

文章编号: 0258-7025(2010)07-1812-09

基于系统标定的相衬显微数字全息方法

潘卫清¹ 朱勇建² 郎海涛³

(¹ 浙江科技学院理学院, 浙江 杭州 310023; ² 湖南大学国家高效磨削工程技术研究中心, 湖南 长沙 410082)

³ 北京化工大学理学院, 北京 100029

摘要 提出一种基于系统标定的相衬显微数字全息方法。对相衬显微数字全息原理进行了理论分析,表明用两个分别位于记录面和像面的数字相位掩模,在不影响重建像放大倍率的情况下,可以消除由显微物镜引入的相位弯曲。给出了相位掩模的数学模型,并提出通过系统标定来构建所需相位掩模的方法。其基本思路是,通过预先拍摄成像物镜加入前后的两幅参考数字全息图,结合滤波还原和最小二乘拟合等数字处理方法,提取全息记录系统的参数,用于构建数字相位掩模。利用该技术对最大宽度不超过 0.09 mm 的小水珠进行了不同放大倍率的相衬显微成像实验,验证了该技术的有效性和方便性。

关键词 全息;数字全息;系统标定;相衬显微成像;数字相位掩模

中图分类号 O438.1 文献标识码 A doi: 10.3788/CJL20103707.1812

Phase-Contrast Imaging Technology with Digital Holographic Microscope Based System Calibration

Pan Weiqing¹ Zhu Yongjian² Lang Haitao³

¹ Department of Physics, Zhejiang Science and Technology University, Hangzhou, Zhejiang 310023, China
² National Engineering Research Center for High Efficiency Grinding, Hunan University, Changsha, Hunan 410082, China
³ School of Science, Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029, China

Abstract A phase-contrast imaging technology with digital holographic microscope based on system calibration is present. After a theoretical analysis of the phase-contrast microscopy, results show that the phase curvature introduced by the microscope objectives can be compensated by introducing two digital phase masks located on recording plane and imaging plane respectively. Without affecting the size of the reconstructed image, the mathematic models of the two phase masks are defined, which can be constructed by the proposed system calibration method. The calibration process includes pre-recording two reference holograms, inserting the imaging microscope objective, filtering and square fitting etc digital processing to compute the recording system parameters, constructing the required digital phase masks by the calibrated system parameters. Finally, a demonstration experiment is carried out. In the experiment a small water bead with size of no more than 0.09 mm is phase-contrast imaged with different magnification ratios. The experiment shows that the proposed method is credible and convenient.

Key words holography; digital holography; system calibration; phase contrast microscopy imaging; digital phase mask

1 引言

数字全息借助光电探测器和数字处理技术可获取物光的相位信息^[1,2],还原物的三维形貌^[3,4],具有快速、无损和高分辨等三维成像的优点。近年来

数字全息技术受到了众多研究者的关注,被广泛应用于生物学检测^[5]、粒子场测量、形貌分析、形变振动测量和信息加密等领域^[6~8]。

然而用于数字全息记录的 CCD 等光电探测器

收稿日期: 2009-10-10; 收到修改稿日期: 2009-11-30

基金项目: 浙江省优秀青年教师(0202108833)资助课题。

作者简介: 潘卫清(1976—),男,博士,副教授,主要从事信息光学和光电检测等方面的研究。

E-mail: pan_weiqing@163.com

光敏面尺寸小,分辨率低,限制了数字全息对物波高频信息的记录,从而导致数字全息重建像的分辨率远低于传统全息的分辨率。目前有两种方法可以提高数字全息的极限分辨率,使其适用于显微测量。一种方法是采用合成孔径技术^[9,10],通过移动 CCD 记录多幅不同位置的数字全息,最终合成一幅大记录面的数字全息,实现超分辨再现。另一种方法是通过引入显微物镜对待测物体进行预放大,从而减小物波高频分量的衍射角,使其被 CCD 记录提高分辨率,该技术操作简单,其横向分辨率可以达到亚微米量级,纵向分辨率达到纳米量级^[11]。但不利的是,在相衬成像时,显微物镜的引入会使再现像的相位发生弯曲和畸变,为了消除弯曲还原真实的物波相位分布,需要采用复杂的补偿处理技术。目前常用的处理方法有两种,第一种是采用物理补偿^[12],在参考光路中放置一个相同的显微物镜,并要求两个显微物镜到全息记录面的距离相等,从而将显微物镜引入的相位弯曲通过球面光干涉得到补偿。显然该方法对光路调节提出了很高要求,两干涉光臂中任一光路的微小改动都要求重新调整光路,给应用带来了许多不便。第二种方法是采用数字补偿,在全息的数字重建过程中将物波乘以一数字相位掩模来对相位弯曲进行补偿。比如 Ferraro 等^[13]提出在全息重建像面用一个空白全息像来对相位弯曲进行补偿,Colomb 等^[14]提出采用多项式拟合的方法在像面提取相位掩模,实现各类相位畸变的自动补偿。后来 Colomb 等^[15]还提出采用泽尼克多项式模型在全息记录面构建数字相位透镜,对各类畸变进行补偿,并对畸变进行了定量测量。Montfort 等^[16]针对以上各种数字补偿技术中,不同数字相位掩模的位置(像面或记录面)和参数对重建像的影响进行

了系统分析,发现这些技术虽然可以进行畸变校正,但可能会引起再现像的尺寸和位置发生变化,从而为定量测量和观测带来不便。为了避免曲面拟合,Colomb 等^[17]又提出了一种采用参考共轭全息图进行相位补偿的相衬显微数字全息技术,但该技术只能用于像面全息,不利于数字变焦和 CCD 空间带宽积的有效利用。

本文基于目前的相衬显微数字全息技术,考虑到既要还原被显微物镜真实放大的原始图像,又要使该技术不局限于像面全息,提出了一种基于系统标定的相衬显微数字全息技术。该技术利用预先拍摄的两幅参考数字全息图,来提取系统的必要参数,并分别构建位于记录面和像面的两个数字相位掩模,消除透镜引入的相位弯曲,还原真实放大的物波图像。

2 相衬显微数字全息记录与再现原理

相衬显微数字全息记录光路如图 1 所示。激光通过扩束和准直后经分束棱镜 BS1 分成两束平行光,一束经反射镜 M1 反射后照射透明待测物体,然后经显微物镜 MO1 放大形成物光,另一束则经过 M2 反射后直接照射显微物镜 MO2,形成球面参考光,最后两束光经过分束棱镜 BS2 在 CCD 记录面上叠加,形成干涉全息图。考虑到实际光路调节时,难以保证物光垂直于记录面入射,设物光的入射波矢为 $\mathbf{k}_o(k_{ox}, k_{oy})$,参考光的入射波矢为 $\mathbf{k}_r(k_{rx}, k_{ry})$,则全息图的干涉光强可表示为

$$I_H(x, y) = |O|^2 + |R|^2 + R^* O \exp\{j[(k_{ox} - k_{rx})x + (k_{oy} - k_{ry})y]\} + RO^* \exp\{-j[(k_{ox} - k_{rx})x + (k_{oy} - k_{ry})y]\}, \quad (1)$$

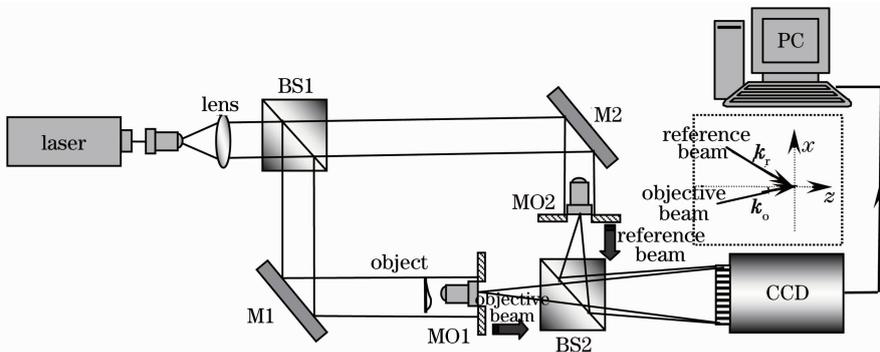


图 1 相衬显微数字全息记录光路图

Fig. 1 Recording scheme of phase-contrast microscopic digital holography

式中 O 和 R 分别表示到达记录面的物光和参考光的波前分布, $*$ 为复共轭符号。

(1)式中前两项为全息图中的零级衍射项,第三、四项是包含物波分量的衍射项,所以通过带通滤

波^[18],可以提取第三项或第四项进行数字全息重建。但要注意的是,这两项中的物光 O 同时受到参考光波前和与波前传播方向相关的线性相位因子 $\exp\{j[(k_{ox} - k_{rx})x + (k_{oy} - k_{ry})y]\}$ 的调制。而参考光的调制会使再现像的尺寸或形状发生变化,线性相位因子会使再现像的位置发生平移,甚至会移出再现现场,从而给测量和观测带来许多不便。为了得到真实的位于视场中心的物波再现像,在数字重建时,需要对滤波后的全息图(如第三衍射项)进行解调,得到经显微放大的物波数据,然后经菲涅耳衍射对物波进行成像重建。观察(1)式的第三项,可知其解调方法是,对滤波后的数字全息图如 $R^* O \exp\{j[(k_{ox} - k_{rx})x + (k_{oy} - k_{ry})y]\}$ 的数字掩模的相位分布为

$$\Gamma_H = \exp\{-j[(k_{ox} - k_{rx})x + (k_{oy} - k_{ry})y]\} R. \quad (2)$$

由(2)式可知,该数字掩模的相位分布取决于物波与参考波的相对入射方向 $\mathbf{k}_o - \mathbf{k}_r$ 及记录面上的参考光波前分布,这两个参数通过系统标定来确定。

然后对解调后的物光做 d 距离的菲涅耳衍射传播,得到像面的光场分布为

$$\Psi_1(x_i, y_i) = \frac{\exp(jkd)}{j\lambda d} \iint \Gamma_H R^* O \exp\{j[(k_{ox} - k_{rx})x + (k_{oy} - k_{ry})y]\} \exp\left\{j \frac{\pi}{\lambda d} [(x - x_i)^2 + (y - y_i)^2]\right\} dx dy. \quad (3)$$

如图2所示,所得到的像面光场 $\Psi_1(x_i, y_i)$ 其实是原始物波 $O_0(x_0, y_0)$ 经物镜 MO 在像面所成的放大实像,根据相干成像理论^[19],该像面光场可由放大的原始物光场 $O_0\left(\frac{x_i}{M}, \frac{y_i}{M}\right)$ 乘以一个物镜引入的二次相位因子而得到,即

$$\Psi_1(x_i, y_i) = \exp\left[\frac{j\pi}{\lambda d_i} \left(1 + \frac{d_o}{d_i}\right) (x_i^2 + y_i^2)\right] \times O_0\left(\frac{x_i}{M}, \frac{y_i}{M}\right), \quad (4)$$

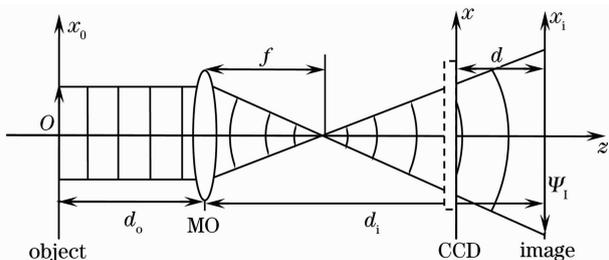


图2 显微成像示意图

Fig. 2 Sketch of microscopic imaging

式中 d_o, d_i 和 M 分别为透镜成像的物距、像距和成像放大倍率。由(4)式可知,物镜引入的二次相位因子会使原始物光场的相位分布发生弯曲,为了得到真实的原始物光场分布,重建像面光场 $\Psi_1(x_i, y_i)$ 需要乘以一共轭二次相位掩模,即

$$\Gamma_1 = \exp\left[-\frac{j\pi}{\lambda d_i} \left(1 + \frac{d_o}{d_i}\right) (x_i^2 + y_i^2)\right]. \quad (5)$$

利用基本的物像关系式 $\frac{1}{d_o} + \frac{1}{d_i} = \frac{1}{f}$, (5)式可以简化为

$$\Gamma_1 = \exp\left[-\frac{j\pi}{\lambda(d_i - f)} (x_i^2 + y_i^2)\right]. \quad (6)$$

对照图2, (6)式表明该数字掩模的相位分布正好对应平行照明光通过透镜在像面所形成的共轭球面波。

最后得到的经物镜放大后的原始物光场可表示为

$$O_0\left(\frac{x_i}{M}, \frac{y_i}{M}\right) = \Gamma_1 \Psi_1(x_i, y_i) = \Gamma_1 \frac{\exp(jkd)}{j\lambda d} \iint \Gamma_H R^* O \exp\{j[(k_{ox} - k_{rx})x + (k_{oy} - k_{ry})y]\} \exp\left\{j \frac{\pi}{\lambda d} [(x - x_i)^2 + (y - y_i)^2]\right\} dx dy. \quad (7)$$

由(7)式可以看出,要还原放大的原始物光场需要两个分别位于记录面和像面的数字相位掩模,而这两个数字相位掩模的引入与重建像面光场的放大倍率无关。

3 系统标定方法

由前面的分析可知,要得到真实的原始物光场的相位分布,关键在于正确确定 Γ_H 和 Γ_1 两个数字相位掩模的分布。根据(2)式和(6)式,这两个数字相位掩模均与全息记录系统的参数,如物光和参考光的相对入射方向、参考光的波前分布及显微物镜的焦距和位置等有关,而与待测物体的形貌和放置无关。因此,与双目机器视觉的测量相类似,只要事先对记录系统进行标定,获取这两个数字相位掩模的分布,然后就可以对各种微小待测物体进行相衬成像和测量。

具体的标定可以通过记录两幅没有待测物的参考数字全息图来完成。先布置好如图1所示的光路,然后拿掉显微物镜 MO1,使平面照明光直接与球面参考光干涉,记录全息图。其系统参数如图3(a)所示,设平面照明光的入射波矢为 $\mathbf{k}_l(k_{lx}, k_{ly})$, 球面参考光的入射波矢为 $\mathbf{k}_r(k_{rx}, k_{ry})$, 球面波

曲率半径为 h_r ，则通过对全息图进行滤波可得到第四衍射项的数据图，即

$$T_4 = \exp\left\{j\left[(k_{rx} - k_{lx})x + (k_{ry} - k_{ly})y + \pi \frac{x^2 + y^2}{\lambda h_r}\right]\right\}. \quad (8)$$

然后提取该衍射项的相位并解包裹，再用最小二乘拟合法^[20]提取相位中的一次项系数 $P_{10} = k_{rx} - k_{lx}$, $P_{01} = k_{ry} - k_{ly}$, 和二次项系数 $P_{20} = P_{02} =$

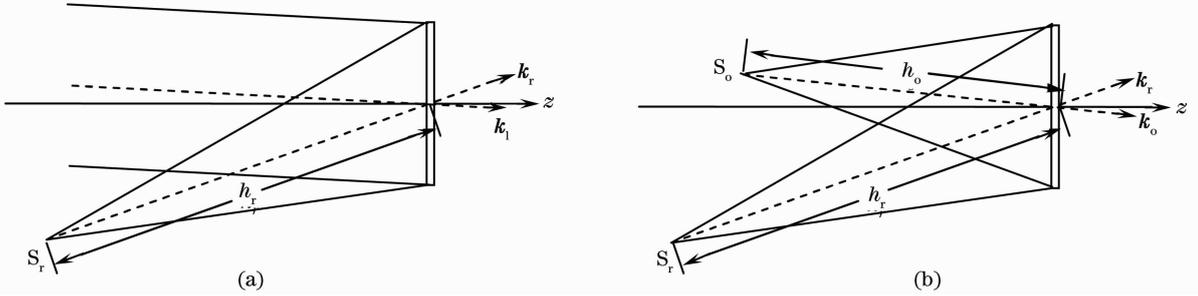


图3 系统标定的参数示意图。(a)不放置显微物镜的标定；(b)放置显微物镜后的标定

Fig. 3 Sketch map of the system parameters to be calibrated. (a) without microscope; (b) with microscope

接着在照明光路中正确放入显微成像物镜 MO1, 记录第二幅数字全息图, 系统参数如图 3(b) 所示, 其中球面物光的曲率半径为 h_o , 入射波矢为 $k_o(k_{ox}, k_{oy})$, 参考光参数同上。同样, 通过对全息图滤波可以得到第四衍射项的数据图, 即

$$T'_4 = \exp\{j[(k_{rx} - k_{ox})x + (k_{ry} - k_{oy})y + \pi/\lambda(1/h_r - 1/h_o)(x^2 + y^2)]\}. \quad (9)$$

再经过相位解包裹和最小二乘拟合提取相位中的一次项系数 $P'_{10} = k_{rx} - k_{ox}$, $P'_{01} = k_{ry} - k_{oy}$ 和二次项系数 $P'_{20} = P'_{02} = \frac{\pi}{\lambda} \left(\frac{1}{h_r} - \frac{1}{h_o} \right)$ 。其中一次相位系数给出了物光与参考光的相对入射方向, 结合前面得到的参考光波面参数 P_{20} , 可以构造出记录面上的相位掩模

$$\Gamma_H = \exp[j(P'_{10}x + P'_{01}y)] \exp[jP'_{20}(x^2 + y^2)]. \quad (10)$$

二次相位系数 P'_{20} 给出的是球面物光与球面参考光干涉后的波面参数, 由 $P_{20} - P'_{20} = \frac{\pi}{\lambda h_o}$ 可以得到球面物光在记录面上的波前参数, 再将该共轭波面做 d 距离的逆向菲涅耳衍射, 可以得到像面的数字相位掩模

$$\Gamma_1 = \frac{\exp(-jkd)}{j\lambda d} \iint \exp[-j(P_{20} - P'_{20})(x^2 + y^2)] \times \exp\left\{-j \frac{\pi}{\lambda d} [(x - x_i)^2 + (y - y_i)^2]\right\} dx dy. \quad (11)$$

$\frac{\pi}{\lambda h_r}$ 。这里一次相位系数给出的是球面参考波与平面照明光的相对入射方向, 而不是(2)式中物波与参考波的相对入射方向; 二次相位系数 P_{20} 给出的是球面参考波的波前分布参数, 可用于构造数字相位掩模。如果参考光不是球面波, 那么在数据拟合的时候可以选用更高阶次的拟合方程来确定参考光的波面参数。

4 实 验

采用的实验光路如图 1 所示, 其中光源是北京大学研制的 HN-1200 型 He-Ne 激光器, 波长为 632.8 nm; 全息记录的 CCD 采用 JT-2133 彩色 CCD 相机, CCD 尺寸为 3.6 mm × 2.7 mm, 像素 640 pixel × 480 pixel; 光路中使用的两个显微物镜是同一规格的, 其放大倍率为 20 倍, 数值孔径为 0.4, 焦距为 8.9 mm。

首先采用上述标定方法对系统进行标定。先拿掉显微成像物镜 MO1, 拍摄平面照明光与球面参考光干涉形成的全息图, 如图 4(a) 所示。然后对该全息图做带通滤波处理, 获取高频衍射项分量, 其频谱如图 4(b) 所示。显然, 频谱图中央存在两个很强的方形频带分量, 它们是全息图的三、四两项衍射分量的谱, 由于这两个频谱没有明显的中心极大值点, 因此无法通过其频谱来确定与入射方向有关的频谱偏移量。此外频谱图中还存在很多其他的亮点和亮斑, 这是光路中一些进入 CCD 的寄生光或寄生像引起的噪声信号。图 4(b) 中的虚线方框是选用的带通滤波器, 其尺寸为 94 pixel × 62 pixel, 它将落入框内的衍射频谱分量单独提取出来进行还原, 图 4(c) 和 (d) 分别给出了还原衍射项的相位包裹图和解包裹图。对图 4(d) 的解包裹相位图做二阶最小二乘拟合, 得到拟合系数 $P_{10} = -67.09$, $P_{01} = -81.24$, $P_{20} = P_{02} = 20.95$, 其中 P_{10} , P_{01} 给出的是球面参考

光与平面照明光的相对入射方向, P_{20} 给出的是球面参考光的波面参数, 由此可以计算出球面参考光

的曲率半径为 $h_r = 236.97 \text{ mm}$ 。

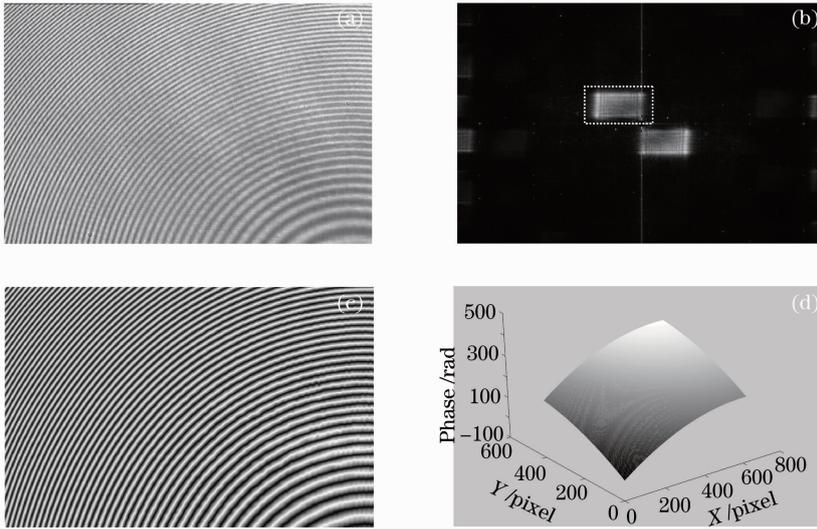


图 4 (a)平面照明光与球面参考光的干涉全息图;(b)全息图的频谱;滤波还原后的包裹相位图(c);解包裹相位图(d)
 Fig. 4 (a) Interferogram of the planar illuminating optical wave and spherical reference optical wave; (b) spectrum of the digital hologram; wrapped phase map (c); unwrapped phase map (d) extracted from hologram (a) after filtering and reconstruction

然后在物波光路中放入显微物镜 MO1, 记录两球面波干涉的全息图, 如图 5(a)所示, 对比图 4(a)可以发现图 5(a)的干涉条纹变稀变直了, 这说明采用球面参考光更有利于数字全息图的记录, 防止出现欠采样。与前一幅全息图的处理相类似, 对全息图 5(a)做滤波还原和相位解包裹处理, 得到图 5(b)所示的三维相位图, 该相位图对应的是全息图的高频衍射项如(9)式的相位图。通过二阶最小二乘拟合, 得到该相位图的拟合系数 $P'_{10} = -87.42, P'_{01} = -27.93, P'_{20} = P'_{02} = 7.68$ 。其中一次相位系数 P'_{10} 和 P'_{01} 给出的是球面物光与参考光的相对入射方向, 结合参考光波参数 P_{20} , 根据(10)式可以构造出记录面上的数字相位掩模, 如图 6(a)所示。再由二次相位系数 $P'_{20} = 7.68$,

$P_{20} = 20.95$, 可以得到球面物波的曲率半径 $h_o = 173.41 \text{ mm}$, 进而也可以构造出如图 6(b)所示的记录面上球面物波的相位分布。根据(11)式, 球面物波经一定距离的非涅耳衍射, 就可以得到像面上相位掩模的数据图 Γ_1 。其实对球面波而言, 相距 d 的两平面上的球面波曲率半径满足关系式 $h(z+d) = h(z) + d$, 因此也可以根据记录面上的球面波曲率半径 $h_o = 173.41 \text{ mm}$, 结合数字全息再现距离 d 直接得到像面上的球面物波曲率半径 $h_o + d$, 进而构造出第二个相位掩模数据图

$$\Gamma_1 = \exp\left[-\frac{j\pi}{\lambda(h_o + d)}(x_i^2 + y_i^2)\right], \quad (12)$$

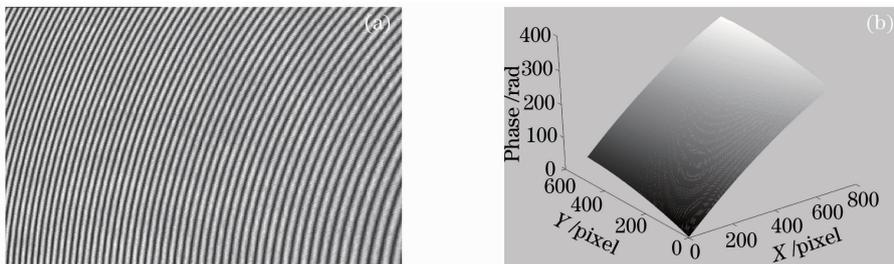


图 5 (a)两球面光波干涉的全息图;(b)全息图滤波还原后的解包裹相位图
 Fig. 5 (a) Interferogram of two spherical optical waves; (b) unwrapped phase map extracted from digital hologram (a)

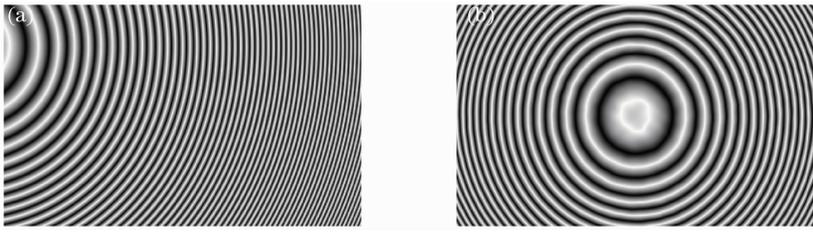


图 6 (a)全息记录面上的数字相位掩模相位图;(b)记录面上的球面物波相位图

Fig. 6 (a) Phase map of digital phase mask on holographic plane; (b) phase map of spherical object wave on holograph recording plane

利用以上的标定数据,对微小透明物体进行相衬显微数字全息验证实验。选用的待测物体是一些用喷雾器喷在玻璃片上的小水珠。先遮挡参考光,小心调整物体位置使其清晰成像于 CCD 记录面,拍摄到如图 7(a)所示的普通光学显微图像,此时光学成像的物距为 9.47 mm,像距 182.4 mm,成像放大倍率 19.3 倍。从图中可以看到水珠清晰的边缘以及一些微小的杂质,但无法观测其透明的轮廓形貌,其中箭头所示的水珠最大宽度约为 0.09 mm。然后加入参考光,拍摄数字全息图,如图 7(b)所示,该全息图的记录面与像面重合,属于像面全息,相当于图 2 中记录距离 $d=0$ 的情况。对全息图做滤波还原处理,得到图 7(c)所示的还原波面相位图。由于还原波面还未通过数字相位掩模校正,水珠的相位信息被调制在倾斜的球面波相位中,所能看到只是

图 7(c)中一些受水珠相位扰动的等相环形条纹,而且环形条纹的圆心不在视图中心。然后用系统标定得到的图 6 中的两个相位掩模对还原波面进行解调,得到图 7(d)和(e)所示的水珠相位信息。从图中可以看出,经数字相位掩模解调后,图中的环形条纹已完全消失,可以清晰地看到水珠类似小岛的三维轮廓形貌,以及当中的杂质分布情况,其中有 5 颗杂质异常突出,形成 5 个尖峰,仔细观察还可以发现小水珠的表面并不像肉眼看到的那么光滑,而是有许多类似波浪状的波纹,这些波纹可能是由水珠中的杂质或玻璃基片中的折射率分布不均所引起的。

为了进一步验证该技术的有效性和灵活性,实验中改变物距,使像面不与全息记录面重合,进行菲涅耳全息的记录和再现实验。首先增大物距,减小成像放大倍率,使像面位于记录面的前方,记录得到

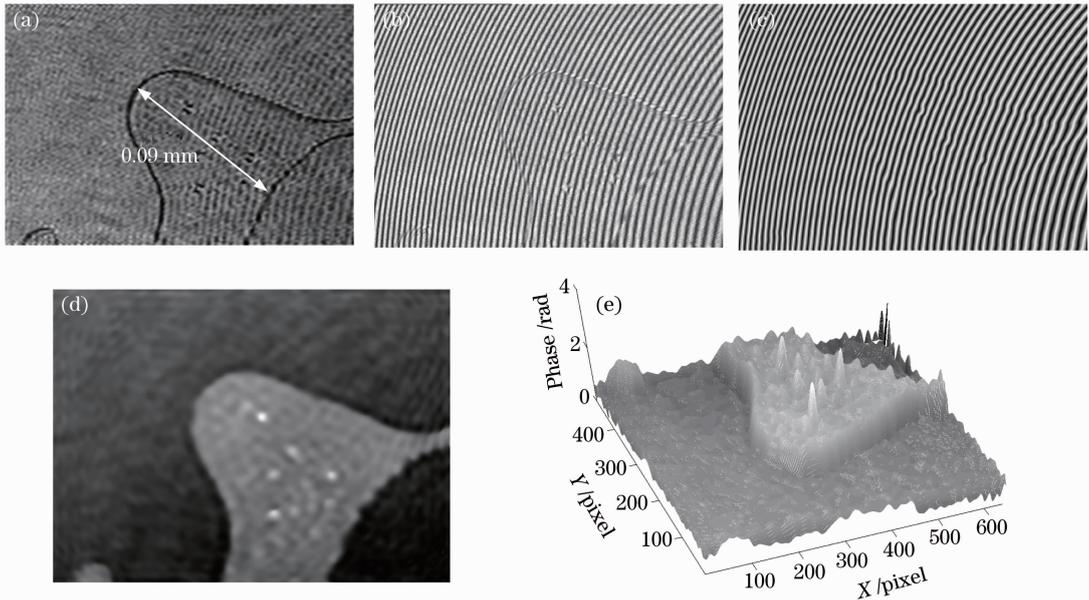


图 7 (a)小水珠的普通显微图像;(b)水珠的像面全息图;(c)全息图滤波还原后的包裹相位图;

(d) 经图 6 相位掩模解调后的包裹相位图;(e)水珠的解包裹三维相位图

Fig. 7 (a) Common microscopy of a small water bead; (b) image hologram of the water bead; (c) wrapped phase map extracted from the hologram (b); (d) wrapped phase map demodulated from the phase map (c) with the phase mask of Fig. 6; (e) unwrapped 3D phase map of the water bead

图 8(a) 所示的全息图。将全息图进行滤波和还原处理,再乘以图 6(a) 所示的相位掩模,然后做逆向自动聚焦成像^[21],得到图 8(b) 所示像面的光强分布图。此时,全息图的重建距离为 $d = -108$ mm,重建像的放大倍率为 7.3 倍。提取该重建像的相位如图 8(c) 所示,图中充满着环形条纹,说明此相位受明显的球面波弯曲,要还原小水珠的相位信息,需要对该相位图进行解调处理。将重建像乘以用(12)式构建的像面数字相位掩模,再重新提取相位得到图

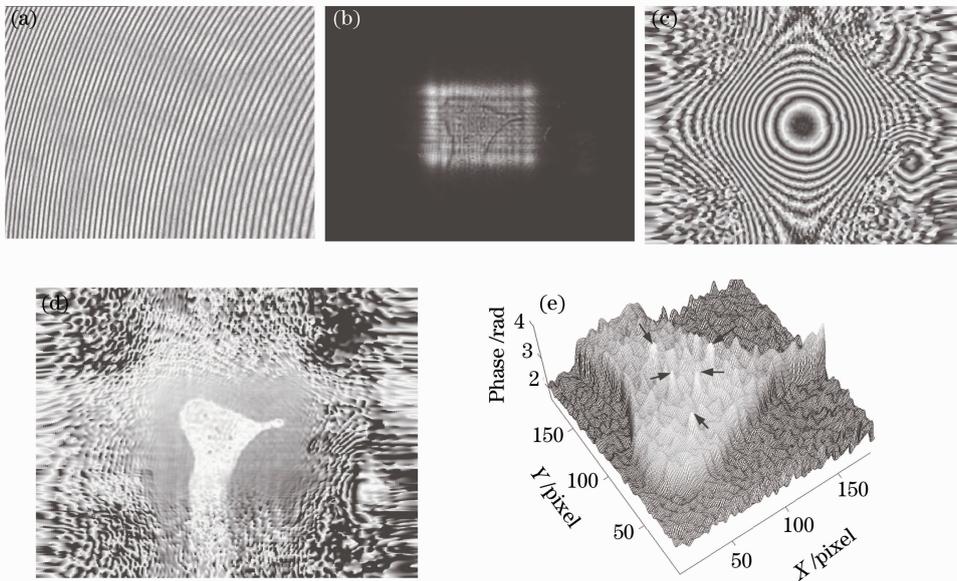


图 8 (a) 像面位于记录面前方的菲涅耳全息图;(b) 经过 $d = -108$ mm 菲涅耳衍射传播得到的像面强度图;
(c) 重建像的包裹相位图;(d) 经像面数字相位掩模补偿后的水珠包裹相位图;(e) 解包裹三维相位图

Fig. 8 (a) Fresnel digital hologram in the condition of the image plane located before the recording plane; (b) reconstructed intensity image from hologram (a) by numerical propagating $d = -108$ mm; (c) wrapped phase map of the reconstructed image; (d) compensated wrapped phase map by the digital phase mask on image plane; (e) 3D phase map unwrapped from (d)

减小物距,增加成像放大倍率,使像面位于记录面的后方,记录得到图 9(a) 所示的全息图。然后进行滤波还原,并乘上记录面上的相位掩模图 6(a),做距离为 $d = 230$ mm 的自动聚焦成像,得到重建像的光场分布,提取该光场的相位如图 9(b) 所示。从图中可以看到一些圆心位于视图中央的同心圆环,说明像面光场的相位存在严重的球面弯曲,需要用像面数字掩模来进行解调。将系统标定生成的球面物波图 6(b) 做 $d = 230$ mm 的菲涅耳衍射传播,得到像面数字掩模数据,然后乘以重建像面光场,并提取包裹相位如图 9(c) 所示。从图中可以看出,原来

8(d) 所示的包裹相位图,此时图中的环形条纹已完全消除,视图中央存在一幅清晰的水珠相位图像,但其尺寸比图 7(d) 的水珠图像小很多。然后进行相位解包裹,得到图 8(e) 所示三维相位图,从图中可以看出小水珠所处的基底面平直,水珠的轮廓清晰,图中箭头所指的是 5 个异常突出的尖峰,对应 5 颗小杂质。对比图 7(e) 发现两者形貌保持完全一致,只是图像分辨率因成像倍率的不同而存在差异。

的同心圆环已完全消除,出现了高分辨率的水珠图像,说明像面数字掩模已对相位的球面弯曲进行了很好的解调和补偿。最后对包裹相位做解包裹处理,得到图 9(d) 所示的三维水珠图像。由于成像放大倍率已增加到 42.8 倍,水珠的三维轮廓变得更为清晰细腻,由杂质引起的相位突起也显得更为明显。另外,虽然这里的成像放大倍率是图 7 中的 2 倍多,但相位解包裹图 9(d) 中的基底面仍然非常平直,说明数字相位掩模已对一次相位弯曲进行了正确的补偿。

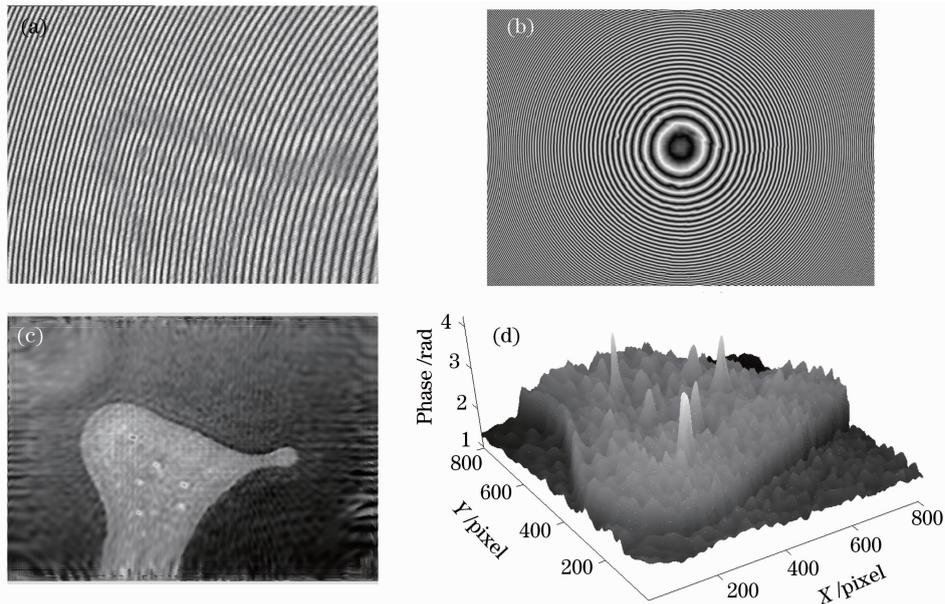


图 9 (a)像面位于记录面后方的菲涅耳全息图;(b)经过 $d=230$ mm 菲涅耳衍射传播得到的像面光场包裹相位图;
(c)经像面数字相位掩模补偿后的水珠包裹相位图;(d)解包裹三维相位图

Fig. 9 (a) Fresnel digital hologram in the condition of the image plane located after the recording plane; (b) wrapped phase map of the reconstructed image by numerical propagating $d = 230$ mm; (c) compensated wrapped phase map by the digital phase mask on image plane; (d) 3D phase map unwrapped from (c)

5 结 论

提出了一种基于系统标定的相衬显微数字全息技术,利用两个分别位于记录面和像面的数字相位掩模对相衬显微成像中的相位畸变进行补偿,但不改变显微成像的放大倍率。根据分析,这两个相位掩模的分布只与全息记录的系统参数有关,如物光与参考光的相对入射方向及其波前分布,而待测物体无关。给出了基于系统标定的相位掩模构建方法,其基本思路是在布置完光路后,预先拍摄两幅不放置待测物的参考数字全息图,再经过滤波还原和最小二乘拟合等数字处理对所需的系统参数进行标定,用于构建消除相位畸变的两个数字相位掩模。如果全息记录光路不发生调整,所构建的数字相位掩模就无需重新标定,可用于各种微小物体的测量。用 20 倍显微物镜对最大宽度不超过 0.09 mm 的小水珠进行了相衬显微验证实验,实验表明该技术可广泛适用于不同放大倍率的像面全息和菲涅耳全息,在不改变光路的情况下,所标定的相位掩模可对不同情况的相位畸变进行正确补偿。该技术可方便地用于三维显微观测和测量。

参 考 文 献

1 P. Marquet, B. Rappaz, J. Magistretti *et al.*. Digital holographic microscopy: a noninvasive contrast imaging technique

allowing quantitative visualization of living cells with subwavelength axial accuracy [J]. *Opt. Lett.*, 2005, **30**(5): 468~470

2 Di Jianglei, Zhao Jianlin, Fan Qi *et al.*. Phase correction of wavefront reconstruction in digital holographic microscopy [J]. *Acta Optica Sinica*, 2008, **28**(1): 56~61

邱江磊,赵建林,范琦等. 数字全息显微术中重建物场波前的相位校正[J]. *光学学报*, 2008, **28**(1): 56~61

3 D. Carl, B. Kemper, G. Wernicke *et al.*. Parameter-optimized digital holographic microscope for high-resolution living-cell analysis [J]. *Appl. Opt.*, 2004, **43**(36): 6536~6544

4 F. Pietro, G. Simonetta, A. Domenico *et al.*. Extended focused image in microscopy by digital holography [J]. *Opt. Express*, 2005, **13**(18): 6738~6749

5 Wang Yawei, Lei Haina, Bu Min *et al.*. Distribution characteristics and identification of several typical blood cells under optical phase models [J]. *Chinese J. Lasers*, 2009, **36**(10): 2629~2635

王亚伟,雷海娜,卜敏等. 几种典型血细胞的光学相位模型及其分布特征与识别方法 [J]. *中国激光*, 2009, **36**(10): 2629~2635

6 S. Murata, M. Yasuda. Potential of digital holography in particle measurement [J]. *Opt. Laser Technol.*, 2000, **32**(8): 567~574

7 G. Coppola, P. Ferraro, M. Iodice *et al.*. A digital holographic microscope for complete characterization of microelectromechanical systems [J]. *Meas. Sci. Technol.*, 2004, **15**(3): 529~539

8 X. Wang, D. Zhao, F. Jing *et al.*. Information synthesis (complex amplitude addition and subtraction) and encryption with digital holography and virtual optics [J]. *Opt. Express*, 2006, **14**(4): 1476~1486

9 Pan Weiqing, Zhu Yongjian, Lu Wei *et al.*. Super-resolution digital holography by beam scanning [J]. *Acta Optica Sinica*,

- 2008, **28**(s2): 299~303
潘卫清,朱勇建,鲁伟等. 光束扫描超分辨数字全息[J]. 光学学报, 2008, **28**(s2): 299~303
- 10 J. H. Massig. Digital off-axis holography with a synthetic aperture[J]. *Opt. Lett.*, 2001, **27**(24): 2179~2181
- 11 E. Cuche, P. Marquet, C. Depeursinge. Simultaneous amplitude-contrast and quantitative phase-contrast microscopy by numerical reconstruction of Fresnel off-axis holograms[J]. *Appl. Opt.*, 1999, **38**(34): 6994~7001
- 12 D. Malacara. *Optical Shop Testing* [M]. New Jersey: Wiley, 2007. 122~128
- 13 P. Ferraro, S. D. Nicola, A. Finizio *et al.*. Compensation of the inherent wave front curvature in digital holographic coherent microscopy for quantitative phase-contrast imaging[J]. *Appl. Opt.*, 2003, **42**(11): 1938~1946
- 14 T. Colomb, E. Cuche, F. Charrière *et al.*. Automatic procedure for aberration compensation in digital holographic microscopy and applications to specimen shape compensation[J]. *Appl. Opt.*, 2006, **45**(5): 851~863
- 15 T. Colomb, F. Montfort, J. Kühn *et al.*. Numerical parametric lens for shifting, magnification, and complete aberration compensation in digital holographic microscopy[J]. *J. Opt. Soc. Am. A*, 2006, **23**(12): 3177~3190
- 16 F. Montfort, F. Charrière, T. Colomb *et al.*. Purely numerical compensation for microscope objective phase curvature in digital holographic microscopy: influence of digital phase mask position[J]. *J. Opt. Soc. Am. A*, 2006, **23**(11): 2944~2953
- 17 T. Colomb, J. Kühn, F. Charrière *et al.*. Total aberrations compensation in digital holographic microscopy with a reference conjugated hologram [J]. *Opt. Express*, 2006, **14**(10): 4300~4306
- 18 E. Cuche, P. Marquet, C. Depeursinge. Spatial filtering for zero-order and twin-image elimination in digital off-axis holography[J]. *Appl. Opt.*, 2000, **39**(23): 4070~4075
- 19 J. W. Goodman. *Introduction to Fourier Optics*[M]. Greenwood Village: Robert, 2005. 108~110
- 20 S. Chatterjee, A. Hadi, B. Price. *Regression Analysis by Example*[M]. New York: Wiley, 2000. 21~26
- 21 F. Dubois, C. Schockaert, N. Callens *et al.*. Focus plane detection criteria in digital holography microscopy by amplitude analysis[J]. *Opt. Express*, 2006, **14**(13): 5895~5908