

超宽带光源频谱域相干层析术的光谱标定方法

曹文娟, 高万荣*, 伍秀玳

南京理工大学电子工程与光电技术学院, 江苏 南京 210094

摘要 基于超宽带光源频谱域相干层析术, 提出一种适用于实际系统的多普勒频移标定方法。该方法先用光路模块整体运动替代传统的平面镜运动, 使标定方法适用于实际情况, 然后在运动中采集一系列随时间变化的光谱, 最后通过傅里叶变换分析光谱分布范围。结果表明, 相比于传统标定方法, 所提标定方法拥有更高的精度, 系统轴向分辨率提高了 $0.34 \mu\text{m}$, 在实际生物组织成像中有更好的成像效果。

关键词 成像系统; 谱域光学相干层析成像术; 光谱标定; 多普勒频移; 轴向分辨率

中图分类号 TN247

文献标识码 A

doi: 10.3788/LOP56.101103

Spectral Calibration Method for Spectral Domain Coherence Tomography with Ultra-Wideband Light Source

Cao Wenjuan, Gao Wanrong*, Wu Xiupin

School of Electronic and Optical Engineering, Nanjing University of Science and Technology,
Nanjing, Jiangsu 210094, China

Abstract Based on spectral domain optical coherence tomography with ultra-wideband light source, one Doppler shift calibration method suitable for a practical system is proposed, in which the mirror motion in the traditional method is replaced by a moving optical-path module, thereby enabling its applications in actual situations. After acquiring a series of time-varying spectra in motion, the proposed method is used to analyze the spectral distribution range via Fourier transform. Compared with the traditional calibration method, the proposed method is more precise and the axial resolution of the system is improved by $0.34 \mu\text{m}$. Thus, this method improves the imaging effect in actual biological tissue imaging.

Key words imaging systems; spectral domain optical coherence tomography; spectral calibration; Doppler shift; axial resolution

OCIS codes 110.4500; 030.1670; 070.4790

1 引言

光学相干层析成像(OCT)是一种非侵入式、高分辨率的生物组织成像技术^[1-2]。自 20 世纪 90 年代初应用于临床医学以来,关于活体病理成像如眼组织病灶成像的研究得到了突破性进展,人们对一些疾病发展过程的认识得到了提高,但其成像速度是限制该技术发展的重要因素^[3-4]。近年来,谱域相干层析成像(SDOCT)的发展弥补了这一不足。相

比于传统的时域相干层析成像(TDOCT),SDOCT 通过对相干光谱的傅里叶分析可以获取深度方向的信息,不需要进行深度方向的扫描,极大地缩短了成像时间,提高了成像速度^[5]。SDOCT 过程中所获得的相干光谱在光谱仪的线阵电荷耦合器(CCD)上按波长 λ 均匀分布,但被测样品深度信息与波数 k 之间是由傅里叶变换相联系,因此,需要先对相干光谱的波数域进行均匀化,再进行快速傅里叶逆变换(IFFT)才能获得样品的深度信息^[6]。

收稿日期: 2018-10-12; 修回日期: 2018-12-05; 录用日期: 2018-12-20

基金项目: 科技部国家重点研发计划“重大科学仪器设备开发”重点专项(2017YFF0107100)、国家自然科学基金(61275198,60978069)

* E-mail: wgao@njjust.edu

所获光谱在波数域均匀化的方法可以分为两种。一种是对光谱仪本身进行改进,即通过改变光谱仪硬件构造使得相干光通过光谱仪后直接按波数 k 在 CCD 上均匀分布。Hu 等^[7]在普通光栅光谱仪中增加了一块特制的棱镜,使光谱在 CCD 上能够直接按波数均匀分布。Zhang 等^[8]利用菲涅耳波带片(FZP)代替光栅作为分光和聚焦光学元件,利用 FZP 的焦距和波数之间的关系使光谱直接在波数域上均匀分布。这种改变光谱仪结构的方法简单直接,但设计及调校难度大,同时也增加了整个系统的复杂性和不稳定性。另一种方法是先确定 CCD 上波长分布的位置,再通过插值重采样的方法实现波数均匀化。Wang 等^[9]在宽带光源中,耦合了小部分 670 nm 的单色光用于视觉引导,通过拟合标准光谱分析仪(OSA)与实际 CCD 上的光谱来确定波长分布的位置,该方法需要额外的单色光源。Ding 等^[10]进一步改进该方法,通过 OSA 和 CCD 上光谱干涉图的迭代映射,得到多组校准系数。再通过比较这些系数对轴向点扩展函数(PSF)幅度的影响,得到最佳系数。成功避免了额外光源的使用,但却造成计算量成倍增加。

随着相位解包裹算法的提出^[11],另一种新的标定方法应运而生。Wang 等^[12]通过在样品臂放置平面镜改变光程差来获取两幅干涉图,对其分别进行希尔伯特变换得到相位并解包裹,通过相减消除色散影响后,利用相位与波长的关系来确定波长与 CCD 像素点的位置。该方法能够实现的前提是光谱起始波长已知,而实际实验中光谱的起始波长往往是未知的。Faber 等^[13]提出了一种无需知道光源具体带宽和范围的多普勒频移法,只需在样品臂放置平面镜并使其在成像范围内匀速运动,在运动时间内,所获得的一系列光谱中每个像素的时间轨迹将被一个与速度有关的频率调制,沿时间轴对光谱进行傅里叶变换即可分离出这一频率,并用于波数均匀化以及标定具体像素点所对应的波长。

虽然已知相干光谱条纹的具体波长对于结构图像的重建不是必需的,因为图像重建只需保证光谱在波数域均匀分布即可,但是在一些功能型 OCT 如多普勒 OCT 以及光谱 OCT 中却是必要的,在达到微米分辨率的 SDOCT 中,波长范围以及分布位置的精确校准尤为重要。在 SDOCT 中,深度方向的信息是通过对干涉光谱信号进行 IFFT 获得的,校准偏差所引起的非均匀采样会导致傅里叶变换后的系统轴向 PSF 随着成像深度的加深而展宽,也就是系统轴向分辨率变差。生物组织成像中,超宽带

光源的微米级 SDOCT 的主要探测目标为细胞组织结构而非简单的层状结构,所以轴向分辨率的改善即光谱的精确标定至关重要^[14]。

本文搭建了一套谱域光学相干层析成像系统,在系统现有结构的基础上通过多普勒频移标定方法对其光谱进行标定。实验过程中,样品臂平面镜不动,移动整个探测光路,使其更加符合系统实际结构的特点,从而更加精确地标定系统的光谱分布及范围。

2 标定原理

在 SDOCT 工作过程中,CCD 探测到的光谱是样品不同深度处返回的光与参考光相干所得到的光谱的叠加,可以表示为^[6]

$$I(k) = S(k) \left| \alpha_R \exp(i2kr) + \int_0^{+\infty} \alpha(z) \exp(i2kz) dz \right|^2, \quad (1)$$

式中: $S(k)$ 为光源的功率谱密度函数; k 为波数; r 为参考臂长度; α_R 为参考臂的反射系数,可近似为 1; $\alpha(z)$ 是被测样品深度为 z 处的反射系数,表征了样品的内部结构信息。为了获取 $\alpha(z)$ 的值,令 $\int_0^{+\infty} \alpha(z) \exp(i2kz) dz = A(k)$,对(1)式进行 IFFT,得到

$$\begin{aligned} \text{IFFT}[I(k)] &= \text{IFFT}[S(k)] \otimes \\ &\text{IFFT}\{[1 + A(k)][1 + A^*(k)]\} = \\ &\Gamma(z) \otimes \{\delta(z) + \alpha(z) + \alpha(-z) + AC[\alpha(z)]\}, \end{aligned} \quad (2)$$

式中: $*$ 为共轭; \otimes 为卷积符号; $\Gamma(z)$ 为伽玛函数; $\delta(z)$ 为狄拉克函数; $AC[\alpha(z)]$ 为 $\alpha(z)$ 的自相关项,代表不同深度处返回光之间产生的干涉,相比于参考臂干涉的干涉信号强度可忽略不计。从(2)式可以看出,样品的深度信息可以通过对干涉光谱在波数域作 IFFT 得到,但在 SDOCT 系统中,CCD 上探测的光谱是按波长均匀分布的,所以需要进行标定。整个标定的过程分为两个部分。第一步是使光谱在波数域实现均匀分布,但光谱上具体某一位置的波数值是未知的,任何能被光谱仪探测到并与波数呈线性关系的物理量 q 都可以作为标定依据^[15-16]。当物理量 q 线性增加时,波数也就实现了均匀采样,如图 1 所示, q 可以表示为

$$q_i = \gamma_q \cdot k_i + b, \quad (3)$$

式中: i 为在波数域均匀重采样后的光谱上的重采样点; k_i 为第 i 个采样点处的波数值; γ_q 为物理量 q 与波数 k 呈线性关系中的斜率; b 为截距。当物理

量与波数 k 成正比时, b 值为 0, 此时物理量 q 值随采样点数均匀增加, 即

$$q_i = q_0 + \frac{q_{M-1} - q_0}{M-1} \cdot i, \quad (4)$$

式中: q_0 为重采样后光谱中第 1 个采样点处的物理量 q 值; q_i 为第 i 个采样点处的 q 值; q_{M-1} 为最后一个采样点处的 q 值(重采样后共有 M 个采样点); $i=0, 1, \dots, M-1$, M 为波数域均匀化后的光谱上的采样总点数。原始光谱中横坐标对应的是波长, 所以 q 值并不是线性增加的, 要通过插值的方法进行波数均匀化。插值重采样的具体方法是: 通过令 $m_i = m(q_i)$, 即取原始光谱(波长均匀分布)中 q_i 值所对应的点 $m(q_i)$ 为新的采样点 m_i , 这样按 m_i 分布的光谱就达到了在波数域均匀分布的目的, 其中 m_i 代表均匀采样后的第 i 个采样点, 而 $m(q_i)$ 代表原始波长均匀分布的光谱中物理量的值为 q_i 时所对应的横坐标的像素点。

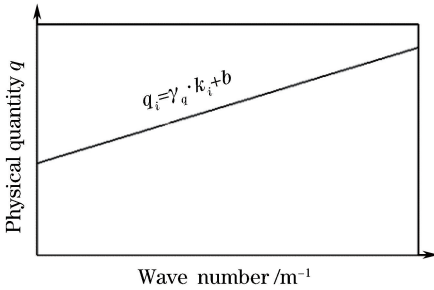


图 1 物理量 q 与波数的关系示意图

Fig. 1 Schematic illustrating relationship between physical quantity q and wave number

第二步是具体标定出波数域均匀化后的光谱上每个点处的波数值以及波长值。从(3)式变换可得, 因采用的多普勒频移方法中多普勒频移^[17-18]与波数的关系为 $f = 2\nu k$, 所以在这里 b 的值为 0, 则有

$$\gamma_q = \frac{\Delta q}{\Delta K} = \frac{\Delta q}{M \Delta k}, \quad (5)$$

式中: Δk 为波数域均匀化后相邻采样点间的波数间隔。差值 $\Delta q = q_{\max} - q_{\min}$ 的值可以通过实验得到, 但 $\Delta K = M \Delta k$ 所表示的相干光谱波数范围的值是未知的, 需要通过最大成像深度 z_{\max} 来间接表示, 成像深度可以通过标定实验得到, 因为 $z_{\max} = \frac{\pi}{2 \Delta k}$, 所以可得^[19]

$$\Delta K = M \Delta k = \frac{\pi M}{2 z_{\max}}. \quad (6)$$

将(6)式代入(5)式可得

$$\gamma_q = \Delta q \cdot \frac{2 z_{\max}}{\pi M}. \quad (7)$$

光谱重采样点代表的具体波数值可以通过将(7)式代入(3)式得到, 即

$$k_i = \frac{q_i}{\Delta q} \cdot \frac{\pi M}{2 z_{\max}}, \quad (8)$$

这样就完成了重采样光谱上每一点具体波数值的标定, 波长也随之可得。

在 Makita 等^[20]的研究中, q 代表相干光谱解包裹后得到的相位, 而在 Faber 提出的多普勒频移法中, q 代表由于样品臂平面镜运动而引入的多普勒频移, 本文选择后者来进行光谱标定。

3 实验系统和多普勒频移提取

搭建的 SDOCT 成像系统原理图如图 2 所示, 利用多普勒频移法对该系统进行标定。

系统采用迈克耳孙干涉结构, 主要包括三个部分: 光源、迈克耳孙干涉光路和探测臂。光源为荷兰 NKT Photonics 公司的超连续谱激光器, 光从光源发出进入单模光纤后经过分束比为 50 : 50 的 2×2 光纤耦合器, 其中一束光通过透镜 Lens 1 后准直。在平面分束镜处, 一半的光被反射进入参考臂, 通过透镜 Lens 2 后会聚在参考镜表面, 被反射回来后形成参考光。另一半的光则透过分束镜进入样品臂, 通过透镜 Lens 3 后会聚在样品表面。其中, 参考光路和样品光路被集中放置在一块固定板上, 固定板固定在轴向电动位移平台(Thorlabs LNR50S, Travel range 50 mm)上, 可匀速运动。参考光和样品后向散射光形成相干光束传输到探测臂中, 由 Lens 4 准直后入射到 1200 lp/mm 的透射光栅上, 然后宽带光束按波长分光。最后由 Lens 5 将各个波长的光束聚焦到线阵 CCD(4096 pixel, $10 \mu\text{m} \times 10 \mu\text{m}$)的感光面上。

实验过程中, 在样品臂放置一块平面镜作为样品, 由于系统实际结构中样品臂空间不足, 故平面镜在成像深度范围内的匀速运动变为光路模块的整体运动。通过控制与光路模块相连的电动位移平台实现相对运动。在样品臂匀速移动的过程中, CCD 探测到一系列随时间变化的干涉光谱, 通过数据采集卡采集系统运动过程中一系列等时间间隔的相干光谱信号(1000 组), 并传输到计算机中进行数据处理。此时, 计算机中存储了一系列按波长均匀采样, 并随时间变化的光谱。1) 先进行波数域均匀化的处理。对采集到的光谱去除直流项后, 利用原先的特征波长法进行波数域均匀化。通过在光源中耦合 630 nm 和 832 nm 波长的单色光, 测得两种光在

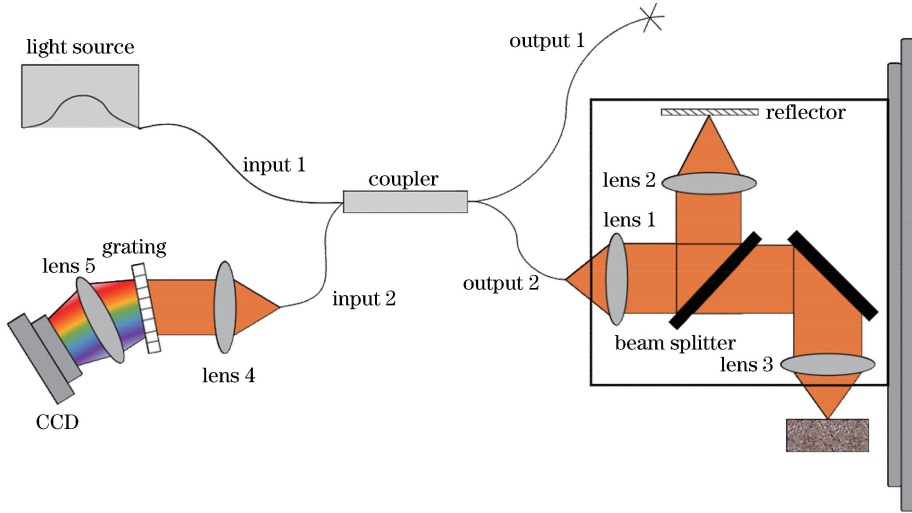


图 2 SDOCT 成像系统原理图

Fig. 2 Schematic of SDOCT imaging system

4096 像素的线阵 CCD 上的位置分别为第 350 像素和第 2714 像素。线阵 CCD 上的波长是等间隔分布的, 确定其中两个像素的波长, 即可求得其他像素的波长值以及线阵 CCD 上的波长范围。由此方法求得的波长范围为 600.09~950.08 nm, 利用波数 k 与波长 λ 的关系 ($k = 2\pi/\lambda$) 求得波数的范围并利用插值算法对光谱重新采样即可得到按波数均匀采样并随时间变化的一系列相干光谱, 如图 3(a) 所示。2) 利用多普勒频移精确标定光谱范围, 对图 3(a) 所示的系列光谱

在时间方向进行快速傅里叶变换处理, 得到了如图 3(c) 所示的多普勒频移分量图, 图中 ω 代表多普勒频移。由于先前的特征波长法只有两种单色光, 所以求得的波长范围存在一定的误差, 提取图 3(c) 中的亮线并用直线拟合, 可以得到如图 1 所示的一条表示多普勒频率与波数关系的直线图。通过 (8) 式可以求出波数的范围, 从而得到相应的波长范围。通过多普勒频移法多次测量取平均值后求得的波长范围为 601.14~952.07 nm。

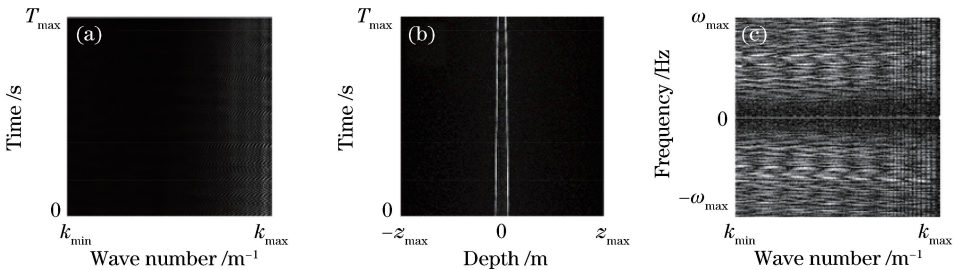


图 3 多普勒频移结果图。(a) 二维光谱; (b) 平面镜结构图; (c) 多普勒频移分量图

Fig. 3 Results of Doppler shift. (a) Two-dimensional spectrum; (b) structural diagram of imaged plane mirror; (c) component map of Doppler shift

4 实验结果

在本次实验中, 运用多普勒频移法对搭建的 SDOCT 进行光谱标定。从两方面展示了标定的效果: 1) 通过对系统 PSF 的测量来比较标定前后的系统轴向分辨率的变化; 2) 对比观察样品成像结构的重建效果。

4.1 PSF 测量

点源在经过任何光学系统后均会因衍射而形成

一个光斑, 通过测量系统的 PSF 可以判断一个系统的分辨率。在 SDOCT 系统中, 轴向 PSF 的测量方法为: 在样品臂放置一块平面镜, 调节位置使之稍稍偏离等光程点, 采集干涉信号后进行结构重建。由于平面镜的镜面在轴向方向可以近似看作是点源, 对于重建后得到的像, 沿轴向绘制像的强度归一化曲线, 其半峰全宽可以用于表征系统在该深度位置处的轴向分辨率。实验结果如图 4 所示, 横线表示重建的平面镜表面。

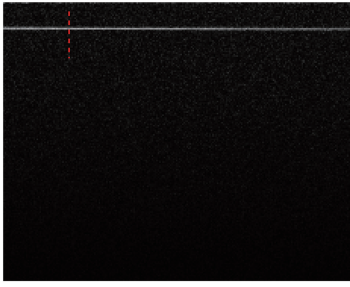


图4 平面镜成像结构图

Fig. 4 Structural diagram of imaged plane mirror

图4为对平面镜成像的结构重建图,通过对虚线标注的深度方向绘制归一化强度曲线来获得系统

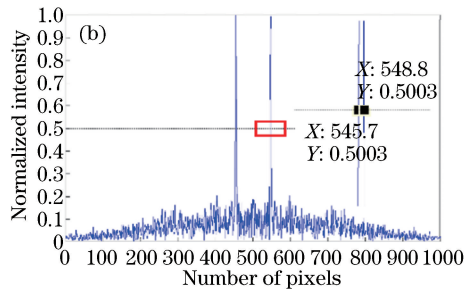
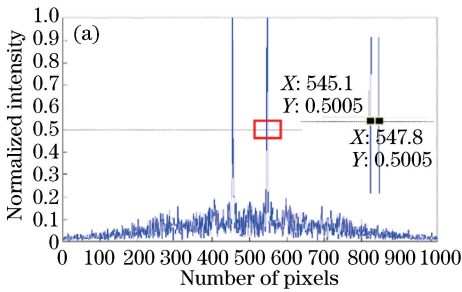


图5 PSF对比图。(a)多普勒频移法标定后;(b)传统标定方法标定后

Fig. 5 Comparison chart of PSF. (a) After calibration via Doppler shift method; (b) after calibration via traditional method

4.2 生物组织成像

对正常的人类食道样本进行三维成像,成像范围为 $600\ \mu\text{m} \times 500\ \mu\text{m}$,其中一次完整的成像过程包含100次B线扫描,每次B扫描包含1000次A扫描。得到的成像结果如图6所示。

食道壁由4层(内到外)组成:黏膜层、黏膜下层、固有肌层和外膜,反映了整个胃肠道的一般组织结构。其中黏膜层由3个组分(内到外)组成:非角化的复层鳞状上皮(SE)、固有层(LP)和黏膜肌层(MM)。固有层会包含一些血管(BV)和疏松结缔组织。为了展示精确标定对系统轴向分辨率的影响,取三维成像中深度为 $150\ \mu\text{m}$ 处的正面图像进行对比,可以看出,当到达一定成像深度时,精确标定后的系统仍具有较好的细节分辨能力,可以显示较为清晰的层状结构信息。而精确标定前的系统则会出现模糊以及区域黏连的现象,在生物组织成像中,不利于分辨细微的组织结构。

5 结论

搭建了一套基于SDOCT的成像系统,利用多普勒频移标定的方法对其光谱进行校准。改变参考

轴向分辨率。图5为多普勒频移法标定后和传统标定方法标定后对同一深度方向所绘制的曲线,取其半峰全宽作为系统的轴向分辨率。虚线标示出了强度为0.5的位置,将框内的部分放大可以看出,标定后的其半峰全宽为2.7 pixel,而标定前为3.1 pixel。为了获得实际分辨率的差异,需要标定每个像素对应的实际长度。通过多次测量已知厚度为 $179\ \mu\text{m}$ 的盖玻片,取其重建结构图像中上下两个表面的像素差,得到 $179\ \mu\text{m}$ 所对应的像素数量;然后用 $179\ \mu\text{m}$ 除以像素差即可得到每个像素对应的实际间距 $0.85\ \mu\text{m}$,因此,实际标定后系统的轴向分辨率提高了 $0.34\ \mu\text{m}$ 。

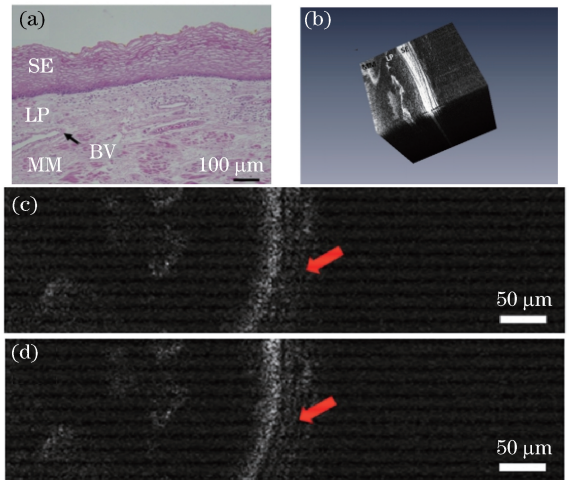


图6 人体食道成像结果。(a)传统的组织学染色显微图;(b)利用所提系统获得的食道样本三维图;(c)传统标定结果图;(d)利用所提多普勒频移法标定后的结果图

Fig. 6 Imaging results of esophageal tract. (a) Traditional histological staining microscopy; (b) three-dimensional image of esophageal tract obtained by proposed system; (c) image calibrated by traditional method; (d) image calibrated by proposed Doppler shift method

镜的运动方式使该方法更加适用于实际系统结构,采集一组随时间变化的二维干涉光谱,通过在时间轴的傅里叶变换获取多普勒频移参数,从而实现光谱范围以及位置的标定。实验结果表明,多普勒频移标定法拥有更高的精度,通过分析 PSF 可知,该方法提高了成像系统的轴向分辨率。此外,该方法在生物组织成像中可以看到之前无法分辨的细微结构,因此在具体应用中更具有优势,为 SDOCT 成像系统在接下来的病理组织成像中的应用提供了必要的条件。

参 考 文 献

- [1] Fercher A F. Optical coherence tomography [J]. *Journal of Biomedical Optics*, 1996, 1(2): 157-173.
- [2] van Velthoven M E, Faber D J, Verbraak F D, *et al.* Recent developments in optical coherence tomography for imaging the retina [J]. *Progress in Retinal and Eye Research*, 2007, 26(1): 57-77.
- [3] Wojtkowski M, Leitgeb R, Kowalczyk A, *et al.* *In vivo* human retinal imaging by Fourier domain optical coherence tomography [J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2002, 7(3): 457-463.
- [4] Shelton R L, Jung W, Sayegh S I, *et al.* Optical coherence tomography for advanced screening in the primary care office [J]. *Journal of Biophotonics*, 2014, 7(7): 525-533.
- [5] de Boer J F, Cense B, Park B H, *et al.* Improved signal-to-noise ratio in spectral-domain compared with time-domain optical coherence tomography [J]. *Optics Letters*, 2003, 28(21): 2067-2069.
- [6] Ha Usler G, Lindner M W. "Coherence radar" and "spectral radar"-new tools for dermatological diagnosis [J]. *Journal of Biomedical Optics*, 1998, 3(1): 21-31.
- [7] Hu Z L, Rollins A M. Fourier domain optical coherence tomography with a linear-in-wavenumber spectrometer [J]. *Optics Letters*, 2007, 32(24): 3525-3527.
- [8] Zhang N, Chen T Y, Wang C M, *et al.* Spectral-domain optical coherence tomography with a Fresnel spectrometer [J]. *Optics Letters*, 2012, 37(8): 1307-1309.
- [9] Wang Z G, Yuan Z J, Wang H Y, *et al.* Increasing the imaging depth of spectral-domain OCT by using interpixel shift technique [J]. *Optics Express*, 2006, 14(16): 7014-7023.
- [10] Ding C, Bu P, Wang X Z, *et al.* A new spectral calibration method for Fourier domain optical coherence tomography [J]. *Optik*, 2010, 121(11): 965-970.
- [11] Fornaro G, Franceschetti G, Lanari R, *et al.* Robust phase-unwrapping techniques: a comparison [J]. *Journal of the Optical Society of America A*, 1996, 13(12): 2355-2366.
- [12] Wang K, Ding Z H. Spectral calibration in spectral domain optical coherence tomography [J]. *Chinese Optics Letters*, 2008, 6(12): 902-904.
- [13] Faber D J, van Leeuwen T G. Doppler calibration method for spectral domain OCT spectrometers [J]. *Journal of Biophotonics*, 2009, 2(6/7): 407-415.
- [14] Liu L B, Gardecki J A, Nadkarni S K, *et al.* Imaging the subcellular structure of human coronary atherosclerosis using micro-optical coherence tomography [J]. *Nature Medicine*, 2011, 17(8): 1010-1014.
- [15] Szkulmowski M, Tamborski S, Wojtkowski M. Wavelength to pixel calibration for FdOCT [J]. *Proceedings of SPIE*, 2015, 9312: 93123L.
- [16] Szkulmowski M, Tamborski S, Wojtkowski M. Spectrometer calibration for spectroscopic Fourier domain optical coherence tomography [J]. *Biomedical Optics Express*, 2016, 7(12): 5042-5054.
- [17] Leitgeb R A, Werkmeister R M, Blatter C, *et al.* Doppler optical coherence tomography [J]. *Progress in Retinal and Eye Research*, 2014, 41(10): 26-43.
- [18] Szkulmowski M, Szkulmowska A, Bajraszewski T, *et al.* Flow velocity estimation using joint spectral and time domain optical coherence tomography [J]. *Optics Express*, 2008, 16(9): 6008-6025.
- [19] Kim J H, Han J H, Jeong J. Accurate wavelength calibration method for spectrometer using low coherence interferometry [J]. *Journal of Lightwave Technology*, 2015, 33(16): 3413-3418.
- [20] Makita S, Fabritius T, Yasuno Y. Full-range, high-speed, high-resolution 1 microm spectral-domain optical coherence tomography using BM-scan for volumetric imaging of the human posterior eye [J]. *Optics Express*, 2008, 16(12): 8406-8420.