

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 10 日現在

機関番号：12401

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2010～2012

課題番号：22560034

研究課題名（和文） デジタルホログラフィを用いたリアルタイム環境モニタリング技術の開発

研究課題名（英文） Real-time digital holography for environmental monitoring

## 研究代表者

吉川 宣一 (YOSHIKAWA NOBUKAZU)

埼玉大学・大学院理工学研究科・准教授

研究者番号：00282335

## 研究成果の概要（和文）：

環境モニタリングのためのデジタルホログラフィを用いた水棲微小生物に対する自動追跡機構をもつ観測システムの開発を行う。微小生物の三次元的な行動、形状変化、屈折率分布を高精度にリアルタイムで計測するために統計手法に基づいた任意位相シフト法とラジアルキャリア法を開発した。実験とシミュレーションにより、水中を移動する緑藻類微小生物の追跡と体内屈折率の計測ができることを確認した。

## 研究成果の概要（英文）：

Digital holographic real-time aquatic microorganism monitoring system was studied for environmental monitoring. The statistical generalized phase-shifting method and the radial carrier method was developed to measure three-dimensional action, shape change and internal refractive index profile of the microorganism in real time. The proposed method was confirmed by the experiment and simulation. The tracking of the green algae microorganism under water and the internal refractive index measurement were successfully performed by the proposed method.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2011年度	700,000	210,000	910,000
2012年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

## 研究分野：工学

科研費の分科・細目：応用物理学・工学基礎、応用光学・量子光工学

キーワード：デジタルホログラフィ、モニタリング、リアルタイム計測

## 1. 研究開始当初の背景

科学技術と環境との共生が現代の科学技術の問題として取り上げられている。そのためには環境をモニタリングして、環境変化を検出・分析する技術がこれまで以上に重要になると考えられる。最近、生物の行動様式の観察や生存率などを用いるバイオアッセイ

と呼ばれる環境モニタリング技術が注目されている。

環境の変化は、まず微小生物の行動や生態変化に現れると考えられ、微小生物の状態をモニタリングすることは、環境状態をリアルタイムに検知する方法として有効であると考える。ナノ材料のような極小物質に対して

は大型生物よりも微小生物のほうがスケールの関係から影響は直接的に現れるものと考えられる。しかし、微小生物のモニタリングは顕微鏡システムを使うため行動範囲が制限されてしまい、その評価も難しく、定量的なモニタリングを行うためには困難が多い。

最近、デジタルホログラフィ技術が生体計測に広く用いられている。ホログラフィ技術は三次元的な情報を記録することが可能であり、デジタル技術との融合より対象物体の構造や位相情報（屈折率変化）も定量的に計測することができる。これらの特徴を微小生物の観測に応用することにより、三次元的な行動モニタリングと生体内における屈折率変化の同時検出が可能になると考えられる。

## 2. 研究の目的

本研究では、デジタルホログラフィを用いた水棲微小生物の行動様式の変化と体内屈折率変化に基づいた環境モニタリング技術の開発を行う。

(1) デジタルホログラフィによる水生微小生物の定量的モニタリング技術の開発

デジタルホログラフィを用いて微小生物の計測をすることにより、微小生物の三次元的な位置変化と屈折率変化を計測することができる。位置情報は微小生物の行動変化に関する情報を、屈折率変化は環境変化によって引き起こされる生体内の変化に関する情報を示すと考えられる。そこでこれらの計測を同時に高精度に実行する計測システムを開発する。

(2) グラフィックプロセッシングユニット (GPU) を用いた計測システムの高速度化

デジタルホログラフィの再生は数値計算によりソフトウェア的に行うが、位相歪み補償や自動追跡処理を同時に行うと現在ではオフラインで処理するしかない。そこで本研究では並列処理に優れている GPU を用いてこれらの処理を高速化し、リアルタイム処理を実現する。

(3) バイオアッセイに基づいた環境モニタリングへの応用

デジタルホログラフィを用いて得られる微小生物の行動変化および屈折率変化を統合し、環境モニタリングに利用する手法を開発する。これらの情報に基づいた化学物質などの微小生物への影響の定量化を行う。

## 3. 研究の方法

(1) 水棲微小生物観察のためのデジタルホログラフィ光学系の構築

計測光学系は水棲微小生物は位相物体と見なせるためマッハツェンダー干渉計を用いた。デジタルホログラフィではイメージセンサによる撮影領域を最大にするためにイ

ンライン光学系が用いる。自然環境下における観察を考慮すると、自由度の高い光学システムが望ましい。そこで光ファイバを用いた計測システムも検討する。

(2) 定量的位相計測のための統計的任意位相シフト法の開発

デジタルホログラフィにおいて、インライン光学系を用いると物体光に加えて透過光と共役光が同時に再生される。不要成分を除去するためには位相シフト法を用いることが多いが、正確に位相シフトした3枚のホログラム情報が必要である。位相シフト法を実行するためには、高価な高分解能位相シフタと高精度な位相キャリブレーションが必要である。本研究では、フレネル回折場の位相ランダム性に基づいた統計的任意位相シフト法を提案し、任意の位相シフト量かつ位相キャリブレーション無しで正確な定量的位相計測ができることを示す。これにより生体内の屈折率変化計測を安価な計測システムで行えるようになる。

(3) リアルタイムモニタリングのためのラジアルキャリアデジタルホログラフィ技術の開発

自由に移動する微小生物をモニタリングするためには、1枚のホログラム情報から再生像を得る必要がある。位相シフト法は少なくとも3枚のホログラム情報が必要でありリアルタイム処理には適していない。本研究では球面参照波によりつくられるラジアルキャリアを用いた新しいデジタルホログラム再生法を提案する。この手法ではイメージセンサの直前におかれた点光源だけが必要であり、位相シフタや特殊カメラは必要ないという利点がある。原理的に1枚のデジタルホログラムだけあればよく、超高速カメラを用いれば超高速現象の位相計測も可能である。

(4) GPU による再生ソフトウェア開発

統計的任意位相シフト法やラジアルキャリア方式の処理を高速に行うために GPU を用いた自動追跡再生プログラムを開発する。並列処理対応アルゴリズム開発とその実装を行う。

(5) 微小生物の行動変化と屈折率変化のモニタリング

環境汚染物質を加えた環境下における微小生物の行動変化と屈折率変化を同時にモニタリングし、両者の関係を明らかにする。これらの情報からバイオアッセイとして利用できる変化を抽出してリアルタイムでの環境モニタリングを実現する。これらの結果をまとめることにより、環境モニタリングの定量的な評価法を開発する。

## 4. 研究成果

(1) 統計的一般化位相シフトデジタルホログラフィの提案とその適用条件の解明

位相シフト量を  $0 \sim 2\pi$  に拡張した統計手法に基づいた一般化位相シフト法を考案した。また、位相ランダム性が成立しない物体に対しても統計手法が適用できる条件を明らかにした。

インラインデジタルホログラフィ光学系において、物体光を  $A = |A| \exp\{j\theta\}$ 、参照光を  $R_i = |R| \exp(j\phi)$ ,  $i = 0, 1, 2$  とする。ここで参照光は平面波を仮定しており、 $\phi$  は  $i$  番目の位相シフト量を表す。まず3枚の位相シフトデジタルホログラムを撮影し、 $p$  番目と  $q$  番目のホログラムの差分  $\Delta I_{pq}$  を求める。次に差分ホログラムのフレーム全体の二乗平均を求めると、 $\langle |\Delta I_{pq}|^2 \rangle = 8|R|^2 \sin^2(\Delta\phi_{pq}/2) \times \{|A|^2 - \langle |A|^2 \sin(2\theta - \phi_p - \phi_q) \rangle\}$  となる。物体光が位相ランダム性を持つならば、 $\langle |\Delta I_{pq}|^2 \rangle = 8|R|^2 \sin^2(\Delta\phi_{pq}/2) \langle |A|^2 \rangle$  のように表すことができる。ここで  $\langle \rangle$  はフレーム全体の平均値を求める演算子、 $\Delta\phi_{pq} = \phi_q - \phi_p$  である。したがって、相対位相値は  $\Delta\phi_{pq} = \arccos(1 - \kappa E_{pq})$  で得られる。ここで  $\kappa \equiv (4|R|^2 \langle |A|^2 \rangle)^{-1}$ 、 $E_{pq} = \langle |\Delta I_{pq}|^2 \rangle$  である。位相シフト範囲を  $[0, 2\pi]$  に拡張するために相対位相値の符号を考慮した評価関数  $f_n(\kappa) = c_{01}\Delta\phi_{01} + c_{12}\Delta\phi_{12} + c_{20}\Delta\phi_{20}$ 、 $c_{pq} = \pm 1$  を考える。 $f_n(\kappa) = 2m\pi$  となる条件は巡回差分条件と呼ばれ、この条件を満たす評価関数の符号が相対位相値の正しい符号となる。本研究では、ゼロクロス条件で最適な評価関数を、一般的な解探索アルゴリズムを用いて解  $\kappa_0$  を求め、符号も含めた相対位相値が  $\Delta\phi_{pq} = \hat{c}_{pq} \arccos(1 - \kappa_0 E_{pq})$  となることを明らかにした。ここで  $\hat{c}_{pq}$  は最適評価関数の係数である。これによりホログラム面における物体光が得られ、逆フレネル変換により物体面における物体光を得ることができる。

図1にミツバチの脚を対象物体とした実験結果を示す。任意の位相シフト量をもつ3枚のホログラム情報に対して提案手法を行い、

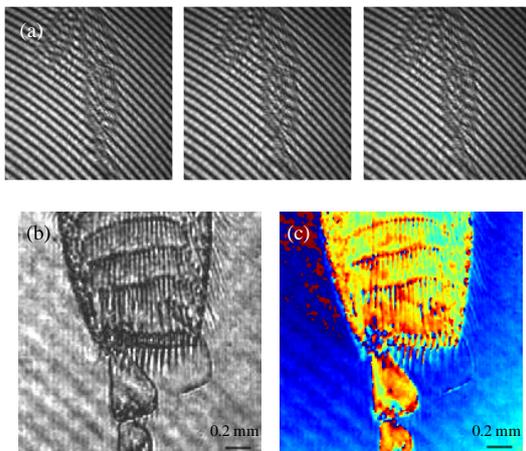


図1 (a)位相シフトデジタルホログラム、(b)再生強度、(c)再生位相の拡大図。

角スペクトル法を用いて再生したものである。不要成分が十分に除去されて物体光の微小構造も明瞭に再生されており、正確に位相推定が行われていることがわかる。ホログラム再生処理はGPUによる並列処理により高速化されている。

統計手法はフレネル回折場における位相ランダム性が成り立たないと正確に位相シフト量の推定ができない。本研究ではシミュレーションにより、位相ランダム性は、空間的なランダム性は必要なく、確率密度関数が一様分布  $p(\phi) = 1/2\pi$ ,  $(-\pi < \phi \leq \pi)$  で表されるならば、周期性のある位相分布でも統計手法が実行できることを明らかにした。

提案手法により、統計手法の制限がなくなり、どのような複素振幅物体に対しても位相シフト法が実行可能になった。従来の位相シフトデジタルホログラフィは、一般に  $\pi/2$  の整数倍の位相シフト量を参照波に与える必要があり、これを行うためには高価な精密位相シフタと高精度な位相キャリブレーションが必要であった。提案手法は位相シフト量の制御が全く必要ないので、安価な位相シフタによる計測システム的大幅な低コスト化を実現する。原理的に顕微鏡システムでも適用できるので細胞観察やナノデバイス評価などの応用も可能である。

(2) ラジアルキャリアデジタルホログラフィによるリアルタイム計測

三次元空間を自由に移動する微小生物をモニタリングするためには1フレームごとに三次元情報を得る必要がある。これをデジタルホログラフィで行うためには1枚のホログラム情報から1枚の再生情報を得る手法が必要になる。本研究では点光源参照波によってつくられるラジアルキャリアを用いたインラインデジタルホログラフィ方式を考案した。

この方式ではまず点光源参照波をイメージセンサの直前のナイキスト標本化条件を満たす位置に配置した光学系を用いる(図2)。この条件でホログラム記録を行うと、物体光は点光源から発した球面波によりラジアル方向に変調される。そのため干渉縞の0次成

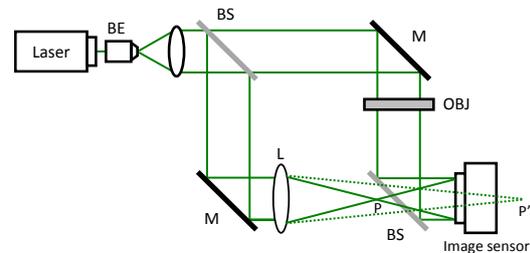


図2 ラジアルキャリアデジタルホログラフィ計測システム。レンズLの焦点が点光源となる。

分と干渉成分は周波数領域で狭帯域ハイパスフィルタを用いて分離することができる。物体光と共役光は重なっており単純なフィルタリング処理では分離できないが、ホログラム面から点光源が置かれた位置までフレネル変換すると、物体光が広がった光波、共役光がフーリエスペクトルになることを発見した。そこで物体のスペクトルが狭帯域であることを仮定して、この再生面においてマスク処理で共役光を除去する手法を考案した。これらの処理をGPUを用いたデジタル処理で高速におこなうことにより、リアルタイムで1フレームごとに三次元情報を得ることが可能になった。

図3にラジアルキャリアにより変調されたホログラムとその再生像を示す。左側は従来から行われている点光源を遠方に置いた手法、右側が提案手法である。インライン光学系では図3(e)のように再生像が歪むため一般に利用されないが、本研究で提案する近接点光源方式では図3(f)のように明瞭な再生像を得ることができる。位相シフトを行わないインラインデジタルホログラフィにおいて、特殊なカメラや技法を用いずに0次光と共役光を除去して物体光を得る手法は他にはほとんどなく、リアルタイム計測には最も適した手法といえる。

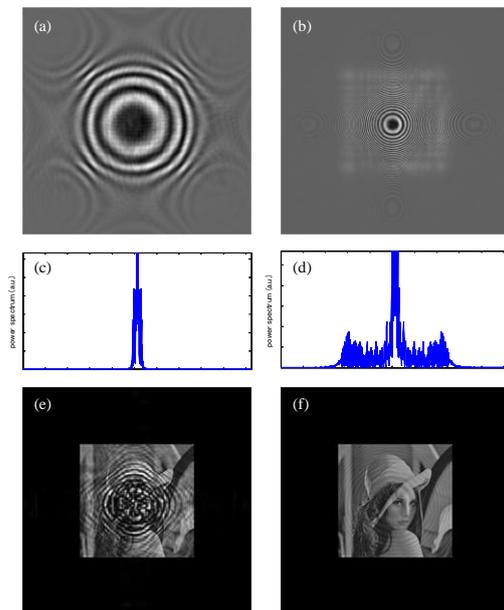


図3 遠方に点光源を置いた場合(左側)と近接点光源の場合(右側)の(a),(b) ホログラム, (c),(d) スペクトル分布, (e),(f) 再生像。

### (3) 微小生物の行動変化と屈折率変化のモニタリング

緑藻類ボルボックスの三次元行動の計測を行った。微小生物は30×10mmのガラスセル内に入れ自由に移動できる状態にした。この微小生物は光に向かって動く光走行性が

あるが、ガラスセル全面に平行光を照射したため、特定の方向に動く様子は観察されなかった。ラジアルキャリアデジタルホログラフィ方式を用いてフレームレート10fpsでリアルタイム計測を行った。

図4に連続撮影されたホログラムからの再生強度と位相を示す。微小生物はメディアンフィルタと二値化処理を組み合わせて重心位置を求めることで認識した。微小生物の三次元的な位置は、強度情報よりXY軸平面の位置を、再生距離と位相情報より奥行き方向の位置Zを確定し、これを連続して行うことにより三次元移動の軌跡を求めた。位相情報より微小生物の体内の屈折率情報が得られることを確認した。今回の計測システムでは拡大光学系を用いていないため生物体内の屈折率計測は十分な精度は得られなかったが、周囲の環境との位相コントラストは十分にあるため、提案システムで物体位置計測とともに生体内の変化も検出することが可能であり、三次元移動する水棲微小生物の実時間モニタリングが可能であることがわかった。温度変化や化学物質注入などの環境変化に対する行動変化は観察されたが現在のシステムでは定量的な評価は難しかった。

今後はガラスセルの大型化や環境変化の導入位置と観察位置の分離などの観察システムの改良および高フレームレートのデジタルカメラによる詳細な物体の行動変化と屈折率変化の解析が必要である。

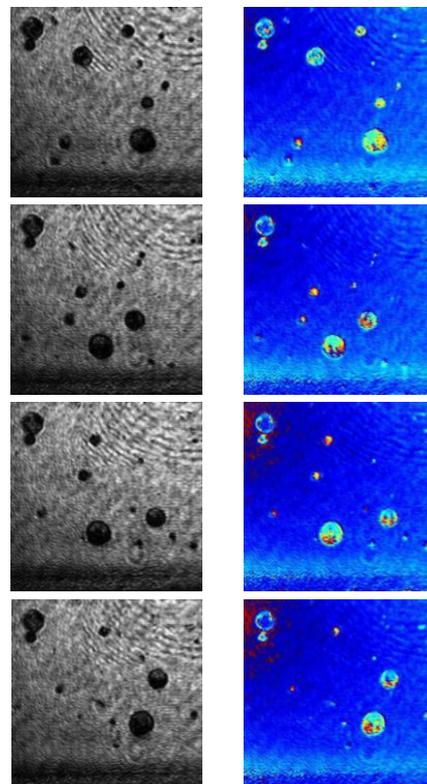


図4 再生強度(左側)と再生位相(右側)。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計3件)

- ① N. Yoshikawa, “Phase determination method in statistical generalized phase-shifting digital holography,” Applied Optics, 査読有, Vol. 52, No. 9, pp. 1947–1953, 2013.
- ② T. Hagiwara and N. Yoshikawa, “Real-Time 3D Shape Measurement Using Optimized Phase Height Conversion”, ICIC Express Letters, 査読有, Vol. 6, Issue 5, pp.1189-1194, 2012.
- ③ N. Yoshikawa, R. Kusaka and T. Matsukawa, “Optimum Mask Generation Method for Real-time 3D Profile Measurement”, ICIC Express Letters Part B: Applications, 査読有, Vol.2, No.3, pp.571-575, 2011.

〔学会発表〕(計37件)

- ① N. Yoshikawa, “Estimation of value and sign of relative phase shift of statistical generalized phase-shifting digital holography”, International Workshop on Holography and related technologies (IWH2012), 2012.11.12, National Central University, Taiwan.
- ② N. Yoshikawa, “Modified fourier transform profilometry using anisotropic kernel”, The Second Japan-Korea International Workshop on Digital Holography and Information Photonics (DHIP2012), 招待講演, 2012.11.19, The University of Tokushima, Japan.
- ③ 吉川宣一, 小関隼也, 「任意位相シフトデジタルホログラフィのための位相シフト量推定法」第73回応用物理学会学術講演会, 2012.11.12, 愛媛大学.
- ④ N. Yoshikawa, “Acquisition of 3D information using frequency domain analysis”, The 18th International Display Workshops(IDW’11), 招待講演, 2011.12.8, Nagoya Congress Center, Japan.
- ⑤ N. Yoshikawa, “Modified phase shifting approach for indirect synthesis of interference terms in digital holography”, International Workshop on Holography and related technologies (IWH2011), 2011.11.6, Utsunomiya Univ. Japan.
- ⑥ N. Yoshikawa, “Real-time 3D Measurement system using color multiplex complementary grating”, The First Korea-Japan Workshop on Digital Holography and Information Photonics (DHIP2011), 招待講演, 2011.11.11, Seoul, Korea.

⑦ 吉川 宣一, 「GPUを用いたリアルタイム三次元計測」, フォトニクス技術フォーラムー第1回光情報技術研究会, 招待講演, 2011.7.22, 大阪科学技術センター.

⑧ N. Yoshikawa and K. Machida, ”Phase Shifting Approach for Indirect Synthetic Digital Holography”, Digital Holography and three-dimensional imaging, OSA topical meeting and exhibit, Digital Holography and Three - Dimensional Imaging (DH) 2011.5.11, The university of Tokyo, Japan.

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計0件)

○取得状況(計0件)

〔その他〕

特になし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

吉川 宣一 (YOSHIKAWA NOBUKAZU)

埼玉大学・大学院理工学研究科・准教授

研究者番号: 00282335

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし