

基于分数阶螺旋相位片的定量相位显微成像

吴迪 蒋子珍 喻欢欢 张晨爽 张娇 林丹樱 于斌 屈军乐

Quantitative phase microscopy imaging based on fractional spiral phase plate

Wu Di Jiang Zi-Zhen Yu Huan-Huan Zhang Chen-Shuang Zhang Jiao Lin Dan-Ying Yu Bin Qu Jun-Le

引用信息 Citation: *Acta Physica Sinica*, 70, 158702 (2021) DOI: 10.7498/aps.70.20201884

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.7498/aps.70.20201884>

当期内容 View table of contents: <http://wulixb.iphy.ac.cn>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

基于单一分光棱镜干涉仪的双通路定量相位显微术

Dual-channel quantitative phase microscopy based on a single cube beamsplitter interferometer

物理学报. 2018, 67(14): 140704 <https://doi.org/10.7498/aps.67.20172722>

平板式螺旋相位板的设计与应用

Design and application of flat spiral phase plate

物理学报. 2019, 68(5): 054102 <https://doi.org/10.7498/aps.68.20181677>

基于迭代重建算法的X射线光栅相位CT成像

Grating based X-ray phase contrast CT imaging with iterative reconstruction algorithm

物理学报. 2017, 66(5): 054202 <https://doi.org/10.7498/aps.66.054202>

基于螺旋相位调制的非相干全息点扩散函数研究

Point spread function of incoherent digital holography based on spiral phase modulation

物理学报. 2018, 67(1): 014203 <https://doi.org/10.7498/aps.67.20171442>

用于大景深单分子定位显微的多功能全息相位片的设计及数值模拟

Design and numerical simulation demonstration of multi-functional holographic phase plate for large depth of field single molecular localization microscopy

物理学报. 2018, 67(17): 174202 <https://doi.org/10.7498/aps.67.20180569>

分振幅型全Stokes同时偏振成像系统波片相位延迟误差分析

Phase delay error analysis of wave plate of division-of-amplitude full Stokes simultaneous polarization imaging system

物理学报. 2019, 68(2): 024203 <https://doi.org/10.7498/aps.68.20181553>

基于分数阶螺旋相位片的定量相位显微成像*

吴迪# 蒋子珍# 喻欢欢 张晨爽 张娇 林丹樱 于斌† 屈军乐

(深圳大学物理与光电工程学院, 光电子器件与系统教育部/广东省重点实验室, 深圳 518060)

(2020 年 11 月 9 日收到; 2021 年 3 月 22 日收到修改稿)

螺旋相衬显微术利用螺旋相位滤波器实现了样品振幅和相位的定量测量, 可被广泛应用于生物医学成像、工业检测等领域. 然而, 传统的螺旋相衬显微术需要通过三步相移法进行相位恢复, 图像采集和处理过程相对复杂, 时间分辨率较低. 为了提升其特性, 本文提出了一种基于分数阶螺旋相位片的定量相位成像方法和系统, 通过一幅经分数阶螺旋相位滤波的样品强度图像, 利用改进的 Gerchberg-Saxton 迭代相位恢复算法实现了样品相位的定量重构, 简化了实验过程和相位重构步骤. 计算机模拟实验研究了基于不同拓扑荷数的螺旋相位片的相位成像和重构过程, 分析了其可行性. 最后, 通过对定制的相位型光栅和生物细胞样品进行了成像和相位重构, 验证了基于分数阶螺旋相位片的相衬显微方法可以有效地提高螺旋相衬显微成像的对比度, 能够定量获其样品的相位信息, 对于螺旋相衬显微术的发展具有重要的研究意义和应用价值.

关键词: 定量相位成像, 螺旋相衬显微术, 螺旋相位片, 相位恢复**PACS:** 87.64.mh, 42.30.Rx, 87.64.M-, 42.30.Kq**DOI:** 10.7498/aps.70.20201884

1 引言

定量相位成像 (quantitative phase imaging, QPI) 技术将相位成像和光学显微相结合, 为观测透明生物样品提供了一种无标记、快速、无损、高分辨率的成像手段, 广泛应用于生物医学等领域^[1]. 目前, QPI 技术主要分为基于干涉法测量和非干涉法测量两大类, 包括离轴法^[2,3]、相移方法^[4,5]、共光路法^[6,7]、白光法^[8,9]及傅里叶变换光散射法^[10]等多种方法.

径向希尔伯特变换是实现图像边缘增强中最常用的方法之一. 在 $4f$ 滤波系统的傅里叶谱平面上使用螺旋相位滤波器 (spiral phase filter, SPF) 能够实现径向希尔伯特变换^[11], 从而使振幅和相位样本产生各向同性的边缘增强, 可用于观察

透明生物组织和细胞, 因此, SPF 倍受研究人员关注^[12–14]. 在 SPF 的基础上, Furhapter 等^[15]发展了螺旋相衬 (spiral phase contrast, SPC) 显微成像技术, 通过利用拓扑荷数为 1 的整数阶螺旋相位片进行相位滤波, 再通过三步相移法进行复杂物体相位的定量重构, 但其图像采集和处理过程相对复杂. 当螺旋相位片的拓扑荷数为分数时, SPF 系统点扩散函数的径向对称被打破, 由此产生了可控的边缘位错, 可以通过控制分数阶拓扑荷数的大小和初始相位改变其边缘增强的程度和方向, 实现物体的各向异性边缘增强^[16–18]. 目前, 基于分数阶螺旋相位片的 SPF 研究主要围绕图像的边缘增强展开, 但在 QPI 方面研究相对较少.

基于迭代的相位恢复方法, 例如 Gerchberg-Saxton (GS)^[19]、输入-输出算法^[20]等, 可以从一幅 (或多幅) 强度测量中定量恢复物体的相位分布, 实

* 国家自然科学基金 (批准号: 61975131, 61775144, 61835009) 和深圳市基础研究项目 (批准号: JCYJ20200109105411133, JCYJ20170412105003520, JCYJ20180305125649693) 资助的课题.

同等贡献作者.

† 通信作者. E-mail: yubin@szu.edu.cn

现了非干涉法的 QPI, 引起研究人员的广泛关注. 然而, 直接利用样品强度图像恢复相位是一个病态问题, 存在解的唯一性和迭代耗时的问题, 这往往需要通过对强度信息进行过采样来解决这一问题.

基于此, 将相位恢复与螺旋相衬显微相结合, 本文提出了一种基于分数阶螺旋相位片的定量相位成像方法和系统, 通过一幅经分数阶 SPF 的样品强度图像, 利用基于螺旋相衬的 GS 相位恢复算法 (SPC-based GS phase retrieval algorithm, SGSA) 实现了样品相位的定量重构, 简化了螺旋相衬显微的实验过程和相位重构步骤. 计算机模拟实验研究了基于不同拓扑荷数的螺旋相位滤波成像和相位重构过程, 分析了其可行性. 最后, 搭建了基于空间光调制器 (spatial light modulator, SLM) 的分数阶螺旋相衬显微成像系统, 通过对相位型光栅和生物细胞样品进行了成像和相位重构, 验证了基于分数阶螺旋相位片的相衬显微方法可以有效地提高螺旋相衬显微成像的对比度, 能够定量获其样品的相位信息, 对于定量相衬显微术的发展具有重要的研究意义和应用价值.

2 螺旋相衬显微成像原理

2.1 成像原理

螺旋相衬显微成像是基于一个 $4f$ 系统, 其光学系统示意图如图 1 所示.

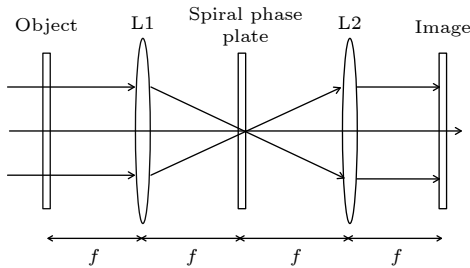


图 1 基于 $4f$ 系统的螺旋相衬成像系统示意图

Fig. 1. Schematic diagram of $4f$ system-based spiral phase contrast imaging system.

平行入射光照射样品后的光场为 $g(r, \theta)$, 经过 $4f$ 系统的第 1 个透镜 L1 的傅里叶变换, 在其后焦平面得到物光场的频谱 $f(\rho, \phi) = \text{FT}[g(r, \theta)]$. 然后, 通过螺旋相位片 $H(\rho, \phi) = \exp(i l \varphi)$ 对其进行滤波, l 为拓扑荷数, φ 为绕螺旋相位片中心的方位角. 最后, 螺旋相位片滤波后的光场通过 $4f$ 系统的第 2

个透镜的逆傅里叶变换后, 在其后焦平面, 即探测平面, 得到输出光场. 利用探测器记录输出强度图像 $G = |F(r, \theta)|^2$, 其成像过程表示如下:

$$G(r, \theta) = |F(r, \theta)|^2 = F^{-1}\{F[g(r, \theta)] \exp[i l \varphi(r, \theta)]\} = f'(r, \theta) \otimes h(r, \theta), \quad (1)$$

其中 $h(r, \theta)$ 代表螺旋相位片的傅里叶变换, 相当于 $4f$ 系统的点扩散函数.

当利用整数阶螺旋相位片进行相位滤波成像时, 由于整数阶螺旋相位片的点扩散函数的中心奇点的振幅为 0, 因此, 输入信息的低频部分可以被有效地抑制, 并且主瓣各个方向上的振幅分布比较均匀, 所以, 能够对相位样品产生各向同性边缘增强.

由于分数阶螺旋相位片可以表示为有限个不同整数阶螺旋相位片的线性叠加, 因此, 其透过率函数可以表示为傅里叶级数的形式^[21]:

$$H(\rho, \phi) = \exp(i l \varphi) = \frac{\exp(i l \pi) \sin(l \pi)}{\pi} \sum_{n=-\infty}^{\infty} \frac{\exp(i n \varphi)}{l - n}, \quad (2)$$

其中 ρ 为径向坐标, ϕ 为方位角坐标, n 为整数, l 取值一般为小于 1 的分数.

分数阶螺旋相位片作为相位滤波器所对应的点扩散函数可以表示为

$$h(r, \theta) = \frac{k}{2\pi f} \sum_{m=-\infty}^{\infty} (-i)^{|m|} \exp(i m \theta) \times \frac{\exp[i 2\pi(l - |m|)] - 1}{l - |m|} \int_0^R J_{|m|}(\tau \rho) \rho d\rho, \quad (3)$$

其中 m 为最接近 l 的整数, $J_{|m|}$ 为第 $|m|$ 阶贝塞尔函数.

对于拓扑荷数 $l < 0.5$ 的分数阶螺旋相位片的点扩散函数中并没有涡旋产生, 因此, 并不能对相位物体实现高衬度的边缘增强. 然而, 由于其非对称性, 仍可以获得一定的强度梯度图像^[18]. 利用拓扑荷数 $l < 0.5$ 分数阶螺旋相位片滤波得到的强度图, 再经过相位恢复算法处理后, 能够得到比整数阶 SPF 滤波后的强度图经 SGSA 处理后对比度更高的相位图, 更有利于实现定量相位显微成像.

2.2 定量相位重构

将相位恢复算法与 SPC 相结合, 利用探测到的螺旋相位滤波图像, 实现样品相位的定量重建. 在传统 GS 算法的基础上, 在迭代过程中, 在频谱

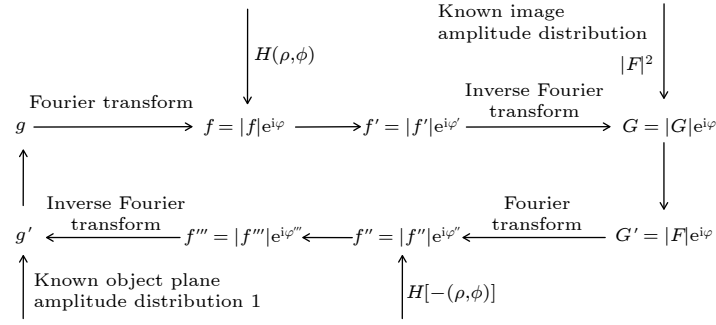


图 2 SGSA 框图

Fig. 2. Block diagram of the SGSA.

面引入螺旋相位片的限制条件, 然后, 进行优化. SGSA 的算法框图如图 2 所示.

以第 n 阶迭代为例, 具体步骤如下.

1) 第 n 次迭代的目标光场复振幅分布 $g_n(r, \theta)$ 经过傅里叶变换获得其频谱分布 $f_n(\rho, \phi)$:

$$f_n(\rho, \phi) = |f_n(\rho, \phi)| \exp[i\varphi_n(\rho, \phi)] = \text{FT}[g_n(r, \theta)]. \quad (4)$$

2) 在频谱面引入 SPF 对 $f_n(\rho, \phi)$ 进行限制, 获得滤波后的频谱 $f'_n(\rho, \phi)$:

$$\begin{aligned} f'_n(\rho, \phi) &= |f'_n(\rho, \phi)| \exp[i\varphi'_n(\rho, \phi)] \\ &= f_n(\rho, \phi) \times H(\rho, \phi). \end{aligned} \quad (5)$$

3) 滤波后的频谱, 经过逆傅里叶变换, 获得像平面的复振幅分布 $G_n(r, \theta)$:

$$\begin{aligned} G_n(r, \theta) &= |G_n(r, \theta)| \exp[i\varphi_n(r, \theta)] \\ &= \text{FT}^{-1}[f'_n(\rho, \phi)]. \end{aligned} \quad (6)$$

4) 引入像面上的限制条件, 即保持相位不变, 但振幅变为预先探测到的像面的振幅分布, 获得新的复振幅分布 $G'_n(r, \theta)$:

$$G'_n(r, \theta) = |F(r, \theta)| \exp[i\varphi_n(r, \theta)]. \quad (7)$$

5) 将新的像的复振幅分布 $G'_n(r, \theta)$ 进行傅里叶变换, 获得频谱面的复振幅分布 $f''_n(r, \theta)$:

$$f''_n(\rho, \phi) = |f''_n(\rho, \phi)| \exp[i\varphi''_n(\rho, \phi)] = \text{FT}\{G'_n(r, \theta)\}. \quad (8)$$

6) 在频谱面引入共轭的 SPF 对其进行滤波, 获得物体的频谱 $f'''_n(\rho, \phi)$:

$$\begin{aligned} f'''_n(\rho, \phi) &= |f'''_n(\rho, \phi)| \exp[i\varphi'''_n(\rho, \phi)] \\ &= f''_n(\rho, \phi) \times H[-(\rho, \phi)]. \end{aligned} \quad (9)$$

7) 将获得的物体的频谱, 通过逆傅里叶变换, 获得物体的复振幅分布 $g'(r, \theta)$:

$$g'_n(r, \theta) = |g'_n(r, \theta)| \exp[i\varphi'_n(r, \theta)] = \text{FT}^{-1}[f'''_n(\rho, \phi)]. \quad (10)$$

8) 再引入物面上的限制条件, 即保持相位不变, 振幅变为已知的物面的振幅分布, 作为下一次迭代的物波函数:

$$\begin{aligned} g_{n+1}(r, \theta) &= |g_{n+1}(r, \theta)| \exp[i\varphi_{n+1}(r, \theta)] \\ &= \exp[i\varphi_{n+1}(r, \theta)]. \end{aligned} \quad (11)$$

9) 反复进行 1) 至 8) 的迭代运算, 直到定义的误差——均方差之和 (sum square error, SSE) 到达预先设置的精度或达到设置的最大迭代次数为止. SSE 的定义如下:

$$\text{SSE} = \sum [\rho_2 - \rho_2^{(n)}]^2 / \sum \rho_2^2, \quad (12)$$

其中 ρ_2 表示输出平面探测器接收到的像振幅分布, $\rho_2^{(n)}$ 表示第 n 次迭代结束后输出平面像的振幅分布. 下面实验中, 设置迭代终止的 $\text{SSE} < 10^{-3}$.

3 计算机仿真实验

基于 Matlab, 利用快速傅里叶变换算法, 模拟螺旋相衬成像及相位重构过程. 以图像“LENN”作为相位物体, 像元数为 1024×1024 , 物理尺寸为 $332.8 \mu\text{m} \times 332.8 \mu\text{m}$, 波长 $\lambda = 640 \text{ nm}$, 相位值在 $[0, 1]$ 弧度之间变化^[22], 满足弱相位成像条件, 对于细胞的成像来说, 这是合理的. 对于螺旋相位片, 整数阶的拓扑荷数取 $l = 1$, 分数阶拓扑荷数取 $l = 0.1$. 利用方程 (1) 获得了经 SPF 后的模拟成像图像. 考虑到相机的噪声, 对生成的图像添加了高斯噪声 (均值为 0, 方差为 0.01), 以更符合实际情况. 然后, 再对所得强度图利用 SGSA 算法重构获得样品的相位信息. 由于 SGSA 是一个迭代算法, 为了进一步说明迭代次数的选择, 模拟了拓扑荷取 0.1 时的分数阶螺旋相位滤波成像, 计算了 SSE 和迭代次数的关系, 如图 3 所示. 另外, 考虑

到数值模拟时相位是已知的, 也计算了恢复相位与真实相位之间的均方误差 (mean square error, MSE) 与迭代次数的关系, 如图 4 所示.

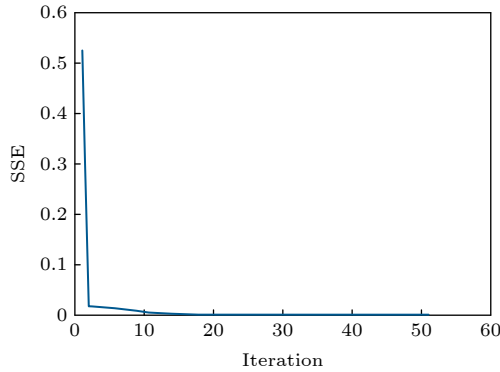


图 3 分数阶拓扑荷取 0.1 时, SSE 随迭代次数的变化曲线
Fig. 3. SSE error vs. the number of iterations when the fractional topological charge is 0.1.

MSE 定义为

$$\text{MSE} = \frac{1}{M \times N} \sum_{i=1}^M \sum_{j=1}^N [\varphi'_0(i, j) - \varphi_0(i, j)]^2, \quad (13)$$

其中 φ'_0 表示迭代恢复出的相位值, φ_0 是输入平面样品的相位值.

综合考虑 MSE 和 SSE, 考虑到计算时间, 选择了迭代次数设置为 20 次. 样品原图像, 整数阶

螺旋相位片滤波与分数阶螺旋相位片滤波后的成像强度图对比及重构出的样品相位图对比结果如图 5 所示.

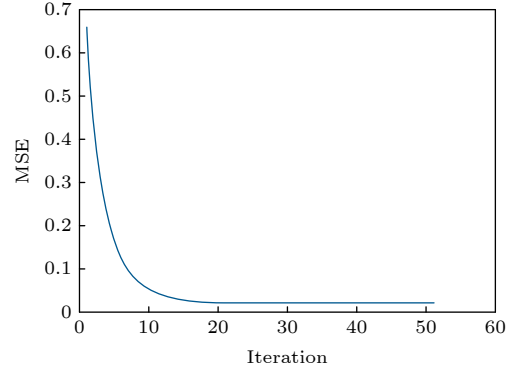


图 4 恢复相位与真实相位之间的 MSE 随迭代次数的变化曲线
Fig. 4. MSE error between the recovered phase image and ground truth phase image vs. the number of iterations.

为了确定分数阶螺旋相位片的拓扑荷数, 模拟分析了拓扑荷数分别取 1.0, 0.8, 0.6, 0.5, 0.4, 0.2, 0.1 和 0.08 时的分数阶螺旋相位滤波成像, 成像结果如图 6 所示. 从图 6 模拟结果显示, 随着拓扑荷数取值逐渐减小, SPF 图像的边缘增强效果逐渐减弱, 但图像中低频信息的对比度逐渐提高, 与文献 [16] 中的结论一致. 在此基础上, 继续减小 l 的

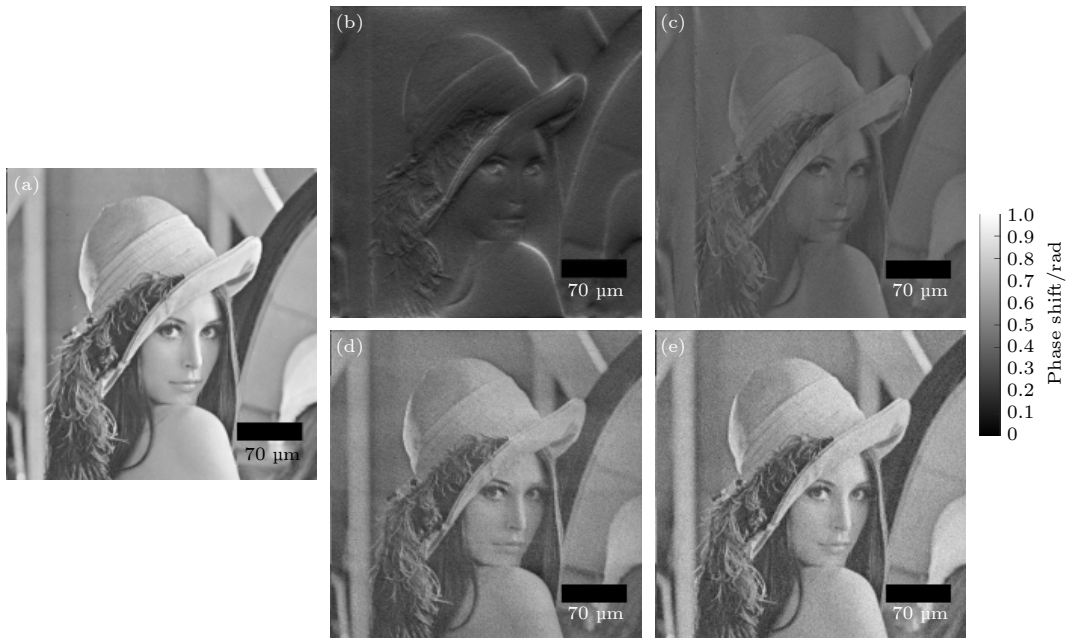


图 5 螺旋相位滤波成像及恢复结果对比 (a) 相位型样品原图; (b) 传统整数阶螺旋相位片滤波图像; (c) 对图 (b) 用 SGSA 恢复的样品相位图; (d) 分数阶螺旋相位片滤波图像; (e) 对图 (d) 用 SGSA 恢复的样品相位图

Fig. 5. Comparisons of the recorded images and the recovered results: (a) The ground truth phase sample image; (b) the recorded image via traditional integer order spiral phase plate filtering; (c) the recovered phase sample image using SGSA for panel (b); (d) the recorded image via fractional spiral phase plate filtering; (e) the recovered phase sample image using SGSA for panel (d).

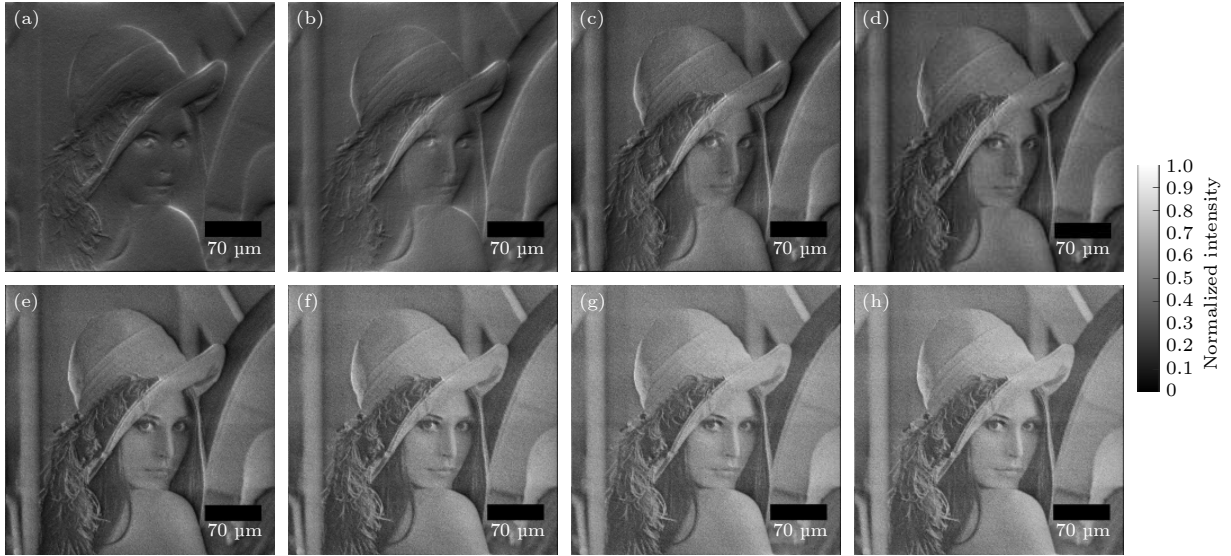


图 6 分数拓扑荷 l 取不同值时的直接相位成像结果 (a) $l = 1$; (b) $l = 0.8$; (c) $l = 0.6$; (d) $l = 0.5$; (e) $l = 0.4$; (f) $l = 0.2$; (g) $l = 0.1$; (h) $l = 0.08$

Fig. 6. Direct phase imaging results for different fractional topological charge l : (a) $l = 1$; (b) $l = 0.8$; (c) $l = 0.6$; (d) $l = 0.5$; (e) $l = 0.4$; (f) $l = 0.2$; (g) $l = 0.1$; (h) $l = 0.08$.

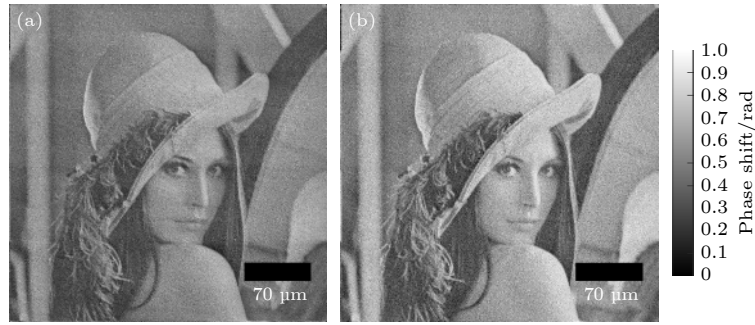


图 7 不同拓扑荷值恢复结果对比 (a) 拓扑荷取 0.1 时经 SGSA 恢复出的相位图; (b) 拓扑荷取 0.08 时经 SGSA 恢复出的相位图

Fig. 7. Comparisons of the recovered results for different topologies: (a) The recovered phase image using SGSA when the topology is 0.1; (b) the recovered phase image using SGSA when the topology is 0.08.

取值, 使之小于 0.1, 成像对比度与 $l = 0.1$ 时相比, 低频信息对比度提升不大, 主要原因来自于相位片展开式中的高阶项可以忽略不计, 对物的频谱滤波不起作用。

根据图 6 的模拟成像结果, 选择拓扑荷数较小的分数阶螺旋相位滤波器获得的相位滤波图像, 有利于研究人员直接观察滤波图像, 获取样品的状态, 选择样品感兴趣区域进行成像, 然后再利用相位恢复算法做进一步重构处理。

为了说明分数阶螺旋相位滤波器的特性, 首先, 比较了不同分数阶拓扑荷数下的相位滤波图像; 其次, 在相位滤波强度图对比度接近的情况下, 再继续比较分析了拓扑荷数取 0.1 与拓扑荷小于 0.1 的恢复相位, 如图 7 所示, 并以测量图像质量的结构相似度 (structural similarity, SSIM) 指数来

定量对比:

$$\text{SSIM}(X, Y) = \frac{(2\mu_X\mu_Y)(2\sigma_{XY})}{(\mu_X^2 + \mu_Y^2)(\sigma_X^2 + \sigma_Y^2)}, \quad (14)$$

其中 μ_X , μ_Y , σ_X , σ_Y , σ_{XY} 分别表示图像 X 和 Y 的局部均值、标准差和互补方差。

由图 7 可知, 拓扑荷数取值小于 0.1 时的恢复相位分布图的对比度比拓扑荷等于 0.1 时恢复相位分布图的对比度差, 且表 1 中的 SSIM 值也定量地证明了这一结论. 因此, 综合考虑不同拓扑荷下分数阶螺旋相位滤波直接成像的强度分布图对比度与不同拓扑荷下恢复相位分布图的对比度两个因素, 分数阶螺旋相位片的拓扑荷取 0.1 较为合适. 因此, 在实际实验中, 选择拓扑荷数为 0.1 的螺旋相位片来进行实际样品成像。

表 1 三种分数拓扑荷下恢复相位图与原图的 SSIM 值

Table 1. The SSIM between the recovered phase image and the ground truth phase image for three fractional topological values.

拓扑荷取值	SSIM
1.0	0.1918
0.1	0.4394
0.08	0.2034

4 实验结果与讨论

4.1 螺旋相位片

为了便于实际应用, 在实验中, 利用 SLM 来产生螺旋相位片, 为了避免零级光的影响, 利用相位型的闪耀光栅与螺旋相位片相结合的方式形成新的螺旋相位图, 如图 8 所示.

4.2 实验系统光路

基于 SLM 的螺旋相位定量相位成像系统的实验光路如图 9 所示.

波长为 640 nm 的激光器 (Coherent, OBIS) 发出的光束经衰减片, 针孔滤波器 (物镜, 40/0.65 160/0.17) 及准直透镜 (焦距 100 mm) 产生平行光束, 照射透明相位样品. 再经样品调制的光束通过成像物镜 (Nikon, Plan Fluor, 20 \times /0.50), 管镜 (焦距为 200 mm) 成像在一次像面处, 然后经过 4f 螺旋相位滤波系统成像在探测器 CMOS (Hamamatsu, C11440-22 CU, 像元尺寸 6.5 $\mu\text{m} \times 6.5 \mu\text{m}$) 上. 其中, 4f 透镜焦距是 500 mm, 频谱面上放置 SLM (Holoeye, NIR, 像元尺寸是 8 $\mu\text{m} \times 8 \mu\text{m}$), 用于螺旋相位片的显示.

4.3 实验结果

首先, 利用定做的相位光栅 (SiO_2 玻璃, 折射率 1.456, 光栅刻线理论设计深度 200 nm, 光栅刻线实际测试深度为 150 nm, 光栅周期为 6 μm) 进行拓扑荷数 $l = 1$ 的螺旋相位片滤波的成像实验, 目的是与分数阶螺旋相位滤波成像结果进行对比, 实验结果如图 10 所示.

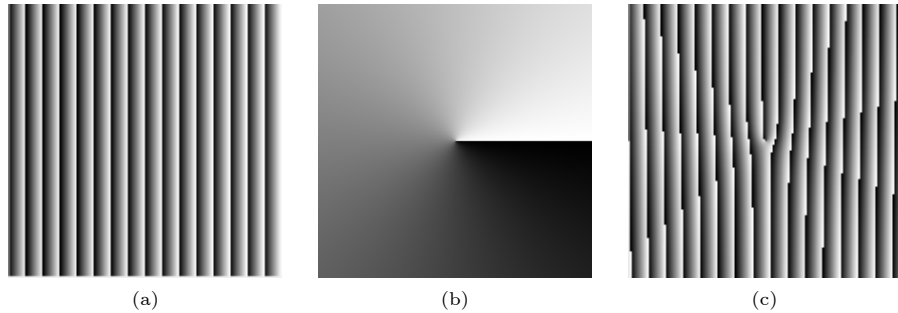


图 8 (a) 相位型闪耀光栅; (b) 螺旋相位片; (c) 复合螺旋相位图

Fig. 8. (a) Phase-type blazed grating; (b) spiral phase plate; (c) composite spiral phase plate.

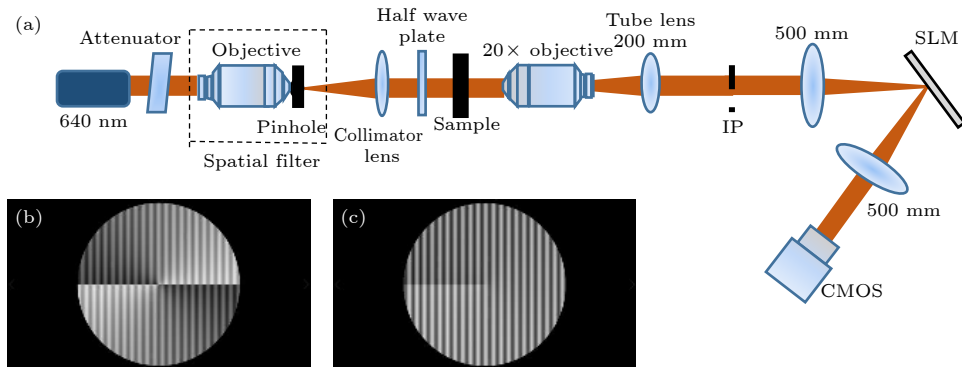


图 9 (a) 基于螺旋相位片滤波的定量相位成像系统光路图; (b) SLM 上加载的整数阶叉形光栅; (c) SLM 上加载的分数阶叉形光栅

Fig. 9. (a) Optical setup of quantitative phase imaging system based on a spiral phase filter; (b) the integer order fork grating loaded on SLM; (c) the fractional fork grating loaded on SLM.

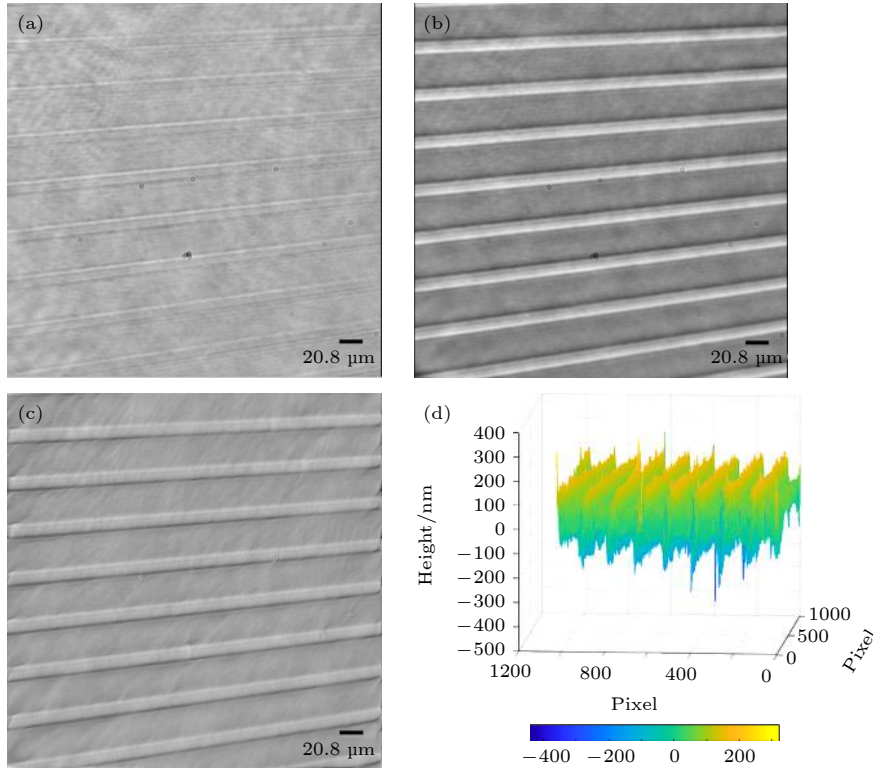


图 10 定制相位型光栅的成像 (a) 相位型光栅未滤波明场强度图; (b) 整数阶螺旋相位片滤波成像边缘增强图; (c) 恢复相位图; (d) 恢复深度图, 横纵坐标数值为像素值, 每个像素代表 $0.325 \mu\text{m}$, 总长度为 $332.8 \mu\text{m}$

Fig. 10. Imaging of a custom phase grating: (a) The unfiltered bright field image of the phase grating; (b) the recorded integer-order spiral phase filtered edge enhancement image; (c) the recovered phase image; (d) the recovered depth image, the abscissa and ordinate values are pixel values, each pixel represents $0.325 \mu\text{m}$, and the total length is $332.8 \mu\text{m}$.

从图 10 可以看出, 整数阶螺旋相位滤波的图像边缘增强效果显著, 再对采集到的强度图利用 SGSA 进行相位恢复, 可进一步提高图像的对比度. 由 SSE 随迭代次数变化曲线图 11 可知, 只需两次迭代即可使得 SGSA 趋于收敛, 得到样品相位

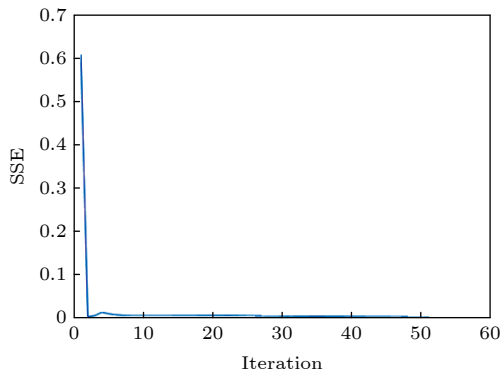


图 11 经整数阶螺旋相位片滤波后再由 SGSA 重构的相位型光栅 SSE 随迭代次数的变化

Fig. 11. SSE error vs. the number of iterations for the grating phase reconstruction problem of phase retrieval from a integer-order spiral phase filtering intensity measurement using the SGSA.

图, 耗时 1.412 s (Windows10, 内存 16 GB , CPU: Intel (R) Core(TM) i5-9400F CPU @2.90 GHz; Matlab R2018b).

再用 MATLAB 对恢复相位图进一步分析可知, 得到恢复相位光栅顶部相位值为 0.24π , 光栅底部相位值为 -0.06π , 平均相位差为 0.30π , 结合公式 $\varphi = \frac{2\pi}{\lambda}(n-1)h$ 可得, 恢复相位图的定量深度 h 平均为 216 nm , 与已知光栅刻线深度 150 nm 的高度值误差为 66 nm 左右. 分析其误差产生的原因, 主要来自于用 SLM 的像素化所产生的螺旋相位片精度不高; 另外, 加工的光栅刻线深度也有一定的误差. 为了进一步提高测量精度, 可以加工相关高精度相位片.

其次, 对拓扑荷数 $l = 0.1$ 分数阶螺旋相位滤波进行实验, 结果如图 12 所示.

从图 13 可以看出, 当使用 $l = 0.1$ 的分数阶螺旋相位片直接对相位型样品进行螺旋相位滤波成像时, 成像图的对比度相对于未经滤波得到的成像图对比度明显得到提升, 效果与模拟结果得出的

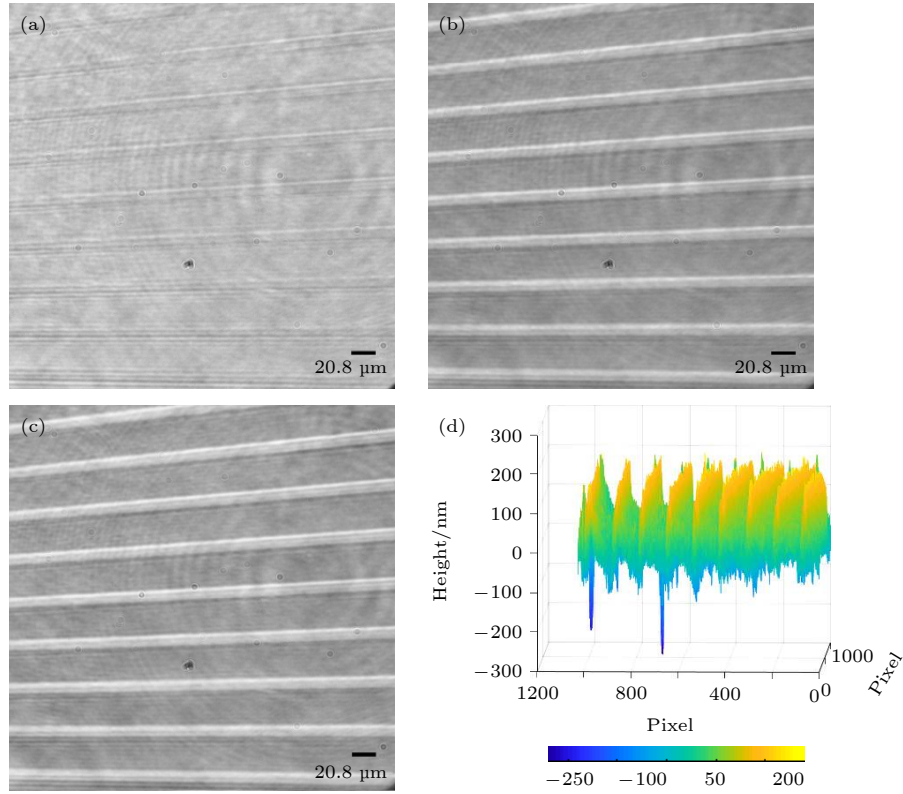


图 12 定制相位型光栅的成像 (a) 相位型光栅未滤波明场强度图; (b) 拓扑荷 l 取 0.1 时分数阶螺旋相位片滤波成像强度图; (c) 恢复相位图; (d) 恢复深度图 (坐标同图 10(d))

Fig. 12. Imaging of a custom phase grating: (a) The unfiltered phase grating bright field image; (b) the fractional spiral phase plate filtered image when the topological charge l is 0.1; (c) the recovered phase image; (d) the recovered depth image (the coordinates are the same as Fig. 10. (d)).

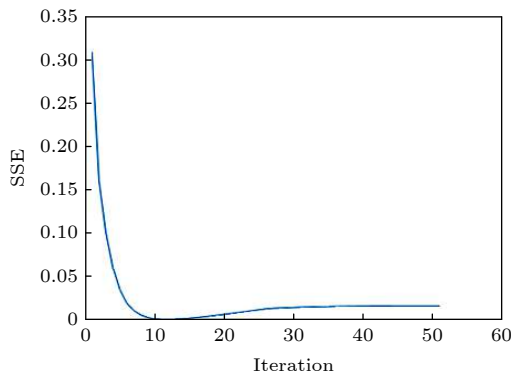


图 13 经分数阶螺旋相位片滤波后再由 SGSA 重构的相位光栅 SSE 随迭代次数的变化

Fig. 13. SSE error vs. the number of iterations for the grating phase reconstruction problem of phase retrieval from a fractional spiral phase filtering intensity measurement using the SGSA.

结论一致. 因此, 为了方便观察样品, 可以直接利用分数阶螺旋相位片进行螺旋相位滤波成像. 然后对单次拍摄采集到的单幅螺旋相位滤波强度图, 利用 SGSA 进行相位恢复进一步重构样品的相位信息. 实验结果证明, 分数阶螺旋相位滤波可以得到

保留更多低频信息的高对比度强度分布图, 有利于对相位物体进行实时显微观测. 从图 13 的误差曲线可知, 需迭代 10 次, 耗时 2.839 s, 误差几乎减为 0. 进一步分析可知, 恢复相位光栅顶部平均相位值为 0.25π , 光栅底部平均相位值为 -0.03π , 均值相位差为 0.28π , 则恢复相位图的定量深度 h 为 198 nm, 与已知光栅实际刻蚀深度 150 nm 的高度值误差为 48 nm. 与整数阶 SPC 相比, 测量误差减小 27%.

为了进一步验证分数阶 SPC 成像效果, 对 SH-SY5Y 人神经母细胞瘤细胞进行成像, 如图 14 所示.

从图 15 误差随迭代次数变化曲线可知, 只需迭代 5 次即可, 耗时 1.782 s. 由于并不清楚细胞样品内部的具体折射率分布, 因此, 只给出细胞的定量相移图. 恢复相位图的最大相位值为 0.6141π , 最小相位值为 -0.3234π . 从图 15 可以看出, 当使用分数阶螺旋相位片对生物细胞进行成像时, 成像效果明显, 对比度高, 再经过 SGSA 恢复后得到的样品的相位信息, 与模拟结果相一致.

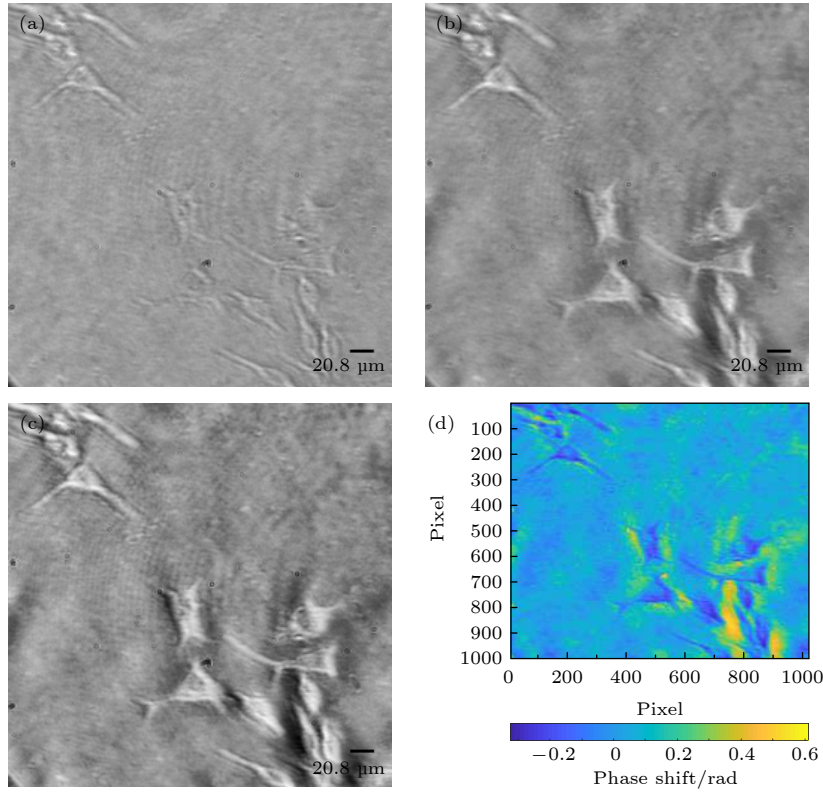


图 14 SH-SY5Y 细胞成像 (a) SH-SY5Y 细胞未滤波明场强度图; (b) 拓扑荷 l 取 0.1 时分数阶螺旋相位片滤波神经元细胞成像强度图; (c) 恢复相位图; (d) 定量相移图 (坐标同图 10(d))

Fig. 14. SH-SY5Y cell imaging: (a) The unfiltered SH-SY5Y cell bright field image; (b) the intensity image of the neuron cell using the fractional spiral phase filter when the topological charge l is 0.1; (c) the recovered phase image; (d) the quantitative phase image (the coordinates are the same as Fig. 10. (d)).

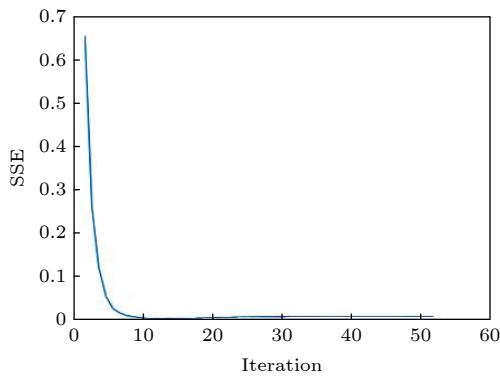


图 15 SH-SY5Y 细胞经分数阶螺旋相位滤波后再由 SGSA 重建的 SSE 随迭代次数的变化

Fig. 15. SSE error vs. the number of iterations for the SH-SY5Y cells reconstruction problem of phase retrieval from a fractional spiral phase filtering intensity measurement using the SGSA.

5 结 论

本文实现了一种基于空间光调制器的分数阶螺旋相衬显微成像系统, 基于单幅螺旋相位滤波图像, 通过 SGSA 实现了定量相位显微成像, 简化了

螺旋相衬显微的图像采集和相位重构过程. 计算机仿真和实验结果表明, 基于分数阶拓扑荷数的螺旋相位成像, 图像低频信息得到保留, 直接成像对比度高, 更加接近样品真实相位信息, 有利于在实验过程中及时观察样品的形态和选取感兴趣区域进行相位滤波成像, 为进一步开展其在活体细胞快速定量相位成像中的应用奠定了技术基础.

参考文献

- [1] Park Y, Depeursinge C, Popescu G 2018 *Nat. Photonics* **12** 578
- [2] Ikeda T, Popescu G, Dasari R R, Feld M S 2005 *Opt. Lett.* **30** 1165
- [3] Marquet P, Rappaz B, Magistretti P J, Cuche E, Emery Y, Colomb T, Depeursinge C 2005 *Opt. Lett.* **30** 468
- [4] Warger W C, DiMarzio C A 2009 *Opt. Express* **17** 2400
- [5] Zicha D, Dunn G A 1995 *J. Microsc.-Oxford* **179** 11
- [6] Popescu G, Deflores L P, Vaughan J C, Badizadegan K, Iwai H, Dasari R R, Feld M S 2004 *Opt. Lett.* **29** 2503
- [7] Popescu G, Ikeda T, Dasari R R, Feld M S 2006 *Opt. Lett.* **31** 775
- [8] Barty A, Nugent K A, Paganin D, Roberts A 1998 *Opt. Lett.* **23** 817

- [9] Wang Z, Millet L, Mir M, Ding H F, Unarunotai S, Rogers J, Gillette M U, Popescu G 2011 *Opt. Express* **19** 1016
- [10] Ding H F, Wang Z, Nguyen F, Boppart S A, Popescu G 2008 *Phys. Rev. Lett.* **101** 238102
- [11] Davis J A, McNamara D E, Cottrell D M, Campos J 2000 *Opt. Lett.* **25** 99
- [12] Crabtree K, Davis J A, Moreno I 2004 *Appl. Opt.* **43** 1360
- [13] Swartzlander G A 2001 *Opt. Lett.* **26** 497
- [14] Liu T T, Hong Z P, Guo C S 2008 *J. Optoelectron.·Laser* **19** 96 (in Chinese) [刘婷婷, 洪正平, 国承山 2008 *光电子·激光* **19** 96]
- [15] Furfapter S, Jesacher A, Bernet S, Ritsch-Marte M 2005 *Opt. Lett.* **30** 1953
- [16] Wang J, Zhang W, Qi Q, Zheng S, Chen L 2015 *Sci. Rep.* **5** 15826
- [17] Gu Z Z, Yin D, Nie S P, Feng S T, Xing F J, Ma J, Yuan C J 2019 *Infrared Laser Eng.* **48** 0603015 (in Chinese) [顾忠政, 殷达, 聂守平, 冯少彤, 邢芳俭, 马骏, 袁操今 2019 *红外与激光工程* **48** 0603015]
- [18] Situ G, Pedrini G, Osten W 2009 *J. Opt. Soc. Am. A*: **26** 1788
- [19] Hai N, Rosen J 2020 *Opt. Lett.* **45** 5812
- [20] Fienup J R 1982 *Appl. Opt.* **21** 2758
- [21] Zhou Y 2017 *M. S. Thesis* (Nanjing: Nanjing Normal University) (in Chinese) [周意 2017 硕士学位论文 (南京: 南京师范大学)]
- [22] Huang M N, Huang Z H 2009 *Coll. Phys.* **28** 6 (in Chinese) [黄妙娜, 黄佐华 2009 *大学物理* **28** 6]

Quantitative phase microscopy imaging based on fractional spiral phase plate^{*}

Wu Di [#] Jiang Zi-Zhen [#] Yu Huan-Huan Zhang Chen-Shuang Zhang Jiao
Lin Dan-Ying Yu Bin [†] Qu Jun-Le

(Key Laboratory of Optoelectronic Devices and Systems of Ministry of Education and Guangdong Province, College of Physics and Optoelectronic Engineering, Shenzhen University, Shenzhen 518060, China)

(Received 9 November 2020; revised manuscript received 22 March 2021)

Abstract

Quantitative phase imaging (QPI), which combines phase imaging with optical microscopy technology, provides a marker-free, fast, non-destructive, and high-resolution imaging method for observing transparent biological samples. It is widely used in life science, biomedicine, etc. As an emerging QPI technology, spiral phase contrast microscopy (SPCM) uses a spiral phase filter to achieve edge enhancement of amplitude or phase objects. Using the multi-step phase-shifting technology, a complex sample can be measured quantitatively, which has the advantages of high stability, high sensitivity and high precision. However, the SPCM requires at least three-step phase-shifted spiral phase filtered images to achieve the quantitative reconstruction of the amplitude and phase of a sample, and the image acquisition process and the reconstruction process are relatively complicated, which require high stability of system, and the SPCM has low temporal resolution. In order to further improve the performance of SPCM and increase the system stability, sensitivity and temporal resolution, in this paper a quantitative phase imaging method and system based on a fractional spiral phase plate is proposed. Through a sample intensity image filtered by a fractional spiral phase plate, the modified Gerchberg-Saxton iterative phase retrieval algorithm is used to quantitatively reconstruct the phase of a pure phase sample, which simplifies the experimental process and phase reconstruction steps of spiral phase contrast microscopy. In the computer simulation experiments, the phase imaging process and the reconstruction process of spiral phase plates based on different topological charges are studied, the feasibility of which is analyzed. Finally, through imaging and phase reconstruction of the phase grating and biological cell sample, it is verified that the phase contrast microscopy method based on the fractional spiral phase plate can effectively improve the contrast of spiral phase contrast microscopy and can obtain a quantitative reconstruction of a weak phase object. The phase information of a sample has significance in research and application for developing the spiral phase contrast microscopy.

Keywords: quantitative phase imaging, spiral phase contrast microscopy, spiral phase plate, phase retrieval

PACS: 87.64.mh, 42.30.Rx, 87.64.M-, 42.30.Kq

DOI: 10.7498/aps.70.20201884

^{*} Project supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant Nos. 61975131, 61775144, 61835009) and the Basic Research Project of Shenzhen, China (Grant Nos. JCYJ20200109105411133, JCYJ20170412105003520, JCYJ20180305125649693).

[#] These authors contributed equally.

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