

# 使用改进型科勒照明系统的全场光学 相干层析成像系统

朱晓萌 高万荣 朱 越

(南京理工大学电子工程与光电技术学院, 江苏 南京 210094)

**摘要** 研制了一套基于林尼克干涉仪结构的全场光学相干层析成像(FF-OCT)系统,以获得高质量的全场光学相干层析图像。不同于大多数 FF-OCT 系统所采用的光纤束照明方式,本系统采用卤素灯作为光源,搭建改进型科勒照明系统进行照明。选用 Intel Pentium 4 处理器芯片作为样品,对其内部结构进行了成像实验,通过四步移相算法根据四幅连续的相移干涉图像获得了样品的层析图像,实验结果证实了成像系统的可行性。使用改进型科勒照明系统的 FF-OCT 成像系统,与现有的 FF-OCT 系统相比,结构简单便于制作,且成本低廉,为实现高分辨率光学相干层析成像提供了简单易行的方法。

**关键词** 成像系统;科勒照明;光学相干层析成像;移相干涉术

**中图分类号** TN247 **文献标识码** A **doi**: 10.3788/AOS201434.0511002

## Improved Köhler Illumination-Based Full-Field Optical Coherence Tomography System

Zhu Xiaomeng Gao Wanrong Zhu Yue

(School of Electronic Science and Optoelectronic Technology, Nanjing University of Science and Technology, Nanjing, Jiangsu 210094, China)

**Abstract** A Linnik interference microscope-based full-field optical coherence tomography (FF-OCT) system is developed to obtain high-quality optical sectional images. Compared with other FF-OCT systems illuminated with optical fiber (OF) bundle, the improved Köhler illumination arrangement with a halogen lamp is used in the proposed FF-OCT system. A tomographic image of an Intel Pentium 4 chip is retrieved from four sequential phase-shifted interferograms by using a four-step algorithm. The experimental results confirm the feasibility of the proposed imaging system. The proposed improved Köhler illumination-based FF-OCT system is characterized by its use of simple elements and lower cost, providing a simple and convenient method for high-resolution OCT imaging.

**Key words** imaging systems; Köhler illumination; optical coherence tomography; phase-shifting interferometry

**OCIS codes** 110.2945; 110.4500; 120.3180

## 1 引 言

光学相干层析成像(OCT)是一种极有前途的成像方式,最早在1991年被提出<sup>[1]</sup>。OCT是一种非侵入性成像技术,可对生物组织等获取在体光学断层成像,在生物医学领域具有重要的应用前景<sup>[2-5]</sup>。

基本的 OCT 技术有两种:时域 OCT(TD-

OCT)和傅里叶域 OCT(FD-OCT)。虽然基于点扫描的 FD-OCT 系统具有较高的灵敏度,但价格昂贵,并且通常缺乏时域全场 OCT(TD-FF-OCT)系统所获得的极高分辨率。全场光学相干层析成像(FF-OCT)在三维空间中具有微米级的空间分辨率<sup>[6]</sup>,使用高 NA 值的物镜,从而获得很高的横向分辨率,这种高分辨率的成像模式在细胞成像领域中起

**收稿日期**: 2013-12-02; **收到修改稿日期**: 2014-01-06

**基金项目**: 国家自然科学基金(61275198,60978069)

**作者简介**: 朱晓萌(1988—),女,硕士研究生,主要从事光学相干层析成像方面的研究。E-mail: meng\_zxm@aliyun.com

**导师简介**: 高万荣(1961—),男,教授,博士生导师,主要从事生物医学光学、光电成像、光学相干层析成像技术等方面的研究。E-mail: wgao@njjust.edu.cn

着非常重要的作用。

对于 FF-OCT 系统而言,光源的选择非常重要,光源带宽决定了系统的轴向分辨率<sup>[7]</sup>。现有的各种光源均可用于 FF-OCT 成像,由 Beaufrepaire 等<sup>[8]</sup>研制的第一套 FF-OCT 系统采用 LED 光源进行照明,Akiba 等<sup>[9]</sup>研制的 FF-OCT 系统选用了 SLD 光源。近年来发展的 FF-OCT 系统多采用热光源<sup>[10-11]</sup>加光纤束进行照明,使用的热光源主要有氙弧灯和卤素灯。

对生物组织显微成像过程中,常使用临界照明和科勒照明两种方式;临界照明是将光源直接成像到样品平面上,光源亮度的不均匀性可能导致在样品平面成像的光斑亮度也不均匀,从而影响观察效果;科勒照明是将发光光源成像到前置聚光镜的后焦平面,再由聚光镜成像在无限远处,这样在样品表面处没有灯丝的像形成,从而照度均匀。并且由于照度均匀,在样品上没有热焦点形成,因此即使长时间照明,也不会出现灼伤,这一点对于生物组织成像非常重要。

本文基于林尼克干涉仪结构<sup>[8]</sup>,研制了一套使用改进型科勒照明系统作为光源的 FF-OCT 系统。通过对实验样品进行成像实验来验证系统方案的正确性,使用相移技术从连续干涉图像中获得的样品图像证明了系统具有层析成像能力。

## 2 实验系统与方法

科勒照明克服了临界照明的缺点,是生物显微照明的理想照明法。图 1 所示为科勒照明系统的结构图,光源的灯丝经聚光镜  $f_1$  及可变视场光阑 (FS) 后,灯丝成像在聚光镜孔径光阑 (AS) 的平面处,再由聚光镜  $f_2$  成像在无限远处,这样在样品表面处没有灯丝像的形成,且照度均匀。

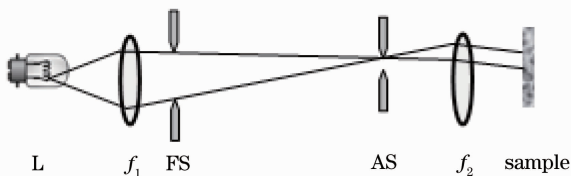


图 1 科勒照明系统结构图

Fig. 1 Köhler illumination structure

图 2 为本文研制的 FF-OCT 系统所采用的照明系统结构。卤素灯 (20 W) 的灯丝经聚光镜 ( $f_1 = 40 \text{ mm}$ ) 后成像在孔径光阑 AS 的平面处,再由聚光镜 ( $f_2 = 130 \text{ mm}$ ) 成像在显微物镜 (MO) ( $20\times, 0.5\text{NA}$ ) 的前焦面上 (A 面)。视场光阑 (FS) 置于聚光镜  $f_2$  的

前焦平面处,经聚光镜  $f_2$  成像在显微物镜的后焦平面上 (B 面),改变 FS 大小可以控制照明范围。

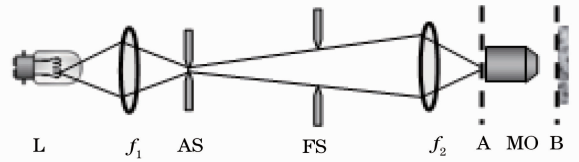


图 2 改进型科勒照明系统结构图

Fig. 2 Improved Köhler illumination structure

与图 1 所示的照明结构相比,采用改进的光路结构,在相同的显微物镜数值孔径下,更容易实现对样品的均匀照明,且能充分利用光源发出的光功率。实验表明,采用同样的光源,到达样品表面的光强得到了增强。通过改变透镜  $f_2$  的焦距,可以改变透镜  $f_2$  与显微物镜之间的距离,以便于放置分光棱镜等。

本文研制的 FF-OCT 系统的结构图如图 3 所示,系统基于林尼克干涉仪结构,使用卤素灯作为光源,宽带光源经科勒照明系统后,被分光棱镜 (BS) 分光成参考臂光束和样品臂光束,分别投射在两个完全相同的显微物镜  $\text{MO}_r$  和  $\text{MO}_s$  ( $20\times, 0.5\text{NA}$ ) 的后焦平面上,实现对样品的均匀照明。实验中卤素灯的中心波长为  $550 \text{ nm}$ ,有效带宽  $450\sim 650 \text{ nm}$ 。参考镜 (RM) 置于压电陶瓷微位移器 (PZT) 上,样品载物台安装在电动位移平台上。当参考光和样品光光程小于光源相干长度时,两光束发生干涉,BS 反射后的光束由成像透镜  $\text{lens}$  ( $f_L = 260 \text{ mm}$ ) 聚焦在面阵 CCD 上。

由横向分辨率公式  $\Delta x = \frac{0.61\lambda_0}{\text{NA}}$ ,可得系统横向分辨率的理论值约为  $0.7 \mu\text{m}$ ;根据轴向分辨率公式  $\Delta z = \frac{2\ln 2}{\pi} \left( \frac{\lambda_0}{\Delta\lambda} \right)$ ,可得系统轴向分辨率的理论值约

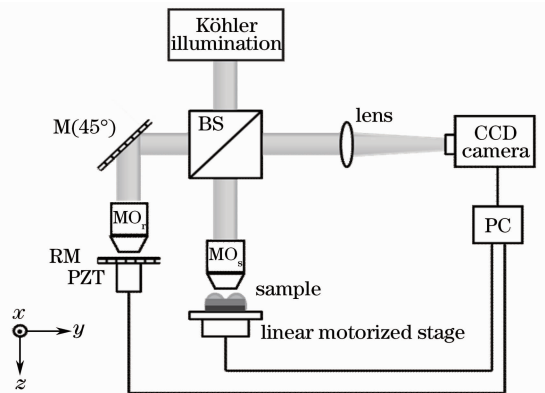


图 3 使用改进型科勒照明系统的 FF-OCT 系统结构图  
Fig. 3 Structure of full-field optical coherence tomography (FF-OCT) system with improved Köhler illumination

为  $0.7 \mu\text{m}$ 。

实验中采用移相干涉测量技术,使用 PZT 控制器改变 PZT 的电压,带动参考镜(RM)移动,改变参考臂和样品臂之间的光程差,从而引入相移。面阵 CCD 接收到的干涉的光强分布为

$$I_i(x, y) = A(x, y) + B(x, y) \cos[\phi(x, y) + \beta], \quad (1)$$

式中  $A(x, y)$  为直流项,  $B(x, y)$  为待求样品图像信息,  $\phi(x, y)$  为相位差,  $\beta$  为 PZT 引入的相移量。由四步移相干涉测量法,对应于  $0, \pi/2, \pi, 3\pi/2$  相移量, CCD 采集的四幅干涉图像分别为  $I_1, I_2, I_3, I_4$ , 则可由(2)式计算出  $\phi(x, y)$  为<sup>[12]</sup>

$$\phi(x, y) = \arctan \frac{I_4 - I_2}{I_1 - I_3}. \quad (2)$$

样品 OCT 图像可表示为

$$B = \frac{2[(I_4 - I_2)^2 + (I_1 - I_3)^2]^{1/2}}{I_1 + I_2 + I_3 + I_4}. \quad (3)$$

### 3 实验与结果

图 4 为 ZBN 35003-1989 国家专业标准分辨率图案,图 5 为使用本文 FF-OCT 系统所获得的  $A_5$  号分辨率板图像,分辨率板中第 17 单元的模式线条清晰可见,其对应的线条宽度为  $3.97 \mu\text{m}$ 。

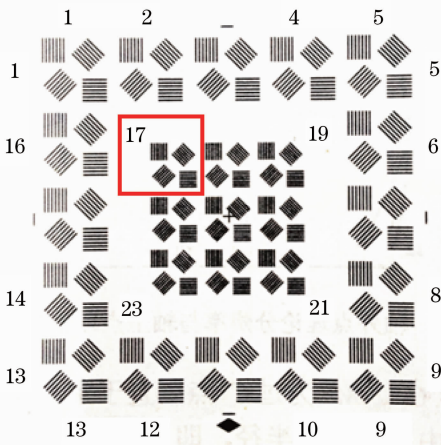


图 4 ZBN 35003-1989 国家专业标准分辨率图案

Fig. 4 ZBN 35004-1989 National professional standard resolution target

采用 Intel Pentium 4 处理器芯片作为样品,对其内部结构成像。使用 PZT 控制器,通过控制 PZT 电压的变化来控制位移量的大小,从而驱动参考镜 RM 移动,引入相移。

系统的参考臂和样品臂只有在接近等光程时才会发生干涉,对来自非等光程的其它位置的反射光或散射光具有抑制作用。因此,通过轴向移动参考

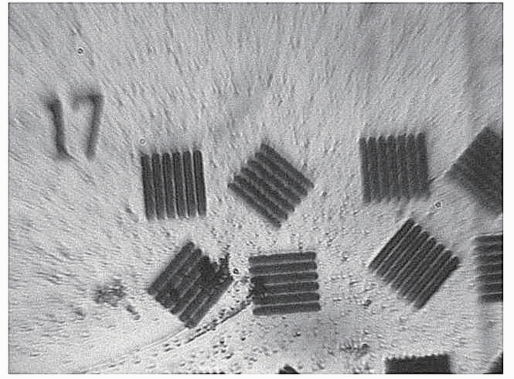


图 5  $A_5$  号分辨率板图像

Fig. 5 Image of  $A_5$  resolution target

镜,可以选择样品中与参考臂光程相等的深度位置的结构信息来成像。在该参考镜臂长位置,由样品中其他位置后向散射或反射回来的光,由于与参考臂之间的光程差超出光源的相干长度,不会发生干涉,探测器也就不会有相应的干涉信号,这就是 FF-OCT 的空间滤波作用,即滤掉其它层的信息,从而实现层析成像。

图 6 为样品的光学显微图像。调试系统,先使样品右侧与参考臂达到等光程,得到干涉图像如图 7(a)所示,其对应的 FF-OCT 层析图像如图 7(b)所示,可以看到左侧结构被滤掉;再使样品左侧与参考臂达到等光程,得到干涉图像如图 8(a)所示,其对应的 FF-OCT 层析图像如图 8(b)所示,可以看到右侧结构被滤掉,系统实现了对样品的层析成像。

调节系统至视场中只有一个样品对象,进行成像实验观测其微观结构。对应于  $0, \pi/2, \pi, 3\pi/2$  相移量的干涉图分别如图 9(a)~(d)所示。

由四步移相算法得到 FF-OCT 图像结果如图 10 所示,样品结构清晰可见,图像尺寸为  $160 \mu\text{m} \times 120 \mu\text{m}$ 。

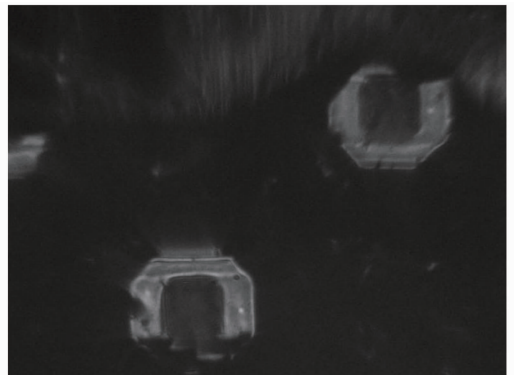


图 6 样品的显微图像

Fig. 6 Microscopic image of the sample



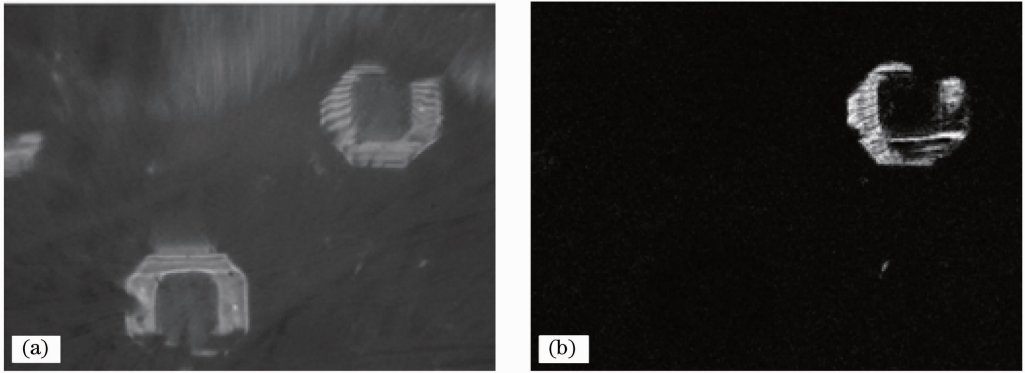


图 7 FF-OCT 的层析作用滤除左侧结构。(a)干涉图；(b) FF-OCT 层析图像

Fig. 7 Tomographic imaging capability of FF-OCT of removing the structure on the left. (a) Interferogram; (b) FF-OCT en face image

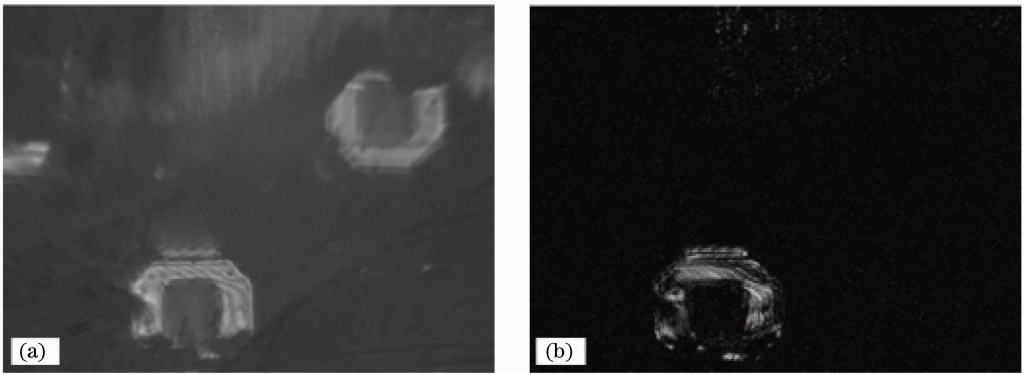


图 8 FF-OCT 的层析作用滤除右侧结构。(a)干涉图；(b) FF-OCT 层析图像

Fig. 8 Tomographic imaging capability of FF-OCT of removing the structure on the right. (a) Interferogram; (b) FF-OCT en face image

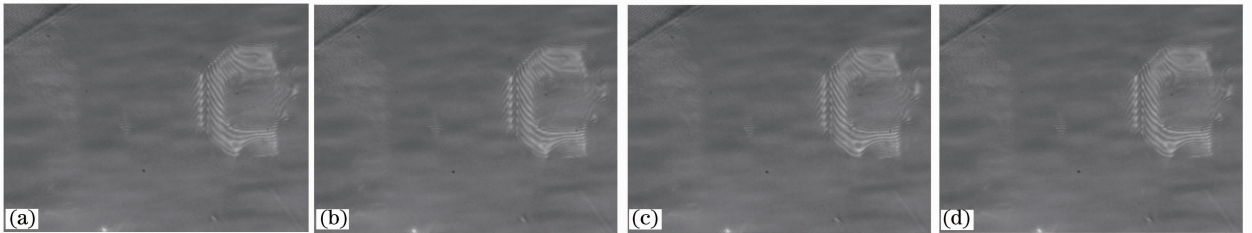


图 9 相移干涉图像。相移量为(a) 0；(b)  $\pi/2$ ；(c)  $\pi$ ；(d)  $3\pi/2$

Fig. 9 Phase-shifted interferograms with (a) 0; (b)  $\pi/2$ ; (c)  $\pi$  and (d)  $3\pi/2$

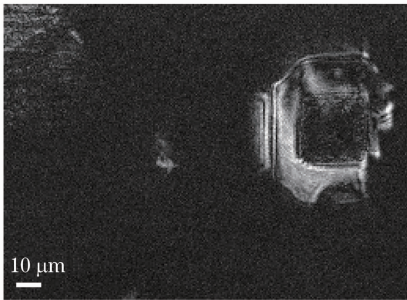


图 10 四步移相算法获得的样品 FF-OCT 图像

Fig. 10 FF-OCT en face image obtained by using four-step phase-shifting algorithm

## 4 结 论

FF-OCT 作为一种非荧光标记、非入侵性成像技术,可应用于生物组织成像,在诊断病变组织方面具有极高的应用价值,也为胚胎早期模式和哺乳动物发育生物学的相关研究提供了有效的研究方法。

除应用于生物医学领域外,FF-OCT 也可应用于工业检测。实验结果证实了所提出的 FF-OCT 成像系统的可行性,使用改进型的科勒照明系统,器件简单且成本低廉。对芯片样品进行成像实验,通过四步移相算法,可以从四幅干涉图像获取一幅全场 OCT 层析图像,取得了良好的实验效果,这对于

微米级乃至亚微米器件的检测具有有益意义。

### 参 考 文 献

- 1 D Huang, E A Swanson, C P Lin, *et al.*. Optical coherence tomography [J]. *Science*, 1991, 254(5035): 1178—1181.
- 2 Zhang Wei, Lu Yiming, Wu Linhui, *et al.*. Hemoglobin diffuse optical tomography for breast tumor diagnosis: phantom experiment and in vivo evaluation [J]. *Acta Optica Sinica*, 2013, 33(6): 0617001.  
张伟, 卢奕名, 武林会, 等. 面向乳腺诊断的血氧扩散光学层析方法: 仿体实验与在体评估[J]. *光学学报*, 2013, 33(6): 0617001.
- 3 Li Jianghua, Huang Hai, Tang Zhilie, *et al.*. Measurement of enamel mineral density by optical coherence tomography [J]. *Acta Optica Sinica*, 2013, 33(8): 0817001.  
李江华, 黄海, 唐志列, 等. 光学相干层析成像对牙釉质矿密度的定量测量[J]. *光学学报*, 2013, 33(8): 0817001.
- 4 Yang Liu, Hong Wei, Wang Chuan, *et al.*. Flow velocity measurement based on speckle in optical coherence tomography [J]. *Chinese J Lasers*, 2012, 39(5): 0504002.  
杨柳, 洪威, 王川, 等. 基于光学相干层析散斑的流速测量方法[J]. *中国激光*, 2012, 39(5): 0504002.
- 5 Ding Zhihua, Zhao Chen, Bao Wen, *et al.*. Advances in doppler optical coherence tomography [J]. *Laser & Optoelectronics Progress*, 2013, 50(8): 080005.  
丁志华, 赵晨, 鲍文, 等. 多普勒光学相干层析成像研究进展[J]. *激光与光电子学进展*, 2013, 50(8): 080005.
- 6 A Dubois, L Vabre, A C Boccara, *et al.*. High-resolution full-field optical coherence tomography with a Linnik microscope [J]. *Appl Opt*, 2002, 41(4): 805—812.
- 7 Zhou Lin, Ding Zhihua, Yu Xiaofeng. Axial superresolution in optical coherence tomography through the combination of apodization and coherence gating [J]. *Acta Optica Sinica*, 2005, 25(9): 1181—1185.  
周琳, 丁志华, 俞晓峰. 利用变迹术和相干门相结合实现光学相干层析成像术轴向超分辨[J]. *光学学报*, 2005, 25(9): 1181—1185.
- 8 E Beurepaire, A C Boccara, M Lebec, *et al.*. Full-field optical coherence microscopy [J]. *Opt Lett*, 1998, 23(4): 244—246.
- 9 M Akiba, K P Chan, N Tanno. Full-field optical coherence tomography by two-dimensional heterodyne detection with a pair of CCD cameras [J]. *Opt Lett*, 2003, 28(10): 816—818.
- 10 W Y Oh, B E Bouma, N Iftimia, *et al.*. Ultrahigh-resolution full-field optical coherence microscopy using InGaAs camera [J]. *Opt Express*, 2006, 14(2): 726—735.
- 11 A Safrani, I Abdulhalim. Ultrahigh-resolution full-field optical coherence tomography using spatial coherence gating and quasi-monochromatic illumination [J]. *Opt Lett*, 2012, 37(4): 458—460.
- 12 Zhu Rihong, Chen Lei, Wang Qing, *et al.*. Phase-shift interferometry and its application [J]. *J Appl Opt*, 2006, 27(2): 85—88.  
朱日宏, 陈磊, 王青, 等. 移相干涉测量术及其应用[J]. *应用光学*, 2006, 27(2): 85—88.
- 13 S Chang, Y Mao, S Sherif, *et al.*. Full-field optical coherence tomography used for security and document identity [C]. *SPIE*, 2006, 6402: 64020Q.

栏目编辑: 张浩佳