

統計干渉法による生物の成長計測—大気汚染物質の植物への影響—

**Measurements of plant growth by statistical interferometry
— Influence of air pollution on plants —**

門野博史, 大村明久, 松井晃治, 豊岡 了

Hirofumi KADONO, Akihisa OHMURA, Kohji MATSUI and Satoru TOYOOKA

Abstract: The statistical interferometry proposed and developed by the authors has been applied to measure the growth of plants, aiming at investigating the influence of environmental conditions on plants. This method utilizes the statistical properties of a fully developed speckle field and has the advantage of a simple optical system to achieve measurements with an extremely high accuracy. In experiments aimed at determining the validity of this method, the growth speeds of plants were measured under the exposure of ozone, which is the main substance of a photochemical oxidant. It has been clearly demonstrated that the statistical interferometry has a high sensitivity for monitoring the growth of plants on a nanometer scale with a high temporal resolution of a second scale.

Keywords: Statistical interferometry, Plant growth, air pollution, ozone, growth fluctuation

1. はじめに

近年、マイクロエレクトロニクスなどの分野に代表される超精密加工技術の発達にとともに、物体の形状や変形などに対する高精度な計測技術の要求はますます増大している。光学的干渉計測法はこのような要求に答えられる現実的な手段である。光の波長を基準とするため、物体の形状、変形、移動などを高精度に計測することが可能である。干渉計測法の進歩は著しく、現在では光の波長の数百分の1から数千分の1の精度での計測が可能である¹⁾。一般的に、光学的干渉法では確定的な基準面を設定し、基準面からの光波の波面を参照波として物体からの光の波面の相対的な変化を読みとることにより物体の情報を得ている。したがって、レーザー-speckle

の発生や用いられる光学素子の加工誤差による波面の歪みはただちに計測精度の低下につながる。このため、光学素子を精密に作成することに多くの努力が払われるが、実用環境下で長期に渡り精度を維持することは現実的には難しい。

このような従来の確定的手法による光学的干渉法に対して、著者らは発想を逆転し、ランダムな参照波面の干渉計測への影響を研究した。その結果、完全にランダムな参照波面は統計的な意味において位相の基準としての役割を果たし得ることを見いだした²⁾。この考えに基づいて統計的干渉法を提案し発展させ、位相シフト-speckle干渉法における位相シフト量の較正^{3), 4)}、粗面物体の面外・面内変位計測^{5,6)}およびひびき計測⁷⁾に応用してきた。最近では植物の生長計測を試み、サブ秒レベルでの生長の様子が観測されている⁸⁾。本稿では、この新しい概念に基づく超高感度干渉法である統計的干渉法の原理を解説するとともに植物を通じた環境センシングを目指して、環境汚染物質が植物の生長におよぼす

埼玉大学 大学院 理工学研究科 環境制御工学専攻
Graduate School of Science and Engineering, Saitama
Univ., 255, Shimo-okubo, Sakura-ku, Saitama City,
Saitama, 338-8570, Japan

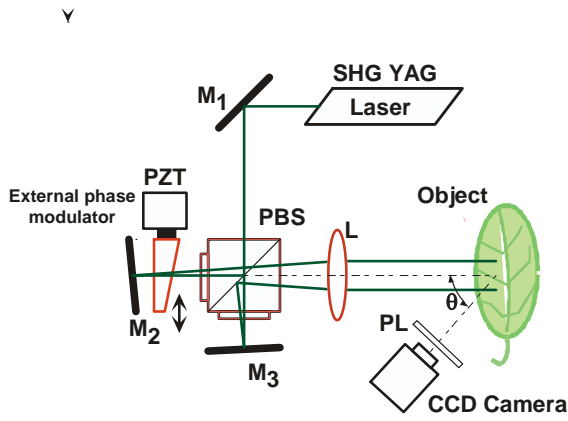


Fig.1 Optical system to measure expansion of plant

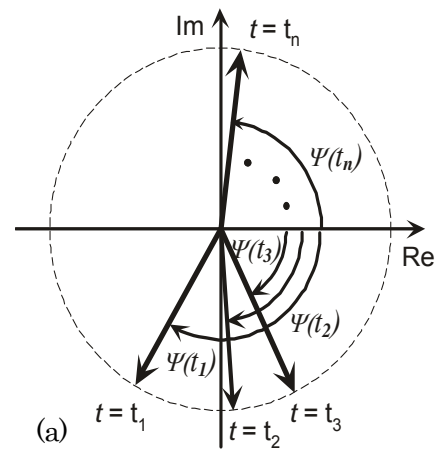
影響のモニタリングを試みた応用研究を報告する。

2. 統計的干渉法の原理

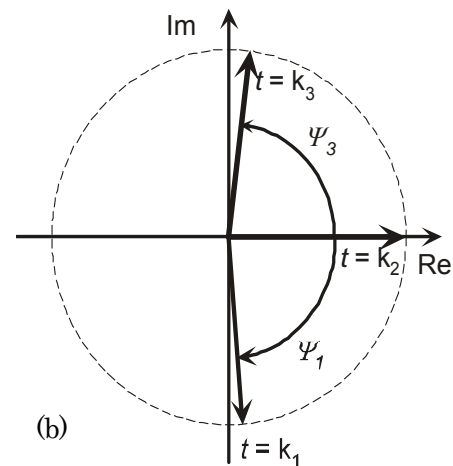
Fig. 1 に植物の生長計測に用いた実験光学系を示す。YAGレーザ (SHG) (波長 $\lambda=532\text{nm}$) から直線偏光で出射した光はビームスプリッタPBSにより2つのビームに分割されそれぞれミラー M_2 および M_3 により反射され再びPBSに入射する。この2本のビームをレンズLにより互いに平行とした後物体を2点で垂直に照明する。ここで、物体表面は光学的に十分粗いとする。すなわち表面粗さが光の波長に比べて大きいとすると十分発達した2つのスペックル場がそれぞれ独立に生じる。物体法線から角度 θ の位置に置かれたCCDカメラにより2つのスペックルパターンの重ね合わせの結果生じるやはりランダムな干渉パターンが計算機に取り込まれる。CCDカメラの前面に置かれた偏光フィルターPLは 45° の偏光角に設定されており2つのスペックル場の干渉成分のみを選択する。いま、照明ビームの間隔を x とし、2点間で Δx の面内の伸長が起こると2つのスペックル場の間には次のような位相差 $\Delta\phi$ が生じる。

$$\Delta\phi = \frac{2\pi}{\lambda} \Delta x \sin \theta \quad (1)$$

植物の伸長に伴うランダムな干渉パターンの変化が逐次 ($t=t_0, t_1, \dots, t_n$) 計算機に取り込まれ、フレームメモリに記録される。Fig. 2 (a) に粗面物体の伸縮に伴う位相の変化をフェーザー図で表す。目的はこれらフェーザー一問の位相角を決定することである。ここで、取り込ま



(a)



(b)

Fig.2 (a) Object phases to determine expansion expressed by means of phasors. (b) Combination of arbitrary three phasors

れた複数の画像から任意の3つの画像の組み合わせ (時刻 $t=k_1, k_2, k_3$) を考えよう。簡単のために $t=k_2$ のフェーザーが実軸上にくるように座標を回転しておく (Fig. 2 (b))。3つの画像の強度を I_1, I_2, I_3 とおくとそれぞれ次式で与えられる。

$$\begin{aligned} I_1(x) &= I_o(x)[1 + \gamma(x) \cos(\phi(x) + \psi_1)], \\ I_2(x) &= I_o(x)[1 + \gamma(x) \cos \phi(x)], \\ I_3(x) &= I_o(x)[1 + \gamma(x) \cos(\phi(x) + \psi_3)]. \end{aligned} \quad (2)$$

ここで、 $I_o(x)$ 、 $\gamma(x)$ はそれぞれ各点での平均強度、ビジビリティであり、 $\phi(x)$ はランダムなスペックル位相である。 ψ_1, ψ_3 は求めるべき物体変位に対応する位相である。3つの方程式に対して5つの未知数が存在するので、連立方程Eq.(2)からただちに ψ_1, ψ_3 を解くことはできない。そこで ψ_1, ψ_3 に対して次のように仮定する。

$$-\psi_1 = \psi_3 = \psi. \quad (3)$$

ここでは Ψ を仮想位相と呼ぶことにし、その値は任意に選ぶことができる。このように未知数を見かけ上減少させることにより空間上の各点においてスペckル位相 ϕ について解くことができる。Eq.(2)で与えられる3つの画像よりスペckル位相は

$$\phi'(x) = \tan^{-1} \frac{I_1(x) - I_3(x)}{I_1(x) + I_3(x) - 2I_2(x)} \cdot \frac{\cos \psi - 1}{\sin \psi} \quad (4)$$

で与えられる。Eq.(2)の仮定の元に計算されたスペckル位相を真のスペckル位相 $\phi(x)$ と区別するためにここでは $\phi'(x)$ としておき、計算されたスペckル位相と呼ぶことにする。我々は、各点におけるランダムなスペckル位相 $\phi(x)$ の具体的な値は知らないが、その統計的特性は非常に良く知っている⁹⁾。すなわち、スペckル位相の確率密度関数 $p_\phi(\phi)$ は次式で与えられるように $-\pi$ から π にわたって一様に分布する。

$$p_\phi(\phi) = \frac{1}{2\pi}, \quad (-\pi < \phi \leq \pi) \quad (5)$$

このような性質を持つスペckル場は十分発達したスペckル場と呼ばれ、スペckルパターンの明暗の程度を表すスペckルコントラストは最も大きくなり1となる。同時に、その波面は全くランダムとなりスペckル位相は一様に分布するのである。スペckル理論によるとそのようなスペckル場の発生に必要な条件はレーザーで照射される粗面の表面粗さが光の半波長程度かそれ以上であることが要求されるだけである。植物はもとより通常の身の回りの物体の多くはこの条件を満たしている。この条件よりも表面粗さが小さい場合スペckルコントラストは1より小さい値を取る。このようなスペckル場は未発達なスペckル場と呼ばれており、物体の表面粗さおよび表面高さ変動の相関長（横方向の粗さ）や用いられる光学系の詳細なパラメータに複雑に依存することが知られている^{10,11)}。しかしながら、表面粗さの条件が満たされると、Eq.(5)で与えられる特性は極めて安定であり高い精度で成り立つ。

一方、未知の物体位相 Ψ_1, Ψ_3 はいかなる値も取りうるので Eq.(3)の仮定は一般には成り立たず不合理な仮定である。したがって、Eq.(4)で与えられる計算されたスペckル位相は真のスペckル場の位相とは異なっている。計算さ

れたスペckル位相 ϕ' の確率密度関数 $p_{\phi'}(\phi')$ は確率変数 ϕ から ϕ' への変換として次式を計算することにより容易に見いだされる。

$$p_{\phi'}(\phi') = p_\phi(\phi) \left| \frac{d\phi(\phi')}{d\phi'} \right| \quad (6)$$

Fig. 3に理論計算結果の1例を示す。ここでは、見通しをよくするため物体位相 Ψ_1, Ψ_3 の仮想位相 Ψ からの偏差を対称位相項 $\Delta\Psi_s$ および反対称位相項 $\Delta\Psi_a$ を用いて表している。すなわち

$$\Psi_1 = -\Psi - \Delta\Psi_s + \Delta\Psi_a \quad (7)$$

$$\Psi_3 = \Psi + \Delta\Psi_s + \Delta\Psi_a \quad (8)$$

である。Fig. 3から $-\Psi_1 = \Psi_3 = \Psi$ のとき、本来 $-\pi$ から π において一様に分布するべきスペckル位相の確率密度が不均一に分布することがわかる。特に、波長の100分の1の比較的小さな位相成分でさえ顕著な影響を与えていることは注目に値する (Fig. 3 (b) (c))。それでは、本来一様に分布する真のスペckル位相の確率密度分布を基準として未知の物体位相 Ψ_1, Ψ_3 あるいは $\Delta\Psi_s, \Delta\Psi_a$ を決定することができないであろうか。三角関数の直交性を利用して、計算されたスペckル位相の確率密度分布から不均一分布成分である、 $\cos 2\phi$ および $\sin 2\phi$ 成分を抽出し、これらから未知の物体位相 Ψ_1, Ψ_3 に対して一意な解を見出すことが可能である^{2,6)}。我々の目的は Fig. 2 (b) に示すすべてのフェーズ一間の位相角を決定することであるが、これは3つの画像の組み合わせを換えながら同様な処理を繰り返すことによりお

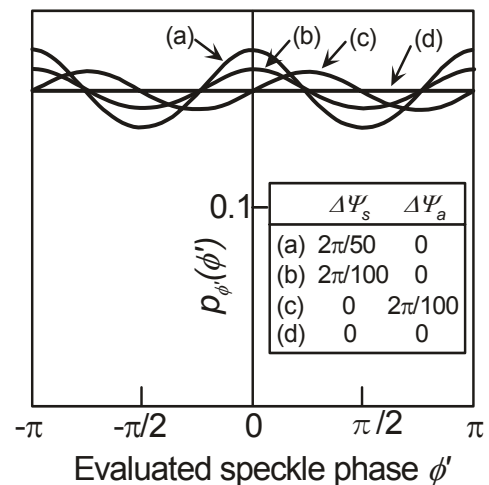


Fig.3 Probability density distribution of evaluated speckle phase

こなわれる。

確定的な手法である従来法においては干渉計測精度の向上とは確定的な波面を導入し、あらゆる誤差や揺らぎを排除して精密に制御することであり、要求される精度が高くなるにしたがって技術的にもコスト的にも大きな問題となる。さらに、高精度化を達成する技術は用いられる光学系や要求精度に強く依存し一様ではない。これに対して統計的干渉法では位相の基準をスペックル場の完全なランダムさに求めている。すなわち、単に光学的に粗い表面をレーザー光で照射することにより位相の基準が自然に作り出されるのである。十分発達したスペックル場は一種の飽和した状態であるため、その特性は光学系に用いられるレンズや鏡などの光学素子の面精度には依存せず安定した位相の基準として用いることができる。

統計的干渉法では単に確率密度関数を求める際に用いられるデータサンプル数が計測精度を決定する。計算機シミュレーションによると、約3万点のデータを用いることにより、高精度干渉法として知られるヘテロダイン干渉法と同程度の $\lambda/1000$ の精度が達成されることがわかる。今日では数百万画素のCCDカメラの利用も可能であり、さらに高い精度での計測も可能である。

3. 植物の生長計測

これまでに統計干渉法を用いて金属などの材料の変位、熱ひずみなどの測定に応用し、その有効性を確認している。植物を対象とした計測では、植物の成長による伸長を反映する表面からの散乱光を利用するため、植物内部からの動的な散乱光すなわちバイオスペックルの影響を抑制する必要がある。このために、植物表面に薄く小麦粉を塗布し、照射光の植物内部への照明光の進入を阻止した。

Fig. 4 に植物試料としてニラを用いた場合の生長測定結果を示す。この場合2つの照射ビーム間隔は3.12mmであり、葉の端から1cmおよび5cmの場所で測定を行った。画像取り込みのフレームレート1fpsで数秒間にわたり成長による伸びを測定した。図からわかるように、成長速度は葉の先端から1cmでは18.8nm/sec、5cmでは

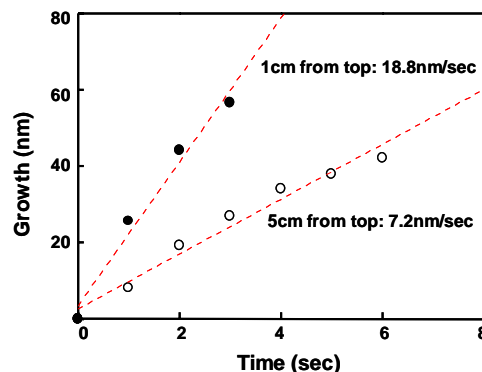


Fig.4 Growth speed of 'Nira' measured at 1 and 5cm from apex of leaf

7.2nm/secであり、葉の先端部分の成長速度が約2.6倍早いことがわかる。これは葉の生長点が先端部分にあることから理解できる。

従来、植物の生長は数時間から数日間かかって計測されていた。すなわちこの間の積分値としてしか植物の挙動を観測することしかできないが、極めて高感度な統計的干渉計測法を用いることにより、秒レベルの高い時間分解能でサブナノメータスケールの植物の挙動が観察可能である。

我々はこの統計干渉法を用いて、環境汚染が植物に与える影響の計測を試みている。ここでは、光化学オキシダントの主要物質であるオゾンの植物の生長に与える影響を計測した例を示す。植物サンプルとしてはヤブランを用いて0.06ppmから10ppmのオゾンを暴露し生長に与える影響を観測した。Fig. 5に日本の光化学オキシダント注意報が発令される基準値である0.12ppmおよび非常に高濃度な例であるが5ppmのオゾン濃度に対する生長速

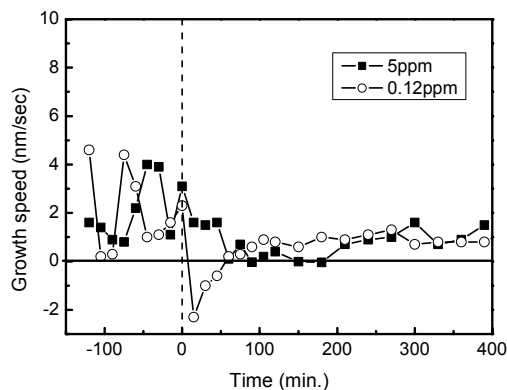


Fig.5 Influence of ozone on growth of plant

度変化を示す。各点での生長速度は10秒間に渡り20フレームを取り込み算出した。これを15分間隔で暴露前後でそれぞれ2時間および6時間半に渡り観測した。0.12ppmのオゾン暴露実験に置いて、Time<0のオゾン暴露前では平均生長速度2.1nm/secであった生長速度が暴露開始後約1時間で0.48nm/secと約23%に大きく低下していることがわかる。この他特徴的なことは、暴露前の健康な状態では生長速度は一定ではなく大きく揺らいでいることがわかる。この揺らぎは計測精度の不安定性ではなく、健康なサンプルでは必ず観測される挙動である。著者が知る限り植物のこのような短時間での挙動は知られておらず、植物の生命活動の基本的性質を映し出しているのではないかと考えている。生長速度ゆらぎの標準偏差で見ると暴露前には1.3nm/secであったが暴露後では0.48nm/secと大きく低下している。高濃度の5ppmに対しては暴露開始後わずか15分後には伸長が負に転じていることがわかる。これは、細胞から水分が抜けることにより一時的に収縮が起こっていると考えられる。現在、植物のオゾンストレスの指標として生長速度ゆらぎに注目し、研究を進めているところである。

4. むすび

本稿では、高感度な統計的干渉法を用いて植物の生長計測を行った。これにより、秒オーダーでの植物の挙動を観測することができ、これまでに知られていない植物の世界が見えてきた。植物の成長速度が絶えず揺らいでいることもその一例であり新たな発見である。我々は本手法を用いて、環境汚染が植物に与える影響を知り、さらには植物を通じた環境センシングへと発展させたいと考えている。

計測法そのものについて言えば、干渉計測に限らず、一般に計測において統計を用いると聞くとどのような印象を持つだろうか。おそらく多くの方は、測定システムが不安定であったり、ノイズが多すぎるための苦肉の策として多数回の測定を行い統計を用いて力づくで値のバタツキを押さえ込むと言うようなネガティブなイメージを持つのではないだろうか。しかしながら、ここで述べ

た計測法はランダムさそのものが本質的な役割を果たしている。この点が従来の計測法と決定的に異なる点であり、今後このような視点の元に新しい計測法が開拓されることを期待している。

参考文献

- 1) P. Hariharan: *Optical Interferometry*, Academic press, Inc. (1985).
- 2) H. Kadono, and S. Toyooka: "Statistical interferometry based on a statistics of speckle phase," *Opt. Lett.*, **16-12** (1991), 883-885.
- 3) 門野博史: スペックル干渉計における液晶位相シフターの較正法, *光学*, **20-5** (1991), 273-274.
- 4) H. Kadono, S. Toyooka, and Y. Iwasaki: "Speckle shearing interferometry using a liquid crystal cell as a phase modulator," *J. Opt. Soc. Am.*, **A8**(1991), 2001-2008.
- 5) 門野博史, 豊岡了: 統計的干渉計測法による高精度変位計測, *光技術コンタクト*, **32-5**(1994), 17-23.
- 6) H. Kadono, Y. Bitoh, and S. Toyooka: "Statistical interferometry based on fully developed speckle field: An experimental demonstration with noise analysis," *J. Opt. Soc. Am. A*, **Vol.18**, (2001), 1267-1274
- 7) H. Kadono, H. Kitajima, and S. Toyooka: "Thermal strain measurement of joint materials over a small spatio region using statistical interferometry," *Proc. 18th Congress of the International Commission for Optics*(1999)741-742
- 8) H. Kadono, T. Nakamura, K. Matsui, and S. Toyooka, "Monitoring of biological activity and growth of plants using laser speckle techniques", *Proc. VII International Conference on Optics within Life science* (2003)(In press).
- 9) Dainty, J. C., ed.: *Laser speckle and related phenomena*, Springer-Verlag, Berlin(1975).
- 10) H. Kadono, and T. Asakua: "Statistical properties of the speckle phase in the optical imaging system," *J. Opt. Soc. Am.* **A2** (1985), 1787-1792
- 11) H. Kadono, N. Takai, and T. Asakua: "Statistical properties of the speckle phase in the diffraction region," *J. Opt. Soc. Am.* **A3** (1986), 1080-1089.