联合谱域与深度域光谱相位显微方法*

颜扬治¹⁾ 丁志华^{1)†} 王玲²⁾ 沈毅¹⁾

 (浙江大学,现代光学仪器国家重点实验室,杭州 310027)
 (杭州电子科技大学生命信息与仪器工程学院,杭州 310018) (2013年3月12日收到;2013年5月10日收到修改稿)

提出了一种联合谱域与深度域光谱相位显微方法,该方法利用谱域相位信息克服 2π 歧义,并结合深度域相位 信息,以实现高动态范围、高灵敏度的相位检测.首先通过理论推导和信号模拟,进行了深度域相位和谱域相位的 灵敏度比较,证明了深度域相位在灵敏度上要高于谱域相位.进而详细介绍了联合谱域与深度域光谱相位显微方法. 最后通过盖玻片和光学分辨率板实验验证了所提出的联合谱域与深度域光谱相位显微方法能够在实现高动态测量 范围的同时保持高相位灵敏度.

关键词:光谱相位显微方法,动态范围,灵敏度 PACS: 42.30.-d, 42.30.Rx, 87.64.M-

1 引 言

光学相干层析成像 (optical coherence tomography, OCT)^[1-4] 是一种非侵入、非接触的断层扫描 成像技术,具有高分辨率、无损无辐射、实时成像 等一系列优点. 谱域 OCT^[5-7] (spectral domain OCT, SD-OCT) 作为第二代 OCT 成像技术,相比于第一 代的时域 OCT (time domain OCT, TD-OCT),在成 像速度、信噪比和灵敏度等方面有了极大的提高.

光谱相位显微方法^[8](spectral domain phase microscopy, SDPM)将相位检测技术^[9-11]和OCT技术相结合,近年来获得了长足发展.得益于谱域 OCT比时域OCT所具有的更高的灵敏度以及共路 干涉的引入^[12], SDPM可以实现纳米甚至皮米量 级的相位灵敏度,可以对样品实现实时的定量相位 检测.在生物细胞动态监测^[12,13]、材料检测^[14]等 方面具有重要的应用价值.在传统的SDPM中,相 位信息是在深度域提取的,受到2π歧义的限制,其 可测量的动态范围被限制在半中心波长以内.为了 实现更高动态范围的相位检测,许多相位解包裹方

© 2013 中国物理学会 Chinese Physical Society

DOI: 10.7498/aps.62.164204

法被提出. 传统的相位解包裹方法^[15]要求相位变 化缓慢, 当样品本身有较大的光学厚度起伏时无法 适用. 多波长相位解卷绕方法^[16-18]利用多个波长 构造出一个合成波长, 以实现可靠的相位解卷绕, 然而该方法会引入额外的相位噪声. 基于谱域相位 的 SDPM^[19] 避免了上述缺陷, 但是相比较于传统 的基于深度域相位的 SDPM, 该方法在相位灵敏度 方面却下降了. 本文提出了一种联合谱域与深度 域光谱相位显微方法 (以下简称联合谱域与深度域 SDPM), 该方法利用谱域的相位信息来解除深度域 的 2π 歧义, 能够实现高动态测量范围、高灵敏度 的相位检测.

2 理 论

2.1 基于深度域相位的 SDPM

在 SDPM 中, 探测得到的干涉光谱信号 (略去 直流项和自相关项) 可以表示为

$$I(k_i) = 2S(k_i - k_0)\sqrt{R_{\rm R}R_{\rm S}\cos(2k_i z_0)},$$
 (1)

其中, k_i 是离散的波数 (i = 1—N); k_0 是中心波数;

^{*}国家自然科学基金(批准号: 61275196, 61108083)资助的课题.

[†]通讯作者. E-mail: zh_ding@zju.edu.cn

 $S(k_i - k_0)$ 是光源功率谱; $R_R 和 R_S$ 分别是参考反射 面和样品的反射率; z_0 是参考臂和样品臂之间的光 程差 (optical path difference, OPD). 对 (1) 式实行快 速傅里叶变换并去除复共轭项, 得到深度域的样品 信号

$$I(z_i) = \sqrt{R_{\rm R}R_{\rm S}} [\mathbb{F} \{S(k_i)\} \otimes \delta(z_i - z_0)] \\ \times \exp[-j2k_0(z_i - z_0)], \qquad (2)$$

这里 z_i 为离散的空间深度位置. (2) 式所表示的深 度域信号的峰值点在 $z_i = z_0$ 处取得. 然而考虑到离 散采样,信号处理中所能得到的峰值点在 $z_i = z_0$ 临 近位置,假设在 $z_i = z_0 - \delta z$ 处得到信号峰值

$$I(z_i) = I(z_0 - \delta z)$$

= $\sqrt{R_R R_S} [\mathbb{F} \{ S(k_i) \} \otimes \delta(-\delta z)]$
 $\times \exp[j 2k_0 \delta z],$ (3)

该信号的相位项为

$$\phi(z_0 - \delta z) = 2k_0 \delta z, \tag{4}$$

此相位项是 δz 的一次函数. 当参考臂和样品臂之 间的光程差变化时,相位信息也会发生相应的改变, 因此可以通过该相位信号对样品位置或者样品表 面形貌进行高灵敏度的检测. 然而,对 (4) 式直接求 相位得到的实际上是一个包裹相位

 $\phi_w(z_0 - \delta z) = 2k_0\delta z - 2\pi floor \left(\frac{2k_0\delta z + \pi}{2\pi}\right),$ (5) 此处 floor 表示向负无穷方向的取整运算.当 $|2k_0\delta z| > \pi$ 时,在深度域得到的包裹相位 $\phi_w(z_0 - \delta z)$ 相比较 (4)式所表示的相位项 $\phi(z_0 - \delta z)$ 将相差 $2M\pi$ 相位 (这里 *M* 表示任意整数值),即产生 2\pi 歧 义.因此,基于深度域相位的 SDPM 适用于对参考 臂和样品臂之间的小的光程变化量作测量,其测量 动态范围受限于半中心波长以内.

2.2 基于谱域相位的 SDPM

为了实现高动态范围的相位检测,基于谱域相 位的 SDPM 被提出.该方法通过在谱域中对各个波 数对应的相位进行解包裹和拟合操作,得到一个对 应于参考臂和样品臂之间光程差的估计值,然后利 用该光程差的估计值,对相应参考臂和样品臂之间 光程差的相位信息进行解包裹.具体过程如下.

对 (1) 式进行希尔伯特变换, 得到复数形式的 光谱信号

$$\tilde{I}(k_i) = 2S(k_i - k_0)\sqrt{R_R R_S} \exp(j2k_i z_0), \qquad (6)$$

由(6)式求得谱域中的包裹相位

$$\phi_w(k_i) = 2k_i z_0 - 2\pi \text{floor}\left(\frac{2k_i z_0 + \pi}{2\pi}\right).$$
 (7)

由于光源光谱相应波数并非由 0 起始,因此对该包 裹相位直接进行解包裹运算得到的是缺失一个常 数值的解包裹相位.在谱域中对此解包裹相位进行 最小二乘拟合,其斜率应该等于参考臂和样品臂之 间的光程差,但是由于此拟合过程中相位噪声被放 大^[19],因此将此拟合得到的光程差表示为 z₀,代表 一个带有较大误差的估计值.相应的相位也应该是 一个带有较大误差的估计相位:

$$\phi'(k_i) = 2k_i z'_0.$$
 (8)

需要强调的是,这里所说的较大误差是相对于单个 波数对应的包裹相位所带有的误差而言的,实际上 该相位误差仍远远小于 2π.利用此估计相位 φ'(k_i), 可还原对应于参考臂和样品臂之间光程差的相位 信息

$$\phi_r(k_i) = \phi_w(k_i) + 2\pi \text{floor}\Big(\frac{\phi'(k_i) + \pi}{2\pi}\Big), \quad (9)$$

由此得到一个测量动态范围不受限的相位,并且其 相位灵敏度不被拟合过程所降低.

2.3 深度域相位和谱域相位的灵敏度比较—— 信噪比分析

SDPM 的相位灵敏度由系统所能探测的最小相位变化量来表征, 它和信噪比 (signal-to-noise ratio, SNR) 之间有直接关系^[8], 可以表示为

$$\Delta \phi \approx \frac{1}{\sqrt{\text{SNR}}} = \frac{|\sigma_{\text{noise}}|}{|I_{\text{signal}}|}.$$
 (10)

为了进行深度域相位和谱域相位的灵敏度比较,必须对深度域和谱域的信噪比加以区别分析. 假设干涉光谱信号可以表示为样品干涉信号 *I*_{signal} 和加性高斯白噪声 σ_{noise} 的叠加,这样可以对干涉光谱信号中的样品信号分量和噪声信号分量分别进行分析.

2.3.1 样品信号分析

假设光源光谱为高斯型

$$S(k_i) = \exp\left(-\frac{4\ln 2(k_i - k_0)^2}{dk^2}\right),$$
 (11)

此处 dk 为光源光谱的半峰全宽. 由此可将 (2) 式表示的深度域的样品信号表示为

$$I(z_i) = \frac{\mathrm{d}k\sqrt{\pi R_{\mathrm{R}}R_{\mathrm{S}}}}{2\sqrt{\ln 2}} \exp\left[-\frac{\mathrm{d}k^2}{8\ln 2}(z-z_0)^2\right]$$

$$\times \exp[-j2k_0(z-z_0)],\tag{12}$$

对 (12) 式实行逆傅里叶变换 (inverse fast Fourier transformation, IFFT), 得到在谱域的复数形式的信号

$$\tilde{I}(k_i) = \sqrt{R_{\rm R}R_{\rm S}} \exp\left(-\frac{4\ln 2(k_i - k_0)^2}{\mathrm{d}k^2}\right) \exp(\mathrm{j}2k_i z_0),$$
(13)

结合(12)式和(13)式,样品信号在深度域和谱域的 峰值的比值

$$\frac{|I_{\max}(z_i)|}{|\tilde{I}_{\max}(k_i)|} = \frac{\sqrt{\pi} dk}{2\sqrt{\ln 2}}.$$
(14)

考虑到离散傅里叶变换, 需要引入一个归一化常量 N/(2Δk), 这里 Δk 为光源光谱的全宽, N 为一个 A-scan 中的信号采样点数. 样品信号在深度域和谱域的峰值的比值最终可以表示为

$$\frac{|I_{\max}(z_i)|}{|\tilde{I}_{\max}(k_i)|} = \frac{N\sqrt{\pi}dk}{4\sqrt{\ln 2}\Delta k}.$$
(15)

2.3.2 噪声信号分析

假设系统噪声为加性高斯白噪声. 根据离散傅 里叶变换的帕塞瓦定理 (Parseval's theorem), 序列 在傅里叶变换前后的能量是相等的. 而深度域信号 和谱域信号正好构成一对傅里叶变换对, 由此可得 到噪声信号在深度域和谱域的关系

$$\frac{\sigma_z^2}{\sigma_k^2} = N. \tag{16}$$

2.3.3 信噪比关系及灵敏度关系

结合 (15) 式和 (16) 式, 深度域和谱域的信噪比的关系为

$$\frac{\text{SNR}_z}{\text{SNR}_k} = \frac{N\pi}{16\ln 2} \left(\frac{\mathrm{d}k}{\Delta k}\right)^2,\tag{17}$$

由 (10) 式和 (17) 式, 可以得到深度域和谱域的相位 灵敏度的关系为

$$\frac{\Delta\phi_z}{\Delta\phi_k} = \frac{4\sqrt{\ln 2}}{\sqrt{N\pi}} \frac{\Delta k}{\mathrm{d}k}.$$
(18)

2.3.4 信号模拟

为了验证相位信息在深度域和谱域的相位灵 敏度关系,对 SDPM 信号做了模拟.设置光源功率 谱为高斯型,光源中心波长为 835 nm,光谱带宽为 140 nm,半峰全宽为 45 nm,一个 A-scan 中的信号 采样点数为 2048,样品臂和参考臂之间 OPD 值为 210 μm,模拟一个峰值为 1 的样品信号. 然后对样 品信号做 FFT,得到深度域的包含镜像的样品信号 如图 1(a) 所示. 再对此信号做 IFFT, 得到在谱域 的复数形式的信号,其模值如图 1(b) 所示. 样品信 号在深度域和谱域的峰值比值为 355.10, 而由 (15) 式计算所得的理论值为 355.34, 两者符合. 设置系 统 SNR 为 60 dB, 图 1(c) 和 (d) 所示分别为深度域 和谱域噪声信号,其标准差比值为45.25,而由(16) 式求得的深度域和谱域的噪声的标准差的比值为 45.26, 两者符合. 根据上述信号, 绘制深度域和谱 域的 SNR 分布如图 1(e) 和 (f) 所示. 可以看到, 由 于样品信号在深度域中相比较于谱域中要更为尖 锐集中,深度域的 SNR 分布表现为两个尖峰,而谱 域的 SNR 分布类似高斯分布,较为弥散.为了取得 高的相位灵敏度,在两个域中均取对应于 SNR 峰 值点的相位来求取 OPD. 模拟得到的深度域 SNR 峰值要比谱域 SNR 峰值高 17.47 dB. 根据 (10) 式, 在相位灵敏度上,深度域相位要比谱域相位高7.47 倍. 而由(18)式代入模拟参数所求得的理论值为 7.74 倍, 两者符合.

2.4 联合谱域与深度域 SDPM

由上述分析,基于谱域相位的 SDPM 具有测量 动态范围大的优点,但是在相位灵敏度上相比基于 深度域相位的 SDPM 要低.为了同时实现高动态范 围测量以及高相位灵敏度,本文提出了一种联合谱 域和深度域 SDPM.

考虑到相位噪声,在深度域包裹相位中加入相 位不确定因素,表示为

$$\phi_w(z_0 - \delta z) = 2k_0 \delta z \pm \Delta \phi_z - 2\pi \text{floor}\left(\frac{2k_0 \delta z \pm \Delta \phi_z + \pi}{2\pi}\right), \quad (19)$$

类似地,将求得的谱域解包裹相位表示为

$$\phi_r(k_i) = 2k_i z_0 \pm \Delta \phi_k. \tag{20}$$

为了对深度域包裹相位 $\phi_w(z_0 - \delta z)$ 进行解包裹, 类 似于基于谱域相位的 SDPM 的相位解包裹过程, 需 要构造一个对应于深度域的 δz 的估计相位. 注意 到在深度域中, 所取峰值位置 $z_0 - \delta z$ 是确定的, 因 此可以将对应于深度域的 δz 的估计相位表示为

$$\phi'(z_0 - \delta z) = \phi_r(k_0) - 2k_0(z_0 - \delta z)$$
$$= 2k_0\delta z \pm \Delta\phi_k.$$
(21)



物理学报 Acta Phys. Sin. Vol. 62, No. 16 (2013) 164204

图 1 SDPM 信号模拟 (a) 深度域样品干涉信号; (b) 谱域样品信号; (c) 深度域噪声信号; (d) 谱域噪声信号; (e) 深度域信噪 比分布; (f) 谱域信噪比分布

由此,得到解包裹之后的深度域的相位为

$$\phi_r(z_0-\delta z)$$

$$= \phi_{w}(z_0 - \delta z) + 2\pi \operatorname{floor}\left(\frac{\phi'(z_0 - \delta z) + \pi}{2\pi}\right). \quad (22)$$

在这里, 谱域相位仅用于相位解包裹过程, 最终的 相位灵敏度由深度域的包裹相位决定. 最后, 可以 得到参考臂和样品臂之间的光程差为

$$OPD = z_0 - \delta z + \frac{\phi_r(z_0 - \delta z)}{2k_0}.$$
 (23)

联合谱域和深度域 SDPM 利用谱域相位信息解决 了相位包裹问题,并结合了深度域的相位信息,在 提高测量动态范围的同时,保持了高的相位灵敏度.

3 实验

实验中所用的 SDPM 系统如图 2 所示,中心波 长为 835 nm,光谱半峰全宽为 45 nm 的宽带光源发 出的低相干光通过环形器后进入样品臂.在样品臂 中光通过准直透镜、扫描振镜和聚焦透镜,聚焦于 盖玻片的上表面.盖玻片的下表面作为参考臂,上 表面放置样品,构成共路干涉,以抑制共模噪声.从 样品臂返回的光再次经过环形器,在探测臂由光谱 仪采集.光谱仪的像素点数为 2048,光谱分辨率为 0.0674 nm,最高采样率 29000 线/s.最后干涉信号 由计算机进行处理.



图 2 SDPM 系统图

3.1 盖玻片实验

为了验证所提出的联合谱域与深度域 SDPM 在相位灵敏度上相比较于基于谱域相位的 SDPM 的优势,将一块标称厚度为 225 μm 的盖玻片作为 样品,对同一点上下表面的 OPD 重复测量 1024 次. 分别用基于谱域相位的 SDPM 算法和联合谱域与 深度域 SDPM 算法求取 OPD,其结果如图 3(a) 所 示. 在图 3(b) 和 (c) 中, 分别给出了用谱域 SDPM 算法和提出的联合谱域与深度域 SDPM 算法求取 OPD 的分布情况. 用基于谱域相位的 SDPM 算法 求得的 OPD 的标准偏差为 161.81 pm, 而用联合谱 域与深度域 SDPM 算法求取的 OPD 的标准偏差为 21.41 pm. 联合谱域与深度域 SDPM 算法在灵敏度 上比谱域 SDPM 算法要高 7.56 倍, 与理论值基本 符合.



图 3 (a) 用基于谱域相位的 SDPM 算法 (方块) 和联合谱域与深度域 SDPM 算法 (圆圈) 求取的 OPD; (b) 用基于谱域相位的 SDPM 算法求取的 OPD 的分布情况; (c) 用联合谱域与深度域 SDPM 算法求取的 OPD 的分布情况, 对盖玻片同一点上下表 面间 OPD 重复测量 1024 次

3.2 光学分辨率板实验

为了验证所提出的联合谱域与深度域 SDPM 算法在测量动态范围上相比较于传统的基于深 度域相位的 SDPM 的优势,将一块光学分辨率板 (1951 USAF, Newport)作为标准样品放置于样品臂. 图 4 所示为成像结果,所展示的是光学分辨率板上 的第七组线对,其中第六级线对的线宽为 2.19 μm. 图 4(a)为用传统的基于深度域相位的 SDPM 算法 的成像结果,其中黑线标示处的轴向剖面图如图 4(c)所示.图 4(b)为用联合谱域与深度域 SDPM 算法的成像结果,其中黑线标示处的轴向剖面图 如图 4(d)所示.光学分辨率板上的线对刻槽深度 在 5—6 μm之间,已经远远超出传统的基于深度域 相位的 SDPM 算法的测量范围.受相位包裹的限 制,用传统的基于深度域相位的 SDPM 算法得到的 OPD 在半中心波长范围内.从图 4(a) 可以看到,除 了光学分辨率板的线对刻槽图样,还存在由分辨率 板表面起伏和盖玻片光学厚度起伏引起的微米量 级的 OPD 起伏.在图 4(c) 所示的剖面图中,受周围 同等量级的 OPD 起伏所干扰,线对刻槽已变得难 以辨认.而用联合谱域与深度域 SDPM 算法在保证 高灵敏度的同时,解决了传统的基于深度域相位的 SDPM 中的相位包裹问题,实现了高动态范围的测 量,光学分辨率板上的刻槽得到了很好的定量测量.



图 4 光学分辨率板成像结果 (a) 传统的基于深度域相位的 SDPM 的相位成像结果,其中比例尺长度为 15 μm; (b) 联合谱域与深度域 SDPM 的相位成像结果,其中比例尺长度为 15 μm; (c) 图 (a) 中黑线位置处的轴向剖面图; (d) 图 (b) 中黑线位置处的轴向剖面图

4 结 论

本文提出了联合谱域与深度域光谱相位显微 方法,该方法利用谱域相位信息克服2π歧义,同时 结合深度域相位信息,实现高动态范围、高灵敏度 的相位检测.通过理论推导和模拟,说明了谱域相 位信息相比较于深度域相位信息在灵敏度上的优 势.然后给出了联合谱域与深度域光谱相位显微方 法的详尽的理论推导.通过对盖玻片上下表面 OPD 的重复测量,验证了所提出的联合谱域与深度域光 谱相位显微方法相比较基于谱域相位的光谱相位 显微方法在灵敏度上的提高.最后对分辨率板做了 相位图像,验证了联合谱域与深度域光谱相位显微 方法在实现高灵敏度的同时,解决了相位包裹问题, 实现了高动态范围的成像.

- Huang D, Swanson E A, Lin C P, Schuman J S, Stinson W G, Chang W, Hee M R, Flotte T, Gregory K, Puliafito C A, Fujimoto J G 1991 *Science* 254 1178
- [2] Liang Y M, Zhou D C, Meng F Y, Wang M W 2007 Acta Phys. Sin. 56 3246 (in Chinese) [梁艳梅,周大川,孟凡勇,王明伟 2007 物理学报 56 3246]
- [3] Jia Y Q, Liang Y M, Zhu X N 2007 Acta Phys. Sin. 56 3861 (in Chinese) [贾亚青, 梁艳梅, 朱晓农 2007 物理学报 56 3861]
- [4] Huang L M, Ding Z H, Hong W, Wang C 2011 Acta Phys. Sin. 61 023401 (in Chinese) [黄良敏, 丁志华, 洪威, 王川 2011 物理学报 61 023401]
- [5] Leitgeb R, Hitzenberger C K, Fercher A F 2003 Opt. Express 11 889
- [6] Choma M A, Sarunic M V, Yang C, Izatt J A 2003 Opt. Express 11 2183
- [7] Bao W, Ding Z H, Wang C, Mei S T 2013 Acta Phys. Sin. 62 114202 (in Chinese) [鲍文, 丁志华, 王川, 梅胜涛 2013 物理学报 62 114202]
- [8] Choma M A, Ellerbee A K, Yang C, Creazzo T L, Izatt J A 2005 Opt. Lett. 30 1162

- [9] Qiao N S, He Z 2012 Chin. Phys. B 21 094203
- [10] Li F, Rao C H 2012 Acta Phys. Sin. 61 029502 (in Chinese) [李斐, 饶 长辉 2012 物理学报 61 029502]
- [11] Li F 2012 Acta Phys. Sin. 61 230203 (in Chinese) [李斐 2012 物理学 报 61 230203]
- [12] Joo C, Akkin T, Cense B, Park B H, de Boer J F 2005 Opt. Lett. 30 2131
- [13] Zhu Y, Shaked N T, Satterwhite L L, Wax A 2011 Opt. Lett. 36 430
- [14] Verma Y, Nandi P, Rao K D, Sharma M, Gupta P K 2011 Appl. Opt. 50 E7
- [15] Flynn T J 1997 J. Opt. Soc. Am. A 14 2692
- [16] Parshall D, Kim M K 2006 Appl. Opt. 45 451
- [17] Hendargo H C, Zhao M, Shepherd N, Izatt J A 2009 Opt. Express 17 5039
- [18] Rinehart M T, Shaked N T, Jenness N J, Clark R L, Wax A 2010 Opt. Lett. 35 2612
- [19] Zhang J, Rao B, Yu L, Chen Z 2009 Opt. Lett. 34 3442

Joint spectral and depth domain spectral domain phase microscopy*

Yan Yang-Zhi¹⁾ Ding Zhi-Hua^{1)†} Wang Ling²⁾ Shen Yi¹⁾

1) (State Key Laboratory of Modern Optical Instrumentation, Zhejiang University, Hangzhou 310027, China)

2) (Institute for Biomedical Engineering and Instrumentation, Hangzhou Dianzi University, Hangzhou 310018, China)

(Received 12 March 2013; revised manuscript received 10 May 2013)

Abstract

We present a joint spectral and depth domain spectral domain phase microscopy for high-sensitive and high-dynamic-range quantitative phase imaging, where phase information retrieved in spectral domain is used to overcome the limitation of 2π ambiguity and phase information in depth domain is used to achieve a high phase sensitivity. By theoretical derivation and simulation, the sensitivity advantage of phase information in depth domain over phase information in spectral domain is investigated. The theoretical derivation of joint spectral and depth domain spectral domain phase microscopy is presented in detail. The performance of the proposed joint spectral and depth domain spectral domain phase microscopy is illustrated by phase imaging of a coverslip and a resolution target.

Keywords: spectral domain phase microscopy, dynamic range, sensitivity

PACS: 42.30.-d, 42.30.Rx, 87.64.M-

DOI: 10.7498/aps.62.164204

^{*} Project supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant Nos. 61275196, 61108083).

[†] Corresponding author. E-mail: zh_ding@zju.edu.cn