

# 散射光声探测技术及其成像方法

李 琳<sup>1</sup> 唐志列<sup>1,2,3</sup> 吴泳波<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup> 华南师范大学物理与电信工程学院, 广东 广州 510006

<sup>2</sup> 华南师范大学广东省量子调控工程与材料重点实验室, 广东 广州 510006

<sup>3</sup> 华南师范大学广东省光电检测仪器工程技术研究中心, 广东 广州 510006

**摘要** 为了实现强散射样品的光声显微成像, 提出了一种散射光声显微成像新技术。利用散射光声效应原理, 成功设计研制了散射光声探测器。散射光声探测器由散射光声腔、耦合腔、微通道以及微音器组成。利用该探测器探测样品的散射光声信号, 然后结合共焦扫描成像技术实现了强散射样品的光声显微成像, 获得了二氧化硅微球和口腔上皮细胞等各种不同散射样品的光声显微图像。实验结果表明, 散射光声显微成像技术可以极大地改善图像对比度和增强图像边缘, 对于工业、大气等方面的微粒直径测量具有重要的应用意义。

**关键词** 成像系统; 光声显微成像; 散射光声技术; 边缘增强

**中图分类号** O436.2 **文献标识码** A

**doi:** 10.3788/AOS201636.0911002

## Scattering Photoacoustic Detection Technique and Its Imaging Method

Li Lin<sup>1</sup> Tang Zhilie<sup>1,2,3</sup> Wu Yongbo<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup> School of Physics and Telecommunication Engineering, South China Normal University, Guangzhou, Guangdong 510006, China

<sup>2</sup> Guangdong Provincial Key Laboratory of Quantum Engineering and Quantum Materials, South China Normal University, Guangzhou, Guangdong 510006, China

<sup>3</sup> Guangdong Provincial Engineering Research Center for Optoelectronic Instrument, South China Normal University, Guangzhou, Guangdong 510006, China

**Abstract** In order to realize the photoacoustic microscopic imaging of strong scattering sample, a new method for scattering photoacoustic imaging is presented. A scattering photoacoustic detector is successfully designed by applying the scattering photoacoustic effect principle. The scattering photoacoustic detector consists of a scattering photoacoustic cavity, a resonant cavity, a microchannel and a microphone. The detector is used to detect photoacoustic signals of samples. Then, combining confocal scanning imaging technology, the photoacoustic microscopy imaging of strong scattering samples are achieved. Photoacoustic microscopic images of various kinds of scattering samples, such as silica microspheres and oral epithelial cells are successfully obtained as well. The results indicate that scattering photoacoustic imaging technique can greatly improve the image contrast and enhance image edge. This technique has important application meanings of particle diameters measurement in the field of industry and atmosphere.

**Key words** imaging systems; photoacoustic microscopic imaging; scattering photoacoustic technique; edge enhancement

**OCIS codes** 110.5120; 170.5120; 0401880; 290.5850

## 1 引 言

散射成像技术是利用物质的散射性质进行成像的技术。目前, 已经有很多的成像模式是利用物质的散射性质进行物质图像重构的, 例如: 激光扫描共聚焦显微镜(LSCM)、光学相干层析成像(OCT)和动态光散

**收稿日期:** 2016-02-25; **收到修改稿日期:** 2016-05-12

**基金项目:** 国家自然科学基金(61575067)、广东省自然科学基金重点项目(S2013020012810)

**作者简介:** 李 琳(1990—), 女, 硕士研究生, 主要从事光声成像方面的研究。E-mail: 1104794081@qq.com

**导师简介:** 唐志列(1963—), 男, 博士, 教授, 博士生导师, 主要从事光声成像和激光共聚焦显微镜等方面的研究。

E-mail: tangzhl@sncu.edu.cn(通信联系人)

射成像(DLS)。散射成像已被广泛应用于生物细胞、血管、皮肤、眼睛组织<sup>[1-5]</sup>等方面的研究。但是,这些成像模式都是利用前向或者后向散射光的信息进行图像重建的,侧向散射光所携带的信息都丢失了,然而所有的散射光子中,侧向散射光子占据大部分的数量。本文提出了散射光声(SPA)显微成像新技术,设计和研制了散射光声探测器,通过收集样品的侧向散射光,实现了透明微粒和生物细胞的散射显微成像。该技术极大地改善图像的对比度和增强图像边缘,突出样品的边缘信息,也可用于测量微粒直径。

## 2 散射光声探测器的原理与设计

散射光声探测器由散射光声腔、耦合腔、微通道以及微音器组成,如图 1 所示。其核心是散射光声腔的设计,散射光声腔由散射光声腔由微型光声腔和散射光吸收体组成微型光声腔<sup>[6-7]</sup>和散射光吸收体组成,如图 2 所示。微型光声腔为一个直径0.5 mm、高 1 mm 的空心圆柱体,其 2 个端口用盖玻片密封,作为光学窗口。散射光吸收体则由微型光声腔的内壁经过氧化发黑处理的金属铁加工而成,具有很高的吸收系数,能够吸收样品散射开来的散射光子,并产生散射光声信号。

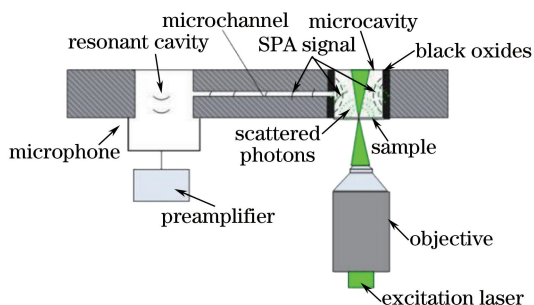


图 1 散射光声探测器结构图

Fig. 1 Schematic of scattering photoacoustic detector

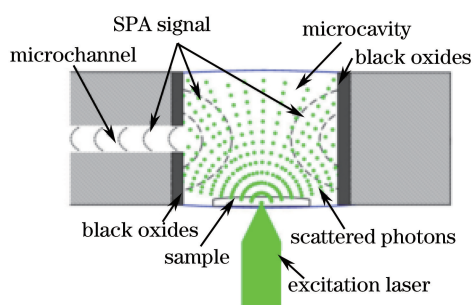


图 2 散射光声腔的结构原理图

Fig. 2 Schematic of scattering photoacoustic cavity structure

耦合腔是一个直径 0.5 mm、高 1 mm 的空心圆柱体,其下端开口粘着微音器。散射光声腔与耦合腔通过一个微通道相联接,微通道的直径为 0.25 mm,长度为 20 mm。当样品被连续调制的激光照射后,散射光声腔的散射光吸收体吸收散射光子,并在表面产生散射光声信号(频率与激光的调制频率相同),然后声压通过微通道传递到耦合腔,迫使耦合腔内的气体也发生震动,最后被微音器所探测。微音器紧贴耦合腔接收声信号,可以排除微音器膜片被激光照射激发声信号的影响,整个探测器处于密闭状态。

当强散射弱吸收的样品置于散射光声腔,被连续调制光照射,大量的光子被样品散射开来,散射光声腔的散射光吸收体具有很高的吸收系数,吸收了散射光子,部分转换成了热,其周边的气体被周期性加热。所以,周期性的激光照射使得散射光声腔内气体产生了周期性的温度变化。根据 Rosencwaig-Gersho<sup>[8]</sup>理论,气体中依赖于时间的温度分布随着离开固体表面距离的增加很快衰减为 0。在距离吸收体表面的气体层为  $2\pi\mu'$  处(式中  $\mu'$  为热扩散长度),气体中的周期性温度变化已衰减为 0,因此,只有厚度为  $2\pi\mu'$  的表面气体层可以响应周期性温度变化,这层气体层被周期性加热,它将周期性地膨胀和收缩,因而可以看作为 1 个声活塞作用在微腔内剩余的部分气体上,产生的声压信号在这部分气体中传导。则其腔内的压强变化量可以从绝热气体定律导出:

$$PV^\gamma = c, \quad (1)$$

式中  $P$  和  $V$  分别是散射光声腔的气压和体积, $\gamma$  是绝热指数, $c$  是常量。则散射光声腔内的压强变化量可以表示为:

$$\delta P(t) = -\frac{\gamma P}{V} \delta V, \quad (2)$$

式中  $\delta V$  等于气体层的体积变化量:

$$\delta V(t) = -S \delta x(t), \quad (3)$$

式中  $S$  是气体层表面积, $\delta x(t)$  是气体层由于被周期性加热引起的厚度变化量。

根据 Rosencwaig-Gersho 理论<sup>[9]</sup>, $\delta x(t)$  的表达式为:

$$\delta x(t) = \frac{\Gamma I \mu'}{T_0} \exp\left[i\left(\omega t - \frac{\pi}{4}\right)\right], \quad (4)$$

式中  $\Gamma$  是 1 个综合参数,依赖于吸收体和散射光声腔内气体的特性。 $I$  是被样品散射开且被吸收体吸收的散射光强度, $T_0$  是气体层的平均直流温度, $\omega$  是调制频率。因此,气压变化量可以表示为:

$$\delta P(t) = \frac{\mu' \gamma P S \Gamma I}{T_0 V}, \quad (5)$$

从(5)式可以看出,气压变化量  $\delta P(t)$  与样品的散射光强成正比。因此,利用探测到的散射光声信号可以重构出样品的散射特性分布图。

### 3 散射光声显微成像系统

为了实现散射光声显微成像,搭建了散射光声显微成像系统,如图 3 所示。散射光声显微成像系统主要是由风冷氩离子激光器(波长为 514.5 nm, 35LAL1515-230, CVI Melles Griot)、斩波器(外圈最高的调制频率为 3.7 kHz)、振镜驱动器(6231 C, Cambridge Technology)、散射光声探测器、前置放大器、锁相放大器(SR830, Stanford Research Systems)、数据采集卡(PCI6115, National Instrument)以及计算机构成。

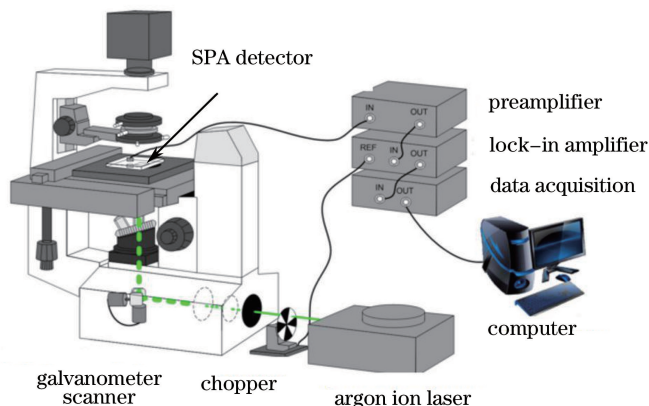


图 3 散射光声显微成像系统图

Fig. 3 Schematic of scattering photoacoustic microscopy imaging system

氩离子激光器输出的光经斩波器调制,调制后的光束通过物镜聚焦到样品上,同时由振镜控制电路带动振镜,使聚焦光斑相对于样品进行水平二维扫描。散射光声探测器接收侧向散射光子,产生散射光声信号经前置放大器放大后,再送到锁相放大器对其解调并进一步地放大,由数据采集卡采集数据并存储到电脑,通过计算机算法重建出样品二维空间分布的散射光声显微图像。

## 4 散射光声显微成像结果与分析

### 4.1 散射光声探测器的实验结果

为了检验散射光声探测器的可行性,选择了透明的二氧化硅微球(直径为  $2 \mu\text{m}$ ,由常州均益新材料科技有限公司购得)作为样品,将微球以刮片的方式涂抹在盖玻片上,紧贴在散射光声探测器内,对其进行散射光声实验。微球的散射光声信号与入射光功率的关系曲线如图 4 所示,图中的横坐标表示入射光的强度,纵坐标表示微球的散射光声信号。从图中可以看出,散射光声信号随着入射光功率线性变化。因此,利用散射光声探测器可以探测到样品的散射光声信号。

### 4.2 二氧化硅微球的散射光声显微成像

为了检验散射光声显微成像系统的成像效果,首先将二氧化硅微球利用纯净水稀释,放入离心管,摇匀,用吸管吸取 1 滴稀释后的微球滴在  $18 \text{ mm} \times 18 \text{ mm}$  的盖玻片上,等待盖玻片上的液体蒸发后,紧贴在散射光声探测器中。设置斩波器的斩波频率为 500 Hz,选用  $100 \times$  的平场显微物镜(Olympus,  $NA = 1.25$ )进行实验,实验结果如图 5 所示。

图 5(a)、(b)、(c)分别为二氧化硅微球样品同一位置的散射光声显微图像、共焦显微图像和光学显微图像。从图 5(a)的散射光声显微图像可以清晰看见微球的边缘,区分微球的内部和外部,并且各个微球之间

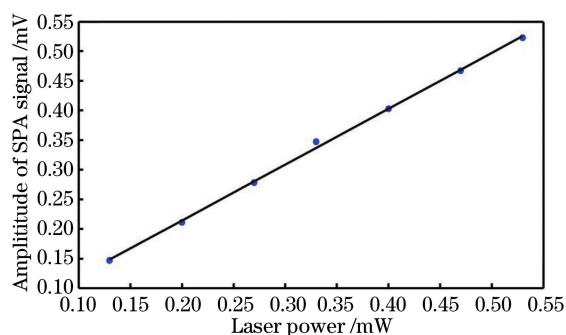
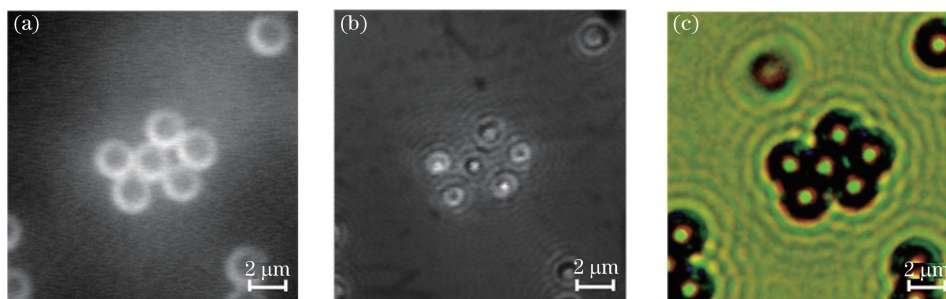


图 4 散射光声探测器的信号曲线

Fig. 4 Signal curve of scattering photoacoustic detector

图 5  $2\ \mu\text{m}$  二氧化硅微球成像。(a)散射光声显微图像;(b)共焦显微图像;(c)光学显微图像Fig. 5 Images of  $2\ \mu\text{m}$  silica microspheres. (a) Scattering photoacoustic microscopic image; (b) confocal microscopic image; (c) optical microscopic image

紧密相靠,图像对比度高。图 5(b)的共焦显微图像可以看出小球是圆形轮廓,中间地方比较亮,但边界比较模糊,而且由于共焦显微成像技术具有层析成像能力,能获得不同层面的图像,微粒的不同层面具有不同的直径,因而无法确定微球的大小。图 5(c)的光学显微图像存在光学衍射环,难以分辨微球的边缘。由于散射光声显微成像具有高对比度和增强图像边缘的特点,可以用来进行微粒的直径测量。定义微球的散射光声显微图像上同一圆环直径上的两相邻光声信号波形的中心距离为微球的直径,如图 6 所示。图 7(a)是直径为  $2\ \mu\text{m}$  的二氧化硅微球的散射光声图像,图 7(b)为图 7(a)中虚线对应位置的光声信号强度分布图,可得到微球的直径为  $2.01\ \mu\text{m}$ ,测量结果较准确。

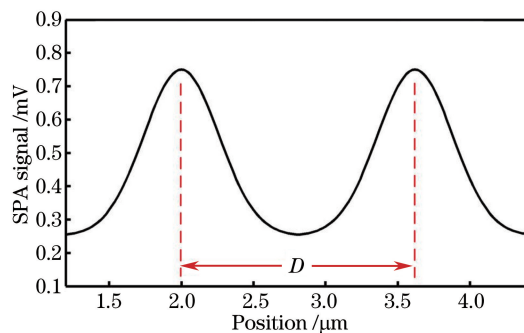


图 6 光声信号波形示意图

Fig. 6 Schematic of photoacoustic signal waveform

#### 4.3 口腔上皮细胞的散射光声显微成像

为了将散射光声显微成像技术应用到生物细胞成像中,选用了口腔细胞作为样品进行成像。在清洁口腔之后,用牙签刮取口腔内壁表面,将带有口腔细胞的牙签涂抹在盖玻片上,紧贴在散射光声探测器中。设置斩波器的斩波频率为  $500\ \text{Hz}$ ,选用  $40\times$  的平场显微物镜(Olympus,  $NA = 0.65$ )进行实验,实验结果如图 8 所示。



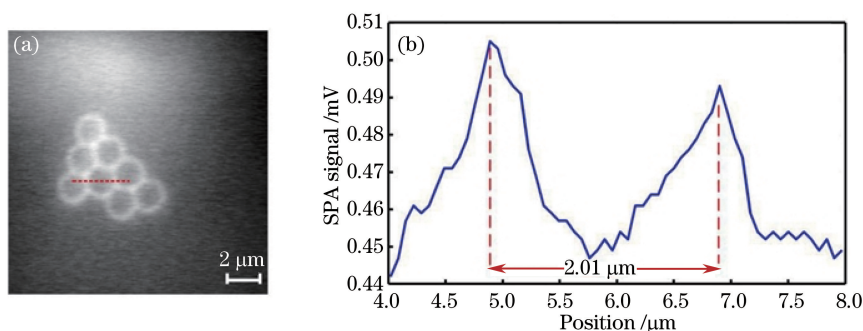


图 7 (a) 散射光声显微图像; (b) 图 7(a) 中虚线对应位置的散射光声信号强度分布  
Fig. 7 (a) Scattering photoacoustic microscopic image; (b) SPA signal intensity distribution corresponding to dotted line position in Fig. 7(a)

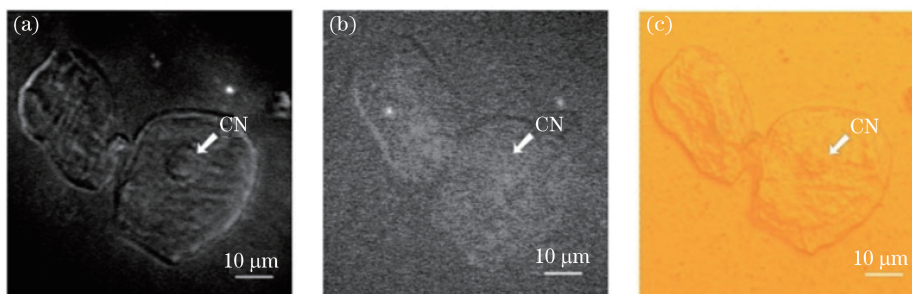


图 8 口腔上皮细胞图像。(a) 散射光声显微图像; (b) 光声显微图像; (c) 光学显微图像  
Fig. 8 Images of oral epithelial cells. (a) Scattering photoacoustic microscopic image; (b) photoacoustic microscopic image; (c) optical microscopic image

图 8(a)、(b)、(c) 分别是口腔上皮细胞样品同一位置的散射光声显微图像、光声显微图像和光学显微图像。从图 8(a) 可以看出, 口腔上皮细胞的散射光声显微图像结构清晰, 轮廓明显且对比度高, 可以清楚地观察到口腔上皮细胞的内部结构, 连白色箭头所示的细胞核都能被很好地分辨出来。从图 8(b) 可以看出, 具有弱吸收的口腔上皮细胞的光声显微图像信噪比低, 结构不清晰, 细胞核难以被分辨出来。由于光声显微成像技术依赖样品内部内源性的光学吸收, 因此对弱吸收的样品难以成像, 但散射光声成像技术依靠弱吸收样品的散射性质, 能够实现弱吸收样品的显微成像。

## 5 结 论

利用散射光声效应可以实现强散射物体的光声显微成像, 基于散射光声效应的散射光声探测器, 可以对透明微球和生物细胞进行光声显微成像, 图像对比度高、边缘突出, 可以用于微粒粒径的测量, 在工业微球的在线测量上具有重要意义。同时, 也可以用于生物细胞等强散射、高透明物质的显微成像。

## 参 考 文 献

- 1 Rajadhyaksha M, Grossman M, Esterowitz D, *et al.* In vivo confocal scanning laser microscopy of human skin: melanin provides strong contrast[J]. *Journal Of Investigative Dermatology*, 1995, 104(6): 946-952.
- 2 Wu Liru. Application of spatial differential confocal microscopy in obtaining edge enhanced microscopic images[J]. *Acta Optica Sinica*, 2014, 34(3): 0317001.  
吴丽如. 应用共焦空间微分显微镜获取边缘增强显微图像[J]. *光学学报*, 2014, 34(3): 0317001.
- 3 Puliafito C A, Hee M R, Lin C P, *et al.* Imaging of macular diseases with optical coherence tomography[J]. *Ophthalmology*, 1995, 102(2): 217-229.
- 4 Yin Daiqiang, Wang Chengming, Gu Ying. Signal enhancement and despeckling of port wine stains using optical coherence tomography[J]. *Chinese J Lasers*, 2013, 40(9): 0904001.  
殷代强, 王成铭, 顾 瑛. 基于光学相干层析的鲜红斑痣信号增强和降斑[J]. *中国激光*, 2013, 40(9): 0904001.

- 5 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.
- 6 Tan Z, Tang Z, Wu Y, *et al*. Multimodal subcellular imaging with microcavity photoacoustic transducer [J]. Optics Express, 2011, 19(3): 2426-2431.
- 7 Cai Qiuxia, Tang Zhilie, Wu Yongbo, *et al*. Microcavity photoacoustic detecting technology and imaging method [J]. Acta Optica Sinica, 2013, 33(9): 0918001.  
蔡秋霞, 唐志列, 吴泳波, 等. 微腔光声探测技术及其成像方法 [J]. 光学学报, 2013, 33(9): 0918001.
- 8 Rosencwaig A, Gersho A. Theory of the photoacoustic effect with solids [J]. J Appl Phys, 1976, 47(1): 64-69.
- 9 Rosencwaig A. Photoacoustics and photoacoustic spectroscopy [M]. New York: John Wiley & Sons, 1981.