

准傅里叶彩色全息图在显微术中的应用

王 易 相

(天津大学精密仪器系)

光学显微镜与其他光学系统比较起来其景深特别短,且放大倍数越高,数值孔径越大,景深越短。计算表明(考虑到人眼的调节深度),放大倍数为 100 倍时,其景深为 $48\mu\text{m}$,而放大 500 倍时,景深仅有 $28\mu\text{m}$ 。因此,如果能提高显微镜的观察深度,无疑是有价值的。另一方面,在显微镜下观察的标本必须染色,这样,任何标本的自然色通过染色以后都不复存在。当切片染色以后,活的组织都将死亡。因此,如果可以再现一个自然色的标本,并用普通光学显微镜观察,则可获得较大的景深,从而扩大了光学显微镜的观察范围。利用全息的共轭再现现象,通过显微镜进行逐层调焦,是提高显微镜观察深度的途径之一。我们所进行的傅里叶彩色全息图在显微术中的应用研究工作就是为此目的。

早在 1966 年,里特^[1]就利用全息显微镜,通过调焦观察到纤维的虚象有 $1\mu\text{m}$ 的扩张。以后相继报道了全息干涉显微镜及其实验结果^[2]。1978 年布里若^[3]报道了利用全息显微镜,观察在高压下固体火箭推进器的燃烧现象,其再现实象的分辨极限达 $2\mu\text{m}$,可调焦的景深达 6cm。我们运用全息显微术,对标本的再现实象进行逐层调焦观察,在 441.6nm 波长的再现中分辨极限达 $1\mu\text{m}$ 。

一、准傅里叶彩色全息记录系统

为了提高显微镜的观察景深,可利用全息象的共轭实象。用波长为 632.8nm 和 441.6nm 的光来记录一个厚标本。我们采用一个如图 1 所示的光学系统来形成傅里叶全息图,经再现后可以获得共轭图象。这个变换系统输入的频谱是在变换透镜的后焦距区域中,整个变换的光学系统具有小巧和高信噪比的特点。理论上可以再现一个无象差的实象。

图 1 可以用来说明彩色傅里叶变换系统的变换过程。

设 $f = \frac{1}{f}$, $s_1 = \frac{1}{d_1}$, $s_2 = \frac{1}{d_2}$ 。则输入和输出函数之间的关系为

$$P(\xi, \eta) = S_1 S_2 \iiint_{x_L, x_s} \tilde{\psi}(x, y, f) \psi(x - u, y - v, s_1)$$

物理

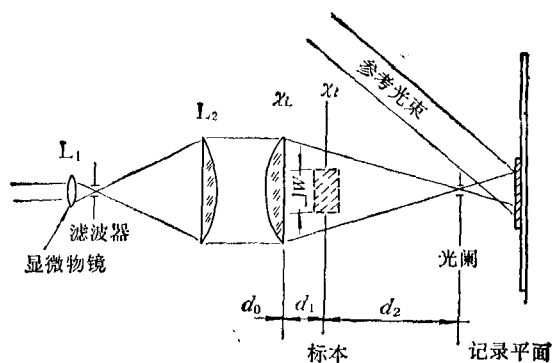


图 1 准傅里叶彩色全息图的记录系统

$$\times T(u, v) \psi(u - \xi, v - \eta, s_2) dx dy dudv, \quad (1)$$

这里函数 $\psi(x, y, s)$ 为非涅尔传播因子,并利用其特性,最后得到

$$P(\xi, \eta) = \frac{S_1 S_2}{(S_1 - f)} \psi(\xi, \eta, s_2) (i\lambda) \iint_{x_s} T(u, v) \times \psi \left(u, v, s_2 + s_1 - \frac{s_1^2}{s_1 - f} \right) \times \exp[-iKs_2(u\xi + v\eta)] dudv. \quad (2)$$

为了实现傅里叶变换,必须要求

$$s_1 + s_2 - \frac{s_1^2}{s_1 - f} = 0,$$

由此得

$$f = d_1 + d_2. \quad (3)$$

在我们的系统中,根据变换透镜的结构及再现的需要,实现了准傅里叶变换。

二、彩色全息记录中串调象的抑制

用波长为 632.8nm , 514.5nm , 441.6nm 的三色光作彩色记录时,可对拥有自然色的物体实现彩色记录和复现。

$$\sin i_i = n\lambda_i \xi_i - \sin \theta_i, \quad (4)$$

这里 $i = 1, 2, 3$, 分别表示对三种不同的波长所拥有的参数值。在再现中将出现六个串调假象。为了克服这

些假象对真象的干扰,已提出过几种方案.这里采用了文献[4]的空间滤波技术来实现无干扰的真象再现.

在实际计算中,为了达到真象与假象的分离,其所需的分离角可以由下式求得:

$$\Delta W_{ac} = \frac{\pi}{90} \operatorname{tg} \left[\arcsin \left(\frac{\lambda_i - A_i \sin \epsilon}{A_i} \right) \right] (d_2 + d_3), \quad (5)$$

这里 ΔW_{ac} 为再现象的垂轴弧长, A_i 为不同波长所记录的全息图的周期. 利用物象关系式也可求得轴向的位置. 对于三色光即可找到六个假象中最接近真象的那一个. 计算表明,对于三种不同的波长,当最短的那一再现波长所出现的假象能满足与真象分离的要求,这时,其他两种波长的假象就有可能出现消失波. 图2给出了波长 λ_{BG} , λ_{GB} 与调制角及串调角之间的变化关系. 从图2可以看出随着调制角的加大,串调角也逐步增加,同时在 λ_{BG} 线上会出现消失波.

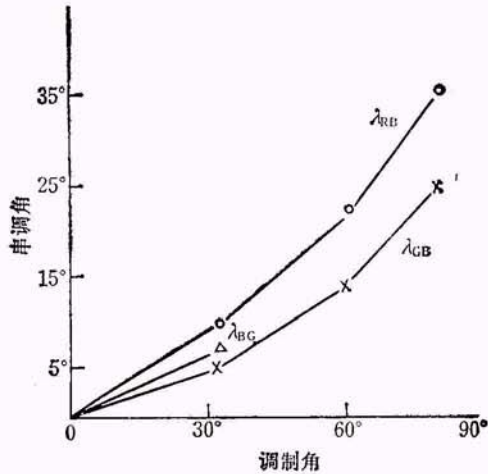


图2 不同的波长与串调角及调制角之间的关系曲线

三、分辨极限及实验结果

为了在全息再现象上得到一个适当的分辨率,可供肉眼在100倍显微镜下进行观察,这里选择一个最小分辨极限为 $1\mu\text{m}$ 的鉴别率板作为记录物体.为了分辨这个物体的细节,除了记录介质本身的分辨力应满足可以分辨物体细节以外,全息图的孔径应该满足下式:

$$D_H = 1.22\lambda f_H / S_r,$$

这里 S_r 为物体的最小细节, λ 为记录波长, f_H 为全息图

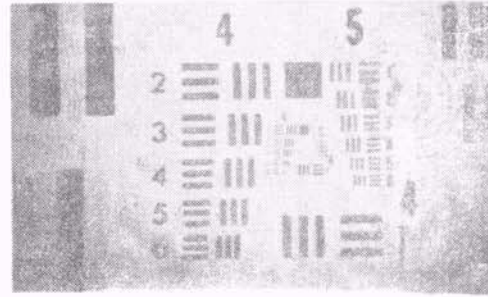


图3 全息再现实象的显微照片

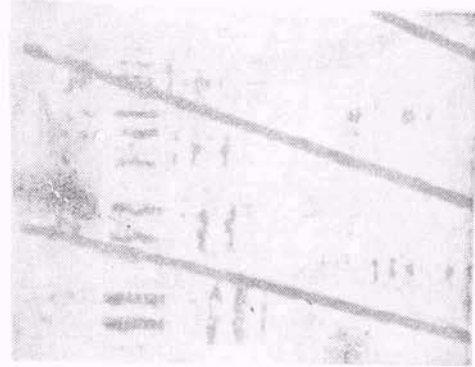


图4

的焦距, D_H 为孔径.

再现光束的共轭程度对再现象的象差有很大的影响.在实验中,利用一块平行平晶调整共轭平行光束,使其实现两条干涉条纹.图3给出了由全息图的再现实象通过显微镜拍摄下来的普通照片.以照片可以看出,分辨极限为 $1\mu\text{m}$ 的一组相当清楚.进行逐层调焦试验时,将两块相隔 5mm 的鉴别率板组合作为一个透明物体.图4是这一组合标本进行彩色记录时所再现的实象,通过显微镜调焦后所获得的另一个焦平面的普通照片.再现波长为 632.8nm 和 441.6nm .

参考文献

- [1] R. V. Van Ligten and H. Osterberg, *Nature*, 211 (1966), 282.
- [2] K. Snow and R. Vandewarker, *Applied Optics*, 7 (1968), 549.
- [3] R. A. Brionos, L. O. Heflinger and R. F. Wuerker, *Applied Optics*, 17 (1978), 944.
- [4] C. S. Ih, *Applied Optics*, 14 (1975), 438.