrow 0$ 时, 对应的本征函数所携带的信息在传递过程中丧失。作为一个特例, 当透镜 L_1 和 L_2 性质相同, 且 $d_1 = d_2$ 时, 有

$$S(x - x_s) = \frac{\sin[2\pi\nu_1(x_s - x)]}{\pi(x_s - x)} \quad (15)$$

此时, CLSM 光学系统的成像特性与强度点扩散函数为 $S(x)$ 的非相干成像系统特性相同, 成像自由度数为^[3]

$$N_{\text{DOF}} = 4X\nu_1 \quad (16)$$

本征值曲线图见图 2。

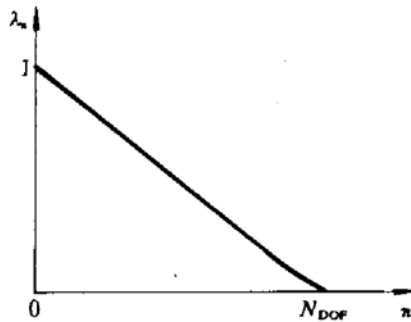


Fig. 2 Eigenvalue λ_n vs index n

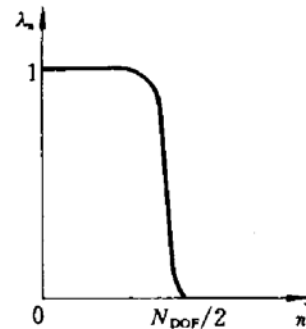


Fig. 3 Eigenvalue λ_n vs index n for the conventional coherent imaging system

与普通相干光学系统的成像自由度^[2](本征值曲线见图 3)相比较, 我们看到, $N_{\text{DOF}}/2$ 个本征函数所载的信息, 其能量可基本无损失地由物方经普通相干成像系统传递到像方; 而经 CLSM 光学系统由物方传递到像方的信息, 其能量有不同程度的损失, 但 CLSM 光学系统成像的信息量是普通相干成像系统信息量的两倍。因此, CLSM 是以信息能量的损失为代价, 获取信息量的提高的。

4 有像差光学系统的信息量

对于有像差系统,将 $p_1(\xi_1)$, $p_2(\xi_2)$ 分别乘上波像差因子,得到它们的广义光瞳函数分别为

$$P_1(\xi_1) = p_1(\xi_1) \cdot \exp[jkW_1(\xi_1)] \quad (17)$$

$$P_2(\xi_2) = p_2(\xi_2) \cdot \exp[jkW_2(\xi_2)] \quad (18)$$

用空间频率 ν 代替 ξ_1 和 ξ_2 代入上面两式,得到成像核为

$$S(x - x_s) = \int_{-v_1}^{v_1} \exp\{j[kW_1(\nu) + 2\pi\nu(x - x_s)]\} d\nu \cdot \int_{-v_2}^{v_2} \exp\{j[kW_2(\nu) + 2\pi\nu(x - x_s)]\} d\nu \quad (19)$$

下面分两种情况加以研究。

4.1 成像核满足 Hermitian 条件

这时,物和像复振幅分布函数可用同一组正交本征函数展开。存在本征方程

$$\lambda_{s,n} \varphi_{s,n}(x_s) = \int_{-x/2}^{x/2} S(x - x_s) \varphi_{s,n}(x) dx \quad (20)$$

本征值 $\lambda_{s,n}$ 取决于像差的分布,它低于无像差时的 λ_n 。

由于 $\lambda_{s,n}$ 较 λ_n 下降,根据 $\lambda_{s,n} \rightarrow 0$ 判断,自由度已改变为 N_s ,且 $N_s < N_{\text{DOF}}$ 。

4.2 成像核不满足 Hermitian 条件

此时,物和像空间无共同的正交本征函数组用以展开物和像复振幅分布。为此,我们构造二次叠核

$$U(x_1', x_2') = \int_{-\infty}^{+\infty} S(x_1' - x_s) S^*(x_2' - x_s) dx_s \quad (21)$$

显然, $U(x_1', x_2')$ 满足 Hermitian 条件,存在正交归一函数组 $\{\varphi_n(x)\}$ 满足本征方程

$$\int_{-x/2}^{x/2} U(x_1', x_2') \varphi_n(x_1') dx_1' = \lambda_n \varphi_n(x_2') \quad (22)$$

令

$$\alpha_n g_n(x_s) = \int_{-x/2}^{x/2} S(x_1' - x_s) \varphi_n(x_1') dx_1' \quad (23)$$

$$\alpha_n = (\lambda_n)^{1/2} \quad (24)$$

(23) 式两边取复共轭,并用 x_2' , n' 分别代替 x_1' , n , 则得

$$\alpha_n^* g_n^*(x_s) = \int_{-x/2}^{x/2} S^*(x_2' - x_s) \varphi_n^*(x_2') dx_2' \quad (25)$$

由上面四个等式及具有 Hermitian 核的积分方程的性质^[9],得

$$\int_{-\infty}^{+\infty} g_n(x_s) g_n^*(x_s) dx_s = \begin{cases} 1; & n = n' \\ 0; & n \neq n' \end{cases} \quad (26)$$

所以, $\{g_n(x_s)\}$ 是一组正交归一函数。

显然,若物分布用正交归一函数组 $\{\varphi_n(x)\}$ 展开

$$O(x) = \sum_{n=0}^{+\infty} o_n \varphi_n^{(T)}(x) \quad (27)$$

则 $\{g_n(x)\}$ 构成像方的正交归一函数组

$$U_2(x_s) = \sum_{n=0}^{+\infty} o_n \alpha_n g_n(x_s) \quad (28)$$

所以, α_n 代表了物方的自由度经光学系统后的衰减情况, 像差一定, 则成像核一定, 构造二次叠核 $U(x_1', x_2')$ 解等式(22) 得 λ_n , 再由(24) 式即可计算出我们最为关心的 α_n 。

我们知道, 像差不影响普通相干光学系统的自由度^[4]。原因在于, 像差的影响仅是造成像函数用以展开的正交归一本征函数组的不同, 而展开系数保持不变。与此不同, 对于 CLSM 光学系统, 像差不仅使物方传输到像方的正交归一本征函数组发生变化, 而且展开系数也不同。因此, 像差使物方某些本征函数所携带的互相独立、互不交叉的信息经光学系统传输过程中丢失, 在像方已不复存在, 造成光学系统的信息量下降。

综上所述, 研究 CLSM 光学系统的信息量可分为成像是 Hermitian 和 non Hermitian 两种情况。前者使用通常本征函数方法; 后者使用二次叠核方法。像差使信息量下降。

参 考 文 献

- 1 Tao Chunkan. ICO-13 Conference Digest, Sapporo Educational and Cultural Center, Sapporo, 1984, A6(6) : 484
- 2 G. T. di Francia. Degrees of Freedom of an Image. *J. O. S. A.*, 1969, 59 : 799
- 3 M. Bendinelli *et al.*. Degrees of Freedom, and Eigenfunctions, for the Noisy Image. *J. O. S. A.*, 1974, 64 : 1498
- 4 P. De Santis *et al.*. Degrees of Freedom of Aberrated Images. *Opt. Acta.*, 1976, 23 : 743
- 5 陶纯堪. 非相干光照明下有像差像的自由度. *光学学报*, 1981, 1(4) : 323
- 6 Tao Chunkan. The Transfer Mechanism of Structural Information of a Partially Coherent Light Field Through 1-D and 2-D Optical Systems. *Opt. Acta.*, 1983, 30 : 361
- 7 陶纯堪. 部分相干光场结构信息经有像差光学系统传递的机理. *光学学报*, 1982, 2(6) : 517
- 8 J. W. 顾德门著, 詹达三译. 傅里叶光学导论. 北京: 科学出版社, 1979. 107
- 9 《数学手册》编写组. 数学手册. 北京: 高等教育出版社, 1979. 762

Estimation of the Amount of Information for the Optical System of a Confocal Laser Scanning Microscope

Li Aimin Tao Chunkan

(Department of Optics, Nanjing University of Science and Technology, Nanjing 210014)

Abstract By using the eigen-theory method of optical information theory, the imaging relationship of the optical system of a confocal laser scanning microscope is discussed. The expressions of the amount of information are given when the system is aberrationless and aberrated, respectively.

Key words optical information theory, scanning microscope, confocal imaging