

## 激光与光电子学进展

单级虚像相位阵列光谱仪应用于角膜及晶状体  
二维成像光谱色散率研究(特邀)何兴道<sup>1,2\*</sup>, 许锦<sup>1,2</sup>, 刘明轩<sup>1,3</sup>, 史久林<sup>1,2,3\*\*</sup><sup>1</sup>南昌航空大学江西省光电信息科学与技术重点实验室, 江西 南昌 330063;<sup>2</sup>北京航空航天大学仪器科学与光电工程学院, 北京 100191;<sup>3</sup>南昌航空大学无损检测技术教育部重点实验室, 江西 南昌 330063

**摘要** 基于单级虚像相位阵列(VIPA)的布里渊散射光谱信号检测技术具有结构简单、光通量高的特点,在透明生物组织弹性快速检测方面具有优势。眼角膜和晶状体是典型的透明组织,但由于单级 VIPA 光谱仪中布里渊信号易被弹性散射淹没,限制了其信噪比和分辨率的提高,成为临床进一步应用的技术瓶颈。针对这一问题,从理论和实验两方面探究了提升单级 VIPA 布里渊光谱检测系统性能的方法。利用 VIPA 的傍轴近似色散模型,理论分析了柱面透镜前准直光束的半径、柱透镜焦距、球面透镜焦距和 VIPA 倾斜角度对单级 VIPA 光谱仪色散率的影响。研究表明,影响色散率的主要因素是球面透镜焦距、VIPA 倾斜角度和探测器分辨率。在实际测试系统中,对一种变焦镜头与高分辨 CMOS 相机结合的信号接收装置进行有效的参数设计与系统匹配,实现了色速率与散射信号强度的平衡,优化了光谱仪系统各项参数,提升了该检测系统的性能。应用该单级 VIPA 光谱仪,实现了猪眼角膜和晶状体二维频移成像。该研究结果对于单级 VIPA 光谱仪在临床诊疗领域的应用具有重要意义。

**关键词** 布里渊散射; 虚像相位阵列; 色散率; 频移

中图分类号 O433.1

文献标志码 A

DOI: 10.3788/LOP232462

Dispersion Rate of Single-Stage Virtually Imaged Phased Array Spectrometer  
for Two-Dimensional Imaging of the Cornea and Lens (Invited)He Xingdao<sup>1,2\*</sup>, Xu Jin<sup>1,2</sup>, Liu Mingxuan<sup>1,3</sup>, Shi Jiulin<sup>1,2,3\*\*</sup><sup>1</sup>Jiangxi Provincial Key Laboratory of Opto-Electronic Information Science and Technology,  
Nanchang Hangkong University, Nanchang 330063, Jiangxi, China;<sup>2</sup>School of Instrumentation and Optoelectronic Engineering, Beihang University, Beijing 100191, China;<sup>3</sup>Key Laboratory of Nondestructive Test (Ministry of Education), Nanchang Hangkong University, Nanchang  
330063, Jiangxi, China

**Abstract** Owing to its simple structure and high light output, Brillouin scattering detection technology based on single-stage virtually imaged phase array (VIPA) spectroscopy has enabled the rapid detection of transparent biological tissue elasticity. The cornea and lens are typical transparent biological tissues. However, elastic scattering can easily overwhelm the weak Brillouin signal in a single-stage VIPA spectrometer, thereby limiting the signal-to-noise ratio and resolution enhancement. This problem has hindered further clinical applications of single-stage VIPA technology. Therefore, this paper investigated theoretical and experimental methods for improving the performance of single-stage VIPA spectroscopy. Theoretically, a paraxial approximate dispersion model of the VIPA was constructed to investigate the variations in the dispersion ratio with the collimated beam radius in front of the cylindrical lens, the focal lengths of the cylindrical and spherical lenses, and the tilt angle of the VIPA. The dispersion rate was primarily affected by the focal length of the spherical lens, the VIPA tilt angle, and the detector resolution. Experimentally, a signal-receiving device combining a zoom lens and high-resolution complementary metal-oxide semiconductor camera was designed and matched

收稿日期: 2023-11-09; 修回日期: 2023-12-07; 录用日期: 2023-12-11; 网络首发日期: 2023-12-12

基金项目: 国家自然科学基金(12264031, 61865013)、国家重点研发计划项目(2018YFE0115700)、江西省国际科技合作重点项目(20232BBH80006)

通信作者: \*xingdaohe@126.com; \*\*jiulinshi@126.com

to the system. This device balances the dispersion rate and scattering signal intensity, optimizes the parameters of the spectrometer system, and improves the system performance. This paper originally reports the two-dimensional frequency-shift imaging of *ex-vivo* porcine cornea and lens using a single-stage VIPA spectrometer. The results of this study are expected to advance the field of clinical diagnosis and treatment using single-stage VIPA spectroscopy.

**Key words** Brillouin scattering; virtually imaged phased array; dispersion rate; frequency shift

## 1 引言

单级虚像相位阵列(VIPA)光谱仪作为布里渊显微成像系统中最为简单的系统结构,虽然早期研究结果表明该系统相比于双级和多级 VIPA 光谱仪信噪比更低<sup>[1]</sup>,但是高散射光通量特点使得该系统在生物组织检测速度方面表现更好。近年来,许多学者采用单级 VIPA 光谱仪开展了广泛研究,如探究胚胎发育期间机械特性并进行活体成像<sup>[2]</sup>、评估神经组织粘弹性<sup>[3]</sup>、结合光声技术量化样品折射率<sup>[4]</sup>等。为了优化单级 VIPA 光谱仪系统性能,哈佛医学院、马里兰大学、德州农工大学和伦敦帝国理工学院等研究小组开展了对该光谱仪系统相关技术细节方面的研究。为了降低光谱信号中弹性散射的强度,将该布里渊散射检测技术应用于浑浊液体或不透明组织中,德州农工大学 Meng 等<sup>[5]</sup>在单级和多级 VIPA 系统中引入吸收池,将该技术扩展到脑脊液<sup>[6]</sup>及皮肤组织<sup>[7]</sup>的粘弹性检测中。伦敦帝国理工学院 Antonacci 等<sup>[8]</sup>提出一种利用迈克尔孙干涉仪的干涉相消抑制布里渊光谱中弹性光的新方法,使单级 VIPA 光谱仪系统消光比达到 65 dB。2016 年,该团队<sup>[9]</sup>在 VIPA 系统中加入了空间光调制器,调制 VIPA 输出的散射光束,将光谱对比度提高到了  $10^3$ 。进一步地, Antonacci 等<sup>[10]</sup>通过在 VIPA 后加菱形掩模的方式,降低了单级 VIPA 光谱仪中的信号串扰。由于单级 VIPA 光谱仪极易产生信号串扰,限制了其应用,学者主要采用双级 VIPA 光谱仪开展眼组织<sup>[11-12]</sup>、脑组织<sup>[13]</sup>和小鼠胚胎<sup>[14]</sup>等生物组织弹性检测的相关研究。2023 年,Bevilacqua 等<sup>[2]</sup>为了实现对生物组织的实时成像,将高通量、空间光型单级 VIPA 光谱仪与线性扫描结合,对发育中的果蝇、哺乳动物和小鼠胚胎的三维力学特性进行实时成像,空间分辨率可达  $1.5 \mu\text{m}$ ,时间分辨率可达 2 min。这一突破性进展,使得学者开始重新关注单级 VIPA 光谱仪的性能研究。然而,目前关于如何提升单级 VIPA 系统色散率的研究较少,色散率的改变是否会影响到其他光谱仪性能参数仍需要进一步研究。

基于单级 VIPA 的布里渊检测系统由于色散率较大,范围为  $0.11\sim 0.50 \text{ GHz/pixel}$ ,提取频移时需要对比布里渊信号进行插值处理,为准确提取频移带来了一定的挑战<sup>[2, 15-20]</sup>。主要存在两个明显的缺点:1)光谱插值的方式获得的频移属于预测频移,该预测频移与频移真值之间会因插值方式的优劣存在一定误差;2)插值的方式并不能从根本上提高频移测量精度,采用同

一套系统测量两种样品时,可能会出现测量精度相差较大的现象。因此为了准确提取布里渊频移,保持稳定的频移测量精度,应降低布里渊检测系统色散率。

为了探究降低光谱色散率的方式,本文基于文献<sup>[21]</sup>提出的傍轴近似色散模型,模拟了单级 VIPA 布里渊光谱仪系统各参数对光谱色散率的影响。采用 Zemax 仿真,确定了光谱色散率及光谱分辨率随探测器分辨率变化的规律。依据仿真结果,研制变焦镜头与 CMOS 结合的低色散率布里渊散射检测系统,并通过与早期单级 VIPA 光谱仪系统的对照实验,探究了色散率改变对光谱分辨率、频移测量精度,以及布里渊信号对比度的影响。改进后的单级 VIPA 光谱仪,突破了在眼组织成像方面的限制,实现了离体猪眼角膜表面和距离角膜表面 4 mm 深度处的晶状体的二维频移成像。

## 2 理论分析

对于单级 VIPA 光谱仪,当采用单波长输入时,在焦平面上的输出强度分布<sup>[21]</sup>可表示为

$$I_{\text{out}}(x_{\text{F}}, \lambda) \propto \exp\left(-\frac{2f^2}{F^2} \cdot \frac{x_{\text{F}}^2}{W^2}\right) \times \frac{1}{(1 - Rr)^2 + 4(Rr) \sin^2\left(\frac{k\Delta}{2}\right)}, \quad (1)$$

式中: $x_{\text{F}}$ 是 CCD 上的位置; $\lambda$ 为波长; $W$ 为柱面透镜前的准直光束的半径; $f$ 为柱面透镜的焦距; $F$ 代表聚焦透镜的焦距; $k$ 是入射光波矢大小; $Rr$ 为高反射涂层反射率和抗反射涂层反射率的乘积; $\Delta$ 为相邻干涉级的光程差。光谱色散率通过像素-频率转换比(PR)<sup>[22-23]</sup>确定。

为了理论探究光谱仪系统中各个参数对光谱色散率的影响,模拟不同条件下 VIPA 光谱仪输出光谱强度分布规律。从式(1)中可看出,影响强度分布的参数主要为入射光波长、柱面透镜前的准直光束的半径、柱面透镜的焦距、聚焦透镜的焦距、VIPA 腔内的材料折射率、VIPA 的厚度和 VIPA 的倾斜角,则可通过控制变量法依次探究这些参数对色散率的影响。根据已报道的实验系统参数设置初始输出光谱强度仿真参数,具体如表 1 所示。

### 2.1 柱面透镜前准直光束的半径

图 1(a)给出了不同束腰半径时,VIPA 输出光谱的强度分布,可以看出,改变准直光束半径,不会引起

表 1 单级 VIPA 光谱仪仿真的初始参数设置

Table 1 Initial parameter settings for simulation of a single-stage VIPA spectrometer

Parameter	Value
$\lambda$ / nm	532
$t$ / mm	5.037
$n$	1.46
$f$ / mm	200 <sup>[9]</sup>
$F$ / mm	1000 <sup>[24]</sup>
$\theta_i$ / (°)	1

干涉级次位置及色散率的改变。但是,随着光束半径的增加,干涉级次增多,强度分布轮廓展宽。这种现象将会损耗散射信号强度,干涉级次应较少,准直光束半径不宜过大。图 1(b)给出了干涉级次  $P_1$ 、 $P_2$  和  $P_3$  峰值强度差值随束腰半径变化的规律,从图中可看出,随着束腰半径增加,强度差减小。由于布里渊信号强度与瑞利信号强度成正比,当相邻瑞利信号强度差较大时,难以产生布里渊信号,强度差越小越好。强度差变化曲线斜率为 0(束腰半径  $\geq 5$  mm)时,束腰半径大小合适。同时考虑 VIPA 尺寸的影响,束腰半径的范围为 5~10 mm。

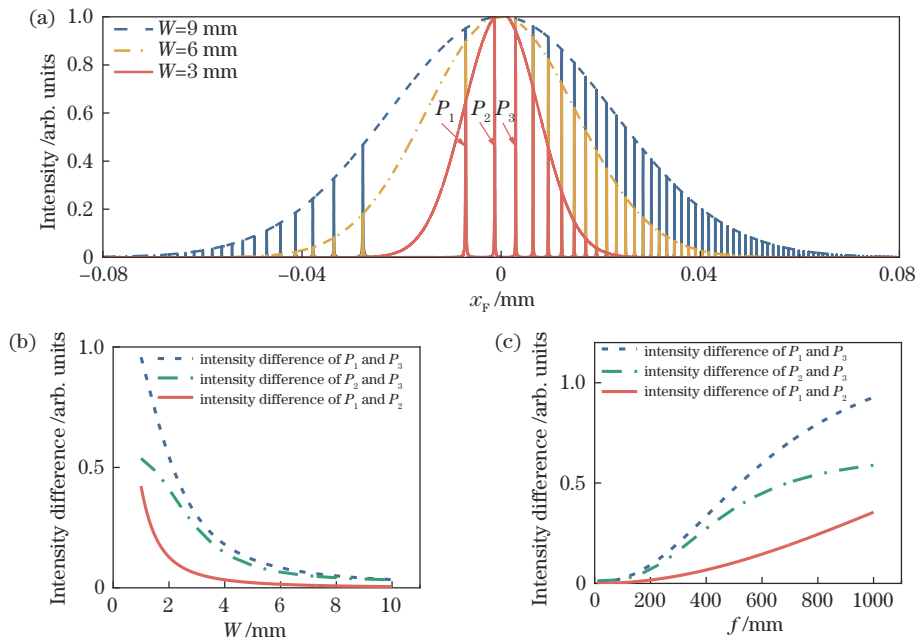


图 1 腰半径和柱面透镜焦距对色散率的影响。(a)准直光束半径为 3 mm、6 mm 和 9 mm 时 VIPA 输出光谱;(b)相邻干涉级次强度差随准直光束半径变化的规律;(c)相邻干涉级次强度差随柱透镜焦距变化的规律

Fig. 1 The effect of waist radius and cylindrical lens focal lengths on dispersion rate. (a) VIPA output spectra at  $W=3$  mm, 6 mm, and 9 mm, respectively; (b) the intensity difference at different waist radii; (c) the intensity difference at different focal lengths of cylindrical lens

### 2.2 柱透镜焦距

依据上述方法,探究柱透镜焦距对 VIPA 输出光谱的影响,结果表明,柱透镜焦距不会影响色散率,强度分布轮廓展宽和干涉级次数目与焦距成反比。图 1(c)给出了干涉级次  $P_1$ 、 $P_2$  和  $P_3$  峰值强度差值随柱面透镜焦距变化的规律,柱透镜焦距  $\leq 50$  mm 时,强度差变化较小。

### 2.3 球面透镜焦距

图 2(a)为不同聚焦透镜焦距下 VIPA 输出光谱的强度分布轮廓,图 2(b)为 VIPA 输出光谱随球面透镜焦距变化的规律,图 2(c)为干涉级次位置随焦距的变化规律,图 2(d)为光谱色散率及干涉级次  $P_1$  和  $P_2$  的强度差值随球面透镜焦距变化的规律。从图中可以看出,强度分布轮廓展宽与球面透镜焦距成正比,随着球面透镜焦距的增大,干涉级  $P_1$ 、 $P_2$  和  $P_3$  在探测器上的

位置逐渐向左移,相邻干涉级次之间的间距增大,则干涉级次之间的采样点数逐渐增加,色散率数值减小。图 2(d)中,当  $F \geq 200$  mm 时,色散率和相邻干涉级次 ( $P_1$  和  $P_2$ ) 强度差的下降趋势逐渐变缓。需要注意的是,常用的探测器尺寸约为 13.2 mm,当焦距大于 1000 mm 时,探测器上接收不到至少 3 个干涉级次,不利于计算频移,因此球面透镜焦距范围为 200~1000 mm。然而,不能一味增大聚焦透镜焦距以降低色散率,焦距越长光传输距离增加,导致散射光衰减,同时增大了光谱仪的尺寸。

### 2.4 VIPA 倾斜角度

依据上述结论及分析方法,将球面透镜焦距设置为 200 mm,模拟不同 VIPA 倾斜角度下 VIPA 的输出光谱,图 3(a)为最高干涉级次位置随 VIPA 倾斜角度变化的规律,图 3(b)为光谱色散率及最高干涉级次强

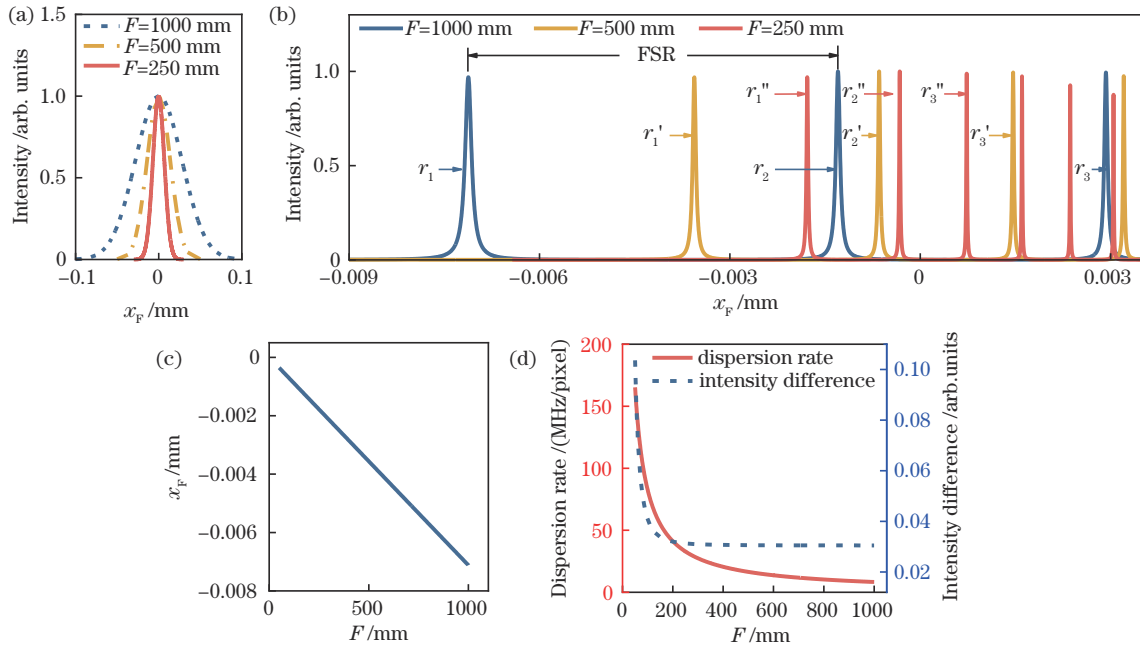


图 2 球面透镜焦距对色散率的影响。(a)球面透镜焦距为 1000 mm、500 mm 和 250 mm 时,VIPA 输出光谱的强度分布轮廓;(b)球面透镜焦距为 1000 mm、500 mm 和 250 mm 时,VIPA 输出光谱随球面透镜焦距变化的规律;(c)最高干涉级次位置随球面透镜焦距的变化规律;(d)光谱色散率及干涉级次  $P_1$  和  $P_2$  的强度差值随球面透镜焦距变化的规律

Fig. 2 The effect of  $F$  on dispersion rate. (a) Envelop of VIPA output spectra at  $F=1000$  mm, 500 mm, and 250 mm, respectively; (b) VIPA output spectra at  $F=1000$  mm, 500 mm, and 250 mm, respectively; (c) the position of the highest order of VIPA output spectra varying with  $F$ ; (d) the dispersion rate and the intensity difference between the highest order and the next order of VIPA output spectra varying with  $F$

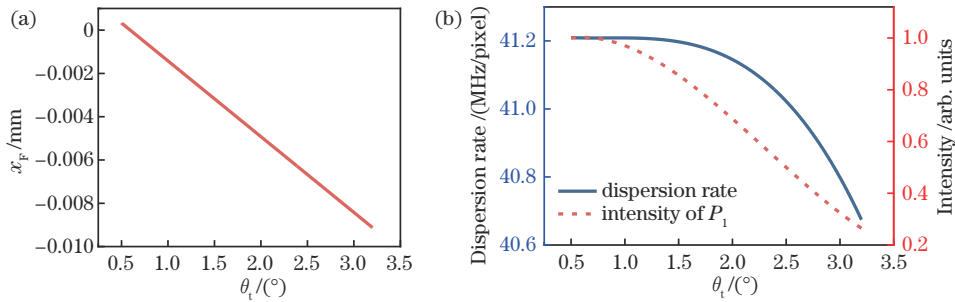


图 3 VIPA 倾斜角度对色散率的影响。(a)最高干涉级次位置随 VIPA 倾斜角度变化的规律;(b)光谱色散率及干涉级次  $P_1$  的强度随 VIPA 倾斜角度变化的规律

Fig. 3 The effect of VIPA tilting angle on dispersion rate. (a) The position of the  $P_1$  order of VIPA output spectra varying with  $\theta_1$ ; (b) the dispersion rate and the intensity of the  $P_1$  order of VIPA output spectra varying with  $\theta_1$

度随 VIPA 倾斜角度变化的规律。研究表明,VIPA 倾斜角度的增加对强度分布轮廓影响较小,但会导致干涉级次位置左移。与改变球面透镜焦距不同的是,改变倾斜角度,强度分布轮廓峰值所处的干涉级次发生改变,这将导致不同倾斜角度下,干涉级次  $P_1$  和  $P_2$  的强度差较大,如图 3(d)所示。从图 3(d)可以看出,在  $0.5^\circ \sim 1.5^\circ$  时,色散率变化稳定,干涉级次  $P_1$  的强度较高。随着倾斜角度的增加,VIPA 输出光谱左移,干涉级次  $P_1$  向强度分布轮廓低值位置逐渐移动,其强度迅速降低,不易出现布里渊信号。

### 2.5 不同探测器分辨率下的色散率

当光谱仪其他参数不变时,相邻瑞利峰之间的距

离不变,则色散率与相邻瑞利峰之间的像素数量直接相关,即与探测器分辨率相关。为了确定相机分辨率对色散率的影响,采用 Zemax 仿真了不同分辨率下单级 VIPA 光谱仪的成像效果,仿真参数如表 2 所示,不

表 2 输出光场仿真的相关参数

Table 2 Parameters setting of the single-stage VIPA spectrometer

Parameter	Value
Source	532 nm, 10 mW, divergence angle is $6.4^\circ$
Focal length of collimating lens /mm	50
Focal length of cylindrical lens /mm	100
FSR of VIPA /GHz	20
Focal length of spherical lens /mm	100
Image area of detector /(mm×mm)	$14.4 \times 14.4$

同分辨率下的色散率如图 4 所示。图 4(a) 给出了分辨率为  $1024 \times 1024$  时的探测器成像效果, 图 4(b) 为色散率随相机分辨率的变化趋势, 图 4(d) 为相机分辨率分别为  $1024 \times 1024$  和  $6000 \times 6000$  时, 图 4(a) 中红线位置处的一维光谱分布曲线。从图中可看出, 相机分辨

率越高, 则色散率数值越小。光谱分辨率为瑞利信号的半高宽<sup>[25]</sup>, 随着色散率的提升, 光谱分辨率得到了显著降低。同时, 在保证信号强度的情况下选择分辨率较高的探测器, 避免单个像素信号强度低, 导致噪声淹没散射信号。

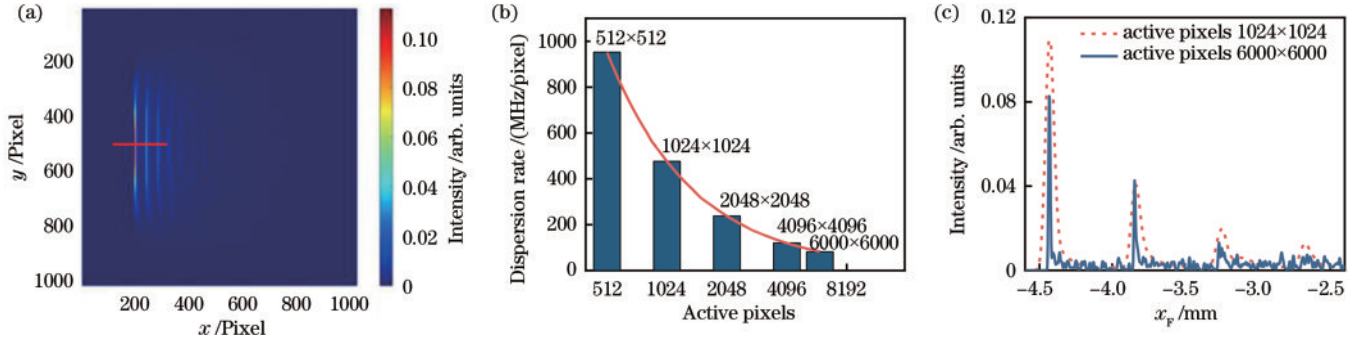


图 4 相机分辨率对色散率的影响。(a) 相机分辨率为  $1024 \times 1024$  时的探测器成像效果; (b) 色散率随相机分辨率的变化趋势; (c) 相机分辨率分别为  $1024 \times 1024$  和  $6000 \times 6000$  时, 图 4(a) 中红线位置处的一维光谱分布曲线

Fig. 4 The effect of camera pixel on dispersion rate. (a) Distribution of output optical when camera pixel is  $1024 \times 1024$ ; (b) change of dispersion rate versus camera pixel value; (c) the one-dimensional spectra distribution curve at the red line position in Fig. 4(a) when camera pixel is  $1024 \times 1024$  and  $6000 \times 6000$ , respectively

### 3 实验测量

#### 3.1 实验系统设计

由上述理论分析可知, 色散率数值与球面透镜焦距、VIPA 倾斜角度和探测器分辨率成反比, 实验中不方便频繁更换探测器, 则选择实验室现有的有源像素尺寸为  $5472 \times 3648$ 、单个像元尺寸是  $2.40 \mu\text{m} \times 2.40 \mu\text{m}$  的高分辨 CMOS 相机作为探测器。由于物镜的数值孔径较小时能降低实验中的布里渊光谱展宽, 为避免由物镜带来的布里渊散射信号展宽<sup>[26]</sup>, 实验中选择数值孔径为 0.14 的物镜将激光束聚焦至样品, 入射窗口直径为 11.2 mm。理论上后向散射信号半径与入射至物镜的光束半径一致, 准直光束半径为 5.6 mm, 满足对柱面透镜前准直光束半径的要求。

由于准直光束半径和柱面透镜焦距仅会影响强度分布轮廓的改变, 球面透镜焦距和 VIPA 倾斜角度会影响强度分布轮廓和峰值位移的改变, 为了清晰地显示单级 VIPA 光谱仪相邻干涉级强度差和色散率与光谱仪各器件参数的关系, 图 5 给出了相邻干涉级强度差和色散率随准直光束半径、柱面透镜焦距、球面透镜焦距和 VIPA 倾斜角度的变化。图 5(a)、(b) 为球面透镜焦距为 1000 mm 和 VIPA 倾斜角度为  $1^\circ$  时, 干涉级  $P_1$  和  $P_2$  以及  $P_2$  和  $P_3$  之间强度差随准直光束半径和柱面透镜焦距的变化。可以看出, 强度差与准直光束半径呈负相关, 与柱面透镜焦距呈正相关。柱透镜焦距  $\leq 50$  mm 时, 强度差变化较小, 但为了使柱透镜的焦点位于 VIPA 内部, 需在柱透镜与 VIPA 之间放置高精密度位移台, 考虑到实验的可操作性, 且柱透镜焦距为 100 mm 时, 相邻干涉级强度差偏小, 则柱面透镜焦距

选择 100 mm。

图 5(c)、(d) 分别是准直光束半径为 5.6 mm 和柱面透镜焦距为 100 mm 时, 干涉级  $P_1$  和  $P_2$  以及  $P_2$  和  $P_3$  之间强度差随球面透镜焦距和 VIPA 倾斜角度的变化。可以看出, 强度差与球面透镜焦距呈负相关, 与 VIPA 倾斜角度呈正相关。然而, VIPA 倾斜角度对强度差的影响要大于球面透镜角度对强度差的影响。原因是随着倾斜角度的增加, VIPA 输出光谱左移, 干涉级次  $P_1$  向强度分布轮廓低值位置逐渐移动, 其强度迅速降低。当球面透镜焦距小于 200 mm 时, 角度对强度差变化无明显规律, 原因是 100 mm 时透镜像散较大, 进而影响了输出光谱的强度分布。图 5(e)、(f) 是相同条件下, 色散率随球面透镜焦距和 VIPA 倾斜角度的变化。可以看出, 准直光束半径和柱面透镜焦距一定时, 色散率与球面透镜焦距和 VIPA 倾斜角度均呈负相关。然而, 由于 VIPA 的角度变化有限, 则 VIPA 倾斜角度对色散率的影响远小于球面透镜角度对色散率的影响。实验中 VIPA 的角度不便于频繁调节, 受实验器材角度调节的局限, VIPA 固定角度调为  $1^\circ$ 。当其他条件一致时, 为了平衡色散率和散射信号强度, 可通过变焦镜头调整信号的放大倍数, 达到低色散率和高散射强度的目的。

#### 3.2 实验装置

图 6 为基于单级 VIPA 的布里渊检测系统实验装置, 其中, 连续激光器输出激光波长为 532 nm、线宽小于 1 MHz 的竖直偏振态的激光束, 光束直径为 1.8 mm, 经变焦的扩束镜(L1 和 L2)扩束后, 光束直径为 11.2 mm, 满足物镜通光直径。扩束后的激光束通过  $1/2$  波片后, 大部分偏振态改为水平偏振态, 透过偏振分束镜, 经  $1/4$

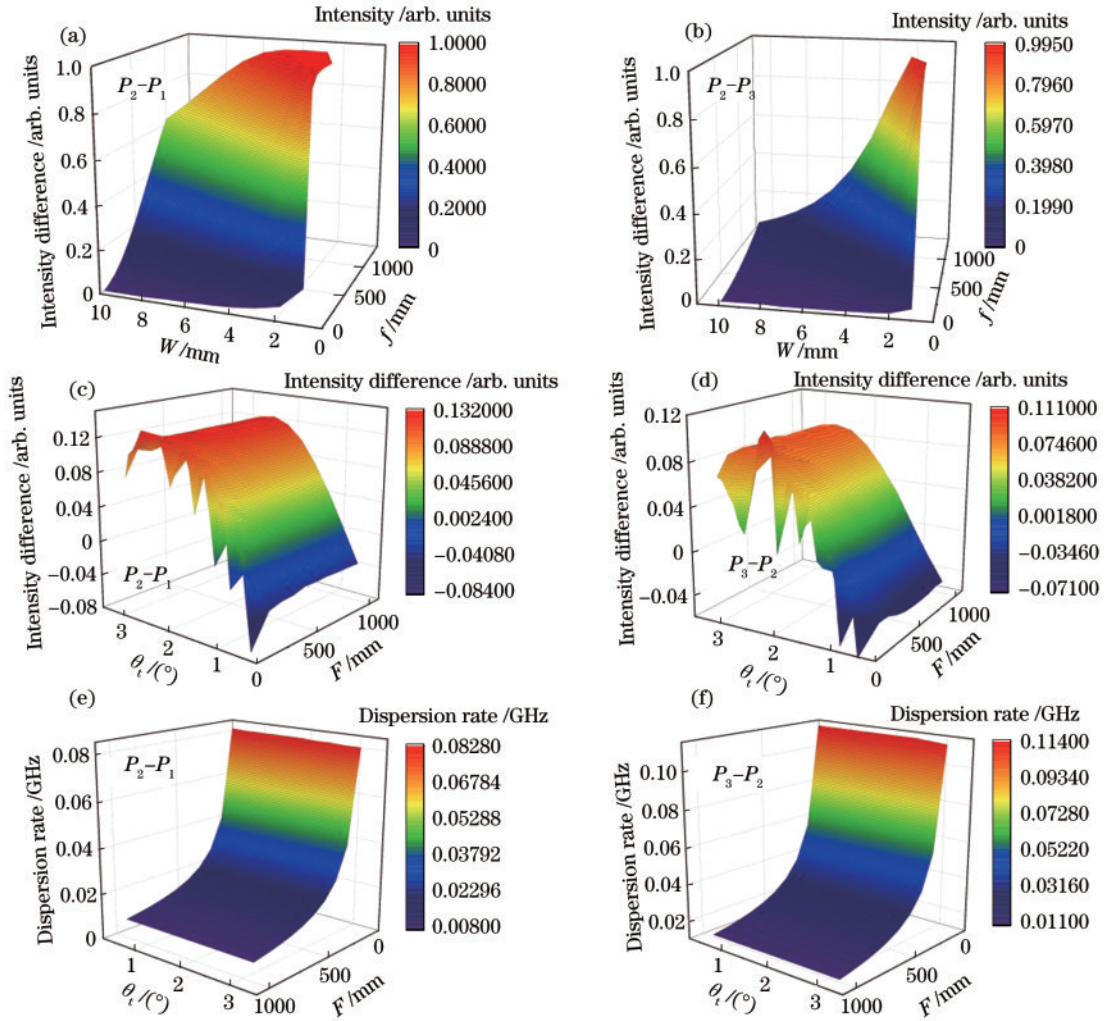


图 5 准直光束半径、柱面透镜焦距、球面透镜焦距和 VIPA 倾斜角度对相邻干涉级强度差和色散率的影响。(a)  $P_2$  与  $P_1$  相邻干涉级次强度差随准直光束半径和柱透镜焦距变化的规律; (b)  $P_2$  与  $P_3$  相邻干涉级次强度差随准直光束半径和柱透镜焦距变化的规律; (c)  $P_2$  与  $P_1$  相邻干涉级次强度差随球面透镜焦距和 VIPA 倾斜角度变化的规律; (d)  $P_3$  与  $P_2$  相邻干涉级次强度差随球面透镜焦距和 VIPA 倾斜角度变化的规律; (e)  $P_2$  与  $P_1$  干涉级次之间色散率随球面透镜焦距和 VIPA 倾斜角度变化的规律; (f)  $P_3$  与  $P_2$  干涉级次之间色散率随球面透镜焦距和 VIPA 倾斜角度变化的规律

Fig. 5 The effect of waist radius, cylindrical lens focal lengths, focal lengths of spherical lens, and VIPA tilting angle on intensity difference and the dispersion rate. (a) The intensity difference between  $P_2$  and  $P_1$  at different waist radii and cylindrical lens focal length; (b) the intensity difference between  $P_2$  and  $P_3$  at different waist radii and cylindrical lens focal length; (c) the intensity difference between  $P_2$  and  $P_1$  at different focal lengths of spherical lens and VIPA tilting angle; (d) the intensity difference between  $P_3$  and  $P_2$  at different focal lengths of spherical lens and VIPA tilting angle; (e) the dispersion rate between  $P_2$  and  $P_1$  at different focal lengths of spherical lens and VIPA tilting angle; (f) the dispersion rate between  $P_3$  and  $P_2$  at different focal lengths of spherical lens and VIPA tilting angle

波片后,由物镜聚焦到样品上。所使用物镜参数如下:数值孔径为 0.14,放大倍数为 5 $\times$ ,横向和轴向分辨率分别为 2  $\mu\text{m}$  和 80  $\mu\text{m}$ 。样品处产生的后向布里渊信号由物镜收集,经 1/4 波片后被 PBS 反射,与入射光束分离,平面反射镜将散射信号光反射至 VIPA 光谱仪系统中。单级 VIPA 光谱仪系统中,散射信号由透镜 L3 和 L4 ( $f_3=f_4=50\text{ mm}$ ) 进行准直后,经柱透镜 CL ( $f=100\text{ mm}$ ) 聚焦至 VIPA 通光窗口处,VIPA 的 FSR 为 20 GHz,倾斜角度约为 1 $^\circ$ 。散射信号经 VIPA 色散后,由变焦镜头(Nikon AF VR-NIKKOR)放大散射信

号,并会聚至有源像素尺寸为 5472 $\times$ 3648 的 CMOS 相机(FL-20BW, Tucsen)中进行信号采集,CMOS 单个像元尺寸是 2.40  $\mu\text{m}$  $\times$ 2.40  $\mu\text{m}$ 。实验过程中激光功率小于 10 mW,积分时间为 200 ms,对系统校准时,变焦镜头应调整至合适位置,使得布里渊信号强度与色散率之间相互平衡。

为了探究采集装置改进前后系统色散率是否降低,使用早期的单级 VIPA 光谱仪装置进行对照实验,其中,柱透镜焦距为 200 mm,球面透镜焦距为 200 mm,选择有源像素为 1024 $\times$ 1024 的 EMCCD

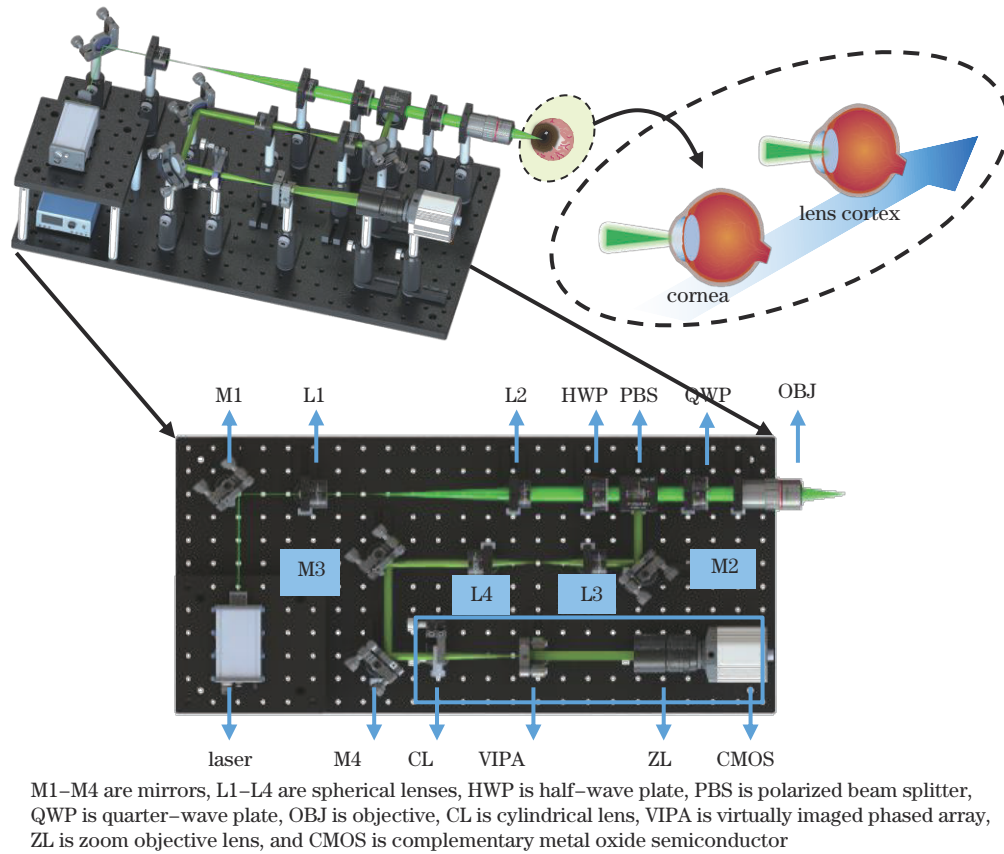


图 6 布里渊检测系统实验装置

Fig. 6 Brillouin detection system experimental device

(iXon Ultra 888, Andor Technology), 并配合消色差双胶合透镜对(MAP103030-A, Thorlabs)。

### 3.3 样品处理

从屠宰场获得新鲜的猪眼。在宰杀之前,这些猪都是健康的,年龄在5~7个月之间。在运输过程中将猪眼浸泡在盐水中冷藏,并在6h之内检测,因为大概6h之后就会变浑浊。测量猪眼角膜时,将猪眼放置在一个可固定的槽中,并将固定槽放置在三维位移台上。为了防止干燥,每10min滴一次磷酸盐平衡生理盐水溶液。

### 3.4 结果及分析

图7给出了分别采用EMCCD和CMOS系统采集的水和橄榄油布里渊信号,图7(a)~(c)为EMCCD相机采集的光谱信号:图7(a)是VIPA的FSR为30GHz时,水的布里渊信号;图7(b)是VIPA的FSR为30GHz时,橄榄油的布里渊信号;图7(c)是VIPA的FSR为20GHz时,水的布里渊信号。图7(d)是VIPA的FSR为20GHz时,CMOS相机采集的水的布里渊信号。在未对布里渊光谱进行插值处理的情况下,采用虚拟亮条纹算法计算布里渊频移<sup>[24]</sup>,图(a)中水的频移为 $(7.48 \pm 0.02)$  GHz,对应的布里渊信号所在干涉级的色散率为 $0.24$  GHz/pixel,图7(b)中橄榄油的频移为 $(8.36 \pm 0.09)$  GHz,色散率为 $0.25$  GHz/pixel。图7(c)水的频移 $(7.54 \pm 0.07)$  GHz,色散率为 $0.24$  GHz/pixel。图7(d)

中水的频移为 $(7.523 \pm 0.038)$  GHz,色散率为 $0.045$  GHz/pixel。对比图7(a)和图7(b)以探究采用同一系统测量不同样品时色散率的变化,对比图7(a)和图7(c)确定不同FSR对色散率的影响,对比图7(c)和图7(d)确定不同信号采集装置对色散率的影响。通过对比研究发现:使用同一装置测量不同样品时,色散率存在细微差别;VIPA的FSR改变对系统色散率无明显影响;CMOS系统相比于EMCCD系统色散率显著减小。频移测量结果及串扰现象与已报道的结果一致<sup>[8]</sup>,验证了所提系统的可行性。

进一步地,从图7可看出,色散率降低后,布里渊散射信号更容易被识别。布里渊信号较好检测,与系统的参数消光比、光谱分辨率和色散率等有关。为探究光谱仪装置的改进对系统性能的影响,图8给出了EMCCD和CMOS系统参数对比结果。图8(a)为两套系统的消光比,从图中可看出,通过严格的光路调整,基于单级VIPA的EMCCD系统的消光比约为60dB,甚至超过了双级VIPA光谱仪系统<sup>[1]</sup>,而CMOS系统受噪声影响,消光比约为42dB。该现象与以往信噪比越高,信号检测现象越好的结论相悖。这说明当光谱分辨率和色散率同时发生改变时,消光比不是评判系统优劣的唯一参数。

根据色散率值,分别分析了图7(c)和图7(d)所用系统的光谱分辨率、水的Stokes信号频移测量精度和

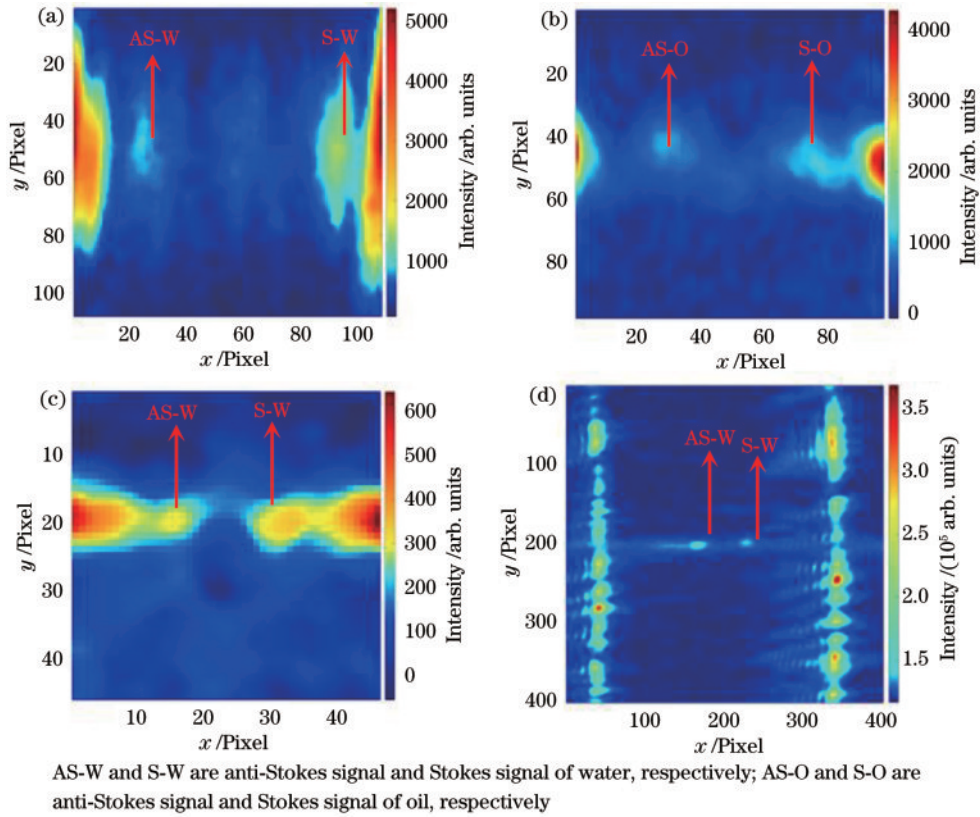


图 7 相机测量的水和橄榄油的布里渊光谱。(a)VIPA 的 FSR 为 30 GHz 时,水的布里渊信号;(b) VIPA 的 FSR 为 30 GHz 时,橄榄油的布里渊信号;(c) VIPA 的 FSR 为 20 GHz 时,水的布里渊信号;(d) VIPA 的 FSR 为 20 GHz 时,水的布里渊信号  
Fig. 7 Brillouin spectra of water and olive oil. (a)(b) Brillouin signals of water and oil when FSR of VIPA is 30 GHz, respectively; (c) Brillouin signals of water when FSR of VIPA is 20 GHz; (d) Brillouin signals of water when FSR of VIPA is 20 GHz

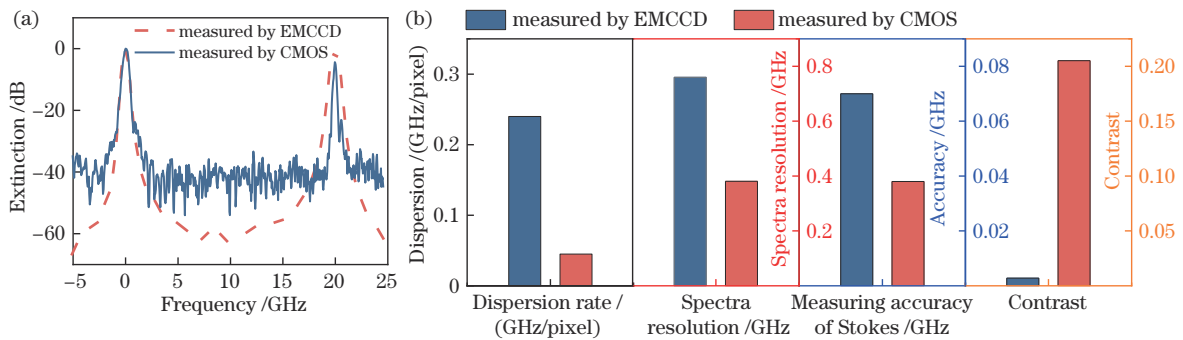


图 8 EMCCD 和 CMOS 系统参数对比。(a)消光比;(b)光谱色散率、光谱分辨率、Stokes 测量精度和布里渊信号对比度  
Fig. 8 Comparison of EMCCD and CMOS system parameters. (a) Extinction ratio; (b) dispersion rate, spectra resolution, measuring accuracy of Stokes, and contrast

信号对比度的影响,具体如图 8(b)所示。信号对比度为图 7(c)和图 7(d)中一维光谱信号的布里渊信号和瑞利信号重叠区域强度与布里渊信号强度的比值。从结果可以看出,提升色散率的同时,光谱分辨率和布里渊频移的测量精度都有明显的提高,信号对比度提高了近 40 倍。在未插值处理的情况下,所提方法的频移测量精度接近已报道论文插值处理后的测量精度 (20 MHz)<sup>[2]</sup>。色散率数值较小时,更易观察到光谱局部微小特征,也更有利提取光谱线宽。

猪眼与人眼极具相似性,因此在前期研究中,通常

采用猪眼进行离体实验。通过对单级 VIPA 光谱仪系统的改进,有效降低了角膜及晶状体散射导致的信号串扰,进而可实现对角膜和晶状体的二维成像。图 9(a)给出了离体猪眼角膜中心  $90 \mu\text{m} \times 840 \mu\text{m}$  区域内的布里渊频移分布图,该区域角膜的平均布里渊频移为  $(8.241 \pm 0.148) \text{ GHz}$ ,与其他研究者所测猪眼角膜的布里渊频移基本一致<sup>[27-29]</sup>。

图 9(b)为图 9(a)中红色矩形区域内晶状体的布里渊频移,该位置距离角膜表面 4 mm,该区域晶状体的平均布里渊频移为  $(9.163 \pm 0.131) \text{ GHz}$ 。选择对



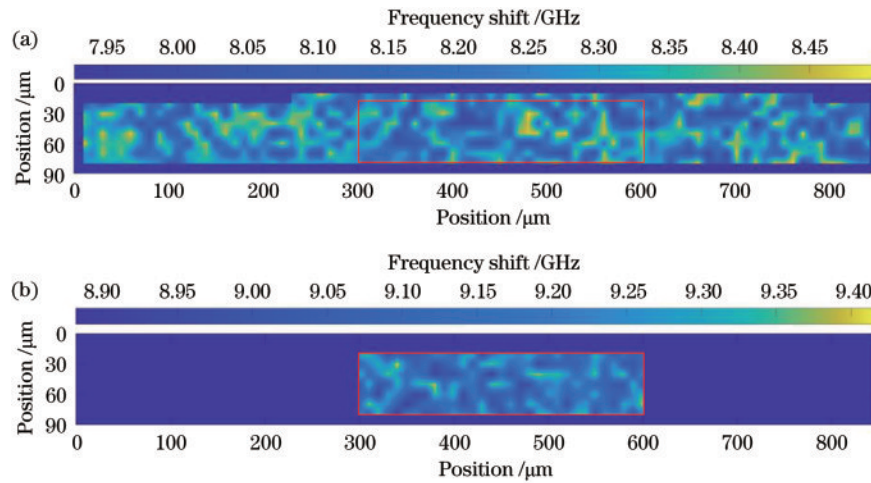


图9 离体猪眼角膜和晶状体的布里渊频移测量值。(a)角膜中心区域的频移分布图;(b)距离角膜表面4 mm处,图9(a)中红色矩形区域内,晶状体的频移分布图

Fig. 9 Measurements of Brillouin frequency shift of cornea and lens in an ex-vivo porcine eye. (a) Image based on measured frequency shifts at the center of cornea; (b) image based on measured frequency shifts of lens in red box region of Fig. 9 (a) at a depth of 4 mm from the corneal surface

该位置晶状体成像的原因主要包括两方面:一方面,从角膜表面至4 mm前的区域,层结构较为复杂,包括角膜、房水、晶状体囊和晶状体质等组织,采用的物镜轴向分辨率为80  $\mu\text{m}$ ,在该区域成像,易产生多个布里渊信号,并互相干扰;另一方面,在距离角膜表面4 mm之后,位置接近于晶状体核,早期研究中晶状体核的频移约为9.8~10.4 GHz<sup>[30]</sup>,本实验中采用的VIPA为20 GHz,易出现Stokes和anti-Stokes部分重合或完全重合的现象,无法准确计算频移。针对第一类问题,后期可开发针对这种多个布里渊信号的频移提取算法,对于第二类问题,可深入探究VIPA光谱仪的分辨极限,并从算法上解决该问题。

## 4 结 论

本文从理论和实验两方面研究了提升单级VIPA光谱仪性能的方式,研究表明,输入光谱仪的准直光束半径和柱透镜焦距不会影响色散率,但为匹配实验系统,准直光束半径应与物镜入射光束半径一致,应选择焦距较小的柱透镜压缩光束。色散率数值与球面透镜焦距、VIPA倾斜角度和探测器分辨率成反比,实验中不方便频繁调整VIPA倾斜角度和更换探测器,为了平衡色散率和散射信号强度,固定VIPA角度和高分辨探测器,可通过变焦镜头调整信号的放大倍数,达到低色散率和高散射强度的目的。实验结果表明,优化后系统降低了瑞利散射信号串扰的影响,单级VIPA光谱仪的色散率实现了0.045 GHz/pixel、超过0.038 GHz的频移测量精度,以及0.205的布里渊信号对比度,并采用该系统实现了单级VIPA光谱仪在离体猪眼角膜和晶状体二维频移成像中的应用。

## 参 考 文 献

- [1] Scarcelli G, Yun S H. Multistage VIPA etalons for high-extinction parallel Brillouin spectroscopy[J]. Optics Express, 2011, 19(11): 10913-10922.
- [2] Bevilacqua C, Gomez J M, Fiuza U M, et al. High-resolution line-scan Brillouin microscopy for live imaging of mechanical properties during embryo development[J]. Nature Methods, 2023, 20(5): 755-760.
- [3] Cheburkanov V, Du J W, Brogan D, et al. Toward peripheral nerve mechanical characterization using Brillouin imaging spectroscopy[J]. Neurophotonics, 2023, 10(3): 035007.
- [4] Shi C J, Yan Y, Mehrmohammadi M, et al. Versatile multimodal optical modality based on Brillouin light scattering and photoacoustic effect[J]. Optics Letters, 2023, 48(13): 3427-3430.
- [5] Meng Z K, Yakovlev V V. Optimizing signal collection efficiency of the VIPA-based Brillouin spectrometer[J]. Journal of Innovative Optical Health Sciences, 2015, 8(4): 1550021.
- [6] Zachary S, Meng Z K, Traverso Andrew J, et al. Brillouin spectroscopy as a new method of screening for increased CSF total protein during bacterial meningitis[J]. Journal of Biophotonics, 2015, 8(5): 408-414.
- [7] Troyanova-Wood M, Meng Z K, Yakovlev V V. Differentiating melanoma and healthy tissues based on elasticity-specific Brillouin microspectroscopy[J]. Biomedical Optics Express, 2019, 10(4): 1774-1781.
- [8] Antonacci G, Lepert G, Paterson C, et al. Elastic suppression in Brillouin imaging by destructive interference[J]. Applied Physics Letters, 2015, 107(6): 061102.
- [9] Antonacci G, De Panfilis S, Di Domenico G, et al. Breaking the contrast limit in single-pass Fabry-Pérot

- spectrometers[J]. *Physical Review Applied*, 2016, 6(5): 054020.
- [10] Antonacci G, de Turris V, Rosa A, et al. Background-deflection Brillouin microscopy reveals altered biomechanics of intracellular stress granules by ALS protein FUS[J]. *Communications Biology*, 2018, 1: 139.
- [11] Eltony A M, Shao P, Yun S H. Measuring mechanical anisotropy of the cornea with Brillouin microscopy[J]. *Nature Communications*, 2022, 13: 1354.
- [12] Zhang H Y, Asroui L, Randleman J B, et al. Motion-tracking Brillouin microscopy for in-vivo corneal biomechanics mapping[J]. *Biomedical Optics Express*, 2022, 13(12): 6196-6210.
- [13] Ryu S, Martino N, Kwok S J J, et al. Label-free histological imaging of tissues using Brillouin light scattering contrast[J]. *Biomedical Optics Express*, 2021, 12(3): 1437-1448.
- [14] Ambekar Y S, Singh M, Schill A W, et al. Multimodal imaging system combining optical coherence tomography and Brillouin microscopy for neural tube imaging[J]. *Optics Letters*, 2022, 47(6): 1347-1350.
- [15] Yan G Q, Bazir A, Margueritat J, et al. Evaluation of commercial virtually imaged phase array and Fabry-Pérot based Brillouin spectrometers for applications to biology [J]. *Biomedical Optics Express*, 2020, 11(12): 6933-6944.
- [16] Zhang J T, Fiore A, Yun S H, et al. Line-scanning Brillouin microscopy for rapid non-invasive mechanical imaging[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 35398.
- [17] Scarcelli G, Polacheck W J, Nia H T, et al. Noncontact three-dimensional mapping of intracellular hydromechanical properties by Brillouin microscopy[J]. *Nature Methods*, 2015, 12(12): 1132-1134.
- [18] Scarcelli G, Yun S H. In vivo Brillouin optical microscopy of the human eye[J]. *Optics Express*, 2012, 20(8): 9197-9202.
- [19] Bevilacqua C, Sánchez-Iranzo H, Richter D, et al. Imaging mechanical properties of sub-micron ECM in live zebrafish using Brillouin microscopy[J]. *Biomedical Optics Express*, 2019, 10(3): 1420-1431.
- [20] Kim M, Besner S, Ramier A, et al. Shear Brillouin light scattering microscope[J]. *Optics Express*, 2016, 24(1): 319-328.
- [21] Li Z, Zang Z H, Han Y Q, et al. Solid-state FMCW LiDAR with two-dimensional spectral scanning using a virtually imaged phased array[J]. *Optics Express*, 2021, 29(11): 16547-16562.
- [22] Shao P, Eltony A M, Seiler T G, et al. Spatially-resolved Brillouin spectroscopy reveals biomechanical abnormalities in mild to advanced keratoconus in vivo[J]. *Scientific Reports*, 2019, 9: 7467.
- [23] Zhang J T, Scarcelli G. Mapping mechanical properties of biological materials via an add-on Brillouin module to confocal microscopes[J]. *Nature Protocols*, 2021, 16(2): 1251-1275.
- [24] Meng Z K, Yakovlev V V. Precise determination of Brillouin scattering spectrum using a virtually imaged phase array (VIPA) spectrometer and charge-coupled device (CCD) camera[J]. *Applied Spectroscopy*, 2016, 70(8): 1356-1363.
- [25] Giuseppe A. Brillouin scattering microscopy for mechanical imaging[D]. London: Imperial College London, 2015.
- [26] Antonacci G, Foreman M R, Paterson C, et al. Spectral broadening in Brillouin imaging[J]. *Applied Physics Letters*, 2013, 103(22): 221105.
- [27] Shao P, Seiler T G, Eltony A M, et al. Effects of corneal hydration on Brillouin microscopy in vivo[J]. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 2018, 59(7): 3020-3027.
- [28] Scarcelli G, Kling S, Quijano E, et al. Brillouin microscopy of collagen crosslinking: noncontact depth-dependent analysis of corneal elastic modulus[J]. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 2013, 54(2): 1418-1425.
- [29] Webb J N, Su J P, Scarcelli G. Mechanical outcome of accelerated corneal crosslinking evaluated by Brillouin microscopy[J]. *Journal of Cataract & Refractive Surgery*, 2017, 43(11): 1458-1463.
- [30] Scarcelli G, Kim P, Yun S H. In vivo measurement of age-related stiffening in the crystalline lens by Brillouin optical microscopy[J]. *Biophysical Journal*, 2011, 101(6): 1539-1545.