

## Abstract

We have developed a two-dimensional lock-in amplifier system that can detect very small changes in the light intensity distributions of images. In microscopic imaging of pollen grains of *cryptomeria japonica*, determination of the pollen density is difficult, since the contrast of imaging is low. In this paper, we present a new technique to observation of pollen images by implementing the lock-in amplifier technology. Change of images in two different color is obtained using the lock-in amplifier system. The difference image of pollen is enhanced, and dust noises are rejected. We believe that this system has many important applications in the two-dimensional measurement of optical information.

## 1. はじめに

微小信号を捉える装置としてロックインアンプが広く用いられている。これは同期検波した信号を平均化し、信号通過帯域幅を狭めることでS/N比を向上させる手法である。これを画像検出に適用したのが二次元ロックインアンプであり、画像の流量に相当する微小変化を高感度にとらえることで、原子・イオンなどの分光測定、あるいは生物・生体分野における蛍光測定や顕微鏡の解像度向上<sup>1)</sup>、さらに機械的応力や電磁界により発生する歪みに伴う光位相変化の分布<sup>2)</sup>など光の振幅および位相情報を利用する広い分野での測定が可能となる。今回、二次元ロックインアンプを用いて、スギ花粉を検出する方法について検討したので報告する。

## 2. スギ花粉の計測

スギ花粉は花粉症の原因として現在大きな問題となっており、スギ花粉が空中に大量に飛散する季節にはスギ花粉情報が出されている。花粉密度はスライドグラスにワセリンを塗り、これに付着した花粉の密度を顕微鏡下で目視により数えることで計測されている。スライドグラスは24時間屋外に放置されたあとで計測され、花粉密度が数

個/cm<sup>2</sup>程度で患者が発生し、最大では1000個/cm<sup>2</sup>を超える量となる。花粉情報は、花粉が数個/cm<sup>2</sup>程度の微量な段階から出されるが、人手による計測には大変な手間を要するために、測定の自動化が望まれている。しかしながら、コンピュータを用いた自動計測には熟練した測定者のような高度な判断能力を持たせることは困難であるので、花粉以外のゴミなどとの区別をするために花粉画像のコントラストをあげることが必要となる。

## 3. スギ花粉画像のコントラスト向上法

スギ花粉は直径30μm程度の球形粒子である。花粉画像を図1に示す。これは花粉を水中に浮遊させて撮ったもので、背景が暗いためによく見えるが花粉自体にはほとんど色がなく透明なため、スライドグラス上では観察しにくい。このため前処理により花粉を着色することが行われている。着色した花粉は、図2に示すように白色光の照明下では青紫に見え、観察を容易なものにしているが、これを自動計測する場合には、周りにあるゴミとの区別が重要となる。着色した花粉は、これに照射する光の波長に応じて異なった吸収をするため照射光の波長を切り替えることにより(たとえば、青と黄色)コントラストの違う画像として

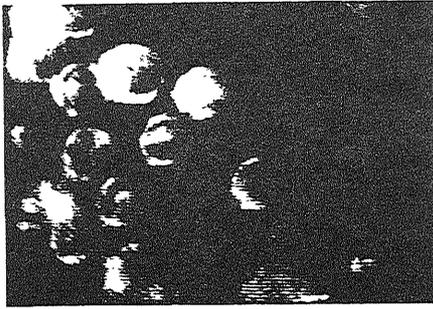


図1 スギ花粉画像  
Fig.1 Pollen images.

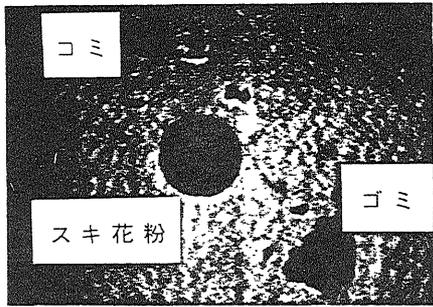


図2 着色したスギ花粉画像（白色光）  
Fig.2 An image of colored pollen illuminated by white light.

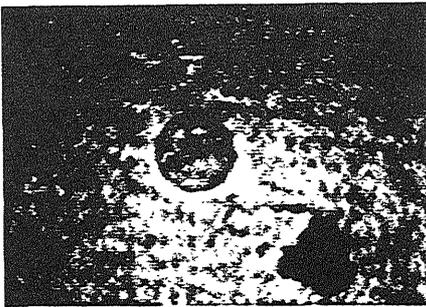


図3 着色したスギ花粉画像（青色光）  
Fig.3 An image of colored pollen illuminated by blue light.

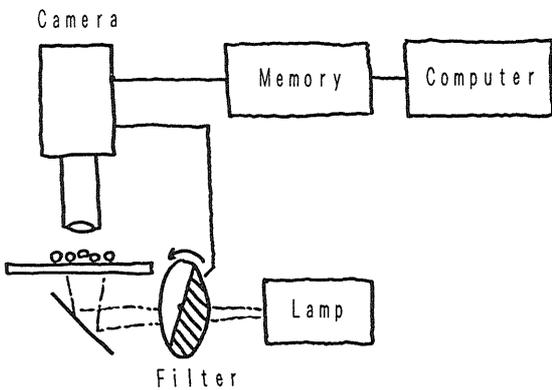


図4 スギ花粉検出装置

Fig.4 A schematic diagram of the system.

観察される。これに対し、ゴミなどの着色しないもの（つまり黒あるいは灰色）は波長を切り替えてもコントラストの変化がない。従って、青色光で撮った画像から黄色光で撮った画像を差し引けば、コントラストの変化がないゴミは消失し、花粉のみの画像が得られることになる。図3に青色光で撮った画像を示す。花粉は青色をほとんど吸収しないためほぼ透明に見えるが、ゴミは図2と同様はっきりと写っている。従って図2と図3の差の画像は花粉のみを強調したものになる。差画像を得る場合には照明光の強度変化（1/f揺らぎ）に起因する雑音の増加が問題となる。これを抑えるには短い時間間隔で画像の差を得ればよい。二次元ロックインアンプを用いた検出装置のブロック図を図4に示す。ビデオカメラのフレーム間隔と同じ周期で顕微鏡の照明光の波長（青、黄）を切り替え、画像を取り込む。メモリーには青色画像と黄色画像が交互に蓄えられるため、これらの差をとれば時間的な相関が強い差画像が得られることになる。

#### 4. おわりに

スギ花粉症の原因となる花粉の密度計測を自動化することを目的に、二次元ロックインアンプを用いたスギ花粉検出装置を考案した。本発表では、照明光の波長切り替えによるスギ花粉画像のコントラスト強調が可能であることを示した。現在実験装置を整備中であり、近い将来、密度計測を自動化することが可能であろう。

#### 参考文献

- (1) 前野ほか、「二次元ロックインアンプによる顕微鏡画像の深さ方向分解能の改善」、電学論C、Vol.112-C, No.8, pp.474-479 (1992)
- (2) T. Maeno, Y. Nonaka and T. Takada, "Determination of Electric Field Distribution in Oil using the Kerr-effect Technique after Application of dc Voltage", IEEE Trans on Electrical Insulation, Vol.25 No.3, pp.475-480 (1990)