

REFERENCES

1. **Oliner A. (ed.)**, Surface Acoustic Waves. — Moscow: Mir, 1981. — 390 p. [Russian translation].
2. **Victorov I. A.** Zvukovye poverkhnostnye volny v tverdykh telakh [Acoustic surface waves in solids]. — Moscow: Nauka, 1981. — 287 p. [Russian translation].
3. **Kino G. S.** Acoustic waves: devices, imaging, and analog signal processing. — Moscow: Mir, 1990. — 656 p. [Russian translation].
4. **Morgan D.** Ustroistva obrabotki signalov na poverkhnostnykh akusticheskikh volnakh [The device signal processing based on surface acoustic waves]. — Moscow: Radio i svyaz', 1990. — 416 p. [in Russian].
5. **Kejlis-Borok V. I.** Interferentsionnye poverkhnostnye volny [Interference surface waves]. — Moscow: Izd. AN SSSR, 1960. — 168 p. [in Russian].
6. **Bogdanov S. V., Levin M. D., Jakovkin I. B.** O sushchestvovanii poverkhnostnoi volny v sisteme sloi – poluprostranstvo [On the existence of Surface Waves in the system layer-half-space] / Akust. Zh. 1969. Vol. 15. N 1. P. 12 – 16.
7. **Landau L. D., Lifshitz E. M.** Teoreticheskaya fizika: uchebnoe posobie [Theoretical physics: textbook]. In 10 volumes. Vol. VII. Teoriya uprugosti [Theory of elasticity]. 5th Edition. — Moscow: Fizmatlit, 2001. — 264 p. [in Russian].
8. **Isakovich M. A.** Obshchaya akustika: uchebnoe posobie [General acoustics: textbook]. — Moscow: Nauka, 1973. — 495 p. [in Russian].
9. **Landau L. D., Lifshitz E. M.** Teoreticheskaya fizika: uchebnoe posobie [Theoretical physics: textbook]. In 10 volumes. Vol. VI. Gidrodinamika. 3rd Edition. — Moscow: Nauka, 1986. — 736 p. [in Russian].
10. **Slobodnik A. J. Jr.** Attenuation of Microwave Acoustic Surface Waves Due to Gas Loading / J. Appl. Phys. 1972. Vol. 43. N 6. P. 2565 – 2568.
11. **Malov V. V.** P'ezorezonansnye datchiki [Piezoresonance sensors]. 2nd Edition. — Moscow: Énergoatomizdat, 1989. — 272 p. [in Russian].
12. **Zhuhovickii A. A., Turkel'taub N. M. (eds.)**. Gas Chromatography / Proc. of the 3rd Int. Symp. on Gas Chromatography in Edinburgh — Moscow: Mir, 1964. — 557 p. [Russian translation].

УДК 53.082.5:681.723

МУЛЬТИСПЕКТРАЛЬНАЯ МИКРОСКОПИЯ: СОСТОЯНИЕ И ТЕНДЕНЦИИ РАЗВИТИЯ¹

© **И. А. Каплунов², В. Я. Молчанов³, К. Б. Юшков³,
А. И. Колесников², С. Е. Ильяшенко⁴, Р. М. Гречишкин²**

Статья поступила 20 ноября 2014 г.

Рассмотрены основные схемы компоновки мультиспектральных микроскопов с использованием сменных или плавно перестраиваемых оптических фильтров и методологий спектральной визуализации с помощью спектрального или пространственного сканирования изучаемых объектов, а также фурье-спектроскопии их интерферограмм. Комбинирование методологий визуализации и оптической спектроскопии приводит к концепции спектрального изображения в виде трехмерного набора («куба») данных. Отмечен значительный рост интереса к мультиспектральной микроскопии в связи с перспективами ее широкого применения в медицине, биотехнологиях, физическом материаловедении, химии, минералогии, криминалистике и многих других отраслях науки и техники. Электронно-пересматриваемые по длинам волн акустооптические фильтры — эффективный инструмент для спектрального и поляризационного анализа обработки оптических изображений в реальном масштабе времени.

Ключевые слова: мультиспектральная микроскопия; видеоспектрометр; акустооптический фильтр; электронно-перестраиваемый фильтр; параллелурит.

Мультиспектральная микроскопия основана на сочетании методов спектроскопии и визуализации микроробъектов. Рассматриваемые по отдельности эти хорошо известные методы разрабатывались в течение многих лет. При их комбинировании возникает задача создания трехмерного набора данных, содержащих

множество изображений одного и того же объекта и оцениваемых на разных длинах волн. Это приводит к значительным затратам вычислительных ресурсов и времени измерений, для оптимизации которых требуется адекватный инструментарий.

¹ Работа выполнена в рамках реализации ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014 – 2020 годы». Соглашение № 14.574.21.0113.

² Тверской государственный университет, г. Тверь, Россия; e-mail: Ivan.kaplunov@tversu.ru

³ НТЦ Акустооптики НИТУ МИСИС, Москва, Россия; e-mail: aocenter@misis.ru

⁴ Тверской государственный технический университет, г. Тверь, Россия.

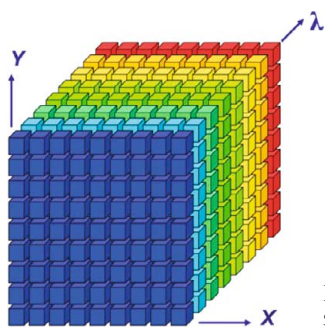


Рис. 1. Спектральная визуализация данных

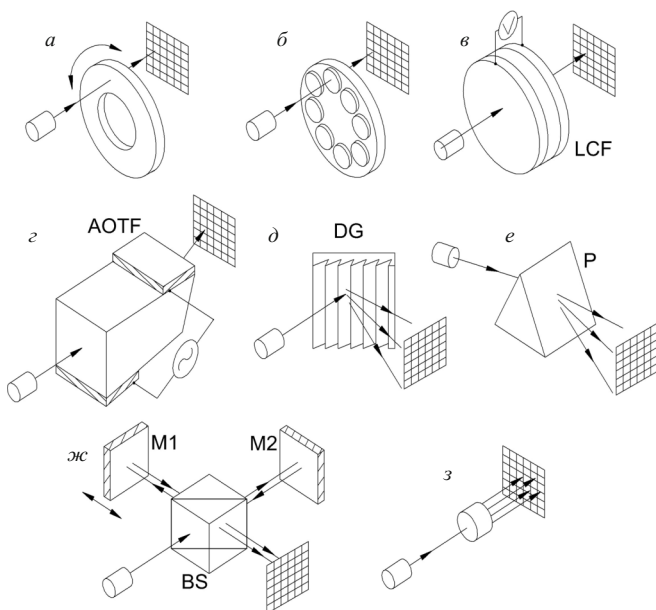


Рис. 2. Основные схемы мультиспектральных наблюдений: *a* — с градиентным круговым фильтром; *б* — с дискретным набором интерференционных фильтров; *в* — с жидкокристаллическим перестраиваемым фильтром; *г* — с акустооптическим перестраиваемым фильтром; *д* — с дифракционной решеткой; *е* — с призмой; *ж* — интерференционный метод с вычислением спектра каждого пиксела методом Фурье; *з* — компромиссный метод с уменьшенным полем зрения и уменьшенным числом спектральных интервалов (для повышения скорости измерений)

Качество изображений, оцениваемое по объему получаемой информации, характеризуется рядом параметров, к числу которых относятся: пространственное разрешение; порог чувствительности, зависящий, в свою очередь, от квантовой эффективности фотоприемника, измерительных шумов, качества оптики; динамический диапазон, который может значительно уменьшаться при низкой освещенности объекта; размеры поля зрения и др.

Параметры созданных к настоящему времени мультиспектральных микроскопов (видеоспектрометров) зависят от многих факторов: метода фильтрации, качества элементов системы, схемных решений, алгоритмов обработки данных и ряда других [1–5]. Мультиспектральные микроскопы общего назначения имеют следующие параметры (информация представлена для двойного акустооптического видеомоно-

хроматора, выпускаемого НТЦ уникального приборостроения РАН): спектральный диапазон — 0,44 – 0,76 мкм; спектральное разрешение — 2,5 нм на 633 нм; управляющая мощность — 0,25 Вт; входной зрачок — 8 × 8 мм; угловая апертура — 2,5°; число разрешимых элементов — не менее 256 × 256; тип крепления видеокамеры — CS-Mount, C-Mount.

Комбинирование методологий визуализации и оптической спектроскопии приводит к концепции спектрального изображения в виде трехмерного набора («куба») данных (рис. 1). Каждый пиксельный элемент «куба» характеризуется одним числом $I(x, y, \lambda)$, определяемым пространственными координатами x, y и длиной волны λ . Результат можно представлять в виде набора изображений $I(x, y)$ для заданных длин волн λ или в виде спектров $I(\lambda)$ для каждого пикселя. Для получения такого изображения с помощью двумерных матричных фотоприемников чаще всего применяют три алгоритма, описываемых ниже.

Спектральное сканирование. В простейшем случае спектральное изображение можно получить с помощью набора узкополосных интерференционных оптических фильтров с полосой пропускания порядка 1 – 10 нм (рис. 2, *a, б*). Такой подход является классическим и может быть оправдан в случае небольшого числа контролируемых длин волн.

Проблема повышения функциональных возможностей решается путем применения электронно-перестраиваемых фильтров, к числу которых относятся жидкокристаллические [6] и акустооптические [7–12] фильтры (рис. 2, *в, г*). Важным достоинством этих фильтров является возможность перестраивания их рабочей частоты электронно-цифровыми методами. При использовании двумерного матричного фотоприемника легко обеспечивается последовательная регистрация изображений всей поверхности изучаемого объекта с высоким разрешением на заданных длинах волн. Акустооптические перестраиваемые фильтры (АОПФ) обладают высокой температурно-временной стабильностью и превосходят жидкокристаллические (ЖКФ) по ряду параметров (табл. 1), в частности по быстродействию (десятки мкс у АОПФ и 50 – 500 мс у ЖКФ).

Для типичных акустооптических (АО) фильтров на парателлурите [8] температурный дрейф спектральной линии пропускания, который стабильно воспроизводим и компенсируется программными методами, составляет приблизительно 0,5 нм/К. Так, в течение многих лет АОФ успешно работают в составе бортовой научной аппаратуры космических миссий Mars Express и Venus Express. При лабораторных испытаниях АОФ космического назначения они подвергаются в рабочем режиме изменению температуры более чем на 100 К [13].

Спектральный диапазон в целом определяется свойствами материала как акустооптической ячейки (АОЯ), так и фотоприемника (табл. 2, 3). Интервал

спектральной перестройки составляет, как правило, одну октаву, что обусловлено параметрами сопротивления излучения пьезопреобразователя. Диапазон типичных рабочих частот приборов определяется акустическими свойствами акустооптического материала, геометрией акустооптического взаимодействия относительно кристаллографических осей и технологическими ограничениями. Верхняя граница диапазона рабочих частот для приборов на основе парателлуриата и кварца обычно не превышает 220 – 250 МГц.

Для мультиспектральных микроскопов особое значение имеют широкоапертурные АОПФ на кристаллах парателлуриата (α -TeO₂) [7, 8]. Благодаря высокому акустооптическому качеству TeO₂ эффективность неколлинеарного фильтра превышает 90 % при малой длине участка взаимодействия света и ультразвука ~10 мм и управляющей мощности менее 1 Вт. По этому параметру неколлинеарный фильтр существенно превосходит коллинеарные АОПФ на кварце (см. табл. 3), наведенные температурные градиенты в которых ограничивают их применимость. Большой угол пространственного разделения (~6°) позволяет работать без выходного поляризатора.

Уникальная особенность АОПФ — возможность осуществлять в реальном времени не только спектральный, но и спектрально-поляризационный анализ [15]. Данная функциональная возможность отсутствует в других спектральных методах.

Необходимо также отметить конструкцию адаптивного неколлинеарного фильтра, в котором акустический пучок возбуждается несколькими независимо управляемыми пьезоэлектрическими преобразователями. На каждый из преобразователей подводится управляющий сигнал определенной мощности и с фазовым сдвигом по отношению к соседним элементам. Подбор уровня мощности питающего напряжения и значений фазового сдвига позволяет осуществить тонкую регулировку формы кривой пропускания фильтра. Кроме того, при этом удается заметно снизить интенсивность дифрагированного света вне полосы пропускания АОПФ. Благодаря высокому быстродействию АОПФ возможна подача на преобразователь сложных электрических сигналов, содержащих набор частот, что создает новые уникальные возможности управления параметрами кривой пропускания. Отметим также конструкцию адаптивного неколлинеарного

Таблица 1. Некоторые характеристики оптических фильтров

Тип	Пропускание, %	Спектральное разрешение, нм	Спектральный диапазон, нм
Акустооптический перестраиваемый фильтр	~90 (в рабочей поляризации)	~0,5 – 10	Широкий
Жидкокристаллический перестраиваемый фильтр	~55	5 – 50	300
Интерференционные фильтры	До 80	~5	Широкий
Дифракционная решетка	—	Высокое	Ограничен
Градиентный круговой фильтр	~50	~12	300
Фурье-фильтр	~45	Высокое	Широкий

Таблица 2. Параметры акустооптических фильтров [12]

Материал АОЯ	Апертура, °	Спектральный диапазон, мкм	Спектральное разрешение, нм (λ , мкм)	Матричный фотоприемник	Температура, К
KDP, MgF ₂	1,2	0,22 – 0,48	1,4 (0,3)	ПЗС (Si)	300
TeO ₂	4,2	0,4 – 0,9	10 (0,6)	ПЗС (Si)	300
TeO ₂	3	2,0 – 4,5	77 (3)	InSb	77
Tl ₃ AsSe ₃	7,75	7,8 – 10,5	80 (0,3)	HgCdTe	77

Таблица 3. Типичные параметры неколлинеарных и коллинеарных АОПФ

Параметр	Неколлинеарный АОПФ (TeO ₂)	Коллинеарный АОПФ (α -SiO ₂)
Спектральный диапазон прозрачности материала, мкм	0,38 – 5	0,2 – 1,5
Интервал перестройки	1 октава	1 октава
Оптическая апертура, см ²	0,2 – 2,5	0,1 – 0,3
Угловая апертура, °	5 – 15	2 – 5
Угловое отклонение, °	3 – 9	0
Дифракционная эффективность (входное излучение поляризовано), %	90	10 – 80
Время установления, мкс	4 – 20	14 – 35
Коэффициент контрастности	>1000	>1000
Потребляемая ВЧ мощность, Вт	0,2 – 3	5 – 30
Диапазон рабочих частот приборов, МГц	20 – 250	50 – 220
Материал преобразователя	LiNbO ₃	LiNbO ₃

фильтра, в котором акустический пучок возбуждается решеткой независимо от управляемых пьезоэлектрических преобразователей [10]. В коллинарных фильтрах эффективным способом адаптивного управления формой спектрального окна пропускания является амплитудно-фазовая модуляция ультразвуковых волн [17].

Пространственное сканирование. Метод основан на использовании дифракционной решетки или призмы (рис. 2, *д, е*), широко применяемых в оптико-механических спектрофотометрах. Одно линейное сканирование обеспечивает получение зависимости $I(x, \lambda)$ ($y = \text{const}$) и для охвата всей поверхности должно быть повторено n раз для всех заданных y . Этот метод может быть полезным при исследованиях с помощью конфокальных сканирующих микроскопов [18]. Заметим, что в данном случае число фотоприемных элементов значительно меньше, чем у двумерных ПЗС-матриц, поэтому для получения сопоставимых результатов требуется увеличение времени измерений.

Новое направление в методе пространственного сканирования — применение АО-сканеров. Так, в патенте [19] предложена система конфокального микроскопа с двумерным многопозиционным акустооптическим дефлектором для лазерного воздействия на микрообъекты. Блок сканирования отличается компактностью и высоким быстродействием.

Фурье-спектроскопия. В методе Фурье спектральный анализ осуществляется без применения фильтров путем анализа интерферограмм. Основной элемент системы — интерферометр Майкельсона (или одна из его разновидностей), который настраивается на получение в плоскости выходной диафрагмы интерференционной картины (рис. 2, *ж*), характеризующей исследуемый объект, освещаемый источником сплошного спектра. Одно из зеркал (M_1) движется поступательно, приводя к модуляции исследуемого излучения с частотой, зависящей от скорости движения M_1 и длины волны излучения. Вычисление искомого спектра осуществляется через Фурье-преобразование интерферограммы [20, 21].

Для повышения скорости измерений также используется компромиссный метод с уменьшенным полем зрения и уменьшенным числом спектральных интервалов (рис. 2, *з*).

Большой и быстро нарастающий поток публикаций по мультиспектральной микроскопии, появившихся в печати за последние 10–15 лет, свидетельствует о большой научной и практической значимости исследований в этой области. Большинство работ в этом направлении связано с медицинскими и биологическими исследованиями. К их числу относятся изучение раковых заболеваний [22–24], анализ клеточной структуры растений [25], исследование живых клеток [26], исследования в области химического анализа [27], окружающей среды [28] и др.

Наметились тенденции слияния мультиспектральной микроскопии с флуоресцентными и люминесцентными методами анализа, конфокальной микроскопией, микроскопией ближнего поля, масс-спектрометрией и др. [29]. Проводятся работы по метрологическому обеспечению (калибровке) мультиспектральной микроскопии [30]. Появились предложения по использованию для этих целей новейших источников излучения — волоконных лазерных источников белого света, обеспечивающих пользователю доступ к полному спектру суперконтинуума от 400 до более чем 1750 нм [31, 32].

Один из новых методов анализа в «науках о жизни» — многофотонная флуоресцентная микроскопия, в которой источником подсветки служат фемтосекундные лазеры, а наблюдаемый отклик представляет собой результат нелинейного отклика среды [33]. При этом как падающее, так и отраженное от объекта исследования излучение является широкополосным, следовательно, к нему также применимы методы гиперспектрального анализа.

Спектральная и спектрально-поляризационная обработка оптических изображений, т.е. обнаружение, распознавание и идентификация объектов в реальном масштабе времени, — часть общей проблемы оптической обработки информации. Спектральная обработка оптических изображений имеет большое поле практических применений как в военной, так и в гражданской областях, как в научно-инженерных направлениях, в частности в астрофизике, так и при медико-биологических исследованиях, клинической диагностике и в криминалистике.

Современное решение задачи обнаружения и распознавания объектов заключается в применении фильтров, перестраиваемых электронным образом (электронно-перестраиваемые фильтры — жидкокристаллические и акустооптические). Прогресс в акустооптике в последние годы демонстрирует, что созданные на основе акустооптического эффекта перестраиваемые электронным образом по длинам волн АОФ могут оказаться почти идеальным инструментом для спектральной и поляризационной обработки оптических изображений в реальном масштабе времени. Вследствие физического принципа действия АОФ позволяют проводить одновременно со спектральным поляризационный анализ изображений, адаптивно менять спектральную функцию пропускания электронным образом, осуществлять мультиспектральный и корреляционный анализы, т.е. осуществлять функции, принципиально недоступные традиционным оптическим устройствам.

ЛИТЕРАТУРА

1. **Garini Y., Young I. T., McNamara G.** Spectral imaging: Principles and applications / Cytometry. Part A. 2006. Vol. 69A. N 8. P. 735–747.
2. **Levenson R. M., Hoyt C.** Spectral imaging and microscopy / Am. Lab. 2000. Vol. 32. P. 26–33.

3. **Levenson R., Cronin P. J., Pankratov K. P.** Spectral imaging for brightfield microscopy / *Proc. SPIE*. 2003. Vol. 4959. P. 27 – 33.
4. **Levenson R. M., Wachman E. S., Niu W., Farkas D. L.** Spectral imaging in biomedicine: A selective overview / *Proc. SPIE*. 1998. Vol. 3438. P. 300 – 312.
5. **Levenson R. M., Mansfield J. R.** Multispectral imaging in biology and medicine: Slices of life / *Cytometry. Part A*. 2006. Vol. 69A. N 8. P. 748 – 758.
6. **Hoyt C.** Liquid crystal tunable filters clear the way for imaging multiprobe fluorescence / *Biophoton Int*. 1996. Vol. 3. P. 49 – 51.
7. **Молчанов В. Я., Чижиков С. И., Аникин С. П., Солодовников Н. П., Лютый В. М.** Акустооптические системы спектрального и поляризационного анализа изображений / *Радиотехника*. 2005. С. 57 – 64.
8. **Молчанов В. Я., Лютый В. М., Есипов В. Ф., Аникин С. П., Макаров О. Ю., Солодовников Н. П.** Акустооптический спектрофотометр изображений для астрофизических наблюдений / *Письма в астрономический журнал*. 2002. Т. 28. С. 788 – 795.
9. **Балакший В. И., Парыгин В. Н., Чирков Л. Е.** Физические основы акустооптики. — М.: Радио и связь, 1985.
10. **Мазур М. М., Пожар В. Э., Пустовойт В. И., Шорин В. Н.** Двойные акустооптические монохроматоры / *Успехи современной радиоэлектроники*. 2006. № 10. С. 19 – 30.
11. **Kutuza I. B., Pozhar V. E., Pustovoit V. I.** AOTF-based imaging spectrometers for research of small-size biological objects / *Proc. SPIE*. 2006. Vol. 5143. P. 165 – 169.
12. **Gupta N.** Hyperspectral imager development at Army Research Laboratory / *Proc. SPIE*. 2008. Vol. 6940. P. 69401P-1-H, 69401P-7.
13. **Leroi V., Bibring J. P., Berthe M.** Micromega/IR: Design and status of a near-infrared spectral microscope for in situ analysis of Mars samples / *Planetary and Space Science*. 2009. Vol. 57. P. 1068.
14. **Molchanov V. Ya., Makarov O. Yu.** Phenomenological method for broadband electrical matching of acousto-optical device piezotransducers / *Opt. Eng.* 1999. Vol. 38. P. 1127 – 1135.
15. **Анчуткин В. С., Бельский А. Б., Волошинов В. Б., Юшков К. Б.** Акустооптический метод спектрально-поляризационного анализа изображений / *Оптический журнал*. 2009. Т. 76. С. 29 – 35.
16. **Dickinson M. E., Bearman G., Tille S., Lansford R., Fraser S. E.** Multi-spectral imaging and linear unmixing add a whole new dimension to laser scanning fluorescence microscopy / *Biotechniques*. 2001. Vol. 31. P. 1272 – 1278.
17. **Molchanov V. Ya., Yushkov K. B.** Advanced spectral processing of broadband light using acousto-optic devices with arbitrary transmission functions / *Opt. Express*. 2014. Vol. 22. N 13. P. 15668.
18. **Malik Z.** Fourier transform multipixel spectroscopy for quantitative cytology / *J. Microsc.* 1996. Vol. 182. P. 133 – 140.
19. Патент 2199729 Российская Федерация. Лазерное устройство для исследования поля микрообъектов с лучевым воздействием / *Магдич Л. Н., Нарвер В. Н., Солодовников Н. П., Розенштейн А. З.*; заявл. 04.07.2002; опубл. 27.02.2003.
20. **Garini Y., Macville M., du Manoir S., Buckwald R. A., Lavi M., Katzir N., Wine D., Cabib D., Ried T.** Spectral karyotyping / *Bioimaging*. 1996. Vol. 4. P. 65 – 72.
21. **Huth U., Wiescholke A., Garini Y., Schubert R., Peschka-Süss R.** Fourier transformed spectral bio-imaging for studying the intracellular fat of liposomes / *Cytometry. Part A*. 2004. Vol. 57A. P. 10 – 21.
22. **Barber P. R., Vojnovic B., Atkin G., Daley F. M., Everett S. A., Wilson G. D., Gilbey J. D.** Applications of cost-effective spectral imaging microscopy in cancer research / *J. Phys. D: Appl. Phys.* 2003. Vol. 36. P. 1729 – 1738.
23. **Wack S., Hajri A., Heisel F., Sowinska M., Berger C., Whelan M., Marescaux J., Arahamian M.** Feasibility, sensitivity, and reliability of laser-induced fluorescent protein-expressing tumors in vivo / *Molecular Therapy*. 2003. Vol. 7. N 6. P. 765 – 773.
24. **Leavesley S. J., Annamdevula N., Boni J., Stocker S., Grant K., Troyanovsky B., Rich T. C., Alvarez D. P.** Hyperspectral imaging microscopy for identification and quantitative analysis of fluorescently-labeled cells in highly autofluorescent tissue / *J. Biophotonics*. 2012. Vol. 5. P. 67 – 84.
25. **Berg R. H.** Evaluation of spectral imaging for plant cell analysis / *J. Microsc.* 2004. Vol. 214. P. 174 – 181.
26. **Zimmermann T., Rietdorf J., Pepperkok R.** Spectral imaging and its applications in live cell microscopy / *FEBS Lett*. 2003. Vol. 546. P. 87 – 92.
27. **Bei L., Dennis G. I., Miller H. M., Spaine T. H., Carnahan J. W.** Acousto-optic tunable filters: fundamentals and applications as applied to chemical analysis techniques / *Progress in Quantum Electronics*. 2004. Vol. 28. P. 67 – 87.
28. **Vila J., Calpe J., Pla F., Gomez L., Connell J., Marchant J., Calleja J., Mulqueen M., Munoz J., Klaren A.** Smart-Spectra: Applying multispectral imaging to industrial environments / *Real-Time Imaging*. 2005. Vol. 11. P. 85 – 98.
29. **Wu Q., Merchant F., Castleman K. R.** *Microscope Image Processing*. — Elsevier, 2008. — 550 p.
30. **Lerner J. M., Zucker R. M.** Calibration and validation of confocal spectral imaging systems / *Cytometry*. 2004. Vol. 62A. P. 8 – 34.
31. **Schlachter S., Elder A., Frank J. H., Grudnin A., Kaminiski C. F.** Spectrally resolved confocal microscopy with a supercontinuum laser / *Microscopy and Analysis*. 2008. N 113. P. 11 – 13.
32. **Желтиков А. М.** Да будет белый свет: генерация суперконтинуума сверхкороткими лазерными импульсами / *УФН*. 2006. Т. 176. № 6. С. 623 – 649.
33. **Muller M., Squier J.** Nonlinear microscopy with ultrashort pulse lasers / *In Ultrafast Lasers. Technology and Applications* (M. E. Fermann, A. Galvanauskas, and G. Sucha eds.). — New York: Marcel Dekker, 2003. P. 661 – 698.

REFERENCES

1. **Garini Y., Young I. T., McNamara G.** Spectral imaging: Principles and applications / *Cytometry. Part A*. 2006. Vol. 69A. N 8. P. 735 – 747.
2. **Levenson R. M., Hoyt C.** Spectral imaging and microscopy / *Am. Lab*. 2000. Vol. 32. P. 26 – 33.
3. **Levenson R., Cronin P. J., Pankratov K. P.** Spectral imaging for brightfield microscopy / *Proc. SPIE*. 2003. Vol. 4959. P. 27 – 33.
4. **Levenson R. M., Wachman E. S., Niu W., Farkas D. L.** Spectral imaging in biomedicine: A selective overview / *Proc. SPIE*. 1998. Vol. 3438. P. 300 – 312.
5. **Levenson R. M., Mansfield J. R.** Multispectral imaging in biology and medicine: Slices of life / *Cytometry. Part A*. 2006. Vol. 69A. N 8. P. 748 – 758.
6. **Hoyt C.** Liquid crystal tunable filters clear the way for imaging multiprobe fluorescence / *Biophoton Int*. 1996. Vol. 3. P. 49 – 51.
7. **Molchanov V. Ya., Chizhikov S. I., Anikin S. P., Solodovnikov N. P., Lyutyi V. M.** Akustoopticheskie sistemy spektral'nogo i polarizatsionnogo analiza izobrazhenii [Acoustooptic systems of spectral and polarization image analysis] / *Radio-tekhnika*. 2005. P. 57 – 64 [in Russian].
8. **Molchanov V. Ya., Lyutyi V. M., Esipov V. F., Anikin S. P., Makarov O. Yu., Solodovnikov N. P.** Akustoopticheskiy spektrofotometr izobrazhenii dlya astrofizicheskikh nablyudenii [Acoustooptic spectrophotometer for astrophysical image observations] / *Pis'ma Astronom. Zh.* 2002. Vol. 28. P. 788 – 795 [in Russian].

9. **Balakshyi V. I., Parygin V. N., Chirkov L. E.** Fizicheskie osnovy akustooptiki [Physical foundations of acoustooptics]. — Moscow: Radio i svyaz, 1985 [in Russian].
10. **Mazur M. M., Pozhar V. E., Pustovoit V. I., Shorin V. N.** Dvoynye akustoopticheskie monokhromatory [Two-fold acoustooptic monochromators] / *Usp. Sovr. Radioélekr.* 2006. N 10. P. 19 – 30 [in Russian].
11. **Kutuza I. B., Pozhar V. E., Pustovoit V. I.** AOTF-based imaging spectrometers for research of small-size biological objects / *Proc. SPIE.* 2006. Vol. 5143. P. 165 – 169.
12. **Gupta N.** Hyperspectral imager development at Army Research Laboratory / *Proc. SPIE.* 2008. Vol. 6940. P. 69401P-1H, 69401P-7.
13. **Leroi V., Bibring J. P., Berthe M.** Micromega/IR: Design and status of a near-infrared spectral microscope for in situ analysis of Mars samples / *Planetary and Space Science.* 2009. Vol. 57. P. 1068.
14. **Molchanov V. Ya., Makarov O. Yu.** Phenomenological method for broadband electrical matching of acousto-optical device piezotransducers / *Opt. Eng.* 1999. Vol. 38. P. 1127 – 1135.
15. **Anchutkin V. S., Belsky A. B., Voloshinov V. B., Yushkov K. B.** Akustoopticheskiy metod spektral'no-polyarizatsionnogo analiza izobrazhenii [Acoustooptical method of spectral-polarization image analysis] / *Opt. Zh.* 2009. Vol. 76. P. 29 – 35 [in Russian].
16. **Dickinson M. E., Bearman G., Tille S., Lansford R., Fraser S. E.** Multi-spectral imaging and linear unmixing add a whole new dimension to laser scanning fluorescence microscopy / *Biotechniques.* 2001. Vol. 31. P. 1272 – 1278.
17. **Molchanov V. Ya., Yushkov K. B.** Advanced spectral processing of broadband light using acousto-optic devices with arbitrary transmission functions / *Opt. Express.* 2014. Vol. 22. N 13. P. 15668.
18. **Malik Z.** Fourier transform multipixel spectroscopy for quantitative cytology / *J. Microsc.* 1996. Vol. 182. P. 133 – 140.
19. RF Pat. 2199729, Magdich L. N., Narver V. N., Solodovnikov N. P., Rozenshtein A. Z. Lazernoe ustroystvo dlya issledovaniya polya mikroob'ektov s lucheverym vozdeistviem [Laser device for examination of microobject field]; applied 04.07.2002; published 27.02.2003 [in Russian].
20. **Garini Y., Macville M., du Manoir S., Buckwald R. A., Lavi M., Katzir N., Wine D., Cabib D., Ried T.** Spectral karyotyping / *Bioimaging.* 1996. Vol. 4. P. 65 – 72.
21. **Huth U., Wieschollek A., Garini Y., Schubert R., Peschka-Süss R.** Fourier transformed spectral bio-imaging for studying the intracellular fat of liposomes / *Cytometry. Part A.* 2004. Vol. 57A. P. 10 – 21.
22. **Barber P. R., Vojnovic B., Atkin G., Daley F. M., Everett S. A., Wilson G. D., Gilbey J. D.** Applications of cost-effective spectral imaging microscopy in cancer research / *J. Phys. D: Appl. Phys.* 2003. Vol. 36. P. 1729 – 1738.
23. **Wack S., Hajri A., Heisel F., Sowinska M., Berger C., Whelan M., Marescaux J., Aprahamian M.** Feasibility, sensitivity, and reliability of laser-induced fluorescent protein-expressing tumors in vivo / *Molecular Therapy.* 2003. Vol. 7. N 6. P. 765 – 773.
24. **Leavesley S. J., Annamdevula N., Boni J., Stocker S., Grant K., Troyanovsky B., Rich T. C., Alvarez D. P.** Hyperspectral imaging microscopy for identification and quantitative analysis of fluorescently-labeled cells in highly autofluorescent tissue / *J. Biophotonics.* 2012. Vol. 5. P. 67 – 84.
25. **Berg R. H.** Evaluation of spectral imaging for plant cell analysis / *J. Microsc.* 2004. Vol. 214. P. 174 – 181.
26. **Zimmermann T., Rietdorf J., Pepperkok R.** Spectral imaging and its applications in live cell microscopy / *FEBS Lett.* 2003. Vol. 546. P. 87 – 92.
27. **Bei L., Dennis G. I., Miller H. M., Spaine T. H., Carnahan J. W.** Acousto-optic tunable filters: fundamentals and applications as applied to chemical analysis techniques / *Progress in Quantum Electronics.* 2004. Vol. 28. P. 67 – 87.
28. **Vila J., Calpe J., Pla F., Gomez L., Connell J., Marchant J., Calleja J., Mulqueen M., Munoz J., Klaren A.** Smart-Spectra: Applying multispectral imaging to industrial environments / *Real-Time Imaging.* 2005. Vol. 11. P. 85 – 98.
29. **Wu Q., Merchant F., Castleman K. R.** *Microscope Image Processing.* — Elsevier, 2008. — 550 p.
30. **Lerner J. M., Zucker R. M.** Calibration and validation of confocal spectral imaging systems / *Cytometry.* 2004. Vol. 62A. P. 8 – 34.
31. **Schlachter S., Elder A., Frank J. H., Grudnin A., Kaminski C. F.** Spectrally resolved confocal microscopy with a supercontinuum laser / *Microscopy and Analysis.* 2008. N 113. P. 11 – 13.
32. **Zheltikov A. M.** Da budet belyi svet: generatsiya superkontinuum sverkhkorotkimi lazernymi impul'sami [Let it be white: generation of supercontinuum by ultrashort laser impulses] / *Usp. Fiz. Nauk.* 2006. Vol. 176. N 6. P. 623 – 649 [in Russian].
33. **Muller M., Squier J.** Nonlinear microscopy with ultrashort pulse lasers / *Ultrafast Lasers. Technology and Applications* (M. E. Fermann, A. Galvanauskas, and G. Sucha eds.). — New York: Marcel Dekker, 2003. P. 661 – 698.