

共焦显微系统中光学超分辨光瞳滤波器的设计

王 美¹ 云茂金¹ 刘立人² 孔伟金¹ 梁 健¹ 刘美玲¹ 夏 峰¹

(¹ 青岛大学物理科学学院, 山东 青岛 266071
² 中国科学院上海光学精密机械研究所信息光学实验室, 上海 201800)

摘要 利用矢量衍射理论设计了适用于共焦显微等大数值孔径系统的三区二元相位型超分辨光瞳滤波器。数值模拟了等效数值孔径为 1.4 的共焦显微系统焦点附近的光强分布, 根据系统所需要的斯特雷尔比和轴向分辨率, 采用优化搜索算法求解了能够实现光学超分辨的三区二元相位型光瞳滤波器结构。结果表明, 利用所设计的三区二元相位型光瞳滤波器可以在较低旁瓣能量的前提下实现共焦显微系统及其它大数值孔径系统的轴向超分辨率。

关键词 共焦显微系统; 光学超分辨; 矢量衍射理论; 相位型光瞳滤波器

中图分类号 O439 文献标识码 A doi: 10.3788/AOS201131.0618001

Design of the Super-Resolution Pupil Filter in the Confocal System

Wang Mei¹ Yun Maojin¹ Liu Liren² Kong Weijin¹ Liang Jian¹ Liu Meiling¹ Xia Feng¹

(¹ College of Physics Science, Qingdao University, Qingdao, Shandong 266071, China
² Shanghai Institute of Optics and Fine Mechanics, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201800, China)

Abstract In order to improve the resolution of confocal scanning microscope system, three-zone annular binary pure phase filter is designed with the vector diffraction theory. When the high numerical aperture focused 1.4, the light intensity distribution near the focus is numerical simulated. Based on the Strehl ratio and axial resolution, the structures of the three-zone annular binary pure phase filter which achieved optical superresolution could obtained with the optimal search algorithm. The simulation results show that axial superresolution and low side-lobes can be realized with the designed three-zone annular binary phase filter in the confocal scanning microscope systems and other high numerical aperture system.

Key words confocal scanning microscope system; optical super-resolution; vector diffraction theory; phase pupil filter

OCIS codes 180.1790; 100.6640; 100.1960; 100.5090

1 引 言

光学超分辨技术在天文学、图像处理、共焦显微系统、光存储和激光打印等中有着广泛的应用^[1~3]。Toraldo di Francia^[4]最先提出了超过阿贝衍射极限的可能性, 之后为实现超分辨设计了不同的光瞳滤波器^[5~9]。普通成像系统中超分辨元件的使用总是伴随着旁瓣能量的升高, 过高的旁瓣能量会导致像的模糊^[10], 为此, 有人提出用共焦显微系统在提高分辨率的同时来抑制旁瓣能量的升高^[11~13]。轴向

分辨率是共焦系统一个重要的性能指标, 它直接反映了共焦系统的层析能力, 因此有必要进行提高共焦系统轴向分辨率的研究。目前用于实现超分辨的光瞳滤波器大部分为振幅型和相位型光瞳滤波器。相对于振幅型光瞳滤波器而言, 相位型光瞳滤波器易利用衍射光学技术进行加工, 并且其能量损失小。但目前大部分相位型光瞳滤波器都是在数值孔径较小的情况下利用标量衍射理论得到的。而共焦显微系统中点扩展函数是照明部分和探测部分点扩展函

收稿日期: 2010-12-07; 收到修改稿日期: 2011-02-28

基金项目: 国家自然科学基金(10904080, 10804060)和瞬态光学与光子技术国家重点实验室开放课题(SKLST201012)资助课题。

作者简介: 王 美(1976—), 女, 实验师, 主要从事光学超分辨和光子晶体等方面的研究。E-mail: zqszwm@sina.com

数的乘积,其中主瓣几乎是普通成像系统的 1/4,透镜的数值孔径越大,轴向旁瓣影响越小^[10],因此共焦系统一般都采用大数值孔径系统。在使用大数值孔径系统时,通光孔径外周附近的折射光会有径向场分量,标量衍射理论不能准确的处理轴向相位及强度变化情况。本文采用 Richards 等^[14]建立的矢量衍射理论设计了可以实现共焦显微系统轴向超分辨的二元相位型光瞳滤波器,并且给出了其设计和数值模拟过程。

2 共焦显微系统焦点区域的场分布

为了利用所设计的超分辨光瞳滤波器实现共焦系统分辨率提高的同时抑制其旁瓣能量,在如图 1 所示的共焦显微系统^[16]的探测光路和照明光路中加入 2 个相同的超分辨光瞳滤波器,图中 S 为光源,BS 为分束镜,M 为反射镜,D 为探测器,SF 为分辨率光瞳滤波器。系统中点光源发出的光分为两束,分别从相反的方向通过透镜聚焦到物体上,其中的一束光也可以通过反射的方式照射到物体上。由物体散射的光分别从两个方向聚集,并且通过同一个透镜聚集到点探测器上。假设 2 个透镜完全相同并且入射光束为相干的线偏振光,由矢量形式的衍射理论可以得出该共焦显微系统的三维强度点扩展函数可以表示为^[17,18]

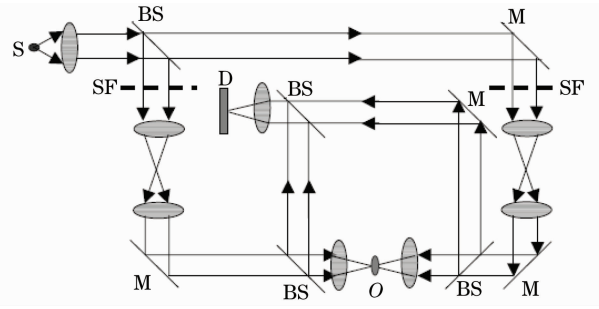


图 1 共焦扫描系统示意图

Fig. 1 Schematic of the confocal scanning system

$$H(u, v, \varphi) = |E^{\text{ill}}(u, v, \varphi) + E^{\text{ill}}(-u, v, \varphi)|^2 \times |E^{\text{det}}(\varepsilon u, \varepsilon v, \varphi) + E^{\text{det}}(-\varepsilon u, \varepsilon v, \varphi)|^2, \quad (1)$$

式中 $\varepsilon = \lambda_{\text{ill}} / \lambda_{\text{det}}$ 为照明波长和探测波长之比, E^{ill} 和 E^{det} 为焦点附近照明光和探测光的电场强度,并且有

$$\begin{cases} E_x(u, v, \varphi) = I_0(u, v) + I_2(u, v) \cos 2\varphi \\ E_y(u, v, \varphi) = I_2(u, v) \sin 2\varphi \\ E_z(u, v, \varphi) = -2iI_1(u, v) \cos \varphi \end{cases}, \quad (2)$$

式中 $u = 4nkz \sin^2(\alpha/2)$ 和 $v = nkr \sin \alpha$ 分别代表轴向和径向坐标; α 为半孔径角, φ 是入射光的偏振方向和观察平面之间的夹角, n 为透镜的材料折射率。 $I_n(u, v)$ ($n = 0, 1, 2$) 是强度对整个透镜孔径角的积分, $I_0(u, v)$ 对应低数值孔径系统, $I_1(u, v)$ 和 $I_2(u, v)$ 是在考虑大数值孔径系统下的精确计算得到的, 分别由(3)式所确定:

$$\begin{cases} I_0(u, v) = \int_0^\alpha A(\theta) \sin \theta (1 + \cos \theta) J_0\left(\frac{v \sin \theta}{\sin \alpha}\right) \exp\left[\frac{i u \cos \theta}{4 \sin^2(\alpha/2)}\right] d\theta \\ I_1(u, v) = \int_0^\alpha A(\theta) \sin^2 \theta J_1\left(\frac{v \sin \theta}{\sin \alpha}\right) \exp\left[\frac{i u \cos \theta}{4 \sin^2(\alpha/2)}\right] d\theta \\ I_2(u, v) = \int_0^\alpha A(\theta) \sin \theta (1 - \cos \theta) J_2\left(\frac{v \sin \theta}{\sin \alpha}\right) \exp\left[\frac{i u \cos \theta}{4 \sin^2(\alpha/2)}\right] d\theta \end{cases}, \quad (3)$$

式中 $A(\theta) = \exp(i\varphi)$ 是所加超分辨光瞳滤波器的空间相位传递函数, φ 是对应 θ 区间的相位。为了分析轴向的点扩展函数,令(1),(2)式中的 $v = 0$,由(3)式可以得出 $I_1(u, 0) = I_2(u, 0) = 0$, 可得共焦显微系统轴向点扩展函数为

$$H(u, 0) = |I_0^{\text{ill}}(u) + I_0^{\text{ill}}(-u)|^2 \times |I_0^{\text{det}}(\varepsilon u) + I_0^{\text{det}}(-\varepsilon u)|^2, \quad (4)$$

式中

3 共焦显微系统中超分辨光瞳滤波器的结构及性能描述

二元相位型环形光瞳滤波器具体结构如图 2 所

$$I_0^{\text{ill}}(u) = \int_0^\alpha A(\theta) \sin \theta (1 + \cos \theta) \exp\left[\frac{i u \cos \theta}{4 \sin^2(\alpha/2)}\right] d\theta. \quad (5)$$

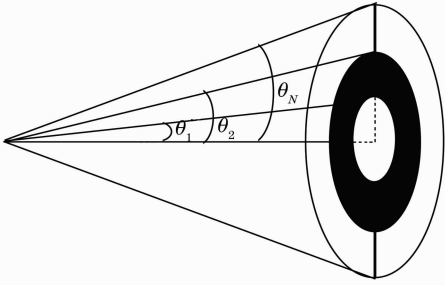


图 2 二元相位环型光瞳滤波器示意图

Fig. 2 Structure of the annular binary phase pupil filter
 示,由不同相位的一系列同心圆环构成,相位透明部分为 0,不透明部分为 π ,阵列 $\theta = [\theta_1, \theta_2, \dots, \theta_{N-1}, \theta_N]$

由每区的角半径所构成,其中 $\theta_N = \alpha$.引入变量 $x = \cos \theta$, (5)式可以改写为

$$I_0^{\text{ill}}(u) = \int_{\cos \alpha}^1 A(x)(1+x) \exp\left[\frac{iux}{4\sin^2(\alpha/2)}\right] dx, \quad (6)$$

式中 $A(x)$ 为

$$A(x) = \exp(i\varphi) = \begin{cases} 1 & 0 < \theta < \theta_1 \\ -1, & \theta_1 < \theta < \theta_2 \\ (-1)^{N-1} & \theta_{N-1} < \theta < \theta_N \end{cases} \quad (7)$$

在二阶近似的条件下上式中的指数项可以表示为

$$\exp\left[\frac{iux}{4\sin^2(\alpha/2)}\right] = 1 + \frac{iux}{4\sin^2(\alpha/2)} - \frac{x^2}{2[4\sin^2(\alpha/2)]^2} u^2 + \dots \quad (8)$$

因为光瞳滤波器只置于照明臂上,与探测臂无关,要实现超分辨率只要调节照明部分的点扩展函数即可,由(5)式可得

$$\begin{aligned} H^{\text{ill}}(u, 0) &= |I_0^{\text{ill}}(u) + I_0^{\text{ill}}(-u)|^2 = 4 \left| \int_{\cos \alpha}^1 A(x)(1+x) \left[1 - \frac{x^2}{32\sin^4(\alpha/2)}\right] dx \right|^2 = \\ &4 \left| \int_1^{\cos \theta_1} (1+x) \left[1 - \frac{x^2}{32\sin^4(\alpha/2)} u^2\right] dx - \int_{\cos \theta_1}^{\cos \theta_2} (1+x) \left[1 - \frac{x^2}{32\sin^4(\alpha/2)} u^2\right] dx + \right. \\ &\left. \int_{\cos \theta_2}^{\cos \theta_3} (1+x) \left[1 - \frac{x^2}{32\sin^4(\alpha/2)} u^2\right] dx + \dots + (-1)^{N-1} \int_{\cos \theta_{N-1}}^{\cos \alpha} (1+x) \left[1 - \frac{x^2}{32\sin^4(\alpha/2)} u^2\right] dx \right|^2, \quad (9) \end{aligned}$$

如果令

$$\begin{cases} a = -1 + (-1)^{N-1} \cos \alpha + 2 \sum_{i=1}^{N-1} (-1)^{i-1} \cos \theta_i + \frac{1}{2} \left[-1 + (-1)^{N-1} \cos^2 \alpha + 2 \sum_{i=1}^{N-1} (-1)^{i-1} \cos^2 \theta_i \right] \\ b = -1 + (-1)^{N-1} \cos^3 \alpha + 2 \sum_{i=1}^{N-1} (-1)^{i-1} \cos^3 \theta_i \\ c = -1 + (-1)^{N-1} \cos^2 \alpha + 2 \sum_{i=1}^{N-1} (-1)^{i-1} \cos^2 \theta_i \end{cases}, \quad (10)$$

(9)式可以改写为

$$\begin{aligned} H^{\text{ill}}(u, 0) &= 4 \left| a - \frac{u^2}{32\sin^4(\alpha/2)} \left(\frac{b}{3} + \frac{c}{4} \right) \right|^2 = \\ &4a^2 - \frac{u^2}{4\sin^4(\alpha/2)} \left(\frac{b}{3} + \frac{c}{4} \right) + O(u^4), \quad (11) \end{aligned}$$

式中 $O(u^4)$ 代表级次高于 u^2 的所有高次项,因为在该系统中同时用了 2 个相同的滤波器,所以点扩展函数的展开式中没有幂级数为奇数的项。而能量主要集中在主瓣和第一、第二旁瓣之中,所以可忽略展开式中高次项,只保留(11)式中的前两项。假设不加光瞳滤波器时与 a, b, c 相对应的参数为 $a_0, b_0,$

c_0 , 定义斯特雷尔比为有光瞳滤波器和无光瞳滤波器时系统的中心强度之比,则其表达式为^[15]

$$S = \frac{H_a^{\text{ill}}(0, 0)}{H_{a_0}^{\text{ill}}(0, 0)} = \frac{a^2}{a_0^2}, \quad (12)$$

若将有光瞳滤波器和无光瞳滤波器时系统的第一零点坐标值之比定义为轴向超分辨率因子 G_A , 根据(11)式可知

$$\begin{cases} 4a^2 - \frac{u^2}{4\sin^4(\alpha/2)} \left(\frac{b}{3} + \frac{c}{4} \right) = 0 \\ 4a_0^2 - \frac{u_0^2}{4\sin^4(\alpha/2)} \left(\frac{b_0}{3} + \frac{c_0}{4} \right) = 0 \end{cases},$$

可得

$$G_A^2 = \frac{u^2}{u_0^2} = \frac{a^2}{a_0^2} \left(\frac{4b_0 + 3c_0}{4b + 3c} \right), \quad (13)$$

共焦显微系统照明臂上不放置任何光瞳滤波器时,系统的轴向超分辨因子 $G_A = 1$ 。当加上光瞳滤波器后如果 $G_A < 1$ 即可实现轴向超分辨。利用共焦显微系统最主要的目的就是实现超分辨的同时来抑制旁瓣能量,因此除了以上描述超分辨性能的主要参数 S 和 G_A 之外,还有另外一个描述该滤波器超分辨性能的重要参数为旁瓣影响因子 M , M 是第一旁瓣的能量与中心能量的比值。与前面 2 个参数所不同的是旁瓣影响因子 M 没有一个近似的表达式。

如果给定二元相位型环形光瞳滤波器各区的角半径以及系统的孔径角,就可以得出 S 和 G_A 的值。但通常情况下,给定的是描述系统三维强度分布情况的参数 S 和 G_A ,因此要得到这些参数所描述的强度分布后,以此来设计所需的超分辨光瞳滤波器。为了简单描述该设计过程,以图 2 中 $N=3$ 得到的三区二元相位型光瞳滤波器为例来进行详细的说明。主要是设计该滤波器的 2 个主要参数:第一个参数为第一区和第二区的角半径 θ_1 和 θ_2 ,第二个参数为第三区的角半径即系统的半孔径角 α ,其相位透射率分别为 $\pi, 0, \pi$ 。假设共焦显微系统的主要参数为入射波长 $\lambda_m = 350 \text{ nm}$,系统半孔径角 $\alpha = 67.5^\circ$,折射率 $n = 1.518$,且入射波长与探测波长之间的比值 $\epsilon = 0.8$ 。根据给定的参数 S 和 G_A 数值,利用全局优化搜索算法即可求得满足条件的解。搜索过程先根据(11)式数值计算出焦点附近的光强分布,计算时取 θ_1 和 θ_2 的步长间隔为 0.01π ,然后根据焦点附近的光强分布以及(12),(13)式搜索实现光学超分辨的二元环形相位型光瞳滤波器。

假设给定共焦显微系统的超分辨参数 $S \geq 0.5, G_A \leq 0.8$ 和 $M \leq 0.15$,搜索结果表明当 $\theta_1 = 42.9^\circ, \theta_2 = 54.8^\circ$ 时, $S = 0.81, G_A = 0.76, M = 0.11$ 。图 3 给出了不同的角半径对应的系统轴向归一化强度的分布与不加光瞳滤波器时的对比情况。

图 3 也反映了系统的斯特雷尔比和轴向超分辨因子分别为 $S \geq 0.5, 0.6, 0.7, G_A \leq 0.8, 0.85, 0.9$ 和 $M \leq 0.18$ 所设计的三区二元相位型光瞳滤波器的轴向强度的分布情况。搜索结果表明当 $\theta_1 = 42.9^\circ, \theta_2 = 54.8^\circ$ 时, $S = 0.81, G_A = 0.76, M = 0.11$; $\theta_1 = 43.5^\circ, \theta_2 = 55.2^\circ$ 时, $S = 0.65, G_A = 0.8, M = 0.12$; $\theta_1 = 39.4^\circ, \theta_2 = 56.5^\circ$ 时, $S = 0.52, G_A = 0.85, M = 0.17$ 。可以看出系统的斯特雷尔比越低,旁瓣

影响因子越高,这说明实现超分辨的同时主瓣能量在一定程度上被衍射到旁瓣中。可见所设计的二元相位型光瞳滤波器在共焦显微系统中可以实现轴向超分辨,并且系统的旁瓣能量比较低。分析结果表明,在共焦显微系统中通过利用设计的三区二元相位型光瞳滤波器可以在旁瓣能量较低的前提下实现系统的轴向超分辨。

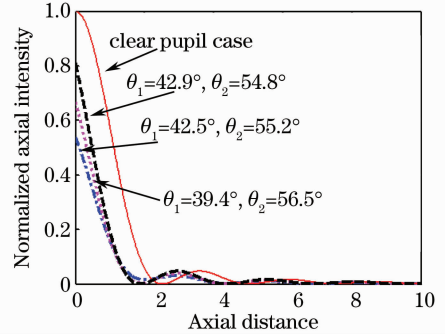


图 3 角半径不同的光瞳滤波器与不加光瞳滤波器时轴向强度的分布对比情况

Fig. 3 Axial intensity distribution comparison of the confocal system between the filters with different angle radius and clear pupil

4 结 论

利用矢量衍射理论模拟了三区二元相位型光瞳滤波器实现共焦显微系统光学超分辨的技术。数值模拟了等效数值孔径为 1.4 时的焦点附近的轴向强度分布,根据系统所需要的斯特雷尔比和轴向分辨率,利用优化搜索算法求解了能够实现光学超分辨的三区二元相位型光瞳滤波器结构。结果表明,利用所设计的三区二元相位型光瞳滤波器可以在较低旁瓣能量的前提下实现共焦显微系统的轴向超分辨。另外该光瞳滤波器也可适用于其它大数值孔径系统的光学分辨率的提高。

参 考 文 献

- 1 Daniel M. de Juana, Jose E. Oti, Vidal F. Canales *et al.*. Transverse or axial superresolution in a 4Pi-confocal microscope by phase only filters [J]. *J. Opt. Soc. Am. A*, 2003, **20**(11): 2172~2178
- 2 T. R. M. Sales, G. M. Morris. Superresolution elements for high-density optical storage [J]. *Joint International Symposium on Optical Memory and Optical Storage*, 1996, (12): 290~292
- 3 J. Jia, C. Zhou, L. Liu. Superresolution technology for small diffraction spot size in the far field [C]. *SPIE*, 2002, **4825**: 131~138
- 4 G. Toraldo di Francia. Super-gain antennas and optical resolving power [J]. *Nuovo Cimento Suppl.*, 1952, **9**(3): 426~435
- 5 Z. S. Hegedus, V. Sarafis. Superresolving filters in confocally scanned imaging systems [J]. *J. Opt. Soc. Am. A*, 1986,

- 3(11): 1892~1896
- 6 M. Martinez-Corral, P. Andres, J. Ojeda-Castaneda *et al.*. Tunable axial superresolution by annular binary filters [J]. *Opt. Commun.*, 1995, **119**(5-6): 491~498
- 7 Yun Maojin, Liu Liren, Sun Jianfeng *et al.*. Research on superresolution of radial birefringent filter [J]. *Acta Optica Sinica*, 2005, **25**(1): 131~135
云茂金, 刘立人, 孙建锋等. 径向双折射滤波器的超分辨性能研究[J]. *光学学报*, 2005, **25**(1): 131~135
- 8 Wang Jiming, Liu Liren, Yun Maojin *et al.*. Transverse superresolution and axial extended focal depth with electrically controlled radial birefringent filter [J]. *Acta Optica Sinica*, 2006, **26**(6): 903~908
王吉明, 刘立人, 云茂金等. 电控径向双折射滤波器的横向超分辨与轴向扩展焦深 [J]. *光学学报*, 2006, **26**(6): 903~908
- 9 He Yi, Zhang Yudong, Li Guojun *et al.*. Axial super resolution effects of super Gaussian phase filters [J]. *Acta Optica Sinica*, 2010, **30**(9): 2568~2572
何毅, 张雨东, 李国俊等. 超高斯相位型光瞳滤波器轴向超分辨性能 [J]. *光学学报*, 2010, **30**(9): 2568~2572
- 10 M. Martinez-Corral, M. T. Caballero, P. Andres. Sidelobe decline in single-photon 4Pi microscopy by Toraldo rings [J]. *Micron*, 2003, **34**(6-7): 319
- 11 Hell, E. H. K Stelzer. Fundamental improvement of resolution with a 4Pi-confocal fluorescence microscope using two photo excitation [J]. *Opt. Commun.*, 1992, **93**(5-6): 277
- 12 Deng xiaoqiang, Wang guiying, Xu Zhizhan. Pupil filters improving axial resolution [J]. *Acta Optica Sinica*, 2000, **20**(7): 968~972
邓小强, 王桂英, 徐至展. 改善轴向分辨率的光瞳滤波器 [J]. *光学学报*, 2000, **20**(7): 968~972
- 13 G. Boyer. New class of axial apodizing filters for confocal scanning microscopy [J]. *J. Opt. Soc. Am. A*, 2002, **19**(3): 584~589
- 14 B. Richards. Diffraction in Systems of High Relative Aperture [M]. *Astronomical Optics and Related Subject*, North-Holland, Amsterdam, 1955. 352~359
- 15 D. M. de Juana, J. E. Oti, V. F. Canales *et al.*. Transverse or axial superresolution in a 4Pi confocal microscope by phase only filters [J]. *J. Opt. Soc. Am. A*, 2003, **20**(11): 2172~2178
- 16 S. Hell, E. H. K Stelzer. Properties of a 4Pi confocal fluorescence microscope [J]. *J. Opt. Soc. Am. A*, 1992, **9**(12): 2159
- 17 Gu, C. J. R. Sheppard. Three-dimensional transfer functions on 4Pi confocal microscopes [J]. *J. Opt. Soc. Am. A*, 1994, **11**(5): 1619~1627
- 18 C. J. R. Sheppard, M. Gu, Y. Kawata *et al.*. Three-dimensional transfer functions for high-aperture systems [J]. *J. Opt. Soc. Am. A*, 1994, **11**(2): 593~594