

基于叠层衍射成像术的量化相位显微成像

潘安^{1,2}, 张艳^{1,2}, 赵天宇^{1,2}, 汪召军^{1,2}, 但旦^{1,2}, 史祎诗^{2,3*}, 姚保利^{1*}

¹中国科学院西安光学精密机械研究所瞬态光学与光子技术国家重点实验室, 陕西 西安 710119;

²中国科学院大学, 北京 100049;

³中国科学院光电研究院, 北京 100094

摘要 作为一种新兴的无透镜相位恢复技术, 叠层衍射成像大大提高了传统相位迭代恢复算法的收敛速度和抗噪能力, 具有大视场、高对比度、高分辨率、无需标记、长工作距离、不丢失相位低频分量等优点, 在多个领域得到了广泛的应用。介绍了量化相位显微成像领域的研究现状与最新进展, 特别是传统叠层衍射成像术(CP)和傅里叶叠层衍射成像术(FP)的基本原理、技术进展及相关应用, 着重介绍了快速 FP 及基于 FP 的荧光显微成像技术, 总结了 CP 和 FP 目前面临的问题及未来的发展趋势。

关键词 成像系统; 计算成像; 相位恢复; 量化相位成像; 叠层衍射成像; 傅里叶叠层衍射成像

中图分类号 O436 **文献标识码** A

doi: 10.3788/LOP54.040001

Quantitative Phase Microscopy Imaging Based on Ptychography

Pan An^{1,2}, Zhang Yan^{1,2}, Zhao Tianyu^{1,2}, Wang Zhaojun^{1,2},

Dan Dan^{1,2}, Shi Yishi^{2,3}, Yao Baoli¹

¹State Key Laboratory of Transient Optics and Photonics, Xi'an Institute of Optics and Precision Mechanics, Chinese Academy of Sciences, Xi'an, Shaanxi 710119, China;

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

³Academy of Opto-Electronics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100094, China

Abstract As one novel lensless phase retrieval technique, ptychography greatly improves the convergence speed and the anti-noise capability of traditional phase iterative retrieval algorithms. Ptychography features a lot of merits, such as large field of view, high contrast, high resolution, and label-free as well as long working distance without losing low frequency phase component, which has been widely applied in various regions. The research status and the latest advances in the field of quantitative phase microscopy imaging are introduced, especially the fundamentals, technique advances and related applications of conventional ptychography (CP) and Fourier ptychography (FP). The fast FP and the fluorescence microscopy imaging based on FP are mainly discussed and the current problems and future trends of CP and FP are also summarized.

Key words imaging systems; computational imaging; phase retrieval; quantitative phase imaging; ptychography; Fourier ptychography

OCIS codes 110.1650; 100.5070; 110.1758; 170.3010; 170.0180; 180.2520

1 引言

在光学测量、材料科学、X 射线晶体衍射学、电子显微学、生物医学成像等领域中, 很多样品都属于相位

收稿日期: 2016-11-02; 收到修改稿日期: 2016-12-05

基金项目: 国家自然科学基金(61377008, 81427802)

作者简介: 潘安(1993—), 男, 博士研究生, 主要从事光学显微成像方面的研究。E-mail: panan@opt.cn

导师简介: 姚保利(1968—), 男, 博士, 研究员, 博士生导师, 主要从事超分辨率显微成像、光学微操纵、数字全息显微等方面的研究。E-mail: yaobl@opt.ac.cn

* 通信联系人。E-mail: sysopt@126.com; yaobl@opt.ac.cn

物体。由于人眼或其他光探测器一般只能探测光的强度而无法直接探测其相位变化,因此大多数情况下物体的相位信息在数据记录的过程中被丢失。而材料折射率、三维形貌及内部结构等都会直接改变透射或反射光场的相位分布,使其包含比强度分布更多的物体结构信息,因此获取相位信息显得尤为重要。

根据提取相位信息技术手段的不同,相位成像技术可以大致分为两大类。一类是以相位观测为目的的定性成像,另一类是以相位的精确量化为目的的定量成像。前者包括泽尼克相衬显微与微分干涉相衬显微技术,可将折射率的空间差异转换为图像的强度对比,大大提升了细胞等弱吸收样品在显微镜下的图像衬度^[1-2]。然而其最终获得的图像强度与相位分布之间呈非线性关系,因此只适用于定性对比成像。后者则包括经典的干涉测量方法和非干涉测量方法两类。干涉测量方法以电子散斑干涉、数字全息等^[3-7]方法为代表,其基本原理是使待测光和参考光进行干涉,以干涉条纹的形式将不可见的相位信息转化为强度信号从而记录待测光的振幅和相位。该技术测量精度高,但高度依赖光源的相干性,因此会引入相干噪声,导致图像空间分辨率的降低;而参考光的引入也会造成光路结构复杂,对测量环境要求苛刻^[8]。非干涉测量方法包括基于几何光学原理的夏克-哈特曼(Shack-Hartmann)波前传感器、基于相位恢复原理的光强传输方程(TIE)和相干衍射成像(CDI)等方法。与干涉测量法截然不同,夏克-哈特曼波前传感器^[9-12]采用基于几何光学原理的相位测量方法,应用一个微透镜阵列将待测波场聚焦为一系列点阵,测量这些点阵相对于规则间距点阵(理想无像差情况)的位移量,以获得待测波场的相位梯度(一般称为波前的斜率),经过积分即可得到相位(波前)分布。其特点是光路简单且可测量非相干光的波前,同时标定方便、工程化程度高、实时性好,但受到微透镜阵列物理尺寸的限制,探测信号并不能充分利用成像器件的所有有效像素,导致其空间分辨率较低,不能精确测量光场的高频分量^[13],因此目前主要采用相位恢复的方法进行精确的相位测量。由于直接测量光波场的相位分布非常困难,而测量光波场的振幅或者强度十分容易,因此,可以利用强度分布来恢复(估算)相位,即相位恢复。相位恢复可以细分为两小类,即采用直接估算的TIE与基于迭代计算的CDI。在待求平面上的光强分布(直接测量)以及光强轴向微分(通过采集离焦光强进行数值差分估计得到)已知的情况下,通过数值求解TIE可直接获取相位信息,不需要任何迭代过程,相比于其他方法而言,计算简单、无需相位解包裹、无需复杂的光学系统及苛刻的实验条件^[8,14-18]。目前,国内南京理工大学左超课题组、安徽大学程鸿课题组在TIE的求解方法、重构条件、部分相干光场下的相空间拓展等方面取得了丰硕的成果^[19-31]。

基于迭代的CDI技术于1971年由Gerchberg等^[32-33]在研究电子显微成像的相位恢复问题时首次提出,该算法被称为GS算法。之后Misell等^[34-38]逐步完善了该算法,提出了混合输入输出(HIO)算法、误差下降(ER)算法等一系列优化方法。随后该算法被推广到X射线成像、图像加密与隐藏、自适应光学、光学相位显微等众多领域^[39-46]。然而这一类算法应用于非凸的非线性优化问题时,可能会出现收敛速度慢、停滞、收敛于局部极小等问题^[47-49]。2004年Rodenburg等^[50-51]提出一种新型的极其稳健的迭代恢复算法——叠层衍射成像迭代引擎(PIE)算法,有效地解决了这一问题。通过记录交叠的衍射图样信息,产生大量的数据冗余,使用多张强度图样取代传统CDI技术的单张强度图样,PIE算法不但大大提高了算法的收敛速度和抗噪能力,同时所恢复的相位具有高对比度、高分辨率、不丢失相位低频分量等优点^[8,13,50-59]。目前叠层衍射成像术已经被进一步应用于超分辨率显微成像^[60]、厚三维物体成像^[61-64]、光学图像加密与隐藏^[65-66]、表面轮廓测量^[67]、活细胞成像^[54,68]等诸多领域。尤其在难以制造大数值孔径透镜的X射线等短波长波段,该技术带来了革命性的突破,取得了非常好的成像质量和10 nm左右的分辨率^[69-72],同时已经应用于第五代X射线同步回旋加速器^[73]。在国内,中国科学院上海光学精密机械研究所司徒国海课题组、刘诚课题组、朱健强课题组,中国科学院大学史诗诗课题组等也在成像质量提高、系统误差修正、相位轮廓测量、相关技术应用等方面取得了重要的研究进展^[74-77]。

同时,还有一种角度多样性方案^[78-86]近些年来也受到了较多的关注。将原先传统叠层衍射成像术(CP)横向平移照明探针的扫描方式改为多角度斜入射照明,通过发光二极管(LED)阵列就可以实现角度多样性方案,其操作方便,有效规避了机械扫描造成的迟滞效应或回程误差。与CP相比,这一技术主要在傅里叶域采样,因此被称为傅里叶叠层衍射成像术(FP)。FP与CP一样具有大视场、无需标记、长景深、长工作距离、高分辨率成像、不丢失相位低频分量等优势,已被广泛应用于量化相位显微^[87-88]、三维成像^[89-91]、高速体外活细胞成像^[92-94]、荧光显微成像^[95-97]等领域。在国内,清华大学戴琼海课题组、中国科学院上海光学精密

机械研究所司徒国海课题组、南京理工大学左超课题组在 FP 的频谱自适应扩展、误差校正等方面也取得了许多研究进展^[98-101]。

本文系统回顾了叠层衍射成像术的相关研究成果与最新进展,对现存问题以及今后的研究方向提出了建议。

2 叠层衍射成像术的基本原理及技术进展

Ptychography 一词最早由 Hoppe^[102-104] 在 1969 年提出,用以表达这种特别的相位问题求解方法,其求解过程中使用了卷积定理,“折叠”了不同级次的衍射图,而衍射图是物面上不同位置的孔径或照明光束的傅里叶变换的卷积形式。Ptycho 来自于希腊语,意思是“折叠”^[105]。叠层衍射成像术追求能重建出物体全部的散射波前,但不需要参考光束。国内史伟诗课题组首先将 ptychography 译为叠层衍射成像术^[59]。现代的叠层成像是拥有高效计算机的条件下,引入迭代的概念,使入射光波照到样品的不同部位,且每次照明都要与其他部分重叠。每一次的照明可以看作是一个层,层与层之间相互叠加就是所谓的“叠”,通常在远场得到的是单个衍射斑,而不再是 Hoppe 提出的一系列不同级次的衍射斑。由于衍射图样间重叠和非重叠区域的透射光的相干叠加,对样品不同位置处的相位关系进行了锁定,客观上起到了全息术中参考光的作用,这是叠层衍射成像术比其他 CDI 方法具有更快收敛速度和更高成像精度的客观原因。

叠层衍射成像术的基本光路如图 1 所示,入射到样品前的光波场为 $P(r-R_c)$ 的照明探针(入射波前)入射到复振幅分布函数为 $O(r)$ 的待测样品上, $r(x,y)$ 为物面坐标系,相邻探针间距为 R_c , c 为探针个数,共 n 个,即 $c=1,2,\dots,n$ 。平移照明探针或者物体,以实现物体相对位移的机械扫描,同时保证相邻扫描位置之间有一定的重叠;记录透射光传播一定距离后在傅里叶面上的光强分布 $I_c(u)$, $u(x,y)$ 为对应的傅里叶面坐标,成像器件一般为电荷耦合器件(CCD)。相应的 ePIE 算法具体步骤如下。

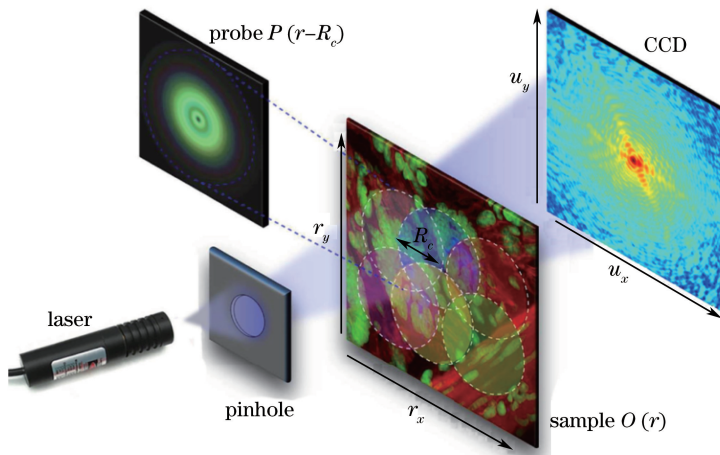


图 1 叠层衍射成像术实验装置图

Fig. 1 Experimental setup of ptychography

- 1) 猜测物体和探针(入射波前)的复振幅分布函数,得到出射场为

$$E_c(r) = P(r - R_c) \cdot O(r). \quad (1)$$

- 2) 出射场经过一定距离的衍射(近场的菲涅耳衍射或远场的夫琅禾费衍射),得到相应的复振幅分布函数为

$$E_c(u) = \mathcal{F}[E_c(r)], \quad (2)$$

式中 $\mathcal{F}(\cdot)$ 表示傅里叶变换。

- 3) 应用已知的强度信息 $I_c(u)$ 替换其振幅,得到新的光场分布,即

$$E'_c(u) = \frac{\sqrt{I_c(u)} \cdot E_c(u)}{\sqrt{|E_c(u)|^2}}. \quad (3)$$

- 4) 对步骤 3) 所得的光场进行傅里叶逆变换 \mathcal{F}^{-1} , 得到新的物面出射场为

$$E'_c(r) = \mathcal{F}^{-1}[E'_c(u)]. \quad (4)$$

5) 分别更新物体及探针的复振幅分布函数^[106]:

$$O'(r) = O(r) + \alpha \frac{P^*(r)}{|P(r)|_{\max}^2} \cdot \Delta\varphi, \quad (5)$$

$$P'(r) = P(r) + \beta \frac{O^*(r)}{|O(r)|_{\max}^2} \cdot \Delta\varphi, \quad (6)$$

式中 α, β 分别对应于算法的搜索步长, 一般令 α, β 均为 1, * 代表复共轭计算, 且

$$\Delta\varphi = E'_c(r) - E_c(r). \quad (7)$$

6) 重复步骤 2)~5) 直到所有记录的衍射图样都被使用完, 即完成了一次迭代。经过一定次数的迭代后, 当相应恢复的衍射图样与所记录的衍射图样的均方误差 (f_{SSE}) 足够小, 达到 10^{-2} 数量级时, 即认为该算法达到收敛。均方误差的计算公式为

$$f_{\text{SSE}} = \frac{\sum_{c,u} \left| |E_c(u)| - \sqrt{I_c(u)} \right|^2}{\sum_{c,u} I_c(u)}. \quad (8)$$

ePIE 算法在 He-Ne 激光器照明下记录的植物茎横切组织恢复的实验结果如图 2 所示^[57], 其中插图为照明探针的振幅和相位分布。可以看出该方法不仅能很好地恢复相位, 还能获得很好的成像效果, 具有较好的对比度, 分辨率也得到了提升。

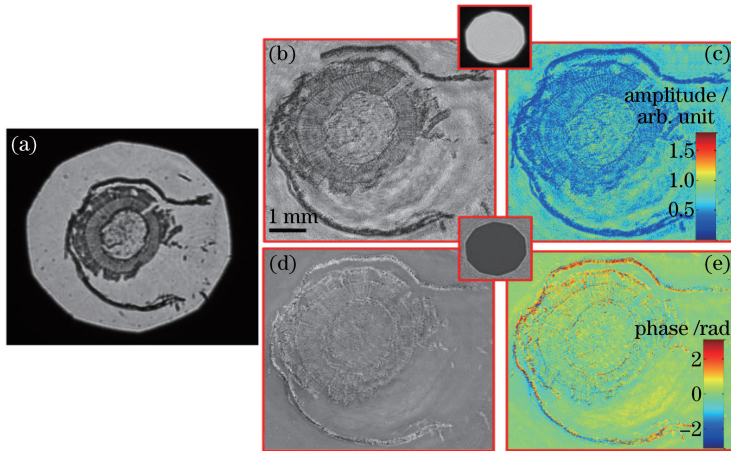


图 2 植物茎横切组织恢复结果。(a)低分辨率原始图像;(b)再现图像的振幅透射率分布;

(c)对应图(b)的伪彩色效果图;(d)再现图像的相位分布;(e)对应图(d)的伪彩色效果图

Fig. 2 Recovered results of stem transection tissue. (a) Raw image with low resolution;

(b) amplitude transmissivity distribution of recovered image; (c) false color picture corresponding to Fig. (b);

(d) phase distribution of recovered image; (e) false color picture corresponding to Fig. (d)

叠层衍射成像术自诞生以来, 在技术上存在 5 个问题, 其中有些已经妥善解决, 但有些仍待解决。一是电子显微镜下存在的电子探针漂移和样品漂移, 及探针机械扫描时扫描机构的迟滞效应或者回程误差等均会使探针位置发生偏移, 因此 Maiden 等^[107-112]结合模拟退火、互相关、遗传等算法以减小小探针位置误差, 取得了较好的实验结果, 有效地解决了这一问题。二是照明探针的强度和相位分布需要准确预知的问题, 随着 ePIE 算法^[106,113]的提出, 该问题也得到妥善解决, 同时该算法也成为之后所有此类问题的通用算法。三是进行机械扫描时, 数据记录时间过长, 对光源稳定性和样品稳定性的要求较高, 因此, 提高数据采集速度是目前叠层衍射成像术的一大难点。四是迭代相位恢复算法要求光波场的传播严格遵守标量衍射定律, 这种假设仅适用于完全相干光场, 对于部分相干光场而言, 光场的传播不再简单地遵从标量衍射定律, 这也限制了迭代相位恢复算法在部分相干光照明下的应用^[114]。幸运的是, Thibault 等^[115]从量子角度提出混合态模型, 有效地处理了包括部分相干光源照明等一系列多态混合问题。这一方法也成为目前处理部分相干光照明的主要方法。Batey 等^[116-117]根据混合态模型, 提出多波长光束同时照明的多路复用算法, 有效地提高了成像质量及成像效率。Deng 等^[118-119]提出连续非扫描及飞扫模型, 有效地提高了图像的采集速率。Li 等^[120-121]

提出多物态模型,有效地解决了多照明态与多物态下的模糊问题。五是要使透射光场能近似表示为照明探针与物体透射函数乘积的形式,需要将物体看作一个厚度可忽略的二维物体,但厚样品不能由单一的二维复振幅分布函数表示。Maiden 等^[61]提出一种将三维厚样品进行多层切片的思路,突破了原先样品厚度在可见光微米量级分辨率下不能超过 $10\ \mu\text{m}$ 的限制^[122]。这种方法能够有效地处理共聚焦显微、电子断层扫描及数字全息所不能处理的多层散射厚样品,具有更高的实用价值。Godden 等^[62]实现了 $150\ \mu\text{m}$ 厚样品成像。目前的研究主要围绕后三个问题进一步展开。

2.1 多波长叠层衍射成像术

进行一次传统叠层衍射成像实验,往往需要花费数十分钟,这对光源稳定性和样品稳定性的要求较高,不适用于动态变化的样品。提高数据采集速度及成像速度是目前叠层衍射成像术的一大难点。事实上,针对这一问题学者们已经提出了很多方法,如单次曝光法^[76-77,123-124]、多波长照明法^[57]等,思路都是将原始的单一探针照明改为多探针照明。在对单次曝光法的报道中,文献^[76-77]采用光栅分光法来实现多探针单次曝光,而文献^[123-124]采用小孔阵列来实现多探针单次曝光。多波长照明法是指在每一个探针位置,快速地依次改变波长并记录对应的衍射图样。相对于探针阵列的扫描时间,改变波长的时间可以忽略不计,因此多波长照明法也可以看作是多探针照明法。多波长依次照明的成像光路图如图 3 所示,其中 D 和 d 分别是样品到 CCD 的距离和小孔到样品的距离。三束激光经双反射镜调整至水平出射后,通过双宽带分光棱镜 (BS) 合束和空间滤波器 (针孔滤波器) 扩束,再经复消色差透镜准直后打到探针上,通过探针的光束透过物体后衍射至成像探测器上。

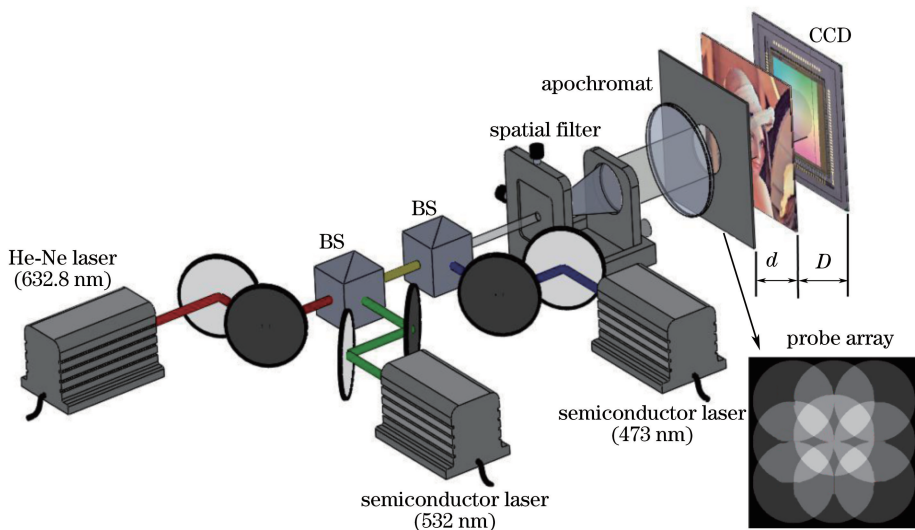


图 3 多波长依次照明的叠层衍射成像术实验光路图

Fig. 3 Experimental light-path diagram of ptychography with multi-wavelength successive illumination

多波长依次照明相应的恢复结果如图 4 所示。可以看出多波长依次照明有助于提高成像质量,即随着波长数目的增多,恢复的结果变好。其中单波长到双波长的恢复质量提升要明显高于双波长到三波长的恢复质量提升。结合图 4(c)来看,多波长依次照明不仅有助于提高成像质量,还有助于获得更快的收敛速度和更好的抗噪能力,因而具有更高的实用价值。事实上,多波长依次照明的成像方案,可以变相看作交叠率的提升。在单波长照明下,交叠率的提升有助于提升恢复质量,但存在一定的上限,同时交叠率的增大会减小视场的范围。而对于多波长依次照明而言,在同一位置近乎 100% 交叠,没有了单波长交叠率上限的限制,同时也不会影响视场的大小。

2.2 部分相干光叠层衍射成像术

传统的叠层衍射成像往往采用单波长照明,即使用多波长照明来提升恢复质量也采用依次照明的方式。和其他同类的 CDI 方法相同,叠层衍射成像术也需要假设照明光具有 100% 的相干性。非相干光照明一直被认为不利于衍射成像,而在 X 射线和电子波段下,照明光的相干性不如光学波段理想。2013 年,Thibault 等^[115]从量子角度提出了混合态模型,有效地处理了包括部分相干光源照明等在内的一系列多态混合问题。

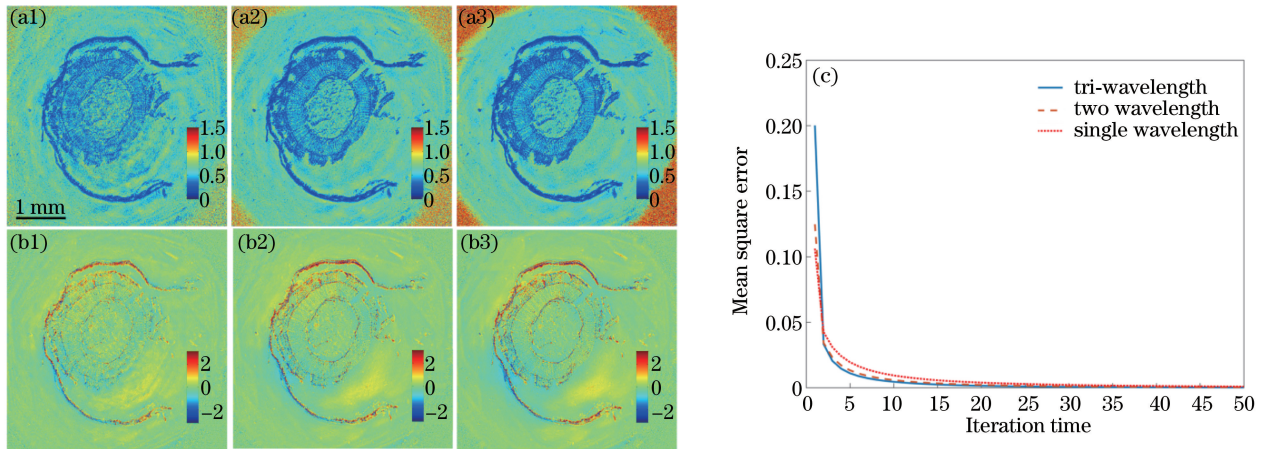


图4 恢复结果。(a1)单波长恢复的振幅分布;(b1)单波长恢复的相位分布;(a2)双波长恢复的振幅分布;(b2)双波长恢复的相位分布;(a3)三波长恢复的振幅分布;(b3)三波长恢复的相位分布;(c)均方误差随迭代次数变化的收敛曲线

Fig. 4 Recovered results. (a1) Amplitude distribution of image recovered with single wavelength illumination; (b1) phase distribution of image recovered with single wavelength illumination; (a2) amplitude distribution of image recovered with two wavelength illumination; (b2) phase distribution of image recovered with two wavelength illumination; (a3) amplitude distribution of image recovered with three wavelength illumination; (b3) phase distribution of image recovered with three wavelength illumination; (c) convergence curve of mean square error versus iteration time

由于叠层衍射成像术的特殊衍射图样记录机制,实际上物体的每一像元都被一系列的照明光照射多次;虽然每一单独的衍射图样是非相干叠加,但是可以看作是多个衍射图样间干涉条件的改变,信息内容实际上仍然记录在其中,这能让非相干的衍射图样分解为一系列的相干图样,因此非相干叠层衍射成像是可行的^[125-126]。针对此问题,Rodenburg等^[116]提出了一种多路复用叠层衍射成像算法,在此基础上,Pan等^[117]提出了一种多波长同时照明的非相干叠层衍射成像方案,实验光路图如图3所示。相比于传统的相干叠层衍射成像方案,该方案不仅能够很好地恢复物像,同时也能够恢复不同波长下对应的物体光谱响应、复振幅探针和光谱比例,从而获得更多的物体信息,具有多通道和多光谱的优势。同时,该方案通过彩色图像编码的方式,能够实现物体的真彩色复原和图像质量的增强。该研究表明,通过多相干态的分解可以使用部分相干光源实现叠层衍射成像术,这意味着可以使用LED等部分相干光源实现衍射成像,极大地提高了成像分辨率,并抑制了散斑噪声。该算法提高了X射线和电子波段下的成像精度,使得基于衍射成像技术的部分相干成像成为可能。

植物茎横切组织样品及衍射图样如图5所示。实际上,图5(c)~(e)是得不到的,这里通过遮挡其他两束光分别获得各个单一波段对应的衍射图样,目的是为了将其与图5(b)作对比。可以看出由于非相干叠加,相干性降低,三波段混合后的衍射图样没有各个波段对应的衍射图样清晰,但是三波段各自包含的信息仍在其中。具体恢复算法步骤如下。

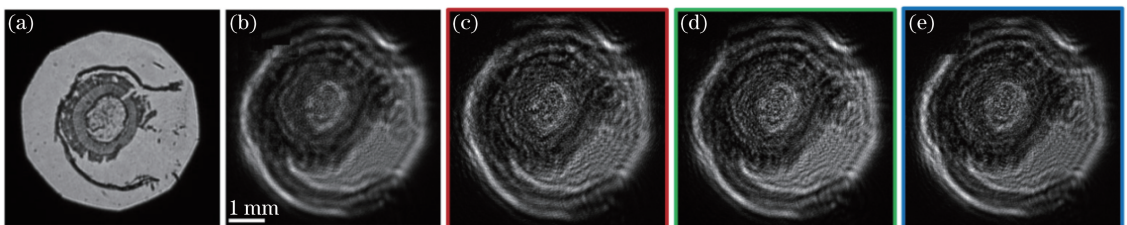


图5 植物茎横切组织样品及其衍射图样。(a)低分辨率原始图像;(b)CCD接收的衍射图样;(c)红波段对应的衍射图样;(d)绿波段对应的衍射图样;(e)蓝波段对应的衍射图样

Fig. 5 Sample of stem transection tissue and its diffraction patterns. (a) Raw image with low resolution; (b) diffraction image received by CCD; (c) diffraction image corresponding to red waveband; (d) diffraction image corresponding to green waveband; (e) diffraction image corresponding to blue waveband

1) 设物体的复振幅分布函数为 $O_m(r)$, 探针(入射波前)复振幅分布函数为 $P_m(r)$, 其中 m 为波长个数。探针阵列扫描步长为 $R_c = (R_{x,c}, R_{y,c}), c = 1, 2, \dots, n$, 其中 c 为探针个数。光谱权重为 $S_{c,m}$, 像平面(傅里叶面)笛卡尔坐标为 $u(x, y)$ 。同时分别随机猜测不同波长下的物体、探针和光谱权重, 一般都采用单位矩阵的猜测方式。

2) 结合光谱权重计算各波长光束经过物体后分别对应的出射波, 结果为

$$E_{c,m}(r) = \frac{\sqrt{S_{c,m}}}{\sqrt{\sum_{x,y} |P_m(r)|^2}} \cdot P_m(r) \cdot O_m(r)。 \quad (9)$$

3) 计算出射波衍射至像面的结果:

$$E_{c,m}(u) = \mathcal{F}[E_{c,m}(r)]。 \quad (10)$$

4) 保留出射波的相位, 更新出射波的振幅, 使猜测的衍射图样强度之和等于成像探测器接收的强度值:

$$E'_{c,m}(u) = \frac{\sqrt{I_c(u)} \cdot E_{c,m}(u)}{\sqrt{\sum_m |E_{c,m}(u)|^2}}。 \quad (11)$$

5) 将步骤 4) 像面的光波场逆衍射至物面:

$$E_{c,m}(r') = \mathcal{F}^{-1}[E'_{c,m}(u)]。 \quad (12)$$

6) 分别更新不同波长下对应的物体和探针的复振幅分布函数, 仍然采用 ePIE 算法的更新形式, 有

$$O_m(r) = O_m(r) + \alpha \frac{P_m^*(r)}{|P_m(r)|_{\max}^2} \cdot \Delta\varphi, \quad (13)$$

$$P_m(r) = P_m(r) + \beta \frac{O_m^*(r)}{|O_m(r)|_{\max}^2} \cdot \Delta\varphi, \quad (14)$$

式中 α, β 分别对应于算法的搜索步长, 一般令 α, β 均为 1, 且

$$\Delta\varphi = E_{c,m}(r') - E_{c,m}(r)。 \quad (15)$$

7) 根据计算得到的探针强度更新不同波长对应的光谱权重:

$$S_{c,m} = \sum_{x,y} |P_m(r)|^2。 \quad (16)$$

重复步骤 2)~7) 直到所有记录的衍射图样都被使用完, 即完成了一次迭代。经过一定次数的迭代后, 当相应的恢复的衍射图样与所记录的衍射图样的均方误差足够小, 达到 10^{-2} 数量级时, 即认为该算法达到收敛。均方误差的计算公式为

$$f_{\text{SSE}} = \frac{\sum_{c,u} \left| \sum_m |E_{c,m}(u)| - \sqrt{I_c(u)} \right|^2}{\sum_{c,u} I_c(u)}。 \quad (17)$$

提取所恢复的多波长光谱响应中的红(R)、绿(G)、蓝(B)三波段信息, 进行彩色编码即可实现物体的真彩色恢复, 同时也可以提高成像质量。这里采用美国国家电视系统委员会(NTSC)制定的编码方式, 相应的编码公式为

$$\begin{bmatrix} Y \\ I \\ Q \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 0.299 & 0.587 & 0.114 \\ 0.596 & -0.274 & -0.322 \\ 0.211 & -0.523 & 0.312 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} R \\ G \\ B \end{bmatrix}, \quad (18)$$

式中 Y, I, Q 分别为 NTSC 制的亮度、色度、色饱和度, 其中 I, Q 合称为色调。

使用多路复用迭代算法, 迭代 300 次后的恢复结果如图 6 所示。实验恢复的红、绿、蓝光谱比例为 1:1.04:0.93, 近似于等比例, 与直观设计大致相同。实际上红绿蓝三波段的恢复结果为该物体对应的光谱响应, 可以看出除中心细节略有不同外, 该物体对红绿蓝三波段的光谱响应大体一致。可以看出通过彩色编码获得的真彩色图像清晰度高于三波段对应的恢复结果, 证明彩色编码确实能够提升图像的恢复质量。从而可以得出结论: 多波长同时照明的非相干叠层衍射成像技术不仅能够很好地恢复物体的真彩色复振幅图像, 同时还能够获得不同波段下的光谱响应, 这对进一步对物体进行处理, 如挖掘物体详细信息、辨别物体提供了更多的可能性。

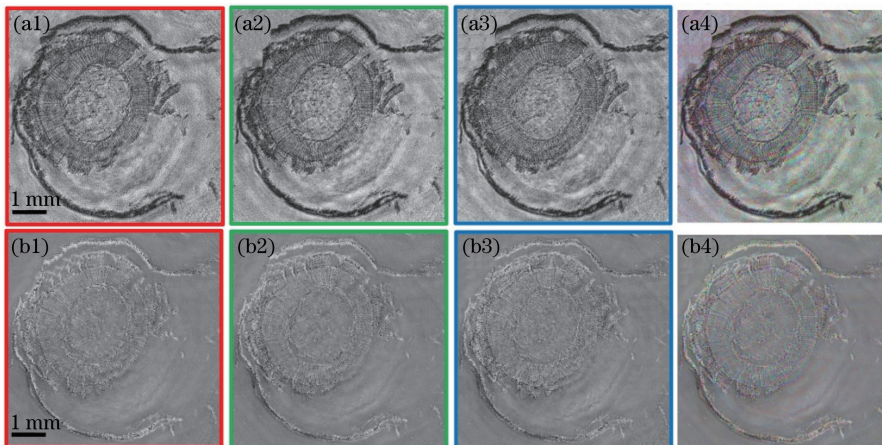


图6 恢复结果。(a1)~(a3)分别为红绿蓝三波段恢复的振幅图像;(b1)~(b3)分别为红绿蓝三波段恢复的相位图像;
(a4)彩色编码后的真彩色振幅图像;(b4)彩色编码后的真彩色相位图像

Fig. 6 Recovered results. (a1)-(a3) Amplitude images recovered with red, green and blue waveband, respectively; (b1)-(b3) phase images recovered with red, green and blue waveband, respectively; (a4) true color amplitude image after color coding; (b4) true color phase image after color coding

2.3 三维叠层衍射成像术

叠层衍射成像术在算法上要求物体厚度可忽略,从而能将出射场近似看作照明探针与物体透射率函数的乘积,这意味着样品厚度一般不能超过 $10 \mu\text{m}$ ^[61,122]。但是当样品具有一定厚度时,物体的透射率函数不能由单纯的二维复振幅函数表示。因此 Maiden 等^[61]提出了一种将三维厚样品进行多层切片的方法,通过将每一层切片的复振幅信息恢复出来后进行三维重建,从而恢复三维厚样品,突破了之前样品厚度不能超过 $10 \mu\text{m}$ 的限制^[63,122]。如图 7 所示,其中 f 为透镜焦距。假设物面的透射率函数为 $O_i(r)$, $i=1,2,\dots,N$, N 为物体所分层数,每一层物面与探针的距离为 z_i 。入射至第一层物面的光场的复振幅分布函数作为第一层的扫描探针(入射波前),记为 $P(r)$,其后每层依次类推。最后一层探针透射物面后经过距离为 D 的夫琅禾费衍射,传到接收屏的光强分布记为 $I_c(u)$, $c=1,2,\dots,n$ 。重建具体过程如下。

1) 将物体分层,猜测物体各层的透射率函数为 $O_1(r), O_2(r), \dots, O_N(r)$ 。

2) 入射光波通过探针 $P(r - R_c)$ 后首先经过物体的第一层,其后的出射场为

$$\psi_{e,1}(r) = P(r - R_c) \cdot O_1(r). \quad (19)$$

3) 光波经过物体第一层后传播 Δz_1 距离到达物体第二层,有

$$\psi_{i,2} = \rho_{\Delta z_1}[\psi_{e,1}(r)], \quad (20)$$

式中 $\rho_{\Delta z_1}(\cdot)$ 代表距离为 Δz_1 的自由光场角谱传播, $i=1,2,\dots,N$ 。

4) 第一层的出射波传播到第二层后作为新的入射波入射物体的第二层,则第二层后的出射场为

$$\psi_{e,2}(r) = \psi_{i,2}(r) \cdot O_2(r). \quad (21)$$

5) 同理,物体经过第 N 层后的出射场为

$$\psi_{e,N}(r) = \psi_{i,N}(r) \cdot O_N(r), \quad (22)$$

式中 $\psi_{i,N} = \rho_{\Delta z_{N-1}}[\psi_{e,N-1}(r)]$, $\Delta z_{N-1} = z_N - z_{N-1}$ 。

6) 最后一层出射的光波经过一定距离 D 的衍射传播到接收面,有

$$\Psi_c(u) = \mathcal{F}[\psi_{e,N}(r)]. \quad (23)$$

7) 用实验所得的强度信息 $I_c(u)$ 更新其振幅,得到新的强度分布为

$$\Psi'_c(u) = \sqrt{I_c(u)} \frac{\Psi_c(u)}{|\Psi_c(u)|}. \quad (24)$$

8) 对更新后的场分布进行逆变换,得到新的物面出射场为

$$\psi'_{e,N} = \mathcal{F}^{-1}[\Psi'_c(u)]. \quad (25)$$

9) 利用

$$\psi'_{i,N}(r) = U[\psi_{i,N}(r), O_N(r), \Delta\psi(r)], \quad (26)$$

$$O'_N(r) = U[O_N(r), \psi_{i,N}(r), \Delta\psi(r)], \quad (27)$$

更新每一层的出射场和物函数,其中

$$U[f(r), g(r), \Delta\psi(r)] = f(r) + \alpha \frac{g^*(r)}{|g(r)|_{\max}^2} \Delta\psi(r), \quad (28)$$

$$\Delta\psi(r) = \psi'_{e,N}(r) - \psi_{e,N}(r), \quad (29)$$

式中 α 为反馈参数,一般取为 1。

10) 将更新后第 N 层的出射场作为入射场逆向传播,第 N 层到第 $N-1$ 层可以看作距离为 $-\Delta z_{N-1}$ 的自由光场角谱传播。

11) 对到达每一层的光场进行更新并继续逆向传播直到第一层,更新第一层的物函数和探针(入射波前)分布函数有

$$O'_1(r) = U[O_1(r), P(r - R_c), \Delta\psi(r)], \quad (30)$$

$$P'(r - R_c) = U[P(r - R_c), O_1(r), \Delta\psi(r)]. \quad (31)$$

12) 循环以上步骤直到实验所得的所有强度信息都更新到物函数中。

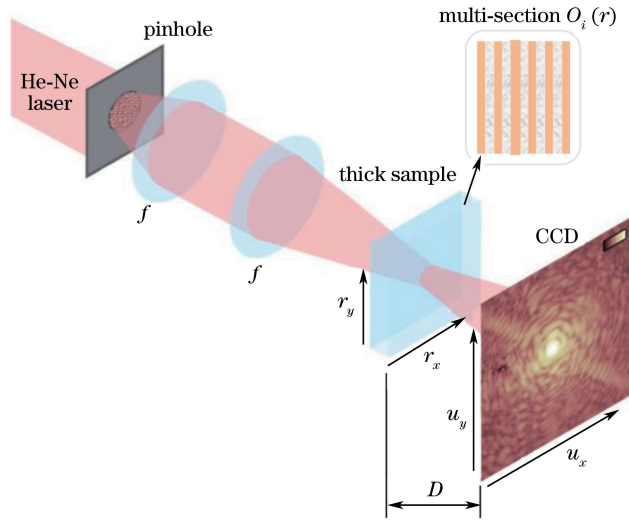


图 7 三维叠层衍射成像实验装置

Fig. 7 Experimental setup of three-dimensional ptychography

三维叠层衍射成像术的实验恢复结果如图 8 所示。可以看出,两层不同样品组成的三维厚样品被很好地恢复出来,结果很清晰,振幅和相位都具有很好的对比度。Godden 等^[62]进一步实现了 $150 \mu\text{m}$ 厚样品的 34 层切片成像。

2.4 基于叠层衍射成像术的光学图像加密与隐藏

随着信息技术的发展,信息安全越来越受到人们的关注,Shi 等^[65]首先将叠层衍射成像术引入到光学图像加密与隐藏领域。对于光学加密与隐藏而言,最重要的是保证加密信息在传递过程中的安全性以及稳健性。而叠层衍射成像术中的探针在机械扫描时,其迟滞效应或者回程误差等都会使探针位置发生偏移,得不到良好的恢复结果。这一限制叠层衍射成像术发展的问题恰恰成为了叠层衍射成像术运用于光学加密与隐藏的优势,即只有已知精确的探针位置才能取得所传递的加密信息。相比于传统的光学加密系统,叠层衍射成像术的应用扩大了密钥空间,增加了探针这一主要的二维密钥,同时叠层衍射成像术本身所具有的结构简单紧凑的特点使它能够更好地与其他不同的加密技术兼容。

基于叠层衍射成像术的双随机加密系统原理图如图 9 所示,其中 M_1 和 M_2 为双随机相位板。在原始的双随机加密系统上,改变照明光束尺寸使之像叠层衍射成像术一样只照明样品的一部分,从而获得多张密文。采用不同类型的探针,包括纯振幅型、纯相位型、复振幅型探针,所得到的恢复结果如图 10 所示。可以看出,该方法对探针的设计没有过多的要求,采用任意形式的探针均可恢复隐藏的信息,具有良好的适应性,

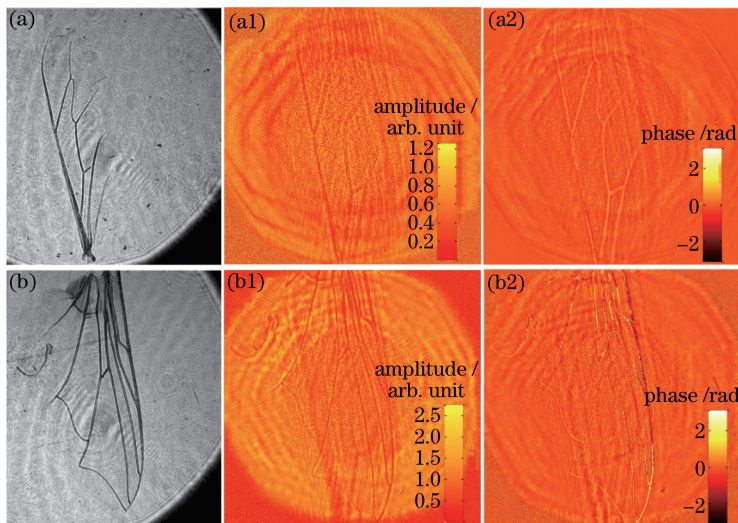


图 8 三维叠层衍射成像术的恢复结果。(a)蜜蜂翅膀图像;(a1)第一层蜜蜂翅膀恢复的振幅分布;(a2)第一层蜜蜂翅膀恢复的相位分布;(b)苍蝇翅膀图像;(b1)第二层苍蝇翅膀恢复的振幅分布;(b2)第二层苍蝇翅膀恢复的相位分布

Fig. 8 Recovered results of three-dimensional ptychography. (a) Image of bee wing; (a1) amplitude distribution of recovered image of first layer bee wing; (a2) phase distribution of recovered image of first layer bee wing; (b) image of fly wing; (b1) amplitude distribution of recovered image of second layer fly wing; (b2) phase distribution of recovered image of second layer fly wing

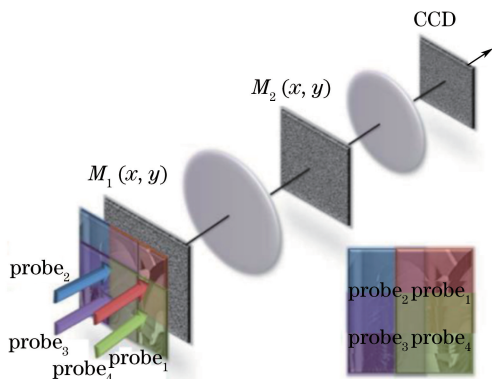


图 9 基于叠层衍射成像术的双随机加密系统原理图^[65]

Fig. 9 Principle diagram of double random encryption system based on ptychography^[65]

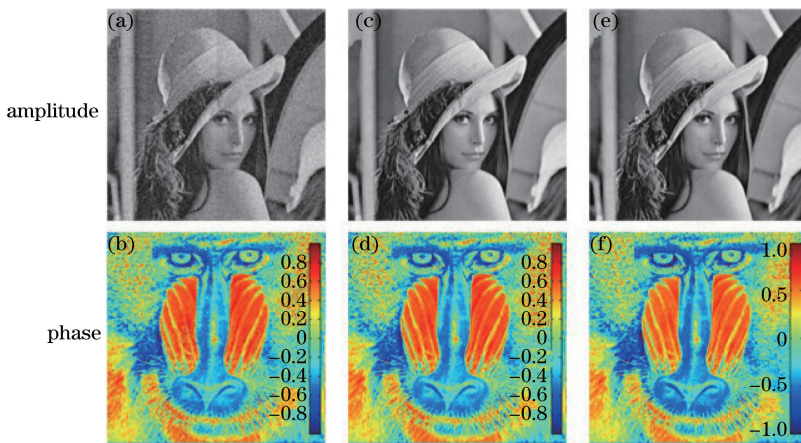


图 10 三种不同类型探针对应的相位和振幅恢复情况^[65]。(a)(b)纯振幅型;(c)(d)纯相位型;(e)(f)复振幅型

Fig. 10 Amplitude and phase recovery information corresponding to three different types of probes^[65].

(a)(b) Pure amplitude; (c)(d) pure phase; (e)(f) complex amplitude

从而为加密时探针的设计提供了极其丰富的可能性。然而如果没有采用正确的探针位置,比如引入10 pixel的偏移,则完全恢复不出隐藏的信息,从而证明该系统具有良好的安全性。同时,叠层衍射成像术所具有的良好抗噪性能也为光学加密提供了便利,使其具有很好的稳健性。在此基础上,Zhang等^[127]将三维叠层衍射成像术引入到加密与隐藏领域中,成功地实现了三维物体的加密与隐藏,使得基于叠层衍射成像术的光学加密应用于更广泛的物体。

3 FP的基本原理及技术进展

斜入射照明实际上是将出瞳函数在谱面上进行平移,通过采集多幅不同区域的傅里叶域低分辨率图像,使用特定的相位恢复迭代算法^[78-80]将这些频谱组合,从而获得大视场高分辨率图像。该方法只需记录强度信息而不需要相位信息,同时需要不同频谱位置的相互交叠,以通过利用冗余信息恢复相位。相比于积分成像分辨率受限于成像透镜孔径尺寸的特点,FP是相干光或者部分相干光条件下的成像方法,绕过了成像透镜对分辨率的限制。

FP是一种新兴的超分辨率技术,与CP一样需要利用一系列低分辨率的衍射强度图像去恢复高分辨率图像,近年来受到了广泛的关注与研究^[128-140]。与CP不同的是,FP采用一组LED阵列进行照明,且光路中交换了样品与孔径平面的相对位置。FP不再需要移动样品或探针,而是通过LED阵列的多角度照明来产生多幅衍射图,因此具有更高的稳定性。通过采用多角度的照明方式和相应的相位恢复算法能够避免成像物镜的衍射极限限制,且通常采用低数值孔径的物镜,即可同时获得大视场及高分辨率的再现像^[80],空间带宽积提升一倍以上。如Zheng等^[78]就在632 nm波段下实现了超分辨率(0.78 μm,数值孔径为0.5)、大视场(约为120 mm²)、十亿像素级空间带宽积的超分辨率显微成像。该技术的提出极大地推动了生物医学领域如数字病理学、血液病学、免疫组织化学等的发展。

FP的实验原理图如图11所示,其通过LED阵列的依次扫描,获得对应不同频谱位置的低分辨率图像;通过类似于合成孔径的方式,利用测得的像面低分辨率强度图来恢复样品的复振幅信息^[81,128]。令样品透射率函数为 $S(r)$,系统点扩展函数(PSF)为 $P(r)$,入射光波波矢大小为 $u_n = (k_{xn}, k_{yn})$,对应的出射波为 $e(r) = S(r)\exp(iu_n \cdot r)$,则CCD所获得的是出射光波与系统PSF卷积的强度:

$$I_{u_n} = |\mathcal{F}^{-1}\{\mathcal{F}[e(r)] \cdot \mathcal{F}[P(r)]\}|^2 = |\mathcal{F}^{-1}[S(u - u_n) \cdot P(u)]|^2, \quad (32)$$

式中 $S(u) = \mathcal{F}[S(r)]$, $P(u) = \mathcal{F}[P(r)]$, u 为对应的频域坐标系。具体算法步骤如下。

1) 猜测样品透射率函数为 $S_n(r)$,系统的PSF为 $P_n(r)$,则在物镜后焦面上的光场分布为

$$\phi_n(u) = P_n(u)S_n(u - u_n). \quad (33)$$

2) 计算成像面的光场分布为

$$\phi_n(r) = \mathcal{F}^{-1}[\phi_n(u)]. \quad (34)$$

3) 用已知的强度信息更新成像面波场振幅分布:

$$\phi'_n(r) = \sqrt{I_{u_n}(r)} \frac{\phi_n(r)}{|\phi_n(r)|}. \quad (35)$$

4) 傅里叶变换至物镜后焦点,获得对应的光场分布为

$$\phi'_n(u) = \mathcal{F}[\phi'_n(r)]. \quad (36)$$

5) 更新物体及探针的复振幅分布函数:

$$S_{n+1}(u) = S_n(u) + \alpha \frac{P_n^*(u + u_n)}{|P_n(u + u_n)|_{\max}^2} [\phi'_n(u + u_n) - \phi_n(u + u_n)], \quad (37)$$

$$P_{n+1}(u) = P_n(u) + \beta \frac{S_n^*(u - u_n)}{|S_n(u - u_n)|_{\max}^2} [\phi'_n(u) - \phi_n(u)], \quad (38)$$

式中 α, β 分别对应于算法的搜索步长,一般 α, β 均为1。

6) 重复以上步骤直到全部低分辨率图像均被使用完,即视为一次迭代。经过一定次数的迭代,达到满意的恢复质量即认为该算法达到收敛,通常迭代10~20次即可获得满意的恢复结果。

FP的恢复结果如图12所示^[78],其中NA为数值孔径,FOV表示视场。图12(a)物镜下的FOV大小约

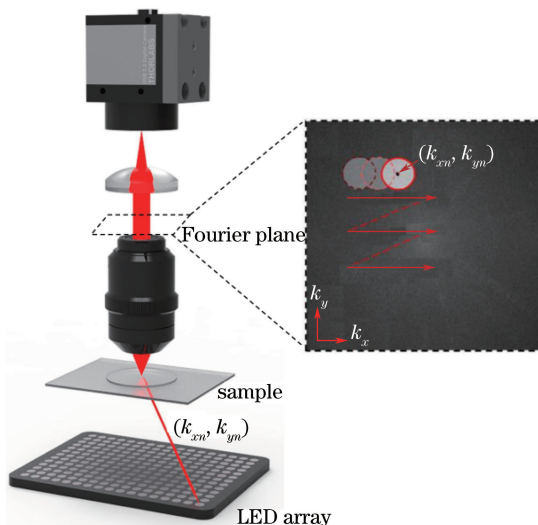
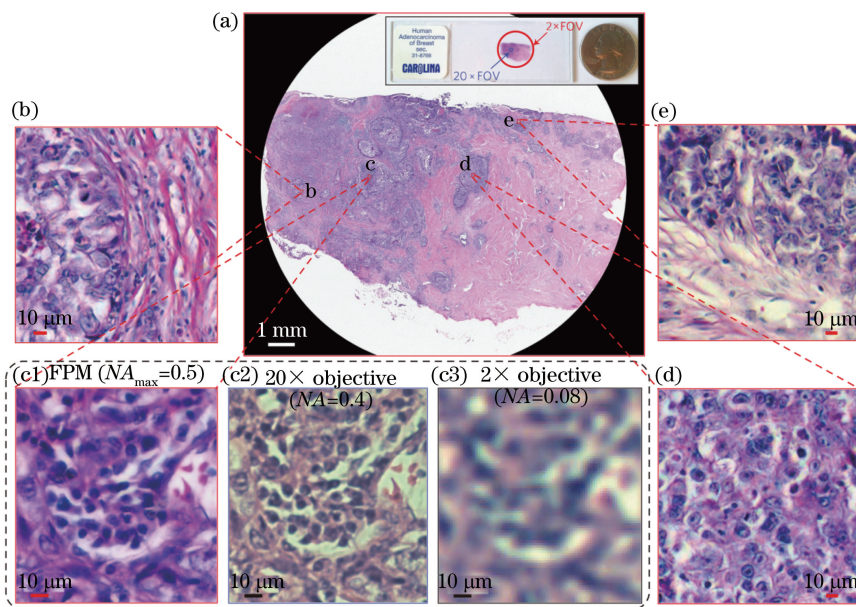


图 11 FP 的实验原理图

Fig. 11 Experimental principle diagram of FP

为 120 mm^2 , 高分辨率插图 12(b)~(e) 重建的像元尺寸为 $0.275 \mu\text{m}$ 。比较不同成像方案的成像效果可以看出, FP 合成的再现像分辨率与 20 倍、数值孔径为 0.4 的物镜的相当, 且具有较好的对比度。因此, FP 所恢复的结果可以看作是 把 2 倍物镜的视场与 20 倍物镜的分辨率相结合后的再现像。

图 12 FP 的恢复结果^[78]。(a)原始图像;(b)(c)(d)(e)不同视场下的恢复图像Fig. 12 Recovered results of FP^[78]. (a) Raw image; (b)(c)(d)(e) recovered images under different fields of view

文献[129]详细地阐述了 CP 与 FP 的联系与区别。将成像面光场分布函数写成四维维格纳(Wigner)分布函数, 发现其在相空间的位置存在关系

$$m_F(x, r') = m(r', -x), \quad (39)$$

式中 x 为 CP 中样品相对于坐标轴的移动距离, r' 为探测器平面坐标系即 x 对应的倒易空间, m_F 为 FP 所张成的相空间。二者维格纳分布函数中的变量 x 和 r 交换了位置。从(39)式中可以清楚地看到, FP 获得的图像强度相当于将 CP 获得的图像强度在相空间旋转 90° 。事实上, 二者追根溯源是同一个技术的不同展现方式, 从光路图不难看出, CP 是在空域中采样, FP 则是在频域中采样。因而从理论上讲, 所有适用于 CP 的后期处理算法, FP 同样适用。同样的, CP 所遇到的技术问题也是 FP 所需要解决的问题。相比于 CP, FP 提出时间较晚, 仍处在发展的初期阶段, 在技术上主要存在 5 个问题。

1) 虽然 FP 不再需要进行机械扫描,没有了扫描机构迟滞效应或者回程误差等造成的探针位置偏移,但 LED 阵列的引入也带来了类似的问题,如 LED 阵列的俯仰角误差、LED 间的间隔误差、LED 距离样品的距离误差、LED 间的功率误差等。随着一系列矫正算法^[98-99,130]的提出,这一问题得到了有效的解决。

2) 与 CP 一样,FP 中的厚样品不能由单一的二维复振幅分布函数表示,因此 Tian 等^[90-91]提出了类似的切片算法,妥善地处理了此问题,但目前还鲜有文献对待测样品的厚度限制进行定量研究。

3) FP 中照明探针的强度和相位分布与 CP 一样需要准确预知,随着嵌入式瞳函数恢复 (EPRY)-傅里叶叠层衍射成像显微 (FPM) 算法^[80]的提出,该问题得到了一定程度的解决,但其对系统误差和测量噪声非常敏感^[130],在算法层面上仍有待继续研究。

4) 和传统显微镜相比,LED 的发光功率有限,且由于 FP 采用的 LED 阵列尺寸过大,往往无法采用聚光镜,因此数据记录时间过长,对光源稳定性和样品稳定性要求较高,因而改善光路的实用性、提高数据采集速度、实现动态样品成像或者矫正运动造成的模糊影响,是目前叠层衍射成像术的一大难点。

5) 尽管采用 LED 这种部分相干光源能够得到很好的再现像,但是 FP 仍属于相干成像系统,部分相干光源的成像机理仍有待研究。

目前的主要研究都围绕着这 5 个问题,同时也涌现出了大量的改进算法。现有的 FP 算法可以分为交替投影法^[78-80,106,113]、半正定规划法^[132]和非凸梯度下降法^[101,131]。交替投影法通过交替地在像面和频谱面上加入约束条件,将一系列低分辨率的图像结合起来恢复样品的复振幅信息,类似于 GS 算法与 CP 的 ePIE 算法。交替投影法很容易实现,而且算法收敛速度快,但它对系统误差和测量噪声非常敏感,相机曝光时间短、LED 阵列位置不准等因素都会影响其效果。为了解决测量噪声的问题,Bian 等^[101]提出了采用沃尔丁格 (Wirtinger) 流程优化的 FP 算法 (WFP),利用梯度下降算法和 Wirtinger 积分^[133]使实际测量值和估计值之间的误差最小。WFP 对高斯噪声具有很强的稳健性,并且在低曝光的条件下,能够得到较好的重建结果,可以大大缩短图像的获取时间。但是对于非凸性情况,WFP 需要仔细地进行初始化过程。Yeh 等^[131]用最大梯度下降优化算法测试了不同的目标函数(基于强度、幅值和泊松最大似然估计等),结果表明,基于幅值和泊松最大似然估计的目标函数比基于强度的目标函数恢复效果好。但实际上 FP 的重构质量与原始数据的噪声类型相关,如果原始数据中的噪声主要是泊松噪声,那么以泊松似然率最优和振幅最优作为目标函数的更新算法,其重构质量会相对较好。当原始图像中的噪声主要为高斯噪声时,以光强最优作为目标函数的更新算法反而更容易精确地恢复出物体的大视场高分辨率图像。因此,实验中想要获得最佳的重构质量,还必须综合考虑迭代更新算法和相机的噪声模型^[134]。Zuo 等^[135]提出了一种自适应步长的 FPM 算法,通过每一次迭代判断误差矩阵是否高于阈值,只有在误差矩阵低于阈值即算法即将收敛时,才减小算法搜寻步长,否则保持不变,从而抑制算法收敛时可能出现的快速振荡现象,提高算法对噪声的稳健性。Bian 等^[136]提出了一种新颖的 FP 恢复算法,称为截断泊松最大似然估计算法 (TPWFP),利用泊松最大似然估计作为目标函数更好地对信号建模,并通过截断 Wirtinger 的梯度来消除误差。该方法能有效解决出瞳位置误差和测量噪声(泊松噪声、高斯噪声、散斑噪声)等问题。

4 快速 FP

提高数据采集速度、实现动态样品成像,是目前叠层衍射成像术的一大难点。针对这一问题,一系列的解决方法被相继提出^[135-140],包括自适应更新的 FP^[100,137]、基于照明编码的多路复用 FP^[92,94,138]、稀疏采样的 FP^[139]等,这里着重介绍基于照明编码的多路复用 FP^[94]。其光路上用一个可编程的 LED 板来代替普通商用亮场显微镜照明模块,通过编程控制 LED 板的发光单元来灵活实现多角度照明。该方案没有引入任何机械位移装置,结构简单,光路稳定,易于实现。不同于以往 FP 中逐行逐列地点亮 LED 的照明方式,多路复用的 FP 采用同时点亮多个 LED 的方式对照明光进行编码,提高了照明功率,缩短了曝光时间。此外,由于每个 LED 都对应着傅里叶面上的不同区域,这种方法可以利用更少的实验采集图像来达到相同的成像质量,从而很大程度地加快了成像速度。如图 13 上方所示,采用精心设计的 4 个 LED 同时点亮的照明编码方案进行图像记录,每一次测量都是 4 个不同 LED 照明的叠加。图 13 中间展示了对应的记录图像,下方则展示了傅里叶域上各 LED 的对应位置。在设计 LED 照明编码时,需要使相邻两编码图在傅里叶域上满足一

定的交叠率,同时点亮的 LED 应很好地分开从而保证对应的不同频谱信息能够同时通过系统,算法上也需进行对应的修改,类似于 CP 的混合态模型,这里不再赘述。多路复用算法能够有效地减少需要采集的图像数量及缩短算法重建时间。

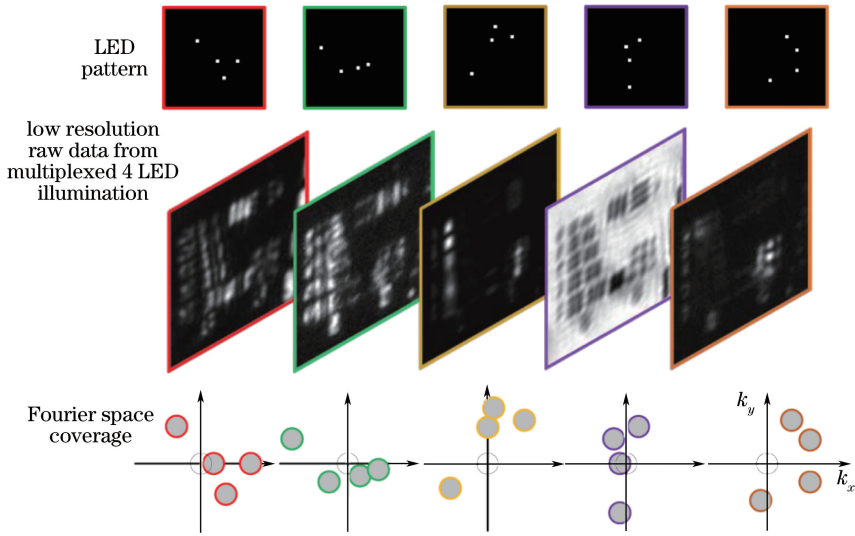


图 13 随机 4 个 LED 同时点亮的多路复用 FP 样本^[94]

Fig. 13 Samples for multiplexed FP with random four LEDs simultaneous sparkle^[94]

多路复用照明下的实验恢复结果如图 14 所示,其中 T 表示耗时。由图可以发现,与图 14(c)、(d)相比,图 14(e)的成像质量没有明显差别。可见多路复用的 FP 能够有效地提高数据采集速度,之后 Tian 等^[92]进一步研究,将 4 个 LED 同时点亮的照明编码方案改进为 8 个 LED 同时点亮的方案,进一步减少了图像采集张数、缩短了恢复时间;同时,提出了一种结合差分相衬照明的多路复用 FP 方法,使恢复时间缩短至亚秒级(约为 0.8 s),实现了动态样品成像。

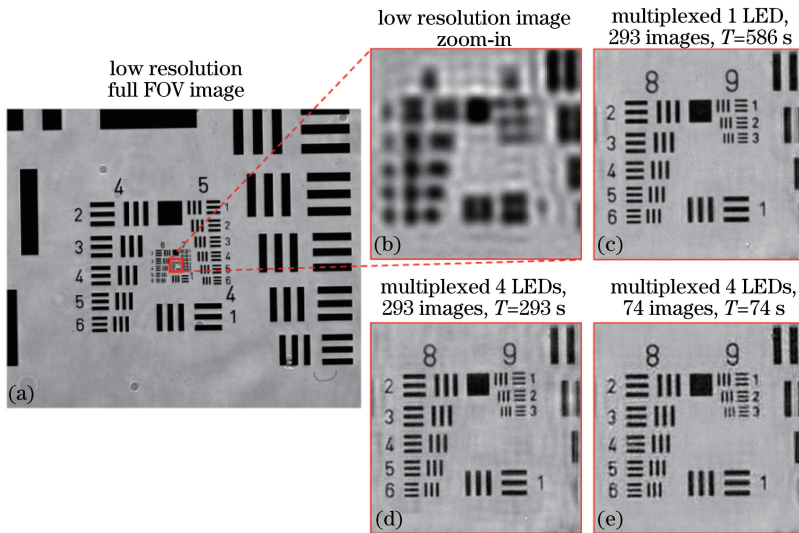


图 14 多路复用照明下的恢复结果^[94]。(a)低分辨率原始图像;(b)图(a)的放大图;(c)单个 LED 照明的恢复图像;(d)4 个 LED 照明的恢复图像;(e)基于图(d)减少采集数量后的图像

Fig. 14 Reconstruction results under multiplexed illumination^[94]. (a) Raw image with low resolution; (b) enlarged image of Fig. (a); (c) recovered image with single LED illumination; (d) recovered image with four LEDs illumination; (e) image obtained with reduced samples based on Fig. (d)

5 基于 FP 的荧光显微技术

除了上述的相位显微成像技术外,另一常用的方法是对样本进行染色,即利用细胞内不同组分对不同化

学荧光染料的不同亲和性,形成足够大的光强反差或生成不同的光谱,从而达到细胞成像的目的。目前广泛采用的荧光显微技术通过选择性标记细胞内的特异性分子,以显示细胞的结构与功能特性^[141-154]。然而,目前荧光显微成像无法同时达到高分辨率与大视场的要求,往往采用视场拼接^[155-156]的方式来获得足够大的视场。该方法需要精密的机械扫描部件,同时拼接过程对实验的精细化程度要求较高,要获得数十亿像素级大小的图像,视场拼接的方法极为耗时。因此,如果能够将 FP 与结构光照明荧光显微(SIM)技术相结合,将极大扩大荧光显微技术的视场范围。一方面,叠层衍射成像术能够恢复入射波前,这意味着如果投影图案已知,但是位置不够精确,仍可以优化结果^[157];另一方面,可以采用随机斑点,实现所谓的盲 SIM^[132-154],有效地提高照明数值孔径。另外,该方案不需要进行相移,同时还能矫正物镜的像差,可通过去卷积进一步提升分辨率^[158]。

5.1 基于结构光照明的 FP

1873年,德国物理学家 Ernst 提出,在均匀光照明下,光学显微镜受限于光的衍射效应和光学系统的有限孔径,存在分辨率极限(也称阿贝极限),其数值约为 $\lambda/(2NA)$,其中 λ 为光波波长。然而,可以通过非均匀照明将物体的高频信息转移到系统的通频带内,从而避免分辨率的限制。SIM^[141-154]就是一个很好的例子,它采用正弦条纹作为入射光,在物体表面进行三次相移过程,利用算法完成对物体的高分辨率重建。在线性情况下,SIM 最多可将分辨率提高两倍^[144]。同样,可以将非均匀的照明机制引入 FP,提高系统的横向分辨率。FP 采用 LED 板作为光源,通过不同位置的 LED 对物体进行多角度照明,用得到的一系列低分辨率图像来恢复物体的复振幅信息以及频谱面上的出瞳信息。由于采用低数值孔径的物镜进行成像,FP 可以同时实现高分辨率、大视场成像。因此,如果能够将 FP 与 SIM 相结合,将有助于扩大荧光显微技术的视场范围。然而作为相干成像技术,传统 FP 的实验装置不能直接用于荧光显微成像,因为荧光只对入射光的强度变化有响应而对相位变化没有响应,所以无论采用哪个角度的 LED 作为光源,出射荧光都保持不变,无法从采集的图像中提取有用信息。为了使 FP 适用于荧光显微技术,需要将 FP 中的照明光源替换成强度变化的光源,如不同结构的条纹^[157],原理如图 15 所示,其中 I_{obj} 为物体的强度, P_n 为不同结构条纹光的强度。由于系统采用低数值孔径的物镜,最后一幅低分辨率图像中的高频条纹被模糊了。

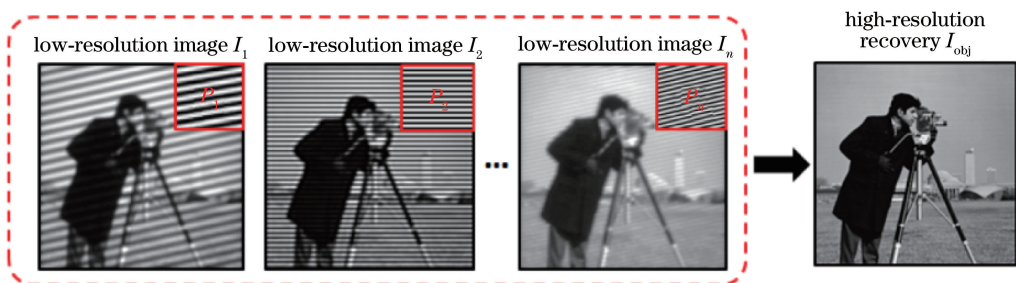


图 15 结构光照明 FP 原理图^[157]

Fig. 15 Schematic diagram of structured light illuminated FP^[157]

傅里叶面上的成像过程可以描述为

$$\mathcal{F}(I_n) = f_{\text{OTF}} \cdot \mathcal{F}(I_{\text{obj}} \cdot P_n), \quad (40)$$

式中 f_{OTF} 为系统的光学传递函数(OTF), I_{obj} 为物体的强度分布, P_n 为不同结构条纹光的强度。具体的恢复步骤如下。

1) 对于投影条纹已知情况,先随机猜测物体强度 I_{obj} ,则出射场目标函数 I_m 为

$$I_m = I_{\text{obj}} \cdot P_n. \quad (41)$$

2) 将实际测得的强度信息 I_n 代入更新出射场的目标函数,在频域上可表示为

$$\mathcal{F}(I_m)^{\text{updated}} = \mathcal{F}(I_m) + f_{\text{OTF}} \cdot [\mathcal{F}(I_n) - f_{\text{OTF}} \cdot \mathcal{F}(I_m)]. \quad (42)$$

3) 将 $\mathcal{F}(I_m)^{\text{updated}}$ 逆变换回空间域,用更新后的目标函数 I_m^{updated} 来更新物体强度分布:

$$I_{\text{obj}}^{\text{updated}} = I_{\text{obj}} + \frac{P_n}{P_{n,\text{max}}^2} (I_m^{\text{updated}} - I_{\text{obj}} \cdot P_n). \quad (43)$$

4) 将所有采用不同条纹照明的图像代入更新公式,重复步骤 2)~3) 若干次后直至结果收敛。由于 FP

可以恢复照明探针,因此可以采用随机图案 P_{unknown} 进行照明。在这种情况下,需要将随机图案投影到物体不同的空间位置上,得到多幅低分辨率图像,在步骤 3) 中每次更新物体的同时也更新相应的照明图案:

$$P_{\text{unknown}}^{\text{updated}} = P_{\text{unknown}} + \frac{I_{\text{obj}}}{I_{\text{obj,max}}^2} \cdot [I_{\text{in}}^{\text{updated}} - I_{\text{obj}} \cdot P_{\text{unknown}}(x - x_n)], \quad (44)$$

式中 x_n 为随机图案投影到物体上的位置。

使用不同数量的正弦条纹图案来照明物体,并利用上述算法恢复物体的高分辨率图像。正弦条纹结构光照明 FP 的仿真结果如图 16 所示。与 SIM 不同,正弦条纹结构光照明 FP 通过改变条纹的方向来得到不同的正弦条纹图案,不需要移相过程。由图可以看出,随着噪声的增强,成像质量呈线性降低趋势。

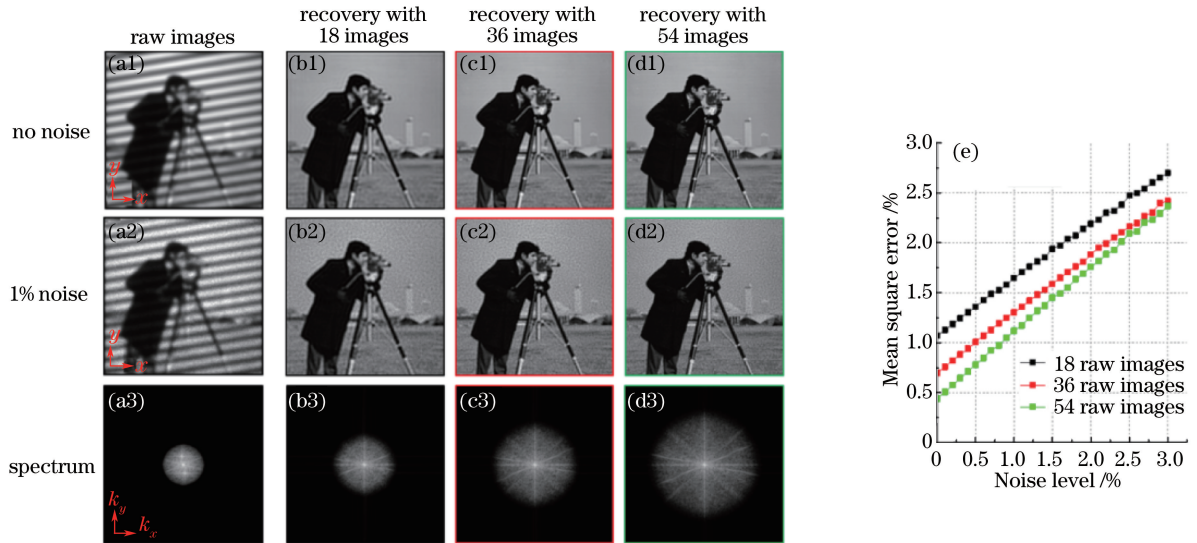


图 16 正弦条纹结构光照明 FP 恢复结果^[157]。(a1)低分辨率原始图像;(a2)在图(a1)中加入 1% 高斯噪声后的图像;

(a3)图(a1)的频谱;(b1)~(d1)采用 18、36、54 张正弦条纹图案对图(a1)的恢复结果;(b2)~(d2)采用

18、36、54 张正弦条纹图案对图(a2)的恢复结果;(b3)~(d3)图(b1)~(d1)对应的频谱;(e)均方根误差与噪声水平的关系

Fig. 16 Recovery results of FP illuminated with sinusoidal-fringe structured light^[157]. (a1) Raw image with low resolution; (a2) image after adding 1% Gaussian noise in Fig. (a1); (a3) frequency spectrum of Fig. (a1); (b1)-(d1) recovered results of Fig. (a1) using 18, 36, 54 sinusoidal-fringe images; (b2)-(d2) recovered results of Fig. (a2) using 18, 36, 54 sinusoidal-fringe images; (b3)-(d3) frequency spectra corresponding to Fig. (b1)-(d1);

(e) relationship between mean square error and noise level

未知随机照明图案的 FP 仿真结果如图 17 所示。将随机照明图案平移,使其投影在物体的不同位置上。由图可见,该方案的确适用于随机斑点照明,能实现所谓的盲 SIM,有效提高照明数值孔径。另外,该方案不需要进行相移,在光路结构的难易度和紧凑性上都有明显优势。

采用小鼠肾脏切片荧光样品得到的实验结果如图 18 所示。光路结构和普通亮场显微镜相似,唯一不同的是在入射光路中加入了扩散片,用于产生散斑图案。划线部位包含两条亮线,可以看到,采用均匀照明时,在 10 倍、 $NA=0.25$ 的物镜下区分不出两条亮线。但利用结构光照明 FP、采用相同的物镜时,可以区分出两条线。实验表明结构光照明 FP 能大大提高成像质量,同时实现高分辨率与大视场成像。

5.2 像差估计去卷积的 FP

除了可以将 FP 与结构光照明显微技术结合获得大视场以及实现盲 SIM 外,还可以利用 FP 实现物镜相差的恢复,从而通过去卷积的方式实现 SIM 分辨率的增强^[158]。在 FP 中,恢复出的系统像差以光瞳函数的形式表现出来,可以利用光瞳函数计算出系统随空间变化的 PSF。然后,利用相同的显微装置对样品进行拍摄,得到低分辨率的荧光图像,通过得到的 PSF 对该图像去卷积,进行像差校正,从而得到高分辨率图像。由于视场中不同位置的像差不一样,越靠近视场边缘位置像差越大,因此通过像差校正的方法,可以提高整个视场的分辨率。

恢复出来的光瞳函数为显微系统的相干传递函数(CTF),由此可以得到系统的非相干 PSF,表示为

$$h_m(x, y) = |\mathcal{F}^{-1}[P_m(f_x, f_y)]|^2, \quad (45)$$

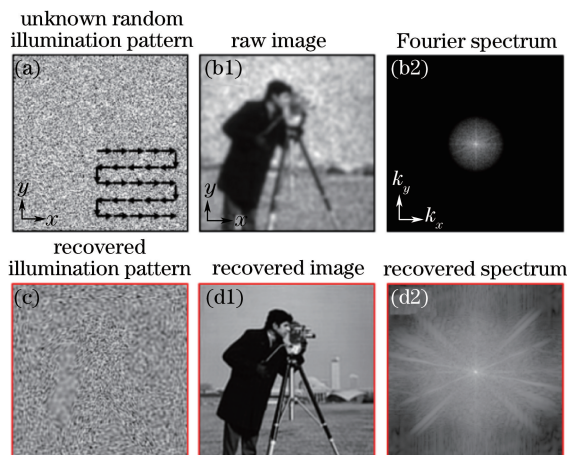


图 17 未知随机照明图案下的 FP 恢复结果^[157]。(a1)未知的随机照明图案;(b1)原始图像;(c1)图(b1)的傅里叶谱;
(a2)图(a1)的恢复图案;(b2)图(b1)的恢复图像;(c2)图(b2)的傅里叶谱

Fig. 17 Reconstruction results of FP under unknown images with random illumination^[157].

(a1) Unknown images with random illumination; (b1) raw image; (c1) Fourier spectrum of Fig. (b1);
(a2) recovered image of Fig. (a1); (b2) recovered image of Fig. (b1); (c2) Fourier spectrum of Fig. (b2)

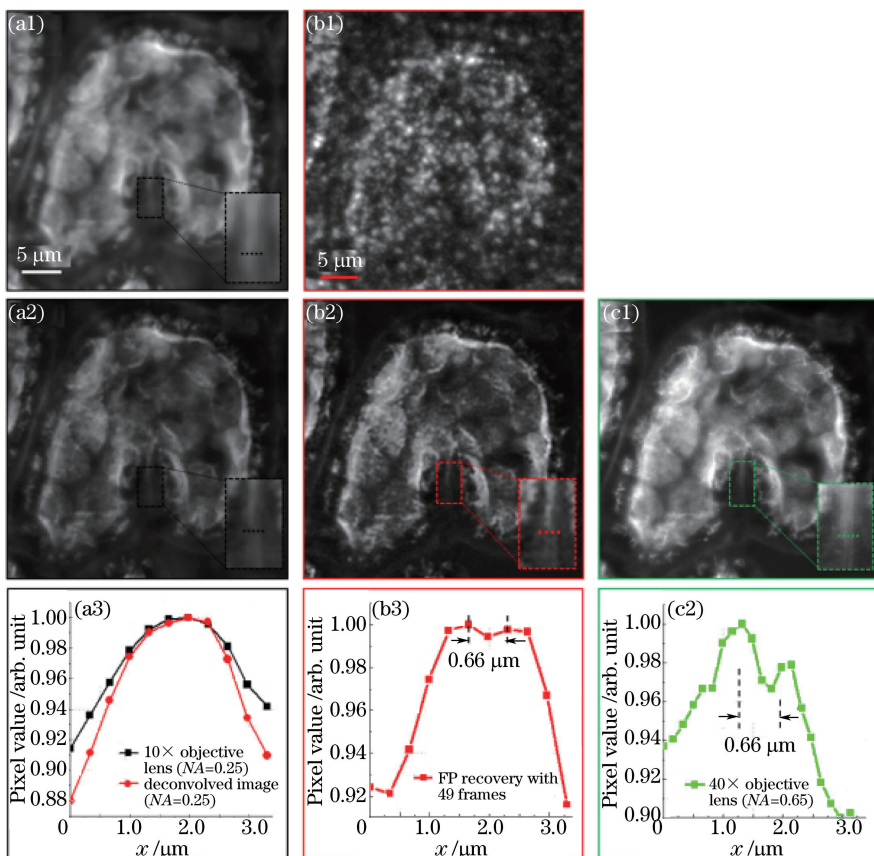


图 18 结构光照明 FP 的实验结果^[157]。(a1)均匀照明光下的原始图像(10 \times , NA=0.25);(a2)对图(a1)去卷积后的图像;
(b1)散斑照明下的原始图像(10 \times , NA=0.25);(b2)使用 49 幅低分辨率图像恢复的结果;(c1)均匀照明光下的结果
(40 \times , NA=0.65);(a3)(b3)(c2)图(a1)、(a2)、(b2)、(c1)中划线部位的强度分布图

Fig. 18 Experimental results of FP illuminated with structured light^[157]. (a1) Raw image under uniform illumination (10 \times , NA=0.25); (a2) image after deconvolution in Fig. (a1); (b1) raw image under speckle illumination (10 \times , NA=0.25); (b2) recovered result using 49 low resolution images; (c1) result under uniform illumination (40 \times , NA=0.65); (a3)(b3)(c2) intensity distribution of underlined part in Fig. (a1), (a2), (b2), (c1)

式中 (x, y) 为像平面上的坐标, (f_x, f_y) 为傅里叶面上的坐标, $P_m(f_x, f_y)$ 为系统的CTF, $h_m(x, y)$ 为系统非相干PSF。 $o_m(x, y)$ 为荧光物体, $n_m(x, y)$ 为系统的噪声(如散粒噪声、背景噪声),则在探测器上得到的强度分布 $i_m(x, y)$ 为

$$i_m(x, y) = h_m(x, y) * o_m(x, y) + n_m(x, y). \quad (46)$$

在傅里叶面上表示为

$$I_m(f_x, f_y) = H_m(f_x, f_y) \cdot O_m(f_x, f_y) + N_m(f_x, f_y), \quad (47)$$

式中 $I_m(f_x, f_y)$ 、 $H_m(f_x, f_y)$ 、 $O_m(f_x, f_y)$ 、 $N_m(f_x, f_y)$ 分别为 $i_m(x, y)$ 、 $h_m(x, y)$ 、 $o_m(x, y)$ 、 $n_m(x, y)$ 的傅里叶变换, $H_m(f_x, f_y)$ 为系统的OTF。利用维纳(Wiener)去卷积的方法,可以得到物体频谱 $O_m(f_x, f_y)$ 的估计值为

$$\tilde{O}_m(f_x, f_y) = G_m(f_x, f_y) \cdot I_m(f_x, f_y), \quad (48)$$

式中 $G_m(f_x, f_y)$ 为维纳逆滤波器,可以表示为

$$G_m(f_x, f_y) = \frac{H_m^*(f_x, f_y)}{|H_m(f_x, f_y)|^2 + [|N_m(f_x, f_y)|^2 / |O_m(f_x, f_y)|^2]}. \quad (49)$$

一般地,令 $\frac{|N_m(f_x, f_y)|^2}{|O_m(f_x, f_y)|^2}$ 的比值为—常数 K 。 K 值越小,恢复出的物体包含的细节信息越多; K 值越大,物体的细节信息丢失,但是算法的抗噪能力增强。最终得到的物体估计值可以表示为

$$\tilde{o}_m(x, y) = \mathcal{F}^{-1} \left[\frac{H_m^*(f_x, f_y)}{|H_m(f_x, f_y)|^2 + K} \cdot I_m(f_x, f_y) \right]. \quad (50)$$

实验所用的光路图如图19所示。在FPM所用光路的基础上,引入一个激发LED和滤光片来获取荧光图像。首先,通过逐个点亮LED来获得一系列低分辨率图像,通过EPRY算法恢复出系统的光瞳函数 $P_m(f_x, f_y)$,利用(45)式推导出系统的非相干PSF为 $h_m(x, y)$ 。然后由LED激发物体发出荧光,在探测器上获得荧光图像。物镜后焦面处放置的可变光阑可以控制系统数值孔径。可变光阑后的滤光片不但可以滤除杂散光,提高荧光图像的对比度,而且可以使FPM采集的数据体与获得的荧光图像处于同一个色彩通道上。

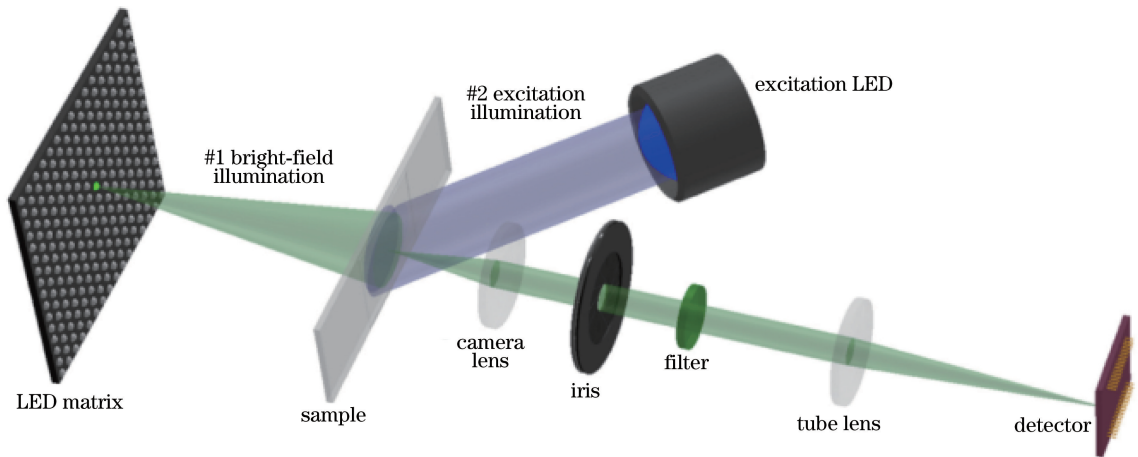


图19 结合荧光图像的FPM实验光路图^[158]

Fig. 19 Experimental light-path diagram of FPM combined with fluorescence image^[158]

使用直径为 $10 \mu\text{m}$ 的绿色荧光小球和直径为 $15 \mu\text{m}$ 的非荧光小球作为样品,验证该方法的可靠性,结果如图20所示。由图可以看到,通过像差校正过程,不仅提高了图像的对比度,而且提高了荧光小球球心的位置精度,修正了系统像差带来的侧向平移;去卷积后,球心的位置精度得到很大的提高。

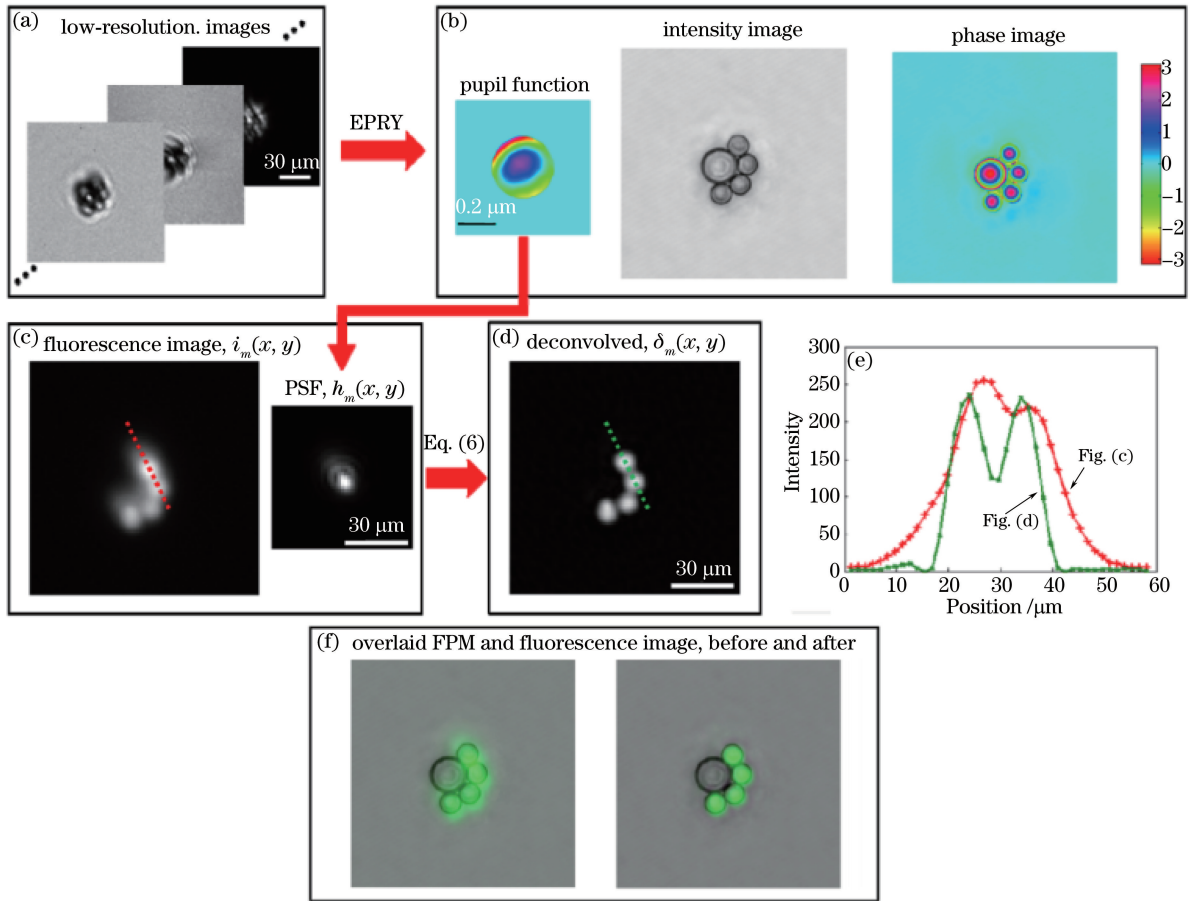


图 20 通过 FPM 得到的高分辨率物体以及像差校正后的荧光图像^[158]。(a)利用 FPM 获得的一系列低分辨率图像；(b)利用 EPRY 算法恢复出的样品复振幅信息和系统的光瞳函数；(c)系统非相干 PSF；(d)利用(50)式对获得的低分辨率荧光图像去卷积的结果；(e)图(c)、(d)中划线部位的强度分布图；(f)在低分辨率荧光图像中加入 FPM 得到的高分辨率图像后的结果(左侧)和对低分辨率荧光图像去卷积的结果(右侧)

Fig. 20 High-resolution object obtained by FPM and aberration-corrected fluorescence images^[158].

- (a) A series of low resolution images obtained by using FPM; (b) complex amplitude information of image recovered by EPRY algorithm and pupil function of system; (c) incoherent PSF of system; (d) deconvolved result of low resolution fluorescence image obtained by using Eq. (50); (e) intensity distributions of underlined parts in Fig. (c) and Fig. (d); (f) result obtained by adding high resolution image from FPM in low resolution fluorescence image (left) and deconvolved result of low resolution fluorescence image (right)

6 结束语

CP 与 FP 都具有大视场、高分辨率、无需标记、长工作距离、不丢失相位低频分量等优点,同时所恢复的相位均具有很好的对比度。两者是同一个技术的不同展现方式,前者在空域中采样,后者在频域中采样。叠层衍射成像术相比于其他 CDI 方法有较快的收敛速度和更好的成像质量,不存在传统 CDI 方法的过采样问题。CP 与 FP 既有一定联系,但又有所区别。CP 属于无透镜成像技术,适用于 X 射线和电子波段,可极大提升 X 射线和电子波段下的成像质量。FP 需要物镜进行成像,主要应用于光学波段,兼具大视场和高分辨率两种特性,成本较低,具有很好的市场应用前景。

在技术发展趋势上,CP 发展初期遇到的诸如探针分布、位置误差、样品厚度等问题均已得到妥善解决。但这些改进算法都只针对其中某一个影响因素,不同因素共同影响的情况仍需要进一步研究。此外,混合态模型极大地拓宽了 CP 的应用范围,有效解决了对光源和样品的稳定性要求较高的问题,但是该技术仍存在一些细节问题有待探索,如光源的部分相干程度可以放松至何种程度,如何在部分相干光源下实现更高质

量、更高速度的成像等。随着技术的发展,FP 主要的发展趋势在于实现高效快速的 FP,甚至实时动态成像;与其他技术相结合,诸如荧光显微成像技术等,充分利用 FP 大视场、高分辨率、光路结构简单等优势,实现更为广泛的应用。

致 谢 感谢白玉龙、韩洋、白晋周对论文的帮助。

参 考 文 献

- [1] Zernike F. Phase contrast, a new method for the microscopic observation of transparent objects[J]. *Physica*, 1942, 9(7): 686-698.
- [2] Nomarski G. Differential microinterferometer with polarized waves[J]. *Journal de Physique et le Radium*, 1955, 16: 9s-13s.
- [3] Cucho E, Bevilacqua F, Depeursinge C. Digital holography for quantitative phase-contrast imaging[J]. *Optics Letters*, 1999, 24(5): 291-293.
- [4] Cucho E, Marquet P, Depeursinge C. Simultaneous amplitude-contrast and quantitative phase-contrast microscopy by numerical reconstruction of Fresnel off-axis holograms[J]. *Applied Optics*, 1999, 38(34): 6994-7001.
- [5] Cucho E, Marquet P, Depeursinge C. Spatial filtering for zero-order and twin-image elimination in digital off-axis holography[J]. *Applied Optics*, 2000, 39(23): 4070-4075.
- [6] Schnars U, Jüptner W P O. Digital recording and numerical reconstruction of holograms[J]. *Measurement Science and Technology*, 2002, 13(9): R85-R101.
- [7] Schnars U, Jueptner W. *Digital holography*[M]. Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2005.
- [8] Zuo Chao, Chen Qian, Sun Jiasong, *et al.* Non-interferometric phase retrieval and quantitative phase microscopy based on transport of intensity equation: A review[J]. *Chinese J Lasers*, 2016, 43(6): 0609002.
左 超, 陈 钱, 孙佳嵩, 等. 基于光强传输方程的非干涉相位恢复与定量相位显微成像: 文献综述与最新进展[J]. *中国激光*, 2016, 43(6): 0609002.
- [9] Rao C, Jiang W, Ling N. Measuring the power-law exponent of an atmospheric turbulence phase power spectrum with a Shack-Hartmann wave-front sensor[J]. *Optics Letters*, 1999, 24(15): 1008-1010.
- [10] Hartmann J. Bemerkungen über den bau und die justirung von spektrographen (in German)[J]. *Z Instrumentenk*, 1900, 20: 47-58.
- [11] Platt B C, Shack R. History and principles of Shack-Hartmann wavefront sensing[J]. *Journal of Refractive Surgery*, 2001, 17(5): S573-S577.
- [12] Shack R V, Platt B C. Production and use of a lenticular Hartmann screen[J]. *Journal of the Optical Society of America*, 1971, 61(5): 656-660.
- [13] Yao Yudong, Liu Cheng, Pan Xingchen, *et al.* Research status and development trend of PIE imaging method[J]. *Chinese J Lasers*, 2016, 43(6): 0609001.
姚玉东, 刘 诚, 潘兴臣, 等. PIE 成像方法技术现状及发展趋势[J]. *中国激光*, 2016, 43(6): 0609001.
- [14] Teague M R. Deterministic phase retrieval: A Green's function solution[J]. *Journal of the Optical Society of America*, 1983, 73(11): 1434-1441.
- [15] Paganin D, Nugent K A. Noninterferometric phase imaging with partially coherent light[J]. *Physical Review Letters*, 1998, 80(12): 2586-2589.
- [16] Frank J, Altmeyer S, Wernicke G. Non-interferometric, non-iterative phase retrieval by Green's function[J]. *Journal of the Optical Society of America A*, 2010, 27(10): 2244-2251.
- [17] Semichaevsky A, Testorf M. Phase-space interpretation of deterministic phase retrieval[J]. *Journal of the Optical Society of America A*, 2004, 21(11): 2173-2179.
- [18] Almoró P F, Waller L, Agour M, *et al.* Enhanced deterministic phase retrieval using a partially developed speckle field[J]. *Optics Letters*, 2012, 37(11): 2088-2090.
- [19] Zuo C, Chen Q, Asundi A. Boundary-artifact-free phase retrieval with the transport of intensity equation: Fast solution with use of discrete cosine transform[J]. *Optics Express*, 2014, 22(8): 9220-9244.
- [20] Cheng Hong, Zhang Quanbing, Wei Sui, *et al.* Phase retrieval based on transport-of-intensity equation[J]. *Acta*

- Photonica Sinica, 2011, 40(10): 1566-1570.
- 程 鸿, 章权兵, 韦 穗, 等. 基于强度传输方程的相位检索[J]. 光子学报, 2011, 40(10): 1566-1570.
- [21] Cheng Hong, Shen Chuan, Zhang Cheng, *et al.* Phase retrieval algorithm combining transport of intensity equation and angular spectrum iterative[J]. Chinese J Lasers, 2014, 41(6): 0609001.
- 程 鸿, 沈 川, 张 成, 等. 强度传输方程和角谱迭代融合的相位检索算法[J]. 中国激光, 2014, 41(6): 0609001.
- [22] Wang Xiao, Mao Heng, Zhao Dazun. Phase retrieval based on intensity transport equation[J]. Acta Optica Sinica, 2007, 27(12): 2117-2122.
- 王 潇, 毛 珩, 赵达尊. 基于光强传播方程的相位恢复[J]. 光学学报, 2007, 27(12): 2117-2122.
- [23] Xue Bindang, Zheng Shiling, Jiang Zhiguo. Phase retrieval using transport of intensity equation solved by full multigrid method[J]. Acta Optica Sinica, 2009, 29(6): 1514-1518.
- 薛斌党, 郑世玲, 姜志国. 完全多重网格法求解光强度传播方程的相位恢复方法[J]. 光学学报, 2009, 29(6): 1514-1518.
- [24] Liu Beibei, Yu Yingjie, Wu Xiaoyan, *et al.* Applicable conditions of phase retrieval based on transport of intensity equation[J]. Optics and Precision Engineering, 2015, 23(10z): 77-84.
- 刘贝贝, 于瀛洁, 伍小燕, 等. 基于光强传输方程的相位恢复条件[J]. 光学精密工程, 2015, 23(10z): 77-84.
- [25] Zuo C, Chen Q, Li H, *et al.* Boundary-artifact-free phase retrieval with the transport of intensity equation II: Applications to microlens characterization[J]. Optics Express, 2014, 22(15): 18310-18324.
- [26] Zuo C, Chen Q, Huang L, *et al.* Phase discrepancy analysis and compensation for fast Fourier transform based solution of the transport of intensity equation[J]. Optics Express, 2014, 22(14): 17172-17186.
- [27] Zuo C, Chen Q, Yu Y, *et al.* Transport-of-intensity phase imaging using Savitzky-Golay differentiation filter-theory and applications[J]. Optics Express, 2013, 21(5): 5346-5362.
- [28] Zuo C, Chen Q, Asundi A. Light field moment imaging: Comment[J]. Optics Letters, 2014, 39(3): 654.
- [29] Zuo C, Chen Q, Qu W, *et al.* Noninterferometric single-shot quantitative phase microscopy[J]. Optics Letters, 2013, 38(18): 3538-3541.
- [30] Zuo C, Chen Q, Qu W, *et al.* High-speed transport-of-intensity phase microscopy with an electrically tunable lens[J]. Optics Express, 2013, 21(20): 24060-24075.
- [31] Zuo C, Chen Q, Tian L, *et al.* Transport of intensity phase retrieval and computational imaging for partially coherent fields: The phase space perspective[J]. Optics and Lasers in Engineering, 2015, 71: 20-32.
- [32] Gerchberg R W, Saxton W O. A practical algorithm for the determination of phase from image and diffraction plane pictures[J]. Optik, 1972, 35(2): 237-246.
- [33] Gerchberg R W, Saxton W O. Phase determination from image and diffraction plane pictures in electron-microscope [J]. Optik, 1971, 34(3): 275-284.
- [34] Misell D. A method for the solution of the phase problem in electron microscopy[J]. Journal of Physics D, 1973, 6(1): L6-L9.
- [35] Fienup J R. Phase retrieval algorithms: A comparison[J]. Applied Optics, 1982, 21(15): 2758-2769.
- [36] Fienup J R. Reconstruction of an object from the modulus of its Fourier transform[J]. Optics Letters, 1978, 3(1): 27-29.
- [37] Ivanov V Y, Vorontsov M A, Sivokon V P. Phase retrieval from a set of intensity measurements: Theory and experiment[J]. Journal of the Optical Society of America A, 1992, 9(9): 1515-1524.
- [38] Yang Guozhen, Gu Benyuan. On the amplitude-phase retrieval problem in optical systems[J]. Acta Physica Sinica, 1981, 30(3): 410-413.
- 杨国桢, 顾本源. 光学系统中振幅和相位的恢复问题[J]. 物理学报, 1981, 30(3): 410-413.
- [39] Eisebitt S, Lüning J, Schlotter W, *et al.* Lenless imaging of magnetic nanostructures by X-ray spectro-holography [J]. Nature, 2004, 432(7019): 885-888.
- [40] Marchesini S, He H, Champman H N, *et al.* X-ray image reconstruction from a diffraction pattern alone[J]. Physical Review B, 2003, 68(14): 140101.
- [41] Gonsalves R A, Chidlaw R. Wavefront sensing by phase retrieval[C]. SPIE, 1979, 207: 32-39.
- [42] Guyon O. Limits of adaptive optics for high-contrast imaging[J]. The Astrophysical Journal, 2005, 629(1): 592-614.
- [43] Zuo J M, Vartanyants I, Gao M, *et al.* Atomic resolution imaging of a carbon nanotube from diffraction intensities

- [J]. *Science*, 2003, 300(5624): 1419-1421.
- [44] Pedrini G, Osten W, Zhang Y. Wave-front reconstruction from a sequence of interferograms recorded at different planes[J]. *Optics Letters*, 2005, 30(8): 833-835.
- [45] Zhang Jingjuan, Shi Yishi, Situ Guohai. A survey on optical information hiding[J]. *Journal of the Graduate School of the Chinese Academy of Sciences*, 2006, 23(3): 289-296.
张静娟, 史祎诗, 司徒国海. 光学信息隐藏综述[J]. *中国科学院研究生院简报*, 2006, 23(3): 289-296.
- [46] Shi Y S, Situ G H, Zhang J J. Multiple-image hiding in the Fresnel domain[J]. *Optics Letters*, 2007, 32(13): 1914-1916.
- [47] Fienup J R, Wacherman C C. Phase-retrieval stagnation problems and solutions[J]. *Journal of the Optical Society of America A*, 1986, 3(11): 1897-1907.
- [48] Lu G, Zhang Z, Francis T S, *et al.* Pendulum iterative algorithm for phase retrieval from modulus data[J]. *Optical Engineering*, 1994, 33(2): 548-555.
- [49] Ou X, Horstmeyer R, Yang C, *et al.* Quantitative phase imaging via Fourier ptychographic microscopy[J]. *Optics Letters*, 2013, 38(22): 4845-4848.
- [50] Rodenburg J M, Faulkner H M L. A phase retrieval algorithm for shifting illumination[J]. *Applied Physics Letters*, 2004, 85(20): 4795-4797.
- [51] Faulkner H M L, Rodenburg J M. Movable aperture lensless transmission microscopy: A novel phase retrieval algorithm[J]. *Physical Review Letters*, 2004, 93(2): 023903.
- [52] Li P, Batey D, Edo T, *et al.* Separation of three-dimensional scattering effects in tilt-series Fourier ptychography[J]. *Ultramicroscopy*, 2015, 158: 1-7.
- [53] Fu J, Li P. A general phase retrieval algorithm based on a ptychographical iterative engine for coherent diffractive imaging[J]. *Chinese Physics B*, 2013, 22(1): 014024.
- [54] Marrison J, Raty L, Marriott P, *et al.* Ptychography—A label free, high-contrast imaging technique for live cells using quantitative phase information[J]. *Scientific Reports*, 2013, 3: 2369.
- [55] Pan X C, Veetil S P, Liu C, *et al.* High-contrast imaging for weakly diffracting specimens in coherent diffraction imaging[J]. *Chinese Optics Letters*, 2013, 11(2): 021103.
- [56] Shi Y S, Wang Y L, Zhang S G. Generalized ptychography with diverse probes[J]. *Chinese Physics Letters*, 2013, 30(5): 054203.
- [57] Wang Dong, Ma Yingjun, Liu Quan, *et al.* Experimental study on multi-wavelength ptychographic imaging in visible light band[J]. *Acta Physica Sinica*, 2015, 64(8): 084203.
王东, 马迎军, 刘泉, 等. 可见光域多波长叠层衍射成像的实验研究[J]. *物理学报*, 2015, 64(8): 084203.
- [58] Wang Y L, Li T, Gao Q K, *et al.* Application of diffractive optical elements for controlling the light beam in ptychography[J]. *Optical Engineering*, 2013, 52(9): 091720.
- [59] Wang Yali, Shi Yishi, Li Tuo, *et al.* Research on the key parameters of illuminating beam for imaging via ptychography in visible light band[J]. *Acta Physica Sinica*, 2013, 62(6): 064206.
王雅丽, 史祎诗, 李拓, 等. 可见光域叠层成像中照明光束的关键参量研究[J]. *物理学报*, 2013, 62(6): 064206.
- [60] Maiden A M, Humphry M J, Zhang F C, *et al.* Superresolution imaging via ptychography[J]. *Journal of the Optical Society of America A*, 2011, 28(4): 604-612.
- [61] Maiden M, Humphry M J, Rodenburg J M. Ptychographic transmission microscopy in three dimensions using a multi-slice approach[J]. *Journal of the Optical Society of America A*, 2012, 29(8): 1606-1614.
- [62] Godden T M, Suman R, Humphry M J, *et al.* Ptychographic microscope for three-dimensional imaging[J]. *Optics Express*, 2014, 22(10): 12513-12523.
- [63] Pan An, Zhang Xiaofei, Wang Bin, *et al.* Experimental study on three-dimensional ptychography for thick sample[J]. *Acta Physica Sinica*, 2016, 65(1): 014204.
潘安, 张晓菲, 王彬, 等. 厚样品三维叠层衍射成像的实验研究[J]. *物理学报*, 2016, 65(1): 014204.
- [64] Chen Wen, Jiang Zhilong, Liu Cheng, *et al.* Depth resolved imaging by 3PIE with dual-beam illumination[J]. *Acta Optica Sinica*, 2016, 36(8): 0811002.
陈文, 蒋志龙, 刘诚, 等. 双光束照明 3PIE 层析成像[J]. *光学学报*, 2016, 36(8): 0811002.
- [65] Shi Y, Li T, Wang Y, *et al.* Optical image encryption via ptychography[J]. *Optics Letters*, 2013, 38(9): 1425-1427.

- [66] Shi Y, Wang Y, Li T, *et al.* Ptychographical imaging algorithm with a single random phase encoding[J]. Chinese Physics Letters, 2013, 30(7): 074203.
- [67] Claus D, Robinson D J, Chetwynd D G, *et al.* Dual wavelength optical metrology using ptychography[J]. Journal of Optics, 2013, 15(3): 035702.
- [68] Claus D, Maiden A M, Zhang F, *et al.* Quantitative phase contrast optimised cancerous cell differentiation via ptychography[J]. Optics Express, 2012, 20(9): 9911-9918.
- [69] Thibault P, Dierolf M, Menzel A, *et al.* High-resolution scanning X-ray diffraction microscopy[J]. Science, 2008, 321(5887): 379-382.
- [70] Rodenburg J M, Hurst A C, Cullis A G, *et al.* Hard-X-ray lensless imaging of extended objects[J]. Physical Review Letters, 2007, 98(3): 034801.
- [71] Humphry M J, Kraus B, Hurst A C, *et al.* Ptychographic electron microscopy using high-angle dark-field scattering for sub-nanometre resolution imaging[J]. Nature Communications, 2012, 3(2): 730.
- [72] Holler M, Diaz A, Guizar-sicairos M, *et al.* X-ray ptychographic computed tomography at 16 nm isotropic 3D resolution[J]. Scientific Reports, 2014, 4: 3857.
- [73] Wang H, Liu C, Pan X, *et al.* The application of ptychography in the field of high power laser[C]. SPIE, 2015, 9255: 925534.
- [74] Zheng Chen, He Xiaoliang, Liu Cheng, *et al.* A study on the influence of the axial distance error to the image quality of the ptychographic iterative engine[J]. Acta Optica Sinica, 2014, 34(10): 1011003.
郑晨, 何小亮, 刘诚, 等. 关于轴向距离误差对 PIE 成像质量影响的研究[J]. 光学学报, 2014, 34(10): 1011003.
- [75] Wang Baosheng, Gao Shumei, Wang Jicheng, *et al.* Influence of charge coupled device saturation on PIE imaging[J]. Acta Optica Sinica, 2013, 33(6): 0611001.
王宝升, 高淑梅, 王继成, 等. 电荷耦合器件饱和效应对 PIE 成像质量的影响[J]. 光学学报, 2013, 33(6): 0611001.
- [76] Liu Cheng, Pan Xingchen, Zhu Jianqiang. Coherent diffractive imaging based on the multiple beam illumination with cross grating[J]. Acta Physica Sinica, 2013, 62(18): 184204.
刘诚, 潘兴臣, 朱健强. 基于光栅分光法的相干衍射成像[J]. 物理学报, 2013, 62(18): 184204.
- [77] Pan X, Liu C, Zhu J. Single shot ptychographical iterative engine based on multi-beam illumination[J]. Applied Physics Letters, 2013, 103(17): 171105.
- [78] Zheng G, Horstmeyer R, Yang C. Wide-field, high-resolution Fourier ptychographic microscopy [J]. Nature Photonics, 2013, 7(9): 739-745.
- [79] Zheng G, Ou X, Horstmeyer R, *et al.* Characterization of spatially varying aberrations for wide field-of-view microscopy[J]. Optics Express, 2013, 21(13): 15131-15143.
- [80] Ou X, Zheng G, Yang C. Embedded pupil function recovery for Fourier ptychographic microscopy [J]. Optics Express, 2014, 22(5): 4960-4972.
- [81] Zheng G. Breakthroughs in Photonics 2013: Fourier ptychographic imaging[J]. IEEE Photonics Journal, 2014, 6(2): 1-7.
- [82] Zhang Y, Jiang W, Dai Q. Nonlinear optimization approach for Fourier ptychographic microscopy [J]. Optics Express, 2015, 23(26): 33822-33835.
- [83] Pacheco S, Zheng G, Liang R. Reflective Fourier ptychography[J]. Journal of Biomedical Optics, 2016, 21(2): 26010.
- [84] Zheng G, Ou X, Yang C. 0.5 gigapixel microscopy using a flatbed scanner[J]. Biomedical Optics Express, 2013, 5(1): 1-8.
- [85] Guo K, Bian Z, Dong S, *et al.* Microscopy illumination engineering using a low-cost liquid crystal display [J]. Biomedical Optics Express, 2015, 6(2): 574-579.
- [86] Xie Zongliang, Ma Haotong, Ren Ge, *et al.* Research on the key parameters of aperture-scanning Fourier ptychography[J]. Acta Optica Sinica, 2015, 35(10): 1011002.
谢宗良, 马浩统, 任戈, 等. 小孔扫描傅里叶叠层成像的关键参量研究[J]. 光学学报, 2015, 35(10): 1011002.
- [87] Kuang C, Ma Y, Zhou R, *et al.* Digital micromirror device-based laser-illumination Fourier ptychographic microscopy [J]. Optics Express, 2015, 23(21): 26999-27010.

- [88] Ou X, Horstmeyer R, Zheng G, *et al.* High numerical aperture Fourier ptychography: Principle, implementation and characterization[J]. *Optics Express*, 2015, 23(3): 3472-3491.
- [89] Dong S, Horstmeyer R, Shiradkar R, *et al.* Aperture-scanning Fourier ptychography for 3D refocusing and super-resolution macroscopic imaging[J]. *Optics Express*, 2014, 22(11): 13586-13599.
- [90] Tian L, Waller L. 3D intensity and phase imaging from light field measurements in an LED array microscope[J]. *Optica*, 2015, 2(2): 104-111.
- [91] Tian L, Wang J, Waller L. 3D differential phase-contrast microscopy with computational illumination using an LED array[J]. *Optics Letters*, 2014, 39(5): 1326-1329.
- [92] Tian L, Liu Z, Yeh L, *et al.* Computational illumination for high-speed in vitro Fourier ptychographic microscopy[J]. *Optica*, 2015, 2(10): 904-911.
- [93] Chung J, Lu H, Ou X, *et al.* Wide-field Fourier ptychographic microscopy using laser illumination source [J]. *Biomedical Optics Express*, 2016, 7(11): 4787-4802.
- [94] Tian L, Li X, Ramchandran K, *et al.* Multiplexed coded illumination for Fourier ptychography with an LED array microscope[J]. *Biomedical Optics Express*, 2014, 5(7): 2376-2389.
- [95] Dong S, Nanda P, Shiradkar R, *et al.* High-resolution fluorescence imaging via pattern illuminated Fourier ptychography[J]. *Optics Express*, 2014, 22(17): 20856-20870.
- [96] Chung J, Kim J, Ou X, *et al.* Wide field-of-view fluorescence image deconvolution with aberration-estimation from Fourier ptychography[J]. *Biomedical Optics Express*, 2016, 7(2): 352-368.
- [97] Chakrova N, Heintzmann R, Rieger B, *et al.* Studying different illumination patterns for resolution improvement in fluorescence microscopy[J]. *Optics Express*, 2015, 23(24): 31367-31383.
- [98] Sun J, Chen Q, Zhang Y, *et al.* Efficient positional misalignment correction method for Fourier ptychographic microscopy[J]. *Biomedical Optics Express*, 2016, 7(4): 1336-1350.
- [99] Sun J, Chen Q, Zhang Y, *et al.* Sampling criteria for Fourier ptychographic microscopy in object space and frequency space[J]. *Optics Express*, 2016, 24(14): 15765-15781.
- [100] Bian L, Suo J, Situ G, *et al.* Content adaptive illumination for Fourier ptychography[J]. *Optics Letters*, 2014, 39(23): 6648-6651.
- [101] Bian L, Suo J, Zheng G, *et al.* Fourier ptychographic reconstruction using Wirtinger flow optimization[J]. *Optics Express*, 2015, 23(4): 4856-4866.
- [102] Hoppe W. Diffraction in inhomogeneous primary wave fields. 1. Principle of phase determination from electron diffraction interference[J]. *Acta Crystallographica Section A*, 1969, 25: 495-501.
- [103] Hoppe W, Strube G. Diffraction inhomogeneous primary wave fields. 2. Optical experiments for phase determination of lattice interferences[J]. *Acta Crystallographica Section A*, 1969, 25: 502-507.
- [104] Hoppe W. Diffraction in homogeneous primary wave fields. 3. Amplitude and phase determination for nonperiodic objects[J]. *Acta Crystallographica Section A*, 1969, 25: 508-514.
- [105] Rodenburg J M. Ptychography and related diffractive imaging methods[J]. *Advances in Imaging and Electron Physics*, 2008, 150(7): 87-184.
- [106] Maiden A M, Rodenburg J M. An improved ptychographical phase retrieval algorithm for diffractive imaging [J]. *Ultramicroscopy*, 2009, 109(10): 1256-1262.
- [107] Maiden A M, Humphry M J, Sarahan M C, *et al.* An annealing algorithm to correct positioning errors in ptychography[J]. *Ultramicroscopy*, 2012, 120: 64-72.
- [108] Sang X, LeBeau J M. Revolving scanning transmission electron microscopy: Correcting sample drift distortion without prior knowledge[J]. *Ultramicroscopy*, 2014, 138: 28-35.
- [109] Zhang F, Peterson I, Vila-Comamala J, *et al.* Translation position determination in ptychographic coherent diffraction imaging[J]. *Optics Express*, 2013, 21(11): 13592-13606.
- [110] Beckers M, Senkbeil T, Gorniak T, *et al.* Drift correction in ptychographic diffractive imaging[J]. *Ultramicroscopy*, 2013, 126: 44-47.
- [111] Hurst A C, Edo T B, Walther T, *et al.* Probe position recovery for ptychographical imaging[C]. *Journal of Physics: Conference Series*, 2010, 241: 012004.
- [112] Guizar-Sicairos M, Fienup J R. Phase retrieval with transverse translation diversity: A nonlinear optimization approach

- [J]. Optics Express, 2008, 16(10): 7264-7278.
- [113] Thibault P, Dierolf M, Bunk O, *et al.* Probe retrieval in ptychographic coherent diffractive imaging [J]. Ultramicroscopy, 2009, 109(4): 338-343.
- [114] Waller L. Phase imaging with partially coherent light [C]. SPIE, 2013, 8589: 85890K.
- [115] Thibault P, Menzel A. Reconstructing state mixtures from diffraction measurements [J]. Nature, 2013, 494(7435): 68-71.
- [116] Batey D J, Claus D, Rodenburg J M. Information multiplexing in ptychography [J]. Ultramicroscopy, 2014, 138: 13-21.
- [117] Pan An, Wang Dong, Shi Yishi, *et al.* Incoherent ptychography in Fresnel domain with simultaneous multi-wavelength illumination [J]. Acta Physica Sinica, 2016, 65(12): 124201.
潘安, 王东, 史祎诗, 等. 多波长同时照明的菲涅耳域非相干叠层衍射成像 [J]. 物理学报, 2016, 65(12): 124201.
- [118] Deng J, Nashed Y S, Chen S, *et al.* Continuous motion scan ptychography: Characterization for increased speed in coherent X-ray imaging [J]. Optics Express, 2015, 23(5): 5438-5451.
- [119] Deng J, Vine D J, Chen S, *et al.* Opportunities and limitations for combined fly-scan ptychography and fluorescence microscopy [C]. SPIE, 2015, 9592: 95920U.
- [120] Li P, Batey D J, Edo T B, *et al.* Multiple mode X-ray ptychography using a lens and a fixed diffuser optic [J]. Journal of Optics, 2016, 18(5): 054008.
- [121] Li P, Edo T B, Batey D J, *et al.* Breaking ambiguities in mixed state ptychography [J]. Optics Express, 2016, 24(8): 9038-9052.
- [122] Liu C, Walther T, Rodenburg J M. Influence of thick crystal effects on ptychographic image reconstruction with moveable illumination [J]. Ultramicroscopy, 2009, 109(10): 1263-1275.
- [123] Sidorenko P, Cohen O. Single-shot ptychography [J]. Optica, 2015, 3(1): 9-14.
- [124] Sidorenko P, Pauwels E, Sabach S, *et al.* Single-shot ptychography & sparsity-based subwavelength ptychography [C]. Frontiers in Optics, 2015.
- [125] Colomb T, Dahlgren P, Beghuin D, *et al.* Polarization imaging by use of digital holography [J]. Applied Optics, 2002, 41(1): 27-37.
- [126] Kühn J, Colomb T, Montfort F, *et al.* Real-time dual-wavelength digital holographic microscopy with a single hologram acquisition [J]. Optics Express, 2007, 15(12): 7231-7242.
- [127] Zhang J, Wang Z, Li T, *et al.* 3D object hiding using three-dimensional ptychography [J]. Journal of Optics, 2016, 18(9): 095701.
- [128] Ou X, Horstmeyer R, Yang C, *et al.* Quantitative phase imaging via Fourier ptychographic microscopy [J]. Optics Letters, 2013, 38(22): 4845-4848.
- [129] Horstmeyer R, Yang C. A phase space model of Fourier ptychographic microscopy [J]. Optics Express, 2014, 22(1): 338-358.
- [130] Guo K, Dong S, Nanda P, *et al.* Optimization of sampling pattern and the design of Fourier ptychographic illuminator [J]. Optics Express, 2015, 23(5): 6171-6080.
- [131] Yeh L, Dong J, Zhong J, *et al.* Experimental robustness of Fourier ptychography phase retrieval algorithms [J]. Optics Express, 2015, 23(26): 33214-33240.
- [132] Horstmeyer R, Chen R Y, Ou X, *et al.* Solving ptychography with a convex relaxation [J]. New Journal of Physics, 2015, 17(5): 053044.
- [133] Candes E J, Li X, Soltanolkotabi M. Phase retrieval via Wirtinger flow: Theory and algorithms [J]. IEEE Transactions on Information Theory, 2015, 61(4): 1985-2007.
- [134] Sun Jiasong, Zhang Yuzhen, Chen Qian, *et al.* Fourier ptychographic microscopy (FPM): Theory, advances, and applications [J]. Acta Optica Sinica, 2016, 36(10): 1026009.
孙佳嵩, 张玉珍, 陈钱, 等. 傅里叶叠层显微成像技术: 理论、发展和应用 [J]. 光学学报, 2016, 36(10): 1026009.
- [135] Zuo C, Sun J, Chen Q. Adaptive step-size strategy for noise-robust Fourier ptychographic microscopy [J]. Optics Express, 2016, 24(18): 20724-20744.
- [136] Bian L, Suo J, Chung J, *et al.* Fourier ptychographic reconstruction using Poisson maximum likelihood and truncated

- Wirtinger gradient[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 27384.
- [137] Bian Z, Dong S, Zheng G. Adaptive system correction for robust Fourier ptychographic imaging[J]. *Optics Express*, 2013, 21(26): 32400-32410.
- [138] Dong S, Shiradkar R, Nanda P, *et al.* Spectral multiplexing and coherent-state decomposition in Fourier ptychographic imaging[J]. *Biomedical Optics Express*, 2014, 5(6): 1757-1767.
- [139] Dong S, Bian Z, Shiradkar R, *et al.* Sparsely sampled Fourier ptychography[J]. *Optics Express*, 2014, 22(5): 5455-5464.
- [140] Tian L, Waller L. Quantitative differential phase contrast imaging in an LED array microscope[J]. *Optics Express*, 2015, 23(9): 11394-11403.
- [141] Giloh H, Sedat J W. Fluorescence microscopy: Reduced photobleaching of rhodamine and fluorescein protein conjugates by *n*-propyl gallate[J]. *Science*, 1982, 217(4566): 1252-1255.
- [142] Wilson T. *Confocal microscopy*[M]. London: Academic Press, 1990: 1-64.
- [143] Pawley J. *Handbook of biological confocal microscopy*[M]. [S.l.]: Springer, 2010.
- [144] Gustafsson M G L. Surpassing the lateral resolution limit by a factor of two using structured illumination microscopy[J]. *Journal of Microscopy*, 2000, 198(2): 82-87.
- [145] Gustafsson M G L, Shao L, Carlton P M, *et al.* Three-dimensional resolution doubling in wide-field fluorescence microscopy by structured illumination[J]. *Biophysical Journal*, 2008, 94(12): 4957-4970.
- [146] Heintzmann R, Gustafsson M G L. Subdiffraction resolution in continuous samples[J]. *Nature Photonics*, 2009, 3(7): 362-364.
- [147] Kner P, Chhun B B, Griffis E R, *et al.* Super-resolution video microscopy of live cells by structured illumination[J]. *Nature Methods*, 2009, 6(5): 339-342.
- [148] Jost A, Heintzmann R. Superresolution multidimensional imaging with structured illumination microscopy[J]. *Annual Review of Materials Research*, 2013, 43(1): 261-282.
- [149] Hoffman Z R, DiMarzio C A. Structured illumination microscopy using random intensity incoherent reflectance[J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2013, 18(6): 061216.
- [150] Dong S, Guo K, Jiang S, *et al.* Recovering higher dimensional image data using multiplexed structured illumination[J]. *Optics Express*, 2015, 23(23): 30393-30398.
- [151] Dong S, Nanda P, Guo K, *et al.* Incoherent Fourier ptychographic photography using structured light[J]. *Photonics Research*, 2015, 3(1): 19-23.
- [152] Min J, Jang J, Keum D, *et al.* Fluorescent microscopy beyond diffraction limits using speckle illumination and joint support recovery[J]. *Scientific Reports*, 2013, 3: 2075.
- [153] Ayuk R, Giovannini H, Jost A, *et al.* Structured illumination fluorescence microscopy with distorted excitations using a filtered blind-SIM algorithm[J]. *Optics Letters*, 2013, 38(22): 4723-4726.
- [154] Mudry E, Belkebir K, Girard J, *et al.* Structured illumination microscopy using unknown speckle patterns[J]. *Nature Photonics*, 2012, 6(5): 312-315.
- [155] Qian J, Lei M, Dan D, *et al.* Full-color structured illumination optical sectioning microscopy[J]. *Scientific Reports*, 2015, 5: 14513.
- [156] Dan D, Lei M, Yao B, *et al.* DMD-based LED-illumination super-resolution and optical sectioning microscopy[J]. *Scientific Reports*, 2013, 3: 1116.
- [157] Dong S, Nanda P, Shiradkar R, *et al.* High-resolution fluorescence imaging via pattern-illuminated Fourier ptychography[J]. *Optics Express*, 2014, 22(17): 20856-20870.
- [158] Chung J, Kim J, Ou X, *et al.* Wide field-of-view fluorescence image deconvolution with aberration-estimation from Fourier ptychography[J]. *Biomedical Optics Express*, 2016, 7(2): 352-368.