

RK-007

教育用途向けポータブルデジタルホログラフィック顕微鏡の開発 Improvement of the portable digital holographic microscopy for education

渡邊 脩介* 白木 厚司* 角江 崇† 下馬場 朋禄† 伊藤 智義†
Syusuke Watanabe Atsushi Shiraki Takashi Kakue Tomoyoshi Shimobaba Tomoyoshi Ito

1. まえがき

工学や理学の分野において、実験は座学で学んだ内容の定着を図ることができるため、非常に重要な科目として位置づけられている。実験では、その内容に応じて様々な実験機器を必要とするが、小学校の理科の実験でも使用される代表的な実験機器の一つに光学顕微鏡が挙げられる。光学顕微鏡は機器の正しい使用法の修得や微小な生物の観察など、教材として多くの長所を備えている。しかしコストや設置場所の観点から、1人につき1台の顕微鏡を用意することは困難という問題があり、さらに、一度に1人しか観察できないため実験に参加できない者がいるというのが現状である。

このような光学顕微鏡とは異なり、対物レンズで拡大した対象を CMOS(Complementary Metal Oxide Semiconductor) センサでとらえ、接続された USB(Universal Serial Bus) ケーブルを経由して PC(Personal Computer) 上のディスプレイに表示するという、デジタル顕微鏡がある [1]。デジタル顕微鏡では、観察対象を PC のディスプレイ上に表示させることができるため、複数の観察者が同時に同じ対象を観察することができる。このデジタル顕微鏡の中で、観察対象の撮影にホログラフィ技術 [2] を用いるものを特にデジタルホログラフィック顕微鏡 (DHM : Digital Holographic Microscopy) と呼ぶ [3]。

様々な目的から顕微鏡技術には高分解能、広視野領域、3 次元的観察が求められるが、現在の光学顕微鏡ではこれらの高レベルでの実現は難しいとされている。こうした課題の解決に向けて期待されているのが DHM である。DHM では、CMOS センサなどの撮像機器を用いて撮影したホログラムを基に計算機上で再生演算を行うことにより、光学顕微鏡とは性質の異なった観察が行える。しかし DHM は、ホログラムを撮影するカメラやレーザー、ビームスプリッターなど、多くの光学部品から構成されるため高価である。さらに、光学系も撮影距離が 30cm 程度に設定されているため小型とは言えない。これらの問題に対し、ホログラムを撮影するカメラに汎用デジタルカメラを用い、さらに使用する光学部品を削減することでコストの削減に成功したという報告がなされている [3]。

我々の先行研究では、ホログラムを撮影する素子に Web カメラの CMOS センサを使用し、参照光源には安価な点光源 LED(Light Emitting Diode) を、光学系の構成に in-line 型ホログラムを撮影する光学系 [4] を採用することでコストを削減するとともに、ポータブルな DHM システムの構築を行ってきた [5]。本報告では、先行研究の低コスト化および小型化を前提とし、そのうえで、これまでとは異なる視点から観察できる構成を提案、開発したので報告する。

*木更津工業高等専門学校

†千葉大学

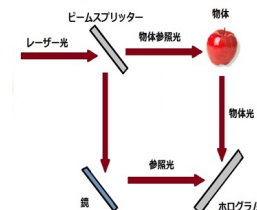


図 1: ホログラムへの記録方法。

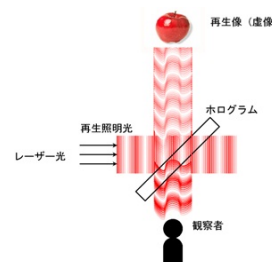


図 2: ホログラムからの再生方法。

2. ホログラフィの原理

2.1 ホログラフィ

干渉性の高い光を対象物に照射したとき、反射あるいは透過した光（物体光）と同一の光源からの光（参照光）を干渉させることで干渉縞が生じる。この干渉縞を撮影することで、位相情報を含めた光情報を記録することができる。この干渉縞を記録したものをホログラムと呼び、記録したホログラムに参照光を照射することで記録した物体の 3 次元的な立体像が再生できる。ホログラフィとは、このような光の干渉・回折という特性を利用し、物体の発する光の波面を再現することで、あたかもその場所に物体があるように見せる 3 次元表示技術である。

2.2 ホログラフィの記録方法

光を透過しない反射型物体におけるホログラフィの記録方法を 1 に示す。まず、同一の光源から出た光を二つの光路に分ける。このとき、光源にはレーザーなどの干渉性の強いものを用いる。二つに分けた光の一方を記録したい物体に照射し、もう一方を光源の波面情報を含む光（参照光）とする。前者は物体表面で反射・散乱し、物体の情報を含む光（物体光）となる。参照光と物体光

が同時に記録材料に到達するように設定し、これらが干渉して生じた干渉縞を記録する。この干渉縞を記録したものがホログラムである。

2.3 ホログラフィの再生方法

ホログラフィの再生方法を図 2 に示す。前述した方法で撮影したホログラムに、撮影したときと全く同様の参照光を照射したとする。すると、あたかも物体が存在するような物体光と同じ光がホログラムから再生される。これは、細かい周期構造を持つ干渉縞に光を照射すると光の方向が曲げられるという回折の現象によるものである。回折の方向は干渉縞の間隔と向き、および波長によって決まる。

ここで重要なことは、ホログラムの各場所で回折される光の方向は、物体からやってきた光がホログラムを通過するときの方向と全く同じであるということである。このことは、ホログラムからの再生光は元の物体からやってくる光と全く同じものであり、実際に物体がなくても観察者の眼には物体がある場合と何ら変わりがなく見えるということを意味している。したがって、観察者にはそこに物体があるかのように、本物同様の 3 次元像が見えることになる。

3. 光伝播近似手法

ホログラムの再生を計算機上でシミュレートするにあたり、光伝播の式を計算機に扱いやすい形に近似する必要がある。具体的には、FFT(Fast Fourier Transform) アルゴリズムの適用が可能な形式に変換されなくてはならない。近似手法には角スペクトル法、フレネル回折積分、フラウンホーファ回折などの手法が知られており、これらは伝播距離など、光を扱うときの条件によって使い分けられる。

DHM に用いる場合には、フレネル回折積分と角スペクトル法が主とされている。本研究では光学系の規模を小さくするという目的から、ホログラム面と観察面の距離を短くすることができる角スペクトル法を採用した。角スペクトル法における光伝播の近似式を以下に示す。

$$\begin{aligned} A(f_x, f_y) &= \mathcal{F}[a(\xi, \eta)], \\ &= \int \int_{-\infty}^{\infty} a(\xi, \eta) \exp\{-2\pi i(\xi f_x + \eta f_y)\} d\xi d\eta. \quad (1) \end{aligned}$$

$$U(f_x, f_y) = A(f_x, f_y) \exp(-2\pi i f_z d). \quad (2)$$

$$\begin{aligned} u(x, y) &= \mathcal{F}^{-1}[U(f_x, f_y)], \\ &= \int \int_{-\infty}^{\infty} U(f_x, f_y) \exp\{2\pi i(x f_x + y f_y)\} df_x df_y. \quad (3) \end{aligned}$$

ここで (ξ, η) と (x, y) はホログラム面と観察面の座標を表している。また d はホログラム面と観察面の距離を、そして f_x, f_y, f_z は x, y, z は軸方向の空間周波数成分を表している。角スペクトル法では、計算機で演算を行うときには FFT によって離散フーリエ変換を大規模かつ高速に行うことができる。

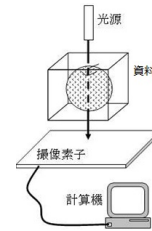


図 3: DHM の基本構成。

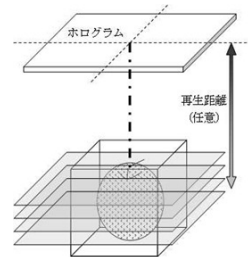


図 4: DHM のボリューム再生。

4. DHM システム

4.1 DHM システムの原理

DHM の基本的な構成を図 3 に示す。撮像機器によって取得したホログラムは USB(Universal Serial Bus) などのインターフェースを通じてコンピュータに転送される。コンピュータ内部では光伝播計算を用いてホログラムに照射された参照光の回折計算を行い、再生結果を液晶ディスプレイなどの表示デバイスに出力する。

DHM は、機器の構成によって反射型と透過型に分類でき、前者は光を透過しない観察対象に、後者は光を透過する観察対象に用いる。透過型の利点として、撮影対象に光を透過させているため、再生演算のときに再生距離を調整することで、対象のどの部分でも再生が可能という点が挙げられる。こうした立体的な再生をボリューム再生という。図 4 に透過型 DHM のボリューム再生の模式図を示す。撮影面に平行な連続した薄い断面について、どの面においても再生が可能である。

透過型 DHM はさらに 2 種類に分けられる。物体光と参照光の光路が分かれている通常構成のものと、物体光と参照光の光路が分かれていない構成のもの二つである。後者は特にインライン型と呼ばれている。

従来の構成における模式図を図 5 に、インライン型の代表的な構成の模式図を図 6 に示す。図 5 から分かるように、従来の DHM システムの構成では、レーザーやレンズなど、多数の光学部品を使っているのに対し、インライン型の DHM システムでは光学部品を少なくすることで従来のものより安価に構成することができる。

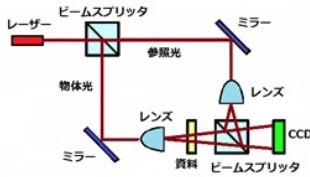


図 5: 従来の DHM の構成。

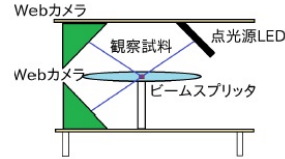


図 7: 開発したシステムの模式図。

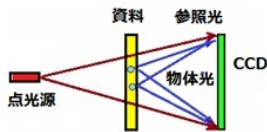


図 6: インライン型 DHM の構成。



図 8: 開発したシステムの外観図。

4.2 開発した DHM システム

従来の DHM システムの欠点として、コストや規模が大きくなることが挙げられる。そこで本研究では光学系の構成を簡略化し、可能な限りコストと規模を抑えることとする。また、2 台の Web カメラを用いることで反射型 DHM と透過型 DHM の両方の特性を備えた DHM を開発した。

このシステムの模式図を図 7 に、開発した DHM システムの外観図を図 8 に示す。まず、光源から発した光を参照光としてビームスプリッタ上に設置されている観察試料に照射し、試料から拡散された物体光と試料をそのまま透過した参照光を下部の CMOS 素子上で干渉させホログラムを撮影する。また、光を透過する物体を観察対象に用いているが、光は全て透過されるわけではないため、反射光を上部の CMOS 素子上で干渉させることで別のホログラムを撮影する。その後、コンピュータ上で計算し、リアルタイムでの表示・再生を行う。

ホログラムを撮影するときには、レーザーなどの可干渉性の高い光源を使用するのが一般的であるが、本研究では目的に基づき比較的安価な高輝度 LED (Light Emitting Diode) を使用している。DHM では可干渉性を高めるため点光源を使用するのが良いとされており、本研究では、LED に $5\mu\text{m}$ のピンホールを密着させたものを点光源として用いた。CMOS 素子には、Logicool 社から販売されている“HD Pro Webcam C910”と“HD Pro Webcam C920”を用いた。なお、同じ型番の Web カメラを 1 台のコンピュータで制御することは困難だったため、性能が近い別々の Web カメラを使用した。Web カメラには像を CMOS 素子上に結像させるレンズがついているが、DHM では不要なため、分解して取り出し素子をむき出した状態で使用する。これらの素子は Full HD で最大フレームレートは 30fps (frame per second) となっている。

開発した DHM の制御のため、Microsoft Visual C++

2010 Express を用いて専用のコンソールアプリケーションを作成した。Web カメラの制御や画像の取り扱いには Intel 社のオープンソースライブラリ OpenCV を使用している。OpenCV は画像処理に用いるための機能を備えており、主に画像・映像解析を行い、顔認識や動作検知など様々な用途で活用されている。また、Web カメラの制御を行うための処理が宣言されており、OpenCV の導入によって市販の Web カメラを用いた画像処理が容易に行えるという点でも注目を集めている。本研究では主に、Web カメラの画像キャプチャ実行命令やキャプチャした画像の格納、画像の表示・保存といった動作に OpenCV で定義された関数を使用した。

前述したように、光の伝播を計算機上で行うためには近似式の記述が必要になる。そのため、光学計算用ライブラリである CWO ライブラリを使用した [6]。CWO ライブラリは光学計算を行うときに用いる命令を多数備えており、本研究で使用した各スペクトル法の演算についても容易に行うことができる。CWO ライブラリはオープンソースライブラリであり、無料でダウンロードすることが可能である [7]。

5. 性能評価

まず、従来の構成における DHM と提案した構成の DHM のコストの比較を表 1 に示す。表から見てわかるように従来の構成に比べ、CCD (Charge Coupled Device) カメラを Web カメラの CMOS 素子に代用すること、レーザーを LED にすることなど、高額な光学系部品を使用しないことで大幅なコストの削減が実現された。実質、約 $1/50$ のコストで実現している。また、本研究における DHM の規模は、 $70\text{mm} \times 90\text{mm} \times 100\text{mm}$ となっており、従来の構成における規模、 $60\text{cm} \times 45\text{cm} \times 30\text{cm}$ に比べて大幅に縮小することに成功した。本研究で開発した DHM は片手で手軽に運べるといった利点もある。

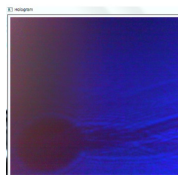


図 9: 反射光で撮影したホログラム.

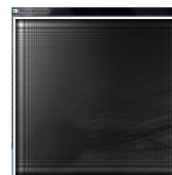


図 11: 反射光で撮影したホログラムからの再生像.

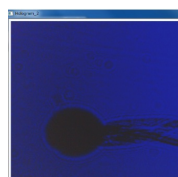


図 10: 透過光で撮影したホログラム.

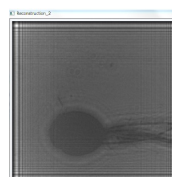


図 12: 透過光で撮影したホログラムからの再生像.

表 1: 従来構成と提案構成によるコストの比較.

部品名	従来手法	提案手法
CCD カメラ	100 万円	-
レーザー	20 万円	-
ビームスプリッタ	5,000 円 × 2 枚	5,000 円
レンズ	5,000 円 × 2 枚	-
ミラー	5,000 円 × 2 枚	-
Web カメラ	-	10,00 円 × 2 台
LED	-	500 円
合計	123 万円	25,500 円

続いて、開発した DHM システムにおいて反射光で撮影したホログラムを図 9 に、透過光で撮影したホログラムを図 10 に、それぞれの再生像を図 11、図 12 に示す。本研究において使用した観察試料は「蚊の頭部」であるが、これらの図からホログラムおよび再生像が得られていることがわかる。さらに、反射光と透過光で撮影したものが同一のものでないことから、2 台のカメラを使用することで 1 回の撮影における観察点の増加に成功した。

6. まとめと今後の展望

本研究では、Web カメラを 2 台使用することで反射型 DHM と透過型 DHM の両方の特徴を備えた DHM システムを作成した。また、従来の DHM システムの構成に比べ、約 1/50 のコストで実現し、大幅にコストを削減することに成功した。従来の DHM に比べ、導入に要するコストと設置に要するスペースの点で優れている。そのため、近い将来に小中学校のような教育機関にも導入できる可能性を秘めている。今後の課題として、光学系の構成を工夫し、分解能を向上させることが挙げられる。

参考文献

- [1] T. C. Poon (ed.), “Digital Holography and Three Dimensional Display - Principles and Applications”, Springer (2005).
- [2] Stephen A. Benton and V. Michael Bove Jr, “HOLOGRAPHIC IMAGING”, WILEY INTERSCIENCE (2008).
- [3] T. G. Dimiduk, E. A. Kosheleva, D. Kaz, R. McGorty, E. J. Gardel, and V. N. Manoharan, “A Simple, Inexpensive Holographic Microscope”, in Digital Holography and Three-Dimensional Imaging, OSA Technical Digest (CD) (Optical Society of America, 2010), paper JMA38.
- [4] K. M. Molony, B. M. Hennelly, D. P. Kelly, T. J. Naughton, “Reconstruction algorithms applied to in-line Gabor digital holographic microscopy”, Opt. Commun., Vol. 283, Issue 6, pp.903–909 (2010).
- [5] 白木厚司, 豊田太郎, 下馬場朋禄, 増田信之, 伊藤智義, “低コストなポータブル・デジタルホログラフィック顕微鏡の開発”, 第 10 回情報科学技術フォーラム (FIT2011), I-001, 北海道・函館大学 (2011.9.7-9).
- [6] T. Shimobaba, J. Weng, T. Sakurai, N. Okada, T. Nishitsuji, N. Takada, A. Shiraki, N. Masuda and T. Ito, “Computational wave optics library for C++: CWO++ library,” Comput. Phys. Commun. **183**, 1124–1138 (2012).
- [7] <http://sourceforge.net/projects/thegwolibrary/>