

文章编号: 0258-7025(2001)09-0833-04

用于共焦扫描显微成像系统的位相型 超分辨光瞳滤波器*

邓小强 刘力 王桂英 徐至展

(中国科学院上海光机所 上海 201800)

摘要 对于三区位相光瞳滤波器与单透镜系统相结合的系统,分析了在给定斯特耳比 S 后有、无光瞳滤波器时的超分辨特性,并据此给出了一个模拟计算实例。由于单透镜系统加上该滤波器时旁瓣强度太大,因此将一个特殊光瞳加入共焦显微成像系统实现好的超分辨效果。

关键词 超分辨,位相型滤波器,共焦扫描成像系统

中图分类号 TN 713 文献标识码 A

Superresolving Phase-only Filters in Confocal Scanning Imaging System

DENG Xiao-qiang LIU Li WANG Gui-ying XU Zhi-zhan

(Shanghai Institute of Optics and Fine Mechanics, The Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201800)

Abstract This paper analyzes the superresolving property of conventional system combining with 3-zone phase-only pupil filter at special central intensity ratio. A calculated example is provided based on this analysis. The sidelobe of the system is too high to be used in conventional system, while in confocal scanning imaging system good superresolving effects is achieved.

Key words super resolution, phase-only pupil filter, confocal scanning microscope

1 引言

由于共焦系统具有低的最小可接受中心强度值和降低旁瓣强度比的特性,因此人们将光瞳滤波器与其相结合来实现高于瑞利衍射极限的超分辨率。在所有这些光瞳滤波器中有一种简单有效的方法将光瞳^[1]分成多个透过率为0或1的同心区。这种光瞳滤波器可分为振幅型^[1-4]、位相型^[5,6](或纯位相型)和混合型^[7]三种。在超分辨率相同时,与振幅型光瞳相结合的系统与位相型光瞳相结合的系统相比具有更低的斯特耳比(Strel)^[8]。在位相型光瞳中,假如不考虑系统中心强度大小,两区位相型光瞳具有最简单的结构,且能得到任意小的分辨率。但它能调节系统超分辨效果的因子只有第一区的半径和两区间的位相差。实际上系统本身总会有一些限制

条件,例如在很高的超分辨率时系统的中心强度值很小,此时保持较高的中心强度值成为超分辨光瞳滤波器设计所要考虑的最主要的因素,三区光瞳滤波器就能比两区光瞳滤波器具有更多的解决方案。同时三区光瞳滤波器也具有结构简单的优点。

本文分析了三区位相型光瞳与单透镜相结合的超分辨性质,并给出一个计算实例。然后将其应用于共焦系统,得到好的超分辨效果和较高的斯特耳比 S 。

2 理论分析

当光强分布均匀的平行光入射时,如图1所示,单透镜系统焦面上归一化的振幅分布由下式表示

$$U(\nu) = 2 \int_0^1 P(\rho) J_0(\nu\rho) \rho d\rho \quad (1)$$

其中 $P(\rho)$ 为系统的光瞳函数, ν 为光学坐标

$$\nu = krs \sin\alpha \quad (2)$$

其中 $k = 2\pi/\lambda$, $\sin\alpha$ 代表系统的数值孔径, r 为焦面上的径向距离。

* 国家自然科学基金(项目批准号: 69637030, 69777004)资助课题。

收稿日期: 2000-06-13; 收到修改稿日期: 2000-08-11

对三区位相光瞳滤波器,同文献[7]和[9]一样,本文假设其各区位相为 $0, \pi, 0$ 。故光瞳函数可写为

$$P(\rho) = \begin{cases} 1, & \rho \in (0, a) \\ -1, & \rho \in (a, b) \\ 1, & \rho \in (b, 1) \end{cases} \quad (3)$$

其中 a, b 分别为第一、二区的半径。若将该光瞳滤波器紧贴透镜前,如图1,由傅里叶光学知系统的光瞳函数被改变。由(1)式和(3)式可得

$$U(\nu) = 2 \left[\int_0^1 J_0(\nu\rho) \rho d\rho - 2 \int_0^a J_0(\nu\rho) \rho d\rho + 2 \int_0^b J_0(\nu\rho) \rho d\rho \right] = \frac{1}{\nu} [J_1(\nu) - 2bJ_1(b\nu) + 2aJ_1(a\nu)] \quad (4)$$

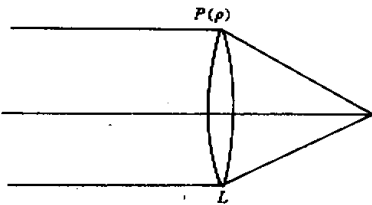


图1 具有光瞳滤波器的成像系统光路图

Fig.1 Scheme of imaging system with pupil filter

为了描述加了光瞳滤波器后系统的超分辨性能,引入三个参量:斯特耳比 S ,半高半宽比 χ 和旁瓣强度比。半高半宽比 χ 为有光瞳滤波器时和艾里衍射方式时系统的横向光强半高半宽值之比。旁瓣强度比为加光瞳滤波器时系统像面光强分布中旁瓣强度与中心主瓣强度之比。很明显要取得好的超分辨效果,应使 χ 取某一小于1的值时, S 尽可能大,而旁瓣强度比越小越好。

由(4)式和 S 的定义可得 S 的表达式为

$$S^{1/2} = 1 - 2b^2 + 2a^2 \quad (5)$$

取贝塞耳函数的如下近似式^[9]

$$J_1(z) = \left(\frac{1}{2} \right) \sum \frac{(-1)^n (z/2)^{2n}}{n!(n+1)!} = 2.0 \left(\frac{z}{4} \right) - 4.0 \left(\frac{z}{4} \right)^3 + 2.7 \left(\frac{z}{4} \right)^5 - 0.89 \left(\frac{z}{4} \right)^7 + 0.18 \left(\frac{z}{4} \right)^9 + O(z^{11}) \quad (6)$$

当 ν 很小时, $J(\nu)$ 可取到其三阶项。将其代入(4)式得

$$U(\nu) \approx 1 - 2b^2 + 2a^2 - \frac{1}{8} \nu^2 (1 - 2b^4 + 2a^4) \quad (7)$$

根据 χ 的定义,等式(7)可改写成如下形式

$$\chi^2 = \frac{S^{1/2}}{1 - (a^2 + b^2)(1 - S^{1/2})} \quad (8a)$$

如果 S 值给定,(8)式可写成如下形式

$$\chi^2 = \frac{S^{1/2}}{1 - \left(2a^2 + \frac{1 - S^{1/2}}{2} \right) (1 - S^{1/2})} \quad (8b)$$

上式表明 χ, S, a 中任意两个已知时,可求出第三个,从而使根据所要求的 χ 和 S 来设计光瞳滤波器成为可能。由式(8b)可知当系统的分辨率提高一倍,即 $\chi = 0.5$,且 $a = 0.25$ 时, $S < 1.6\%$ 。也就是说当分辨率提高一倍时,斯特耳比 S 成为超分辨光瞳滤波器设计的最主要的限制因素。因此本文将 S 取为特定值,然后根据 χ 和 a 之间的关系来设计光瞳滤波器以取得好的超分辨结果。从式(8b)可得对特定 S 值,当 a 减小时 χ 会变小;对相同的 a 值, S 越小分辨率越高。

为了验证代数结果并得到更清晰准确的结果,模拟计算了在不同的斯特耳比 S 值时,半高半宽比 χ 随 a 值变化的关系曲线,如图2所示。类似的曲线可用式(8b)计算得到。当 $S = 1\%$ 时,代数结果和模拟结果之间的最大相对误差小于4%。最大相对误差值随 S 的增加而减小。

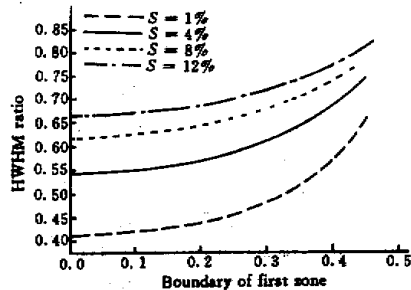


图2 不同 Strel S 半高宽比随光瞳第一区半径的变化

Fig.2 HWHM ratio change with boundary of first zone at different Strel ratio S

由图2可得如下结论:

- 1) 当第一区半径 a 相同时,斯特耳比 S 越小半高半宽比 χ 也相应地变小;
- 2) 对特定的 S 值,第一区半径越小 χ 就会越

小;

3) 当 a 很小时 χ 变化越慢, 特别是当 a 值在 0 到 0.15 区间时 χ 变化不过 1.5%。

以上所有结论与代数计算结果一致。第一条结论降低 S 值可得到很小的 χ 值。遗憾的是, 当 $S = 1\%$ 时, 即使是共焦显微系统也会有很高的旁瓣强度。也就是说 $S = 1\%$ 的情况不实用。最后一条结论可使我们在区间 0 到 0.15 上任取 a 值而不会对半高半宽比 χ 有大的影响。因此, 在下面的计算实例中取 $a = 0.10$ 。

考虑到系统的超分辨能力和图 2 的结论, 本文提供的计算实例将 S 设定为 4%, 并取 $a = 0.10$ 。该光瞳滤波器与单透镜系统相结合的强度分布如图 3 所示。由于半高半宽比 $\chi = 0.528$, 第一零点比 G (有光瞳滤波器时和艾里衍射方式时系统的横向光强第一零点值对应坐标之比, 引入它是为了与其他文献的计算结果进行比较) 为 0.436, 因此可以说该系统具有很高的超分辨能力。但是该系统的旁瓣强度如此之高, 以致于不可能在实际成像时应用, 故本文将其应用于共焦系统中以期得到好的超分辨效果。

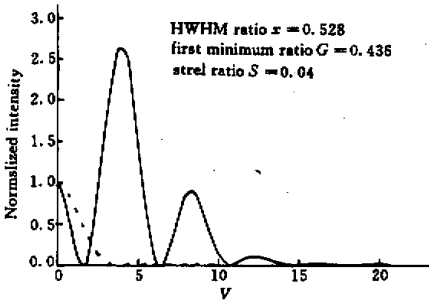


图 3 具有光瞳滤波器的常规成像系统, 为了比较也示出了无滤波器常规系统的 Airy 斑分布(虚线), 相比之下加滤波器系统的旁瓣显得很高

Fig.3 Intensity distribution with example filter in conventional imaging system, sidelobe of this system is too high to be used in practice for this system. For comparison, the Airy disk pattern (dash dotted curve) is also shown

3 超分辨共焦成像系统

共焦显微术的原理如图 4 所示, 点光源发出的光由物镜部分聚焦到物体上, 透过物体的光由集光透镜部分成像, 在像面中心处探测器前放置一针孔让光透过, 即系统使用点探测器。在该系统中物镜部

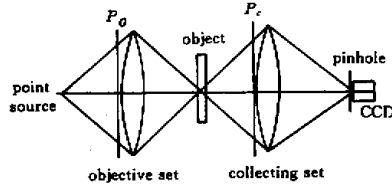


图 4 透射式共焦显微镜的光路图
Fig.4 Scheme of the transmission confocal scanning microscope

分和集光部分在成像特性方面有相同的作用。考虑图 4 所示的共焦显微系统, 其中物镜部分和集光部分分别与径向对称光瞳滤波器 $P_o(\rho)$ 和 $P_c(\rho)$ 相结合。此时, 轴向点光源在焦平面上所成的像的强度分布, 即系统的 2-D 强度点扩散函数为

$$I(v) = |h_o(v)h_c(v)|^2 \quad (9)$$

其中 $h_o(v)$ 和 $h_c(v)$ 分别为共焦系统物镜部分和集光部分的振幅点扩散函数。其具体表达式为

$$h_{o,c}(v) = 2 \int_0^1 P_{o,c}(\rho) J_0(v\rho) \rho d\rho \quad (10)$$

式中角标 o, c 的意义同前。式(10)和式(1)物理意义上等同, 也就是说式(1)是透镜系统的 2-D 振幅点扩散函数。(9)式表明共焦系统的振幅点扩散函数是物镜部分振幅点扩散函数和集光部分振幅点扩散函数的乘积。当光瞳滤波器应用于共焦系统中时, 这一性质可降低系统的旁瓣强度。本文将第二节中的光瞳滤波器应用于共焦系统以期得到好的超分辨效果。

由于物镜部分和集光部分在共焦系统中的等价性, 我们将第二节中的光瞳滤波器应用于物镜部分。

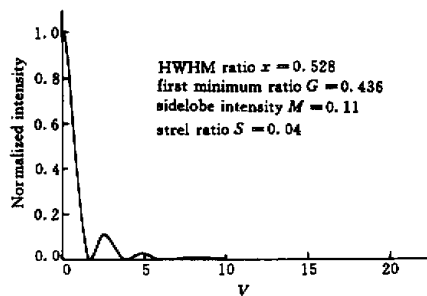


图 5 光瞳滤波器用于共焦显微镜时的光强分布
Fig.5 Intensity distribution with example filter in confocal microscope

对集光部分不加光瞳滤波器,因此这部分的振幅点扩散函数与艾里衍射方式时相同,系统的振幅点扩散函数为两部分点扩散函数的乘积。该系统的横向强度分布如图 5 所示, χ , S , 旁瓣强度比和 G 均在图中示出。比较图 5 和图 3 可知,加有相同光瞳滤波器的共焦系统的旁瓣强度远低于单透镜系统,而两者的 χ , S 一样大。因此,该共焦系统具有好的横向超分辨效果。这种系统在测量样品时能获得更多的细节信息,即更高的分辨率。

4 分析与讨论

为了验证超分辨光瞳滤波器设计方法的效果,将超分辨共焦系统与文献[6]中加有光瞳滤波器的共焦系统的超分辨能力进行比较。文献[6]中的三区光瞳滤波器各区的位相互不相同,其具体参数为:第一区半径 $a = 0.3$,位相 $\phi_1 = 0.0$;第二区半径 $b = 0.7$,位相 $\phi_2 = 0.74\pi$;第三区位相 $\phi_3 = 1.68\pi$ 。加有该滤波器的共焦系统的第一零点比 $G = 0.446$,斯特耳比 $S = 2.7\%$,旁瓣强度为 8.75% 。很明显,本系统的超分辨因子 G , S 都优于文献[6],但旁瓣强度要比文献[6]系统的大。考虑到 11% 的旁瓣强度对共焦系统是可接受的,可以认为本文超分辨共焦系统优于文献[6]的系统。另外,本文的光瞳滤波器各区间的相对位相比较文献[6]简单。

如果减小光瞳滤波器的第二区半径 b ,在适当牺牲半高半宽比的情况下可获得较小的旁瓣强度。

另外,若将 S 值设定低于 4% 时半高半宽比将降低。此时再减小第二区半径 b 就能获得好的旁瓣强度值。综上所述,本文提出的在给定的斯特耳比 S 时设计超分辨光瞳滤波器的方法是有效的。

参 考 文 献

- 1 G. Toraldo di Francia. Super-gain antennas and optical resolving power. *Nuovo Cimento Supplemento*, 1952, 9 (3):426~435
- 2 Z. Ding, G. Wang, M. Gu *et al.*. Superresolution with an apodization film in a confocal setup. *Appl. Opt.*, 1997, 36(1):360~363
- 3 M. Martínez-Corral, P. Andrés, C. J. Zapata-Rodríguez *et al.*. Improvement of three-dimensional resolution in confocal scanning microscopy by combination of two pupil filters. *Optik*, 1998, 107(4):145~148
- 4 X. Q. Deng, G. Wang, Z. Xu. Pupil filters improving axial resolution. *Acta Optica Sinica* (光学学报), 2000, 20 (7):968~972 (in Chinese)
- 5 T. R. M. Sales, G. Michael Morris. Axial superresolution with phase-only pupil filters. *Opt. Comm.*, 1998, 156(4-6):227~230
- 6 Tasso R. M. Sales, G. Michael Morris. Diffractive superresolution elements. *J. Opt. Soc. Am. A*, 1997, 14(7):1637~1646
- 7 Z. S. Hegecius, V. Sarafis. Superresolving filters in confocally scanned imaging systems. *J. Opt. Soc. Am. A*, 1986, 3(11):1892~1896
- 8 Tasso R. M. Sales, G. Michael Morris. Fundamental limits of optical superresolution. *Opt. Lett.*, 1997, 22 (9):582~584
- 9 Hideo Ando. Phase-shifting apodizer of three or more portions. *Jpn. J. Appl. Phys.*, 1992, 31(2):557~567