

## 数字全息显微测量中相位畸变的矫正方法

王 添, 于 佳, 杨 宇, 闫高宾, 王金城

(中国海洋大学 信息科学与工程学院, 山东 青岛 266100)

**摘 要:** 针对微尺寸(1 mm)透射型物体的数字全息显微测量中存在的相位畸变问题,提出一种相位矫正方法,通过改进预放大离轴菲涅耳数字全息记录光路以及全息图的卷积再现算法,消除了相位分布的一次畸变和二次畸变。使用该方法测量 USAF1951 分辨率板,成功矫正了其再现像的相位畸变,并得到了横向尺寸 0.25 mm 区域的清晰相位分布三维重建图。该方法的优点在于通过对记录光路和再现算法的改进,矫正相位畸变,直接得到正确的再现像相位,简化了相位补偿计算的步骤,很大程度上降低了相位重建过程的复杂程度,有利于对物体进行实时探测和快速重建。

**关键词:** 预放大数字全息; 相位畸变; 离轴菲涅耳全息; 卷积再现; 相位解包裹

**中图分类号:** TP391 **文献标志码:** A **文章编号:** 1007-2276(2014)11-3615-06

## Correction method of phase distortion in digital holographic microscopy detection

Wang Tian, Yu Jia, Yang Yu, Yan Gaobin, Wang Jincheng

(College of Information Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266100, China)

**Abstract:** In order to solve the problem of phase distortion in the micro size (<1 mm) transmitting objects measurement based on digital holographic microscopy, a new correction method was proposed. By improving the pre-amplification off-axis Fresnel digital holographic recording system and convolution reconstruction algorithm, the phase distortion including both one-fold and two-fold had been corrected. In the experiment, the phase distortion of USAF1951 resolution board was corrected, and the 3D image of phase distribution of part of the board with size of 0.25 mm was clearly reconstructed. The advantage of this method is eliminating the phase distortion by improved both the hologram recording system and the reconstruction algorithm, which greatly reduced the complicate degree of phase reconstruction process because of cutting the step of phase compensation, and contributes to the on-line detection and fast reconstruction of objects.

**Key words:** pre-magnificate digital holography; phase distortion; off-axis Fresnel holography; convolution reconstruction; phase unwrapped

收稿日期:2014-03-11; 修订日期:2014-04-18

作者简介:王添(1983-),男,博士生,主要从事数字全息测量方面的研究。Email:156321815@qq.com

导师简介:王金城(1955-),男,教授,主要从事全息术与三维成像方面的研究。Email:hololab@ouc.edu.cn

## 0 引言

数字全息显微技术是数字全息<sup>[1]</sup>与显微成像技术相结合形成的现代测量技术,如今已广泛应用于微尺寸物体的形貌探测、物体微形变测量以及工业在线缺陷检测等领域<sup>[2-6]</sup>。该技术的最大优势在于能够同时获取物体的振幅信息和相位信息,尤其是对生物切片、人体细胞、浮游生物等几乎透明的物体进行定量检测时<sup>[7]</sup>,能通过相位信息来获取物体的三维信息。然而,由于物体的再现像相位中存在相位畸变<sup>[8]</sup>,影响其三维分布的准确还原,因此,文中针对微尺寸(1 mm)透射型物体数字全息显微测量中存在的相位畸变问题,提出了一种相位矫正方法,通过改进光路和再现算法,成功消除了相位畸变,从而实现了物体相位分布的清晰三维重建。

## 1 相位畸变的产生及其矫正

相位畸变是指对全息图进行数字再现得到的再现像的相位分布,与实际被测物体的相位分布之间的差异。针对全息图的记录,数字全息显微可分为无透镜傅里叶变换<sup>[3]</sup>和预放大菲涅耳全息<sup>[9]</sup>两种,前者的优点是系统结构简单、紧凑,再现算法简单(只需一次傅里叶变换),无需知道记录距离即可得到准确的再现像强度分布等等,缺点是成像的分辨率不高,而后者则很好地解决了这一缺点,在显微成像探测领域的应用更为广泛。因此文中主要探讨预放大离轴菲涅耳全息中的相位畸变矫正方法,包括一次相位畸变和二次相位畸变。

### 1.1 一次相位畸变产生的原因

离轴菲涅耳全息方法可以通过数字再现把实像、虚像和直透光分开,从而能提取物体的相位分布,因此是目前常用的数字全息三维测量方法。一次相位畸变的产生是由参考光的偏置而导致的,在离轴数字全息图的记录过程中,通常选取倾斜的平行光作为参考光:

$$R(x, y) = \exp \left[ -j2\pi \left( \frac{\cos\alpha}{\lambda} x + \frac{\cos\beta}{\lambda} y \right) \right] \quad (1)$$

式中: $\alpha$ 和 $\beta$ 是参考光在水平方向和垂直方向的偏置角度。

物光波和参考光波在全息图平面发生干涉,形成全息图,其光场分布可表示为:

$$H(x, y) = |O(x, y) + R(x, y)|^2 = |O(x, y)|^2 + |R(x, y)|^2 + O^*(x, y)R(x, y) + O(x, y)R^*(x, y) \quad (2)$$

在光学全息中,通常采用参考光的共轭光照明全息图来准确地再现物体,而在数字全息术中,由于实际实验中的物参夹角难以测量,导致再现全息图失败,因此在再现时常模拟一束单位振幅的平行光垂直照射全息图,然后在空间中以菲涅耳衍射的形式传播。其再现像的一次相位畸变数学表达式为<sup>[8]</sup>:

$$\Phi_1(x_i, y_i) = \exp \left[ -j2\pi \left( \frac{\cos\alpha}{\lambda} x_i + \frac{\cos\beta}{\lambda} y_i \right) \right] \quad (3)$$

由公式(3)可知,一次相位畸变只与物参夹角有关,即由再现照明光与原参考光的偏置角度不同而导致的。其离散化表达式为:

$$\Phi_1(m, n) = \exp \left[ -j2\pi \left( \frac{\cos\alpha}{\lambda} m\Delta x_i + \frac{\cos\beta}{\lambda} n\Delta y_i \right) \right] \quad (4)$$

式中: $m$ 和 $n$ 是再现像平面的像素坐标; $x_i$ 和 $y_i$ 是像平面的像素尺寸。

### 1.2 二次相位畸变产生的原因

预放大数字全息的基本原理<sup>[9]</sup>如图1所示。在物体与 CCD 之间加入一个显微物镜,将物体在像平面上成一个清晰放大的实像,当 CCD 置于该像之前时,物光在到达像平面之前就被 CCD 拦截了,所以该像对于 CCD 来说是虚物,CCD 与其之间的距离  $d$  即为全息图的记录距离。二次相位畸变是由成像过程引起的,其特征值与显微物镜的参数有关。

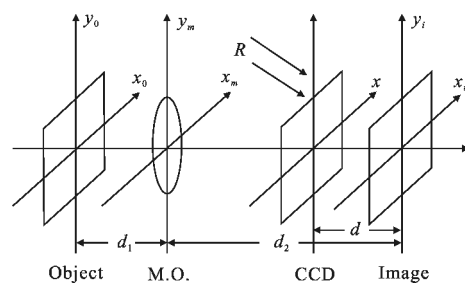


图1 预放大菲涅耳数字全息图记录的原理图

Fig.1 Principle image of pre-magnification Fresnel digital hologram

其中, $d_1$ 和 $d_2$ 分别为物距和像距。

二次相位畸变的数学表达式为<sup>[8]</sup>:

$$\Phi_2(x_i, y_i) = \exp \left[ \frac{jk}{\lambda d_2} \cdot \frac{d_1 + d_2}{d_2} (x_i^2 + y_i^2) \right] \quad (5)$$

由公式(5)可知,二次相位畸变只与物距  $d_1$  和像距  $d_2$  (即显微物镜的位置有关),与记录距离和物参夹角无关。

### 1.3 相位畸变的矫正

#### 1.3.1 一次相位畸变的矫正

一次相位畸变是由参考光的偏置造成的,为了消除该畸变,需要在再现算法中设置参考光的偏置角度,即物光与参考光的夹角。常用的再现算法有菲涅耳算法<sup>[10]</sup>和卷积算法<sup>[11]</sup>。前者的优点是运行速度快(只经过一次傅里叶变换),无需知道参考光角度也可再现,缺点是无法消除一次相位畸变,且再现像的尺寸会随着再现距离的增大而缩小,图片容易丢失细节,不利于微尺寸物体的测量和观察;后者的优点是可以通过设置参考光的偏置角度来消除一次相位畸变,且再现像的尺寸恒等于原全息图的尺寸,缺点是运行速度较慢(需经过三次傅里叶变换)。因此,文中采用卷积算法进行全息图再现。然而,实际实验中的物参夹角无法直接测量,且还需要知道再现像的聚焦位置,因此需要对卷积算法进行改进。

首先,运行菲涅耳算法再现全息图,找到再现像的聚焦位置,将该数值代入卷积算法中。

接下来,在卷积算法中引入带有偏置角度的球面参考光,根据傍轴近似,它的偏置角分布可以近似由公式(1)中的  $\alpha$  和  $\beta$  表示。前者需要运行卷积算法找出,后者可以用图像处理软件测量全息图上干涉条纹的倾角得出。运行卷积算法再现全息图找到准确的参考光偏置角度。该步骤可称为参考光角度的定标。该方法的缺点是当全息图的聚焦位置和物参夹角都未知的情况下,需要先运行菲涅耳算法找到聚焦位置,但是当一次测量中有多次实验时,在物参夹角不改变的情况下,定标操作只需要进行一次即可。相对于后期设置复杂的相位畸变补偿算法,该方法还是具有很大优势的。

#### 1.3.2 二次相位畸变的矫正

在预放大数字全息系统中参考光的光路里合适的位置引入一个与物光的光路里相同的显微物镜,可以直接消除二次相位畸变<sup>[12]</sup>。该方法的原理是,物光显微物镜发出的球面波引起的二次相位畸变可以由参考光显微物镜发出的等曲率球面波相位进行补偿。具体的方法是:微调物光和参考光中显微物镜的位置,使得物光路中不放物体时全息图的干涉条纹由弯曲变成平行等间距直线分布时,实现了物光和参考光的等波面弯曲,达到消除二次相位畸变的目的。

## 2 微尺寸透射型物体相位畸变矫正实验

### 2.1 实验系统

实验系统如图 2 所示,采用预放大离轴菲涅耳数字全息光路记录全息图。其中,  $\lambda/2$  波片的作用是配合偏振棱镜 PBS 改变物光和参考光的光强比,以提高全息图的信噪比。物光和参考光分别被 MO1 和 MO2 放大后经消偏振棱镜 BS 在 CCD 光敏面上发生干涉。

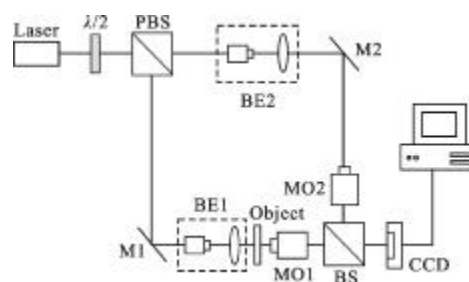


图 2 预放大离轴菲涅耳数字全息图记录系统示意图

Fig.2 Diagram of pre-magnification off-axis Fresnel digital hologram recording system

实验系统的元件参数如下:激光器波长  $\lambda=632.8\text{ nm}$ 、功率  $P=60\text{ mW}$ ; MO1 和 MO2 的放大倍率为 10,数值孔径为 0.25;被测物体为 USAF1951 分辨率板, CCD 分辨率为  $2448\times 2048$ , 像素尺寸为  $3.45\text{ }\mu\text{m}\times 3.45\text{ }\mu\text{m}$ 。实验中,需要仔细调节 BS2 的位置,使物光和参考光分开足够大的角度,实现离轴全息的记录,干涉条纹的条纹间距越小,物参夹角越大。但是又不能太小,否则会超出 CCD 的分辨极限。

### 2.2 全息图的再现和相位畸变矫正

由图 2 中的光路记录的分辨率板离轴菲涅耳数字全息图如图 3 所示。

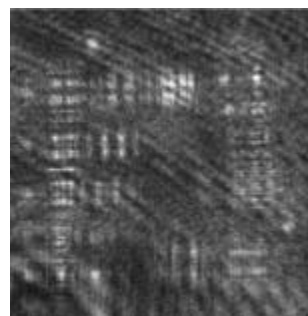


图 3 分辨率板的预放大离轴菲涅耳数字全息图

Fig.3 Pre-magnification off-axis Fresnel digital hologram of resolution board

首先采用菲涅耳算法再现该全息图,不同再现距离下的结果如图 4 所示。

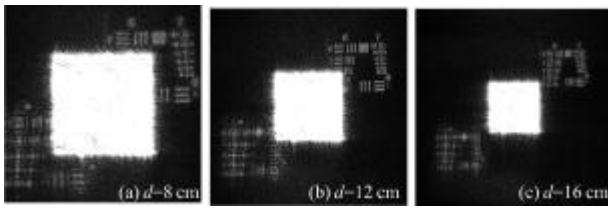


图 4 菲涅耳算法在不同再现距离下的再现结果

Fig.4 Reconstructed results of Fresnel algorithm at different reconstructed distances

图 4 中所有再现图中分辨率最高的第 7 组线对放大图如图 5 所示,该区域在数码显微镜下的图像如图 5(d)所示,经测微尺的测量得知长度为 0.25 mm。

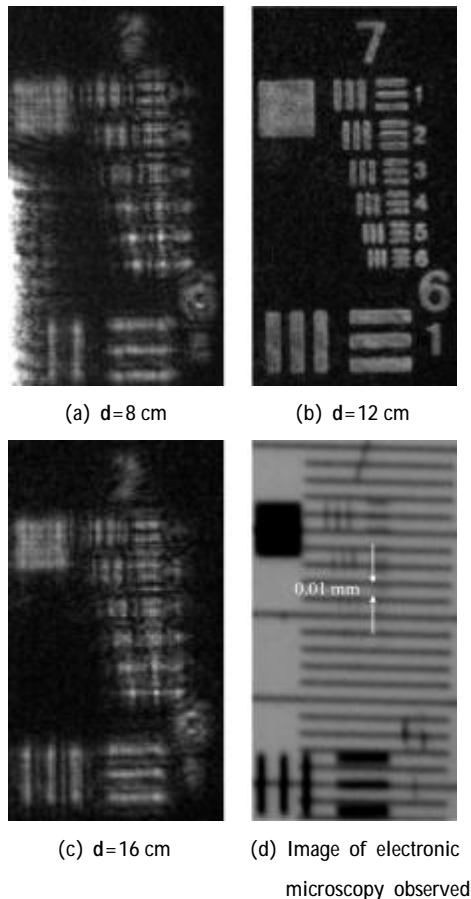


图 5 局部再现图和电镜观察图

Fig.5 Image of reconstruction and digital microscopy observed

由图 5 可以看出:随着再现距离的增大,再现图经历了从离焦到聚焦又离焦的过程,当再现距离  $d=12\text{ cm}$  时得到清晰的聚焦像。同时由图 4 可以看出,再现像的尺寸是逐渐减小的,丢失了图像的细节,这

不利于对微尺寸物体的测量和观察,因此菲涅耳算法不适合作为最终的再现算法。

确定了再现像的聚焦位置以后,代入卷积再现算法,设置不同的参考光角度  $\alpha$  对全息图进行再现,角度  $\beta$  可直接由图像处理软件测量干涉条纹的倾斜角得到  $\beta=43^\circ$ ,再现结果如图 6 所示。

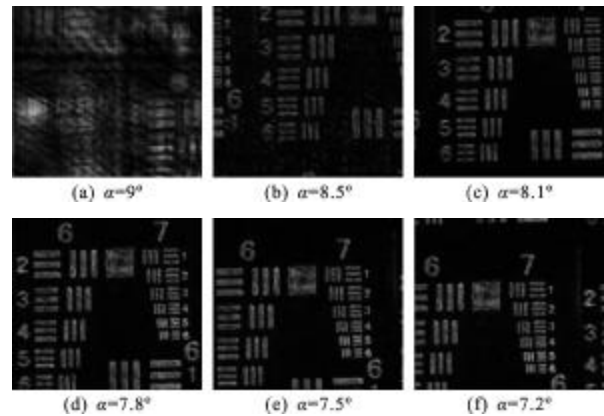
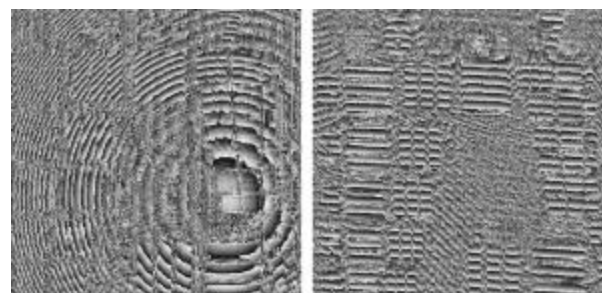


图 6 卷积算法在不同参考光角度下的再现结果

Fig.6 Reconstructed results of convolution algorithm at different angles of reference light

由图 6 可以看出:卷积算法的再现图尺寸大小不变,适合微尺寸物体的测量,但是随着参考光的偏置角度变化,再现像会沿对角线方向平移,当参考光的偏置角度  $\alpha=7.8^\circ$ ,  $\beta=43^\circ$  时得到居中、清晰的再现像,证明该方法是可行的,同时,由于设置了参考光的偏置角度,解决了由垂直光照射引起的一次相位畸变。

对再现图做相位提取,得到其包裹相位如图 7(b) 所示。



(a) 二次相位畸变

(b) 相位畸变消除结果图

(a) Image of two-fold phase

(b) Result image of

distortion

distortion eliminated

图 7 二次相位畸变及其消除结果图

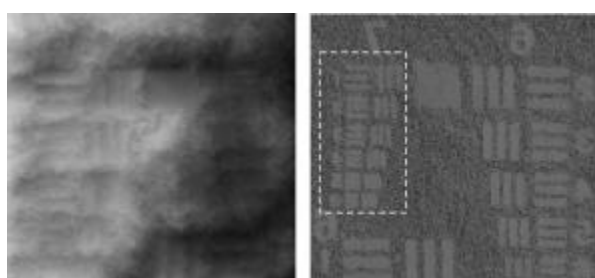
Fig.7 Image of two-fold phase distortion and result of distortion eliminated

由图 7 可以看出:由于在参考光路中引入与物

光光路相同的显微物镜,直接消除了图 7(a)所示的二次相位畸变,避免了繁琐的相位补偿算法操作。

### 2.3 相位解包裹实现三维重建

通过再现算法得到的相位是包裹相位,必须对其进行相位解包裹<sup>[13]</sup>操作以恢复真实的相位分布。文中采用基于离散余弦变换的解包裹算法<sup>[14]</sup>,结果如图 8(a)所示。为了更直观地体现相位分布的三维信息,将数据载入 maya 软件输出三维模型,如图 8(b)所示,局部三维信息如图 8(c)所示。



(a) 相位解包裹图  
(a) Phase unwrapped image  
(b) 相位分布三维重建图  
(b) 3D reconstruction image of phase distribution



(c) 局部相位分布三维图  
(c) 3D image of part of phase distribution  
图 8 相位解包裹及相位分布三维重建图

Fig.8 Image of phase unwrapped and 3D reconstruction of phase distribution

### 3 分析讨论

由图 6(d)可以看出,第 7 组第 4 对线对可以被清晰分辨,该线对的分辨率为 181 lp/mm,即 5.5  $\mu\text{m}$ ,因此,文中实验的测量精度达到 5.5  $\mu\text{m}$ ,并且消除了再现像的相位畸变,实现了分辨率板上横向尺寸 0.25 mm 的第 7 组线对相位分布的清晰三维重建,证明了文中提出的相位畸变矫正方法的有效性。但是,分辨率板的厚度和内部折射率都是均匀的,降低了相位分布测量的难度。而在实际测量中,人体细胞、浮游生物等弱相位物体的内部结构复杂,折射率

不均匀,极大地增加了相位解包裹的难度,解决这一难题将是下一步继续的工作。

### 4 结论

文中基于预放大离轴菲涅耳数字全息系统,研究了一种从全息图记录和再现、相位畸变矫正到三维重建的完整方法,实验证明能够实现对微尺寸(1 mm)透射型物体的再现像相位畸变进行矫正,并对矫正后的相位图实现三维重建。其中,采用改进的算法和光路进行相位畸变矫正,直接得到正确的相位分布,简化了后期需要对再现像相位进行多次相位补偿计算的步骤,这在很大程度上降低了相位重建过程的复杂程度,有利于对物体进行实时探测和快速重建。

### 参考文献:

- [1] Goodman J W, Lawrence P W, Digital image formulation from electronically detected holograms [J]. Appl Phys Lett, 1967, 11(3): 77-79.
- [2] Thomas C E, Bahm T M, Baylor L R, et al. Direct to digital holography for semiconductor wafer defect detection and review [C]//SPIE, 2002, 4692: 180-194.
- [3] Dirksen D, Droste H, Bkemper B, et al. Lenless Fourier holography for digital holographic interferometry on biological samples[J]. Opt Laser Eng, 2001, 36(3): 241-249.
- [4] Bally G V, Kemper B. Digital holographic microscopy for the life sciences[C]//Biomedical Optics and 3D Image OSA, 2012.
- [5] Zhao Jie, Wang Dayong, Wang Huaying, et al. Measurement of geometrical parameters of microstructure with digital holography[J]. Infrared and Laser Engineering, 2008, 37(5): 173-176. (in Chinese)  
赵洁, 王大勇, 王华英, 等. 用于微结构几何量测量的数字全息方法[J]. 红外与激光工程, 2008, 37(5): 173-176.
- [6] Zhou Canlin, Kang Yilan. Deformation measurement by digital holography [J]. Acta Photonica Sinica, 2004, 33(2): 171-173. (in Chinese)  
周灿林, 亢一澜. 数字全息干涉法用于形变测量 [J]. 光子学报, 2004, 33(2): 171-173.
- [7] Christopher J Mann, Ling Fengyu, Myung K Kim. Movies of cellular and sub-cellular motion by digital holographic microscopy [J]. Biomedical Engineering Online, 2006, 5(21):

- 6-8.
- [8] Wang Huaying. Imaging theory and experimental demonstration of digital holographic microscopy[D]: Beijing: Beijing University of Technology, 2008: 88-90. (in Chinese)  
王华英. 数字全息显微成像的理论和实验研究 [D]. 北京: 北京工业大学, 2008: 88-90.
- [9] Cuhe E, Marquet P, Depeursinge C. Simultaneous amplitude-contrast and quantitative phase-contrast microscopy by numerical reconstruction of Fresnel off-axis holograms[J]. Appl Opt, 1999, 38(34): 6994-7001.
- [10] Schnars U, Juptner W P O. Digital recording and numerical reconstruction of holograms [J]. Mea Sci Tech, 2002, 3(9): 85-101.
- [11] Zhang F C, Yamaguchi I, Yaroslavsky L P. Algorithm for reconstruction of digital holograms with adjustable magnification[J]. Opt Lett, 2004, 29(14): 1668-1670.
- [12] Kim Myung K, Ling Fengyu, Mann Christopher J. Digital Holography and 3D Display: Principle and Applications[M]. New York: Springer, 2006: 38-50.
- [13] Itoh K. Analysis of the phase unwrapping algorithm [J]. App Opt, 1982, 21(14): 27-40.
- [14] Hui Mei, Wang Dongsheng, Li Qingxiang, et al. Methods of phase unwrapping based on the solution of DCT equation[J]. Acta Optica Sinica, 2003, 23(10): 1245-1250. (in Chinese)  
惠梅, 王东生, 李庆祥. 基于离散泊松方程解的相位展开方法[J]. 光学学报, 2003, 23(10): 1245-1250.