

基于传统显微系统的波前编码显微系统设计研究

刘钦晓¹ 余飞鸿²

(¹ 重庆理工大学光电信息学院, 重庆 400054
² 浙江大学光电信息工程学系, 浙江 杭州 310027)

摘要 波前编码系统是一种新型的光学数字混合成像系统。利用光阑处放置优化设计的三次相位板对波前的调制作用, 可以实现在像面附近相当范围内系统的点扩展函数一致; 进一步通过数字图像去卷积算法可以得到相当景深范围内清晰的成像, 从而实现景深延拓。根据传统显微系统的特点, 提出了一种基于传统显微物镜系统的波前编码显微系统设计思路, 设计并加工了一套 $10\times, 40\times$ 波前编码显微成像系统。基于传统显微系统的波前编码显微系统可以有效地延拓传统显微物镜系统的景深, 提高系统的成像质量。

关键词 成像系统; 波前编码; 显微镜; 景深; 去卷积

中图分类号 O435.2; O439 **文献标识码** A **doi**: 10.3788/AOS201434.0322004

Design and Research of Wavefront Coding Microscope System Based on Traditional Microscope System

Liu Qinxiao¹ Yu Feihong²

(¹ School of Optoelectronic Information, Chongqing University of Technology, Chongqing 400054, China)
(² Department of Optical Engineering, Zhejiang University, Hangzhou, Zhejiang 310027, China)

Abstract Wavefront coding is a new imaging system based on optical digital mixed technology. By using the modulating action of the cubic phase mask on the stop, the point spread functions (PSFs) of the system in a certain scope nearby the image surface will be the same; then the sharp image will be acquired by using the image deconvolution algorithm in a certain depth range of the field of the system to extend the depth of field. A novel design method of wavefront coding microscope on the basis of the traditional microscope is proposed. The $10\times, 40\times$ wavefront coding microscope system is designed and manufactured. The wavefront coding microscope system based on the traditional microscope system can extend the depth of field and improve the imaging quality effectively.

Key words imaging systems; wavefront coding; microscope; depth of field; deconvolution

OCIS codes 100.1830; 110.0180

1 引 言

波前编码(WFC)系统^[1-3]的设计思路是在出瞳面上引入一个附加的相位函数,使其抵消离焦对系统的点扩展函数(PSF)或光学传递函数的影响,从而使得点扩展函数或光学传递函数在较大的景深范围内保持一致。为了能结合实际系统的研究,目前效果最好的是基于 Fisher 信息量的波前编码系统优化评价标准^[4-6]。

在该方法中,由于加入了三次相位板,使得系统

中引入了额外的像差,从而导致系统的成像性能降低,在成像探测器上得到的是一个经过编码的中间模糊像,只要该模糊像在相当的景深范围内模糊程度一致,并且系统的点扩展函数尺寸比较适当,就可认定这是一个合格的波前编码系统。

显微镜^[7]是用以提高人们获得微小细节信息能力的光学仪器,由物镜和目镜组成,被观察物体在目镜的前焦面上成一放大的实像,然后通过目镜成像在目镜物方无限远处供人眼观察,或者通过电子目

收稿日期: 2013-07-15; **收到修改稿日期**: 2013-10-28

作者简介: 刘钦晓(1981—),男,博士,讲师,主要从事光学系统设计、图像处理、算法设计等方面的研究。

E-mail: liuqinxiao@cqut.edu.cn

本文电子版彩色效果请详见中国光学期刊网 www.opticsjournal.net

镜成像在光电探测器上在显示终端上输出。显微物镜是整个显微成像系统最重要的部件,系统的视放大率、衍射分辨率和成像质量主要取决于物镜的数值孔径以及它的像差校正。显微成像系统属于短焦距、大孔径、小视场系统,设计时一般通过放大率、数值孔径和线视场来体现显微成像系统的光学特性。如果光学系统的焦距 f' 短,孔径 D 大,那么系统的相对孔径 D/f' 就大,根据相对孔径和景深的关系,可以知道显微系统的景深通常来说很小。为了获取微观物体更多的信息,尤其是观测有一定景深的切片时,希望成像系统具有较大的景深,一次观测时可以获取物体更多的信息。

2002年,Olympus公司和CDMOptics合作并开发出DeepView显微镜。国内目前对于波前编码技术的研究集中在选用新的评价函数来评价系统的离焦不敏感性,从而进行波前编码系统的优化设计,或是寻找新的相位板,如多项式形式、指数形式相位

板。本文利用波前编码的理论来对传统显微成像物镜进行扩展研究,在不改变现有显微系统结构的基础上,只在物镜的光瞳面上引入一块相位板,从而将普通的显微成像系统转变为波前编码显微成像系统,使得系统的景深得到可观的提高。在这种思路下,对国产传统显微成像系统的 $10\times$ 和 $40\times$ 物镜做了研究,并成功设计波前编码显微物镜,得到了很好的景深扩展的效果,并改善了成像质量。

2 设计思路

2.1 $10\times, 40\times$ 传统显微物镜系统参数

$10\times$ 普通显微物镜的放大率为10,数值孔径为0.25,物像共轭距为195 mm,国产 $10\times$ 显微物镜基本结构数据由表1给出。

$40\times$ 普通显微物镜的放大率为40,数值孔径为0.65,物像共轭距为195 mm,其基本光学结构的数据如表2所示。

表1 $10\times$ 普通显微物镜参数

Table 1 Parameters of the $10\times$ traditional micro objective

Surface name	Radius /mm	Thickness /mm	Refractive index	Abbe number	Aperture /mm	Glass
1	Stop				8.66	
2	17.865	0.10			8.66	
3	-10.864	2.80	1.5647	55.92	8.60	BAK3
4	-31.840	1.50	1.6990	30.07	8.56	ZF11
5	5.861	19.10			4.24	
6	17.989	3.36	1.5890	48.66	3.04	BAF6

表2 $40\times$ 普通显微物镜参数

Table 2 Parameters of the $40\times$ traditional micro objective

Surface name	Radius /mm	Thickness /mm	Refractive index	Abbe number	Aperture /mm	Glass
1	Stop				6	
2	11.040	0.10			6	
3	-6.982	2.48	1.5264	60.16	5.69	K11
4	-20.420	1.27	1.7552	27.52	5.62	ZF6
5	4.966	1.31			5.16	
6	-6.053	2.74	1.5154	54.48	4.33	KF2
7	∞	1.05	1.7552	27.52	3.86	ZF6
8	2.39	1.15			2.92	
9	∞	1.92	1.6141	40.03	1.64	BAF7
10	∞	0.6243			0.50	
11	∞	0.14	1.5163	64.12	0.43	K9

图1为上述 $10\times, 40\times$ 普通显微物镜的光学结构图,其中 $10\times$ 物镜是由一组双胶合加一片透镜构成的, $40\times$ 物镜是由两组双胶合加一片透镜构成的。

图2为该 $10\times, 40\times$ 系统成像的调制传递函数(MTF)特性图,从图中可以看出, $10\times$ 系统的成像

性能比较差,主视场和外视场的调制传递函数值都不高, $40\times$ 普通显微物镜的成像性能也比较差,主视场和外视场的调制传递函数值都不高,轴外视场的成像性能更差。从实际的成像结果中也发现,只有中心视场内比较清晰,外视场都比较模糊。

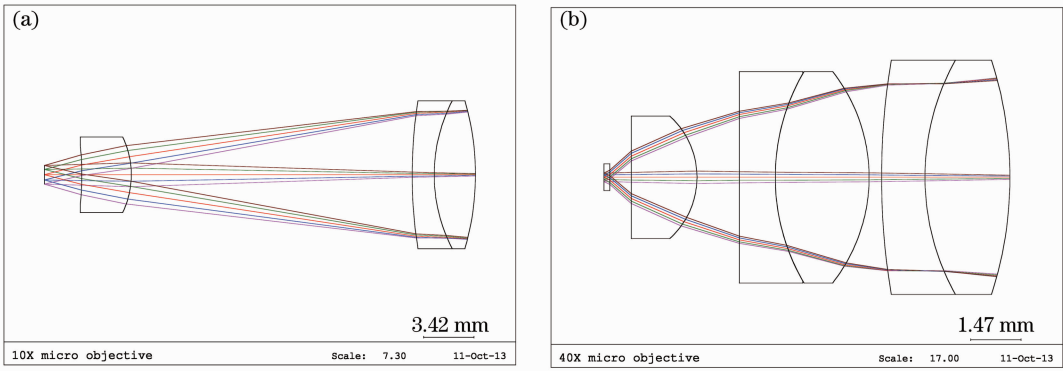


图 1 普通显微物镜光学结构图。(a) 10×；(b) 40×

Fig.1 Optical structures of the traditional micro objectives. (a) 10×；(b) 40×

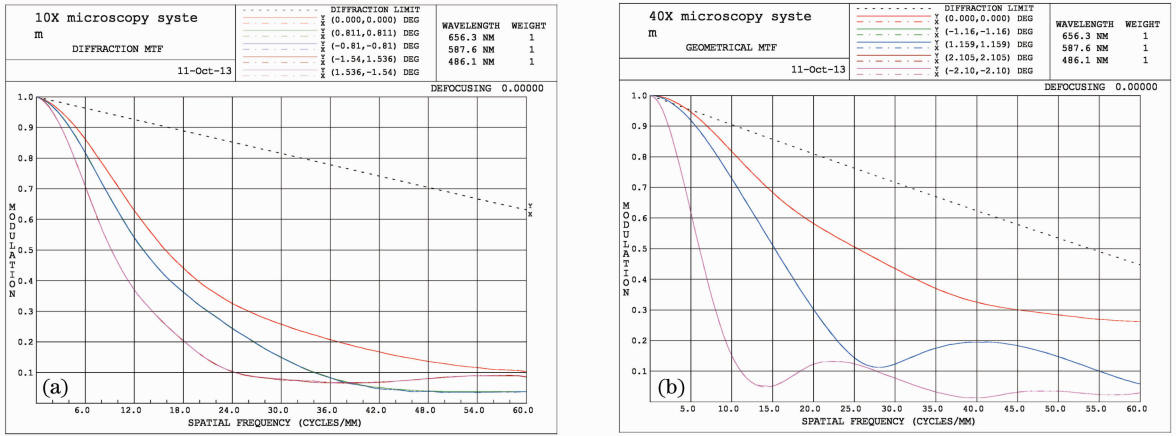


图 2 普通显微物镜调制传递函数图。(a) 10×；(b) 40×

Fig.2 MTFs of the traditional micro objectives. (a) 10×；(b) 40×

2.2 10×, 40× 波前编码显微系统设计

波前编码技术的原理是在光学系统的光阑面上引入一块三次相位板,通过引入一个大的像差来实现整个系统的离焦不敏感。从上面给出的传统显微物镜的光束结构上可以发现,在物镜的光阑面光束的角度很小。在此处加入一块优化设计的相位板对普通显微物镜进行相位调制,构建一个波前编码显微物镜。整个系统的设计目标如下:

- 1) 引入一块优化设计相位板使其能同时用于 10×、40× 传统显微物镜;
- 2) 尽可能保证两个系统在引入相位板后,各自在全视场内的成像性能保持一致,这样在图像解码后可以得到一幅质量较好的显微图像;
- 3) 尽可能保证两个系统在引入相位板后,在相当景深范围内的成像性能保持一致,起到波前编码景深延拓的作用。

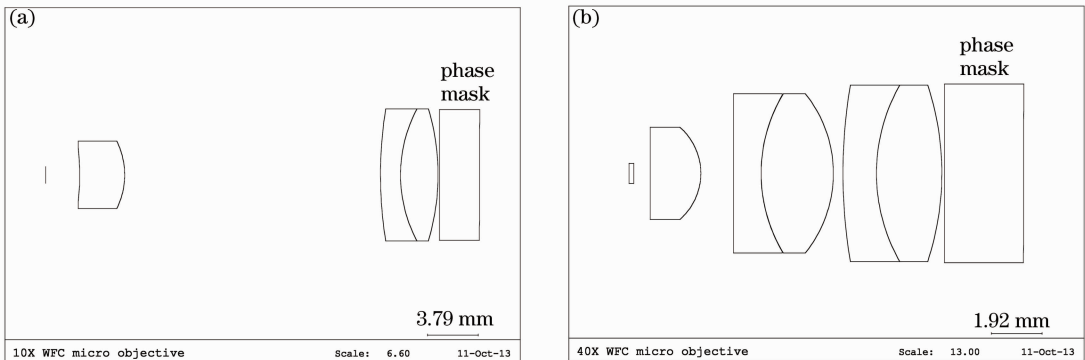


图 3 引入相位板后的波前编码显微物镜光学结构图。(a) 10×；(b) 40×

Fig.3 Optical structures of the wavefront coding micro objectives with a phase mask. (a) 10×；(b) 40×

图 3 为引入一块相位板后得到的基于 10× 和 40× 显微物镜的波前编码显微物镜光学结构图, 图 3(a)、(b) 的相位板的参数一致。通过优化设计^[4] 得到了该相位板的面积为 $z=0.0002 \times (x^3 + y^3)$ 。

2.3 10×, 40× 波前编码物镜光学性能

10× 和 40× 波前编码显微物镜的调制传递函数如图 4 所示, 尽管引入了比较大的像差的三次相

位板, 但是由于普通的显微物镜本身的性能比较差, 只有在低频时波前编码显微物镜的调制传递函数才能保持一致, 高频时仍然重合得不是很好。表 3 中给出两个系统的点扩展函数来表征系统成像特性, 两个显微成像系统的中心视场的点扩展函数都变成了一个直角形状, 随着视场的增大, 点扩展函数会略有扩展变形。

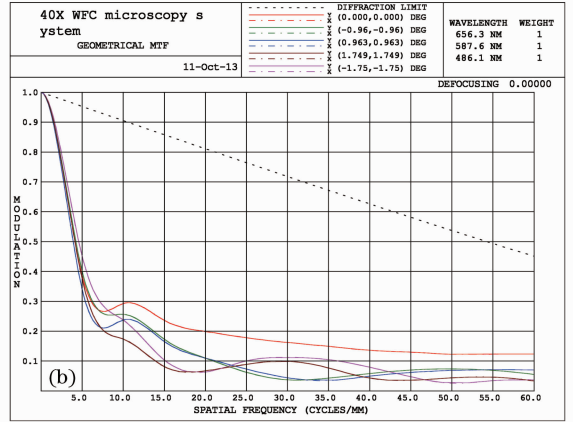
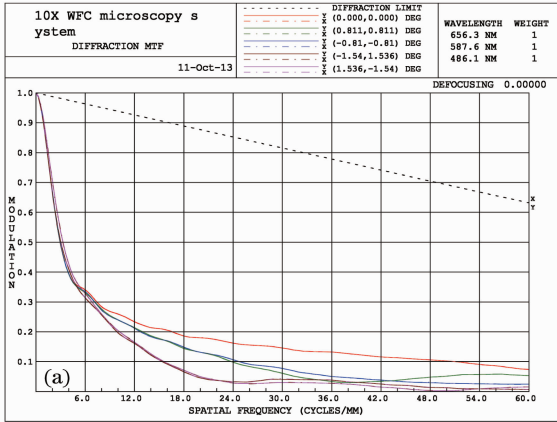
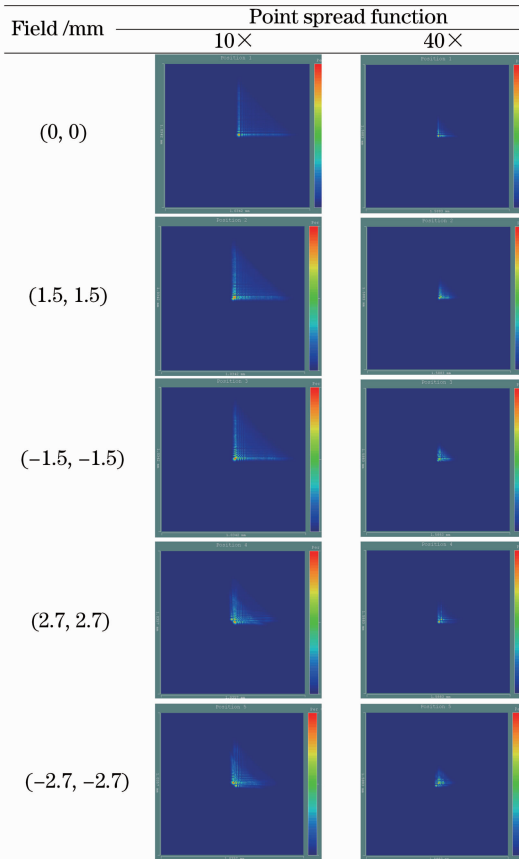


图 4 波前编码显微物镜的调制传递函数图。(a) 10×; (b) 40×

Fig. 4 MTFs of the wavefront coding micro objectives. (a) 10×; (b) 40×

表 3 10×, 40× 波前编码显微物镜点扩展函数

Table 3 PSFs of the 10×, 40× wavefront coding microscope systems



3 实验结果

3.1 星点板实验获取

波前编码系统最终复原图像的好坏, 和能否准确获取系统的点扩展函数有直接关系, 通常对于理论模拟, 可以直接从光学系统设计软件中读取系统的点扩展函数。对于实际的系统, 由于镜片加工、安装存在误差, 所以实际的点扩展函数和其设计值存在差别。需要通过实验拍摄点光源经过成像系统后在像面上的像, 来获取系统的点扩展函数, 这样得到的数据更准确, 经过算法复原的结果更有效。

图 5 为实际的波前编码显微物镜的点扩展函数的拍摄原理图, 将星点板放在显微镜的载物台上固定, 调节焦距, 使得系统对星点板准确对焦, 通过调节星点板上的位置寻找合适的亮点, 使其成像在 CCD 上, 此时认为拍摄到处于物面上的星点板上的点的像, 当该点足够小时, 在探测器上得到的像就是波前编码系统的点扩展函数。实际拍摄中选用 Sony 公司生产的 ICX285AL 型号彩色 CCD, 其尺寸为 1/3 inch (1 inch = 2.54 cm), 最大分辨率为 70 line/mm。相位板固定在一个套件上, 具体的安装方式如下: 将相位板的平面胶合在隔圈套件的内部, 然后再将光阑胶合在隔圈套件上, 最后将整个套件旋入普通显微物镜的镜筒内合适的位置, 这样就将普通显微物镜改变成了波前编码显微物镜。

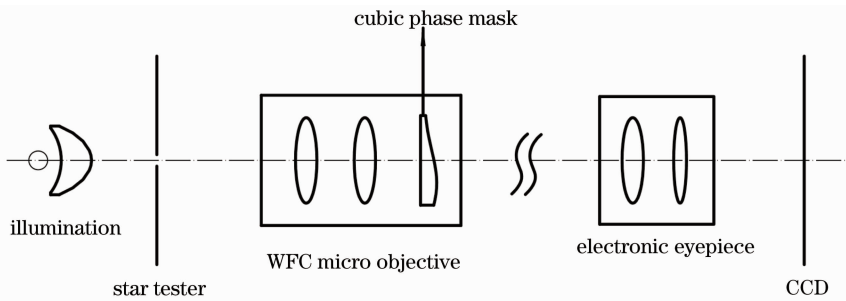


图 5 波前编码显微系统点扩展函数测量原理图

Fig. 5 Schematic diagram of the PSF measurement of the wavefront coding microscope system

图 6(a)为相位板的安装固定原理图,图 6(b)为相位板安装套件的实物图。

图 7 为 10×和 40×波前显微成像系统实际拍摄得到的点扩展函数图像,和光学设计软件模拟得

到的情况相似,两个系统的点扩展函数都变成了直角三角形的形状,相位的加工和安装基本满足要求,设计中的目标基本能够实现。

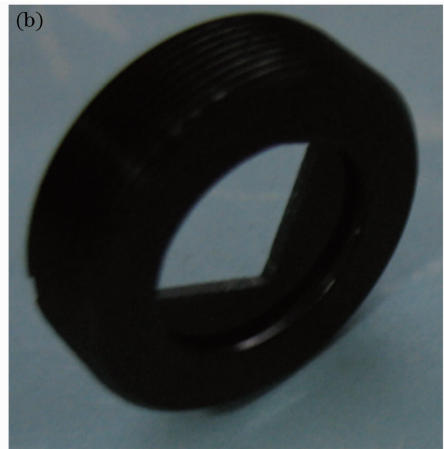
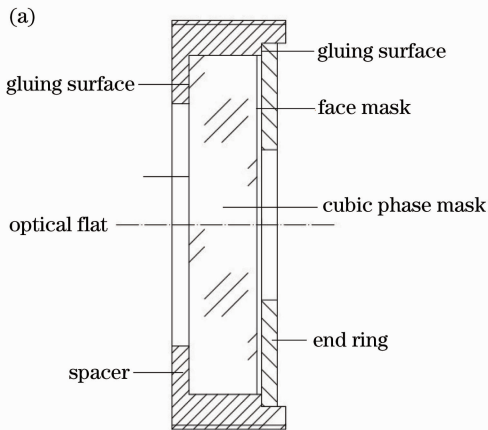


图 6 (a)相位板安装固定原理及(b)实物图

Fig. 6 (a) Schematic diagram of the phase mask installation and (b) real objective

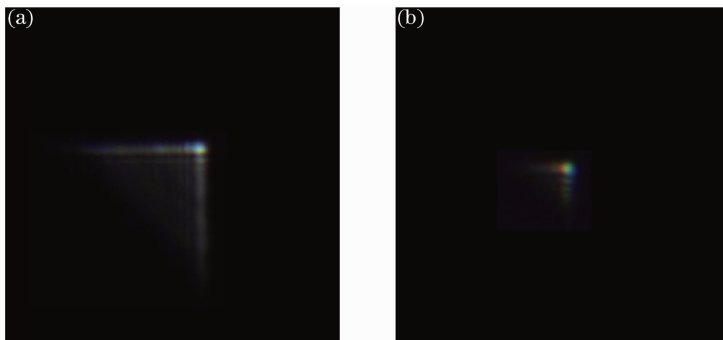


图 7 波前编码显微成像系统实际点扩展函数。(a) 10×; (b) 40×

Fig. 7 PSFs of the real wavefront coding microscope systems. (a) 10×; (b) 40×

3.2 10×普通和波前编码显微成像系统的成像结果对比

3.2.1 10×传统显微成像物镜的成像结果

图 8 为传统的 10×显微成像系统的成像结果,物体为细胞切片,图 8(a)~(c)分别给出焦面前 0.05 mm、焦面上和焦面后 0.05 mm 的成像结果。

从图 8(b)可以看到,对焦位置上,轴上视场成像比较好,但由于物镜的光学性能比较差,边缘的图像比较模糊;从图 8(a)、(c)可以看到,10×显微物镜的焦深是比较小的,离焦 0.05 mm 后,得到的图像已经不能分辨出图中的细节了。

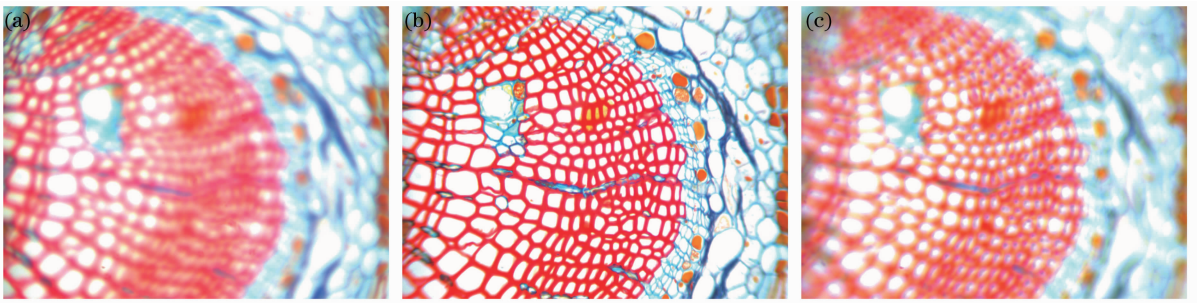


图 8 10×普通显微系统成像结果。(a)焦前 0.05 mm；(b)焦面；(c)焦后 0.05 mm

Fig. 8 Results of the traditional 10× microscope system. (a) 0.05 mm before focal plane; (b) at focal plane; (c) 0.05 mm after focal plane

3.2.2 10×波前编码显微成像系统成像结果

表 4 给出了在传统显微系统上改进设计得到的 10×波前编码显微成像系统的成像结果,表中第二列给出了焦深为 $-0.25\sim 0.25$ mm 的中间模糊图像,从表中可以看到,在 0.5 mm 的景深范围内,所

成的中间模糊图像的模糊程度基本一致,单从每一幅图上看,也可以发现,由于三次相位板的调制作用,整幅图片的模糊程度也基本一致,可以通过解码复原在较大的景深内得到一系列同样清晰的最终输出像。

表 4 10×波前编码显微成像系统成像结果

Table 4 Imaging results of the 10× wavefront coding microscope system

Defocus amount /mm	Middle blurred image	Restored image
-0.25		
0		
0.25		

采用空间域迭代算法^[8],即结合反镜像边界的广义极小残差图像复原算法进行图像解码恢复,最终的复原图像在表 4 的第三列中给出。算法选取了 5 个正交基,2 次迭代,从复原的结果可以看到,在 0.5 mm 的景深范围内,得到的最终图像一样清晰,图像的细节大部分被保留了下来,对于每一幅图像,其中心和边缘同样清晰。波前编码系统不仅能够有效地延拓光学成像系统的景深,而且可以校正传统

成像系统无法校正的一些轴外的像差,使得系统的成像质量得到提升,一次拍摄获取的信息量更多。

3.3 40×普通和波前编码显微成像系统的成像结果对比

3.3.1 40×传统显微成像物镜的成像结果

图 9 为普通的 40×显微成像系统的成像结果,图 9(a)~(c)分别给出焦面前 0.05 mm、焦面上和焦面后 0.05 mm 的成像结果。同样地,从图 9(a)、

(c)可以看到,40×显微物镜的焦深是比较小的,离像的细节很难分辨出来。焦0.05 mm后,得到的图像已经变得很模糊了,图

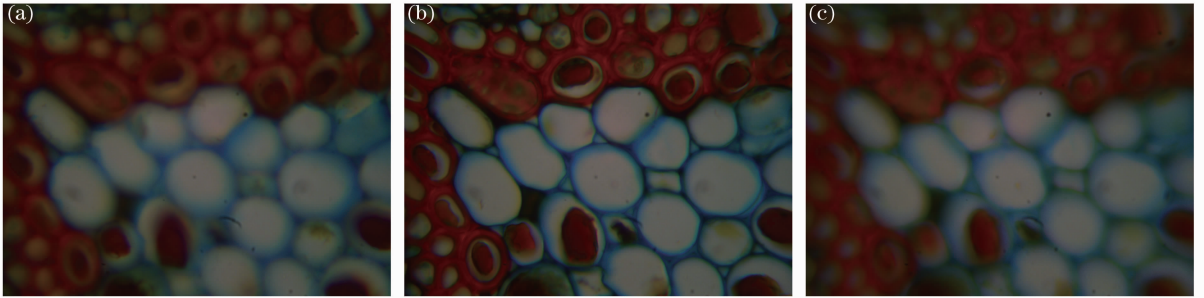


图9 40×普通显微系统成像结果。(a)焦前0.05 mm; (b)焦面; (c)焦后0.05 mm

Fig.9 Results of the traditional 40× microscope system. (a) 0.05 mm before focal plane; (b) at focal plane; (c) 0.05 mm after focal plane

3.3.2 40×波前编码显微成像系统成像结果

表5给出了在传统显微系统上,改进设计得到的40×波前编码显微成像系统的成像结果,表中第二列给出了焦深为-0.05~0.05 mm的中间模糊图像,最终的复原图像在表5的第三列中给出。从

复原的结果中可以看到,在0.1 mm的景深内,得到的最终图像清晰度保持一致,图像的细节大部分被保留了下来。结果证明复原算法对于在传统显微系统上改进得到的10×、40×波前编码显微成像系统的有效性。

表5 改进的40×波前编码显微成像系统成像结果

Table 5 Imaging results of the improved 40× wavefront coding microscope system

Defocus amount /mm	Middle blurred image	Restored image
-0.05		
0		
0.05		

4 结 论

针对传统的普通显微成像系统的特点,设计加工了同时适用于10×和40×显微物镜的三次相位板,开发出了波前编码显微成像系统,通过在普通显微物镜的光瞳面上引入一块优化设计的相位板,系

统的像差得到调制,使得其传递函数和点扩展函数对于景深不敏感,利用该像差的调制还使得系统的成像能力对视场不敏感,通过解码复原后,得到的图像不仅具有较大的景深,而且整个幅面的成像能力得到提升。利用空间域迭代复原算法,对10×和

40×的波前编码显微成像实验得到的中间图像进行复原,得到了很好的结果,证明了在普通国产显微镜上构建波前编码系统的可行性和有效性。

参 考 文 献

- 1 E R Dowski, Jr, W T Cathey. Extended depth of field through wavefront coding [J]. *Appl Opt*, 1995, 34(11): 1859–1866.
- 2 Zhang Rongfu, Wang Tao, Pan Chao, *et al.*. Extension characteristics of the depth of field for wavefront coding system [J]. *Acta Physica Sinica*, 2011, 60(11): 114204.
张荣福, 王涛, 潘超, 等. 波前编码系统景深延拓性能研究 [J]. *物理学报*, 2011, 60(11): 114204.
- 3 Zhao Tingyu, Liu Qinxiao, Yu Feihong. The point spread function analysis in a wavefront coding system based on stationary phase method [J]. *Acta Physica Sinica*, 2012, 61(7): 074207.
赵廷玉, 刘钦晓, 余飞鸿. 波前编码系统的点扩散函数稳相法分析 [J]. *物理学报*, 2012, 61(7): 074207.
- 4 Qinxiao Liu, Tingyu Zhao, Yanping Chen, *et al.*. Pupil design based on Fisher information optimization to extend field depth in practical optical system [J]. *Chin Opt Lett*, 2010, 8(2): 159–161.
- 5 Wenzhi Zhang, Yanping Chen, Tingyu Zhao, *et al.*. Simple Strehl ratio based method for pupil phase mask's optimization in wavefront coding system [J]. *Chin Opt Lett*, 2006, 4(9): 515–517.
- 6 Zhao Tingyu, Zhang Wenzhi, Ye Zi, *et al.*. Design of wavefront coding system based on evaluation function of Fisher information [J]. *Acta Optica Sinica*, 2007, 27(6): 1096–1101.
赵廷玉, 张文字, 叶子, 等. 应用费希尔信息量评价函数的波前编码系统设计 [J]. *光学学报*, 2007, 27(6): 1096–1101.
- 7 Zhang Yimo. *Applied Optics (3rd Edition)* [M]. Beijing: Publishing House of Electronics Industry, 2008. 394–405.
张以谟. *应用光学(第3版)* [M]. 北京: 电子工业出版社, 2008. 394–405.
- 8 Liu Qinxiao, Zhao Tingyu, Zhang Wenzhi, *et al.*. Iteration algorithm for color image restoration of wavefront coding system with cubic phase mask [J]. *Acta Optica Sinica*, 2009, 29(10): 2738–2743.
刘钦晓, 赵廷玉, 张文字, 等. 三次相位板波前编码系统彩色图像恢复的迭代算法研究 [J]. *光学学报*, 2009, 29(10): 2738–2743.

栏目编辑: 史敏