

# 基于窄带 AOTF 人体胃壁细胞组织的超光谱显微成像

高强 张春光 王号 黄峻峰

福建师范大学光电与信息工程学院医学光电科学与技术教育部重点实验室, 福建省光子技术重点实验室, 福建 福州 350007

**摘要** TeO<sub>2</sub>作为声光转换材料的非线性声光可调滤波器(AOTF)是一种新型分光元件,具有体积小、质量轻、通光孔径和入射孔径大、在宽范围内快速协调、衍射效率高等特点。采用TeO<sub>2</sub>作为声光转换材料的AOTF进行超光谱成像实验。实验中衍射光中心波长和超声波频率之间的转换计算与理论推导结果非常接近。通过改变加载在AOTF的超声波频率来改变光中心波长,结合倒置光学显微镜,设计在不同的光中心波长下呈现人体胃壁组织切片的超光谱显微成像系统。实验结果表明光谱图的成像质量很高。通过比较不同超声波频率和光中心波长下人体胃壁组织切片的超光谱图像,可观察到胃壁组织细胞一些更为详细的差异。该研究提供了一种不同光中心波长下对胃壁组织细胞进行超光谱显微成像的方法,这种方法易操作性强,结果多,易于比较。

**关键词** 光学设计; 光电子学; 光谱成像; 声光可调滤波器; 人体胃壁细胞

中图分类号 O436 文献标识码 A

doi: 10.3788/LOP52.122205

## Hyperspectral Imaging of Human Gastric Parietal Cells Based on Narrowband AOTF

Gao Qiang Zhang Chunguang Wang Hao Huang Junfeng

*Key Laboratory of Optoelectronic Science and Technology of Ministry of Education, Fujian Provincial Key Laboratory of Photonic Technology, Fujian Normal University, Fuzhou, Fujian 350007, China*

**Abstract** The nonlinear acousto-optic tunable filter (AOTF) based on TeO<sub>2</sub> is a new device which can convert the ultrasonic and optical wave. It has small volume, low weight, large aperture and incident aperture, rapid coordination in a wide spectral range, and good diffraction efficiency. The AOTF based on TeO<sub>2</sub> is used for hyperspectral imaging experiments. The conversion between diffraction of light central wavelength and ultrasonic frequency in the experiment is very close to the theoretical result. A hyperspectral microscopic imaging system, combined with an inverted optical microscope, which can exhibit histologic section of human parietal cells under different light central wavelength and different ultrasonic frequency on AOTF is designed. The experimental results show that the image quality is very good. By comparing images under different ultrasonic wave frequency and light central wavelength, more details and difference of cells can be found. A method to acquire hyperspectral images of cells under different light central wavelength is provided, the method is easy to operate and the results are easy to analyze.

**Key words** optical design; optoelectronics; spectral imaging; acousto-optic tunable filter; human gastric parietal cells

**OCIS codes** 220.4830; 230.7408; 050.1940

## 1 引言

采用TeO<sub>2</sub>作为声光转换材料的非线性声光可调滤波器(AOTF)是一种新型的基于声光相互作用的分光元件。在此之前,声光相互作用的研究仅仅局限于同向介质范畴内,光在介质内的折射率与其偏振态和传播方向没有关系。当有超声波在同向介质内通过时,介质的折射率会出现类似光栅的周期性变化,光波在这种介

收稿日期: 2015-06-20; 收到修改稿日期: 2015-07-06; 网络出版日期: 2015-10-27

基金项目: 国家自然科学基金(61107092)、福建师范大学青年骨干教师资助计划(fjsdjk2012055)

作者简介: 高强(1988—),男,硕士研究生,主要从事光电器件的设计与应用方面的研究。

E-mail: q106032008123@163.com

导师简介: 张春光(1980—),女,博士,讲师,主要从事光电器件的设计与应用方面的研究。

E-mail: cgzhang@fjnu.edu.cn(通信联系人)

质内传播时就会发生衍射。在这个过程中,如果出现入射光折射率  $n_i$  等于衍射光折射率  $n_d$ , 则为正常声光相互作用。后来,Zhang等<sup>[1]</sup>发现在  $\text{TeO}_2$  中传播的光波的偏振态会因为声光相互作用发生变化,使得入射光折射率  $n_i$  不再等于衍射光折射率  $n_d$ , 这就是反常声光作用。AOTF正是利用反常声光作用原理制作而成的。

AOTF主要由  $\text{TeO}_2$  和  $\text{TeO}_2$  上面的压电转换装置构成。压电转换装置可将输入的射频信号转化为频率一致的超声波信号,使得超声波在晶体内传播,当此时有入射光在晶体内传播时,只有很窄的光谱满足衍射条件而发生衍射。衍射光的频率与超声波的波长存在对应关系,改变超声波波长时即可改变衍射光的频率,而超声波波长与输入的射频信号有一致性,故只改变射频信号即可改变出射光波长,从而实现了出射光波长的快速调节,这种调节可以是随机的,也可以是连续的。它有良好的入射孔径角,衍射光损失小,在弱入射光下依然能够对目标进行高质量成像。由于AOTF中无活动部分,所以稳定性非常高<sup>[2-3]</sup>。

将AOTF结合倒置光学显微镜设计在生物医学领域有光明应用前景的超光谱显微成像系统,与其他成像方法相比,该系统衍射效率高、输出信号稳定、光谱分辨率高。本文选择人体胃壁组织作为研究对象,通过超光谱显微成像系统得到不同波长下的人体胃壁组织超光谱显微图像。图像清晰度很高,胃壁细胞组织的内在结构、形状在特定波长下可清晰分辨<sup>[4-6]</sup>。

## 2 理论分析

在非共线情况下,声波与光波的相互作用平面是[110],矢量关系如图1所示。采用  $\text{TeO}_2$  单轴晶体,在  $\text{TeO}_2$  中会有两种本征模式的光波传播,分别是寻常o光(波面为椭圆形)和反常e光(波面为圆形),o光波面与e光波面在主光轴方向相切。入射光和衍射光以不同的本征模式光波在晶体中传播,晶体的双折射特性使得入射光波矢量和衍射光波矢量是不平行的。当入射光波矢和衍射光波矢在波矢曲面的切向量平行时,入射光波矢  $k_i$  加超声波矢  $k_a$  等于衍射光波矢  $k_d$ , 如图1所示,即为切线动量匹配。对于  $\text{TeO}_2$  而言,入射光的折射率会因为折射角度而变化,不会因为入射光角度变化而出现动量失配关系,故AOTF有较大的入射孔径角<sup>[7]</sup>。

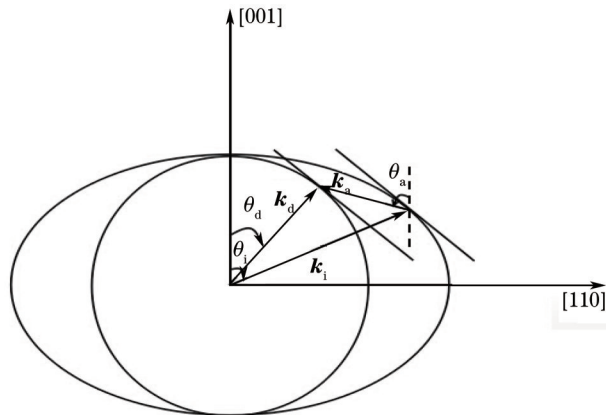


图1 非共线声光相互作用矢量图

Fig.1 Vectorial diagram of nonlinear acousto-optic interaction

假定入射光为右旋e光,射出衍射光为左旋o光,根据图1可得入射光折射率  $n_i$  与射出衍射光折射率  $n_d$ :

$$n_i = \left[ \frac{\cos^2 \theta_i}{n_o^2 (1 - \sigma)^2} + \frac{\sin^2 \theta_i}{n_e^2} \right]^{-\frac{1}{2}}, \quad (1)$$

$$n_d = \left[ \frac{\cos^2 \theta_d}{n_o^2 (1 - \sigma)^2} + \frac{\sin^2 \theta_d}{n_o^2} \right]^{-\frac{1}{2}}, \quad (2)$$

式中  $\theta_i$  为入射光极角,  $\theta_d$  为射出衍射光极角,  $\sigma$  为  $\text{TeO}_2$  的旋光特性,  $n_o$  和  $n_e$  为垂直于光轴的o光和e光的折射率,折射率值随着波长的改变而改变<sup>[8]</sup>。

由动量匹配可得

$$\tan(-\theta_a) = \frac{n_i \sin \theta_i - n_d \sin \theta_d}{n_i \cos \theta_i - n_d \cos \theta_d}, \quad (3)$$

$$\tan \theta_d = \frac{n_o^2(1+\sigma)^2 \tan \theta_i}{n_o^2(1-\sigma)^2}, \quad (4)$$

式中  $\theta_a$  为超声波极角,  $\theta_d$  为射出衍射光极角。

由切线方向平行得

$$\tan \theta_d = \frac{n_o^2 \tan \theta_i}{n_c^2}. \quad (5)$$

将  $\delta = \frac{n_c - n_o}{n_c}$  代入, 并忽略  $\delta^2$  以上项, 可得

$$n_i \approx n_o(1 + \delta \sin^2 \theta_i). \quad (6)$$

已知  $f_a = \frac{V_a}{\lambda_0} [n_i^2 + n_d^2 - 2n_i n_d \cos(\theta_i - \theta_d)]^{\frac{1}{2}}$ , 结合(4)式和(5)式可得

$$f_a = \left( \frac{V_a}{\lambda_0} \right) (n_c - n_o) (\sin^4 \theta_i + \sin^2 2\theta_i)^{\frac{1}{2}}, \quad (7)$$

说明改变超声波频率即可改变射出衍射光波长。

所用波长函数关系式基于  $\text{TeO}_2$  的旋光特性, 加入动量匹配条件的改进, 最终关系式为

$$f_a = V_a \frac{[n_i^2 + n_d^2 - 2n_i n_d \cos(\theta_i - \theta_d)]^{\frac{1}{2}}}{\lambda_0}. \quad (8)$$

同时, AOTF 的光谱分辨率  $R$  可用衍射光的中心光波长  $\lambda_0$  及其光谱宽度  $\Delta\lambda$  的比值来表示。考虑  $\text{TeO}_2$  晶体的旋光性,  $\Delta\lambda$  的表达式为<sup>[9]</sup>

$$\Delta\lambda = \frac{1.8\pi\lambda_0^2}{b'L}, \quad (9)$$

式中  $b'$  为考虑晶体旋光性后的色散常数, 表达式为

$$b' = 2\pi \left\{ (n_i - n_d) - \left[ \frac{\partial(n_i - n_d)}{\partial\lambda_0} \right] \lambda_0 \right\}, \quad (10)$$

式中  $n_i$  和  $n_d$  为垂直于光轴方向的入射光和衍射光折射率。

由此可知 AOTF 的光谱分辨率  $R$  的表达式为

$$R = \frac{\lambda_0}{\Delta\lambda} = \frac{b'L}{1.8\pi\lambda_0}. \quad (11)$$

### 3 实验设计及结果讨论

通过声光相互作用理论可知, 要想设计出能够应用于超光谱成像的 AOTF, 入射光极角的选择非常重要, 入射光极角的选择由晶体的具体参数确定。同时, 实验中用到的主要是一级衍射光, 用挡光板遮挡非衍射光和另一束一级衍射光。为了减少衍射光波长与可见光波长之间的转换, 设计入射面与出射面为不平行平面<sup>[10]</sup>。根据以上条件, 设计实验用 AOTF 中的  $\text{TeO}_2$  晶体, 晶体的具体参数如表 1 所示, 基本结构如图 2 所示。

表 1  $\text{TeO}_2$  晶体具体参数

Table 1 Specific parameters of  $\text{TeO}_2$  crystal

Item	Design parameters and performance index
Acoustic polar angle /( $^\circ$ )	80
Incident polar angle /( $^\circ$ )	23.8
Working waveband /nm	400~700
Tunable range of acoustic frequency /MHz	107.5~233.5
Acoustic power /W	1.0~1.5
Incident aperture /( $^\circ$ )	2.85 at 632.8 nm
Optical bandwidth /nm	2.9 at 632.8 nm
Wedge angle /( $^\circ$ )	6.15
Transducer length /mm	6.76

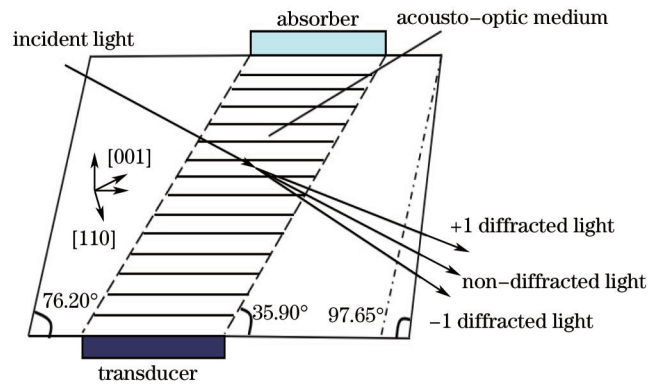


图2 非共线 AOTF 的基本结构草图

Fig.2 Basic structure schematic diagram of nonlinear AOTF

在超光谱成像实验中,因卤素灯光谱范围较大,可覆盖整个可见光区域,可以满足实验要求,故光源采用卤素灯。将人体胃壁组织切片放在显微镜载物台上,卤素灯发出的光信号经过倒置显微镜成像系统(光信号携带切片的光谱学信息和图像信息),在显微镜的出光孔处射出,然后经过缩束镜和双胶合透镜的调整,以平行光垂直入射到 AOTF 中的  $\text{TeO}_2$  晶体表面。在 AOTF 中,通过放置在  $\text{TeO}_2$  晶体上的压电换能器将射频电信号转化为超声波信号,使光波在  $\text{TeO}_2$  晶体中传播时与设定的超声波信号发生声光布拉格衍射,非衍射光和特定波长的正负一级衍射光从 AOTF 出光口处射出。在 AOTF 出光口处放置挡光板,挡住非衍射光和负一级衍射光,使正一级衍射光被 CCD 接收。在实验中,射频驱动电源的最大功率可以达到 2 W,会源源不断地发射电信号,经过压电换能器协调后变为在  $\text{TeO}_2$  晶体中传播的超声波信号,使 CCD 和光谱仪接收到确定中心波长的衍射光。系统中由于倒置显微镜的存在,可以在接收端同时接收样品的超光谱显微图像和衍射光光谱,达到了图谱合一的效果。超光谱成像系统的实验原理如图 3 所示,实际的实验系统如图 4 所示。

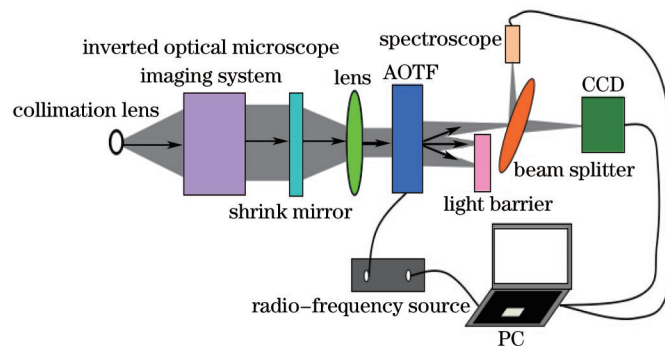


图3 实验原理图

Fig.3 Schematic diagram of experimental setup

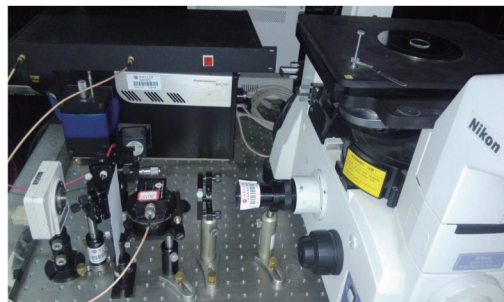


图4 实际实验系统图

Fig. 4 Actual experimental system

利用搭建好的实验系统测量 AOTF 系统的调谐关系,即加载到压电换能器的射频信号频率(超声波频率)和衍射光中心波长之间的关系。得到不同超声波频率(110, 120, 130, 140, 150 MHz)下的衍射光中心波长,结果如图 5 所示。由图 5 可知,相应的衍射光中心波长为 679.57, 632.83, 594.05, 560.73, 531.66 nm, 半峰全宽为 1.91, 1.60, 1.74, 1.31, 1.09 nm。对基于  $\text{TeO}_2$  的 AOTF 系统来讲,衍射光的中心波长变化、光谱宽度与

理论计算结果相符,符合实验的要求。光谱分辨率也符合理论计算结果,并且可以达到平均 400 个光通道,达到了超光谱成像的技术要求。从实验结果来看,衍射光产生了较大的旁瓣,与实验预期相差较大,原因可能是:1) 实验中为了使光线平行,AOTF前放置了光学透镜,光学透镜会明显影响旁瓣的大小;2) 声光晶体材料本身的性能和射频信号源的信号质量等因素都与旁瓣有关,使用高质量的声光材料以及性能更佳的驱动信号会有效压缩旁瓣<sup>[11-12]</sup>。

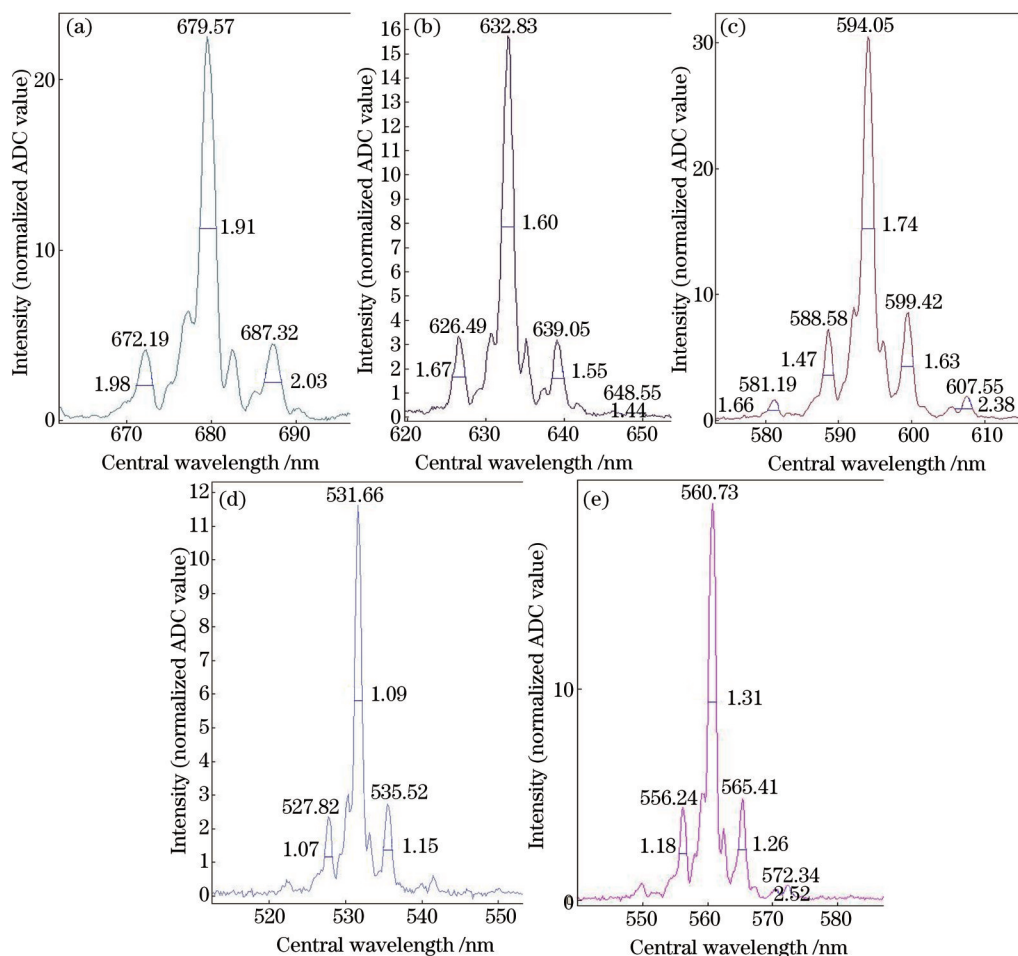


图5 不同超声波频率下的衍射光中心波长。(a) 110 MHz, 679.57 nm; (b) 120 MHz, 632.88 nm; (c) 130 MHz, 594.05 nm; (d) 140 MHz, 560.73 nm; (e) 150 MHz, 531.66 nm

Fig.5 Central wavelength of diffraction light under different ultrasonic frequency. (a) 110 MHz, 679.57 nm; (b) 120 MHz, 632.88 nm; (c) 130 MHz, 594.05 nm; (d) 140 MHz, 560.73 nm; (e) 150 MHz, 531.66 nm

进行人体胃壁组织切片的超光谱成像,将人体胃壁组织切片放在倒置显微镜的载物台上,通过调谐超声波频率,获得不同超声频率(120, 125, 130, 135, 140, 145, 150, 155, 160, 165 MHz)下人体胃壁组织切片的超光谱显微成像结果,如图6所示。

从超光谱显微成像结果看,对于不同的衍射光中心波长,人体胃壁组织细胞的超光谱成像效果较好。超声波频率为 160 MHz,相应的衍射光中心波长为 503.88 nm 时,可以非常清楚地分辨出人体胃壁组织细胞的排列分布。这种排列分布随着衍射光中心波长的减小先是慢慢地变清晰,到衍射光中心波长为 503.88 nm,也即超声波频率为 160 MHz 时最为清晰,然后又逐渐变得模糊。这说明为了得到清晰度较高的人体胃壁组织细胞的排列分布,超声波频率为 160 MHz 左右时最好。同时,在相同的组织区域中,不同衍射光中心波长的超光谱显微成像结果有明显不同,例如图6中用白色椭圆形标记的组织区域内,在红光区域范围内观察到的细胞组织排列非常模糊,但是随着超声波频率的增加,衍射光中心波长逐渐变短,白色椭圆标记处的区域在绿青光范围内变得清晰,在蓝光范围内又逐渐变得模糊,说明这个区域内的生物组织成分与其临近周边的生物组织成分对不同波长光的吸收不同。在黄色矩形标记区域内,细胞与细胞之间的细胞间质在红光范围内是不能被观察到的,但在绿光和蓝光范围内可以看到,说明该区域内的细胞间质与临近周边的物质成分不同,但对红光的

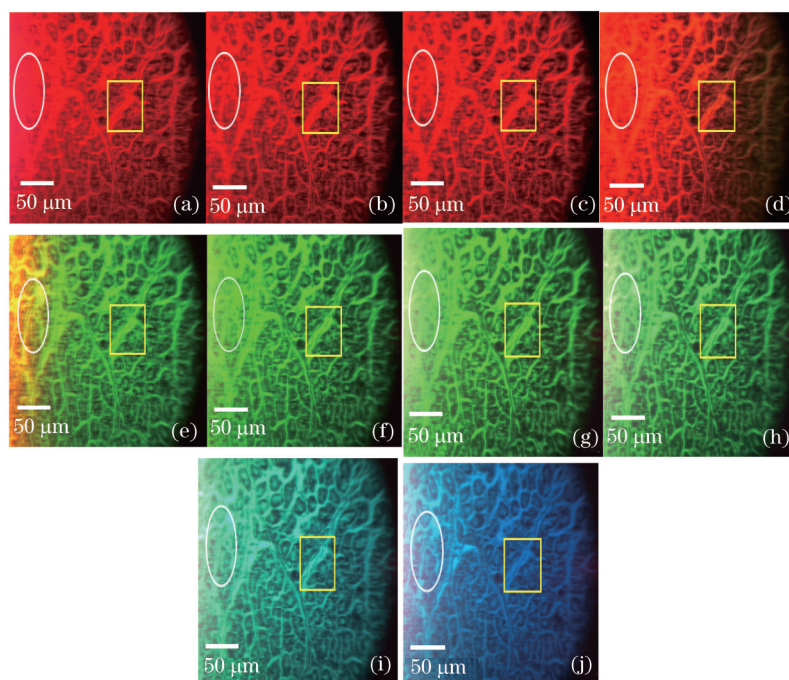


图6 不同衍射光中心波长下的人体胃壁组织细胞超光谱图像。(a) 120 MHz, 632.88 nm; (b) 125 MHz, 618.77 nm; (c) 130 MHz, 594.05 nm; (d) 135 MHz, 575.06 nm; (e) 140 MHz, 560.73 nm; (f) 145 MHz, 544.09 nm; (g) 150 MHz, 531.66 nm; (h) 155 MHz, 512.45 nm; (i) 160 MHz, 503.88 nm; (j) 165 MHz, 488.81 nm

Fig.6 Hyperspectral images of human parietal cells under different central wavelength. (a) 120 MHz, 632.88 nm; (b) 125 MHz, 618.77 nm; (c) 130 MHz, 594.05 nm; (d) 135 MHz, 575.06 nm; (e) 140 MHz, 560.73 nm; (f) 145 MHz, 544.09 nm; (g) 150 MHz, 531.66 nm; (h) 155 MHz, 512.45 nm; (i) 160 MHz, 503.88 nm; (j) 165 MHz, 488.81 nm

吸收与临近成分相同,导致该区域与临近区域透射光是一样的,因此观察不到细胞间质,但对绿、青、蓝光的吸收强于临近成分,因而可以观察到细胞间质,且细胞间质的颜色与临近成分相比偏暗。

根据上述结果,基于AOTF的超光谱显微成像具有准单色成像功能,通过超光谱显微成像可以将生物组织中的不同成分区分开来,更为准确地观察生物组织内的不同构造。另外,从成像的结果来看,在光路设计中加入了更多光学透镜组,使得图像的成像位置前后偏差得到了很好的控制,成像的清晰度和稳定度较高。

## 4 结 论

设计了窄带AOTF系统,分析了超声波与衍射光中心波长的协调、滤波带通和光谱分辨率,并与理论计算结果进行比较,实验结果与理论计算结果相符合,达到了实验预期。将窄带AOTF系统结合倒置光学显微镜搭建超光谱显微成像系统,通过实验得到人体胃壁组织细胞在不同光中心波长下的超光谱图像,图像清晰度和稳定度较高,通过比较不同的超声波频率和光中心波长下的人体胃壁组织细胞,能够观察到一些更为详细的差异。该研究提供了一种不同光中心波长下细胞超光谱显微成像方法,这种方法易操作性强,结果多,易于比较。声光可调滤波器在超光谱显微成像领域有一定的应用前景。

## 参 考 文 献

- 1 Zhang Chunguang. The Technology of the Acousto-Optic Tunable Filter Based on the Hyperspectral Imaging System[D]. Harbin: Harbin Institute of Technology, 2008: 14-27.  
张春光. 基于超光谱成像系统的声光可调滤波技术研究[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2008: 14-27.
- 2 N Gupta, V B Voloshinov. Development and characterization of two-transducer imaging acousto-optic tunable filters with extended tuning range[J]. Applied Optics, 2007, 46(7): 1081-1088.
- 3 V B Voloshinov, K B Yushkov, B B J Linde. Improvement in performance of a TeO<sub>2</sub> acousto-optic imaging spectrometer[J]. Journal of Optics A: Pure and Applied Optics, 2007, 9(4): 341-347.
- 4 Zhu Yue, Gao Wanrong. High-resolution full-field optical coherence tomography for biological tissue[J]. Chinese J Lasers, 2014, 41(8): 0804002.

- 朱 越, 高万荣. 全场高分辨生物组织光学层析成像[J]. 中国激光, 2014, 41(8): 0804002.
- 5 Ouyang Liting, Wang Dayong, Zhao Jie, *et al.*. Experimental study on the phase-contrast imaging of the living hippocampal neuron cells by digital holographic microscopy[J]. Chinese J Lasers, 2013, 40(9): 0909001.
- 欧阳丽婷, 王大勇, 赵 洁, 等. 老鼠大脑海马区神经元活细胞的数字全息相衬成像实验研究[J]. 中国激光, 2013, 40(9): 0909001.
- 6 Zhu Lili, Li Hui. Imaging by optically scattering objects and absorption objects with ultrasound-modulated optical tomography[J]. Chinese J Lasers, 2015, 42(2): 0204001.
- 朱莉莉, 李 晖. 散射体和吸收体的超声调制光学成像[J]. 中国激光, 2015, 42(2): 0204001.
- 7 I C Chang. Noncollinear acousto-optic filter with large angular aperture[J]. Applied Physics Letters, 1974, 25(7): 370-372.
- 8 Xu Kexin, Xue Bin, Jiang Chengzhi, *et al.*. The equivalent point theory of acousto-optic tunable filter[J]. Acta Optica Sinica, 2002, 22(3): 323-326.
- 徐可欣, 薛 彬, 蒋诚志, 等. 声光可调谐滤波器的等值点理论[J]. 光学学报, 2002, 22(3): 323-326.
- 9 C G Zhang, Z H Zhang, H Wang, *et al.*. Spectral resolution enhancement of acousto-optic tunable filter by double-filtering [J]. Optics Express, 2008, 16(14): 10234-10239.
- 10 Wang Hao, Zhang Chunguang, Huang Junfeng, *et al.*. Design and performance evaluation of a narrow band acousto-optic filter considering the rotatory property[J]. Acta Optica Sinica, 2014, 34(4): 0423002.
- 王 号, 张春光, 黄峻峰, 等. 考虑旋光影响的窄带声光滤波器设计及其性能分析[J]. 光学学报, 2014, 34(4): 0423002.
- 11 D Voelz, B Kodali. Characterization of an acousto-optic tunable filter imaging system[C]. SPIE, 2006, 6302: 63020P.
- 12 Yang Wei, Liu Ying, Xiao Lifeng, *et al.*. Suppression of sidelobe levels for acousto-optic tunable filters using cascaded single-stage acousto-optic tunable filters[J]. Chinese J Lasers, 2009, 36(10): 2734-2739.
- 杨 薇, 刘 迎, 肖立峰, 等. 多级级联声光可调谐滤波器旁瓣的抑制[J]. 中国激光, 2009, 36(10): 2734-2739.

栏目编辑: 吴秀娟