An improvement in the confocal microscopy using a fiber tip as the spatial filter

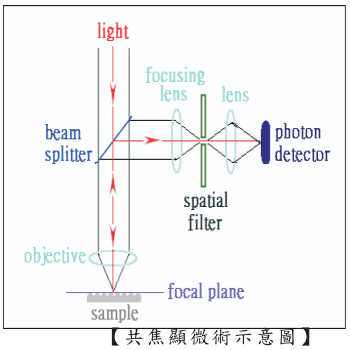
Fang-Wen Sheu [a,b] (許芳文), Pei-Ling Luo [a] (羅佩凌), Yung-Hui Shih [b] (施永暉),
Guo-Sheng Hung [a] (洪國盛), and Ya-Ting Chen [a] (陳雅婷)
[a]Department of Applied Physics, National Chiayi University, Chiayi, Taiwan
(國立嘉義大學應用物理學系)
[b]Institute of Optoelectronics and Solid State Electronics, National Chiayi University, Chiayi, Taiwan
(國立嘉義大學光電暨固態電子研究所)

摘要：共焦顯微術具有光學切片能力、高空間解析度，以及可結合螢光成像、光譜技術等共同運作。共焦顯微術已在生物醫學扮演不可或缺的角色，亦是許多光學實驗的基礎技術。本報告的重點在於自行架設一套共焦顯微系統，並改變空間濾波的方式以改善此系統的解析度。首先，以線性極化氦氖雷射光做為光源，用兩片凸透鏡做為光束擴束器，以10X物鏡做為光學聚焦元件，並利用極化分光器以及四分之一波板將入射光束與反射光束分離，最後經過空間濾波元件，再以光功率計來偵測通過之光訊號，並傳送至數位示波器作分析處理。我們分別以針孔和單模光纖兩種空間濾波方式來探討此系統之解析度並加以分析。最後以CD片為樣本作實際量測，可以得到規則性凹凸表面的資訊。此共焦顯微系統的架設，我們以經濟、實用、簡單的儀器或元件為考量重點，並對於系統之解析度做有效的改善。

* This project is financially sponsored by National Science Council (grand no. NSC 93-2112-M-415-004).

一、前言

『共焦』一辭源自於顯微鏡的物鏡焦點與聚焦透鏡焦點位置相互對稱，也就是照明點與探測點在光學成像上共軛，兩鏡的焦點同時落在觀察樣本的表面。共焦顯微鏡的偵測器前擁有空間濾波裝置，這使得它具備了傳統光學顯微鏡所沒有的光學切片能力。換句話說，利用空間濾波器來降低雜訊的強度，讓共焦顯微術可以取得在樣本表面上特定深度的反射光訊號強度，因此可以得到較佳的影像。離開聚焦平面的地方，所得的反射光訊號強度會衰減。愈遠衰減愈迅速。因為其反射光訊號會被偵測器前的空間濾波器濾除。

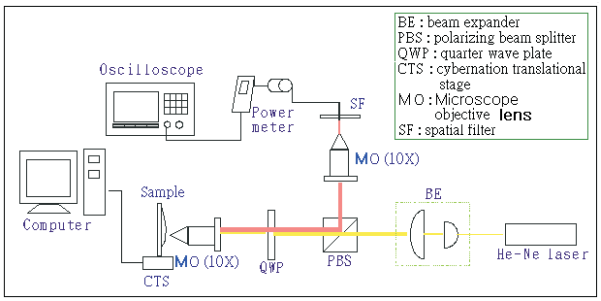


【共焦顯微術示意圖】

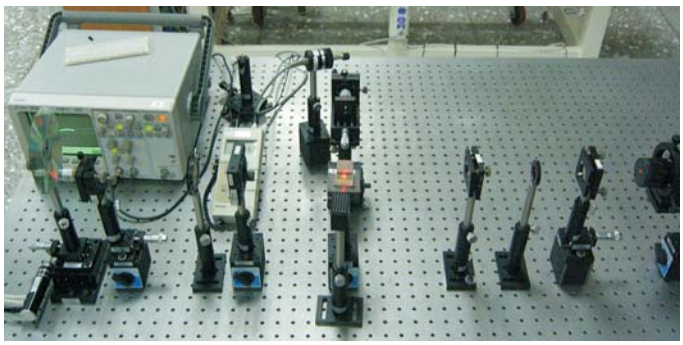
二、實驗系統介紹

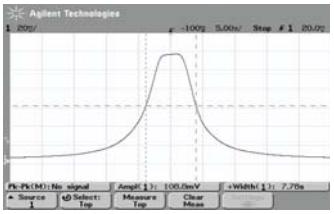
本實驗的光源為波長632.8 nm的線性極化氦氖雷射光，光束發出後會先經過光束擴束器（beam expander, Be）以產生較大的平行光束，之後，便射至極化分光器（polarizing beam splitter, PBS）以及四分之一波板（quarter wave plate, QWP）。由於極化分光器會使平行入射面的極化光（plane wave, P-wave）穿透，垂直入射面的極化光（surface wave, S-wave）反射，故我們旋轉雷射光，使線性極化的雷射光源其極化方向與P-wave方向平行，則雷射光可幾乎完全通過PBS，僅有少量光束反射。通過PBS後，再藉由QWP的作用將P-wave方向的線性極化光轉變為圓極化光。此時若以一平面反射鏡為樣本，則圓極化光經物鏡聚焦於平面鏡再反射通過QWP後，則圓極化光轉變為S-wave的線性極化光，當此線性極化的反射光再射至PBS時，幾乎所有光皆被PBS反射至空間濾波裝置（spatial filter, SF）前的物鏡（microscope objective lens），物鏡聚光後通過SF後再到達光功率計（power meter）。最後，光功率計連接數位示波器（oscilloscope），將反射光訊號強度轉成電訊號。

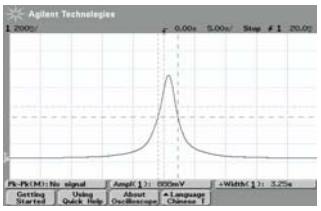
【共焦顯微術系統實體圖一】



【共焦顯微術系統架構圖】


【共焦顯微術系統實體圖二】

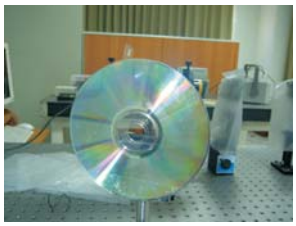

量測圖<A>
針孔濾波-共焦顯微系統之縱向反應曲線圖。

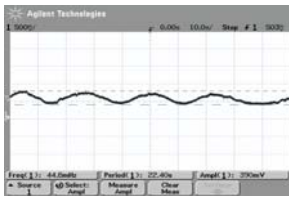

量測圖<B>
單模光纖濾波-共焦顯微系統之縱向反應曲線圖。

量測圖<A>在電腦掃描軟體中輸入數值40，以53.2<μm/s>掃描，量得針孔濾波-共焦顯微系統之縱向反應曲線圖，其半高全寬值(FWHM)為7.78S，因此可算得縱解析度約413.9<μm>。

量測圖<B>在電腦掃描軟體中輸入數值30，以24.21<μm>掃描，量得縱向反應曲線圖，其半高全寬值(FWHM)為2.25S，因此可算得縱解析度約172.9<μm>。

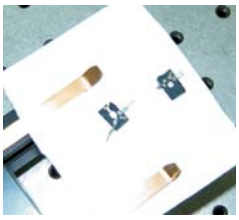
三、單模光纖濾波-共焦顯微系統之樣本量測以普通燒錄CD片為樣本

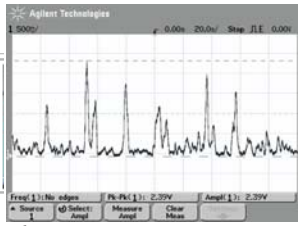



量測圖<C>

量測圖<C>
以普通燒錄CD片為樣本，在電腦掃描軟體中輸入數值40，以53.20<m/s>掃描100s所測得CD片底面波形的週期為22.40s，所以實際兩凹槽(或兩凸面)的間距為<1.19mm>。

四、以運算放大器(OP-741系列)為樣本




量測圖<D>

量測圖<D>
以運算放大器(OP-741系列)為樣本，主要掃描部位為運算放大器中的矽晶片，在電腦掃描軟體中輸入數值10，以4.46<m/s>掃描200s，可以得到凹凸面的訊息。

五、結論

本次研究中，以經濟、實用、簡單的儀器或元件為考量重點，架設一套共焦顯微系統，藉由改變空間濾波器成功地對系統之解析度做有效的改善。從原本使用針孔濾波器的共焦顯微系統之縱向解析度413.9<μm>，改換成單模光纖濾波器，將系統解析度改善成172.9<μm>。我們也使用單模光纖濾波-共焦顯微系統來做實際樣本(CD片、積體電路)的量測。

單模光纖濾波-共焦顯微系統為一種經濟且實用的顯微系統，我們除了可以利用此系統來做樣本量測，亦可以從架設此系統中，學習到光纖

六、參考文獻

1. 陳柏菁, 共焦顯微術系統之設計與裝置, 國立台灣大學電機工程研究所 碩士論文, Ch.2, pp.14-16, 2002.
2. 王義閔, 魏良安, 高甫仁, 共焦顯微鏡雜記, 物理雙月刊(二十三卷二期), pp. 330-333, 2001.
3. 范光照, 陳一斌, 宋欣明, 微3D表面形貌測量技術, "機械工業雜誌253期, pp.181-182, 2004.
4. 李超煌, 汪治平, 差動共焦顯微術及其應用, 物理雙月刊(二十卷五期), pp. 545-546, 1998.