

# 显微数字全息中欠采样全息图的复原和利用\*

李跃宏<sup>1</sup>, 钱晓凡<sup>2</sup>, 梅冬成<sup>1</sup>, 毕精会<sup>2</sup>

(1. 云南大学 物理系, 云南 昆明 650091; 2. 昆明理工大学 理学院 激光研究所, 云南 昆明 650093)

**摘要:** 在数字全息中由于受 CCD 分辨率的限制, 获得的全息图常存在欠采样问题. 从理论上分析了欠采样出现的原因, 给出了对其中欠采样全息图复原、利用的方法, 并将其应用到显微数字全息中, 得到了比较理想的细胞三维形貌, 结果表明方法是有效的. 与不进行复原的结果相比较, 扩展了全息图的利用范围. 由于数字全息中欠采样问题的普遍存在, 方法具有实际的意义.

**关键词:** 采样定理; 欠采样; 混叠; 复原; 显微数字全息; 插值

中图分类号: TN 247 文献标识码: A 文章编号: 0258-7971(2007)02-0140-05

数字记录并数字再现的数字全息为全息术提供了另一种全新的记录和再现方式. 随着计算机技术的发展和高分辨率的电荷耦合器件(CCD)的出现, 数字全息术已成为可能, 并很快应用于各种领域<sup>[1~5]</sup>. 与传统的光学全息术相比, 数字全息的突出优点在于: 可直接获得被记录物体再现像的复振幅分布, 且不需化学处理, 整个过程简单、灵活, 更便于进行定量分析、测量及实时处理.

与传统全息术一样, 分辨率是数字全息术的关键参数之一. 作为记录介质的 CCD 的空间分辨率目前最高已达 100 lines/mm, 但比传统的银盐干板的分辨率(5 000 lines/mm 左右)仍低很多<sup>[4]</sup>. 由于现代集成技术和弱信号提取技术的限制, 目前尚难以大幅度提高 CCD 的空间分辨率, 这将最终影响数字全息系统的分辨率. 一般认为, 根据抽样定理(Nyquist 定理)要求, 在一个条纹周期内抽样点不能低于 2 个, 所以 CCD 分辨率大约为 50 lines/mm. 于是在实际记录的数字全息图中, 受记录条件的限制, 大量存在欠采样的问题. 如何充分利用记录下的有欠采样问题的数字全息图, 是数字全息术值得研究的课题.

另一方面, 能够清晰地观察生物细胞对于生物学和生命科学来说是非常有意义的. 普通显微镜虽

具有很高的横向放大率, 但只能观察样本细胞的明暗变化, 而不能识别它的相位. 虽然我们可以用染色的方法来间接观察细胞的相位, 但染色的同时往往会杀死细胞自身, 改变细胞的原始结构, 从而不能在显微镜下如实研究样本细胞的生命过程. 为了获得细胞的相位信息, 人们通常采用微分相衬显微镜(Normarski 显微镜)和数字全息技术<sup>[2]</sup>. 采用数字全息与显微术相结合的方法是观察、研究细胞相位信息的新方法, 具有很高的分辨率, 能得到一般显微镜无法得到的细胞三维形貌结构.

本文旨在从理论上分析欠采样出现的原因, 给出对其中欠采样全息图复原、利用的方法, 并将研究结果应用到显微数字全息中.

## 1 显微数字全息测量系统

图 1 是我们设计的测量系统. 考虑到生物组织一般透明度较高, 因此我们将光路设计为透射型的. He-Ne 激光束(波长  $\lambda = 632.8 \text{ nm}$ )经分束镜 BS<sub>1</sub> 后分成 2 束, 其中 1 束经反射镜 M 照射到样品上, 显微物镜(数值孔径为 0.25 NA)将透射光投射到光电耦合器 CCD 上; 另 1 束通过扩束透镜 BE 和针孔滤波器 h 后, 经准直透镜 L 变为平行光束,

\* 收稿日期: 2006-05-18

基金项目: 云南省自然科学基金资助项目(2002F0030M); 云南省教育厅科学研究基金资助项目(03Y225A).

作者简介: 李跃宏(1963-), 男, 硕士生, 主要从事激光与噪声的随机动力学性质方面的研究.

通讯作者: 梅冬成(1955-), 男, 博士, 博士生导师, 教授, 主要从事统计物理与激光方面的研究.

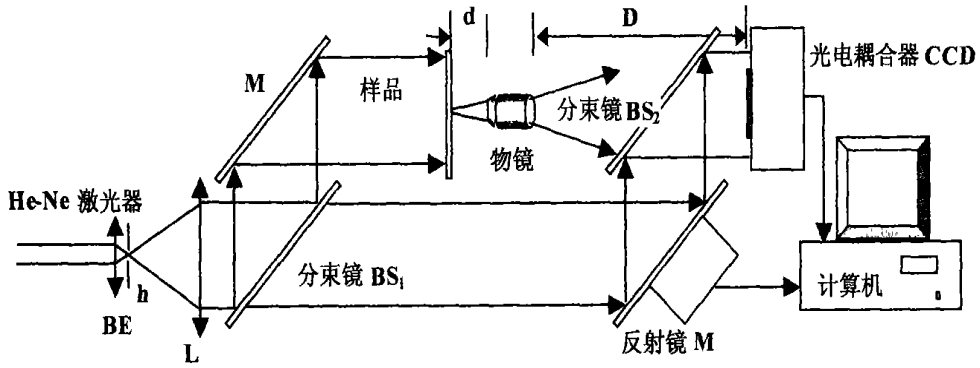


图 1 显微数字全息光路示意图

Fig. 1 Schematic of the microscopy digital holography

由压电陶瓷管驱动的反射镜 PZT M 和分束镜 BS<sub>2</sub> 反射到 CCD 上, 作为记录参考光. 转动 BS<sub>2</sub> 可以实现调整参考光与物光的夹角.

### 2 细胞相位重构原理

由图 1 可知, 可以通过相移器 PZT M 调节参考光的相位, 从而得到不同的细胞全息图. 全息图里只包含有细胞信息的光强度信息, 我们希望能从中得到细胞的相位信息. 本文中采用四步相移技术, 即每次改变  $\pi/2$  的相位, 得到 4 幅全息图, 再利用强度关系解出相位分布. 四步相移计算相位的原理<sup>[1]</sup>是: 设全息面 CCD 上的物光场和参考光场分别为  $U(x, y)$  和  $R(x, y)$ , 则记录的总光强  $I(x, y)$  为

$$I(x, y) = | R(x, y) + U(x, y) |^2 = a(x, y) + b(x, y) \cos \varphi(x, y), \quad (1)$$

其中:  $a(x, y) = | R(x, y) |^2 + | U(x, y) |^2$ ,  $b(x, y) = 2R(x, y)U(x, y)$ ,  $\varphi(x, y)$  是物光场和参考光场相位在  $(x, y)$  处的差值. 当采用四步相移法(参考光相位每次改变  $\pi/2$ ) 时, 相应地记录下的 4 幅全息图光强分别为:  $I_i(x, y), i = 1, 2, 3, 4$ .

物光场和参考光场相位在  $(x, y)$  处的差值  $\varphi(x, y)$  可以由下式给出

$$\varphi(x, y) = \arctan \left[ \frac{I_4 - I_2}{I_1 - I_3} \right]. \quad (2)$$

通过相位去包裹(相位展开)运算, 并采用离散泊松方程去包裹方法<sup>[3]</sup>, 可以得到物光场正确的相位.

### 3 全息图欠采样及复原方法

根据抽样定理(Nyquist 定理)的要求, 在一个

函数周期内抽样点不能低于 2 个, 否则将出现欠采样(混叠现象, 欠采样现象将恶化取样的图像<sup>[6-8]</sup>). 欠采样以附加频率分量的形式引入到采样后的图像中, 这些频率称为混频. 进一步的研究表明: 对于最低抽样率等于信号带宽 2 倍, 要视信号频谱的情况而定, 严格地说只有最低抽样率大于 2 时, 才能保证信号的无失真恢复.

事实上由于全息图的干涉条纹上还叠加有信号(振幅  $b(x, y)$  是变化的, 并不是简单的余弦函数, 其空间频率高于把干涉条纹视为标准的余弦变化关系表现出来的频率, 所以, 要能完全复原全息图, 在一个条纹周期内抽样点数必须达到不低于 4 个.

另一方面, 在计算相位时要用到正切函数, 正切函数的周期为  $\pi$ , 而余弦函数的周期为  $2\pi$ , 即正切函数的变化频率是余弦函数变化频率的 2 倍, 所以, 要能完全从全息图复原相位, 在一个条纹周期内抽样点数必须达到不低于 8 个.

于是, 如果在全息图中 1 个条纹周期内的抽样点数等于或低于 2 个, 全息图是无法复原的, 这种情形称为欠采样; 而如果在全息图中一个条纹周期内的抽样点数达到 4 个, 全息图是可以复原的, 但复原相位却仍不能直接实现, 这种情形称为“伪”欠采样. 本文的目的就是要通过寻找适当的数学处理方法, 从伪欠采样全息图中复原相位.

注意到对于伪欠采样全息图, 全息图是可以复原的, 只是复原相位不能直接实现, 其原因在于正切函数的频率是余弦函数频率的 2 倍, 这完全是由数学上的差异导致的, 我们可以用对全息图插值的方法, 将全息图 1 个条纹周期内的抽样点数从 4 个

增加到 8 个,既不改变全息图本身,又可以使相位运算得以进行.为保证插值的精度,在本文后面的运算中选用常用的立方插值法.

#### 4 实验结果及分析

以中学生物实验中用作显微镜观察的普通洋葱切片作为测试样品.显微镜物镜的放大倍数为 25 倍(数值孔径为 0.25 NA).CCD 的像素为  $512 \times 512$ ,有效记录尺寸为  $5.12 \text{ mm} \times 5.12 \text{ mm}$ ,视场大小为  $0.135 \text{ mm} \times 0.135 \text{ mm}$ .

图 2 是用我们的实验装置记录的洋葱鳞叶细胞实像(图 2A 和 1 幅全息图中的一部分(图 2B (原图尺寸的 1/4,图中左侧是上层细胞的细胞核,右侧是下层细胞的细胞核,由于显微镜在成像过程中,在像面上叠加有一个球面波,当用平行光作

为参考光记录全息图时,在全息图的边缘(图 2B 中右侧部分)形成空间频率很高的干涉图,导致这部分数字全息图由于采样不够而出现欠采样.

图 3 是直接记录的全息图计算得到相位包裹图(图 3A)和去包裹相位图(重构相位图(图 3B).从图 3A 中容易看出有明显的混叠现象,因而重构相位图中的一部分(图 3B 的右侧)完全失败,下层细胞的细胞核相位无法解出.

对此全息图进行分析,发现全息图右侧每条干涉条纹只有 4 个采样点,即为伪欠采样全息图,按前面的讨论,在每对采样点间用立方插值法新插入 3 个数据点,使每条干涉条纹的数据点达到 24 个点,使求解相位成为可能.图 4 给出的是全息图第 128 行第 229~256 列的插值前后的数据点分布情况.

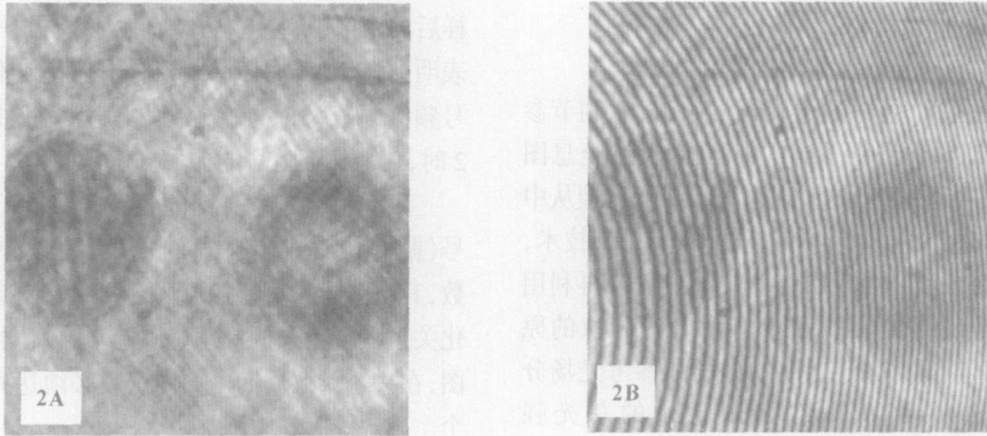


图 2 洋葱细胞的实像(2A)和全息图(2B),图像大小为  $0.068 \text{ mm} \times 0.068 \text{ mm}$ ( $256 \times 256$  像素)

Fig. 2 Image of onionskin cell (2A real image; (2B hologram. The image area is  $0.068 \text{ mm} \times 0.068 \text{ mm}$ ( $256 \times 256$  pixels

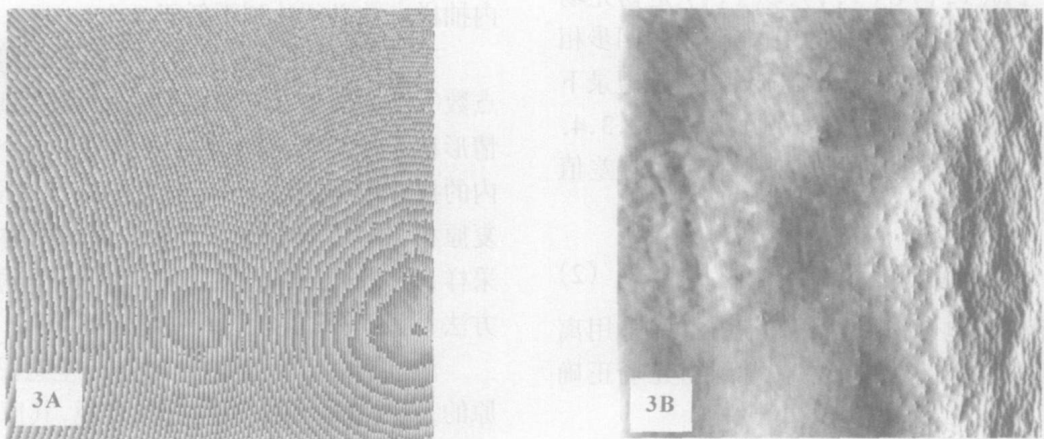


图 3 直接用记录的全息图计算得到细胞相位包裹图(3A)和去包裹相位图(3B)

Fig. 3 Phase of cell, using experimental holograms(3A wrapped phase; (3B unwrapped phase

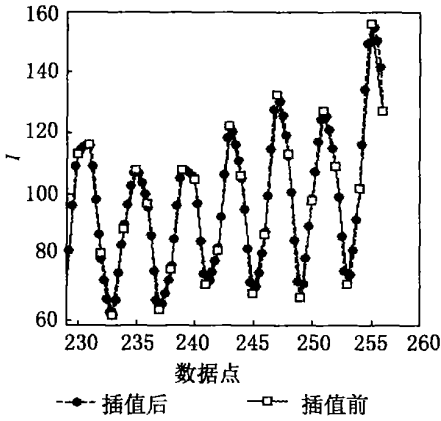


图 4 插值前后的数据点分布

Fig. 4 Distribution of samples before and after interpolation

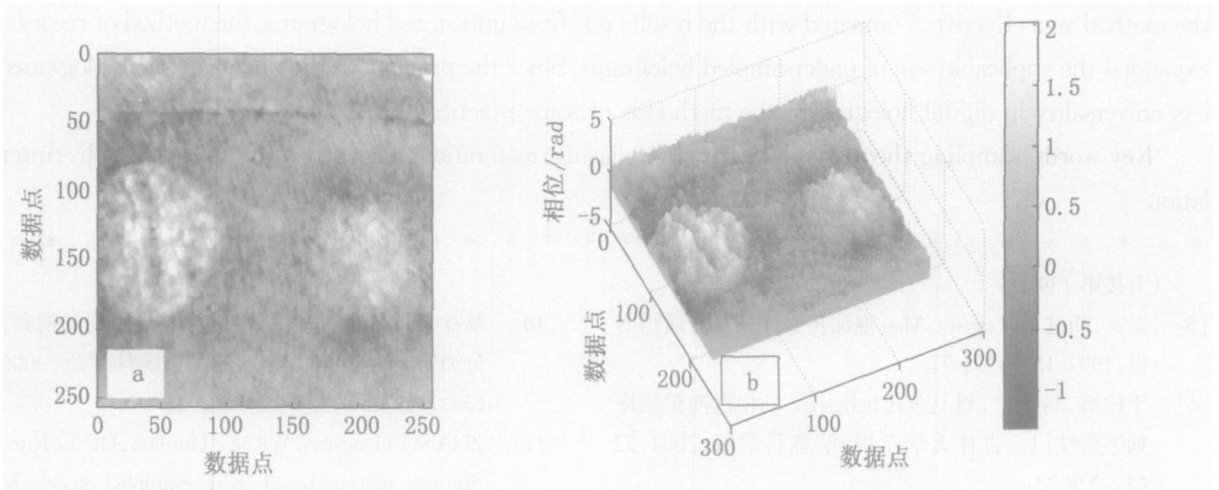


图 5 用插值后的全息图计算得到细胞相位去包裹图(5A)和去包裹相位图的 3D 显示(5B)

Fig. 5 Phase of cell, using holograms after interpolation(5A 2D figure; (5B 3D figure. (256× 256 pixels

### 5 结论

数字全息图受 CCD 分辨率的限制, 常存在欠采样问题. 我们从理论上分析了欠采样出现的原因, 对欠采样全息图进行了分类, 给出了对其中伪欠采样全息图复原、利用的方法, 并将其应用到显微数字全息中, 得到了比较理想的细胞三维形貌, 结果证明用插值的方法可以对全息图进行复原, 并能正确求出相位. 与不进行复原全息图计算的结果相比较, 可以将原来全息图中不能顺利计算相位的部分利用起来, 扩展了全息图的利用范围, 实验表明我们的理论分析是正确的, 所用方法是有效的. 由于数字全息中欠采样问题的普遍性, 这一方法具有实际的意义.

### 参考文献:

- [1] YAMAGUCHI I, ZHANG T. Phase - shifting digital holography[J]. Opt Lett, 1997, 22(16) : 1 268-1 270.
- [2] ZHANG T, YAMAGUCHI I. Three- dimensional microscopy with phase- shifting digital holography [ J]. Opt Lett, 1998, 23(15) : 1 222.
- [3] PRITT M D, SHIPMAN J. Least- squares two- dimensional phase unwrapping using FFT' s [ J]. IEEE trans on GRS, 1994, 32(3) : 706-708.
- [4] 钟丽云, 张以谟. 数字全息中的一些基本问题分析 [ J]. 光学学报, 2004, 24( 4) : 570-574.
- [5] 吕晓旭, 钟丽云. 全息相移技术用于物体的三维面形测量[ J]. 激光技术. 2002, 26(1) : 51-52.
- [6] 袁操今, 钟丽云. 预放大相移无透镜傅里叶变换显微数字全息术的研究[J]. 激光杂志, 2004, 25(6) : 51-53.

- [7] 蔡晓鸥, 王辉. 数字全息图变频采样研究[J]. 光子学报, 2004, 33(4): 522-526.
- [8] 范琦, 赵建林. 改善数字全息显微术分辨率的几种方法[J]. 光电子·激光. 2005, 16(2): 226-230.

## The restoration and utilization of undersampled holograms in microscopy digital holography

LI Yue-hong<sup>1</sup>, QIAN Xiao-fan<sup>2</sup>, MEI Dong-cheng<sup>1</sup>, BI Jing-hui<sup>2</sup>

(1. Department of Physics, Yunnan University, Kunming 650091, China;

2. The Faculty of Science, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650093, China

**Abstract:** Since the recordation of digital holograms limited by the resolution of CCD, the obtained holograms are undersampled. The cause of this problem are analyzed and the method of recordation and utilization of the undersampled holograms is presented. With this method adopted in the experimental data processing of microscopy digital holography, a relatively perfect phase of onion skin cell could be obtained. And it proved that the method was effective. Compared with the results got from unrestored holograms, the method of recordation expanded the applicable size of undersampled holograms. Since the problem of the undersampled holograms exists universality in digital holography, the method is of some practicality.

**Key words:** sampling theorem; undersampled; aliasing; restoration; microscopy digital holography; interpolation

\* \* \* \* \*

(上接第 139 页)

- [5] 王亥, 胡健栋. Logistic-Map 混沌扩频序列[J]. 通信学报, 1997, 18(8): 71-77.
- [6] 于银辉, 马生忠, 刘卫东. Chebyshev 二相混沌扩频序列平衡性[J]. 吉林大学学报: 信息科学版, 2004, 22(3): 228-231.
- [7] 蔡国权, 宋国文, 于大鹏. Logistic 映射混沌扩频序列的性能分析[J]. 通信学报, 2000, 21(1): 60-63.
- [8] 朱志良, 吴艳芹, 刘向东, 等. 中间多比特量化混沌扩频序列及其性能分析[J]. 东北大学学报: 自然科学版, 2002, 23(8): 733-736.
- [9] 孙云山, 赵东风, 余江, 等. 混沌序列码实方法及应用. 电路与系统学报[J]. 2003, 8(3): 50-53.
- [10] 郜社荣, 赵东风, 丁洪伟. 基于混沌序列的视频流部分加密[J]. 云南大学学报: 自然科学版, 2006, 28(3): 211-215.
- [11] ZHANG Hong-tao, WANG Hui-yun, DING Run-tao. Security analysis based on oversampled chaotic binary sequences [J]. Transactions of Tianjin University, 2001, 7(2): 123-126.
- [12] 吴祥兴, 陈忠. 混沌学导论[M]. 上海: 上海科学技术文献出版社, 2001.
- [13] 吕金虎, 陆君安, 陈士华. 混沌时间序列分析及其应用[M]. 武汉: 武汉大学出版社, 2002.

## The performance analysis of the chaotic sequence about enlarged logistic

SUN Xian, ZHAO Dong-feng, DING Hong-wei

(Department of Communication Engineering, Yunnan University, Kunming 650091, China)

**Abstract:** With the research of the reconstructed logistic-map, the region of reconstructed chaotic sequences enlarge. It is true that the sequences have good chaotic properties by researching the reconstructed chaotic sequences of the double-periods forks characteristic, ergodic characteristic, phase dimensional characteristic, Lyapunov exponent and Feigenbaum constant.

**Key words:** chaotic sequences; Lyapunov exponents; the 1st Feigenbaum constants