

大数值孔径物镜下角向偏振光聚焦特性研究

肖 昀^{1,2,3} 张运海¹ 杨皓旻¹ 檀慧明¹

¹中国科学院苏州生物医学工程技术研究所, 江苏省医用光学重点实验室, 江苏 苏州 215163

²中国科学院大学, 北京 100049

³中国科学院长春光学精密机械与物理研究所, 吉林 长春 130033

摘要 为了研究大数值孔径物镜下角向偏振光聚焦特性, 提高激光扫描共聚焦显微镜的分辨率, 根据 Richards 和 Wolf 矢量衍射理论建立计算模型, 分析大数值孔径物镜下角向偏振光及经过 $0\sim 2\pi$ 相位调制的角向偏振光的聚焦光斑。经过 $0\sim 2\pi$ 相位调制的角向偏振光的聚焦光斑为实心光斑; 该光斑的半峰全宽比径向偏振光光斑的半峰全宽小 17.6%, 比圆偏振光光斑的半峰全宽小 11.6%。计算结果表明, 经过 $0\sim 2\pi$ 相位调制的角向偏振光光斑作为激光扫描共聚焦显微镜的激发光, 可以提高其分辨率。

关键词 成像系统; 大数值孔径; 角向偏振光; 相位调制; 共聚焦

中图分类号 O439 文献标识码 A

doi: 10.3788/LOP52.031801

Focusing of High Numerical Aperture Azimuthally Polarized Beams

Xiao Yun^{1,2,3} Zhang Yunhai¹ Yang Haomin¹ Tan Huiming¹

¹Jiangsu Key Laboratory of Medical Optics, Suzhou Institute of Biomedical Engineering and Technology, Chinese Academy of Science, Suzhou, Jiangsu 215613, China

²University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

³Changchun Institute of Optics, Fine Mechanics and Physics, Chinese Academy of Sciences, Changchun, Jilin 130033, China

Abstract According to Wolf and Richard's vectorial diffraction integral, a model is established and the focusing spots are analyzed to study the focusing of the azimuthally polarized beams and improve the resolution of laser scanning confocal microscope (LSCM). The azimuthally polarized beams focus into a hollow spot, but it becomes into a solid spot after $0\sim 2\pi$ phase modulation. The full-width at half-maximum (FWHM) of the azimuthally polarized spot after $0\sim 2\pi$ phase modulation is 17.6% smaller than that of the radially polarized spot, and is 11.6% smaller than that of the circular polarized spot. The azimuthally polarized spot after $0\sim 2\pi$ phase modulation which has a smaller focusing spot can improve the resolution for LSCM.

Key words imaging systems; high numerical aperture; azimuthally polarized beam; phase modulation; confocal

OCIS codes 180.1790; 350.5730; 120.4820; 120.1880

1 引言

目前采用大数值孔径物镜的高端显微成像系统, 如激光扫描共聚焦显微镜(LSCM)、受激辐射损耗(STED)超分辨成像显微技术, 在材料检测以及生物医学领域方面的应用十分广泛。分辨率是显微成像系统的重要指标, 主要受物镜的数值孔径和入射光的特性影响。大数值孔径物镜的设计已较成熟, 而随着偏振光的发展, 入射光的偏振特性对分辨率的影响渐渐成为研究热点。常用的偏振光有线偏振光、圆偏振光、径

收稿日期: 2014-09-18; 收到修改稿日期: 2014-10-09; 网络出版日期: 2015-01-29

基金项目: 国家重大科研装备研制项目(ZDYZ2013-1)、苏州医工所二期重大项目(Y052031205)、苏州应用基础研究计划项目(SYG201324)

作者简介: 肖 昀(1988—), 男, 博士研究生, 主要从事激光共聚焦显微镜成像技术方面的研究。

E-mail: xiaoy@sibet.ac.cn

导师简介: 张运海(1975—), 男, 博士, 研究员, 博士生导师, 主要从事超分辨显微光学成像技术方面的研究。

E-mail: zhangyh@sibet.ac.cn(通信联系人)

向偏振光以及角向偏振光。

由于角向偏振光沿方位角方向振动,并且关于光轴中心对称,没有纵向电场分量,通过大数值孔径物镜聚焦时可以形成空心光斑,常用作 STED 超分辨显微镜中的损耗光^[1-3]。在角向偏振光的生成和应用方面, Hall 等^[4-7]通过圆形对称分布式反馈激光器生成了角向偏振光,并证实了单模角向偏振贝塞尔高斯解符合波动方程的近轴形式。随后, Greene 等^[7-8]对近轴光束的传播和聚焦特性进行了研究。Youngworth 等^[9]提出了线偏振产生角向偏振光的实验方法,并给出了非近轴下角向偏振光聚焦的矢量表达式。Bokor 等^[10]利用角向偏振光形成超分辨显微技术中所需的空心光斑。Khoninas 等^[11]把角向偏振光作为 STED 中的损耗光和激发光,以提高其分辨率。国内,蔡阳建等^[12]研究了不同的空间相干性对角向偏振光传播特性的影响。

在 STED 超分辨显微成像中,常在损耗光光束中引入 $0\sim 2\pi$ 涡旋相位分布,用于生成空心损耗光光斑。由于角向偏振光独特的偏振特性,匡翠方等^[1]利用角向偏振光生成空心光斑,并用于 STED 研究,对角向偏振光进行 $0\sim 2\pi$ 相位调制,生成实心光斑。但是尚未有报道分析经过 $0\sim 2\pi$ 相位调制的角向偏振光聚焦光斑的强度分布。

在角向偏振光聚焦特性的基础上,研究了经过 $0\sim 2\pi$ 相位调制的角向偏振光的聚焦特性,以探讨这种光束作为共聚焦显微镜激发光的可行性。

2 大数值孔径物镜焦点处光强分布理论

图 1 为平行光束通过物镜聚焦的几何示意图,光束经过物镜聚焦于点 O ,以物镜焦点 O 为原点建立坐标系 $O-xyz$ 。根据 Richards 和 Wolf 矢量衍射理论^[9,13-14],光束经过物镜聚焦后焦点附近点 P 的电场表达式为:

$$e(r_p, \phi_p, z_p) = -\frac{ik}{2\pi} \int_0^{\alpha} \int_0^{2\pi} \cos^{1/2} \theta \sin \theta l_0(\theta) \exp\{ik[r_p \sin \theta \cos(\phi - \phi_p) + z_p \cos \theta]\} \times \exp(i\psi) A(\theta, \phi) \begin{bmatrix} p_x \\ p_y \\ p_z \end{bmatrix} d\phi d\theta, \quad (1)$$

式中电场 $e(r_p, \phi_p, z_p)$ 表示柱坐标系 $O-r\phi z$ 中点 $P(r_p, \phi_p, z_p)$ 的电场表达式, θ 为光束与光轴的夹角, α 为物镜的半孔径角, ϕ 为方位角, $\cos^{1/2} \theta$ 为物镜的切趾函数, $l_0(\theta)$ 为入射光的振幅函数, $\exp(i\psi)$ 为光路中引入的相位差, $A(\theta, \phi)$ 为光从物镜入射到出射的转换矩阵, $[p_x; p_y; p_z]$ 为入射光的偏振特性。

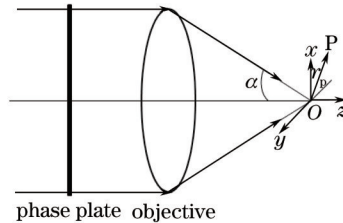


图 1 光聚焦的几何示意图

Fig.1 Schematic of focusing beam

振幅函数 $l_0(\theta)$ 的表达式为

$$l_0(\theta) = \exp\left[-\beta^2 \left(\frac{\sin \theta}{\sin \alpha}\right)^2\right] J_1\left(2\beta \frac{\sin \theta}{\sin \alpha}\right), \quad (2)$$

式中 β 为光瞳与入射光束腰的比值。当 $\beta=0$ 时, $l_0(\theta)$ 表示入射光为平面光,当 $\beta \neq 0$ 时, $l_0(\theta)$ 表示入射光为高斯贝塞尔光束。

相位差项 $\exp(i\psi)$ 中, $\psi=0$ 时,表示系统没有像差; $\psi=\phi$ 时,表示光路中引入 $0\sim 2\pi$ 涡旋相位^[15-16]。

转换矩阵 $A(\theta, \phi)$ 的表达式为

$$A(\theta, \phi) = \begin{bmatrix} 1 + (\cos \theta - 1) \cos^2 \phi & (\cos \theta - 1) \cos \phi \sin \phi & \sin \theta \cos \phi \\ (\cos \theta - 1) \cos \phi \sin \phi & 1 + (\cos \theta - 1) \sin^2 \phi & \sin \theta \sin \phi \\ -\sin \theta \cos \phi & -\sin \theta \sin \phi & \cos \theta \end{bmatrix}, \quad (3)$$

式中 $p_x=1, p_y=0, p_z=0$ 表示入射光束为 x 方向线偏振光; $p_x=0, p_y=1, p_z=0$ 表示入射光束为 y 方向线偏振光; $p_x=1/\sqrt{2}, p_y=i/\sqrt{2}, p_z=0$ 表示入射光束为右旋圆偏振光; $p_x=\cos \phi, p_y=\sin \phi, p_z=0$ 表示入射

光束为径向偏振光;当 $p_x = -\sin \phi$, $p_y = \cos \phi$, $p_z = 0$ 表示入射光束为角向偏振光。角向偏振光沿方位角方向振动,并且关于光轴中心对称,如图2所示。

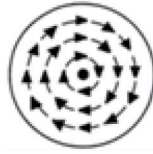


图2 角向偏振光

Fig.2 Azimuthally polarized beam

3 计算分析

在共聚焦成像和STED超分辨成像中,常用数值孔径为1.4的浸油物镜。在下面的计算分析中,分别对角向偏振光和经过 $0 \sim 2\pi$ 涡旋相位调制的角向偏振光通过1.4数值孔径物镜的聚焦光斑进行计算分析。由于浸油物镜使用的介质油和盖玻片的折射率接近,为了计算方便,可以近似看作同一介质,采用上述模型,取 $\beta = 0$,当介质油和盖玻片的折射率差异不能忽略时,可作为多层介质分析,具体可参见相关文献[17],在此不作研究。

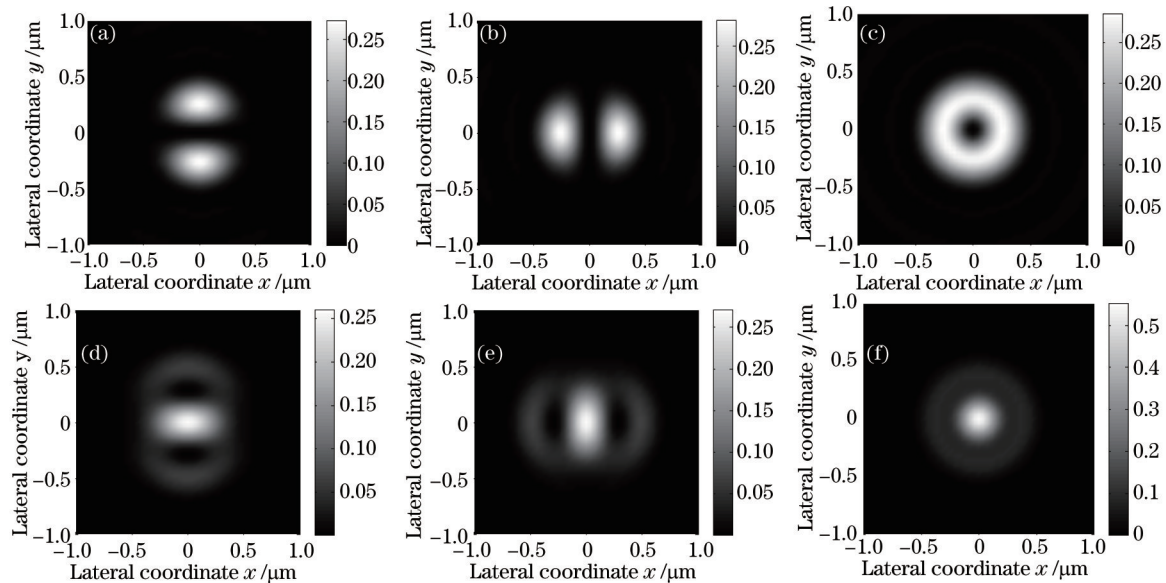


图3 角向偏振光光强分布。(a)、(b)、(c)分别为角向偏振光的 x 方向、 y 方向偏振分量聚焦光斑和总的聚焦光斑的强度分布; (d)、(e)、(f)分别为经过 $0 \sim 2\pi$ 相位调制的角向偏振光的 x 方向、 y 方向偏振分量聚焦光斑和总的聚焦光斑的强度分布

Fig.3 Intensity distribution of azimuthally polarized beam. (a), (b), (c) focusing spot of component along x direction, y direction and azimuthally polarized beam, respectively; (d), (e), (f) focusing spot of component along x direction, y direction and azimuthally polarized beam after $0 \sim 2\pi$ phase modulation, respectively

由于角向偏振光沿着角向振动,偏振方向关于光轴中心对称,并且始终和光轴垂直,没有 z 方向分量,所以角向偏振光可以分解成 x 和 y 方向两种分量。当取 x 方向分量时,聚焦光斑在 y 轴上的光最强, x 轴上光最弱,并且 y 轴正负两个区域的光偏振方向相反,因此形成两个沿 y 轴分布、 x 轴上的光强为零的光斑,如图3(a)所示;当取 y 方向分量时, x 轴上的光最强, y 轴上光最弱,并且 x 轴正负两个区域的光偏振方向相反,因此形成两个沿 x 轴分布、 y 轴上的光强为零的光斑,如图3(b)所示;角向偏振光的光斑为两个分量光斑的叠加,因此形成了一个中心强度为零的空心光斑,如图3(c)所示。因此,角向偏振光可以用作STED超分辨显微技术中的损耗光,形成较好的空心光斑。

在超分辨显微成像中,经常对入射光进行相位调制,比如 $0 \sim 2\pi$ 相位调制、 $0/\pi$ 相位调制等,形成特殊的光斑。由于角向偏振光特殊的偏振特性,对角向偏振光进行 $0 \sim 2\pi$ 相位调制,以研究这种光束作为共聚焦显微镜激发光的可行性。当角向偏振光经过 $0 \sim 2\pi$ 相位调制后,取 x 方向分量时, y 轴上的偏振方向变得一致,形成一个长轴沿 x 轴的椭圆实心光斑,如图3(d)所示;取 y 方向分量时, x 轴上的偏振方向变得一致,形成一

个长轴沿 y 轴的椭圆实心光斑,如图 3(e)所示。由于角向偏振光没有 z 方向分量,所以经过 $0\sim 2\pi$ 相位调制后的角向偏振光的聚焦光斑为实心光斑,如图 3(f)所示。

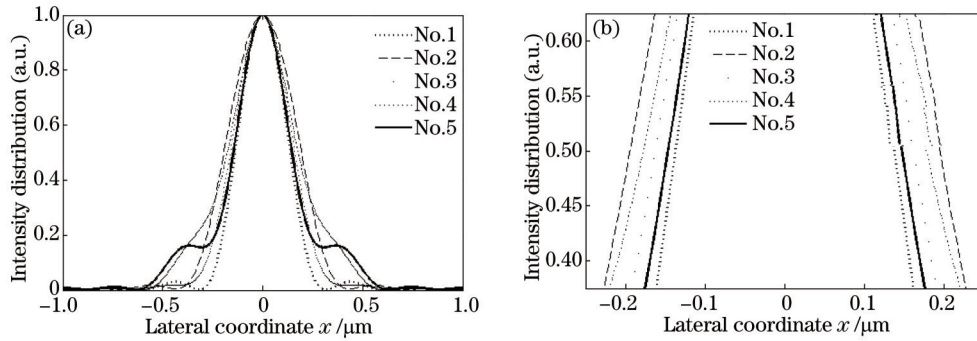


图 4 光斑强度分布。(a) 为实心光斑横向强度分布;(b) 强度为 0.5 附近的实心光斑局部曲线图(No.1: x 方向线偏振光, No.2: y 方向线偏振光, No.3: 圆偏振光, No.4: 径向偏振光, No.5: 经过 $0\sim 2\pi$ 相位调制的角向偏振光)

Fig.4 Intensity distribution of spot. (a) Transverse intensity distribution of solid spot; (b) a part of (a) near half of maximum intensity (No.1: linear polarized beam along x direction, No.2: linear polarized beam along y direction, No.3: circularly polarized beam, No.4: radially polarized beam, No.5: azimuthally polarized beam after $0\sim 2\pi$ phase modulation)

图 4(a)是 5 种偏振光聚焦光斑的横向强度归一化曲线分布图, No.1 为 x 方向线偏振光, No.2 为 y 方向线偏振光, No.3 为圆偏振光, No.4 为径向偏振光, No.5 为经过 $0\sim 2\pi$ 相位调制的角向偏振光, 而图 4(b)为强度为 0.5 附近的局部曲线图。从图 4 中可以看出 5 种偏振光光斑从小到大的顺序为 x 方向线偏振光、经过 $0\sim 2\pi$ 相位调制的角向偏振光、圆偏振光、径向偏振光和 y 方向线偏振光, 其对应的半峰全宽(FWHM)分别为 0.272 、 0.29 、 0.328 、 0.352 和 $0.39\ \mu\text{m}$ 。

图 5 为 x 方向线偏振光聚焦光斑, 可以看出光斑为椭圆形, 光斑失去对称性, 由于旋转对称性, y 方向线偏振光聚焦光斑和 x 方向线偏振光聚焦光斑类似, 光斑形状分布旋转 90° ; 而径向偏振光、圆偏振光和经过 $0\sim 2\pi$ 相位调制的角向偏振光的聚焦光斑为圆形, 具有更好的对称性, 因此, 这 3 种偏振光更适合用作 LSCM 的激发光。虽然经过 $0\sim 2\pi$ 相位调制的角向偏振光的光斑边缘占有较大比例, 但在 LSCM 中可以用针孔滤掉。三者之中, 其 FWHM 最小, 比径向偏振光小了 17.6%, 比圆偏振光小了 11.6%。虽然经过 $0\sim 2\pi$ 相位调制的角向偏振光的光斑边缘占有较大比例, 光斑显得较大。

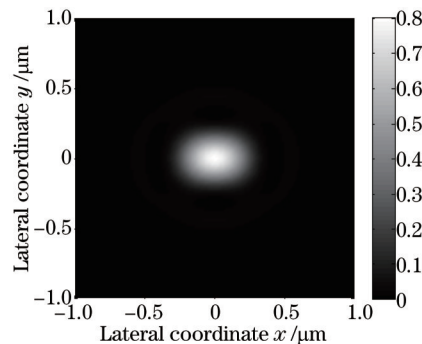


图 5 x 方向线偏振光聚焦光斑

Fig.5 Focusing spot of linear polarized beam along x direction

激光扫描共聚焦显微镜的分辨率由照明点扩散函数和探测点扩散函数乘积决定^[18]。激发光斑越小, 照明点扩散函数越小, 其分辨率越好。因此经过 $0\sim 2\pi$ 相位调制的角向偏振光作为 LSCM 的激发光, 能够形成较小光斑, 得到较好的分辨率。由于共聚焦显微成像和 STED 超分辨成像在激发光方面是类似的, $0\sim 2\pi$ 相位调制的角向偏振光也将能作为激发光用于 STED 超分辨显微镜中。

4 实验结果

在激光扫描共聚焦显微实验系统中, 采用波长为 $488\ \text{nm}$ 的激光和数值孔径为 1.4 的 100 倍物镜, 并用 $100\ \text{nm}$ 的金粒子对聚焦光斑进行扫描成像, 最终由光电倍增管接收光信号, 形成二维图像。在实验系统中

加入偏振转换器,把入射光转变成角向偏振光,其聚焦光斑为环形光斑,如图6(a)所示;在此基础上,加入 $0\sim 2\pi$ 相位板,对角向偏振光进行相位调制,其聚焦光斑为实心光斑,如图6(b)所示。实验结果与计算结果一致,证实了计算模型是有效的。因此,实验结果也可以证实经过 $0\sim 2\pi$ 相位调制的角向偏振光的聚焦光斑小于径向偏振光和圆偏振光的聚焦光斑。

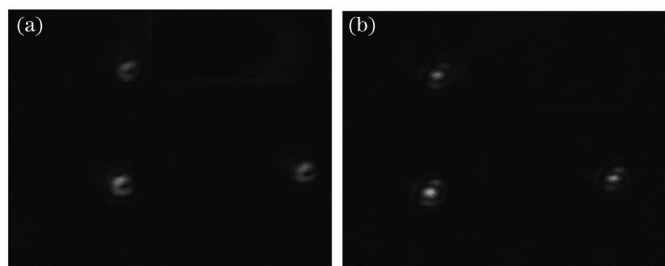


图6 聚焦光斑。(a)入射光为角向偏振光;(b)入射光为经过 $0\sim 2\pi$ 相位调制的角向偏振光

Fig.6 Focusing spot. (a) Incident light of azimuthally polarized beam; (b) incident light of azimuthally polarized beam after $0\sim 2\pi$ phase modulation

5 结 论

分析了大数值孔径物镜下角向偏振光聚焦光斑和经过 $0\sim 2\pi$ 涡旋相位调制后的角向偏振光聚焦光斑的光强分布;比较了5种偏振光光斑的半峰全宽。通过计算分析,发现角向偏振光的聚焦光斑为对称的空心光斑,而经过 $0\sim 2\pi$ 相位调制后的角向偏振光光斑为对称的实心光斑,其半峰全宽比圆偏振光和径向偏振光光斑的小。因此经过 $0\sim 2\pi$ 涡旋相位调制后的角向偏振光作为激发光,可以提高共聚焦显微镜的分辨率。

参 考 文 献

- 1 X Hao, C Kuang, T Wang, *et al.*. Effects of polarization on the de-excitation dark focal spot in STED microscopy[J]. Journal of Optics, 2010, 12(11): 115707.
- 2 Z Gu, C Kuang, X Hao, *et al.*. Methods for generating a dark spot using phase and polarization modulation light[J]. Optik - International Journal for Light and Electron Optics, 2013, 124(7): 650-654.
- 3 S N Khonina, I Golub. Enlightening darkness to diffraction limit and beyond: Comparison and optimization of different polarizations for dark spot generation[J]. Journal of the Optical Society of America a-Optics Image Science and Vision, 2012, 29(7): 1470-1474.
- 4 T Erdogan, O King, G W Wicks, *et al.*. Circularly symmetrical operation of a concentric-circle-grating, surface-emitting, AlGaAs/GaAs quantum-well semiconductor-laser[J]. Appl Phys Lett, 1992, 60(16): 1921-1923.
- 5 R H Jordan, D G Hall. Free-space azimuthal paraxial wave-equation-the azimuthal Bessel-gauss beam solution[J]. Opt Lett, 1994, 19(7): 427-429.
- 6 D G Hall. Vector-beam solutions of Maxwell's wave equation[J]. Opt Lett, 1996, 21(1): 9-11.
- 7 P L Greene, D G Hall. Properties and diffraction of vector Bessel-Gauss beams[J]. Journal of the Optical Society of America a-Optics Image Science and Vision, 1998, 15(12): 3020-3027.
- 8 P L Greene, D G Hall. Focal shift in vector beams[J]. Opt Express, 1999, 4(10): 411-419.
- 9 K S Youngworth, T G Brown. Focusing of high numerical aperture cylindrical-vector beams[J]. Opt Express, 2000, 7(2): 77-87.
- 10 N Bokor, N Davidson. A three dimensional dark focal spot uniformly surrounded by light[J]. Opt Commun, 2007, 279(2): 229-234.
- 11 S N Khonina, I Golub. How low can STED go? Comparison of different write-erase beam combinations for stimulated emission depletion microscopy[J]. Journal of the Optical Society of America a-Optics Image Science and Vision, 2012, 29(10): 2242-2246.
- 12 Y Dong, F Wang, C Zhao, *et al.*. Effect of spatial coherence on propagation, tight focusing, and radiation forces of an azimuthally polarized beam[J]. Physical Review A, 2012, 86(1): 013840.
- 13 B Richards, E Wolf. Electromagnetic diffraction in optical systems II. Structure of the image field in an aplanatic system[J]. Proceedings of the Royal Society of London Series a-Mathematical and Physical Sciences, 1959, 253(1274):

- 358-379.
- 14 E Wolf. Electromagnetic diffraction in optical systems I. An integral representation of the image field[J]. Proceedings of the Royal Society of London Series a-Mathematical and Physical Sciences, 1959, 253(1274): 349-357.
- 15 Y Xue, C Kuang, S Li, *et al.*. Sharper fluorescent super-resolution spot generated by azimuthally polarized beam in STED microscopy[J]. Opt Express, 2012, 20(16): 17653-17666.
- 16 N Bokor, Y Iketaki, T Watanabe, *et al.*. On polarization effects in fluorescence depletion microscopy[J]. Opt Commun, 2007, 272(1): 263-268.
- 17 Xiao Yun, Zhang Yunhai, Wang Zhen, *et al.*. Effect of incident laser on resolution of LSCM[J]. Optics and Precision Engineering, 2014, 22(1): 31-38.
- 肖 昀, 张运海, 王 真, 等. 入射激光对激光共聚焦显微镜分辨率的影响[J]. 光学 精密工程, 2014, 22(1): 31-38.
- 18 M M Corral. Point spread function engineering in confocal scanning microscopy[C]. SPIE, 2003, 5182: 112-122.

栏目编辑: 张浩佳