文章编号: 0253-2239(2008)07-1279-04

基于白光干涉的自稳定定量相位成像系统

李新弘 章海军 张冬仙

(浙江大学现代光学仪器国家重点实验室,浙江杭州 310027)

摘要 提出和建立了基于白光干涉的自稳定定量相位成像系统。该系统以柯勒照明的白光迈克耳孙干涉计为基础,使用自稳定锁相电路以减少相位噪音,引入相移装置获得定量的相位图像。实验分别以平面镜、标准测试图和 聚苯乙烯小球为样品,获得了清晰的定量相位图像,实现了对样品的实时观测。该装置采用卤素灯照明,达到轴向 分辨力 5 nm,系统中的柯勒照明结构使其具有高空间相干性。实验结果表明,该装置能有效避免系统中其他光学 表面(如系统中的透镜表面)干扰信号的影响。

关键词 白光干涉;定量相位成像;迈克耳孙干涉;柯勒照明;自稳定 中图分类号 TH741.4 **文献标识码** A doi: 10.3788/AOS20082807.1279

Quantitative Phase Imaging System with Active Phase Stabilization Based on White-Light Interferometry

Li Xinhong Zhang Haijun Zhang Dongxian

(State Key Laboratory of Modern Optical Instrumentation, Zhejiang University, Hangzhou, Zhejiang 310027, China)

Abstract A novel self-stable quantitative phase imaging system, based on a white light Michelson interferometer with Kohler illumination is reported. An actively stabilized phase-lock circuit is employed in the system to reduce phase noise. A phase-shifting technique is used to obtain quantitative phase images of the sample. Mirror, standard negative test chart and polystyrene beads are used as samples in experiments. Clear quantitative phase images are obtained and real-time observation is realized. The system uses halogen lamp as the light source and the vertical resolution of 5 nm is obtained. The structure of Kohler illumination in the system ensures high spatial coherence. Experimental results show this system can get rid of the interfering signal from other optical surfaces, such as lens surfaces.

Key words white-light interference; quantitative phase imaging; Michelson interferometer; Kohler illumination; active stabilization

1 引 言

生物细胞通常很难观察和测量,因为它们几乎 是透明的。另一方面,它们可被看作相位物体,能够 改变入射光波的相位。与细胞运动相关的相位变化 能够使用相位参考干涉计测量得到^[1],这为把相位 测量应用于生物细胞的测量提供了可能。相位测 量^[2,3]是一种实时的、非破坏性的测量方法,它对纵 向位移非常敏感^[4],被广泛应用于光学系统中物理 参量的测量^[5]。定量测量能够通过相位测量实现, 而相位信息能够通过测量相移引起的干涉强度信息 中获得。

低相干干涉测量(Low coherence interferometry, LCI)及其衍生物光学层析技术(Optical coherent tomography,OCT)是近年来发展非常迅速的成像 技术,它们应用于透明半透明结构的成像。LCI 技 术被广泛应用于散射介质的色散测量^[6];OCT 技术 首先作为生物系统非侵袭性横断面成像手段而被发 明,后其使用光的额外性质而拓展用于成像对比度 以及定量测量性能的改善^[7~14],能获得生物组织后 向散射的深度分辨图像,从而被用于散射组织的内

收稿日期: 2007-09-05; 收到修改稿日期: 2008-01-15

基金项目:国家 863 计划(2006AA04Z237)和国家自然科学基金(50775205)资助课题。

作者简介:李新弘(1981-),女,博士研究生,主要从事光电检测方面的研究。E-mail: lixinhong@zju. edu. cn

导师简介:章海军(1965-),男,教授,博士生导师,主要从事光电检测及纳米技术等方面的研究。

部结构测量[15]。

本文提出了一种低相干定量相位成像系统,使 用卤素灯作为光源,定量测量了标准测试图的相位, 得到理想的轮廓图像。

2 原理与方法

图 1 是基于迈克耳孙干涉计的自稳定定量相位 成像系统示意图。该结构的主要特点是成像光和探 测光的复合,使用均匀照明的低相干光源(λ₁)成像, 使用第二光源(λ_p,探测光源)实现系统的自稳定。透 镜 1、透镜 2 和物镜 1、物镜 2 构成 4*f* 成像系统。宽 带成像光源实现了纵向窄相干门控,另一探测光源则 保证了系统的自稳定从而精确定位参考平面镜。

使用反馈方法将参考平面镜精确定位,参考平面镜安置于压电陶瓷(PZT)上,被频率为若干千赫振幅约 20 nm 的正弦波调制而产生反馈载波。





Fig. 1 Schematic of quantitative phase imaging system with active stabilization

通过电子学的乘法和加法运算,得到误差信号 的线性组合:

 $V_{\rm e}(t) = V_1 \cos \theta - V_2 \sin \theta =$

$$V_0 \sin[\phi_0 - \phi_{\text{PZT}}(t) + \phi_N(t) - \theta], \quad (1)$$

式中 V_1 和 V_2 分别为解调光电二极管(PD)接收到 的信号在基频和二次谐波频率处的电压,获得与探 测光干涉相位正余弦分量成比例的两路信号:

 $V_1(t) = V_0 \sin[\phi_0 - \phi_{\text{PZT}}(t) + \phi_N(t)],$

 $V_2(t) = V_0 \cos[\phi_0 - \phi_{\text{PZT}}(t) + \phi_N(t)],$

φ₀ 为样品臂和参考臂之间的往复相位差,φ_{PZT} 为
PZT 产生的附加相移(不包括反馈载波),φ_N 为由系
统搅动引起的噪音相位,θ 为需要调节的相位量,由
计算机控制进行调整。

由闭合回路条件 $V_e = 0$ 可以得到

$$\phi_{\text{PZT}}(t) = \phi_0 + \phi_N(t) - \theta, \quad (2)$$
探测光的相位由 θ 控制。

图 2 所示为探测光源(λ_P)和成像光源(λ_I)之间的相干信号相位关系, $r_0 = \lambda_P / \lambda_I$ 。





Fig. 2 Coherence signal of two light sources

以 2π 为周期,每次改变参考臂相位 $\pi/2$ (对应 $\lambda_p/4$ 位置改变),相应的相位步进为 $\pi r_0/2$,记录一 组(四幅)强度图像 I_1, I_2, I_3, I_4 ,那么相位值 ϕ 可由 下式计算得到

$$\phi = \arctan\left\{\frac{(I_1 - I_3)\cos(\pi r_0/2) - (I_2 - I_4)}{(I_1 - I_3)\sin(\pi r_0/2)}\right\} - \frac{\pi}{2}r_0.$$
(3)

3 实 验

3.1 实验装置

图 3 为实验装置实物图,其基本结构是一个采 用柯勒照明的迈克耳孙白光干涉计。四个消色差的 二极管激光玻璃双合透镜构成 4f 成像系统:完全 相同的透镜 1,透镜 2(近轴焦距 190 mm)和完全相 同的物镜 1,物镜 2(近轴焦距 10 mm)。4f 系统将 像从系统的输入平面传输至输出平面,同时也起到 显微镜的作用,放大率约为 19。采用一个中心波长 820 nm,半峰全宽(FWHM)240 nm 的卤素灯作为



图 3 实验装置图 Fig. 3 Experimental setup

光源(λ₁),柯勒照明将此宽带光源准直,使得光均匀 照明样品。用一个中心波长 1325.11 nm,半峰全宽 为 44.37 nm 的超辐射发光二极管(SLD)做探测光 源(λ_P)进行锁相。

两束光通过 4*f* 系统输入平面附近的分束镜 1 复合,复合光经一个非偏振立方分束镜 2 反射、传输 后,被位于 4*f* 系统输出平面附近的分束镜 3(与分 束镜 1 完全相同)分离,分别由一个数码 CCD 摄像 机(Hamamatsu, C4880-07)和一个光电二极管接 收。该光电二极管与 SLD 相匹配,能够探测干涉信 号中的搅动。经过锁相回路解调之后,由 PD 产生的补偿信号反馈回 PZT,PZT 在此有相位调制和相移的双重作用。

3.2 实验结果

首先用一个平面镜作为样品。强度图像的曝光 时间约为 40 ms,图像获取速率为 0.5 Hz。

图 4 是一组相位图,其中图 4(a)为根据(3)式 由强度图像计算得到的相位图,图 4(b)为图 4(a)的 局部放大图,图 4(c)为图 4(b)的展开图,图 4(d), 图 4(e)分别为图 4(b)和图 4(c)的三维图像(3D)。



图 4 平面镜作为样品。(a) 相位图,(b) 相位图局部放大图,(c) 图 4(b)的展开图,(d) 图 4(b)的三维图, (e) 图 4(c)的三维图

Fig. 4 Phase images by using plane mirror as a sample. (a) Phase image, (b) zoomed image of Fig. 4(a), (c) unwrapped image of Fig. 4(b), (d) 3D image of Fig. 4(b), (e) 3D image of Fig. 4(c)

由图 4(e)可以明确地看到,得到了一个光滑的平 面镜表面轮廓的图像,这是与实际情况完全符合的。



接着以沉积铬合金标准负片测试图为样品,用于 阐明该系统的定量性。图 5(a)是标准负片测试图的



图 5 负片侧视图作为样品。(a)负片测试图,(b)负片测试图的相位图像,(c)图 5(b)的局部放大相位展开图, (d)图 5(c)的三维图

Fig. 5 (a) Negative pattern test chart, (b) phase image, (c) zoomed unwrapped image of Fig. 5, (d) 3D image of Fig. 5(c) with a negative pattern test chart as a sample

示意图,经标准轮廓仪测定其厚度平均值为140 nm。

成像光束和探测光束均从玻璃沉积表面反射。 图 5(b)是用该定量相位成像系统得到的样品相位图 像,图 5(c)为出该图像的相位展开图,其三维轮廓图 像示于图 5(d)。考虑到系统中光路的往返,并且假 定相位改变值正比于空气中的光程差,计算得到高度



值为 125 nm。误差来自系统误差(如 r_0),归因于 PD 和 CCD 的敏感差异,以及探测光的 $\pi/2$ 相移。

图 6 中示出了以直径 20 μm 的聚苯乙烯小球为 样品的相位图和经局部放大展后的三维图。聚苯乙 烯小球被轻微地压扁,这与实际实验中为了减慢小球 在水中的移动而覆盖了盖玻片的实际情况相一致。



图 6 聚苯乙烯小球的相位图(a)和三维图(b) Fig. 6 Phase image (a) and 3D image of polystyrene beads

4 结 论

采用建立的自稳定定量相位成像系统,以标准 测试图为样品,得到了定量的相位图像,证明了系统 的定量性。该装置采用卤素灯照明,达到轴向分辨 力5 nm。不仅如此,系统中的柯勒照明结构使得系 统具有高空间相干性,横向分辨力也显著提高。实 验结果表明,该装置在测量定量相位图像时能有效 避免系统中其他光学表面(如系统中的透镜表面)干 扰信号的影响,具有分辨力高、稳定性好、噪音低和 扩展性强的优点,在生物样品的定量测量方面很有 优势,为活体细胞动力学的研究提供了一种有效的 手段。

参考文献

- Z. Chen, T. E. Milner, S. Srinivas *et al.*. Noninvasive imaging of in vivo blood flow velocity using optical Doppler tomography [J]. Opt. Lett., 1997, 22(14): 1119~1123
- 2 Lü Xiaoxu, Zhong Liyun, Zhang Yimo. A method of phaseshifting measurement by the difference of phase-shifting interferograms[J]. Acta Optica Sinica, 2007, 27(4): 603~608 吕晓旭,钟丽云,张以谟. 通过相移条纹图差分测定相移量的方 法[J]. 光学学报, 2007, 27(4): 603~608
- 3 Bu Peng, Wang Xiangzhao, Osami Sasaki. Fourier-domain optical coherence tomography based on sinusoidal phase modulation[J]. Acta Optica Sinica, 2007, 27(8): 1470~1474 步 鹏,王向朝,佐佐木修己. 正弦相位调制的频域光学相干层 析成像[J]. 光学学报, 2007, 27(8): 1470~1474
- 4 D. Huang, E. A. Swanson, C. P. Lin et al. Optical coherence tomography[J]. Science, 1991, 254: 1178~1180
- 5 A. Dubois, J. Swlb, L. Vabre *et al.*. Phase measurements with wide-aperture interferometers[J]. *Appl. Opt.*, 2000, **39**(14):

 $2326 \sim 2328$

- 6 Mengtao Huang, Zhuangde Jiang, Bing Li et al.. Evaluation of absolute phase for 3D profile measurement using fringe projection [J]. Chin. Opt. Lett., 2006, 4(6): 320~322
- 7 C. K. Hitzenberger, M. Sticker, R. Leitgeb *et al.*. Differential phase measurements in low-coherence interferometry without 2π ambiguity[J]. *Opt. Lett.*, 2001, **26**(23): 1864~1870
- 8 P.-L. Francois, M. Monerie, C. Vassallo *et al.*. Three ways to implement interferential techniques: application to measurements of chromatic dispersion, birefringence, and nonlinear susceptibilities[J]. *J. Lightwave Technol.*, 1989, 7(3): 500~513
- 9 M. R. Hee, D. Huan, g, E. A. Swanson *et al.*. Polarizationsensitive low-coherence reflectometer for birefringence characterization and ranging [J]. J. Opt. Soc. Am. B, 1992, 9(6): 903~909
- 10 J. F. de Boer, T. E. Milner, M. J. C. Van Gemert *et al.*. Two-dimensional birefringence imaging in biological tissue by polarization-sensitive optical coherence tomography [J]. *Opt. Lett.*, 1997, **22**(12): 934~938
- 11 J. A. Izatt, M. D. Kulkarni, S. Yazdanfar *et al.*. In vivo bidirectional color Doppler flow imaging of picoliter blood volumes using optical coherence tomography [J]. *Opt. Lett.*, 1997, 22(18): 1439~1445
- 12 C. K. Hitzenberger, A. F. Fercher. Differential phase contrast in optical coherence tomography[J]. Opt. Lett., 1999, 24(9): 622~625
- 13 A. Wax, C. Yang, R. R. Dasari *et al.*. Measurement of angular distributions by use of low-coherence interferometry for lightscattering spectroscopy[J]. *Opt. Lett.*, 2001, 26(6): 322~326
- 14 Song Song, Wang Xiangchao, Wang Xuefeng *et al.*. A laser diode interferometer with a feedback control system for real-time micro-vibration measurements [J]. *Chin. J. Lasers*, 2002, 29(5): 402~406
 29.5.1.2.2.402

宋 松,王向朝,王学锋等. 半导体激光微小振动实时反馈式干 涉测量仪[J]. 中国激光, 2002, **29**(5): 402~406

15 C. Yang, A. Wax, M. S. Hahn *et al.*. Phase-referenced interferometer with subwavelength and subhertz sensitivity applied to the study of cell membrane dynamics[J]. *Opt. Lett.*, 2001, **26**(16); 1271~1282