

ГОЛОГРАФИЯ

УДК 535: 778.38: 004.932.2

ЦИФРОВОЕ ГОЛОГРАФИЧЕСКОЕ ВИДЕО ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ ЧАСТИЦ

© 2012 г. В. В. Демин, канд. физ.-мат. наук; А. С. Ольшук

Томский государственный университет, г. Томск

E-mail: dyomin@mail.tsu.ru

Обсуждены особенности определения координат биологических частиц при использовании цифрового голографического видео. Приведены экспериментальные результаты, показывающие возможность учета вращательного движения частицы. Экспериментально исследована возможность уточнения координат частицы путем использования двухракурсной схемы голографирования, с учетом влияния оптической системы вода–стекло–воздух.

Ключевые слова: цифровая голография, голографические исследования планктона, цифровое голографическое видео, двухракурсная схема.

Коды OCIS: 090.1995, 100.2960, 170.3880.

Поступила в редакцию 17.11.2011.

Введение

Информативность (возможность определения размера, формы, координат каждой частицы), бесконтактность и эффективность голографии в исследованиях частиц известны [1–3]. В случае цифровой голографии появляются дополнительные возможности: передача голограмм по линиям связи, запись цифрового голографического видео (ЦГВ) [2–5]. Последнее реализуется непрерывной (с частотой кадров используемой камеры) записью картины интерференции опорной и предметной волн, численным восстановлением изображения с каждого кадра (являющегося цифровой голограммой всего объема, содержащего частицы) и компоновкой восстановленных изображений в видеофильм [4, 5].

При этом если в каждом кадре ЦГВ восстанавливают изображение одной и той же плоскости исследуемого объема, то полученный видеофильм последовательно отображает все частицы, проходившие через эту плоскость в разные моменты времени. Если плоскость восстановления “привязана” к интересующей нас частице, т. е. в каждом кадре восстанавливают ее резкое изображение в соответствующей плоскости, можно получить информа-

цию о ее скорости, направлении движения, перемещении за время между кадрами. Таким образом, появляется возможность, кроме информации о размерах, форме, положении каждой частицы исследуемого объема, получить информацию о характере и траектории ее движения [5]. Примеры ЦГВ приведены нами в Интернете по следующим ссылкам: ftp://nfpk:nfpk@video.tsu.ru/geo/Video_GF_3.mpg; <ftp://nfpk:nfpk@video.tsu.ru/geo/For3D.avi>.

Зная момент времени регистрации каждого кадра картины интерференции опорной и предметной волн (голограммы), можно определить скорость и построить траекторию движения частицы. Для этого из голографического изображения, восстановленного с каждой голограммы, необходимо определить координаты частицы.

Определение координат частицы по данным цифрового голографического видео

При голографировании биологических (например планктонных) частиц основные проблемы анализа ЦГВ связаны с разнообразием форм, размеров и сложным характером движения планктона. Для определения скорости

и построения траектории планктонной частицы в качестве координат частицы в работе [5] нами использовались координаты центра тяжести (ЦТ) восстановленного изображения частицы. Тогда продольная координата определяется по расстоянию, где восстанавливается наиболее четкий контур частицы (плоскость наилучшего восстановления или плоскость наилучшей фокусировки восстановленного голографического изображения), а поперечные координаты определяются положением ЦТ. Этот же подход мы применяем и в настоящей статье.

Известно, что разрешение голографических методов, так же как точность определения координат, зависит от расстояния между регистрируемой частицей и плоскостью регистрации голограммы, от характеристик среды, в которой находится частица на этапе регистрации, от формы частицы, от концентрации ансамбля частиц и т. д. [4, 5]. Кроме этого, в цифровой голографии разрешение зависит от размера пиксела используемой камеры. В наших экспериментальных исследованиях, как и в большинстве экспериментов по цифровой голографии частиц, использовалась осевая схема голографирования. Для регистрации голограмм использовалась ПЗС-камера "Видеоскан 2020" с размером пиксела 7,4 мкм. Расстояние от ча-

стицы до плоскости регистрации голограммы варьировалось от 50 до 300 мм, регистрировались голограммы как модельных частиц, так и натуральных планктонных особей (диапазон размеров от 100 мкм до 5 мм).

В цифровой голографии процесс восстановления изображений реализуется численно, поэтому качество изображений и разрешение зависят от используемого алгоритма расчета. В наших экспериментах использовался традиционный для цифровой голографии [4, 5] дифракционный интеграл в приближении Френеля. Для численного расчета интеграла применялись алгоритмы, основанные на преобразовании Фурье, на методе свертки.

С учетом вышесказанного в наших экспериментах, в зависимости от условий голографирования, размеров частицы и, как следствие, от качества изображения, достигнута точность определения продольной координаты 100–200 мкм, поперечной координаты – 1–8 пикселей используемой камеры.

Изображение частицы в разных кадрах ЦГВ может отличаться по форме и площади сечения, так как вследствие поступательного и вращательного движений планктона могут изменяться его ракурсы. Это проиллюстрировано на рис. 1а, 1б, где приведены изображения

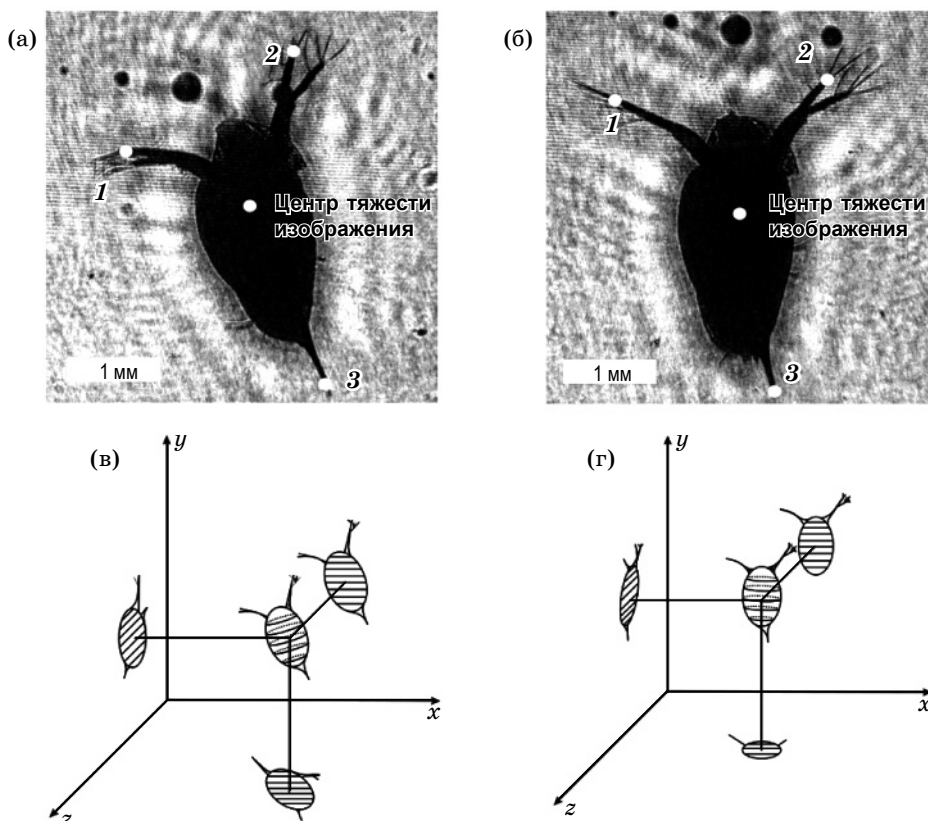


Рис. 1. Голографические изображения биологической частицы (а, б), восстановленные с двух различных кадров ЦГВ. Схематичное представление ориентаций частицы (в, г), рассчитанных по изображениям (а, б) соответственно.

планктонной частицы, восстановленные с двух цифровых голограмм (двух видеокадров картины интерференции предметной и опорной волн), записанных в разные моменты времени. Для учета вращательного движения в каждом восстановленном изображении определялись координаты трех дополнительных точек (как правило, соответствующих характерным деталям частицы). Изменение координат дополнительных точек (пронумерованных 1, 2, 3 на рис. 1а и 1б) относительно центра тяжести позволяет судить о вращательном движении и ориентации частицы в пространстве. На рис. 1в схематично проиллюстрированы рассчитанные по такому принципу проекции частицы на координатные плоскости для положения частицы, изображенного на рис. 1а; рис. 1г иллю-

стрирует ориентацию частицы, изображенной на рис. 1б.

Двухракурсная схема голографирования

Другой метод уточнения координат частицы – двухракурсное голографирование, в том числе двухракурсное цифровое голографическое видео [2, 5]. В этом методе одновременно в двух разных (например взаимно перпендикулярных) направлениях регистрируются две осевые цифровые голограммы одного и того же объема среды, содержащего планктон (рис. 2а, показан вид сверху). Для определенности “прямой” назовем голограмму, регистрируемую ПЗС-камерой 4.1 (“прямой” камерой) при освещении объема лазерным пучком 1.1

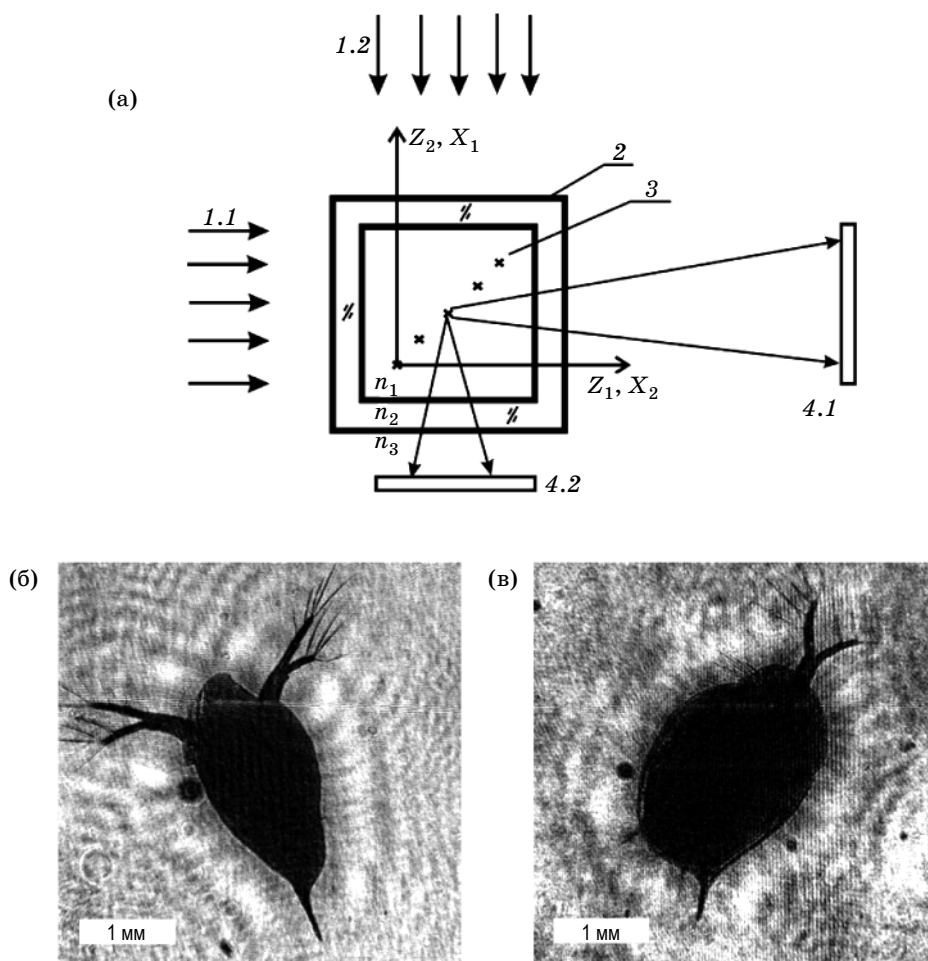


Рис. 2. Схематичное представление двухракурсной геометрии голографирования (а) и голографические изображения особи *Daphnia magna*, восстановленные с прямой (б) и боковой (в) осевых голограмм. 1.1 и 1.2 – прямой и боковой освещающие лазерные пучки, 2 – стеклянная кювета, 3 – иголки (объекты при экспериментальной оценке точности определения координат), 4.1 и 4.2 – прямая и боковая ПЗС-камеры, X_1 и Z_1 – поперечная и продольная координаты для прямой, X_2 и Z_2 – для боковой голограммы; n_1 , n_2 и n_3 – показатели преломления воды, стекла и воздуха соответственно.

(рис. 2а), “боковой” – голограмму, соответствующую “боковой” камере 4.2 и освещающему пучку 1.2. При этом продольная координата Z_1 прямого ракурса является поперечной координатой X_2 бокового ракурса (то же выполняется для Z_2 и X_1), что в экспериментах с живым планктоном позволило улучшить точность определения продольной координаты (в наших экспериментах 200 мкм) до точности определения поперечной координаты (7,4–59,2 мкм в зависимости от условий регистрации). Отметим, что координаты Y_1 и Y_2 совпадают и на рис. 2а направлены перпендикулярно плоскости рисунка. На рис. 2б, 2в приведены примеры двух голографических изображений одной и той же особи *Daphnia magna*, восстановленных с прямой (рис. 2б) и боковой (рис. 2в) голограмм.

Очевидно, что при двухракурсной голографической регистрации для построения трехмерной траектории движения частицы необходима временная синхронизация прямой и боковой камер, которая достаточно просто реализуется современными техническими средствами. Не менее важным условием является привязка измеряемых координат частицы к заданному началу координат. Здесь необходимо учитывать тот факт, что регистрация цифровых голограмм (или ЦГВ) живого планктона в лабораторных или натуральных условиях проводится либо в кювете, либо через иллюминаторы погружаемой голографической камеры. В этом случае можно считать, что регистрация голограммы производится через оптическую систему вода–стекло–воздух, а восстановление голографических изображений производится в воздухе, в отсутствие этой системы. Тогда для рассматриваемого случая освещения объема с частицами “на просвет” и нормального падения предметного пучка на плоскость регистрации осевой голограммы (рис. 2а) продольная координата восстановленного в воздухе голографического изображения частицы не совпадает с реальной координатой частицы в воде. Поперечными искажениями при такой геометрии схемы и голографировании крупных частиц можно пренебречь [6]. Тем не менее, для совмещения изображений, восстановленных с двух осевых голограмм, необходимо учесть разные продольные смещения изображений.

В работе [1] предложен и апробирован метод учета этой особенности регистрации голограмм частиц через систему вода–стекло–воз-

дух. Показано, что продольное смещение d восстановленного изображения частицы по отношению к реальному положению частицы составляет

$$d = (d_1 - d_3)(n_1/n_3 - 1) - d_2(n_1/n_2 - 1), \quad (1)$$

где d_1 – расстояние от голограммы до восстановленного голографического изображения частицы, d_2 – толщина стенки кюветы (или иллюминатора погружаемой камеры), d_3 – расстояние от голограммы до ближайшей стенки кюветы, n_1 , n_2 и n_3 – показатели преломления воды, стекла и воздуха соответственно. Отметим, что толщина стенки кюветы d_2 измеряется заранее, а расстояния d_1 и d_3 определяются из восстановленного голографического изображения.

Для определения эффективности и точности этого метода в используемой двухракурсной геометрии записи цифровых осевых голограмм проведена серия экспериментов по голографированию стационарных объектов с заранее фиксированными координатами. В качестве объектов использовались пять иголок 3 (рис. 2а) с толщиной острия 50 мкм. Иголки помещались в кювету с водой (2). Для регистрации прямой и боковой голограмм использовались две идентичные камеры “Видеоскан 2020” (размер пиксела 7,4×7,4 мкм, количество пикселов 1600×1200, минимальное время экспозиции 4 мкс). В качестве источника использовался непрерывный твердотельный лазер с длиной волны излучения 532 нм.

Предварительно проведен эксперимент по голографированию набора из пяти иголок с фиксированными координатами, жестко подвешенных в воздухе, в отсутствие кюветы с водой. На рис. 2а положение острия каждой из пяти иголок 3 показано крестиком, за начало координат принято положение острия крайней левой иголки. По восстановленным с каждой осевой голограммы изображениям оценена погрешность определения продольной и поперечных координат иголок (200 и 50 мкм соответственно), характеризующая точность используемого алгоритма восстановления изображений с цифровых голограмм.

Затем стеклянная кювета с толщиной стенок 4 мм, заполненная водой, подводилась снизу так, чтобы положение иголок не изменилось, после чего регистрировались голограммы двух ракурсов такого объекта. Смещение положений восстановленных голографических изображений иголок для этого случая по

сравнению с регистрацией в воздухе достигало 1,5 мм в обоих ракурсах, что не позволяло совместить изображения, восстановленные с прямой и боковой голограмм. В случае биологических частиц это приводит к невозможности построения трехмерной траектории движения частицы.

Использование формулы (1) в наших экспериментах позволило учесть влияние оптической системы вода–стекло–воздух и точно совместить изображения, восстановленные с прямой и боковой голограмм. При этом достигнута точность определения координат иглолочки, расположенных в воде, совпадающая с точностью, достигаемой при расположении объектов в воздухе.

Кроме этого, за счет взаимного уточнения координат частицы, определенных с прямой и боковой голограмм, точность определения продольной координаты повышается до точности определения поперечных координат. Таким образом, как показано в предыдущем разделе, точность определения как продольных, так и поперечных координат частицы может составлять 1–8 пикселей используемой ПЗС-камеры в зависимости от условий эксперимента. В то же время очевидно, что в настоящем эксперименте точ-

ность определения пространственных координат определяется размером острия иглолочки – 50 мкм.

Заключение

Использование цифрового голографического видео позволяет получать информацию о характере и траектории движения биологических частиц. Экспериментально достигнута точность определения продольных координат частиц – 200 мкм, поперечных координат – 1–8 пикселей используемой ПЗС-камеры в зависимости от условий регистрации. Измерение координат дополнительных точек изображения частицы в каждом кадре ЦГВ позволяет определять параметры вращательного движения частицы. Двухракурсная схема голографирования позволяет уточнить координаты частицы и, с учетом влияния оптической системы вода–стекло–воздух, обеспечивает одинаковую точность определения продольной и поперечных координат.

Работа осуществлялась в рамках ФЦП “Научные и научно-педагогические кадры инновационной России на 2009–2013 г.”, государственный контракт П1736, а также в рамках программы АВЦП проект № 2.1.1/13333.

* * * * *

ЛИТЕРАТУРА

1. Демин В.В., Степанов С.Г. Голографические исследования прозрачных микрочастиц // Оптика атмосферы и океана. 1998. Т. 11. № 7. С. 671–676.
2. Pfitsch D.W., Malkiel E., Ronzhes Y., King S.R., Sheng J., Katz J. Development of a free-drifting submersible digital holographic imaging system // Proc. MTS/IEEE OCEANS. 2005. P. 690–696.
3. Sun H., Hendry D.C., Player M.A., Watson J. In situ underwater electronic holographic camera for studies of plankton // IEEE J. Ocean. Eng. 2007. V. 32. P. 373–382.
4. Демин В.В., Ольшукоев А.С., Наумова Е.Ю., Мельник Н.Г. Цифровая голография планктона // Оптика атмосферы и океана. 2008. Т. 21. № 12. С. 1089–1095.
5. Демин В.В., Ольшукоев А.С., Дзюба Е.В. Цифровое голографическое видео для исследования динамики планктона // Изв. вузов. Физика. 2010. Т. 53. № 8. С. 81–89.
6. Dyomin V.V., Watson J., Benzie P.W. Reducing the Aberrations of Holographic Images of Underwater Particles by Using the Off-axis Scheme with Normal Incidence of Object Beam // Conf. Proc. “Oceans’07”. 2007. Paper № 070131-036. IEEE Catalog Number: 07EX1527C; ISBN: 1-4244-0635-8; Library of Congress: 2006932314.