

同轴软 X 射线全息成像及其数字重现*

张玉焯 蒋诗平 付绍军 张新夷

(中国科学技术大学国家同步辐射实验室, 合肥 230029)

陈 敏 陈建文 徐至展

(中国科学院上海光学精密机械研究所, 上海 201800)

摘 要 用光刻胶记录了水窗波段同轴 X 射线全息图, 并以数字方法再现了原物像。所用光源为经线性单色仪单色化的 800 MeV 电子储存环弯铁辐射(3.20 nm)。再现物体的分辨率为 2 μm , 并有较大提高的可能性。

关键词 同步辐射, 软 X 射线, 全息术, 显微成像。

1 引 言

盖伯(Gabor)于 1948 年首次提出了全息术的原理^[1], 当时其目的是为了解决电子显微镜中电子光学系统的像差问题。随后, Baze 于 1952 年提出了可以利用短波长 X 射线进行全息摄影^[2], 以达到高分辨率的显微成像, 并且讨论了光源线度及记录材料的分辨能力对再现图像分辨率的影响。60 年代, Leith 等人相继从理论上探讨了高分辨率全息的有关问题, 并提出了傅里叶变换全息的原理。1960 年激光器的出现, 为全息术提供了高亮度的相干光源, 使得全息技术在可见光波段取得了迅速发展, 并扩展到红外、微波及超声波段。而在短波长方向, 尤其是 X 射线波段, 由于缺乏高亮度的相干光源、合适的光学元件, 如聚焦镜、反射镜等, 以及高分辨率的探测器, X 射线全息术一直进展缓慢。70 年代, Aoki 与 Kikuta^[3], Reuter 与 Mahr^[4] 等人曾采用特制的 X 射线发生器记录了盖伯同轴全息及傅里叶变换全息图, 并用光学方法进行了再现, 取得了 X 射线全息的初步成果。自 70 年代以来世界各地同步辐射装置的相继建成并投入使用, 记忆 X 射线激光器的研制成功, 使得 X 射线全息技术进入了一个新的发展阶段。日本筑波的光子工厂^[5]、美国 Brookhaven 国家实验室(BNL)^[6-8] 等先后利用电子同步辐射加速器弯转磁铁及波荡器的 X 射线辐射进行了盖伯同轴全息和傅里叶变换全息的实验。美国的洛伦斯·利弗莫尔国家实验室(LLNL)利用波长 20.6 nm 的 200 ps 脉冲激光器进行了同轴全息的初步实验^[9]。

利用 X 射线进行全息显微成像, 不仅可以达到比可见光高得多的分辨率, 而且由于软 X 射线与生物样品相互作用时的特殊性质, 使其在生命科学、医学研究中有着重要的意义^[10]。

* 国家自然科学基金资助项目, 批准号 19655001。

收稿日期: 1997-12-01; 收到修改稿日期: 1998-02-12

波长介于碳元素与氧元素 K 吸收边之间的 X 射线被有机物如蛋白质吸收时,其吸收系数比水大一个量级,可以认为水对这个波段的 X 射线是透明的(即所谓的水窗波段)。因此水窗波段的 X 射线对生物样品成像时,不需要象利用电子显微镜进行观察时那样要经过脱水、染色等过程。它可以对自然状态下的含水的甚至是活的生物样品直接成像并得到高反衬的图像。它填补了光学显微镜和电子显微镜之间的空白,是进行生命科学研究的有力工具,并能应用于材料科学、微电子学等领域。

长期以来,国内在 X 射线全息方面的研究由于受到光源所限,一直进展缓慢。进入 90 年代后,先后在北京、合肥等地建成了数台同步辐射装置并投入使用,为相关实验提供了条件。本文在国家同步辐射实验室软 X 射线显微术实验站上利用合肥同步辐射光源 3.20 nm 的弯转磁铁辐射进行了 X 射线全息的初步实验,首次在国内成功地记录了其同轴全息图。全息图经放大并数字化后用数字方法清晰地再现了原物,取得了令人满意的结果。与实验对照,再现图的分辨率优于 2 μm ,并有进一步提高的可能。

2 X 射线全息原理及其分辨率

由于在 X 射线波段缺少合适的光学元件,在记录全息图时要求光路尽量简单。通常采用盖伯同轴全息光路,如图 1 所示。采用这种光路的优点是不需要任何光学元件,但要求记录介质的分辨能力足够高。考虑一个理想点状物体的同轴全息图。入射的 X 射线照射到物体时发生透射、反射和衍射。物光是以物体为中心的发散的球面波。未照射到物体的 X 射线沿原方向前进,作为参考光。它与物光干涉后形成干涉条纹,被记录在光刻胶上成为全息图。全

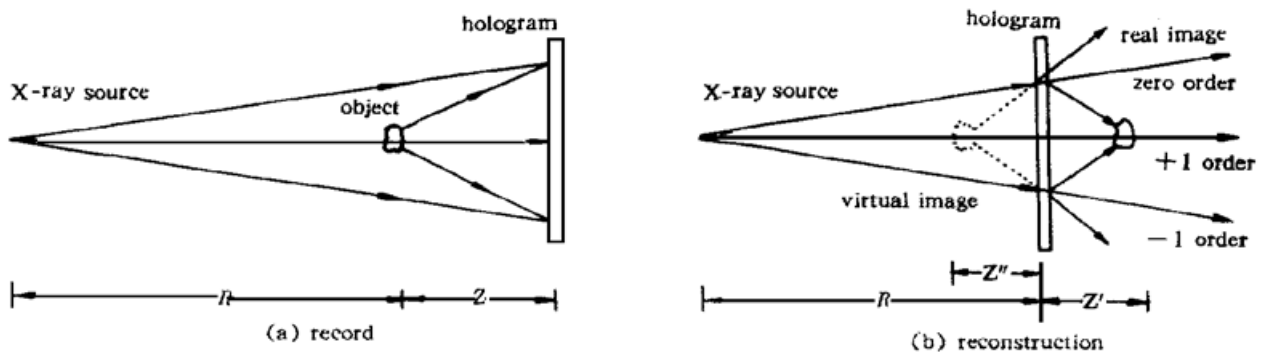


Fig. 1 The scheme of Gabor in-line holography. (a) Record, (b) Reconstruction

息图由一系列明暗相间的同心圆环组成。从中心数起第 n 个环带的半径为

$$r_n = \sqrt{2n\lambda(R + Z)Z/R} \quad (1)$$

式中 R 、 Z 的定义参见图 1。利用现有的 X 射线光源,包括同步辐射及 X 射线激光器进行全息图时,为了得到较大的相干照明,必须使物体远离光源,因此 R 的取值都较大,为 10^3 mm 量级。而 Z 的取值通常只有 $10^{-1} \sim 10$ mm,显然 $R \gg Z$ 。若采用原参考光重现时,有 $R \approx R'$, $Z \approx Z'' \approx Z'$ 。由(1)式可见,点状物的同轴全息图就是焦距为 $(R + Z)Z/R$ 的菲涅耳正弦型波带片。采用原参考光照明重现时,透过全息图的光波除了沿原方向前进的 0 级光外,还有 ± 1 级衍射光,它们分别为会聚及发散的球面波,在全息图的前后距离 Z' 和 Z'' 处形成原始物点的实像和虚像。

Baze^[2]详细讨论了影响同轴全息分辨率的因素。全息图中波带片的环数 n 越大,最外环宽度越小,则重现时分辨率越高,若假设记录材料的分辨能力充分大,在光源为点光源的情

况下重现时的分辨率为

$$y = 1.22 \frac{Z\lambda}{a_r} \quad (2)$$

式中 a_r 为全息图的孔径。对于点物的波带片全息图有 $a_r = 2r_n$ 。若光源为点光源, 记录材料的分辨能力为 N 1/mm, 则重现的分辨率为

$$y_N = 0.61R/N(R + Z) \quad (3)$$

若记录材料的分辨能力 N 充分大, 而光源有一定线度 d 时, 重现分辨率为

$$y_d = 1.22Zd/(R + Z) \quad (4)$$

通常情况下, 重现分辨率为 y_N 和 y_d 之和。分辨率受到光源线度、记录材料的分辨能力及光路几何参数等的影响。下面考虑光源相干性对分辨率的影响。在点物情况下光源的空间相干性决定了波带片的范围, 从而影响到重现分辨率。光源的线度影响了光束的空间相干性, 线度为 d 的光源在距离 R 处相干范围的横向线度为 $b = R\lambda/d$ 。光源的时间相干性决定了其相干长度。准单色光的相干长度为 $\Delta L = \lambda^2/\Delta\lambda$ 。对于菲涅耳波带片, 相邻环带之间的光程差为一个波长, 故可以记录下来的环带总数为

$$n = \Delta L/\lambda = \lambda/\Delta\lambda \quad (5)$$

将(5)式代入(1)式、(2)式后即可得到考虑光源的时间相干性后的重现图的分辨率为

$$y_t = (0.61/\sqrt{2}) \sqrt{\Delta\lambda RZ/(R + Z)} \approx 0.43 \sqrt{\Delta\lambda Z} \quad (6)$$

以上讨论的均为横向分辨率。若定义纵向分辨率 Δz 为沿光轴在理想聚焦的像平面前后光强下降到最大值的 80% 处的距离, 则有

$$\Delta z = \frac{RZ}{4n(R + Z)} \quad (7)$$

3 实验装置与步骤

3.1 光源

本实验是在国家同步辐射实验室软 X 射线显微术实验站进行的。光源为一台 800 MeV 的电子储存环, 其特征波长为 2.4 nm, 正处于水窗波段, 适于开展生物方面的研究工作。由于全息实验需要利用相干光源, 因此同步辐射的连续光谱必须经过单色化并滤波, 减小带宽和光源线度, 使其成为具有一定相干性的部分相干光。本实验站的主体设备为一台由波带片及针孔组成的软 X 射线线性单色仪, 如图 2 所示。它是利用波带片的焦距与波长成反比的性质将不同波长的 X 射线色散, 再用针孔进行滤波并减小光源线度, 取出具有一定相干性的准单色光供实验使用^[11]。波带片可以沿光轴方向前后移动, 行程为 ± 110 mm。波带片零点位置与光源相距 10600 mm, 与针孔相距 600 mm。更换不同的波带片可以使波长覆盖 2.00 nm ~

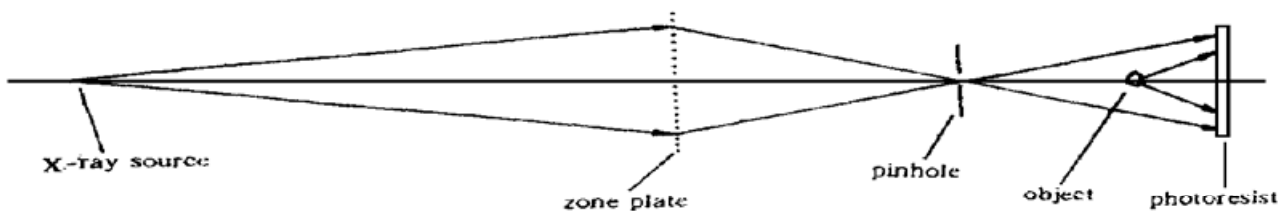


Fig. 2 The experimental setup of soft X-ray holography

5.40 nm 的波段。改变针孔直径可以改变单色光的线宽。本实验所用针孔直径为 30 μm ，单色光中心波长为 3.20 nm，线宽为约 0.15 nm，单色仪出口处 X 射线强度为 $10^6 \sim 10^7$ photon/s。距离针孔 700 mm 处相干范围约 75 μm ，相干长度约 0.07 μm 。

3.2 全息装置及实验

实验光路为标准的同轴装置。单色仪针孔到样品距离为约 700 mm，样品与光刻胶装在同一样品架上以减小振动的影响，两者相距约 10 mm。所用样品为蜘蛛丝。在光学显微镜下观察，蜘蛛丝粗细均匀，直径在数微米左右，蜘蛛丝的部分地方粘有一系列球状物质，呈念珠状。记录所用的光刻胶的厚度在数微米左右。曝光是在真空中进行的，曝光时真空室压强低于 2×10^{-3} Pa。储存环束流为 100 mA 时，曝光时间为 30 min。

3.3 全息图的处理与重现

全息图的重现可以采用光学方法，也可以采用数字重现方法。作者采用数字重现方法，这样可以方便地对全息图进行图像处理，以减少或消除在记录、显影及显微摄影过程中的非线性响应、像差和畸变^[12]，并能利用迭代算法^[13]消除同轴全息中由于实像和虚像发生干涉而引起的图像质量的下降，即所谓的孪生像。在本实验中，只是简单地重现了原物，尚未对全息图进行任何处理。

全息图的重现可以由菲涅耳-基尔霍夫(Fresnel-Kirchoff)衍射积分公式计算得出。采用原入射 X 射线照明，像平面上各点的复振幅分布为

$$\psi(x, y) = \iint \tau(\xi, \eta) \frac{\exp(ikr)}{i\lambda r} d\xi d\eta \quad (8)$$

式中 $\tau(\xi, \eta)$ 为全息图的光强透过率， $r^2 = z^2 + (\xi - x)^2 + (\eta - y)^2$ 。重现时像平面上光强分布为 $I(x, y) = \psi(x, y)\psi^*(x, y)$ 。在傍轴条件下有

$$\psi(x, y) = \frac{1}{2\lambda z} \exp(i2\pi \frac{z}{\lambda}) \exp(i\pi \frac{x^2 + y^2}{\lambda z}) \times \iint \tau(\xi, \eta) \exp(i\pi \frac{\xi^2 + \eta^2}{\lambda z}) \exp(-i2\pi \frac{\xi x + \eta y}{\lambda z}) d\xi d\eta \quad (9)$$

全息图经数字化后离散成 $N \times N$ 个点，每个像素的大小为 $\Delta\xi$ ，像平面处像素大小为 Δx 。因为本文所关心的只是像平面上光强的相对分布，故可将积分外的常数项及纯虚数项合并为一个常数项，得到

$$\psi(\Delta x P, \Delta x Q) = \text{const} \cdot \text{DFT}\{\tau(\Delta\xi K, \Delta\xi L) \exp[i\pi \frac{\Delta\xi^2}{\lambda z}(K^2 + L^2)]\} \quad (10)$$

其中 DFT 为离散傅里叶变换。

根据离散傅里叶变换中 N 个采样点与 N 个离散频率的关系，有

$$\frac{\Delta x \Delta\xi N}{\lambda z} = 1 \quad (11)$$

根据衍射极限决定的正方形全息图的分辨率为 $\Delta x = 0.5(\lambda/\sin \alpha) = \lambda z/N \Delta\xi$ ，可见(11)式是与瑞利(Rayleigh)判据相一致的。

全息图离散化时的采样步长不能任意选取，合适的步长应满足 $\Delta x = \Delta\xi = \Delta$ ，在这种条件下重现图与全息图大小相等。因此，数字化时的步长应为

$$\Delta = \sqrt{\lambda z/N} \quad (12)$$

4 实验结果与讨论

图 3 给出了蜘蛛丝的实物图、全息图和重现图。图 3(a) 为一段卷曲的蜘蛛丝粘在一段直丝上, 丝径在 $1 \mu\text{m}$ 左右。图 3(b) 中采样步长 $\Delta\xi$ 比 (11) 式给出的 $\Delta\xi$ 小 10%, 故再现步长 Δx 比 $\Delta\xi$ 大 10%, 再现图的范围比全息图扩大了约 20%, 因此在图 3(c) 中出现了左侧和下侧的黑暗部分。在全息图中肉眼可以分辨出十几级干涉条纹。另外, 从全息图中可以看出, 显影后的光刻胶呈颗粒状, 颗粒大小约为 $1 \mu\text{m}$ 。因此光刻胶的分辨能力在 1000 l/mm 左右。由于实物图是在全息图记录之后两周拍摄的, 其形状与重现图稍有不同。重现图中的直线部分与弯曲部分清晰可辨。由于记录时弯曲部分各处与光刻胶的距离不同, 重现时像距也有所不同。而在重现图中每次只有一个像平面精确聚焦, 其余部分不能满足聚焦条件而变得模糊, 这反映了重现图具有一定的景深。因此对于较厚的样品极限全息成像时可以改变重现时的像距, 从而得到样品不同厚度处的断面图。

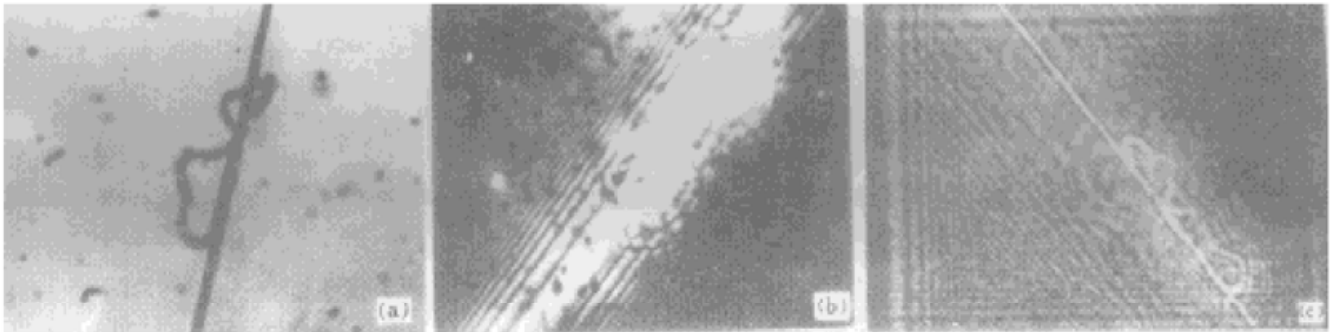


Fig. 3 (a) Original image of the cobweb, (b) Its hologram and (c) Its reconstruction image

在对全息图数字化时扫描微密度计的步长为 $60 \mu\text{m}$, 根据显微摄影时 250 倍的放大率, 对应于全息图上的像素大小为 $0.24 \mu\text{m}$ 。实际重现时通过多次尝试得到的最优化参数为 $\lambda = 3.2 \text{ nm}$, $Z = 10.4 \text{ mm}$, $\Delta = 0.25 \mu\text{m}$ 。比较重现图与实物图中蜘蛛丝的直径, 可以认为重现的分辨率达到 $< 2 \mu\text{m}$ 的水平。由 (3) 式、(4) 式得到横向分辨率为 $y_N = 0.60 \mu\text{m}$, $y_d = 0.54 \mu\text{m}$ 。考虑到光源的单色性, 由 (5) 式得到波带片最大环数为 $n_t = \lambda/\Delta\lambda = 21$ 。代入 (1) 式、(6) 式得到 $r_n = 37 \mu\text{m}$, $y_t = 0.53 \mu\text{m}$, 最后得到本实验的横向分辨率为 $y_N + y_d + y_t = 1.67 \mu\text{m}$ 。重现图的纵向分辨率由式 (7) 计算得到 $\Delta Z = 0.2 \text{ mm}$, 可见其比横向分辨率差得多。

根据以上讨论, 可以得到以下几个提高分辨率的途径:

1) 减小针孔的直径。这样做有几个方面的好处。首先是减小了光源的线度, 使得 y_d 减小。光源线度的减小改善了空间相干性, 使得能发生干涉的横向范围增加。由于波带片的环数 n 与其半径 r 的平方成正比, 干涉范围的增加将大大提高环数, 增大全息图的孔径 a_r , 这对于分辨率的提高是很有利的。其次, 对于线性单色仪来说, 针孔直径的减小将提高光源的单色性, 从而提高了时间相干性, 同样使得波带片的环数增加。例如, 将针孔直径减小到 $8 \mu\text{m}$ 时, 单色线宽减小为 0.04 nm , 当其余参数不变时, 重新计算可以得到 $y_d = 0.15 \mu\text{m}$, $n_t = 80$, $y_t = 0.27 \mu\text{m}$ 。

2) 当波带片的环数增加, 最外环宽度减小时, 就需要改用高分辨率的光刻胶。本实验所用光刻胶灵敏度较高, 但却是以降低分辨率为代价的。若改用以聚甲基丙烯酸甲酯(PMMA)为材料的光刻胶可以使分辨率提高到 $0.1 \mu\text{m}$ 以上。但是, 针孔的减小将使光通量随之减弱, 这将大大增加曝光时间。当全息图中最细的线宽达到亚微米水平时, 全息图的读取不能再用光学显微镜, 而要采用其它手段, 如扫描电子显微镜、透射电子显微镜或原子力显微镜。

本实验在进行过程中得到了汪东升及叶为全的大力支持,并与作者进行了大量有益的讨论,特此向他们表示衷心的感谢。

参 考 文 献

- [1] D. Gabor. A new microscopic principle. *Nature*, 1948, **151**(4098) : 777~ 778
- [2] V. A. Baze. A study in diffraction microscopy with special reference to X-ray. *J. Opt. Soc. Am.*, 1952, **42** (10) : 756~ 762
- [3] S. Aoki, S. Kikuta. X-ray holographic microscopy. *Jpn. J. Appl. Phys.*, 1974, **13**(9) : 1385~ 1392
- [4] M. R. Reuter, H. Mahr. Experiments with Fourier transform holograms using 4.48 nm X-rays. *J. Phys.*, 1976, **E9**(11) : 746~ 751
- [5] S. Aoki, S. Kikuta. Soft X-ray interferometer and holography, In: D. T. Atwood and J. Bokor, ed., *Short Wavelength Coherent Radiation: Generation and Applications, AIP Conf. Proc.*, 1986, **1475** : 49~ 56
- [6] M. Howells, C. Jacobsen, J. Kirz *et al.*. X-ray holograms at improved resolution: a study of zymogen granules. *Science*, 1987, **238**(4826) : 514~ 517
- [7] C. Jacobsen, M. Howells, J. Kirz *et al.*. X-ray holographic microscopy using photoresists. *J. Opt. Soc. Am. (A)*, 1990, **7**(10) : 1847~ 1861
- [8] M. Howells, C. Jacobsen, J. Kirz. Experiments in X-ray holographic microscopy using synchrotron radiation. *J. Opt. Soc. Am. (A)*, 1986, **3**(12) : 2171~ 2178
- [9] J. E. Trebes, S. B. Brown, E. M. Campbell *et al.*. Demonstration of X-ray holography with an X-ray laser. *Science*, 1987, **238**(4826) : 517~ 519
- [10] 陈建文, 徐至展, 朱佩平等. X射线全息术. *物理学进展*, 1995, **15**(2) : 135~ 147
- [11] 陈建文, 徐至展, 朱佩平等. 软X射线多缝干涉实验研究. *中国激光*, 1996, **A23**(8) : 737~ 740
- [12] 肖体乔. X射线全息显微术的高分辨率图像重构研究. (博士学位论文). 上海: 中国科学院上海光学精密机械研究所, 1996. 49~ 59
- [13] G. Liu, P. D. Scott. Phase retrieval and twin-image elimination for in-line Fresnel holograms. *J. Opt. Soc. Am. (A)*, 1987, **4**(1) : 159~ 165

Soft X-Ray In-Line Holographic Microscopy and Numerical Reconstruction

Zhang Yuxuan Jiang Shiping Fu Shaojun Zhang Xinyi

(National Synchrotron Radiation Laboratory, University of Science and Technology of China, Hefei 230029)

Chen Min Chen Jianwen Xu Zhizhan

(Shanghai Institute of Optics and Fine Mechanics, The Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201800)

(Received 1 December 1997; revised 12 February 1998)

Abstract Soft X-ray holograms within water-windows are recorded in photoresist and reconstructed by using numerical technology. The 3.20 nm soft X-ray used in the experiments are a bending magnet radiation from a 800 MeV electron storage ring and have been monochromatized by a linear monochromator. The estimated resolution of the reconstructed images is better than 2 μm and remains to be improved in the future.

Key words synchrotron radiation, soft X-ray, holography, microscopy.