

水下微生物的三维数字全息探测

刘惠萍 于佳* 王添 杨宇 王金城

中国海洋大学物理系, 山东 青岛 266100

摘要 为了有效地探测海水中微生物的分布情况, 搭建了水中微生物的数字全息探测系统, 具有原位、无干扰、动态、三维探测等特点。该系统的记录光路基于同轴全息术, 并在此基础上引入显微镜头放大系统。实验中采用科学级 CCD 记录数字全息图, 分析了数字再现算法, 通过计算机编程计算, 得到不同景深处微生物的再现像, 再现结果可达到毫米量级以下的精度。实验证明, 数字全息技术用于水中微生物的图像化立体探测是高效可行的。

关键词 全息术; 数字全息; 微生物探测; 边缘提取; 海洋微生物

中图分类号 TB877 文献标识码 A doi: 10.3788/LOP51.020901

Digital Holographic Three-Dimensional Sensing and Imaging for Aquatic Species

Liu Huiping Yu Jia Wang Tian Yang Yu Wang Jincheng

Department of Physics, Ocean University of China, Qingdao, Shandong 266100, China

Abstract The aim of this paper is to develop a digital holographic imaging (DHI) system, capable of capturing three-dimensional (3D) images of aquatic species, with the characteristics of in situ, non-interference, dynamic and 3D detection. The DHI system records the in-line holographic image with a scientific grade CCD, while a camera lens is used to magnify the holographic image. This optical field is retrieved by numerical algorithms, which enable the reconstruction of the field at different distances relative to the detector from a single hologram. Conclusion is drawn that digital holographic sensing and imaging is an appropriate and highly effective method for aquatic microorganism study.

Key words holography; digital holography; biological microorganisms sensing; edge extraction; marine microorganism

OCIS codes 090.1995; 090.5694; 040.1520

1 引言

海洋微生物生存活动的变化对整个海洋生态环境有着举足轻重的影响。微生物内环境与外环境之间物质与能量的交换速度很快, 而海洋生物对海洋环境有敏感的反应, 是海洋环境调查的重点内容之一, 因此海洋微生物的探测是海洋湖泊研究的关键问题之一, 而开发相应的研究工具是一项同等重要的问题。该类工具需要针对各种水中生物物种进行精确探测, 从而获取有关种群数量和结构的高分辨率、动态、包含时空特性的数据, 这些数据将应用于许多重要课题的研究, 如海岸线过度开发、污水和有毒物质污染、渔业过度捕捞、全球变暖等^[1]。在对海洋中的浮游生物进行调查、分析时, 传统的方法能得到微生物的种类和数量信息, 但会破坏海洋生物自然的空间位置分布, 而数字全息技术则可以记录下微生物的空间位置信息, 与传统方法形成有效互补, 能更全面地记录海水中微生物的生存状况, 用于更准确地研究分析海洋生态环境的即时情况。本文将数字全息的理论和方法应用于海水中微生物的探测, 以期开发一种新的水中微生物探测技术, 实现原位、无干扰、动态、三维的探测^[2]。

收稿日期: 2013-08-02; 收到修改稿日期: 2013-10-23; 网络出版日期: 2014-01-10

作者简介: 刘惠萍(1970—), 女, 硕士, 工程师, 主要从事激光全息方面的研究。E-mail: lhuiping@163.com

* 通信联系人。E-mail: yujia2008@ouc.edu.cn

2 数字全息图的记录与再现

数字全息图的实现包括全息图的记录和物光波再现两个过程。图1为同轴数字全息记录系统示意图,光源为半导体连续激光器,波长为532 nm。经过扩束准直的激光经水中微生物衍射后的光为物光,未经过微生物的光为参考光,两束光相交形成干涉。干涉光波到达CCD靶面,形成微生物的数字全息图记录在CCD上,存储于计算机中。系统使用的科学型CCD像素数为4096×4096,像素尺寸9 mm,作为全息图的记录介质,可记录较高质量的同轴和近同轴马赫-曾德尔(MZ)数字全息图^[3-4]。记录下来的全息图需通过计算机的数值计算以得到全息再现像。

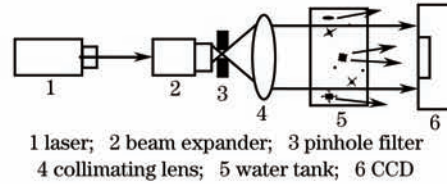


图1 同轴数字全息记录系统示意图

Fig.1 In-line digital holographic recording system

其数字全息的再现原理如下。设 $C(x,y)$ 为入射全息图的再现光波,则全息图的透射光场为

$$U(x,y) = t_b C + \beta' C |O|^2 + \beta' R^* C O + \beta' R C O^* = U_1 + U_2 + U_3 + U_4, \quad (1)$$

式中 O 为物光, O^* 为物光的共轭光, R 为参考光, R^* 为参考光的共轭光, C 为再现光, t_b 为透射率。 U_1 为参考光的直透部分; U_2 为物体各点的自相干以及物体各点之间的互相干项; 当参考光为平面光波时,除了一个常数因子外, U_3 给出原始物光波的准确再现,为一级衍射的虚像; U_4 给出物光波的-1级衍射共轭实像。数字全息图的再现是用计算机模拟物光再现,对光波场进行离散化处理,然后进行计算。常用的再现算法有菲涅耳法、角谱法、卷积法等^[5]。其中菲涅耳法是最简单快速的方法,但存在像平面采样间隔与再现距离成正比的缺点;后两种方法得到的像平面采样间隔与再现距离无关。角谱法无最小再现距离要求,因此常用于显微数字全息再现,而卷积法存在最小再现距离,但是计算过程更简单。本文为同时兼顾再现图像的质量和计算速度,以求更适宜于海洋原位实时探测,选择卷积法来进行再现。该方法中,(1)式中 U_4 项实像光波场可表示为

$$u_z(x',y') = \frac{\exp(jkz_r)}{j\lambda z_r} \iint I(x,y) r(x,y) \frac{\exp\left[jk\sqrt{z_r^2 + (x'-x)^2 + (y'-y)^2}\right]}{\sqrt{z_r^2 + (x'-x)^2 + (y'-y)^2}} dx dy, \quad (2)$$

引入脉冲相应函数 $h_z(x,y) = \frac{\exp\left(jk\sqrt{z_0^2 + x^2 + y^2}\right)}{j\lambda\sqrt{z_0^2 + x^2 + y^2}}$, 则(2)式可表示为

$$u_z(x',y') = [I(x',y')r(x',y')] \cdot h_z(x',y'). \quad (3)$$

式中 k 为波数, (x',y',z_r) 为距离全息图 $(x,y,0)$ 平面 z_r 处的坐标。根据卷积定理,(3)式可由一次傅里叶变换和一次逆傅里叶变换计算得出,即

$$u_z(x',y') = F^{-1}\{F[I(x,y)r(x,y)] \cdot H_z(u,v)\}. \quad (4)$$

对(4)式进行离散化计算,即可得到再现物光波场。

3 显微数字全息

由于待测微生物的尺寸在微米或亚微米量级,需要在数字全息记录的同时进行放大成像,因此有必要引入显微放大技术^[6]。在实验中引进了两种显微数字全息有实现方法: 1) 入射光使用扩束光,光路结构如图2所示。此光路易于形成小型化和集成化的仪器,实验表明,该光路稳定性好,特别适宜用于运动的非静止环境中海洋原位探测。2) 在CCD接收前加入光学镜头来实现干涉图样的放大,光路结构如图3所示。该光路的优点在于克服了同轴全息光路受较大颗粒影响的缺点,参考光未经过海水因此不会缺失,能够形成较好的干涉条纹。需要指出,两种方法中系统的放大倍率都不仅仅取决于所用镜头的放大倍率,而是由镜

头倍率和被探测物与 CCD 之间的距离共同决定的。另外,由于此时参考光不再是平行光,两种方法都需要根据参考光参数计算再现光参数,对原有的数字再现算法进行相应的调整。

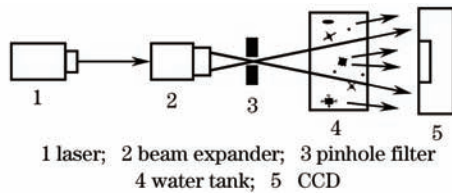


图2 扩束光入射的同轴数字全息记录系统

Fig.2 In-line digital holographic recording system with expanded

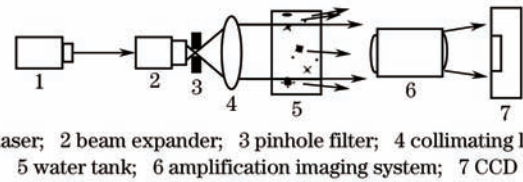


图3 加入放大镜头的同轴数字全息记录系统

Fig.3 In-line digital holographic recording system with amplification lens

4 实验结果和分析

对比两种显微数字全息系统发现,以上两种系统都实现了微生物的图像和三维空间位置的获取,从图4可以看出海水中微生物的清晰图像。获取的信息包含它们的三维立体空间分布,在不同景深处的微生物再现时,清晰在焦的位置不同,因此,可以通过边缘识别和目标提取来获取每一个微生物的坐标。

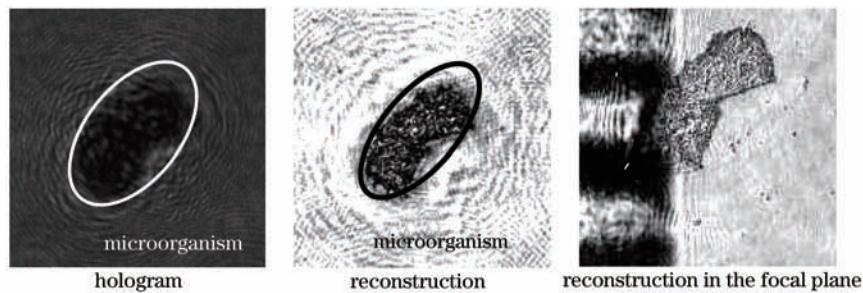


图4 海水微生物的图像

Fig.4 Images of marine microorganisms

为了确定微生物的大小,在数字全息光路上加了标尺,图5是加标尺后的微生物数字全息图及其再现图。从图中可以看出微生物1的宽度约为0.2 mm,长度约为0.5 mm。

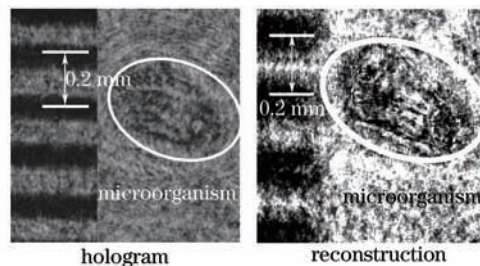


图5 加标尺海水微生物图像

Fig.5 Images of marine microorganisms with scales

此外还拍摄到三叶翼篮虫的数字全息图及不同位置的再现图,如图6所示。

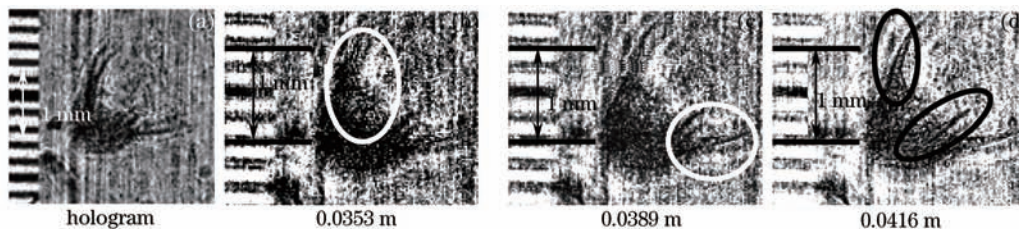


图6 三叶翼篮虫的数字全息图及不同位置的再现图

Fig.6 Digital hologram of *Pterocanium trilobum* and reconstruction results with different distances

从图6可以得知三叶翼篮虫大小在1.6~1.8 mm之间,在实验中得到的三叶翼篮虫是立体的,在 $d=$

0.0353、0.0389、0.0416 m三个再现位置处,三叶翼篮虫不同部分得到了清晰像。

5 结 论

实验结果表明,对水中动态的微生物可以进行显微放大结合数字全息探测,目前初步的系统最小分辨率以达数十微米,基本验证了本方法的可行性。但该方法仍存在很大不足,光学系统仍需完善,最小分辨率需扩展至亚微米量级,同时再现图像质量有待提高。但将基于同轴全息的数字显微技术用于探测海水中的微生物,无疑开创了一种新的水中微生物探测技术。数字全息拍摄的微生物不仅记录了微生物的基本形态,同时还记录了微生物的三维信息,使目标微生物更易于辨认。实现了真正原位、无干扰、动态、三维的探测,对于研究分析海洋生态环境的情况有着深远的意义。

参 考 文 献

- 1 Qian Shuben, Liu Dongyan, Sun Ping. Phycology[M]. Qingdao: Ocean University of China Press, 2005. 285-405.
钱树本, 刘东艳, 孙平. 海藻学[M]. 青岛: 中国海洋大学出版社, 2005. 285-405.
- 2 Han Zhengying, Yu Jia, Wang Jincheng, *et al.*. The research of under water bubble field on digital holography[J]. Optical Technique, 2010, 36(4): 618-621.
韩正英, 于佳, 王金城, 等. 基于全息术中气泡场获取方法的研究[J]. 光学技术, 2010, 36(4): 618-621.
- 3 Chen Jiabi, Sun Xianyu. The Principle and Application of Optical Information Technology[M]. Beijing: Higher Education Press, 2002. 119-120.
陈家璧, 苏显渝. 光信息技术原理与应用[M]. 北京: 高等教育出版社, 2002. 119-120.
- 4 Christoph W, Sönke S, Wolfgang O, *et al.*. Digital recording and numerical reconstruction of lensless Fourier holograms in optical metrology[J]. Appl Opt, 1999, 38(22): 4812-4819.
- 5 Liu Chen, Li Yinzhu, Li Liangyu, *et al.*. A new way to eliminate the zero-order image in digital holography[J]. Chinese J Lasers, 2001, 28(11): 1024-1026.
刘诚, 李银柱, 李良钰, 等. 数字全息测量技术中消除零级衍射像的方法[J]. 中国激光, 2001, 28(11): 1024-1026.
- 6 Pedrini G, Fröning P, Fessler H, *et al.*. In-line digital holographic interferometry[J]. Appl Opt, 1998, 37(26): 6262-6269.