Digitální bezčočková holografická mikroskopie

Anna Dědová[1]

1 Úvod

S vývojem CMOS technologie dochází ke stálému zmenšování velikosti pixelu CMOS obrazových senzorů a ke snižování ceny senzoru, což umožňuje řadu nových využití v oblasti biomedicínského zobrazování. Díky těmto pokrokům dosahují metody bezčočkového zobrazování dostatečného rozlišení pro jejich aplikace namísto klasických optických systémů, s výhodami nižší ceny, zobrazování s rozlišením hloubky, většího zorného pole a vysoké adaptability. Jednou z hlavních metod bezčočkového zobrazování je digitální holografie. (Dědová (2022))

2 Princip digitální holografie

Digitální holografie spočívá ve využití bodového koherentního nebo semi-koherentního zdroje záření (obvykle ve viditelném spektru), který za splnění určitých podmínek po průchodu zkoumaným vzorkem vytvoří v rovině senzoru interferenční vzorec - hologram. V nejjednodušší konfiguraci jsou zdroj záření, vzorek a senzor umístěny na optické ose (in-line holografie). Z tohoto obrazového záznamu, znalosti parametrů původního záření a geometrického rozložení prvků je poté digitálně zrekonstruováno optické vlnění v různých řezech zobrazovaného vzorku. Touto rekonstrukcí je možné určit amplitudu elektromagnetického vlnění (běžný způsob zobrazování), ale také iterativně odhadnout jeho fázový obraz v libovolné vzdálenosti od senzoru. Hlavní výhodou holografie je možnost digitálního zaostření v různých hloubkách vzorku, které umožňuje zobrazování vzorků větších objemů nebo částic pohybujících se volně nebo v kanálech, které umožňují vertikální pohyb. Dále je také hardwarová komplexita zařízení (přesná optika) z velké míry přesunuta do komplexity výpočetní, čímž se stává zařízení dostupnějším a snadno přizpůsobitelným pro konkrétní aplikace.

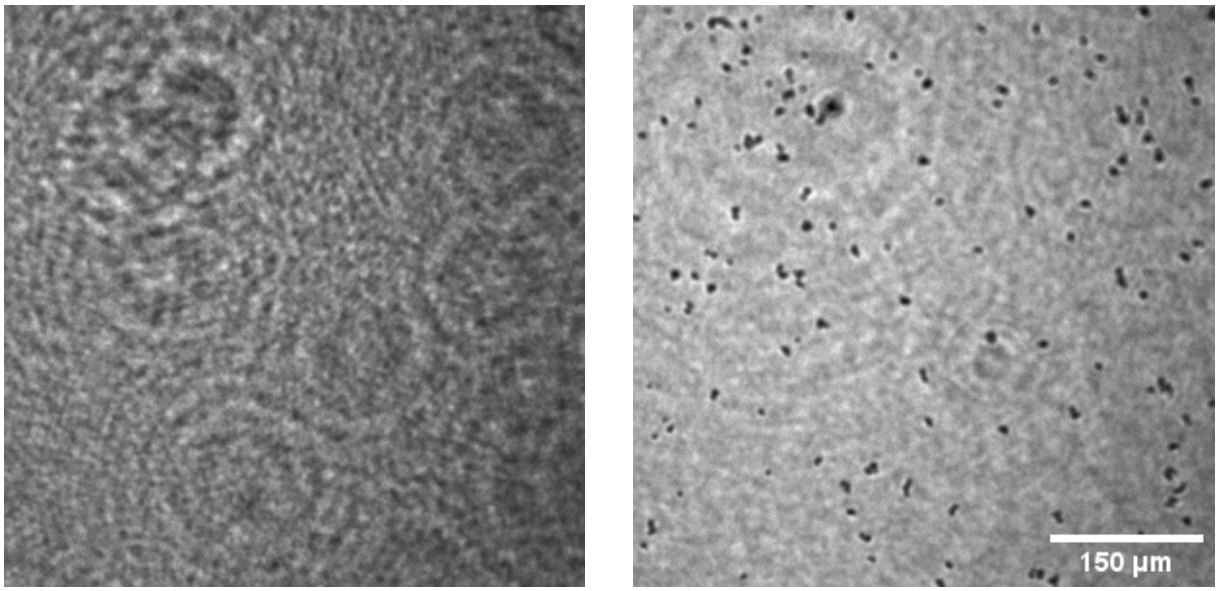
3 Návrh a implementace zařízení

Cílem návrhu bylo vytvoření robustního a dostupného zobrazovacího zařízení bez využití čoček, které bude dosahovat rozlišení dostatečného pro pozorování buněk kvasinek ($3-4\,\mu m$). Za tímto účelem byla z řady různých způsobů implementace vybrána varianta s LED diodou, barevným filtrem a metalickou pinhole (bodovou štěrbinou), které dohromady tvoří zdroj světla požadovaných vlastností. Vzorek je umístěn v on-chip konfiguraci (v blízkosti senzoru), která umožňuje použití zdroje světla s menšími nároky na koherenci a maximální šířku zorného pole. Pro záznam obrazu byl použit kamerový modul Raspberry-Pi Camera V2 s odmontovanou zobrazovací čočkou a senzorem s velikostí pixelu $1.12\,\mu m$ a Bayerovým filtrem. Implementace rekonstrukčního algoritmu byla provedena v jazyce Python a vizualizována na Raspberry Pi.

[1] studentka bakalářského studijního programu Kybernetika a řídící technika, obor Automatické řízení a robotika, e-mail: annadedo@students.zcu.cz

V první fázi byl řešen návrh geometrických parametrů zařízení pro 3D tisk s ohledem na vlastnosti dostupných optických prvků (velikost pinhole, spektrální šířka filtru, střední vlnová délka diody). Optické vlastnosti zdroje a geometrické rozmístění prvků určují dosažitelné rozlišení, které je omezeno časovou a prostorovou prostorovou koherencí a také velikostí pixelu (vzorkováním). Teoreticky bylo toto rozlišení omezeno na $3.34\,\mu m$, především vlivem konstrukce senzoru a poměrně velké vzdálenosti vzorku od senzoru ($4\,mm$). Toto rozlišení bylo přibližně ověřeno i experimentálně na vzorku kvasinek.

V druhé fázi bylo řešeno zpracování obrazu a rekonstrukční algoritmus. Data ze senzoru byla rozdělena na informace z jednotlivých pixelů Bayerovy mřížky pro odstranění demosaicing artefaktů a data z každého čtvrtého pixelu (zeleného) byla využita jako vstupní informace pro rekonstrukci. Pro rekonstrukci byla zvolena metoda úhlového spektra, kdy je záznam 2D-Fourierovou transformací přenesen do Fourierovy oblasti, kde je zpětně propagován konvolucí s Fourierovým obrazem impulzní funkce popisující propagaci referenčního vlnění. Nakonec je inverzní Fourierovou transformací získán komplexní popis vlnění ve zvolené vzdálenosti od senzoru a posléze zobrazena jeho amplituda.



(a) Hologram **(b)** Rekonstrukce ve vzdálenosti $5400\,\mu m$

Obrázek 1: Zobrazení kvasinek - hologram a rekonstrukce

4 Aplikace v biologii

Jak zmiňují Ozcan A. a McLeod E. (2016), digitální holografie díky svým vlastnostem (hloubkové rozlišení, šířka zorného pole, ...) nabízí mnoho aplikací, zejména pro sledování a detekci pohybujících se částic, zobrazování vzorků velkého objemu nebo cytometrické aplikace.

Literatura

Dědová A., *Application of CMOS Sensors in Biology*. Bakalářská práce. Plzeň, Západočeská univerzita v Plzni, 2022.

Ozcan A., McLeod E., Lensless Imaging and Sensing. *Annual Review of Biomedical Engineering*, vol. 18, pp. 77-102, 2016.