

УДК 535.2

**МЕТОД КОМПЕНСАЦИИ СПЕКТРАЛЬНОЙ НЕОДНОРОДНОСТИ
ИСТОЧНИКА ИЗЛУЧЕНИЯ ПОДСТРОЙКОЙ ЕГО ЦВЕТОВОЙ
ТЕМПЕРАТУРЫ ДЛЯ ГИПЕРСПЕКТРАЛЬНЫХ ПРИЛОЖЕНИЙ
В МИКРОСКОПИИ****И.П. Гуров, А.И. Лопатин, А.В. Мельников**

Рассмотрен метод компенсации спектральной неоднородности источника излучения монохромного осветителя микроскопа-гиперспектрофотометра для повышения эффективности использования динамического диапазона регистрирующей видеоматрицы.

Ключевые слова: микроскопия, гиперспектральное изображение, спектрофотометрия.

Введение

Гиперспектральные приложения в микроскопии основаны на последовательной записи набора изображений, полученных при освещении микрообъекта монохромным излучением на различных длинах волн [1]. Для получения набора изображений, записанных в широком спектральном диапазоне, необходимо учитывать спектральную неоднородность излучения источника света, спектральную чувствительность приемника, спектральное пропускание оптических элементов микроскопа-гиперспектрофотометра и распределение коэффициента отражения (пропускания) по площади исследуемого образца, так как аналого-цифровой преобразователь видеоматрицы имеет ограниченный динамический диапазон [2]. Известны методы расширения эффективного динамического диапазона видеоматриц [2, 3], наиболее популярные из которых сводятся к подстройке времени экспозиции [3–5]. Экспозиция видеоматрицы $H(\lambda)$ определяется произведением освещенности светочувствительного элемента на время экспозиции [6]:

$$H(\lambda) = E(\lambda)t_{exp},$$

где $E(\lambda)$ – освещенность в плоскости видеоматрицы; t_{exp} – время экспозиции.

Спектральную неоднородность излучения, освещающего плоскость видеоматрицы, можно компенсировать изменением времени экспозиции на различных спектральных интервалах [1]. Применение этого метода компенсации спектральной неоднородности приводит к усложнению учета темнового тока видеоматрицы при вычислениях коэффициента пропускания или отражения, так как уровень темнового тока видеоматрицы зависит от значения времени экспозиции. В этом случае требуются дополнительные операции при выполнении процедуры записи гиперспектрального изображения, которые приводят к увеличению времени ее проведения. В настоящей работе рассматривается другой подход к повышению эффективности использования динамического диапазона регистрирующей видеоматрицы, который заключается в подстройке уровня освещенности изменением цветовой температуры источника излучения монохромного осветителя микроскопа-гиперспектрофотометра при регистрации гиперспектральных изображений на различных длинах волн.

Теоретические основы метода

Источник излучения для гиперспектральных приложений микроскопии должен обеспечивать возможность получения изображений микрообъектов в узких спектральных интервалах во всем рабочем спектральном диапазоне, который имеет границы примерно 0,4–1,0 мкм [1], с учетом спектральной чувствительности видеоматрицы [7]. Этим условиям соответствует галогеновая лампа накаливания, которая имеет номинальную цветовую температуру около 2850 К [8].

При использовании гиперспектральных методов в микроскопии возникает задача повышения уровня точности измерений коэффициента пропускания, так как для применения спектральных методов анализа состава микрообъектов необходимо обеспечить возможность измерения коэффициента пропускания с точностью до четвертого знака [9]. Динамический диапазон обычной монохромной видеоматрицы равен трем порядкам [2]. Спектральная неоднородность излучения монохромного осветителя микроскопа-гиперспектрофотометра и спектральная неоднородность чувствительности элементов видеоматрицы приводят к снижению точности измерений коэффициента пропускания. В настоящей работе предлагается метод компенсации спектральной неоднородности, обеспечивающий повышение точности измерений.

Значение интенсивности излучения, освещающего элементы видеоматрицы, можно записать в виде уравнения

$$I(\lambda) = I_{src}(\lambda)T_{dev}(\lambda)S_v(\lambda)T_s(\lambda),$$

где $I_{src}(\lambda)$ – спектр излучения источника света; $T_{dev}(\lambda)$ – коэффициент пропускания оптических элементов микроскопа-гиперспектрофотометра; $S_v(\lambda)$ – спектральная чувствительность элементов видеоматрицы, $T_{sample}(\lambda)$ – коэффициент пропускания исследуемого микрообъекта.

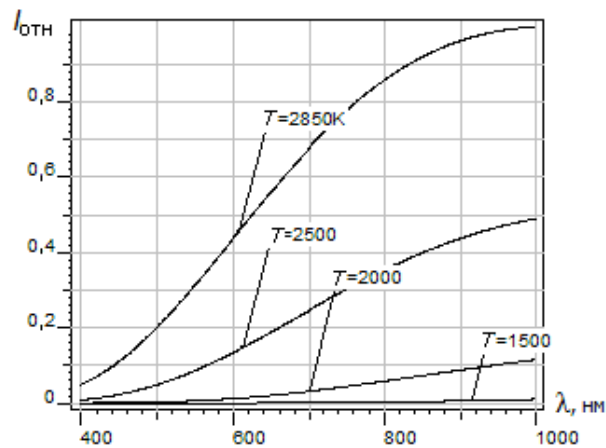


Рис. 1. Спектр излучения галогеновой лампы с различными цветовыми температурами нити накаливания

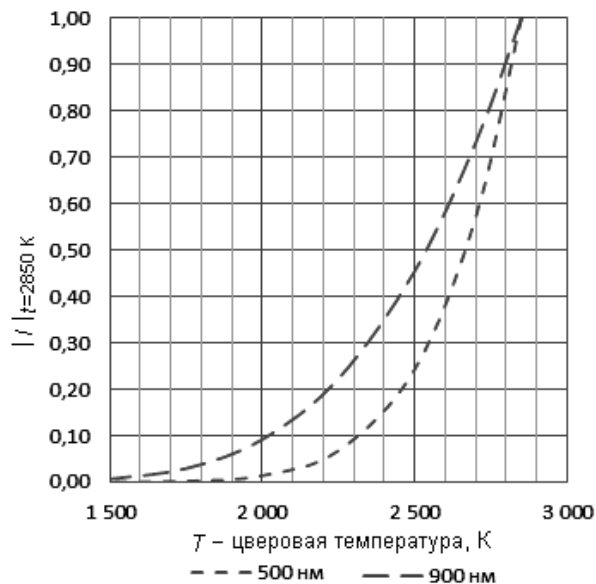


Рис. 2. Графики зависимости отношения интенсивности излучения галогеновой лампы от значения цветовой температуры нити накаливания к интенсивности, соответствующей цветовой температуре, равной 2850 К, на длинах волн 500 нм и 900 нм

Гиперспектральные методы микроскопии сводятся к получению значений величины коэффициента пропускания $T_{sample}(\lambda)$ смежных участков микрообъекта, площадь которых ограничивается размером одного элемента видеоматрицы, а их количество – числом элементов видеоматрицы [10]. Повысить точность определения коэффициента пропускания участка микрообъекта $T_{sample}(\lambda)$ можно подстройкой

множителя $I_{src}(\lambda)$ таким образом, чтобы величина, равная произведению $I_{src}(\lambda)T_{dev}(\lambda)S_v(\lambda)$, оставалась постоянной. В этом случае изменение освещенности элементов видеоматрицы будет происходить только в результате изменения величины коэффициента пропускания $T_{sample}(\lambda)$. Величина коэффициента пропускания оптических элементов микроскопа-гиперспектрофотометра $T_{dev}(\lambda)$ и спектральная чувствительность видеоматрицы $S_v(\lambda)$ считаются постоянными, а интенсивность источника излучения можно изменять различными методами в зависимости от его типа [8]. Изменять спектр излучения $I_{src}(\lambda)$ галогеновой лампы можно изменением цветовой температуры ее нити накаливания [8]. Форма спектра излучения галогеновой лампы соответствует спектру абсолютно черного тела, который описывается формулой Планка [11]. На рис. 1 показаны спектры галогеновой лампы с различными цветовыми температурами нити накаливания. Из рис. 1 видно, что отношение интенсивностей излучения при различных цветовых температурах в отдельных узких спектральных интервалах различно. На рис. 2 показаны графики отношения интенсивностей излучения, соответствующих значениям цветовых температур, равных 1500 К, 2000 К и 2500 К, к интенсивности излучения, соответствующей цветовой температуре, равной 2850 К, на длинах волн, равных 500 нм и 900 нм.

Из рис. 2 видно, что интенсивность излучения галогеновой лампы на различных длинах волн при разных цветовых температурах нити накаливания изменяется с разными значениями их отношений к интенсивности излучения на той же длине волны при цветовой температуре, равной 2850 К. В связи с этим подстройка цветовой температуры должна выполняться на каждой длине волны по своей калибровочной кривой.

Экспериментальные результаты

Для записи набора калибровочных кривых была собрана установка, состоящая из монохроматора МДР-206 с дифракционной решеткой 1200 штр/мм, осветителя с галогеновой лампой КГМ 12-20, лабораторного источника питания и фотоприемного устройства на основе фотодиода ФДУК-2УТ, спектральная чувствительность которого наиболее близко соответствует спектральной чувствительности монохромной видеоматрицы OV9121, которая установлена в микроскопе-спектрофотометре [1]. Оптическая схема установки показана на рис. 3. Задание различных значений цветовой температуры нити накаливания галогеновой лампы осветителя осуществлялось с помощью изменения напряжения источника питания.

При получении калибровочных кривых не учитывался коэффициент пропускания оптических элементов микроскопа. Был выполнен анализ спектров пропускания микрообъективов из каталога фирмы Carl Zeiss [12]. Коэффициент пропускания микрообъективов варьируется от 80% до 95% в спектральном интервале 0,4–1,0 мкм. Уровень неоднородности коэффициента пропускания микрообъектива существенно не изменяет значения освещенности элементов видеоматрицы, поэтому значение коэффициента пропускания оптических элементов микроскопа не учитывалось при расчете калибровочных кривых, его полагали равным единице во всем спектральном диапазоне.

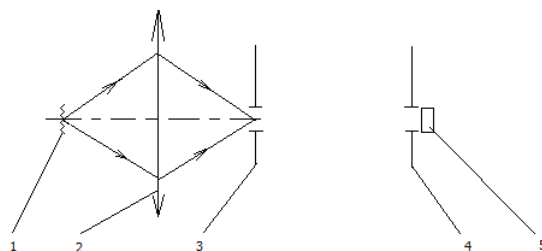


Рис. 3. Оптическая схема установки для получения набора калибровочных кривых: 1 – нить накаливания галогеновой лампы; 2 – конденсор осветителя; 3 – входная щель монохроматора; 4 – выходная щель монохроматора; 5 – фотоприемное устройство, установленное вблизи выходной щели

На рис. 4 показан набор графиков полученных зависимостей произведения $I_{src}(\lambda)T_{dev}(\lambda)S_v(\lambda)$ от длины волны, которые отнормированы на максимальное значение при различных напряжениях питания галогеновой лампы. Диапазон значений напряжения питания галогеновой лампы изменялся от номинального уровня, который равен 12 В, до уровня, равного 2 В. Исходя из данных, представленных на рис. 4, установлено, что минимальное значение величины $I_{src}(\lambda)T_{dev}(\lambda)S_v(\lambda)$ на длине волны, равной 400 нм, при напряжении питания галогеновой лампы 12 В выше уровня, соответствующего длине волны 1000 нм при напряжении питания галогеновой лампы 2 В. Таким образом, изменением цветовой температуры можно подстроить уровень освещенности элементов видеоматрицы, чтобы он оставался постоянным во всем рабочем спектральном диапазоне, используя полученные калибровочные кривые.

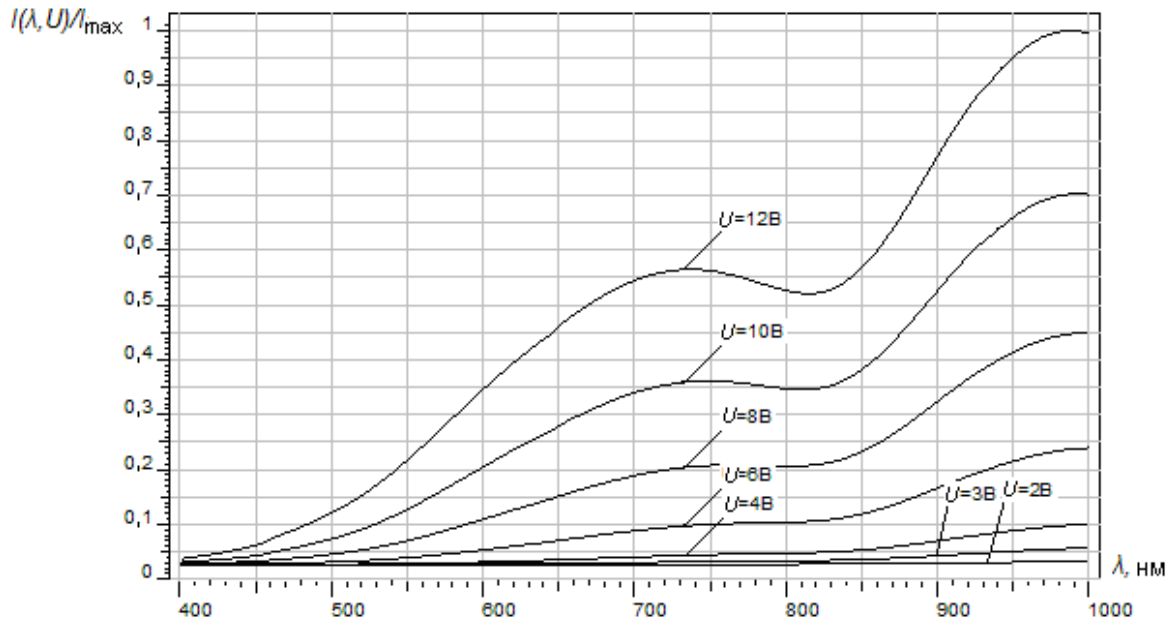


Рис. 4. Графики зависимостей произведения $I_{src}(\lambda)T_{dev}(\lambda)S_v(\lambda)$ от напряжения питания галогеновой лампы

На рис. 5 показаны калибровочные кривые для двух значений длин волн, равных 500 нм и 900 нм, которые построены с использованием линейной интерполяции.

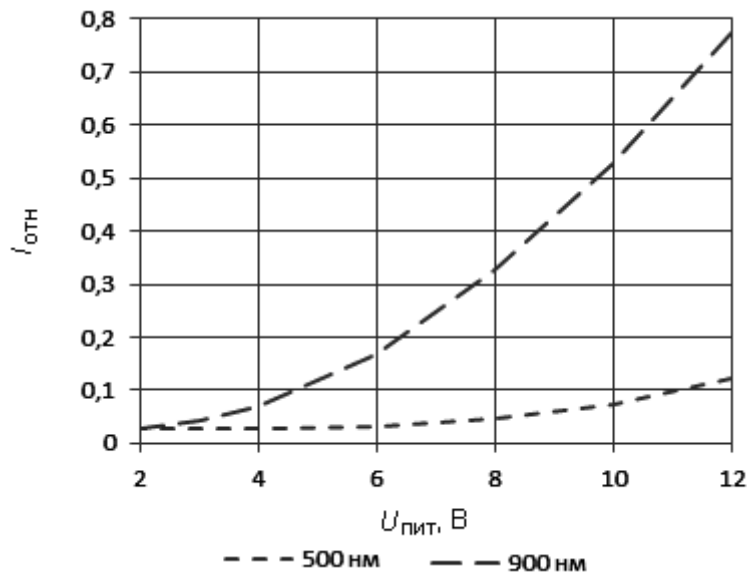


Рис. 5. Графики полученных калибровочных кривых для двух значений длин волн, равных 500 нм и 900 нм

Заключение

Полученные экспериментальные результаты показали возможность применения предложенного метода компенсации спектральной неоднородности источника излучения во всем рабочем спектральном диапазоне микроскопа-гиперспектрофотометра 0,4–1,0 мкм. Метод позволил избежать дополнительных операций при записи гиперспектрального изображения микрообъекта, связанных с учетом зависимости уровня темнового тока видеоматрицы от времени экспозиции, так как время экспозиции в рассматриваемом методе остается постоянным. Алгоритмы построения калибровочной кривой по полученным данным на установке, описанной в работе, для заданной длины волны и расчета напряжения питания галогеновой лампы по заданному значению относительной интенсивности реализованы в программном обеспечении микроскопа-гиперспектрофотометра и позволяют полностью автоматизировать описанный метод.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации.

Литература

1. Белашенков Н.Р., Гуров И.П., Лопатин А.И., Мельников А.В. Микроскоп-спектрофотометр с матричным фотоприемником // Научно-технический вестник СПбГУ ИТМО. – 2007. – Т. 43. – С. 260–265.
2. Nayar S.K., Branzoi V. Adaptive dynamic range imaging: optical control of pixel exposure over space and time // Proc. of the Ninth IEEE International Conference on Computer Vision (ICCV). – 2003. – V. 2. – P. 1168–1175.
3. Nuske S., Roberts J., Wyeth G. Extending the dynamic range of robotic vision // Proc. of the 2006 IEEE International Conference on Robotics and Automation. – 2006. – P. 162–167.
4. Burt P., Kolczynski R.J. Enhanced image capture through fusion // Proc. of International Conference on Computer Vision (ICCV). – 1993. – P. 173–182.
5. Nayar S.K., Mitsunaga T. High dynamic range imaging: spatially varying pixel exposures // Proc. of IEEE Conf. on Computer Vision and Pattern Recognition. – 2000. – V. 1. – P. 472–479.
6. Понс Ж., Форсайт Д. Компьютерное зрение. Современный подход. – М.: Вильямс, 2004. – 928 с.
7. Гуров И.П., Лопатин А.И., Мельников А.В. Метод цветовой визуализации изображений микрообъектов в инфракрасной области // Научно-технический вестник СПбГУ ИТМО. – 2007. – Т. 43. – С. 266–271.
8. Ишанин Г.Г., Панков Э.Д., Андреев А.Л., Польщиков Г.В. Источники и приемники излучения. – СПб: Политехника, 1991. – 240 с.
9. Зайдель А.Н., Островская Г.В., Островский Ю.И. Техника и практика спектроскопии. – М.: Наука, 1972. – 376 с.
10. Smith R. Introduction to Hyperspectral Imaging. – NY: MicroImages, 2006. – 24 p.
11. Ландсберг Г.С. Оптика. – М.: ФИЗМАТЛИТ, 2003. – 848 с.
12. Каталог микрообъективов фирмы Carl Zeiss [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.micro-shop.zeiss.com>, свободный. Яз. англ. (дата обращения 28.07.2012)

Гуров Игорь Петрович

– Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, доктор технических наук, профессор, зав. кафедрой, gurov@mail.ifmo.ru

Лопатин Александр Иосифович

– ОАО «ЛОМО», кандидат физ.-мат. наук, главный оптик, ailopatin@gmail.com

Мельников Алексей Владимирович

– Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, ассистент, melnikov.alexey@gmail.com