

基于声光可调滤波器双滤波技术的超光谱显微成像系统及其图像分析

石磊^{1,2}, 张春光^{1,2}, 王号^{1,2}, 原江伟^{1,2}

¹福建省光子技术重点实验室, 福建 福州 350007;

²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 福州 350007

摘要 光谱分辨率是声光可调滤波器(AOTF)的关键。基于声光滤波器的工作原理,通过前后串联两个滤波器,设计了基于双滤波结构的超光谱成像系统。通过对单一滤波和双滤波结构特性的理论计算和实验测量结果的分析比较,可以发现在中心波长相等的情况下,双滤波结构的光谱宽度比单一滤波结构小,说明了双滤波技术在改善光谱宽度方面的优越性。另外,利用双滤波结构,结合倒置光学显微镜,设计了基于双滤波技术的显微成像系统。基于大量的胃癌组织超光谱显微图像,选取相关系数较小的三个光谱图像,使用RGB假彩色图像融合技术进行处理。经仿真实验发现,超光谱图像融合技术能够有效地改善图像的质量。

关键词 光学器件; 声光可调滤波器; 双滤波技术; 数字图像处理

中图分类号 O439 文献标识码 A

doi: 10.3788/LOP55.032303

Hyperspectral Microimaging System Based on Double-Filtering Technology of Acousto-Optic Tunable Filter and Its Image Analysis

Shi Lei^{1,2}, Zhang Chunguang^{1,2}, Wang Hao^{1,2}, Yuan Jiangwei^{1,2}

¹Fujian Provincial Key Laboratory for Photonics Technology, Fuzhou, Fujian 350007, China;

²Key Laboratory of Optoelectronic Science and Technology for Medicine, Ministry of Education, College of Photonic and Electronic Engineering, Fujian Normal University, Fuzhou, Fujian 350007, China

Abstract Spectral resolution is the key of acousto-optic tunable filter (AOTF). Based on the working principle of acousto-optic filter, a hyperspectral imaging system based on double-filter structure is designed by connecting two filters in series. By comparing the theoretical calculation and experimental measurement results of single filter and double filter, it can be found that the spectral width of double filter structure is smaller than that of single filter when the center wavelength is equal, which shows that the double filter technology can improve the spectral width. In addition, the microscopic imaging system based on double-filter technology is designed by using dual-filter structure combined with inverted light microscope. Based on a large number of microscopic images of gastric cancer tissue hyperspectral images, three spectral images with a small correlation coefficient are selected and processed using RGB false color image fusion technology. The simulation results show that the hyperspectral image fusion technology can effectively improve the image quality.

Key words optical devices; acousto-optic tunable filter; double-filtering technology; digital image processing

OCIS codes 230.1040; 230.7408; 100.2000

收稿日期: 2017-09-05; 收到修改稿日期: 2017-10-11

基金项目: 福建省自然科学基金(2017J01745)、教育部“长江学者和创新团队发展计划”创新团队项目滚动支持计划(IRT_15R10)

作者简介: 石磊(1992—),男,硕士研究生,主要从事声光器件设计及应用方面的研究。E-mail: 18350108386@163.com

导师简介: 王号(1978—),男,博士,副教授,主要从事声光器件设计及应用方面的研究。

E-mail: haowang@fjnu.edu.cn(通信联系人)

1 引言

非共线型声光可调滤波器(AOTF)是一种利用反常声光作用原理制成的新型分光器件。基于 TeO_2 晶体制成的AOTF是一种电控滤光元件,与传统的分光器件相比,AOTF具有体积小、调谐迅速、衍射效率高及环境适应性好等优点,被广泛应用于光谱分析、光学成像、遥感探测和医学诊断等领域。目前,国外对基于AOTF的超光谱成像技术的研究相对成熟,而国内对该技术的研究起步较晚,目前基本上处于基础理论研究和探索性实验阶段。

基于AOTF的超光谱图像不仅可以提供待测目标众多的空间信息,还提供了不同波长的光谱信息。光谱分辨率是分光元件的主要参数之一。波长的光谱宽度越窄,能分辨出的最小波长间隔就越小,光谱分辨率也就越高,得到的光谱曲线就越接近真实情况。研究发现,双滤波结构能够有效地改善光谱分辨率,例如,Machikhin等^[1]进行了两个AOTF的高光谱成像性能的实验研究,其研究表明双滤波能够改善信号的纯度和提高光谱分辨率。本文基于这些理论系统地研究了双滤波器的超光谱成像系统^[2-6]。

随着自然科学技术的不断发展,显微图像的研究在生命科学、医学、农业等领域得到越来越广泛的关注。本文将双滤波技术结合光学倒置显微镜应用在超光谱显微成像领域,并对生物组织进行超光谱显微成像分析研究^[7]。由于不同波谱的光谱图像之间存在差异,且伴随着大量的数据冗余,人们需要研究如何能够有效地利用不同波长的光谱图像,因此图像融合技术一直被广泛地研究。图像融合技术主

要是采用某个算法,把具有不同波长的同一场景的多个图像融合成一个新图像,融合的图像能够最大程度地利用各个信息源提供的信息。张筱哈等^[8]研究了基于多特征的高光谱与全色图像融合方法,该方法有效地保持了光谱信息,提高了融合图像的空间分辨率;潘树伟^[9]进行了基于多尺度分析的医学图像融合算法研究,该技术将多种模态的图像提取与整合,使它们之间形成不同模态下的信息互补和冗余消除,为临床医学诊断提供更准确、更全面、更直观的依据。本文使用基于像素级RGB假彩色图像合成法对超光谱胃癌组织图像进行处理^[10-13],并对处理结果进行差异化分析。

2 理论分析

考虑 TeO_2 晶体的旋光性,光谱宽度 $\Delta\lambda$ 表达式为:

$$\Delta\lambda = \frac{1.8\pi\lambda_0^2}{b'L}, \quad (1)$$

式中 b' 为考虑晶体旋光性后的色散常数, λ_0 是AOTF在某个频率下的中心波长, L 是声光作用距离。

AOTF在不同波长 λ 下衍射效率 η 的计算公式为:

$$\eta = \eta_0 \frac{\sin^2[-b'L(\lambda - \lambda_0)/2\lambda_0^2]}{[-b'L(\lambda - \lambda_0)/2\lambda_0^2]^2}, \quad (2)$$

式中 η_0 表示峰值衍射效率,其严格满足动量匹配条件。

串联两个AOTF,经过AOTF单元后的光信号的衍射效率 η_{12} 为:

$$\eta_{12} = \eta_1 \eta_2 = \eta_0^2 \frac{\sin^2[-b'_1 L_1 (\lambda - \lambda_{10}) / 2\lambda_{10}^2] \sin^2[-b'_2 L_2 (\lambda - \lambda_{20}) / 2\lambda_{20}^2]}{[-b'_1 L_1 (\lambda - \lambda_{10}) / 2\lambda_{10}^2]^2 [-b'_2 L_2 (\lambda - \lambda_{20}) / 2\lambda_{20}^2]^2}, \quad (3)$$

式中 η_1 和 η_2 分别表示AOTF1和AOTF2的衍射效率; L_1 和 L_2 分别表示AOTF1和AOTF2的声光作用距离; λ_{10} 和 λ_{20} 分别表示AOTF1和AOTF2的中心波长; b'_1 和 b'_2 分别表示AOTF1和AOTF2的色散系数。根据(3)式可以绘出二次滤波的衍射效率曲线,如图1所示。通过计算得到二次滤波的衍射效率曲线的半峰全宽,即为二次滤波的光谱宽度。

在图1(a)中,蓝色实线表示第一个滤波器某个中心波长的光谱曲线,黑色虚线表示第二个滤波器某个中心波长的光谱曲线,黑色实线为二次滤波曲

线。两个AOTF对应于各自中心波长的光谱,通过调节AOTF2的中心波长,如图1(a)中的虚线所示,这两个光谱曲线就会存在一个交叉的光谱范围,形成二次滤波光谱曲线,如图1(a)中的黑线所示。

图1(b)中,黑色点虚线表示单次滤波(single AOTF)光谱曲线,黑色短虚线表示不同的二次中心波长下二次滤波(double AOTF)光谱曲线,黑色实线为光谱带宽。可以发现,经过双滤波AOTF的光谱宽度明显减小,且随着二次滤波的衍射效率的变化而变化,这反映了利用二次滤波在提高光谱分辨率方面的优越性。

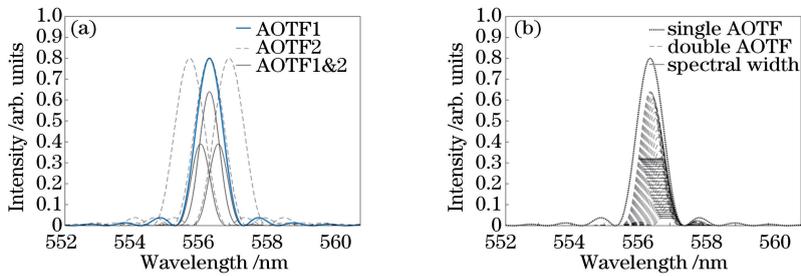


图 1 (a)二次滤波理论图;(b)二次滤波衍射效率与光谱宽度关系理论图

Fig. 1 (a) Theoretical diagram of doubler filtering; (b) theoretical diagram of relation between diffraction efficiency and spectral width of double filtering

3 实验设计与结果讨论

3.1 光谱分析

基于串联双滤波结构的超光谱显微实验系统如图 2 所示。由图 2 可知,系统由透射型光学倒置显微镜、准直光学系统、偏振片以及双胶合透镜、AOTF 单元、光谱探测仪及电荷耦合器件(CCD)和 AOTF 的电调谐控制器(RF)组成。采用了白光源功率是 5 W 的尼康光学倒置显微镜,其光谱范围覆盖整个可见光至近红外区域。其中,前端的准直光学系统用于准直入射的光线,以保证入射光束以很小的发散角进入偏振片和 AOTF。系统采用的双胶合透镜的焦距为 150 mm,使入射光以较小发散角

变化进入 AOTF。线偏振片的作用是调制入射光的偏振态,其工作波段为可见光范围。系统选用的 AOTF 由具有较低声光衰减的 TeO_2 晶体材料组成,其波长调谐时间通常只有几十微秒。因此, AOTF 能够在极短的时间内调谐到所需要的波长,从而提高系统的响应速度。AOTF 单元由 AOTF1 和 AOTF2 串联组成,其中 AOTF1 的衍射光进入 AOTF2, AOTF 相关设计参数和性能指标如表 1 所示。后端的成像系统将 AOTF 滤波单元衍射出来的光线成像于 CCD 相机的焦平面,从而探测出图形信息;或者利用光谱探测仪测量衍射光谱,并通过对 AOTF 的快速电调谐控制,对测得的不同中心波长的光谱进行分析和计算。

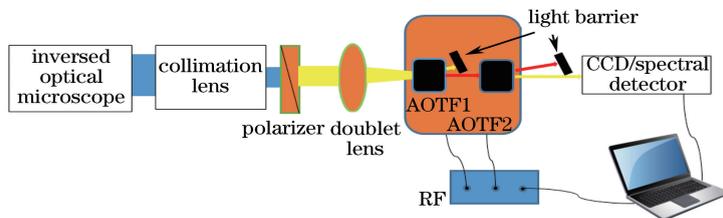


图 2 实验系统原理

Fig. 2 Principle scheme of experimental system

在二次滤波超光谱成像系统实验中,将一次滤波 AOTF 的频率信号 f_{a1} 设为 140 MHz,所对应的中心波长为 556.41 nm,如图 3 中的蓝色实线所示。当入射光依次通过 AOTF1 和 AOTF2 时,在 140 MHz 邻域内调节 AOTF2 频率信号 f_{a2} ,实验结果如图 3 所示。由图 3 可知,紫色实线部分是一次滤波衍射曲线,虚线部分是不同的中心波长下的二次滤波衍射曲线。当一次滤波中心波长和二次滤波中心波长重合时,双滤波的光谱宽度和衍射效率最大。而且从图 3 中可以看出,谱线的旁瓣得到明显抑制,光谱的纯度得到了提高。当入射光通过 AOTF1 时,光谱宽度 $\Delta\lambda_1 = 1.18$ nm,一次滤波峰值的衍射效率为 78%;当入射光再通过 AOTF2 时,二次光谱宽度最大值为

$\Delta\lambda_{12} = 0.77$ nm,双滤波强度最大的峰值衍射效率为 61%。衍射效率降低了 15%,光谱宽度减少了 0.31 nm。通过调谐 AOTF2 的频率,系统地分析了二次滤波的衍射效率和光谱宽度的变化规律。

图 4 和图 5 是在确定的参考中心波长 $\lambda_1 = 556.41$ nm 下,通过改变 AOTF2 的超声频率 f_{a2} 来调谐二次中心波长 λ_{12} 的变化范围,得到二次滤波最大衍射效率和光谱宽度。图 4 给出了二次滤波衍射效率极大值与二次中心波长的调谐关系理论曲线和实际测量结果,可以看出随着二次中心波长增大,衍射效率的最大值逐渐减小,衍射效率的变化规律符合理论分析。图 5 展示了二次滤波光谱宽度和中心波长的变化关系,可以看出,光谱宽度随波长与一次

表1 AOTF1和AOTF2的设计参数和性能指标

Table 1 Designed parameters and performance index of AOTF1 and AOTF2

Item	AOTF1	AOTF2
Working waveband /nm	400-1000	400-1000
Tunable range of acoustic frequency /MHz	75.3-223.5	107.5-193
Incident polar angle /($^{\circ}$)	23.8	21.17
Diffraction polar angle /($^{\circ}$)	21.17	23.8
Optical wedge angle /($^{\circ}$)	6.15	6.50
Spectral resolution /nm	218.5@632.8	174.9@632.8

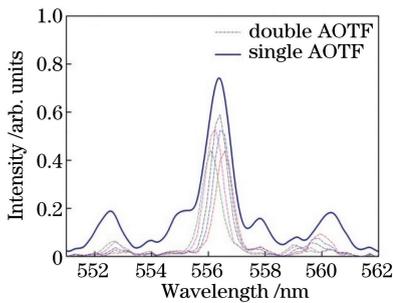


图3 单次滤波和二次滤波衍射效率测量曲线

Fig. 3 Measuring curves for the diffraction efficiency of single filtering and double filtering

中心波长偏离量的增大而减小,光谱宽度的变化符合理论研究。衍射效率和光谱宽度是评价 AOTF 性能的关键因素。双滤波在改善光谱宽度的同时,却以牺牲衍射效率为代价,如何实现两者之间的平衡显得尤为重要。张春光等^[14]在参考单次滤波情况下提出了在二次滤波中引入平衡因子,在保证信号质量的前提下,能够有效地提高光谱分辨率。

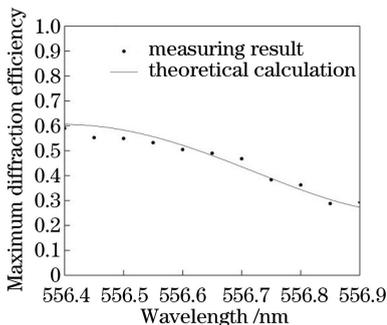


图4 二次滤波衍射效率最大值的理论计算与测量结果

Fig. 4 Theoretical calculation and measuring result of the maximum diffraction efficiency of double filtering

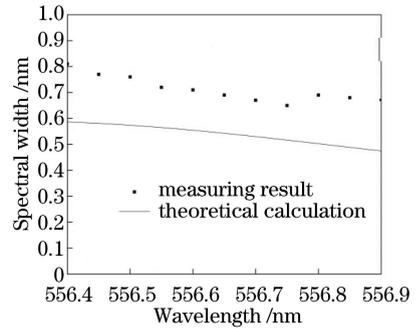


图5 二次滤波光谱宽度的理论计算与测量结果

Fig. 5 Theoretical calculation and measuring result of the spectral width of double filtering

以上研究在中心波长为 $\lambda_1 = 556.41$ nm 的情况下,分析了二次滤波的光谱宽度和衍射效率的变化规律。表2给出了不同超声频率下一次和二次滤波所测得的光谱宽度实验数据和光谱分辨率 R 。 R_1 是一次光谱分辨率, R_{12} 是二次光谱分辨率。通过对比不同超声频率下一次滤波和二次滤波在中心波长相等时所测得的光谱宽度 $\Delta\lambda_1$ 和 $\Delta\lambda_{12}$, 可以看出, $\Delta\lambda_{12}$ 比 $\Delta\lambda_1$ 窄很多。通过对实验数据进行分析,对比了不同频率下的光谱宽度,可以发现双滤波结构较单一滤波器光谱宽度平均降低 37%, 光谱分辨率平均提高 57%, 这说明双滤波技术对提高光谱分辨率十分有效。

表2 中心波长相等时,一次滤波和二次滤波的实验数据

Table 2 Experimental data of single filtering and double filtering at the same center wavelength

f_{a1} / MHz	f_{a2} / MHz	$\lambda(\lambda_1 = \lambda_{12})$ / nm	$\Delta\lambda_1$ / nm	$\Delta\lambda_{12}$ / nm	$R_1 = \lambda_1 / \Delta\lambda_1$	$R_{12} = \lambda_{12} / \Delta\lambda_{12}$
120	121.4	628.23	1.58	1.01	397.62	622.04
125	126.4	607.94	1.40	0.94	434.25	646.74
130	131.2	590.77	1.56	0.96	378.70	615.38
135	136.1	572.24	1.30	0.83	440.18	665.39
140	140.1	556.41	1.18	0.77	515.19	772.61

3.2 图像分析

超光谱图像可以简单地理解为同一空间位置的宽带电磁波图像通过色散棱镜得到不同光谱波段的窄带电磁波图像,其以电磁波谱分析和成像光谱学为基础。电磁波谱分析用来研究不同物质的发射、反射、吸收电磁波能量的特性。成像光谱学是按照电磁波谱系的规律对不同波长的电磁波能量进行的排列记录。如图6所示,以胃癌组织切片为对象,通过超光谱成像系统,以图像立方体的形式记录了超光谱图像数据,它的每一层代表着特定波长的图像,实现了图谱合一。

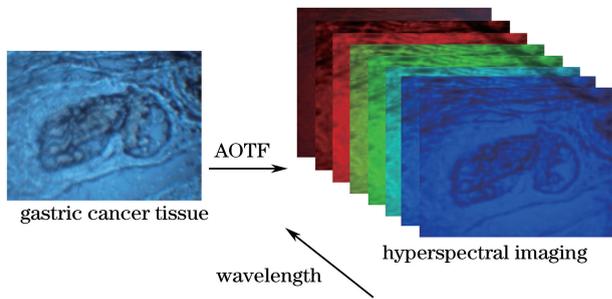


图6 AOTF分光原理图

Fig. 6 Spectroscopic principle for AOTF

经过对比,选用相关性比较小的 110, 140, 170 MHz 的胃癌组织的超光谱图像,对应的波长分别为 651.23, 538.52, 466.97 nm,并通过 Matlab 2016 版软件对三个波长的图像进行 RGB 三通道伪彩色融合^[15-16]。图 7(a)为胃癌组织原始图像,图 7(b)为超光谱 RGB 图像融合图像。从这两幅图像的某些轮廓和形态研究出发,可以发现,在红色

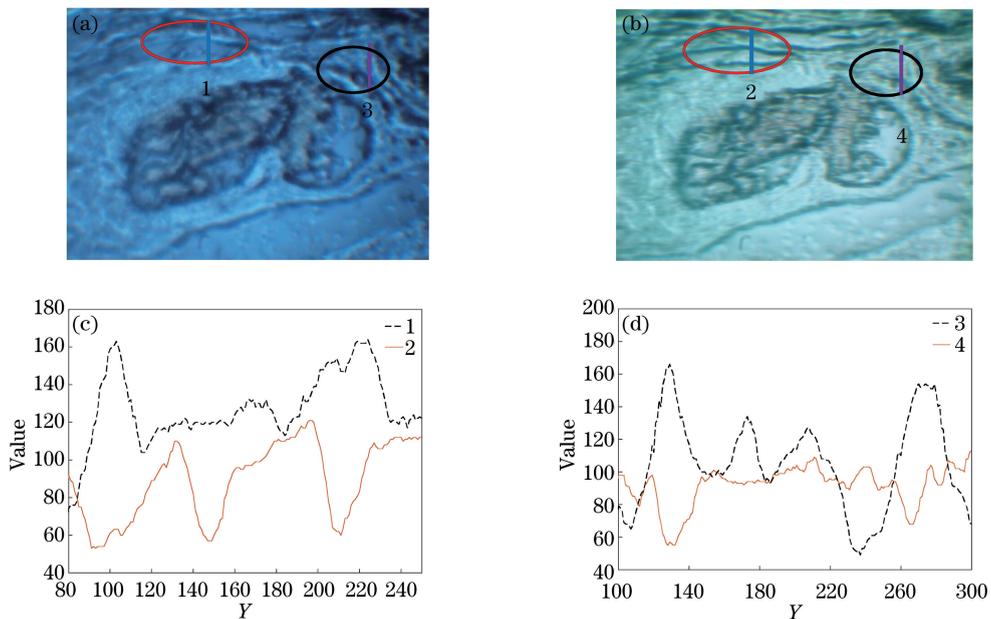


图7 (a)胃癌组织显微图;(b)超光谱 RGB 图像融合图;(c)蓝色纵向直线区域的灰度值曲线;(d)紫色纵向直线区域的灰度值曲线

Fig. 7 (a) Gastric cancer micrograph; (b) fusion graph of hyperspectral RGB image; (c) gray value curves of the blue vertical line region; (d) gray value curves of the purple vertical line region

4 结 论

作为一种分光元件,AOTF 在超光谱成像领域具有广阔的应用前景。针对二次滤波法实现光谱分辨率提高的基本原理,系统地分析了二次滤波的衍射效率和光谱宽度的变化规律。通过双滤波系统结合显微镜对胃癌组织进行成像研究和分析,利用图像融合技术,有效地凸显胃癌组织图像的细节,该研究结果

圆圈区域中超光谱 RGB 图像融合图比原图像轮廓细节更加明显,黑色圆圈区域的纹理也比较细腻平滑,这反映出窄带信号相比宽带信号在不同区域的光谱吸收存在差异性。它们的相关系数为 0.5211,说明图像信息之间具有很强的差异性。

为了对这种差异性进行客观地描述,分别选取图 7(a)和(b)局部纵向直线区域的灰度值进行比较,由图 7(c)可知,1 和 2 灰度值曲线几乎不相交且多处差值较大,说明图 7(a)和(b)在蓝色直线区域差异性较大;同理,由图 7(d)可知,3 和 4 灰度值曲线相对较平缓,但仍有几处差值较大,说明图 7(a)和(b)在紫色直线区域仍存在较大的差异性。

由图 7 的分析可知,通过对胃癌组织图像进行像素级超光谱 RGB 图像融合,有效地提高了胃癌组织图像的空间分辨率。通过双滤波超光谱显微成像系统,可以得到更多波谱图像,且它们之间的相关性越小,越能有效地检测出目标之间细小的差异。

表明超光谱成像在医学领域具有广阔的应用前景。

参 考 文 献

- [1] Machikhin A, Pozhar V, Batshev V. Double-AOTF-based aberration-free spectral imaging endoscopic system for biomedical applications [J]. Journal of Innovative Optical Health Sciences, 2015, 8 (3): 1541009.
- [2] Wang H, Huang J F, Zhang C G, et al.

- Experimental research on improving the spectral resolution of an acousto-optical tunable filter by series double-filtering technique [J]. *Journal of Optoelectronics • Laser*, 2015, 26(7): 1255-1259.
- 王号, 黄峻峰, 张春光, 等. 利用串联双滤波技术改善声光滤波器光谱分辨率的实验研究[J]. *光电子·激光*, 2015, 26(7): 1255-1259.
- [3] Wang P C, Zhang Z H. Hyperspectral imaging performance based on two TeO₂ acousto-optic tunable filters[J]. *Applied Optics*, 2017, 56(6): 1647-1653.
- [4] Zhang R, Li K W, Chen Y Y, *et al.* Image processing method to improve AOTF spectral resolution and spatial resolution [J]. *Journal of Modern Optics*, 2016, 63(21): 2203-2210.
- [5] Yang W, Liu Y, Xiao L F, *et al.* Suppression of sidelobe levels using two cascaded sing-stage acousto-optic tunable filters[J]. *Acta Physica Sinica*, 2009, 58(1): 328-332.
- 杨薇, 刘迎, 肖立峰, 等. 两级串联声光可调谐滤波器旁瓣抑制的研究[J]. *物理学报*, 2009, 58(1): 328-332.
- [6] Zhang C G. The technology of the acousto-optic tunable filter based on the hyperspectral imaging system [D]. Harbin: Harbin Institute of Technology, 2008: 83-89.
- 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: 83-89.
- [7] Gao Q, Zhang C G, Wang H, *et al.* Hyperspectral imaging of human gastric parietal cells based on narrowband AOTF [J]. *Laser & Optoelectronics Progress*, 2015, 52(12): 122205.
- 高强, 张春光, 王号, 等. 基于窄带 AOTF 人体胃壁细胞组织的超光谱显微成像[J]. *激光与光电子学进展*, 2015, 52(12): 122205.
- [8] Zhang X H, Yang G, Yang Y B, *et al.* Hyperspectral and panchromatic images fusion method based on multi-feature [J]. *Infrared Technology*, 2016, 38(10): 832-837.
- 张筱晗, 杨桃, 杨永波, 等. 基于多特征的高光谱与全色图像融合方法[J]. *红外技术*, 2016, 38(10): 832-837.
- [9] Pan S W. Medical image fusion algorithms based on multi-scale analysis [D]. Hangzhou: Zhejiang Sci-Tech University, 2017: 40-51.
- 潘树伟. 基于多尺度分析的医学图像融合算法研究[D]. 杭州: 浙江理工大学, 2017: 40-51.
- [10] Yin W, Li Y X, Zhou Z M, *et al.* Remote sensing image fusion based on sparse representation[J]. *Acta Optica Sinica*, 2013, 33(4): 0428003.
- 尹雯, 李元祥, 周则明, 等. 基于稀疏表示的遥感图像融合方法[J]. *光学学报*, 2013, 33(4): 0428003.
- [11] Liao J S, Wang L G. Hyperspectral image classification method based on fusion with two kinds of spatial information [J]. *Laser & Optoelectronics Progress*, 2017, 54(8): 081002.
- 廖建尚, 王立国. 两类空间信息融合的高光谱图像分类方法[J]. *激光与光电子学进展*, 2017, 54(8): 081002.
- [12] Yang H, Wu X T, He B G, *et al.* Image fusion based on multiscale guided filters [J]. *Journal of Optoelectronics • Laser*, 2015, 26(1): 170-176.
- 杨航, 吴笑天, 贺柏根, 等. 基于多尺度导引滤波的图像融合方法[J]. *光电子·激光*, 2015, 26(1): 170-176.
- [13] Lü Z, Chen Y H, Xue P, *et al.* Image distortion analysis and correction study of AOTF camera imaging process [J]. *Laser & Optoelectronics Progress*, 2017, 54(9): 091101.
- 吕泽, 陈友华, 薛鹏, 等. AOTF 相机成像过程中的图像畸变分析及校正研究[J]. *激光与光电子学进展*, 2017, 54(9): 091101.
- [14] Zhang C G, Zhang Z H, Wang H, *et al.* Development of double-filtering imaging acousto-optic tunable filter with increased spectral resolution [J]. *Optics Letters*, 2008, 33(18): 2020-2022.
- [15] Du L, Sun H Y, Wang S, *et al.* High dynamic range image fusion algorithm for moving targets [J]. *Acta Optica Sinica*, 2017, 37(4): 0410001.
- 都琳, 孙华燕, 王帅, 等. 针对动态目标的高动态范围图像融合算法研究[J]. *光学学报*, 2017, 37(4): 0410001.
- [16] Yang C, Yang B, Huang G Y. Remote sensing image fusion based on multispectral image super-resolution [J]. *Laser & Optoelectronics Progress*, 2016, 53(2): 021001.
- 杨超, 杨斌, 黄国玉. 基于多光谱图像超分辨率处理的遥感图像融合[J]. *激光与光电子学进展*, 2016, 53(2): 021001.