

数字显微全息中二次项相位误差的补偿*

周文静, 徐强胜, 于瀛洁

(上海大学 精密机械工程系, 上海 200072)

摘要:针对预放大式数字离轴显微全息技术中二次项相位误差, 提出一种基于单幅全息再现的补偿方法. 该方法是在显微物镜后焦平面处实现该相位误差的数学补偿, 相位误差补偿过程具有调整参量单一化的优点. 同时, 利用显微物镜的后焦平面上物点特征实现了最佳再现距离的自动判断. 该文以相位光栅为实验样本, 对该方法进行了实验例证, 实验结果验证了本文所提出二次项相位误差的补偿方法的正确性和有效性.

关键词:光学测量; 数字显微全息技术; 二次项相位误差补偿

中图分类号: TN247

文献标识码: A

文章编号: 1004-4213(2009)08-1972-5

0 引言

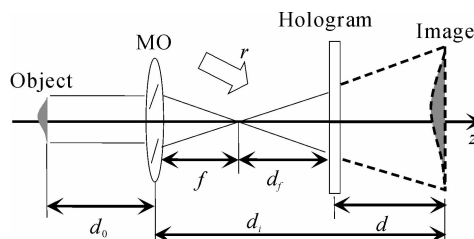
1999 年 CuChe^[1] 等人提出数字全息显微镜 (Digital Holographic Microscopy, DHM) 的概念, 将显微物镜用于数字全息干涉系统, 对显微记录样本进行放大, 可以观察物体的显微结构, 具有更高的分辨能力. 这一方法在传统全息中被称为预放大全息技术^[2], 所以显微物镜在数字全息中的应用, 相应地又被称之为预放大数字显微全息技术^[3-4]. 预放大数字显微全息技术中, 显微物镜所引入的二次项相位因子是影响原始物波正确再现的重要因素. 为此, 很多相关文献中提出了不同的方法来实现该相位误差的补偿. 总体而言, 二次项相位误差的补偿可以分为软件方法和硬件方法. 常见的软件补偿方法有: 1) 经典的数字直接补偿法^[1]; 该方法在再现平面上利用显微物镜二次项相位误差的共轭因子, 直接对再现信息中的相应误差进行比较精确的补偿, 但其共轭因子需要通过不断调整参量得以获得, 且调整参量不具有单一性. 2) RCH 法和 RCH-Self 法^[5]; 这两种补偿思路均是在全息面上寻找显微物镜二次项相位误差的共轭因子, 对该相位误差进行校正. 此方法不需要参量调整, 但对记录样本轮廓特性有限制, 且 RCH 法需要两幅全息图. 3) 文献^[6-11]中也分别提出了一些有效的补偿方法, 但都离不开繁琐的数学调整或迭代过程. 硬件补偿也有两种思路: 1) 记录参考光路中加同样的显微物镜, 使得物波、参考波的曲率相同^[12-13], 即通过光路直接补偿二次项相位误差. 其难点是很难保证两光路中显微物镜的曲率绝对相同、位置绝对匹配; 2) 文献^[14]中介绍的全息图

后放大方法可同时对干涉场的放大和二次项相位误差的补偿——整个记录系统中, 物波和参考波同时经同一个显微物镜放大, 故可以保证两束光波曲率的绝对一致, 从而实现误差的补偿. 但样本的实际放大倍数需要根据记录系统实际情况得以确定.

本文在此提出另一种实现显微物镜二次项相位误差的补偿方法. 该方法主要是在显微物镜后焦平面寻找相应二次项相位因子, 从而实现误差的数学补偿. 基本思路为: 首先数值再现单幅全息图获得显微物镜后焦平面处的物波信息, 在此平面寻找该二次项相位误差因子, 实现误差补偿, 然后利用显微物镜的傅里叶特性, 进行一次逆傅里叶变换 (亦为衍射计算过程) 获得原始物波的相位信息. 该方法为基于单幅全息图的数值再现, 且误差补偿因子中参量调整具有单一化的优点. 另外, 避免了硬件补偿方法的严格限制, 对记录样本特性也没有限制.

1 显微物镜的二次项相位传递特性及其数学表达式

图 1 为预放大显微全息记录示意图及透镜相位传递示意图. 因为透镜具有相位调制作用, 所以数字显微全息系统中, 样本经显微物镜放大后, 其物波信息将携带透镜所引入的相位因子一起往前传播, 再现平面上的再现物波相位信息因此产生畸变.



(a) Magnification system of pre-magnified DHM

*上海市博士后科研资助计划(09R21412900)和上海市科委国际合作项目(09530708700)资助

Tel: 021-56334108

Email: lazybee@shu.edu.cn

收稿日期: 2008-05-19

修回日期: 2008-07-29

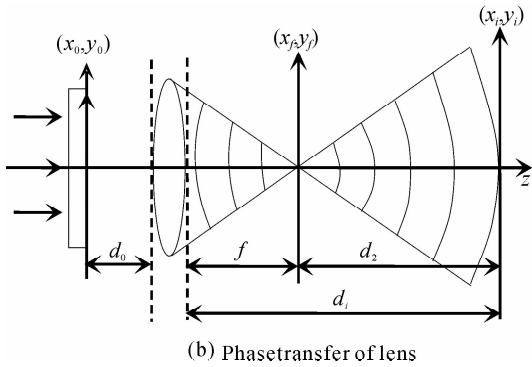


图1 预放大显微全息放大系统及透镜相位传递
Fig.1 Sketch maps for magnification system of pre-magnified DMH and phase transfer of lens

若设 (x_0, y_0) 为物平面, (x_i, y_i) 为透镜的成像平面, (x_f, y_f) 为透镜的后焦平面, d_0 为物面与透镜之间的距离, d_i 为透镜与成像面之间的距离, f 为透镜焦距.若定义显微物镜相位因子为 $\phi_{MO}(x, y)$,根据透镜的透射函数及其傅里叶变换性质,则成像平面 (x_i, y_i) 处

$$\phi_{MO}(x_i, y_i) = \exp \left[i \frac{K}{2d_2} (x_i^2 + y_i^2) \right] \quad (1)$$

式中, $K = \frac{2\pi}{\lambda}$,为波数,且 $d_2 = d_i - f$.

根据 $\frac{1}{f} = \frac{1}{d_0} + \frac{1}{d_i}$,即成像平面上透镜所引入的二次项相位因子函数形式为

$$\phi_{MO}(x_i, y_i) = \exp \left[\frac{i\pi}{\lambda d_i} \left(1 + \frac{d_0}{d_i} \right) (x_i^2 + y_i^2) \right] \quad (2)$$

2 基于显微物镜后焦平面二次相位误差补偿及衍射数值再现

如图1,若对数字全息图以显微物镜后焦平面与 CCD 之间的距离 d_f 作为再现距离进行数值再现,则获得的是显微物镜后焦平面上的物波前信息.且根据式(2)可知在显微物镜后焦平面上,同样可以找到该二次项相位误差因子,故可以进行相应补偿.同时,根据傅里叶光学可知,显微物镜后焦平面处 (x_f, y_f) ,即为物面 (x_0, y_0) 的频谱面,即当获得 (x_f, y_f) 平面的物波信息,通过一次逆傅里叶变换(也为衍射过程计算),就能得到 (x_0, y_0) 物平面上的原始物波信息.

2.1 全息图的数值再现

如图1(a),对于预放大数字显微全息记录系统,CCD记录的是物光波信息与记录参考光波形成的干涉图.根据菲涅耳近似再现算法公式^[1],则如果以显微物镜后焦平面与 CCD 之间的距离 d_f 进行基于菲涅耳近似算法的数值再现,则可获得显微物镜后焦面处的物光波信息 $E(x_f, y_f)$,即

$$\begin{cases} E(x_f, y_f) = z(x_f, y_f) \cdot \mathfrak{F}^{-1} [H(\xi, \eta) \cdot r(\xi, \eta) \cdot \omega(\xi, \eta)] \\ \omega(\xi, \eta) = \exp \left[\frac{i\pi}{\lambda d} (\xi^2 + \eta^2) \right] \\ z(x_f, y_f) = \exp \left[\frac{i\pi}{\lambda d} (x_f^2 + y_f^2) \right] \end{cases} \quad (3)$$

式中, \mathfrak{F}^{-1} 表示一次逆傅里叶变换, $\omega(\xi, \eta)$ 为球面波衍射因子, $z(x_f, y_f)$ 为相位因子, $H(\xi, \eta)$ 、 $r(\xi, \eta)$ 各为全息图及数字再现光波.此时, $E(x_f, y_f)$ 的相位信息中包含记录样本的相位信息及显微物镜引入的二次项相位误差项.

2.2 后焦平面处二次项相位误差补偿及原始物面物波信息的数值再现

如图1(b),根据透镜的傅里叶变换特性及公式(2),综合分析又可得

$$E(x_f, y_f) = \exp \left[-\frac{iK}{2f} \left(1 - \frac{d_0}{f} \right) (x_f^2 + y_f^2) \right] \cdot \mathfrak{F} [E(x_0, y_0)] \quad (4)$$

式中, \mathfrak{F} 表示一次傅里叶变换, $E(x_0, y_0)$ 为透镜物面上的物光波信息,即 $E(x_f, y_f)$ 实质为原物面上物光波信息的频谱分布, $\exp \left[-\frac{iK}{2f} \left(1 - \frac{d_0}{f} \right) (x_f^2 + y_f^2) \right]$ 则为显微物镜在其后焦平面上的二次项相位因子,取其共轭,即为二次项相位误差补偿因子.

整理式(4),有

$$E(x_0, y_0) = \mathfrak{F}^{-1} \left\{ E(x_f, y_f) \exp \left[i \frac{\pi}{\lambda} D_f (x_f^2 + y_f^2) \right] \right\} \quad (5)$$

式(5)即表示对显微物镜后焦平面上的物波信息 $E(x_f, y_f)$ 完成了二次项相位误差的补偿,并衍射计算获得了显微物镜物面上的物波信息 $E(x_0, y_0)$.式中, \mathfrak{F}^{-1} 为逆傅里叶变换,参量 $D_f = (f - d_0)/f^2$,为二次项相位误差补偿因子的调整参量,其中 f 为显微物镜的焦距,是一个定值, d_0 为记录样本到显微物镜的距离,是调整值.即参量 D_f 仅包含一个调整参量 d_0 ,故调整过程具有单一化的特点.

综合式(3)和式(5),则得基于本文所提数字全息图数值再现获得原始物波信息的方法的整个离散数学表达式为

$$\begin{cases} \Psi(m', n') = \text{IFFT} \{ \phi(m, n) * z(m, n) \cdot \text{IFFT} [H(k, l) \cdot r(k, l) \cdot \omega(k, l)] \} \\ \phi(m, n) = \exp \left[i \frac{\pi}{\lambda} D_f (m^2 \Delta x^2 + n^2 \Delta y^2) \right] \\ z(m, n) = \exp \left[\frac{i\pi}{\lambda d} (m^2 \Delta x^2 + n^2 \Delta y^2) \right] \\ \omega(k, l) = \exp \left[\frac{i\pi}{\lambda d} (k^2 \Delta \xi^2 + l^2 \Delta \eta^2) \right] \end{cases} \quad (6)$$

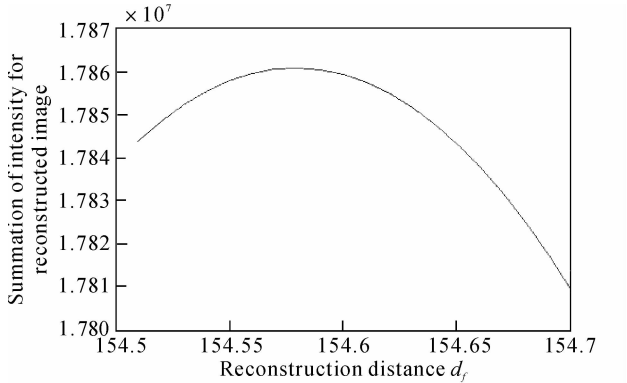
式中,IFFT为快速逆傅里叶变换, k, l, m', n', m, n 为整数 $(-N/2 \leq k, l, m', n', m, n \leq N/2)$, (k, l) 为全

息面的采样点, (m, n) 为显微物镜后焦面处再现面采样点, (m', n') 为物面处采样点, $w(k, l)$ 、 $z(m, n)$ 各为式(3)中球面波衍射因子和相位因子的离散表达式, $(\Delta\xi, \Delta\eta)$ CCD 像素间距, $(\Delta x, \Delta y)$ 为显微物镜后焦平面再现像像素间距。

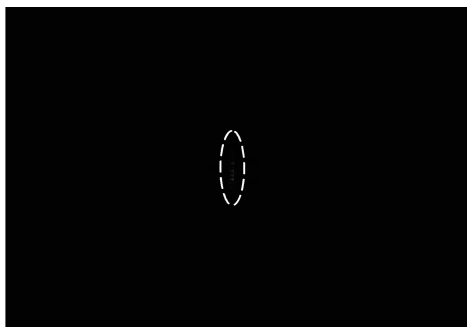
2.3 最佳再现距离 d_f 的判定

根据上述思路, 可知显微物镜后焦平面的准确确定非常重要, 因为其决定再现距离 d_f 的准确确定, 同时也影响二次项相位误差因子的精确度。而根据显微物镜的傅里叶特性, 知显微物镜后焦平面上物光波强度信息的横向空间面积应该最小、能量最集中、数值最大——这一重要特征为准确聚焦的判断提供了一个有力的准则。

本文根据上述重要特性在此实现了最佳再现距离自动判断, 以获得再现距离。图 2(a) 为获得最佳再现距离的自动判断曲线, 其中曲线拐点处的距离值即为所需要的精确再现距离值, 其准确度为 0.01 mm (其准确度可根据实际准确度需要设置)。图 2(b) 即为最佳再现距离所对应的显微物镜后焦平面处物信息的强度分布(图中白色虚线包围区域内所示)。



(a) Estimation curve for optimal reconstruction distance d_f



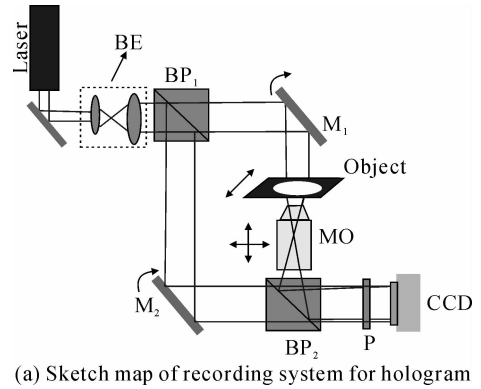
(b) Intensity map of the reconstruction information on the back focal plane of MO according to the optimal reconstruction distance

图 2 再现距离 d_f 的精确判断

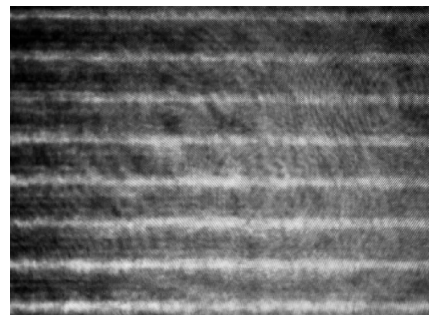
Fig. 2 Accurate estimation for the reconstruction distance d_f

3 实验举例

图 3(a) 为基于 Mach-Zender 的预放大数字离轴显微全息实验系统, 激光光源经空间滤波器输出



(a) Sketch map of recording system for hologram



(b) Digital hologram for a phase grating

图 3 全息图记录系统示意图及相位光栅数字全息图

Fig. 3 Sketch map of recording system for hologram and digital hologram for a phase grating

平面波, 经分光镜 1 分出两束光。一束平面波经反射镜 1 沿垂直方向投射记录样本, 形成物波, 并经显微物镜放大成像, 其成像在 CCD 后方的某一像平面处。分光镜 1 分出的另一束平面波作为参考光波, 经反射镜 2 至分光镜 2, 与被显微物镜放大后的物光波会合干涉。检偏器的作用是调整干涉强度。

主要实验器件选用: 上海激光所的氦-氖 (He-Ne) 激光器, 输出波长为 632.8 nm, 型号为 1000, 输出功率 ≥ 30 mW (实际输出功率略小于 20 mW), 横向模式为 TEM₀₀, 纵向间隔为 130 MHz; 20 倍率显微物镜一个; CoolSNAP 公司 CoolSNAPcf 制冷型高分辨率 CCD 及配套的图片采集卡, 1392 × 1040 pixels, 4.65 × 4.65 μm 。

以正弦相位光栅 (周期约 20 μm , 刻槽约 0.25 μm) 为全息记录样本, 进行实验分析, 验证前文所提出的二次项相位误差补偿及衍射再现新方法。图 3(b) 为所记录的相位光栅数字全息图 (样本经 20 倍显微物镜放大)。

图 4 是相位光栅数字全息图 (图 3(b)) 利用公式(6)进行二次项相位误差补偿及数值再现结果。利用 2.3 中最佳再现距离判定方法, 获得最佳再现距离为 154.6 mm。其中, 图 4(a) 为未作二次项相位误差补偿时, 数值再现获得的显微物镜物面上物波的二维相位信息, 即包含有记录样本原始相位信息和显微物镜引入的二次项相位误差; 图 4(b) 是二次项

相位误差被完全补偿后,数值再现获得的显微物镜物面上物波的二维相位信息,即为记录样本原始相位信息;图 4(c)为图 4(a)所对应的再现物波的三维相位分布图,很明显地包含有二次项相位误差;图 4(d)为图 4(b)所对应的再现物波的三维相位分布图,即相位光栅三维显微深度图;图 4(e)为图 4(c)沿 y 轴的中间截面图,可见,二次项相位误差的确严重影响了记录样本原始相位信息的正确再现;图 4(f)为图 4(d)沿 y 轴的中间截面图.从图 4(d)和图 4(f)均可看出二次项相位误差已被有效补偿.图中

所示数值再现相位光栅平均深度为 $0.247 \mu\text{m}$,平均周期为 $19.9 \mu\text{m}$,有效像素区域 $880 \times 1150 \text{ pixels}$.

本实验样本也采用 Veeco 干涉仪进行了测试(由上海光机所提供),测得光栅为平整的正弦函数分布式结构,光栅周期约为 $20 \mu\text{m}$,平均深度值为 $0.248 \mu\text{m}$ (限于论文篇幅,本文在此没有附 Veeco 干涉仪测试结果图).故本文实验所获得的结果与记录样本相位光栅的原始数据是相符的.

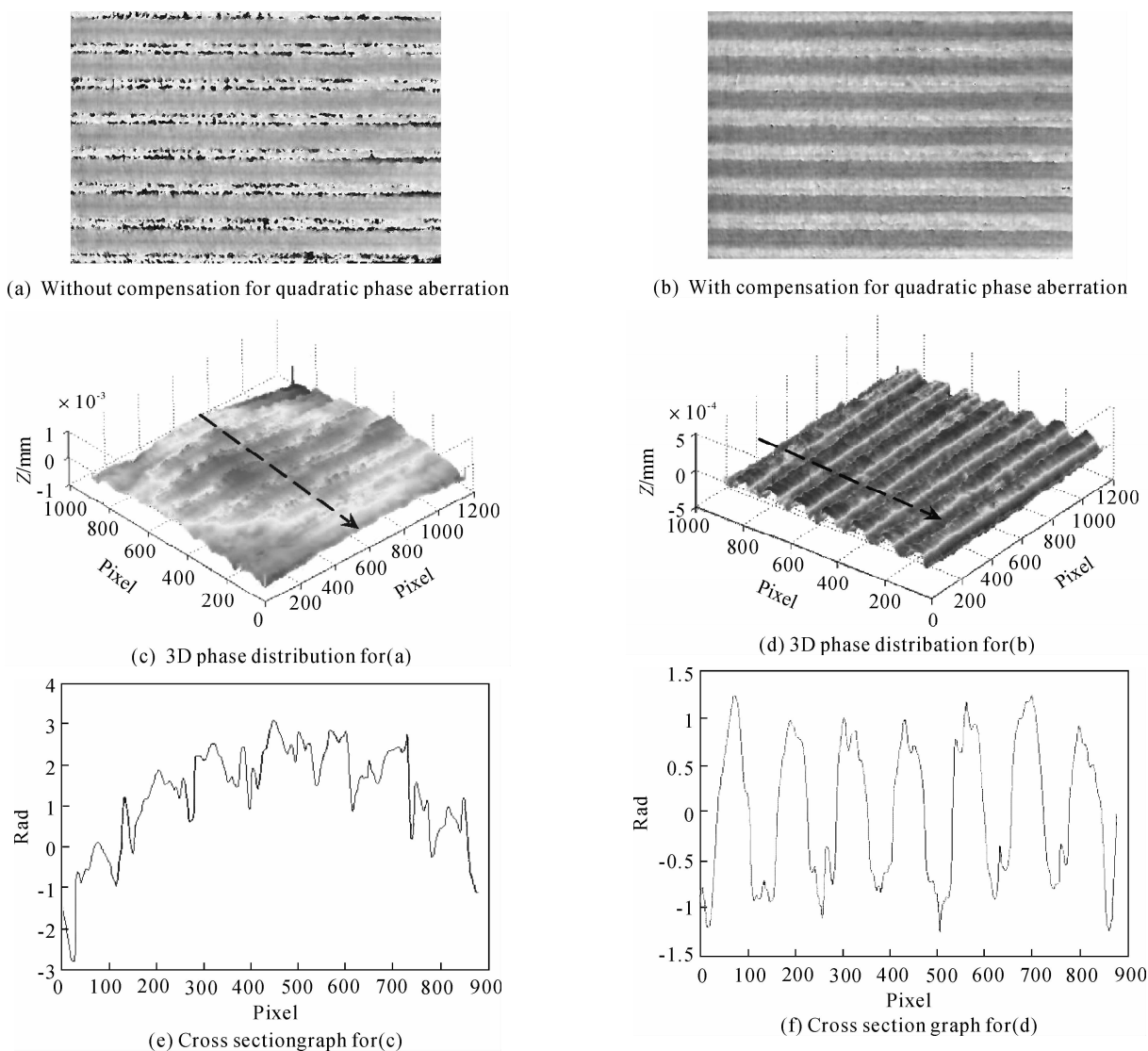


图 4 二次项相位误差补偿实验结果

Fig. 4 Experimentel results on numerical compensation for quadratic phase aberration

4 结论

本文针对预放大数字显微全息中显微物镜引入的二次项相位误差,提出了一种新的补偿方法.该方法在显微物镜后焦平面处完成二次项相位误差补偿,并衍射计算获得原始记录样本的相位信息.该补偿方法理论依据充分,误差补偿因子中只涉及一个调整参

量,即具有调整参量单一化的优点,且基于单幅全息图进行补偿和实现数值再现,故调整过程准确快捷.

论文以相位光栅为实验样本,对该方法进行了实验验证:1)比较图 4(a)、(c)、(e)和图 4(b)、(d)、(f),说明通过本文所提方法可以有效补偿全息再现信息中由显微物镜引入的二次项相位误差;2)利用显微物镜的傅里叶特性,可获得精确的全息图数字

再现距离;3)对于结果中依然存留的一些毛刺误差,本文分析来源于系统光学器件引入的相位噪声及显微物镜引入的相干噪声等,这些误差可利用再现平面相位相减法进行消除。

参考文献

- [1] CUCHE E, MARQUET P, DEPEURSINGE C. Simultaneous amplitude-contrast and quantitative phase-contrast microscopy by numerical reconstruction of Fresnel off-axis holograms[J]. *Appl Opt*, 1999, **38**(34): 6994-7001.
- [2] YU Mei-wen. Optical holography and its applications[M]. *BeiJing: Beijing Institute of Technology Press*, 1996:553.
于美文. 光全息学及应用[M]. 北京:北京理工大学出版社, 1996:553.
- [3] YUAN Cao-jin, ZHONG Li-yun, ZHU Yue, et al. The studies of pre-magnification and phase-shifting lensless Fourier digital holography[J]. *Laser Journal*, 2004, **25**(6):51-53.
袁操今, 钟丽云, 朱越, 等. 预放大相移无透镜傅里叶变换显微数字全息术的研究[J]. 激光杂志, 2004, **25**(6):51-53.
- [4] WANG Hua-ying, WANG Guang-jun, ZHAO Jie, et al. Resolution analysis of imaging system with pre-magnification digital holography[J]. *Acta Photonica Sinica*, 2008, **37**(4): 729-733.
王华英, 王广俊, 赵洁, 等. 预放大数字全息系统的成像分辨率分析[J]. 光子学报, 2008, **37**(4): 729-733.
- [5] TRISTAN C, JONAS K, FLORIAN C, et al. Total aberrations compensation in digital holographic microscopy with a reference conjugated hologram[J]. *Opt Express*, 2006, **14**(10):4300-4306.
- [6] CARL D, KEMPER B, WERNICKE G, et al. Parameter-optimized digital holography microscope for high-resolution living-cell analysis[J]. *Appl Opt*, 2004, **43**(36): 6536-6544.
- [7] COLOMB T, CUCHE E, CHARRIERE F, et al. Automatic procedure for aberration compensation in digital holographic microscopy and applications to specimen shape compensation [J]. *Appl Opt*, 2006, **45**(5):851-863.
- [8] MONTFORT F, CHARRIERE F, COLOMB T. Purely numerical compensation for microscope objective phase curvature in digital holographic microscopy: influence of digital phase mask position[J]. *JOSA*, 2006, **23**(11): 2944-2953.
- [9] COLOMB T, MONTFORT F, KUHN J, et al. Numerical parametric lens for shifting, magnification and complete aberration compensation in digital holographic microscopy[J]. *JOSA A*, 2006, **23**(12):3177-3190.
- [10] WANG Hua-ying, WANG Da-yong, XIE Jian-jun. Reconstruction of object wave front in digital holography microscopy [J]. *Acta Photonica Sinica*, 2007, **36**(6):1023-1027.
王华英, 王大勇, 谢建军. 显微数字全息中物光波前重建方法研究和比较. [J]光子学报, 2007, **36**(6):1023-1027.
- [11] DONG Ke-ping, QIAN Xiao-fan, ZHANG Lei, et al. Digital holographic microscopy study for cells[J]. *Acta Photonica Sinica*, 2007, **36**(11):2013-2016.
董可平, 钱晓凡, 张磊, 等. 数字全息显微术对细胞的研究. [J]光子学报, 2007, **36**(11):2013~2016.
- [12] MANN C J, YU L, LO C M, et al. High-resolution quantitative phase-contrast microscopy by digital holography [J]. *Opt Express*, 2005, **13**(22):8693-8698.
- [13] FERRARO P, NICOLA D S, FINIAIO A, et al. Compensation of the inherent wave front curvature in digital holographic coherent microscopy for quantitative phase-contrast imaging[J]. *Appl Opt*, 2003, **42**(11): 1938-1946.
- [14] ZHOU Wen-jing, YU Ying-jie, ASUNDI A. Study on aberration suppressing methods in digital micro-holography [J]. *Optical and Laser Engineering* (Accepted).

Compensation for the Quadratic Phase Aberration in Off-axis Digital Micro-holography

ZHOU Wen-jing, XU Qiang-sheng, YU Ying-jie

(Department of Precision Mechanical Engineering, Shanghai University, Shanghai 200072, China)

Abstract: A new method is presented to compensate the quadratic phase aberration introduced by Micro-Objective (MO) in Pre-magnified off-axis Digital Micro-Holography (DMH). It can realize the numerical compensation for the quadratic phase aberration on the back focal plane of the MO. By using this method, one parameter only need to be adjusted numerically to compensate the phase aberration and also only one hologram is needed. And, the auto-calculation for the reconstruction distance is performed in term of the spectrum information characteristic of back focal plane of MO. The experimental example is presented with a phase grating used as a testing specimen. The experimental results validate the presented numerical compensation method right and validity. Some experimental conclusion and analysis are also given at last.

Key words: Optics measurement; Digital micro-holography; Quadratic phase aberration compensation.

ZHOU WEN-jing received the Ph. D. degree in 2007. Now she is working on digital micro-holography at Lab of Applied Optics and Metrology of Shanghai University as a Post-Doctor.

