生物组织中强度调制的连续激光激发的 光声信号影响因素研究

张雷洪1,2 马秀华3

1上海理工大学出版印刷与艺术设计学院,上海 200093

²堪萨斯大学机械工程学院,劳伦斯,堪萨斯 66045

³中国科学院上海光学精密机械研究所,上海 201800

摘要 分析了强度调制的连续激光激发的光声信号形成过程以及调制脉宽对光声信号强度的影响,发现随着调制 方波脉宽的增加,生物组织吸收的光功率增加,光声信号幅值增加。研究了调制脉宽对光声成像技术轴向分辨率 的影响,发现随着调制方波脉宽宽度的增加,光声信号的脉宽增加,其轴向分辨率变差。在理论研究的基础上进行 了实验验证,通过方波调制的激光二极管的出射激光激发生物组织获取声信号。在激光二极管出射光功率提高受 限的条件下,通过增加作用在生物组织上的光功率密度获取高分辨率、高信噪比的光声图像。对强度调制连续激 光激发的光声成像技术的研究能够为光声成像技术提供一种低成本、便携式的设备,为进一步研究提供参考。 关键词 激光光学;连续激光;强度调制;光声成像;脉宽;调制方波

中图分类号 R318.51 文献标识码 A **doi:** 10.3788/CIL201138.1104002

Study on Influential Factor of Photoacoustic Signal Excited by Intensity-Modulated Continuous-Wave Laser in Biological Tissue

Zhang Leihong^{1,2} Ma Xiuhua³

¹ College of Communication and Art Design, University of Shanghai for Science and Technology, Shanghai 200093, China

² Department of Mechanical Engineering, Kansas University, Kansas, Lawrence 66045, America ³ Shanghai Institute of Optics and Fine Mechanics, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201800, China

Abstract The forming process of the photoacoustic signal excited by the intensity-modulated continuous-wave laser and the effects of modulation pulse width on photoacoustic signal are researched. It is shown that the power absorbed by the biological tissue increases with the increase of the width of the modulated rectangular pulse and the amplitude of the photoacoustic signal. The effects on the axial resolution of the photoacoustic signal excited by the modulated rectangular pulse are also researched. It is shown that the width of the photoacoustic signal increases with the increase of the width of the modulated rectangular pulse, and the axial resolution of the photoacoustic imaging becomes worse. The modulated rectangular pulse of the continuous-wave laser (laser diode) is used to induce the acoustic signal. The laser power density is raised to obtain photoacoustic imaging with higher signal-to-noise ratio (SNR) and resolution when it is hard to raise the laser power. The research on the influential factor of photoacoustic signal excited by intensity-modulated continuous-wave laser in biological tissue can be used to provide a portable and lower cost instrument.

Key words laser optics; continuous-wave laser; intensity-modulated; photoacoustic imaging; pulse width; modulated rectangular pulse

OCIS codes 170.5120; 110.5125; 170.0110

收稿日期: 2011-07-11; 收到修改稿日期: 2011-08-13

基金项目:上海市085工程项目、上海市教委重点课程(1K-11-309-001)、上海理工大学核心课程(1K-00-309-007)和上海 理工大学博士启动费(1D-11-309-001)资助课题。

作者简介:张雷洪(1981-),博士,讲师,主要从事定量光声检测方面的研究。E-mail: zlh12345_2004@sina.com.cn

1 引 言

基于光声效应的光声成像技术利用脉冲激光照 射生物组织,生物组织吸收光能量后产生应力(或压 力)的变化,激发出声波,进而通过声探测器检测到 光声信号,反演出生物组织内部物质的光吸收特 性^[1~3]。光声成像技术具有比光学成像和声学成像 更高的空间分辨率和成像对比度,同时光声成像技 术具有对生物组织伤害小等特点,被广泛地应用于 动物组织和人体组织的无损成像中。

光声成像技术中使用的脉冲激光器产生的脉冲 激光具有单脉冲能量高、穿透深度大、产生的光声信 号信噪比高等优点,同时利用声信号到达时间先后 获得被测生物组织的轴向分辨率。但是脉冲激光器 体积大、成本高,波长选择范围有限。强度调制的连 续激光激发的光声成像技术,利用单频和线性调频 技术[4~12],获取调制的啁啾信号,来激发生物组织 进行光声成像。其采用的激光二极管具有成本低、 波长选择范围宽等优点。特别是激光二极管体积 小、能量消耗低,为手持式光声成像系统的临床使用 提供了可能性。目前基于强度调制的连续激光激发 的光声成像技术主要通过线性调频技术[4~11],通过 测量时域光声信号的相位和传播时间反演出生物组 织的光吸收特性。相关文献「4~12]对时域和频域 光声信号的误差、信噪比、强度以及成像精度等进行 了研究,并通过实验获取了高精度的光声图像。而 对于单频调制连续激光激发的光声成像技术的信号 特点、信号的影响因素以及成像特点还没有研究。 本文在对单频调制信号的特点以及强度调制的连续 激光激发的光声成像影响因素理论分析的基础上, 进行了实验验证。对连续激光激发的光声成像影响 因素开展研究,能够为光声成像技术提供一种低成 本、便携式的设备,为单频调制连续激光激发的光声 成像技术的进一步研究提供参考。

- 2 强度调制连续激光激发的光声信号 的影响因素
- 2.1 调制脉宽对光声信号强度的影响

传统的脉冲激光器脉宽较窄,为几纳秒,在极短的时间内,光能被生物组织吸收进而转化为热能,在 热弛豫时间内转换成声压。假设生物组织的吸收系 数为 μ_a ,在生物组织中传输 z 距离后的光能为 $F_0 \exp(-\mu_a z),则 z 处生物组织产生的声压为$

$$b_0(z) = \Gamma F_0 \mu_a \exp(-\mu_a z), \qquad (1)$$

式中 $\Gamma = \frac{c^2 \beta}{C_p}$ 为热能转换为声能的转换系数, β 为热 膨胀系数, C_p 为等压比热容,c为生物组织中的声 速。设z = ct,则生物组织中产生的声压信号为

$$b_0(t) = \frac{c^2 \beta}{C_p} F_0 \mu_a \exp(-\mu_a ct). \qquad (2)$$

基于强度调制的连续激光器产生的方波由于受调制 频率和调制方法的限制,调制方波脉宽 t_p 较宽,为 数百纳秒。进行研究分析时,将调制的宽方波分割 成一定数量的大小相同的子激光脉冲 τ (子脉冲的 宽度与脉冲激光器产生的脉冲相当)。这样每个分 割成的子脉冲 τ 产生的声信号如图 1 所示,由于子 脉冲产生的时间不同,产生的光声信号有一个脉宽 τ 的延迟。将各个时间的光声信号进行叠加,就可 以获取基于强度调制的连续激光激发的光声信号, 如图 2 所示。





Fig. 1 Profile of the photoacoustic signal excited by the pulse laser

当 0 《
$$t$$
 《 t_{p} 时:

$$p_{chirp}(t) = \int_{0}^{t} \frac{c^{2}\beta}{C_{p}} F_{0}\mu_{a} \exp(-\mu_{a}cT) dT = \frac{c^{2}\beta}{C_{p}} F_{0}\mu_{a} \frac{1 - \exp(-\mu_{a}ct)}{\mu_{a}c}, \qquad (3)$$

当 $t_p \leq t$ 时:

$$p_{\rm chirp}(t) = \int_{t-t_{\rm p}}^{t} \frac{c^2 \beta}{C_{\rm p}} F_0 \mu_{\rm a} \exp(-\mu_{\rm a} cT) dT = \frac{c^2 \beta}{C_{\rm p}} F_0 \mu_{\rm a} \exp[-\mu_{\rm a} c(t-t_{\rm p})] \frac{1-\exp(-\mu_{\rm a} ct_{\rm p})}{\mu_{\rm a} c}.$$
(4)

根据叠加的结果(如图 2 所示)和(3)、(4)式分 析可见:光声信号的最大值出现在连续激光调制方 波脉宽的 t_p 时刻。在 $0 \sim t_p$ 时间内,在激发方波的 作用下,生物组织吸收的能量成指数增加,产生的声 信号在 t_p 时刻达到最大值。在 $t_p \sim \infty$ 时间内,由于 生物组织对光能的吸收以及传输距离增加,光能被 衰减,产生的声信号成指数衰减。方波激发的声信 号最大值为



图 2 强度调制的连续激光激发的光声信号波形

Fig. 2 Profile of the photoacoustic signal excited by intensity-modulated continuous-wave laser

 $P_{\max}(t_{\rm p}) = \frac{c^2 \beta}{C_{\rm p}} F_0 \mu_{\rm a} \, \frac{1 - \exp(-\mu_{\rm a} c t_{\rm p})}{\mu_{\rm a} c}.$ (5)

假设 β =2×10⁻⁴ K⁻¹, C_p =4000 J/(kg•K), c= 1500 m/s, μ_a =1 cm⁻¹,则光声信号的最大值随着连 续激光调制脉宽 t_p 的增加而增加,如图 3 所示。

2.2 调制脉宽对光声信号轴向分辨率的影响

自由场条件下,光声场满足如下方程[13]:

$$\left(\nabla^{2} - \frac{1}{c^{2}} \frac{\partial^{2}}{\partial t^{2}}\right) p(r,t) = -\frac{\beta}{C_{p}} \frac{\partial H(r,t)}{\partial t}.$$
 (5)

Green 函数解的傅里叶变换为^[13]

$$\begin{split} \tilde{p}(r,\omega) &= \\ \frac{\mathrm{i}\omega\beta}{4\pi C_{\mathrm{p}}} \int_{V} \frac{\exp(\mathrm{i}k \mid r - r_{0} \mid)}{\mid r - r_{0} \mid} \widetilde{H}(r_{0},\omega) \mathrm{d}^{3}r_{0}, \quad (6) \\ \mathsf{若} r \gg r_{0}, \mathrm{M} \end{split}$$



图 3 强度调制的连续激光激发的光声信号的最大值 Fig. 3 Maximum of the photoacoustic signal excited by intensity-modulated continuous-wave laser

(6)、(7)式中

$$H(x_0, y_0, z_0, t) = \begin{cases} \chi \mu_a \exp\left[-\mu_a \left(\frac{a}{2} - z_0\right)\right] I(t), & -\frac{a}{2} \leqslant x_0, y_0, z_0 \leqslant \frac{a}{2}, \\ 0, & \text{otherwise} \end{cases}$$
(8)

为生物组织吸收的光能后产生的热能。 $k = -\frac{\omega}{c}, \chi$ 为光能转化为热能的转换系数。 F_0 为方波作用于生物组织的能量密度,方波功率为 $I(t) = \frac{F_0}{\tau} \operatorname{rect}\left(\frac{t}{T}\right)$,傅里叶变换为 $\tilde{I}(\omega) = \frac{F_0}{\sqrt{2\pi}}\operatorname{sinc}\left(\frac{\omega\tau}{2}\right)$,其中 $T = \frac{1}{f}$ 为方波频率的倒数。

设
$$\tilde{p}(r,\omega) = \tilde{p}(\omega), \mathbb{M}$$

 $\tilde{p}(\omega) = \frac{\beta \chi \mu_{a} c a^{2}}{4\pi z C_{p}} F_{0} \sin\left(\frac{\omega \tau}{2}\right) \frac{\omega}{(\omega - i\mu_{a}c) \frac{\omega \tau}{2}} \left\{ \exp\left[-i\omega\left(\frac{2z-a}{2c}\right)\right] - \exp(-\mu_{a}a) \exp\left[-i\omega\left(\frac{2z+a}{2c}\right)\right] \right\},$ (9)

$$p(t) = \frac{\beta \chi \mu_{a} ca^{2} F_{0}}{4\pi z \tau C_{p}} \Big[\exp(-\mu_{a} ct_{1}) u(t_{1}) - \exp(-\mu_{a} ct_{2}) u(t_{2}) - \exp(-\mu_{a} a) \exp(-\mu_{a} ct_{3}) u(t_{3}) + \exp(-\mu_{a} ct_{2}) u(t_{2}) \Big]$$

$$(10)$$

 $\exp(-\mu_{a}a)\exp(-\mu_{a}ct_{4})u(t_{4})],$ (10) $\vec{x} + t_{1} = t + \frac{\tau}{2} - \frac{2z - a}{2c}, t_{2} = t - \frac{\tau}{2} - \frac{2z - a}{2c}, t_{3} = t + \frac{\tau}{2} - \frac{2z + a}{2c}, t_{4} = t - \frac{\tau}{2} - \frac{2z + a}{2c}, \vec{x} = t - \frac{\tau}{2} - \frac{\tau}{2} - \frac{2z + a}{2c}, \vec{x} = t - \frac{\tau}{2} - \frac{\tau}{2} - \frac{2z + a}{2c}, \vec{x} = t - \frac{\tau}{2} - \frac{\tau}{2} - \frac{2z + a}{2c}, \vec{x} = t - \frac{\tau}{2} - \frac{\tau}$



图 4 声信号的求解示意图

Fig. 4 Schematic of solving the photoacoustic signal

由图 5 可见:1)随着激发方波脉宽 ($t_p = n\tau$)的 增加,探测到声信号的宽度($t_3 - t_4$)越来越大,正负 方波构成了一个完整的声信号;2)当激发方波脉宽 宽度大于声信号穿过立方体组织($a \times a \times a$)所需的 时间时,无法从声信号中分辨出生物组织的大小; 3)声信号的轴向分辨率为方波脉宽与声速的乘积, 在信噪比一定的条件下,强度调制的连续激光激发 的光声成像的轴向分辨率受调制方波脉宽的影响, 调制方波脉宽越窄,轴向分辨率越大。





Fig. 5 Photoacoustic signal excited by intensitymodulated continuous-wave laser

2.3 光功率对光声信号的影响

脉冲激光器激发的光声成像技术一般采用可调 谐光参量振荡(OPO)激光器,其激光能量密度为 20 mJ/cm²(脉宽为 10 ns)。目前市场上的激光二 极管的功率一般为 200 mW,生物组织吸收较强的 蓝紫光功率小于 100 mW。假如强度调制后的连续 激光的方波脉宽为脉冲激光器脉冲宽度的 10 倍,则 其能量相差 10⁶ 数量级,为了获取和脉冲激光相同 的激发效果,必须压缩连续激光器的聚焦光斑,使其 作用在生物组织上的激光能量密度与脉冲激光器激 发的能量密度相当,来补偿脉冲能量的不足。使用 透镜对连续激光器进行准直,使得连续激光器的聚 焦光斑为微米量级,同时光功率密度小于美国国家 标准协会(ANSI)的安全限制(规定辐照生物组织的 光功率密度小于200 mW/cm²)。

2.4 探测器带宽对光声信号的影响

超声探测器进行声信号采集时,相当于声探测 器对光声信号的脉冲响应:

$$P_{\rm chirp}^{\rm L}(t) = g(t) * P_{\rm chirp}(t), \qquad (11)$$

式中 g(t)为激发激光的波形。

进行傅里叶变换后为

$$\tilde{P}_{\rm chirp}^{\rm L}(w) = G(w)\tilde{P}_{\rm chirp}(w).$$
(12)

由于光声探测器与生物组织产生的光声源之间 有一段 *ct*₀ 的距离,求卷积时乘上一个滞后因子:

 $\tilde{P}_{chirp}^{L}(w) = G(w)\tilde{P}_{chirp}(w)\exp(-jwt_{0}).$ (13)

由(11)、(12)式以及文献[12]可见,通过使用窄 带宽的声探测器以及对声信号进行滤波处理可以进 一步提高声信号的信噪比,提高光声图像的轴向分 辨率。

3 实验研究

强度调制的连续激光器激发的光声成像实验采 用 Thorlabs 公司的 L785P100(785 nm,100 mW)的 激光二极管和 Thorlabs 的 LDC205C 电流控制器, 来获取调制的方波信号。采用频率为 15 MHz、焦 距为 30 mm 的聚焦水浸超声探头(SU-A319S)进行 声信号的探测。前置放大器(5072PR, Olympus-NDT)对采集到的声信号进行滤波放大。采用示波 器(Tektronix DPO 3034)进行信号的显示。整个实 验装置如图 6 所示。信号发生器产生一个方波对激 光二极管的电流控制器进行方波调制。声探测器和 样品放置在盛满水的水槽中,激发激光穿过一层塑 料薄膜对样品进行激发。采用透镜组对激光器的出 射光束进行准直,在样品上聚焦光斑的直径约为 0.5 μm。声探测器的探测焦点和连续激光器出射 光束的焦点重合。声探测器安装在一个三维位移台 支架上,可以进行三维调节,方便声探测器对准声信 号的传输方向。



图 6 实验装置 Fig. 6 Experimental setup

3.1 调制脉宽对声信号强度的影响实验

首先通过 LDC205C 电流控制器,对激光二极 管设置一个稳定电流,在 LDC205C 电流控制器的 RF 控制端使用一个信号发生器产生一个方波电流 (信号发生器: Agilent generator 33250A)。则调制 后的激光二极管的电流为 $I_{LD} = I_{LD}^{set} + I_{LD}^{max} \times U_{MOD}/$ (10 V),其中 U_{MOD} 在一10~10 V之间变换,接入电 阻为 10 k Ω , $I_{LD}^{max} = 1$ mA。通过调制 U_{MOD} 可以获取 方波信号,调制过程中,激光二极管的 I_{LD} 必须小于 其安全电流 $I_{limited}$ 。

将猪肝切成 200,300,500 μm 的薄片放置在实 验装置的样品位置。调制激光二极管的出光频率为 20,13.3,10,8 MHz,则产生的方波频率为 20, 13.3,10,8 MHz,激光二极管的调制方波脉宽为 50,75,100,125 nm。探测到的光声信号通过前置 放大器放大和高通滤波后显示在示波器上。实验过 程中调节声探测器以及激光的光斑位置,使得声探 测器和光轴处于同一条轴线上,获取最佳信号。为 了便于获取分辨信号,信号发生器每次激发两个方 波,如图 7 所示。产生的声信号如图 8 所示。聚焦 型探头的工作带宽较宽,能够采集 8~20 MHz 的信 号。由于样品距离探头 30 mm,声波到达探头的时 间相对激发脉冲延迟了约 20 μs(超声波波速为



图 7 调制方波



1500 m/s)。通过探测器获得声信号并绘制方波脉 宽与光声信号幅值的关系曲线如图 9 所示。



图 9 方波脉宽与光声信号幅值的关系

Fig. 9 Relationship between the pulse width of the laser pulse and the amplitude of the photoacoustic signal

由图 9 可见:1)随着调制脉宽的增加,生物组 织吸收的光能增加,产生的光声信号变强,与理论仿 真吻合。当调制方波脉宽大于生物组织的热弛豫时 间时,探测器无法探测到有效信号。2)由于光声信 号在样品中有一定的衰减,随着被测样品的厚度增 加,声信号的幅值减小。3)由于声探测器的带宽有 一定的限制,为了更好地获取高信噪比的声信号,必 须采用窄带宽的声探测器,同时对声信号进行高通 滤波提高信噪比。

3.2 方波脉宽对激发的声信号脉宽影响实验

将一根直径为 50 μm 的头发丝放置在实验装 置的样品位置。实验中调制激光二极管方波脉宽为 50,75,100,125 nm。声探测器探测到的光声信号通 过前置放大器放大和高通滤波显示在示波器上。信 号发生器每次激发 3 个脉冲,实验中分别对采集到 的 3 个脉冲声信号求平均获取其脉宽均值,得到 图 10。

由图 10 可见:1) 随着调制方波脉宽的增加,光 声信号脉宽变宽,与理论仿真吻合。由于声波穿过





Fig. 10 Relationship between the pulse width of the laser pulse and the one of the photoacoustic signal

头发需要的时间为 50 μm/(1500 m/s)=33 ns,激 光二极管的调制方波脉宽大于 40 ns,激发方波的脉 宽大于分辨被测物所需的最小脉宽,无法分辨出被 测物。2)由于光声成像的分辨率为 ct_p(声速与调 制方波脉宽的乘积),当 ct_p>a 时,光声信号的脉宽 与调制方波相当,与被测物的尺寸无关,随着调制方 波脉宽的增加而增加。

基于强度调制的连续激光激发的光声成像技术 的分辨率受调制脉冲的宽度和光功率影响。为了提 高光声成像技术的分辨率,必须尽可能地压缩调制 方波的脉宽。同时在连续激光光功率提高幅度有限 的条件下,为了提高光声信号的幅值和信噪比,必须 增加调制方波的脉宽,增加生物组织吸收的光功率。 两者之间存在一个矛盾,为了获取高分辨率、高信噪 比的光声图像,只有压缩激发的连续激光器的出射 光斑,使之聚焦光斑变小,提高作用在生物组织上的 功率密度,同时必须遵守 ANSI 安全限制。

4 结 论

对强度调制的连续激光激发的光声信号的特点 及影响因素进行了理论分析。详细分析了强度调制 的连续激光激发的光声信号的脉宽特点以及其对光 声信号强度的影响,发现随着调制方波脉宽的增加, 生物组织吸收的光功率增加,光声信号幅值增加。 对光声成像技术轴向分辨率的影响因素进行了分 析,发现随着调制方波脉宽的增加,光声信号的脉宽 增加,当调制方波脉宽与声速的乘积大于被测生物 组织的尺寸时,无法分辨出被测物,必须尽可能地压 缩脉宽来提高光声图像的分辨率。在理论研究的基 础上进行了实验验证,理论和实验结果相吻合。 对连续激光激发的光声成像光声信号影响因素 的研究表明,在连续激光出射光功率提高受限制的 前提下,必须通过增加作用在生物组织上的光功率 密度来获取高分辨率、高信噪比的光声图像。本文 的研究能够为光声成像技术提供一种低成本、便携 式的设备,为进一步研究强度调制的连续激光激发 的光声成像技术提供参考。

参考文献

1 Zhang Jian, Yang Sihua. Photoacoustic component imaging based on multi-spectral excitation[J]. Chinese J. Lasers, 2011, 38(1): 0104001

张 建,杨思华.基于多波长激发的光声组分成像[J].中国激 光,2011,**38**(1):0104001

- 2 Zhang Chi, Wang Yuanyuan. Reconstruction algorithm of photoacoustic tomography with acoustic speed heterogeneity[J]. Acta Optica Sinica, 2008, 28(12): 2296~2301
 张 弛, 汪源源. 声速不均匀介质的光声成像重建算法[J]. 光 学学报, 2008, 28(12): 2296~2301
- 3 Xu Dong, Xiang Liangzhong, Ji Xuanrong. Photoacoustic imaging system based on multi-channel parallel acquisition[J]. *Chinese J. Lasers*, 2011, 38(2): 0204002
 许 栋,向良忠,纪轩荣. 基于多通道并行采集的光声成像系统 [J]. 中国激光, 2011, 38(2): 0204002
- 4 C. Li, L. V. Wang. Photoacoustic tomography and sensing in biomedicine[J]. Phys. Med. Biol., 2009, 54(19): R59~R97
- 5 Y. Fan, A. Mandelis, G. Spirou *et al.*. Development of a laser photothermoacoustic frequency-swept system for subsurface imaging: theory and experiment [J]. J. Acoust. Soc. Am., 2004, 116(6): 3523~3533
- 6 Y. Fan, A. Mandelis, G. Spirou *et al.*. Laser photothermoacoustic heterodyned lock-in depth profilometry in turbid tissue phantoms[J]. *Phys. Rev. E*, 2005, **72**(5): 051908
- 7 S. A. Telenkov, A. Mandelis. Fourier-domain biophotoacoustic subsurface depth selective amplitude and phase imaging of turbid phantoms and biological tissue [J]. J. Biomed. Opt., 2006, 11(4): 044006
- 8 S. A. Telenkov, A. Mandelis. Fourier-domain methodology for depth-selective photothermoacoustic imaging of tissue chromophores[J]. Eur. Phys. J. Spec. Top., 2008, 153(1): 443~448
- 9 S. Telenkov, A. Mandelis, B. Lashkari *et al.*. Frequencydomain photothermoacoustics: alternative imaging modality of biological tissues[J]. J. Appl. Phys., 2009, **105**(10): 102029
- 10 S. A. Telenkov, A. Mandelis. Photothermoacoustic imaging of biological tissues: maximum depth characterization comparison of time and frequency-domain measurements[J]. J. Biomed. Opt., 2009, 14(4): 044025
- 11 T. W. Murray, O. Balogun. High-sensitivity laser-based acoustic microscopy using a modulated excitation source [J]. *Appl. Phys. Lett.*, 2004, **85**(14): 2974~2476
- 12 K. Maslov, L. V. Wang. Photoacoustic imaging of biological tissue with intensity-modulated continuous-wave laser [J]. J. Biomed. Opt., 2008, 13(2): 024006
- 13 A. Petschke, P. J. La Rivière. Comparison of intensitymodulated continuous-wave lasers with a chirped modulation frequency to pulsed lasers for photo-acoustic imaging applications [J]. Biomed. Opt. Express, 2010, 1(4): 1188~1195