

文章编号 1004-924X(2015)增-0000-06

基于微片 Nd:YVO₄ 激光回馈的共焦层析成像系统

田振国¹, 张立^{1*}, 朱开毅²

- (1. 北京林业大学理学院, 北京 100083;
2. 清华大学精密测试技术及仪器国家重点实验室, 北京 100084)

摘要: 基于微片激光移频回馈的基本原理, 结合共焦技术, 设计了激光回馈共焦层析成像系统。该系统以 Nd:YVO₄ 微片激光器为光源, 输出单纵模线偏振激光, 工作波长为 1 064 nm, 对移频回馈信号放大能力高达 10⁶ 量级, 能够在保证分辨率的前提下对样品进行更大深度的成像。结合扫描和图像处理技术该系统可以对样本进行三维成像, 测试实验系统的纵向分辨率为 15 μm 左右, 横向分辨率达 1 μm。对泡沫进行了二维成像并对洋葱内异物进行了定位实验, 得到了测试样本的内部信息图像。实验结果表明该系统具有良好的层析性能, 对生物样本内异物也有很好的定位能力。

关键词: Nd:YVO₄ 微片激光器; 移频激光回馈; 共焦层析成像; 图像处理

中图分类号: TN248.1 **文献标识码:** A **doi:** 10.3788/OPE.20152313.0000

Laser feedback confocal tomographic system based on microchip Nd:YVO₄ lasers

TIAN Zhen-guo¹, ZHANG Li^{1*}, ZHU Kai-yi²

- (1. School of Science, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China;
2. State Key Laboratory of Precision Measurement Technology and Instruments, Tsinghua University, Beijing 100084, China)

* Corresponding author, E-mail: zlbeil@163.com

Abstract: Based on the theory of frequency-shifted laser feedback and confocal technology, a laser feedback confocal tomographic system is designed. The light source in the system is a single longitudinal, linearly polarized Nd:YVO₄ microchip laser worked at the wavelength of 1 064 nm. It can magnify the frequency-shifted feedback signal by a factor of 10⁶ and can realize optical tomography with a greater depth on the premise of high resolution. With the technology of scanning and image processing, the system can fulfill the three-direction imaging of a sample. The system has a lateral resolution of ~1 μm and a vertical resolution of ~15 μm. A two-dimensional imaging experiment for polyfoam and a foreign matter detection for inside onion are performed and the inner information images of the samples are obtained. The results show that the system designed has well tomographic ability and also good location ability for the foreign matter inside biological samples.

Key words: Nd:YVO₄ microchip laser; frequency-shifted laser feedback; confocal tomography; image processing

收稿日期: 2015-06-12; 修订日期: 2015-06-30.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (No. 30870662); 北京市重点基金资助项目 (No. 3091002)

1 序 言

光学相干层析术 (Optical Coherence Tomography, OCT)^[1] 是近些年发展起来的新型光学成像技术。相比于传统的医学成像技术, OCT 具有无损、无辐射、非接触、快速、高分辨率^[2] 以及相对激光共焦扫描显微镜 (LCSM) 更高的成像深度等特点, 因此在眼科^[3]、皮肤科^[4]、心脏内科^[5] 及肠道内科^[6] 有着广泛应用和发展空间。但是 OCT 的探测深度一般仅为 2 ~ 3 mm, 其成像深度的增加必将导致散射信号光强度的进一步减弱, 信噪比降低。因此, 目前的 OCT 在进一步提高成像深度方面面临着困难, 这也在一定程度上限制了它的应用。

微片激光器在移频光回馈的条件下具有非常高的光回馈灵敏度^[7] (得益于激光器对回馈信号高达 10^6 量级的放大倍数), 所以在微弱信号检测方面有着极大的优势。而科学研究, 制造业, 生物学, 医学等领域目前正需要一种同时具有高分辨率和相比现有光学成像方式而言更大探测深度的成像技术; 如果将微片激光器的高回馈灵敏度与 OCT 相结合, 则有可能在保证分辨率的前提下对样品进行更大深度的成像。

本文基于微片激光器对移频回馈光放大的基本原理^[7], 选用全内腔的微片 ND: YVO₄ 激光器为相干光源, 结合共焦、图像处理和扫描技术, 研制了一套三维层析成像系统。相对应传统的成像系统, 该系统不仅有很高的灵敏度和分辨率, 还能够实现更大深度的层析成像。

2 工作原理

2.1 微片移频回馈原理

当微片激光器外腔存在移频时, 光回馈系统的简化模型如图 1 所示。微片激光器输出频率为 ω 的激光, 经过分光镜后透射光通过移频器移频并打到反射体上, 此时激光频率变为 $(\omega + \Omega)$; 部分反射光沿原路返回到激光器内腔形成回馈光, 并再次被移频器移频, 最终频率为 $(\omega + 2\Omega)$ 。移频光回到激光器谐振腔内, 使微片激光器的输出光产生功率调制。由移频光回馈引起的激光器输出功率的相对调制为^[7-8]:

$$\frac{\Delta I(2\Omega)}{I_s} = \kappa G(2\Omega) \cos(2\Omega t - \varphi + \varphi_s), \quad (1)$$

其中: ΔI 为激光器功率的调制信号; I_s 为稳态输出功率; φ_s 为固定的附加相位; φ 为外腔回馈相位, 反映了外腔腔长等信息; $G(2\Omega)$ 是一个增益项, 当移频频率 $\Omega = \omega_r/2$ (ω_r 为激光器的弛豫振荡频率) 时达到最大, 高达 10^6 量级。但在实际使用中移频频率过高会带来很大的噪声和非线性效应, 不利于提取测量信号, 因此在实验中应根据实际情况来设置最佳的移频频率。

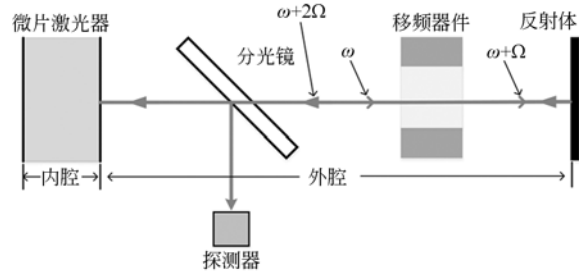


图 1 激光光回馈的简化模型图

Fig. 1 Simplified model of frequency-shifted feedback based on microchip laser

2.2 共焦技术工作原理

图 2 为微片激光回馈共焦原理图。激光器同时作为光源和探测器, 激光器的束腰起到了针孔的作用, 同时还作为光源和探测器的掩膜。由于针孔的存在, 处于焦点以外区域反射回来的杂散光都被遮挡, 从而不能回到激光器中发生作用, 因此系统和共焦显微镜一样具有良好的层析能力。

当样品为理想反射镜, 针孔无限小时, 点探测器等理想情况下结合移频回馈公式 (1), 得到输出光功率的变化^[9]为:

$$\frac{\Delta I(2\Omega)}{I_s} = \left| \frac{\sin(u/2)}{u/2} \right|^2 G(2\Omega) \cos(2\Omega t - \varphi + \varphi_s). \quad (2)$$

式中:

$$u = \frac{2\pi}{\lambda} z \left(\frac{a}{d} \right)^2 \approx \frac{2\pi}{\lambda} z \sin^2 \left(\frac{\alpha}{2} \right), \quad (3)$$

u 是离焦量因子, 与离焦点的距离 z 和物镜的数值孔径 ($NA = \sin \alpha$) 相关, 因此系统的层析能力与物镜的数值孔径密切相关。公式 (2) 中 $G(2\Omega)$ 是一个增益项, 本系统拥有比传统共焦显微镜更大的放大倍数和良好的纵向分辨能力, 能够实现层析成像。

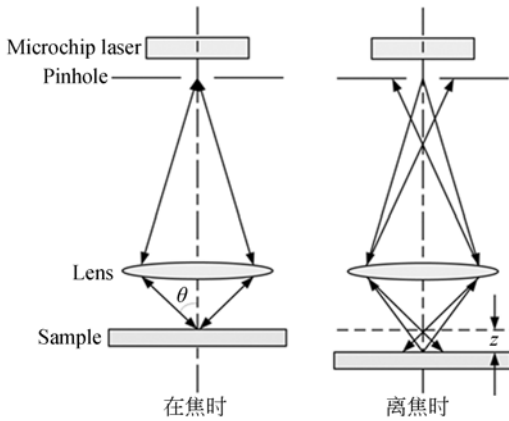


图 2 微片激光回馈共焦原理图

Fig. 2 Schematic diagram of laser feedback confocal system

3 成像实验系统的搭建

3.1 光路的设计

基于激光移频回馈原理设计的共焦回馈层析成像系统如图 3 所示。微片激光器采用全内腔结构,应用恒流源泵浦半导体激光器 LD 使其输出波长为 808 nm 的光,再通过聚焦打到 ND: YVO₄ 晶体上,使其输出单纵模线偏振、波长为 1 064 nm 的激光,驰豫振荡 3 MHz。输出光先通过一个棱镜准直,然后通过一个分光镜分为两路,反射光通过透镜 L₂ 后聚焦到光电探测器上。透射光经过两个声光移频器差动移频 Ω 为 1 MHz,用光阑阻挡未移频的光,只让移频后的光通过扩束镜扩束准直,通过一个全反镜让光路折转,通过物镜聚焦到待测样品上。会聚光点在样品内产生的部分后向散射光又通过原来的路径回到微片激光器谐振腔内,形成回馈光。由于在返回过程中再次被移频,回馈光的频率变为 $(\omega + 2\Omega)$ 。激光器本身的束腰起到了针孔的效果,使得返回微片激光器的回馈光大部分由会聚光斑附近区域的散射光组成,从而达到层析效果。回馈光在激光器内部与腔内光场发生作用,导致激光器的光功率受到调制。由于回馈光中包含了待测样品的信息,因此调制后的激光输出能够反映样品的特性。光电探测器将接收的调制光转换为电信号,接入到锁相放大器中,锁放选择并放大频率为 2Ω 的信号,再通过数据采集卡采集到上位机电脑中,通过所编写的软件进行成像,还原样本信息。

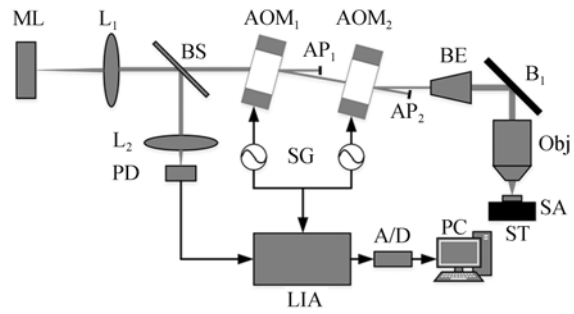


图 3 激光光回馈共焦层析成像系统 (ML:微片激光器;BS:分光镜;L₁~L₂:透镜;AOM₁~AOM₂:声光移频器;BE:扩束镜;B:全反镜;Obj:物镜;SA:样品;ST:平移台;SG:信号发生器;LIA:锁相放大器;A/D:数据采集卡;PC:电脑;PD:光电探测器;AP₁~AP₂:光阑)

Fig. 3 Configuration of Laser Feedback Confocal Tomography (LFCT) system (ML: Microchip laser; BS: beam splitter, L₁-L₂: lens AOM₁-AOM₂: acousto-optic frequency shifter; BE: beam expander; B: reflect mirror; Obj: objective; SA: sample; ST: stage; SG: signal generator; LIA: Lock-in amplifier ; A/D: data acquisition card; PC: computer; PD: photoelectric detectors; AP₁-AP₂: apertures)

3.2 主控软件设计

主控软件主要实现三维步进电机控制、锁放输出数据的采集和数据处理及显示等功能。软件结构如图 4 所示,其中包括步进电机驱动模块、数据采集模块、流程控制模块以及数据处理图像合

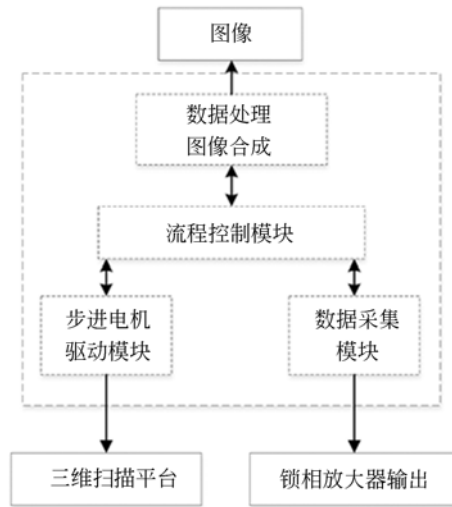


图 4 系统软件模块图

Fig. 4 Module chart of system software

成模块。

该软件的核心部分是流程控制模块。测量启动时,根据具体的实验要求设定扫描的维度、速度及量程后,送给步进电机驱动模块来控制电机运动,同时设定好锁相放大器的参数,采集锁相放大器的输出电压,然后将所有的测量原始数据传输给数据处理及图像合成模块,最后得到一张完整的 RGB 图像。

4 实验系统性能测试

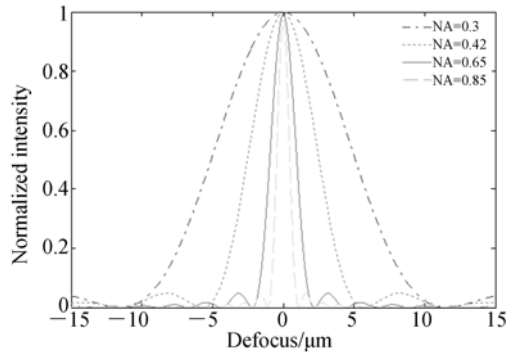
4.1 系统分辨率测试

为了研究实际系统中物镜数值孔径对系统分辨率的影响,使用3种数值孔径的物镜进行了离焦响应曲线测试。根据公式(3)计算出了不同数值孔径 NA 下共焦光回馈系统的归一化离焦响应理论曲线,如图5(a)所示。测试方法为:物镜分别为有限筒长的20×,40×和100×消色差物镜(对应的数值孔径分别为0.4,0.65,0.85);待测目标为一块K9玻璃平面基片(厚度为1mm),垂直于测量光束固定于平移台,聚焦光点距离玻璃上表面40μm;软件控制平移台沿测量光方向做纵向的一维扫描,行程长度为90μm。图5(b)显示了使用3种不同参数物镜所得到的实际离焦响应曲线。

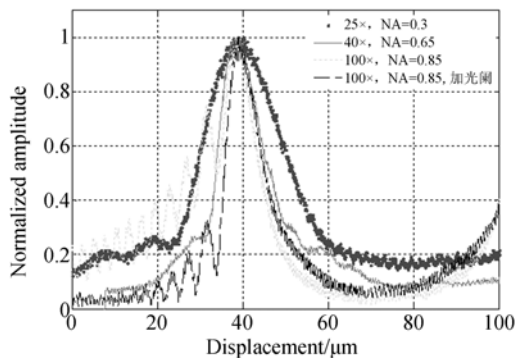
从图5中可以看出:与理论曲线一样,物镜的数值孔径越大,其离焦响应曲线的半高宽越小;在像差的影响下,得到的离焦响应曲线并不对称。特别地,在使用100×物镜时,初始像差影响非常明显,很难用于实际测量,但是当光阑孔径减小时得到了比较好的曲线,像差的影响明显减小了,说明使用孔径光阑可以在一定程度上抑制离焦响应曲线的旁瓣,改善成像质量。

综合看来,当使用40×物镜时,离焦曲线的半高宽较小同时像差也不严重,符合测量的基本要求。因此选择放大倍数为40×、NA=0.65的物镜。从离焦曲线的半高宽度可以看出,系统的纵向分辨率可以达到5~10μm。但是,此普通物镜的工作距离在1mm以内,这阻碍了对样品的大深度层析扫描。为了增大扫描范围,实验中采用了超长工作距红外物镜来代替原来的普通物镜。参照原来的物镜参数,超长工作距物镜的参数定为放大倍数50×,工作距离为20.4mm,NA

值为0.42,能得到大约15μm的纵向分辨率。



(a)理想离焦归一化响应理论曲线
(a) Ideal off-focal normalization curve



(b)实际测量的离焦归一化曲线
(b) Measured off-focal normalization curve

图5 不同NA值下的离焦曲线

Fig. 5 Off-focal curves under different NA

由于LFCT系统具有共焦显微系统的性能,因此系统的横向分辨率可以由公式(4)得出:

$$\Delta x = \frac{0.61\lambda}{\sqrt{2}NA} \quad (4)$$

它比瑞利准则给出的衍射极限要高1.4倍^[10]。将波长 $\lambda = 1\ 064\ \text{nm}$, $NA = 0.42$ 代入式(4)可得系统的横向分辨率为 $1.1\ \mu\text{m}$ 。为了测定系统的实际分辨率,对一块MikroMasch公司生产的标准光栅的台阶结构进行了测试。光栅周期为 $3.0\ \mu\text{m}$,台阶高度为 $493\ \text{nm}$ 。测量过程如下:使用数值孔径为0.42的红外超长工作距物镜,将标准光栅置于横向平移台上扫描光栅表面的离焦曲线,并找到曲线的中心位置,将物镜位置固定;对光栅进行横向扫描,扫描速度为 $0.01\ \mu\text{m/s}$ 。测量结果如图6所示。由图6可以看出,LFCT系统可以对光栅的台阶结构进行完整成像,并能明显分辨台阶的上下表面。通过分析阶跃边的成像

可以得到系统的横向分辨率为 1 μm,与实际计算值的量级相当。

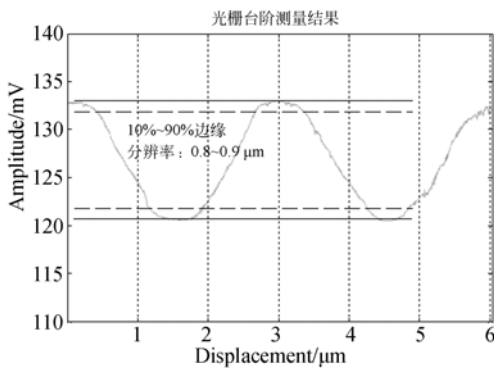


图 6 标准光栅测量结果

Fig. 6 Measurement results of a standard optical grating

4.2 泡沫的二维成像

泡沫具有典型的空隙结构,但是内部界面的散射很弱,用一般的成像系统很难探测。在这一实验中,以 EPE 发泡膜(俗称“珍珠棉”)为测试样品,对它进行了纵向深度为 2 mm、扫描速度为 2 mm/s、横向扫描范围为 2 mm 的二维扫描,步距为 10 μm。将得到的图像处理为黑白两色图,如图 7 所示,图中白色部分表示缝隙,黑色表示泡沫,可以看出泡沫样本的典型镂空网状结构,样品上表面不平整且含有缝隙。在 2 mm 深度还能探测到缝隙,说明系统的探测深度约为 2~3 mm。

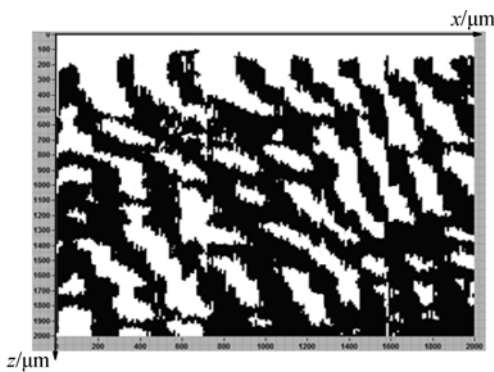


图 7 泡沫的二维扫描成像

Fig. 7 Two-direction scanning image of polyfoam

4.3 洋葱样本内异物的定位

在对生物样本进行成像实验时,发现实验结果不是很理想,没有探测到样品的结构,其主要原因是生物样本内部的散射太过微弱而无法检测。但是事实上光的穿透深度是更大的,于是考虑在样品内部放置异物,异物会造成此处的反射率增

大,这样系统能够检测到异物的存在。验证实验设计如下:选取一片新鲜洋葱表皮,在其表面以下的不同位置插入 4 根大头针;将样品浸在匹配液中,并置于平移台上,对样品进行纵向二维扫描并成像,得到结果如图 8 所示。

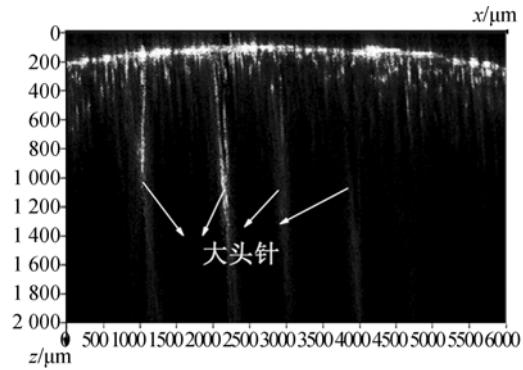


图 8 洋葱表皮内部的大头针

Fig. 8 Pins under surface of onion

如图 8 所示,样品内部的 4 根大头针都可以成像,说明系统可以用于检测生物样品内部更深层次的异物。实验表明,置于洋葱表层以下 2.5 mm 以内的大头针都可以被检测到。

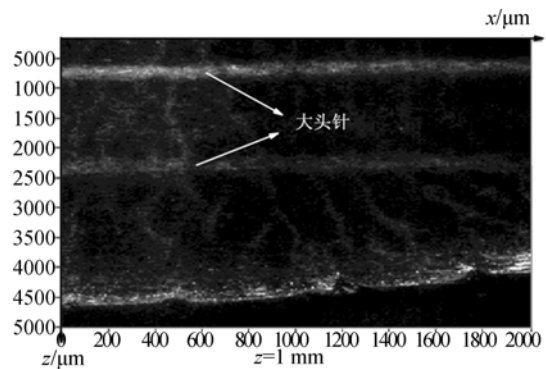


图 9 洋葱表皮下 1 mm 处两根大头针的横向扫描图

Fig. 9 Horizontal scanning image of two pins at 1 mm to surface of onion

为了定位异物在生物样本中的位置,首先通过纵向扫描初步定位出大头针的纵向位置,测得它在表皮以下 1 mm 处。然后将焦点定位于表皮下 1 mm,并对样品进行横向二维扫描,得到样品的水平切面(见图 9)。根据水平截面图得出大头针的横向位置,从而实现对该大头针的三维定位。图 9 可以清楚地看出:一个大头针在 y 轴 750 μm,z 轴 1 mm 处;另一个在 y 轴 2 400 μm,z 轴 1 mm 处。

5 结 论

本文基于激光移频回馈基本原理设计和搭建了以 ND:YVO₄ 微片激光器为光源的层析成像系统,结合扫描和图像处理技术来获取三维样本信

息图像。测试实验显示,系统的纵向分辨率在 15 μm 左右,横向分辨率达 1 μm。通过泡沫和洋葱内异物的定位实验可以看出,系统具有良好的层析成像能力和生物样本内异物的定位能力,但该系统在生物样本成像效果和成像深度方面还需要进一步的实验和探索。

参考文献:

- [1] HUANG D, SWANSON E A, LIN C P, *et al.* . Optical coherence tomography[J]. *Science*, 1991, 254(5035): 1178-1181.
- [2] 孙延奎. 光学相干层析医学图像处理及其应用[J]. *光学精密工程*, 2014, 22(4): 1086-1104.
SUN Y K. Medical image processing techniques based on optical coherence tomography and their applications [J]. *Opt. Precision Eng.*, 2014, 22(4): 1086-1104. (in Chinese)
- [3] KIERNAN D F, MIELER W F, HARIPRASAD S M. Spectral-domain optical coherence tomography: a comparison of modern high-resolution retinal imaging systems[J]. *Am. J. Ophthalmol.*, 2010, 149(1): 18-31, 31.
- [4] ABTAHIAN F, JANG I K. Optical coherence tomography: basics, current application and future potential[J]. *Curr. Opin. Pharmacol.*, 2012, 12(5): 583-591.
- [5] 舒鹏, 孙延奎, 宋现涛. 由冠脉光学相干层析图像自动提取血管壁内轮廓[J]. *光学精密工程*, 2013, 21(9): 2381-2387.
SHU P, SUN Y K, SONG X T. Automatic detection of inner contour of vessel wall from intracoronary optical coherence tomographic image[J]. *Opt. Precision Eng.*, 2013, 21(9): 2381-2387. (in Chinese)
- [6] ZAGAYNOVA E, GLADKOVA N, SHAKHOVA N, *et al.* . Endoscopic OCT with forwardlooking probe: clinical studies in urology and gastroenterology[J]. *J. Biophotonics*, 2008, 1(2): 114-128.
- [7] ZHANG S, TAN Y D, ZHANG SH L. A microchip laser feedback interferometer with nanometer resolution and increased measurement speed based on phase meter [J]. *Applied Physics B*, 2014, 116(3): 609-616.
- [8] ZENG Z L, ZHANG SH L, TAN Y D. Laser feedback interferometry based on high density cosine-like intensity fringes with phase quasi-quadrature[J]. *Optics Express*, 2013, 21(8): 10019-10024.
- [9] 邱丽荣, 李佳, 赵维谦, 等. 激光共焦透镜曲率半径测量系统[J]. *光学精密工程*, 2013, 21(2): 246-252.
QIU L R, LI J, ZHAO W Q, *et al.* . Laser confocal measurement system for curvature radii of lenses [J]. *Opt. Precision Eng.*, 2013, 21(2): 246-252. (in Chinese)
- [10] 葛华勇. 内窥镜共焦扫描显微成像的研究[M]. 上海: 上海大学出版社, 2009.
GE H Y. *Endoscopic Confocal Scanning Microscopic Imaging* [M]. Shanghai: Shanghai University Press, 2009. (in Chinese)

通讯作者:



田振国 (1992 -), 男, 湖北鹤峰人, 2013 年于北京林业大学获得学士学位, 主要研究方向为光电工程及激光应用。E-mail: tianzhenguo_bjfu@163.com

通讯作者:



张立 (1974 -), 男, 安徽凤台人, 博士, 硕士生导师, 1997 年, 2001 年于北京工业大学分别获得学士、硕士学位, 2008 年于北京交通大学获得博士学位, 主要从事激光精密测量技术及生物测量仪器的研究与开发。E-mail: zlbeil@163.com