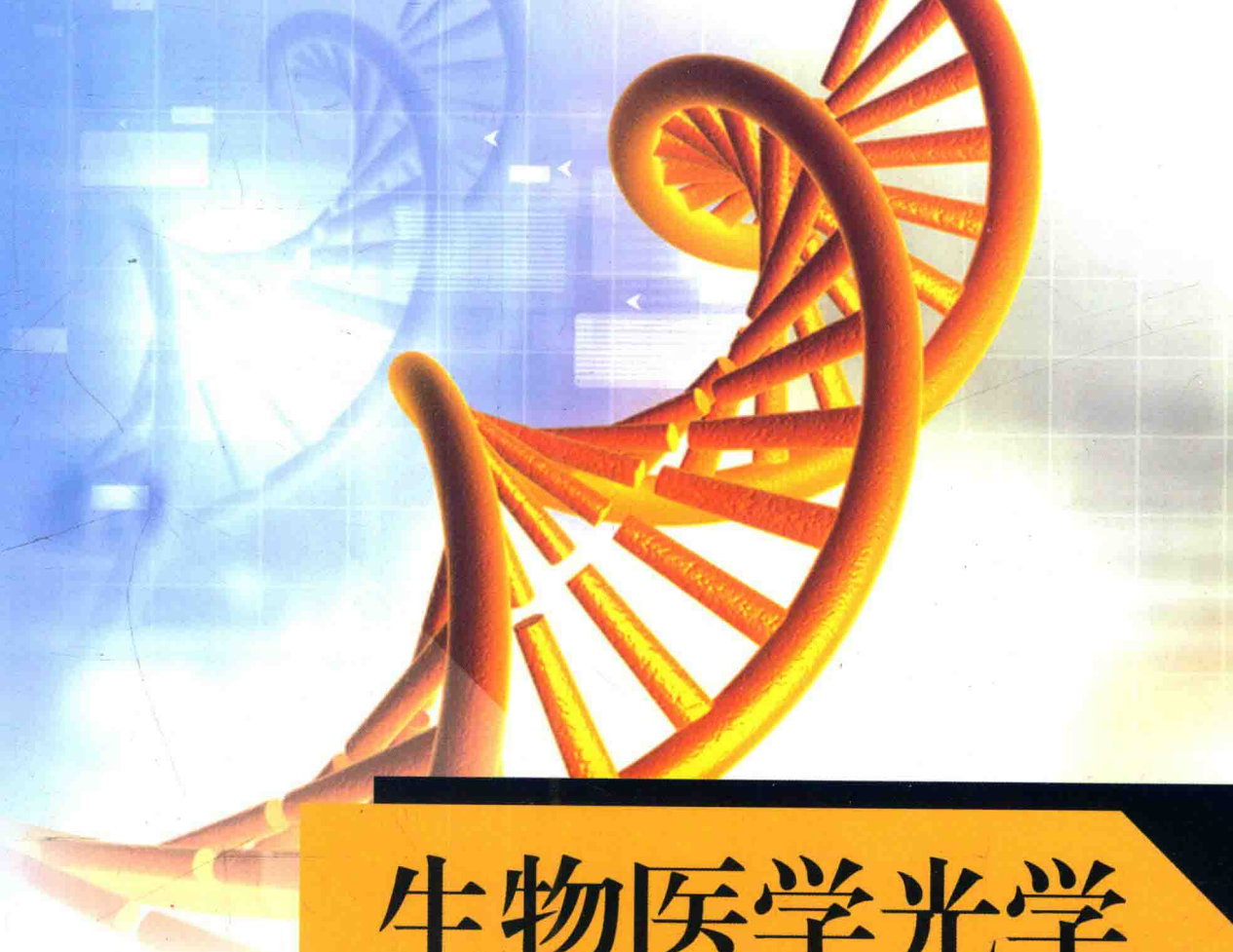




生物医学光学

Biomedical optics

王 成·编著



东南大学出版社
SOUTHEAST UNIVERSITY PRESS

生物医学光学

王 成 编著
郑 刚 主审

 东南大学出版社
SOUTHEAST UNIVERSITY PRESS

· 南京 ·

图书在版编目(CIP)数据

生物医学光学 / 王成编著. — 南京: 东南大学出版社,
2017. 2

ISBN 978 - 7 - 5641 - 7019 - 6

I. ①生… II. ①王… III. ①生物工程-医学工程-
生物光学 IV. ①R318.51

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2016)第 326058 号

生物医学光学

出版发行 东南大学出版社
出 版 人 江建中
责任编辑 胡中正
社 址 南京市四牌楼 2 号
邮 编 210096
网 址 <http://www.seupress.com>
经 销 各地新华书店
印 刷 大丰科星印刷有限责任公司
开 本 787mm×1092mm 1/16
印 张 24
字 数 600 千字
版 次 2017 年 2 月第 1 版
印 次 2017 年 2 月第 1 次印刷
书 号 ISBN 978 - 7 - 5641 - 7019 - 6
定 价 68.00 元

* 本社图书若有印装质量问题,请直接与营销部联系,电话:025-83791830。

序

在现代科学领域,光学和生物医学都是比较热门的学科。光学解决发光、传播、光与物质间的相互作用等问题。随着激光的发明,古老的光学理论焕发了青春,不断涌现出新的学科分支,充实光学学科的大厦。生物医学或生物医学工程是重点关注生物特别是人类健康的学科,它结合了物理学、化学、生物学及机械电子等相关学科,是当前研究的热点学科之一。生物医学光学则是将光学学科的理论、技术应用到生物医学领域,是又一个人们感兴趣的交叉、前沿的研究方向,目前发展迅速,成果众多。

生物医学光学研究光在组织中的传播规律,光在组织中的吸收、散射等光学作用形式,实现对患者基于光学理论、光学技术的诊断和治疗。当前,生物医学光学领域应用在临床的典型代表是光学层析成像(OCT)技术,已经成为医学中眼底病诊断的金标准。其他的生物医学光学技术也不断涌现,并在临床上开拓其应用空间。近年来诺贝尔奖也特别关注生物医学光学领域的研究成果,多次把诺奖颁发给此领域做出卓越贡献的科学家,如:2008年的化学奖颁给了下修村、钱永健等学者,奖励他们在绿色荧光蛋白及其系列荧光标记物实现上的贡献;2014年颁给了在超衍射极限显微成像技术方面作出重大贡献的埃里克·白兹格(Eric Betzig)、斯蒂芬·黑尔(Stefan W. Hell)、威廉·莫尔纳(William E. Moerner)等三位学者。可以说,生物医学光学在未来发展的潜力和空间是巨大的。

作者根据其近年来的工作总结,结合当前生物医学光学方面的研究进展编写了本书。本书系统地阐述了生物医学光学中的热点技术及其光学背景,如:基于光谱的光学活检;激光共聚焦显微镜;光学层析成像;光声成像以及超衍射极限的远场显微成像等,介绍了相关的理论基础和技术重点。本书为相关领域的研究人员、研究生及本科生提供了一本有用的参考书。当然,生物医学光学学科本身相当复杂,发展迅速,还有待人们努力不懈地进一步去研究、探索和实践。

中国工程院院士



2017.1.5 于上海理工大学



前言

生命科学是当今世界科技发展的最大热点之一。目前几乎所有的科学技术都将围绕人与人类的发展问题,寻求自己的有意义的生长点与发展面,而生命科学的重点研究对象更是直指高等生命活体与人体本身的一些重大问题。而如何借助于物理学技术、化学技术、纳米技术等古老学科和新型学科的技术获得生命信息一直是生命科学发展中的重要研究课题。生命科学的每一次重大进步都离不开尖端科学仪器的发明,如显微镜的出现揭示了关于细胞的信息,开创了一个新的学科——细胞学科。X射线技术在生物系统中的应用显示了分子层次的信息,为分子生物学的建立奠定了实验基础,更开创了医学影像学,实现组织层面、分子层面的多层次影像学诊断领域。激光的出现更是掀起了光学技术在生物医学领域研究的热潮,一个交叉的、新颖的学科“生物医学光学”应运而生,并得到了飞速发展。光子学及其技术已广泛应用或渗透到生物科学和医学的诸多方面,生物医学光学的发展,将现代医学和生命科学带进崭新的时代。当今世界中,与光子学有关的技术正冲击着人类对生命体的认知及人类健康领域。基于现代激光与光电子技术的生物医学光学将为生命科学带来具有原创性的重要研究成果,并可望形成有重大社会影响和经济效益的产业。

生物医学光学的研究目标是实现微创或无创的诊断与治疗。诊断方面,医学光子学发展的趋势是研制小型、便携、微创/无创、可连续操作且功能完备的医疗仪器,具体可以分为三个方面。第一,基于光学成像的检测和诊断。当前的研究重点是开发超高时空分辨的成像技术和设备、大穿透深度的成像技术和设备以及多模态的成像技术和设备,更好地实现多层次、大动态范围的图像呈现。在体非侵入的生物成像技术也得到了迅猛发展。非侵入性生物成像领域目前已经采用各种显微技术和共聚焦等技术,提高了图像的精细度,使得人们能深入探索活细胞中细胞活动过程的分子事件。第二,基于光谱技术的检测和诊断。当前研究最为活跃的领域是基于拉曼散射光谱的各种检测技术,如:表面增强拉曼散射光谱技术已实现对细菌和病毒的多参数、高通量检测。基于荧光光谱技术的检测和诊断,包括本征自体荧光光谱的肿瘤检测,外源荧光的细胞识别与计数等。第三,基于光学技术的生物传感。当前的热点在于实现在体、可穿戴的生理参数和生化

指标的连续监测的传感技术研究,如血氧饱和度、连续血压、血糖监测等。治疗方面,未来主要在光动力学治疗,开发小型化固体激光器,同时寻求更敏感且适用于人体的荧光物质,改进肿瘤病变组织等疾病的诊断造影及确定光动力学疗法的根本途径。

本书的内容做如下安排:第一章是生物医学光学绪论;第二章介绍光学和光学基本知识;第三章为生物系统发光,包括生物超微弱发光和荧光等;第四章为生物医学光学的理论基础光与组织相互作用——组织光学,光的吸收、散射,光传输理论基础以及光与组织作用后的生物学效应;第五章为生物组织的光学参数测量和一些组织在不同波长下的吸收和散射系数;第六章为光学活检,包括各种光谱检查技术;第七章为生物成像原理和技术,从传统的显微成像介绍开始;第八章为光学层析成像技术;第九章为光声成像;第十章为当前比较热门的超衍射极限分辨的显微成像技术。

本书的成稿得到了上海理工大学精品本科课程建设的经费支持,在此感谢上海理工大学各领导的大力支持;同时研究生杨梅、董肖娜、杨静、陆雨菲、张通、蔡干在书稿整理、文字编辑方面做出了大量的工作,对他们的辛勤劳动表示最诚挚的谢意;最后要感谢我的爱人和我的父亲对我工作上的支持与鼓励,这些成果的获得都与他们的默默付出是分不开的。

生物医学光学涉及学科广泛,限于编者的学术水平,书中难免有错误或表达不准确之处,恳请读者不吝指正。

编者:王成

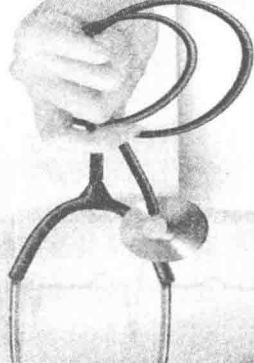
2016.12



目 录

第一章 绪 论	1
1.1 概述	1
1.2 生物医学光学重要历程	3
1.3 生物医学光学发展与前瞻	4
第二章 光学和光子学基本知识	7
2.1 绪论	7
2.2 几何光学的基本原理	10
2.3 光的干涉	31
2.4 光的衍射	44
第三章 生物系统发光	69
3.1 生物发光分类	69
3.2 荧光	70
3.3 发光生物发光	84
3.4 化学发光	85
3.5 生物超微弱发光	85
第四章 光与组织相互作用	92
4.1 组织光学	92
4.2 光在组织中的吸收	94
4.3 生物组织的光散射	98
4.4 光子传输理论模型	110
4.5 光与组织作用的生物学效应	124
第五章 组织光学性质	128
5.1 简介	128
5.2 组织光学性质测量的基本原则	128
5.3 积分球技术	130
5.4 Kubelka-Munk 法和多流法	131
5.5 逆倍增法	132
5.6 组织的光学性质	133
5.7 总结	167
第六章 医学光谱技术	168
6.1 近红外光谱技术及应用	168
6.2 荧光光谱	173

6.3	拉曼光谱技术应用	178
6.4	细胞水平的共焦后向散射显微光谱	183
6.5	光谱成像的定义	187
第七章	生物成像原理和技术	198
7.1	生物成像:一种重要的生物医学方法	198
7.2	光学成像概述	199
7.3	生物和医用显微镜	201
7.4	透射显微术	212
7.5	倒置显微镜	216
7.6	暗场显微镜	217
7.7	相差显微镜	220
7.8	偏光显微镜	230
7.9	微分干涉相衬显微镜(DIC)	242
7.10	荧光显微镜	251
7.11	扫描近场光学显微镜	263
7.12	共聚焦显微镜	269
7.13	荧光共振能量转移(FRET)成像	282
7.14	荧光寿命成像显微术(FILIM)	289
第八章	光学相干层析成像术(OCT)原理	291
8.1	介绍	291
8.2	OCT 系统中的共焦门和横向分辨率	294
8.3	弱相干干涉的轴向范围	296
8.4	傅里叶域光学低相干层析成像(Fourier-domain OCT, FD-OCT)	299
8.5	时域弱相干干涉仪(time domain OCT, TD-OCT)	310
8.6	OCT 系统的灵敏度和动态范围	310
8.7	OCT 技术进展和应用	314
第九章	光声成像	317
9.1	简介	317
9.2	组织中的光声	318
9.3	深度结构成像	321
9.4	扫描光声层析成像(Photoacoustic Tomography, PAT)	322
9.5	声透镜成像	325
9.6	计算机层析成像(computed tomography, CT)	325
9.7	光声成像方法的应用	337
9.8	光声成像的发展	344
第十章	远场超衍射极限成像	346
10.1	受激发射损耗(stimulated emission depletion, STED)显微术	347
10.2	超衍射极限的结构光照明显微镜(Structure light Illuminate Microscopy, SIM)	356
10.3	随机光重建显微镜(STORM)	364
	主要参考文献	371



第一章 绪 论

1.1 概述

生命科学是当今世界科技发展的热点之一。目前几乎所有的科学技术都将围绕人与人类的发展问题,寻求自己有意义的生长点与发展面,而生命科学的重点研究对象更是直指高等生命活体与人体本身的一些重大问题。近几年来,已形成了光学与生命科学互相交叉的学科新分支——生物医学光学(Biomedical Optics)。生物医学光学就是运用光学原理和技术,结合纳米科学、信息科学、生物学和认知学等新兴学科领域,为解决在生物医学工程、生物学和医学领域中存在的一些问题提供成熟的光学方案。生物医学光学涉及对生物材料的探测、成像和处理。

近几年里,国内外生物医学光学方面的研究工作十分活跃,发展十分迅速,正在开拓生命科学的一个新领域。这两年美国光学年会的论文中有超过三分之一的内容与生命科学有关。国际上也出现了专门的研究机构与杂志,日本已成立了一个生物医学光子学研究中心,美国很多大学如哈佛、MIT、斯坦福等都建立了相应的研究机构。Laurin 出版公司于 1991 年发行了 *Bio-Photonics* 新杂志。多年来, SPIE(国际光学工程学会)于每年年初召开一次规模十分庞大的“生物医学光学”国际性学术会议,并于 1996 年出版了新的期刊 *Journal of Biomedical Optics*。美国光学学会重要的会刊之一 *Applied Optics* 也于 1996 年将其 *Optical Technology* 栏目更名为 *Optical Technology and Biomedical Optics*。生物医学光学主要包含以下研究内容:一是生物系统中产生的光子及其反映的生命过程,以及这种光子在生物学研究、医学诊断等方面的重要应用,利用光子及其技术对生物系统进行的检测、治疗、加工和改造等也是一项重要的任务。二是医学光学基础和技术,包括组织光学、医学光谱技术、医学成像术、新颖的激光诊断和激光医疗机理及其作用机理的研究。

2000 年 11 月,第 152 次香山科学会议“生物医学光子学与医学成像若干前沿问题”在北京举行。韦钰院士、刘颂豪院士、骆清铭教授和留美学者刘泓教授一起担任了会议执行主席。国内知名专家母国光院士、刘玉清院士、牛憨笨院士、蒋大教授、郑崇勋教授等出席了会议。会议热烈讨论了我国生物医学光子学和医学成像领域的发展现状和存在的问题,认为该领域在脑科学研究特别是儿童早期教育、医学诊断和医疗方面将发挥重要作用。会议提议:利用网络技术,迅速在国内建立网上合作研究平台,并在此基础上,通过竞争,建立研究中心,从而尽快缩短与国外先进水平的差距,促进我国生物医学工程产业的发展。

生物医学光学是光学与生命科学相互交叉又相互渗透的一个新的研究领域,是光与生物组织相互作用的必然结果。1988 年在美国举办的光学学会年会上首次对“生物医学光学”(Biomedical Optics)进行专题讨论,随后其地位随着激光生物医学的发展,生物组

织中光的分布以及光辐射与组织的相互作用成为重要的基础问题,而这两方面是与组织体的光学特性直接相关的,统一到了“组织光学”理论框架。“组织光学”是光动力诊断与治疗(Photodynamic-Diagnosis,即 PDD 和 Photodynamic-Therapy,即 PDT)、光热疗法(Photo-Thermotherapy,即 PTT)和生物光学显微成像术(Optical Bio-imaging)等新兴医学的重要理论基础。而生物医学光学基于组织光学的理论基础,是组织光学的应用发展,也是现代光子学技术和方法在生物医学领域的应用,具体包括:光子医学与光子生物学技术;医用激光器及应用;光与生物组织相互作用;生物组织的发光光子生物医学检测、诊断、治疗;生物组织的光子学成像等。

当今,医学正处在一个重大的变革时期。医学的重点正由传统的基于症状治疗模式向以信息为依据的治疗模式转变。人们已经认识到,症状仅仅是疾病的被滞后的很粗糙的人体异常反应。当今一些重大医学课题的研究,一开始就把着眼点放在探索导致疾病的生物信息规律上,以控制生物逻辑信息处于健康状态,进而达到治疗疾病的目的。为此,人们从各个学科(磁学、声学、化学、光学等)探索医学诊断和治疗的新方法。目前,人们认为光子学有希望在当今医学的大变革中扮演重要角色。认识光在生物组织中的传播规律,以及激光为代表的性能光源和高灵敏度光学探测器的研制成功分别是这种认知的理论依据和物质基础。新兴激光技术、光谱技术、显微技术以及光纤技术等光子学和现代医学相结合形成了一个新的交叉学科生长点:医学光子学(Medical Photonics),是光学与生命科学相互交叉、相互渗透的一个边缘学科,是关于光辐射与生物组织之间相互作用的学问。光在生物组织中的运动学(如传播)问题和动力学(如探测)问题是其研究的主要内容。由于激光具有单色性好、辐射方向性强的特点,无论光诊断还是光治疗技术,多以激光为光源。随着激光器的不断发展,光子技术在生物医学领域的应用也层出不穷。医学光子学的发展动力主要来源于医学的迫切需要。许多面向临床光治疗以及光诊断的具体应用,如激光医学中的光计量学、光学成像诊断学、肿瘤诊断与治疗等所提出来的各种问题,亟待医学光子学给出满意的回答,由此极大地促进了医学光子学的迅猛发展。医学光子学研究的直接对象是生物组织,特别是活体的生物组织。它的研究成果将直接服务于人类医学,并有可能创造出新的高科技产业,为人类文明和社会进步做出贡献。

医学应用中的迫切需要是推动生物医学光子学发展的主要动力。在医学的光诊断和治疗中,有许多理论研究需要开展,有许多新应用需要从理论上做出满意的解释,这主要有如下几个方面:

(1) 医学上对人体疾病的光学诊断问题。人体在不同的生理状态下,其组织光学特性参数也不相同。光子学检测和诊断与传统医学的方法相比较有许多优点,尤其是 600 nm 至 1 300 nm“光学窗”波长范围内的无损检测和诊断技术蓬勃发展,如组织血氧和脑血氧的检测、血氧和葡萄糖含量的监测。在成像技术方面近年发展起来的 OCT 技术也受到人们的高度重视,但由于生物组织的多样性和复杂性,光子学检测和诊断技术在理论上尤其是如何为医学临床提供可靠的生理参数指标尚有许多问题需要加强研究。

(2) 光治疗中各种参量的选择。在许多临床光治疗的具体应用中,如激光手术、激光针灸、激光理疗和光子动力学治疗(Photodynamic Therapy,简称为 PDT)肿瘤,需要预先确定光剂量,即合理选定照射光源的几何形状、光束功率、照射时间、焦点深度以及周围



组织的光学性质和形状等以及组织内部各部分光能流率的分布。

(3) 弱光对生物组织的刺激作用机制。所谓弱光,即不会造成生物组织机体不可逆性损伤的光。由于弱光对生物组织的刺激作用如激光对人体的消炎、止痛效果以及对血液的明显的净化作用,目前已广泛应用于医学临床,但是弱光治疗的机理研究相对滞后。为了更好地、更科学地发展光医疗事业,需要加强弱光对生物组织的刺激作用机理的研究。

(4) 对人体伤害最小的光子设备的研究和开发。其理论基础是生物医学光子学,其研究成果将直接服务于人类健康。光子医疗仪器设备在医学临床的诊断和治疗中有着很重要的意义和广泛的应用前景,并有可能创造出新的高技术产业,为人类文明和社会发展进步做出贡献。

1.2 生物医学光学重要历程

古语云:工欲善其事,必先利其器也!在生命科学领域每一次科技进步都需要新技术和新方法的发展。如图 1-1 所示,显微镜的发明奠定了细胞学基础,也打开了人类认知微观世界的大门,把人类的视野扩展到了微纳米尺度,揭示了许多生命过程甚至是分子间的相互作用规律。X-ray 开创了医学的影像学和放射医学。到了近现代,人类逐渐认识了光对人的益处,最基本的人类的生物节律每天大约 24 小时重复着,被称为生物周期律,光是主要的刺激因素,帮助我们调节这个生物钟。人每天必须接收足够量的光照射,才能保障整个生物节律的稳定和平衡,当缺少或照射量不足时会导致生物钟紊乱,造成各种疾病。另外,太阳光除了提供我们人类可以感知的亮度以外,也有很多对人类有益的射线,如紫外线和红外线。1903 年的诺贝尔生理学或医学奖就奖给了丹麦的芬森医生(Niels Ryberg Finsen, 1860—1904),他的主要贡献就是阐明了太阳光中的紫外光可以杀菌,高能量的紫外光可以治疗红斑狼疮等恶性皮肤病,他的研究开创了光化学效应应用的基础。阿尔瓦·古尔斯特兰德(Allvar Gullstrand, 1862—1930)研究了眼睛屈光度并因此获得 1911 年的诺贝尔生理学或医学奖。阿尔瓦·古尔斯特兰德是瑞典眼科专家,一生致力于眼睛屈光和眼科疾病的治疗,他发明了裂隙灯显微镜,这种工具今天的眼科医师仍在使用。裂隙灯显微镜是一种带细光束照明灯的显微镜,可以把眼的前部结构高倍放大便于医生检查。他还发明了无反射检眼镜,有时也称为古尔斯特兰德检眼镜,使医生们检查眼病更加便利。古尔斯特兰德还发明了一种白内障手术后使用的非球面透镜,开创了视光学学科。

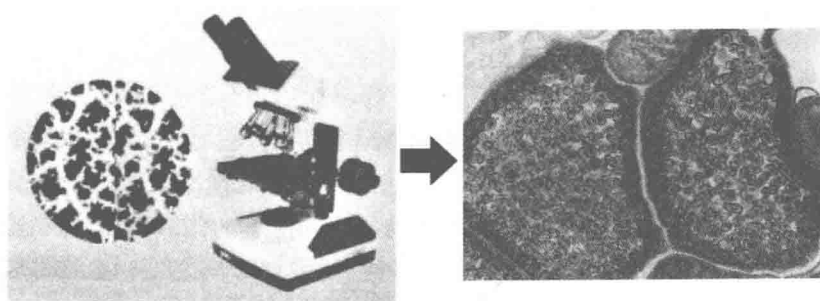


图 1-1 显微镜与细胞学

1960年后,随着新型光源——激光的发明,又对生物学起到了极大的推动作用,在医学领域,1983年 *Science* 杂志报道了选择性光热理论(Selective Photothermolysis, SPTL),系统阐述了激光参数,包括激光波长、功率密度、脉冲宽度、脉冲间隔和光斑大小等,与组织相互作用过程中对周围组织产生最小损伤的问题,开创了激光医学的理论体系。在生物医学研究方面,随着下村修(Osamu Shimomura),马丁·查尔菲(Martin Chalfie)等人发现并提纯了北冰洋水母体内的绿色荧光蛋白以及钱永健(Roger Y. Tsien)发明了可编程的荧光标记物,开创了细胞、分子等多色标记与识别更精细的观测手段。因为绿色荧光蛋白和荧光蛋白的发展,马丁·查尔菲、下村修和钱永健分享了2008年的诺贝尔化学奖。如图1-2所示,为北冰洋的水母和绿色荧光蛋白及多色荧光蛋白标记物和在活体细胞中的多色标记与成像的应用。同时,多色荧光的激发更依赖于激光技术的发展,当前,荧光激发基本采用激光作为激发光源,除了可见光范围能产生荧光外,在近红外波段也有可以产生荧光的物质——纳米粒子标记物。

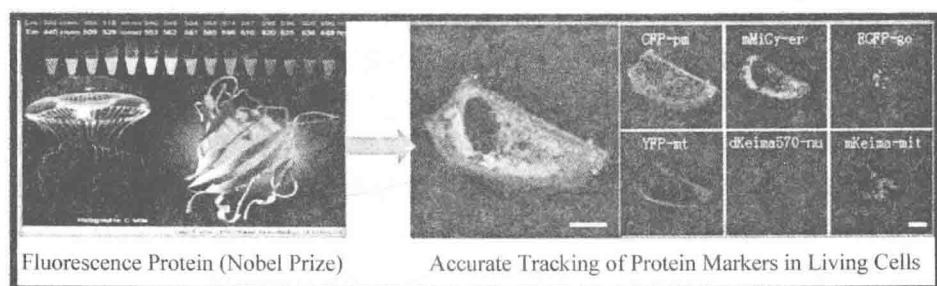


图1-2 荧光蛋白及其标记应用

随着标记技术和成像技术的不断进步,科研人员对成像分辨能力提出了更高的要求,要能看到更小的物体,如细菌的尺寸大约几十个纳米,更近的作用距离,这对现有的成像技术提出了极高的挑战,因为所有的光学仪器的分辨率都受到系统孔径的限制,即衍射极限,都遵循阿贝定律,也就是光学系统的分辨率极限为0.61倍的光波波长与系统数值孔径的比值。如何打破这个衍射极限,成为了研究的热点。斯蒂芬·黑尔(Stefan W. Hell, 1962—)与美国科学家埃里克·白兹格(Eric Betzig, 1960—)、威廉·莫尔纳(W. E. Moerner, 1953—)三人因开发出超分辨率荧光显微镜而获得2014年度诺贝尔化学奖,把光学显微镜带入了纳米时代。如图1-3所示,为超分辨率显微镜图像与普通宽场显微镜对比图,超分辨显微镜采用的是STED(Stimulated Emission Depletion)技术。

1.3 生物医学光学发展与前瞻

生物医学光学未来的发展方向已被谢树森等前辈提及。他们在《科学通报》中做了如下论述:

光子学及其技术已广泛应用或渗透到生物科学和医学的诸多方面,被科学界所认同和重视。生物医学光学已经成为国际光学学科重要发展方向之一。生物医学光子学的发展,将现代医学和生命科学带进崭新的时代。本学科的发展将继续体现多学科交叉的特点,研究领域涉及生物学、医学和光学,还有化学等不同大学科的方方面面。技术开发

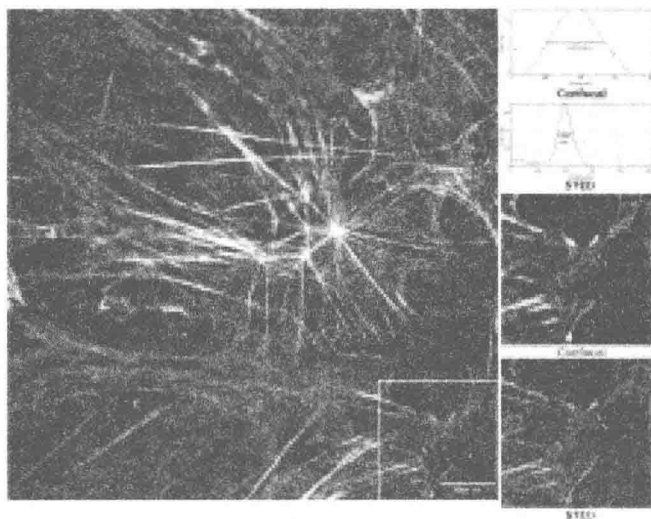


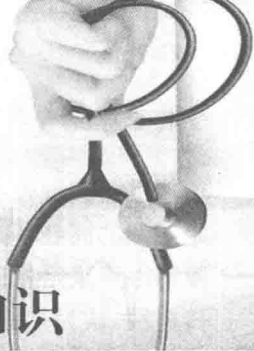
图 1-3 超分辨率显微镜成像与普通宽场显微镜成像对比

与临床应用研究的结合将越来越密切。一般认为,光学领域未来发展的重点是将各种复杂的光学系统和技术更加广泛地应用于保健和医疗。当今世界中,与光子学有关的技术冲击着人类对生命体的认知及人类健康领域。基于现代激光与光电子技术的生物医学光子学技术将为生命科学研究带来具有原始性创新的重要科研成果,并可望形成有重大社会影响和经济效益的产业。

科学技术总是在社会需求的推动下迅速发展,随着人类社会的进步,生活质量的提高,人们的健康和保健意识日益增强,对现代医学提出了更高的要求。一些传统的医学,伴随人们这一需求的提高以及科技的进步而发生了深刻的变化。重大疾病的早期诊断与治疗直接关系到患者的长期生存率问题。随着我国社会老龄化的加剧,各种医疗保健的费用正成为社会的极大负担,尤其是肿瘤、心血管和神经系统疾病等重大疾病。如果能够在早期进行诊治,将大大减少社会负担,提高人们的生活质量。研究表明,许多疾病始于基因,基因表达异常,继而代谢失常、功能障碍,最后才表现出组织形态变化和症状体征。只有在分子水平发现疾病,理解其生物学基础和发病机制,鉴别出病变异常分子,才能真正达到早期诊断,克服“一症多病”和“一病多症”的临床诊断难题,从而进一步发展新型分子治疗方法,实现“预防为主”“标本兼治”的目标。

生物医学光子学的研究目标,是实现微创或无创的诊断与治疗。诊断方面,医学光子学发展的趋势是,研制小型、便携、微创/无创、可连续操作且功能完备的医疗仪器。治疗方面,未来主要在光动力学治疗,加强对小型化固体激光器的研究,同时寻求更敏感且适用于人体的荧光物质,改进肿瘤等疾病的诊断病变造影组织及确定光动力学疗法的根本途径。生物学领域,光子学技术提高了传统研究工具的精度和准确性,从而可以在更小、更深、更精确的水平上研究生命问题。共焦激光扫描显微镜能将详细的生物结构的三维图像展现出来,在亚细胞层次监测化学组成和蛋白质相互作用空间和时间特征。以双光子激发荧光技术为代表的非线性成像方法,不仅可以改善荧光成像方法的探测深度、降低对生物体的损伤,而且还开辟了了在细胞内进行高度定位的光化学疗法。近场技术将分辨率提高到衍射极限以上,可以探测细胞膜上生物分子的相互作用、离子通道等。

激光器已成为确定 DNA 化学结构排序系统的关键组成部分。光学在生物技术方面的其他应用还包括采用“DNA 芯片”的高级复杂系统和采用传输探针的简单系统。光镊提供了一种在显微镜下方能看见的一种新奇的、前所未有的操作方法,能够在生物环境中实现细胞或微观粒子的操纵与控制,或在 10~12 nm 范围内实现力学参数的测量。医学领域,光子学技术正在改变着药物疗法和常规手术的实施手段,并为医疗诊断提供了新方法。在某些领域,如眼科,光学和激光技术已成熟地应用于临床实践。激光还使治疗肾结石和皮肤病的新疗法得以实现,并以无损或微损疗法代替外科手术,如膝关节的修复。现在,用激光技术和光激励的药物相结合可治好某些癌症。以光学诊断技术为基础的流动血细胞测量仪可用于监测艾滋病患者体内的病毒携带量。还有一些光学技术正处于无损医学应用的试验阶段,包括控制糖尿病所进行的无损血糖监测和乳腺癌的早期诊断等。基础研究方面,研究重点在于从细胞甚至是亚细胞尺度揭示病变组织与正常组织之间的差异,为新技术开发及应用提供理论依据。另一方面,研究光与人体组织之间的相互作用以及所产生的光化学、光热和光机械效应。在技术的应用方面,研究重点转向比较各种技术中光源(相干光源/非相干光源、波长、功率密度、偏振性、连续/脉冲光源、脉冲持续时间等)和个体差异(年龄、性别、临床症状、发病史、发病时间等)对诊断或治疗结果的影响,在确定各种技术临床适应证的同时,进一步实用化各种技术。此外,还在不断开发新的适用于不同疾病的诊断、治疗和监测技术。生物医学光子学研究的活跃、繁荣景象并不完全出于学术本身的缘由,而是由国家和社会对人类健康问题的关注而推动的,即人们对采用生物医学光子学技术解决长期困扰人类的疑难顽疾如心血管疾病和癌症所起的作用寄予很大希望,其中的重大突破将起到类似 X 射线和 CT 技术在人类文明进步史上的重要推动作用,在知识经济崛起的时代还可能产生和带动一批高新技术产业来探索医学诊断和治疗的新方法,现代医学正面临着一场革命。光子学在这场革命中将扮演着重要的角色。针对目前临床医学上,包括疾病的诊断、治疗,甚至一些医学的基本问题都可以从光子学找到解决的手段。值得关注的是,国外从事“生物医学光学”领域研究的高校或研究机构中,来自中国的学者数量越来越多。这有助于使国内外的学术交流更加广泛和深入,并可以预期国内与国外在该领域的研究水平差距将不断缩小。因此,光子学在生物医学研究领域的应用和发展前景绝不亚于光子学在其他领域如光通信领域的应用和发展。



第二章 光学和光子学基本知识

2.1 绪论

光学是研究光(电磁波)的行为和性质,以及光和物质相互作用的物理学科。传统的光学只研究可见光,现代光学已扩展到对全波段电磁波的研究。光是一种电磁波,在物理学中,电磁波由电动力学中的麦克斯韦方程组描述;同时,光具有波粒二象性,需要用量子力学表达。

1) 光学的起源

在西方很早就有光学知识的记载,欧几里得(Euclid,公元前约 330—260)的《反射光学》(*Catoptrica*)研究了光的反射;阿拉伯学者阿勒·哈增(Al-Hazen, 965—1038)写过一部《光学全书》,讨论了许多光学的现象。

光学真正形成一门科学,应该从建立反射定律和折射定律的时代算起,这两个定律奠定了几何光学的基础。17 世纪,望远镜和显微镜的应用大大促进了几何光学的发展。

光的本性也是光学研究的重要课题。微粒说把光看成是由微粒组成,认为这些微粒按力学规律沿直线飞行,因此光具有直线传播的性质。19 世纪以前,微粒说比较盛行。但是,随着光学研究的深入,人们发现了许多不能用直进性解释的现象,例如干涉、绕射等,用光的波动性就很容易解释。于是光学的波动说又占了上风。两种学说的争论构成了光学发展史上的一根红线。

狭义来说,光学是关于光和视见的科学,optics(光学)这个词,早期只用于跟眼睛和视见相联系的事物。而今天,常说的光学是广义的,是研究从微波、红外线、可见光、紫外线直到 X 射线的宽广波段范围内的,关于电磁辐射的发生、传播、接收和显示,以及跟物质相互作用的科学。光学是物理学的一个重要组成部分,也是与其他应用技术紧密相关的学科。

2) 光学简史

光学是一门有悠久历史的学科,它的发展史可追溯到 2000 多年前。人类对光的研究,最初主要是试图回答“人怎么能看见周围的物体?”之类问题。在公元前 400 多年(先秦时代),中国的《墨经》中记录了世界上最早的光学知识。它有八条关于光学的记载,叙述影的定义和生成,光的直线传播性和针孔成像,并且以严谨的文字讨论了在平面镜、凹球面镜和凸球面镜中物和像的关系。自《墨经》开始,公元 11 世纪阿拉伯人伊本·海赛木发明了透镜;公元 1590 年到 17 世纪初,詹森和李普希同时独立地发明显微镜;一直到 17 世纪上半叶,才由斯涅耳和笛卡儿将光的反射和折射的观察结果归结为今天大家所惯用的反射定律和折射定律。1665 年,牛顿进行太阳光的实验,它把太阳光分解成简单的组成部分,这些成分形成一个颜色按一定顺序排列的光分布——光谱。它使人们第一次接触到光的客观的和定量的特征,各单色光在空间上的分离是由光的本性决定的。牛顿还发现了把曲率半径很大的凸透镜放在光学平玻璃板上,当用白光照射时,则见透镜与

玻璃平板接触处出现一组彩色的同心环状条纹;当用某一单色光照射时,则出现一组明暗相间的同心环条纹,后人把这种现象称牛顿环。借助这种现象可以用第一暗环的空气隙的厚度来定量地表征相应的单色光。牛顿在发现这些重要现象的同时,根据光的直线传播性,认为光是一种微粒流。微粒从光源飞出来,在均匀媒质内遵从力学定律做等速直线运动。牛顿用这种观点对折射和反射现象作了解释。

惠更斯是光的微粒说的反对者,他创立了光的波动说。提出“光同声一样,是以球形波面传播的”。并且指出光振动所达到的每一点,都可视为次波的振动中心,次波的包络面为传播波的波阵面(波前)。在整个 18 世纪中,光的微粒流理论和光的波动理论都被粗略地提了出来,但都不很完整。19 世纪初,波动光学初步形成,其中托马斯·杨圆满地解释了“薄膜颜色”和双狭缝干涉现象。菲涅耳于 1818 年以杨氏干涉原理补充了惠更斯原理,由此形成了今天为人们所熟知的惠更斯-菲涅耳原理,用它可圆满地解释光的干涉和衍射现象,也能解释光的直线传播。

在进一步的研究中,观察到了光的偏振和偏振光的干涉。为了解释这些现象,菲涅耳假定光是一种在连续媒质(以太)中传播的横波。为说明光在各不同媒质中的不同速度,又必须假定以太的特性在不同的物质中是不同的;在各向异性媒质中还需要有更复杂的假设。此外,还必须给以太以更特殊的性质才能解释光不是纵波。如此性质的以太是难以想象的。1846 年,法拉第发现了光的振动面在磁场中发生旋转;1856 年,韦伯发现光在真空中的速度等于电流的电磁单位与静电单位的比值。他们的发现表明光学现象与磁学、电学现象间有一定的内在关系。1860 年前后,麦克斯韦指出,电场和磁场的改变,不能局限于空间的某一部分,而是以等于电流的电磁单位与静电单位的比值的速度传播着,光就是这样一种电磁现象。这个结论在 1888 年为赫兹的实验证实。然而,这样的理论还不能说明能产生像光这样高的频率的电振子的性质,也不能解释光的色散现象。到了 1896 年洛伦兹创立电子论,才解释了发光和物质吸收光的现象,也解释了光在物质中传播的各种特点,包括对色散现象的解释。在洛伦兹的理论中,以太乃是广袤无限的不动的媒质,其唯一特点是,在这种媒质中光振动具有一定的传播速度。

对于像炽热的黑体辐射中能量按波长分布这样重要的问题,洛伦兹理论还不能给出令人满意的解释。并且,如果认为洛伦兹关于以太的概念是正确的话,则可将不动的以太选作参照系,使人们能区别出绝对运动。而事实上,1887 年迈克耳逊用干涉仪测“以太风”,得到否定的结果,这表明到了洛伦兹电子论时期,人们对光的本性的认识仍然有不少片面性。1900 年,普朗克从物质的分子结构理论中借用不连续性的概念,提出了辐射的量子论。他认为各种频率的电磁波,包括光,只能以各自确定分量的能量从振子射出,这种能量微粒称为量子,光的量子称为光子。量子论不仅很自然地解释了灼热体辐射能量按波长分布的规律,而且以全新的方式提出了光与物质相互作用的整个问题。量子论不但给光学,也给整个物理学提供了新的概念,所以通常把它的诞生视为近代物理学的起点。1905 年,爱因斯坦运用量子论解释了光电效应。他给光子作了十分明确的表示,特别指出光与物质相互作用时,光也是以光子为最小单位进行的。1905 年 9 月,德国《物理学年鉴》发表了爱因斯坦的《关于运动媒质的电动力学》一文。第一次提出了狭义相对论基本原理,文中指出,从伽利略和牛顿时代以来占统治地位的古典物理学,其应用范围只限于速度远远小于光速的情况,而他的新理论可解释与很大运动速度有关的过程的特



征,根本放弃了以太的概念,圆满地解释了运动物体的光学现象。这样,在 20 世纪初,一方面从光的干涉、衍射、偏振以及运动物体的光学现象确证了光是电磁波;而另一方面又从热辐射、光电效应、光压以及光的化学作用等无可怀疑地证明了光的量子性——微粒性。

1922 年发现的康普顿效应,1928 年发现的拉曼效应,以及当时已能从实验上获得的原子光谱的超精细结构,它们都表明光学的发展是与量子物理紧密相关的。光学的发展历史表明,现代物理学中的两个最重要的基础理论——量子力学和狭义相对论都是在关于光的研究中诞生和发展的。此后,光学开始进入了一个新的时期,以至于成为现代物理学和现代科学技术前沿的重要组成部分。其中最重要的成就,就是发现了爱因斯坦于 1916 年预言过的原子和分子的受激辐射,并且创造了许多具体的产生受激辐射的技术。爱因斯坦研究辐射时指出,在一定条件下,如果能使受激辐射继续去激发其他粒子,造成连锁反应,雪崩似地获得放大效果,最后就可得到单色性极强的辐射,即激光。1960 年,梅曼用红宝石制成第一台可见光的激光器;同年制成氦氖激光器;1962 年研制出了半导体激光器;1963 年研制出了可调谐染料激光器。由于激光具有极好的单色性和良好的方向性,所以自 1958 年发现以来,得到了迅速的发展和广泛应用,引起了科学技术的重大变化。

光学的另一个重要的分支是由成像光学、全息术和光学信息处理组成的。这一分支最早可追溯到 1873 年阿贝提出的显微镜成像理论,和 1906 年波特为之完成的实验验证;1935 年泽尔尼克提出位相反衬观察法,并依此由蔡司工厂制成相衬显微镜,为此他获得了 1953 年诺贝尔物理学奖;1948 年伽柏提出的现代全息照相术的前身——波阵面再现原理,为此,伽柏获得了 1971 年诺贝尔物理学奖。

自 20 世纪 50 年代以来,人们开始把数学、电子技术和通信理论与光学结合起来,给光学引入了频谱、空间滤波、载波、线性变换及相关运算等概念,更新了经典成像光学,形成了所谓“傅里叶光学”。再加上由于激光所提供的相干光和由利思及阿帕特内克斯改进了的全息术,形成了一个新的学科领域——光学信息处理。光纤通信就是依据这方面理论的重要成就,它为信息传输和处理提供了崭新的技术。

在现代光学本身,由强激光产生的非线性光学现象正为越来越多的人所注意。激光光谱学,包括激光拉曼光谱学、高分辨率光谱和皮秒超短脉冲,以及可调谐激光技术的出现,已使传统的光谱学发生了很大的变化,成为深入研究物质微观结构、运动规律及能量转换机制的重要手段。它为凝聚态物理学、分子生物学和化学的动态过程的研究提供了前所未有的技术。

3) 光学的研究内容

我们通常把光学分成几何光学、物理光学和量子光学。

几何光学是从几个由实验得来的基本原理出发,来研究光的传播问题的学科。它利用光线的概念、折射、反射定律来描述光在各种媒质中传播的途径,它得出的结果通常总是波动光学在某些条件下的近似或极限。

物理光学是从光的波动性出发来研究光在传播过程中所发生的现象的学科,所以也称为波动光学。它可以比较方便地研究光的干涉、光的衍射、光的偏振,以及光在各向异性的媒质中传播时所表现出的现象。