

PC サウンド入出力を用いた光学顕微鏡画像化装置

星宮 務*・熊谷 正朗**

*東北学院大学工学部電子工学科 〒985-8537 多賀城市中央 1-13-1

**東北学院大学工学部機械知能工学科 〒985-8537 多賀城市中央 1-13-1

Optical Microscope Imaging Apparatus Using PC Sound Input/Output

Tsutomu HOSHIMIYA* and Masaaki KUMAGAI**

*Department of Electronics, Faculty of Engineering, Tohoku Gakuin University, 1-13-1, Chuo, Tagajyo, 985-8537

**Department of Mechanical Engineering, Faculty of Engineering, Tohoku Gakuin University, 1-13-1, Chuo, Tagajyo, 985-8537

In schools, scientific education with an optical microscope is popularly used. However, scanning apparatus for the microscope is very expensive such that its price is several times higher than the microscope itself. In order to activate children's interest in science, a low-price scanning and imaging function unit compatible to conventional optical microscopes used in schools was designed and manufactured using a personal computer (PC) used in all elementally and middle school education. The designing of imaging apparatus includes two choices: (i) using imaging device (reflection-type), or (ii) using photo-sensor and scanning device (transmission-type). In this paper, the latter method is adopted in order to use whole over the world. At the same time, new measurement scheme, in which an illumination optical source was modulated at the audio frequency and the detected signal was fed into the sound input terminal of the PC, was proposed and demonstrated for the first time. This apparatus measures optical transmittance of modulated visible light with a photo-detector, utilizing audio-input/output interfaces of PC as A/D and D/A converters. In order to obtain colored microscope image, RGB full-color LED driven with independent modulation frequencies was adopted. Synchronous detection and successive color separation was achieved by software. Scanning unit with a pair of pulse motor drives was also used. Image formation for the industrial and biological specimen with the resolution of 100 x 100 pixels was achieved, while the measurement time needed was 33 seconds. (For 50 x 50 pixels, 9 seconds were needed.) Control software was built on Knoppix operating system (an operating system based on freeware Linux), however it is very easy to rewrite this software to Windows application. By these reasons, this apparatus is compatible to conventional optical microscope and low-price (less than microscope price) so that it is one of the best candidates for science education application in schools.

Key words: microscope, imaging, audio input/output, science education

1. 序 論

初等中等教育における「理科離れ」は、技術立国日本にとって深刻な問題を提示している。特に理科実験の体験が少ない子供たちに、例えば光学顕微鏡の像に触れさせて、自然に対する感動を与えることは重要である。一部の学校に予算を重点的にかけて高度な実験装置を配備することもひとつの方法ではあるが、全国津々浦々の学校に学ぶ児童

生徒に理科実験で興味をもたせることが一層重要な課題である。

本研究では、限られた初等・中等教育費の範囲内で実効をあげるために、小中学校・高校に現有の光学顕微鏡にそのまま付属させることのできる画像化装置を実現することを、その目的とした。

生徒が顕微鏡で見ている画像をハードコピーする装置に

*E-mail: tpth@tjcc.tohoku-gakuin.ac.jp

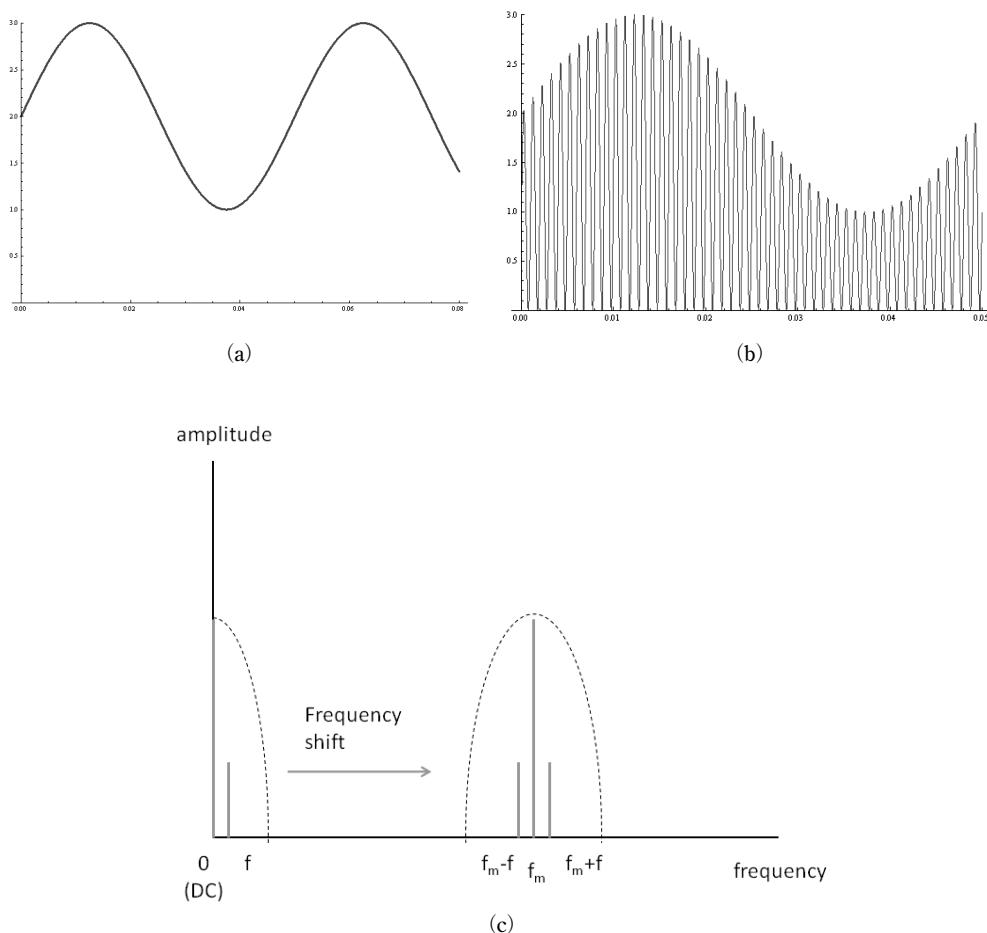


Fig. 1 (a) An optical signal wave form with a DC 2.0 V and AC amplitude 1.0 V (frequency: 20 Hz). (b) amplitude modulated signal (a) with modulation frequency of 2 kHz. (c) frequency spectrum of the waveform (a) and (b).

は、CCD などのイメージングデバイスを用いる方法と、光吸収をセンサーで検出する方法の2つが考えられる。われわれは日本のみならず、開発途上国における理科教育への貢献をも視野に入れた結果、後者の方法を採用することとした。それだけでなく、これまでに光吸収測定的光源を変調し、光センサーで検出した光信号をパソコン(PC)によりA/D変換する方式に基づく低価格な光学顕微鏡画像化装置¹⁻³⁾、ならびに分光計測する装置⁴⁾を全く新しく提案し、一部実証してきた。

本論文では、小・中・高等学校に情報教育のために必ず導入されているPCを最大限に活用し、上記の変調法を採用した「PCサウンド入力方式」を用いることで、顕微鏡本体の価格を上回らない程度の低価格で画像化装置が実現できることを示した。

2. PCサウンド入出力方式の原理

子供たちの理科教育のために光学顕微鏡の画像を取り込

むことを考えるとき、第一候補として考えられるのは、CCDカメラによる撮像装置である。しかし、CCDカメラは日本や米国では比較的低価格化が進んでおり入手も容易であるが、世界中の理科教育事情を考えると、CCDカメラによる撮像装置はまだ高価で、開発途上国の教育機関では経済的に実現が難しいと考えられる。また、顕微鏡操作を容易にする電動ステージもきわめて高価であるため、画像化装置といっても、CCDカメラは用いるが手動で画像を取り込む装置となってしまう。

次に、光源からの光をセンサーで受光してPCに取り込む光学的測定では、通常A/D変換器を用いている。これ自身PCにA/D変換器を取り付けて専用のソフトウェアを付加すると、やはり初等・中等教育機関での理科教育機材としては、全体として高額なものとなってしまう。しかし、試料の吸収によって変化した光をA/D変換して信号を直流付近から取り込む代わりに、光源をオーディオ帯域(20 Hz ~ 20 kHz)に正弦波変調した光を入力信号に用い

る方法を採用すれば、通信工学においてよく知られているように、直流付近の周波数 f を有する信号のスペクトルは直流付近から周波数 $f_m \pm f$ をもち、変調周波数 f_m を中心とした両側波帯に含まれるように変化する⁵⁾。

PCに標準的に付属しているサウンド入出力インターフェース（マイクロフォン入力ならびにスピーカー出力）をA/D変換器・D/A変換器として活用することが考えられる。著者らはこの方法を新たに提案し、「PCサウンド入出力方式」と名付け¹⁻⁴⁾、本論文ではその装置の基礎的な部分を実現した。

測定の実験原理をさらに詳しく説明する。Fig. 1 (a)には、例として直流2.0Vに振幅1V、信号周波数20Hzの交流が重なった光信号を図示した。この光源を変調周波数2kHzで変調すると、試料の吸収などによって振幅変調された信号Fig. 1 (b)を得る。この2つの信号の周波数スペクトルはFig. 1 (c)に示すように、変調周波数 f_m （この場合には2kHz）を中心とし、信号の周波数 f （この場合には20Hz）を側波帯としてもつようになる。この場合には直流分と単純な正弦波の単一スペクトルとなるが、一般的には、図に破線で示したような側波帯スペクトルが、変調周波数だけ高い周波数にシフトした両側波帯をもつようになる。

本論文では、変調した光源からの光を光センサーで1点1点取り込み、試料を顕微鏡に対して走査することを提案した。簡易で安価な電動ステージと、光源+光センサーで、走査と信号取り込みの両機能を安価にあわせもつシステムを用意することができ、特に小学校などの低学年の理科教育や、開発途上国の理科教育について、大きな意義を有するものと考えられる。

3. 実験装置

3.1 顕微鏡画像化装置の原理

Fig. 2は、試料走査装置を取り付けて試料を映像化する装置のブロック図である。PCサウンド出力端子または交流電源から発生された変調電気信号で光源となるランプ、または発光ダイオード(LED)を駆動し、変調した光を試料に入射させる。

試料を透過または反射した光は光センサーにより電気信号に変換され、音の強弱としてPCサウンド入力端子より取り込まれ、試料の走査位置情報とともに記録され、画像として再構成される。

3.2 実験装置

今回の測定では、PCに標準装備しているサウンド出力端子により赤(R)緑(G)青(B)三色のLEDをそれぞれ異なる周波数で駆動して発光させ、試料を透過した変調光

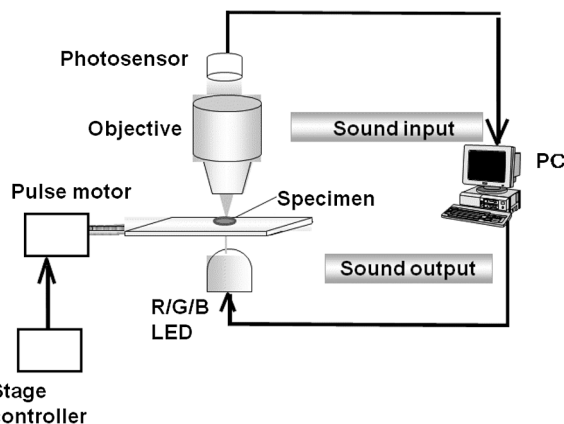


Fig. 2 Schematic diagram of microscope imaging apparatus.

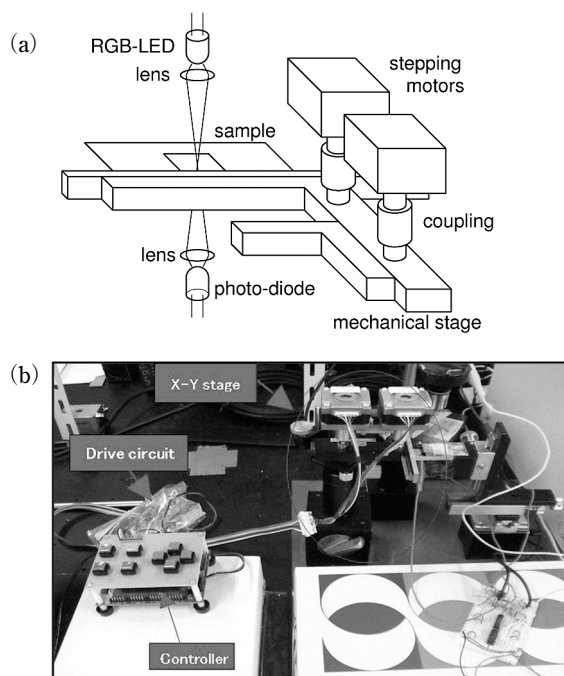


Fig. 3 (a) Schematic experimental setup, (b) photograph of a drive circuit and a stage.

を光センサーで受光する音声入出力部を構成した。音をPCサウンド出力端子に出力し、また検出した電気信号をサウンド入力端子から取り込むためのプログラムは、フリーのUNIX系OSであるKnoppics Edu TG（産業技術総合研究所、アルファシステムズ、東北学院大学の共同開発）上で、C言語により開発された。

実験装置の概要をFig. 3 (a)に、また同図中に示すドライブ回路部とステージ部の写真をFig. 3 (b)に示す。光源としては三色LED (OptoSupply社OSTA5131A, R(波長635nm)/G(波長525nm)/B(波長470nm))を使用した。LED出力光は対物レンズ(10倍ならびに40倍)を用

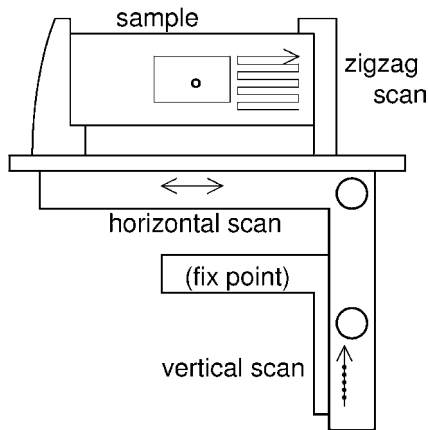


Fig. 4 Concept of jig-zag scan of the specimen.

いて撮像対象上に焦点を結ばせた。対象を透過した光をレンズを用いてフォトダイオード（浜松ホトニクス S1133 型，可視域用 Si フォトダイオード）に集光し，検出する。

対象となる試料の撮像を行うために，市販の顕微鏡用 XY メカニカルステージのつまみを除去し，代わりにステッピングモーター（日本電産サーボ KH39FM2-801，1.8 deg/step）を取り付けて改造した。モーター駆動には独立したマイコン（Renesas H8/3052）を搭載して制御を行った。PC とはスキャン機構側から 1 ラインの駆動終了信号を PC 側に送信して画像化するようにしている。画像解像度（画素ピッチ）である 1 ステップあたりの移動距離は 0.092 mm である。

スキャン機構は，スイッチによる開始指示で解像度を 50×50 ， 100×100 の 2 種類切り替えて，それぞれの画素に相当するジグザグスキャン（Fig. 4 参照）を自動で行う。

スキャン動作のほか，スイッチ操作により撮像位置まで手でステップ単位のセンタリングのための移動も可能であり，単なる電動ステージとして通常の顕微鏡に使用することもできる。

3.3 三原色同時計測の原理

前述のように，本手法は対象に照射した三原色光の透過率を測定することで色情報を得る。この方法はさまざまな手段で実現できるが，今回は，普及を考えて安価に製作できること，PC のサウンド入出力端子を流用すること，見ている前で撮像できるリアルタイムさを優先して，複数周波数で変調した三原色光の同時照射と信号処理による分離を実装した。

まず，照射する三原色光を異なる周波数で点滅（変調）させる。具体的には，ある基本周波数 f Hz に対して，R，G，B の LED におおの $2f$ Hz， $3f$ Hz， $5f$ Hz を使用し

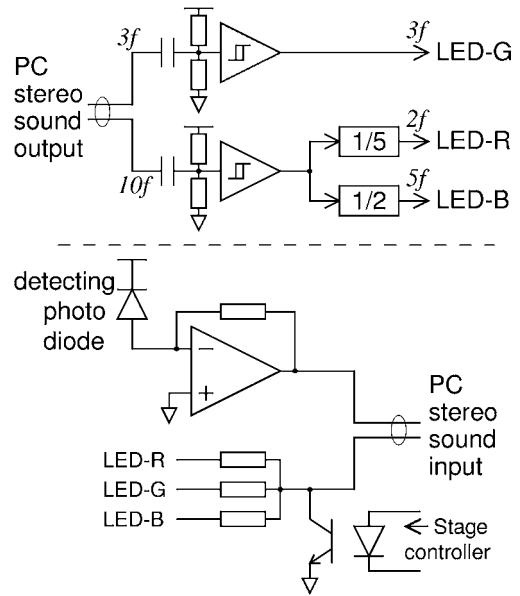


Fig. 5 Sound output/input circuits.

た。対象を透過したこれらの光は，単一のフォトダイオードで検出するため，三原色の信号は混合した状態で PC に取り込まれる。しかし，たとえば $2f$ Hz の成分の振幅を検出することで，R の強度を測定できる。周波数が異なり，独立して振幅を検出しようため，同時計測が可能である。周波数の比率を素数比 $2:3:5$ としたのは，LED をオン/オフで点滅するほか，回路の非線形成分などで生じる高調波が互いに影響することを避けるためである。

また，PC のサウンド入出力端子はアナログ電圧の入出力が可能であるが，直流成分を扱うことができない。この周波数変調方式は交流信号を用いることが前提であるため，問題なく使用することができる。

Fig. 5 に，サウンド端子に三原色 LED を駆動する電気信号を出力し，フォトダイオードで受信した電気信号を入力する回路の概略を示す。発光用基準信号として，PC のサウンド出力端子（ステレオ）より $3f$ Hz および $10f$ Hz の矩形信号を出力する。出力信号には直流成分がないため，コンデンサーと抵抗によってレベルシフトし，バッファーによって成形してデジタルのクロック信号を復元する。 $3f$ についてはそのまま， $10f$ は 5 分の 1 および 2 分の 1 の分周器によって $2f$ Hz， $5f$ Hz とする。

受光側はフォトダイオードの電流を電圧信号に変換し，PC のサウンド入力端子から入力する。ステレオのもう 1 チャンネルには，信号確認のため LED の変調信号を混合して入力する（モニター信号）。ただし，フォトカプラーで個別にスイッチできるようにしており，ステッピングモーターの制御回路により，(1) スキャン開始時，(2) 横移

動時, (3) 縦移動時に信号がカットされる. このモニター信号により, スキャン装置と直接通信することなく, 処理ソフトウェアが同期することができ, 二次元の像を復元する.

3.4 検出のための信号処理

発光信号の生成および受光信号の処理を以下に示す.

まず, 基本周波数 f は, サウンド入出力のサンプリング周波数 f_s Hz (古い PC で 48 kHz, いまの PC で 192 kHz) の 60 分の 1 とした. また, 60 サンプルをひとつの処理単位とする.

装置に送る変調信号としての $3f$ Hz および $10f$ Hz の出力用サンプル値系列は

$$S_{0.3f}[k] = \begin{cases} A(k=0\cdots 9, 20\cdots 29, 40\cdots 49) \\ -A(\text{else}) \end{cases} \quad (1)$$

$$S_{0.10f}[k] = \begin{cases} A(k=0, 1, 2, 6, 7, 8, 12, 13, 14, \cdots) \\ -A(\text{else}) \end{cases} \quad (2)$$

である (A は振幅, $k=0\cdots 59$). これを連続的にサウンド出力から繰り返し送出する.

受信したサンプル値 (連続的に取得するサンプル系列を 60 サンプルごとに区切ったもの) $S_i[k]$ ($k=0\cdots 59$) は以下の式により同期検波を行う.

$$S_{cn} = \sum_{k=1}^n S_i[k] \cdot \cos(2\pi nk/60) \quad (3)$$

$$S_{sn} = \sum_{k=1}^n S_i[k] \cdot \sin(2\pi nk/60) \quad (4)$$

$$A_n = \sqrt{S_{cn}^2 + S_{sn}^2} \quad (5)$$

ここで n は周波数倍率 ($n=2, 3, 5$) である.

受信された電気信号中に含まれるフーリエ成分の直交性により, $2f, 3f, 5f$ のそれぞれの周波数成分を同期検波によって分離し, サンプル値に含まれる周波数 nf の成分の振幅 A_n ($n=2, 3, 5$) を得ることができる (Fig. 6). 同一 PC で同一サンプリング周波数にて入出力を行うため, 高精度に同期しており, 比較的少ないサンプルで十分な分離処理が可能である.

なお, 信号入出力のタイミングが管理されていれば, S_{cn}, S_{sn} の比で位相情報も利用可能であるが, ここでは振幅のみを利用している. 実際の振幅 A_n は LED の光量や光学系の調整, PC 側のボリューム調整などに大きく依存するため, 装置接続のつど, R, G, B 各色光を透明なスライドガラスを通過させて最大振幅を測定し, 透過率 100% の基準値とした.

以上により, 各成分の透過率を検出できる. そこで, モーターによる自動スキャンによって得られる, 連続的に

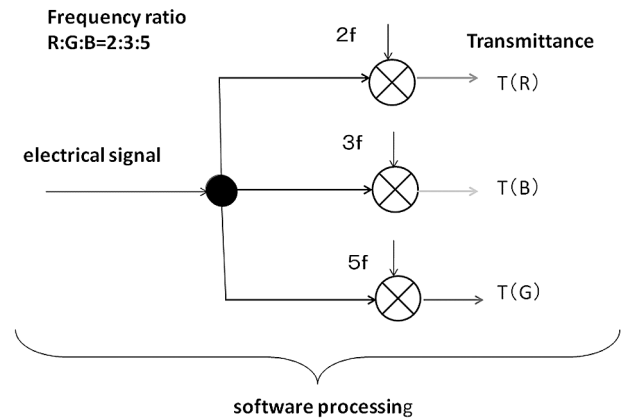


Fig. 6 Calculation algorithm of transmittance of R,G,B light by software.

変化する RGB 輝度値から画像を再構成する.

前述のように, フォトダイオードの検出信号のほかに, スキャンに伴って断続するモニター信号も得られる. この信号の検出振幅が大きく変化するタイミングをもとに, 画像のピクセル境界を判定した. むろん, モーター制御用のマイコンからシリアルポートや USBなどを介して座標値を得るほうが直接的であるが, PC側の要件 (シリアルポートがあること, ポート設定, ドライバー設定など) が複雑化してしまう. サウンド入出力のみの接続, という簡便性を優先し, このような間接的な方法とした.

本手法の検出速度は, 信号の処理速度とモーターの駆動速度によって制限される. 信号処理については今日の PC の性能では演算速度が不足することはない, おもにサウンドのサンプリング周波数が制約となる. また, 上述では 60 サンプルを基準としたが, サンプル数は多いほど S/N が向上する.

モーターの駆動速度については, モーターの脱調が限度となる. しかし, 大きなモーターを使用するわけにもいかないため, モーターをバイポーラ駆動し, 電流も定格以上流してトルクを向上させ, 停止後は速やかに電流を止めることとした.

これらを考慮して設定した条件では, 3.2 ms/pixel であり, スキャン開始点への移動なども含めて, 50×50 および 100×100 の画像を得るのに, それぞれ 8.5 s, 33 s 程度を要した.

なお, 駆動系にはステッピングモーターを 2 個組み合わせて x-y 二次元的な駆動を行っているが, 光学系や駆動系全体を合わせた費用はステージを除くと数千円という低価格なもので, ステージ部 (今回のものでは約 15,000 円) のコスト低減が今後の課題である.

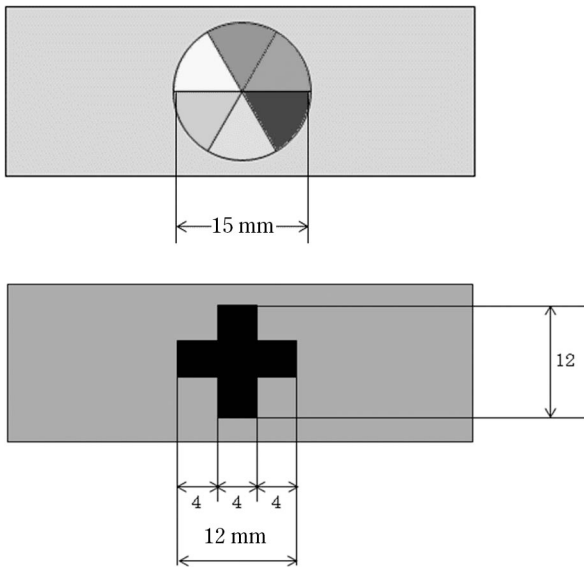


Fig. 7 (a) A six-colored specimen (upper), and (b) a black-painted cross specimen (lower).

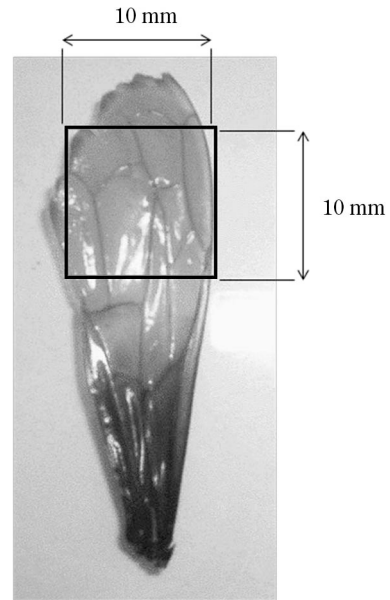


Fig. 8 A wing of spider wasp (*Pompilidae*).

4. 試料ならびに実験結果

4.1 試料

試料として、Fig. 7 (a) に示すように、R, G, Bとその補色 (C, M, Y) に近い色で直径 15 mm の円を塗り分けたものを 6 色試料として、PC のカラーグラフィックスにより OHP シートに印刷した (これと、黒色の正方形に塗布したものを重ねて試料とした)。

また、Fig. 7 (b) のように黒色ペイントを塗布して十字型試料を製作した。さらに生物試料として、Fig. 8 に示すベッコウバチの羽を用い、それをスライドガラスに貼り付けて透過試料とし、測定を行った。

4.2 実験結果

40 倍の対物レンズを用いて、測定範囲 5 mm×5 mm、分解能 50×50 pixel で十字型黒色塗料を試料とした場合に

得られた画像を Fig. 9 (a) に示す。単色ではあるが、比較的鮮明な画像を得ることができている。また、ベッコウバチの羽を測定範囲 10 mm×10 mm、解像度 100×100 pixel で測定を行った結果を Fig. 9 (b) に示す。「肢脈」とよばれる羽の細かな部分まで、はっきりとした画像を得ることができた。

最後に、カラー補正を行った例として、6 色試料を解像度 50×50 pixel で撮像した画像の例を Fig. 10 に示す。黒色試料の位置から逆時計回りに、赤・黄・緑・水色・青・紫の 6 色が鮮明に、かつ正しい色調でカラー化された画像を得ることができた。

これらの得られた顕微鏡画像には、水平方向に若干のにじみ (ずれ) が見受けられる。これらは、1 ラインごとの楕状の画素ずれで、ジグザグスキャンの右方と左方の移動

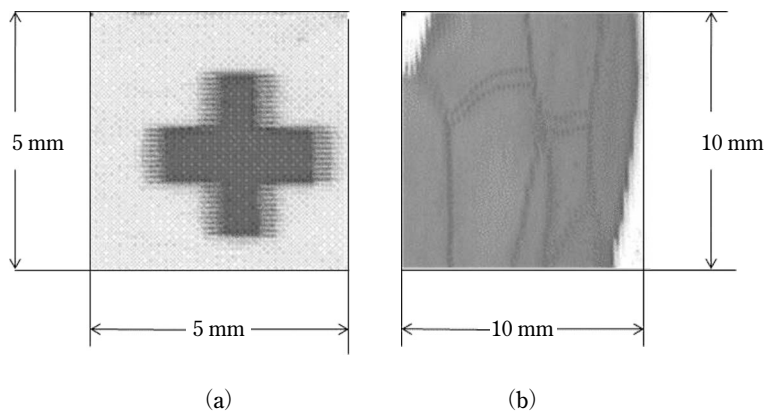


Fig. 9 Optical microscope image (transmission mode) of (a) a black-painted cross specimen, (b) a wing of spider wasp (*Pompilidae*).

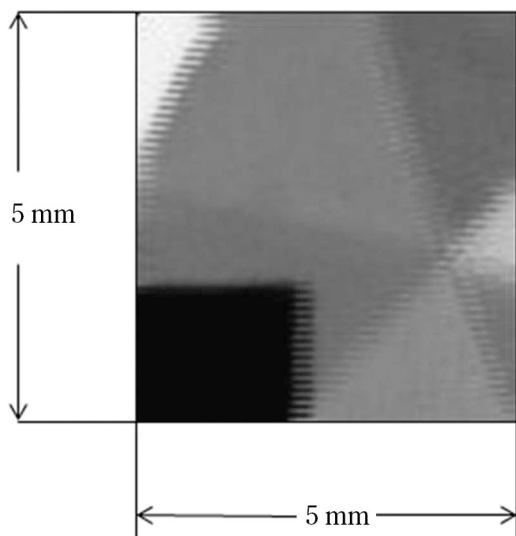


Fig. 10 Optical microscope image (transmission mode) of a six-colored circle specimen and a black-painted square.

の間の機構のバックラッシュ（ガタ）が原因と考えられる。したがって今後は、機械的な精度向上と画像的な補正で対策できるであろう。

しかし、測定時間が 50×50 pixelで9秒、 100×100 pixelで33秒程度であり、かつ低価格であることを考えると、小学校の理科教育などに現有している光学顕微鏡にそのまま付属品として用いることができ、実用化可能な範囲にあると考えられる。

5. 結 論

本研究では、顕微鏡画像化装置を顕微鏡本体よりもはるかに低い価格（1～2万円程度）で実現することができ、 50×50 pixelの画像が約9秒間、 100×100 pixelでも約33秒間で取得できる装置を実現することができた。

本装置は、学校に現有のPCを用い、光センサーと三原色LEDをアタッチメントとして光学顕微鏡に付属させる形であるため、予算的にも、わが国の初等中等教育機関に

における理科教育や、開発途上国における理科教育の振興に大いに寄与することが期待できよう。

本研究で開発したソフトウェアはフリーなOSであるKnoppixのC言語で書かれており、通常のPCではそのまま稼働する。

2007年春に開催されたETOP（光学教育国際会議）でも、「光学顕微鏡とPCに、光センサーとモーターや電子部品を加えるだけの100ドルくらいの装置なら、できるだけ早く実現してほしい」との期待がユネスコ関係者から寄せられており³⁾、この装置の早期実現が望まれる。

今後は、反射モードでも像の撮像が可能であるように改良することが第一の課題である。さらに、このプログラムをWindowsでも動くようにし、本学が初等中等教育機関における理科教育への情報発信拠点になれるよう、今後とも装置やソフトウェアの改良を行っていく予定である。

最後になったが、本装置は可視域のみならず、安価になってきたCCDカメラでは画像化できない赤外などの波長領域でも、PCのサウンド入出力機能を利用して、センサーさえあれば画像化ができるという利点を有している。さらに、駆動装置を多数のLEDの切替器に置き換えれば、低価格な分光装置としての発展も期待できる装置である。今後は、本研究で原理と機能について述べた本装置を教育関係者に強くアピールし、理科教育の振興をさらに図っていきたいと考えている。

文 献

- 1) 星宮 務：特願 2005-240400.
- 2) 星宮 務，熊谷正朗：“理科教育用低価格光学顕微鏡画像化装置の試作”，第54回応用物理学関係連合講演会予稿集（2007）28a-P4-1.
- 3) T. Hoshimiya and M. Kumagai: “Low-price optical microscope for school science education,” *Proceedings of ETOP, Web Edition* (2007, Ottawa), Paper No. 97-hok8-161.
- 4) 星宮 務：特許出願（2007. 6. 27 出願）.
- 5) 桜庭一郎，大塚 敏，熊耳 忠：電子回路（森北出版，1986）.