

白光衍射相位像光晕效应消除方法

丁海宁^{1,2,3}, 朱苗苗⁴, 马利红^{1,2,3*}, 李勇^{1,2,3}

¹浙江师范大学物理与电子信息工程学院, 浙江 金华 321004;

²浙江师范大学信息光学研究所, 浙江 金华 321004;

³浙江省光信息检测与显示技术研究重点实验室, 浙江 金华 321004;

⁴浙江师范大学工学院, 浙江 金华 321004

摘要 白光扩展光源的低空间相干性,使得相位像不可避免地会遭受光晕效应的影响。基于此,提出了一种基于希尔伯特变换的快速消除光晕效应的方法。该方法不需要样品的任何先验知识,只需对测量相位像的导数作希尔伯特变换,并将变换后得到的图像和原测量图像中正确的高频数据和低频数据准确混合,即可有效地消除光晕效应,并保留白光相位成像系统的高分辨率。将所提方法应用于实验获取的白光衍射相位像数据,包括标准聚苯乙烯微球数据和活体血红细胞数据。实验结果表明,所提方法可以快速有效地消除白光衍射相位像的光晕效应。

关键词 全息; 白光衍射相位成像; 相位像; 光晕效应; 希尔伯特变换

中图分类号 TB87.1

文献标志码 A

doi: 10.3788/CJL202047.0509001

Elimination Method of Halo Artifacts in White-Light Diffraction Phase Microscopy

Ding Haining^{1,2,3}, Zhu Miaomiao⁴, Ma Lihong^{1,2,3*}, Li Yong^{1,2,3}

¹College of Physics and Electronic Information Engineering, Zhejiang Normal University, Jinhua, Zhejiang 321004, China;

²Institute of Information Optics, Zhejiang Normal University, Jinhua, Zhejiang 321004, China;

³Key Laboratory of Researching Optical Information Detecting and Display Technology in Zhejiang Province, Jinhua, Zhejiang 321004, China;

⁴College of Engineering, Zhejiang Normal University, Jinhua, Zhejiang 321004, China

Abstract The phase image is inevitably affected by the halo effect because of the low spatial coherence of the extended white light source. Therefore, we propose a novel method of eliminating the halo effect based on the Hilbert transform in this study. This method does not require any prior knowledge about the measured sample and only needs Hilbert transform for obtaining the derivative of the measured phase image. Subsequently, the corrected low-frequency data and high-frequency data obtained from the acquired image after applying the Hilbert transform and from the original measured image, respectively, are carefully mixed. This method effectively eliminates the halo effects and preserves the high resolution of the white-light phase imaging system. The phase images obtained via white-light diffraction phase microscopy, including those of the standard polystyrene microspheres and the living red blood cells, are processed by applying the proposed method. The experimental results demonstrate that the proposed method can effectively and rapidly eliminate the halo effects associated with the white-light diffraction phase image.

Key words holography; white-light diffraction phase imaging; phase image; halo effect; Hilbert transform

OCIS codes 090.2910; 100.3175; 050.1940

1 引 言

衍射相位显微术^[1]是一种基于光栅衍射的共路

离轴定量相位显微成像技术,可以精确地获取样品的高分辨率相位信息。按采用的照明光源的不同,相位成像系统可以分为激光衍射相位成像系统^[2-3]

收稿日期: 2019-11-03; 修回日期: 2019-12-10; 录用日期: 2019-12-19

基金项目: 浙江省自然科学基金(LY17F050002)、国家自然科学基金(61377010)

* E-mail: zjnumlh@zjnu.cn

和白光衍射相位成像系统^[4-5]。后者采用白光作为照明光源,其相干长度非常短,可以很好地避免由光源强相干性导致的相干噪声,因此比前者具有更高的空间敏感性^[6-7]。然而,白光衍射相位成像系统采用扩展的白光光源照明,照明光波不可能是完全的平面光波,它的空间相干面积一般远小于测量视场,从而使得相位像中出现与物体结构相依赖的光晕效应^[8-9],阻碍对样品相位信息的准确测量。不仅是白光衍射相位成像系统,其他采用白光的相位成像技术,如 Zernike 相衬成像技术^[10-11]、SLIM(Spatial Light Interference Microscopy)相位成像技术^[12-13]、白光照明光强传输方程相位成像技术^[14-15],均存在光晕效应影响。目前解决光晕效应影响的方法主要有两大类。一类是提高照明光源的空间相干性^[8-9,16-18],一般通过减小照明光源的数值孔径,提高照明光源的空间相干面积来实现,但是这种方法会造成光通量降低,导致曝光时间增加,不利于实现动态测量。另一类方法是数值图像处理^[19-21],其中最有效的方法是 Nguyen 等^[19]提出的迭代数值重建方法,该方法在建立的部分相干相位成像物理模型基础上,结合硬件系统参数,采用最小二乘迭代算法,很好地消除了光晕效应,恢复了无光晕像,但是迭代运算费时,不利于实现实时消除光晕效应,且依赖于系统硬件参数。

本文基于白光衍射相位成像光晕效应的形成原理,提出了一种基于希尔伯特变换的新方法,可以快速有效地消除光晕效应。该方法不需要样品的任何先验知识,只需对图像进行一次希尔伯特变换,并混合正确的高频数据和低频数据,就可以有效地消除光晕效应,保留白光衍射相位成像系统的高分辨率信息。将该方法应用于实验获取的白光衍射相位像数据,包括标准微球数据和人体活体血红细胞数据。实验结果表明,提出的方法可以有效快速地消除白光衍射相位像的光晕效应。

2 白光衍射相位像光晕效应的形成原因

图 1 所示为白光衍射相位成像系统的光路示意图。虚线框中为明场光学显微镜的光路示意图,后继 $4f$ 结构光学模块即为建立的光栅衍射相位成像系统。首先,在显微镜的输出像平面上放置一个黑白光栅,由于光栅的衍射特性,输出光会变为包含样品信息的多级衍射光。然后,在透镜 L_1 的频谱平面放置滤波器。滤波器设计如图 1 所示,允许 $+1$ 级光完全通过矩形孔,作为物光波场, 0 级光经过滤波小孔后只能保留低频成分,作为参考光波场。最后,经透镜 L_2 进行再次傅里叶变换后,物光波场和参考光波场在 CCD 平面干涉叠加形成干涉图。

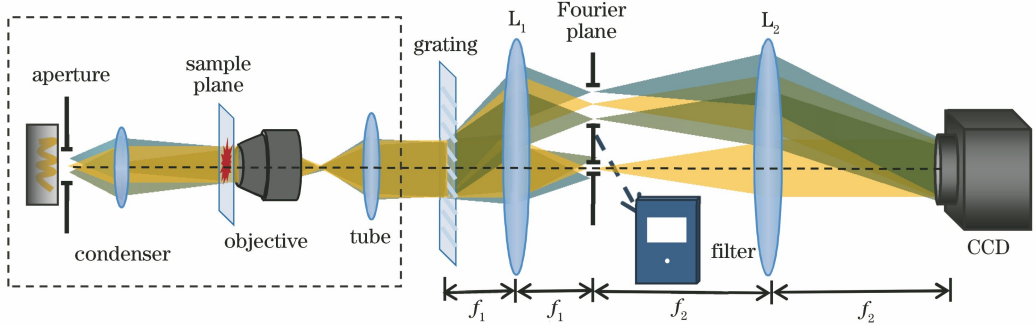


图 1 白光衍射相位成像系统光路示意图

Fig. 1 Schematic of white-light diffraction phase microscopy setup

系统测量项为物光场和参考光场的互相干函数。由于物光场和参考光场经过相同的光学元器件,两光场的时间延迟为 0 ,即 $\tau = 0$,因此被测互相干函数可表示为

$$\Gamma_{s,r}(r, r, 0) = \langle U_s(r, t) U_r^*(r, t) \rangle_t, \quad (1)$$

式中: U_s 表示物光波场函数; U_r 表示参考光波场函数; $\langle \rangle_t$ 表示时间平均; r 表示空间坐标; $*$ 表示共轭运算。假定光场是各态历经的稳态光场,其时间平均不随时间改变,即为时间统计平均。根据广义的维纳-欣钦定理,互相干函数 $\Gamma_{s,r}(r, r, \tau)$ 是交叉谱

密度函数 $W_{s,r}(r, r, \omega)$ 的傅里叶变换(ω 为时间角频率),则 $\Gamma_{s,r}(r, r, \tau)$ 又可表示为

$$\Gamma_{s,r}(r, r, 0) = \int W_{s,r}(r, r, \omega) d\omega = \int \langle U_s(r, \omega) U_r^*(r, \omega) \rangle d\omega, \quad (2)$$

式中: $U_s(r, \omega)$ 、 $U_r^*(r, \omega)$ 分别为 $U_s(r, t)$ 、 $U_r^*(r, t)$ 的傅里叶变换项。

根据光栅的衍射特性, 0 级光与 $+1$ 级光都携带了样品的全部信息。滤波器允许 $+1$ 级光全部通过矩形孔,则物光光场为

$$U_s(r, \omega) = T(r)U_i(r, \omega), \quad (3)$$

式中: $U_i(r, \omega)$ 表示被测样品的照明光场; $T(r)$ 为被测样品的透射率函数。

0 级光经过针孔滤波后作为参考光场, 参考光

场函数的表达式为

$$U_r(r, \omega) = [T(r)U_i(r, \omega)] \otimes h_0(r), \quad (4)$$

式中: $h_0(r)$ 为 0 级滤波孔径透过率函数的傅里叶变换; \otimes 表示二维卷积。将(3)式和(4)式代入(2)式得

$$\begin{aligned} \Gamma_{s,r}(r, r, 0) &= \int \langle T(r)U_i(r, \omega) \left[\int_{-\infty}^{\infty} T(r')U_i(r', \omega)h_0(r-r')d^2r' \right]^* \rangle d\omega = \\ T(r) \int \left[\int_{-\infty}^{\infty} W_i(r, r', \omega)h_0^*(r-r')T^*(r')d^2r' \right] d\omega &= T(r) \int \int_{-\infty}^{\infty} \Gamma_i(r-r', 0)h_0^*(r-r')T^*(r')d^2r' = \\ T(r)[T(r) \otimes h(r)]^*, \end{aligned} \quad (5)$$

式中: $h(r) = \Gamma_i^*(r, 0)h_0(r)$, $\Gamma_i^*(r, 0)$ 为光源的互相关函数的共轭项, $\Gamma_i(r, 0)$ 反映了照明光场的相干性; $W_i(r, r', \omega)$ 为样品平面照明光场的互谱密度函数, 假设光场是稳态均匀分布的, 则有 $W_i(r, r', \omega) = W_i(r-r', \omega)$; r' 为空间坐标。(5)式建立了测量量 $\Gamma_{s,r}(r, r, 0)$ 与样品透射率函数 $T(r)$ 之间的关系。求出互相关函数 $\Gamma_{s,r}(r, r, 0)$ 的相位, 可得到测量相位与真实相位的关系为

$$\varphi_m(r) = \varphi(r) - \arg[(T \otimes h)(r)], \quad (6)$$

式中: $\varphi_m(r)$ 为测量相位; $\varphi(r)$ 为样品的真实相位; $\arg[(T \otimes h)(r)]$ 为平滑后样品透射率函数的相位, 是一项低频项。正是该低频项导致样品测量相位值比真实相位值低, 并使测量相位像的周边出现负值, 这种现象称为光晕效应。

3 光晕效应实时消除方法

白光衍射相位成像系统中测量相位和真实相位的关系如(6)式所示。对(6)式进行求导, 由于 $\arg[(T \otimes h)(r)]$ 是一个低频函数, 它的空间导数很小, 因此可以近似忽略。以 x 维为例, 求导可以得到

$$\frac{d\varphi_m(x, y)}{dx} \approx \frac{d\varphi(x, y)}{dx}. \quad (7)$$

由(7)式可知, 测量相位的导数近似等于真实相位的导数。将(7)式进行希尔伯特变换, 可得

$$\begin{aligned} H \left[\frac{d\varphi_m(x, y)}{dx} \right] &= H \left[\frac{d\varphi(x, y)}{dx} \right] = \\ \frac{P}{\pi} \int_{-\infty}^{\infty} \frac{d\varphi(x', y)}{dx'} \frac{1}{x-x'} dx' &= \\ \frac{P}{\pi} \int_{-\infty}^{\infty} \frac{\varphi(x', y)}{(x-x')^2} dx' &= \varphi(x, y) \otimes \frac{1}{x^2}, \end{aligned} \quad (8)$$

式中: P 表示取 $x = x'$ 时的柯西主值。由(8)式可知, 对测量相位的导数进行希尔伯特变换得到的是真实相位与 $\frac{1}{x^2}$ 的卷积。在小尺度卷积时, $\frac{1}{x^2}$ 接近于

δ 函数, 由于任意函数与 δ 函数的卷积, 都是函数本身, 因此由测量相位导数的希尔伯特变换可以得到非常准确的高频数据。但是, 在大尺度卷积时, 相位分布在卷积操作后将被平滑, 消除光晕效应的同时会损失原来测量相位像中正确的低频数据。为了保证经过希尔伯特变换后, 相位分布的低频数据不被损失, 将希尔伯特变换后得到的相位图和原测量相位图进行比较, 取每个像素点的较大值, 作为最终的重建相位像, 从而得到消除光晕效应的相位像。

数值处理时为了提高计算速度, 可以通过傅里叶变换操作来进行希尔伯特变换, 即

$$\begin{aligned} H \left[\frac{d\varphi_m(x, y)}{dx} \right] &= \mathcal{F}^{-1} \left\{ \mathcal{F} \left[H \left[\frac{d\varphi_m(x, y)}{dx} \right] \right] \right\} = \\ \mathcal{F}^{-1} [-\operatorname{sgn}(k_x)k_x\varphi_m(k_x, k_y)] &= \\ \mathcal{F}^{-1} [|k_x| \varphi_m(k_x, k_y)], \end{aligned} \quad (9)$$

式中: k_x 为 x 方向的空间频率; k_y 为 y 方向的空间频率。

为了保留原白光衍射相位成像系统的高分辨率, 本文将相位像中大于相干长度频率的空间频率完全保留, 同时因为成像系统是圆对称的, (9)式又可以写成

$$\begin{aligned} H \left[\frac{d\varphi_m(x, y)}{dx} \right] &= \\ \begin{cases} \mathcal{F}^{-1} [k_r \varphi_m(k_x, k_y)], & k_r < \frac{1}{l_c} \\ \mathcal{F}^{-1} \left[\frac{1}{l_c} \varphi_m(k_x, k_y) \right], & k_r \geq \frac{1}{l_c} \end{cases}, \end{aligned} \quad (10)$$

式中: $k_r = \sqrt{k_x^2 + k_y^2}$, 为空间频率; l_c 为照明光波的相干长度, 在建立的白光衍射相位成像系统中, $l_c = 1.8 \mu\text{m}$ 。图 2 所示为本文提出的基于希尔伯特变换消除光晕效应方法的计算示意图。图中, $\varphi_m(\bar{r})$ 表示测量相位分布, $\varphi_m(\bar{k})$ 表示傅里叶变换后的测量相位分布, $\varphi'(\bar{r})$ 表示滤波后的相位分布, $\varphi(\bar{r})$ 表示

消除光晕效应后的相位分布, \bar{r} 和 \bar{k} 分别表示空间坐标和空间角频率。直接将滤波操作应用于测量相位像的频域, 白光衍射相位成像系统中频率高于照明光相干长度频率的细节信息不受光晕影响, 因此

被完全保留, 而受光晕影响的低频信息则被对应的滤波器滤波。对滤波后的相位图和原始测量相位图的每个像素进行比较并取较大值, 进而得到消除光晕效应的相位图。

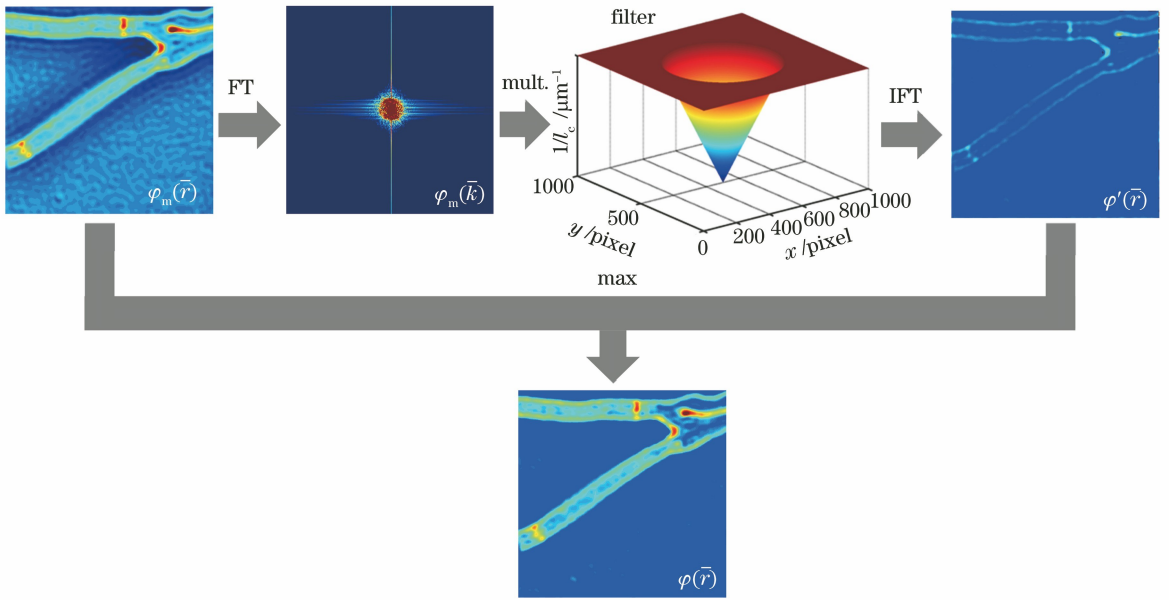


图 2 基于希尔伯特变换的消除光晕效应算法示意图

Fig. 2 Schematic of the method of eliminating halo effect based on Hilbert transform

4 实验结果及分析

为了证实提出的基于希尔伯特变换的方法能准确消除白光衍射相位像的光晕效应, 首先用该方法处理实验测量的标准聚苯乙烯微球像。微球直径为 $(2 \pm 0.05) \mu\text{m}$, 聚苯乙烯折射率为 1.59。滴入奥林巴斯物镜浸油(折射率为 1.518)浸没微球, 并盖上盖玻片。将此样品放入载物台, 调焦使之成像于 CCD 相机平面, 记录的干涉图如图 3(a) 所示。对干涉图进行频域滤波, 再经傅里叶逆变换得到物光波复振幅, 求反正切值得到包裹相位, 然后通过解包裹和相位补偿操作, 得到相位像^[5]。利用已知的折射率值和照明光波的中心波长, 计算得到的聚苯乙烯微球厚度像如图 3(b) 所示。从图 3(a) 和 3(b) 可以明显看出, 每个微球周边都存在明显的阴影, 即存在明显的光晕效应。由图 3(e) 中的测量曲线(实线)可知, 光晕部分的厚度值是负值。根据提出的希尔伯特变换方法的原理, 对测量厚度像的导数作希尔伯特变换, 正确的高频信息被保留, 光晕效应被滤除, 但是样品原本的低频信息中的正确部分也被滤除。因此, 将希尔伯特变换得到的图像和原测量图像仔细混合, 比较两者对应的像素值, 每个像素点取较大值, 将混

合图像作为处理后得到的厚度像, 如图 3(c) 所示。从图 3(c) 可以看出, 提出的基于希尔伯特变换的方法可以很好地消除测量像中的光晕效应, 并且保留了白光衍射相位成像系统的高分辨率特征。图 3(d) 所示为采用文献[19]提出的最小二乘迭代算法处理的结果。比较图 3(c) 和 3(d), 两者都很好地消除了光晕效应。过同一个微球中心[图 3(b)~(d) 中的白色实线]测量微球的厚度分布曲线, 结果如图 3(e) 所示, 实线为测量厚度分布, 虚线为利用所提方法得到的厚度分布, 点线为经过最小二乘迭代算法得到的厚度分布。图 3(e) 进一步显示了所提方法能有效消除光晕效应, 其消除效果与迭代算法几乎一致。但是, 所提方法能快速地消除光晕效应, 而迭代算法由于需要迭代计算, 计算费时, 不利于实际测量应用。

对测量的红细胞白光衍射相位像进行处理, 结果如图 4 所示。图 4(a) 是在建立的白光衍射实验系统上测量得到的人体活体红细胞干涉图, 通过相位重建^[5]得到的测量相位像如图 4(b) 所示, 红细胞周边存在明显的光晕效应。通过对测量相位像的导数作希尔伯特变换, 并将得到的相位图和原测量相位图混合, 对比两者对应的像素值, 每个像素点取两者的较大值, 将混合图像作为处理后得到的

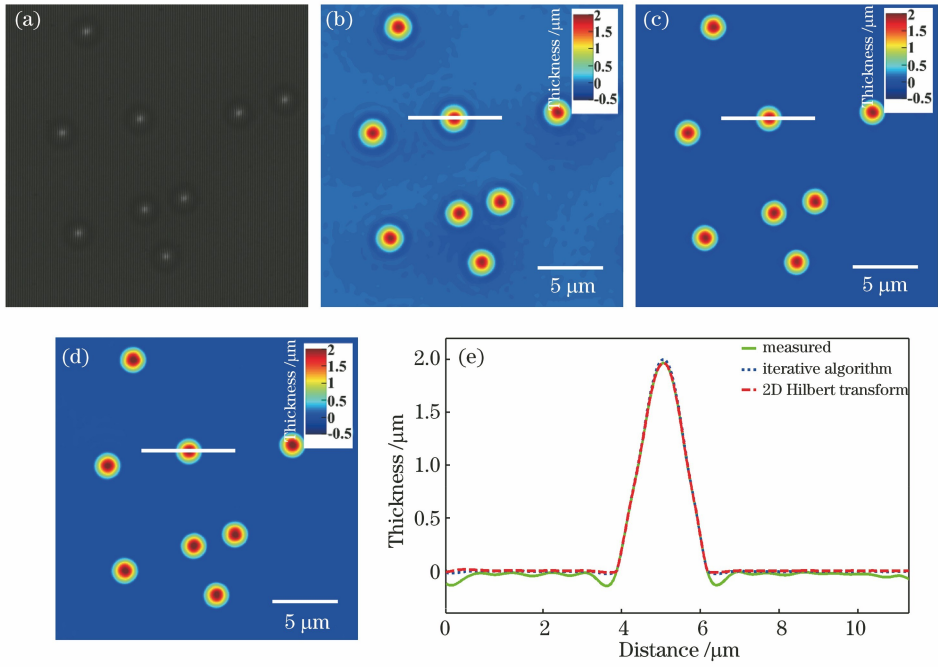


图 3 标准聚苯乙烯微球实验结果。(a)测量干涉图;(b)测量厚度像;(c)利用所提方法重建的厚度像;
(d)利用迭代方法重建的厚度像;(e)沿图 3(b)~(d)实线测得的微球厚度分布图

Fig. 3 Experimental results of standard polystyrene microspheres. (a) Measured interferogram; (b) measured thickness image; (c) reconstructed thickness image by the proposed method; (d) reconstructed thickness image by the iterative algorithm; (e) thickness profiles of the same standard polystyrene microsphere along the solid lines in Fig. 3(b)–(d)

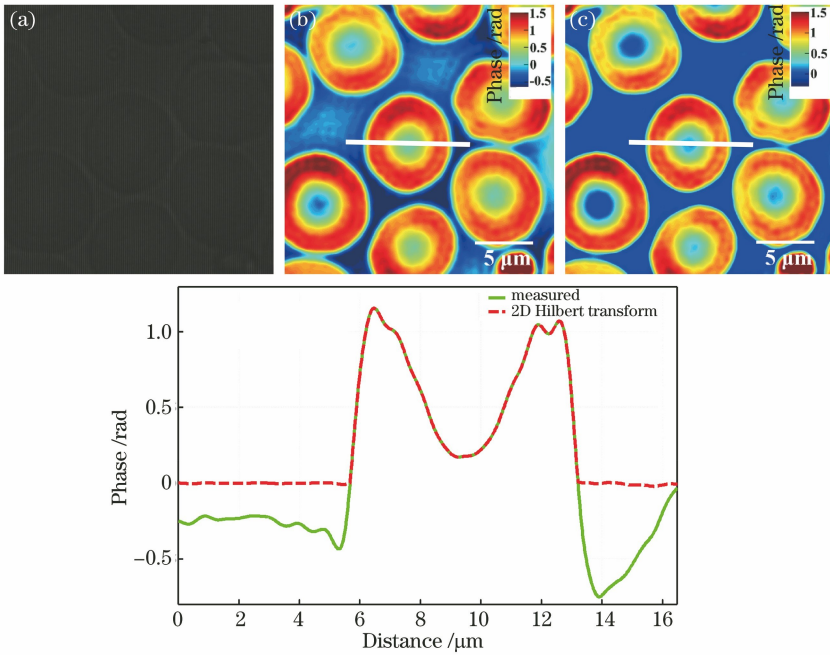


图 4 红细胞实验结果。(a)测量得到的干涉图;(b)测量相位像;
(c)利用所提方法重建的相位像;(d)沿图 4(b)和 4(c)中实线测得的相位分布图

Fig. 4 Experimental results of red blood cells. (a) Measured interferogram; (b) measured phase image; (c) reconstructed phase image by the proposed method; (d) phase profiles of the red blood cell along the solid lines in Fig. 4(b) and Fig. 4(c)

相位分布像,如图 4(c)所示。从图 4(c)可以看出,所提方法可以很好地消除测量相位像中的光晕效应。过同一个血红细胞中心[图 4(b)和图 4(c)中的实线]测量其中心相位分布曲线,结果如图 4(d)所示,实线为测量相位分布,虚线为经所提方法处理后得到的相位分布。图 4 表明提出的基于希尔伯特变换的方法能有效消除各类被测样品的光晕效应,并能保留原测量系统的高分辨率。

5 结 论

本文针对低相干光源的衍射相位成像系统存在的光晕效应问题,提出了一种基于希尔伯特变换的新方法。利用该方法处理了实验测量的标准聚苯乙烯微球和人体活体血红细胞的相位图,实验结果证明所提方法能有效地消除样品周围的光晕效应。虽然使用的初始相位图是基于白光衍射相位成像系统测得的,但所提方法也可以应用于其他受光晕影响的白光系统。该方法能有效快速地消除光晕效应,适用于实际无光晕白光相位成像。

参 考 文 献

- [1] Bhaduri B, Edwards C, Pham H, et al. Diffraction phase microscopy: principles and applications in materials and life sciences[J]. *Advances in Optics and Photonics*, 2014, 6(1): 57-119.
- [2] Popescu G, Ikeda T, Dasari R R, et al. Diffraction phase microscopy for quantifying cell structure and dynamics[J]. *Optics Letters*, 2006, 31(6): 775-777.
- [3] Majeed H, Ma L H, Lee Y J, et al. Magnified Image Spatial Spectrum (MISS) microscopy for nanometer and millisecond scale label-free imaging[J]. *Optics Express*, 2018, 26(5): 5423-5440.
- [4] Bhaduri B, Pham H, Mir M, et al. Diffraction phase microscopy with white light[J]. *Optics Letters*, 2012, 37(6): 1094-1096.
- [5] Zhang J H, Ma L H, Li Y, et al. Halogen-light quantitative phase imaging with common-path digital holographic microscopy based on grating diffraction[J]. *Chinese Journal of Lasers*, 2018, 45(6): 0609003.
张佳恒, 马利红, 李勇, 等. 卤素灯照明光栅衍射共路数字全息显微定量相位成像[J]. *中国激光*, 2018, 45(6): 0609003.
- [6] Kemper B, Stürwald S, Remmersmann C, et al. Characterisation of light emitting diodes (LEDs) for application in digital holographic microscopy for inspection of micro and nanostructured surfaces[J]. *Optics and Lasers in Engineering*, 2008, 46(7): 499-507.
- [7] Farrokhi H, Boonruangkan J, Chun B J, et al. Speckle reduction in quantitative phase imaging by generating spatially incoherent laser field at electroactive optical diffusers[J]. *Optics Express*, 2017, 25(10): 10791-10800.
- [8] Edwards C, Bhaduri B, Nguyen T, et al. Effects of spatial coherence in diffraction phase microscopy[J]. *Optics Express*, 2014, 22(5): 5133-5146.
- [9] Nguyen T H, Edwards C, Goddard L L, et al. Quantitative phase imaging with partially coherent illumination[J]. *Optics Letters*, 2014, 39(19): 5511-5514.
- [10] Zernike F. How I discovered phase contrast[J]. *Science*, 1955, 121(3141): 345-349.
- [11] Born M, Wolf E. Principles of optics: electromagnetic theory of propagation interference and diffraction of light[M]. Britain: Cambridge University Press, 1999.
- [12] Majeed H, Nguyen T H, Kandel M E, et al. Label-free quantitative evaluation of breast tissue using Spatial Light Interference Microscopy (SLIM)[J]. *Scientific Reports*, 2018, 8: 6875.
- [13] Min E, Kandel M E, Ko C J, et al. Label-free, multi-scale imaging of *ex-vivo* mouse brain using spatial light interference microscopy[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 39667.
- [14] Komuro K, Nomura T. Object plane detection and phase-amplitude imaging based on transport of intensity equation[J]. *Optical Review*, 2017, 24(5): 626-633.
- [15] Zhang L, Tang Q J, Deng D N, et al. Field-of-view correction for dual-camera dynamic phase imaging based on transport of intensity equation[J]. *Chinese Journal of Lasers*, 2019, 46(8): 0804005.
张璐, 汤其剑, 邓定南, 等. 基于光强传输方程的双相机动态相位成像的视场校正[J]. *中国激光*, 2019, 46(8): 0804005.
- [16] Maurer C, Jesacher A, Bernet S, et al. Phase contrast microscopy with full numerical aperture illumination[J]. *Optics Express*, 2008, 16(24): 19821-19829.
- [17] Zuo C, Sun J S, Li J J, et al. High-resolution transport-of-intensity quantitative phase microscopy with annular illumination[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7: 7654.
- [18] Otaki T. Artifact halo reduction in phase contrast microscopy using apodization[J]. *Optical Review*, 2000, 7(2): 119-122.
- [19] Nguyen T H, Kandel M, Shakir H M, et al. Halo-

- free phase contrast microscopy [J]. Scientific Reports, 2017, 7: 44034.
- [20] Kandel M E, Fanous M, Best-Popescu C, et al. Real-time halo correction in phase contrast imaging [J]. Biomedical Optics Express, 2018, 9(2): 623-635.
- [21] Yin Z Z, Kanade T, Chen M. Understanding the phase contrast optics to restore artifact-free microscopy images for segmentation [J]. Medical Image Analysis, 2012, 16(5): 1047-1062.