

高斯光束共焦扫描激光显微镜的 光学传递函数

黄 菁

(华南理工大学应用物理系, 广州 510641)

梁瑞生 司徒达 张坤明 唐志列

(华南师范大学物理系, 广州 510631)

(1997 年 10 月 27 日收到; 1998 年 1 月 4 日收到修改稿)

考虑光源和探测器有一定大小, 并引入光源的高斯分布函数, 求出此接近实际的共焦扫描成像系统的光学传递函数(OTF); 运用计算机进行数值模拟并讨论光源针孔和探测针孔的大小对横向、纵向分辨率的影响. 所得结果在不影响共焦扫描成像系统三维(3D)成像能力的基础上, 可以有效地提高系统的信噪比.

PACC: 4230; 0760P; 4260K

1 引 言

共焦扫描显微镜的三维光学传递函数在像质评价, 以及纵向、横向分辨率方面有着重要的意义. 理论上, Gu 和 Sherppard 等^[1-4]曾计算了各种情况下的光学传递函数(OTF)值. Drazic^[5]计算了荧光情况下的 OTF 值, 并得到光源针孔和探测针孔的最佳大小, 即 $V_s < 3.83$, $V_d < 3.83$, 即如果光源和探测器两者尺寸都小于点光源的 Airy 衍射像斑时, 扫描光学显微镜是共焦的^[5].

以上大多数文献, 对光源的考虑都是用一个点光源或一个 $\text{cir}\left(\frac{x}{a}\right)$ 圆柱函数表示的. 实际上由于所用光源为激光, 考虑光源的高斯分布是必要的, 本文在综合考察探测孔径、光源大小的情况下, 推导出光源作高斯分布的离焦系统的(OTF). 所得结果将对研究共焦扫描显微镜的三维(3D)成像能力, 横向、纵向分辨率与光源针孔、探测针孔的大小以及离焦参数之间的关系提供有用的数据和工具.

2 系统光学传递函数的推导

如图 1 所示, 为透射式扫描显微镜的光学系统以及光源平面, 物扫描平面及成像平面, (x_s, y_s, z_s) 为扫描位置, 取光源为高斯分布的光束, 探测平面为均匀的圆孔.

$$J(\mathbf{r}_1) = S(\mathbf{x}_1)\delta(z_1), \quad S(\mathbf{x}_1) = \begin{cases} \exp(-\mathbf{x}_1 \cdot \mathbf{x}_1) & \mathbf{x}_1 \cdot \mathbf{x}_1 \leq R_s^2; \\ 0 & \mathbf{x}_1 \cdot \mathbf{x}_1 > R_s^2, \end{cases}$$

$$D(\mathbf{r}_5) = D_2(\mathbf{x}_5)\delta(z_5), \quad D_2(\mathbf{x}_5) = \begin{cases} 1 & \mathbf{x}_5 \cdot \mathbf{x}_5 \leq R_d^2; \\ 0 & \mathbf{x}_5 \cdot \mathbf{x}_5 > R_d^2, \end{cases} \quad (1)$$

其中 $\mathbf{r}_i = (\mathbf{x}_i, z_i) = (x_i, y_i, z_i)$, δ 为狄拉克脉冲函数. R_s, R_d 为光源和探测器的孔径, 利用成像理论, 令 $M = d_2/d_1$, 可直接写出探测平面上的光强分布为

$$I(\mathbf{r}_s) = \iiint_{-\infty}^{+\infty} \int S(\mathbf{r}_1) h_1(\mathbf{r}_3 - M\mathbf{r}_1) h_1^*(\mathbf{r}'_3 - M\mathbf{r}'_1) h_2(\mathbf{r}_3 - M\mathbf{r}_5) h_2^*(\mathbf{r}'_3 - M\mathbf{r}'_5) \\ \times t(\mathbf{r}_s - \mathbf{r}_3) t^*(\mathbf{r}_s - \mathbf{r}'_3) D(\mathbf{r}_5) d\mathbf{r}_1 d\mathbf{r}_3 d\mathbf{r}'_1 d\mathbf{r}'_3 d\mathbf{r}_5 \quad (2)$$

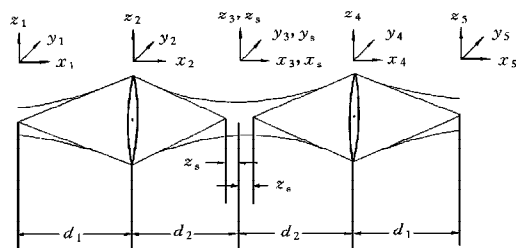


图 1 扫描显微镜各平面的坐标图

其中 h_i 表示透镜的脉冲响应函数, t 表示物的透过率函数, $\mathbf{r}_s$ 表示扫描位置的坐标, 引入参量 ν 表示成像物的空间频率, 线性相干成像理论的 2D 的 OTF 为

$$C(1\nu, z_s) = \int_{-\infty}^{+\infty} T(\nu, z_s, \mathbf{x}_5) T^*(0, z_s, \mathbf{x}_5) D_2(\mathbf{x}_5) d\mathbf{x}_5, \quad (3)$$

而

$$T(\nu, z_s, \mathbf{x}_5) = \int_{-\infty}^{+\infty} h_1(\mathbf{x}_3 - M\mathbf{x}_1, z_s) h_2(\mathbf{x}_3 - M\mathbf{x}_5, z_s) S(\mathbf{x}_1) \\ \times \exp(-2\pi j \nu x_3) d\mathbf{x}_3 d\mathbf{x}_1. \quad (4)$$

设 $u = \frac{2\pi}{\lambda} \frac{1}{d_2^2} z_s$, 为系统的离焦参数

$$h_1(\mathbf{x}_3 - M\mathbf{x}_1, u) = \int_{-\infty}^{+\infty} P_1(\mathbf{x}_2) \exp\left[j \frac{u}{2} \mathbf{x}_2 \cdot \mathbf{x}_2\right] \exp\left[-j \frac{2\pi}{\lambda} \frac{1}{d_2} \mathbf{x}_2 (\mathbf{x}_3 - M\mathbf{x}_1)\right] d\mathbf{x}_2. \quad (5)$$

上式为离焦情况下单透镜的脉冲响应函数(PRF). 与共焦情况相比, 它多了一个位相因子 $\exp\left[j \frac{u}{2} \mathbf{x}_2 \cdot \mathbf{x}_2\right]$. P_1 为半径为 a 的归一化光瞳函数,

$$P_1(\mathbf{x}_2) = \begin{cases} 1 & \|\mathbf{x}\| \leq 1; \\ 0 & \text{其他,} \end{cases} \quad (6)$$

$\|\cdot\|$ 表示矢量的归一, 把(5), (6)式代入(4)式并合并, 得到

$$T(\nu, u, \mathbf{x}_5) = \int_{-\infty}^{+\infty} \int_{-\infty}^{+\infty} \left\{ \int_{-\infty}^{+\infty} S(\mathbf{x}_1) \exp\left[j \frac{2\pi}{\lambda d_2} M \mathbf{x}_1 \mathbf{x}_2\right] d\mathbf{x}_1 \right\}$$

$$\begin{aligned}
& \times \left\{ \int_{-\infty}^{+\infty} \exp \left[-j \frac{2\pi}{\lambda d_2} x_3 (x_2 + x_4) \right] \exp [2\pi j v x_3] d x_3 \right\} \\
& \times P_1(x_2) P_2(x_4) \exp \left[j \frac{u}{2} (x_2 \cdot x_2 + x_4 \cdot x_4) \right] \\
& \times \exp \left[j \frac{2\pi}{\lambda d_2} M x_4 x_5 \right] d x_2 d x_4. \quad (7)
\end{aligned}$$

上式等号右边第一个积分表示为 $S_F\left(\frac{2\pi x_2}{\lambda d_2}\right)$, 它是 $S(x_1)$ 函数的二维傅里叶变换, 作坐标变换 $x_2 = \rho \cos \theta$, $y_2 = \rho \sin \theta$,

$$\frac{2\pi}{\lambda d_2} M x_5 = v_5 \cos \theta_5, \quad \frac{2\pi}{\lambda d_2} M y_5 = v_5 \sin \theta_5,$$

$$v_s = \frac{2\pi}{\lambda d_2} R_s,$$

$$\begin{aligned}
T(\tilde{v}, u, v_5, \theta_5) &= \iint_{\Sigma} \exp \left[j u \left(\rho^2 + \frac{\tilde{v}^2}{2} + \rho \tilde{v} \cos \theta \right) \right] \\
&\times \exp \{ -j v_5 [\rho \cos(\theta_5 - \theta) + \tilde{v} \cos \theta_5] \} S_F(\rho v_s) \rho d \rho d \theta, \quad (8)
\end{aligned}$$

$$T^*(0, u, x_5) = \int_0^1 \exp(-j u \rho'^2) S_F(\rho' v_s) \cdot J_0(v_5 \rho') \rho' d \rho'. \quad (9)$$

把(8),(9)式代入(3)式并合并, 得到 2D 离焦系统的 OTF 为

$$\begin{aligned}
C(v, u, v_s, v_d) &= \int_0^{v_d} \left\{ \int_0^1 \exp(-j u \rho'^2) J_0(v_5 \rho') S_F(v_5 \rho') \rho' d \rho' \right\} \\
&\times \left\{ \iint_{\Sigma} \exp \left[j u \left(\rho^2 + \frac{\tilde{v}^2}{2} + \rho \tilde{v} \cos \theta \right) \right] S_F(v_s \rho) \right. \\
&\times \left. \left[\int_0^{2\pi} \exp \{ -j v_5 [\rho \cos(\theta_5 - \theta) + \tilde{v} \cos \theta_5] \} d \theta_5 \right] \rho d \rho d \theta \right\} v_s d v_s, \quad (10)
\end{aligned}$$

式中 $v_d = \frac{2\pi}{\lambda d_2} R_d$, 3D 的 OTF 可以通过对 C 作傅里叶变换得到^[6].

$$H(\tilde{v}, \tilde{\mu}, v_s, v_d) = \int_{-\infty}^{+\infty} C(\tilde{v}, u, v_s, v_d) \exp(-j u \tilde{\mu}) d u. \quad (11)$$

$\tilde{\mu}$ 表示沿着光轴方向的归一化空间频率, $\tilde{\mu} = \lambda \mu d_2^2$, 并把(10)式代入(11)式,

令

$$\alpha^2 = \rho^2 + \tilde{v}^2/2 + \tilde{\mu} + \rho \tilde{v} \cos \theta = \rho'^2,$$

$$\beta^2 = \tilde{v}^2 + \rho^2 + 2 \rho \tilde{v} \cos \theta,$$

$$S(v_d, \alpha, \beta) = \int_0^{v_d} J_0(v_5 \alpha) J_0(v_5 \beta) v_5 d v_5.$$

最后, 得到归一化的 3D 的 OTF 为

$$H'(\tilde{v}, \tilde{\mu}, v_s, v_d) = \frac{H(\tilde{v}, \tilde{\mu}, v_s, v_d)}{H(0, 0, v_s, v_d)}$$

$$= \frac{\iint \sum S(v_d, \alpha, \beta) S_F(v_s, \rho) S_F(v_s, \alpha) \rho d\rho d\theta}{\pi v_d^2 \int_0^1 S_F(v_s, \rho) S_F(v_s, \rho) [J_0^2(v_d, \alpha) + J_1^2(v_d, \alpha)] \rho d\rho} \quad (12)$$

具体写出 $S_F(v_s, \rho)$ 的表达式为

$$S_F(v_s, \rho) = \int_0^{R_s} e^{-r^2} \exp\left(j2\pi \frac{1}{\lambda d_2} \rho r\right) dr \quad \left(v_s = \frac{2\pi}{\lambda d_2} R_s\right).$$

运用计算机对(21)式进行处理,可以作出各种不同的光源孔径和探测孔径的归一化的 3D 的 OTF 的 $H'-\tilde{\nu}$, $H'-\tilde{\mu}$ 图.

3 讨论与结论

1) 如图 2—4 所示分别为 I 型、中间型、II 型扫描显微镜的 OTF 图, I 型和中间型显微镜其纵向分辨能力差,不能进行 3D 成像, II 型显微镜其纵向、横向分辨率好,能进行 3D 的逐点成像.

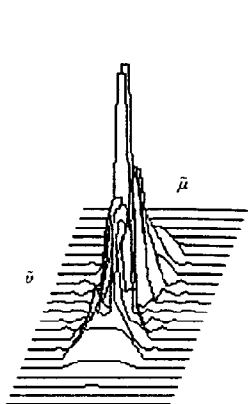


图 2

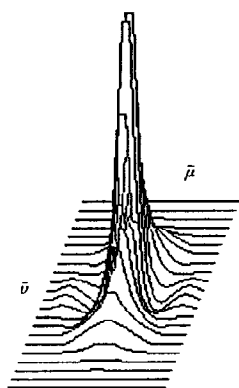


图 3

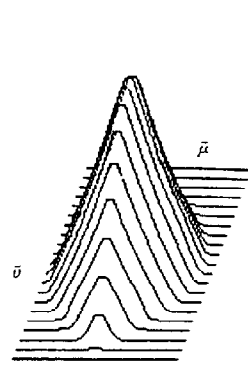


图 4

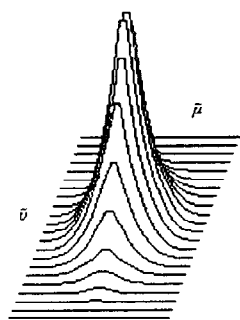


图 5

2) 如图 5 所示为 $v_s = 4.5$, $v_d = 4.5$ 时的 OTF 图, 其图型与 II 型显微镜相差不大, 而且具有较好的横向、纵向分辨能力, 通常认为, 探测针孔越小, 其成像质量越好, 但针孔太小将降低信噪比, 而且有衍射现象存在, 这些因素都将影响成像质量. Drazic^[5] 的结论认为共焦成像时 $v_s < 3.83$, $v_d < 3.83$ 时, 由小孔截取的点像直径小于爱里圆中心亮斑, 如果能获得物面的全部信息, 将有较好的 3D 分辨本领. 但从图 5 可得到, 要保持扫描显微镜共焦成像, 其针孔的尺寸将可以较 Drazic 的结论有所扩展, 其原因是因为本文是以高斯光源进行讨论的, 其光强的分布更集中区别, 所以本文的结果可以在保证扫描显微镜共焦(3D 成

像)情况下,扩大光源针孔和探测针孔,从而提高了系统的信噪比.

3) 如图 6 为 $v_s=0.1$, 图 7 为 $v_s=10$ 时的 $OTF-\tilde{\nu}$, $OTF-\tilde{\mu}$ 曲线, 按曲线向纵轴收缩, 其 v_d 值分别为 0.1, 3.8, 4.5, 5, 10, 30, 在 $OTF-\tilde{\nu}$ 图中, $v_d=10, 30$ 时两曲线交叠. 而 $OTF-\tilde{\mu}$ 中 $v_d=30$ 的曲线在横轴上与 $v_d=10$ 的曲线相交. 可见随着探测孔径的增大, 其横向、纵向分辨率下降, 大约在 $v_d=10$ 时, 此系统不能进行纵向的成像, $v_d=30$ 时其 2D 成像出现畸变. 这是因为孔径的增长, 探测器接收成像物透射和反射的杂散光较多, 因此 2D 成像的像差也较大.

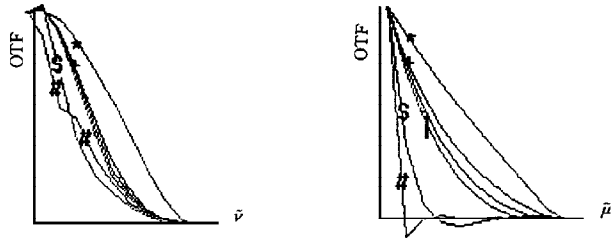


图 6 $v_s=0.1$; * 为 $v_d=0.1$; + 为 $v_d=3.8$; - 为 $v_d=4.5$;
1 为 $v_d=5$; \$ 为 $v_d=10$; # 为 $v_d=30$

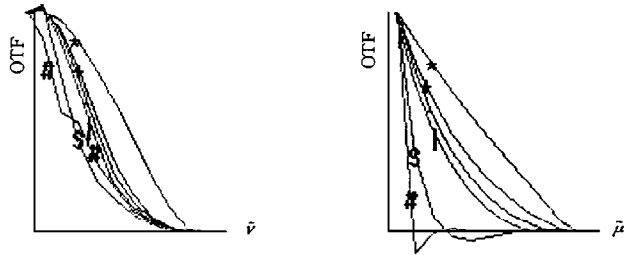


图 7 $v_s=10$; 其余图注同图 6

4) 如图 8 为 $v_d=0.1$, 图 9 为 $v_d=4.5$ 时的 $OTF-\tilde{\nu}$, $OTF-\tilde{\mu}$ 曲线, v_s 取 0.1, 3.8, 4.5, 5, 10, 30 时曲线相互重合, 光源针孔对其分辨率无影响. 这与 Drazic 的结论^[5]有所区

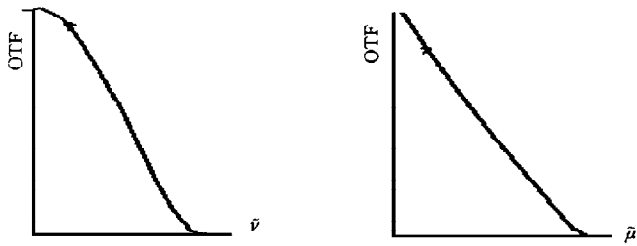


图 8 $v_d=0.1$; * 为 $v_s=0.1, 3.8, 4.5, 5, 10, 30$

别,原因有二:一是文献[5]中推导的是荧光扫描显微镜的 OTF,其物函数为荧光物质的物函数 $O(v_p - v)$, v_p 为光点扫描的速度, v 表示扫描点的坐标.而本文中反射、透射情况,其物函数为一周期物 $t(r_s - r_3)^{[7]}$.二是文中考虑了光源的高斯分布,其光强分布集

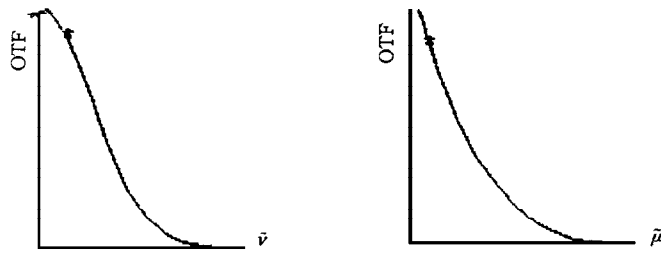


图9 $v_d = 4.5$; 其余图注同图8

中在中心区域,所以光源针孔的缩放对其分辨率的影响较面光源小.通常^[8-11]在求系统的传递函数时,更多的是考虑探测孔径的作用而较小讨论光源针孔的作用.

- [1] M. Gu, C.J.R. Sherppard, *J. Mod. Optics*, **40**(1993), 1255.
- [2] M. Gu, C.J.R. Sherppard, *J. Mod. Optics*, **41**(1994), 1701.
- [3] C.J.R. Sherppard, M. Gu, *Opt. Commun.*, **81**(1991), 276.
- [4] C.J.R. Sherppard, M. Gu, X.Q. Mao, *Opt. Commun.*, **80**(1991), 281.
- [5] V. Drazic, *J. Mod. Optics*, **40**(1993), 879.
- [6] B.R. Frieden, *J. Opt. Soc. Am.*, **A57**(1967), 56.
- [7] Min Gu, C.J.R. Sherppard, *J. Mod. Optics*, **40**(1993), 1255.
- [8] S. Kawata, R. Arimoto, and O. Nakamura, *J. Opt. Soc. Am.*, **A8**(1991), 171.
- [9] Shigeharu Kimura, Chusuke Munakata, *Appl. Opt.*, **29**(1990), 3007.
- [10] T. Wilson, A.R. Carlini, *Opt. Lett.*, **12**(1987), 227.
- [11] T. Wilson, *J. Microsc.*, **154**(1988), 14.

THE OPTICAL TRANSFER FUNCTION OF CONFOCAL SCANNING LASER MICROSCOPY WITH GAUSS SOURCE

HUANG JING

(*Department of Applied Physics, South China University of Technology, Guangzhou 510641*)

LIANG RUI-SHENG SITU DA ZHANG KUN-MING TANG ZHI-LIE

(*Department of Physics, South China Normal University, Guangzhou 510631*)

(Received 27 October 1997; revised manuscript received 4 January 1998)

ABSTRACT

Taking into account the size effect of the source and the detector, we have calculated the Optical transfer function of a real system with Gaussian distribution of the source. Because of the Gaussian distribution source, the size of source and detector can be enlarged, and the signal-to-noise ratio will be increased.

PACC: 4230; 0760P; 4260K