

超衍射极限相干反斯托克斯拉曼散射显微成像技术中空光束的形成*

刘双龙 刘伟 陈丹妮 牛憨笨†

(深圳大学光电工程学院, 光电子器件与系统(教育部/广东省)重点实验室, 深圳 518060)

(2014年4月10日收到; 2014年6月25日收到修改稿)

空心光束的质量是超衍射极限相干反斯托克斯拉曼散射显微成像技术中决定成像质量的一个至关重要的因素. 本文基于菲涅耳衍射理论, 分析了螺旋相位片产生空心光束的物理机理, 并且模拟了不同的入射条件对产生的空心光束的影响. 模拟结果表明: 波长与相位片中心波长匹配且光强呈圆对称分布的高斯光垂直入射到相位片上, 当高斯光束中心与相位片中心完全对准时, 可获得较理想的空心光束; 入射光光强分布的圆对称性以及入射光中心与相位片中心的对准程度都会影响产生的空心光束的强度分布; 同时, 高斯光束小角度倾斜入射时, 空心光的强度分布仍呈圆对称, 却在观察面发生一定的位移; 此外, 入射光中心波长偏离相位片中心波长不大时, 对产生的空心光束的强度分布几乎没有影响. 上述分析结果对用于超衍射相干反斯托克斯拉曼散射显微成像技术中理想空心光束的获取具有重要的指导意义.

关键词: 空心光束, 超衍射极限, 相干反斯托克斯拉曼散射, 螺旋相位片

PACS: 46.40.Cd, 42.65.Dr, 42.65.-k

DOI: 10.7498/aps.63.214601

1 引言

反映生命体性质的特征尺度都在纳米量级, 远远超过常规光学显微镜横向约 200 nm、轴向约 500 nm 的空间分辨率极限^[1]. 虽然原子力显微镜、电子显微镜等可以实现纳米量级的分辨本领, 然而电子显微镜所需要的真空环境不利于生物样品的存活, 因而无法用于活细胞成像, 原子力显微镜和扫描隧道显微镜仅限于对样品表面成像^[2], 无法观察细胞的内部结构. 因此, 人们迫切希望拥有一种既具有纳米尺度的空间分辨率, 又可以监测活细胞内分子运动和结构变化的显微成像技术. 近些年来, 随着新型荧光标记物的出现以及成像方法的改进, 荧光显微成像技术的分辨率得到极大提高, 能够达到 10—20 nm 空间分辨率, 从而使细胞

内精细结构的观察成为可能, 这些荧光超分辨显微成像技术包括: 光敏定位显微(photo-activated localization microscopy, PALM)^[3]、随机光学重建显微(stochastic optical reconstruction microscopy, STORM)^[4]和受激发射损耗法(stimulated emission depletion, STED)^[5]等. 以上基于荧光标记物的超分辨显微成像技术由于荧光标记物的引入, 不可避免对活细胞引起毒性, 同时荧光团自身的光致漂白和光损伤都是无法回避的问题. 因此我们亟需摆脱荧光方法的束缚, 发展一种无需标记, 同时具有良好化学特异性和探测灵敏度的新型显微成像技术.

相干反斯托克斯拉曼散射(coherent anti-Stokes Raman scattering, CARS)显微成像技术可以在无需外援性标记的情况下, 根据物质分子的振动或者转动特性获取待测样品的分子组成和分

* 国家重点基础研究发展计划(973计划)(批准号: 2012CB825802)、国家自然科学基金(批准号: 61235012, 61178080, 11004136), 国家重大科学仪器设备开发专项(批准号: 2012YQ15009203)和深圳市科技计划项目(JCYJ20120613173049560, GJH-S20120621155433884)资助的课题.

† 通讯作者. E-mail: hbniu@szu.edu.cn

布信息, 因此具有良好的化学特异性, 并具有高灵敏度、高空间分辨率等优点^[6,7], 广泛应用于生物学领域中对脂类分子、蛋白质和核酸的成像^[8,9]. 然而, 由于光学衍射极限的限制, 目前CARS显微成像技术仅能达到横向约300 nm、轴向约750 nm的空间分辨率^[8]. 如何突破衍射极限限制, 获得纳米尺度的空间分辨率成为目前研究CARS显微成像技术的首要任务. 目前国际上关于超分辨CARS显微成像方法的报道主要停留在理论阶段, 尚未有实验结果发表, 这些理论方法主要归结为以下三种: 第一种方法引入一束空心光, 使点扩展函数范围内周边分子的振动能级实现粒子数反转, 当与探测光作用时, 点扩展函数周边将不再有信号产生, 信号仅产生于点扩展函数的中心部分, 从而使点扩展函数的范围减小, 实现超分辨^[10,11]; 第二种方法是在点扩展函数周边引入局域振荡场, 通过干涉的方法提高空间分辨率^[12]; 第三种方法采用结构光照明来提高空间分辨率^[13], 这种方法实验上已经获得约120 nm的横向空间分辨率, 但是不符合超分辨显微成像技术空间分辨率小于100 nm的要求, 不属于严格意义上的超分辨显微成像方法. 此外, 以上几种方法仅限于对分子的单一化学键成像, 很难实现分子的准确识别和精确定位.

我们提出一种附加探测光引起声子耗尽(Additional Probe Introduced Phonon Depleted, APIPD)^[14]的CARS超分辨显微成像方法, 通过引入一束空心光作为附加探测光与点扩展函数范围内周边的声子相互作用, 而点扩展函数中心部分的

声子仍与高斯型探测光作用. 由于探测光与附加探测光中心波长不同, 因而在点扩展函数周边区域和中心区域产生的CARS信号的波长不同. 因此, 可以将点扩展函数周边区域产生的CARS信号滤除, 从而实现点扩展函数的改造, 获得突破光学衍射极限限制的CARS显微图像. 此外, 当采用飞秒激光脉冲抽运光子晶体光纤产生的超连续谱光源^[15,16]同时作为抽运光与斯托克斯光时, 可同时获取分子多个甚至是全部化学键的振动谱^[17], 从而提高分子识别的准确度和定位的精确度^[18,19]. APIPD超分辨显微成像方法中, 作为附加探测光的空心光束的质量是一个至关重要的因素: 空心光在像面的位置会影响到成像系统的调节, 而空心光强度分布的圆对称性关系到成像的对比度, 其暗斑尺寸更是直接影响CARS显微成像系统的空间分辨率. 因此, 我们需严格控制产生空心光束的条件, 以期得到比较理想的空心光.

2 超分辨CARS原理

如图1(a)所示, CARS过程采用中心频率为 ω_p 和 ω_s 的超短激光脉冲分别作为抽运光和斯托克斯光来激发分子共振, 当抽运光和斯托克斯光之间的频差满足分子的某一化学键的振动频率 ω_R 时, 即 $\omega_R = \omega_p - \omega_s$, 共振激发产生大量的相干声子, 相干声子与探测光光子作用将产生频率为 $\omega_{as} = \omega_p - \omega_s + \omega_{pr}$ 的CARS信号, 其中 ω_{pr} 为探测光的中心频率.

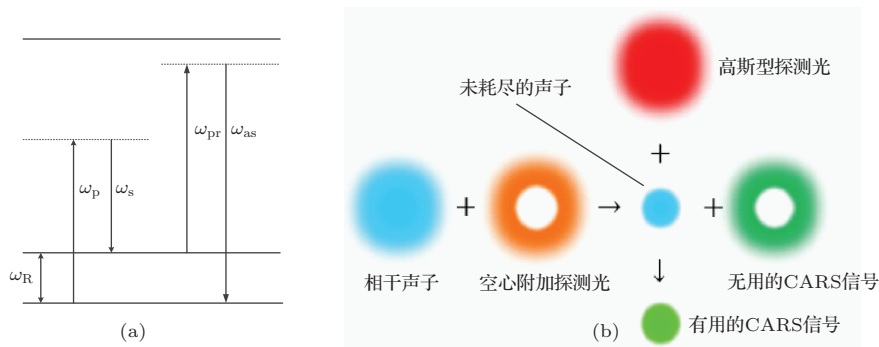


图1 (网刊彩色) (a) CARS过程的能级图; (b) 超分辨CARS原理图

为突破光学衍射极限, 我们引入一束空心光作为附加探测光与点扩展函数周边的声子相互作用, 其基本原理如图1(b)所示. 首先, 抽运光与斯托克斯光同时到达样品与样品分子作用, 产生大量的相干声子, 随后到达样品的空心光与相干声子作用产

生中心频率为 $\omega'_{as} = \omega_p - \omega_s + \omega'_{pr}$ (ω'_{pr} 为附加探测光的中心频率)的CARS信号, 我们称之为无用的CARS信号. 由于空心光束的光强在中心很弱、在周边较强, 因而附加探测光光子主要与点扩展函数周边的声子作用, 即中心频率为 ω'_{as} 的CARS信号

主要产生在点扩展函数的周边区域. 空心光与声子作用结束后, 高斯型探测光到达样品, 此时点扩展函数范围内周边的绝大部分声子已被消耗, 仅剩下点扩展函数中心部分的大量声子可与探测光光子作用, 产生中心频率为 ω_{as} 的 CARS 信号, 我们称之为有用的 CARS 信号. 由于附加探测光中心频率 ω'_{pr} 与探测光的中心频率 ω_{pr} 不同, 因而产生的无用 CARS 信号和有用 CARS 信号在频谱上是分隔开的, 可以通过特定的滤光片将无用 CARS 信号滤除, 达到缩小点扩展函数的目的, 从而实现超分辨.

在 APIPD 超分辨显微成像技术中, 抽运光、斯托克斯光、附加探测光和探测光均为脉宽约为 100 fs 的飞秒激光脉冲. 为了最大程度地激发分子键共振, 抽运光脉冲和斯托克斯光脉冲须同时到达样品, 从而产生大量的相干声子. 由于空心附加探测光仅与点扩展函数周边的声子作用, 且产生的信号为无用的 CARS 信号, 因而可与抽运、斯托克斯光脉冲同时到达样品. 附加探测光与相干声子作用结束后, 高斯型探测光到达并与点扩展函数中心的声子发生作用, 高斯型探测光与抽运、斯托克斯光脉间的时间延迟可以有效地抑制非共振背景, 提高 CARS 显微成像系统的信噪比.

APIPD 超分辨显微成像技术通过引入一束空心光实现点扩展函数的改造, 获得超光学衍射极限的分辨率. 我们用全量子理论分析了这一过程, 并得到超分辨 CARS 显微成像技术的横向空间分辨率 [14,20]

$$\Delta r = \sqrt{2} \frac{\lambda}{\pi n \sin \alpha \sqrt{3+K}} \approx \frac{0.9}{\sqrt{3+K}} \cdot \frac{\lambda}{2n \sin \alpha}, \quad (1)$$

式中的 Δr 为引入附加探测光后系统的横向空间分辨率(半高全宽), $n \sin \alpha$ 为物镜的数值孔径, K 为空心光的相对强度因子, 即附加探测光最大强度与探测光最大强度的比值. 在计算中, 我们忽略了抽运光、斯托克斯光、探测光和附加探测光之间的波长差异性以及在样品中折射率的差异性, 统一记为 λ 和 n .

由(1)式可以看出, 引入空心光作为附加探测光后, 系统分辨率较普通光学衍射极限 $0.5\lambda/n \sin \alpha$ 提高了约 $\sqrt{3+K}$ 倍, 且在高斯型探测光的光强一定时, 点扩展函数的半高宽随空心光光强的增加而降低, 即系统具有更高的空间分辨率. 在高斯型探测光强度不变的情况下, 改变

空心光束的强度可使 K 因子具有不同的值, 此时成像系统的空间分辨率可通过(1)式计算得到. 当 $\lambda = 800 \text{ nm}$, $n \sin \alpha = 1.2$, $K = 50$ 时, 理论计算得到系统的横向分辨率约为 41 nm.

APIPD 超分辨理论中, 通过引入空心光束作为附加探测光来消耗点扩展函数周边的相干声子, 实现超衍射极限的空间分辨率. 相干声子的空间分布以及与空心光的相对位置关系如图 2 所示, 图中的绿色曲线为相干声子的空间分布、红色和蓝色曲线为空心光的空间分布. 随着空心光强度增加(如图 2 中的红色曲线到蓝色曲线), 其与点扩展函数范围周边的声子相互作用的范围逐渐变大, 剩余的可与探测光作用的声子数目变少且更集中在点扩展函数的中心, 因此产生的有用 CARS 信号的范围和强度都将减小, 成像系统在具有更高的空间分辨率的同时, 灵敏度也随之降低, 即分辨率的提高是以牺牲灵敏度为代价的: 系统的空间分辨率越高, 有用 CARS 信号产生的范围越小, 系统灵敏度也越低. 由于 CARS 过程属于三阶非线性过程, 信号强度本身就很弱, 因而在提高分辨率的同时, 微弱信号的探测将成为决定能否获得高分辨率图像的一个主要的因素. 在 CARS 超分辨实验中需采用具有高灵敏度、高量子效率的 EMCCD 光谱仪来探测微弱的 CARS 信号, 以获得高分辨率的 CARS 显微图像.

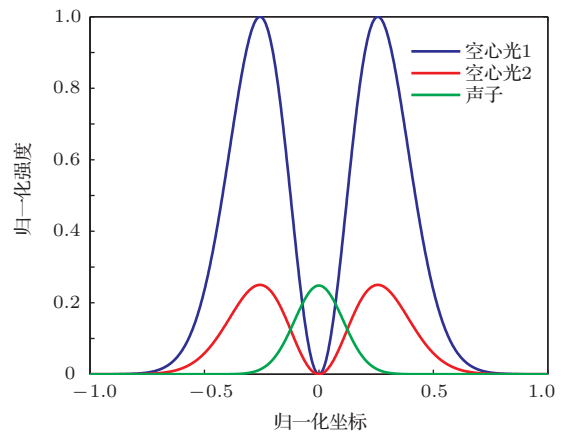


图 2 (网刊彩色) 相干声子与空心光的相对位置

3 空心光束的产生

空心光束是一种光强在光束中心处很小甚至为零, 沿着半径方向先增大然后衰减为零的环状光束 [21]. 自 90 年代以来, 实验上已获得多种产生空

心光束的方法, 如几何光学法、模式变换法、微结构光纤法和螺旋相位片法等^[22-25]. 在附加探测光声子耗尽法中, 我们采用如图3(a)所示的拓扑荷为1的螺旋相位片来产生空心光束^[26]. 螺旋相位片是一种光学厚度与方位角成正比的纯相位衍射光学元件, 即随方位角的增加, 相位片给输入光束施加一个从0到 2π 连续变化的位相, 因而其透过函数 $t(\rho, \varphi)$ 可写为

$$t(\rho, \varphi) = t_0 \exp(i\varphi), \quad (2)$$

其中 (ρ, φ) 为相位片上的极坐标系, t_0 为强度透过率.

理想情况下, 高斯光束中心、相位片中心以及观察屏中心在同一条直线上, 此时, 相位片前表面的场分布 E_1 为

$$E_1(\rho_1, \varphi_1) = A_0 \exp\left(-\frac{\rho_1^2}{\omega_0^2}\right), \quad (3)$$

其中 (ρ_1, φ_1) 为相位片上的极坐标系, ω_0 为高斯光束到达相位片表面时的光束半宽度, A_0 为入射光的复振幅强度.

透过相位片的出射光场 E'_1 应为

$$E'_1(\rho_1, \varphi_1) = A_0 t_0 \exp\left(-\frac{\rho_1^2}{\omega_0^2}\right) \exp(j\varphi_1). \quad (4)$$

从相位片出射的光传输到观察面为菲涅耳衍射过程, 因此可以得到观察面上的复振幅分布 E_2 的表达式为

$$E_2(\rho_2, \varphi_2) = \frac{\exp(jkd)}{j\lambda d} \iint E'_1(\rho_1, \varphi_1) \exp\left(jk\frac{\rho_1^2}{2d}\right) \exp\left(jk\frac{\rho_2^2}{2d}\right) \times \exp\left(-jk\frac{\rho_1\rho_2 \cos(\varphi_1 - \varphi_2)}{d}\right) \rho_1 d\rho_1 d\varphi_1, \quad (5)$$

其中 (ρ_2, φ_2) 为观察面的极坐标系, d 为相位片到观察面的距离, k 为波矢量.

4 影响空心光质量的 因素

超分辨CARS需要一束空心光束作为附加探测光, 来消耗点扩展函数周围的声子, 达到缩小点扩展函数的目的, 因此, 用于超分辨CARS中的空心光束应具有以下特征: 1) 空心光束光强分布为形似“甜甜圈”的圆对称状, 且空心光束的尺寸应比入射光尺寸略大, 便于均匀地消耗点扩展函数范围内周边的声子; 2) 空心光束的暗斑尺寸尽可能的小, 以获取更高的空间分辨率; 3) 空心光束应处

于像面中心, 以方便抽运光、斯托克斯光、探测光以及附加探测光在时间和空间上的同步. 本文基于MATLAB软件采用自行编写的程序模拟了不同的入射条件对产生的空心光束的影响, 包括入射光的中心偏移、入射光强度分布不均匀、倾斜入射以及入射光的波长偏移等.

4.1 理想情况下的空心光

首先, 我们模拟了理想情况下产生的空心光束, 即理想高斯光束垂直入射到相位片, 同时, 高斯光束的中心、相位片的中心以及观察屏中心完全对准, 且入射光波长与相位片中心波长一致.

由于飞秒激光器输出的激光束具有较小的束散角(≤ 1.0 mrad)和较小 M^2 的因子($M^2 \leq 1.1$), 在光束传输距离较短(< 2.4 m)时, 可以忽略传输距离对光束宽度的影响. 考虑实际情况, 计算中取高斯光束半宽度为0.62 mm、入射光波长和螺旋相位片的中心波长均为596 nm. 当高斯光束的中心、相位片的中心以及观察屏中心完全对准时, 产生的空心光束的光强分布如图3(b)所示, 光强在光束中心处为零, 并随着半径的增大先呈指数增强, 达到极大值后再呈指数衰减, 整个光强分布呈圆对称状, 对称中心为观察屏中心.

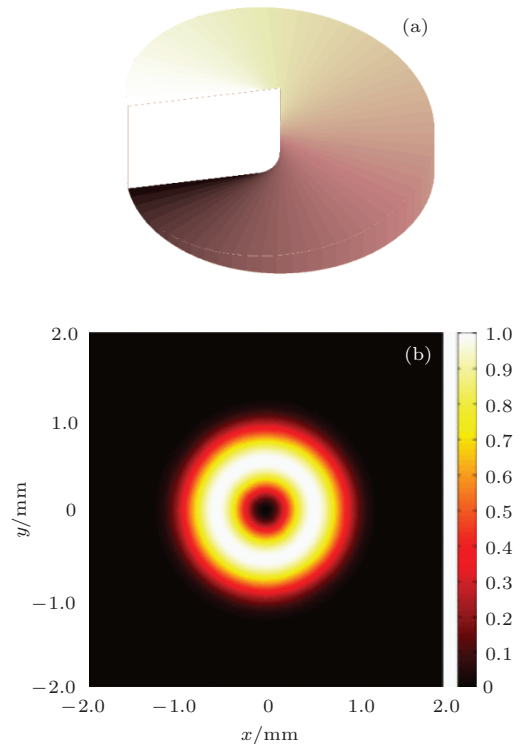


图3 (网刊彩色) (a) 螺旋相位片的三维示意图; (b) 理想情况下产生的空心光

4.2 离轴情况下的空心光

在理想情况下, 高斯光束中心与相位片中心是完全对准的, 而在实验中, 高斯光束中心与相位片中心仍存在一定的偏离(称为离轴), 下面我们讨论了这种偏离对产生的空心光束的光强分布的影响.

当高斯光束中心与相位片中心不重合时, 产生的空心光束不再呈圆对称状, 光强极大值点(图中较亮处)会向某一方向发生偏移, 形成如图4所示的光强分布. 在其他条件不变的情况下, 高斯光束中心沿 x 轴正方向分别移动 0.1 mm, 0.2 mm, 0.3 mm, 0.5 mm 时, 产生的空心光束的光强分布分别如图4(a), (b), (c), (d) 所示, 当高斯光束中心沿 x 轴正方发生偏移时, 空心光束的光能量会向某一特定方向集中, 形成左上部分光强较弱、右下部分光强相对较强的强度分布, 同时, 其暗斑中心也会发生移动, 但仍处于衍射屏中心附近; 当偏移量较大时, 产生的空心光束将不再完整, 而是形如图4 (d) 中的半月形衍射斑, 暗斑中心也会偏离衍射屏中心更远.

如图4所示, 当高斯光束中心沿沿 x 轴正方发生偏移时, 产生的空心光束的光强分布是轴对称的, 对称轴为斜向下方的直线, 而对称轴的方位角会因衍射距离的不同而改变. 图5为高斯光束中心沿 x 轴正方向移动 0.2 mm, 衍射距离分别为 0.6 m, 1.2 m, 1.8 m, 2.4 m 时产生的空心光束, 图中虚线表示空心光束的对称轴, 从图中可以看出: 衍射距离从 0.6 m 逐渐增加 2.4 m 过程中, 空心光束的对称轴在沿顺时针方向旋转, 旋转角度的大小由衍射距离决定. 同时, 随衍射距离的增加, 空心光束的亮斑和暗斑也会向外扩展, 暗斑中心也在渐渐偏移衍射屏中心.

在 CARS 超分辨实验中, 所用的空心附加探测光与高斯型探测光应在空间上重合, 二者的中心应尽可能的对准, 同时, 空心光的强度分布具有圆对称性, 以均匀地消耗点扩展函数范围内周边的光子. 根据上述理论分析, 为使产生的空心光的光强分布具有圆对称性, 入射高斯光的中心应与相位片的中心尽可能的重合.

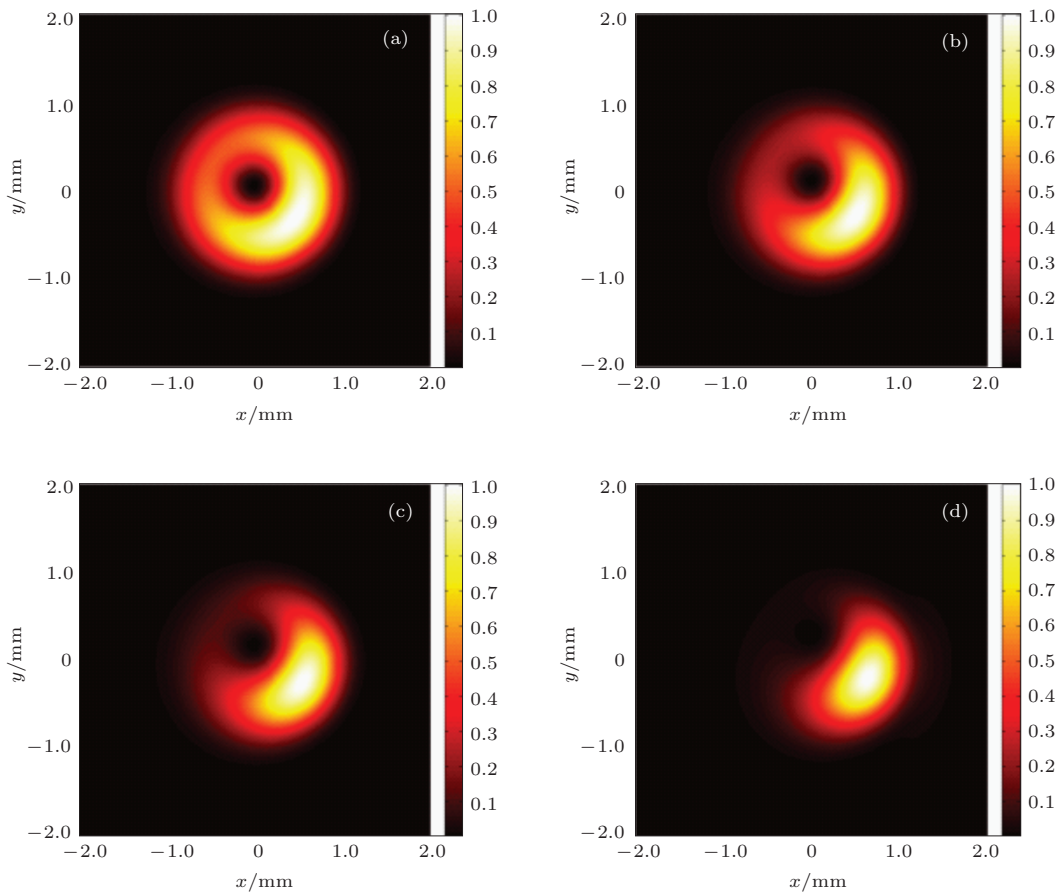


图4 (网刊彩色) 不同离轴距离时产生的空心光 (a) 0.1 mm; (b) 0.2 mm; (c) 0.3 mm; (d) 0.5 mm

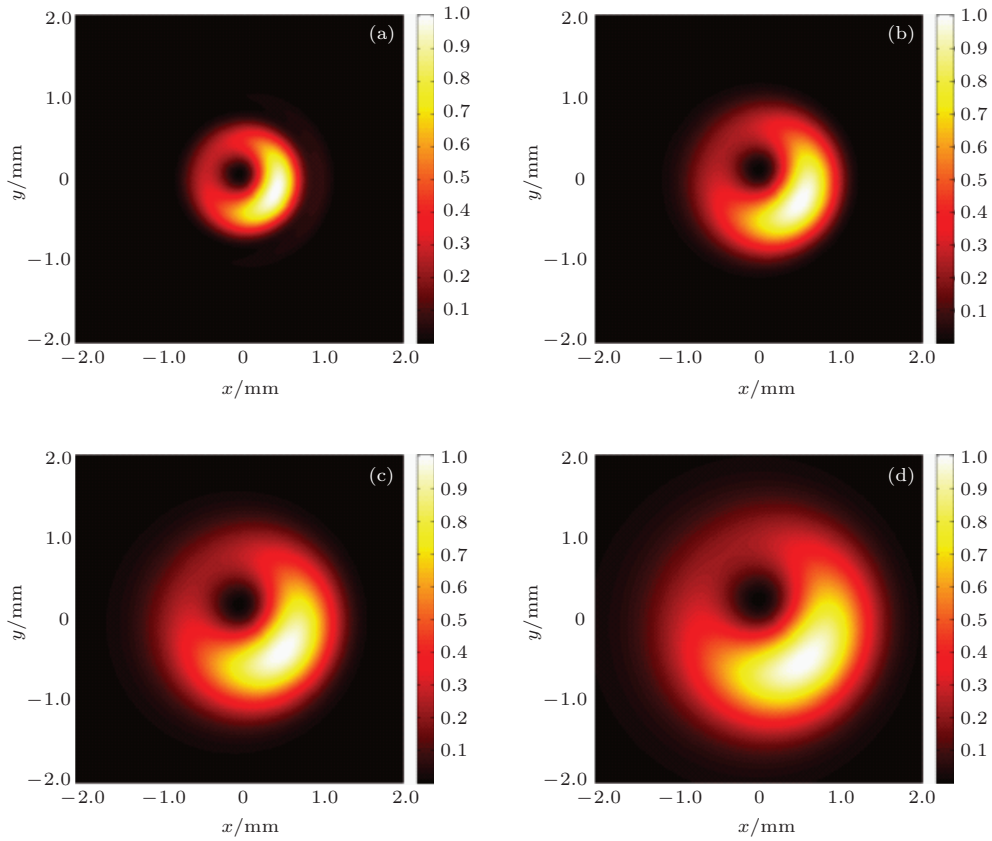


图5 (网刊彩色) 不同衍射距离处的空心光 (a) 0.6 m; (b) 1.2 m; (c) 1.8 m; (d) 2.4 m

4.3 光强分布对空心光的影响

为了研究具有非圆对称光强分布的入射光对产生的空心光束的影响, 我们考虑椭圆高斯光束垂直入射到相位片上产生的空心光束的情况, 入射到相位片的电场分布 E 可写为

$$E(x, y, 0) = A_0 \exp \left[-\frac{x^2}{\omega_x^2} - \frac{y^2}{(m\omega_0)^2} \right], \quad (6)$$

其中, $m = \max \left\{ \frac{\omega_x}{\omega_y}, \frac{\omega_y}{\omega_x} \right\} \geq 1$ 定义为 x 轴和 y 轴方向上光束的不对称度.

图6(a)为 $m = 1.2$ 时入射光的强度分布, 光强分布呈椭圆状, 即在 x 轴方向上保持不变、在 y 轴方向被拉伸. 在入射光波长以及相位片中心波长不变、入射光垂直入射到相位片, 且入射光中心与相位片中心完全对准时, 相位片后 1.2 m 处的衍射光斑如图6(b)所示, 由于入射光的光强分布是非圆对称的, 所以产生的空心光束也是非圆对称的, 整个空心光束的外型仍是椭形的, 其光强分布不再均匀, 且在某一方向上有两个明显的亮斑, 且暗斑部分也呈“椭型”分布.

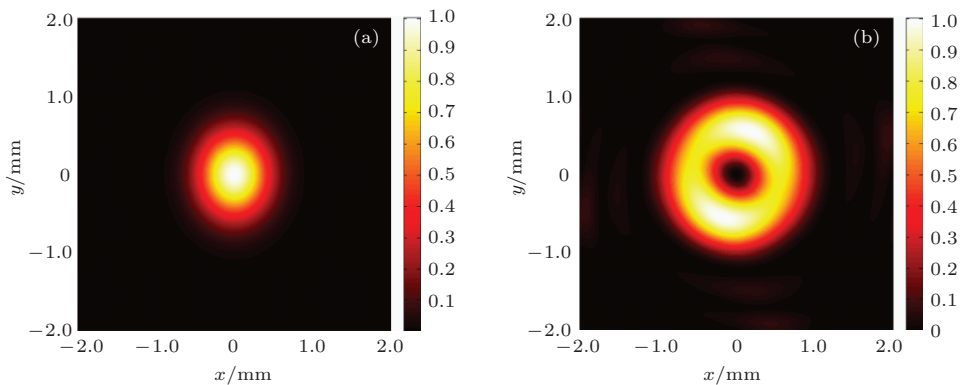


图6 (网刊彩色) (a) 椭圆高斯光的强度分布; (b) $m = 0.8$ 时的空心光

由上述分析可知,在用相位片产生空心光束时,入射光的强度分布会直接影响到形成的空心光的质量,因此,入射光的强度分布需具有较好的圆对称性.

4.4 入射角度对空心光的影响

在理想情况下,高斯光束是垂直入射到相位片上的,而在实验中,完全的垂直入射是十分困难的,因此,我们模拟了高斯光束倾斜入射到相位片上时产生的空心光束.考虑高斯光束斜向上(y 轴正方向)与 z 轴正方向呈 θ 角入射,且高斯光束中心与相位片中心完全对准的情况,光束到达相位片前表面时,在不同的位置具有不同的位相差,因此,其电场分布 E 可以近似为

$$E(x, y, 0) = A_0 \exp \left[-\frac{x^2 + (y/\cos\theta)^2}{\omega_0^2} \right] \times \exp(iky \sin\theta). \quad (7)$$

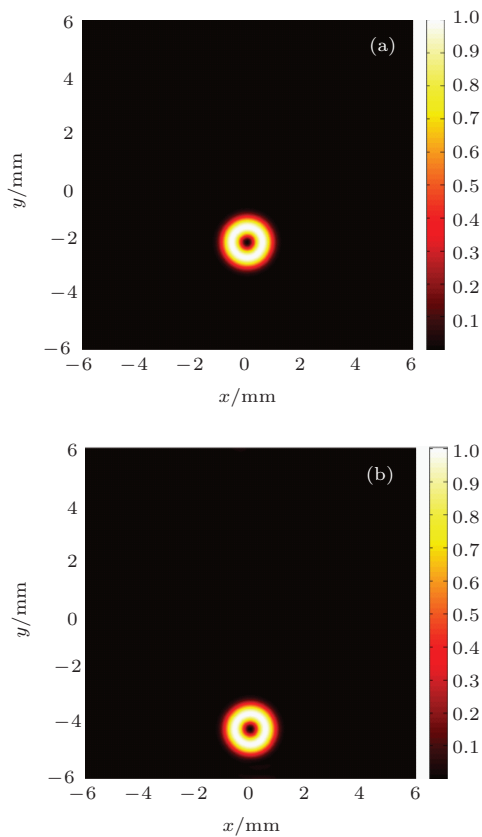


图7 (网刊彩色) 不同角度入射时产生的空心光束 (a) 入射角为 0.1° ; (b) 入射角为 0.2°

图7(a), (b)分别为入射角为 0.1° , 0.2° 时产生的空心光束,在斜入射角度较小时,高斯光束的外形几乎没有改变,因而产生的空心光束几乎仍为圆

对称状的;然而,即使很小的斜入射角度,也会引起空心光束位置的较大偏移,入射角为 0.1° , 0.2° 时,空心光束分别偏移了约2 mm, 4 mm,且偏移量也会随衍射距离的增加而变大.当入射光的斜入射角度较大时,空心光束会偏离观察屏的中心较远距离,产生的空心光束的强度分布也略呈椭圆.

在产生空心光束的实验中,我们可通过产生的空心光在观察屏的位置来确定入射光的倾斜角度,在入射激光束确定的情况下,通过调节相位片的水平及俯仰角度,来改变产生的空心光在观察屏上的位置,当空心光位于观察屏中心附近时,可认为入射光是垂直入射到相位片上的,此时产生的空心光也可认为是理想的空心光.

4.5 入射光波长对空心光的影响

由于飞秒激光具有一定的谱线宽度,一般为10—20 nm,而相位片的中心波长为596 nm,因此,我们需考虑入射光波长与相位片中心波长不匹配时,是否会影响环形光的特性.

中心波长为 λ_0 的相位片在 θ 角方向上引入的相位(与在空气中传输相比)为

$$\Phi(\theta, \lambda_0) = \frac{2\pi}{\lambda_0} \left[(n_g - 1)h_0 + \frac{(n_s - 1)h_s\theta}{2\pi} \right], \quad (8)$$

式中, n_g 为相位片衬底的折射率, n_s 为相位片材料的折射率, h_s 为相位片在方向角为 2π 和0时的厚度差.

根据相位片设计原理可知

$$\Phi(2\pi, \lambda_0) - \Phi(0, \lambda_0) = 2\pi. \quad (9)$$

因此我们可以得到相位片在方向角为 2π 和0时的厚度差 h_s 为

$$h_s = \lambda_0 / (n_s - 1). \quad (10)$$

当波长为 λ_1 光垂直入射到相位片上时,在角度为 θ_1 和0方向引起的相位差应为

$$\Delta\Phi = \frac{2\pi}{\lambda_1} \left[\frac{(n_s - 1)h_s\theta_1}{2\pi} \right] = \frac{\lambda_0}{\lambda_1} \theta_1. \quad (11)$$

因而相位片的透过率函数应为

$$t(\rho, \varphi) = t_0 \exp(i\lambda_0\varphi/\lambda_1). \quad (12)$$

在保证高斯光垂直入射且高斯光中心与相位片中心完全对准的情况下,仅改变入射光波长发现:当入射光波长与相位片的中心波长偏离较大时,产生的空心光束光强会向某个方向集中,其圆

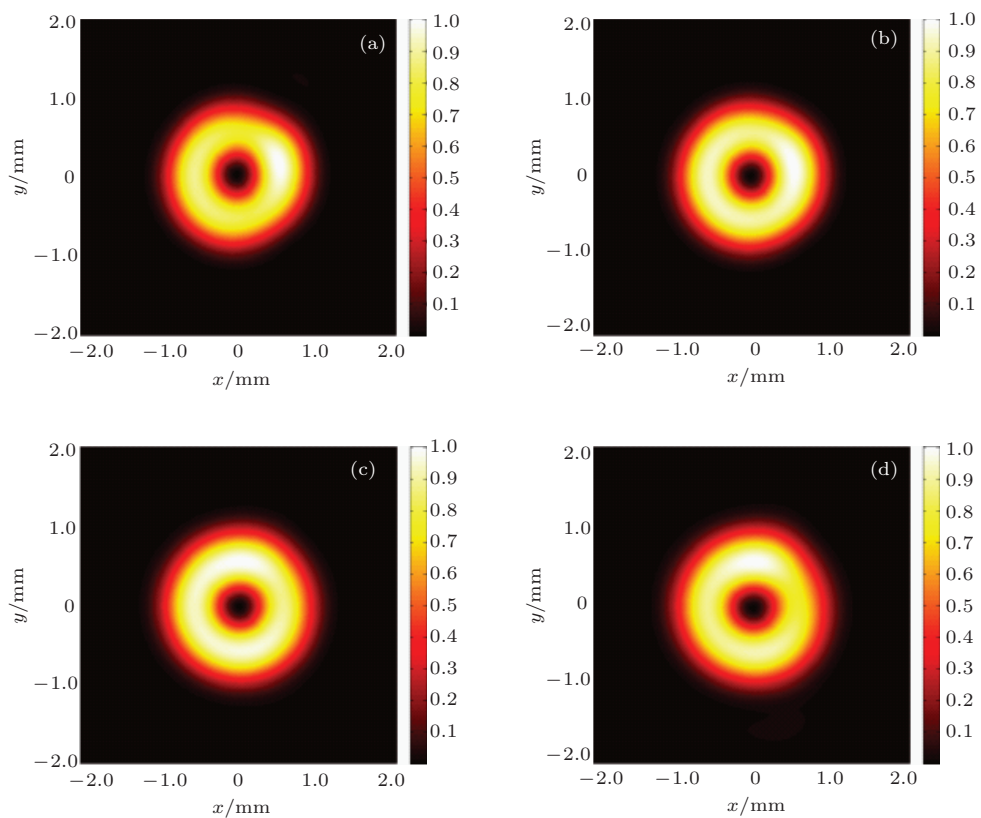


图8 (网刊彩色) 不同入射波长时产生的空心光 (a) 556 nm; (b) 576 nm; (c) 616nm; (d) 636nm

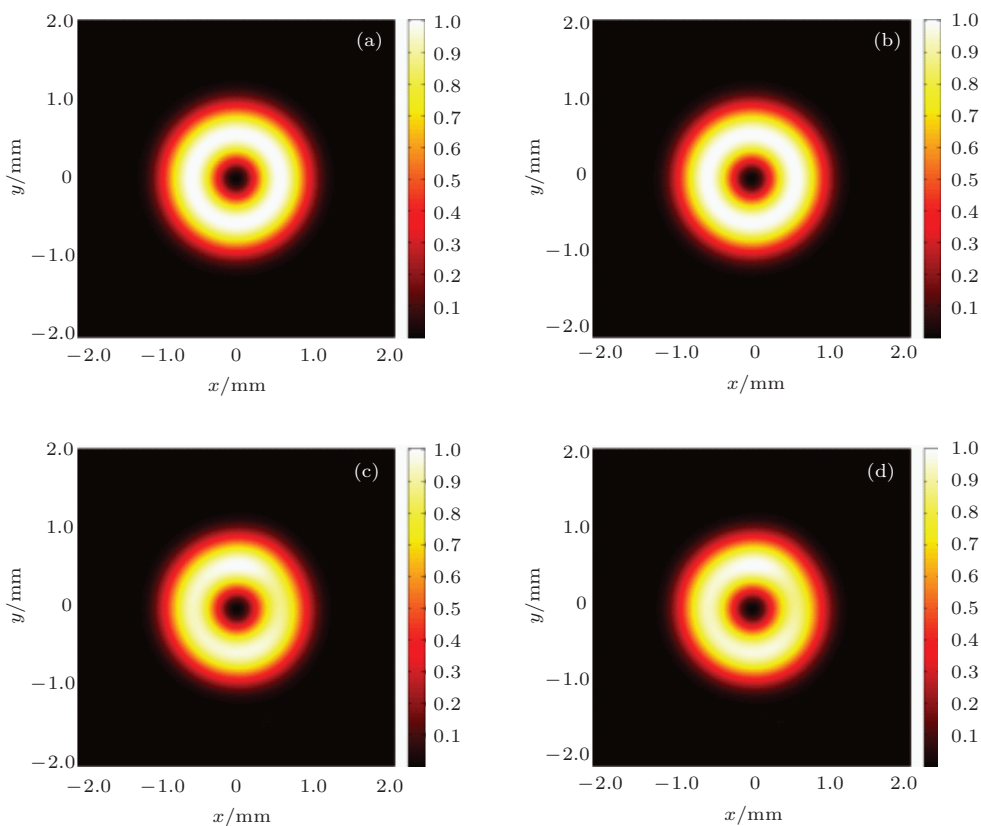


图9 (网刊彩色) 入射光的中心波长及谱宽度对产生的空心光的影响 (a) 中心波长为 596 nm, 谱宽为 10 nm; (b) 中心波长为 596 nm, 谱宽为 20 nm; (c) 中心波长为 576 nm, 谱宽为 10 nm; (d) 中心波长为 576 nm, 谱宽为 20 nm

对称性被破坏,如图8所示,图中(a),(b),(c),(d)分别表示入射光波长分别为556 nm, 576 nm, 616 nm, 636 nm是产生的空心光.当入射光波长向短波方向偏离时,光能量会向右上方集中,而当入射光波长向长波方向偏离时,光能量会向正上方集中,分别如图8(a),(b),(c),(d)所示,当入射光波长偏离较小时,空心光束的强度分布变化不大,而当波长偏离量较大时,会严重影响空心光的圆对称性.

为了使模拟更贴近实验,我们考虑中心波长为596 nm、谱宽度为10 nm(半高全宽度)的激光束垂直入射到相位片上,在激光束的半宽度为0.62 mm、衍射距离为1.2 m且激光束的中心与相位片的中心完全对准的情况下,产生空心光束如图9(a)所示,从图中可以看出,此时的空心光束具有很好的圆对称性.在其他条件不变的情况下,将入射光的谱宽度增加到20 nm,产生的空心光的强度分布仍为圆对称的,如图9(b)所示.同时,我们也考虑了入射光中心波长偏离相位片中心波长时产生的空心光束的情况,当谱宽度为10 nm、中心波长分别为576 nm的高斯型激光束垂直入射到相位片时,在相位片后1.2 m的距离处得到的空心光如图9(c)所示,此时空心光的强度分布的圆对称性被破坏,在某一方向上的光强分布有一缺口,其光强比其他方向弱.而当入射光的谱宽度增加到20 nm时,产生的空心光束的光强分布几乎没有改变,如图9(d)所示.

由上述分析可知:单一波长高斯光垂直入射到相位片上时,若入射光波长偏离相位片中心波长较小时,产生的空心光的强度分布几乎仍为圆对称状的;当入射光波长偏离相位片中心波长较大时,产生的空心光的强度分布会受到影响,其在某一方向上有一个明显的亮斑;同时,具有一定谱宽度的入射光透过相位片产生空心光时,空心光的强度分布主要与入射光的中心波长有关.因此,在CARS超分辨实验中,应将入射光中心波长和相位片中心波长的差值控制在较小的范围内(一般小于10 nm).

5 结 论

空心光束的质量直接关系到超衍射极限相干反斯托克斯拉曼散射显微成像系统的空间分辨率以及成像对比度,因此,本文在衍射理论的基础上,对空心光束的产生进行了理论分析和数值模拟,并

对比分析了不同的入射条件对产生的空心光束的强度分布的影响.数值计算结果表明:在理想情况下,空心光束的光强呈圆对称分布;当高斯光束的中心与相位片的中心不对准时,空心光束的圆对称性被破坏,光能量向某一方向集中,此方向与衍射距离有关;高斯光束以小角度倾斜入射到相位片时,空心光束的强度分布几乎不改变,而它在观察屏上的位置相对于观察屏中心会发生较大偏移;同时,入射光的强度分布为非圆对称状时,空心光束的强度分布也会发生改变,一般取决于入射光的强度分布情况;入射光中心波长偏离相位片中心波长不大时,会稍微影响空心光束强度分布的圆对称性,但仍在可接受的范围内.上述分析结果对用于超衍射相干反斯托克斯拉曼散射显微成像技术中理想空心光束的获取具有重要的指导意义.

参考文献

- [1] Yamanaka M, Smith N I, Fujita K 2014 *Microscopy* **0** 1
- [2] Park J, Lee J, Namgung S, Heo K, Lee H, Hohng S, Hong S 2014 *Small* **10** 462
- [3] Hess S T, Girirajan T P K, Mason M D 2006 *Biophys. J.* **91** 4258
- [4] Rust M J, Bates M, Zhuang X W 2006 *Nature Methods* **3** 793
- [5] Hell S W, Wichmann J 1994 *Opt. Lett.* **19** 780
- [6] Cheng J X, Xie X S 2003 *The J. Phys. Chem. B* **108** 827
- [7] Evans C L, Xie X S 2008 *Annu. Rev. Anal. Chem.* **1** 883
- [8] Cheng J X, Jia Y K, Zheng G, Xie X S 2002 *Biophys. J.* **83** 502
- [9] Nan X, Potma E O, Xie X S 2006 *Biophys. J.* **91** 728
- [10] Beeker W P, GroßP, Lee C J, Cleff C, Offerhaus H L, Fallnich C, Herek J L, Boller K 2009 *Opt. Express* **17** 22632
- [11] Beeker W P, Lee C J, Boller K, GroßP, Cleff Cn, Fallnich C, Offerhaus H L, Herek J L 2010 *Phys. Rev. A* **81** 012507
- [12] Nikolaenko A, Krishnamachari V V, Potma E O 2009 *Phys. Rev. A* **79** 013823
- [13] Hajek K M, Littleton B, Turk D, McIntyre T J, Rubinsztein-Dunlop H 2010 *Opt. Express* **18** 19263
- [14] Liu W, Niu H 2011 *Phys. Rev. A* **83** 023830
- [15] Liu S L, Chen D N, Liu W, Niu H B 2013 *Acta Phys. Sin.* **62** 184210 (in Chinese) [刘双龙, 陈丹妮, 刘伟, 牛慧笨 2013 物理学报 **62** 184210]
- [16] Liu X, Liu W, Yin J, Qu J L, Lin Z Y, Niu H B 2011 *Chin. Phys. Lett.* **28** 034202
- [17] Yin J, Yu L Y, Liu X, Wan H, Lin Z Y, Niu H B 2011 *Chin. Phys. B* **20** 014206
- [18] Parekh S H, Lee Y J, Aamer K A, Cicerone M T 2010 *Biophys. J.* **99** 2695

- [19] Paulsen H N, Hilligse K M, Thøgersen J, Keiding S R, Larsen J J 2003 *Opt. Lett.* **28** 1123
- [20] Liu W, Chen D N, Liu S L, Niu H B 2013 *Acta Phys. Sin.* **62** 164202 (in Chinese) [刘伟, 陈丹妮, 刘双龙, 牛憨笨 2013 物理学报 **62** 164202]
- [21] Cai Y, Lu X, Lin Q 2003 *Opt. Lett.* **28** 1084
- [22] Zhang Q A, Wu F T, Zheng W T, Ma L 2011 *Acta Phys. Sin.* **60** 094201 (in Chinese) [张前安, 吴逢铁, 郑维涛, 马亮 2011 物理学报 **60** 094201]
- [23] Lee H S, Stewart B W, Choi K, Fenichel H 1994 *Phys. Rev. A* **49** 4923
- [24] Zhang M Y, Li S G, Yao Y Y, Fu B, Zhang L 2010 *Chin. Phys. B* **19** 047103
- [25] Yin J P, Gao W J, Wang H F, Long Q, Wang Y Z 2002 *Chin. Phys.* **11** 1157
- [26] Watanabe T, Fujii M, Watanabe Y, Toyama N, Iketaki Y 2004 *Rev. Sci. Instrum.* **75** 5131

Generation of dark hollow beams used in sub-diffraction-limit imaging in coherent anti-Stokes Raman scattering microscopy*

Liu Shuang-Long Liu Wei Chen Dan-Ni Niu Han-Ben[†]

(College of Opto-Electronics Engineering, Shenzhen University, Shenzhen 518060, China)

(Received 10 April 2014; revised manuscript received 25 June 2014)

Abstract

Profile of a dark hollow beam in sub-diffraction –limit imaging is of crucial importance for its spatial resolution when using the coherent anti-Stokes Raman scattering microscopy, as far as the imaging quality is concerned. Therefore, the generation of dark hollow beams through a vortex phase plate will be theoretically analyzed based on the Fresnel diffraction theory. Influences of different incidence conditions on the intensity distribution of the generated dark hollow beams are also investigated. And it is shown that a perfect dark hollow beam could be produced when a Gaussian beam is vertically incident upon a first-order vortex phase plate, with the incident light wavelength equal to that of the phase plate. However, both the circular symmetry of the incident beam’s intensity distribution and the alignment between the centers of Gaussian beam and phase plate may affect the intensity distribution of the dark hollow beam, which will almost be in circular symmetry though it may shift some distance from the image center when at a small incident angle. Furthermore, the dark hollow beam’s intensity distribution will scarcely change when the central wavelength deviation is very small from the incidence light and the phase plate. These results may be of great value in generation of perfect dark hollow beams in sub-diffraction –limit imaging by coherent anti-Stokes Raman scattering microscopy.

Keywords: dark hollow beam, sub-diffraction-limit, coherent anti-Stokes Raman scattering microscopy, vortex phase plate

PACS: 46.40.Cd, 42.65.Dr, 42.65.–k

DOI: 10.7498/aps.63.214601

* Project supported by the National Basic Research Program of China(Grant No. 2012CB825802), the National Natural Science Foundation of China (Grant Nos. 61235012, 61178080, 11004136, 60878053), the Special Funds of the Major Scientific Instruments Equipment Development of China (Grant No. 2012YQ15009203), and the Science and Technology Planning Project of Shenzhen, China (Grant Nos. JCYJ20120613173049560, GJHS20120621155433884).

[†] Corresponding author. E-mail: hbniu@szu.edu.cn