

基于正交采样的相位体三维形态快速重建算法

季颖^{1*}, 黄锦槟¹, 李响², 王亚伟¹¹江苏大学物理与电子工程学院, 江苏 镇江 212013;²深圳大学物理与光电工程学院, 广东 深圳 518061

摘要 为满足临床检验等领域对快速获取形态信息的需求, 提出了一种仅需 2 幅相位图的三维形态快速重建算法。该算法从 2 幅正交相位图中分别获取样品在相应入射光正投影面上的结构边界, 通过建立、解算这 2 组正交的二维数据间的关联得到样品亚结构轮廓的三维坐标和平均折射率, 进而给出各亚结构物理厚度的定量分布, 实现样品三维结构重建。通过仿真和实验对具有不同结构特征的样品进行了三维形貌重建, 实验结果验证了所提算法的有效性和普适性。

关键词 测量; 相位测量; 亚结构轮廓; 平均折射率; 三维形貌

中图分类号 O436.1

文献标志码 A

doi: 10.3788/AOS202141.2312006

Fast Three-Dimensional Morphological Reconstruction Algorithm of Phase objects Based on Orthogonal Sampling

Ji Ying^{1*}, Huang Jinbin¹, Li Xiang², Wang Yawei¹¹ School of Physics and Electronic Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang, Jiangsu 212013, China;² College of Physics and Optoelectronic Engineering, Shenzhen University, Shenzhen, Guangdong 518061, China

Abstract In order to meet the needs of rapid acquisition of morphological information in clinical testing and other fields, a fast three-dimensional morphological reconstruction algorithm requiring only two phase images is proposed. The algorithm obtains the structural boundary of the sample on the corresponding incident light orthographic projection plane from two orthogonal phase diagrams. By establishing and solving the correlation between the two groups of orthogonal two-dimensional data, the three-dimensional coordinates and average refractive index of the sample substructure contour are obtained, and then the quantitative distribution of the physical thickness of each substructure is given to realize the three-dimensional structure reconstruction of the sample. The three-dimensional shape reconstruction of samples with different structural characteristics is carried out through simulation and experiments. The experimental results verify the effectiveness and universality of the proposed algorithm.

Key words measurement; phase measurement; outline of substructure; average refractive index; three-dimensional shape

OCIS codes 120.5050; 170.3010; 100.6890

1 引言

获取和分析活细胞形态结构信息在了解生命构

造、揭示生命活动过程等领域具有重要的意义^[1]。细胞的空间尺度一般在微米乃至纳米量级, 想要看到它们须要借助显微成像技术。通常情况下, 大多

收稿日期: 2021-04-22; 修回日期: 2021-05-30; 录用日期: 2021-07-06

基金项目: 国家自然科学基金(11874184)、江苏大学农业装备学部项目(NZXB20200215)、江苏大学大学生科研课题立项资助项目(20A233)

通信作者: *jy@ujs.edu.cn

数生物细胞在可见光下的吸收可以忽略,穿过细胞的光的频率或振幅不会发生明显改变,而生物细胞自身物理厚度以及内部结构间折射率的差异会引起透射光的相位延迟^[2-3]。折射率是物体固有的对比源,同时也是一个重要的生化参数^[4]。定量相位成像技术^[5-8]正是通过检测样品引起的相位延迟来获取结构信息乃至内部动态的一种无损免标记探测手段。但是相位延迟正比于折射率与入射光路径长度的乘积,更一般地讲正比于折射率与光学系统点散函数的卷积^[9]。此外相位延迟还受到入射光波长及方向的影响,并不能直接反映样品的折射率分布或者形貌性状,因而要从样品相位信息中获得三维结构图像还要进行计算反演。目前已有多种能够测量生物细胞三维折射率分布的新型相位显微技术被开发出来,如断层相位显微镜^[10-12]、数字全息显微镜^[13]等,它们采用计算机断层扫描仪多角度采集样品的吸收系数投影数据^[14],记录不同方向、角度样品的相位信息,从而重建出样品的三维形貌。2014年,Kuś等^[15]通过结合自干扰数字全息显微镜和层析成像模块的成像技术,基于样品旋转得到样品轴向的180张图像,准确重建了细胞和细胞簇内部的三维折射率分布,该技术可对亚细胞器进行定量分析。Lü等^[16]提出了一种全角度(360张图像)数字

全息显微层析成像技术优化方法,该方法通过景深追踪的方式进行校准,有效减小样品旋转采样过程中的轴向偏移误差和横向偏移误差。就三维重建算法而言,基于少量稀疏数据的重建算法可起到降低数据采集处理难度和成本的作用。付轶帆等^[17]以采样点云构建模板模型作为先验信息,以薄板样条(TPS)作为模型弯曲能量的约束准则对样品进行表面结构的三维重建,实现了静态下不同心脏腔室的心内膜的三维重建,可以在500ms左右获得能满足手术中图像导航要求的静态下不同腔室的心内膜重建结果。李帅帅^[18]通过搭建同步相移干涉显微系统光路结构测量了细胞的高度值,该方法测得的细胞高度极限分辨率为0.6557nm。这些技术虽然能以较高的精度和分辨率获得样品的三维结构信息,但是需要的数据繁多,对实验装置和操作的要求相对较高,运算量也较大。为满足临床诊断、分析测试等应用领域对快速便捷的图像分析方法的需求,本文提出了一种仅需2幅相位图的三维形态快速重建算法。

2 所提算法原理及步骤

所提算法基于2幅取自正交方向的相位图,通过边缘提取、空间坐标变换及亚结构厚度反演实现样品三维形态快速重建,处理流程如图1所示。

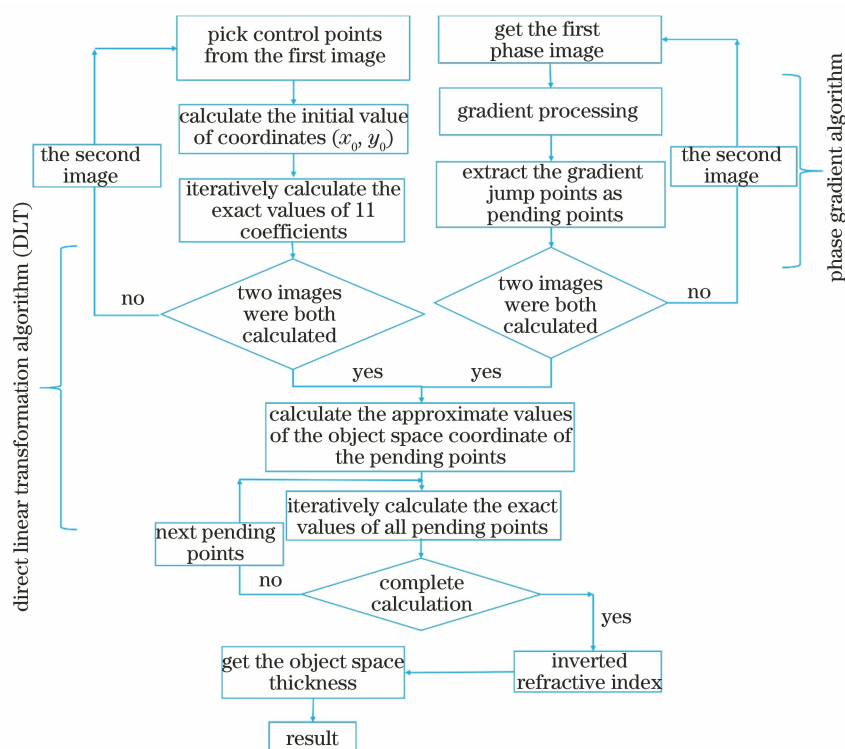


图 1 基于两幅正交相位图像的三维形态快速重建算法流程

Fig. 1 Flow chart of fast three-dimensional morphological reconstruction algorithm based on two orthogonal phase images

为便于阐释算法和定量分析,建立了双介质模型来模拟有核细胞基本结构,即以椭球代表胞体,内部小球模拟胞核,如图 2(a)所示。为描述简洁,令胞体和胞核中心坐标为同一点(0,0,0),椭球半主轴长分别为 14,16,18 μm ,内球半径为 4 μm 。设环境液的折射率(n_m)、胞质的折射率(n_1)与胞核的折射率(n_2)分别为 1.33、1.36 和 1.45, $d_{i(i=1,2,3)}$ 表示光线穿过的各介质厚度,如图 2(b)所示,入射光波长 $\lambda=632.8 \text{ nm}$ 。

设光线沿 Z 轴方向入射,先后穿入环境液、细胞质、细胞核,再经由细胞质、环境液穿出样本,如图 2(b)所示。因胞质与胞核的折射率在短时间内不会出现较大波动,且在胞质与胞核内不同位置的折

射率变化不明显,通常可用平均折射率 $n_c(x, y, z)$ 表征同种介质^[19],故由该细胞模型引起的光波相移为

$$\phi(x, y) = \frac{2\pi}{\lambda} \int_0^{h(x, y)} [n_c(x, y, z) - n_m] \cdot dz, \quad (1)$$

式中: $\phi(x, y)$ 表示样品的相位分布; $\frac{2\pi}{\lambda}$ 表示波数; $n_c(x, y, z) - n_m$ 表示样品的折射率差值; $h(x, y)$ 表示样品的空间厚度; (x, y) 表示像点坐标。在 XOY 面内的相移分布如图 2(c)所示。具体来说,以图 2(b)中经过球心的光线 AB 为例计算该路径上的相移值。

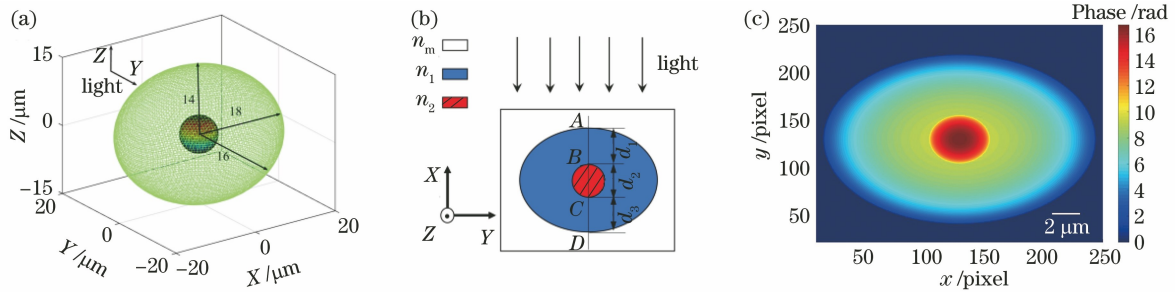


图 2 双介质同心椭球模拟的有核细胞模型。(a)模型空间结构示意图;(b)模型的折射率分布;(c)模型在 XOY 面内的相移分布图
Fig. 2 Nucleated cell model for concentric ellipsoid simulation in two media. (a) Schematic diagram of model space structure; (b) refractive index distribution of model; (c) phase shift distribution of model in XOY plane

$$\phi(x, y) = \frac{2\pi}{\lambda} [(n_1 - n_m) \cdot d_1 + (n_2 - n_m) \cdot d_2 + (n_1 - n_m) \cdot d_3]. \quad (2)$$

由(2)式可直观看出:相位分布表现的是样本各层物理厚度与折射率乘积沿光线入射方向的累积;入射方向不同时,同一样品引起的相位分布就不同,但作用机理相同,为避免重复,仅以光线沿 Z 轴入射的情形为例说明样本形态数据的获取步骤。

样本内不同结构的边界处是样本相位变化最为明显的位置。因为标量场中某一点的梯度指向该处标量增长最快的方向^[20],所以所提算法利用梯度算子从样本相位分布中提取形态信息。由图 2(c)获得的相位梯度分布如图 3(a)所示,仿真所用的记录平面的尺寸设置为 40×40 ,单位为 μm^2 ,记录平面像素点为 256×256 平面像素,则每个像素点的尺寸为 $40/256 \mu\text{m}$ 。

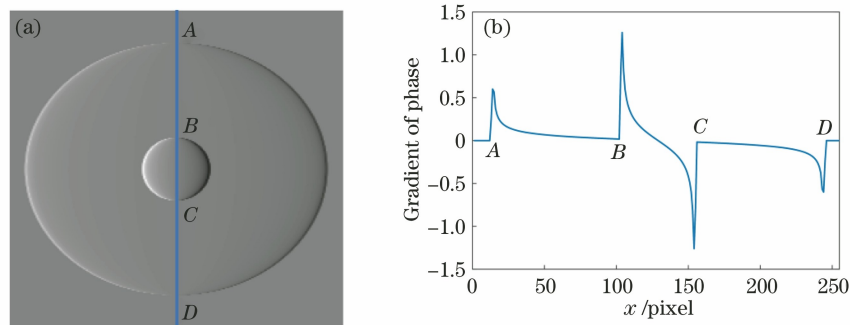


图 3 图 2(c)模型相位图沿 X 方向的梯度分布。(a)细胞模型相位的梯度处理图;(b)模型沿 AD 方向的梯度分布曲线
Fig. 3 Gradient distribution of model phase image along X direction shown in fig. 2(c). (a) Gradient processing diagram of cell model phase; (b) phase gradient curve along AD direction of cell model

含核椭球模型引起的相移数学表达式为

$$\phi(x, y) = \frac{2\pi}{\lambda} \left[(n_1 - n_m) \times 2 \times \sqrt{c^2 - \frac{c^2 \cdot x^2}{a^2} - \frac{c^2 \cdot y^2}{b^2}} + (n_2 - n_1) \times 2 \times \sqrt{R^2 - x^2 - y^2} \right], \quad (3)$$

式中： a, b 分别为椭球赤道半径（沿着 X 轴和 Y 轴）、 c 为椭球极半径（沿着 Z 轴）； R 为内球半径。需要指出的是，对于规则的几何体方可给出上述相位分布的解析式，对于形态结构不规则的样品则无法给出，但实际操作中对样品形态的分析是基于相

位数据实际分布的，无需解析式，(3) 式和接下来的 (4)、(5) 式仅为给出该分析方法的理论依据。基于相移数据对 x 求偏导，即可求出相位梯度，梯度分布如图 3(b) 所示，表达式为

$$\frac{\partial \phi(x, y)}{\partial x} = \frac{2\pi}{\lambda} \left[(n_1 - n_m) \times \left(-\frac{c^2 \cdot 2}{a^2} \right) \frac{x}{\sqrt{c^2 - \frac{c^2 \cdot x^2}{a^2} - \frac{c^2 \cdot y^2}{b^2}}} + (n_2 - n_1) \times \frac{-2x}{\sqrt{R^2 - x^2 - y^2}} \right]. \quad (4)$$

在图 3(a) 中可以清晰分辨出模型椭球形胞体和球形胞核的二维边界，与 (4) 式所表达的形态相符。为定量提取样本的形态信息，按像素逐行取梯度分布曲线。例如在图 3(b) 梯度分布图中取相位梯度在 $y=0$ 处的曲线，表达式为

$$\begin{aligned} \frac{\partial \phi(x, 0)}{\partial x} = \frac{2\pi}{\lambda} \left[(n_1 - n_m) \times \left(-\frac{c^2 \cdot 2}{a^2} \right) \frac{x}{\sqrt{c^2 - \frac{c^2 \cdot x^2}{a^2}}} + (n_2 - n_1) \times \frac{-2x}{\sqrt{R^2 - x^2}} \right] = \\ C_1 \cdot \frac{x}{\sqrt{1 - \frac{x^2}{a^2}}} + C_2 \cdot \frac{x}{\sqrt{R^2 - x^2}}, \end{aligned} \quad (5)$$

式中： C_1, C_2 为定值，其中 $C_1 = \frac{-4\pi \cdot c \cdot (n_1 - n_m)}{a^2 \cdot \lambda}$ ， $C_2 = \frac{-4\pi \cdot (n_2 - n_1)}{\lambda}$ 。从 (5) 式可以看出，在 $x = \pm a$ 或者 $x = \pm R$ 处，即在曲线与样本边界交点处梯度无意义。但在数值处理上是通过前向差分的方法来计算相位梯度的，在 $x = \pm a$ 或者 $x = \pm R$ 处相位梯度值是相邻区域内的极大值，在梯度分布曲线上表现为跳变点，如图 3(b) 中 A、B、C、D 点所示，对应着 $y=0$ 的相位梯度曲线与不同介质边界的交点处。由此经逐行取梯度

即可获得样本在 XOY 面投影的形态边界。

相移值本身所包含的厚度信息是在与边界垂直方向上的，仅从一幅相位图中无法建立它们的关联而相位信息又未得到充分利用^[21]。为解决这一问题，所提算法在两个相互正交的入射光方向分别采集 2 幅相位图，先分别提取出样品在两个入射光对应投影面上的边界信息，再运用相应算法由这两组相互正交的平面数据间的对应关系反演出样品轮廓的三维坐标。其中正交采样装置采用本课题组设计的正交干涉相位成像装置，如图 4 所示。

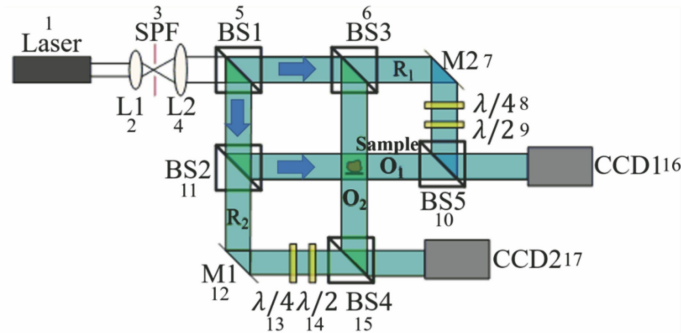


图 4 正交干涉相位成像装置^[22]

Fig. 4 Imaging device of orthogonal interference phase^[22]

在图 4 中, L1、L2 为磨砂透镜; SPF 为空间滤波器; BS1 ~ BS5 均为分光器; M1、M2 为反射镜。参考光 R1 和物光 O1、参考光 R2 和物光 O2 分别通

过 BS5、BS4 发生干涉, 样品相位信息分别被 CCD1、CCD2 所采集。按像素坐标逐点进行上述的梯度处理即可得到样品正交方向的边界信息, 如表 1 所示。

表 1 双介质同心椭球模型正交方向边界点坐标

Table 1 Orthogonal boundary point coordinates of two-medium concentric ellipsoid model

Serial number	Light along Y direction		Light along Z direction	
	XOZ projection face coordinate x /pixle	XOZ projection face coordinate z /pixle	XOY projection face coordinate x /pixle	XOY projection face coordinates y /pixle
1	116	40	119	27
2	142	40	139	27
3	108	41	111	28
4	150	41	147	28
5	102	42	105	29
6	156	42	153	29
⋮	⋮	⋮	⋮	⋮

接下来建立两组平面坐标间的对应关系以获得样品轮廓的三维坐标。基于快速重建的目的, 所提算法采用直接线性变换(DLT)算法^[23-25]进行求解。

DLT 算法通过设置已知点建立不同投影面上坐标间的关联, 进而基于这个关联由物点投影坐标获得各物点在同一空间坐标系下的三维定位, 如图 5 所示。A 表示在待重建物体表面上布置的控制点, 空间坐标为 $A(X_0, Y_0, Z_0)$, 在两投影面上的坐标分别为 $A_Z(x_1, y_1)$ 和 $A_Y(x_2, z_2)$ 。点 B 表示待重建物体上的某点, 空间坐标未知, 但在两个投影面 X 和 Y 内的坐标已知, 为 $B_Z(x_3, y_3)$ 和 $B_Y(x_4, z_4)$ 。DLT 算法通过迭代计算找出 $A(X_0, Y_0, Z_0)$ 、 $A_Z(x_1, y_1)$ 与 $A_Y(x_2, z_2)$ 三者之间的关系, 也就是获得待重建物体空间坐标与两个投影坐标之间的关系, 之后反向运用这二者间的关系, 由已知的投影坐标 $B_Z(x_3, y_3)$ 和 $B_Y(x_4, z_4)$ 解算出未知的空间点 B 的三维坐标, 实现对待建物体的三维重建。为简洁起见, 具体迭代计算过程不在此一一列出, 仅对控

制点作简要说明。平面坐标系中的两个平面坐标要对应到三维坐标系中需根据转换矩阵建立 2 个方程, 在这两个方程中每个空间坐标都需要设置一个匹配系数, 加上常数项, 一共有 11 个系数, 具体表达式为

$$\begin{cases} x + \frac{l_1 X + l_2 Y + l_3 Z + l_4}{l_9 X + l_{10} Y + l_{11} Z + 1} = 0 \\ y + \frac{l_5 X + l_6 Y + l_7 Z + l_8}{l_9 X + l_{10} Y + l_{11} Z + 1} = 0 \end{cases}, \quad (6)$$

式中: X, Y, Z 表示空间坐标。系数 l_i 可以通过最小二乘法来求解。为求解这 11 个 l_i 系数, 需要 11 个独立方程, 1 个控制点能提供 2 个方程, 故至少需要 6 个控制点来求解 l_i 系数。求解直接线性变换的本质是一种空间后方交会-空间前方交会的解法, 求解 l_i 系数相当于后交, 用求解的 l_i 系数和两张以上待定点的像点坐标解算待定点的空间坐标相当于前交, 待定点是上述梯度提取的边界点。后续试验表明, 控制点的数目和位置是三维轮廓重建结果的重

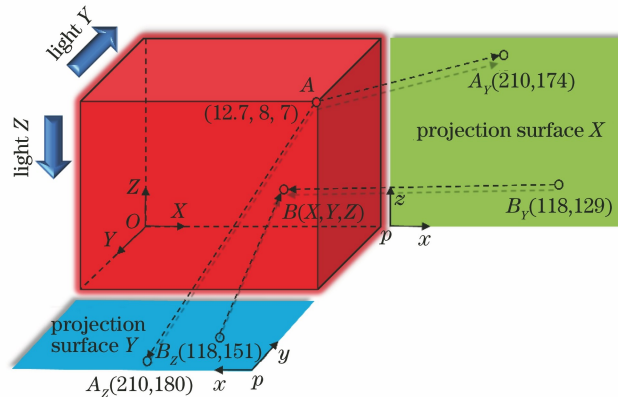


图 5 直接线性变换算法原理示意图

Fig. 5 Schematic of direct linear transformation algorithm

要因素,控制点的分布需要满足空间分布均匀、构象范围大的要求。根据立体方框结构控制点分布^[26]可知,样品的重构精度取决于控制点构成空间是否包含需测量空间,控制点在测量空间中是否均匀分布以及控制点的数量。由实际操作实验可知,控制

点越多,样品构建的精度越高。最终在样品正交边缘边界上布置了 80 个外层控制点,76 个内层控制点,这些控制点均匀分布在样本的物方空间上,如表 2 所示(表中仅列出部分数据)。

表 2 双介质同心椭球模型不同正交方向的控制点坐标

Table 2 Control point coordinates of two-medium concentric ellipsoid model in different orthogonal directions

Serial number	XOZ projection face coordinate		XOY projection face coordinate		Spatial coordinate		
	x /pixle	z /pixle	x /pixle	y /pixle	X / μm	Y / μm	Z / μm
1	210	174	210	180	12.7	8	7
2	210	84	210	180	12.7	8	-7
3	210	174	210	78	12.7	-8	7
4	210	84	210	78	12.7	-8	-7
5	48	174	48	180	-12.7	8	7
6	48	84	48	180	-12.7	8	-7
⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮

由上述控制点求解出 l_i 系数及像主心点 (x_0, y_0) ,再基于这些参数,由待重建轮廓的 2 幅正交方向投影信息反演出相应的三维坐标,如图 6 所示。

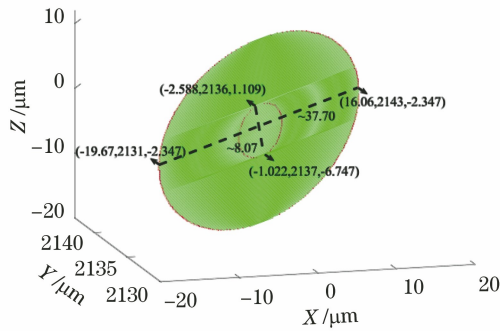


图 6 双介质同心椭球模型的轮廓重建图

Fig. 6 Contour reconstruction image of two-medium concentric ellipsoid model

据此三维数据可以定量地得到样品在相应方向上的物理厚度。同时从图 6 中也可看出,仅上述轮廓数据尚不能提供样品结构全貌。因而所提算法继续基于样品相位分布、物理厚度分布、折射率间的关联反演样品的三维表面形态。折射率是物质的本质属性,细胞内部不同亚结构的折射率不同。而相移是样品折射率与物理厚度的函数,仍以光线沿 Z 方向入射样品的情形为例,分析它们之间的定量关系。为表述简洁起见,以单一均匀介质样本为例,样品引起的相移可简化为

$$\Phi(x, y) = \frac{2\pi}{\lambda} \times \Delta h \times [n_c(x, y, z) - n_m], \quad (7)$$

式中: Δh 表示样品的物理厚度。在相移分布、入射波长、环境液折射率已知的前提下,若能知道样品沿入射方向物理厚度的线分布,就可以根据(7)式推演

出样品的平均折射率,而这个厚度的线分布可以根据上述获得的轮廓三维坐标计算出来。若将样品轮廓在光线入射方向对应的厚度坐标值分别用 z_1, z_2 表示,两者差值即为(7)式中的 $\Delta h = z_2 - z_1$,这样介质与周围环境液的折射率差值 Δn (即折射率偏移)就可以表示为

$$n_c(x, y, z) - n_m = \frac{\Phi(x, y) \times \lambda}{2\pi \times \Delta h}. \quad (8)$$

将折射率偏移 Δn 代入相移分布即可反演出样品沿光入射方向的厚度分布,

$$\int_0^{h(x,y)} dz = \frac{\varphi(x, y) \times \lambda}{2\pi \times \Delta n}. \quad (9)$$

在数字全息技术下,该厚度是按照样品在入射光正投影面上的像素坐标分布的,依据坐标值将该分布与此前求得的样品投影面的边界分布相匹配,即完成样品结构三维表面的反演。出于表述的简洁,上述推导是基于均匀介质样本展开的,如果是包含多层亚结构的复杂样品,演算的思路相同,区别在于需分别计算各介质与环境液的折射率差值,进而分别获得各亚结构表面形貌信息。以上述双介质椭球模型为例,反演得到的样品三维厚度分布如图 7 所示。

从图 7 可以看出,重建结果与模型具有很好的一致性。为定量说明该重建算法的有效性,表 3 给出了反演得到的样品不同亚结构折射率、物理厚度的误差、重建耗时,该耗时是指从相位图经梯度计算获取边界信息直至三维形貌重建完成所需的时间。

从表 3 中可以看出:上述相位体形貌法对具有不同几何特征的表面(如示例中全对称的球面和轴

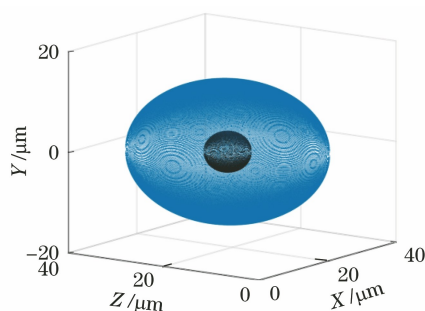


图 7 基于沿 Y 方向相位数据的同心椭球相位模型三维形貌重建结果

Fig. 7 Three-dimensional shape reconstruction result of concentric ellipsoid phase volume model based on phase data along Y direction

对称的椭球面)都有效;重建的内核、外胞相关尺寸和折射率偏移情况与原模型吻合,误差均小于 5%;处理速度可满足实时重建的要求。需要说明的是,

由于所提算法的重建思路是根据 2 幅相位图反演出样品在相应位置上的物理厚度,然后基于相位定义计算出各介质的平均折射率,最后根据样品整体相位分布将样品的空间物理厚度分布解构出来,故模型的重建精度是以样品重建出来的物理半径(或轴长)为依据进行判断的。

3 其他例证及实验结果分析

为了验证所提算法的普适性,对另一个具有不同空间特征的模型(偏心模型)进行了重建。所建立的双介质偏心球体模型如图 8(a)所示,外球与内球的球心分别为(0,0,0)和(0.25,0,0)。设定环境液折射率 n_0 为 1.33,外球折射率 n_1 为 1.36,内球折射率 n_2 为 1.45。当入射光来自 Y 方向与 X 方向时,该模型的相位图如图 8(b)和图 8(c)所示。

表 3 双介质同心椭球模型的反演结果

Table 3 Contour extraction results of two-medium concentric ellipsoid model

Direction	Spheroid axis long		Ball diameter		Δn_{1m}		Δn_{21}		Rebuilding time /s
	Solution value / μm	Error /%	Solution value / μm	Error /%	Solution value / μm	Error /%	Solution value / μm	Error /%	
X	37.7	4.7	8.4	5.0	0.029	3.3	0.086	4.4	0.48
Z	28.0	0	7.9	1.25	0.03	0	0.092	2.2	

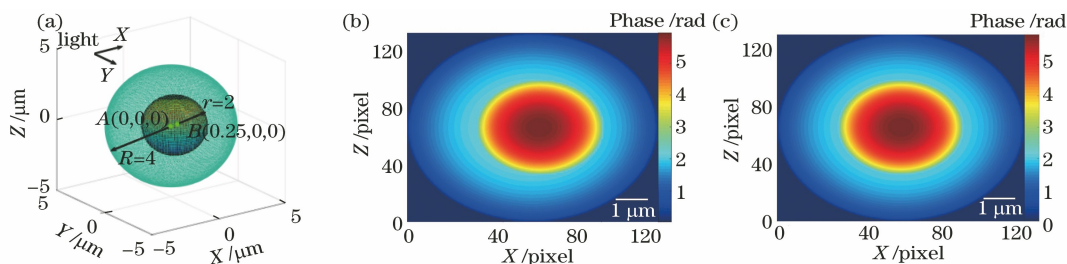


图 8 双介质偏心球体模型。(a)模型空间结构示意图;(b)模型在 XOZ 面的相位图;(c)模型在 YOZ 面的相位图

Fig. 8 Two-medium eccentric sphere model. (a) Schematic diagram of model space structure; (b) phase map of model in XOZ plane; (c) phase map of model in YOZ plane

根据上述算法,2 幅相互正交的相位分布先后历经由相位梯度提取二维边界信息、解算轮廓三维

坐标、反演折射率和空间厚度,重建得到的形态结构参数如表 4 所示。

表 4 双介质偏心球模型重建数据

Table 4 Reconstruction data of tow-medium eccentric sphere model

Direction	Thickness	Refractive index	Thickness	Refractive index	Time /s
	$\Delta h_1 / \mu\text{m}$	difference Δn_{10}	$\Delta h_2 / \mu\text{m}$	difference Δn_{21}	
Standard	8.0	0.03	4.0	0.09	0.21
Z	8.1	0.029	4.01	0.089	
Error /%	1.25	3.33	0.25	0.11	

由此反演空间厚度绘制出的样品三维形貌如图 9 所示。从表 4 数据和图 9 可知,重建结果与原型基本吻合,可见所提算法对于非同心结构同样有效。

为了验证所提算法在实际应用中的有效性,基于成像实验进行了形态反演。为便于比较对照,以直径 8 μm 的标准聚苯乙烯微球为样品(折射率

$n_1=1.5916$, 尺寸误差在 3% 以内), 环境液为 Cargille 折射率匹配液, 折射率标定值 $n=1.422 \pm 0.0002(25\text{ }^\circ\text{C})$, 在 $23\text{ }^\circ\text{C}$ 下经阿贝折射仪实测 $n_0=1.4218$ 。以 Z 轴方向入射的情形为例, 根据上述步骤重建得到的参数和形貌分别如表 5 和图 10 所示。

表 5 聚苯乙烯微球三维形貌重建信息

Table 5 Three-dimensional shape reconstruction information of polystyrene microsphere

Parameter	Thickness $\Delta h_1/\mu\text{m}$	Refractive index difference n_{10}	Time /s
Standard	8.0	0.1698	0.19
Value	7.8	0.1657	
Error /%	2.5	2.4	

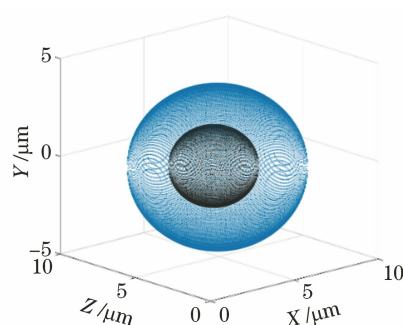


图 9 基于沿 Y 方向相位数据的偏心相位体模型三维形貌重建结果

Fig. 9 Three-dimensional shape reconstruction result of eccentric phase volume model based on phase data along Y direction

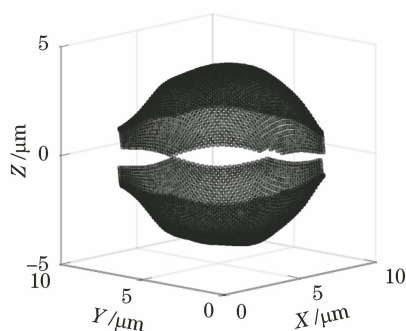


图 10 聚苯乙烯微球三维形貌重建结果

Fig. 10 Three-dimensional reconstruction result of polystyrene microsphere

基于实验数据的重建结果不到 0.2 s 即可获得, 且表面形态和直径数值均与原型吻合。同时从图 10 中也可以看出, 聚苯乙烯微球的三维重建形貌图上出现了空白缺失部分。多次实验分析表明该部分是由对实验相位数据进行降噪滤波引起的。后续工作将对这一不足通过实验数据校准、布置控制点、改进算法等途径进行优化。

对于相位成像下的三维形态重建来说, 相位信息本身受到入射光方向的调制, 往往多角度成像的帧数越多, 重建精度越高。如文献[15]采集了 180 张相位图, 结合自干扰数字全息显微镜和层析成像模块的成像方法测量了人恶性淋巴瘤细胞核仁的折射率 $n=1.385 \pm 0.0072$; 全角度成像方法^[16]则基于 360 幅相位图得到小鼠乳腺癌细胞细胞质的折射率约为 1.365~1.375, 细胞核折射率峰值为 1.395, 折射率测量精度优于 0.005。而精度的提高是以增加测量和计算的数据量为代价的, 在一些对成像和数据处理流程的快捷性要求较高的工作场景中不甚适用。所提算法仅需从两个正交方向采集样品的各一幅相位图, 硬件和时间成本较低, 数据采集量存储量小, 计算便捷, 在生物细胞快速分类和动态实时监测等工作中具有一定的应用前景。

4 结 论

提出了一种基于 2 幅相互正交的相位分布图对样品亚结构三维坐标进行解算反演的算法。所提算法根据已获得相位分布图进行相位梯度处理获得样品轮廓的二维投影, 进而通过直接线性变换解算出样品相应位点的空间厚度以及各亚结构的平均折射率, 最后基于相位分布重建出样品三维形貌。该三维形态重建算法仅需采集 2 幅相位图, 计算处理耗时约为 0.2 s, 可为无色透明物体的原态实时检测研究提供参考。同时也注意到, 所提算法简便快速, 但是重建结果的精度尚有待提高, 其中多角度照明成像是一个有效的途径, 故后续将适当增加相位图采集数量并基于非正交的相位数据进行三维重建。此外, 文中建立的仿真模型和采用的实验样本较真实细胞来说结构简单得多, 后续将对更多的实际相位体, 如红细胞、中线粒细胞等样本进行三维重建的尝试, 包括像光路设计、数据预处理优化、算法优化等等。

参 考 文 献

- [1] Long X Y, Tian C. Biomedical photoacoustic microscopy: advances in technology and applications [J]. Chinese Journal of Lasers, 2020, 47(2): 0207016.
龙晓云, 田超. 生物医学光声显微成像: 技术和应用进展 [J]. 中国激光, 2020, 47(2): 0207016.
- [2] Firdaus E R, Park J H, Lee S K, et al. 3D morphological and biophysical changes in a single tachyzoite and its infected cells using three-

- dimensional quantitative phase imaging[J]. *Journal of Biophotonics*, 2020, 13(8): e202000055.
- [3] Lu J S, Zeng Y N, Chang X Y, et al. Quantitative phase imaging of cells through turbid media based on infrared digital holographic microscopy[J]. *Applied Physics Express*, 2021, 14(3): 035004.
- [4] Gao P, Wen K, Sun X Y, et al. Review of resolution enhancement technologies in quantitative phase microscopy[J]. *Infrared and Laser Engineering*, 2019, 48(6): 0603007.
郜鹏, 温凯, 孙雪莹, 等. 定量相位显微中分辨率增强技术综述[J]. *红外与激光工程*, 2019, 48(6): 0603007.
- [5] Xu X Q, Xie M, Ji Y, et al. Rapid quantitative phase imaging using deep learning for phase object with refractive index variation[J]. *Journal of Modern Optics*, 2021, 68(6): 327-338.
- [6] Polonschii C, Gheorghiu M, David S, et al. High-resolution impedance mapping using electrically activated quantitative phase imaging[J]. *Light: Science & Applications*, 2021, 10: 20.
- [7] Ünal A, Kocahan Ö, Altunan B, et al. Quantitative phase imaging of erythrocyte in epilepsy patients[J]. *Microscopy Research and Technique*, 2021, 84(6): 1172-1180.
- [8] Abou K A, Gebremichael W, Petit Y, et al. Refractive index change measurement by quantitative microscopy phase imaging for femtosecond laser written structures[J]. *Optics Communications*, 2021, 485: 126731.
- [9] Braham I Z, Kaouel H, Ammous I, et al. Swept-source optical coherence tomography angiography findings in hypertensive chorioretinopathy[J]. *Acta Ophthalmologica*, 2021, 99(S265): aos.0204.
- [10] Li T T, Feng D W, Li Q, et al. Quantitative detection method of fluorescence immunochromatography based on microscopic digital image[J]. *Chinese Journal of Lasers*, 2020, 47(11): 1107001.
李婷婷, 冯大伟, 李琦, 等. 基于显微镜数字图像的荧光免疫层析定量检测方法[J]. *中国激光*, 2020, 47(11): 1107001.
- [11] Hu T, Hua W Q, Wang Y D, et al. Small-angle X-ray scattering tomography based on micro-focusing Kirkpatrick-Baez mirrors[J]. *Acta Optica Sinica*, 2018, 38(1): 0134001.
胡涛, 滑文强, 王玉丹, 等. 基于 Kirkpatrick-Baez 镜聚焦的 X 射线小角散射显微层析成像[J]. *光学学报*, 2018, 38(1): 0134001.
- [12] Nishida T, Yoshimura R, Nishi R, et al. Application of ultra-high voltage electron microscope tomography to 3D imaging of microtubules in neurites of cultured PC12 cells[J]. *Journal of Microscopy*, 2020, 278(1): 42-48.
- [13] Li Y, Mao L, Zhang H J, et al. Fast phase unwrapping based on nonlinear look-up table in digital holographic microscopy[J]. *Chinese Journal of Lasers*, 2014, 41(2): 0209025.
李勇, 毛磊, 章海军, 等. 数字全息显微镜中采用非线性查找表的相位快速展开[J]. *中国激光*, 2014, 41(2): 0209025.
- [14] Fan Y, Chen Q, Sun J S, et al. Review of the development of differential phase contrast microscopy[J]. *Infrared and Laser Engineering*, 2019, 48(6): 0603014.
范瑶, 陈钱, 孙佳嵩, 等. 差分相衬显微成像技术发展综述[J]. *红外与激光工程*, 2019, 48(6): 0603014.
- [15] Kuś A, Dudek M, Kemper B, et al. Tomographic phase microscopy of living three-dimensional cell cultures[J]. *Journal of Biomedical Optics*. 2014, 19(4): 046009.
- [16] Lü X. Biological cell imaging research by full-angle digital holographic micro-tomography[D]. Nanjing: Nanjing University, 2020.
吕星. 全角度数字全息显微层析生物细胞成像研究[D]. 南京: 南京大学, 2020.
- [17] Fu Y F, Wu J. Real-time 3D endocardium surface reconstruction method based on sparse and scatter data[J]. *Application Research of Computers*, 2014, 31(8): 2516-2519.
付轶帆, 吴剑. 基于稀疏散乱数据的实时心内膜三维重建方法[J]. *计算机应用研究*, 2014, 31(8): 2516-2519.
- [18] Li S S. Study and system optimization of simultaneous phase-shifting interferometer for measurement of the height of living cells[D]. Beijing: Beijing Institute of Technology, 2015.
李帅帅. 基于同步相移干涉的活体细胞高度测量方法研究及系统优化[D]. 北京: 北京理工大学, 2015.
- [19] Shen X Y. Three-dimensional quantitative phase microscopy imaging and the key technology research for the image analysis[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2013.
沈小燕. 三维定量相位显微镜成像及图像分析关键技术研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2013.
- [20] Fu J H, Wang J P, Wen L H, et al. Bright-field stem cell image segmentation based on improved threshold and edge gradient[J]. *Electronic Measurement Technology*, 2020, 43(20): 109-114.
伏金浩, 王剑平, 闻路红, 等. 基于改进阈值与边缘梯度的亮场干细胞图像分割方法[J]. *电子测量技*

- 术, 2020, 43(20): 109-114.
- [21] Zhang L. Orthogonal holographic phase microscopy and its simulated application basic research on biological cells imaging [D]. Zhenjiang: Jiangsu University, 2015.
张力. 正交全息相位显微技术及其生物细胞成像仿真应用基础研究[D]. 镇江: 江苏大学, 2015.
- [22] Liao J R, Wang Y W, Zou Y, et al. New structure of a special pentaprism designed by simulation for orthogonal phase microimaging [J]. Journal of Physics: Conference Series, 2021, 1813(1): 012019.
- [23] Wang T W. Application of direct linear transformation method with additional constraint conditions [D]. Hefei: Hefei University of Technology, 2018.
汪天伟. 带约束条件的直接线性变换法应用研究[D]. 合肥: 合肥工业大学, 2018.
- [24] Wang W J, Zhang F M, Feng W, et al. Pixel-level mapping method based on digital micromirror imaging system [J]. Acta Optica Sinica, 2017, 37(12): 1211001.
王惟婧, 张福民, 冯维, 等. 基于数字微镜成像系统的像素级映射方法[J]. 光学学报, 2017, 37(12): 1211001.
- [25] Albiol F, Corbi A, Albiol A. Evaluation of modern camera calibration techniques for conventional diagnostic X-ray imaging settings [J]. Radiological Physics and Technology, 2017, 10(1): 68-81.
- [26] Barone F, Marrazzo M, Oton C J. Camera calibration with weighted direct linear transformation and anisotropic uncertainties of image control points [J]. Sensors, 2020, 20(4): 1175.