

并行共焦显微检测技术及其研究进展

涂龙^{1,2} 余锦¹ 樊仲维¹ 边强¹ 葛文琦¹ 刘洋¹ 张雪¹ 黄科¹
聂树真¹ 李晗¹ 貂泽强^{1,2}

(¹ 中国科学院光电研究院光电工程部, 北京 100094; ² 中国科学院研究生院, 北京 100049)

摘要 共焦显微术是一种重要的微小物体成像技术, 由于具有高精度、高分辨率及容易实现三维重构图像的优势而被广泛应用于微纳三维形貌测量。近年来, 并行共焦显微检测技术引起各国专家的广泛关注, 该技术将单点扫描变为多路同时并行探测, 大大提高了三维检测速度。综述了并行共焦显微检测技术的基本原理, 系统论述了近年来国内外在并行共焦显微检测技术方面的研究进展以及作者在这方面的研究。按照实现并行检测的方法对7种并行共焦显微检测技术进行了分类介绍, 并指出了各种方法的优缺点。最后总结了目前存在的技术难题, 分析了未来的发展趋势, 为我国进一步开展此项研究提供技术参考。

关键词 显微术; 并行共焦显微术; 微纳检测; 数字微镜; 静态扫描

中图分类号 TH742 **文献标识码** A **doi**: 10.3788/LOP49.080006

Parallel Confocal Microscopic Detection Technique and Its Research Progress

Tu Long^{1,2} Yu Jin¹ Fan Zhongwei¹ Bian Qiang¹ Ge Wenqi¹ Liu Yang¹
Zhang Xue¹ Huang Ke¹ Nie Shuzhen¹ Li Han¹ Mo Zeqiang^{1,2}

¹ Department of Optoelectronic Engineering, Academy of Opto-Electronics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100094, China
² Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Abstract Confocal microscopy is an important imaging technique for micro structure, and it is widely used in micro-nano three-dimensional (3D) topographic measurement due to its high precision, high resolution and ease of use to realize 3D image reconstruction. In recent years, parallel confocal microscopy has attracted extensive attention of the worldwide experts. This technology substitutes a single point scanning pattern for synchronously multiple-beam parallel detection, greatly improving the 3D testing speed. The basic principle and the worldwide research progress of parallel confocal microscopy are reviewed and the author's research in the field is briefly introduced. Introduction to seven categories is presented according to the parallel detection methods of parallel confocal microscopy, and the advantages and disadvantages of each type are pointed out. Finally, the existing technical difficulties are summarized and the development trend is analyzed to provide technical reference for further research in China.

Key words microscopy; parallel confocal microscopy; micro-nano detection; digital micromirror device (DMD); static scanning

OCIS codes 180.1790; 180.6900; 170.1790

1 引言

近年来, 微器件和微光机电系统(MOEMS)的实验研究和工业生产对其表面三维(3D)形貌检测提出了越来越高的要求。共焦显微技术由于其高精度、高分辨率、非接触和独特的轴向层析成像能力以及易于实现三维图像重构等功能在微纳检测、精密测量和生命科学研究等领域得到了广泛的应用, 欧美发达国家已研制

收稿日期: 2012-03-09; 收到修改稿日期: 2012-03-27; 网络出版日期: 2012-05-05

作者简介: 涂龙(1988—), 男, 硕士研究生, 主要从事激光技术及其应用等方面的研究。E-mail: tulong@aoe.ac.cn

导师简介: 余锦(1971—), 男, 博士, 研究员, 主要从事全固态激光与非线性光学频率变换技术等方面的研究。

E-mail: jinyu@aoe.ac.cn

出了高精度的成熟产品^[1~4]。共焦显微技术是目前光学显微领域最尖端的技术之一,进口激光共焦显微产品价格昂贵,国内尚无成熟产品,需要我们开展相关研究。

传统的共焦显微检测技术都是基于光源、被照物点和探测器三点彼此共轭的原理进行单点机械扫描,因此扫描速度比较慢,机械控制系统复杂,扫描所引起的振动限制了测量的精度,并存在渐晕现象,不易实现实时快速的三维测量。为解决共焦显微镜成像速度慢、视场小的缺点,并行共焦显微检测技术成为当前的研究热点。该方法采用微光学器件实现对光束的分割,使单点扫描变为多光束同时并行扫描,极大地提高了测量速度^[5]。本文对各国研究的并行共焦显微检测技术进行了调研,按实现并行检测的方法对并行共焦显微检测技术进行了分类介绍。

2 共焦显微技术原理简介

2.1 单点共焦显微技术

共焦显微技术的概念首先由 Wilson 于 20 世纪 60 年代前后提出^[6],随后多位学者对共焦成像进行了更细致的研究^[7]。Lukosz^[8]原理指出,能用牺牲视场的办法来改善分辨率,也就是通过缩小物体被照明的区域来改善成像分辨率,共焦显微技术正是用减小视场来换取高分辨率。其基本思想是实现光源、被照物点和探测器三点处于彼此对应的共轭位置,其工作原理如图 1 所示。其横向分辨率是相同数值孔径的普通光学显微镜的 1.4 倍,轴向分辨率可以达到亚微米级。中国科学院光电研究院的田维坚等^[9]在 1999 年给出了共焦三维检测的理论。在共焦显微镜三维成像的过程中,系统的有效点扩展函数是照明和成像子系统点扩展函数的乘积,即

$$h_{\text{con}} = h_1 h_2, \quad (1)$$

而不像一般串级系统是两个点扩展函数的卷积,这样系统总的点扩展函数变窄了,因而改善了总的点扩展特性。这是共焦系统分辨率优于一般显微系统的根本原因。

2.2 并行共焦显微技术

与通常的共焦显微技术相比,并行共焦显微技术用点光源列阵并行投射到被测物平面上,对同一层共焦剖面上的样点进行同时探测。如图 2 所示,其技术关键是通过光学元件的分光实现一系列点光源,同时成像在物面上照明物点,然后物面各点又同时成像在探测器上,它们都是同时点对应的,即用一点光源列阵同时完成了全场共焦二维信息的采焦与记录,再通过轴向扫描,就可以完成对物待测物体的三维重构^[10,11],其重构示意图如图 3 所示。这样既做到了提高测量速度,又简化了系统,降低了成本。

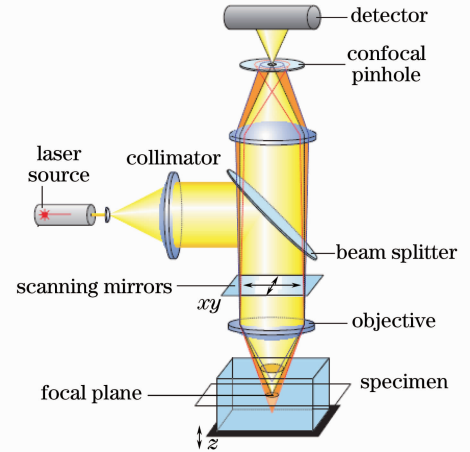


图 1 单点共焦显微技术示意图

Fig. 1 Schematic diagram of single-point confocal microscopy

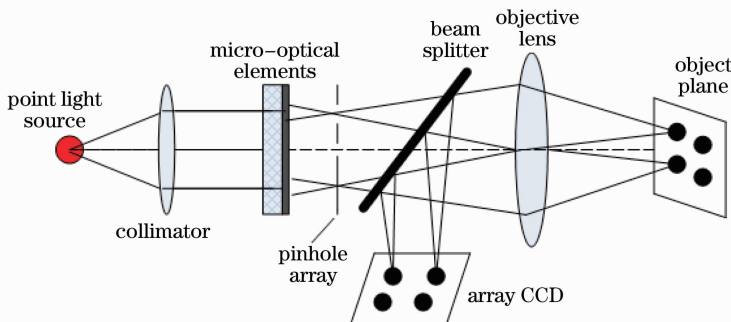


图 2 并行共焦显微示意图

Fig. 2 Schematic diagram of parallel confocal microscopy

田维坚等^[9]已经对并行共焦显微技术做了理论上的证明,得出并行共焦检测探测面的总光场分布是各并行点光源形成的微共焦光路的光场分布和,且任一微共焦光路的响应与常规单点共焦显微镜的响应相同,因此对于整个系统而言,相当于大量共焦系统同时工作,从而实现了并行共焦检测。

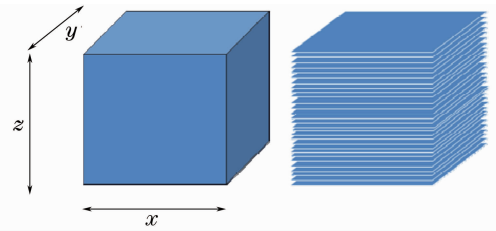


图3 并行共焦显微技术三维重构简图

Fig. 3 3D image reconstruction for parallel confocal microscopy

3 国内外并行共焦显微检测技术研究现状及分析

并行共焦显微检测技术可以大大提高检测速度,引起了各国专家的普遍关注,国内外研究人员提出了各类并行共焦检测方法。本文按实现并行检测方法的不同,对并行共焦显微检测技术做了7种划分: Nipkow转盘法、微透镜阵列法、达曼光栅法、像散法、集成光纤束法、数字微镜法和彩色色差法。下面将分别对这7类方法的研究进展进行论述,并在数字微镜法中简要介绍作者提出的一种新方法。

3.1 基于 Nipkow 转盘的并行共焦显微检测技术

Nipkow 盘扫描法最早是在 1884 年由德国科学家 Nipkow 提出的,后来由其他学者用于共焦显微检测系统中,用 Nipkow 盘来代替单个针孔,实现了多光束的分时扫描,提高了测量精度。Xiao 等^[12]在 20 世纪 80 年代进行了改进,结构原理如图 4 所示。在高速旋转的 Nipkow 转盘上呈螺旋状周期分布着针孔阵列,每一时刻被测面被不同针孔处的光源所照明,观察到的共焦剖面像是与被测物剖面上与照明针孔共轭的离散点。由于 Nipkow 转盘的高速旋转以及针孔阵列的螺旋状分布,这些离散点在被测物剖面快速扫描,对眼睛或其他光电信号接收器件形成积分效应,给人一种观察到整个剖面的感觉。这种方法由于实现了一维多点并行探测,所以比传统单点扫描的速度高。但是 Nipkow 转盘上只有一组组针孔是透光的,来自光源的光大部分被转盘阻挡,光能利用率低,仅为 1% 左右;此外 Nipkow 转盘的制作较复杂,转动带来的振动误差影响测量的精度。

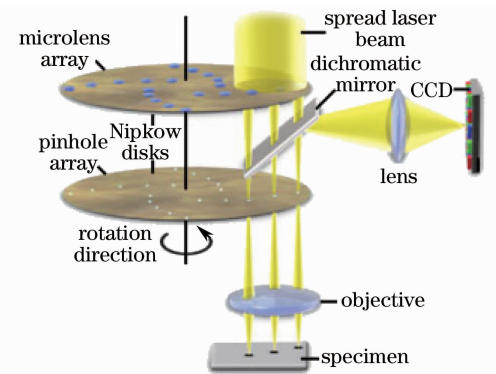


图4 Nipkow 转盘共焦显微系统示意图

Fig. 4 Schematic diagram of Nipkow spinning-disk confocal microscopic system

德国学者 Jordan 等^[13]利用 Nipkow 盘扫描法对待测物体进行二维 X-Y 平面扫描,利用压电陶瓷驱动完成了 Z 轴扫描,同时还证明,当系统采用机械筒长 160 mm,数值孔径 0.95 的物镜,工作距离为 70 μm 时,其轴向分辨率和横向分辨率分别可以达到 10 nm 和 0.35 μm ,由此可见 Nipkow 盘能够实现快速扫描,并且使测量精度达到了纳米水平。但是该光学系统的轴外像差比较大,需要对轴外像差进行校正。

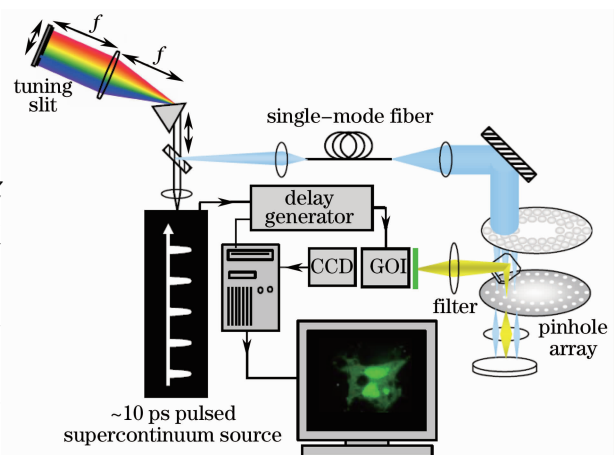


图5 帝国理工大学建立的实验系统

Fig. 5 Experimental setup made by Imperial College London

2007 年,英国帝国理工学院生化中心的 Grant 等^[14]成功研制出了基于 Nipkow 转盘的共焦系统。系统采用重复频率为 50 MHz 的超连续谱皮秒脉冲激光器,波长调谐范围为 470~490 nm。由于采用 Nipkow 转盘实现了多点并行探测,所以比传统单点扫描的速度高。每秒能采集 10 幅图像,可以对生物细胞进行实时检测。

由于采用微透镜阵列与 Nipkow 转盘的组合,大大提高了光束传输效率,避免了像素串扰,使成像更加清晰。其实验系统如图 5 所示。

3.2 基于微透镜阵列的并行共焦显微检测技术

自从 1994 年德国斯图加特大学的 Tiziani 等^[15,16]直接用微透镜阵列代替共焦光学系统中的物镜,实现了全场并行共焦检测以来,基于微透镜阵列的并行共焦显微检测技术得到各国科学家的广泛研究。Tiziani 等设计的并行共焦系统如图 6 所示。采用这种方法大大提高了光能利用率,提高了测量速度。其深度响应曲线的半峰全宽为 $0.9\ \mu\text{m}$,轴向分辨率达到 $100\ \text{nm}$ 。

1998 年,日本高岗电器制造公司的 Ishihara 等^[17]变换微透镜阵列的位置,利用微透镜阵列产生一个二维点光源阵列,用远心光组作为共焦系统的物镜,形成并行微共焦光路。系统如图 7 所示,采用针孔阵列光阑和偏振光学系统阻挡了杂散光的通过,提高了信噪比。针孔阵列、微透镜阵列和 CCD 上的像素相互匹配,都为 $480\ \text{pixel}\times 480\ \text{pixel}$ 像素。实验系统测量 $9.6\ \text{mm}\times 9.6\ \text{mm}\times 0.64\ \text{mm}$ 范围的样品只需 $0.4\ \text{s}$,能实现对样品的快速检测,Z 轴测量精度达 $1\ \mu\text{m}$ 。

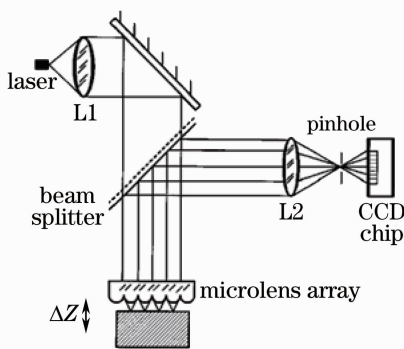


图 6 基于微透镜阵列的三维共焦分析示意图

Fig. 6 Arrangement for confocal three-dimensional analysis with a microlens array

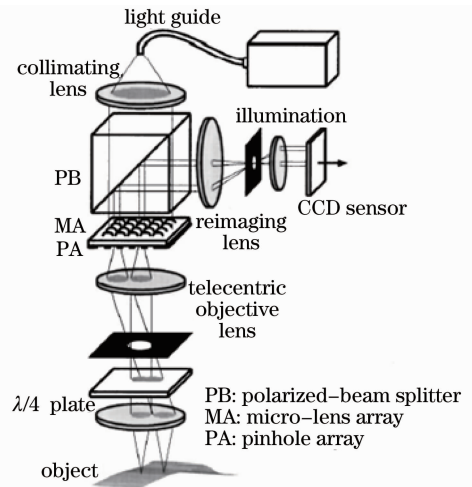


图 7 非扫描多光束共焦显微镜

Fig. 7 Nonscanning multiple-beam confocal microscope

田维坚等^[18]在 1998 年提出了一种利用微透镜针孔合成器件实现全场三维面形并行检测、记录的共焦方法。该方法对同一剖面实现了同时并行检测,并首次采用了 CCD 面阵像元取代小孔光阑直接截取三维信息光强。采用微透镜阵列提高了光能利用率,利用小孔阵列光阑阻挡了杂散光的通过,提高了信噪比。该检测系统视场范围 $4\ \text{mm}\times 4\ \text{mm}$,物距在 $10\sim 100\ \text{mm}$ 量级,最大纵向测量范围 $1\ \text{mm}$,精度为 $20\ \mu\text{m}$,相对误差小于 10% 。同年,德国的 Eisner 等^[19]使用微透镜阵列和针孔阵列组成微光学合成器件应用于共焦系统中,此微光学合成器件产生均匀的点光源阵列,实现了同一剖面同时测量,系统的光能利用率和信噪比得到了较大提高。

2003 年,合肥工业大学的 Wang^[20]研究了基于微透镜针孔阵列的全场并行共焦探测技术,针对常规并行共焦检测技术中的不足,研究新的方法与技术来有效抑制光源的噪声和漂移对测量结果的影响,同时可以在较大采样间距下获得较高的轴向分辨率,有效解决测量分辨率和测量速度之间的矛盾。

2008 年,南昌大学的袁冠伟^[21]研究了基于微透镜阵列的并行光纤束共焦显微镜,设计了光纤束共焦显微系统中的耦合透镜和光纤束末端的微物镜等光学元件,并对设计结果进行了像质评价分析。

微透镜法是目前采用较多的一种方法,其光能利用率较高,但是微透镜本身的制作工艺比较复杂,其焦距无法严格保持一致,无法满足较高的测量精度要求。要提高共焦检测系统的轴向分辨率,就要增大物镜的数值孔径,由于微透镜直径小,这就造成微透镜焦距很小,因此限制了系统的轴向测量范围,纵向测量范围一般在几百微米以内。

3.3 基于达曼光栅的并行共焦显微检测技术

为了获得更高的系统分辨率,国内外学者把一些新的测量方法应用在共焦系统中,比如清华大学提出了

一种利用达曼光栅的并行共焦检测装置^[22,23],其系统原理如图8所示,整套系统包括10 mW He-Ne激光器、针孔滤波器、聚光透镜、 5×5 阵列的达曼光栅、二向色镜、成像透镜组、滤光片、共焦针孔阵列板和二维光电探测器,被测样品置于二向色镜的下方。由于达曼光栅的性质,多通道之间的光强均匀,各个通道之间间距可调,消除杂散光效果好,有利于荧光检测,其横向分辨率为 $20 \sim 40 \mu\text{m}$ 。该系统结构简单,利用微加工工艺制作达曼光栅可降低成本,有很好的应用前景。

3.4 基于像散法的并行共焦显微检测技术

基于像散法的并行共聚焦检测技术利用微光学器件和像散元件来实现并行像散光路,通过像散镜调制光场强度的分布来获取系统的正焦信息,实现并行的高分辨率和高精度的正焦信息提取,进而重构出物体的三维形貌。其实验原理如图9所示。像散镜在弧矢和子午方向上成像时横向放大率与纵向放大率不同,造成像点的失真。利用这一特性把被测物体距离物方焦点(即弧矢焦点和子午焦点中心位置)位置的不同转变为像方不同方向上的散斑光场能量分布的变化,通过光电探测器即可得到位置和能量之间的关系,进而求出离焦量。此方法理论上能够抑制光源的噪声和漂移对测量结果的影响,且探测光场的并行性解决了测量速度和测量精度之间的矛盾。合肥工业大学的毕美华等^[24]对此做了深入的研究,针对系统中光斑序列图片的探测特性获取提出了模板匹配算法,该算法是针对单个光斑进行的,提高了探测特性曲线获取的速度。

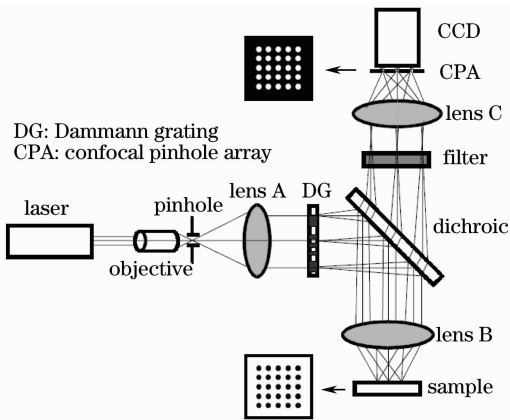


图8 基于达曼光栅的并行荧光共焦显微示意图

Fig. 8 Arrangement for confocal three-dimensional analysis with a microlens array

3.5 基于集成光纤束的并行共焦显微检测技术

2005年,西安交通大学激光与红外应用研究所的王昭等^[25]设计了集成光纤束并行共焦测量系统,利用集成光纤束面板进行光束分割,产生二维点光源阵列来实现并行共焦光路,光纤同时起到共焦测量中针孔的作用,从而实现对测量表面的全场同步检测。系统设计的轴向测量分辨率为 $1 \mu\text{m}$,横向为 $20 \mu\text{m}$ 。

2010年,中国计量学院的Shi Yan等^[26]成功研制了多光纤并行共焦显微镜,如图10所示,与传统的基于透镜阵列并行共焦的探测技术相比,这套系统用光纤束代替了CCD阵列探测器,大大提高了信噪比。由于光纤具有良好的弯曲性,该套装置适用于体内生物组织检测。基于集成光纤束的并行共焦显微检测技术具有结构紧凑、调试简单、制造成本低等优点,但是目前集成光纤阵列中的光纤数目并不多,只能用于小面积检测,不适合大面积同时检测。

3.6 基于数字微镜的并行共焦显微检测技术

数字微镜(DMD)是一种新型、全数字化的平面显示

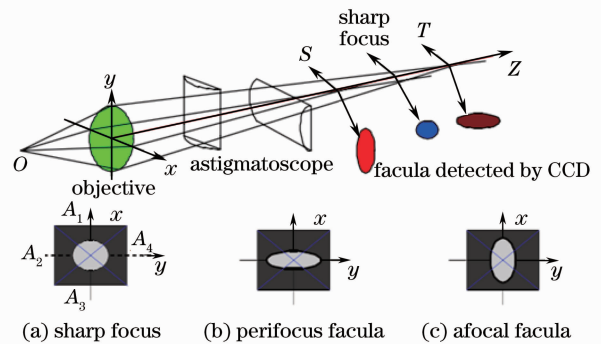


图9 像散法示意图

Fig. 9 Schematic diagram of astigmatic method

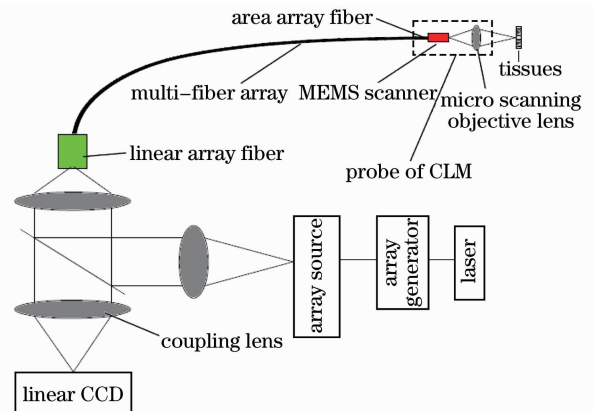


图10 基于集成光纤束的快速并行激光共焦显微镜

Fig. 10 Fast confocal laser microscope (CLM) based on parallel multi-fiber array

器件,应用微电子机械系统(MEMS)的工艺将反射微镜阵列和互补金属氧化物半导体(CMOS)静态随机存取存储器(SRAM)集成在同一块芯片上。DMD具有开关速度快、亮度高、对比度高和可靠性高等优点。基于DMD工作的光路结构简单,易于实现,这些优点使DMD成为最优秀的空间光调制器之一^[27]。最近几年,国内外一些学者成功地将数字微镜应用到并行共焦显微检测上,取得了丰硕的成果^[28,29]。这种方法通过DMD,实现对光束的分割,从单点扫描变为多路并行探测,同步对被测表面的不同点进行瞄准检测,在配套的三维重构程序辅助下,实现全场同步三维测量,大大提高了扫描速度,克服了现有激光显微镜扫描速度比较慢、操控扫描头和样品运动的机械控制复杂等缺点。

2001年,美国加州大学的Fainman等^[30]成功研制出基于DMD的并行共焦显微镜,其原理如图11所示。他们完成了微脉管系统快速并行点扫描,进而实现了对微脉管系统的三维重构,其轴向分辨率为 $(3.00 \pm 0.16) \mu\text{m}$ 。2010年,浙江大学现代光学仪器国家重点实验室的Zhifeng Feng等^[31]研制出了基于DMD的并行激光共焦显微镜,完成了对皮上组织的实时三维测量,分辨率达到228 line/mm,其实验原理如下:激光器发出的光束经扩束准直和分色镜分光后以 24° 的角度入射到DMD上,与竖直方向顺时针偏转 12° 的光线被反射到样品上产生荧光反射回来并被CCD接受,与竖直方向逆时针偏转 12° 的光线被滤除。DMD的偏转状态由计算机控制,按照周期为6、单镜片方式进行扫描,即完成一次平面扫描需要DMD移动36次,其扫描模式图如图12所示。

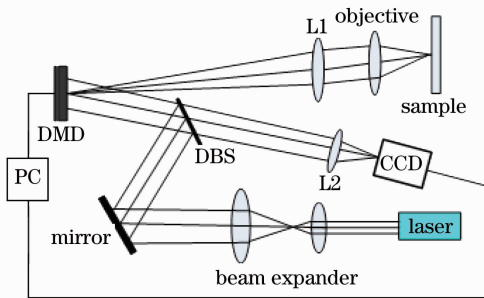


图11 基于DMD的荧光并行共焦显微镜

Fig. 11 Optical system of parallel confocal fluorescence microendoscope based on DMD

2011年,上海理工大学的Wenmei Hou等^[32]研制出了基于DMD的并行共焦显微镜,其原理如图13所示。该系统利用DMD产生特定的图案对光源进行调制,形成多路并行共焦检测工作模式,在不损失分辨率的前提下,大大提高了测量速度。系统中虚拟针孔的大小和周期等关键参数具有程序可控制性,能够根据不同的要求对样品进行测量。解决了分光棱镜内表面反射作用对共焦成像造成的干扰问题。设计了DMD横向扫描策略,对样机进行了测试实验,获得了系统的深度响应曲线,并且成功还原了被测物表面的微结构。

2011年,本实验室设计了基于DMD器件的并行扫描共焦检测系统,实验装置如图14所示。光源发出的光束经过分束镜以后,由物镜聚焦在被测面上,从被测面反射的光束经过物镜和分束镜后分成两束光,一束投射到探测器1上,另外一束投射到探测器2上。探测器针孔的位置分别对称地位于像焦平面之前和之后 ΔZ 的距离。当物面位于焦平面时,两探测器针孔位置相对于像焦平面对称,两探测器上的光强相等,两探测器输出信号之差为零。当物面偏离焦平面一定位移时,两探测器上的光斑大小不再相等,探测器输出光强信号也不同。则根据两探测器输出信号差值的大小 I_D ,便可判断物面离焦量的大小。 I_D 的计算公式为

$$I_D = I(+\Delta Z) - I(-\Delta Z). \quad (2)$$

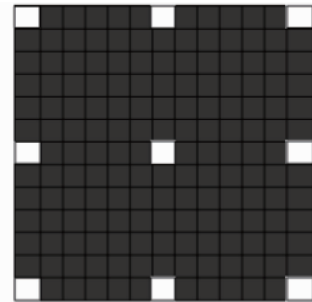


图12 基于DMD的荧光并行共焦显微镜横向扫描模式

Fig. 12 Multipoint scan pattern of parallel confocal fluorescence microendoscopy based on DMD

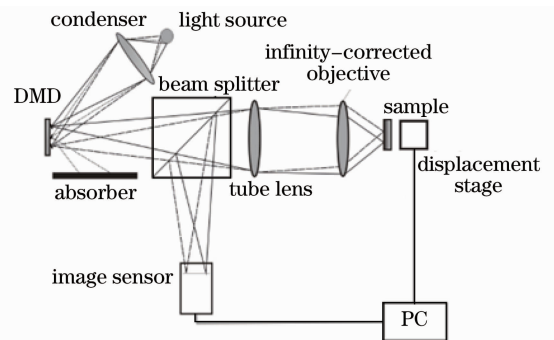


图13 基于DMD的并行共焦显微光路图

Fig. 13 Optical configuration of DMD-based confocal microscope

通过使用光斑光强差动算法可以有效抑制光源的噪声和漂移对测量结果的影响,利用差动共焦特性曲线中的线性关系,在较大采样间距下获得较高的轴向分辨率。滤波针孔和偏振片的引入大大减小了激光直接打在 DMD 上因相干叠加产生的图像模糊现象,该方案为工业微纳三维形貌检测提供了一种新方法。

3.7 基于彩色色差法的并行共焦显微术

基于彩色色差法的轴向扫描技术最初是由 G. Molesini 等^[33]提出的,他们发明了基于色差法的光学轮廓仪,实现了对样品表面位置的检测。随后,这种波长和焦平面对应的方法被应用到共焦显微镜上。近年来基于色差的共焦显微术在高速和高精度非接触光学微纳测量、表面轮廓测量以及深度测量上得到了广泛应用^[34~37]。2000年,美国加州大学的 Sungdo Cha 等^[38]在美国国防部和美国国家科学基金的赞助下,成功研制了全静态彩色色差法的并行共焦显微镜。其原理如图 15 所示。

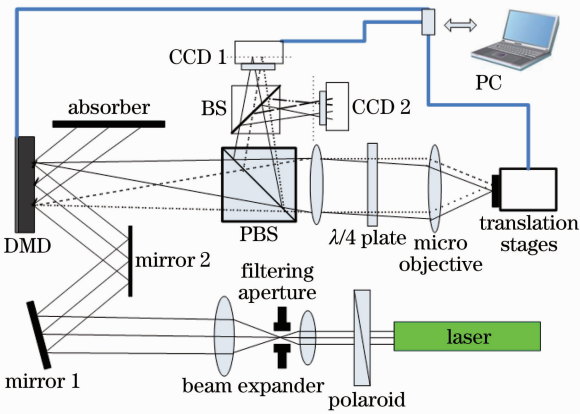


图 14 基于 DMD 的并行差动共焦显微系统示意图

Fig. 14 Parallel differential confocal microscopic system based on DMD

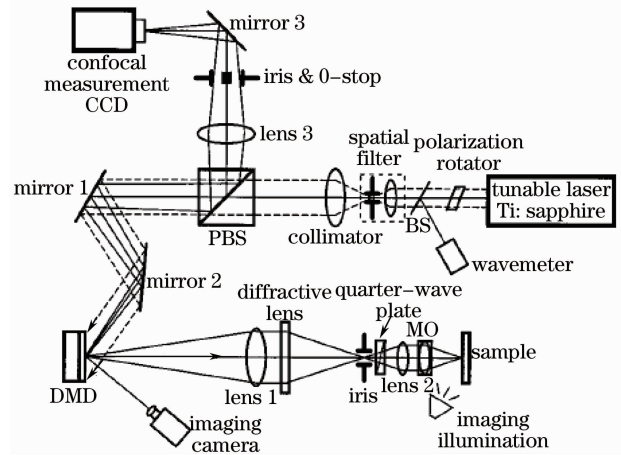


图 15 彩色色差全静态并行共焦显微原理示意图

Fig. 15 Schematic diagram of nontranslational, chromatic confocal microscope

该仪器的最大特点整个三维扫描过程是静态的,没有机械传动部分。其实验装置如图所示,可调谐钛宝石激光器的波长调谐范围为 790~900 nm,发出的激光经过衍射光学元件后,不同颜色激光的焦平面分开,而且 48.3 nm 的颜色变化范围和 26.4 μm 的焦平面位置变化范围成严格线性关系,因此可以通过改变激光波长来实现对样品的轴向扫描,其轴向分辨率为 0.39 μm。钛宝石激光器发出的激光经过 DMD 后分割为多路并行光路,同步对被测表面的不同点进行瞄准检测,从而实现了样品表面的横向扫描。消偏振分光棱镜大大消除了杂散光的影响,提高了信噪比。整个系统的纵向通过彩色色差法完成轴向扫描,横向通过并行探测的方式大大提高了扫描速度,在系统保持静态的条件下完成对样品的高精度三维扫描。该系统的不足之处是系统成本太高、轴向测量范围有限。

2009年,韩国科学技术高级研究院的 B. S. Chun 等^[39]也研制出了全静态彩色色差共焦显微镜,和加州大学的不同之处是,其横向并行扫描是先通过 DMD 对光束进行分割后打到样品表面,再用光栅光谱仪对从样品表面反射回来的宽光谱光源(波长范围 500~600 nm)进行同时探测,轴向扫描也是通过彩色色差法来完成的。其轴向分辨率达到 0.72 μm,550 nm 波长的视场范围 284 μm×284 μm。

4 结束语

微光机电制造技术及微纳检测技术的快速发展对其表面三维形貌测量提出了越来越高的要求和需要。并行共焦显微检测技术由于其非接触、高速度、高分辨率及易于实现三维重构的功能受到国内外专家学者的广泛关注,并已经广泛地应用到有关三维形貌测量的科学研究和工程应用中,尤其是在工业微纳制造和检测、工程表面测量和生物细胞检测^[40]等领域。但是,影响并行共焦显微探测技术的因素也有很多,如采用微光学元件进行分光产生的塔尔博特效应造成像间串扰,会降低图像的清晰度。合肥工业大学的余卿等^[41]对此已经作了深入的研究,并且提出了较好的解决办法。其他因素诸如探测器的光子效率和分辨率都会影响系统的检测精

度^[42,43]。因此,提高并行共焦显微检测系统的可靠性和稳定性是当前亟待研究和解决的问题。

基于 DMD 的并行共焦显微检测技术由于能通过程序设计控制各微反射镜的偏转状态,因而能灵活地实现各式各样的并行横向扫描方式,应用范围更加广泛。基于二元光学元件的彩色色差轴向扫描技术能在样品不需要轴向移动的情况下完成对样品的轴向扫描,所以二元光学元件有可能代替步进电机完成对样品的轴向扫描。如果将横向的并行分光技术和轴向的彩色色差扫描相结合,就能在样品完全静止的情况下完成对物体的三维形貌测量,这有可能成为将来共焦显微检测领域的研究方向。在共焦显微探测领域,我国与欧美发达国家还有很大差距,并行共焦显微检测技术有待我们进行更加深入的理论和实验研究。

参 考 文 献

- 1 T. Wilson, S. J. Hewlett. Superresolution in confocal scanning microscopy[J]. *Opt. Lett.*, 1991, **16**(14): 1062~1064
- 2 D. K. Hamilton, T. Wilson. Three-dimensional surface measurement using the confocal scanning microscope[J]. *Appl. Phys. B*, 1982, **27**(4): 211~213
- 3 H. J. Tiziani, M. Wengner, D. Steudie. Confocal principle for macro and microscopic surface and defect analysis[J]. *Opt. Engng.*, 2000, **39**(1): 32~39
- 4 T. Wilson, C. Sheppard. Theory and Practice of Scanning Optical Microscopy[M]. London: Academic Press, 1984
- 5 Tian Weijian, Yang Jianwen, Bao Zhengkang *et al.*. New method for measuring the properties of optical systems with microoptics components[C]. *SPIE*, 1996, **2899**: 263~268
- 6 T. M. Wilson. Confocal Microscopy[M]. New York: Academic Press, 1990
- 7 D. K. Hamilton, T. Wilson, C. J. R. Sheppard. Experimental observations of the depth-discrimination properties of scanning microscopes[J]. *Opt. Lett.*, 1981, **6**(12): 625~626
- 8 W. Lukosz. Optical systems with resolving powers exceeding the classical limit II [J]. *J. Opt. Soc. Am.*, 1967, **57**(7): 932~939
- 9 Tian Weijian, Chen Bo, Guo Lürong *et al.*. Theoretical analysis for parallel confocal detecting method[J]. *Acta Optica Sinica*, 1999, **19**(10): 1381~1385
田维坚, 陈波, 郭履容等. 并行共焦三维检测方法的理论分析[J]. *光学学报*, 1999, **19**(10): 1381~1385
- 10 M. Gu, C. J. Sheppard. Three-dimensional image formation in confocal microscope under ultra-short-laser-pulse illumination[J]. *J. Mod. Opt.*, 1995, **42**(4): 747~748
- 11 Thomas C. Trusk. 3D Reconstruction of Confocal Image Data[M]. Charleston: Springer, 2011. 243~272
- 12 G. Q. Xiao, T. R. Corel. Real-time confocal scanning optical microscope[J]. *Appl. Phys. Lett.*, 1988, **53**(8): 716~718
- 13 H. J. Jordan, M. Wegner, H. Tiziani. Highly accurate non-contact characterization of engineering surfaces using confocal microscopy[J]. *Meas. Sci. Technol.*, 1998, **9**(7): 1142~1151
- 14 D. M. Grant, J. McGinty, E. J. McGhee *et al.*. High speed optically sectioned fluorescence lifetime imaging permits study of live cell signaling events[J]. *Opt. Express*, 2007, **15**(24): 15656~15673
- 15 H. J. Tiziani, R. Achi, R. N. Kramen *et al.*. Theoretical analysis of confocal microscopy with microlenses[J]. *Appl. Opt.*, 1996, **35**(1): 120~125
- 16 H. J. Tiziani, H. M. Uhde. Three-dimensional analysis by a microlens-array confocal arrangement[J]. *Appl. Opt.*, 1994, **33**(4): 567~572
- 17 Mitsuhiro Ishihara, Hiromi Sasaki. High-speed surface measurement using a non-scanning multiple-beam confocal microscope[J]. *Opt. Engng.*, 1999, **38**(6): 1035~1040
- 18 Tian Weijian, Ding Zhihua. A confocal method for measuring whole-field three-dimensional surface topography[J]. *Acta Optica Sinica*, 1998, **18**(6): 757~761
田维坚, 丁志华. 一种全场三维共焦检测的新方法[J]. *光学学报*, 1998, **18**(6): 757~761
- 19 M. Eisner, N. Lindlein, J. Schwider. Confocal microscopy with a refractive microlens-pinhole array[J]. *Opt. Lett.*, 1998, **23**, 748~749
- 20 Wang Yonghong, Yu Xiaofen, Li Ruijun. Non-scanning 3D profile parallel confocal detecting system based on DLP technology[C]. *SPIE*, 2003, **5253**: 437~441
- 21 Yuan Guanwei. Theoretical Analysis and Design on Optic-Fiber Bundle Confocal Microscopical System[D]. Nanchang: Nanchang University, 2008. 30~35
袁冠伟. 光纤束共焦显微系统的理论分析与设计[D]. 南昌: 南昌大学, 2008. 30~35

- 22 Rong Yang, Qingsheng He, Minxian Wu. Parallel confocal systems for biomedical application[C]. *SPIE*, 2001, **4378**: 127~132
- 23 Yang Rong, Xie Wenzhang, Zhang Liang *et al.*. Biochip reseach progress [J]. *Progress in Biotechnology*, 1999, **19**(4): 33~38
杨蓉, 谢文章, 张亮等. 生物芯片研究进展[J]. *生物工程*, 1999, **19**(4): 33~38
- 24 Bi Meihua. Study for the System of Optics in Parallel Confocal Measurement Based on Astigmatism[D]. Hefei: Hefei University of Technology, 2009. 7~12
毕美华. 基于像散原理的并行共焦检测光学系统的研究[D]. 合肥: 合肥工业大学, 2009. 7~12
- 25 Wang Zhao, Zhu Shengcheng, Tan Yushan *et al.*. Parallel confocal measurement through integrated optical fiber bundle plate[J]. *Chinese J. Lasers*, 2005, **32**(1): 105~109
王昭, 朱升成, 谭玉山等. 集成光纤束并行共焦测量[J]. *中国激光*, 2005, **32**(1): 105~109
- 26 Shi Yan, Wang Liqiang. Fast confocal endomicroscopy based on multi-fiber parallel scanning[C]. *SPIE*, 2010, **7845**: 78451C
- 27 Dana Dudley, Walter Duncan, John Slaughter. Emerging digital micromirror device (DMD) applications[C]. *SPIE*, 2003, **4985**: 14~25
- 28 Anthony H. B. de Vriesa, Donna J. Arndt-Jovina, Thomas M. Jovina. Generation-3 programmable array microscope (PAM) with digital micro-mirror device (DMD)[C]. *SPIE*, 2011, **7932**: 79320G
- 29 V. Bansal, S. S. Patel, P. Saggau. High speed confocal laser scanning microscopy using acousto-optic deflectors and a digital micromirror device[C]. *SPIE*, 2004, **5324**: 47~54
- 30 Y. Fainman, E. Botvinick, J. Price. 3-D quantitative imaging of the microvasculature with the Texas Instruments digital micromirror device[C]. *SPIE*, 2001, **4457**: 137~144
- 31 Zhifeng Feng, Liqiang Wang, Huilong Duan. Confocal fluorescence microendoscopy using a digital micro-mirror device[C]. *SPIE*, 2010, **7845**: 78451M
- 32 Wenmei Hou, Yunbo Zhang. Fast parallel 3D profilometer with DMD technology[C]. *SPIE*, 2011, **8321**: 1~7
- 33 G. Molesini, G. Pedrini, P. Poggi. Focus wavelength encoded optical profilometer[J]. *Opt. Commun.*, 1984, **49**(4): 229~233
- 34 M. A. Browne, O. Akinyemi, A. Boyde. Confocal surface profiling using chromatic aberration[J]. *Scanning*, 1992, **14**(3): 145~153
- 35 M. Maly, A. Boyde. Real-time stereoscopic confocal reflection microscopy using objective lens with linear longitudinal chromatic dispersion[J]. *Scanning* 1994, **16**(3): 187~192
- 36 S. Dobson, P. C. Sun, Y. Fainman. Diffractive lenses for chromatic confocal imaging[J]. *Appl. Opt.*, 1997, **36**(20): 4744~4748
- 37 A. K. Ruprecht, K. Korner, T. F. Wiesendanger *et al.*. Chromatic confocal detection for high speed micro-topography measurements[C]. *SPIE*, 2004, **5302**: 53~60
- 38 Sungdo Cha, Paul C. Lin, Lijun Zhu *et al.*. Nontranslational three-dimensional profilometry by chromatic confocal microscopy with dynamically configurable micromirror scanning[J]. *Appl. Opt.*, 2000, **39**(16): 2605~2613
- 39 B. S. Chun, K. Kim, D. Gweon. Three-dimensional surface profile measurement using a beam scanning chromatic confocal microscope[J]. *Rev. Sci. Instrum.*, 2009, **80**(7): 073706
- 40 James B. Pawley. Handbook of Biological Confocal Microscopy[M]. New York: Springer, 2006
- 41 Yu Qing, Yu Xiaofen, Cheng Lingli *et al.*. Research on the influence of Talbot effect on the imaging in laser parallel confocal microscopy system[J]. *Chinese J. Scientific Instrument*, 2009, **30**(6): 1271~1274
余卿, 余晓芬, 程伶俐等. 泰伯效应对激光并行共焦显微系统成像影响的研究[J]. *仪器仪表学报*, 2009, **30**(6): 1271~1274
- 42 Christof Pruss, Aiko Ruprecht, Klaus Korner *et al.*. Diffractive elements for chromatic confocal sensors[J]. *DGaO Proc.*, 2005. 106~107
- 43 James B. Pawley. Fundamental Limits in Confocal Microscopy[M]. Madison: Springer, 2005