# Трехцветная цифровая голографическая микроскопия на основе интерферометра Маха–Цендера и твердотельного RGB-лазера

А.И.Ляшенко, О.В.Польщикова, А.С.Мачихин, А.Г.Власова, В.Э.Пожар, А.Б.Козлов

Разработана установка для регистрации цветных цифровых голограмм на основе интерферометра Maxa–Цендера с импульсным твердотельным RGB-лазером, излучающим одновременно на трех длинах волн: 451, 532 и 634 нм, которые получаются при преобразовании излучения импульсного YAG: Nd<sup>3+</sup>-лазера (1064 нм), работающего в режиме внутрирезонаторной параметрической генерации излучения на длине волны 1570 нм, и при дальнейшем преобразовании его частот в красный, зеленый и синий спектральные диапазоны в нелинейных элементах из кристалла KTP. Сочетание такого трехволнового импульсного источника света с интерферометром Maxa–Цендера позволяет обеспечить одновременную регистрацию трех спектральных цифровых голограмм одним матричным RGB-приемником излучения. Трехцветная цифровая голография в импульсном режиме перспективна для анализа быстропротекающих процессов и быстроменяющихся цветных фазовых объектов.

Ключевые слова: трехцветная цифровая голография, параметрический генератор, трехцветный RGB-лазер.

### 1. Введение

Цифровая голографическая микроскопия (ЦГМ) основана на электронной регистрации интерференционной картины объектной и опорной волн и является современным широко используемым методом изучения биологических и технических объектов [1-3]. С помощью цифровой обработки интерферограмм возможно получение точных количественных данных как об амплитуде, так и о фазе объектной волны, отраженной от исследуемого объекта или прошедшей через него [4]. Это позволяет определять структуру и свойства объекта не только в поперечном сечении, но и в осевом направлении. В схеме «на отражение», которая используется при исследовании непрозрачных объектов, величина фазовой задержки вдоль оси характеризует топографию поверхности, а в схеме «на проход» фазовая задержка пропорциональна оптической длине пути световой волны, прошедшей через прозрачный объект. Последний вариант относится к методам количественной фазовой микроскопии, исследующей так называемые фазовые объекты. При этом в методах ЦГМ осе-

А.Б.Козлов. Научно-технологический центр уникального приборостроения РАН, Россия, 117342 Москва, ул. Бутлерова, 15; АО «НИИ "Полюс" им. М.Ф. Стельмаха», Россия, 117342 Москва, ул. Введенского, 3, корп. 1

Поступила в редакцию 18 февраля 2020 г., после доработки – 19 марта 2020 г.

вое разрешение может достигать субнанометрового уровня, тогда как для классического микроскопа оно составляет единицы микрометров [1].

В последние годы получила развитие трехцветная ЦГМ, отличающаяся тем, что регистрация цифровых голограмм и восстановление фазовых изображений проводятся на трех длинах волн в красной (R), зеленой (G) и синей (B) областях спектра. Это позволяет извлекать более детальную информацию об объекте: толщину и показатель преломления образца [3], спектральную зависимость фазовой задержки и, следовательно, показателя преломления, а также получать многоцветные амплитудные изображения [1] и увеличивать осевое разрешение [2].

Существует целый ряд подходов к решению задачи регистрации многоцветных цифровых голографических изображений [3,5-14]. Используемые методы требуют либо механического перемещения компонентов [1,6,7] (это накладывает ограничения на точность измерений), либо переключения или спектральной перестройки источников (при этом выполняемые измерения разнесены во времени), что ограничивает быстродействие методов и не позволяет работать с быстроменяющимися объектами. На чувствительность систем и их избирательность влияют и другие факторы. Поскольку фоновая засветка, вызванная паразитным рассеянием на элементах системы, пропорциональна спектральной ширине канала, то при использовании широкополосного излучения обеспечивается существенно более низкий контраст регистрируемой интерференционной картины, чем при использовании узкополосного. Это приводит к росту погрешности восстановления фазы, поэтому представляет интерес создание систем, обеспечивающих одновременную избирательную регистрацию нескольких узкополосных спектральных голографических изображений и не требующих механической спектральной перестройки.

В настоящей работе описана установка трехцветной ЦГМ, использующая созданный в Научно-технологическом центре уникального приборостроения РАН импульс-

**А.И.Ляшенко, О.В.Польщикова.** Научно-технологический центр уникального приборостроения РАН, Россия, 117342 Москва, ул. Бутлерова, 15

А.С.Мачихин, А.Г.Власова. Научно-технологический центр уникального приборостроения РАН, Россия, 117342 Москва, ул. Бутлерова, 15; Национальный исследовательский университет «МЭИ», Россия, 111250 Москва, Красноказарменная ул., 14

**В.Э.Пожар.** Научно-технологический центр уникального приборостроения РАН, Россия, 117342 Москва, ул. Бутлерова, 15; Московский государственный технический университет им. Н.Э.Баумана (национальный исследовательский университет), Россия, 105005 Москва, 2-я Бауманская ул., 5, стр. 1; e-mail: v\_pozhar@rambler.ru

ный RGB-лазер, который излучает одновременно на длинах волн 451, 532 и 634 нм, соответствующих максимумам квантовой эффективности матричных приемников цветных видеокамер в красном, зелёном и синем диапазонах спектра. Системы ЦГМ на основе такого лазера свободны от описанных выше недостатков.

## 2. Трехцветный RGB-лазер

Трехцветный RGB-лазер, генерирующий синхронно мощные моноимпульсы излучения с длительностью в наносекундном диапазоне, создан на основе импульсного YAG: Nd<sup>3+</sup>-лазера, в котором реализован режим электрооптической модуляции добротности резонатора с параметрическим генератором света (ПГС) на нелинейном элементе из кристалла КТР (КТіОРО<sub>4</sub>). Преобразование излучения неодимового лазера с  $\lambda_p = 1064$  нм в излучение на длине волны  $\lambda_s = 1570$  нм, безопасной для зрения, наиболее эффективно происходит при внутрирезонаторной параметрической генерации, когда резонатор ПГС помещен внутрь резонатора лазера [15–17]. Оптическая схема RGB-лазера представлена на рис.1.

Резонатор образован призмой-крышей *I* и выходным зеркалом 2, полностью отражающим излучение с λ<sub>p</sub> и частично пропускающим излучение на λ<sub>s</sub>. Вывод излучения с  $\lambda_{\rm p}$  может также осуществляться с помощью пластиныполяризатора 3. Активный элемент цилиндрической формы 4 из кристалла YAG: Nd<sup>3+</sup>, выращенного в направлении (100), ориентирован так, что кристаллографические оси Y и Z составляют углы ± 45° относительно плоскости пропускания поляризатора 3 (плоскости рис.1). Квантрон 5 содержит цилиндрический зеркальный отражатель 7, активный элемент 4 и лампу накачки 8. Между электрооптическим (ЭО) элементом из кристалла DKDP ( $KD_2PO_4$ ) 6 и активным элементом 4 установлен 90°-ный вращатель плоскости поляризации 9 из оптически активного кристаллического кварца, который обеспечивает частичную взаимную компенсацию наведенного двулучепреломления в активном и ЭО элементах. Использование в оптической схеме призмы-крыши 1 позволяет при указанной 45°-ной ориентации активного элемента к горизонтальной плоскости обеспечить более равномерное распределение коэффициента усиления в его поперечном сечении [16]. Резонатор ПГС на основе нелинейного элемента 10 из кристалла КТР х-среза образован зеркалом 2 и параметрическим зеркалом 11, полностью отражающим излучение на  $\lambda_s$  и максимально прозрачным для излучения с  $\lambda_p$ . Между активным элементом 4 и поляризатором 3 расположены положительная линза 12 и два зеркала 13 и 14. Расположение ЭО элемента 6 и поляризатора 3 в резонаторе по



Рис.1. Оптическая схема RGB-лазера (обозначения см. в тексте).

разные стороны от активного элемента 4 позволило реализовать в этом устройстве три различных режима работы: лазера с «ЭО зеркалом» ( $\lambda_p$ ), «безопасного для зрения» лазера ( $\lambda_s$ ) и двухчастотного лазера ( $\lambda_p$  и  $\lambda_s$ ).

Модуляция добротности лазера с «ЭО зеркалом» осуществляется с помощью изменения его коэффициента отражения. В процессе накопления инверсной населенности в активном элементе 4 «ЭО зеркало», образованное призмой-крышей 1, ЭО элементом 6 и поляризатором 3, имеет низкий коэффициент отражения  $R_{eo}$ , что обеспечивается начальной разъюстировкой оси Z элемента 6 на небольшие (2–3°) углы относительно оси резонатора (см. [16], формулы (1) и (2)). При этом начальная величина коэффициента  $R_{eo}$  обеспечивает выполнение следующего условия:

$$K_{\rm max} = K_{\rm th},\tag{1}$$

где K<sub>max</sub> – максимальный в течение импульса накачки коэффициент усиления в активном элементе, а  $K_{\rm th}$  – пороговый коэффициент, обусловленный потерями в резонаторе. После достижения максимального значения коэффициента усиления  $K_{\rm max}$  (за время  $\Delta t_{\rm opt} \approx 20$  мкс) характеристики «ЭО зеркала» приближаются к оптимальному значению, что приводит к формированию в резонаторе моноимпульса излучения с $\lambda_{\rm p},$ который выводится из резонатора через поляризатор 3. Характеристики резонатора ПГС подобраны так, чтобы мощность этого импульса была достаточна для генерации импульса излучения на  $\lambda_s$ . Рабочие характеристики лазера обеспечиваются за счет установки линзы 12, концентрирующей излучение с  $\lambda_p$  в резонаторе ПГС, использования нелинейно-оптического элемента 10 достаточно большой длины (4 × 4 × 16 мм) и оптимального выбора коэффициента отражения зеркала 2 на длине волны  $\lambda_s$ .

Оптимизация коэффициента отражения  $R_{eo}$  в лазере с «ЭО зеркалом» осуществляется путем подачи на электроды ЭО элемента 6 импульса высоковольтного напряжения с амплитудой  $U_{opt} \approx 2$  кВ и позволяет максимизировать энергию моноимпульсов излучения с  $\lambda_p$ , поступающих в выходной каскад RGB-лазера при отражении от поляризатора 3.

Генерация излучения на сигнальной длине волны  $\lambda_s$  возникает при подаче на электроды элемента *6* импульса напряжения с амплитудой  $U \approx 5$  кВ, причем максимум энергии импульсов достигается при

$$U_0 = (4n_0 d/\lambda_p)(n_0^2/n_e^2 - 1)\psi\theta U_{\lambda/4},$$
(2)

где  $n_0, n_e$  – показатели преломления обыкновенной и необыкновенной волн соответственно; d – длина ЭО элемента;  $\psi, \theta$  – углы разъюстировки его оси Z относительно оси резонатора;  $U_{\lambda/4}$  – четвертьволновое управляющее напряжение [16].

При подаче на электроды элемента 6 импульса напряжения с промежуточной амплитудой  $U(U_{opt} < U < U_0)$  реализуется двухчастотный лазер с излучением на  $\lambda_p$ , отражающимся от поляризатора 3, и с излучением на  $\lambda_s$ , выходящим из зеркала 2. Выходящие лазерные пучки на  $\lambda_s$  и  $\lambda_p$ сводятся вместе при помощи системы зеркал 15, 16 и поляризатора 17 (см. рис.1). Увеличение энергии импульсов на этих длинах волн осуществляется путем повышения энергии импульсов лампы накачки. При этом лазер переходит в режим включения добротности резонатора после окончания свободной генерации [18]. При выполнении перечисленных выше условий, а именно: достижения порога (1), задержки момента включения добротности резонатора на время  $\Delta t_{opt}$  и возбуждения ПГС подачей напряжения  $U \approx U_0$  – вероятность разрушения диэлектрических зеркал и торцов нелинейного элемента ПГС, а также других оптических компонентов резонатора становится минимальной.

В выходном каскаде RGB-лазера в нелинейно-оптическом элементе *18* (КТР,  $\theta = 53^\circ$ ,  $\varphi = 0^\circ$ ) происходит генерация излучения суммарной частоты  $1/\lambda_{\rm R} = 1/\lambda_{\rm p} + 1/\lambda_{\rm s}$ , попадающей в красную часть спектра ( $\lambda_{\rm R} = 634$  нм), а в следующем элементе *19* (КТР,  $\theta = 70^\circ$ ,  $\varphi = 30^\circ$ ) осуществляется генерация еще одной суммарной частоты  $1/\lambda_{\rm B} = 1/\lambda_{\rm s} + 1/\lambda_{\rm R}$ , попадающей уже в синюю часть спектра ( $\lambda_{\rm B} = 451$  нм). Остаточное излучение с длиной волны  $\lambda_{\rm p}$  преобразуется в элементе *20* (КТР,  $\theta = 90^\circ$ ,  $\varphi = 23^\circ$ ) в зеленое излучение второй гармоники ( $\lambda_{\rm G} = 532$  нм) [17]. Плавной регулировкой напряжения *U* в указанном выше диапазоне можно добиться однородного смешения трех цветов, дающих в сумме белый цвет. На выходе RGB-лазера установлено зеркало *21*, отрезающее ИК излучение.

Результаты независимых испытаний YAG : Nd<sup>3+</sup>-лазера с ЭО элементом из DKDP и с нелинейным элементом из КТР подтверждают эффективность разработанной схемы. При энергии импульса накачки 10 Дж максимальные энергии импульсов излучения с $\lambda_p = 1064$  нм и $\lambda_s = 1570$  нм составляют 80 и 30 мДж соответственно при частоте следования до 100 Гц. При этом энергии импульсов излучения на длинах волн 634, 451 и 532 нм составляют 5, 2 и 7 мДж соответственно.

В настоящей работе в экспериментах мы использовали существенно менее мощный RGB-лазер, работающий с частотой следования импульсов 20 Гц. Его основные характеристики и параметры моноимпульсов излучения представлены в табл.1.

Табл.1. Характеристики и параметры моноимпульсов излучения RGB-лазера.

	Централь-	Ширина	Длительность	Средняя	Энергия
Канал	ная длина волны (нм)	спектра (нм)	импульса (нс)	мощность (мВт)	импульса (мДж)
R	634	0.08	4	0.6	0.024
G	532	0.03	10	0.9	0.036
В	451	0.02	8	0.2	0.008

# 3. Установка для трехцветной цифровой голографической микроскопии

Для демонстрации эффективности применения разработанного RGB-лазера в трехцветной ЦГМ была собрана установка на основе классического интерферометра Маха–Цендера (рис.2), в которой использовалась цветная видеокамера с глобальным затвором The Imaging Source DFM 42BUC03-ML на базе матрицы с числом пикселей 1280 × 960 размером 3.75 × 3.75 мкм каждый.

Излучение RGB-лазера направляется на вход интерферометра и делится светоделителем CД1 на два пучка – объектный и опорный. Первый через конденсорную линзу Л1 освещает исследуемый объект О, изображение которого фокусируется на фотоприемник ПИ посредством микрообъектива МО и системы линз Л2–Л4. При прохождении через объект волна приобретает фазовую задер-



Рис.2. Схема (*a*) и внешний вид (*б*) установки для трехцветной цифровой голографии, использующей RGB-лазер: Φ – фильтр нейтральной плотности; СД1, СД2 – светоделители; 31–36 – плоские зеркала; Л1–Л4 – линзы; О – исследуемый обра-

зец; МО - микрообъектив; ПИ - приемник излучения.

жку  $\Delta \varphi \approx 2\pi n L/\lambda$ , пропорциональную толщине L и показателю преломления n образца. В опорном плече расположена система зеркал 33–36, позволяющая компенсировать разность хода в двух плечах интерферометра. Опорный и объектный пучки сводятся вместе под небольшим углом светоделителем СД2, а затем проходят через дополнительную увеличивающую систему, состоящую из линз Л3 и Л4, и интерферируют в плоскости матрицы видеокамеры. Для оптимальной (в соответствии с теоремой Котельникова) регистрации интерференционной картины угол между пучками на входе увеличивающей системы не должен превышать 1.8°.

Поскольку зеленая составляющая RGB-лазера имеет более высокую яркость, чем красная и синяя, то для ее ослабления использовался набор полосовых фильтров. Реализованная установка трехцветной ЦГМ, основанная на RGB-лазере, позволяет регистрировать одновременно три спектральные голограммы с использованием обычного трехцветного RGB-приемника излучения. Этот подход обеспечивает получение трехцветных данных за один импульс источника излучения при достаточно простой системе юстировки и высокой надежности.

### 4. Результаты экспериментов

Одновременная регистрация голограмм приемником излучения с установленным на нем фильтром Байера (цветной матрицей) позволяет получать интерференционные изображения на трех длинах волн. Однако перекрытие спектров чувствительности трех цветных (R, G, B) фильтров матрицы приводит к появлению перекрестных спектральных помех, поскольку голограмма, сформированная одной из монохроматических компонент источника, дает отклик во всех трех каналах регистрации. Для



Рис.3. Измерение топографии линзы Френеля в трехцветной ЦГМ. Цветные варианты рис.3 и рис.4 представлены на нашем сайте https://www.quantum-electron.ru.

коррекции зарегистрированных спектральных голограмм следует использовать матрицу коэффициентов чувствительности  $K_{\alpha\beta}$  [19]. Дальнейшая цифровая обработка голограмм включает следующие стадии: фильтрацию и центрирование –1-го порядка преобразования фурье-голограммы; обратное фурье-преобразование; вычисление распределения фазовой задержки; применение к каждому пикселю фазового изображения процедуры развертывания (сшивания) фазы [8]. В результате получают спектральную зависимость пространственного распределения величины фазовой задержки, вносимой исследуемым объектом.

С помощью разработанной установки были получены фазовые карты различных объектов. На рис.3 приведены результаты эксперимента, в котором в качестве тестового объекта использовалась линза Френеля, вытравленная в слое фоторезиста SU-8. Показаны зарегистрированное цветное интерференционное изображение объекта, разложение его на три спектральных канала и соответствующие им вычисленные фазовые карты.

Для тестирования установки были измерены характеристики линзы Френеля на атомно-силовом микроскопе и интерферометре белого света (рис.4). Измеренная глубина канавок линзы h составила 455 и 463 нм соответственно, что близко к значениям, полученным при использовании трехцветной ЦГМ:  $h_{\rm R} = 474$  нм,  $h_{\rm G} = 485$  нм и  $h_{\rm B} = 463$  нм, и свидетельствует о корректности проведенных измерений.



Рис.4. Результаты измерения характеристик линзы Френеля на атомно-силовом микроскопе (a) и на интерферометре белого света ( $\delta$ ).

#### 5. Заключение

Созданный RGB-лазер на основе импульсного YAG: Nd<sup>3+</sup>-лазера допускает регулировку соотношения интенсивности трех цветовых компонент излучения. Трехцветный режим генерации реализуется благодаря внутрирезонаторному параметрическому генератору света на кристалле KTP, а также трем внешним нелинейно-оптическим элементам из кристалла KTP, в которых осуществляется генерация суммарных частот и второй гармоники в красной (634 нм), зеленой (532 нм) и синей (451 нм) областях спектра.

Разработанная схема трехцветной ЦГМ с использованием такого лазера обеспечивает мгновенную (ограниченную быстродействием фотодетектора) и воспроизводимую регистрацию трех цветовых цифровых голограмм на длинах волн, попадающих на пики кривых чувствительности стандартных цветных видеокамер. Это позволяет без перестройки по спектру определять двумерное распределение фазовой задержки на трех длинах волн и, следовательно, показателя преломления или толщины объекта. Поэтому представленная установка трехцветной ЦГМ может быть эффективно использована для оперативного анализа структурных элементов изучаемых объектов, в том числе быстроменяющихся.

Работа выполнена с использованием оборудования Центра коллективного пользования Научно-технологического центра уникального приборостроения РАН.

- 1. Yamaguchi I., Matsumura T., Kato J. Opt. Lett., 27, 1108 (2002).
- Fu Y., Pedrini G., Hennelly B.M., Groves R.M., Osten W. Opt. Lasers Eng., 47, 552 (2009).

- Park Y., Yamauchi T., Choi W., Dasari R., Feld M.S. Opt. Lett., 34, 3668 (2009).
- 4. Вишняков Г.Н., Левин Г.Г., Минаев В.Л. Измерительная техника, 11, 34 (2015).
- Fu D., Choi W., Sung Y., Yaqoob Z., Dasari R.R., Feld M. Biomed. Opt. Express, 1, 347 (2010).
- Dubey V., Singh G., Singh V., Ahmad A., Mehta D.S. *Appl. Opt.*, 55, 2521 (2016).
- Kalenkov S.G., Kalenkov G.S., Shtanko A.E. J. Opt. Soc. Am. B, 4, B49 (2017).
- Machikhin A., Polschikova O., Ramazanova A., Pozhar V. J. Opt., 19, 075301 (2017).
- 9. Popescu G., Bhaduri B., Pham H. Патент US 8837045 B2, 16.09.2014.
- 10. Pham H., Bhaduri B., Ding H., Popescu G. Opt. Lett., 37, 3438 (2012).
- Mann C.J., Bingham P.R., Paquit V.C., Tobin K.W. Opt. Express, 16, 9753 (2008).
- 12. Desse J.M., Picart P., Tankam P. Meas. Sci. Technol., 22, 064005 (2011).
- 13. Toge H., Fujiwara H., Sato K. Proc. SPIE, 6912, 69120U (2008).
- 14. Desse J.-M., Picart P., Tankam P. Opt. Express, 16, 5471 (2008).
- Дмитриев В.Г., Тарасов Л.В. Прикладная нелинейная оптика (М.: Физматлит, 2004).
- 16. Ляшенко А.И., Павлович В.Л. Патент RU 2101817 C1, 10.01.1998.
- Алампиев М.В., Ляшенко А.И. В сб.: Труды Российского научнотехнического общества радиотехники, электроники и связи имени А.С.Попова. Сер. Акустооптические и радиолокационные методы измерений и обработки информации. Вып. Х (Москва, Суздаль, 2017, с.184).
- Алампиев М.В., Ляшенко А.И., Швом Е.М. Патент RU 2176839 C1, 12.01.2001.
- Machikhin A.S., Poschikova O.V., Vlasova A.G., Lyashenko A.I., Dmitriev I.V., Batshev V.I., Bulatov M.F., Pozhar V.E. *Opt. Lett.*, 44, 5025 (2019).