

DOI: 10.19322/j.cnki.issn.1006-4710.2017.02.012

# 数字全息显微术中 Zernike 表面拟合的 相位畸变自动补偿

刘 芸, 焦明星, 邢俊红, 刘健宁

(西安理工大学 机械与精密仪器工程学院, 陕西 西安 710048)

**摘要:** 数字全息显微技术被广泛应用于微结构样本的三维轮廓测量,然而,显微光路中离轴引入的一次相位畸变和显微物镜引入的二次相位畸变,会使再现像相位出现倾斜和弯曲,无法获得样本的正确三维信息。本文提出了一种 Zernike 多项式表面拟合的再现像相位畸变补偿方法,将高空间频率分布的薄样本看作是叠加在整个相位畸变上的一个小的扰动,通过 Zernike 多项式对整个相位表面的拟合,消除了倾斜、离焦、像散、彗差和球差的影响,实现了再现像相位畸变的自动补偿。该方法只需一幅全息图,就可以补偿多项初级像差,执行简单,速度快。以相位光栅为样本,实验验证了该方法的可行性,获得了光栅的正确三维形貌。

**关键词:** 数字全息显微; 相位畸变补偿; 表面拟合法; Zernike 多项式拟合

中图分类号: TB96

文献标志码: A

文章编号:1006-4710(2017)02-0193-06

## Automatic compensation of phase distortion based on Zernike surface fitting in digital holographic microscopy

LIU Yun, JIAO Mingxing, XING Junhong, LIU Jianning

(School of Mechanical and Precision Instrumental Engineering, Xi'an University of Technology, Xi'an 710048, China)

**Abstract:** Digital holographic microscopy (DHM) has been widely applied for the topography measurement of microscopic specimen. However, the off-axis arrangement and microscope objective introduce the first-order and second-order phase distortion in DHM respectively, and thus the phase tilt and curvature appear in the reconstructed image, leading to a failure in retrieving the correct three-dimensional information of specimen. A total surface fitting method based on Zernike polynomials is presented to compensate the phase distortion, in which the thin specimen with high-spatial-frequency content is considered to be a small modulation superimposed on the whole phase distortion. The total phase surface fitting based on Zernike polynomials is performed to eliminate the tilt, defocus, astigmatism, coma and spherical aberration. The phase distortion can be automatically compensated in the reconstructed image. The approach can compensate the several primary aberrations by only one hologram. It has the advantage of simple and fast execution. The phase grating experiment demonstrates the feasibility of the approach and retrieves correctly the three-dimensional topography of grating.

**Key words:** digital holographic microscopy (DHM); phase distortion compensation; surface fitting method; Zernike polynomials fitting

数字全息显微技术(DHM)具有全场、三维、无侵入、动态测量的优点,已在生物、粒子场、MEMS等应用领域得到了越来越广泛的关注<sup>[1-3]</sup>。数字全息显微技术将数字全息技术与显微技术相结合,可

以获得尺寸在微米甚至纳米量级的微结构样本三维信息。然而,全息显微光路中离轴记录方式和显微物镜的使用会给再现像相位分别引入一次相位畸变和二次相位畸变,导致再现像相位出现倾斜和球面

收稿日期: 2017-01-06

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(61605156);陕西省科技厅自然科学基金基础研究计划资助项目(2016JQ6073)

作者简介: 刘芸,女,博士,讲师,研究方向为数字全息三维测量。E-mail: lyun@xaut.edu.cn

弯曲,严重影响了样本三维信息的测量。

目前数字全息显微技术中补偿再现像相位畸变的方法可分为物理补偿法和数字补偿法两类。其中物理补偿法主要包括双曝光法<sup>[4]</sup>、两路对称放置显微物镜法<sup>[5-6]</sup>和远心结构光路法<sup>[7-9]</sup>。文献[4]利用双曝光法,通过重构包含样本和不含样本的两幅全息图,使其再现像相位相减以补偿光路中的相位畸变,但该方法需要样本周围有空白区域,对分布密集的样本则不适用。文献[5]在物、参光路中各放置一个相同的显微物镜来抵消两路的二次相位畸变,然而该方法不足之处是需要分别调节两路显微物镜的后焦面,以使其与 CCD 之间的距离保持相等。文献[7]利用远心结构补偿物光路的二次相位畸变,该方法需要在物光路显微物镜后面放置一个准直透镜,使物光由球面光变成平行光,但即使精密调节了准直透镜的位置也会有残余二次相位畸变存在<sup>[9]</sup>。数字补偿法指利用数学模型拟合再现像相位,将再现像相位与拟合相位相减,获得消除相位畸变后的样本分布<sup>[10-16]</sup>。文献[11]利用相位掩模法进行相位畸变补偿,对解包裹相位的空白区域进行拟合以获得校正模型的参数。同样,文献[13]也提出了对整个相位表面进行二阶数学模型拟合,但该方法都需要提前给出相位校正模型。文献[14]提出在相位的空白区域采用椭圆模型进行最小二乘拟合,获得了微透镜的三维形貌,但该方法同样不适于分布密集的样本。Zernike 多项式和初级像差有关,文献[17]将 Zernike 多项式用于描述相位畸变的衍射理论。Zernike 表面拟合法在 2006 年被应用于相位畸变的补偿<sup>[11]</sup>,到了 2016 年,文献[15]仍采用 21 项 Zernike 多项式实现了光路像差的补偿。但这种基于相位空白区域的拟合方法,只能适用于样本分布比较稀疏的情况。2007 年,文献[16]将 6 项 Zernike 多项式拟合整个相位表面,获得了细胞薄样本的真实三维形貌,虽然该方法适用于分布密集的样本相位畸变补偿,但拟合结果有时会受到样本表面形貌的影响。

本文提出将 Zernike 多项式表面拟合方法用于数字全息显微术中再现像相位畸变的补偿,针对高空间频率分布的样本,分析了该方法的拟合结果不会受到样本表面形貌的影响,对预放大显微光路中整个相位表面进行 Zernike 多项式表面拟合,定量补偿倾斜、像差、彗差、像散和球差的影响,该方法只需一幅全息图,就可以自动补偿整个相位的多项初级像差,而无需知道光路装置的参数及相位畸变的数学模型,具有执行简单,速度快的优点,适于高空

间频率分布样本的相位畸变补偿。

## 1 数字全息显微成像原理

基于离轴记录方式的预放大全息显微光路如图 1 所示, Object plane 为物面, MO 为显微物镜所在面, CCD 为成像器件所在面, Image plane 为物体经过显微物镜放大后像所在的平面。  $O(x, y)$  和  $R(x, y)$  分别代表到达 CCD 面的物光波和参考光波,  $\alpha$  和  $\beta$  分别代表参考光沿  $x$  轴和  $y$  轴的倾斜角,  $f_1$  为显微物镜的焦距,  $d_1$  为物面到 MO 距离,  $d_2$  为 MO 到 CCD 距离,  $z$  为 CCD 到像面距离。

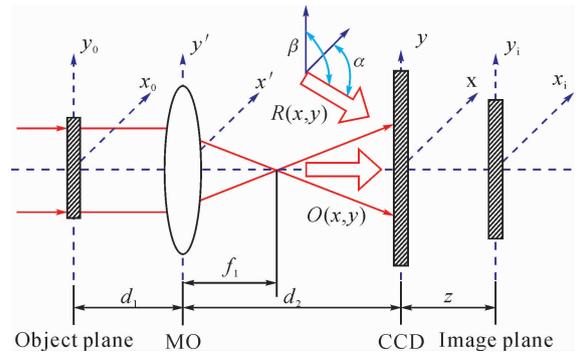


图 1 预放大全息显微光路成像示意图

Fig. 1 Schematic of imaging in pre-amplification DHM

到达 CCD 面上的物光波复振幅表示为:

$$O(x, y) = O_A \exp[j\varphi(x, y)] \quad (1)$$

式中,  $O_A$  为物光波振幅,  $\varphi$  为物光波相位。

到达 CCD 面上的参考光波复振幅可表示为:

$$R(x, y) = R_A \exp[-jk(x\cos\alpha + y\cos\beta)] \quad (2)$$

式中,  $R_A$  为参考光波振幅, 其值为 1;  $k$  为波数, 即  $2\pi/\lambda$ , 其中  $\lambda$  为光波波长。

物光和参考光在 CCD 面上发生干涉, 获得的全息图光强  $I_H$  表示为:

$$I_H(x, y) = O(x, y)O^*(x, y) + R(x, y)R^*(x, y) + O(x, y)R^*(x, y) + O^*(x, y)R(x, y) \quad (3)$$

式中, \* 表示共轭项。

式(3)中, 第一项和第二项分别为物光和参考光的光强, 代表零级像; 第三项和第四项为物光和参考光干涉项, 分别对应原始像和共轭像, 包含了振幅和相位信息。当满足频谱分离条件时, 零级像、原始像和共轭像的频谱会发生空间分离, 采用频域滤波的方法, 可以滤除零级像和共轭像, 保留原始像。这时新全息图表示为:

$$I'_H(x, y) = O(x, y)R^*(x, y) \quad (4)$$

引入一个与物理参考光  $R$  相同的数字参考波  $C$ , 抵消新全息图中的共轭参考光, 则式(4)变为:

$$U_1(x, y) = O(x, y)R^*(x, y)C(x, y) \quad (5)$$

经过角谱再现算法,模拟光波从 CCD 面到像面的光学衍射过程,则放大像的光场表示为:

$$U(x_i, y_i) = \mathcal{F}^{-1} \{ \mathcal{F} [U_1(x, y)] \times H(f_x, f_y) \} \quad (6)$$

式中,  $\mathcal{F}$  和  $\mathcal{F}^{-1}$  分别表示傅里叶变换和傅里叶反变换。其中:

$$H(f_x, f_y) = \exp[jkz\sqrt{1 - (\lambda f_x)^2 - (\lambda f_y)^2}] \quad (7)$$

这时再现像的强度和相位分别表示为:

$$I(x_i, y_i) = \text{Re}[U(x_i, y_i)]^2 + \text{Im}[U(x_i, y_i)]^2 \quad (8)$$

$$\phi(x_i, y_i) = \arctan \frac{\text{Im}[U(x_i, y_i)]}{\text{Re}[U(x_i, y_i)]} \quad (9)$$

式中,  $\text{Re}[\ ]$  为取复振幅实部,  $\text{Im}[\ ]$  为取复振幅虚部,  $\arctan[\ ]$  为反正切运算。

通过对包裹相位解包裹,可以获得被测样本的真实相位信息  $\varphi_{\text{rec}}(x_i, y_i)$ 。

## 2 Zernike 多项式表面拟合的相位畸变补偿

### 2.1 相位畸变数学模型

全息显微光路中,相位畸变总是存在的,主要包括一次相位畸变和二次相位畸变。一次相位畸变是由离轴结构中物光和参考光不同轴而引起的相位倾斜,即倾斜相位误差,当光路为像面记录时,数学表达式为:

$$\varphi_1(x, y) = \exp[jk(x\cos\alpha + y\cos\beta)] \quad (10)$$

二次畸变是由显微物镜引入的相位弯曲,即二次相位误差,数学表达式为:

$$\varphi_2(x, y) = \exp\left[-\frac{jk}{2f_1M_0}(x^2 + y^2)\right] \quad (11)$$

式中,  $M_0$  为预放大显微光路横向放大率。

由此可知,一次相位畸变与物参光夹角有关,使相位发生倾斜;二次相位畸变与显微物镜焦距和系统横向放大率有关,使相位发生球面弯曲。这两种存在于预放大显微光路中的主要相位畸变,都引入了相位误差,必须采用补偿方法进行消除。

### 2.2 Zernike 多项式表面拟合的相位畸变补偿

像面记录时,再现像相位表示为样本相位和系统相位畸变之和,即

$$\varphi_{\text{rec}}(x, y) = \varphi(x, y) + \varphi_{\text{abb}}(x, y) \quad (12)$$

式中,  $\varphi(x, y)$  为样本相位,  $\varphi_{\text{abb}}(x, y)$  为系统相位畸变。

全息显微结构中,相位畸变分布具有连续缓慢变化的特点,是一个分布范围较大的包络面,而薄样本的相位分布变化较快,分布范围较小,可将其相位

分布看作是叠加在整个相位畸变上的一个小的扰动,即:

$$\varphi(x, y) \ll \varphi_{\text{abb}}(x, y) \quad (13)$$

因此,拟合整个相位  $\varphi_{\text{rec}}(x, y)$ ,实际是对缓慢变化的相位畸变分布的一个拟合,样本的实际相位分布就可以通过再现像相位与拟合相位之差获得,即:

$$\varphi(x, y) = \varphi_{\text{rec}}(x, y) - \varphi_{\text{fit\_abb}}(x, y) \quad (14)$$

式中,  $\varphi_{\text{fit\_abb}}$  为相位拟合结果。

通常表面拟合消除相位畸变方法中,往往只考虑一次相位畸变及二次相位畸变的消除,而忽略了其它初级像差的影响,如彗差、像散和球差。如果表面拟合方法将这些初级像差考虑进去,将会更精确地表达相位畸变模型,获得更好的拟合效果。Zernike 多项式满足此要求,其包含一次项、二次项、高阶项和多个交叉项,该多项式不仅可以表示一次相位畸变和二次相位畸变,而且可以表示彗差、像散和球差等初级像差。

光学系统的波阵面通常是光滑连续的,波阵面的表面拟合就是选择一个线性无关基底函数的线性组合  $W_z(x, y)$  拟合波阵面。Zernike 多项式满足此要求,对光学波阵面拟合精度高,主要有以下几个优势。

1) 单位圆上正交。一般光学器件都是圆形光瞳,归一化后是个单位圆, Zernike 多项式在单位圆上的正交性满足圆形光瞳的特点。

2) 旋转对称性。该特性在求解中具有良好的收敛性。

3) 和初级像差有关。与初级像差有一定的对应关系。

基于  $n$  项 Zernike 多项式的波阵面拟合公式可以表示为:

$$W_z(x, y) = A_1W_1(x, y) + A_2W_2(x, y) + \dots + A_nW_n(x, y) \quad (15)$$

式中,  $A_i$  为第  $i$  项 Zernike 多项式拟合系数,  $W_i$  为第  $i$  项 Zernike 多项式 ( $i=1, 2, \dots, n$ )。

如表 1 所示,表中列出了前 9 项 Zernike 多项式对应的平移、倾斜、离焦、像散、彗差和球差的具体表达式。对波阵面的拟合,实际针对的是初级相位畸变,因此表 1 中列出了前 9 项像差。拟合系数  $A_1$  表示平移,拟合系数  $A_2$  和  $A_3$  对应  $x$  和  $y$  方向倾斜相位误差。 $A_1$ 、 $A_2$  和  $A_3$  由系统结构决定,没有体现波阵面的面形信息。拟合系数  $A_4$  对应二次相位误差,反映面形整体上的凹凸情况。凹凸情况越明显,系数  $A_4$  就越大。拟合系数  $A_5$  和  $A_6$  分别表示  $0^\circ$  和  $45^\circ$  像散,当波阵面具有非球面形式的凹凸时,

这两个系数会增加。可以看出,拟合系数  $A_4$ 、 $A_5$  和  $A_6$  反映了波阵面的整体轮廓情况。拟合系数  $A_7$  和  $A_8$  表示  $x$  和  $y$  方向彗差,拟合系数  $A_9$  表示球差,这些都反映了小范围内波阵面的凹凸情况。

已知所拟合波阵面的数据,通过对波阵面数据点的最小二乘拟合,可以获得前 9 项 Zernike 多项式拟合系数。因此,通过 Zernike 多项式表面拟合的结果,可以获得样本的实际相位分布。

表 1 Zernike 多项式及其相应的初级像差

Tab.1 Zernike polynomials and its corresponding primary aberrations

$i$	$W_i$	初级像差
1	1	平移
2	$x$	$x$ 方向倾斜
3	$y$	$y$ 方向倾斜
4	$-1+2(x^2+y^2)$	离焦
5	$y^2-x^2$	$0^\circ$ 方向像散
6	$2xy$	$45^\circ$ 方向像散
7	$-2x+3x(x^2+y^2)$	$x$ 方向彗差
8	$-2y+3y(x^2+y^2)$	$y$ 方向彗差
9	$1-6(x^2+y^2)+6(x^2+y^2)^2$	球差

### 3 实验验证

#### 3.1 预放大全息显微光路

透射式预放大全息显微光路如图 2 所示,该光路基于马赫-曾德干涉仪结构,氦氖(He-Ne)激光器

发出波长为 632.8 nm 的线偏振激光,经过偏振分光棱镜(PBS)分成两路正交的线偏振激光,一路物光,一路参考光。参考光透过扩束镜(Expander)被准直与扩束,经过反射镜  $M_2$  进入到分光棱镜(BS)中。物光经过反射镜  $M_1$  照射到样本(Specimen)上,通过放大倍数为 10,数值孔径为 0.25 的显微物镜(MO)放大后进入到 BS。半波片( $\lambda/2$ )可用于调整两路光的偏振态及光强比,达到最好的干涉效果。旋转 BS 一个很小的角度,可以改变物光和参考光之间的夹角,使其既能满足采样要求,又能满足频谱分离条件,CCD 用以记录明暗相间的干涉条纹。

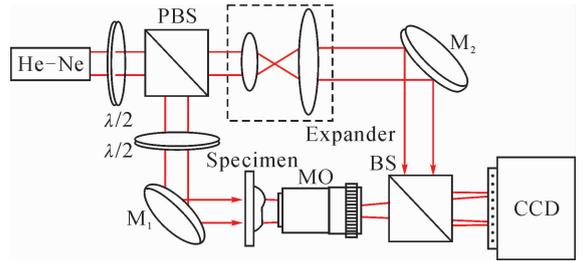


图 2 透射式预放大全息显微光路示意图  
Fig.2 Schematic of transmission optical path in pre-amplification DHM

#### 3.2 实验结果

实验以玻璃上刻蚀的微孔为样本,孔直径为 15  $\mu\text{m}$ ,孔间距为 80  $\mu\text{m}$ ,孔深度为 564 nm,图 3 给出了 Zernike 多项式表面拟合的微孔相位畸变补偿实验结果。

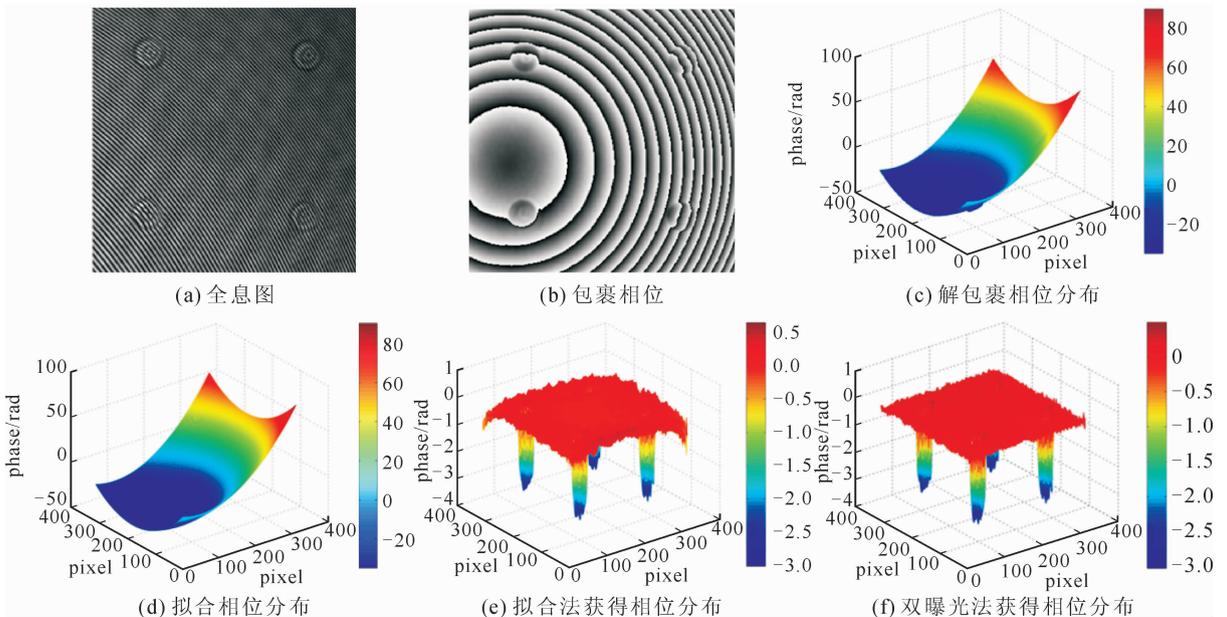


图 3 Zernike 表面拟合的微孔相位畸变补偿实验结果

Fig.3 Experimental result of micro-hole phase distortion compensation based on Zernike surface fitting

CCD 位于像面上,记录的微孔全息图如图 3(a) 所示,经过频域滤波获得再现像复振幅,得到的包裹

相位如图 3(b) 所示,这时再现像相位被截断,无法反映连续的相位分布。利用离散余弦变换的最小二

乘解包裹方法,获得连续分布的解包裹相位,其三维分布如图 3(c)所示,很明显样本相位已被系统相位畸变所覆盖,无法分辨。利用表 1 中所列的 9 项 Zernike 多项式,对整个解包裹相位进行拟合,获得拟合相位分布如图 3(d)所示,其变化趋势与相位解包裹分布相同,分布范围为 100 rad。相位畸变补偿通过解包裹相位减去 Zernike 表面拟合结果完成,获得微孔的相位分布如图 3(e)所示。与图 3(f)双曝光法获得的微孔相位分布比较,图 3(e)的微孔相位分布的表面发生了弯曲,原因归结于整个相位表面拟合时,低空间频率分布的样本表面形貌影响了拟合的结果,导致再现相位信息失真。

当样本空间频率分布较低,即样本分布较为稀

疏时,样本的相位信息变化缓慢,对于具有连续缓慢变化的相位畸变而言,Zernike 多项式对整个相位表面的拟合结果会受到样本形貌的影响,不能完全反映系统相位畸变的分布。然而,当样本空间频率分布较高,即样本分布较为密集时,样本的相位信息变化较快,Zernike 多项式对整个相位表面的拟合,仅反映了分布范围较大的包络面分布,而样本被看成了叠加在其上的一个小的扰动,拟合结果不会受到高空间频率分布的样本形貌干扰,能够正确反映系统相位畸变的分布。

以栅距为 20  $\mu\text{m}$ ,深度为 570 nm 的相位光栅作为实验样本,Zernike 多项式表面拟合的光栅相位畸变补偿实验结果如图 4 所示。

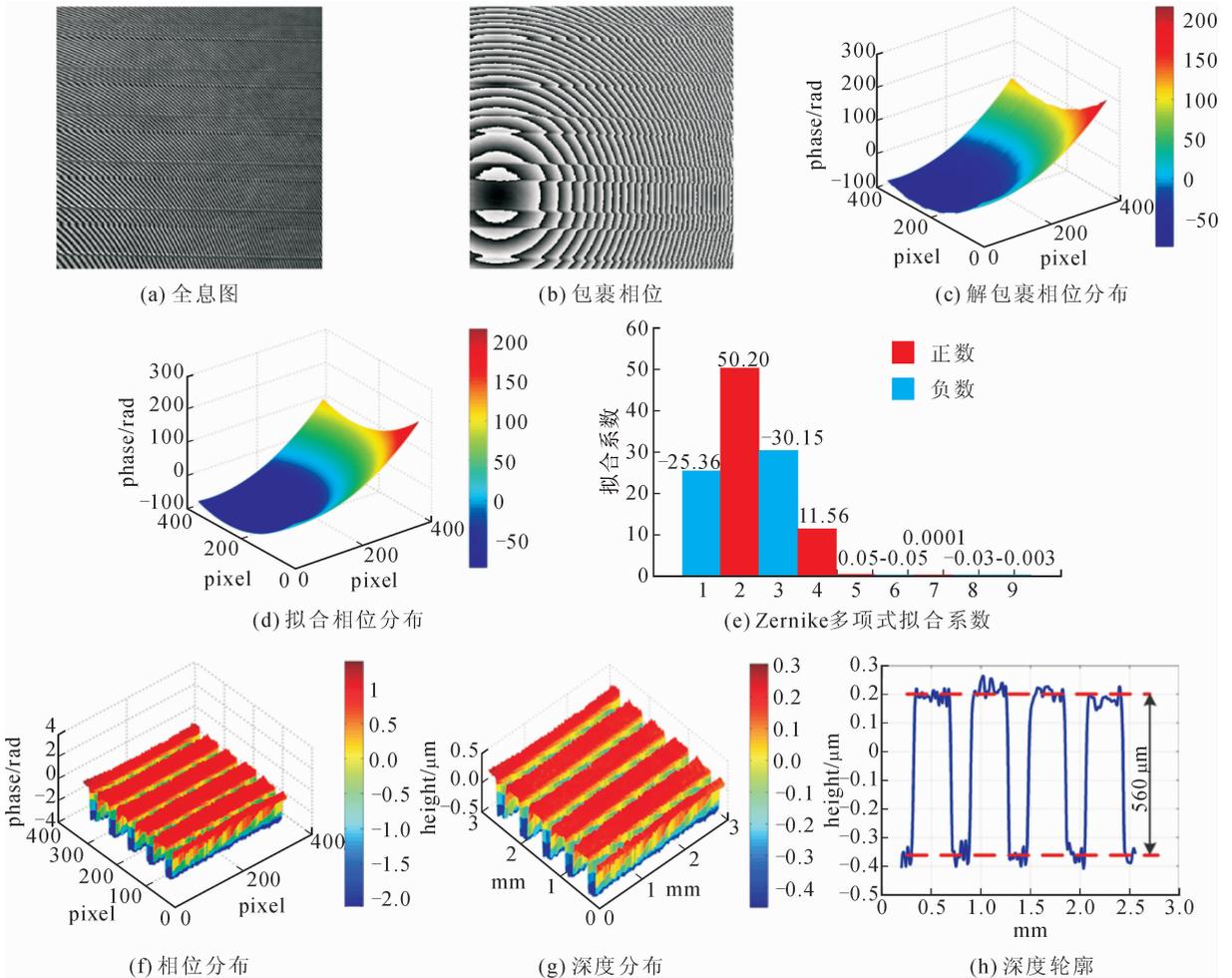


图 4 Zernike 表面拟合的光栅相位畸变补偿实验结果

Fig. 4 Experimental result of grating phase distortion compensation based on Zernike surface fitting

利用 Zernike 多项式对光栅解包裹相位进行拟合,得到的拟合相位分布如图 4(d)所示,其 9 项 Zernike 多项式的拟合系数如图 4(e)所示。由此可知,除了平移以外, $x$  方向倾斜、 $y$  方向倾斜和离焦的拟合系数绝对值较大,分别为 50.20、30.15 和 11.56,即这两种相位畸变所占比例较大,而球差、像

散和彗差对系统的实际影响较小,可以忽略。消除相位畸变后,相位光栅的解包裹相位分布范围为 3 rad,如图 4(f)所示,这与消除相位畸变前相位分布范围 250 rad 相比,仅占到了 1.2%,说明薄样本可以被看作是叠加在整个相位畸变上的一个小的扰动。根据相位与深度之间的对应关系,图 4(g)给出

了相位光栅的三维深度分布,其平均深度范围约为560 nm,与白光干涉仪测量结果相符(见图4(h))。因此,Zernike多项式表面拟合方法实现了系统相位畸变的补偿,获得了相位光栅的正确三维信息。

## 4 结 语

本文提出了一种 Zernike 多项式表面拟合的相位畸变补偿方法,将高空间频率分布的样本相位看作是叠加在整个相位畸变上的一个小的扰动,利用 Zernike 多项式表面拟合提供对倾斜、离焦、像散、彗差和球差的定量测量,补偿系统的相位畸变,实验实现了对相位光栅的三维重构。该方法只利用一幅全息图,就可以补偿多项相位畸变,获得更好的拟合效果,执行简单,速度快,适用于高空间频率分布的样本测量,例如生物细胞、微透镜阵列等微结构样本测量中。

### 参考文献:

[1] JAFERZADEH K, MOON I. Quantitative investigation of red blood cell three-dimensional geometric and chemical changes in the storage lesion using digital holographic microscopy [J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2015, 20(11): 111218-1-10

[2] VERRIER N, FOURNIER C, FOURNEL T. 3D tracking the Brownian motion of colloidal particles using digital holographic microscopy and joint reconstruction [J]. *Applied Optics*, 2015, 54(16): 4996-5002.

[3] HEGDE G M, SINGH V R, ASUNDI A. Digital holographic microscopy for MEMS/MOEMS device inspection and complete characterization [J]. *Journal of the Indian Institute of Science*, 2013, 93(1): 85-104.

[4] ZHOU Wenjing, YU Yingjie, ASUNDI A. Study on aberration suppressing methods in digital micro-holography [J]. *Optics and Lasers in Engineering*, 2009, 47(2): 264-270.

[5] QU Weijuan, CHOO C O, YU Yingjie, et al. Micro-lens characterization by digital holographic microscopy with physical spherical phase compensation [J]. *Applied Optics*, 2010, 49(33): 6448-6454.

[6] QU Weijuan, CHOO C O, LEWIS TR. Physical spherical phase compensation in reflection digital holographic microscopy [J]. *Optics and Lasers in Engineering*, 2012, 50(4): 563-567.

[7] SÁNCHEZ-ORTIGA E, FERRARO P, MARTÍNEZ-CORRAL M, et al. Digital holographic microscopy with pure-optical spherical phase compensation [J]. *Journal of the Optical Society of America A*, 2011, 28(7):

1410-1417.

- [8] DOBLAS A, SÁNCHEZORTIGA E, MARTÍNEZ-CORRAL M, et al. Shift-variant digital holographic microscopy: inaccuracies in quantitative phase imaging [J]. *Optics Letters*, 2013, 38(8): 1352-1354.
- [9] LIU Yun, WANG Zhao, LI Jiansu, et al. Total aberrations compensation for misalignment of telecentric arrangement in digital holographic microscopy [J]. *Optical Engineering*, 2014, 53(11): 112307-1-8.
- [10] FERRARO P, NICOLA S D, FINIZIO A, et al. Compensation of the inherent wave front curvature in digital holographic coherent microscopy for quantitative phase-contrast imaging [J]. *Applied Optics*, 2003, 42(11): 1938-1946.
- [11] COLOMB T, CUCHE E, CHARRIÈRE F, et al. Automatic procedure for aberration compensation in digital holographic microscopy and applications to specimen shape compensation [J]. *Applied Optics*, 2006, 45(5): 851-863.
- [12] COLOMB T, MONTFORT F, KÜHN J, et al. Numerical parametric lens for shifting, magnification, and complete aberration compensation in digital holographic microscopy [J]. *Journal of the Optical Society of America A*, 2006, 23(12): 3177-3190.
- [13] ZHANG Yizhuo, WANG Dayong, WANG Yunxin, et al. Automatic compensation of total phase aberrations in digital holographic biological imaging [J]. *Chinese Physics Letters*, 2011, 28(11): 114209-1-4.
- [14] MIN Junwei, YAO Baoli, GAO Peng, et al. Wave-front curvature compensation of polarization phase-shifting digital holography [J]. *Optik*, 2012, 123(17): 1525-1529.
- [15] NGUYEN T, NEHMETALLAH G, RAUB C, et al. Accurate quantitative phase digital holographic microscopy with single-and multiple-wavelength telecentric and nontelecentric configurations [J]. *Applied Optics*, 2016, 55(21): 5666-5683.
- [16] MICCIO L, ALFIERI D, GRILLI S, et al. Direct full compensation of the aberrations in quantitative phase microscopy of thin objects by a single digital hologram [J]. *Applied Physics Letters*, 2007, 90(4): 041104-1-3.
- [17] NIENHUIS K, NIJBOER B. The diffraction theory of optical aberrations: Part III: general formulae for small aberrations; experimental verification of the theoretical results [J]. *Physica*, 1949, 14(9): 590-604.