正向切片光学相干断层成像系统的信号提取方法

杨强1,祝连庆1,2,樊凡1,端木正1,朱疆1*

¹北京信息科技大学先进光电子技术国际合作联合实验室,北京 100192; ²北京信息科技大学光电测试技术北京市重点实验室,北京 100192

摘要 光学相干断层成像(OCT)技术因非入侵、非接触特点和断层成像能力,在眼科、血管内窥等临床医学与药物学中有广泛应用。OCT 发展至今,根据成像方向的优先次序,产生了两类技术分支。一类是沿光束入射方向逐线(A-line)扫描的标准型 OCT,可生成基于纵向断面扫描(B scan)的图像,常用于眼底组织的层析成像;另一类en-face OCT,也叫正向切片 OCT,可在与入射光垂直的方向上生成样品层的横向切片图像,且以显微成像方式来显示生物组织的精细结构,大大丰富了 OCT 的图像采集与呈现方式。en-face OCT 系统可采用不同的信号采集方式,在对其分析和归纳的基础上,对该技术的主要发展方向作了展望。

关键词 成像系统;光学相干断层成像; en-face 成像;全场成像;信号提取

中图分类号 ○438

文献标志码 A

doi: 10.3788/AOS202040.0711001

Signal Retrieval Method of *en-face* Optical Coherence Tomography System

Yang Qiang¹, Zhu Lianqing^{1,2}, Fan Fan¹, Duanmu Zheng¹, Zhu Jiang^{1*}

¹ Joint International Research Laboratory of Advanced Photonics and Electronics,
Beijing Information Science & Technology University, Beijing 100192, China;

² Beijing Key Laboratory of Optoelectronic Measurement Technology,
Beijing Information Science & Technology University, Beijing 100192, China

Abstract The optical coherence tomography (OCT) technology has been extensively used in clinical medicine, (including ophthalmology, intravascular endoscopy) and pharmacology, because of its non-invasive and non-contact features. Until now, OCT can be categorized into two major types according to the priority of imaging direction. One is the standard OCT which can perform A-line scanning along the incident direction of sample beam and has the ability to generate the longitudinal section (B scan) image, normally used to identify the individual retinal layers. The other is the *en-face* OCT (also called frontal section OCT) which can generate the transverse section image of sample layer in the direction perpendicular to the incident light. Using *en-face* OCT, the fine structure of the biological sample can be displayed in a field-of-view similar to that of the microscope, considerably extending the acquisition and representation modes of OCT imaging. Different signal acquisition methods can be adopted by *en-face* OCT systems. A detailed analysis and summary regarding these methods as well as the developing roadmap of *en-face* OCT are provided.

Key words imaging systems; optical coherence tomography; *en-face* imaging; full-field imaging; signal retrieval **OCIS codes** 110.4500; 110.1758; 110.1650

1 引 言

光学相干断层成像(OCT)技术利用宽谱光源,通过探测样品背向散射光与参考光的干涉信号,获

取组织内部的结构或功能信息。在人体软组织中, 其成像深度达 $1\sim2~\text{mm}$,空间分辨率为 $1\sim10~\mu\text{m}$ 。 OCT 技术一出现就迅速成为生物医学成像领域的 研究热点,被认为是一种很有前途的高分辨无损实

收稿日期: 2019-08-15; 修回日期: 2019-11-12; 录用日期: 2019-12-06

基金项目: 国家自然科学基金(61975019)、高等学校学科创新引智计划(D17021)、北京信息科技大学促进高校内涵发展(5211910919)

^{*} E-mail: jzhumail@gmail.com

时成像技术,也衍生了众多的技术分支[1]。

En-face (源自法文,有面对面和正向之意) OCT 是基于低相干双光束干涉仪,以与人射光相垂直的 横截面为切片面对样品进行断层(层析)成像的技术。从照明方式上看, en-face OCT 可分为两类。 第一类是使用会聚光横向扫描样品的时域 OCT(简称逐点扫描时域 OCT),这也是狭义层面上对 en-face OCT 的定义。在不需要长纵向焦深的情况下,可选用高倍数值孔径的物镜,此时 en-face OCT 系统的横向分辨率与高分辨共聚焦显微镜的横向分辨率在一个量级,该技术可显示微米级甚至亚微米级的精细结构,因此也被称为光学相干断层显微 (OCM)技术[2]。第二类是基于宽场照明光源的线阵/全场 OCT,在不使用光纤探头作为共聚焦针孔的情况下,该系统对线阵或全场信号进行同步提取,可细分为时域和频域(傅里叶域)两种不同的模式。

在两类 en-face OCT 中,逐点扫描时域 OCT/OCM 通过引入高数值孔径物镜,在光学低相干条件下对样品优先进行快速横向扫描,旨在解决早期时域 OCT 系统 B scan 图像横向分辨率不足、观看习惯与传统眼底显微镜不一致的问题[3-4]。而宽场的线阵/全场 OCT 的提出与发展,则源自对快速显微成像的实际需求,以减少成像过程中环境干扰和活体组织样品运动导致的图像失真的情况。线阵/全场 OCT 在自由空间中采用宽光源实现线阵或全场照明,在接收端以线阵相机代替单像素探头或直

接使用二维相机并行记录干涉信号,因而减少了横向扫描次数甚至无需横向扫描,可快速获得样品横向特定层的二维图像。在线阵/全场 OCT 的视场内多个像素点的信号被同时采集,横向上无伺服扫描系统控制或控制较为简单,因此成像速度快,具有受样品运动干扰小、图像稳定性高的特点,也易于与传统宽场显微镜技术相结合以实现高分辨成像,因而成为一个较热门的研究方向[5]。

狭义的 en-face OCT 仅指以会聚光横向扫描样品的时域 OCT。本文采用其更广泛的定义,即优先对横截面进行成像的 OCT,包含逐点扫描时域 OCT/OCM 和基于宽场的线阵/全场 OCT 两类系统。本文主要讨论全场 OCT 的信号提取方式,为兼顾技术发展的过程,也简要讨论逐点扫描时域 OCT 的信号提取方法。至于把 OCT 获取的 B scan 图通过后处理转变为 en-face 图的图像处理方法,则不在本文讨论之列。

2 En-face OCT 时域/频域信号提取 方法

与典型的基于纵向 A-line 扫描的 OCT 系统不同, en-face OCT 优先对样品横向截面进行成像 $[^2]$,如图 1 所示。前者视场中的图像类似于超声成像,清晰的分层结构信息沿 x-z 方向(即纵向)被清晰呈现;后者视场中的 x-y 方向(即横向)图像类似于显微成像,对应特定样品层的结构信息沿横向被呈现。

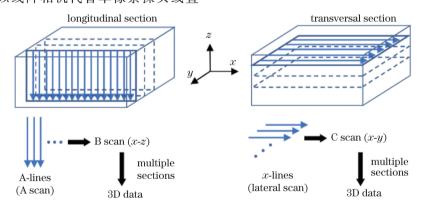


图 1 标准纵向扫描模式(左)和横向扫描模式(右)的对比[2]

Fig. 1 Comparison between standard axial scanning mode (left) and standard transverse scanning mode (right)[2]

OCT 所用光源,无论是飞秒激光、超连续发光二极管(SLD)、发光二极管(LED)还是扫频激光,所包含的光谱范围都较宽。时域 OCT 的宽光谱光源是非单色的。"光是非单色的"与"波列长度有限"是光源同一性质的不同表述。波列也称光学波包,是一种对不同频率光波叠加后在时域形成的包络的形

象化描述。无限长的波列对应单色光,实际的波列都是有限长的。激光是准单色光,常见白光(比如日光)的波列长度约为几个微米^[6]。频域(傅里叶域)OCT利用宽光谱光源或单色性较好的扫频光源,对测量出的多波长谱域干涉信号进行傅里叶逆变换并将结果映射到空域,进而得到OCT的层析图像。

以下分时域与频域来介绍 en-face OCT 的信号 提取原理^[7]。

2.1 En-face 时域 OCT

光的有限波列长度与光在时域上的相干性是彼 此相关的。

对同一光源,若同一波列和经分束镜形成的克隆在时空上相遇,虽然两者包络内的高频电磁波的振荡频率高达约 10¹⁵ Hz,但其相位差是恒定的,因此要么干涉相长,要么干涉相消,进而在时域上形成稳定干涉效应。从光学上看,干涉是一种相干现象,从信号分析角度上看,干涉是波列与波列自相关性的体现。对光的包络进行自相关运算后可得到时域波形,其半峰全宽对应的时间乘以光速即为该宽谱光源的空间相干长度。

而对于光源中两个不同序列的波列,当其包络在同一时刻相遇时,因二者所含高频电磁振荡信号对应的相位差是随机分布的,所以这些不同序列波包内的高速振荡信号相互叠加时,将表现为时而干涉相长,时而干涉相消。由于探测器光电转换的时间平均积分效应,信号最终不能形成时域上稳定的干涉强度信号,即无干涉效应或成为直流背景。从光学上看,振荡信号是非相干或者低相干的体

现,从信号处理角度上看,是不同序列的波列在时域上缺少相关性所致。

探测器接收的光信号包含参考光和物光,二者以复振幅形式叠加。在部分相干的条件下,物光又可分为相干物光和非相干物光(与参考光无法形成稳定干涉)两部分。令 E_R 、 E_C 、 E_I 分别代表参考光、相干物光、非相干物光的复振幅,则探测面上的总光强可写为

$$I = |E|^2 = |E_R + E_C + E_I|^2 =$$

 $|E_{\rm R}|^2 + |E_{\rm C}|^2 + |E_{\rm I}|^2 + 2E_{\rm R0}E_{\rm C0}\cos(\Delta\varphi_{\rm RC}) + 2E_{\rm R0}E_{\rm I0}\cos(\Delta\varphi_{\rm RI}) + 2E_{\rm C0}E_{\rm I0}\cos(\Delta\varphi_{\rm CI}),$ (1) 式中:参考光复振幅分布 $E_{\rm R} = E_{\rm R0}(\cos\varphi_{\rm R} + i\sin\varphi_{\rm R}),$ $E_{\rm C}$ 和 $E_{\rm I}$ 的表达式以此类推;下标 0 为复振幅的振幅项;参考光与相干物光之间的相位差 $\Delta\varphi_{\rm RC} = \varphi_{\rm R} - \varphi_{\rm C}, \Delta\varphi_{\rm RI}$ 与 $\Delta\varphi_{\rm CI}$ 的含义以此类推。因(1)式前三项为直流项,可把后三项余弦调制项之和记为干涉项 I'。

对于宽光谱光源,干涉是不同频率波在时域(或谱域)上的叠加。对于具有不同频率 ω 、不同光程差 Δl 的光,会有不同的相位差 $\Delta \varphi$,可记为 $\Delta \varphi(\omega,\Delta l)$ 。设光谱平坦且谱宽为 $[\omega_1,\omega_2]$,以此作为谱域积分区间,则干涉项 I'为

$$I' = \int_{\omega_1}^{\omega_2} \left\{ 2E_{R0}E_{C0}\cos\left[\Delta\varphi_{RC}(\omega,\Delta l)\right] + 2E_{R0}E_{I0}\cos\left[\Delta\varphi_{RI}(\omega,\Delta l)\right] + 2E_{C0}E_{I0}\cos\left[\Delta\varphi_{CI}(\omega,\Delta l)\right] \right\} d\omega. \quad (2)$$

谱域上多波长振荡信号的叠加(积分)在时域上表现为包络信号,定积分后变量 ω 消失,(2)式便简化为(1)式后三项之和I'。

对于干涉项 I'对应的包络,如不考虑色散,可设包络内部由多光谱合成的高频振荡信号的等效振荡频率为常数 ω_0 。若该振荡信号初始相位表示为 $\varphi(\omega_0,\Delta l)$,则两个包络之间高频振荡信号的瞬时相位差为

$$\Delta\varphi(\omega_0, \Delta l) = \Delta\varphi_N(\omega_0) + \Delta l \frac{2\pi}{\lambda_0} = \Delta\varphi_N(\omega_0) + \Delta l \frac{\omega_0}{\epsilon},$$
 (3)

式中:N 为在空间相遇的两个包络的序列号(整数)之差; $\Delta\varphi_N(\omega_0)$ 为不同包络之间高频振荡信号的初始相位差(与光程无关,与波列或包络的序列有关); $\Delta l \frac{2\pi}{\lambda_0}$ 为包络间光程差所引起的高频振荡信号的相位差。

实际情况中,探测器无法探测光波高频振荡,测

得的光强是曝光时间内到达的所有包络信号进行时间平均(叠加)之后的结果。

对于时域 OCT 系统,当 $N \neq 0$ (光程差超过光源相干长度)时,任意两个不同包络内的振荡信号对应的相位差 $\Delta \varphi_N(\omega_0)$ 随机分布在 $[0,2\pi]$ 内。曝光时间内多个不同的包络信号(复数信号)相叠加,经时间平均之后,干涉强度项可认为是零。若以与参考光光程差大于光源相干长度的光为非相干光,以与参考光光程差小于相干长度的光为相干光,则上述结果对应 I'中后两项是非相干光和参考光、非相干光和相干光在时域中的叠加。在 N=0(物光、参考光的光程差在光源的相干长度内)的条件下,当同一个包络的输入信号经干涉仪分束与合束后在时空中再次相遇叠加时, $\Delta \varphi_N(\omega_0)$ 为 0, $\Delta \varphi(\omega_0$, $\Delta l)$ = $\Delta l \frac{2\pi}{\lambda_0}$,产生具有非随机相位差(与光程差直接相关)的干涉信号。可见,只有 N=0 处的相干样品层返回的物光(在探测器曝光时间内)才能够与参考光生

成稳定干涉信号,因此有

$$I = |E_{R}|^{2} + |E_{C}|^{2} + |E_{I}|^{2} + I' =$$

$$|E_{R}|^{2} + |E_{C}|^{2} + |E_{I}|^{2} + 2E_{R0}E_{C0}\cos\left(\Delta l \frac{\omega_{0}}{c}\right).$$
(4)

将振幅形式写成强度形式,有

$$I = I_{R} + I_{C} + I_{I} + 2\sqrt{I_{R}I_{C}}\cos\left(\Delta l \frac{\omega_{0}}{c}\right), \quad (5)$$

式中: I_R 、 I_C 与 I_L 分别为参考光强度、相干物光强度。实际光谱具有带限谱宽,更严格的推导结果表明,(5)式最后一项是高斯分布(以光程差大小为横轴)的干涉包络信号,即

$$I = I_{R} + I_{C} + I_{I} + 2\sqrt{I_{R}I_{C}} \cdot \exp\left(-\frac{\Delta l^{2}}{2\sigma_{I}^{2}}\right) \cdot \cos\Delta\varphi_{RC}. \tag{6}$$

考虑到参考光振幅分布被认为是常数, $\sqrt{I_{\rm C}}$ (或整个调制项的振幅系数 $2\sqrt{I_{\rm R}I_{\rm C}}$)即是 OCT 要提取的样品反射系数。对生成的样品图可以用灰阶来描述其数值大小。

要提取上述振幅系数,可调节光路使 $\Delta l = 0$,此时高斯分布指数项为 1,再让(6)式中相位差 $\Delta \varphi_{RC}$ 随时间产生周期性调制(相移或者加入载频),此时(6)式中前三项便可视为直流(DC)信号,(6)式最后一项在余弦函数作用下对应交流(AC)信号,将交流、直流信号分离并提取交流项的振幅,即可获取样品相干层的反射系数。

宽光谱光源导致的低相干现象是时域 OCT 能生成对应特定断层的样品图像的物理基础。然而,只有相同序列的波列(光程差在相干长度内)才能在探测器上形成稳定的干涉,进而使得时域 OCT 具备提取单层图像信号的能力。通过扫描参考臂,即可获得不同深度的信号,最后获得断层层析图像。

2.2 En-face 频域(傅里叶域)OCT

根据波动理论,任何频率的波都可以叠加并产生干涉。时域 OCT 在干涉系统中引入低相干性光源,能对相干层的振幅信号进行提取。然而,在相干层之外的物光与参考光的干涉信号随时间快速扰动,在探测器上不能形成稳定的干涉信号,使得这部分信号无法被时域 OCT 系统有效利用。

时域 OCT 不能同步提取样品的纵向层析信号,原因并非是其干涉信号本身丢失,而是由于物光波包与参考光波包的复振幅干涉信号在空间上的同一点(探测器的一个像素)产生了叠加。样品相干层对应的物光与参考光之间的光程差在宽谱光源的相

干长度以内,非相干层反射的物光与参考光之间的 光程差则大于相干长度,这使得该部分物光和参考 光的波包分属于不同的波包序列,二者的高频电磁 振荡信号的相位差为随机关系。若在时空上同一点 对复振幅干涉信号进行叠加,与非相干层对应的干 涉信号在探测器的时间平均作用下最终会成为均匀 背景光或直流项,无法用于同步的层析信号提取。

然而,尽管样品非相干层对应的干涉信号在时域上具有初始相位的随机性,干涉信号在谱域上的功率谱密度(经谱分解)的空间分布却不是随机的,而是具有与光程差直接相关的频谱分布特性。这就为同步的层析成像提供了思路:对原本集中于时空上一点的干涉信号进行谱分解,在新增的谱域维度上充分利用干涉信息,以避开时域系统中时间相干门的限制,进而快速获取纵深的层析图像。

傅里叶域 OCT(FD-OCT) 分为谱域 OCT(SD-OCT)和扫频 OCT(SS-OCT)两种模式,分别用基 于空间维度的光谱仪或基于时间维度的扫频光源将 干涉信号在谱域(频域)上进行展开,将原本在同一 点叠加的复信号(振幅与相位)转为在时空中按谱值 展开的复信号,探测器对接收到的信号以功率谱(光 强)的形式呈现。需要注意的是,这里记录的不是空 间频谱,而是干涉光强信号对应的谱密度分布。下 面以 SD-OCT 为例进行说明。时域 OCT 中各个谱 分量所对应的复振幅(含振幅与相位)在时空中叠加 后,其光强再被记录,与此不同,SD-OCT 利用线阵 一维相机记录光栅谱分解后的干涉信号,以谱值为 横坐标同步记录多点干涉强度,即以干涉场的谱分 解和多点记录来分别代替干涉场光谱成分在时空同 一点的复振幅叠加和单点记录。因而,当物光、参考 光中不同时间序列的包络(对应的光程差大于相干 长度)相遇时,虽然两包络内部高频振荡信号之间的 相位差是随机的,但是对应的干涉项因谱分解的引 入而不会像时域系统中那样(经复振幅叠加与时间 平均后)变为直流背景项。对谱分解后的干涉信号 进行谱分析,能实现同步的分层信号提取。

令频域中干涉信号的复振幅为 $E(\omega) = E_0(\omega) \exp[i\varphi(\omega)]$,圆频率为 $\omega = 2\pi/T$,其中 T 为光波的时间周期,根据傅里叶变换定理,不同频率的复振幅 $E(\omega)$ 在时域中叠加后可表示为

$$E(t) = \frac{1}{2\pi} \int_{-\infty}^{\infty} E(\omega) \exp(-i\omega t) d\omega =$$

$$\frac{1}{2\pi} \int_{-\infty}^{\infty} [E_{S}(\omega) + E_{R}(\omega)] \exp(-i\omega t) d\omega, \quad (7)$$

式中: $E_s(\omega)$ 为物光的复振幅。干涉强度为

$$I(t) = |E(t)|^2 = \int_{-\infty}^{\infty} |E_{R}(\omega) + E_{S}(\omega)|^2 \exp(-i\omega t) d\omega.$$
 (8)

根据复数求和的模平方公式可知, $|E_R(\omega)+E_S(\omega)|^2=|E_R(\omega)|^2+|E_S(\omega)|^2+2\mathrm{Re}[E_R(\omega)E_S^*(\omega)]$,若 先忽略直流项,只取 I(t)展开式中视为交流信号的第三项,将 $E(\omega)=E_0(\omega)\exp[\mathrm{i}\varphi(\omega)]$ 代入,有 $I_{AC}(t)=2\int_{-\infty}^{\infty}E_{R0}(\omega)E_{S0}(\omega)\cos[\omega t+\Delta\varphi_{RS}(\omega)]\mathrm{d}\omega$ 。

在实际信号采集系统中,需把积分变为有限谱宽内的离散求和,有

$$I_{AC}(t) = 2\sum_{\omega}^{\omega^2} E_{R0}(\omega) E_{S0}(\omega) \cos[\omega t + \Delta \varphi_{RS}(\omega)]. \tag{9}$$

从光程差为 0 处开始对光波包络的传输进行计算,由 $t=\Delta l/c$,得 $I_{\rm AC}(\Delta l/c)=2\sum_{\omega 1}^{\omega^2}\cos(\omega\Delta l/c+2\pi\Delta l/\lambda)$ • $E_{\rm R0}(\omega)E_{\rm S0}(\omega)$ 。

根据 $\omega = 2\pi/T = 2\pi c/\lambda$,进一步有

$$I_{\rm AC}(\Delta l) = 2\sum_{\omega 1}^{\omega 2}\cos\left[\omega\left(\Delta l + \frac{1}{c}\Delta l\right)\right] \cdot E_{\rm R0}(\omega)E_{\rm S0}(\omega) \approx 2\sum_{\omega 1}^{\omega 2}\cos(\omega\Delta l) \cdot E_{\rm R0}(\omega)E_{\rm S0}(\omega), \quad (10)$$

式中: $E_{R0}(\omega)$ 可认为是常数项; $E_{S0}(\omega)$ 即是需计算的样品对应层的反射系数。如将(10)式在谱域展开(用光谱仪进行谱分解,以角频率 ω 为横轴),而非在同一点进行求和叠加,便可得到物光和参考光的干涉光场对应的功率谱密度。谱分解后,不同光程

差对应的干涉强度项与功率谱密度分布有某种对应 关系。以某一扫描点为例,基于某一特定光程差 Δl 的干涉强度项 $I_{AC}(\omega,\Delta l)$ 等于以 $\cos(\omega\Delta l)(\omega=2\pi c/\lambda=kc)$ 为谱空间横坐标)为余弦调制因子的功率谱密度 $E_{RO}(\omega)E_{SO}(\omega)$,如图 2 所示。

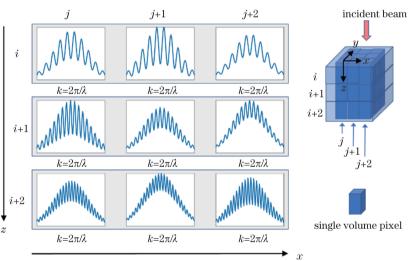


图 2 en-face FD-OCT 信号获取的示意图

Fig. 2 Illustration of signal retrieval in en-face FD-OCT

图 2 + i、i + 1 + i + 2 分别对应不同的样品 层序号,j、j + 1 与 j + 2 分别对应侧向不同位置扫 描点的序号,9 个小图分别代表与空间坐标点逐一对应的干涉强度信号的谱密度分布。可以看到,不同深度(i,i+1,i+2)的样品层在谱密度图中对应不同的余弦调制频率(b) 反应角频率的大小);而不同横向扫描采样点(j,j+1,j+2)由于有不同的反射系数,在谱密度图中对应不同的调制幅度(b)

交流项的振幅)。En-face 谱域 OCT 与显微镜成像方式类似,优先采集横向(x-y 平面)信号,而传统 OCT 与超声成像方式类似,优先采集纵向二维(x-z 或者 y-z 平面)图像信号。

FD-OCT 探测的是纵向(对应 i,i+1,i+2, \cdots) 上的强度叠加信号。通过谱分解与傅里叶分析,容 易从强度叠加后的总功率谱密度 $\sum_{\alpha=0}^{M=1} I_{AC}(\Delta l)$ 里 提取出被特定(以 Δl 为角频率)余弦调制因子所调 制的功率谱密度,计算此功率谱密度分量对应的幅值,即可获取某特定光程差 Δl 对应的样品反射系数 $E_{R0}(\omega)E_{S0}(\omega)$ 。以上是 FD-OCT 实现同步层析成像的物理基础,对 SD-OCT 和 SS-OCT 均适用。通常,SD-OCT 和 SS-OCT 都是通过横向扫描采集多条 A-line 的数据,以直接生成纵向截面上的B scan图像,在横向截面上的 en-face 图像实际是通过后期数据处理间接获得的。然而,对于傅里叶域全场 OCT 系统, en-face 图像则是在宽场信号的基础上直接获取的,基于傅里叶谱分解来进行三维层析成像,优先在横向上进行信号提取和图像显示,在此意义上,本小节所述的原理依然适用。

3 En-face OCT 信号提取方法的分类

根据系统是频域还是时域,是扫描成像还是全场成像,采用不同的信号提取方法。传统的基于外差探测的载频调制方式具有调制解调速度快、信噪比高的优点,被广泛应用于扫描型 OCT 和全场OCT 的干涉信号提取中。但是载频法所需的驱动电路和后续信号处理较为复杂,成本较高,与之相比,移相方式因信息存储量小和信号处理简单的特点,在基于二维相机采集干涉信号的全场 OCT 中被广泛使用[8]。

3.1 时域横向逐点扫描法

如 1.1 小节所述, en-face 时域 OCT 要提取样品层反射系数,可先调节光路使 $\Delta l = 0$,再让(6)式中相位差 $\Delta \varphi_{RC}$ 随时间产生周期性调制,此时前三项可视为 DC 信号,最后一项在余弦函数作用下对应 AC 信号,光电探测器将 AC、DC 信号分离并提取出交流项的振幅,即可获取样品相干层的反射系数。周期性强度调制一般可通过相移或加入载频来产生,后者又叫外差探测技术。时域 en-face OCT 大多采用外差探测技术,在参考光和样品光间引入高频相位调制,进而对干涉信号施加载频调制,以提高系统的信噪比和探测灵敏度,达到量子噪声探测极限。

此类成像系统是优先横向逐点扫描,因此信号调制的基本目标是对参考光施加相位延迟,使得干涉信号产生快速的强度调制(对应交流项),同时尽可能不引入群延迟,以确保相干门相对共聚焦门不产生相对位移。

3.1.1 压电换能器拉伸光纤或基于快速扫描延迟线

OCM 系统最初由 Izatt 等实现^[3],是 en-face 成像与传统标准时域 OCT 成像相结合的系统,如图 3(a)所示。

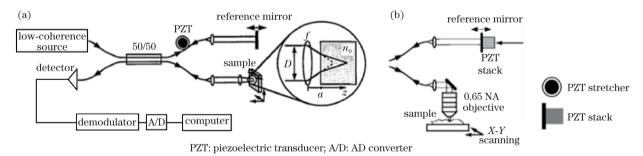


图 3 不同结构的时域 OCM[3]。(a)拉伸型 PZT;(b)堆栈片 PZT

Fig. 3 Time-domain OCMs using different structures [3]. (a) Stretched PZT; (b) stacked PZT

该类系统基于 PZT 的光纤拉伸器,通过压电效应拉伸光纤,对参考臂进行光程的微小调制,以产生在一个波长范围内的连续相位调制,进而引入时域载频(交流项)。与此同时,右侧参考镜沿轴向移动,以实现对样品的纵向扫描,同时使参考光产生多普勒频移,引入另一个时域载频。两个载频叠加后共同构成调制信号并作用于干涉信号项,再通过解调制,干涉信号项与直流背景项被分离。此外,也可采用堆栈式的片状 PZT 胶合参考镜的方法,在 PZT的小振幅模式下连续往返微移(在一个波长范围内)参考镜的位置,以产生时域载频,如图 3(b)所示。

现今大多数高分辨率 OCM 使用堆栈片 PZT,其干涉系统相对简单,能支持宽光谱光源如 LED、超辐射 LED^[9]等,也便于对干涉系统的色散进行控制和匹配。然而,相对低的相位调制频率(数百 kHz)使得基于堆栈式片状 PZT 调制的时域 OCT 不易实现实时成像。而且,当在光纤型干涉仪上使用 PZT 调制时,光纤长度会产生慢漂移,信号受到额外的调制,这就需对与调制频率对应的谐波进行有效解调。通过选择由压电驱动的振幅和计算解调能量,虽然可移除此附加的调制项,但也增加了系统复杂度。鉴于此,替代 PZT 来产生时域载频的另一个方案是

基于快速扫描延迟线(RSOD)的相位调制法^[10],该方法可实现 MHz量级的调制频率。由于RSOD采用了光栅和透镜的组合,不仅能实现相延迟和群延迟的独立控制,还可通过调节光栅与聚焦元件之间的偏置为系统提供色散补偿^[11-14]。

光学差频探测方法从概念上类似光学扫描外差显微镜,在对样品后向散射光的探测上,具有大于100 dB的灵敏度。

3.1.2 产生时域载频的声光调制

声光调制器(AOM)利用声波对光的调制作用,可以改变入射光的时间频率,其频移量通常在 MHz 量级,完全满足 OCT 系统对信号高速调制的要求。若将光路中两个 AOM 串联,分别保留衍射项的+1级与-1级,设定两个 AOM 的声光调制频率,便能把出射光的频移量控制在 MHz 量级。两束不同频率光波相遇会产生拍频现象,使干涉强度信号引入时域载频。载频所调制的强度信号是干涉项交流信号,其解调方法与前述基于 PZT 或 RSOD 来产生外差干涉信号的系统一样,使用光电探测器进行检波操作即可。如要进一步提取信号的复振幅(相位+振幅),可采用外差探测中的锁相检测法,具体过程如下。

若以 $A e^{i(\omega_t + \varphi)}$ 描述光学波动信号,两東具有不同频率和振幅的光波在空间一点叠加,可用复指数相加^[15-17],表示为 $E = A_1 e^{i(\omega_1 t + \varphi_1)} + A_2 e^{i(\omega_2 t + \varphi_2)} = e^{i\omega_2 t} [A_1 e^{i(\Delta \omega t + \varphi_1)} + A_2 e^{i\varphi_2}]$,其中 $e^{i\omega_2 t}$ 是快变振幅项,不能被系统探测, $A_1 e^{i(\Delta \omega t + \varphi_1)} + A_2 e^{i\varphi_2}$ 是慢变相, $\Delta \omega = \omega_1 - \omega_2$ 。对应的可被探测的干涉光场强度为

$$I = |E|^2 = |A_1 e^{i(\Delta \omega t + \varphi_1)} + A_2 e^{i\varphi_2}|^2 =$$

 $|A_1|^2 + |A_2|^2 + 2A_1A_2\cos(\Delta\omega t + \Delta\varphi)$,(11)式中:如直流项 $|A_1|^2 + |A_2|^2$ 被移,剩下交流项 $2A_1A_2\cos(\Delta\omega t + \Delta\varphi) = I_1\cos(\Delta\omega t + \Delta\varphi)$; A_2 和 φ_2 分别为平面波参考光的振幅和相位,可被认为是常数。锁相探测器在两个独立通道中输出两个本地振荡(LO)信号,分别为 $\cos(\Delta\omega t)$ 和 $\sin(\Delta\omega t)$ 。将此两个振荡信号与 $I_1\cos(\Delta\omega t + \Delta\varphi)$ 相乘(余弦调制),输出信号为 $\frac{1}{2}I_1\cos(\Delta\omega t + \Delta\varphi)$ 相乘(余弦调制),输出信号为 $\frac{1}{2}I_1\cos\Delta\varphi$ 和 $\frac{1}{2}I_1\sin\Delta\varphi$,高频分量被探测器内的低通滤波器滤除,此两个信号被称为 in-phase信号(P)与 quadrature 信号(Q)。依据上述信号提取方法,物光的相位为 $\varphi_1 = \Delta\varphi = \arctan(Q/P)$,振幅 $A_1 \propto I_1 = \sqrt{P^2 + Q^2}$ 。在 A_1 和 I_1 之间只有一个常系数的差别。该类调制解调法既可用于扫描 OCT 系统,也可用于全场 OCT 系统。

3.2 时域全场干涉法

扫描型 en-face OCT 系统需要沿横向进行扫描,因此会限制其在微观尺度下对动态过程的成像性能。微脉管内血细胞的运动,细胞内特征的提取,聚合物拉伸时的微观裂变,聚合物在挤压过程中的微晶的形成,微小颗粒的追踪,药物包衣(涂布)过程的监控等,都是微观动力学监测内容。与之相比,宽场照明下的时域全场 OCT(TD-FFOCT)不需要进行横向扫描,可选择在感兴趣的深度位置处的成像面,基于不同时间尺度对样品结构进行动态成像。TD-FFOCT 与全息成像术相比,有不少相同之处,均采用宽场照明和平行探测,但全息成像一般只适宜于低浓度下的单一目标物成像,不太适用于高散射或者多层样品,宽场照明下的 TD-FFOCT 弥补了此不足[18]。TD-FFOCT 的信号提取方法可分为同轴干涉法和离轴干涉法[19]。

3.2.1 基于数字全息的同轴干涉法

与同轴数字全息术类似,同轴的 TD-FFOCT 的信号提取法可以分为时域移相(多步、一步移相或者旋转波片)与时域载频^[8]。

如 2.1 小节所述,基于时域载频的信号提取方式具有解调速度快的优点,一开始就被广泛应用于标准扫描式 OCT 系统中(基于单像素的光电探头)。但对于宽场 OCT 系统,信号采集元件变为二维相机,需要较复杂的驱动电路和后处理来解调高速载频信号(外差信号),普通 CCD 相机难以胜任。与之相比,采用零差探测模式(不引入时间载频信号)基于时域步进移相来进行信号解调的方法具有信号处理简单和信息存储量小等优点,被广泛用于同轴宽场干涉系统与 TD-FFOCT 中,如图 4 所示。

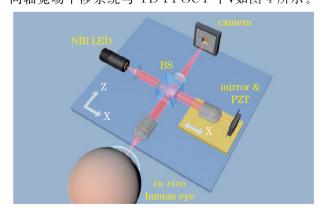


图 4 基于时域相移的全场 OCT 系统^[20]

Fig. 4 Full-field OCT system based on phase shifting in time-domain^[20]

近红外 LED 光源输出的光经准直后被分束镜

(BS)后分为物光和参考光。基于 PZT 的精密平移台上固定有物镜和反射镜,在 PZT 作用下平移台可沿 x 轴步进平移,通过改变参考臂长度实现移相。两个置于光学系统下方的正交电动平移台可以沿 x 或 z 轴移动整个干涉仪,沿 z 轴移动可使干涉仪远离或靠近眼睛,光束能聚焦到不同的角膜层,而沿着 x 轴移动,可寻找到最优成像位置。

设 $U_R(\phi_R)$ 与 $U_S(\phi_S)$ 分别是平面参考光波与物光波的复振幅, ϕ_R 与 ϕ_S 分别是参考光与物光的初

始相位。若以参考光的相位为自变量,则二维相机 上的干涉光强为

$$I(x, y; \phi_{R}) = |U_{R}(x, y; \phi_{R}) + U_{S}(x, y; \phi_{S})|^{2} = A_{R}^{2} + A_{S}^{2} + 2A_{R}A_{S}\cos(\phi_{R} - \phi_{S}).$$
(12)

通过步进改变参考光相位,在相机上分别记录对应的干涉强度图。以四步相移^[21]为例,设参考光初始相位 $\phi_R = 0$,物光相位 $\phi_S(x,y) = \arctan\frac{I(x,y;3\pi/2)-I(x,y;\pi/2)}{I(x,y;0)-I(x,y;\pi)}$,则物光振幅为

$$A_{S} \propto \sqrt{|I(x,y;0) - I(x,y;\pi)|^{2} + |I(x,y;3\pi/2) - I(x,y;\pi/2)|^{2}},$$
(13)

然而在光束传输方向上,通过位移参考镜获得的时域相移量与光源波长有关,在宽光谱条件下还会引入色散,此时若用基于单色光的移相算法来提取信号,会引入误差。此外,时域相移法计算复振幅时需要获取多帧图像,这就增加了系统的信号采集时间。

鉴于此,采用基于单次曝光的复振幅信号提取法,可加快 FFOCT 的信号采集时间,同时减少色散。在已报道的单次曝光 FFOCT 系统中,有的通过引入偏振元件产生相移 $[^{22}]$;有的是基于微电机系统(MEMS)的微镜阵列或基于移动光栅 $[^{23}]$;有的是利用分光分束镜反射面,在反射光与透射光之间同步产生(不需移动任何元件)相移量 $\pi^{[24]}$,如图 5 所示,该方案采用马赫-曾德尔干涉系统,在单次曝光条件下使用同步移相法记录干涉图,再用希尔伯特变换对干涉图进行相位和振幅信号的提取。

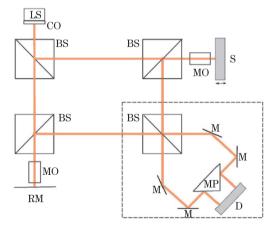


图 5 基于单次曝光的全场 OCT 系统^[24] Fig. 5 Full-field OCT system based on single-shot exposure^[24]

在图 5 所示系统中,宽带光源(LS)经准直镜(CO)后成为平行光,平行光被非偏振分束镜(BS)

分为参考光和物光,并分别入射到参考镜(RM)和散射组织样品(S)的表面。样品在 PZT 作用下,可沿光轴平移并进行纵向扫描。图 5 虚线框内元件的作用类似标准扫频 OCT 的平衡探测器,最后一个分束镜的反射面使得透射光和反射光之间产生 π 的相移量。干涉光被反射镜(M)和反射棱镜(MP)反射到相机中,相机左半部和右半部同步采集两帧振幅相同、但相位差为 π 的干涉强度信号图。左右两帧图像彼此相减,即可提取差分交流信号,去除背景光,获得的交流信号为 $2I_1\cos\Delta\phi$,其中 $2I_1$ 是交流项的振幅系数, $\Delta\phi$ 是相干物光和参考光的相位差。最后使用基于解析信号理论的希尔伯特变换来解调交流信号,提取物光信号的振幅和相位。

对基于希尔伯特变换的单次曝光全息术的信号重建和提取原理作简要阐述。设实信号为u(t),其希尔伯特变换为v(t),则u(t)+jv(t)=z(t)就是复数空间的解析信号,实部与虚部互为希尔伯特变换,对应 90°的相移。利用希尔伯特变换的单次曝光全息术可以计算实信号的瞬时相位、振幅及频率。为便于理解,图 6 给出了空域的一维干涉信号(实信号)经希尔伯特变换后重建出的物光振幅与相位的Matlab 模拟结果。

图 6 中横坐标代表相机任意一行的像素点,纵坐标对应光场信号的振幅(或强度)或相位。若信号是单一频率 f 的正余弦信号 $u(x) = A\cos(2\pi f x + \varphi_0)$,如图 6(f)所示,根据三角函数的周期性,很容易判断某个位置上信号的振幅和相位。参考欧拉公式 $\cos x + i \sin x = e^{ix}$,信号 $u(x) = A\cos(2\pi f x + \varphi_0)$ 沿 x 轴 向 右 相 移 $\pi/2$,即 可 得 到 $v(x) = A\sin(2\pi f x + \varphi_0)$,如图 6(g) 所示,将信号写成 $y(x) = u(x) + iv(x) = A e^{i(2\pi f x + \varphi_0)}$ 复数域解析函数

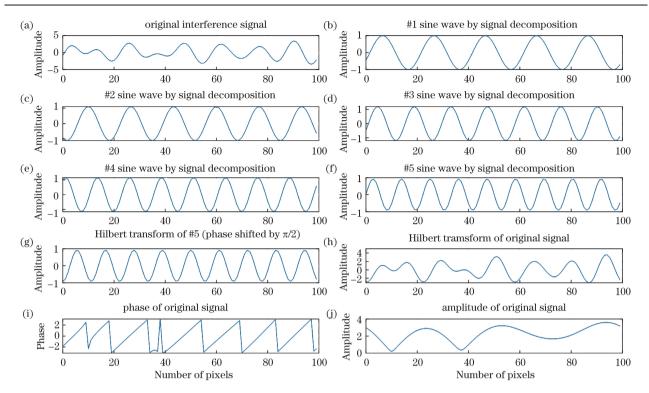


图 6 基于希尔伯特变换的空间一维信号振幅与相位恢复

Fig. 6 Amplitude and phase reconstruction of one-dimensional signal based on Hilbert transform in spatial-domain

形式。计算出的 $A=\sqrt{u(x)^2+v(x)^2}$, $\varphi(x)=$ $\arctan \frac{v(x)}{u(x)}$ 与原始信号 u(x)的振幅与相位相等。

然而,上述操作针对的是空间频率单一的信号。对于 OCT 系统,当所测样品为非均匀介质的生物组织时,物光臂上相干层对应的干涉信号 u(x) 的空间频谱分布往往不止一种频率成分,而是如图 6(a) 所示的多频率合成信号。此时,根据干涉信号本身无法判断物光的振幅和相位,也难以直接运用欧拉公式来生成复数域解析函数。然而,若将该信号分解为多个具有不同频率的正余弦信号的线性组合 $u(x)=\sum u_n(x)=A_n\cos(2\pi f_nx+\varphi_n)$,如图 $6(b)\sim(f)$ 所示,将每个频率成份 $u_n(x)$ 均沿 x 轴向右相移 $\pi/2$,得到 $v_n(x)=A_n\sin(2\pi f_nx+\varphi_n)$,即可构造出复数域解析函数 $y_n=u_n(x)+\mathrm{i}v_n(x)$,再将所有分量叠加,可得 $y=\sum y_n=u(x)+\mathrm{i}v(x)$,由此算出

$$A = \sqrt{u(x)^2 + v(x)^2}$$
 和 $\varphi(x) = \arctan \frac{v(x)}{u(x)}$,即对应原始信号 $u(x)$ 的振幅与相位。上述对信号空间频谱分量分别施加的移相操作等效于给 $u_n(x) = A_n \cos(2\pi f_n x + \varphi_n)$ 施加算符一 $(1/2\pi |f|)(\partial/\partial x) \Leftrightarrow -(f/|f|) = -\operatorname{sign}(f)$,后者正是希尔伯特变换的变换函数 \mathbb{Z}^{25} 。即信号经希尔伯特变换后空间频

谱的各频率分量的幅度保持不变,但相位出现 90° 相移。将其应用于 OCT 系统中时,设干涉项交流信号为 $I'=2I_1\cos\Delta\phi$,希尔伯特变换后可得 $I''=2I_1\sin\Delta\phi$,因此物光和参考光的相位差为 $\Delta\phi=\arctan(I''/I')$,干涉项振幅为 $I_1 \propto \sqrt{I'^2+I''^2}$ 。

希尔伯特变换可对空间干涉信号进行解调,在空域上重建物光的相位与振幅。与一维模拟过程相比,数字全息或 FFOCT 需要进行二维光场复振幅重建,可采用里斯变换,它能对高空间频率干涉条纹进行相位、振幅解调。

3.2.2 基于数字全息或光折变材料全息术的离轴 干涉法

同轴干涉法通过快速调制参考臂光程长度,产生时域载频。与之相比,离轴干涉法借鉴离轴全息中小角度偏转参考镜的手法,使干涉图像在空域上出现干涉条纹,也即空域载频。对空域条纹进行傅里叶变换,可得到0级、+1级与-1级衍射项的空间频谱,用数字滤波法将-1级与0级滤除,对保留的+1级频谱进行傅里叶逆变换,即可重新获得滤波后的空域图像。其中,0级谱包含了光程差超过光源相干长度的非干涉信号,消除该项后可以滤除来自样品中非相干层的背景信号;-1级谱对应共轭赝像信号。

因所用全息记录材料不同,宽场照明下的离轴

干涉法可分为数字全息记录法和光折变材料记录法。两者的共同特点是,在全息记录时引入空域载频,在全息再现时保留+1级衍射项,将衍射的0级项与赝像项消除。图7为基于离轴数字全息的TD-FFOCT示意图^[26]。

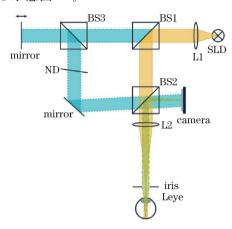


图 7 基于数字全息的离轴 TD-FFOCT 示意图^[26] Fig. 7 Schematic of off-axis TD-FFOCT based on digital holography^[26]

超连续二极管(SLD)输出宽谱光,其经准直后通过干涉系统,物光经快门孔径光阑(位于透镜 L1和晶状体 Leye的傅里叶面上)进入眼底,反射物光返回分束镜后被反射到相机感光面。参考光经过中性滤波片(ND)后光强被衰减,在相机上与物光发生离轴干涉。图 8 展示了基于数字全息的离轴 TD-FFOCT 系统的图像处理过程。

与离轴数字全息 TD-FFOCT 相对应,图 9 为使用光折变全息材料的离轴 TD-FFOCT 示意图^[27]。

图 9 记录光源为空间相干的可调谐宽谱二极管 泵浦 Cr: LiSAF 激光,中心波长为 825 nm,谱宽为 20 nm,输出功率为 100 mW,泵浦光源为输出功率 为 50:0的红宝石激光器。1/2 波片用于调节入射光的偏振方向。经迈克耳孙干涉仪,干涉信号被记录在光折变多量子阱(PRQW)全息材料上。光通过偏振分束镜后照射到样品和参考镜面上,并往返经过 1/4 波片,通过旋转两个 1/4 波片的偏转角,可调节干涉仪输出端参考光和物光的光强比。全息图读出光源为外腔式激光二极管(ECLD),波长为831 nm,光束被耦合进单模光纤并输出空间分布均匀的输出光。当读出光以一定入射角(与 PRQW 的法线夹角)照射全息图时,衍射效率出现峰值极大的情况。在记录材料 PRQW 后方透镜的傅里叶平面(焦面)上放置空间光滤波器(S1)。通过移动 S1,可

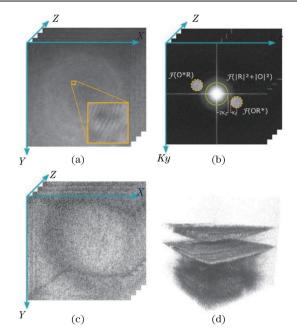


图 8 基于数字全息的离轴 TD-FFOCT 系统的图像处理^[25]。(a)空域干涉条纹;(b)干涉条纹的频谱; (c) +1 级频谱重建的 en-face 图像;(d) 图像拼接 后的三维层析结构

Fig. 8 Image processing of off-axis TD-FFOCT system based on digital holography^[25]. (a) Interference pattern in spatial-domain; (b) frequency spectrum of interference pattern; (c) *en-face* image reconstructed from + 1 order spectrum; (d) 3D tomographic structure recoveredby image stitching

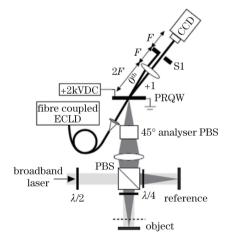


图 9 基于光折变全息材料的离轴 TD-FFOCT 示意图^[27]
Fig. 9 Schematic of off-axis TD-FFOCT based on photorefractive hologram material^[27]

选择 CCD 相机上采集到的图像信号的衍射级次。 孔径 S1 位置与角度的选择与调节对图像重建系统 的性能有显著影响。

由图 10 可知,样品层、PRQW 中全息图记录面和 CCD 感光面三面呈物像共轭关系,与全息图读出

image-domain holography

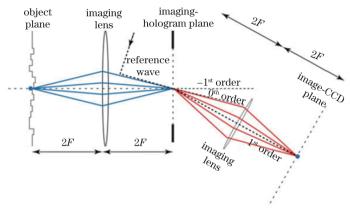


图 10 基于光折变全息材料的离轴 TD-FFOCT 的信号读取[14]

Fig. 10 Signal reconstruction of off-axis TD-FFOCT based on photorefractive hologram material [14]

光一致的方向为输出光的 0 级衍射方向。此外,基于数字全息的全场 OCT 方案需要通过后期计算才能获取物光场的复振幅分布;而基于光敏记录材料的全场 OCT 方案,则只需要选择具有合适波长与读取角度的读出光,就能再现出原始物光的光场分布。

3.3 傅里叶域线阵/全场 OCT

时域 OCT 每次需测量与时间相干门对应的相干体素内的光子信号。基于扩展照明和二维相机的 TD-FFOCT 虽能同步提取宽场信号,提高了系统成像速度,并已在活体成像上得到应用,但由于缺少深度信号的同步获取能力,其三维图像获取的速度被制约。在对快速成像有较高需求的领域如活体视网膜成像上,其成像速度还有待进一步提升,以抑制眼球快速转动带来的信号干扰。

FD-OCT 的出现使得信号采集可沿深度方向同步进行,对单个体素信号的采集变成一次性获取整条 A-line 信号。如前所述,FD-OCT 分为 SD-OCT 和 SS-OCT。在灵敏度相同情况下,标准扫描型 FD-OCT 信号采集速度比时域 OCT 高两个数量级以上,其 A-line 扫描速率可达数百 kHz 甚至1 MHz,可轻松实现活体的视网膜成像^[28]。若要进一步加快扫描速度,一个办法是增加扫描会聚光的功率。然而,生物组织成像需考虑光源安全性,以波长为 850 nm 的光源为例,在组织内部光束聚焦区,允许的安全最大曝光功率(MPE)值仅为 1 mW^[29]。根据 ANSI 标准 Z136.1—2007,扩展视场的照明范围能有效增加视网膜上允许的 MPE 值。因此,在与光轴垂直的横向上引入宽场照明代替聚焦照明并同步采集多条 A-line 信号,是进一步加快 SD-OCT

成像速度的有效办法。

3.3.1 基于线状光源与阵列相机的线阵 FD-OCT

对于 SS-OCT,可调频激光器的最高调频速率已达数 MHz,远高于当前商用相机的帧率,因此全场 SS-OCT 的信号采集速度主要受限于相机速度。商用 CCD/CMOS 相机按像元排列形式分为线阵 (linear)和面阵(area)两大类。面阵相机需要通过电荷转移逐个输出像素,像素输出速率无法满足高帧频的要求,在超过 10⁴ pixel 的分辨率下,帧率很难达到 10 kHz 以上,其在高速成像中的应用被限制。相比之下,线阵相机的帧率可达200 kHz以上,足以匹配高达 200 kHz 的 A-line 扫描速率^[30-31]。将线阵相机与线阵照明(扫频光源)相结合的方案也被称为线阵扫频 OCT (LF-SS-OCT),其信号提取速度可达 1 MHz 以上^[32-33]。

SD-OCT 对应的线阵系统结构稍复杂[34-35]。 SLD 发出的光经透镜 L1 扩束准直后通过柱透镜 (CL)形成片状光斑,经光学斩波器(Ch)(用于 CCD 读取记录数据时截断光源)之后,经过 L2 和 L3 入射到眼球组织,如图 11(a)所示[34];再用光栅对干涉信号进行谱分解,沿与线阵照明光束垂直的方向将每个照明点的干涉信号在一维谱空间域展开,如图 11(b)所示;最后用二维高速相机接收对应的谱分解信号,其采集的信号正是传统会聚扫描型 FD-OCT 所用线状相机采集的干涉光谱信号。该系统实现了 256 kHz 的 A-line 等效信号采集速率,灵敏度达 89 dB。此类系统的特点可归纳为一维线阵扫描、二维面阵接收及横向逐线照明扫描,也称为线阵谱域 OCT(LF-SD-OCT)。

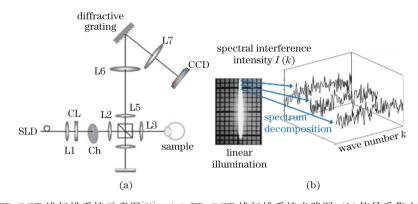


图 11 FD-OCT 线扫描系统示意图^[34]。(a) FD-OCT 线扫描系统光路图;(b)信号采集方式示意图 Fig. 11 Schematic of line-scanning FD-OCT system^[34]. (a) Optical path of line-scanning FD-OCT system; (b) signal recording process

与全场 OCT 相比,线阵 OCT 仍然保留了一个方向的共聚焦狭缝,其较少受到光学元件镜面反射的不利影响(噪音增加和成像动态范围减小)。在线阵 OCT 采用的两种不同模式中,因光谱信号在不同扫描时段上被分开,LF-SS-OCT 散射串扰与信号串扰比 LF-SD-OCT 要小,因而具有更高的信号灵敏度^[36]。

然而,因挪去其中一个方向的共聚焦针孔,线阵 OCT 的图像采集受谱域和空域串扰的影响较大。与传统逐点扫描 OCT 相比,线阵 OCT 在图像对比度、穿透深度、分辨率及灵敏度上尚有差距。对于 LF-SD-OCT,需采用具有更高数据读取速率的高速二维相机;对于 LF-SS-OCT,光源扫频速率与一维线阵相机的帧率还有待进一步提高[33]。

3.3.2 基于宽场扫频光源与高速二维相机的全场 SS-OCT

为进一步提高速度,需将线阵照明扩展为全场 照明,这就催生了全场扫频 OCT(FF-SS-OCT)^[37]。 以可调谐的扫频激光为光源,在宽场照明的基础上, 用 CMOS 二维相机(640 pixel×480 pixel,读出帧率为 128 Hz)采集宽场信号[38]。设该成像系统的每条 A-line 含 256 个纵向像素,则获取三维图像的时间约为 2 s,对应标准 SS-OCT 系统 153600 line/s的采样速度,这个速度对活体成像来说还是显得过慢。然而,由于 FF-SS-OCT 的信号采集速度受二维相机的帧率限制,早期的 FF-SS-OCT 系统大多用于静态的指纹分析和离体视网膜成像。随着相机技术的发展,新一代近红外二维相机在全帧模式下的帧率可达约 100 kHz。采用与高速相机帧率匹配的可调谐扫频激光器,FF-SS-OCT 获得了高达 1.5×106 line/s 的采样速率,实现了对视网膜活体成像[29]。

不断更新的系统成像速度、更佳的光源稳定性 为全场 FD-OCT 开拓出全新的应用领域。在人眼 压力波成像、基于波前算法的像差矫正、视觉受体细 胞的活体成像及细胞功能性实时成像等方面,FF-SS-OCT 有着广阔的应用前景。和 TD-FFOCT 系 统一样,FF-SS-OCT 也分同轴和离轴两大类,如 图 12 所示。

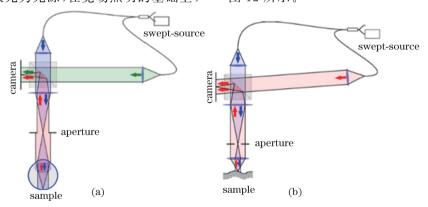


图 12 FF-SS-OCT 系统。(a)同轴 FF-SS-OCT 系统示意图^[39];(b)离轴 FF-SS-OCT 系统示意图^[40] Fig. 12 FF-SS-OCT system. (a) Schematic of on-axis FF-SS-OCT^[39];

(b) schematic of off-axis FF-SS-OCT[40]

在图 12(a)同轴系统中,可调谐扫频光源被分为参考光和物光。物光照明视网膜,背向散射光信号成像于相机上,并和参考光叠加干涉。在图 12(b)的离轴系统中,扫频光源输出的光经光纤分束器被分为物光和参考光。样品被准直后的物光照明,其背向散射光成像于相机上,参考光以一定的入射角照射相机,图像信号能从自相关噪声中被提出来。样品正上方是宽场物镜,若用动物眼睛代替物镜,即可实现对动物眼底的活体成像。

和传统数字全息术相似,全场 OCT 系统的一个不足之处在于相邻成像点的信号之间会发生相干串扰。而采用空间非相干光照明,不仅可以抑制相干串扰,而且对低阶的光学波前畸变不像空间相干照明系统那么敏感。空间非相干光可以用传统卤素灯、LED、快速旋转的散射片或多模光纤来产生,若要进一步抑制高阶波前畸变以实现高分辨显微成像,往往还需对宽场照明条件下样品臂上的相位畸变进行补偿,此时可采用基于两个相同高质量物镜的对称干涉系统[20],但这增加了 FF-SS-OCT 系统的复杂度。文献[29]表明,对视网膜眼底成像而言,相干照明条件下 FF-SS-OCT 系统可提供与 SS-OCT 接近的像质。

3.3.3 数字全息数值聚焦断层成像术(holoscopy)

和光学显微技术相同,OCT 横向分辨率受限于 衍射极限,其大小和物镜的数值孔径(NA)成反比。会聚物光的焦深(瑞利范围 $2Z_R$)与 NA 的平方成反比。在焦深范围内,横向分辨率 $2\omega_0$ 的取值最优,如图 13 所示。通常说的 A-line 扫描信号都在焦深范围内,超过这个范围,光束点扩展函数会发生弥散,不再具有良好的聚焦性,导致图像分辨率明显下降。

为尽可能增大焦深,以在更大深度范围内同步获取有效层析图像,FD-OCT 往往使用较低 NA 的物镜,但这会降低横向分辨率。对于标准(逐线扫描)FD-OCT,因为共聚焦针孔的存在,即使样品层处在长焦深范围内,但若其远离焦面,与之对应的反射光仍然难以达到探测器,使得该区域成像灵敏度迅速减小。与之相比,全场 FD-OCT 采用并行的照明与探测方式,不引入共聚焦门,因此可以在更大的测量深度内保持灵敏度,但在远离会聚光瑞利范围的非会聚区,获取的图像会有散焦现象,分辨率明显下降。

若要在横向上获取高分辨率显微图像,可换用 高 NA 的物镜,但这又会减小会聚物光的焦深,弱化

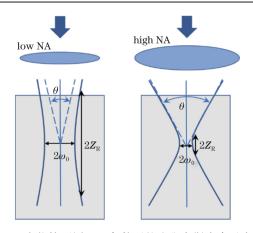


图 13 在物镜不同 NA 条件下的聚焦高斯光束示意图 Fig. 13 Schematic of focused Gaussian beam through objective lens with different NA

FD-OCT 一次性同步获取整条 A-line 图像的优势。 因此,不管是使用高 NA 还是低 NA 的物镜,标准 FD-OCT 都不能对远离焦面的样品层进行层析 成像。

为获取横向分辨率不随样品层离焦程度变化而 变化的清晰图像,可借鉴数字全息术的数值聚焦法。 数字全息利用二维干涉条纹计算获取图像信息,重 建光场的相位和振幅信号。在复光场分布被获取的 基础上,可进一步采用基于衍射的数值计算方法(如 角谱法)来数值模拟光学聚焦过程,以获取高分辨率 图像。角谱理论与经典的基尔霍夫理论一样,都把 光的传播过程看作线性不变过程。基尔霍夫理论在 空域上讨论光的传播,把孔径平面上的光场看作点 源的集合,观察平面上的场分布等于孔径面上发出 的具有不同权重因子的球面子波的相干叠加。角谱 理论在空间频域上讨论光的传播,把孔径平面光场 分布看作不同空间频率分量(不同传播方向)平面波 的线性组合,如图 14(a)所示。平面的场分布等于 这些平面波分量被引入一定相移后的相干叠加,相 移大小决定系统的光学传递函数。

然而,数字全息重建术虽能得到目标物沿深度方向上的聚焦图像,但其本身并不能具备 OCT 低相干干涉仪对分层组织样品的断层信息获取能力。因此,可将数字全息和 FF-SS-OCT 相结合,在 OCT 系统物镜的焦深区域外实现清晰无散焦、横向分辨率与深度无关联的断层(层析)图像,这样的结合被称为 holoscopy^[41],如图 14(b)所示。其基本步骤如下:基于全场扫频 OCT 获取样品各层的复振幅信号;在各层深度位置信息基础上,采用角谱算法进行数值聚焦;将聚焦后的清晰图像与原深度位置匹配,获取重建图像。

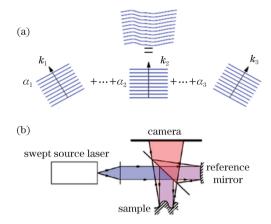


图 14 角谱分析法与 holoscopy。(a)基于平面波分解的 角谱法:(b) holoscopy^[41]

Fig. 14 Angular spectrum method and holoscopy. (a)

Angular spectrum method based on plane

wave decomposition; (b) holoscopy^[41]

与标准共聚焦扫描 OCT 或 FF-SS-OCT 相比, 在物镜焦深之外的散焦区, holoscopy 仍可获得较好 的灵敏度和分辨率,生成图像的像质与 FF-SS-OCT 相近。在此基础上,若再引入离轴全息记录方式,在 成像透镜的傅里叶频谱空间上采用数字滤波便能 将自相关项与复共轭赝像项从干涉信号项中分离 出去。去掉自相关项能够移除自相关伪影,而复 共轭赝像项的移除使得零光程差对应参考面两侧 的样品层均被成像,从而实现全景深成像。若忽 略离轴记录带来的信号灵敏度的非对称性, holoscopy 的有效景深可增加约1倍。离体的猪眼 全眼(包括角膜、晶状体与视网膜)与活体人眼视 网膜的成像实验结果均表明,离轴 holoscopy的方 案不仅能保持横向分辨率与灵敏度,还能增大成 像的景深(成像范围扩展到非聚焦区)和系统的测 量深度[40]。

4 En-face OCT 信号提取法的现状 与展望

在对 en-face OCT 进行分类介绍的基础上,本文重点讨论了 en-face OCT 的信号提取方法。En-face OCT 将侧向信号而非纵向信号作为优先目标来构建层析图像,它又分为扫描型 en-face OCT 和全场型 en-face OCT。与标准 OCT 的 A-line 逐线成像相比,扫描型 en-face OCT 的人射光在纵向上不需要大的焦深,因而一般采用高数值孔径物镜,以优先获取横向上的高分辨显微扫描图像,因此也被称为 OCM。全场型 en-face OCT,也简称为全场OCT,其借鉴了标准宽场显微镜的架构(如全场照

明、平行探测),通过与低相干干涉仪结合,在不需横向扫描装置的情况下,辅之以高数值孔径物镜即能获取高分辨率的宽场图像。

En-face OCT 的信号提取方法可分为时域载波法(相移法可视为离散的时域载波法)、空域载波法及谱空间载波法。从干涉理论可知,干涉强度可分解为背景直流项和干涉信号项,前者是物光、参考光信号强度的非相干叠加,后者在双光束各自振幅乘积的基础上再乘以一个余弦函数(以当前相位差为自变量)。OCT 与传统标准全息干涉术相比,相同之处是都需要抑制干涉背景项、提取信号项;不同之处主要在于 OCT 使用宽谱低相干光源,因而具有层析或断层成像能力。

为提取干涉信号项,同时滤除背景直流项,时域 en-face OCT 系统大多采用载波法或相移法。载波 法又分为时域载波法和空域载波法,分别在时间或 空间上对拟提取的干涉信号项进行周期性强度调 制,进而达到分离调制项(干涉信号项)与非调制项 (背景直流项)的目的。时域载波法既可用于扫描型 en-face OCT,也可用于全场 OCT,通过快速调制双 光束的光程差以产生相位差,进而产生基于余弦函 数调制的时域交变信号。空域载波法适用于全场 OCT,通过引入空间二维离轴全息,在小角度离轴 干涉的条件下形成具有特定空间频率的条纹分布, 生成空域调制信号。在信号的后处理上,时域载波 基于外差信号探测原理,利用光电探测器提取出 交流信号项;空域载波借助全息术信号处理方法, 在空间频域滤除0级项和-1级项,保留+1级项 并进行傅里叶逆变换,即可重建出样品图像对应 的物光信号。

与时域系统所用的载波法或相移法相比,全场FD-OCT 利用谱空间上的"载波"来提取信号项。与时域 OCT 信号处理不同,FD-OCT 干涉信号经过两次分解。第一次分解是谱分解,将原本由单像素采集的干涉信号按光谱值的大小(通过光谱仪或扫频光源进行谱分解)在一维空间中展开。若把此展开的谱分量所对应的干涉强度(纵坐标值)进行标量叠加,结果便对应时域 OCT 某个扫描点的干涉总强度。第二次分解是傅里叶变换,将谱空间的一维干涉信号进一步分解为一系列不同频率、不同幅值余弦调制函数的叠加。奇妙的是,不同光程差与谱空间上各个余弦调制函数分量(不同频率的载波分量)的频率值具有一一对应关系,使得样品内部层析信号的获取成为可能。不同频率余

弦函数分量的幅值分别对应不同光程条件下样品 层与参考光的干涉信号强度。在时域 en-face OCT 的原始信号中,横坐标对应相机像素的空间位置, 纵坐标为双光束干涉强度;与之相比,全场 FD-OCT(频域 en-face OCT) 宽光谱干涉信号经光谱 仪分解后,在一维空域(谱空间,横坐标对应不同 的谱分量或波长)中产生强度随余弦调制的载波 信号,其纵坐标为与特定谱分量对应的干涉信号 强度。在具体计算中,经空域傅里叶变换,从谱分 解后的一维干涉信号中解耦出各载波分量,一次 性获取整条 A-line 各层上的干涉信号。然而,FD-OCT 只能区分光程差的绝对值而非正负值,因此 在实际测量中一般将全部样品层置于光程零点的 同一侧,即可滤除傅里叶变换带来的赝像,并将信 号项与0级背景项分离。在此基础上,全场 FD-OCT 引入全场照明和多像素同步探测模式,避免 了标准扫描型 FD-OCT 的横向扫描过程,一次性 快速获取样品的三维图像信息,进而构建 en-face 层析图像。

在全场 FD-OCT 中若引入离轴全息法,不仅可以打破传统 FD-OCT 把样品层置于零光程点同一侧的局限,进而将一次性获取的成像景深扩展一倍,还可以抑制自相关噪声,进而提高系统的灵敏度。针对传统全场 FD-OCT 只能在焦深范围内实现高分辨率显微成像的不足,holoscopy 技术将全场 FD-OCT 和空间二维数字全息术中的空间光场反演算法相结合,将探测到的光场分布进行数值反演,从而在物镜焦深范围之外实现数字聚焦与样品的高分辨率 en-face 图像。

En-face OCT 不仅可满足在水平方向上获取高分辨显微图像的实际技术需求,同时也能适应生物医学工作者在宽场显微模式下的观察习惯。与沿A-line 逐线扫描成像的标准 OCT 相比,en-face OCT 因在横向上优先成像,从而在此方向具有更高的相位灵敏度。在准确获取横向相位分布的前提下,en-face OCT 不仅可以实现对组织或细胞新陈代谢的高灵敏度动态监测,还可方便引入数字全息自动聚焦、自适应光学畸变矫正等宽场计算成像技术,以对光场进行准确重建。新一代 en-face OCT 系统的技术发展方向,一方面是在不降低系统信噪比的情况下进一步提升相机的信号采集和读取速度,另一方面是兼顾系统的性价比和便携性。与标准型 OCT 一样,en-face OCT 不需要染色就可评估生物细胞与组织形态并提取组织特征。在双折射、

弹性、谱特征的测量等功能性成像上, en-face OCT 有着巨大的应用前景。

参考文献

- [1] de Boer J F, Leitgeb R, Wojtkowski M. Twenty-five years of optical coherence tomography: the paradigm shift in sensitivity and speed provided by Fourier domain OCT [Invited] [J]. Biomedical Optics Express, 2017, 8(7): 3248-3280.
- [2] Thouvenin O, Grieve K, Xiao P, et al. En face coherence microscopy[Invited] [J]. Biomedical Optics Express, 2017, 8(2): 622-639.
- [3] Izatt J A, Hee M R, Owen G M, et al. Optical coherence microscopy in scattering media [J]. Optics Letters, 1994, 19(8): 590-592.
- [4] Aguirre A D, Hsiung P, Ko T H, et al. Highresolution optical coherence microscopy for highspeed, *in vivo* cellular imaging [J]. Optics Letters, 2003, 28(21): 2064-2066.
- [5] Apelian C, Harms F, Thouvenin O, et al. Dynamic full field optical coherence tomography: subcellular metabolic contrast revealed in tissues by interferometric signals temporal analysis[J]. Biomedical Optics Express, 2016, 7(4): 1511-1524.
- [6] Zhu F. College Physics [M]. Beijing: Tsinghua University Press, 2004: 257. 朱峰.大学物理[M].北京:清华大学出版社, 2004: 257
- [7] Wang L V, Wu H. Biomedical Optics: principles and imaging [M]. New Jersey: John Wiley & Sons, 2007: 300-310.
- [8] Yang Y L, Ding Z H, Wang K, et al. Development of full-field optical coherence tomography system[J]. Acta Physica Sinica, 2009, 58(3): 1773-1778. 杨亚良, 丁志华, 王凯, 等. 全场光学相干层析成像系统的研制[J]. 物理学报, 2009, 58(3): 1773-1778.
- [9] Qin Y, Zhong J G. Theoretical and experimental research of digital holography with partially coherent light based on light-emitting diode [J]. Acta Optica Sinica, 2010, 30(8): 2236-2241. 秦怡, 钟金钢. 基于发光二极管的弱相干光数字全息 理论与实验研究[J]. 光学学报, 2010, 30(8): 2236-2241.
- [10] Tearney G J, Bouma B E, Fujimoto J G. High-speed phase- and group-delay scanning with a grating-based phase control delay line[J]. Optics Letters, 1997, 22 (23): 1811-1813.
- [11] Wang L, Ding Z H, Shi G H, et al. Fiber-based optical coherence tomography imaging system with rapid scanning optical delay line as phase modulator

- [J]. Chinese Journal of Lasers, 2008, 35(3): 472-476.
- 王玲,丁志华,史国华,等.基于快速扫描延迟线相位调制的光纤型光学相干层析系统[J].中国激光,2008,35(3):472-476.
- [12] Rollins A M, Kulkarni M D, Yazdanfar S, et al. *In vivo* video rate optical coherence tomography [J]. Optics Express, 1998, 3(6): 219-229.
- [13] Zvyagin A V, Sampson D D. Achromatic optical phase shifter-modulator [J]. Optics Letters, 2001, 26(4): 187-189.
- [14] Drexler W, Fujimoto J G. Optical coherence tomography: technology and applications [M]. 2th ed. Berlin: Springer, 2015: 885-886, 947.
- [15] Akiba M, Chan K P, Tanno N. Full-field optical coherence tomography by two-dimensional heterodyne detection with a pair of CCD cameras [J]. Optics Letters, 2003, 28(10): 816-818.
- [16] Akiba M, Chan K P, Tanno N. *En-face* optical coherence imaging for three-dimensional microscopy [J]. Proceedings of SPIE, 2002, 4621: 8-15.
- [17] Hitzenberger C K, Trost P, Lo P W, et al. Three-dimensional imaging of the human retina by high-speed optical coherence tomography[J]. Optics Express, 2003, 11(21): 2753-2761.
- [18] Dubois A, Vabre L, Boccara A C, et al. Highresolution full-field optical coherence tomography with a Linnik microscope[J]. Applied Optics, 2002, 41(4): 805-812.
- [19] Thouvenin O, Grieve K, Xiao P, et al. En face coherence microscopy[Invited] [J]. Biomedical Optics Express, 2017, 8(2): 622-639.
- [20] Mazlin V, Xiao P, Dalimier E, et al. *In vivo* high resolution human corneal imaging using full-field optical coherence tomography [J]. Biomedical Optics Express, 2018, 9(2): 557-568.
- [21] Yamaguchi I, Zhang T. Phase-shifting digital holography[J]. Optics Letters, 1997, 22(16): 1268-1270.
- [22] Dunsby C, Gu Y, French P M W. Single-shot phasestepped wide-field coherence-gated imaging [J]. Optics Express, 2003, 11(2): 105-115.
- [23] Nugroho W, Ito Y, Hrebesh M S, et al. Basic characteristics of interference image obtained using spatially phase-modulated mirror array [J]. Optical Review, 2011, 18(2): 247-252.
- [24] Buchroithner B, Prylepa A, Wagner P J, et al. Full-field optical coherence tomography in a balanced detection mode [J]. Applied Optics, 2018, 57(29): 8705-8710.
- [25] Subhash H M. Full-field and single-shot full-field

- optical coherence tomography: a novel technique for biomedical imaging applications [J]. Advances in Optical Technologies, 2012: 435408.
- [26] Sudkamp H, Koch P, Spahr H, et al. *In-vivo* retinal imaging with off-axis full-field time-domain optical coherence tomography [J]. Optics Letters, 2016, 41(21): 4987-4990.
- [27] Dunsby C, Mayorga-Cruz D, Munro I, et al. High-speed wide-field coherence-gated imaging via photorefractive holography with photorefractive multiple quantum well devices [J]. Journal of Optics A: Pure and Applied Optics, 2003, 5(6): S448-S456.
- [28] Klein T, Huber R. High-speed OCT light sources and systems [Invited] [J]. Biomedical Optics Express, 2017, 8(2): 828-859.
- [29] Bonin T, Franke G, Hagen-Eggert M, et al. *In vivo* Fourier-domain full-field OCT of the human retina with 1.5 million A-lines/s[J]. Optics Letters, 2010, 35(20): 3432-3434.
- [30] An L, Li P, Shen T T, et al. High speed spectral domain optical coherence tomography for retinal imaging at 500, 000 A-lines per second [J]. Biomedical Optics Express, 2011, 2(10): 2770-2783.
- [31] Lee H C, Liu J J, Sheikine Y, et al. Ultrahigh speed spectral-domain optical coherence microscopy[J]. Biomedical Optics Express, 2013, 4(8): 1236-1254.
- [32] Mujat M, Iftimia N V, Ferguson R D, et al. Swept-source parallel OCT[J]. Proceedings of SPIE, 2009, 7168: 263-264.
- [33] Fechtig D J, Grajciar B, Schmoll T, et al. Line-field parallel swept source MHz OCT for structural and functional retinal imaging[J]. Biomedical Optics Express, 2015, 6(3): 716-735.
- [34] Grajciar B, Pircher M, Fercher A F, et al. Parallel Fourier domain optical coherence tomography for *in vivo* measurement of the human eye [J]. Optics Express, 2005, 13(4): 1131-1137.
- [35] Nakamura Y, Makita S, Yamanari M, et al. High-speed three-dimensional human retinal imaging by line-field spectral domain optical coherence tomography [J]. Optics Express, 2007, 15(12): 7103-7116.
- [36] Drexler W, Liu M Y, Kumar A, et al. Optical coherence tomography today: speed, contrast, and multimodality [J]. Journal of Biomedical Optics, 2014, 19(7): 071412.
- [37] Považay B, Unterhuber A, Hermann B, et al. Full-field time-encoded frequency-domain optical coherence tomography [J]. Optics Express, 2006, 14 (17): 7661-7669.
- [38] Fergusson J, Považay B, Hofer B, et al. *In vitro* retinal imaging with full field swept source optical

- coherence tomography [J]. Proceedings of SPIE, 2010, 7554: 75540I.
- [39] Hillmann D, Spahr H, Hain C, et al. Aberration-free volumetric high-speed imaging of *in vivo* retina [J]. Scientific Reports, 2016, 6: 35209.
- [40] Hillmann D, Spahr H, Sudkamp H, et al. Off-axis
- reference beam for full-field swept-source OCT and holoscopy [J]. Optics Express, 2017, 25 (22): 27770-27784.
- [41] Hillmann D, Lührs C, Bonin T, et al. Holoscopy: holographic optical coherence tomography[J]. Optics Letters, 2011, 36(13): 2390-2392.