

# 基于数字全息显微的高分辨成像方法的研究

郭启航<sup>1</sup>, 曾雅楠<sup>1\*</sup>, 许 潇<sup>1</sup>, 胡晓东<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>天津农学院工程技术学院, 天津

<sup>2</sup>天津微纳制造技术有限公司, 天津

<sup>3</sup>天津大学, 精密测试技术及仪器国家重点实验室, 天津

收稿日期: 2021年9月18日; 录用日期: 2021年10月9日; 发布日期: 2021年10月14日

## 摘 要

远场成像分辨率是数字全息显微技术应用于测量微纳米几何量的重要技术参数。高分辨成像对提高全息技术性能具有重要意义。本文分析了小孔结构在提高高频光收集效率、校正像差方面的优势, 证明小孔结构具有提高成像分辨率的作用。通过在传统透射式数字全息光路中加入小孔结构, 构成高分辨数字全息系统, 对标准分辨率板进行实验。实验结果表明, 成像弥散斑减小, 成像分辨率突破衍射极限, 得到提升, 为实现数字全息的高分辨测量提供一种技术方法。

## 关键词

小孔, 数字全息, 分辨率

# Study on the High-Resolution Imaging Method Based on Digital Holographic Microscopy

Qihang Guo<sup>1</sup>, Yanan Zeng<sup>1\*</sup>, Xiao Xu<sup>1</sup>, Xiaodong Hu<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>College of Engineering and Technology, Tianjin Agricultural College, Tianjin

<sup>2</sup>Tianjin Micronano Manufacturing Technology Co., Ltd., Tianjin

<sup>3</sup>State Key Laboratory of Precision Measuring Technology and Instruments, Tianjin University, Tianjin

Received: Sep. 18<sup>th</sup>, 2021; accepted: Oct. 9<sup>th</sup>, 2021; published: Oct. 14<sup>th</sup>, 2021

\*通讯作者。

文章引用: 郭启航, 曾雅楠, 许潇, 胡晓东. 基于数字全息显微的高分辨成像方法的研究[J]. 光电子, 2021, 11(4): 151-157. DOI: 10.12677/oe.2021.114018

## Abstract

The resolution of far-field imaging is an important technical parameter of digital holographic microscopy, when it is applied to the measurement of micro-nano geometry. High resolution imaging plays an important role in improving the performance of holographic technology. In this paper, the advantages of the small aperture structure in improving the efficiency of high-frequency light collection and correcting aberration are analyzed, and it is proved that the small aperture structure can improve the imaging resolution. In this paper, a high resolution digital holographic system is constructed by adding small aperture structure into the traditional transmission digital holographic optical path. The experimental results show that the imaging diffusion spot decreases and the imaging resolution breaks through the diffraction limit, which provides a technical method for realizing the high-resolution measurement of digital holography.

## Keywords

Small Aperture, Digital Holography, Resolution

Copyright © 2021 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

高分辨成像技术主要有近场光学成像技术和远场光学成像技术。近场光学成像技术,例如近场扫描光学显微镜(SNOM)通过使用一个远小于衍射极限的探针照明样品,收集到样品表面附近的倏逝波,实现纳米量级的分辨率[1]。但近场光学成像技术设备昂贵复杂,扫描的特性更限制了测量实时性。远场光学成像技术具有无损伤、工作距离远、可操作性强的特点。为更好测试微纳器件与系统的制造工艺与性能水平,对此微纳尺度几何量和机械量的测试应具有实时性、动态性,远场光学成像技术更为适用。

近年来,突破衍射极限的远场成像技术已成为研究热点,纵观多种提高分辨力的远场成像技术,虽成像利用远场传输光波,但从原理性出发,或者收集近场倏逝波进行转换为远场光波,提高倏逝波的收集效率,或者矫正像差,优化光场质量。收集方法主要有利用非线性效应、特殊光照明、耦合元件和微球的方法;而优化方法主要为数字优化方法。

受激发射损耗(simulated emission depletion, STED) [2]荧光显微技术基于饱和吸收的非线性效应,通过激发光和损耗光的设计得到小于衍射极限的光斑,从而压缩点扩散函数 PSF 的尺度,实现超分辨测量,最高能够达到 6 nm 的分辨率[3]。特殊光照明常用结构光照明(SIM) [4]或倾斜光照明[5]实现,通过拓宽光学调制函数 OTF,对频谱进行位移操作,将高频分量移到低频范围收集更多光信息提高分辨力,分辨力能够达到 75 nm [6]。耦合元件方法中,超级远场透镜[7]和双曲透镜[8]为常用的耦合元件,通过扩大系统 OTF,可实现 10 nm 的成像分辨力[9]。微球方法使微球与被测物接触,类似透镜作用,增大可收集的倏逝波,可分辨 120 nm 的周期结构[10]。

像差会导致图像的分辨率下降,定位精度下降[11]。优化像差的目的在于调控光场的光波收集质量,优化 PSF。例如利用 Zernike 像差模型校正,能够实现 174Yb+原子位置不确定度 1.7 nm 的分辨力[12]。

综上,国内外研究者从调控 PSF 或者 OTF 的途径提高倏逝波的收集效率和像差模型法优化像差两个角度实现远场高分辨成像,两种方法均取得一定成果。但从本质上讲,两种方法性质不同,本文拟在光路

中加入小孔,在光路中将两种方法统一,使光路同时具有两种优化分辨力的功能,进一步提高成像分辨率。

## 2. 基于数字全息显微的高分辨成像原理

从光收集效率和像差两个角度出发,在光路中加入小孔结构,利用小孔结构的成像特点,提高光收集效率,优化像差,实现高分辨远场成像。小孔结构提高成像分辨力的原理如图 1 和图 2 所示。

图 1(a)中,由于显微放大系统的入瞳口径有限,被测样本边缘点的最大孔径角如图中  $\theta$  角所示,而在加入小孔阵列的图 1(b)中,大于  $\theta$  角的入射角,例如  $\theta'$  角的入射光线,依据小孔成像原理,能够投射到小孔阵列,通过小孔后经过衍射到达显微放大系统的入瞳边界内,进入显微放大系统被成像系统收集参与成像。相对于未加入小孔阵列结构的成像系统,小孔对高频光线有折转、收集的作用,增大了频谱的空间带宽积,扩大系统 OTF,实现超衍射极限分辨。

被测样本经过显微放大系统放大,由于像差的存在,如图 2(a)中,以球差为例,物面上一点在像面上成像为一个弥散斑。弥散斑的尺寸与放大系统的入瞳口径有关,而加入小孔结构后,相当于在系统中加入光阑,改变了入瞳口径的大小,弥散斑尺寸也随之减小,像差对成像分辨力的影响随之减弱,如图 2(b)所示。虽然像差得到优化,但由于通光量相对于未加入小孔结构的系统有大幅缩减,成像强度和视场必会受到影响,所以将小孔结构加工为阵列形式,对阵列成像视场进行拼接,实现全视场测量。

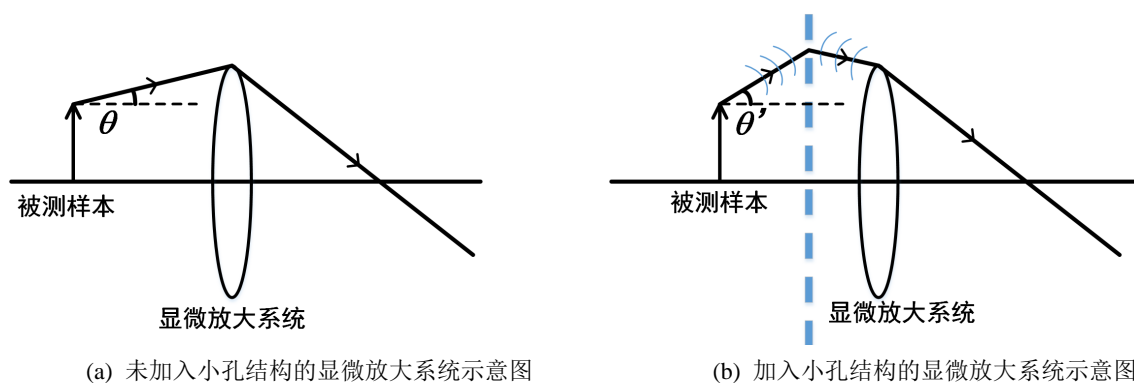


Figure 1. Effect of small aperture structure on light collection efficiency

图 1. 小孔结构对光收集效率的影响

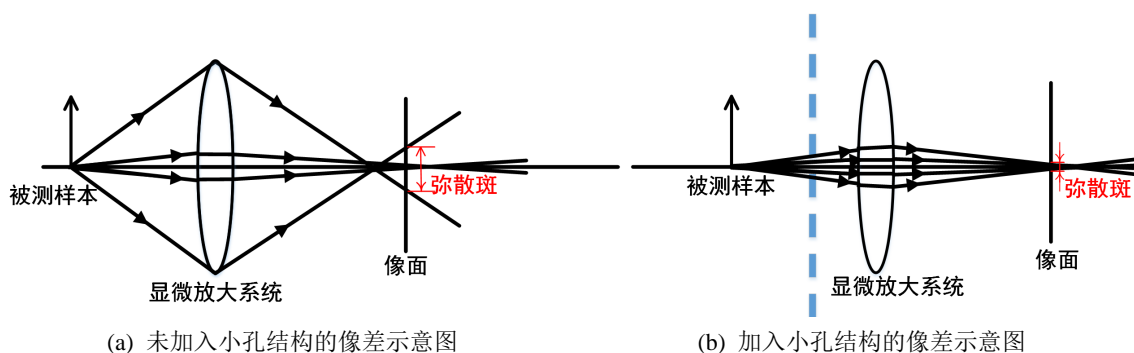


Figure 2. Effect of small aperture structure on aberration

图 2. 小孔结构对成像像差的影响

通过记录样品的离轴全息图和不带有特征样品信息的参考全息图,将两幅全息图均进行二维傅里叶变换,得到频谱图。对全息图和参考全息图的频谱均进行实像滤波。将滤波后的全息图与参考全息图的频谱进行二维傅里叶逆变换,将全息图实像与参考图实像的复共轭相乘,这个操作是为了消除畸变并去

掉参考光的影响, 此时得到的离焦的物光波前。对物光波前进行角谱法重构再现, 进行一定重构距离的衍射计算后, 获得聚焦的物光波信息, 记为  $u(x, y)$ 。因此

$$u(x, y) = \Gamma(x, y)R(x, y)[R^*(x, y)O(x, y)] \quad (1)$$

式子(1)中  $\Gamma(x, y)$  表示畸变校正的因子。

物光波强度为

$$Intensity(x, y) = |u(x, y)|^2 \quad (2)$$

### 3. 系统与实验

#### 3.1. 透射式高分辨数字全息系统

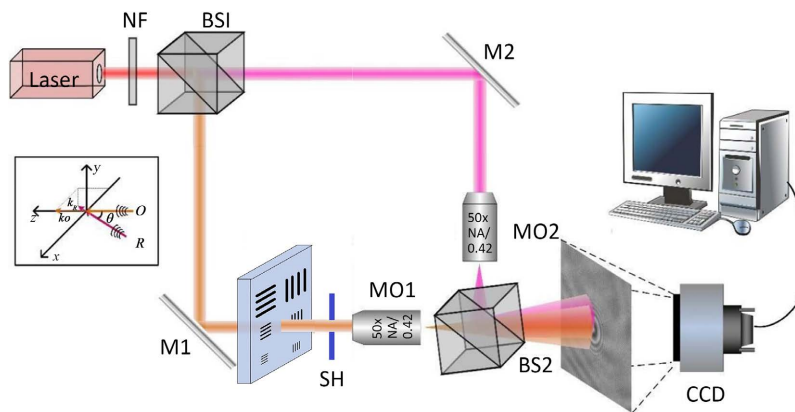


Figure 3. Setup of transmitting digital holographic microscope  
图 3. 透射式高分辨数字全息系统光路图

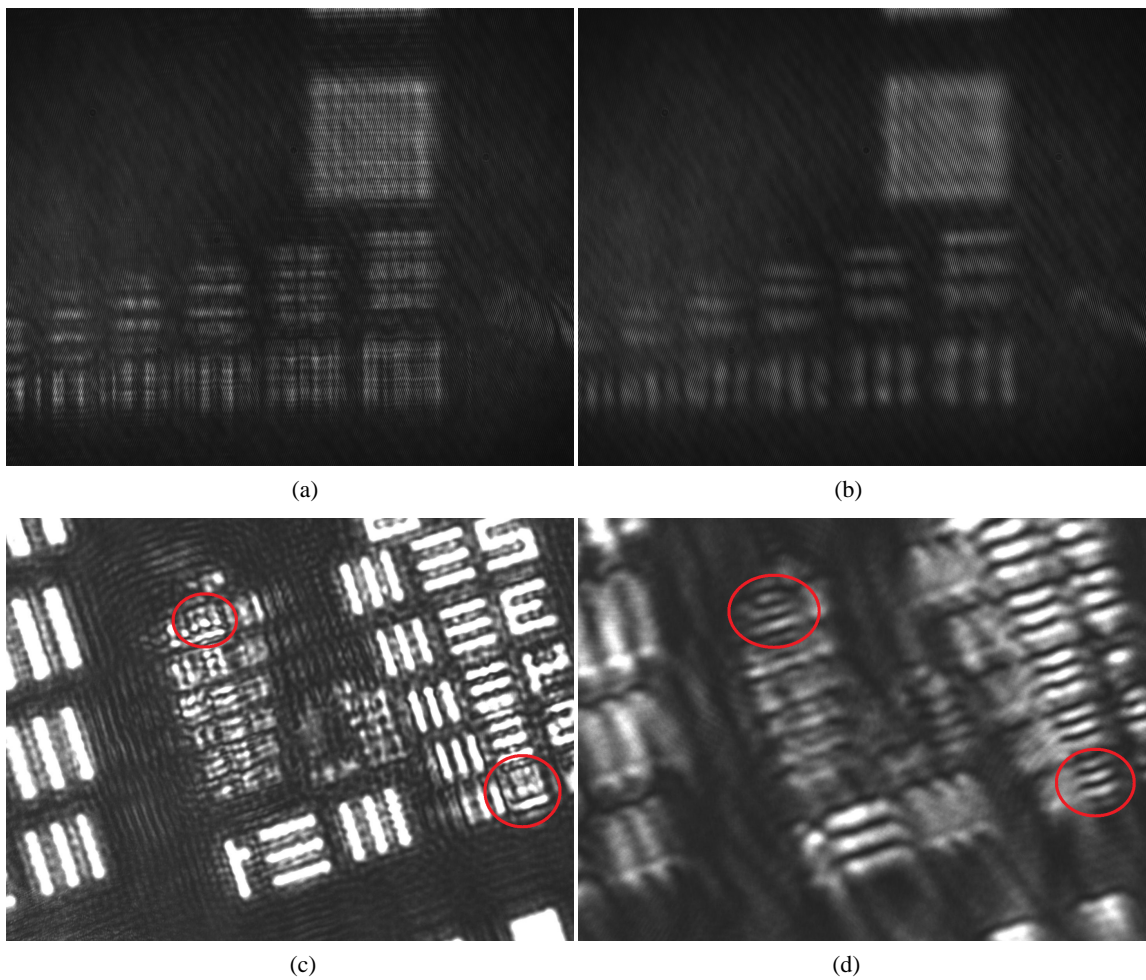
如图 3 所示, 为透射式高分辨数字全息光路图。光路图中, Laser 为激光器, 波长为 670 nm, NF 为中灰镜, 用于调节入射光的强度, BS1、BS2 为分光棱镜, M1、M2 为反射镜, CCD 为光电耦合记录器件, MO1、MO2 为显微物镜( $NA = 0.42$ , 放大倍数为 50), SH 为小孔结构。入射光通过分光棱镜分为两束相干光, 一束光透射被测物体, 因携带物体信息称为物光, 物光通过小孔结构, 提高光的收集效率并校正像差, 实现高分辨测量; 另一束光为参考光, 与物光发生干涉。干涉信息记录于 CCD 上, 形成数字全息图。

#### 3.2. 高分辨全息成像实验

在离轴数字全息显微系统中, 被测微结构与显微物镜之间加入小孔结构(圆孔中心在光轴上, 圆孔直径为 1 mm), 利用小孔结构的成像特点, 提高光收集效率, 优化像差, 实现高分辨远场成像。

图 4 中, 分别对加入小孔结构前后的光路进行测试, 图 4(a)和图 4(c)均为未加入小孔结构时, 分辨率板(USAF 标准分辨率板)的显微成像图。图 4(a)为离焦状态下分辨率板的显微图, 样本成像模糊。通过加入小孔结构, 调节小孔结构的轴向位置, 模糊的图像变得清晰, 如图 4(b)所示, 证明小孔结构确有减小弥散斑直径的作用。图 4(c)中, 为聚焦状态下的分辨率板图像, 由于衍射极限限制, 图中红圈内的样本为模糊状态, 通过加入小孔结构, 并调节合适的轴向位置, 可获取如图 4(d)的分辨率板成像图。通过对比图 4(c)与图 4(d)红圈中的部分样本, 图 4(d)可分辨出图 4(c)中模糊的条状样本。根据对比结果, 加入小孔结构能够突破衍射极限, 实现超分辨测量, 是提高数字全息显微系统测量分辨力的一种方法。依据分辨率板的特征结构信息, 未加入小孔时, 全息系统的分辨力为 1.1  $\mu\text{m}$ , 加入小孔后, 分辨力为 800 nm。

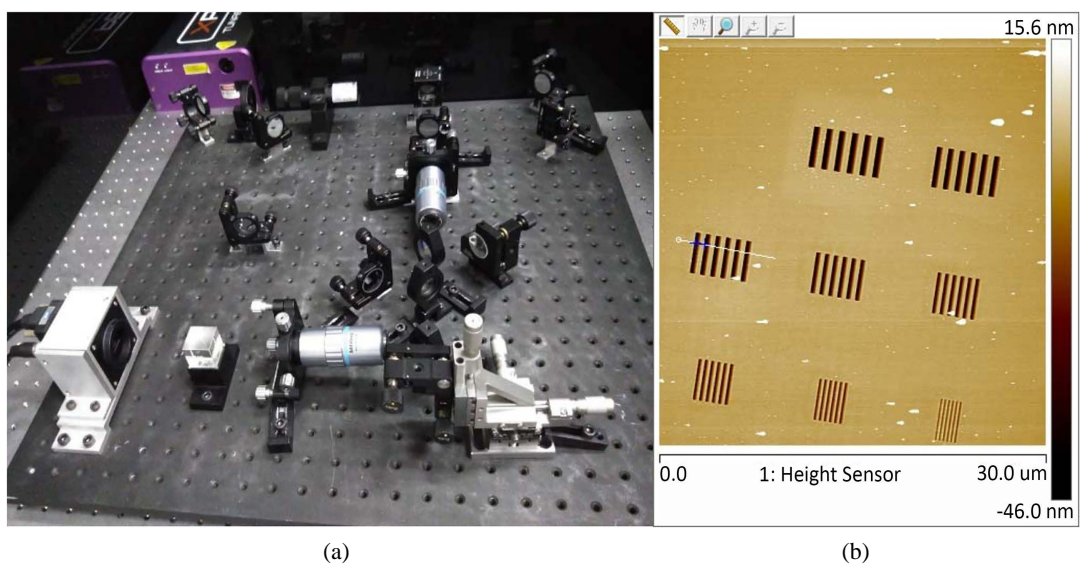


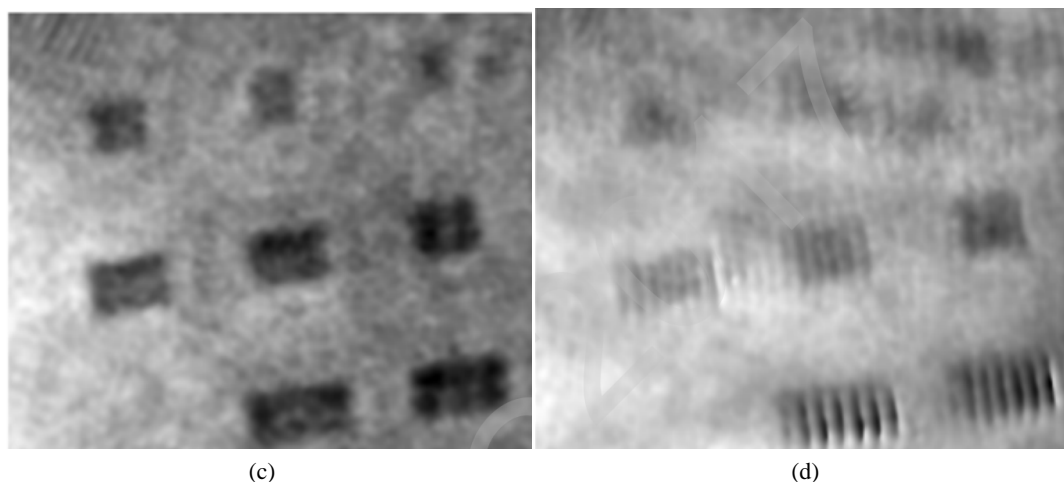


(a) 未加入小孔结构时, 分辨率板离焦显微图像; (b) 加入小孔结构后, 图(a)位置的显微图像; (c) 未加入小孔结构时, 分辨率板的聚焦显微图像; (d) 加入小孔结构后, 图(c)位置的显微图像。

**Figure 4.** Resolution board (USAF) test results

**图 4.** 分辨率板测试图





(a) 多角度数字全息系统;(b) 原子力显微镜测试分辨率样板结果;(c) 未采用高分辨测试方法的强度图;(d) 高分辨全息测量强度图。

**Figure 5.** Experimental results of multi-angle digital holographic high-resolution microscopy  
**图 5.** 多角度数字全息高分辨测量结果

利用多个反射镜建立多角度照明数字全息显微系统(如图 5(a)), 测量反射型测试件形貌(如图 5(b))。合成多角度子孔径全息图得到强度像(如图 5(c)), 横向分辨率得到明显增强, 分辨力能够达到 800 nm。

#### 4. 结论

数字全息显微技术能够实现三维成像, 对于微纳结构形貌测量、生物细胞及组织动态三维监测具有重要意义, 但横向分辨率受到全息系统光学衍射极限限制, 导致全息形貌测量技术应用范围不够广泛。本文通过在全息光路中加入小孔结构, 改进光路, 提升横向分辨率。通过理论分析, 小孔结构对于高频物光, 能够提高收集效率, 校正像差, 调控点扩散函数和光学传递函数; 通过对标准分辨率板测试, 验证小孔结构对数字全息显微系统分辨率的提升作用, 使全息成像突破衍射极限, 为高分辨数字全息提供一种技术方法。

#### 基金项目

本文由天津市自然科学基金项目(19JCQNJC01100), 国家自然科学基金项目(51775381)资助。

#### 参考文献

- [1] Khandpur, R.S. (2019) *Microscope, Near-Field Scanning Optical*. John Wiley & Sons, Ltd.
- [2] Wagner, E., *et al.* (2012) Stimulated Emission Depletion Live-Cell Super-Resolution Imaging Shows Proliferative Remodeling of T-Tubule Membrane Structures after Myocardial Infarction. *Circulation Research*, **111**, 402-414. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.112.274530>
- [3] Rittweger, E., Han, K.Y., Irvine, S.E., *et al.* (2009) STED Microscopy Reveals Crystal Colour Centres with Nanometric Resolution. *Nature Photonics*, **3**, 144-147. <https://doi.org/10.1038/nphoton.2009.2>
- [4] Prakash, K., Diederich, B., Reichelt, S., *et al.* (2021) Super-Resolution Structured Illumination Microscopy: Past, Present and Future. *The Royal Society*, **379**. <https://doi.org/10.1098/rsta.2020.0143>
- [5] Kozgunova, E. and Goshima, G. (2019) A Versatile Microfluidic Device for Highly Inclined Thin Illumination Microscopy in the Moss *Physcomitrella Patens*. *Scientific Reports*, **9**, 15182-15182. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-51624-9>
- [6] Tokunaga, M., Imamoto, N. and Sakata-Sogawa, K. (2008) Highly Inclined Thin Illumination Enables Clear Single-Molecule Imaging in Cells. *Nature Methods*, **5**, 159. <https://doi.org/10.1038/nmeth1171>
- [7] Hao, X., Liu, X., Kuang, C., *et al.* (2013) Far-Field Super-Resolution Imaging Using Near-Field Illumination by Mi-

- 
- cro-Fiber. *Applied Physics Letters*, **102**, 013104. <https://doi.org/10.1063/1.4773572>
- [8] Liu, Z., Durant, S., Lee, H., *et al.* (2007) Far-Field Optical Superlens. *Nano Letters*, **7**, 403. <https://doi.org/10.1021/nl062635n>
- [9] Cheng, L., Cao, P.F., Meng, Q.Q., *et al.* (2011) Semi-Cylindrical Hyperlens Made of Al/MgO for 20nm Lithography Node. *Advanced Materials Research*, **179-180**, 1047-1052. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMR.179-180.1047>
- [10] Lee, S. and Li, L. (2015) Rapid Super-Resolution Imaging of Sub-Surface Nanostructures beyond Diffraction Limit by High Refractive Index Microsphere Optical Nanoscopy. *Optics Communications*, **334**, 253-257. <https://doi.org/10.1016/j.optcom.2014.08.048>
- [11] 赵泽宇, 张肇宁, 黄振立. 超分辨定位成像中的像差表征和校正[J]. 光学学报, 2017(3): 36-43.
- [12] Wong-Campos, J.D., Johnson, K.G., Neyenhuis, B., *et al.* (2016) High-Resolution Adaptive Imaging of a Single Atom. *Nature Photonics*, **10**, 606-610. <https://doi.org/10.1038/nphoton.2016.136>