

光场显微成像微尺度流场三维重建方法研究

宋祥磊¹, 李舒², 顾梦涛¹, 张彪¹, 许传龙^{1*}

¹东南大学能源与环境学院能源热转换及其过程测控教育部重点实验室, 江苏 南京 210096;

²南京市计量监督检测院科技发展部, 江苏 南京 210037

摘要 现有三维显微粒子图像测速系统在获取示踪粒子空间位置时需要扫描或多视角成像, 导致系统复杂, 无法实现微尺度流动瞬态三维速度场测量等问题, 为此, 提出一种基于微透镜阵列的光场显微粒子图像测速技术。该技术利用单个相机一次曝光即可获取微流场中示踪粒子的瞬时光场信息, 进一步结合基于波动光学理论的光场显微成像的点扩展函数模型, 用反卷积算法重建出微尺度流场中示踪粒子的瞬时空间位置分布。分析讨论了重建分辨率和空间位置误差, 并开展了微尺度流场重建实验研究, 验证了光场显微成像微尺度流场重建方法的可行性。

关键词 图像处理; 三维显微粒子测速技术; 微尺度流动; 光场显微成像; 反卷积重建

中图分类号 TP391.41; TH742

文献标识码 A

doi: 10.3788/AOS201939.1011002

Three-Dimensional Reconstruction of Micro-Scale Flow Field Based on Light Field Microscopic Imaging

Song Xianglei¹, Li Shu², Gu Mengtao¹, Zhang Biao¹, Xu Chuanlong^{1*}

¹Key Laboratory of Energy Thermal Conversion and Control of Ministry of Education, School of Energy and Environment, Southeast University, Nanjing, Jiangsu 210096, China;

²Department of Science and Technology Development, Nanjing Institute of Measurement and Testing Technology, Nanjing, Jiangsu 210037, China

Abstract The existing three-dimensional micro-particle image velocimetry systems obtain the spatial position of tracer particles through scanning or imaging from multiple perspectives, which leads to the complexity of the system and difficulty in making an instantaneous measurement of three-dimensional velocity in micro-scale flow. In this paper, a light field micro-particle image velocimetry technique based on a microlens array is proposed. In this technique, the instantaneous light field information of tracer particles in the micro-scale flow field can be recorded by a single camera in a single photographic exposure. Further, in combination with the point spread function model of the light field microscopic imaging system calculated by wave optics theory, the instantaneous spatial position distribution of tracer particles in the micro-scale flow field can be reconstructed by a deconvolution method. The reconstruction resolution and the spatial position error are analyzed and discussed. Experiments on micro-scale flow field reconstruction are carried out, and the feasibility of the reconstruction method for light field microscopic imaging is verified.

Key words image processing; three-dimensional micro-particle velocimetry; micro-scale flow; light field microscopic imaging; deconvolution reconstruction

OCIS codes 100.3010; 100.6890; 070.7345

1 引 言

微流控芯片具有液体流动可控、消耗试样和试剂少、分析速度快等优点, 近年来广泛应用于生物医学^[1-2]、化工^[3]及电子集成电路等领域^[4], 如微流体

诊断、化学合成反应及芯片散热。随着微流控芯片应用领域更加广泛和功能越来越复杂, 其微尺度通道结构也越来越复杂, 实现通道内流体的三维瞬时速度测量对于深入了解流场动力学具有重要意义。由于尺度微小, 微尺度通道内流动现象和规律的研

收稿日期: 2019-04-04; 修回日期: 2019-06-06; 录用日期: 2019-06-21

基金项目: 国家自然科学基金(51676044); 南京市质量技术监督局重点科技计划项目(KJ2017014)

* E-mail: chuanlongxu@seu.edu.cn

研究与宏观尺度上有明显差异,这为微流控系统的设计与优化带来较大挑战。准确合理地表征微尺度通道内的三维流动特性,可为微流控芯片设计和性能改善提供参考和指导。微流体瞬时三维全场测速技术是微尺度流动机理和应用研究的重要技术之一。目前,三维显微粒子图像测速(3D Micro-PIV)技术是研究微尺度流场特性最有效的非接触实验方法之一^[5]。

3D Micro-PIV 通过追踪撒播在微尺度流场中示踪粒子的空间位置来获得流场全三维速度矢量分布,示踪粒子空间位置的准确重建是获取三维速度矢量分布的前提。尽管现有基于共聚焦技术、体视技术或散焦技术的 3D Micro-PIV 系统能够测量微尺度流场的三维速度场分布,但共聚焦技术需要进行深度扫描来获取示踪粒子的空间位置信息,适用范围受限,只适合定常流动或周期性流动的流场测量,并且扫描装置复杂,硬件价格昂贵^[6];体视技术在重建示踪粒子空间位置时需要多视角成像,采用景深大的体视物镜会降低深度方向的分辨率,只能得到有限的深度切片,且系统复杂^[7];散焦技术利用粒子散焦图像的大小与粒子深度的定量关系式来确定粒子的空间位置,但当流体中示踪粒子浓度较高时,散焦图像由于重叠而不能被区分,因此散焦技术更加适用于粒子跟踪测速系统(PTV)^[8]。近几年发展起来的光场成像技术可实现单相机一次曝光记录物空间的光场信息^[9-10],并得到了广泛应用^[9-11],其已被成功应用于宏观尺度粒子图像测速技术中示踪粒子瞬时空间位置信息的获取^[12-13]。结合传统的显微镜,光场成像技术可应用于微尺度流场中示踪粒子瞬时空间位置信息的获取,建立光场显微粒子图像测速(光场 Micro-PIV)技术,有望克服现有 3D Micro-PIV 系统在示踪粒子三维位置信息获取时需

要扫描、多视角成像或系统复杂等缺点。然而,不同于宏观尺度的光场成像系统,由于显微镜的特殊结构,光场显微成像系统会发生明显的衍射现象。基于几何光学宏观尺度的光场三维重建方法,如重聚焦方法^[9]和光线追迹方法^[12],在成像时仅考虑光的直线传播而忽略光的衍射,因此三维重建时不能消除衍射带来的图像失真现象,无法应用于光场显微成像系统,因此需建立一种基于波动光学理论的光场显微成像重建的方法。

本文基于波动光学理论,建立光场显微成像系统的点扩展函数(PSF)模型,进一步通过反卷积算法重建微尺度流场中示踪粒子的瞬时空间位置信息,并讨论分析重建的分辨率和空间位置坐标误差;最后搭建光场显微成像微尺度流场实验系统,开展相关实验验证研究。

2 光场显微粒子图像测速基本原理

光场概念最早由 Gershun^[14]提出,用来描述三维空间中光的辐射传输特性。若忽略光的衍射和干涉等波动特性,光辐射可近似为几何光线。对于给定的光线,在有限的自由空间中的辐射不发生变化,可用一个四维函数 $\Phi(x, y, \theta, \psi)$,即空间的二维位置信息 (x, y) 和二维方向信息 (θ, ψ) 来表示光场信息^[15]。基于光场理论,在传统显微镜筒镜和相机传感器之间添加一片微透镜阵列(基于非聚焦型光场相机原理,微透镜位于筒镜的后焦面上^[9]),构成光场显微成像系统,利用微透镜阵列和相机传感器可记录物空间的光场信息。图 1 为光场显微成像的原理示意图。物镜接收测量体中点源 S_1 发出的光线,经筒镜后会聚在微透镜阵列上,每个微透镜将接收的光线按方向分散到其后焦面处传感器的不同像素上。因此,每个像素都对应记录某个特定方向的

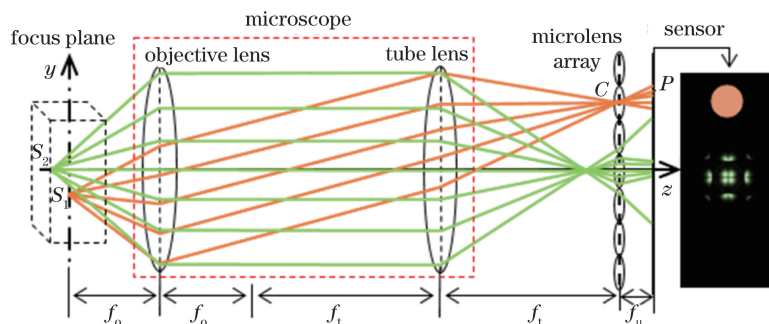


图 1 光场显微成像原理示意图(f_o 、 f_t 和 f_μ 分别为物镜、筒镜和微透镜焦距)

Fig. 1 Schematic of the light field microscopic imaging (f_o , f_t and f_μ are the focal length of the objective lens, the tube lens and the microlens, respectively)

光线,如对落在传感器面上像素点 P 的光线,可用点 P 的坐标及对应微透镜中心 C 的坐标复原光线的方向信息,从而实现光线方向信息的记录,而传统相机只能记录二维位置信息。

图 2 为基于光场 Micro-PIV 系统原理图,光场 Micro-PIV 系统主要包括显微镜、光场相机、双脉冲激光器、同步控制器及计算机。撒播有示踪粒子的溶液经微注射器泵注入到微尺度通道中,并被激光照亮,而示踪粒子被激发出荧光,荧光被光场相机记录。同步控制器用来触发脉冲激光器和光场相机获得两帧时间间隔为 Δt 的光场图片,利用光场图片结合重建算法可获得对应两个时刻示踪粒子的空间位置分布,进而利用三维互相关算法,可计算获得微尺度流场的三维速度场。

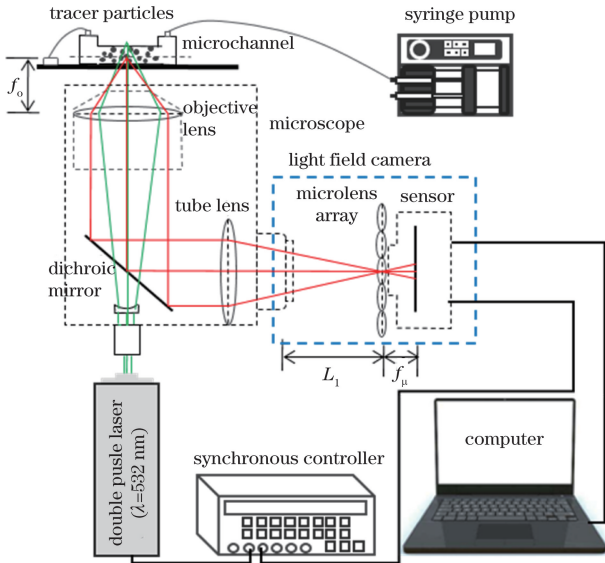


图 2 光场 Micro-PIV 系统原理图(L_1 为 C 卡口镜头法兰距)

Fig. 2 Schematic of the light field Micro-PIV system (L_1 is the flange distance of C lens mount)

3 光场显微成像微尺度流场三维重建

3.1 光场显微成像流场三维重建原理

图 3 为微尺度流场中不同深度上的两个示踪粒子 S_1 和 S_2 通过光场显微成像系统的成像示意图, CCD 传感器面上光强分布可表示为

$$\mathbf{g}(x, y, z) = \mathbf{h}(x, y, z) * \mathbf{o}(x, y, z) + \mathbf{n}(x, y, z), \quad (1)$$

式中: $\mathbf{o}(x, y, z)$ 为流场中示踪粒子的光强分布; $\mathbf{h}(x, y, z)$ 为光场显微成像系统的 PSF; $*$ 为卷积符号; $\mathbf{n}(x, y, z)$ 为系统噪声。

反卷积过程是卷积的逆过程,是一种用于显微镜图像去模糊和三维重建的常用工具^[16]。因此通过 CCD 传感器获得的光场图片和光场显微成像系统的 PSF 可以重建得到流场中示踪粒子的光强分布。对(1)式进行傅里叶变换,即

$$\mathcal{F}^{-1} \left\{ \frac{\mathcal{F}\{\mathbf{g}(x, y, z)\}}{\mathcal{F}\{\mathbf{h}(x, y, z)\}} \right\} = \mathcal{F}^{-1} \left\{ \frac{\mathcal{F}\{\mathbf{o}(x, y, z)\} + \mathcal{F}\{\mathbf{n}(x, y, z)\}}{\mathcal{F}\{\mathbf{h}(x, y, z)\}} \right\}, \quad (2)$$

式中: $\mathcal{F}\{\cdot\}$ 和 $\mathcal{F}^{-1}\{\cdot\}$ 分别为傅里叶变换和傅里叶逆变换; $\mathbf{o}'(x, y, z)$ 为反卷积重建的流场中示踪粒子的光强分布。

(2)式为病态方程,直接求解将遭遇严重的噪声放大^[17],为此采用迭代算法进行求解。常用迭代算法有 Lucy-Richardson 反卷积算法和盲反卷积算法。盲反卷积算法的优势是无需获得光学系统的准确 PSF,仅由采集的图像通过迭代即可同时估算出原始图像和光学系统的 PSF。但在先验信息不足的情况下对采集的图像进行复原,若图像信噪比水平较低,则获得的结果往往不理想^[16]。此时采用

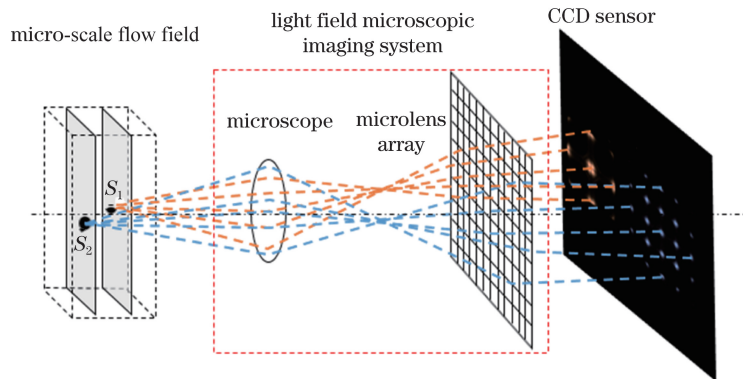


图 3 微尺度流场光场显微成像及反卷积重建过程示意图

Fig. 3 Schematic of the light field microscopic imaging and the deconvolution reconstruction for micro-scale flow

Lucy-Richardson 迭代算法进行求解, 已知光学系统的 PSF, 通过一定次数的迭代计算可以得到接近理想清晰图像的最大似然估计值^[18-19], 可表示为

$$\hat{\mathbf{o}}_{i+1}(x, y, z) = \left\{ \left[\frac{\mathbf{g}(x, y, z)}{\mathbf{o}_i(x, y, z) * \mathbf{h}(x, y, z)} \right] \times \mathbf{h}(-x, -y, -z) \right\} \hat{\mathbf{o}}_i(x, y, z), \quad (3)$$

式中: $\hat{\mathbf{o}}_i(x, y, z)$ 和 $\hat{\mathbf{o}}_{i+1}(x, y, z)$ 分别为第 i 和 $i+1$ 次迭代得到的物点的估计值; $\mathbf{h}(-x, -y, -z)$ 为 $\mathbf{h}(x, y, z)$ 的转置。

3.2 基于波动光学理论的光场显微成像系统 PSF 的确定

反卷积三维重建质量强烈依赖于成像系统的 PSF。由于显微成像发生了明显的衍射现象, 宏观光场成像中基于几何光学光线追迹模型不适用于含有微透镜阵列的光场显微成像。为此, 基于波动光学理论, 分析点光源发出的球面波经物镜、筒镜和微透镜阵列后, 在 CCD 传感器中的物理成像过程, 并建立光场显微成像系统 PSF 的计算模型。

定义物镜的焦点为坐标原点, 系统的光轴为 z 轴, 建立图 4 所示的坐标系。假设成像体轴向(z 方向)采样数为 k , 第 e ($e=1, 2, 3, \dots, k$) 个深度层上的采样数为 $m \times n$, 则任意一个采样点 $S(x, y, z)$ 发出的球面波到传感器面可分为三个过程:

1) 采样点 $S(x, y, z)$ 发出的球面波经物镜后被筒镜成像在微透镜阵列前表面, 如图 4 所示, 落在微透镜阵列前表面的波阵面 $U(x, y, z)$ 表示为^[20]

$$U(x, y, z) = \frac{M}{f_o^2 \lambda^2} \exp\left[-\frac{ju}{4 \sin^2(\alpha/2)}\right] \times \int_0^1 P(\rho) \exp\left(-\frac{ju}{2} \rho^2\right) J_0(\rho u) 2\pi \rho d\rho, \quad (4)$$

$$v = \frac{2\pi}{\lambda} \sqrt{(x-x_1)^2 + (y-y_1)^2} \sin \alpha, \quad (5)$$

$$u = \frac{8\pi}{\lambda} z \sin^2(\alpha/2), \quad (6)$$

式中: j 为虚数单位; 变量 u 和 v 分别为图像面横向和轴向光学坐标; $U(x, y, z)$ 为阿贝成像理论计算得出的点光源在筒镜成像面上波阵面的光强分布; f_o 和 λ 为物镜的焦距和荧光波长; M 为显微镜物镜的放大倍率; α 为物镜孔径角的半数, $\sin \alpha = NA$, NA 为物镜的数值孔径; ρ 为物镜孔径的规格化径向坐标; $P(\rho)$ 为归一化光瞳函数; $J_0(\cdot)$ 为零阶贝塞尔函数; x_1 和 y_1 为波阵面在筒镜成像面上的坐标。

2) 波阵面穿过微透镜阵列, 假定系统中微透镜

孔径为正方形, 则相位变化可表示为

$$U'(x, y, z) = T(x, y, z)U(x, y, z), \quad (7)$$

$$T(x, y, z) = \left\{ \text{rect}\left(\frac{x_1}{D}, \frac{y_1}{D}\right) \times \exp\left[-\frac{j\pi}{f_\mu \lambda} (x_1^2 + y_1^2)\right] \right\} * \text{comb}\left(\frac{x_1}{D}, \frac{y_1}{D}\right), \quad (8)$$

式中: $U'(x, y, z)$ 和 $T(x, y, z)$ 分别为穿过微透镜阵列后的波阵面和微透镜阵列的透过率函数; $\text{rect}(\cdot)$ 和 $\text{comb}(\cdot)$ 分别为矩形函数和梳状函数; f_μ 和 D 分别为微透镜的焦距和孔径尺寸。

3) 光从微透镜阵列传播到传感器的过程是非涅耳传播过程, 传感器上得到的波阵面 $U''(x, y, z)$ 为

$$U''(x, y, z) = U'(x, y, z) \times \left\{ \frac{\exp(2\pi j f_\mu / \lambda)}{j\lambda f_\mu} \exp\left[\frac{\pi j}{\lambda f_\mu} (x_2^2 + y_2^2)\right] \right\}, \quad (9)$$

式中: x_2 和 y_2 分别为传感器面坐标。(9) 式中的卷积运算可通过傅里叶变换

$$U''(x, y, z) = \mathcal{F}^{-1} \left\{ \mathcal{F} \{U'(x, y, z)\} \exp\left[\frac{2\pi j f_\mu}{\lambda} - j\pi f_\mu \lambda (\xi^2 + \eta^2)\right] \right\} \quad (10)$$

求出, 式中的 ξ 和 η 分别为传感器面上坐标 x_2 和 y_2 的空间频率。

最终, 采样点 $S(x, y, z)$ 经过光场显微成像系统后在传感器面上的 PSF 可表示为

$$h^{(e)}(x, y, z) = |U''(x, y, z)|^2. \quad (11)$$

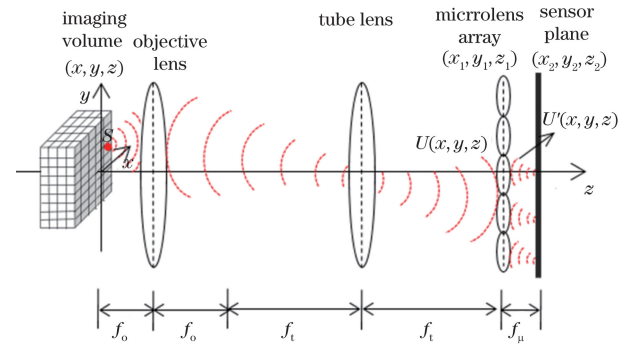


图 4 点光源在光场显微成像系统中的成像过程
Fig. 4 Imaging process of a point light source in light field microscopic imaging system

光场显微成像系统中引入微透镜阵列会使系统的 PSF 不再满足空间平移不变性。由于微透镜阵列呈以 D 为间距的周期性分布, 所以系统 PSF 呈以 D/M 为间距的周期性分布。因此, 只需计算出物空间每个深度层上中心微透镜对应的抽样点的 PSF, 通过平移就可得出该深度层上所有点的 PSF,

计算量和存储空间都减为 $1/N$ (N 为微透镜阵列中微透镜数), 从而可大大减少 PSF 的计算量和存储空间。

图 5 为点光源分别位于光轴不同深度层 ($z = -120 \sim 120 \mu\text{m}$) 上, 计算获得的光场显微成像系统 PSF。表 1 为光场显微成像系统参数。当测量体离焦距离大于 $120 \mu\text{m}$ ($z > 120 \mu\text{m}$ 或 $z < -120 \mu\text{m}$) 时, 单个的示踪粒子在传感器上的 PSF 图像尺寸超过 $1106 \mu\text{m} \times 1106 \mu\text{m}$, 占比超过传感器面积的 10% (文中传感器的尺寸为 $1''$, 传感器面积为 $12.7 \text{ mm} \times 9.6 \text{ mm}$)。PSF 尺寸的增大不但会降低横向的测量范围 ($z > 120 \mu\text{m}$ 时, 测量范围小于 $1160 \mu\text{m} \times 850 \mu\text{m}$), 而且会增大反卷积重建的背景噪声, 降低反卷积重建的质量。最大可达深度层还

受计算机硬件的限制 (目前实验系统的计算机配置如下: CPU 为 I7-8700K, 内存为 32 GB, GPU 为 NVIDIA GeForce GTX 1060 6 GB), 当 $z = 120 \mu\text{m}$ 时, PSF 矩阵数据所占用内存接近 32 GB。另外, 现有生物医学或化学合成领域使用的微流控芯片中微通道的深度尺度一般小于 $100 \mu\text{m}$, 因此 $z < 120 \mu\text{m}$ 区域满足一般的测量要求。光场显微成像系统的 PSF 与传统显微镜的 PSF 不同, 除焦面 ($z = 0$) 附近外均由离散的点斑构成^[16]。这是因为光路中加入微透镜阵列后, 点光源发出光经物镜和筒镜成像在微透镜阵列上, 被微透镜基于方向折射到它覆盖的不同像素点上。不同的 PSF 反映点光源在轴向的深度信息, 这是基于光场显微实现示踪粒子空间三维重建的基础。

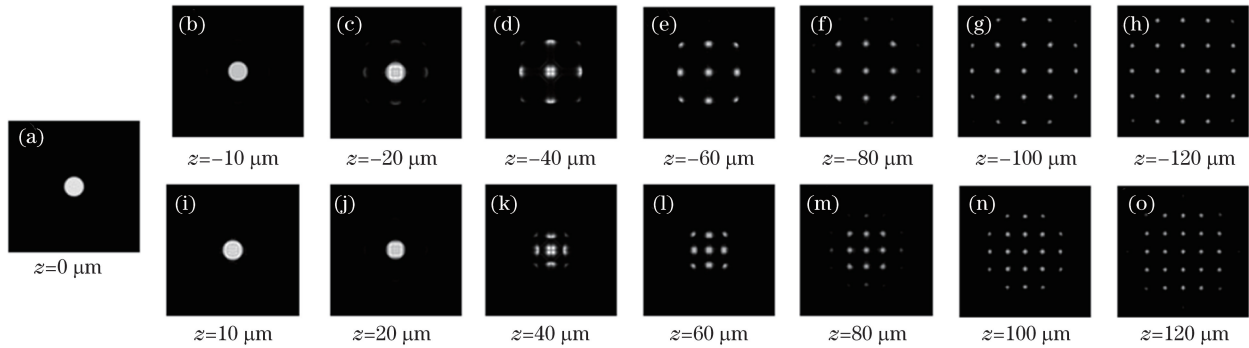


图 5 不同深度上计算获得的光场显微成像系统 PSF

Fig. 5 PSFs of the light field microscopic imaging system obtained by calculation at different depths

表 1 光场显微成像系统参数

Table 1 Specific parameters of the light field microscopic imaging system

Equipment	Symbol	Parameter	Value
Microscope	M	Objective lens magnification	10
	NA	Numerical aperture of objective lens	0.3
	f_o	Focal length of objective lens /mm	20
	f_t	Focal length of tube lens /mm	200
Camera	$n_{px} \times n_{py}$	Resolution	2352×1768
	P_p	Pixel pitch / μm	5.5
Microlens array	D	Microlens pitch / μm	136
	f_μ	Focal length of microlens / μm	2260

4 实验系统

图 6 为基于光场显微成像原理搭建的光场显微成像实验系统实物图。主要包括双脉冲激光器 ($\lambda = 532 \text{ nm}$)、显微镜、光场相机系统、微注射器泵、同步控制器及计算机。微尺度通道中示踪粒子被波长为 532 nm 激光激发出波长峰值为 584 nm 的荧

光, 荧光经物镜、二向色镜、筒镜成像后, 被光场相机记录。二向色镜只允许波长大于 532 nm 的荧光通过, 从而可以消除激光的影响, 提高系统获取图像的信噪比。实验中, 荧光示踪粒子为聚苯乙烯微球, 平均粒径为 $2 \mu\text{m}$ 。

现有商用光场相机主要用于宏观成像, 微透镜 F 数 (透镜孔径和焦距的比值) 小于 10, 如 Lytro 光

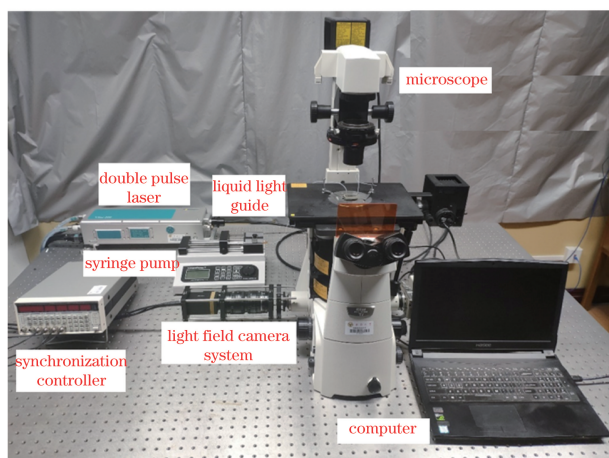


图 6 实验系统实物图

Fig. 6 Photography of the experimental system

场相机 F 数等于 2, 与显微镜物镜在 F 数上不匹配 ($M=10$ 的物镜的 F 数为 16.7, 并且 F 数随 M 增大而增大)^[10]。图 7 为基于光场理论组装的笼式光场相机系统。组装的光场相机系统由 CCD 相机、1:1 中继镜头(两个 Nikon 50 mm 1.4G 镜头组成)及微透镜阵列构成, 中继镜头的作用是把微透镜阵列后焦面的光强分布 1:1 投影到相机的传感器上, 所有元件通过笼板和笼杆固定并保持同轴。另外, 笼式结构方便对不同倍率的物镜更换与其匹配的微透镜阵列。光场显微成像实验系统参数见表 1。

5 结果与讨论

5.1 光场显微成像系统的 PSF 模型验证

图 8 为示踪粒子分别位于系统不同深度 ($z = 40 \sim 120 \mu\text{m}$) 时通过实验获得的 PSF。与对应深度上理论计算的结果(图 5)对比后可知, 实验获得的 PSF 尺寸大小和形状与理论计算结果相吻合。

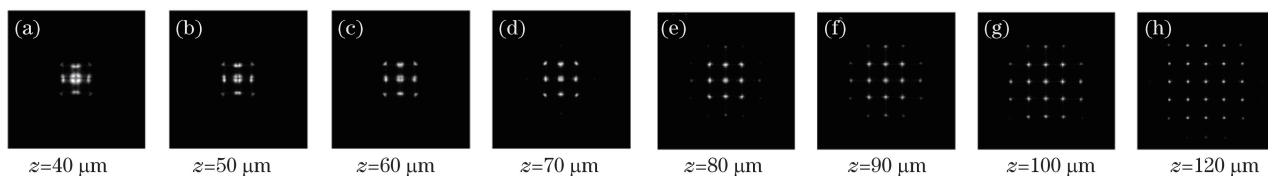


图 8 实验获得的不同深度处光场显微成像系统的 PSF

Fig. 8 PSFs of the light field microscopic imaging system obtained by experiments at different depths

图 9 为 V_{SSIM} 评价结果。从图 9 可看出在 $z = 40 \sim 120 \mu\text{m}$ 范围内, 光场显微成像系统的 PSF 模型计算结果与实验结果的 V_{SSIM} 值均大于 0.92, 表明二者具有较好的一致性, 光场显微成像系统的 PSF 模型的准确性得以验证。因此, 可将基于波动理论的光场显微成像系统 PSF 用于示踪粒子的三维重建。

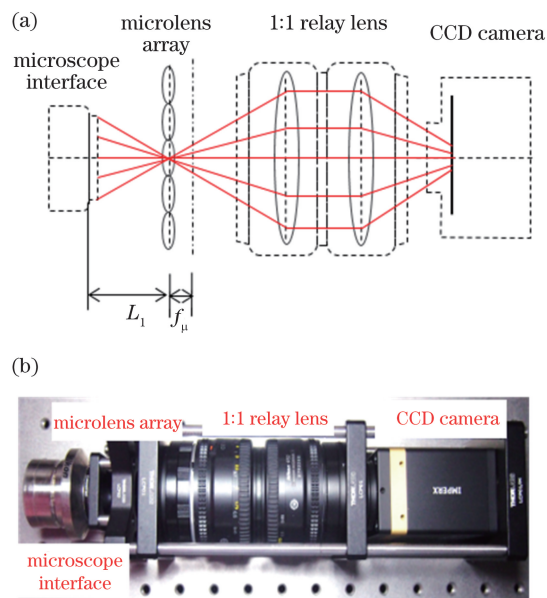


图 7 组装的笼式光场相机系统。(a) 原理图; (b) 实物图

Fig. 7 Assembled cage light field camera system.

(a) Schematic; (b) photography

为进一步验证基于波动光学理论计算的光场显微成像系统的 PSF 模型的准确性, 引入结构相似性指数 (V_{SSIM})^[21]

$$V_{\text{SSIM}}(T_1, T_2) = \frac{(2\mu_1\mu_2 + c_1)(2\sigma_{12} + c_2)}{(\mu_1^2 + \mu_2^2 + c_1)(\sigma_1^2 + \sigma_2^2 + c_2)}, \quad (12)$$

式中: T_1 和 T_2 分别为计算和实验获得的光场显微成像系统相同深度层的 PSF 图像; μ_1 和 μ_2 分别为 T_1 和 T_2 的灰度平均值; σ_{12} 为 T_1 和 T_2 的协方差; σ_1^2 和 σ_2^2 分别为 T_1 和 T_2 的方差; $c_1 = (k_1 L)^2$, $c_2 = (k_2 L)^2$ 为用来维持稳定的常数, L 为像素值的动态范围, $k_1 = 0.01$, $k_2 = 0.03$ 。 V_{SSIM} 的取值范围为 $[0, 1]$, 取 0 表示完全不相似, 取 1 表示完全一致。

5.2 系统的空间分辨率

光学成像系统的分辨率指成像系统能分辨两个靠近的点光源的能力, 分辨率也称为分辨本领^[22], 成像系统的分辨本领越高, 能分辨的两点源的距离就越小。根据表 1 中的参数, 模拟单个示踪粒子位于光轴上 $z = -120 \sim 120 \mu\text{m}$ 时, 光场显微成像系

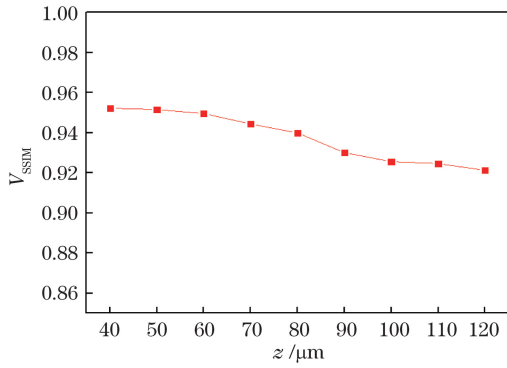


图 9 PSF 基于波动光学理论的计算结果和实验结果的 V_{SSIM} 评价

Fig. 9 V_{SSIM} evaluation of PSFs calculated based on wave optics theory and obtained by experiment

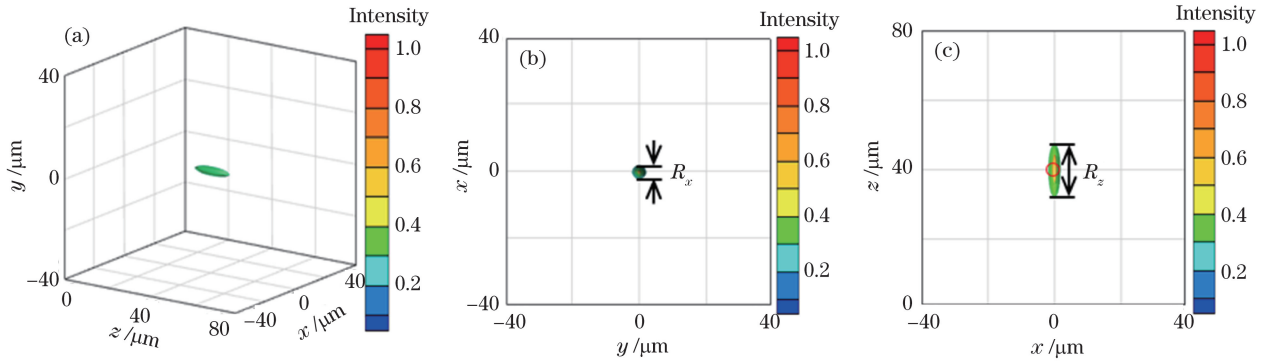


图 10 模拟示踪粒子位于光轴 $z=40 \mu\text{m}$ 处的重建结果。(a)重建示踪粒子光强分布;(b)俯视图;(c)侧视图

Fig. 10 Reconstructed particle at $z=40 \mu\text{m}$. (a) Reconstructed tracer particle light intensity distribution; (b) front view; (c) side view

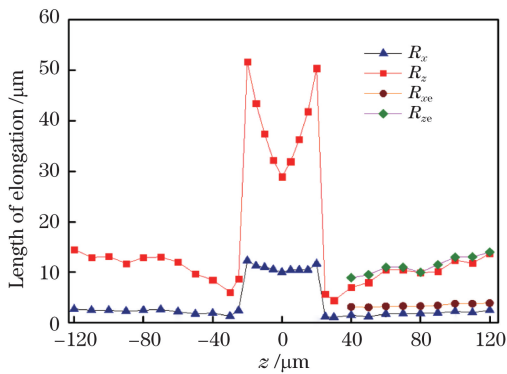


图 11 拉伸长度和离焦距离的关系(R_x 和 R_z 是理论计算的结果, R_{xe} 和 R_{ze} 是实验结果)

Fig. 11 Variation of the length of elongation with the defocusing distance (R_x and R_z are the results of theoretical calculation, and R_{xe} and R_{ze} are the results of experiments)

同。当 $-20 \mu\text{m} \leq z \leq 20 \mu\text{m}$ 时, R_x 和 R_z 值明显较大。这主要是示踪粒子靠近焦面时, 示踪粒子发出的光线被筒镜会聚在同一个微透镜中心区域, 经微透镜折射后, 衍射斑相互叠加, 形成相同的 PSF 图

统的成像和三维重建过程。图 10 为单个示踪粒子位于光轴上 $z=40 \mu\text{m}$ 处的三维重建结果。从图 10 可看出, 重建的示踪粒子在横向 (xy 面内) 和轴向 (z 轴方向) 上都发生拉伸。拉伸长度直接反映重建算法在对应方向上的分辨率(分辨率正比于拉伸长度的倒数), 横向和轴向的拉伸长度 R_x 和 R_z (见图 10(b)、(c)) 为系统能够分辨的最小横向和轴向长度^[23]。另外, 重建的示踪粒子在轴向的拉伸长度明显大于横向的拉伸长度, 表明在轴向方向的分辨率明显低于横向的分辨率。

图 11 为单个示踪粒子位于光轴 $z=-120 \sim 120 \mu\text{m}$ 上, 截止光强为最大光强一半时计算的 R_x 和 R_z 值。可以看出, 离焦距离不同时, R_x 和 R_z 值不

样, PSF 在这个区域内不能被区分(图 5); 当 $z < -20 \mu\text{m}$ 或 $z > 20 \mu\text{m}$ 时, R_x 和 R_z 值随离焦距离的增大而趋于恒定; 另外, 显微镜物镜焦面内 ($z > 0$) 不同深度层上 R_x 和 R_z 值小于焦面外 ($z < 0$) 关于焦面对称位置的 R_x 和 R_z 值。这是因为在物镜焦面内, 物镜相对测量体视场角比焦面外侧大, 轴向分辨率高。因此, 为获得较高的分辨率, 测量体应置于 $20 \mu\text{m} < z < 120 \mu\text{m}$ 的轴向区域, 此时 R_x 和 R_z 值分别约为 $1.8 \mu\text{m}$ 和 $10.5 \mu\text{m}$ 。与实验获得的单个示踪粒子位于 $z=40 \sim 120 \mu\text{m}$ 的横向拉伸长度 R_{xe} 和轴向拉伸长度 R_{ze} 相比, 模拟计算的 R_z 结果与实验结果吻合得较好, R_x 结果略高于实验结果, 这是因为实验用的示踪粒子的粒径为 $2 \mu\text{m}$, 而模拟时假定示踪粒子是点光源。

5.3 重建位置误差

流场中示踪粒子空间位置的准确获取是三维速度场测量的前提, 为此引入重建位置误差(即示踪粒子的实际位置和重建位置的空间物理距离)评价所提方法重建示踪粒子空间位置的精确度。示踪粒子

空间位置通过获取重建的示踪粒子光强分布的质心位置得出(图 10(c)中圆圈的中心)。图 12 为计算单个示踪粒子位于光轴 $z = -120 \sim 120 \mu\text{m}$ 时重建的示踪粒子位置误差,由于单个示踪粒子重建横向的位置误差几乎为零,因此没有讨论。从结果可以看出:在焦面位置($z = 0$),误差最小为 $0.13 \mu\text{m}$;在 $-20 \mu\text{m} < z < 20 \mu\text{m}$ 区域内,随着离焦距离的增加,误差快速增大;在离焦距离 $z < -30 \mu\text{m}$ 和 $z > 30 \mu\text{m}$ 区域,误差趋于恒定,且重建的示踪粒子位置误差值均小于 $1 \mu\text{m}$ 。

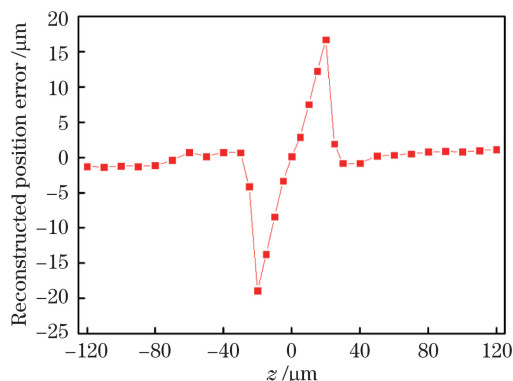


图 12 重建位置误差和离焦距离的关系

Fig. 12 Variation of the reconstructed position error with the defocusing distance

对于多个示踪粒子位于流场不同深度层的情况,模拟 $150 \mu\text{m} \times 50 \mu\text{m}$ (宽度 \times 深度) 微尺度通道置于显微镜物镜焦面内到焦点距离 $z = 40 \sim 90 \mu\text{m}$ 区域内,随机产生的示踪粒子浓度为 $2.75 \times 10^7 \text{ cm}^{-3}$ (每个微透镜对应的示踪粒子数)时光场显微成像和示踪粒子重建的结果,见图 13。结果表明,该方法能够实现不同深度上示踪粒子瞬时光场信息的采集和重建;图 14 和图 15 分别为重建示踪粒子在 x 、 y 和 z 方向的位置误差 Δx 、 Δy 和 Δz 。结果表明, x 、 y 和 z 方向的位置误差分别小于 $0.28 \mu\text{m}$ 、 $0.28 \mu\text{m}$ 和 $1.09 \mu\text{m}$,平均位置误差分别为 $0.06 \mu\text{m}$ 、 $0.06 \mu\text{m}$ 和 $0.39 \mu\text{m}$,说明重建结果具有较高的精度。尽管光场显微成像系统横向和深度方向的分辨率不高,但示踪粒子是被离散地撒播在流场中,通过获取重建示踪粒子的光强分布的质心作为重建示踪粒子的三维位置,仍可获得精度很高的重建位置坐标。另外,轴向(z 方向)位置误差明显大于横向(x 和 y 方向)的位置误差,这是因为 z 方向分辨率明显低于横向的分辨率。

5.4 流体重建实验

图 16 为 $150 \mu\text{m} \times 50 \mu\text{m}$ (宽度 \times 深度) 的流场

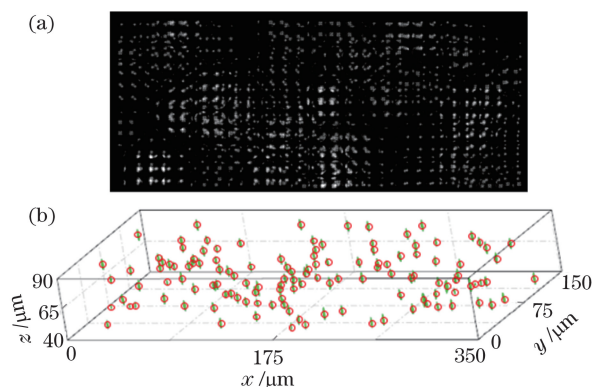


图 13 模拟示踪粒子浓度为 $2.75 \times 10^7 \text{ cm}^{-3}$ 时的成像和重建。

(a) 示踪粒子的光场照片;(b) 重建的示踪粒子

Fig. 13 Light field image of the tracer particles and reconstruction by simulation at particle concentration of $2.75 \times 10^7 \text{ cm}^{-3}$. (a) Light field image of tracer particles; (b) reconstructed tracer particles

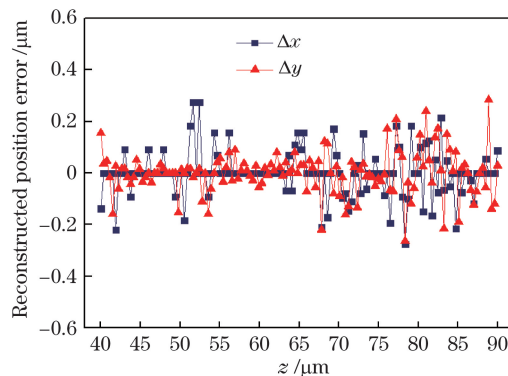


图 14 重建示踪粒子在 x 方向和 y 方向的误差

Fig. 14 Reconstructed position errors of tracer particles at x and y directions

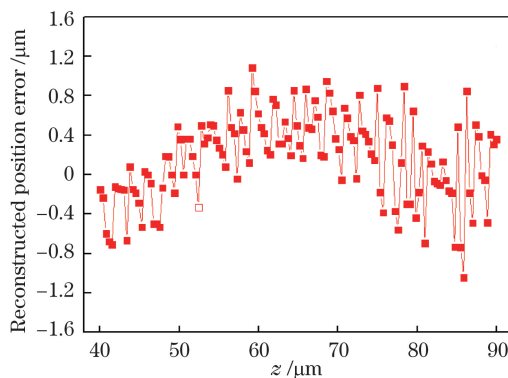


图 15 重建的示踪粒子在 z 方向的误差

Fig. 15 Reconstructed position errors of tracer particles at z direction

中分别撒播粒子浓度为 $2.75 \times 10^6 \text{ cm}^{-3}$ 和 $2.75 \times 10^7 \text{ cm}^{-3}$ 的荧光示踪粒子时,实验获得的示踪粒子光场图片和重建结果。可见,该方法从实验上实现

了微尺度流场中不同深度层上示踪粒子瞬时光场信息的采集和重建,通过获取重建示踪粒子光强分布的质心,得到重建示踪粒子的空间位置坐标,为三维互相关速度场的计算奠定了基础。图 16(a)为示踪粒子浓度较低时的光场,流场中不同位置的示踪粒子在传感器上的成像彼此相对独立,任意一个 PSF 图样(圆圈内)代表对应深度上的一个示踪粒子,并且相互影响小,重建的示踪粒子大小一致性好,如图 16(b)所示。图 16(c)为当粒子浓度较高时的光场,不同深度层上的示踪粒子在传感器上的成像相

互叠加,在反卷积的重建中引入背景噪声,导致重建的示踪粒子光强差异较大,重建的示踪粒子的大小不再均匀,如图 16(d)所示,由于重建示踪粒子的位置坐标通过重建光强分布中心确定,所以重建示踪粒子的光强差异对重建位置坐标获取的影响很小。另外,随着撒播的示踪粒子浓度增加,示踪粒子图像在传感器上叠加引起反卷积重建的背景噪声相应增加,将导致相邻重建示踪粒子的光强分布发生黏连而不能被区分。实验发现当示踪粒子浓度小于 $1.1 \times 10^8 \text{ cm}^{-3}$ 时,仍可获得较好的重建结果。

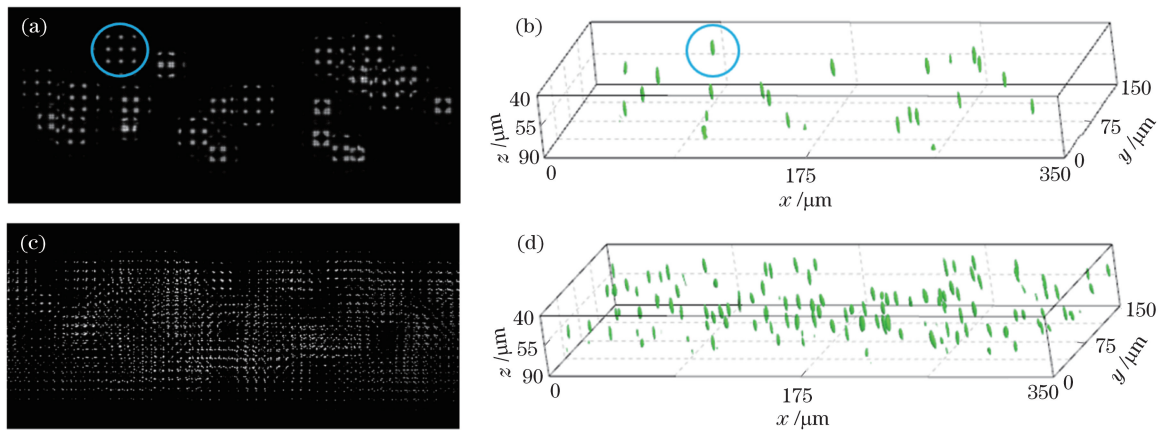


图 16 实验获取的光场图片和重建示踪粒子。(a)(c)粒子浓度为 $2.75 \times 10^6 \text{ cm}^{-3}$ 和 $2.75 \times 10^7 \text{ cm}^{-3}$ 时获得的光场图片;
(b)(d)粒子浓度为 $2.75 \times 10^6 \text{ cm}^{-3}$ 和 $2.75 \times 10^7 \text{ cm}^{-3}$ 时重建的示踪粒子

Fig. 16 Light field images and reconstructed tracer particles by experiments. (a)(c) Light field images obtained at particle concentration of $2.75 \times 10^6 \text{ cm}^{-3}$ and $2.75 \times 10^7 \text{ cm}^{-3}$, respectively; (b)(d) reconstructed tracer particles at particle concentration of $2.75 \times 10^6 \text{ cm}^{-3}$ and $2.75 \times 10^7 \text{ cm}^{-3}$, respectively

6 结 论

提出基于光场显微成像微尺度流场示踪粒子的三维重建方法,建立了基于波动光学理论的光场显微成像系统的 PSF 模型,利用反卷积算法实现微尺度流场中示踪粒子的三维重建。开展单个粒子和多个粒子光场显微成像和重建过程的模拟研究,获得了示踪粒子的瞬时三维位置坐标,并讨论了重建的空间分辨率和位置误差。结果表明在焦面内,离焦距离大于 $20 \mu\text{m}$ 区域时,可获得较高的横向和轴向分辨率及重建精度。最后构建了光场显微成像微尺度流场实验系统,实现了不同粒子浓度下示踪粒子的重建和示踪粒子位置坐标的获取,验证了重建算法的可行性和准确性。

参 考 文 献

- [1] Rivet C, Lee H, Hirsch A, *et al.* Microfluidics for medical diagnostics and biosensors[J]. Chemical Engineering Science, 2011, 66(7): 1490-1507.
- [2] Michelsen U. Microfluidics in medical applications [J]. Medical Device Technology, 2007, 18(3): 12-14.
- [3] Horrocks M H, Tosatto L, Dear A J, *et al.* Fast flow microfluidics and single-molecule fluorescence for the rapid characterization of α -synuclein oligomers [J]. Analytical Chemistry, 2015, 87 (17): 8818-8826.
- [4] Wang G L, Yang D W, Wang Y, *et al.* Heat transfer and friction characteristics of the microfluidic heat sink with variously-shaped ribs for chip cooling [J]. Sensors, 2015, 15(4): 9547-9562.
- [5] Santiago J G, Wereley S T, Meinhart C D, *et al.* A particle image velocimetry system for microfluidics [J]. Experiments in Fluids, 1998, 25(4): 316-319.
- [6] Chao S H, Holl M R, Koschwaner J H, *et al.* Velocity measurement in microchannels with a laser confocal microscope and particle linear image velocimetry [J]. Microfluidics and Nanofluidics, 2005, 1(2): 155-160.
- [7] Lindken R, Westerweel J, Wieneke B. Stereoscopic micro particle image velocimetry [J]. Experiments in

- Fluids, 2006, 41(2): 161-171.
- [8] Tien W H, Dabiri D, Hove J R. Color-coded three-dimensional micro particle tracking velocimetry and application to micro backward-facing step flows [J]. Experiments in Fluids, 2014, 55(3): 1684.
- [9] Ren N, Levoy M, Bredif M, *et al.* Light field photography with a hand-held plenoptic camera [R/OL]. 2005[2019-03-25]. <http://graphics.stanford.edu/papers/lfcamera/>.
- [10] Levoy M, Ng R, Adams A, *et al.* Light field microscopy [J]. ACM Transactions on Graphics, 2006, 25(3): 924-934.
- [11] Sun F S, Han X. Super-resolution algorithm based on precise color vector constraint of lightfield camera [J]. Acta Optica Sinica, 2019, 39(3): 0301001. 孙福盛, 韩燮. 光场相机精确色彩矢量约束下的超分辨率算法 [J]. 光学学报, 2019, 39(3): 0301001.
- [12] Shi S X, Ding J F, New T H, *et al.* Light-field camera-based 3D volumetric particle image velocimetry with dense ray tracing reconstruction technique [J]. Experiments in Fluids, 2017, 58(7): 78.
- [13] Fahringer T W, Lynch K P, Thurow B S. Volumetric particle image velocimetry with a single plenoptic camera [J]. Measurement Science and Technology, 2015, 26(11): 115201.
- [14] Gershun A. The light field [M]. Massachusetts, Cambridge: Massachusetts Institute of Technology, 1939: 51-151.
- [15] Levoy M, Hanrahan P. Light field rendering [C] // The 23rd Annual Conference on Computer Graphics and Interactive Techniques. New York: ACM, 1996: 31-42.
- [16] Sarder P, Nehorai A. Deconvolution methods for 3-D fluorescence microscopy images [J]. IEEE Signal Processing Magazine, 2006, 23(3): 32-45.
- [17] McNally J G, Karpova T, Cooper J, *et al.* Three-dimensional imaging by deconvolution microscopy [J]. Methods, 1999, 19(3): 373-385.
- [18] Lucy L B. An iterative technique for the rectification of observed distributions [J]. The Astronomical Journal, 1974, 79: 745-754.
- [19] Richardson W H. Bayesian-based iterative method of image restoration [J]. Journal of the Optical Society of America, 1972, 62(1): 55-59.
- [20] Gu M. Advanced optical imaging theory [M]. Berlin, Heidelberg: Springer, 2000: 55-59.
- [21] Wang Z, Bovik A C, Sheikh H R, *et al.* Image quality assessment: from error visibility to structural similarity [J]. IEEE Transactions on Image Processing, 2004, 13(4): 600-612.
- [22] Liang Q T. Physical optics [M]. 4th ed. Beijing: Publishing House of Electronics Industry, 2012: 173-175. 梁铨廷. 物理光学 [M]. 4 版. 北京: 电子工业出版社, 2012: 173-175.
- [23] Deem E A, Zhang Y, Cattafesta L N, *et al.* On the resolution of plenoptic PIV [J]. Measurement Science and Technology, 2016, 27(8): 084003.