

并行共焦三维检测方法的理论分析*

田维坚**

(浙江大学现代光学仪器国家重点实验室, 杭州 310027)

陈波 郭履容 庞霖

(四川大学信息光学研究中心, 成都 610064)

摘 要 从一般共焦系统的原理出发, 重点围绕并行共焦方法的三维检测原理, 通过引用三维点扩散函数和矩阵形式, 研究了并行共焦检测方法的理论问题, 确立了点阵并行共焦检测方法的检测过程。其结果表明, 并行共焦检测过程总的光场分布, 是各条共焦检测光路的求和, 且都符合两个点扩散函数相乘的共焦形式。

关键词 并行共焦, 三维检测, 点扩散函数, 矩阵形式。

1 引 言

共焦显微术是由 Minsky 在 60 年代前后首先提出来的^[1], 其间经历了近 30 年的发展, 特别是从 80 年代中、后期以来, 由于激光技术、计算机图像处理技术等迅速发展, 使之日臻完善, 并成为商品化的仪器^[2]。与此同时, 通过 Sheppard、Wilson 和 Gu 等学者十多年的研究, 共焦扫描显微术的理论也已基本确立^[3-6]。但是, 对于并行共焦三维检测法的理论研究却一直不多见, 已有的分析也只是针对某一特定装置, 不具备普适性^[7]。与通常的共焦检测技术相比, 并行共焦检测法将点、面照明有机地结合在一起, 在共焦系统中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, 这样既做到了同时的全场检测、缩短了时间、加快了速度, 又简化了系统、降低了成本^[8, 9]。为此, 本文从一般共焦系统的原理入手, 重点围绕并行共焦方法的三维检测原理, 从成像机理、数学分析方面进行了阐述, 给出了并行共焦检测的理论基础。

2 共焦三维检测的理论

在光学中, 用点扩散函数来描述一脉冲经光学系统后, 在成像空间中所得到的光场分布情况。本文将用它来考察共焦检测法的光场分布情况。共焦检测法的最大优点是高对比度、高分辨力——尤其是具有良好的纵向分辨, 因而能在图像处理中, 直接获取三维信息, 形成

* 国家自然科学基金(69808002)和中国博士后科学基金资助项目。

** 现在通信地址: 浙江工业大学技术物理研究所, 杭州 310014。

收稿日期: 1998-12-28; 收到修改稿日期: 1999-02-11

三维图像。

所谓共焦，就是系统物镜的焦点和目镜的焦点相重合，焦平面即在样品的同一个光学成像剖面上，点源、物面样点与探测点一一对应。典型的共焦扫描方式有透射式和反射式，如图 1(a)、(b) 所示，它们都是点源与探测点一一对应的接收成像。

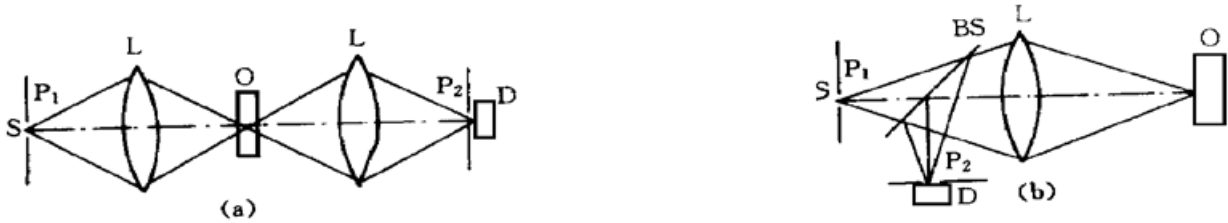


Fig. 1 Optical schematic of the confocal scanning microscope (CSM). (a) Transmission-mode CSM, (b) Reflection-mode CSM

因为透射式和反射式的成像机理基本上是一样的，因此，本文以图 1(a) 透射共焦系统为例来说明问题。光源孔径 $p_1(x, y)$ 和接收孔径 $p_2(x, y)$ 分别被两成像子系统成像在透明物平面上，它们的像分布为

$$h_1'(x, y) = P_1(x, y) \circledast h_1(x, y) \tag{1}$$

$$h_2'(x, y) = P_2(x, y) \circledast h_2(x, y) \tag{2}$$

式中 “ \circledast ” 是卷积符号， $P_1(x, y)$ 、 $P_2(x, y)$ 是两孔径的几何像， $h_1(x, y)$ 、 $h_2(x, y)$ 分别表示照明、接收两光学子系统的点扩散函数， $h_1'(x, y)$ 和 $h_2'(x, y)$ 则分别表示两光学子系统各自的综合点扩散函数。设物平面上有一物点 $\delta(x', y')$ ，那么，接收到的光场可表示为

$$\iint \delta(x', y') h_1'(x - x', y - y') h_2'(x' - x, y' - y) dx' dy' = h_1'(x, y) h_2'(-x, -y) \tag{3}$$

(3) 式表明，共焦系统的有效点扩散函数是照明和接收两个子系统点扩散函数的乘积，而不是一般串级系统的卷积。(3) 式是二维平面的成像过程，实际上这结果也同样适用于三维成像情况。

为了简化推导变换过程，引用无量纲变量 ρ 、 v 、 $u^{[10]}$ 来表示空间变量

$$\rho = k(a/f) \sqrt{x_0^2 + y_0^2}, \quad v = k(a/f)r, \quad u = k(a/f)^2 z \tag{4}$$

式中 $k = 2\pi/\lambda$ 为波数， $r = \sqrt{x^2 + y^2}$ ， $a/f = \sin \alpha$ ，式中 a 为成像物镜半径， f 则为其焦距。具体标定

v, u —— 成像探测空间变量；

v', u' —— 物空间变量；

v_s, u_s —— 物体扫描变量。

对于理想的点探测情况， $v = u = 0, D = \delta(v, u)$ 。其中 D 表示光学系统中成像面上的成像探测函数， δ 是指点脉冲函数。则接收到的强度为

$$I(v_s, u_s) = \iint |U_3|^2 D dv du = |h_1' h_2' \circledast O|^2 \tag{5}$$

其中，

$$U_3 = \iint h_1'(v', u') O(v' - v_s, u' - u_s) h_2'(v' - v, u' - u) dv' du' \tag{6}$$

O 为被测物体的透射率(或反射率)。

(5) 式给出了在共焦系统三维成像过程中, 系统的有效点扩散函数同样是照明和成像子系统点扩散函数的乘积, 即

$$h_{\text{eff}} = h_1' h_2' \tag{7}$$

(7) 说明, 共焦系统点扩散函数相乘, 而不像一般串级系统是两个点扩散函数的卷积, 这样就可以改善总的点扩散特性。这从理论上很好地解释了共焦系统分辨率为什么优于一般成像系统, 因为系统总的点扩散函数变窄了。

3 并行共焦三维检测的理论

对于图2中的并行共焦检测过程, 由于成像物镜L远大于点列阵SA, 因此其中任一条检测光路都是一共焦过程。若某一光源的小孔为 $p_1(x, y)$, 经成像物镜L 投射在被测物面 O 上, 它的几何像是 $P_1(x, y)$, 光场分布为

$$h_1'(x, y; z) = P_1(x, y) \circledast h_1(x, y; z) \tag{8}$$

式中 $h_1(x, y; z)$ 表示照明子系统的点扩散函数, $h_1'(x, y; z)$ 为该子系统总的点扩散函数[参阅(1)式]。设被测物面 O 上有一物点 $\delta(x, y; z - \Delta z)$, 则该物点的光场分布为

$$h_0'(x, y; z) = \int \delta(x, y; z - \Delta z) h_1'(x, y; z) dz = \delta(x, y) h_1'(x, y; \Delta z) \tag{9}$$

这里, $\Delta z \propto u$ 表示纵向离焦量。最后, 成像面 DA 接收到的光场可表为

$$h_D(x, y; z) = \delta(x, y) h_1'(x, y; \Delta z) \circledast h_2(x, y; \Delta z) = \iint \delta(x', y') h_1'(x', y'; \Delta z) h_2(x - x', y - y'; \Delta z) dx' dy' = h_1'(0, 0; \Delta z) h_2(x, y; \Delta z) \tag{10}$$

$h_2(x, y; \Delta z)$ 是接收子系统的点扩散函数。根据(10)式, 其光强分布为

$$I = h_D^* h_D = \tilde{h}_1'(0, 0; \Delta z) \tilde{h}_2(x, y; \Delta z) \tag{11}$$

式中

$$\begin{aligned} \tilde{h}_1'(0, 0; \Delta z) &= |h_1'(0, 0; \Delta z)|^2 \\ \tilde{h}_2(x, y; \Delta z) &= |h_2(x, y; \Delta z)|^2 \end{aligned} \tag{12}$$

(10)、(11)式说明, 在傍轴条件下, 并行共焦检测过程中的任一条检测光路, 都符合两个点扩散函数乘积的共焦形式。

进一步考虑点阵照明、并行抽样情况。假定光源小孔的孔径无限小, 在并行共焦方法中作正四边形排列, 则

$$p_A(x, y) = \sum_{i=0}^{n-1} \sum_{j=0}^{m-1} \delta_2(x - dM_i, y - dM_j), \tag{13}$$

$\delta_2()$ 表示的是二维狄拉克函数, d 为相邻小孔的间距, i 为 x 方向抽样点编码, j 为 y 方向的抽样点编码,

$$M = \begin{bmatrix} t_{xx} & t_{yx} \\ t_{xy} & t_{yy} \end{bmatrix} \tag{14}$$

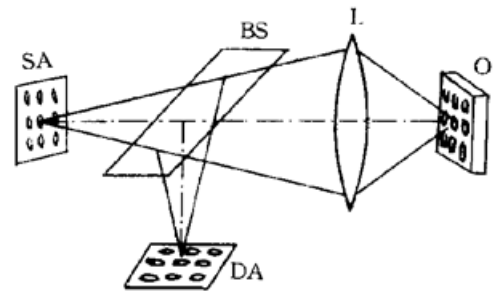


Fig. 2 Principle of parallel confocal detecting method

为抽样矩阵。(13)式表示了在 (x, y) 物平面上一系列并行脉冲的一种求和形式。这种求和从物理本质上来讲,就是同一时刻在 (x, y) 二维平面上的一种分布。并行脉冲的排列周期、形式取决于给定的矩阵 \mathbf{M} 。通常,这些脉冲所处的位置为

$$\mathbf{r} = \begin{bmatrix} x \\ y \end{bmatrix} = d \begin{bmatrix} t_{xx}i + t_{yx}j \\ t_{xy}i + t_{yy}j \end{bmatrix} \quad (15)$$

式中

$$\begin{aligned} i &= 0, 1, 2, \dots, n-1 \\ j &= 0, 1, 2, \dots, m-1 \end{aligned}$$

在正四边形并行排列情况下,

$$\mathbf{M} = \begin{bmatrix} 1 & 0 \\ 0 & 1 \end{bmatrix} \quad (16)$$

$$P_A(x, y) = \sum_{i=0}^{n-1} \sum_{j=0}^{m-1} \delta_2(x - id, y - jd) \quad (17)$$

$$\mathbf{r} = \begin{bmatrix} x \\ y \end{bmatrix} = d \begin{bmatrix} i \\ j \end{bmatrix} \quad (18)$$

有了(17)、(18)式,就可将并行共焦检测过程中任一检测光的点扩散函数(10)推广到整个并行共焦检测中,即

$$\begin{aligned} h_A(\mathbf{r}; z) &= \left[\sum_i \sum_j \delta_2(x - d\mathbf{M}i, y - d\mathbf{M}j) h_1'(x - d\mathbf{M}i, y - d\mathbf{M}j; z) \right] \circledast h_2(x, y; z) = \\ & \sum_i \sum_j \iint \delta_2(x' - d\mathbf{M}i, y' - d\mathbf{M}j) h_1'(x' - d\mathbf{M}i, y' - d\mathbf{M}j; z) \times \\ & h_2(x - x', y - y'; z) dx' dy' = \sum_i \sum_j h_1'(0, z) h_2(x - d\mathbf{M}i, y - d\mathbf{M}j; z) \quad (19) \end{aligned}$$

(19)式表明,在傍轴近似条件下,并行共焦检测过程总的光场分布,是各道共焦检测光路的和。而其中任一共焦检测光路所得的光场,都符合两个点扩散函数相乘的共焦形式。

4 结果与讨论

本文引用三维点扩散函数和矩阵形式,研究了并行共焦检测方法的理论基础,确立了点阵并行共焦检测方法的检测过程:

$$h_A(\mathbf{r}; z) = \sum_i \sum_j h_1'(0, z) h_2(x - d\mathbf{M}i, y - d\mathbf{M}j; z)$$

它表明,并行共焦检测过程总的光场分布,是各条共焦检测光路的求和;并且都符合两个点扩散函数相乘的共焦形式。现有实验也已证实了该理论分析^[8]。

作为点列阵并行共焦检测理论公式(19)的两种极限情况,分别考证以下两个特例:

1) 当 $d \rightarrow \infty$,也就意味着在视场中只有一个小孔,这就是原先的单点共焦系统,在(19)式中, $i = n = 0, j = m = 0$,点扩散函数为

$$h_A = h_1' h_2$$

这就是一般共焦系统的点扩散函数形式。

2) 当 $d \rightarrow 0$,所有小孔都靠近到一起成匀强面照明,这就是普通的非共焦显微镜。在(19)式中,求和变为对积分光强的一种二维积分,这种积分光强对于普通成像系统在纵向 z 是一常量。因此,当 $d \rightarrow 0$ 时,照明光强即为一常数因子 C ,对物平面上某一样点 $\delta_2(x', y')$,

(19) 式就可简化为

$$h_A = Ch_2(x, y; z)$$

上式就是通常非共焦显微镜的点扩散函数形式。

从上述两个特例的讨论可以看出: 本文提出的并行共焦检测方法的理论公式(19), 在原理上已包含了一般共焦与非共焦类型, 具有更高的理论价值和更广的普适意义。

参 考 文 献

- [1] Minsky M. *Microscopy Apparatus*. U.S. Patent. No. 3 013 467. Dec. 19, 1961.
- [2] Zinser G. Topographic measurements at the fundus with the Heidelberg retina tomograph. 视觉の科学, 1992, **13**(4): 1~ 9
- [3] Wilson T. Depth response of scanning microscopes. *Optik*, 1989, **81**(3): 113~ 118
- [4] Sheppard C J R, Matthews H J. The extended-focus, auto-focus and surface-profiling techniques of confocal microscopy. *J. Mod. Opt.*, 1988, **35**(1): 145~ 154
- [5] Sheppard C J R, Gu M. Approximation to the three-dimensional optical transfer function. *J. Opt. Soc. Am. (A)*, 1991, **8**(4): 692~ 694
- [6] Gu M, Sheppard C J R. Three-dimensional partially-coherent image formation in confocal microscopes with a finite-sized detector. *J. Mod. Opt.*, 1994, **41**(9): 1701~ 1715
- [7] Tiziani H J, Achi R, Kramen R N *et al.*. Theoretical analysis of confocal microscopy with microlenses. *Appl. Opt.*, 1996, **35**(1): 120~ 125
- [8] 田维坚, 丁志华, 郭履容等. 一种全场三维共焦检测的新方法. 光学学报, 1998, **18**(6): 757~ 761
- [9] Tiziani H J, Uhde H M. Three-dimensional analysis by a microlens-array confocal arrangement. *Appl. Opt.*, 1994, **33**(4): 567~ 572
- [10] 玻恩 M, 沃尔夫 E. 光学原理(上册). 杨葭荪等译. 北京: 科学出版社, 1978. 568~ 587

Theoretical Analysis for Parallel Confocal Detecting Method

Tian Weijian

(The State Key Lab of Modern Optical Instrumentation, Zhejiang University, Hangzhou 310027)

Chen Bo Guo Lurong Pang Lin

(Information Optics Research Center, Sichuan University, Chengdu 610064)

(Received 28 December 1998; revised 11 February 1999)

Abstract The basic principle of parallel confocal detecting method is proposed. With the 3-D point spread function and the matrix operating form, the mathematical model of 3-D detecting process based on the method is established, which has a higher theoretic value and a wider suitability due to the involvement of the general confocal and non-confocal detection. Meanwhile, the conclusion of theoretical analysis shows that the optical detection of parallel confocal method conforms to the multiplication form of two point spread functions, which is the fundamental characteristic of confocal detection.

Key words parallel confocal, 3-D detecting, point spread function, matrix operating form.