

# 双Lloyd镜数字全息显微测量术\*

袁飞 袁操今 聂守平 朱竹青 马青玉 李莹 朱文艳 冯少彤†

(南京师范大学江苏省光电技术重点实验室, 南京 210023)

(2013年11月7日收到; 2014年1月10日收到修改稿)

提出了一种双Lloyd镜数字全息显微测量技术. 其基本思想是将Lloyd镜的共光束自干涉特性与双波长光学相位解包裹方法相结合, 使用两个Lloyd镜调节参考光与物光夹角以形成共光束自干涉, 从而获得一张双波长复合全息图, 再通过角谱法再现得到每个波长对应的包裹相位, 利用两波长的相位差求得解包裹后的相位图和三维高度分布图. 采用532和632 nm两波长记录全息图, 通过数值再现重构被测物体的振幅和相位信息. 与标定值相比, 实验值的误差小于5%, 证明了该方法的有效性.

**关键词:** 全息, 双波长数字全息, 光学相位解包裹, Lloyd镜

**PACS:** 42.40.-i, 42.40.Kw, 42.40.Ht

**DOI:** 10.7498/aps.63.104207

## 1 引言

随着微电子技术、生物技术、光通信技术以及材料科学的飞速发展, 使得在很多领域都需要对微小物体做非接触三维形貌测量. 传统的微观测量技术有机械探针式测量技术和光学探针式测量技术<sup>[1,2]</sup>. 这两种技术都存在缺点: 前者为接触式测量, 容易对被测物体造成损伤, 且分辨率也受限于探针的外形尺寸; 后者探针获得的数据为点数据, 需要配合高精度的扫描技术才能达到形貌测量的目的. 20世纪80年代出现了扫描隧道显微镜以及原子力显微镜, 这两种三维形貌测量仪的横向分辨率和纵向分辨率均分别达到纳米量级和亚纳米量级, 它们能够测量到分子甚至原子量级的形貌特征. 但显微镜设备昂贵且对活体生物硬化处理时不能完全避免“非入侵”, 从而致使该技术仍不适合广泛普及.

与传统显微技术相比, 数字全息显微术是一种具有对微结构非接触、无损伤、高分辨率以及快速处理成像等优点的测量技术, 并能实现活体样本的测量, 无需硬化处理, 因此其已广泛应用于微结构

测量领域<sup>[3-6]</sup>. 但由于数字全息显微术采用反正切函数来获取物体的相位分布, 故受函数周期性以及主值区间的限制, 当光经过物体后产生的最大光程差大于所用光波波长时, 计算获得的物体相位分布是包裹在 $(-\pi, \pi]$ 之间, 所以还需要进行相位解包裹以获取真实相位分布. 但是目前的相位解包裹算法大多存在一定的问题, 尚未寻找到一种误差较小且广泛适用的算法, 这使得物体表面形貌的测量具有一定难度, 尤其是对于一些结构复杂或者表面梯度较大的物体<sup>[7,8]</sup>. 双波长数字全息显微技术是利用两种不同波长的光波对物体拍摄全息图, 主要利用等效波长这一概念来增大测量范围, 从而实现物体的形貌测量, 并有效地解决了相位包裹的问题. 目前对于这一方面的研究已取得了一定的成果, 如美国南佛罗里达大学的Myung研究组<sup>[9,10]</sup>利用双波长预放大数字全息技术成功获取了细胞三维形貌, 瑞士洛桑联邦理工学院的Jonas等<sup>[11]</sup>通过双波长技术成功测得了CHO细胞的体积和折射率. 然而这些技术的光路大多比较复杂, 稳定性要求较高, 因而不适合现场测量. 美国康涅狄格大学的Vani等<sup>[12]</sup>为了简化光路并增强光路的稳定性, 将Lloyd镜运用到全息显微术中, 成功

\* 国家自然科学基金 (批准号: 61377003, 11274176) 资助的课题.

† 通讯作者. E-mail: fengshaotong@njnu.edu.cn

测得了血红细胞的三维形貌图,但对于某些物体仍需通过相位解包裹算法来得到真实相位. 本文结合 Lloyd 镜与双波长光学相位解包裹原理,提出了一种双 Lloyd 镜数字全息显微测量技术,并实验验证了该方法的可行性.

## 2 实验原理

### 2.1 双波长光学相位解包裹原理

设物体高度为  $z$ , 对于波长为  $\lambda_1, \lambda_2$  的光波, 其相位  $\Phi_1, \Phi_2$  可以表示为

$$\begin{aligned} \Phi_1 &= \frac{2\pi}{\lambda_1} z, \\ \Phi_2 &= \frac{2\pi}{\lambda_2} z. \end{aligned} \quad (1)$$

将波长  $\lambda_1, \lambda_2$  对应的物体相位  $\Phi_1, \Phi_2$  相减, 可得到  $\Phi_{12}$ ,

$$\begin{aligned} \Phi_{12} &= \Phi_1 - \Phi_2 \\ &= \left( \frac{2\pi}{\lambda_1} - \frac{2\pi}{\lambda_2} \right) z = 2\pi \frac{1}{\lambda_1 \lambda_2 / |\lambda_1 - \lambda_2|} z, \end{aligned} \quad (2)$$

令

$$\Lambda = \lambda_1 \lambda_2 / |\lambda_1 - \lambda_2|, \quad (3)$$

相位  $\Phi_{12}$  可看作是波长为  $\Lambda$  的光波的相位,  $\Lambda$  称之为等效波长, 其大于任意一个原始波长.

$\Phi_{12}$  分布范围为  $[-2\pi, 2\pi]$ , 存在阶跃点, 只要对  $\Phi_{12}$  小于零的值加上  $2\pi$ , 即可得到真实的相位分布  $\Phi$ ,

$$\Phi = \Phi_{12} + 2\pi \quad (\Phi_{12} < 0). \quad (4)$$

### 2.2 双 Lloyd 镜实验原理

双 Lloyd 镜实验原理如图 1 所示, 图 1 (a) 为红光和绿光从显微物镜出射后的具体光路, 两个 Lloyd 镜分别将一束激光反射到电荷耦合元件 (CCD) 上; 图 1 (b) 为经过显微物镜后红光和绿光的截面图

一个横截面图. 该光路具有以下优点: 首先, Lloyd 镜的使用有效地简化了光路, 减少了光路搭建的时间和难度以及光学元件的使用; 其次, Lloyd 镜的共光束自干涉特性使得干涉条纹对比度较好, 系统噪声相对较少, 系统稳定性较强; 最后, 双 Lloyd 镜的使用可以将两种波长的全息图像记录在同一张数字全息图上, 并通过调节 Lloyd 镜的位置和倾斜角度完成频谱的分离, 从而实现双波长光学相位解包裹.

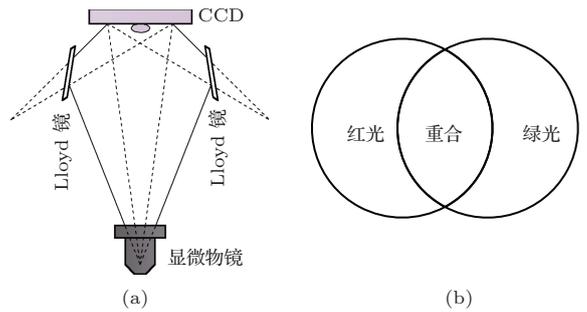


图 1 双 Lloyd 镜实验原理 (a) 双 Lloyd 镜实验原理示意图; (b) 经过显微物镜后红光和绿光的截面图

## 3 实验系统及测量结果

### 3.1 实验装置

本文实验光路如图 2 所示. 两个用于记录的激光器分别是波长为 532 nm 的绿光半导体激光器和波长为 632 nm 的红光氦氖激光器, 根据 (2) 式可得到两波长的等效波长为  $3.362 \mu\text{m}$ . 采用加拿大 QImaging 公司生产的 MicroPublisher 3.3 RTV 型高分辨率冷光 CCD 摄像头, 其像素数为  $2048 \times 1536$ , 像素尺寸为  $3.45 \mu\text{m} \times 3.45 \mu\text{m}$ .

由于采用的是共光束自干涉光路, 参考光和物光来自同一束光, 因此要求被测物体稀疏排列, 以免参考光中带有物体信息. 实验中, 两激光器发出的光束经显微物镜扩束后形成两个光斑, 通过调节

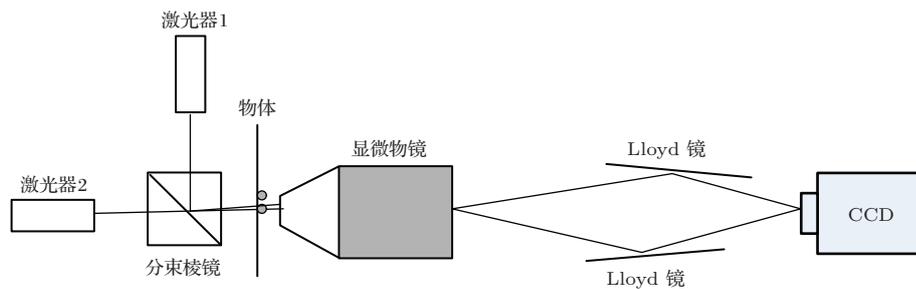


图 2 双 Lloyd 镜实验光路图

分束棱镜使得这两个光斑有部分重叠,再调节被测物体位置进而使得重叠部分的光携带被测物体信息,并直射到CCD上作为物光.在光斑非重叠部分各放一个Lloyd镜,调节两个Lloyd镜的位置和角度使得单色光中未携带物体信息的部分反射到CCD上作为参考光,并确保两波长的频谱分开<sup>[13,14]</sup>.微调被测物体位置使被测物体在CCD中央成一清晰的像,即可记录一幅复合全息图.

### 3.2 实验结果

利用上述装置对4.87 μm的二氧化硅小球进行双波长光学相位解包裹实验.被测物体到CCD

的距离约为400 mm,小球折射率 $n = 1.44$ ,小球稀疏排列在玻璃板上,并在小球表面均匀涂上一层折射率 $n_1 = 1.6$ 的SU-8胶,根据公式 $z = \Phi_{12}\lambda/(2\pi(n - n_1))$ 即可求得小球高度.实验所用的显微物镜放大倍数为10倍(数值孔径为0.25),所得到的复合全息图如图3(a)所示,频谱图如图3(b)所示.经频谱分离和角谱法再现后可得到红光和绿光的相位分布,以小球为中心取像素数为 $400 \times 400$ 的区域,结果如图3(c)和(d)所示,相对应的等效波长的相位分布图如图3(e)所示.最后根据 $z = \Phi_{12}\lambda/(2\pi(n - n_1))$ 计算获得了小球形貌,为了更加清晰地展示小球的三维形貌,取像素数为 $160 \times 160$ 的区域,结果如图3(f)所示.

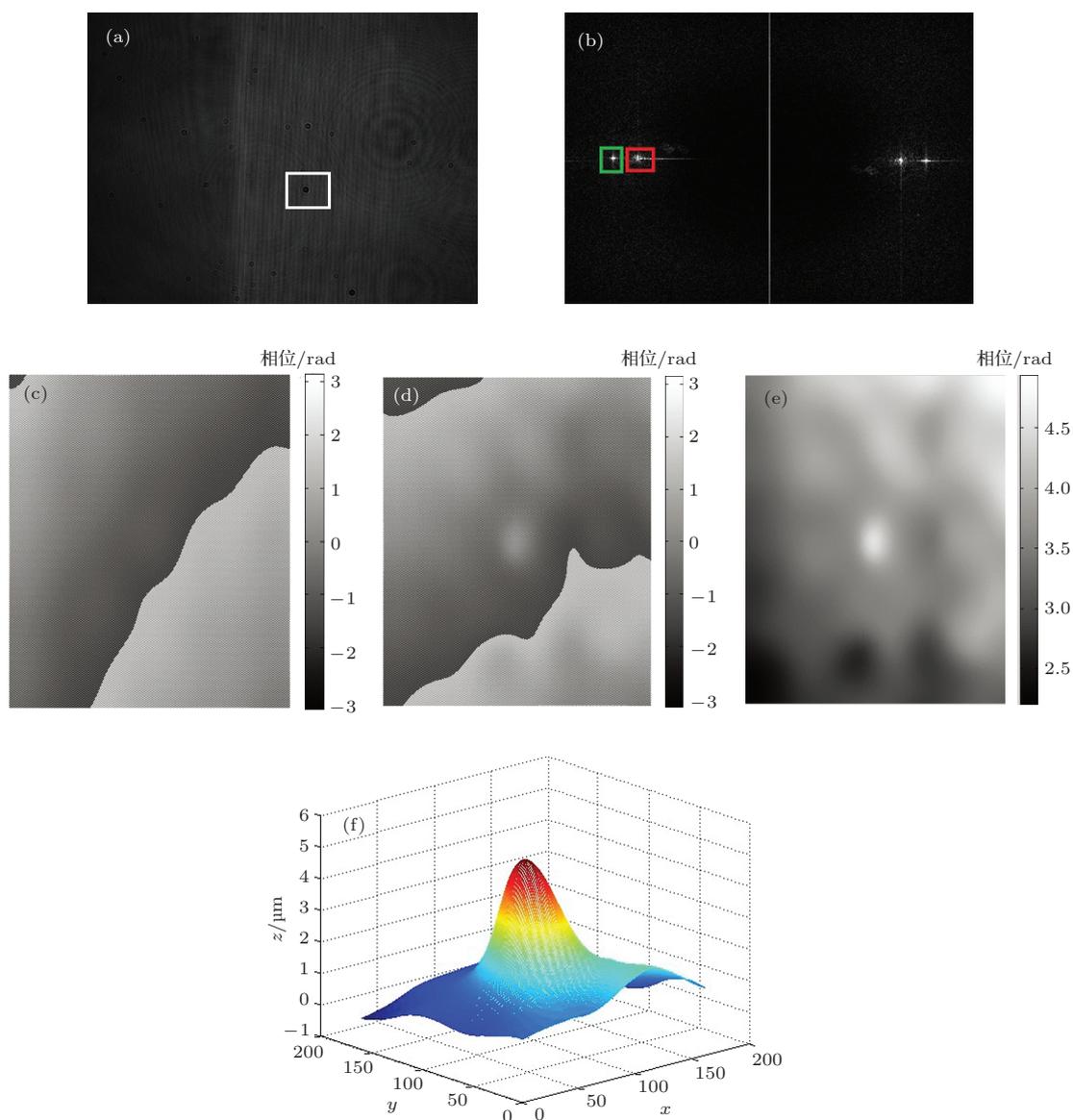


图3 (网刊彩色) 二氧化硅小球双波长光学相位解包裹实验结果 (a) 复合全息图; (b) 复合频谱图; (c) 红光部分相位图; (d) 绿光部分相位图; (e) 等效波长相位图; (f) 小球三维高度分布图

通过多次实验测量和计算, 我们测得的小球高度分布在 $4.70\text{--}5.10\ \mu\text{m}$ 之间, 与标定值 $4.87\ \mu\text{m}$ 相比, 本文实验值的误差不超过5%, 在可以接受的范围内. 这证明了本文提出的双Lloyd镜数字全息显微测量方法的可行性.

## 4 结 论

结合Lloyd镜的共光束自干涉特性与双波长光学相位解包裹方法, 本文提出了双Lloyd镜数字全息显微测量方法, 并进行了实验验证. 结果表明, 该方法能够有效消除相位包裹, 得到被测物体真实的相位分布. 该方法没有复杂的光路, 使用元件相对较少, 要求较低, 稳定性高, 使用范围广, 并适合现场操作. 在数值再现中, 该方法用光学相位解包裹代替复杂的相位解包裹算法, 使得计算更加简便. 为了进一步扩大该光路的应用范围, 可以尝试使用价格低廉的激光二极管作为光源, 并将Lloyd镜、显微物镜和CCD等器件组装为一个整体, 从而形成一个能够现场测量的数字全息显微镜.

## 参考文献

- [1] Goodman J W, Lawrence R W 1967 *Appl. Phys. Lett.* **11** 77
- [2] Li S Y 2005 *Ph. D. Dissertation* (Xi'an: Northwestern Polytechnical University) (in Chinese) [李世扬 2005 博士学位论文 (西安: 西北工业大学)]
- [3] Li J C, Lou Y L, Gui J B, Peng Z J, Song Q H 2013 *Acta Phys. Sin.* **62** 124203 (in Chinese) [李俊昌, 楼宇丽, 桂进斌, 彭祖杰, 宋庆和 2013 物理学报 **62** 124203]
- [4] Wang H Y, Zhang Z H, Liao W, Song X F, Guo Z J, Liu F F 2012 *Acta Phys. Sin.* **61** 044208
- [5] Wang H Y, Liu F F, Liao W, Song X F, Yu M J, Liu Z Q 2013 *Acta Phys. Sin.* **62** 054208
- [6] Li J C 2012 *Acta Phys. Sin.* **61** 134203 (in Chinese) [李俊昌 2012 物理学报 **61** 134203]
- [7] Li J C, Zhang Y P, Xu W 2009 *Acta Phys. Sin.* **58** 5385 (in Chinese) [李俊昌, 张亚萍, 许蔚 2009 物理学报 **58** 5385]
- [8] Wang Y J, Wang Z Q, Gao Z R, Cai W Y, Wu J T 2012 *Acta Opt. Sin.* **32** 1009001 (in Chinese) [王羽佳, 汪竹青, 高志瑞, 蔡文苑, 伍江涛 2012 光学学报 **32** 1009001]
- [9] Daniel P, Myung K 2006 *Appl. Opt.* **45** 451
- [10] Alexander K, Myung K, Chun M L 2008 *Opt. Express* **16** 10900
- [11] Jonas K, Tristan C, Frederic M, Florian C, Yves E, Etienne C, Pierre M, Christian D 2007 *Opt. Express* **15** 7231
- [12] Vani C, Amardeep S G S, Rainer A L, Bahram J, Arun A 2012 *Opt. Lett.* **37** 5127
- [13] Lu M F, Wu J, Zheng M 2013 *Acta Phys. Sin.* **62** 094207 (in Chinese) [卢明峰, 吴坚, 郑明 2013 物理学报 **62** 094207]
- [14] Wang H Y, Liu F F, Song X F, Liao W, Zhao B Q, Yu M J, Liu Z Q 2013 *Acta Phys. Sin.* **62** 024207

# Digital holographic microscope employing dual-Lloyd's mirror<sup>\*</sup>

Yuan Fei Yuan Cao-Jin Nie Shou-Ping Zhu Zhu-Qing Ma Qing-Yu  
Li Ying Zhu Wen-Yan Feng Shao-Tong<sup>†</sup>

(Key Laboratory for Opto-electronic Technology of Jiangsu Province, Nanjing Normal University, Nanjing 210023, China)

( Received 7 November 2013; revised manuscript received 10 January 2014 )

## Abstract

We propose a digital holographic microscopy (DHM) setup employing a configuration with two Lloyd's mirrors, which is based on self-referencing and dual-wavelength optical phase unwrapping. We use two Lloyd's mirrors to fold the beam which does not exhibit sample structure and acts as the reference beam, returning onto itself to form a dual-wavelength hologram. Two wrapped phase images for every wavelength are reconstructed by angular spectrum method. Then the wrapped phase image and the three-dimensional profile image are acquired by dual-wavelength optical unwrapping method. In the experiment, we use two lasers of different wavelengths of 532 and 632 nm to record a hologram. Numerical methods are subsequently applied to reconstruct the hologram to enable direct access to both phase and amplitude information. The quantitative experimental results with dual-wavelength DHM involve a deviation less than 5% from the calibration values. The validity of this method is demonstrated.

**Keywords:** holography, dual-wavelength digital holography, optical phase unwrapping, Lloyd's mirror

**PACS:** 42.40.-i, 42.40.Kw, 42.40.Ht

**DOI:** [10.7498/aps.63.104207](https://doi.org/10.7498/aps.63.104207)

---

<sup>\*</sup> Project supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant Nos. 61377003, 11274176).

<sup>†</sup> Corresponding author. E-mail: [fengshaotong@njnu.edu.cn](mailto:fengshaotong@njnu.edu.cn)