

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第5444530号
(P5444530)

(45) 発行日 平成26年3月19日(2014.3.19)

(24) 登録日 平成26年1月10日(2014.1.10)

(51) Int. Cl. F I
GO2B 21/00 (2006.01) GO2B 21/00
GO3H 1/04 (2006.01) GO3H 1/04
GO3H 1/08 (2006.01) GO3H 1/08

請求項の数 20 (全 37 頁)

(21) 出願番号 特願2012-523912 (P2012-523912)
 (86) (22) 出願日 平成23年7月7日(2011.7.7)
 (86) 国際出願番号 PCT/JP2011/065531
 (87) 国際公開番号 W02012/005315
 (87) 国際公開日 平成24年1月12日(2012.1.12)
 審査請求日 平成24年12月28日(2012.12.28)
 (31) 優先権主張番号 特願2010-155024 (P2010-155024)
 (32) 優先日 平成22年7月7日(2010.7.7)
 (33) 優先権主張国 日本国(JP)

(73) 特許権者 513099603
 公立大学法人兵庫県立大学
 兵庫県神戸市西区学園西町8-2-1
 (74) 代理人 100084375
 弁理士 板谷 康夫
 (72) 発明者 佐藤 邦弘
 兵庫県姫路市書写2167 兵庫県立大学
 姫路書写キャンパス内
 審査官 堀井 康司

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ホログラフィック顕微鏡、微小被写体のホログラム画像記録方法、高分解能画像再生用ホログラム作成方法、および画像再生方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

ホログラフィック顕微鏡であって、
 球面波光(LまたはL2)を照明光として用いて微小被写体を照明して微小被写体のオフアキシホログラム(I_{OR})を取得し、前記オフアキシホログラム(I_{OR})から複素振幅インラインホログラム(J_{OL})を生成して記録する画像記録部と、
 前記画像記録部によって記録された前記複素振幅インラインホログラム(J_{OL})から画像を再生する画像再生部と、を備え、
 前記画像記録部は、
 コヒーレント光を放射する光源と、
 照明光、参照光、および物体光の伝播を行う光学系と、
 参照光および物体光の光強度を記録する受光素子と、
 前記光源と前記光学系とが作るインライン球面波光(L)とオフアキシ参照光(R)との干渉縞(I_{LR})を前記受光素子で記録し、前記記録した干渉縞(I_{LR})に空間周波数フィルタリングを適用して前記オフアキシ参照光(R)を記録した複素振幅インラインホログラム(J_{LR})を求める参照光波取得部と、
 前記光源と前記光学系とによって、前記インライン球面波光(L)と同じ焦点を持つ球面波光(LまたはL2)を照明光として用いて微小被写体を照明し、その微小被写体から放たれる物体光(O)を、前記オフアキシ参照光(R)を用いて前記受光素子により記録したオフアキシホログラム(I_{OR})に、空間周波数フィルタリングを適用して複素

振幅オフアクシスホログラム (J_{OR}) を求める複素振幅取得部と、を備え、

前記複素振幅取得部で求めた複素振幅オフアクシスホログラム (J_{OR}) のデータを前記参照光波取得部で取得した複素振幅インラインホログラム (J_{LR}) のデータによって除算処理することにより前記複素振幅オフアクシスホログラム (J_{OR}) から参照光 (R) 成分を除去した複素振幅インラインホログラム (J_{OL}) を生成して記録することを特徴とするホログラフィック顕微鏡。

【請求項 2】

前記画像再生部は、

前記複素振幅インラインホログラム (J_{OL}) の空間サンプリング間隔を細分化すると共に、細分化によって生じた新たなサンプリング点に対してデータ補間を行って実質的に画素数を増やす画素数増大部と、

10

前記画素数増大部によって画素数を増やした複素振幅インラインホログラム (J_{OL}) に対し、前記インライン球面波光 (L または $L2$) の予め求めた位相 (ϕ_L) を用いて空間ヘテロダイン変調を行うことによりインライン球面波光 (L または $L2$) 成分を除去してホログラム面における物体光を表す物体光複素振幅インラインホログラム (g) を生成する空間変調部と、

前記物体光複素振幅インラインホログラム (g) をフーリエ変換した結果である変換関数 (G) を求め、平面波の分散関係を満たす空間周波数 (u, v, w) および前記変換関数 (G) を用いて前記物体光 (O) を平面波展開する平面波展開部と、を備えてホログラム面またはその前後の任意位置における光波 (h) を生成することを特徴とする請求項 1

20

【請求項 3】

前記平面波展開部は、

前記物体光複素振幅インラインホログラム (g) を複数枚の微小ホログラム (g_i) に分割する分割部と、

前記分割部によって得られた各微小ホログラム (g_i) を互いに重ね合わせて合成微小ホログラム (g) を生成する合成部と、を備え、

前記合成部によって生成された合成微小ホログラム (g) をフーリエ変換することにより前記変換関数 (G) を求めることを特徴とする請求項 2 に記載のホログラフィック顕微鏡。

30

【請求項 4】

前記画像再生部は、

前記複素振幅インラインホログラム (J_{OL}) を分割して複数枚の微小ホログラムを生成した後に前記各微小ホログラムの空間サンプリング間隔を細分化すると共に、細分化によって生じた新たなサンプリング点に対してデータ補間を行って実質的に画素数を増やした微小ホログラムを生成するか、または、前記複素振幅インラインホログラム (J_{OL}) の空間サンプリング間隔を細分化すると共に、細分化によって生じた新たなサンプリング点に対してデータ補間を行って実質的に画素数を増やした後に前記画素数を増やした複素振幅インラインホログラム (J_{OL}) を複数枚の微小ホログラム (g_i') に分割する分割補間部と、

40

前記分割補間部によって画素数を増やした各微小ホログラム (g_i') に対し、前記インライン球面波光 (L または $L2$) の予め求めた位相 (ϕ_L) を用いて空間ヘテロダイン変調を行うことによりインライン球面波光 (L) 成分を除去し、ホログラム面における物体光を表す、前記各微小ホログラム (g_i') の各々に対する物体光複素振幅インラインホログラム (g_j) を生成する空間変調部と、

前記空間変調部によって得られた各物体光複素振幅インラインホログラム (g_j) を互いに重ね合わせて合成微小ホログラム (g) を生成するホログラム合成部と、

前記ホログラム合成部によって生成された合成微小ホログラム (g) をフーリエ変換した結果である変換関数 (G) を求め、平面波の分散関係を満たす空間周波数 (u, v, w) および前記変換関数 (G) を用いて前記物体光 (O) を平面波展開することにより、ホ

50

로그램面またはその前後の任意位置における画像を生成する画像生成部と、を備えることを特徴とする請求項1に記載のホログラフィック顕微鏡。

【請求項5】

前記画像再生部は、

前記複素振幅インラインホログラム (J_{OL}) に対し、前記インライン球面波光 (L または $L2$) の予め求めた位相 (ϕ_L) を用いて空間ヘテロダイン変調を行うことによりインライン球面波光 (L または $L2$) 成分を除去してホログラム面における物体光を表す物体光複素振幅インラインホログラム (g) を生成する空間変調部と、

前記物体光複素振幅インラインホログラム (g) を複数枚の微小ホログラム (g_i) に分割する分割部と、

前記インライン球面波光 (L または $L2$) の焦点位置から前記各微小ホログラム (g_i) の中心に向かう平行光 (L_i) の位相 (ϕ_i) を用いて前記各微小ホログラム (g_i) 毎に空間ヘテロダイン変調を行うことにより空間周波数を下げた低周波数化微小ホログラム ($g_i \cdot \exp(-i\phi_i)$) を生成する周波数低減部と、

前記各低周波数化微小ホログラム ($g_i \cdot \exp(-i\phi_i)$) をそれぞれ離散フーリエ変換した結果である分割変換関数 (G'_i) を求めるフーリエ変換部と、

前記各分割変換関数 (G'_i) に空間ヘテロダイン変調を行うことにより空間周波数を上げた分割変換関数 ($G'_i \cdot \exp(i\phi_i)$) を生成し、これらの全体から構成される変換関数 (G) および平面波の分散関係を満たす空間周波数 (u, v, w) を用いて前記物体光 (O) を平面波展開することにより、ホログラム面またはその前後の任意位置における画像を生成する画像生成部と、を備えることを特徴とする請求項1に記載のホログラフィック顕微鏡。

【請求項6】

前記画像再生部は、

前記複素振幅インラインホログラム (J_{OL}) に対し、前記インライン球面波光 (L または $L2$) の予め求めた位相 (ϕ_L) を用いて空間ヘテロダイン変調を行うことによりインライン球面波光 (L または $L2$) 成分を除去してホログラム面における物体光を表す物体光複素振幅インラインホログラム (g) を生成する空間変調部と、

前記物体光複素振幅インラインホログラム (g) を複数枚の微小ホログラム (g_i) に分割する分割部と、

前記各微小ホログラム (g_i) をそれぞれ離散フーリエ変換した結果である分割変換関数 (G_i) を求めるフーリエ変換部と、

前記各分割変換関数 (G_i) の全体から構成される変換関数 (G) および平面波の分散関係を満たす空間周波数 (u, v, w) を用いて前記物体光 (O) を平面波展開することにより、ホログラム面またはその前後の任意位置における画像を生成する画像生成部と、を備えることを特徴とする請求項1に記載のホログラフィック顕微鏡。

【請求項7】

前記画像記録部は、パルスレーザをホログラム取得用のコヒーレント光源として用いることを特徴とする請求項1乃至請求項6のいずれか一項に記載のホログラフィック顕微鏡。

【請求項8】

前記画像記録部は、互いに波長領域の異なる複数のレーザを用いて前記オフアクシスホログラム (I_{OR}) を取得することにより、カラーの複素振幅インラインホログラム (J_{OL}) を生成して記録し、

前記画像再生部は、前記カラーの複素振幅インラインホログラム (J_{OL}) からカラーの画像を再生することを特徴とする請求項7に記載のホログラフィック顕微鏡。

【請求項9】

微小被写体のホログラム画像記録方法において、

インライン球面波光 (L) とオフアクシス参照光 (R) とが作る干渉縞 (I_{LR}) を受光素子で記録し、記録した干渉縞 (I_{LR}) に空間周波数フィルタリングを適用して前記

10

20

30

40

50

オフアクシス参照光 (R) を記録した複素振幅インラインホログラム (J_{LR}) を求める参照光波取得工程と、

前記インライン球面波光 (L) と同じ焦点を持つ球面波光 (L または L_2) を照明光として用いて微小被写体を照明し、その微小被写体から放たれる物体光 (O) を前記オフアクシス参照光 (R) を用いてオフアクシスホログラム (I_{OR}) として前記受光素子によって記録する撮像工程と、

前記オフアクシスホログラム (I_{OR}) に空間周波数フィルタリングを適用して複素振幅オフアクシスホログラム (J_{OR}) を求める複素振幅取得工程と、

前記複素振幅取得工程で求めた複素振幅オフアクシスホログラム (J_{OR}) のデータを前記参照光波取得工程で取得した複素振幅インラインホログラム (J_{LR}) のデータによって除算処理することにより前記複素振幅オフアクシスホログラム (J_{OR}) から参照光 (R) 成分を除去した複素振幅インラインホログラム (J_{OL}) を生成して記録する画像記録工程と、を備えることを特徴とする微小被写体のホログラム画像記録方法。

10

【請求項 10】

前記オフアクシス参照光 (R) は球面波であることを特徴とする請求項 9 に記載の微小被写体のホログラム画像記録方法。

【請求項 11】

前記物体光 (O) は、前記照明された微小被写体の透過光であることを特徴とする請求項 9 または請求項 10 に記載の微小被写体のホログラム画像記録方法。

【請求項 12】

前記物体光 (O) は、前記照明された微小被写体からの反射光であることを特徴とする請求項 9 または請求項 10 に記載の微小被写体のホログラム画像記録方法。

20

【請求項 13】

インライン球面波光 (L または L_2) を用いて求められた微小被写体の複素振幅インラインホログラム (J_{OL}) から分解能を高めた画像を再生するための高分解能画像再生用ホログラム作成方法において、

前記複素振幅インラインホログラム (J_{OL}) の空間サンプリング間隔を細分化すると共に、細分化によって生じた新たなサンプリング点に対してデータ補間を行って実質的に画素数を増やす画素数増大工程と、

前記画素数増大工程によって画素数を増やした複素振幅インラインホログラム (J_{OL}) に対し、前記インライン球面波光 (L または L_2) の予め求めた位相 (ϕ_L) を用いて空間ヘテロダイン変調を行うことによりインライン球面波光 (L または L_2) 成分を除去してホログラム面における物体光を表す物体光複素振幅インラインホログラム (g) を生成する空間変調工程と、を備えることを特徴とする高分解能画像再生用ホログラム作成方法。

30

【請求項 14】

前記画素数増大工程において、3次式によるデータ補間、または sinc 関数によるデータ補間を行うことを特徴とする請求項 13 に記載の高分解能画像再生用ホログラム作成方法。

【請求項 15】

インライン球面波光 (L または L_2) を用いて求められた微小被写体の複素振幅インラインホログラム (J_{OL}) から画像を再生する画像再生方法において、

前記複素振幅インラインホログラム (J_{OL}) の空間サンプリング間隔を細分化すると共に、細分化によって生じた新たなサンプリング点に対してデータ補間を行って実質的に画素数を増やす画素数増大工程と、

前記画素数増大工程によって画素数を増やした複素振幅インラインホログラム (J_{OL}) に対し、前記インライン球面波光 (L または L_2) の予め求めた位相 (ϕ_L) を用いて空間ヘテロダイン変調を行うことによりインライン球面波光 (L または L_2) 成分を除去してホログラム面における物体光を表す物体光複素振幅インラインホログラム (g) を生成する空間変調工程と、

40

50

前記物体光複素振幅インラインホログラム (g) をフーリエ変換した結果である変換関数 (G) を求め、平面波の分散関係を満たす空間周波数 (u, v, w) および前記変換関数 (G) を用いて前記物体光 (O) を平面波展開する平面波展開工程と、を備えてホログラム面またはその前後の任意位置における光波 (h) を生成することを特徴とする画像再生方法。

【請求項 16】

前記平面波展開工程は、

前記物体光複素振幅インラインホログラム (g) を複数枚の微小ホログラム (g_i) に分割する分割工程と、

前記分割工程によって得られた各微小ホログラム (g_i) を互いに重ね合わせて合成微小ホログラム (g) を生成する合成工程と、を備え、

前記合成工程によって生成された合成微小ホログラム (g) をフーリエ変換することにより前記変換関数 (G) を求めることを特徴とする請求項 15 に記載の画像再生方法。

【請求項 17】

インライン球面波光 (L または L_2) を用いて求められた微小被写体の複素振幅インラインホログラム (J_{OL}) から画像を再生する画像再生方法において、

前記複素振幅インラインホログラム (J_{OL}) を分割して複数枚の微小ホログラムを生成した後に前記各微小ホログラムの空間サンプリング間隔を細分化すると共に、細分化によって生じた新たなサンプリング点に対してデータ補間を行って実質的に画素数を増やした微小ホログラムを生成するか、または、前記複素振幅インラインホログラム (J_{OL}) の空間サンプリング間隔を細分化すると共に、細分化によって生じた新たなサンプリング点に対してデータ補間を行って実質的に画素数を増やした後に前記画素数を増やした複素振幅インラインホログラム (J_{OL}) を複数枚の微小ホログラム (g_i') に分割する分割補間工程と、

前記分割補間工程によって画素数を増やした各微小ホログラム (g_i') に対し、前記インライン球面波光 (L または L_2) の予め求めた位相 (ϕ_L) を用いて空間ヘテロダイン変調を行うことによりインライン球面波光 (L) 成分を除去し、ホログラム面における物体光を表す、前記各微小ホログラム (g_i') の各々に対する物体光複素振幅インラインホログラム (g_j) を生成する空間変調工程と、

前記空間変調工程によって得られた各物体光複素振幅インラインホログラム (g_j) を互いに重ね合わせて合成微小ホログラム (g) を生成するホログラム合成工程と、

前記ホログラム合成工程によって生成された合成微小ホログラム (g) をフーリエ変換した結果である変換関数 (G) を求め、平面波の分散関係を満たす空間周波数 (u, v, w) および前記変換関数 (G) を用いて前記物体光 (O) を平面波展開することにより、ホログラム面またはその前後の任意位置における画像を生成する画像生成工程と、を備えることを特徴とする画像再生方法。

【請求項 18】

前記画素数増大工程において、3次式によるデータ補間、または sinc 関数によるデータ補間を行うことを特徴とする請求項 15 乃至請求項 17 のいずれか一項に記載の画像再生方法。

【請求項 19】

インライン球面波光 (L または L_2) を用いて求められた微小被写体の複素振幅インラインホログラム (J_{OL}) から画像を再生する画像再生方法において、

前記複素振幅インラインホログラム (J_{OL}) に対し、前記インライン球面波光 (L または L_2) の予め求めた位相 (ϕ_L) を用いて空間ヘテロダイン変調を行うことによりインライン球面波光 (L または L_2) 成分を除去してホログラム面における物体光を表す物体光複素振幅インラインホログラム (g) を生成する空間変調工程と、

前記物体光複素振幅インラインホログラム (g) を複数枚の微小ホログラム (g_i) に分割する分割工程と、

前記インライン球面波光 (L または L_2) の焦点位置から前記各微小ホログラム (g_i)

10

20

30

40

50

)の中心に向かう平行光(L_i)の位相(ϕ_i)を用いて前記各微小ホログラム(g_i)毎に空間ヘテロダイン変調を行うことにより空間周波数を下げた低周波数化微小ホログラム($g_i \cdot \exp(-i\phi_i)$)を生成する周波数低減工程と、

前記各低周波数化微小ホログラム($g_i \cdot \exp(-i\phi_i)$)をそれぞれ離散フーリエ変換した結果である分割変換関数(G'_i)を求めるフーリエ変換工程と、

前記各分割変換関数(G'_i)に空間ヘテロダイン変調を行うことにより空間周波数を上げた分割変換関数($G'_i \cdot \exp(i\phi_i)$)を生成し、これらの全体から構成される変換関数(G)および平面波の分散関係を満たす空間周波数(u, v, w)を用いて前記物体光(O)を平面波展開することにより、ホログラム面またはその前後の任意位置における画像を生成する画像生成工程と、を備えることを特徴とする画像再生方法。

10

【請求項20】

インライン球面波光(L または L_2)を用いて求められた微小被写体の複素振幅インラインホログラム(J_{OL})から画像を再生する画像再生方法において、

前記複素振幅インラインホログラム(J_{OL})に対し、前記インライン球面波光(L または L_2)の予め求めた位相(ϕ_L)を用いて空間ヘテロダイン変調を行うことによりインライン球面波光(L または L_2)成分を除去してホログラム面における物体光を表す物体光複素振幅インラインホログラム(g)を生成する空間変調工程と、

前記物体光複素振幅インラインホログラム(g)を複数枚の微小ホログラム(g_i)に分割する分割工程と、

前記各微小ホログラム(g_i)をそれぞれ離散フーリエ変換した結果である分割変換関数(G_i)を求めるフーリエ変換工程と、

20

前記各分割変換関数(G_i)の全体から構成される変換関数(G)および平面波の分散関係を満たす空間周波数(u, v, w)を用いて前記物体光(O)を平面波展開することにより、ホログラム面またはその前後の任意位置における画像を生成する画像生成工程と、を備えることを特徴とする画像再生方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、球面波光を照明光とするオフアクシスホログラフィに基づくホログラフィック顕微鏡、微小被写体のホログラム画像記録方法、高分解能画像再生用ホログラム作成方法、および画像再生方法に関する。

30

【背景技術】

【0002】

近年、従来の光学顕微鏡を改善するものとして、デジタルホログラフィを用いるホログラフィック顕微鏡が種々提案されている(例えば、非特許文献1参照)。通常の光学顕微鏡は、焦点深度が極めて浅いので観察点の位置が変化すると結像レンズの焦点距離を調節する必要があり、3次元空間中で頻りに移動したり、運動したりしている微生物などの微小被写体を光学顕微鏡によって観察することはあまり容易ではない。ホログラフィック顕微鏡では、観察物体からの物体光の振幅および位相の空間分布を受光素子を用いてデジタル的にホログラムとして記録し、記録したホログラムを用いて、任意の焦点距離における観察物体の画像を数値計算によって再生することができる。また、ホログラフィック顕微鏡は、物体光の位相分布を再生できるので、光透過物体の定量的分析に応用することができる。

40

【0003】

ところで、ホログラフィック顕微鏡は、被写体と受光素子の間に結像レンズを挟むものと、結像レンズを使わないものとに大別される。結像レンズを使って微小被写体の3次元像を受光素子の手前で拡大することにより、拡大3次元像をホログラムとして記録でき、この記録ホログラムから高分解能画像が容易に得られる。しかしながら、結像レンズを使って像を拡大すると、記録可能な空間の奥行きが制限されたり、拡大像の焦点深度が浅くなったりする。また、拡大像にはレンズによる何がしかの歪みやボケが生じるので、正し

50

い形状の画像が得られない。さらに、通常、レンズはレンズ境界における空気との屈折率差によって機能するので、空気と異なる、例えば水中ではそのまま用いることができない。つまり、顕微鏡の結像レンズは、空気中の被写体やカバーガラスで覆われた厚さの薄い被写体の観察を前提にして設計されているので、空気と異なる、例えば水の中の深い位置に存在する被写体を、そのようなレンズを通して記録すると、歪やボケのある像となる。

【0004】

結像レンズを使わないものとして、球面波光を用いるホログラフィック顕微鏡が知られている（例えば、非特許文献2、特許文献1参照）。これらのホログラフィック顕微鏡は、ピンホールから広がる1つの球面波光を被写体に照射し、非散乱透過光と散乱透過光とが作る干渉縞を記録する、Gabor型インラインホログラフィ方式の透過型顕微鏡である。このホログラフィック顕微鏡は、結像レンズを使わないで開口数（NA）の大きい物体光を記録するので、奥行きのある空間に存在する微小被写体の3次元像をホログラムとして記録でき、また、水のような媒質中の微小被写体の記録も可能になる。また、特許文献1は、大開口数ホログラムから無歪高分解能画像を再生するために、ヘルムホルツ方程式の厳密解を用いて無歪画像を再生する方法を示している。

10

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0005】

【非特許文献1】イチロウ ヤマグチ (Ichirou Yamaguchi)、ジュン・イチ・カトウ (Jun-ichi Kato)、ソーゴ・オータ (Sohgo Ohta)、およびジュン・ミズノ (Jun Mizuno) 著 「イメージ フォーメーション イン フェイズ-シフティング デジタル ホログラフィ アンド アプリケーション トウ マイクロスコピー (Image formation in phase-shifting digital holography and application to microscopy)」、アプライド・オプティクス (APPLIED OPTICS) Vol. 40, No. 34, pp 6177 - 6186 (2001)

20

【非特許文献2】フウ (W. Xu)、ジェリコ (M. H. Jericho)、マイナーツアーゲン (I. A. Meinertzhagen)、およびクロイツエル (H. J. Kreuzer) 著 「デジタル イン-ライン ホログラフィ オブ マイクロスフェアズ (Digital in-line holography of microspheres)」、アプライド・オプティクス (APPLIED OPTICS) Vol. 41, No. 25, pp 5367 - 5375 (2002)

30

【特許文献】

【0006】

【特許文献1】米国特許第6411406号明細書

【発明の開示】

【0007】

しかしながら、上述したような1つの球面波光を用いるホログラフィック顕微鏡においては、結像レンズを使用しないで済むものの、被写体に散乱されずに透過した光を参照光として用い、被写体で散乱される光を物体光として用いるので、観測可能な被写体は、空気中や媒質中に散在する微粒子のような被写体や光の透過率がきわめて1に近く厚さの薄い光透過物体に限定される。また、インライン方式のホログラフィであるので、物体光が0次光および共役光と重なって再生される。このため、再生画像の画質が劣化するだけでなく、再生物体光の位相分布を正確に求めることは困難である。

40

【0008】

ところで、ホログラフィック顕微鏡を用いて高速にホログラムを記録することができれば、微小被写体の動画を記録することができる。また、ホログラムから高速に画像を再生することができれば、リアルタイムで微小被写体の動きを観察することができる。奥行きのある空間を動いている微小被写体を高速かつ高分解能で記録するには、開口数（NA）の大きい複素振幅インラインホログラムをワンショット記録すればよい。ところが、一般

50

に、複素振幅インラインホログラムの記録方法として、位相シフトデジタルホログラフィ技術が用いられており、この技術は位相をシフトして複数枚のホログラムを逐次記録して1枚の複素振幅ホログラムを記録するのでワンショット記録とはならない。

【0009】

また、大開口数ホログラムから無歪な高分解能画像を再生するためには、ヘルムホルツ方程式の厳密解を用いて大開口数複素振幅インラインホログラムから高分解能な物体光すなわち物体光分布を再生する必要がある。また、受光素子の画素間隔は、通常、光波長よりも大きいので、そのような受光素子で記録したホログラムからそのまま画像を再生すると、再生像の分解能は受光素子の画素間隔によって制限されるので光波長程度の高分解能を達成できない、という問題がある。なお、上述の特許文献1に示されている画像再生方法では、この問題を解決するために非線形な座標変換を導入しているが、この座標変換の導入によって画像再生の計算量が増大するので、画像再生の高速化は困難である。

10

【0010】

本発明は、上記課題を解消するものであって、簡単な構成により、開口数の大きい複素振幅インラインホログラムをワンショットでかつ結像レンズを用いることなく記録できる微小被写体のホログラム画像記録方法を提供し、受光素子の画素間隔による制限を超える分解能かつ歪みのない画像を再生できる高分解能画像再生用ホログラム作成方法を提供し、サンプリング点数の増加に伴う計算量の増大に対応することができる画像再生方法を提供し、さらにこれらの方法を用いて高速にホログラムを記録し再生して微小被写体の動きを観察することができるホログラフィック顕微鏡を提供することを目的とする。

20

【0011】

上記課題を達成するために、本発明のホログラフィック顕微鏡は、球面波光 (L または $L2$) を照明光として用いて微小被写体を照明して微小被写体のオフアクシスホログラム (I_{OR}) を取得し、オフアクシスホログラム (I_{OR}) から複素振幅インラインホログラム (J_{OL}) を生成して記録する画像記録部と、画像記録部によって記録された複素振幅インラインホログラム (J_{OL}) から画像を再生する画像再生部と、を備え、画像記録部は、コヒーレント光を放射する光源と、照明光、参照光、および物体光の伝播を行う光学系と、参照光および物体光の光強度を記録する受光素子と、光源と光学系とが作るインライン球面波光 (L) とオフアクシス参照光 (R) との干渉縞 (I_{LR}) を受光素子で記録し、記録した干渉縞 (I_{LR}) に空間周波数フィルタリングを適用してオフアクシス参照光 (R) を記録した複素振幅インラインホログラム (J_{LR}) を求める参照光波取得部と、光源と光学系とによって、インライン球面波光 (L) と同じ焦点を持つ球面波光 (L または $L2$) を照明光として用いて微小被写体を照明し、その微小被写体から放たれる物体光 (O) を、オフアクシス参照光 (R) を用いて受光素子により記録したオフアクシスホログラム (I_{OR}) に、空間周波数フィルタリングを適用して複素振幅オフアクシスホログラム (J_{OR}) を求める複素振幅取得部と、を備え、複素振幅取得部で求めた複素振幅オフアクシスホログラム (J_{OR}) のデータを参照光波取得部で取得した複素振幅インラインホログラム (J_{LR}) のデータによって除算処理することにより複素振幅オフアクシスホログラム (J_{OR}) から参照光 (R) 成分を除去した複素振幅インラインホログラム (J_{OL}) を生成して記録することを特徴とする。

30

40

【0012】

このホログラフィック顕微鏡において、画像再生部は、複素振幅インラインホログラム (J_{OL}) の空間サンプリング間隔を細分化すると共に、細分化によって生じた新たなサンプリング点に対してデータ補間を行って実質的に画素数を増やす画素数増大部と、画素数増大部によって画素数を増やした複素振幅インラインホログラム (J_{OL}) に対し、インライン球面波光 (L または $L2$) の予め求めた位相 (ϕ_L) を用いて空間ヘテロダイン変調を行うことによりインライン球面波光 (L または $L2$) 成分を除去してホログラム面における物体光を表す物体光複素振幅インラインホログラム (g) を生成する空間変調部と、物体光複素振幅インラインホログラム (g) をフーリエ変換した結果である変換関数 (G) を求め、平面波の分散関係を満たす空間周波数 (u, v, w) および変換関数 (G)

50

)を用いて物体光(O)を平面波展開する平面波展開部と、を備えてホログラム面またはその前後の任意位置における光波(h)を生成するものとすることができる。

【0013】

上記平面波展開部は、物体光複素振幅インラインホログラム(g)を複数枚の微小ホログラム(g_i)に分割する分割部と、分割部によって得られた各微小ホログラム(g_i)を互いに重ね合わせて合成微小ホログラム()を生成する合成部と、を備え、合成部によって生成された合成微小ホログラム()をフーリエ変換することにより変換関数(G)を求めるものとすることができる。

【0014】

このホログラフィック顕微鏡において、画像再生部は、複素振幅インラインホログラム(J_{OL})を分割して複数枚の微小ホログラムを生成した後に各微小ホログラムの空間サンプリング間隔を細分化すると共に、細分化によって生じた新たなサンプリング点に対してデータ補間を行って実質的に画素数を増やした微小ホログラムを生成するか、または、複素振幅インラインホログラム(J_{OL})の空間サンプリング間隔を細分化すると共に、細分化によって生じた新たなサンプリング点に対してデータ補間を行って実質的に画素数を増やした後に画素数を増やした複素振幅インラインホログラム(J_{OL})を複数枚の微小ホログラム(g_i')に分割する分割補間部と、分割補間部によって画素数を増やした各微小ホログラム(g_i')に対し、インライン球面波光(LまたはL2)の予め求めた位相(ϕ_L)を用いて空間ヘテロダイン変調を行うことによりインライン球面波光(L)成分を除去し、ホログラム面における物体光を表す、各微小ホログラム(g_i')の各々
20
に対する物体光複素振幅インラインホログラム(g_j)を生成する空間変調部と、空間変調部によって得られた各物体光複素振幅インラインホログラム(g_j)を互いに重ね合わせて合成微小ホログラム()を生成するホログラム合成部と、ホログラム合成部によって生成された合成微小ホログラム()をフーリエ変換した結果である変換関数(G)を求め、平面波の分散関係を満たす空間周波数(u, v, w)および変換関数(G)を用いて物体光(O)を平面波展開することにより、ホログラム面またはその前後の任意位置における画像を生成する画像生成部と、を備えるものとすることができる。

【0015】

このホログラフィック顕微鏡において、画像再生部は、複素振幅インラインホログラム(J_{OL})に対し、インライン球面波光(LまたはL2)の予め求めた位相(ϕ_L)を用いて空間ヘテロダイン変調を行うことによりインライン球面波光(LまたはL2)成分を除去してホログラム面における物体光を表す物体光複素振幅インラインホログラム(g)を生成する空間変調部と、物体光複素振幅インラインホログラム(g)を複数枚の微小ホログラム(g_i)に分割する分割部と、インライン球面波光(LまたはL2)の焦点位置から各微小ホログラム(g_i)の中心に向かう平行光(L_i)の位相(ϕ_i)を用いて各微小ホログラム(g_i)毎に空間ヘテロダイン変調を行うことにより空間周波数を下げた低周波数化微小ホログラム($g_i \cdot \exp(-i\phi_i)$)を生成する周波数低減部と、各低周波数化微小ホログラム($g_i \cdot \exp(-i\phi_i)$)をそれぞれ離散フーリエ変換した結果である分割変換関数(G'_i)を求めるフーリエ変換部と、各分割変換関数(G'_i)に空間ヘテロダイン変調を行うことにより空間周波数を上げた分割変換関数($G'_i \cdot \exp(i\phi_i)$)を生成し、これらの全体から構成される変換関数(G)および平面波の分散関係を満たす空間周波数(u, v, w)を用いて物体光(O)を平面波展開することにより、ホログラム面またはその前後の任意位置における画像を生成する画像生成部と、を備えるものとする
30
ことができる。

【0016】

このホログラフィック顕微鏡において、画像再生部は、複素振幅インラインホログラム(J_{OL})に対し、インライン球面波光(LまたはL2)の予め求めた位相(ϕ_L)を用いて空間ヘテロダイン変調を行うことによりインライン球面波光(LまたはL2)成分を除去してホログラム面における物体光を表す物体光複素振幅インラインホログラム(g)を生成する空間変調部と、物体光複素振幅インラインホログラム(g)を複数枚の微小ホ
40
40

로그램 (g_i) に分割する分割部と、各微小ホログラム (g_i) をそれぞれ離散フーリエ変換した結果である分割変換関数 (G_i) を求めるフーリエ変換部と、各分割変換関数 (G_i) の全体から構成される変換関数 (G) および平面波の分散関係を満たす空間周波数 (u, v, w) を用いて前記物体光 (O) を平面波展開することにより、ホログラム面またはその前後の任意位置における画像を生成する画像生成部と、を備えるものとすることができる。

【0017】

このホログラフィック顕微鏡において、画像記録部は、パルスレーザをホログラム取得用のコヒーレント光源として用いることが好ましい。

【0018】

このホログラフィック顕微鏡において、画像記録部は、互いに波長領域の異なる複数のレーザを用いてオフアクシスホログラム (I_{OR}) を取得することにより、カラーの複素振幅インラインホログラム (J_{OL}) を生成して記録し、画像再生部は、カラーの複素振幅インラインホログラム (J_{OL}) からカラーの画像を再生するものとすることができる。

【0019】

本発明の微小被写体のホログラム画像記録方法は、インライン球面波光 (L) とオフアクシス参照光 (R) とが作る干渉縞 (I_{LR}) を受光素子で記録し、記録した干渉縞 (I_{LR}) に空間周波数フィルタリングを適用してオフアクシス参照光 (R) を記録した複素振幅インラインホログラム (J_{LR}) を求める参照光波取得工程と、インライン球面波光 (L) と同じ焦点を持つ球面波光 (L または L_2) を照明光として用いて微小被写体を照明し、その微小被写体から放たれる物体光 (O) をオフアクシス参照光 (R) を用いてオフアクシスホログラム (I_{OR}) として受光素子によって記録する撮像工程と、オフアクシスホログラム (I_{OR}) に空間周波数フィルタリングを適用して複素振幅オフアクシスホログラム (J_{OR}) を求める複素振幅取得工程と、複素振幅取得工程で求めた複素振幅オフアクシスホログラム (J_{OR}) のデータを参照光波取得工程で取得した複素振幅インラインホログラム (J_{LR}) のデータによって除算処理することにより複素振幅オフアクシスホログラム (J_{OR}) から参照光 (R) 成分を除去した複素振幅インラインホログラム (J_{OL}) を生成して記録する画像記録工程と、を備えることを特徴とする。

【0020】

この微小被写体のホログラム画像記録方法において、オフアクシス参照光 (R) は球面波であることが好ましい。

【0021】

この微小被写体のホログラム画像記録方法において、物体光 (O) は、照明された微小被写体の透過光であってもよい。

【0022】

この微小被写体のホログラム画像記録方法において、物体光 (O) は、照明された微小被写体からの反射光であってもよい。

【0023】

本発明の高分解能画像再生用ホログラム作成方法は、インライン球面波光 (L または L_2) を用いて求められた微小被写体の複素振幅インラインホログラム (J_{OL}) から分解能を高めた画像を再生するための高分解能画像再生用ホログラム作成方法において、複素振幅インラインホログラム (J_{OL}) の空間サンプリング間隔を細分化すると共に細分化して成るサンプリング点に対してデータ補間を行って実質的に画素数を増やす画素数増大工程と、画素数増大工程によって画素数を増やした複素振幅インラインホログラム (J_{OL}) に対し、インライン球面波光 (L または L_2) の予め求めた位相 (ϕ_L) を用いて空間ヘテロダイン変調を行うことによりインライン球面波光 (L または L_2) 成分を除去してホログラム面における物体光を表す物体光複素振幅インラインホログラム (g) を生成する空間変調工程と、を備えることを特徴とする。

【0024】

10

20

30

40

50

上記画素数増大工程において、3次式によるデータ補間、または sinc 関数によるデータ補間を行うことが好ましい。

【0025】

本発明の画像再生方法は、インライン球面波光 (L または $L2$) を用いて求められた微小被写体の複素振幅インラインホログラム (J_{OL}) から画像を再生する画像再生方法において、複素振幅インラインホログラム (J_{OL}) の空間サンプリング間隔を細分化すると共に、細分化によって生じた新たなサンプリング点に対してデータ補間を行って実質的に画素数を増やす画素数増大工程と、画素数増大工程によって画素数を増やした複素振幅インラインホログラム (J_{OL}) に対し、インライン球面波光 (L または $L2$) の予め求めた位相 (ϕ_L) を用いて空間ヘテロダイン変調を行うことによりインライン球面波光 (L または $L2$) 成分を除去してホログラム面における物体光を表す物体光複素振幅インラインホログラム (g) を生成する空間変調工程と、物体光複素振幅インラインホログラム (g) をフーリエ変換した結果である変換関数 (G) を求め、平面波の分散関係を満たす空間周波数 (u, v, w) および変換関数 (G) を用いて物体光 (O) を平面波展開する平面波展開工程と、を備えてホログラム面またはその前後の任意位置における光波 (h) を生成することを特徴とする。

10

【0026】

この画像再生方法において、平面波展開工程は、物体光複素振幅インラインホログラム (g) を複数枚の微小ホログラム (g_i) に分割する分割工程と、分割工程によって得られた各微小ホログラム (g_i) を互いに重ね合わせて合成微小ホログラム (g_c) を生成する合成工程と、を備え、合成工程によって生成された合成微小ホログラム (g_c) をフーリエ変換することにより変換関数 (G) を求めるものとすることができる。

20

【0027】

本発明の画像再生方法は、インライン球面波光 (L または $L2$) を用いて求められた微小被写体の複素振幅インラインホログラム (J_{OL}) から画像を再生する画像再生方法において、複素振幅インラインホログラム (J_{OL}) を分割して複数枚の微小ホログラムを生成した後に各微小ホログラムの空間サンプリング間隔を細分化すると共に、細分化によって生じた新たなサンプリング点に対してデータ補間を行って実質的に画素数を増やした微小ホログラムを生成するか、または、複素振幅インラインホログラム (J_{OL}) の空間サンプリング間隔を細分化すると共に、細分化によって生じた新たなサンプリング点に対してデータ補間を行って実質的に画素数を増やした後に画素数を増やした複素振幅インラインホログラム (J_{OL}) を複数枚の微小ホログラム (g_i') に分割する分割補間工程と、分割補間工程によって画素数を増やした各微小ホログラム (g_i') に対し、インライン球面波光 (L または $L2$) の予め求めた位相 (ϕ_L) を用いて空間ヘテロダイン変調を行うことによりインライン球面波光 (L) 成分を除去し、ホログラム面における物体光を表す、各微小ホログラム (g_i') の各々に対する物体光複素振幅インラインホログラム (g_j) を生成する空間変調工程と、空間変調工程によって得られた各物体光複素振幅インラインホログラム (g_j) を互いに重ね合わせて合成微小ホログラム (g_c) を生成するホログラム合成工程と、ホログラム合成工程によって生成された合成微小ホログラム (g_c) をフーリエ変換した結果である変換関数 (G) を求め、平面波の分散関係を満たす空間周波数 (u, v, w) および変換関数 (G) を用いて物体光 (O) を平面波展開することにより、ホログラム面またはその前後の任意位置における画像を生成する画像生成工程と、を備えることを特徴とする。

30

40

【0028】

上記画素数増大工程において、3次式によるデータ補間、または sinc 関数によるデータ補間を行うことが好ましい。

【0029】

本発明の画像再生方法は、インライン球面波光 (L または $L2$) を用いて求められた微小被写体の複素振幅インラインホログラム (J_{OL}) から画像を再生する画像再生方法において、複素振幅インラインホログラム (J_{OL}) に対し、インライン球面波光 (L また

50

は L_2)の予め求めた位相(ϕ_L)を用いて空間ヘテロダイン変調を行うことによりインライン球面波光(L または L_2)成分を除去してホログラム面における物体光を表す物体光複素振幅インラインホログラム(g)を生成する空間変調工程と、物体光複素振幅インラインホログラム(g)を複数枚の微小ホログラム(g_i)に分割する分割工程と、インライン球面波光(L または L_2)の焦点位置から各微小ホログラム(g_i)の中心に向かう平行光(L_i)の位相(ϕ_i)を用いて各微小ホログラム(g_i)毎に空間ヘテロダイン変調を行うことにより空間周波数を下げた低周波数化微小ホログラム($g_i \cdot \exp(-i\phi_i)$)を生成する周波数低減工程と、各低周波数化微小ホログラム($g_i \cdot \exp(-i\phi_i)$)をそれぞれ離散フーリエ変換した結果である分割変換関数(G'_i)を求めるフーリエ変換工程と、各分割変換関数(G'_i)に空間ヘテロダイン変調を行うこと

10

【0030】

本発明の画像再生方法は、インライン球面波光(L または L_2)を用いて求められた微小被写体の複素振幅インラインホログラム(J_{OL})から画像を再生する画像再生方法において、複素振幅インラインホログラム(J_{OL})に対し、インライン球面波光(L または L_2)の予め求めた位相(ϕ_L)を用いて空間ヘテロダイン変調を行うことによりインライン球面波光(L または L_2)成分を除去してホログラム面における物体光を表す物体光複素振幅インラインホログラム(g)を生成する空間変調工程と、物体光複素振幅インラインホログラム(g)を複数枚の微小ホログラム(g_i)に分割する分割工程と、各微小ホログラム(g_i)をそれぞれ離散フーリエ変換した結果である分割変換関数(G_i)を求めるフーリエ変換工程と、各分割変換関数(G_i)の全体から構成される変換関数(G)および平面波の分散関係を満たす空間周波数(u, v, w)を用いて物体光(O)を平面波展開することにより、ホログラム面またはその前後の任意位置における画像を生成する画像生成工程と、を備えることを特徴とする。

20

【0031】

本発明のホログラフィック顕微鏡、微小被写体のホログラム画像記録方法、高分解能画像再生用ホログラム作成方法、および画像再生方法によれば、照明光として球面波光を用いて記録したオフアクシスホログラムに、空間ヘテロダイン変調の処理を含む除算処理によって参照光成分を除去するので、開口数の大きい複素振幅インラインホログラムをワンショットで記録できる。また、結像レンズを用いないので、画像に歪みがなく、受光素子の画素間隔による分解能の制限を超える画像拡大ができ、微小ホログラムへの分割と合成によってサンプリング点数の縮約を行うので計算量を削減して高速に画像を再生できる。

30

【図面の簡単な説明】

【0032】

【図1】図1は本発明の一実施形態に係る微小被写体のホログラム画像記録方法を示すフローチャートである。

【図2】図2は同記録方法を光が透過する微小被写体に適用するためのホログラム画像記録装置の模式的構成図である。

40

【図3】図3(a)は同装置によるホログラム画像記録の様子を受光素子への入射光について示す側面図であり、(b)は同画像記録の際に行う参照光の記録の様子を受光素子への入射光について示す側面図である。

【図4】図4は同記録方法における物体光の記録の際に行われる空間周波数フィルタリングを説明するための空間周波数スペクトルの図である。

【図5】図5は同記録方法における参照光の記録の際に行われる空間周波数フィルタリングを説明するための空間周波数スペクトルの図である。

【図6】図6は同記録方法を光が透過しない微小被写体に適用するためのホログラム画像記録装置の模式的構成図である。

50

【図 7】図 7 (a) は同装置によるホログラム画像記録の様子を受光素子への入射光について示す側面図であり、(b) は同画像記録の際に行う参照光の記録の様子を受光素子への入射光について示す側面図である。

【図 8】図 8 は本発明の一実施形態に係る高分解能画像再生用ホログラム作成方法を示すフローチャートである。

【図 9】図 9 (a) は同作成方法において処理対象とするホログラムの部分図であり、(b) は同ホログラムにおける空間サンプリング間隔を増やす様子を示すホログラムの部分図である。

【図 10】図 10 は本発明の一実施形態に係る画像再生方法を示すフローチャートである。

10

【図 11】図 11 (a) は本発明の一実施形態に係る他の画像再生方法に適用される再生用ホログラムの概念図であり、(b) は同ホログラムを分割して重ね合わせた概念図であり、(c) は(b) のホログラムを合成したホログラムの概念図である。

【図 12】図 12 は同再生方法が適用される単一の再生用ホログラムと再生像の概念図である。

【図 13】図 13 は同再生方法の原理を説明するために複数の再生用ホログラムと再生された複数の像とを示す概念図である。

【図 14】図 14 は同再生方法を示すフローチャートである。

【図 15】図 15 は本発明の一実施形態に係る更にさらに他の画像再生方法を示すフローチャートである。

20

【図 16】図 16 は本発明の一実施形態に係るホログラフィック顕微鏡のブロック構成図である。

【図 17】図 17 は同顕微鏡の動作を示すフローチャートである。

【図 18】図 18 (a) は同顕微鏡を用いて記録したテストターゲットの干渉縞の画像であり、(b) は同顕微鏡を用いて記録した参照光の干渉縞の画像である。

【図 19】図 19 (a) は図 18 (a) (b) に示した干渉縞から作成したインラインホログラムの画像であり、(b) は同インラインホログラムから作成した高分解能画像再生用ホログラムの画像である。

【図 20】図 20 は図 19 (b) に示したホログラムによる再生像の画像である。

【図 21】図 21 は図 20 に示した再生像を拡大した画像である。

30

【図 22】図 22 (a) は同顕微鏡を用いて記録し再生したトンボの翅の画像であり、(b) ~ (e) は同トンボの翅の一部を 0 . 1 mm ずつ異なる焦点距離のもとで再生した画像である。

【図 23】図 23 は同記録方法を光が透過する微小被写体に適用するためのホログラム画像記録装置の他の例を示す模式的構成図である。

【図 24】図 24 (a) はガラス板で覆ったテストターゲットの像を同顕微鏡を用いてホログラムに記録し、ガラス板の存在を考慮しないでホログラムから再生した画像であり、(b) は同ホログラムをガラス板の存在を考慮に入れて再生した画像である。

【図 25】図 25 (a) は水が入ったガラス容器内を遊泳しているゾウリムシの像を同顕微鏡を用いて記録した 1 枚のホログラムから深さ奥行き 0 . 6 9 mm の位置を遊泳しているゾウリムシに焦点を合わせて再生した画像であり、(b) は奥行き 1 . 4 9 mm の位置を遊泳しているゾウリムシに焦点を合わせて再生した画像である。

40

【図 26】図 26 は本発明の一実施形態に係る高速化した画像再生方法を示すフローチャートである。

【図 27】図 27 は同画像再生方法を画素数増大工程を含む再生方法と比較して示す概念説明図である。

【図 28】図 28 は本発明の一実施形態に係る他の高速化した画像再生方法を示すフローチャートである。

【図 29】図 29 は同画像再生方法の概念説明図である。

【図 30】図 30 は本発明の一実施形態に係るホログラフィック顕微鏡の他の例を示すブ

50

ロック構成図である。

【図 3 1】図 3 1 は本発明の一実施形態に係るホログラフィック顕微鏡のさらに他の例を示すブロック構成図である。

【発明を実施するための形態】

【 0 0 3 3 】

以下、本発明の一実施形態に係る、球面波光を照明光とするオフアクシスホログラフィに基づく微小被写体のホログラム画像記録方法、高分解能画像再生用ホログラム作成方法、画像再生方法、およびホログラフィック顕微鏡について、図面を参照して説明する。

【 0 0 3 4 】

(微小被写体のホログラム画像記録方法)

図 1 乃至図 7 は微小被写体のホログラム画像記録方法(本記録方法ともいう)について示し、これらの図のうち図 2、図 3 は微小被写体が光透過性の場合を示し、図 6、図 7 は微小被写体が光を反射する場合を示す。このホログラム画像記録方法は、図 1 に示すように、参照光 R の情報を記録する参照光波取得工程(S 1)と、物体光 O の情報を記録する撮像工程(S 2)および複素振幅取得工程(S 3)と、物体光 O の情報から参照光 R の情報を除去した複素振幅インラインホログラムを生成して記録する画像記録工程(S 4)と、を備えている。ここで、この画像記録方法を実施するための装置構成を説明し、その後画像記録の各工程を詳細に説明する。なお、本明細書において、「波面」の用語は、「等位相面」の意味の他に、ある面に到達した「光波」の意味としても用いられている。

【 0 0 3 5 】

本記録方法の実施に用いられる記録装置 10 は、図 2 に示すように、光源としてのレーザ 20 と、光の伝播を行う光学系 2 と、光が透過する微小被写体 3 からの光を参照光とともに受光して光強度を記録する受光素子 4 と、光強度の信号を処理して記憶する計算機 5 と、を備えている。なお、微小被写体 3 の微小とは、被写体そのものが微小という意味ではなく、画像を記録する対象領域が微小という意味である。光学系 2 は、レーザ 20 からの光の径を拡大するレンズ 21, 22 と、拡大した光を分岐するビームスプリッタ BS と、各光の向きを変えるミラー M1, M2 と、各ミラー M1, M2 からの光を収束させる集光レンズ 23, 24 とを備えている。集光レンズ 24 の先には、さらにミラー M3 が備えられている。受光素子 4 は、例えば CCD である。ミラー M1 と集光レンズ 23 を経由した光は、集光レンズ 23 によって球面波に変換され、インライン球面波光 L として受光素子 4 に向けて投光される。微小被写体 3 は、集光レンズ 23 と受光素子 4 との間に置かれて、背後から照明される。インライン球面波光 L の焦点 P (球面波の中心点) は、集光レンズ 23 と受光素子 4 との間に存在する。本図の例では、焦点 P が微小被写体 3 を透過した直後の位置に設定されている。なお、焦点 P の位置は、微小被写体 3 の位置またはその前後の任意の位置に設定することができるが、照明された領域が大きくなり過ぎないようにする必要がある。これは、例えば、後述の図 4 に示すように、スペクトルが重ならないようにするためであり、スペクトルが重ならないことにより空間周波数フィルタリングが可能となる。

【 0 0 3 6 】

インライン球面波光 L が、照明光として微小被写体 3 に照射されると、微小被写体 3 によって位相や進行方向などが変化して成る物体光 O と、素通りしたインライン球面波光 L とが混じった光(L + O)となって、受光素子 4 に受光される。ミラー M2、集光レンズ 24、およびミラー M3 を経由した光は、集光レンズ 24 によって、上記の焦点 P の近くに焦点を有する球面波に変換され、オフアクシス参照光 R として受光素子 4 に向けて投光される。図 3 (a) (b) は受光素子 4 の近傍の要部を示し、図 3 (b) では、微小被写体 3 が置かれていない状態を示している。また、図 3 (b) に示されている焦点 P と受光素子 4 との間の距離 l は、光学系 2 の設定によって決定される量であり、インライン球面波光 L の位相 ϕ_L の導出に用いられる(後述)。

【 0 0 3 7 】

ここで、画像記録を数式表現によって説明する。微小被写体のホログラム画像記録には

10

20

30

40

50

、照明光、参照光、物体光などが関与する。そこで、受光素子4の表面における位置座標 (x, y) を用いて、物体光 $O(x, y, t)$ 、オフアクシス参照光 $R(x, y, t)$ 、およびインライン球面波光 $L(x, y, t)$ を、それぞれ一般的な形で、下式(1)(2)(3)のように表す。これらの光は、互いにコヒーレントな角周波数 ω の光である。各式中の係数、引数、添え字などは、一般的な表現と意味に解釈される。また、以下の各式において、位置座標 (x, y) の明示などは、適宜省略される。

【0038】

【数1】

$$O(x, y, t) = O_0(x, y) \exp[i(\phi_O(x, y) - \omega t)] \quad (1) \quad 10$$

$$R(x, y, t) = R_0(x, y) \exp[i(\phi_R(x, y) - \omega t)] \quad (2)$$

$$L(x, y, t) = L_0(x, y) \exp[i(\phi_L(x, y) - \omega t)] \quad (3)$$

【0039】

上式における $O(x, y, t)$ と $R(x, y, t)$ とが作る合成光の光強度 $I_{OR}(x, y)$ 、および $L(x, y, t)$ と $R(x, y, t)$ とが作る合成光の光強度 $I_{LR}(x, y)$ は、それぞれ下式(4)(5)で表される。

【0040】

【数2】

$$I_{OR}(x, y) = O_0^2 + R_0^2 + O_0 R_0 \exp[i(\phi_O - \phi_R)] + O_0 R_0 \exp[-i(\phi_O - \phi_R)] \quad (4) \quad 20$$

$$I_{LR}(x, y) = L_0^2 + R_0^2 + L_0 R_0 \exp[i(\phi_L - \phi_R)] + L_0 R_0 \exp[-i(\phi_L - \phi_R)] \quad (5)$$

【0041】

上式(4)(5)において、右辺の第1項は物体光 O またはインライン球面波光 L の光強度成分、第2項はオフアクシス参照光 R の光強度成分である。また、各式の第3項と第4項は、それぞれ物体光 O またはインライン球面波光 L がオフアクシス参照光 R によって変調されて作られる直接像成分と共役像成分とを表す。

【0042】

空間周波数フィルタリングを適用して式(4)(5)の第3項のみを取り出すと、物体光を記録した複素振幅ホログラム J_{OR} とインライン球面波光を記録した複素振幅ホログラム J_{LR} が、それぞれ下式(6)(7)のように求められる。

【0043】

【数3】

$$J_{OR}(x, y) = O_0(x, y) R_0(x, y) \exp[i(\phi_O(x, y) - \phi_R(x, y))] \quad (6) \quad 30$$

$$J_{LR}(x, y) = L_0(x, y) R_0(x, y) \exp[i(\phi_L(x, y) - \phi_R(x, y))] \quad (7)$$

【0044】

空間周波数フィルタリングは、各式(4)(5)を空間周波数空間における表現にするフーリエ変換と、バンドパスフィルタ W によるフィルタリングと、その後の、逆フーリエ変換とによって行われる。図4は $I_{OR}(x, y)$ に対する空間周波数フィルタリングの様子を示し、図5は $I_{LR}(x, y)$ に対する空間周波数フィルタリングの様子を示す。オフアクシス参照光 R として球面波を用いると、空間周波数空間において、光強度成分および共役像成分から、直接像成分を分離することが容易となるが、参照光 R が必ずしも球面波でなくても直接像成分を分離することができる。なお、受光素子4における画素が画素ピッチ d で2次元配列されているとすると、受光素子4を用いて記録可能なホログラムの最高空間周波数帯域幅は、空間周波数 $f_s = 1/d$ となる。

【0045】

上記の式(6)を式(7)で割る除算処理を行うと、式(6)からオフ軸参照光Rの振幅 R_0 と位相 ϕ_R を取り除くことができ、インライン球面波光Lに対する複素振幅インラインホログラム J_{OL} が下式(8)のように求められる。

【0046】

【数4】

$$J_{OL}(x,y) = (O_0(x,y)/L_0(x,y)) \exp[i(\phi_O(x,y) - \phi_L(x,y))] \quad (8)$$

【0047】

次に、上述の各式と図1における画像記録の各工程との関連を説明する。参照光波取得工程(S1)は、上式(7)の複素振幅ホログラム J_{LR} を取得して記録する工程である。具体的には、図3(b)に示すように、微小被写体3を配置しない状態で、インライン球面波光Lとオフ軸参照光Rとが作る干渉縞 I_{LR} を受光素子4で記録する。なお、オフ軸参照光Rが球面波であると仮定して説明するが、一般的には、球面波に限定されず、任意波面の光波を用いることができる。記録された干渉縞 I_{LR} は、計算機5によって、空間周波数フィルタリングが適用され、オフ軸参照光Rを記録した複素振幅インラインホログラム J_{LR} とされる。

10

【0048】

撮像工程(S2)は、上式(4)のオフ軸ホログラム I_{OR} を記録する工程である。具体的には、図3(a)に示すように、微小被写体3を配置した状態で、インライン球面波光Lを照明光として用いて微小被写体3を裏面側から照明し、その微小被写体3の表面側から放たれる物体光Oをオフ軸参照光Rを用いてオフ軸ホログラム I_{OR} として受光素子4によって記録する。

20

【0049】

複素振幅取得工程(S3)は、上式(4)のオフ軸ホログラム I_{OR} に空間周波数フィルタリングを適用して、上式(6)の複素振幅オフ軸ホログラム J_{OR} を求める工程である。この工程は、計算機5において、ソフトウェア処理によって行われる。

【0050】

画像記録工程(S4)は、上式(8)の複素振幅インラインホログラム J_{OL} を生成して記録する工程である。具体的には、計算機5におけるソフトウェア処理によって、式(6)を式(7)で割ること、すなわち、複素振幅オフ軸ホログラム(J_{OR})のデータを参照光波取得工程で取得した複素振幅インラインホログラム(J_{LR})のデータによって除算処理することによって行われる。この割り算の処理は、空間ヘテロダイン変調の処理であると共に強度に対する処理でもあり、複素振幅オフ軸ホログラム J_{OR} から、参照光R成分(強度と位相の両方)を除去する処理となっている。この複素振幅インラインホログラム J_{OL} が、微小被写体のホログラム画像記録方法によって、最終的に記録されるホログラム画像である。なお、上記のことから分かるように、参照光波取得工程(S1)で記録された参照光Rの情報(J_{LR})は、画像記録工程(S4)で使用されるので、参照光波取得工程(S1)は少なくとも画像記録工程(S4)よりも前に行えばよい。つまり、参照光波取得工程(S1)と、撮像工程(S2)および複素振幅取得工程(S3)とは、互いに順番を入れ替えることができる。

30

40

【0051】

次に、図6、図7により、微小被写体が反射する光を物体光とする場合、例えば、微小被写体が光が透過しない場合における微小被写体のホログラム画像記録方法を説明する。この場合に、照明光は反射光が物体光Oとなるように微小被写体を照明するので、インライン球面波光 $L(x, y, t)$ をそのまま照明光とすることはできない。しかしながら、上述した式(1)~(8)は、この場合においても、そのまま用いることができる。本記録方法を実施するための記録装置10は、図6に示すように、図2に示した記録装置10に類似して、レーザ20と、光学系2と、微小被写体3からの光を参照光とともに受光して光強度を記録する受光素子4と、光強度の信号を処理して記憶する計算機5と、を備え

50

ている。光学系 2 は、拡径用のレンズ 2 1 , 2 2 と、拡径した光を分岐するビームスプリッタ B S と、一方の光の向きを変えるミラー M 4 , M 5 と、ミラー M 5 からの光を収束させる集光レンズ 2 3 と、他方の光を収束させる集光レンズ 2 4 とを備えている。集光レンズ 2 3 の先には、さらにハーフミラー H M が備えられている。受光素子 4 は、例えば C C D である。集光レンズ 2 3 は、光軸が受光素子 4 の受光面に平行となるように配置され、集光レンズ 2 4 は、光軸が受光素子 4 の受光面と垂直になるように配置されている。

【 0 0 5 2 】

ビームスプリッタ B S によって分岐された一方の光は、ミラー M 4 , M 5 と集光レンズ 2 3 を経由して球面波に変換され、インライン球面波光 L 2 として、ハーフミラー H M の前方に配置されている微小被写体 3 に向けて投光される。微小被写体 3 は、インライン球面波光 L 2 によって照明されて物体光 O を放射する。物体光 O は、ハーフミラー H M によって受光素子 4 に向けて反射され、受光素子 4 に受光される。インライン球面波光 L 2 の焦点 P (球面波の中心点) は、微小被写体 3 の直近手前側に設定されているが、その位置は特に限定されず、微小被写体 3 の背後側でもよい。ビームスプリッタ B S を直進した他方の光は、焦点 P のハーフミラー H M に関する鏡像点 P 0 (図 7 (b) 参照) の近くに焦点を結んだ後、オフアクシス参照光 R として受光素子 4 に向けて投光される。

【 0 0 5 3 】

図 7 (a) (b) は受光素子 4 の近傍の要部を示し、図 7 (b) では、微小被写体 3 が置かれていない状態を示している。また、図 7 (b) では、式 (5) の合成光の光強度 $I_{L R}(x, y)$ を得るために、照明光であるインライン球面波光 L 2 とは異なるインライン球面波光 L が用いられている。インライン球面波光 L は、インライン球面波光 L 2 と同じ焦点 P を有する球面波光であり、焦点 P に至る経路が互いに逆であるという点で、互いに異なる。しかしながら、インライン球面波光 L , L 2 のいずれも、ハーフミラー H M によって受光素子 4 に向けて反射されて受光素子 4 に受光される点で、互いに同じである。

【 0 0 5 4 】

本記録方法によると、インライン球面波光 L を記録したオフアクシスホログラム $I_{L R}$ から複素振幅ホログラム $J_{L R}$ を求めておけば、物体光 O を記録した複素振幅ホログラム $J_{O R}$ から、容易に複素振幅インラインホログラム $J_{O L}$ を求めることができる。この複素振幅インラインホログラム $J_{O L}$ は、結像レンズを用いていないので、記録画像にはレンズに起因する歪みは一切含まれてなく、従って、画像を拡大して再生する際に歪みが顕在化するという不具合も発生しない。すなわち、複素振幅インラインホログラム $J_{O L}$ は、無歪画像再生に用いることができる。本記録方法によると、干渉縞 $I_{L R}$ を記録するワンショットと、オフアクシスホログラム $I_{O R}$ を記録するワンショットとの 2 回のワンショット記録によって、複素振幅インラインホログラム $J_{O L}$ を求めて記録することができる。また、複素振幅ホログラム $J_{L R}$ は 1 回だけ求めておけばよく、実質的に複素振幅インラインホログラム $J_{O L}$ をワンショット記録することができる。また、本記録方法は、照明光としてインライン球面波光 L を用いており、さらに結像レンズを用いていないので、大開口数 (N A) の画像を記録することができる。また、本記録方法は、照明された微小被写体 3 の透過光、または照明された微小被写体 3 からの反射光のいずれを物体光 O とする場合にも適用することができる。

【 0 0 5 5 】

(高分解能画像再生用ホログラム作成方法)

図 8、図 9 (a) (b) は高分解能画像再生用ホログラム作成方法を示す。上述した微小被写体のホログラム画像記録方法によって記録された複素振幅インラインホログラム $J_{O L}$ は、インライン球面波光 L または L 2 を用いて、結像レンズを用いることなく求められている。従って、空間サンプリング間隔を細分化して光波長程度まで小さくするように画像を拡大しても歪みは発生しない。この高分解能画像再生用ホログラム作成方法は、図 8 に示すように、実質的に画素数を増やす画素数増大工程 (S 1 1) と、インライン球面波光 L または L 2 成分を除去した物体光複素振幅インラインホログラム g を生成する空間変調工程 (S 1 2) とを備えている。

【0056】

画素数増大工程(S11)では、まず、図9に示すように、受光素子4の画素ピッチdに対応する空間サンプリング間隔dを有する複素振幅インラインホログラム J_{OL} に対して、空間サンプリング間隔dを細分化して空間サンプリング間隔とする。その後、細分化によって生じた新たなサンプリング点に対してデータ補間を行って実質的に画素数を増やす。データ補間の方法として、画像処理における周知の3次式によるデータ補間やsinc関数によるデータ補間を用いることができる。データ補間としてsinc補間を用いれば、3次式を用いた補間に比べて数値計算に時間がかかるが、より正確な結果を得ることができる。複素振幅インラインホログラム J_{OL} に対してデータ補間によって画素数を増やした結果を複素振幅インラインホログラム K_{OL} とする。複素振幅インラインホログラム K_{OL} を表す式は、上式(8)における J_{OL} を K_{OL} に置き換えた式である。なお、受光素子4の画素ピッチdは、画素の配列方向(x,y方向)で互いに異なってよく、空間サンプリング間隔も画素の配列方向で互いに異なるものとすることができる。

10

【0057】

空間変調工程(S12)では、画素数増大工程(S11)によって画素数を増やした複素振幅インラインホログラム K_{OL} に対し、インライン球面波光LまたはL2の予め求めた位相 ϕ_L を用いて空間ヘテロダイン変調を行う。インライン球面波光Lの受光素子4の受光面における位相 $\phi_L(x,y)$ は、前述した図3(b)に示した距離と、光が球面波であることと、を用いて容易に関数式の形に求めることができる。また、インライン球面波光L2に対する位相 $\phi_L(x,y)$ も、前述した図7(b)に示した焦点Pから受光面までの光路に基づいて、インライン球面波光Lの場合と同様に、容易に関数式の形に求めることができる。位相 ϕ_L を用いる空間ヘテロダイン変調は、上述した式(8)(ただし J_{OL} を K_{OL} に置き換えた式)に、 $\exp(i\phi_L(x,y))$ を乗じることで実施される。この空間ヘテロダイン変調の結果、下式(9)に示す物体光複素振幅インラインホログラム $g(x,y)$ が得られる。

20

【0058】

【数5】

$$g(x,y) = (O_0(x,y)/L_0(x,y)) \exp(i\phi_0(x,y)) \quad (9)$$

30

【0059】

この物体光複素振幅インラインホログラム $g(x,y)$ は、受光素子4の受光面における物体光波面、すなわち、受光面の法線方向にz座標軸をとり、受光面の位置を $z=0$ としたときの $z=0$ における物体光の光波分布を表す。この物体光複素振幅インラインホログラム $g(x,y)$ は、画素数増大工程(S11)の処理を行わない場合のホログラムに較べて、上述の画素ピッチdと空間サンプリング間隔との比に基づいて、歪みなしで倍率d/倍に拡大された像、すなわち、分解能を高めた画像を再生することができる。

【0060】

ここで、空間サンプリング間隔について説明する。球面波照明光と球面波参照光とを用いて大開口数でホログラムを記録することにより、球面波照明光と非球面波参照光とを用いる場合よりも、空間周波数帯域を狭くすることができる。また、大開口数では、物体光を表す物体光複素振幅インラインホログラム $g(x,y)$ の空間周波数帯域は広がる。物体光複素振幅インラインホログラム $g(x,y)$ の空間変化は、ホログラム中心から離れるにつれて大きくなりホログラムの端で最大になる。ホログラムの開口数をNAとし、 $\text{sqr}(\ast)$ を \ast の平方根の関数としてパラメータ $K = \text{sqr}(1 + (1/NA)^2)$ および光波長を用いると、物体光複素振幅インラインホログラム $g(x,y)$ の最大空間周波数は、 $1/(K)$ で表される。そして、この広帯域の物体光複素振幅インラインホログラム $g(x,y)$ を離散値で表すためには、空間サンプリング間隔を $K/2$ 以下の値に設定する必要がある。また、狭い帯域の複素振幅インラインホログラム J_{OL} は、受光素子4の画素ピッチdで緩やかに変化するので、データ補間においては3次式を用

40

50

いた高速計算が可能である。

【 0 0 6 1 】

(画像再生方法)

図 1 0 は画像再生方法を示す。この画像再生方法は、上述した微小被写体のホログラム画像記録方法によって記録された複素振幅インラインホログラム J_{OL} から画像を再生する方法である。この画像再生方法では、図 1 0 に示すように、画素数増大工程 (S 2 1) および空間変調工程 (S 2 2) を経た後、平面波展開工程 (S 2 3) を行う。画素数増大工程 (S 2 1) と空間変調工程 (S 2 2) は、それぞれ上述の画素数増大工程 (S 1 1) および空間変調工程 (S 1 2) と同等の工程である。

【 0 0 6 2 】

平面波展開工程 (S 2 3) は、物体光複素振幅インラインホログラム g をフーリエ変換した結果である変換関数 G を求め、平面波の分散関係を満たす空間周波数 (u, v, w) および変換関数 G を用いて物体光 O を平面波展開する工程である。電磁波に関するヘルムホルツ方程式の厳密解として平面波がある。この厳密解である平面波を用いて、物体光 O を記録したホログラムを展開することによって、正確な光波面を再生することができる。そこで、まず、上式 (9) における $g(x, y)$ をフーリエ変換して、 $z = 0$ における変換関数 G を、下式 (1 0) のように求める。この変換関数 G は、物体光 O の空間周波数スペクトルである。

【 0 0 6 3 】

【 数 6 】

$$G(u, v) = \iint g(x, y) \exp[-i2\pi(ux + vy)] dx dy \quad (10)$$

【 0 0 6 4 】

次に、平面波の分散関係を満たす空間周波数 (u, v, w) および変換関数 G を用いて、下式 (1 1) のように、 $z = z_0$ における $x - y$ 平面上の物体光 O である光波 $h(x, y)$ を求めることができる。つまり、物体光 O の空間周波数スペクトルである変換関数 G の重み付けのもとで平面波を重ね合わせる (これを物体光 O の平面波展開という) ことにより、光波 $h(x, y)$ が求められる。また、 z_0 は正数に限らず任意の値とすることができる。なお、(u, v, w) における u, v はそれぞれ x, y 方向の空間周波数である。また、 z 方向の空間周波数 w は、下式 (1 2) に示すように、平面波の分散式から求められる。式 (1 2) における λ は光波長である。

【 0 0 6 5 】

【 数 7 】

$$h(x, y) = \iint G(u, v) \exp[i2\pi w(u, v)z_0] \exp[i2\pi(ux + vy)] du dv \quad (11)$$

$$w(u, v) = \sqrt{1/\lambda^2 - u^2 - v^2} \quad (12)$$

【 0 0 6 6 】

上述の式 (1 1) の光波 $h(x, y)$ は、受光素子 4 の受光面における境界条件 $g(x, y)$ を満たすヘルムホルツ方程式の厳密解である。この光波 $h(x, y)$ を、その絶対値の二乗 $|h(x, y)|^2$ によって各画素毎の光の強度を求めて、電子ディスプレイに画面表示することにより、平面波展開を用いた無歪高分解能の画像を見ることができる。式 (1 1) における $z = z_0$ の値を変えることにより、記録された 3 次元画像中の任意の位置 (焦点位置) の画像を表示することができる。また、その画像は、歪みなしで倍率 d / 倍に拡大された像、すなわち、分解能を高めた画像となっている。画像の大きさ (絶

10

20

30

40

50

対寸法)は、画素ピッチ d を物差しとして計測される。

【0067】

(他の画像再生方法)

図11乃至図14は計算量を削減できる他の画像再生方法を示す。上述のように、複素振幅インラインホログラム J_{0L} から高分解能な物体光を再生することができるが、平面波展開を用いて高分解能画像を再生するために、空間サンプリング間隔を光波長程度まで狭くする。このとき、例えば、高速フーリエ変換 (FFT) を用いて、妥当な計算時間のもとで数値計算が可能となる範囲に、サンプリングデータ数を抑える必要がある。逆に、計算時間の短縮が図られるならば、サンプリングデータ数を増加させることができ、より高分解能の無歪画像を再生することができる。ところで、互いに周波数帯域の異なるデータは、波の重ね合わせの原理によると、互いに足し合わせた状態で計算処理をすることができる。すなわち、異なる周波数帯域に記録されたそれぞれの情報は空間的に重ねても失われずに保存され、このことを利用することにより、広帯域のホログラムを重ねて広い帯域の「微小ホログラム」を作成することができる。また、複素振幅インラインホログラム J_{0L} や物体光複素振幅インラインホログラム $g(x, y)$ は、分割した各領域に画像を再生するための情報を保持している。

10

【0068】

そこで、図11(a)に示すように、物体光複素振幅インラインホログラム $g(x, y)$ を幅 D の n 枚の微小ホログラム g_i に分割し、図11(b)(c)に示すように、各微小ホログラム g_i を互いに重ね合わせて合成微小ホログラム G を生成する。この合成微小ホログラム G に対して、上述の式(10)(11)(12)に基づく計算を行えば、計算時間の短縮が図られる。図12は、幅 D の物体光複素振幅インラインホログラム $g(x, y)$ を幅 d の微小ホログラム g_1, g_2, g_3 に分割する様子を示す。この物体光複素振幅インラインホログラム $g(x, y)$ は、1枚で再生像 30 を再生する。このような物体光複素振幅インラインホログラム $g(x, y)$ を、図13に示すように、幅 d だけずらしながら重ねたホログラムは、幅 D の周期的なホログラムになり、多数の同じ再生像 30 を幅 D の間隔ごとに再生することができる。計算点数は、重ね合わせた微小ホログラム g_i の枚数の逆数分に圧縮される。つまり、 n 枚重ねると、計算量は、 $1/n$ になる。

20

【0069】

図14は、このような処理に基づく画像再生方法を示している。この画像再生方法における画素数増大工程 (S31) および空間変調工程 (S32) は、それぞれ図8や図10に示した画素数増大工程および空間変調工程と同等の工程である。これらの工程を経た後、分割工程 (S33) において、物体光複素振幅インラインホログラム g を複数枚の微小ホログラム g_i に分割する。その後、合成工程 (S34) において、各微小ホログラム g_i を互いに重ね合わせる (重なった画素の画素値を足し算する) ことによって合成微小ホログラム G を生成する。展開工程 (S35) では、上述した式(9)における物体光複素振幅インラインホログラム g を合成微小ホログラム G に置き換えて、上述の式(10)(11)(12)に基づいて、変換関数 G などの計算を行う。フーリエ変換による変換関数 $G(u, v)$ を一度求めておけば、任意の距離 $z = z_0$ における光波 $h(x, y)$ は式(11)より求められる。また、再生光の光強度は $h(x, y)$ を使って、その絶対値の二乗 $|h(x, y)|^2$ から計算できる。

30

40

【0070】

このような画像再生方法によると、FFTを用いた数値計算により、微小被写体の自由焦点画像を、容易かつ精度良く、高速に再生することができる。微小ホログラム g_i の幅 d は、物体光複素振幅インラインホログラム $g(x, y)$ の大きさ (幅 D) や形状 (例えば、円形、長方形など) とは無関係に再生画像の大きさに合わせて設定することができる。分割の幅 d が、再生画像の大きさより小さくなると、再生像が隣同士で重なって再生される。従って、例えば、微小被写体 3 の寸法が 0.5 mm ならば、幅 d は 0.5 mm より大きな寸法にする。

【0071】

50

(さらに他の画像再生方法)

図15はさらに他の画像再生方法を示す。この画像再生方法は、上述した図14における画素数増大工程(S31)、空間変調工程(S32)、および分割工程(S33)の順番を相互に変更したものである。すなわち、分割工程(S41a)の後に画素数増大工程(S42a)を行うか、または、画素数増大工程(S41b)の後に分割工程(S42b)を行って、その後に、空間変調工程(S43)を行うことができる。空間変調工程(S43)では、画素数増大工程(S42a)、または分割工程(S42b)を通して生成された微小ホログラム g_i' に対し、上述の式(9)を導いた処理と同様の空間ヘテロダイン変調を行って、物体光複素振幅インラインホログラム g_j を生成する。この微小ホログラム g_i' を生成する工程は、一般的なホログラムを分割して複数枚の微小ホログラムを生成する分割工程および一般的なホログラムの空間サンプリング間隔を細分化すると共に細分化によって生じた新たなサンプリング点に対してデータ補間を行う画素数増大工程を、複素振幅インラインホログラム J_{OL} に任意の順で適用して、実質的に画素数を増やした微小ホログラム g_i' を生成する工程(この工程を分割補間工程という)である、と表現することができる。

10

【0072】

空間変調工程(S43)に続くホログラム合成工程(S44)では、物体光複素振幅インラインホログラム g_j を互いに重ね合わせることによって合成微小ホログラムを生成する。その後の画像生成工程(S45)は、上述の図14に示した展開工程(S35)と同様であり、変換関数Gを用いて物体光Oを平面波展開することにより、ホログラム面またはその前後の任意位置における光波hを生成する。

20

【0073】

(ホログラフィック顕微鏡)

図16、図17はホログラフィック顕微鏡を示す。図16に示すように、ホログラフィック顕微鏡1は、微小被写体のホログラム画像を取得して記録する画像記録部10と、記録された画像を再生する画像再生部11と、これらを制御する制御部12と、各データやプログラムを記憶するメモリ13と、を備えている。画像記録部10は、光源10a、光学系10b、受光素子10c(これらを総称して、光学部10h)、および計算部10dを備えている。また、計算部10dは、参照光波を取得する際の計算を行う参照光波取得部10eと、複素振幅を取得する計算を行う複素振幅取得部10fとを備えており、これらはソフトウェアによって構成されている。画像記録部10は、上述の図2、図6に示した記録装置10に相当する。従って、光源10aはレーザ20に、光学系10bは光学系2に、受光素子10cは受光素子4に、計算部10dは計算機5に、それぞれ相当する。

30

【0074】

画像再生部11は、画素数増大部11a、空間変調部11b、分割部11c、合成部11d、平面波展開部11e、および表示部11fを備えている。表示部11fは、液晶表示装置などの一般的な、画像を表示できるディスプレイである。また、画像再生部11は、さらに、分割補間部14a、空間変調部14b、ホログラム合成部14c、および画像生成部14dを備えている。画像再生部11の各部11a~11eおよび各部14a~14dは、コンピュータ上のソフトウェアによって構成される。上述の計算部10d、画像再生部11、制御部12、およびメモリ13は、これらをまとめた装置として、一般的な入出力装置を備えたコンピュータで構成することができる。

40

【0075】

画像記録部10は、上述の図1乃至図7に基づいて説明した微小被写体のホログラム画像記録方法を用いて複素振幅インラインホログラム J_{OL} を生成して記録する。すなわち、画像記録部10における、光学部10hおよび参照光波取得部10eは、上述の図1における参照光波取得工程(S1)の処理を行う。また、画像記録部10における、光学部10hおよび複素振幅取得部10fは、図1における撮像工程(S2)、複素振幅取得工程(S3)の処理を行い、計算部10dが画像記録工程(S4)の処理を行う。

【0076】

50

また、画像再生部 11 は、上述の図 10、図 14、図 15 に基づいて説明した画像再生方法を用いて、画像記録部 10 によって記録された複素振幅インラインホログラム J_{OL} から画像を再生する。例えば、上述の図 14 における各処理を行う。すなわち、画素数増大部 11a は画素数増大工程 (S31) の処理を行い、空間変調部 11b は空間変調工程 (S32) の処理を行い、分割部 11c は分割工程 (S33) の処理を行い、合成部 11d は合成工程 (S34) の処理を行い、平面波展開部 11e は展開工程 (S35) の処理を行う。また、平面波展開部 11e は、上述の図 10 における平面波展開工程 (S23) の処理を行うこともできる。

【0077】

また、画像再生部 11 の各部 14a ~ 14d は、例えば、上述の図 15 における各処理を行う。すなわち、分割補間部 14a は、分割工程 (S41a または S42b) と画素数増大工程 (S42a または S41b) の処理を行う分割部と画素数増大部 (共に不図示) を備えて分割補間工程の処理を行い、空間変調部 14b は空間変調工程 (S43) の処理を行い、ホログラム合成部 14c はホログラム合成工程 (S44) の処理を行い、画像生成部 14d は画像生成工程 (S45) の処理を行う。

【0078】

画像記録部 10 は、パルスレーザをホログラム取得用のコヒーレント光源 10a として用いてもよい。また、画像記録部 10 は、互いに波長領域の異なる複数のレーザを光源 10a として用いてオフアクシスホログラム I_{OR} を取得することにより、カラーの複素振幅インラインホログラム J_{OL} を生成して記録するようにしてもよい。また、画像再生部 11 は、カラーの複素振幅インラインホログラム J_{OL} からカラーの画像を再生するようにしてもよい。このようなホログラフィック顕微鏡 1 によると、大開口数ホログラムをワンショットで記録し、再生することができる。ホログラフィック顕微鏡 1 は、図 2 や図 6 に示した構成により、透過型顕微鏡や反射型顕微鏡とすることができる。

【0079】

ホログラフィック顕微鏡 1 の動作および使用方法の例を説明する。光源 10a は、例えば、パルスレーザ光発振器である。レーザ光は、ビームスプリッタで分岐された後、それぞれ平行平面波レーザ光から球面波光に変換され、オフアクシス参照光 R および照明光 L または L2 とされる (図 2、図 6 参照)。照明光 L または L2 で受光素子 4 の正面に置かれた微小被写体 3 を照射すると、3次元画像情報を含んだ物体光 O が微小被写体 3 から放射される。なお、上述したように、微小被写体 3 の微小とは、被写体そのものが微小という意味ではなく、画像を記録する対象領域が微小という意味である。また、この微小とは、受光素子 4 の寸法に較べて微小という意味である。また、記録する対象領域は、インライン球面波光 L または L2 による照明光が照射される領域として規定される。このことは、図 2、図 6 などにおける焦点 P の位置、および、集光レンズで集光される光の広がり角度に関係する。光学系 10b は、光源 10a と受光素子 10c までの参照光と物体光の経路長の差がレーザ光のコヒーレンス長内に収まるように設定されている。参照光 R と物体光 O とが作る干渉縞を大開口数のオフアクシスホログラム I_{OR} として受光素子 10c により記録する。記録されたホログラムデータはコンピュータ (制御部 12) に送られ、画像再生部 11 において数値計算によって再生され、画像がディスプレイ (表示部 11f) 上に表示される。

【0080】

ホログラフィック顕微鏡 1 は、図 17 に示すように、初期設定工程 (#0) として参照光波取得工程を 1 回行った後、記録工程 (#1) とその後の再生工程 (#2) とを、使用者による微小被写体 3 の観察継続の間 (#3 で No)、繰り返し、観察停止により (#3 で Yes)、終了する。なお、図 17 中に、各工程の主たる動作主体が、図 16 における各部の符号を引用して示されている。初期設定工程 (#0) では、観察者による微小被写体 3 の準備等が行われた後、微小被写体 3 を取り除いた状態で、画像記録部 10 によって、複素振幅インラインホログラム J_{LR} を取得する参照光波取得工程が行われる。また、この初期設定工程 (#0) では、種々のパラメータ入力、例えば、位相 ϕ_L を設定するた

10

20

30

40

50

めの距離、分割の幅を設定するための微小被写体3の寸法等の入力が行われる。この工程は、光学系2を変更するまでは繰り返して行う必要はなく、複素振幅インラインホログラム J_{LR} は、1回取得したものを以下の工程で繰り返し使用することができる。

【0081】

記録工程(#1)では、観察者による微小被写体3のセットの後、画像記録部10によって、オフアクシスホログラム I_{OR} を取得する撮像工程(#11)、 I_{OR} から複素振幅オフアクシスホログラム J_{OR} を生成して取得する複素振幅取得工程(#12)、および J_{OR} から複素振幅インラインホログラム J_{OL} を生成、取得して記録する画像記録工程(#13)が行われる。再生工程(#2)では、画像再生部11によって、 J_{OL} からデータ補間された複素振幅インラインホログラム K_{OL} を生成、取得する補間工程(#21)、 K_{OL} から物体光複素振幅インラインホログラム g を生成する空間変調工程(#22)、 g を分割して成る微小ホログラム g_i を生成する分割工程(#23)、各 g_i を互いに合成して合成微小ホログラムを生成するホログラム合成工程(#24)、から変換関数 G を求めて物体光 O を平面波展開して光波 h を求め、その絶対値の二乗 $|h|^2$ によって画像をディスプレイに表示する画像生成工程(#25)が行われる。

【0082】

(第1の実施例)

図18乃至図21は第1の実施例を示す。ホログラフィック顕微鏡1によって、USAFテストターゲットの画像記録および画像再生を行った。レーザ20として緑色の半導体励起固体レーザ(波長532nm,出力50mW)を使用した。また、ホログラム記録用の受光素子4としてモノクロのカメラリンクCCDカメラを使用した。CCDカメラの前方約5cmの位置に被写体としてUSAFテストターゲットを置いて物体光 O とオフアクシス参照光 R (球面波光)が作る干渉縞を記録した。次に、被写体のUSAFテストターゲットを取り除いたときのインライン球面波光 L とオフアクシス参照光 R とがCCD上に作る干渉縞を記録した。記録した2枚の干渉縞から複素振幅インラインホログラム J_{OL} を求め、それを 16×16 分割して256枚の分割記録ホログラムを得た。各分割記録ホログラムに対してデータ補間と空間ヘテロダイン変調を行った後に、分割ホログラム(微小ホログラム g_i)の重ね合わせを行って画像再生用の微小ホログラム(合成微小ホログラム)を求めた。画像は、合成微小ホログラムに対してFFTを用いた数値計算を行って再生した。

【0083】

図18(a)はホログラフィック顕微鏡1を用いて記録したUSAFテストターゲットの干渉縞を示し、図18(b)はインライン球面波光 L と参照光 R の干渉縞を示す。これら2枚の干渉縞に対してそれぞれ空間周波数フィルタリングを行って複素振幅ホログラムを求め、それらのホログラムを用いて図19(a)に示す複素振幅インラインホログラム J_{OL} を得た。この複素振幅インラインホログラム J_{OL} を 16×16 分割し、微小分割ホログラムそれぞれにデータ補間と位相変換およびホログラムの重ね合わせを行って、図19(b)に示す画像再生のための合成微小ホログラムを得た。

【0084】

図20は、合成微小ホログラム、つまり複素振幅インラインホログラム J_{OL} から再生したUSAFテストターゲットの再生画像を示す。また、図21は、USAFテストターゲットの部分拡大再生画像を示す。図20における大きな矩形領域 a_1 、その中の矩形領域 a_2 、さらにその中の矩形領域 a_3 、および、図21における矩形領域 a_2 、 a_3 の外形には歪みが見られない。すなわち、各矩形領域 a_1 、 a_2 、 a_3 の外形が直線で構成されていることが確認でき、再生画像に全く歪が生じてないことが分かる。また、図21におけるラインアンドスペース $L/S = 1.5 \mu\text{m}$ のパターンが潰れていないことなどから、再生画像の分解能を約 $1 \mu\text{m}$ と見積もることができる。

【0085】

(第2の実施例)

図22は第2の実施例を示す。図22(a)はホログラフィック顕微鏡1を用いて記録

10

20

30

40

50

して再生したトンボの翅の微小部分の画像を示し、図 2 2 (b) ~ (e) は図 2 2 (a) における翅の縁における繊毛部分 (領域 A) をさらに拡大して示す。また、図 2 2 (b) ~ (e) は、焦点距離を変えて、すなわち、式 (1 1) における z_0 を 5 2 . 0 mm から順に 0 . 1 mm ずつ遠くして、再生した画像である。このように焦点距離を変えると焦点の合った繊毛部分の位置 (図中 印部分) が順次変化している様子が分かる。図 2 2 の画像の結果から、ホログラフィック顕微鏡 1 によると、焦点深度の大きい 3 次元像の記録と再生が可能であることを確認できた。また、焦点が合った繊毛部分の画像から、分解能として約 1 μ m の値が得られた。

【 0 0 8 6 】

本発明のホログラフィック顕微鏡 1 によれば、結像レンズを使用しないで被写体から放たれる透過物体光または反射物体光を大開口数の複素振幅インラインホログラムとしてワンショットで記録することができる。従って、奥行きのある空間を動いている微小被写体の無歪 3 次元像を瞬時記録できる。記録用レーザ光源としてパルスレーザを用いることにより、動いている 3 次元像を高速記録または実時間記録することが可能になり、空気中の被写体だけでなく、水のような液体中の被写体、例えば、微小動物体を実時間で記録することができる。また、平面波展開の方法により、ヘルムホルツ方程式の厳密解を用いて物体光を再生するので、歪の無い自由焦点画像を光波長に近い高分解能のもとで高速再生することができる。さらに、再生方法として微小分割ホログラムの重ね合わせの手法を用いることにより、計算点数を圧縮して、より高分解能で、より高速に画像再生を行うことができる。このような再生画像を用いて微小被写体の形状の変化や位置の変化、振動現象などを高精度で記録して計測することが可能になる。さらに、物体光の位相分布を再生できるので、光を透過する被写体を透過した物体光 (物体から影響を受けた照明光) の位相分布から、透過物体の物質構成などの定量的解析などが可能になる。なお、本発明は、上記構成に限られることなく種々の変形が可能である。例えば、上述した各実施形態の構成を互いに組み合わせた構成とすることができる。また、球面波光 L_1 , L_2 , R として楕円面波光を用いることもできる。

【 0 0 8 7 】

(媒質中の物体光伝搬と画像再生)

次に、真空や空気以外の媒質中の物体光伝搬と画像再生について説明する。表面が平面で滑らかな水やガラスのような一様透明媒質を考え、その屈折率を n で表す。ここで、例えば、空気中に置かれた受光素子 4 によって水中の微小被写体 3 のホログラム画像を記録し再生する状況を想定する。媒質表面 (空気と水の界面) を $x - y$ 平面とし、空気中から水中へ入射する平面波の空気中の空間周波数を (u , v , w) 、水中の透過平面波の空間周波数を (u' , v' , w') と表す。すると、 $x - y$ 平面において $u = u'$ および $v = v'$ が成り立つ。水中の z 方向空間周波数 w' は平面波の分散関係により、下式 (1 3) によって求められる。式 (1 3) は、上述した式 (1 2) において、 w を、 (w / n) に置き換えた式である。また、界面における入射波と透過波の位相は一致する。

【 0 0 8 8 】

【 数 8 】

$$w'(u, v) = \sqrt{(n/\lambda)^2 - u^2 - v^2} \quad (13)$$

【 0 0 8 9 】

従って、入射平面波の振幅と位相が分かれば媒質中を伝搬する平面波を求めることができる。そこで、物体光を $z = 0$ において記録した複素振幅ホログラム $g (x , y)$ から、媒質中の任意位置 $z = z_0$ における媒質中画像再生面上の物体光 $h' (x , y)$ を計算によって再生するために、まず、式 (1 0) (1 1) (1 2) を使って媒質表面位置 $z = z_B$ における物体光 $h (x , y)$ を求める。位置 $z = z_B$ は、例えば、媒質表面を示す目印となる被写体を予め配置し、その目印を含むように画像を取得し、その目印に焦点を合わせて画像を再生することにより、その焦点位置から求めることができる。なお、媒質表面

位置 $z = z_B$ の精度は、光波長程度のような高精度は要求されず、その精度が悪い場合の影響は、焦点位置のずれとして現れる。次に、式 (13) を用いて媒質中の光伝搬計算を行い、 $h(x, y)$ から $h'(x, y)$ を求める。 $z = z_0$ における再生画像は、光振幅の二乗 $|h'(x, y)|^2$ より計算できる。媒質や界面が複数存在する場合、例えば、2枚の板ガラスで挟まれた液体中の物体の場合については、空気とガラスおよび液体の中における物体光の伝搬を順次計算することにより物体の画像を再生することができる。本方法は、受光素子4に対して既知の任意の配置と形状の一般的な界面の場合にも、容易に拡張して対応することができる。

【0090】

(ハーフミラーを用いた透過型顕微鏡の光学系)

次に、図23により、透過型顕微鏡の光学系2の他の例を説明する。この記録装置10の光学系2は、上述の図2に示した記録装置10の光学系2における小さなミラーM3の代わりにハーフミラーHM2を用いるものである。光学系2は、レーザ20からの光の径を広げるレンズ21, 22と、拡大した光を分岐するビームスプリッタBSと、各光を収束させる集光レンズ23, 24とを備えている。ビームスプリッタBSと集光レンズ23との間には2つのミラーM6, M7が備えられ、ビームスプリッタBSによって分岐された光は、ミラーM6, M7によって180°偏向されて、集光レンズ23に入射する。集光レンズ24の前方には、例えば、45°に傾斜配置されたハーフミラーHM2を介して、受光素子4があり、集光レンズ24が受光素子4の受光面に正対している。受光素子4は、例えばCCDである。この配置において、レーザ20、集光レンズ24、および受光素子4の各光軸は一致し、これらの光軸に対し、集光レンズ23の光軸が直交している。集光レンズ23を経由した光は、集光レンズ23によって球面波に変換され、ハーフミラーHM2によって反射されて、インライン球面波光Lとして受光素子4に向けて投光される。微小被写体3は、集光レンズ23とハーフミラーHM2との間に置かれて、背後から照明される。インライン球面波光Lの焦点P(球面波の中心点)は、集光レンズ23とハーフミラーHM2との間に存在する。集光レンズ24を経由した光は、集光レンズ24によって上記の焦点Pの鏡像点の近くに焦点を有する球面波に変換され、ハーフミラーHM2を透過して、オフアクシス参照光Rとして受光素子4に向けて投光される。

【0091】

この光学系2は、ハーフミラーHM2を用いることにより、2つの対物レンズ(集光レンズ23, 24)を互いに垂直向きに設定することができるので、上述の図2に示したようなミラーM3を用いる場合の光学系2と比べて、2つの参照光R, Lの開口数を大きく取ることができる。また、ハーフミラーHM2を各対物レンズの焦点位置よりも、受光素子4寄りに配置できるので、光学系2の設計や調節が容易になり、微小被写体3を配置するスペースも広くできる。ところで、ハーフミラーHM2を用いる場合、これを透過したオフアクシス参照光Rは、ハーフミラーHM2を構成するガラス板の影響によって球面波から歪むことになる。しかしながら、上述した式(8)からも分かるように、最終的に得られる複素振幅インラインホログラムは参照光Rに依存しないので、ガラス板の影響はインラインホログラムに現れることはない。これらの点から、ミラーM3を用いる図2の光学系2よりも、ハーフミラーHM2を用いる図23の光学系2の方が透過型顕微鏡にとって、より有利といえる。

【0092】

(媒質中3次元像の記録再生の結果)

図24(a)(b)は、屈折率1.523、厚さ1.5mmのガラス板で覆ったUSFAテストターゲットの像を上述の図23に示した透過型の構成の光学系によって記録再生した画像である。図24(a)はガラス板の存在を無視して空気中の物体として再生した画像であり、図24(b)はガラス板の存在を考慮してガラス中の光伝搬の計算を行って再生した画像である。図24(a)に示すように、ガラス中の光伝搬を考慮しない再生画像では、ガラス板の存在によって画像の歪みやボケが発生し、再生画像の中心から外れて周辺に近づくほど、歪みやボケが大きくなっている。歪みやボケが小さい中心部においても

10

20

30

40

50

、ガラス板によって分解能が低下していることが分かる。ガラス板の存在を考慮した光伝播の計算を行って再生した画像では、図24(b)に示すように、ガラス板の存在による影響をなくすことができ、歪みの無い高分解能画像を再生することが可能になる。

【0093】

図25(a)(b)は、1枚のホログラムから再生した水中ゾウリムシの画像を示す。厚さ0.015mmの上下2枚の板ガラスで作った間隔が2mmの隙間を水で満たし、その水中を移動するゾウリムシを、CWレーザー光で照射して0.7msecの露光時間で瞬時記録した。光学系は図23に示した透過型の構成であり、微小被写体3は2枚の板ガラスに挟まれた水中のゾウリムシである。大開口数の記録オフアクシスホログラムから複素振幅インラインホログラムを取り出し、その複素振幅インラインホログラムを用いて、空気、ガラス、および水を伝搬する物体光を数値計算で求めて再生画像を得た。図25(a)はガラス表面から奥行き0.69mmの位置に焦点を合わせた再生画像であり、図25(b)はガラス表面から奥行き1.49mmの位置に焦点を合わせた再生画像である。媒質中における物体光の伝搬を考慮して数値計算することにより、ガラス容器や水などの媒質による収差をなくすことができ、これらの図に示すように、歪やぼけの無い高分解能な画像が得られる。本発明のレンズレス顕微鏡を用いて時系列ホログラムの連続記録と高速画像再生を行うことにより、例えば、培養液中の微生物や流体媒質中の微粒子の動きを実時間で3次元記録して観察することが可能になる。

【0094】

(画像再生の高速化)

次に、図26、図27を参照して、画像再生の高速化の他の方法を説明する。まず、上述した平面波展開による高分解能画像再生方法を見直す。上述の再生方法では、空間サンプリング間隔の細分化とインラインホログラムのデータ補間およびホログラムの分割と重ね合せを行って再生用合成微小ホログラムを作成し、この合成微小ホログラムをフーリエ変換して式(10)の変換関数Gを求めた。つまり、上述の再生方法は、高分解能画像を再生するために空間サンプリング点を増やし、空間サンプリング点の増加による計算負荷の増加を解消するためにホログラムの分割と重ね合せを行っている。しかしながら、サンプリング間隔の細分化とデータ補間およびホログラムの重ね合せの計算は時間を要する。そこで、サンプリング間隔の細分化を行うことなく、上記合成微小ホログラムの変換関数Gに対応する変換関数を求めることができれば、その分、画像再生の高速化を図ることが可能になる。このような画像再生方法は、図26に示すように、空間変調工程(S51)と、分割工程(S52)と、周波数低減工程(S53)と、フーリエ変換工程(S54)と、画像生成工程(S55)とを備えるものとなる。以下、各工程順に説明する。

【0095】

(空間変調工程S51、分割工程S52)

上述の式(9)で表される物体光複素振幅ホログラム $g(x, y)$ は、図8における画素数増大工程(S11)の処理を経ることなく、式(8)の $J_{OL}(x, y)$ から直接求めたホログラムの式とみなすことができる。すなわち、式(8)の J_{OL} に、 $\exp(i\phi_L(x, y))$ を乗じることによって、式(9)の g が得られる。そこで、以下に説明するホログラム g およびこれを分割した微小ホログラム g_i (これらを、関数 g, g_i とも称する)は、画素数を増大していないものとする。ホログラム g は、球面波光を用いて取得されたことに起因して、例えば、ニュートンリングのように中央部から端に行くほどその空間周波数が単調増加的に高くなる。ここで、このホログラム g を画素数 $N \times N$ 毎に分割した複数の微小ホログラム g_i を考える。

【0096】

(周波数低減工程S53)

球面波光Lの焦点P(またはP0)から各分割ホログラム g_i の中心に向けて照射した平行光 L_i (平面波)を考えると、各分割微小ホログラム g_i 内における物体光Oと平行光 L_i とのなす角度は小さくなる。そこで、平行光 L_i の位相を $\phi_i(x, y)$ で表し、各微小ホログラム g_i に $\exp(-i\phi_i)$ を乗じると、空間周波数を下げた低周波数化

10

20

30

40

50

微小ホログラム $g_i \cdot \exp(-i \phi_i)$ が生成される。一般に、変数 k, l に対し、 $\exp(i \phi_i) \cdot \exp(i \phi_i)$ は変数間の足し算を意味し、 $\exp(i \phi_i) / \exp(i \phi_i)$ は変数間の引き算を意味する。画素数 $N \times N$ の微小ホログラム g_i における画素 (k, l) の中心座標 (x, y) を、画素のピッチ d を用いて、 $x = kd, y = ld$ と表し、微小ホログラム g_i の法線と平行光 L_i とがなす x 方向と y 方向の入射角を、それぞれ θ_{ix}, θ_{iy} と表す。すると、画素 $(k, l) = (0, 0)$ を基準とした一般の画素 (k, l) における平行光 L_i の位相 $\phi_i(k, l)$ は、下式 (14) および (15) (16) によって表すことができる。

【0097】

【数9】

10

$$\phi_i(k, l) = 2\pi \left(\frac{m_i k + n_i l}{N} \right) \tag{14}$$

$$m_i = INT(Nd \sin \theta_{ix} / \lambda) \tag{15}$$

$$n_i = INT(Nd \sin \theta_{iy} / \lambda) \tag{16}$$

【0098】

上式 (15) (16) における関数 $INT(*)$ は $*$ の値を整数化する関数である。また、 Nd は微小ホログラム g_i の寸法であり、 m_i, n_i はその寸法内に含まれている平行光 L_i の波の数を示し、 $2m_i / N, 2n_i / N$ はそれぞれ x 方向、 y 方向における離散的な位相変化の単位となる。この m_i, n_i は、微小ホログラム g_i がホログラム g の中心から離れた端に位置するものであればあるほど、大きくなる。また、上式 (15) (16) の整数化により m_i, n_i は整数であり、 $m_i k + n_i l$ も整数である。従って、式 (14) から分かるように、各分割微小ホログラム g_i 上の各画素における位相 $\phi_i(k, l)$ は、式 (15) (16) の m_i, n_i を用いることにより、 $2\pi / N$ の整数倍の離散値となる。

20

【0099】

(フーリエ変換工程 S54)

離散サンプリング点 $(k, l), k = 0, 1, \dots, N-1, l = 0, 1, \dots, N-1$ において低周波数化微小ホログラム $g_i \cdot \exp(-i \phi_i)$ を離散フーリエ変換した結果である分割変換関数 $G'_i(m, n)$ と、その逆変換の結果である $g_i(k, l) \cdot \exp(-i \phi_i(k, l))$ は、それぞれ、下式 (17) (18) で表される。

30

【0100】

【数10】

$$G'_i(m, n) = \sum_{k=0}^{N-1} \sum_{l=0}^{N-1} \{g_i(k, l) \exp[-i2\pi(\frac{m_i k + n_i l}{N})]\} \exp[-i2\pi(\frac{mk + nl}{N})] \tag{17}$$

$$g_i(k, l) \exp[-i2\pi(\frac{m_i k + n_i l}{N})] = \frac{1}{N^2} \sum_{m=0}^{N-1} \sum_{n=0}^{N-1} G'_i(m, n) \exp[i2\pi(\frac{mk + nl}{N})] \tag{18}$$

40

【0101】

上式 (17) の $G'_i(m, n)$ は、 m, n に対して周期 N の周期関数である。例えば、 m を $m + N$ に置き換えても、式の値は変わらず、 $G'_i(m + N, n) = G'_i(m, n)$ である。同様に、関数 $g_i(k, l)$ も k, l に対して周期 N の周期関数である。空間周波数の低い関数 $g_i \cdot \exp(-i \phi_i)$ の最大空間周波数 F は、不等式 $F < 1 / (2d)$ を満たす。従って、サンプリング定理より、 $-N/2 < m < N/2$ 、および、 $-N/2 < n < N/2$ (これらの各項を d で割った式は空間周波数帯を表す) を満たす整数 m, n を変数とする分割変換関数 $G'_i(m, n)$ を用いて、周期関数 $g_i \cdot \exp(-i \phi_i)$ を正確に記述することができる。すなわち、周期関数 $g_i \cdot \exp(-i \phi_i)$ の

50

離散フーリエ変換として分割変換関数 $G'_i(m, n)$ が得られる。また、式(18)の両辺に $\exp(i2\pi(m_i k + n_i l)/N)$ を乗じて左辺から \exp 項を除去することにより、空間周波数の高い関数 $g_i(k, l)$ の展開式が得られる。この場合、 $-N/2 + m_i < m < N/2 + m_i$ 、および、 $-N/2 + n_i < n < N/2 + n_i$ (これらの各項を d で割った式は空間周波数帯を表す) を満たす整数 m, n を変数とする分割変換関数 $G'_i(m - m_i, n - n_i)$ を用いて、関数 g_i を正確に記述することができる。すなわち、関数 g_i の離散フーリエ変換として分割変換関数 $G'_i(m - m_i, n - n_i)$ が得られる。この分割変換関数 $G'_i(m - m_i, n - n_i)$ は、分割変換関数 $G'_i(m, n)$ に $\exp(i2\pi(m_i k + n_i l)/N)$ を乗じて空間ヘテロダイン変調を行うことによって空間周波数を上げたものである。つまり、 $G'_i(m - m_i, n - n_i) = G'_i(m, n) \exp(i2\pi(m_i k + n_i l)/N)$ であり、関数 $G'_i(m, n)$ が、周波数空間において、波数を表すパラメータ m_i, n_i によってシフトされている。

【0102】

(画像生成工程S55)

上記によって求められた各微小ホログラム g_i の分割変換関数 $G'_i(m - m_i, n - n_i)$ は、周波数空間においてパラメータ m_i, n_i によってシフトされており、互いに重なり合わない。この、互いに重なり合わないことは重要である。すなわち、複数の分割変換関数 $G'_i(m - m_i, n - n_i)$ の総体として、言い換えれば、周波数空間における領域接続あるいは張り広げ操作としての合成により、変換関数 G を求める。すると、この変換関数 G は周波数空間の広い範囲を占めることになる。このことは、周波数空間における変換関数 G を用いて、実空間における光波を高分解能で再生することができる、ということの意味する。つまり、広い周波数帯域に分布する各々の $G'_i(m - m_i, n - n_i)$ を合成することによって、合成微小ホログラム をフーリエ変換して得た式(10)の変換関数 G と同等の高分解能画像再生用の変換関数 G を求めることができる。このような変換関数 G を用いて、上述と同様に、式(11)により、光波 $h(x, y)$ を求めて、画像を再生することができる。

【0103】

図27に示すように、ここで述べた画像再生の方法によると、サンプリング間隔の細分化やデータ補間を行う必要がないので、その分、変換関数 G を高速に計算でき、画像の高速再生が可能になる。すなわち、本方法では、サンプリング間隔の細分化による画素数増大と重ね合わせの計算を行うことなく、合成微小ホログラム の変換関数 G に対応する変換関数を求めることができる。なお、パラメータ m_i, n_i が N の整数倍でなければ、領域接続した結果である変換関数 G において、領域間の重なりや隙間が発生する。また、ホログラム g を画素数 $N \times N$ 毎に分割する代わりに、画素数 $N \times M$ (ただし $N > M$) 毎に分割することもできる。この場合、各関数は、 x 方向と y 方向に関し、それぞれ異なる周期 N, M を有する。微小ホログラム g_i のサイズは、図11乃至図14に関連して説明したように、見たい物体のサイズよりも大きくすればよい。全体の計算速度は、ホログラム g の分割数(微小ホログラム g_i の枚数)を増やしても、あまり変化しない(FFTの特性から、分割数を増やすほど速くなる)。また、分解能は、もとのホログラム g のサイズで決まるので、分割数には依存しない。

【0104】

(画像再生の他の高速化)

次に、画像再生の高速化のさらに他の方法を説明する。この画像再生方法は、図28、図29に示すように、上述の図26における周波数低減工程(S53)を備えない点異なり、他は上述の高速化の方法と同様である。上記方法では、分割変換関数 $G'_i(m, n)$ を計算する際に、不等式 $F < 1/(2d)$ を満足させるために高周波数の関数 g_i を低周波数の関数 $g_i \cdot \exp(-i2\pi(m_i k + n_i l)/N)$ に変換した。ここでは、下式(19)で与えられる、関数 g_i のサンプリング値 $g_i(k, l)$ に対する離散フーリエ変換である分割変換関数 $G_i(m, n)$ を考える。

【0105】

10

20

30

40

50

【数 1 1】

$$G_i(m, n) = \sum_{k=0}^{N-1} \sum_{l=0}^{N-1} g_i(k, l) \exp[-i2\pi(\frac{mk + nl}{N})] \quad (19)$$

【0106】

関数 g_i は高周波数の関数であり、その最大空間周波数 F は不等式 $F < 1 / (2d)$ を満たすとは限らない。従って、区間 $-N/2 < m < N/2$ 、および、 $-N/2 < n < N/2$ における分割変換関数 $G_i(m, n)$ を用いて関数 g_i を正確に表すことができるとは限らない。しかしながら、 $G_i(m, n)$ は、式(19)から分かるように、 m, n に対して周期 N の周期関数である。また、式(17)(19)を用いて、等式 $G_i(m, n) = G'_i(m - m_i, n - n_i)$ が得られる。従って、高周波数の関数 g_i を、 $-N/2 + m_i < m < N/2 + m_i$ 、および、 $-N/2 + n_i < n < N/2 + n_i$ における $G'_i(m - m_i, n - n_i)$ 、つまり $G_i(m, n)$ を用いて正確に表すことが可能である。すなわち、最大空間周波数 F が不等式 $F < 1 / (2d)$ を満たさない場合においても、 $G_i(m, n)$ の周期性と式(19)とを使って、 $-N/2 + m_i < m < N/2 + m_i$ 、および、 $-N/2 + n_i < n < N/2 + n_i$ における関数 g_i の周波数成分 $G_i(m, n)$ を直接的に求めることができる。また、上記と同様に、各々の $G_i(m, n)$ を合成することによって、合成微小ホログラムをフーリエ変換して得た式(10)の変換関数 G と同等の高分解能画像再生用の変換関数 G を求めることができる。このような変換関数 G を用いて光波 $h(x, y)$ を求めて画像を再生することができる。式(19)は式(17)と比較して、さらに簡単であり、式(19)を用いることにより、計算をより高速化することができる。

【0107】

(ホログラフィック顕微鏡の他の例)

図30はホログラフィック顕微鏡の他の例を示す。このホログラフィック顕微鏡1は、画像再生部11の構成が上述の図16に示したホログラフィック顕微鏡1と異なり、他は同様である。画像記録部10の構成については説明を省略する。画像再生部11は、空間変調部15a、分割部15b、周波数低減部15c、フーリエ変換部15d、画像生成部15e、および表示部11fを備えている。表示部11fは、上述と同様である。この画像再生部11は、上述の図26、図27に基づいて説明した画像再生方法を用いて、画像記録部10によって記録された複素振幅インラインホログラム $J_{o,l}$ から画像を再生する。すなわち、空間変調部15aは空間変調工程(S51)の処理を行い、分割部15bは分割工程(S52)の処理を行い、周波数低減部15cは周波数低減工程(S53)の処理を行い、フーリエ変換部15dはフーリエ変換工程(S54)の処理を行い、画像生成部15eは画像生成工程(S55)の処理を行う。

【0108】

(ホログラフィック顕微鏡のさらに他の例)

図31はホログラフィック顕微鏡のさらに他の例を示す。このホログラフィック顕微鏡1は、画像再生部11の構成が上述の図16に示したホログラフィック顕微鏡1と異なり、他は同様である。画像記録部10の構成については説明を省略する。画像再生部11は、空間変調部16a、分割部16b、フーリエ変換部16c、画像生成部16d、および表示部11fを備えている。表示部11fは、上述と同様である。この画像再生部11は、上述の図28、図29に基づいて説明した画像再生方法を用いて、ホログラムから画像を再生する。すなわち、空間変調部16aは空間変調工程(S61)の処理を行い、分割部16bは分割工程(S62)の処理を行い、フーリエ変換部16cはフーリエ変換工程(S63)の処理を行い、画像生成部16dは画像生成工程(S64)の処理を行う。この顕微鏡1は、上述の図30に示した顕微鏡1とは、周波数低減部15cを備えていない点で異なる。

【産業上の利用可能性】

【 0 1 0 9 】

本発明に係る球面波光を照明光とするオフアクシスホログラフィに基づく微小被写体のホログラム画像記録方法、高分解能画像再生用ホログラム作成方法、画像再生方法、およびホログラフィック顕微鏡（3次元顕微鏡）は、結像レンズを用いない無歪物体光波面のワンショット記録、パルスレーザを用いた高速記録または実時間記録、透過物体光または反射物体光の記録、厳密解を用いた無歪自由焦点画像の再生、FFTを用いた高速画像再生、波の位相分布を用いた光透過物体の定量的解析など、多くの利点を有する。従って、本発明は、これらの利点を活かした広い用途に適用できる。従来の技術に対する本発明の新規性と優位性として、水中遊泳微生物や培養液中生体組織の大深度高分解能4次元（実時間+3次元空間）計測を可能にする点、低エネルギー照射により生きたままで生体組織の連続計測を可能にする点、光位相分布を使った透明生体組織の計測を可能にする点、が挙げられる。

10

【 0 1 1 0 】

具体的な用途例として、生きた生体細胞や媒質中を動く微小物を観察するための無歪高分解能実時間3次元顕微鏡、動いている微小被写体の位置や変位、振動および表面形状を非接触かつ非破壊で計測するための高速精密実時間3次元光計測装置、微小空間で生じる瞬間的な現象を高速撮像するための高速3次元撮像装置、などが挙げられる。この他に、生体組織内部を細胞レベルの高分解能で計測するための高分解能断層撮像装置などへの新たな応用にも適用できる。

20

【 0 1 1 1 】

本願は日本国特許出願2010-155024に基づいており、その内容は、上記特許出願の明細書及び図面を参照することによって結果的に本願発明に合体されるべきものである。

【 符号の説明 】

【 0 1 1 2 】

- 1 ホログラフィック顕微鏡
- 1 0 画像記録装置、画像記録部
- 1 0 a 光源
- 1 0 b 光学システム
- 1 0 c 受光素子
- 1 0 d 計算部
- 1 0 e 参照光波取得部
- 1 0 f 複素振幅取得部
- 1 1 画像再生部
- 1 1 a 画素数増大部
- 1 1 b 空間変調部
- 1 1 c 分割部
- 1 1 d 合成部
- 1 1 e 平面波展開部
- 1 4 a 分割補間部
- 1 4 b 空間変調部
- 1 4 c ホログラム合成部
- 1 4 d 画像生成部
- 2 0 レーザ（光源）
- 3 微小被写体
- 4 受光素子
- g 物体光複素振幅インラインホログラム
- g_i 微小ホログラム
- g_i' 微小ホログラム
- g_j 物体光複素振幅インラインホログラム

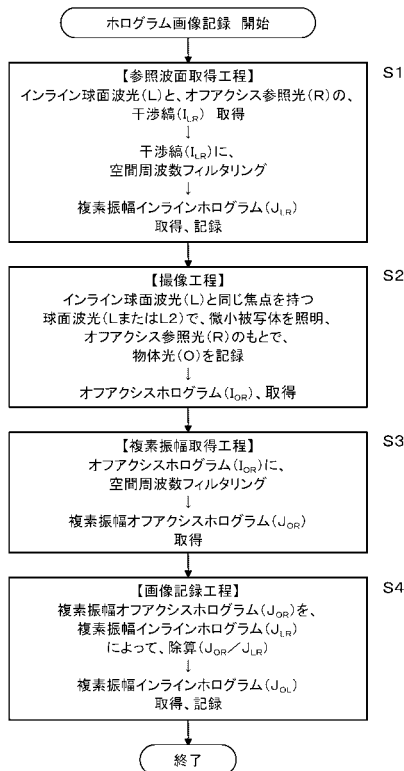
30

40

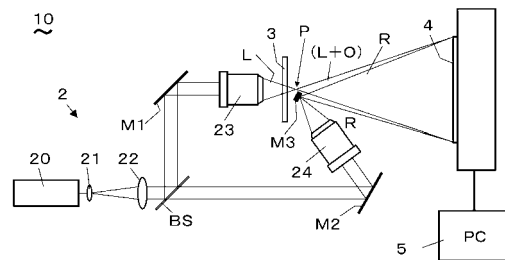
50

- h 光波 (複素振幅ホログラム)
- G 変換関数
- G_i 分割変換関数
- G_i 分割変換関数
- I_{L,R} 干渉縞
- J_{L,R} 複素振幅インラインホログラム
- I_{O,R} オフアクシスホログラム
- J_{L,R} 複素振幅インラインホログラム
- J_{O,R} 複素振幅オフアクシスホログラム
- J_{O,L} 複素振幅インラインホログラム
- L インライン球面波光
- L₁, L₂ 照明用のインライン球面波光
- O 物体光
- P 焦点
- R オフアクシス参照光
- L インライン球面波光 (L または L₂) の位相合成微小ホログラム

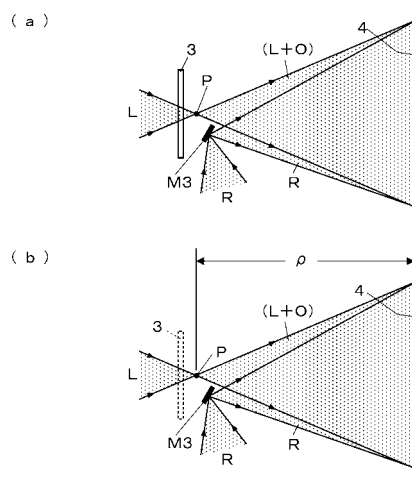
【図1】



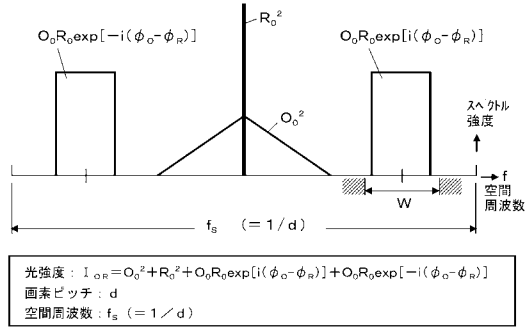
【図2】



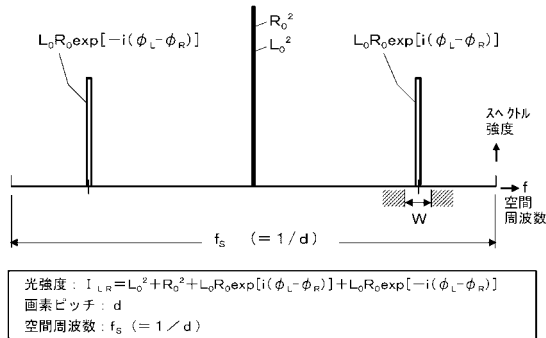
【図3】



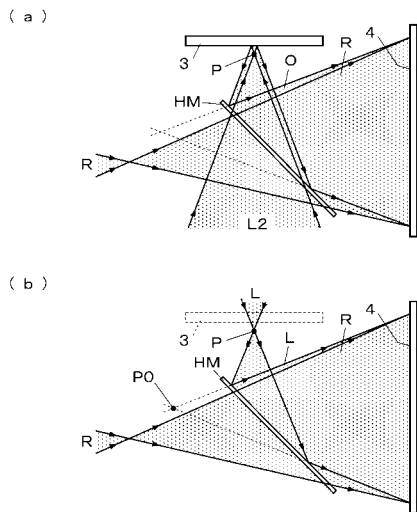
【図4】



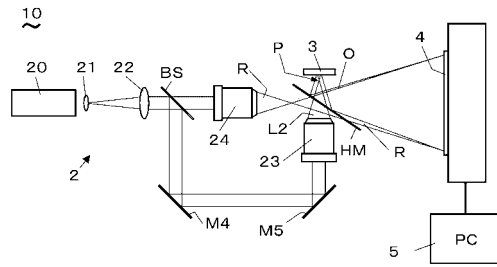
【図5】



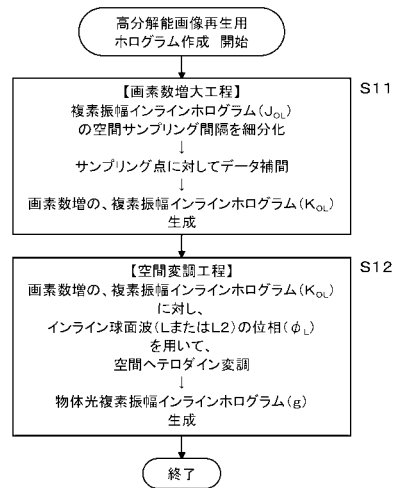
【図7】



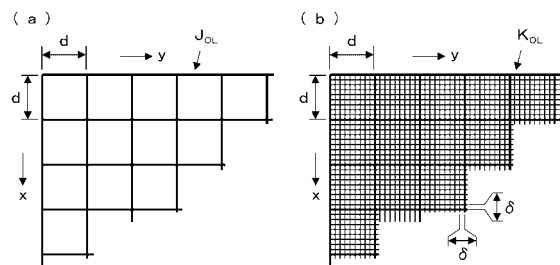
【図6】



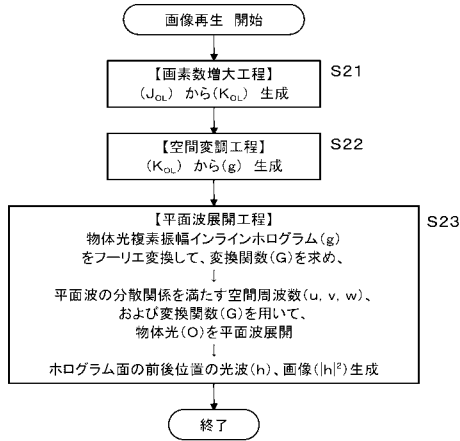
【図8】



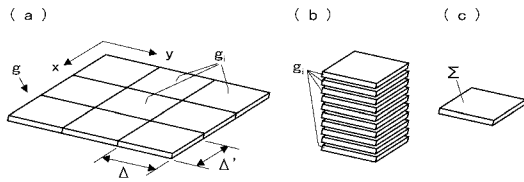
【図9】



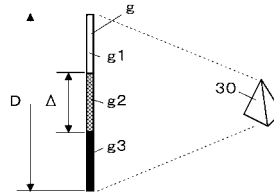
【図10】



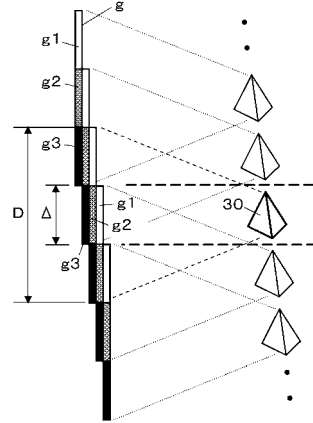
【図11】



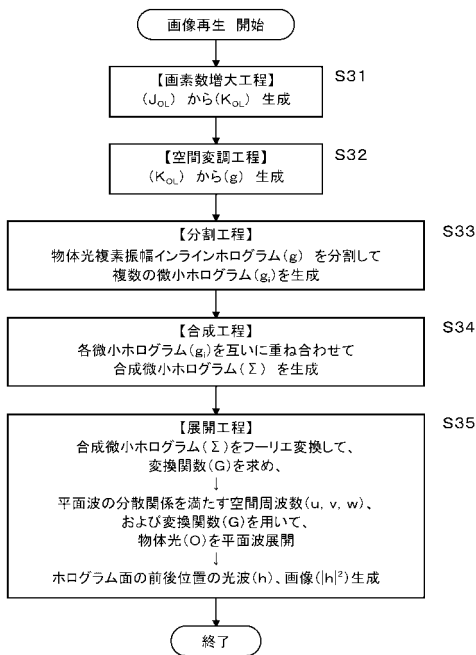
【図12】



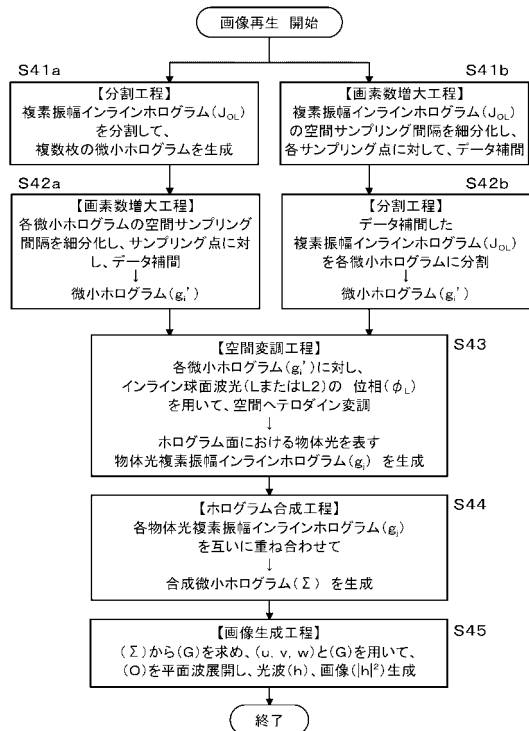
【図13】



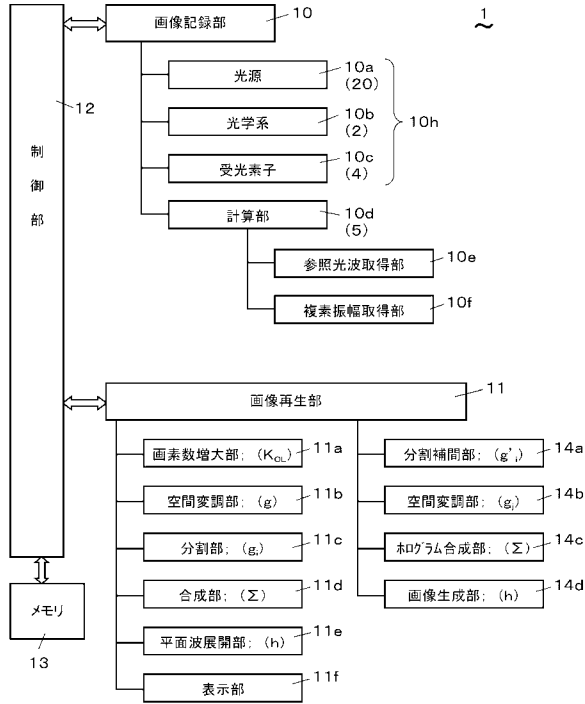
【図14】



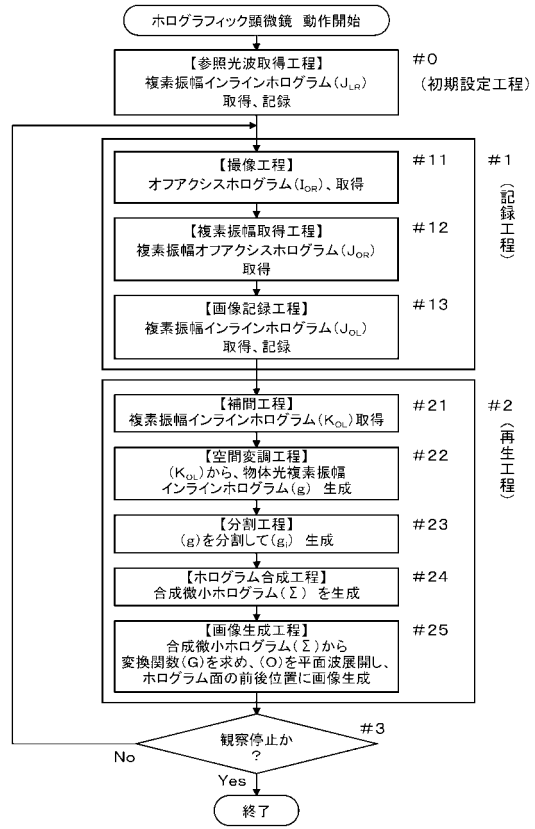
【図15】



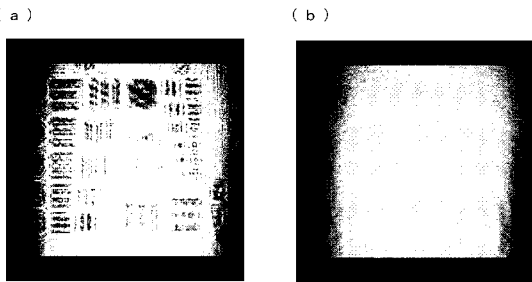
【図16】



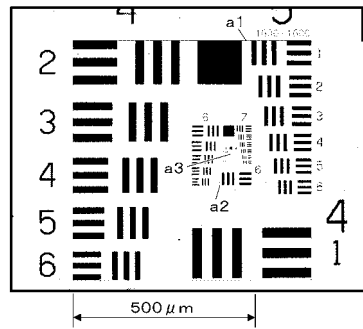
【図17】



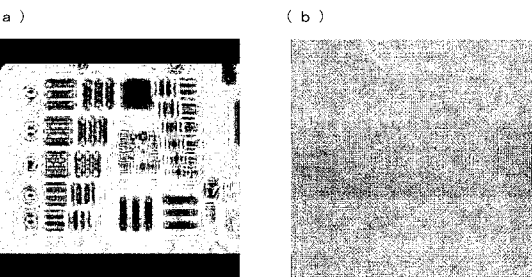
【図18】



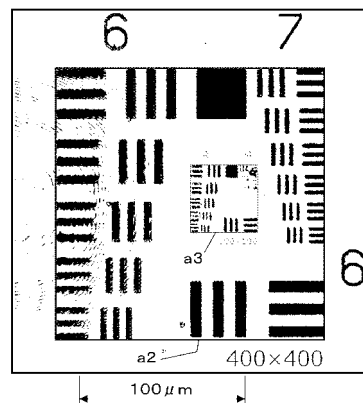
【図20】



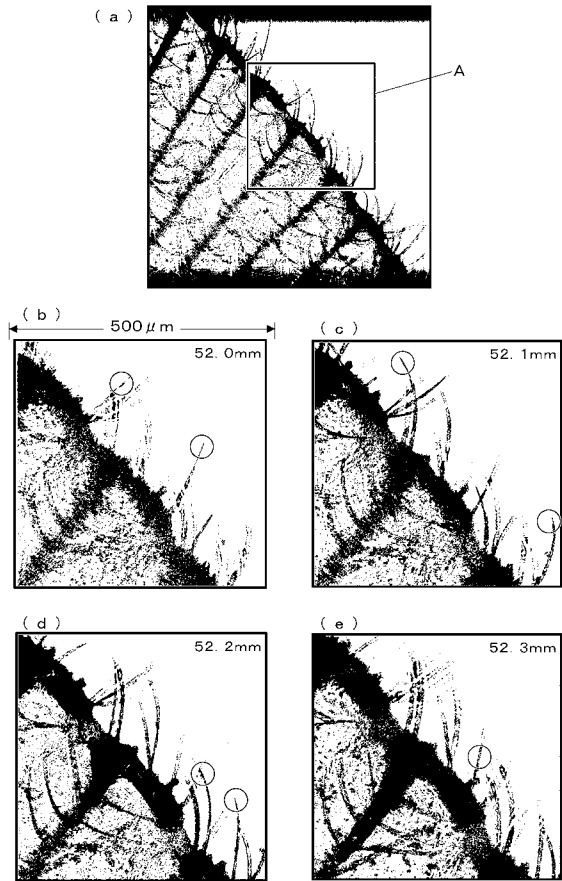
【図19】



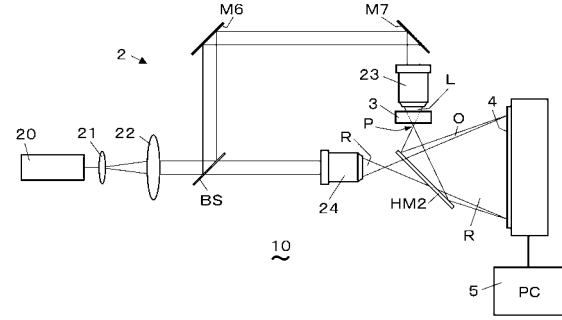
【図21】



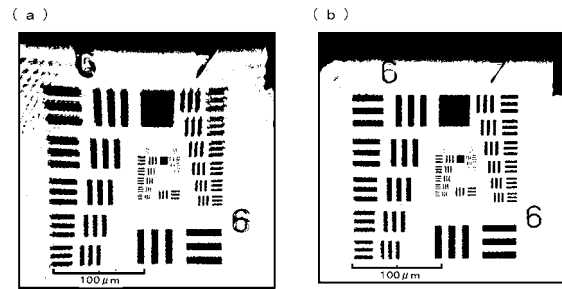
【図 2 2】



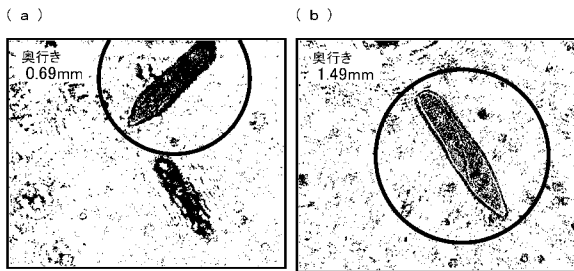
【図 2 3】



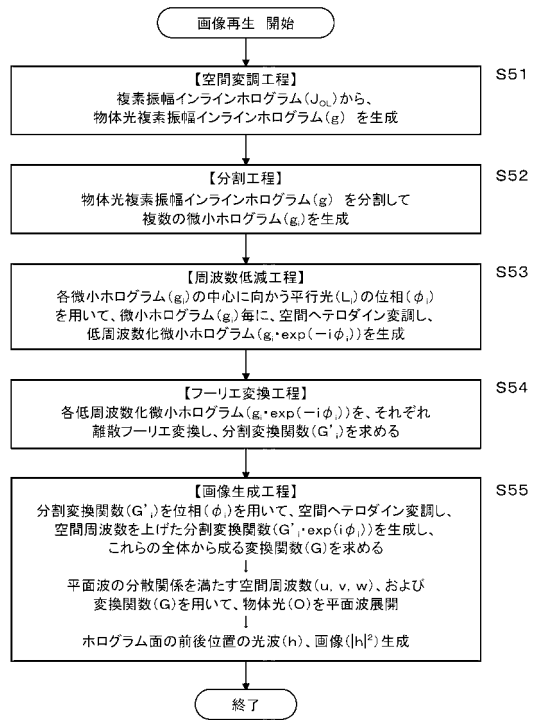
【図 2 4】



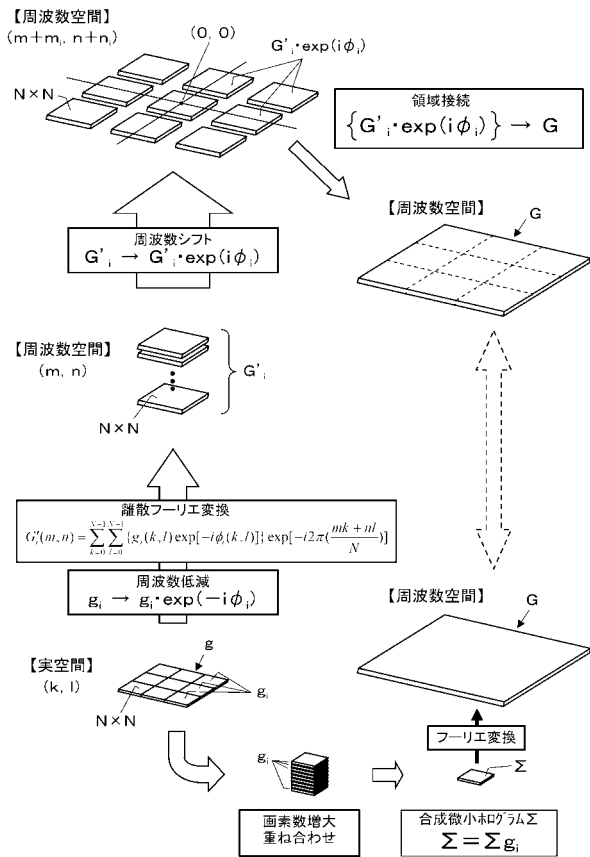
【図 2 5】



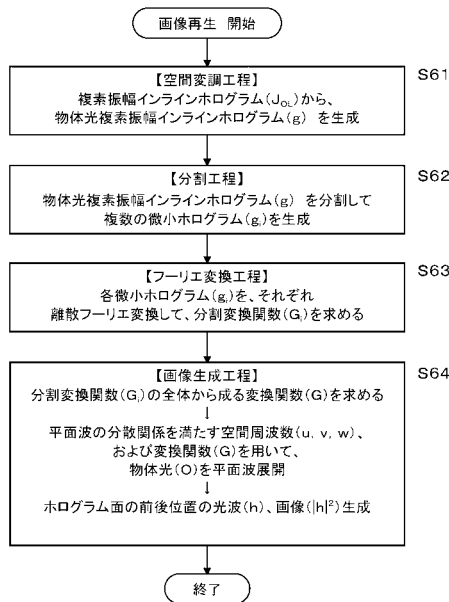
【図 2 6】



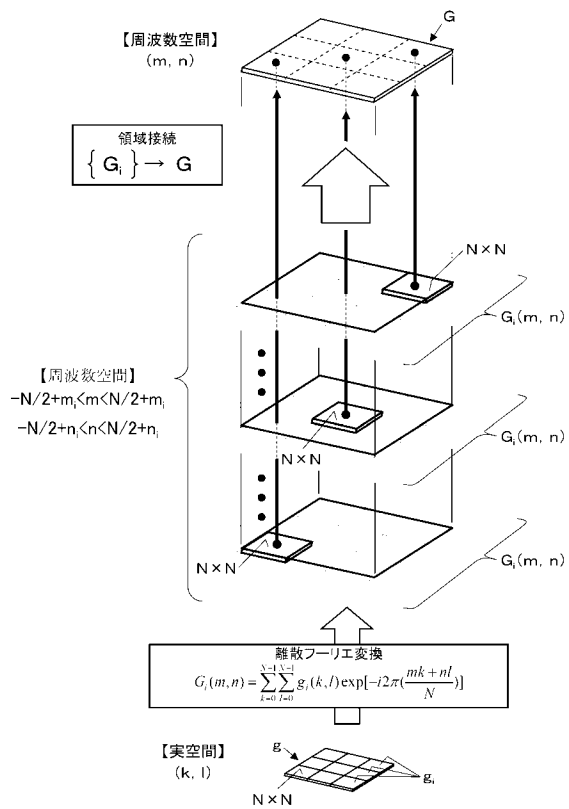
【図 27】



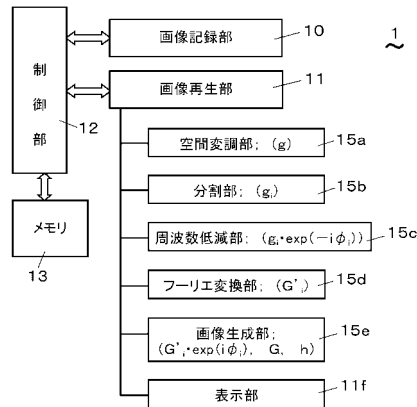
【図 28】



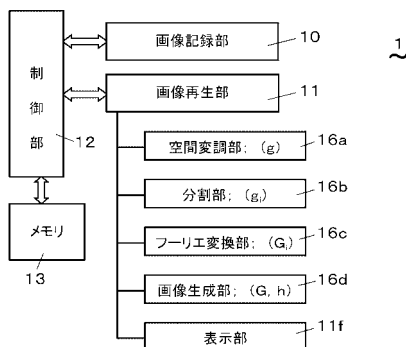
【図 29】



【図 30】



【図 31】



フロントページの続き

(56)参考文献 特開2007-114552(JP,A)
米国特許第6411406(US,B1)
特開2010-517102(JP,A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

G02B	21/00
G03H	1/04
G03H	1/08