

文章编号: 0253-2239(2006)02-0239-5

显微偏振干涉成像光谱仪中景深对系统 分辨力的影响*

彭志红 张淳民

(西安交通大学理学院, 西安 710049)

摘要: 提出了一种基于萨伐尔(Savart)偏光镜双折射晶体进行光谱分光的显微偏振干涉成像光谱仪的创新性原理和方案;从几何光学的角度推导了显微偏振干涉成像光谱仪景深的理论计算公式;给出了景深与光谱分辨力的变化关系,证明了景深的存在使系统光谱分辨力不再唯一确定,而是在一定范围内连续变化;通过计算机模拟分析了景深对系统分辨力的影响。该研究对实现快速实时测量,减少景深对光谱分辨力的影响以及新型偏振干涉成像光谱仪的研究、研制和工程化提供了重要的理论依据和实践指导。

关键词: 偏振;干涉;显微成像光谱仪;景深;分辨力

中图分类号: O436 文献标识码: A

Influence of Depth of Field on Resolution of a Microscope Polarization Interference Imaging Spectrometer

Peng Zhihong Zhang Chunmin

(School of Science, Xian Jiaotong University, Xian 710049)

Abstract: A scheme of microscope polarization interference imaging spectrometer (MPIIS) based on a Savart polariscope and its basic principles are introduced, and the relative expression of depth of field of MPIIS is derived with the geometrical-optics method. The relationship between the depth of field and the spectral resolution is given. It proves that the existence of the depth of field renders the spectral resolution value unfixed, but changing continuously within a certain range. The influence of depth of field on resolution value of a MPIIS is analyzed through computer simulation. All of this provide important theoretical bases and practical guidances for realizing real-time measurement, decreasing influence of depth of field on spectral resolution, and the study, design and engineering of novel polarization interference imaging spectrometers.

Key words: polarization; interference; microspectroscopy; depth of field; resolution

1 引 言

干涉成像光谱技术是上个世纪 80 年代出现的一项融光学、图像处理、电子技术、计算机科学于一体的高新科技,它能够获得目标的二维空间和一维光谱信息,在航空、航天、遥感等领域有广泛应用^[1,2]。目前,进入工程研究的主要有色散型和空间型干涉成像光谱仪。2000 年,张淳民、赵葆常、相里斌等提出了一种新型的偏振干涉成像光谱仪,且正在研制之中^[3~6]。偏振干涉成像光谱仪由前置光学系统、干涉仪系统、接收系统和数据处理系统组

成。根据前置光学系统的不同,成像光谱仪可以应用在不同的领域。在机载、星载空间遥感和远距离探测时,前置光学系统为望远镜系统;若将显微系统作为前置光学系统,就成为显微成像光谱仪,它被广泛应用于显微领域。

近年来,显微成像光谱的应用逐渐成为人们研究的热点。美国等国家的研究人员通过不同的技术手段将成像光谱技术应用到病理学、细胞遗传学、组织学、免疫组织化学等领域。而国内涉及该项技术研究的单位还很少。2004 年,上海技术物理研究所

* 国家自然科学基金重点项目(40537031)和国家自然科学基金(40375010,60278019)资助课题。

作者简介: 彭志红(1980~),女,河北石家庄人,西安交通大学硕士研究生,主要从事成像光谱技术方面的研究。

E-mail: pengzhihong@stu.xjtu.edu.cn

收稿日期: 2005-01-18; 收到修改稿日期: 2005-05-10

设计提出了一种基于棱镜-光栅-棱镜组合分光方式的显微高光谱成像实验系统^[9],利用该实验系统对人体正常血细胞进行了实验观测;同年,华东石油大学物理科学与技术学院发展了一种显微荧光光谱成像技术,并将其应用于天然岩心进行显微荧光成像光谱研究^[10]。目前,国内外这些研究大多采用简单的分光系统,如:棱镜或光栅分光、线性渐变滤光片、声光可调谐滤光片、液晶可调谐滤光片等。而关于双折射晶体作为分光元件的显微偏振干涉成像光谱仪的研究,国内外尚未见报道。

本文提出了一种基于萨伐尔(Savart)偏光镜双折射晶体进行光谱分光的显微偏振干涉成像光谱仪的创新性原理和方案,给出了显微偏振干涉成像光谱仪的景深公式,并分析了该系统中景深对于分辨率的影响。

2 显微偏振干涉成像光谱仪原理

显微偏振干涉成像光谱仪由显微镜系统、偏振器 P₁、萨伐尔偏光镜^[11~14]、分析器 P₂、收集镜和数据处理系统组成,其原理如图 1 所示。目标经由前置光学系统即显微镜系统入射到偏振器 P₁ 上;这样,一束光线经过偏振器后将变为线偏振光,这束线偏振光射入萨伐尔偏光镜后,出射光将变为两束相距为 d 、振动方向相互垂直的线偏振光, d 为横向剪切量^[4];两束振动方向垂直的线偏振光经分析器后变为与分析器偏振化方向一致的两束线偏振光,其光程差为 Δ ^[8];再经收集镜后,在面阵 CCD 探测器上不仅能够得到高分辨力的二维空间图像,还可以同时得到物质的干涉图,经数据处理后可得到代表物质化学信息的光谱。通过对样品进行推扫,就得到整个样品的二维图像和一维光谱数据。

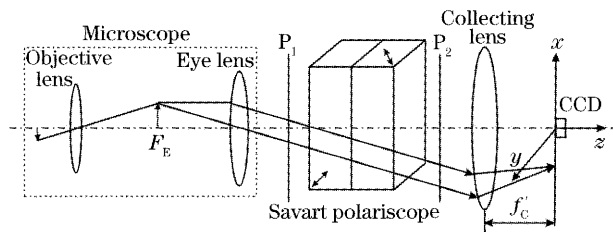


图 1 显微偏振干涉成像光谱仪原理图

Fig. 1 Optical diagram and system configuration of MPIIS

3 显微偏振干涉成像光谱仪的景深

按理想光学系统的特性,物空间一个平面,在像空间必有一个像平面与之共轭。景像平面上的空间像,严格来讲除对准平面上的点能成点像外,其它空

间点在景像平面上只能成为一个弥散斑。但当其小于一定限度时,仍可认为是一个点。所以,当显微镜调焦在一物平面(对准平面)时,位于其前和后的两物平面若仍能成清晰像,则该两平面之间的距离称为显微镜的景深^[15]。由于 CCD 的像元尺寸有一定的大小,所以 CCD 相机具有一定的分辨力,也就使得该显微偏振干涉成像光谱仪系统具有一定的景深。

图 2 所示为该系统的前置显微系统, A'B' 为对准平面 AB 的像(景像平面), A₁'B₁' 为对准平面之前的物平面 A₁B₁ 的像,它相对于景像平面的距离为 dx' 。Z' 为弥散斑直径,显微镜物空间的景深 F 为 $2dx$ 。另外,设 NA 为显微镜的数值孔径, Γ 为显微镜的总放大率; n 和 n' 分别为显微镜物空间和像空间介质的折射率。设 CCD 的像元尺寸为 R , 像元数目为 N ; $2a'$ 为出瞳直径; β_c 为收集镜的垂轴放大率; β_T 为显微偏振干涉成像光谱仪总的垂轴放大率。

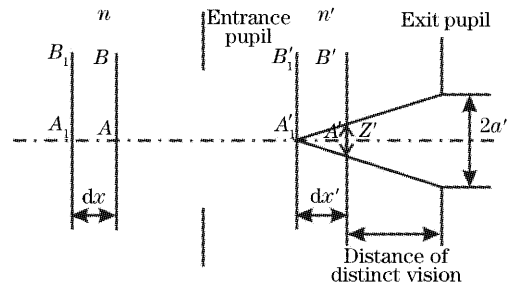


图 2 前置显微镜景深

Fig. 2 Depth of field produced by the microscope

由图 2 可知

$$\frac{Z'}{2a'} = \frac{dx'}{(dx' + D)}, \quad (1)$$

其中 $a' = 250(NA)/\Gamma$, 根据奈奎斯特定律^[16], 有 $Z' = 2R/\beta_c$ 。垂轴放大率 $\beta = -x'/f'$, 同时 $dx' \ll D$ ($D = 250 \text{ mm}$, 为明视距离) $x' \approx D, n' = 1$, 轴向放大率 $\alpha = \frac{dx'}{dx} = \frac{n'\beta^2}{n} = \frac{\Gamma^2}{n}$ 。所以, 有

$$2dx = \frac{2dx'}{\alpha} = \frac{2Rn}{\beta_c \Gamma(NA)} = \frac{2Rn}{\beta_T(NA)}, \quad (2)$$

即该显微偏振干涉成像光谱仪的景深 F 为

$$F = 2dx = \frac{2Rn}{\beta_T(NA)}. \quad (3)$$

4 景深对系统分辨率的影响

系统参量: 显微偏振干涉成像光谱仪总的垂轴放大率为 $\beta_T = -40$; 收集镜的焦距为 $f'_c = 50 \text{ mm}$; 采用敏通 512×512 的 CCD, CCD 像元尺寸为 $10 \mu\text{m} \times 10 \mu\text{m}$; 萨伐尔偏光镜由两块厚度均为

6 mm, 面积为 25 mm × 25 mm 的方解石胶合而成^[4], 其总尺寸为 25 mm × 25 mm × 12 mm; 参考光波长为 $\lambda = 0.546 \mu\text{m}$ 。

对于一个显微偏振干涉成像光谱仪, 有两个描述其性能的重要参量: 空间分辨力和光谱分辨力。下面分别讨论之, 并就景深与二者的关系进行研究。

4.1 景深对系统空间分辨力的影响

显微偏振干涉成像光谱仪与其它形式的显微成像光谱仪类似, 它的空间分辨力理论上是衍射受限的, 但实际上是由系统的有效空间分辨力决定的。对于本系统, 影响其空间分辨力的因素主要有两个: 一个是 CCD 成像器件对物空间分辨力的影响, 另一个是衍射效应的影响。在对光学系统设计时, 要求二者匹配。所以, 我们可以根据 CCD 的参量来计算系统的空间分辨力。

待测目标经过光学系统放大后成像在 CCD 探测器上, 成像尺寸的大小乘以校正系数, 即为目标的实际尺寸。

所以, 再根据奈奎斯特定律^[16]得, 系统的空间分辨力

$$\delta y = \frac{2R}{\beta_T}. \quad (4)$$

可见, 系统参量一旦确定, 其空间分辨力也就确定了, 而不会受到景深的影响。对我们的装置, $\beta_T = -40$, $R = 10 \mu\text{m}$, 所以, 系统的空间分辨力为 $\delta y = 0.5 \mu\text{m}$ 。

4.2 景深对系统光谱分辨力的影响

显微偏振干涉成像光谱仪整个光学系统的光程差为

$$\Delta = t \left[\frac{a^2 - b^2}{a^2 + b^2} (\cos \omega + \sin \omega) \sin i + \frac{a^2 - b^2}{(a^2 + b^2)^{3/2}} \frac{a^2}{\sqrt{2}} (\cos^2 \omega - \sin^2 \omega) \sin^2 i + \dots \right], \quad (5)$$

其中 $a = 1/n_e$, $b = 1/n_o$; ω 为入射面与萨伐尔偏光镜左板主平面的夹角, 通常 $\omega = 0$; i 为光线入射到萨伐尔偏光镜时的入射角; t 为萨伐尔偏光镜的平板厚度, 所以为 6 mm; 对于波长 $\lambda = 0.546 \mu\text{m}$ 的入射光而言, $n_o = 1.662$, $n_e = 1.488$ 。横向剪切量为^[4]

$$d = \sqrt{2}t \left(\frac{n_o^2 - n_e^2}{n_o^2 + n_e^2} + \sin i \left\{ \frac{n_o n_e}{[(n_o^2 + n_e^2)/2]^{3/2}} - \frac{1}{n_o} \right\} + \dots \right), \quad (6)$$

忽略 $\sin^3 i$ 及其以上的项, 整理(5)式得

$$\Delta = 0.6608 \sin i + 0.2340 \sin^2 i, \quad (7)$$

理论上, 系统的光谱分辨力为

$$\delta \sigma = 1 / (2\Delta_{\max}) = 0.5 \times (0.6608 \sin i_{\max} + 0.2340 \sin^2 i_{\max})^{-1}. \quad (8)$$

可见, 系统的光谱分辨力是光线射入萨伐尔偏光镜的最大视场角 i_{\max} 的函数, $\delta \sigma \sim i_{\max}$ 的关系曲线如图 3 所示。对我们的装置, $i = 3^\circ$, 系统的光谱分辨力 $\delta \sigma = 141.95 \text{ cm}^{-1}$ 。但是, 由于显微偏振干涉成像光谱仪具有一定的景深 F , 这对射入萨伐尔偏光镜的光线的最大入射角有很大影响, 如图 4 所示。当物体位于 AB 位置时, CCD 相机可拍摄到物体清晰的像, 此时, 光线入射到萨伐尔偏光镜的最大入射角为 i_{\max} ; 由于景深 F 的存在, 使得物体只要位于相距为 F 的 $A_1 B_1$ 和 $A_2 B_2$ 两平面之间时, 都能够在 CCD 相机上得到清晰的图像。但是, 光线入射到萨伐尔偏光镜的最大入射角将介于 $i_{\max 1}$ 和 $i_{\max 2}$ 之间, 从而影响了最大光程差 Δ_{\max} , 也就影响了整个光学系统的光谱分辨力。

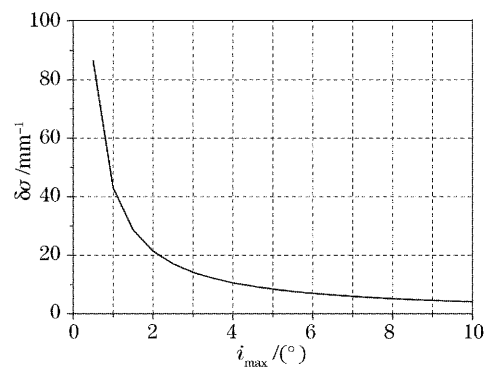


图 3 $\delta \sigma \sim i_{\max}$ 的关系曲线

Fig. 3 $\delta \sigma$ as the function of i_{\max}

由图 4 可知, 当物体位于 AB 位置时

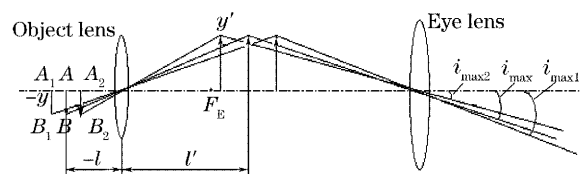


图 4 景深对萨伐尔偏光镜最大入射角的影响

Fig. 4 Influence of the depth of field on the maximum incident angle of a Savart polariscope

$$\tan i_{\max} = y'/f'_E, \quad (9)$$

当物体位于 A_2B_2 时

$$\frac{-y}{-l + F/2} = \frac{y'}{l'_2}, \quad (10)$$

$$\tan i_{\max 2} = \frac{y'}{f'_E + l' - l'_2}, \quad (11)$$

整理(9)式~(11)式得

$$\tan i_{\max 2} = \frac{f'_E \tan i_{\max}}{f'_E - \beta_0 F/2}, \quad (12)$$

同理,得

$$\tan i_{\max 1} = f'_E \tan i_{\max} / (f'_E + \beta_0 F/2), \quad (13)$$

又因为

$$\tan i_{\max 1} = \frac{x_{\max}}{f'_C} = \frac{N \times R}{2f'_C}, \quad (14)$$

再根据 $\beta_T = (f'_C/f'_E) \times \beta_0$, 由(12)式~(14)式得

$$\tan i_{\max 2} = \frac{2f'_C + \beta_T F}{2f'_C - \beta_T F} \times \frac{N \times R}{2f'_C}, \quad (15)$$

对我们的装置, $f'_C = 50 \text{ mm}$, $\beta_T = -40$, $N = 512$, $R = 10 \text{ }\mu\text{m}$, 所以

$$\tan i_{\max 2} = 0.0512 \times \frac{5 - 2F}{5 + 2F}, \quad (16)$$

$$\delta\sigma_{\max} = \frac{0.5}{0.6608[0.0512 \times (5 - 2F)/(5 + 2F)] + 0.2340 \times [0.0512 \times (5 - 2F)/(5 + 2F)]^2}. \quad (17)$$

该显微偏振干涉成像光谱仪的 $\delta\sigma_{\max} \sim F$ 的关系曲线如图 5 所示。由于景深的影响,使得系统的光谱分辨力位于区间 $[\delta\sigma_{\max}(F=0), \delta\sigma_{\max}(F)]$ 内。

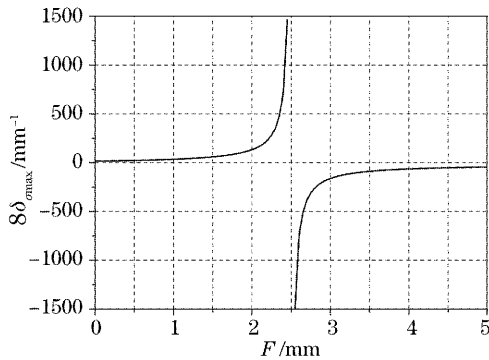


图 5 $\delta\sigma_{\max} \sim F$ 的关系曲线

Fig. 5 $\delta\sigma_{\max}$ as the function of F

由图 5 可知,当景深 $F < 2.5 \text{ mm}$ 时,系统光谱分辨力的最大值随着景深的增大而增大;当景深 $F > 2.5 \text{ mm}$ 时,系统光谱分辨力的最大值随着景深的增大而呈现负值增大。但是,光线入射到萨伐尔偏光镜的最大入射角必定介于区间 $(0, 90^\circ)$ 内,再由(16)式可知,一定有景深 $F < 2.5 \text{ mm}$ 。所以对于我们的装置,系统光谱分辨力的最大值 $\delta\sigma_{\max}$ 一定是随着景深的增大而增大;景深越小, $\delta\sigma_{\max}(F)$ 也就越小,从而景深对系统光谱分辨力的影响就越小。

5 结 论

1) 要把被观察平面调焦到位于景深之内才可以看清楚,所以显微偏振干涉成像光谱仪的景深对成像系统微动调焦范围提出了理论要求。

2) 显微偏振干涉成像光谱仪的景深与 CCD 的像元尺寸 R 、显微镜物方折射率 n 成正比,与显微镜的数值孔径 NA 、系统的总放大率 β_T 成反比。在实验中,可以根据(3)式来增大景深,从而实现快速实时测量,有非常重要的实际意义。

3) 显微偏振干涉成像光谱仪的景深 F 与系统的空间分辨力无关,但会影响系统的光谱分辨力。由 $\delta\sigma_{\max} \sim F$ 的关系曲线可知,系统光谱分辨力的最大值 $\delta\sigma_{\max}$ 随着景深的增大而增大;景深越小, $\delta\sigma_{\max}(F)$ 也就越小,从而景深对系统光谱分辨力的影响就越小。具体的,我们可以根据(3)式来减小景深,以减小景深对系统光谱分辨力的影响。

4) 景深 F 的存在使得光谱分辨力不再唯一确定,而是在一定范围内连续变化。由 $\delta\sigma \sim i_{\max}$ 的关系曲线可知,只有当 i_{\max} 很小时,其值的微小变化会引起光谱分辨力的剧烈改变;系统允许射入萨伐尔偏光镜的最大入射角 i_{\max} 越大,光谱分辨力 $\delta\sigma$ 随 i_{\max} 的变化就越小,从而景深对光谱分辨力的影响也就越小。具体的,可以通过增大像元尺寸 R 、增加像元数目 N 或者减小收集镜的焦距 f'_C 等途径来增大射入萨伐尔偏光镜的最大入射角 i_{\max} ,从而减小景深对光谱分辨力的影响。

致谢 感谢吴磊、贺健在计算机作图方面给予的帮助。

参 考 文 献

- 1 Zhang Chunmin, Wang Wei, Xiangli Bin *et al.*. Interference image spectroscopy for upper atmospheric wind field measurement [J]. *Acta Optica Sinica*, 2000, **20**(2): 234~239 (in Chinese)

- 张淳民,王 炜,相里斌等. 利用干涉成像光谱技术测量大气风场[J]. 光学学报, 2000, **20**(2): 234~239
- 2 He Jian, Zhang Chunmin, Tang Yuanhe *et al.*. The principle analysis of passive detection of upper atmospheric wind field of the Lorentzian profile[J]. *Acta Optica Sinica*, 2005, **25**(5): 577~580 (in Chinese)
- 贺 健,张淳民,唐远河等. 洛伦兹光谱线型的高层大气风场被动探测原理分析[J]. 光学学报, 2005, **25**(5): 577~580
- 3 Chunmin Zhang, Bin Xiangli, BaoChang Zhao. Static polarization interference imaging spectrometer (SPIIS) [C]. *Proc. SPIE*, 2000, **4087**: 957~961
- 4 Chunmin Zhang, Bin Xiangli, Baochang Zhao *et al.*. A static polarization imaging spectrometer base on Savart polariscope[J]. *Opt. Commun.*, 2002, **203**(1~2): 21~26
- 5 Chunmin Zhang, Baochang Zhao, Bin Xiangli. Analysis of the modulation depth affected by the polarization orientation in polarization interference imaging spectrometer [J]. *Opt. Commun.*, 2003, **227**: 221~225
- 5 Zhang Chunmin, Xiangli Bin, Yang Jianfeng *et al.*. Principle and modulation depth analysis of static larger field of view polarized interference imaging spectrometer [J]. *J. Xi'an Jiaotong University*, 2000, **34**(6): 93~97 (in Chinese)
- 张淳民,相里斌,杨建峰等. 稳态大视场偏振干涉成像光谱仪原理及调制度分析[J]. 西安交通大学学报, 2000, **34**(6): 93~97
- 7 Chunmin Zhang, Bin Xiangli, Baochang Zhao. Permissible deviations of the polarization orientation in the polarization imaging spectrometer [J]. *J. Opt. (A): Pure Appl. Opt.*, 2004, **6**: 815~817
- 8 Chunmin Zhang, Baochang Zhao, Bin Xiangli. Wide-field-of-view polarization interference imaging spectrometer[J]. *Appl. Opt.*, 2004, **43**(33): 6090~6094
- 9 Xiao Gonghai, Shu Rong, Xue Yongqi. Design of microscopic hyperspectral imaging system [J]. *Optics and Precision Engineering*, 2004, **12**(4): 367~372 (in Chinese)
- 肖功海,舒 嵘,薛永祺. 显微高光谱成像系统的设计[J]. 光学精密工程, 2004, **12**(4): 367~372
- 10 Huang Qiaosong, Xu Xiaoxuan, Xu Jialin *et al.*. Microscopic fluorescence imaging spectra of oily core [J]. *Chin. J. Luminescence*, 2004, **25**(2): 202~206 (in Chinese)
- 黄乔松,徐晓轩,许家林等. 含油岩心显微荧光成像光谱研究[J]. 发光学报, 2004, **25**(2): 202~206
- 11 Zhang Chunmin, Zhao Baochang, Xiangli Bin. Influence of polarized direction on modulation depth of a polarization interference imaging spectrometer[J]. *Acta Optica Sinica*, 2000, **20**(8): 1077~1083 (in Chinese)
- 张淳民,赵葆常,相里斌. 偏振干涉成像光谱仪中偏振化方向对调制度的影响[J]. 光学学报, 2000, **20**(8): 1077~1083
- 12 Zhang Chunmin, Zhao Baochang, Xiangli Bin *et al.*. Analysis and calculation of throughput of the polarization interference imaging spectrometer[J]. *Acta Optica Sinica*, 2000, **21**(9): 192~197 (in Chinese)
- 张淳民,赵葆常,相里斌等. 偏振干涉成像光谱仪通量的分析与计算[J]. 光学学报, 2001, **21**(9): 192~197
- 13 Wu Lei, Zhang Chunmin, Yuan Yan *et al.*. Exact calculation of the lateral displacement and optical path difference of Savart polariscope[J]. *Acta Optica Sinica*, 2005, **25**(7): 885~890 (in Chinese)
- 吴 磊,张淳民,袁 艳等. 萨伐尔偏光镜横向剪切量和光程差的精确计算[J]. 光学学报, 2005, **25**(7): 885~890
- 14 Chunmin Zhang, Baochang Zhao, Bin Xiangli *et al.*. Birefringent laterally sheared beam splitter-Savart polariscope [C]. *Proc. SPIE*, 2005, **6148**:
- 15 An Liansheng. *Applied Optics* [M]. Beijing: Beijing Institute of Technology Press, 2002. 100~102 (in Chinese)
- 安连生. 应用光学[M]. 北京: 北京理工大学出版社, 2002. 100~102
- 16 Cai Wengui, Li Yongyuan, Xu Zhenhua. *CCD Technic and Application* [M]. Beijing: Electronic Industries Press, 1992. 6~16 (in Chinese)
- 蔡文贵,李永远,许振华. CCD技术及应用[M]. 北京: 电子工业出版社, 1992. 6~16