文章编号:1002-2082(2011)04-0806-04

高分辨率 405 nm 激光显微成像系统研究

刘 佳,贺锋涛

(西安邮电学院 电子工程学院,陕西 西安 710121)

摘 要:研究了 405 nm 短波长激光作为照明光源、数值孔径 0.65 显微物镜组成的显微成像系统。采用该系统对 CD-R 及 DVD-R 盘片进行了显微成像,并对激光成像散斑进行了消除,同时利用 CCD 图像传感技术和图像采集技术对显微图像进行实时观察与存储,与卤素灯白光作为照明光源时的显微图像进行了比较。结果表明:该系统在卤素灯白光作为照明光源时对 CD-R 盘片信息点可清晰分辨,但对 DVD-R 盘片信息点的图像不可分辨;而在 405 nm 激光照明时信息点均可清晰分辨,系统分辨优于 400 nm,明显高于普通卤素灯白光照明系统。

关键词:高分辨率;405 nm 激光;CCD 图像传感器;显微成像

中图分类号: TN911.73;TH741.7 **文献标志码**: A

High-resolution 405 nm laser microscopic imaging

LIU Jia, HE Feng-tao

(Department of Electronic and Information Engineering, Xi'an University of Posts and Telecommunications, Xi'an 710121, China)

Abstract: A microscopic imaging system with a 405 nm blue laser as light source and a 0.65 numerical aperture objective lens was studied. We carried on the microscopic imaging for CD-R and DVD-R discs by using the system, eliminated the laser imaging speckles, observed and stored the microscopic images in real time by utilizing the CCD image sensor technology and the image capturing technology, and compared them with the one using halogen lamp as the light source. The results showed that when this system used the white light of halogen lamp as the light source, the information points on CD-R disc could be clearly resolved, while the image on DVD-R disc couldn't; however, images on both CD-R and DVD-R discs were clear when the 405 nm laser was used as the light source, and the resolution was better than 400 nm, significantly higher than the ordinary halogen lamp white lighting system.

Key words: high-resolution; 405 nm laser; CCD image sensor; microscope imaging

引言

样品表面甚至内部的细微结构的显微成像,一直是许多科学研究和工业生产的重要组成部分。随着激光源的出现以及激光技术、光电子技术和光纤技术的进步,光学成像技术也得到飞速发展,其应用领域已扩展到国民经济和军事国防领域的许多方面,对科技的进步、经济建设和国计民生的进步发展,起着愈来愈重要的作用。

通过光学显微系统对样品进行测量成像是科学领域和工业领域常用的方法。而光学显微系统光学分辨率受瑞利衍射极限的限制,根据瑞利衍射极限原理,当需要定量描述两个刚好能够分辨物体时,瑞利提出了一个距离,在这个距离处,第一个物体的衍射图样中的衍射第一极小值与第二物体的中央衍射峰相重合。在这个情况下,所有信号在中央都有一个清楚的凹陷,在这个条件下

收稿日期:2010-11-24; **修回日期**:2011-05-03

作者简介:刘佳(1986—),女,陕西西安人,硕士研究生,主要从事激光成像关键技术方面的研究工作。
E-mail: ljj1314.happy@163.com

要求两个物体相距 d 大于 $0.61\frac{\lambda}{NA}$。d 的大小与光源的真空波长 λ 成正比，与显微镜物镜的有效数值孔径 NA 成反比[1]。因此要想提高显微系统的分辨率，需缩短照明光源的波长或提高物镜的有效数值孔径。传统光学显微镜一般采用白光(即光学显微镜中的卤素灯)作为照明光源,但是白光有一个问题就是色差,它是透镜成像的一个严重缺陷,发生在多色光作为光源的情况下。因为白光是非单色光,各种光的波长不同,所以在通过透镜时的折射率也不同,这样物方一点在像方则可能形成一个色斑[2]。而单色光不产生色差,因而不会形成色斑。

本系统采用激光器作为光学显微镜系统的照明光源,激光作为强相干光源,它所辐射的激光是一种受激辐射相干光,因此激光束与普通光相比最突出的特性是它具有高度的方向性、单色性、相干性和高亮度[3]。高度的方向性可以限制在小于几个毫弧度立体角内,这就使得在照射方向上的照度提高千万倍,使激光能准确汇聚在孔径光栏上。单色性则避免了白光包含了各种波长所产生的色差,而采用激光光源从根本上消除了色差对成像的影响。同时由于激光具有高亮度,则可使 CCD 采集到的图像具有较高的对比度。综上所述采用激光作为照明光源比白光具有明显优势。但由于激光的强相干性,成像时则会形成散斑,需要对散斑进行控制。同时本系统采用 405 nm 短波长激光,波长较短,可使系统具有较高分辨率。

1　工作原理及系统结构

本系统采用 405 nm 激光作为光学显微镜的照明光源,同时利用 CCD 图像传感技术和图像采集技术对显微图像进行实时观察与存储,并可对图像进行分析比较。

系统的组成基本可分为:反射式镜相光学显微镜,CCD 图像采集,微型计算机。工作原理如下:405 nm 蓝色激光光源固定在聚光镜上,使蓝光汇聚在孔径光栏上;从孔径光栏出射的光,再经一组聚光透镜汇聚,经分光镜和辅助物镜聚焦在显微物镜的焦平面上,最后通过物镜使光束变为平行光均匀照射在测量样品上;从样品表面反射回的带有样品信息的光经显微镜、辅助物镜后,被分光镜反射,反射光束经棱镜后呈倒立放大的实像,通过目镜接收放大后,再经 CCD 摄像头在 CCD 显示器上成像;调节样品相对于显微物镜的距离,CCD 的视频信号在图像采集卡中经 A/D 转换、比例缩放等处理后，送往计算机中经显示器实时显示，再经动态调整，直至屏幕上的显微图像最清晰、最符合要求[4]。系统原理及结构如图 1 所示。

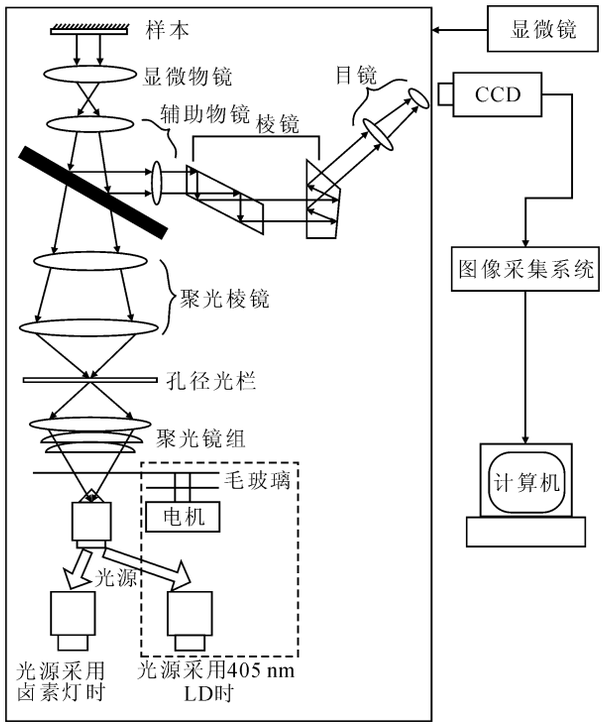


图 1　原理图

Fig. 1　Schematics

但是在这个过程中,由于激光本身的单色性好、方向性好、相干性好且亮度高的特性,当一束平行激光照射到一粗糙平面相对光波长而言时,表面上各点都要向空间散射光,这些光的振幅和位相都无规则分布。来自粗糙物体表面上各个小面积元射来的基元光波将相互干涉而产生颗粒状的图样，即激光散斑，也称为斑纹。所以作为光源的激光照射到 CD 和 DVD 盘片的表面上会形成激光散斑，特别是在激光显示中，它的存在严重影响了成像质量，使图像的对比度和分辨率下降[5]。消除散斑的方法有很多种:用运动漫射体进行时间平均;波长和角度的变化;减弱时间和空间相干性;用时间相干性破坏空间相干性[6]。

通常把因散射屏运动而随时间变化的散斑现象称为动态散斑,一般相当复杂。但可以把这种变化归结为两种基本形式:图样“沸腾”(散斑图样整体表现为无规运动)和图样“冷结”(散斑图样整体表现为按某种规律运动)。在某些条件下,这两

种变化形式可以分别出现,而通常则是两者同时存在。本系统采用运动漫射体进行时间平均的方法对散斑进行消除,即在输出的激光上加毛玻璃并通过电机使毛玻璃产生旋转,当激光透过毛玻璃后,在其后表面上各点的相位是随机的,根据惠更斯原理,在毛玻璃的后表观察面上各点可看作是子波源,各子波源在空间中任一点相互叠加,将产生相长或者相消干涉。由于子波源的相位是随机的,所以在空间各点位置上的强度也是随机的,使输出图像的散斑得到改善[7]。这样就可选择质量较好的图像方便地存储到计算机中,以供以后的处理和测量之用。

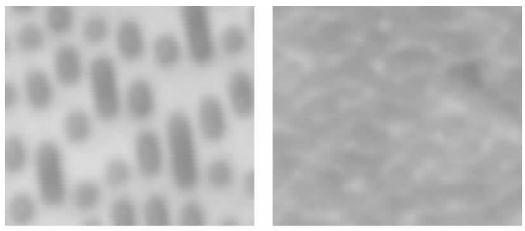
在实验过程中我们也采用了卤素灯白光作为光学显微镜的光源,分别对 CD 和 DVD 盘片进行了观察。并将 405 nm 激光和卤素灯白光作为光源时的图像进行了比较。

实验中采用的显微物镜为 40 倍,数值孔径为 0.65,CCD 摄像头像素为 786×576。系统是在显微镜物镜的数值孔径不变的情况下,选用了卤素灯和 405 nm 激光作为照明光源,分别对 CD-R 和 DVD-R 盘片进行了观察。在实验中首先采用卤素灯作为光源照明对 CD-R 和 DVD-R 进行观察,如图 1 所示。然后撤出卤素灯采用 405 nm 激光作为光源照明对 CD-R 和 DVD-R 进行观察,如图 1 框中所示。显微系统物镜的光学分辨率由 $0.61\frac{\lambda}{NA}$决定:当采用卤素灯作为光源照明时,光源的平均波长可等效为 550 nm;当 NA 取 0.65 时,显微系统能分辨的物体微结构的最小尺寸约为 516 nm,同时考虑到色差的影响分辨率会更低。而采用 405 nm 的蓝光激光作照明光源时,理论上其分辨率可达 380 nm,分辨能力比卤素灯作为光源照明显微系统提高了 1.36 倍,同时由于 405 nm 激光具有较好的单色性,从根本上消除了色差的影响。分析表明 405 nm 激光作为照明光源在光学显微镜下的分辨率优于通常情况下卤素灯白光作为照明光源的分辨率。

2　实例比较

405 nm 短波长激光显微成像系统及卤素灯白光作为照明光源系统对 CD-R 及 DVD-R 盘片显微成像分析结果如下。

采用卤素灯白光作为照明光源时,CD-R 盘片采集到的显微图像和 DVD-R 盘片采集到的显微图像分别如图 2(a)和(b)所示,由图可以看出,卤素灯白光作为光源时 CD-R 盘片的信息点可清晰分辨,但对 DVD-R 盘片的信息点不可分辨。

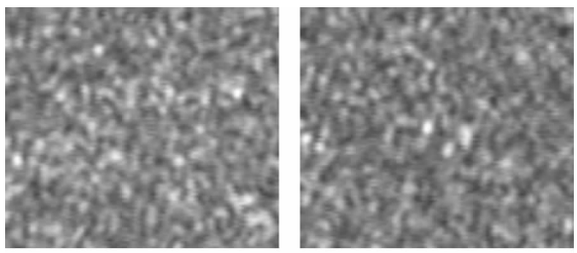


(a)　　(b)

图 2　卤素灯白光作为光源时的 CD 和 DVD 盘片图像

Fig. 2　Images on CD and DVD when using the halogen lamp white light source

在条件不变的情况下,用 405 nm 激光作为照明光源对 CD-R 和 DVD-R 盘片采集到的图像分别如图 3(a)和(b)所示,由图可以看出,在没有消除散斑的情况下,CD-R 和 DVD-R 盘片的信息点由于散斑的影响均无法分辨。

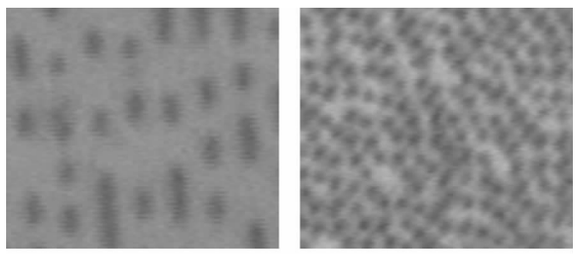


(a)　　(b)

图 3　405 nm 激光作为光源时有散斑现象的 CD 和 DVD 盘片图

Fig. 3　Images with speckles on CD and DVD when using the 405 nm laser source

采用运动漫射体的方法对散斑进行消除后的 CD-R 和 DVD-R 盘片图像分别如图 4(a)和(b)所示,在 405 nm 激光作为光源时,不仅对 CD-R 可清晰分辨,而且对 DVD-R 盘片的信息点也可清晰分辨。



(a)　　(b)

图 4　消除掉散斑后的 CD 和 DVD 盘片图像

Fig. 4　Images on CD and DVD after eliminating speckles

由图 2(a)和图 4(a)可以看出,当用卤素灯白光和 405 nm 激光作为照明光源时 CD-R 盘片上的信息点均清晰可见,又由图(2)(b)和图 4(b)可看出,当用卤素灯白光作为光源时 DVD-R 盘片上的信息点不可分辨,但采用 405 nm 激光作为照明光源时 DVD-R 盘片的信息点可清晰分辨。因为 CD-R 盘片的道间距为 1.6 μm, DVD-R 盘片道间距为 0.74 μm,所以对 DVD-R 盘片,卤素灯白光照明已经不能分辨,而 405 nm 激光照明时能够得到清晰的图像,结果表明 405 nm 激光作为光源时分辨率更高。因为 DVD-R 盘片上的最小刻录点的尺寸为 400 nm,所以在 405 nm 激光作为照明光源时的系统的分辨率已优于 400 nm。

3　结束语

本系统采用了 405 nm 激光作为光学显微系统照明光源,对 CD-R 及 DVD-R 样品进行了显微成像,并与卤素灯白光作为光源时进行了比较。结果表明,在其他条件不变的情况下,405 nm 激光作为光源时具有较高分辨率。这对提高光学显微系统的分辨率及测量更精细样品,以及加工微小样品有着重要意义。

参考文献:

[1] 佚名. 新型显微术突破衍射极限[J]. 于天燕,徐德衍,译. 激光与光电子学进展,2002,39(10):11-16.
Anon. New microtechnic break through the diffraction limit[J]. Translated by YU Tian-yan, XU De-yan. Laser and Photonics Progress, 2002, 39(10): 11-16. (in Chinese)

[2] 徐昌杰,权贵秦. 应用光学[M]. 西安:陕西人民出版社,2002.
XU Chang-jie, QUAN Gui-qin. Applied optics[M]. Xi'an: Shaanxi People Press, 2002. (in Chinese)

[3] 陈钰清,王静换. 激光原理[M]. 杭州:浙江大学出版社,1992.
CHEN Yu-qing, WANG Jing-huan. Laser principle[M]. Hangzhou: Zhejiang University Press, 1992. (in Chinese)

[4] 张东玲,贺锋涛,冯晓强,等. 高分辨率蓝光光学显微测量系统[J]. 应用光学,2005,26(3):57-59.
ZHANG Dong-ling, HE Feng-tao, FENG Xiao-qiang, et al. High-resolution optical micro-survey system with blue illuminating source[J]. Journal of Applied Optics, 2005, 26(3): 57-59. (in Chinese with an English abstract)

[5] KOWAR A, CHRISTENSEN C R. Effects of speckle on resolution[J]. Journal of the Optical Society of America, 1976, 66(11): 1257-1260.

[6] GEORGE N, CHRISTENSEN C R, BENNETH J S, et al. Speckle noise in displays[J]. Journal of the Optical Society of America, 1976, 66(11): 1282-1290.

[7] 孙嵘,罗振坤,赵映雪,等. 两种激光散斑均化方法研究[J]. 激光与红外,2010,40(5):455-457.
SUN Rong, LUO Zhen-kun, ZHAO Ying-xue, et al. Study of two methods to average the laser energy based on speckle interferometry[J]. Laser & Infrared, 2010, 40(5): 455-457. (in Chinese with an English abstract)