



光学显微集成成像三维图像快速获取技术

戴志华, 王金刚, 赵星, 杨勇, 步敬, 袁小聪*

南开大学现代光学研究所, 光电信息技术教育部重点实验室, 天津 300071

* E-mail: xcyuan@nankai.edu.cn

收稿日期: 2010-12-17; 接受日期: 2011-03-28

国家重点基础研究发展计划(“973”计划)(批准号: 2010CB327702)资助项目

摘要 介绍一种新颖的光学显微集成成像三维信息获取技术. 实验证明该技术相对于其他三维显微技术具有结构简单无需相干光源、能实时获取样品的三维表面结构等特点. 该技术对光学显微成像及其三维显示具有广泛的应用前景.

关键词

光学设计

显微

集成成像

三维信息获取

1 引言

人类对外界信息的获取 80% 以上来自于眼睛, 三维视觉信息获取对人类认知外部世界具有重要意义. 显微镜的发明引导人们进入微观世界, 向人类开启了获取微观视觉信息的大门. 随着时代的进步, 人们对信息的要求不断提高, 客观世界是三维的, 寻常的二维图像渐渐不再满足人们对信息的需求, 因此对物体的三维观察与显示也不断被人们所追求. 由于显微镜的光路结构限制, 它只能观看样品的二维信息, 对微观样品的三维观察从显微镜的发明开始就不断为科学家们所重视. 另外, 实时观察对样品的识别及观察过程变化具有重要意义. 目前观察和探测微观三维信息的方法主要如下.

体视显微镜, 其基本原理是通过光路设计, 把对样品 2 个视角的像分别通过 2 个目镜传送给两只眼睛接收通过引起双目视差产生立体效果. 虽然可以观察样品的三维信息, 但是由于结构复杂分辨率不是很高, 而且只可以观察样品固定的一对视角, 只能提

供单人通过目镜观察, 不能产生三维计算机图像模型, 长时间观看容易产生视觉疲劳.

全息显微术(holomicrography)能逼真地记录样品, 能够记录样品的光波振幅和位相的全部信息, 并获得与原物完全相同的立体像. 但是它需要相干光源, 并且显示的颜色有限, 全息需要的环境较为苛刻, 这些都限制了它的应用范围, 更不能实现对样品实时观察.

基于干涉的显微技术^[1]能够准确地探测样品表面的三维结构, 主要应用于样品表面无损探伤. 精度高, 但是扫描的范围较小, 并且仪器价格昂贵不适用于观察普通物体表面结构的场合.

基于光学切片的三维显微技术^[2], 把样品分为若干光学断层, 并逐层扫描获得不同断面所成的像, 不同层的切片之间存在纵深分辨率. 但是每一幅焦面图像除了含有焦面上的信息外还包含其他离焦面的信息, 获得的图像存在不同程度的模糊, 也就是所谓的图像退化. 虽然有很多算法可以复原样品的三维场景, 但是都不能很好地同时实现速度快和好的信噪比. 且扫描也需要时间, 不能实时地观察样品.

本文介绍一种基于集成成像原理的三维显微信息获取技术, 在显微镜的物镜成像面上放置微透镜阵列, 通过微透镜阵列的多视角成像原理^[3], 可以获得样品的表面三维结构. 具有结构简单无需相干光源, 可以一次拍摄得到物镜视角范围内样品不同视角的像的优点. 并提出快速的周期性提取像素算法, 能够实现实时的样品信息三维观察. 和国外利用微透镜阵列进行三维信息获取的工作相比^[4, 5], 在保证分辨率前提下不同视角的图片获取速度快, 可实时观察样品的三维结构. 在样品观察及识别等方面有着广泛的应用前景.

2 集成成像原理

集成成像(integral imaging II)是 1908 年由法国科学家李普曼(Lippmann)提出的^[6], 它是利用二维微透镜阵列或者针孔阵列实现对三维物体记录和重现的技术. 它的基本原理包括三维物体记录和三维场景重现 2 个步骤.

三维图像的记录过程如图 1(a)所示, 三维物体的表面信息通过微透镜矩阵的光学特性进行采集, 并将采集到的图像以二维的形式记录在感光元件上. 因为不同的微透镜相对于物体位置上存在差异, 因此每个微透镜对物体成不同视角的像, 称为元素图像. 物体经微透镜阵列成像过程相当于物体被微透镜阵列进行光学编码并记录其表面信息的过程. 每个微透镜以一个视角对物体成像形成一个元素图像, 元素图像阵列包含物体经所有微透镜所成的像, 因此包含物体对所有微透镜所形成的不同视角的信息. 集成成像的重现过程是记录过程的逆过程, 如图 1(b)所示. 每个元素图像经与之对应的微透镜成像在空间上, 每个微透镜都把元素图像阵列同一物点的像

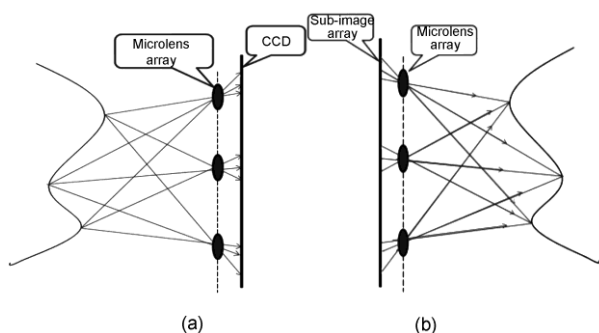


图 1 (a)集成成像记录过程; (b)集成成像重现过程

投射到空间同一位置上产生像点, 在空间就重现出原来的物点. 这个过程相当于用微透镜阵列对元素图像阵列进行解码, 还原原来的物空间. 观众观看时就像是观看真实存在于空间该处的三维物体一样. 能看到包含连续视差和全真色彩的图像, 具备物理景深. 被视为 21 世纪最有可能实现三维显示的技术之一^[7].

3 光学显微集成成像

集成成像在光学显微领域的应用, 可以得到微观样品的表面三维结构. 对传统光学显微镜进行改造, 通过在物镜的成像面上放置微透镜阵列, 如图 2 所示, 在微透镜后方物镜共轭面上用 CCD 接收, 可以得到样品的光场(light field)^[8], 它是同时表征空间中光线位置和角度的函数. 对于传统光学显微镜, 样品经物镜放大到目镜焦平面上, 经目镜再次放大后成像于无穷远供目视观察. 目镜只起到二次成像的作用, 方便眼睛直接观察. 由于显微镜的光路结构原因, 传统显微镜只能看到样品的正投影像, 它是缺乏立体感的平面图像. 然而在改造后的显微镜中, 样品被物镜放大后成像在微透镜阵列上, 被微透镜阵列二次成像, 形成子图像阵列. 不同方向的光线成像在后方不同位置的 CCD 像素上, 即 CCD 上每个子图像不同位置的像素记录了样品不同视角所成的像. 该方法与常规集成成像的区别在于, 对常规集成成像而言, 每个微透镜都对物体的整体成像并形成元素图像, 每个元素图像记录的是物体的整体, 不同的元素图像记录着不同视角对物体所成的像. 然而在我们的设计中, 每个微透镜只对样品的部分成像形成子图像, 每个子图像中不同位置的像素代表对样品对应部分不同视角所成的像. 所有的子图像构成

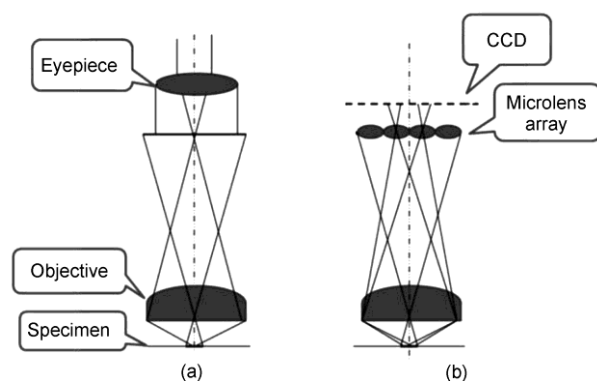


图 2 传统显微镜(a)与实验光路图(b)对比

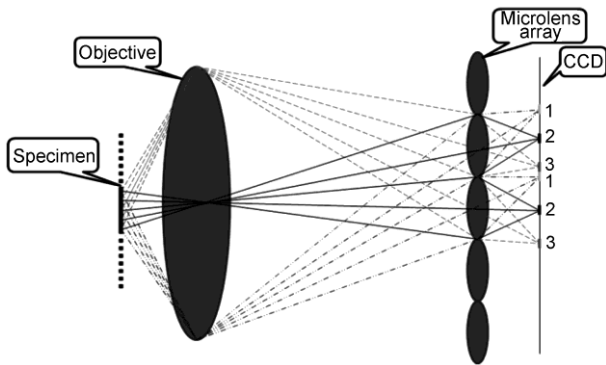


图3 透镜阵列的多视角成像原理

一幅完整的样品像。这个区别是由微透镜阵列和物体的距离或者说是物体对透镜阵列的张角决定的：物体离微透镜远，每个微透镜对样品的整体成像形成元素图像，物体离微透镜近，每个微透镜只能对样品的部分成像，形成子图像。

本文开展的工作是通过微透镜阵列对样品进行记录，然后用计算机对记录的子图像阵列进行处理还原其三维表面结构。对获得的子图像阵列进行处理，需要知道微透镜阵列对样品所进行的编码方式，然后使用对应的计算机解码方式还原其三维信息。如图3所示，物体经过物镜和微透镜进行成像，微透镜置于物镜的成像面上，样品上不同方向发出的光线（实线、虚线和虚实线）被记录到微透镜后方不同位置的像素上（1, 2 和 3 号点）。因此只要提取每个子图像上相同位置的像素（比如所有的1号点）合成一幅图像就构成对样品一个视角所成的像。提取每个子图像上另一位置的像素（所有的2号点）合成的图像就是对样品另一视角所成的像。由于每个微透镜都是大小相同且平行排列的，因此只要周期性地提取像素就可以实现不同视角图像的获取。这种周期性像素提取方法无需复杂的图像渲染，具有程序简单和运行速度快的特点，可根据需要周期性提取不同位置像素合成不同视角的图像，实现不同视角显微图像的实时切换，即三维信息的实时观看。此外，该方法结构简单，无需相干光源。

4 理论计算

4.1 分辨率

在本设计中，分辨率 R_{spe} （最终在计算机上能分

辨的样品上最小的点）由微透镜尺寸大小和物镜的放大倍率共同决定，即

$$R_{\text{spe}} = \frac{D}{M},$$

其中， D 为微透镜的孔径， M 为所选的物镜的放大倍率。

其角分辨率 R_{ang} 为最终能分辨的相邻两幅图片之间的视角差异。能分辨的最大角度范围为物镜的孔径角 θ ，物镜的数值孔径为 $NA = n \times \sin \theta$ 。角分辨

率为 $R_{\text{ang}} = \frac{\theta}{N_s}$ 。其中 N_s 为每个微透镜上能分辨的点

的个数。采用瑞利判据，其值为 $N_s = \frac{D}{\frac{0.61 \lambda}{NA} \times M}$ 。

因此有

$$R_{\text{ang}} = \frac{M}{D} \times \frac{0.61 \times \lambda}{NA} \times \theta.$$

可以得到：

$$R_{\text{ang}} \times R_{\text{spe}} = \frac{0.61 \times \lambda}{NA} \times \theta.$$

由此发现，由于衍射的存在，最终得到的图片的分辨率和角分辨率是相互制约的。也就是说，为了得到角分辨率牺牲了分辨率。对于传统显微镜，不存在角分辨率，所以改造后的显微镜的分辨率比传统的显微镜的分辨率要低。

4.2 显微镜的景深

对显微镜，其景深为^[9]：

$$D = \frac{n \times \lambda}{NA^2} + \frac{n}{M \times NA} \times e.$$

第一项为衍射造成的物理景深。第二项为由于接收器（人眼或者 CCD）不是无限小而产生的几何景深。 e 为接收器能分辨的最小单元。

对于 10×0.25 物镜，当人眼通过目镜观察像时，不考虑人眼的调节作用。则此时可以看到的样品景深为（人眼可分辨的角度为 $2'$ ， e 相当于明视分辨距离时能分辨 0.15 mm 的点， λ 取 550 nm ），

$$D_1 = 65.9 \mu\text{m}.$$

用 CCD 在物镜的成像面上直接接收像得到的样品的景深为（ e 为像素大小，取 $4.3 \mu\text{m}$ ），

$$D_2 = 10.96 \mu\text{m}.$$

在物镜成像面上放置微透镜阵列，在微透镜后

表 1 对常用物镜在本实验中的分辨率和不同使用情况下的景深

Objectives	$R_{\text{spe}}(\mu\text{m})$	$D_1(\mu\text{m})$	$D_2(\mu\text{m})$	$D_3(\mu\text{m})$
4×/0.1	27.0	400.1	65.8	325.0
10×/0.25	10.8	65.9	10.96	52.0
40×/0.65	2.7	6.7	1.47	5.45
100×/1.25	1.08	2.05	0.4	1.55



图 4 实验装置

方物镜的像面上用 CCD 接收并通过周期提取像素处理得到的像的景深为(e 为微透镜大小, 在本实验中为 $108\ \mu\text{m}$)

$$D_3=52.0\ \mu\text{m}.$$

为了说明这些关系, 表 1 给出几个常用物镜在本实验中产生的分辨率和在不同使用情况下的景深.

以上数据表明, 虽然每个子图像只提取一个像素, 使得最终显示的每幅不同视角的图像相对于直接用 CCD 在物镜成像面上接收得到的图像分辨率有所下降. 但每个子图像中只需提取一个像素的算法, 又使得物镜成像端可分辨像点的等效尺寸(e)增大, 从而得到比用 CCD 直接接收所得图像更大的景深.

5 实验结果

我们搭建的系统是在一个传统的光学显微镜上改造而成. 装置如图 4 所示. 把显微镜的镜筒拆掉, 在物镜的成像面上放置微透镜阵列, 并在微透镜后方经一个成像镜头成像在 CCD 上接收. 选用的物镜的放大倍率为 10 倍, 数值孔径为 0.25. 微透镜的大小为 $108\ \mu\text{m}$, 焦距为 3 mm, 阵列大小为 100×100 个呈方形紧密排列. 对于这样的系统, 分辨率为 $R_{\text{spe}}=10.8\ \mu\text{m}$, 可分辨的角度范围为物镜光轴左右各

15° , 由于相机镜头的最大放大倍率为 0.33, 每个像素大小为 $4.3\ \mu\text{m}$, 因此调整相机镜头放大倍率为 0.314 ($108\times 0.314=4.3\times 8$). 因此每个子图像对应于 8×8 个像素, 即 $N_s=8$, 这样就得到角分辨率为 $R_{\text{ang}}=3.75^\circ$. 用本方法得到的实验结果如图 5 所示, 观察的样品是螺纹间距为 0.2 mm 的细小螺丝. 图 5(a)为没加微透镜阵列直接用 CCD 在物镜成像面上接收得到的图像, 图 5(b)为加了微透镜阵列后得到的子图像阵列. 图 5(c)为经过像素提取处理后得到的 $8\times 8=64$ 个不同视角的像. 由图 5(b)可以看出子图像阵列可以清楚地构成样品的像. 对于图 5(c), 由于相邻 2 个子图像之间只有 3.75° 的视角差异, 因此从静态的子图像阵列中不容易明显看出视角差异. 但若制作成实时的动态效果就容易观察到立体效果. 并且图像的分辨率下降不影响三维效果.

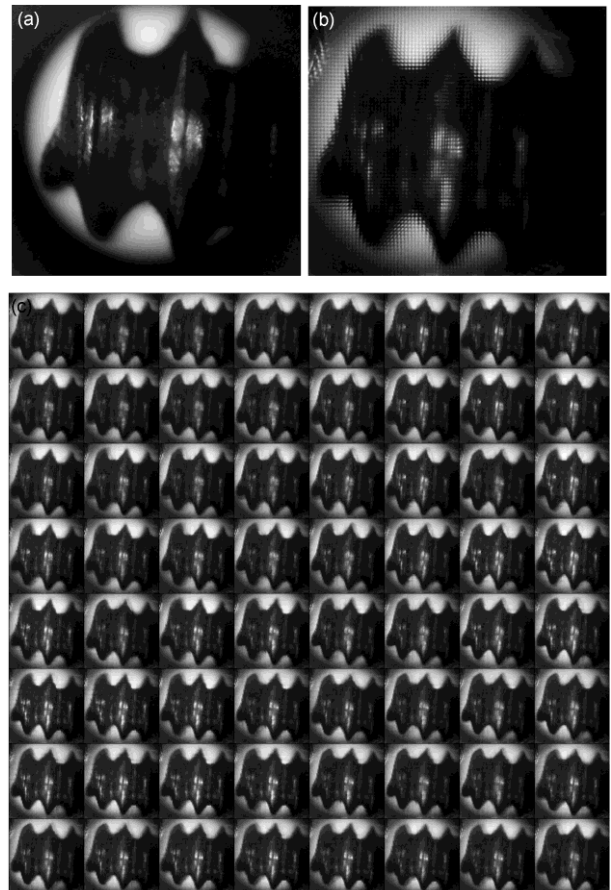


图 5 实验结果

(a) CCD 在物镜成像面上直接接收到的像; (b) CCD 在微透镜阵列后方得到的子图像阵列; (c) 处理后得到的对样品不同视角的像

6 总结

本文展示了基于集成成像原理的三维光学显微技术:对传统显微镜进行改造,在物镜成像面上放置微透镜阵列,在微透镜的物镜共轭面上用 CCD 接收可以获取样品的光场,得到子图像阵列.提出对子图

像阵列进行周期性像素提取处理,可以得到对样品不同视角所成的像.该系统结构简单,无需相干光源,且一次拍摄就能得到样品的光场,后续提取像素处理也快,可以实时地对样品表面三维结构进行计算机显示观察.

参考文献

- 1 Chim S S C, Kino G S. Mirau correlation microscope. *Appl Opt*, 1990, 29: 3775–3783
- 2 黄琳, 陶纯堪, 胡茂海. 激光共焦扫描显微镜中的图像复原方法. *光子学报*, 2007, 36: 642–644
- 3 Ng R, Levoy M, Bredif M, et al. Light Field Photography with a Hand-Held Plenoptic Camera. Stanford University Computer Science Tech Report CSTR, 2005
- 4 Levoy M, Ng R, Adams A, et al. Light field microscopy. *ACM Trans Graph (Proc SIGGRAPH)*, 2006, 25: 924–934
- 5 Tae Y, Park J H, Kwon K C, et al. Resolution-enhanced integral imaging microscopy that uses lens array shifting. *Opt Express*, 2009, 17: 19252–19263
- 6 Park J H, Hong K, Lee B. Recent progress in three-dimensional information processing based on integral imaging. *Appl Opt*, 2009, 48: H77–H94
- 7 王琼华, 王爱红. 三维立体显示综述. *计算机应用*, 2010, 30: 579–581
- 8 Levoy M, Hanrahan P. Light field rendering. In: *Proc ACM SIGGRAPH*, 1996. 31–42
- 9 郁道银, 谈恒英. 光学工程. 北京: 机械工业出版社, 2006. 67–73