



激光红外成像 (QCL) 用于分析生物组织

应用说明 MIC418

傅立叶变换红外光谱法在组织成像分析中正面临僵局

红外光谱法用于生物组织研究已有一段时间。它可以在不使用染色剂的情况下，深入了解植物、动物和人类组织的生物化学成分。最令人兴奋的一大发现是，它能够根据红外光谱数据，区分病变组织和健康组织。

但到目前为止，红外显微技术仅限用于研究。^[1] 其原因在于必须投入大量的时间来进行光谱采集。尽管焦平面成像探测器有助于大幅缩短时间，但这项技术仍然非常耗时。

新成员加入：激光红外成像 (QCL)

现在，激光红外成像等全新工具有望打破这一僵局。与传统的红外光源相比，红外激光器能够提供更高的功率密度。因此，可以在较短的时间内采集到较好的红外光谱数据。

随着激光红外成像技术和HYPERION II的到来，终于迎来了转机。由于红外激光具有较高的能量密度，可以在很短的时间内收集到高信噪比的光谱数据。其速度优势显著，提升了几个数量级。本应用说明详细介绍了这项技术的应用。

有关激光红外成像，用户所必须了解的知识

激光红外成像支持中红外指纹区 ($1800-950\text{ cm}^{-1}$) 内的多种图像采集模式。

红外光谱实时成像实现了以视频帧速率进行的实时化学成像，旨在找到感兴趣区或跟踪反应。

离散波数成像聚焦于特定的波数，而不是全光谱，这可以大大加快采集过程。

连续扫描，先选择光谱范围，然后通过激光的连续扫描生成谱图。所得谱图与FT-IR相当。^[2]

离散扫描通过逐步调谐激光频率，来记录所选的光谱范围，从而获得更高的波数精度，但采集时间要更长。

与激光红外成像之对比：组织样品

下面对比了速度最快的FT-IR成像显微镜 (LUMOS II) 与 HYPERION II激光红外成像显微镜对分析组织样品的情况。

| | 样品区域 | 像元尺寸 | 光谱分辨率 | 光谱范围 | 用时 |
|-------------|---------------|-------------------|--------------------|------------------------------|--------|
| LUMOS II | | 5 μm | | 4.000 - 750 cm^{-1} | 113 分钟 |
| HYPERION II | 14.7 x 5.9 mm | 4.9 μm | 4 cm^{-1} | 1.800 - 950 cm^{-1} | 8 分钟 |

使用HYPERION II红外激光成像比使用LUMOS II FPA FT-IR测量速度快14倍以上。虽然使用红外激光 (QCL) 仅可采集 MIR 指纹区, 但这对于HYPERION II来说不是问题, 因为它还配有FT-IR显微镜, 可以根据需要扫描整个光谱范围。

图1显示了成像技术取得的另一个里程碑式进展。使用OPUS软件的自适应K-means聚类算法, 可根据原始数据自动生成红外化学图像。它根据光谱变化自动分析成分分布并评估IR图像, 速度极快。即使是较大的样品, 如光谱张数超300万的扁桃体组织切片 (图1所示), 也仅需不到20分钟即可完成分析, 包括光谱数据评估。

引领变革: 空间相干性抑制技术

图2显示了布鲁克已获得专利的空间相干性抑制技术在采集激光红外图像时起到的改善作用。在左侧的图a和图c中, 可以看到激光束的干涉条纹对成像结果的影响。图像看起来很模糊, 有条纹和斑点。右侧的图b和图d中, 相干性抑制技术在光源处消除了空间相干现象, 从而采集到无比清晰的图像 (未经任何后期处理)。

单波长成像的优势

红外激光成像与傅立叶红外相结合, 使得HYPERION II能够以惊人的速度, 采集离散波数的详细化学图像。如果样本成分已知, 则用户可以选择只采集相关波数。

在所选的示例中, RGB图像由三个波数创建而成, 这使得总测量时间减少到一分钟, 进一步提高了速度优势——超过两个量级。

结果: 无比清晰的成像图

激光红外成像是生命科学研究特别是组织分析的重要工具。结合HYPERION II的FT-IR功能, 它们提供了一个无所不能的全面解决方案, 将生物组织成像推进到新的阶段。

图 1
利用自适应 K-means 聚类算法自动评估化学成像。根据360万光谱的差异进行组分分布分析。

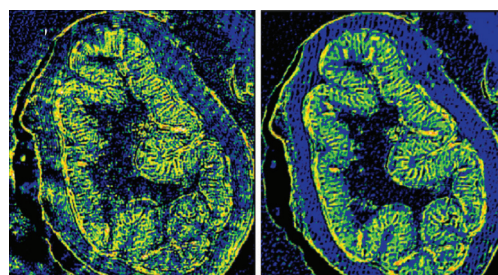
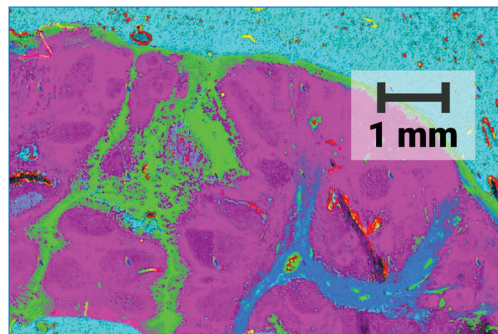


图 2
布鲁克的空间相干性抑制专利技术改善了使用QCL成像技术采集的红外成像的质量: 我们得到了(d)原本的红外成像图, 而不是(c)中干扰的伪影、条纹和斑点^[2], 该成像未经任何后期处理。^[3]

参考资料

- ^[1] Is infrared spectroscopy ready for the clinic? Anal. Chem. 2019; <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.9b02280>.
- ^[2] Application Note MIC420: QCL in forensic analysis, Bruker Optics, 2021.
- ^[3] On the role of interference in laser-based MIR widefield microspectroscopy; J. Biophotonics 2018, <https://doi.org/10.1002/jbio.201800015>.

布鲁克 (北京) 科技有限公司
info.bopt.cn@bruker.com
热线电话: 400-777-2600

Bruker Optics
bruker.com/optics

