

文章编号: 0253-2239(2003)08-1021-4

用于高数值孔径物镜的可调光瞳滤波器*

王湘晖 林 列 郑 铁 方志良 母国光

(南开大学·天津大学联合研究院,

南开大学现代光学研究所,光电信息技术科学教育部重点实验室,天津 300071)

摘要: 根据矢量衍射理论,提出了一种用于提高高数值孔径显微镜纵向分辨率的可调二元环形光瞳滤波器,通过改变滤波器的环半径获得不同的纵向分辨率,并利用共焦显微术点扩散函数的乘积性大大地降低了旁瓣相对主瓣的比值。模拟结果表明,这种新型滤波器不仅可以提高高数值孔径物镜的纵向分辨率,同时基本上不影响横向分辨率。

关键词: 光学仪器;高数值孔径;光瞳滤波器;纵向分辨率;矢量衍射理论

中图分类号: TH742.2 文献标识码: A

1 引 言

随着现代科学技术的迅速发展,人们对显微成像技术提出了越来越高的要求。通常成像分辨率受制于物镜的数值孔径,为进一步提高分辨率必须采用新的方法,其中一种就是将变迹术与成像技术结合起来^[1]。变迹术的主要思想就是在系统中加入光瞳滤波器,通过改变光瞳分布来实现提高分辨率的目的。例如,Manuel^[2]等人提出的可调二元环形滤波器(如图 1、图 2 所示)既可以提高系统的纵向分辨率,又不影响其横向分辨率。作者经研究发现:这种滤波器确实具有这一性质。但是,这些滤波器的设计都是基于傍轴理论。而在实际应用中为获得尽可能高的分辨率,往往采用高数值孔径的显微物镜。在高数值孔径情况下,由傍轴近似理论得到的点扩散函数与根据矢量衍射理论得到的点扩散函数差别很大^[3]。因此,本文基于矢量衍射理论分析了二元环形滤波器用于高数值孔径物镜时,对点扩散

函数的影响,并从矢量衍射理论出发提出了一种新型可调二元环形滤波器,用以提高高数值孔径物镜的纵向分辨率,同时不降低横向分辨率。最后为减小旁瓣上升对分辨率的影响,利用了共焦显微术点扩散函数的乘积特性^[4](共焦显微系统的点扩散函数为照明物镜点扩散函数与探测物镜点扩散函数的乘积)来抑制旁瓣相对于中心峰值的比值。

2 原 理

2.1 基于矢量衍射理论的点扩散函数纵向分布

Wolf 等人曾从矢量衍射理论出发,分析了一束平行光入射到无球差高数值孔径物镜上,焦点附近的光场分布^[5]。根据 Wolf 的分析结果,若入射光为圆偏振光或自然光,则物镜的点扩散函数为

$$h(u, v) = |I_0(u, v)|^2 + 2|I_1(u, v)|^2 + |I_2(u, v)|^2, \quad (1)$$

其中 I_n 为积分表达式:

$$\left. \begin{aligned} I_0 &= \int_0^\alpha (\cos \theta)^{1/2} (\sin \theta) (1 + \cos \theta) J_0 \left(\frac{v \sin \theta}{\sin \alpha} \right) \exp \left(\frac{i u \cos \theta}{\sin^2 \alpha} \right) d\theta, \\ I_1 &= \int_0^\alpha (\cos \theta)^{1/2} (\sin^2 \theta) J_1 \left(\frac{v \sin \theta}{\sin \alpha} \right) \exp \left(\frac{i u \cos \theta}{\sin^2 \alpha} \right) d\theta, \\ I_2 &= \int_0^\alpha (\cos \theta)^{1/2} (\sin \theta) (1 - \cos \theta) J_2 \left(\frac{v \sin \theta}{\sin \alpha} \right) \exp \left(\frac{i u \cos \theta}{\sin^2 \alpha} \right) d\theta, \end{aligned} \right\} \quad (2)$$

* 教育部南开大学·天津大学科技合作基金资助课题。

E-mail: zmxh@eyou.com

收稿日期:2002-07-15;收到修改稿日期:2002-09-05

式中 J_n 是第一类 n 阶贝塞尔函数, α 为物镜的孔径角, u 和 v 是由下式定义的光学坐标:

$$\left. \begin{aligned} u &= kz \sin^2 \alpha, \\ v &= k \sqrt{x^2 + y^2} \sin \alpha, \end{aligned} \right\} \quad (3)$$

其中, k 是光波在介质中的波数。令 $v = 0$, 可得点扩散函数的纵向分布:

$$h(u, 0) = |I_0(u, 0)|^2 + 2|I_1(u, 0)|^2 + |I_2(u, 0)|^2, \quad (4)$$

由于 $v = 0$ 时, $I_1(u, 0) = I_2(u, 0) = 0$, 并且有

$$I_0(u, 0) = \int_0^\alpha (\cos \theta)^{1/2} \sin \theta (1 + \cos \theta) \times \exp\left(\frac{iucos \theta}{\sin^2 \alpha}\right) d\theta, \quad (5)$$

在焦点附近区域, (5) 式中指数因子可展开成级数形式:

$$\exp\left(\frac{iucos \theta}{\sin^2 \alpha}\right) = \sum_{n=0}^{\infty} \frac{(iucos \theta / \sin^2 \alpha)^n}{n!}, \quad (6)$$

则式(5)可改写为

$$I(u, 0) = \sum_{n=0}^{\infty} \frac{(iu / \sin^2 \alpha)^n}{n!} m_n, \quad (7)$$

其中

$$m_n = \int_0^\alpha \cos(\theta)^{1/2} \sin \theta (1 + \cos \theta) \cos^n \theta d\theta, \quad (8)$$

作二级近似, 并进行归一化, 则点扩散函数纵向分布为

$$h(u, 0) \approx 1 - (u / \sin^2 \alpha) [(m_2 m_0 - m_1^2) / m_0^2], \quad (9)$$

由上式可以看出, 要提高分辨率就得提高 $(m_2 m_0 - m_1^2) / m_0^2$, 设

$$B = (m_2 m_0 - m_1^2) / m_0^2, \quad (10)$$

2.2 二元环形光瞳滤波器

变迹术的主要思想就是改变光瞳函数的复振幅(包括振幅和相位)分布, 进而改变系统的点扩散函数来实现超分辨。例如, Manuel 等人提出的可调二元环形滤波器就是一种改变光瞳振幅分布的滤波器, 如图 1 所示, 其透射系数分布见图 2, 这种滤波器比透射系数为连续变化的滤波器在硬件方面易于实现。Manuel 等人从傍轴近似理论出发, 得到了一

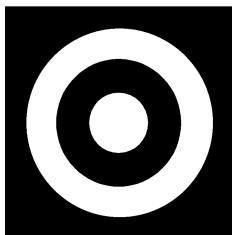


Fig. 1 Annular binary filter

种环半径满足以下关系的滤波器:

$$\left. \begin{aligned} p(\zeta) &= \text{rect}(\zeta) - \text{rect}(\zeta/\mu), \\ \zeta &= r^2 - 0.5, \end{aligned} \right\} \quad (11)$$

式中参量 μ 的取值范围为: $0 \leq \mu \leq 1$, 同时证明这种滤波器既可以提高纵向分辨率, 又不降低横向分辨率, 并可以改变参量 μ 而得到不同的纵向分辨率。

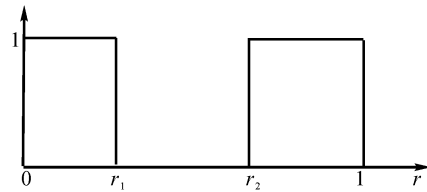


Fig. 2 Transmittance distribution of pupil filter

系统中采用二元环形光瞳滤波器后, 产生的效果相当于改变了(2)式的积分区域^[5], 即积分区域由 $0 \leq \theta \leq \alpha$ 变为 $0 \leq \theta \leq \alpha_1$ 和 $\alpha_2 \leq \theta \leq \alpha$, 其中 α_1, α_2 是分别与 r_1, r_2 归一化半径对应的角度, 它们之间存在以下关系:

$$\left. \begin{aligned} \alpha_1 &= \arctan(r_1 \tan \alpha / r), \\ \alpha_2 &= \arctan(r_2 \tan \alpha / r), \end{aligned} \right\} \quad (12)$$

3 数值模拟

下面首先证明, Manuel 等人的设计结果在高数值孔径情况下与矢量衍射理论的结果不相符, 然后在矢量衍射理论的基础上设计一种新型的可调滤波器。

根据矢量衍射理论, 利用文献[2]所设计的二元环形光瞳滤波器, 即采用与文献[2]相同的 r_1, r_2 值, 对孔径角 $\alpha = 30^\circ$ 的物镜进行计算。假设入射光为圆偏振或自然光, 波长 $\lambda = 632.8 \text{ nm}$, 模拟结果见图 3。与文献[2]的结果一样, 这三种光瞳滤波器确实使主瓣变窄了, 实现了超分辨。但是当采用高数值孔径物镜时, 情况并不是这样的。如对于数值孔径 $\text{NA} = 1.3$ 的物镜, 浸油折射率 $n = 1.518$, 孔径角 $\alpha = 58.9^\circ$, 采用同样的光瞳滤波器计算所得结果参

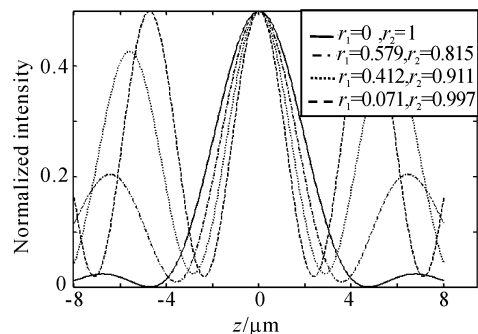


Fig. 3 Normalized axial intensity distribution when $\alpha = 30^\circ$

考图 4。显然,在高数值孔径情况下,这三种光瞳不但没有提高纵向分辨率,反而使得点扩散函数的纵向分布中心主瓣变宽了。这说明这种基于傍轴近似理论设计的二元环形光瞳滤波器不适用于高数值孔径物镜,因此有必要根据矢量衍射理论重新设计适用于高数值孔径物镜的新型二元环形光瞳滤波器。

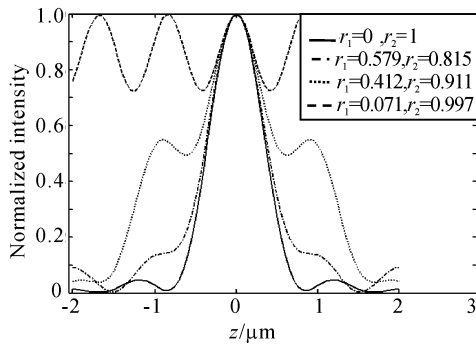


Fig. 4 Normalized axial intensity distribution when $\alpha = 58.9^\circ$

不加光瞳滤波器时,根据(10)式、(8)式可以计算得到 $B_0 = 0.0202$,下标 0 表示不加光瞳滤波器时对应的值。要提高系统的纵向分辨率,就要选择合适的环半径使得 B 大于 B_0 。对于 $\alpha = 58.9^\circ$ 的油浸物镜,从(10)式得到的能使 B 大于 B_0 的 r_1 、 r_2 组合有很多,选取一组 B 随 r_1 递减的组合,并进行曲线拟合得到满足下列关系式的光瞳滤波器:

$$r_2 = 10.25r_1^3 - 7.62r_1^2 + 0.281r_1 + 0.983, \quad (13)$$

图 5 是 B 随 r_1 的变化情况,显然,从图中可以看出,可通过调节环半径改变 B 值,进而实现调整纵向分辨率的目的,即分辨率是可调的。根据(13)式任意选取三组数据: $r_1 = 0.018, r_2 = 0.997$; $r_1 = 0.269, r_2 = 0.75$; $r_1 = 0.302, r_2 = 0.65$ 。采用这三种光瞳滤波器后,点扩散函数的纵向、横向分布分别如图 6、图 7。如果用光强半峰全宽(full width of half maximum, FWHM),来反映系统的分辨率,则不加光瞳滤波器时的纵向、横向半峰全宽分别为 $0.776 \mu\text{m}; 0.31 \mu\text{m}$ 。而采用上述三种滤波器后的纵向、横向半峰全宽分别为 $0.44 \mu\text{m}, 0.544 \mu\text{m}, 0.59 \mu\text{m}; 0.32 \mu\text{m}, 0.326 \mu\text{m}, 0.316 \mu\text{m}$ 。显然,基于矢量衍射理论提出的新型二元环形光瞳滤波器不仅使得点扩散函数纵向分布的中心主瓣变窄,并且除了当 $r_1 = 0.018, r_2 = 0.997$ 时,使得横向分布的旁瓣有所上升以外,对横向分布的中心主瓣基本不造成影响。采用上述三种滤波器后的施特雷尔比(有滤波器时与无滤波器时焦点强度最大值之比)分别为: $0.0001, 0.18, 0.4$,这是因为采用的是振幅型滤

波器,光能量的损失是不可避免的。

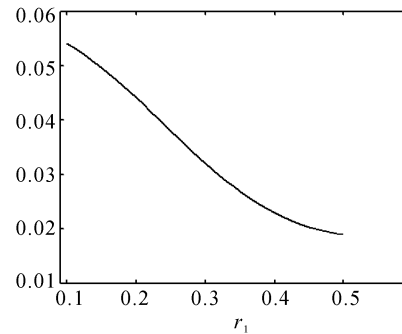


Fig. 5 B versus annular radius r_1

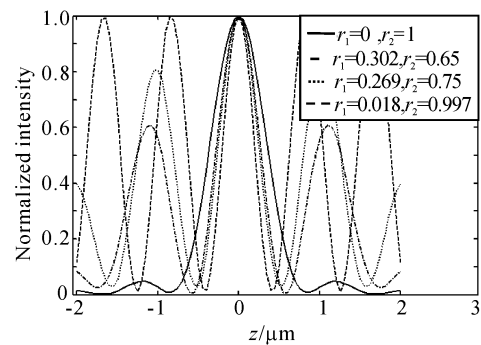


Fig. 6 Normalized axial intensity distribution with new filter

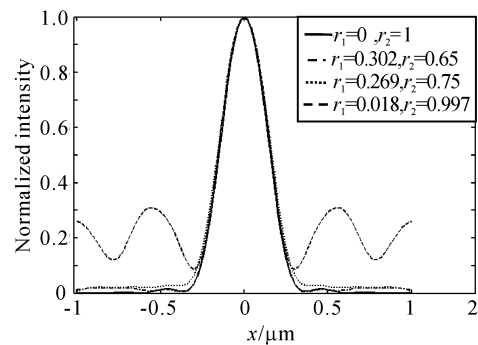


Fig. 7 Normalized transverse intensity distribution with new filter

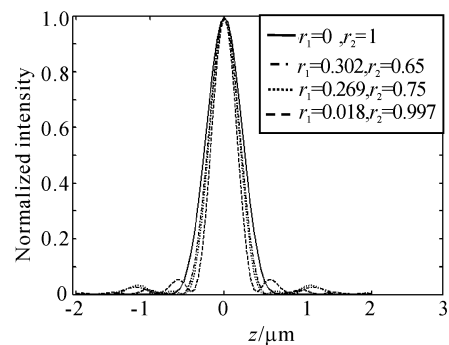


Fig. 8 Normalized axial intensity distribution of a confocal microscope

采用新型二元环形光瞳滤波器后,在纵向分辨率上升的同时,也会使得旁瓣跟着上升,如图 6 所示。这一缺点,可以利用共焦显微术点扩散函数的乘积性来克服。在共焦显微成像系统中,只对照明物镜采用光瞳滤波器,所得的点扩散函数纵向分布见图 8。显然,这时,不仅纵向分辨率得到了提高,同时旁瓣的影响也基本消除。

结论 本文采用矢量衍射理论讨论了 Manuel 等人设计的可调二元环形滤波器用于高数值孔径物镜时的情况,模拟结果表明,这种基于傍轴近似理论设计的光瞳滤波器在低数值孔径情况下确实可以提高纵向分辨率,但不适用于高数值孔径物镜。本文根据矢量衍射理论提出了一种新型可调二元环形光瞳滤波器,通过改变环半径调整系统的纵向分辨率,同时不对横向分辨率造成影响。最后,利用共焦显微成像技术的点扩散函数乘积特性进一步消除旁瓣的影响。

参 考 文 献

- 1 Sales T R M, Morris G M. Fundamental limits of optical superresolution. *Opt. Lett.*, 1997, **22**(9):582~584
- 2 Manuel M C, Pedro A, Jorge O C *et al.*. Tunable axial superresolution by annular binary filters. Application to confocal microscopy. *Opt. Commun.*, 1995, **119**(5/6):491~498
- 3 van Der Voort H T M, Brakenhoff G J. 3-D image formation in high-aperture fluorescence confocal microscopy: a numerical analysis. *J. Microscopy*, 1990, **158**(1):43~54
- 4 Deng Xiaoqiang, Wang Guiying, Xu Zhizhan. 3-D superresolution pupil filter. *Chin. J. Lasers (A)*(中国激光), 2001, **28**(5):459~462 (in Chinese)
- 5 Richards B, Wolf E. Electromagnetic diffraction in optical system II. Structure of the image field in an aplanatic system. *Proc. Roy. Soc. (A)*, 1959, **253**(1274):358~379
- 6 Yoshida A, Asakura T. Electromagnetic field in the focal plane of a coherent beam from a wide-angular annular-aperture system. *Optik*, 1974, **40**(3):322~331

Tunable Pupil Filters Applied to High Numerical Aperture Objectives

Wang Xianghui Lin Lie Zheng Tie Fang Zhiliang Mu Guoguang
(The Key Laboratory of Opto-Electronic Information Science and Technology of Ministry of Education, Institute of Modern Optics, Nankai University, United Academy of Nankai University and Tianjin University, Tianjin 300071)
(Received 15 July 2002; revised 5 September 2002)

Abstract: Based on vector diffraction theory, a new kind of tunable binary annular filters applied to high numerical aperture objectives is designed, and how to decide annular radius in order to increase axial resolution is discussed. Moreover, confocal microscopy is used to reduce the strength of secondary lobes. Numerical results show that this new kind of pupil filters can realize not only axial superresolution, but also not influence transverse resolution.

Key words: optical instrument; high numerical aperture; pupil filters; axial resolution; vector diffraction theory