

I-018

ポータブルデジタルホログラフィック顕微鏡の高分解能化

Improvement of the lateral resolution power of the digital holographic microscopy

白木 厚司* 谷口 雄祐† 下馬場 朋禄† 増田 信之† 伊藤 智義†

Atsushi Shiraki Yusuke Taniguchi Tomoyoshi Shimobaba Nobuyuki Masuda Tomoyoshi Ito

1. まえがき

顕微鏡技術には高分解能、広視野領域、三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困難である。これらの課題の解決に向けて期待されているのが、デジタルホログラフィック顕微鏡(DHM: Digital Holographic Microscopy)である。

DHM では、CCD(Charge Coupled Device) や CMOS(Complementary Metal Oxide Semiconductor) カメラなどで試料のホログラムを撮影し、計算機を用いてそのホログラムからの光波伝搬(回折計算)を計算することで再生像を得ることができる[1]。一般的に DHM で使用する光学系は、ホログラムを撮影するカメラ、参照光源(一般的にレーザを用いる)、ビームスプリッタや対物レンズなどの光学部品から構成される。これらの光学系部品は一つ一つが高価であり、光学系を組み上げるのにコストがかかる。この問題に対し、ホログラムを撮影するカメラに汎用のデジタルカメラを用い、さらに光学部品の使用点数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[2]。

我々の先行研究では、ホログラムを撮影するカメラに Web カメラの CCD 素子を流用し、参照光源に安価な点光源 LED(Light Emitting Diode) と in-line 型ホログラムを撮影する光学系[3]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[4]。本報告では、先行研究の低コスト、小型化を前提とし、その上で得られる再生像の分解能の向上に成功したので報告する。

2. 開発した DHM システムの仕様

開発した DHM システムの概念図を図 1 に、実物の外観図を図 2 に示す。図 1 のように、この DHM は点光源 LED から発した光をピンホールに通すことで理想的な点光源に近づけている。その光を参照光源として試料に照射し、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 CCD カメラ上で干渉させ、in-line 型ホログラムを撮影する仕組みとなっている。また、光源と観察試料、CCD カメラの距離を適切な距離とするために、可変長の支柱を用いている。作成した DHM は図 2(左)のようになっており、使用する際には図 2 に示すように、遮光ケースに格納して使用する。遮光ケースのサイズが 100mm×80mm×120mm と小型であり、掌に乗る程度の大きさである。

CCD カメラには Logicool 社製の Web カメラ“HD Pro Webcam C910”を分解し、内部の CCD 素子を利用した。この CCD 素子の画素数は 1920×1080 画素で、最大フレームレートは 30fps(frames per second)となっている。この CCD を制御するために Intel 社が開発を行っ

*木更津工業高等専門学校 情報工学科
†千葉大学大学院 工学研究科

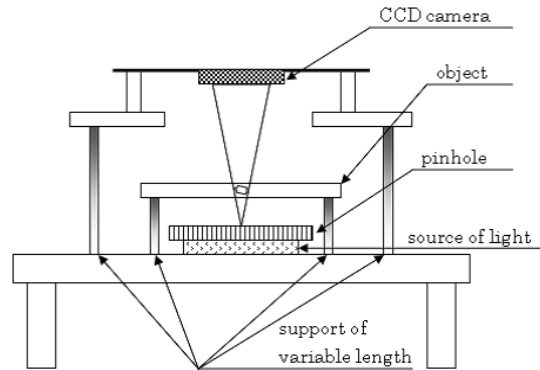
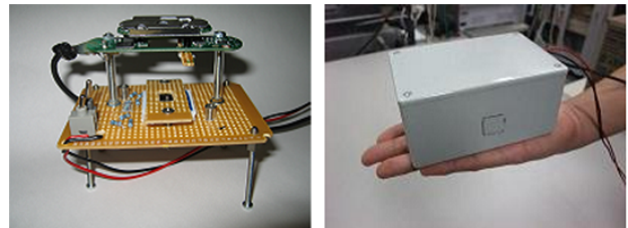


図 1: 開発した DHM システムの概念図

図 2: 開発した DHM システムの外観図
(左) 遮光ケース無し, (右) 遮光ケース有り

ているオープンソースライブラリ OpenCV を用いた。また、この CCD はカラー CCD のため、再生像を計算する前にグレースケールへ変換した。変換式には $c = 0.2999 \times r + 0.587 \times g + 0.114 \times b$ (c :グレースケール値, r :赤の画素値, g :緑の画素値, b :青の画素値)を用いた。

光源には OptoSupply 社製の RGB 大容量発行ダイオード“OSTCXBC1C1S”を使用した。この RGB 高輝度 LED の各色の波長は、赤 625nm、緑 525nm、青 475nm で、発光部の径は 50 μ m である。DHM において高分解能を求める場合、波長が短く径の小さい光源を用いるのが望ましい。発光部の径が 50 μ m では高分解能な再生像を得るためには不十分である。そのため、メスグリコ社製のピンホール“04PIP002”(ホール径 5 μ m)を LED に密着させ、光源の径を小さくして使用した。

Web カメラの購入時の価格が 7,092 円、RGB 高輝度 LED の価格が 500 円、ピンホールの価格が 9,800 円、遮光ケースの価格が 1,400 円であり、総コストは 18,792 円となっている。ただし、スペーサやネジ、抵抗の価格は無視した。

撮影されたホログラムは USB2.0 インターフェース経

由で 30fps の速度でコンピュータへ送信され、コンピュータは受信したホログラムから再生像を得るための回折計算を行う。本研究では試料と CCD カメラ間の距離を数 cm に設定しているため、再生像計算に角スペクトル法 [1] を用いた。角スペクトルの計算には、我々が開発を行っている波動光学計算ライブラリである CWO ライブラリ [5] を使用した。このライブラリは参考文献 [6] から無料でダウンロード・使用することができる。

3. 性能評価

先行研究による再生像を図 3 に、本研究による再生像を図 4 に示す。なお、撮影する試料には USAF テストターゲットを用い、分解能の測定も行った。また、先行研究では赤色 LED を用いていたが、波長が短い光の方が分解能の向上に繋がるため、本研究では青色の光を用いた。先行研究では USAF テストターゲットのグループ番号 2、要素番号 5 まで分解できており、本研究ではグループ番号 4、要素番号 6 まで分解することができた。これらの結果から、先行研究での分解能が $78.7\mu\text{m}$ 、本研究での分解能が $17.5\mu\text{m}$ であることが確認できた。

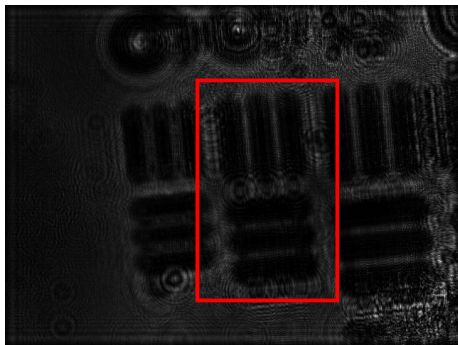


図 3: 先行研究による再生像 (USAF テストターゲット: グループ番号 2, 要素番号 5)

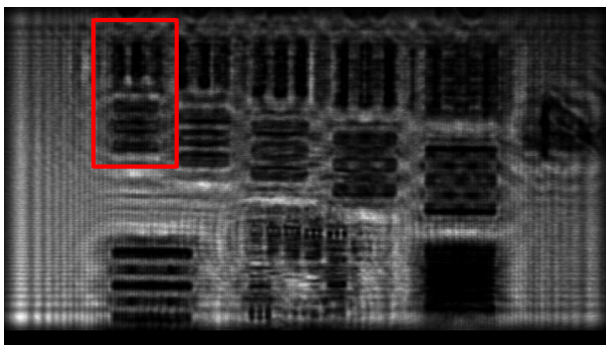


図 4: 本研究による再生像 (USAF テストターゲット: グループ番号 4, 要素番号 6)

続いて、先行研究と本研究での DHM の性能を表 1 に示す。表 1 から、先行研究に比べコストとサイズが大きくなっているが、画像サイズと分解能が向上しているこ

表 1: 先行研究と本研究での DHM の性能比較

	先行研究	本研究
コスト [円]	8,660	18,792
サイズ [mm]	50×80×120	100×80×120
画像サイズ [mm]	640×480	1920×1080
分解能 [μm]	78.7	17.5

とが見取れる。画像サイズの向上については、Web カメラを高解像度の物に取り替えたことが要因である。分解能の向上については、青色の光を用いることで波長を短くしたこと、ピンホールを用いることで点光源の質を向上させたこと、可変長の支柱を用いることで適切な撮影距離で撮影したことが要因であると考えられる。

4. まとめ

本研究において、低コスト、小型化を前提とした DHM の分解能の向上を図った。先行研究と比較して、Web カメラの変更、波長の短い光 (青色光)、ピンホール、可変長支柱を採用した結果、画像サイズ・分解能の向上に成功した。また、コスト・サイズは大きくなったものの、コストについては 20,000 円以下で構成でき、サイズについては掌に乗る程度の大きさで実現できているため十分実用的であり、フィールドワークなどで性能を発揮できると考えている。

参考文献

- [1] T.C.Poon (ed.), "Digital Holography and Three Dimensional Display - Principles and Applications", Springer (2005).
- [2] 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.
- [3] K. M. Molony, B. M. Hennelly, D. P. Kelly, T. J. Naughton, "Reconstruction algorithms applied to in-line Gabor digital holographic microscopy", Opt. Comm., 283, 6, 903-909 (2010).
- [4] 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).
- [5] 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).
- [6] <http://sourceforge.net/projects/thegwolibrary/>