УДК 535.411.854

## МЕТОД ПОВЫШЕНИЯ ПРОСТРАНСТВЕННОГО РАЗРЕШЕНИЯ В ЦИФРОВОЙ ГОЛОГРАФИЧЕСКОЙ МИКРОСКОПИИ\*

## В. И. Гужов, С. П. Ильиных, И. О. Марченко

Новосибирский государственный технический университет, 630073, г. Новосибирск, просп. К. Маркса, 20 E-mail: vigguzhov@gmail.com

Рассматривается новый метод повышения пространственного разрешения в цифровой голографической микроскопии, основанный на дополнении исходной голограммы результатами измерений, полученных при пространственном сдвиге фотоприёмного устройства на величину, меньшую значения используемого разрешения. В отличие от известных методов новый метод не требует решения системы уравнений.

*Ключевые слова:* цифровая голография, голографическая микроскопия, интерферометрия, пространственный сдвиг, сверхразрешение, синтезированная апертура.

DOI: 10.15372/AUT20180313

Введение. Голографический метод возник в процессе усовершенствования электронной микроскопии. Идея состояла в том, чтобы, используя имеющийся когерентный источник электронов, записать голограмму микроскопического объекта [1]. Если затем эту голограмму в процессе восстановления осветить когерентными световыми волнами, то теоретически должно получиться значительно увеличенное объёмное изображение данного микроскопического объекта. Однако сложность работы с электронными пучками не позволила реализовать эту идею [2].

Современные голографические микроскопы основаны на схемах увеличения изображения с помощью микрообъективов, как и в обычных оптических микроскопах [3, 4]. На рис. 1 представлена оптическая схема цифрового голографического микроскопа [5]. В зависимости от расстояния *d* изображение объекта восстанавливается в области Френеля или Фраунгофера.

Основное преимущество подобных систем — повышение диапазона и точности при измерении профиля (координаты z), в то же время пространственное разрешение (по x и y) осталось таким же, как и в оптической микроскопии. Это разрешение определяется критерием Рэлея [6]

$$R = 0.61(\lambda/NA^{\text{obj}}),\tag{1}$$

где  $NA^{obj}$  — числовая апертура, которая зависит от конструкции микрообъектива. При работе в воздухе теоретически максимальное значение числовой апертуры не может превышать 1. Для достижения более высоких значений используется иммерсионная среда между передней линзой и образцом. В этом случае значение  $NA^{obj}$  может быть немного больше 1.

На практике при длине волны порядка 500 нм и числовой апертуре 1,4 разрешение по координатам x, y не превышает 200 нм. В то же время у электронных микроскопов прост-

<sup>\*</sup>Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 18-08-00580).



Puc. 1. Схема цифрового голографического микроскопа

ранственное разрешение может достигать менее 1 нм. Поэтому внимание многих исследователей обращено к вопросам синтеза высокоразрешающего изображения из набора низкоразрешающих растров, полученных смещением изображения объекта на субпиксельную величину [7–10]. В радиотехнике такой подход называется синтезированной апертурой, в оптике — методами «сверхразрешения». В данной работе предлагается новый метод повышения разрешения в цифровой голографии, который не требует решения системы уравнений.

Постановка задачи. Общая постановка задачи формирования сверхразрешающего растра описана в [11]. На рис. 2 показана схема регистрации одномерного сигнала при его сканировании апертурой с низким разрешением. Здесь n — количество элементов низкоразрешающего растра; l — количество высокоразрешающих элементов, попадающих в интегрируемую апертуру  $I_i$ ,  $i = 1, \ldots, n$ ; nl — количество элементов в высокоразрешающих е иментов.

В результате измерений мы имеем набор значений с низким разрешением  $I_i$ , сдвинутых относительно друг друга на некоторую величину, меньшую размера интегрированной апертуры. Основная задача — определить высокоразрешающие элементы  $x_i$  из системы уравнений

$$x_{1} + x_{2} + \ldots + x_{l} = I_{1};$$
  

$$x_{2} + x_{3} + \ldots + x_{l+1} = I_{2};$$
  

$$\ldots$$
  

$$x_{(n-1)l+1} + x_{(n-1)l+2} + \ldots + x_{nl} = I_{nl}.$$
(2)

При увеличении числа сдвигов размер системы линейных уравнений получается очень большим. Основные исследования в этой области связаны с методами ускорения и повышения устойчивости решения системы (2) и методами повышения скорости вычислений.



*Puc. 2.* Схема регистрации низкоразрешающего сигнала при субпиксельном сдвиге по одной строке



*Рис. 3.* Восстановление голограммы: a — оцифрованная голограмма с усреднением по окрестности  $3 \times 3$  точки (2048 × 2048); b — восстановленные из неё действительное и мнимое изображения

Алгоритм и его реализация. Для экспериментального моделирования результатов была разработана оптическая система оцифровки голограмм, зафиксированных на обычных фотопластинках [12, 13] с помощью модифицированного оптического микроскопа «Метам P-1» производства ЛОМО. Для оцифровки использовалась голограмма, полученная при угле 5° между интерферирующими опорным и объектным пучками. Если участок голограммы размером 3 × 3 мм отсканировать с числом элементов 2048 × 2048 и разрешением 1,5 мкм, то выбранного разрешения достаточно для восстановления действительного и мнимого изображений (рис. 3). Поскольку голограмма записывалась в области Фраунгофера, для восстановления изображений использовалось преобразование Фурье [14, 15].

Однако если разрешение уменьшить до 3 мкм, то при выбранном угле между интерферирующими полосами действительное и мнимое изображения полностью восстановить не удаётся. Части изображения, которые соответствуют высоким частотам в спектре, исчезают (рис. 4).

Если есть возможность перемещать голограмму (или детектор) в объектной области микроскопа на величину, меньшую выбранного разрешения, то по серии голограмм, оцифрованных с недостаточным разрешением, можно восстановить изображения, соответствующие высокому разрешению при оцифровке. Пусть имеются результаты (рис. 5) оцифровки четырёх голограмм с разрешением  $1024 \times 1024$ : A(x, y) — без сдвига, AX(x, y) —



*Рис.* 4. Восстановление голограммы при низком разрешении: *a* — голограмма с разрешением 1024 × 1024; *b* — восстановленное изображение



*Рис. 5.* Последовательность пространственных сдвигов при увеличении разрешения в 2 раза

со сдвигом по оси X на величину, равную половине значения разрешения, AY(x, y) — со сдвигом по оси Y, AXY(x, y) — со сдвигом по осям X и Y, тогда мы можем сформировать матрицу высокоразрешающих элементов из системы уравнений (2).

Значения A(x, y), AX(x, y), AY(x, y), AXY(x, y) могут быть получены в результате трёх сдвигов. Сначала фиксируем кадр A без сдвига, затем сдвигаем на половину элемента разрешения вправо и получаем AX, смещаем вниз и получаем AXY, смещаем влево и получаем AY. Если разрешение системы равно 3 мкм, то необходимо выбрать шаг сдвига 1,5 мкм.

Формируем матрицу из результатов измерений с низким разрешением (см. таблицу). Затем применяем преобразование Фурье для получения действительного и мнимого изображений.

На рис. 6 показана сгенерированная голограмма размером 2048 × 2048 пикселей из набора четырёх голограмм с низким разрешением 1024 × 1024 и восстановленные из неё действительное и мнимое изображения. Видно, что разрешение соответствует оцифровке голограммы при увеличении в 2 раза. Если требуется увеличить разрешение в 3 раза, то необходимо восемь сдвигов и девять растров с низким разрешением.

На рис. 7 представлена сгенерированная голограмма размером  $2048 \times 2048$  пикселей из набора девяти голограмм с низким разрешением  $682 \times 682$  и восстановленные из неё действительное и мнимое изображения. Такую процедуру можно обобщить на любое количество шагов. Размер сгенерированной голограммы будет в  $n^2$  больше, чем исходная голограмма, где n — число, определяющее увеличение разрешения. Достигаемое разрешение при этом будет задаваться только величиной сдвига.

Ограничением метода является значительное увеличение времени вычислений. Например, если поле зрения микроскопа оцифровывается на кадре 1000 × 1000 пикселей с

	-	-	-	-	-	
$A(x_0, y_0)$	$AX(x_0, y_0)$	$A(x_1, y_0)$	$AX(x_1, y_0)$	$A(x_2, y_0)$	$AX(x_2, y_0)$	
$AY(x_0, y_0)$	$AXY(x_0, y_0)$	$AY(x_1, y_0)$	$AXY(x_1, y_0)$	$AY(x_2, y_0)$	$AXY(x_2, y_0)$	
$A(x_0, y_1)$	$AX(x_0, y_1)$	$A(x_1, y_1)$	$AX(x_1, y_1)$	$A(x_2, y_1)$	$AX(x_2, y_1)$	
$AY(x_0, y_1)$	$AXY(x_0, y_1)$	$AY(x_1, y_1)$	$AXY(x_1, y_1)$	$AY(x_2, y_1)$	$AXY(x_2, y_1)$	
$A(x_0, y_2)$	$AX(x_0, y_2)$	$A(x_1, y_2)$	$AX(x_1, y_2)$	$A(x_2, y_2)$	$AX(x_2, y_2)$	
$AY(x_0, y_2)$	$AXY(x_0, y_2)$	$AY(x_1, y_2)$	$AXY(x_1, y_2)$	$AY(x_2, y_2)$	$AXY(x_2, y_2)$	
$A(x_0, y_3)$	$AX(x_0, y_3)$	$A(x_1, y_3)$	$AX(x_1, y_3)$	$A(x_2, y_3)$	$AX(x_2, y_3)$	
$AY(x_0, y_3)$	$AXY(x_0, y_3)$	$AY(x_1, y_3)$	$AXY(x_1, y_3)$	$AY(x_2, y_3)$	$AXY(x_2, y_3)$	

Формирование голограммы из голограмм с низким разрешением



*Рис. 6.* Увеличение разрешения при субпиксельном сканировании голограммы: *а* — четыре голограммы (1024 × 1024) со сдвигом на половину пикселя; *b* — синтезированная голограмма размером 2048 × 2048 пикселей; *c* — восстановленное по синтезированной голограмме изображение



*Рис.* 7. Увеличение разрешения в 3 раза при субпиксельном сканировании голограммы: *а* — девять голограмм (682 × 682) со сдвигом на 1/3 пикселя по осям *X* и *Y*; *b* — синтезированная голограмма размером 2048 × 2048 пикселей; *с* — восстановленное по синтезированной голограмме изображение



*Рис. 8.* Увеличение разрешения по оси X при субпиксельном сканировании голограммы в случае ошибочного задания пространственного сдвига: *а* — синтезированная голограмма размером 2048 × 1024 пикселя; *b* — восстановленное по синтезированной голограмме изображение

разрешением 1 мкм, то для достижения разрешения порядка 1 нм необходимо выполнить преобразование Фурье над массивом размером  $nl \times nl = 1000000 \times 1000000$  элементов. Для сокращения времени вычислений такие операции требуется производить на графических ускорителях.

Другим ограничением, связанным с аппаратной реализацией, является сложность задания точного значения субпиксельного сдвига. В современных устройствах позиционирования используется пьезокерамика [16, 17], которая даёт значительные ошибки из-за явления гистерезиса. На рис. 8 показан результат восстановления голограммы, синтезированной по голограммам, зарегистрированным с низким разрешением при ошибке в задании сдвига, составившего 1/4 вместо ожидаемого (на половину пикселя). В восстановленных изображениях видны геометрические искажения, но всё же разрешение позволяет восстановить части изображения, соответствующие высоким гармоникам. Таким образом, алгоритм достаточно устойчив к ошибкам установки. Однако геометрические искажения, вызванные неправильным заданием сдвига, следует учитывать при количественных расчётах.

Заключение. Рассматривается новый метод повышения пространственного разрешения в цифровой голографической микроскопии. В голографической микроскопии изображения восстанавливаются в области Френеля или Фраунгофера, поэтому для получения изображения необходимо провести преобразование Фурье над голограммой, зафиксированной в объектной области. В таком случае не требуется решения системы уравнений. Метод основан на дополнении исходной голограммы результатами измерений, полученных при пространственном сдвиге на величину, меньшую значения используемого разрешения.

Современные устройства позиционирования обеспечивают сдвиг по осям X и Y с шагом до 0,1 нм. Это позволяет достичь пространственного разрешения оптической системы менее 1 нм.

Ограничения при использовании метода связаны с увеличением времени вычислений больших массивов при выполнении преобразования Фурье и геометрическими искажениями восстановленных изображений, вызванных ошибками при задании пространственных сдвигов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1. Gabor D. A new microscopic principle // Nature. 1948. 161, Is. 4098. P. 777–778.
- 2. Гужов В. И. Математические методы цифровой голографии: Учеб. пособие. Новосибирск: Изд-во НГТУ, 2017. 80 с.
- Junwei M., Yao B., Gao P. et al. Parallel phase-shifting interferometry based on Michelson-like architecture // Appl. Opt. 2013. 49, N 34. P. 6612–6616.
- Ma L., Li Y., Wang H., Jin H. Fast algorithm for reliability-guided phase unwrapping in digital holographic microscopy // Appl. Opt. 2012. 51, N 36. P. 8800–8807.
- Micó V., Ferreira C., Zalevsky Z., Garcia J. Basic principles and applications of digital holographic microscopy // Microscopy: Science, Technology, Applications and Education /Eds. A. Méndez-Vilas, J. Diaz. 2010. Vol. 2, N 4. Formatex Microscopy Ser. P. 1411–1418.
- Коронкевич В. П. Формирование изображения в оптических системах: Учеб. пособие. Новосибирск: Изд-во НГТУ, 2005. 76 с.
- Paturzo M., Merola F., Grilli S. et al. Super-resolution in digital holography by a two-dimensional dynamic phase grating // Opt. Express. 2008. 16. P. 17107–17118.
- Claus D. High resolution digital holographic synthetic aperture applied to deformation measurement and extended depth of field method // Appl. Opt. 2010. 49, N 16. P. 3187–3198.

- 9. Tippie A. E., Kumar A., Fienup J. R. High-resolution synthetic-aperture digital holography with digital phase and pupil correction // Opt. Express. 2011. 19, N 3. P. 12027–12038.
- Блажевич С. В., Селютина Е. С. Повышение разрешения цифрового изображения с использованием субпиксельного сканирования // Научные ведомости БелГУ. Сер. Математика. Физика. 2014. 176, № 5, вып. 34. С. 186–190.
- 11. Васьков С. Т., Ефимов В. М., Резник А. Л. Быстрая цифровая реконструкция сигналов и изображений по критерию минимума энергии // Автометрия. 2003. **39**, № 4. С. 13–20.
- 12. Гужов В. И., Ильтимиров Д. В., Хайдуков Д. С. и др. Модификация оптических микроскопов // Автоматика и программная инженерия. 2016. 16, № 2. С. 71–76.
- 13. Гужов В. И., Денежкин Е. Н., Чернов О. В., Зарубин Н. С. Восстановление изображений из реальных голограмм, зафиксированных на фотопластинках // Автоматика и программная инженерия. 2017. 19, № 1. С. 76–80.
- Гужов В. И., Емельянов В. А., Хайдуков Д. С. Область возможного применения дискретных преобразований Фурье и Френеля // Автоматика и программная инженерия. 2016.
   15, № 1. С. 97–103.
- 15. Гужов В. И., Ильиных С. П., Хайбуллин С. В. Восстановление фазовой информации на основе методов пошагового фазового сдвига при малых углах между интерферирующими пучками // Автометрия. 2017. 53, № 3. С. 101–106.
- 16. Scan Company. RatisXY(Z) двухкоординатный плоскопараллельный сканер. URL: http://www.nanoscantech.com/ru/products/stage/stage-76.html (дата обращения: 26.12.2017).
- 17. **Камера IQ.** Vieworks VN видеокамеры высокого разрешения с технологией Pixel Shift. URL: https://www.cameraiq.ru (дата обращения: 26.12.2017).

Поступила в редакцию 26 декабря 2017 г.