

Цветовые модели представления полихроматических интерференционных изображений тонких слоистых объектов в оптической микроскопии

А.А. Дьяченко^{1,2}, В.П. Рябухо^{1,2}

¹ Саратовский национальный исследовательский государственный университет, Саратов, Россия,

² Институт проблем точной механики и управления РАН, Саратов, Россия

Аннотация

Рассматриваются алгоритмы анализа полихроматической интерференционной картины изображения тонких слоистых объектов в оптической микроскопии для измерения оптических толщин слоёв. Обсуждается метод измерения оптических толщин слоёв, основанный на сравнении цветов исследуемого интерференционного изображения и численно моделируемого. Рассматривается математическая модель, используемая для расчёта и моделирования интерференционной картины, и алгоритмы обработки исследуемого интерференционного изображения. Приведён алгоритм сравнения цветов в рамках цветовой модели RGB, и показаны недостатки этой модели. Показана возможность использования цветовой модели Lab, и описаны алгоритмы сравнения цветов интерференционных изображений в этой цветовой модели. Приведены результаты применения разработанных алгоритмов для измерения оптических толщин эритроцитов в сухом мазке крови. Проведена оценка погрешности и стабильности разработанного алгоритма.

Ключевые слова: интерференционные цвета, тонкие плёнки, оптическая микроскопия, интерференционная микроскопия, колориметрия, цветовые модели.

Цитирование: Дьяченко, А.А. Цветовые модели представления полихроматических интерференционных изображений тонких слоистых объектов в оптической микроскопии / А.А. Дьяченко, В.П. Рябухо // Компьютерная оптика. – 2019. – Т. 43, № 6. – С. 956-967. – DOI: 10.18287/2412-6179-2019-43-6-956-967.

Введение

Особым классом микрообъектов, служащих предметом исследования и измерительного контроля в разных областях науки, техники и биомедицины, являются тонкие прозрачные слоистые объекты – тонкие плёнки. К основным задачам их исследования относят определение их геометрических, оптических и физических свойств [1–4]. В рамках данной работы рассматривается определение оптических толщин слоистых микрообъектов средствами оптической микроскопии. Актуальность этой задачи подтверждается исследованиями в различных областях, среди которых можно выделить контроль за смазочными покрытиями в прецизионной механике [5, 6], контроль толщины слоёв напыления в полупроводниковой радиоэлектронике [7, 8], измерение пространственной структуры фаций сыворотки и плазмы крови, а также эритроцитов в биомедицине [9–12].

Для определения оптических толщин тонких плёнок разработаны и используются различные методы, среди которых следует выделить когерентно-оптические интерференционные методы микроскопии. Эти методы основаны на временных и пространственных когерентных свойствах света и обладают рядом преимуществ, связанных с высоким осевым разрешением в десятки и сотые доли микрометра и с возможностью исследования непоглощающих, прозрачных фазовых объектов. К когерентным методам оптической микроскопии следует отнести интерференционную микроскопию [13–17], конфокальную микроскопию [18–21], цифровую голографическую микроскопию [22–24] и полнопольную оптическую когерентную томографию – томографическую микроскопию [25–28]. Данные методы основаны на явлении интерференции

предметной волны, отражённой или прошедшей через исследуемый объект, и опорной волны с последующим количественным анализом формируемых интерференционных картин или сигналов.

При микроскопических исследованиях объектов с оптически неразрешаемой микроструктурой, особенно тонких слоистых объектов, часто возникают интерференционные эффекты в наблюдаемых изображениях в отсутствие какой-либо опорной волны. Такие эффекты характерны при исследовании сравнительно тонких слоёв, толщина которых не превышает половины длины продольной когерентности освещающего плёнку волнового поля [29]. При использовании освещения с широким частотным спектром, занимающим весь видимый диапазон, в результате интерференции возникают контрастные цвета изображения исследуемой тонкой плёнки, количественный анализ которых позволяет оценивать оптическую толщину тонкой плёнки. Существующие методы измерения оптических толщин слоистых объектов, условно подразделяемые на колориметрические (т.е. связанные с анализом интерференционных цветов) [30, 31, 32, 33] и фазовые (основанные на анализе изменения фазы интерференционного сигнала) [17, 34, 35], позволяют проводить измерения с нанометровой точностью. Тем не менее эти методы обладают рядом недостатков, наиболее существенными являются требования задачи априорного значения оптической толщины [31, 32] либо использование в экспериментальной установке прецизионных подвижек и микроконтроллеров [34, 35], что усложняет процесс измерения толщин и приводит к увеличению стоимости и сложности используемой экспериментальной установки.

В работах [36, 37] нами предложен наиболее простой с точки зрения используемой аппаратуры способ измерения оптических толщин плёнок и показана возможность его применения. Предложенный метод определения оптических толщин тонких плёнок основан на количественном анализе цвета интерференционного полихроматического изображения тонкой плёнки. Основная суть этого метода заключена в количественном сравнении цвета интерференционного изображения исследуемого объекта с цветом смоделированной интерференционной картины объекта с заданной оптической толщиной. По результатам этого сравнения и делается вывод об оптической толщине исследуемой плёнки.

Поскольку предложенный метод включает численное сравнение цветов двух изображений, необходимо рассматривать колориметрические алгоритмы сравнения цветов. Эти алгоритмы сравнения зависят прежде всего от цветовой модели представления изображений, так как от этих цветовых моделей зависит общее количество описываемых цветов, диапазон их изменения и т.д.

В рамках данной работы основной задачей являлось рассмотрение влияния использования цветовой модели представления цветных изображений на алгоритмы определения оптических толщин слоистых микрообъектов на примере двух наиболее распространенных моделей (RGB и Lab) и определение влияния цветовой модели на точность измерения оптических толщин тонких плёнок. Для решения поставленных задач нами рассматривались общие вопросы представления цвета в полихроматических изображениях. Рассмотрены цветовые модели: цветовая модель RGB, характерная для восприятия цвета человеческим глазом, и цветовая модель Lab, применяемая в машинном зрении и колориметрии. Разработаны алгоритмы сравнения цветов в каждой из этих моделей, выявлены сложности и недостатки этих алгоритмов и возможности их устранения. Полученные в рамках работы результаты позволили провести анализ погрешностей при определении оптических толщин, а также определить области возможного применения данных алгоритмов.

1. Колориметрический метод определения оптических толщин слоистых объектов

Объектом исследования в настоящей работе являлись тонкие слоистые объекты, при освещении которых излучением с широким частотным спектром и наблюдении их в микроскопе возможно формирование цветной интерференционной картины, обусловленной интерференцией волн, отражённых границами плёнки. Главное условие возникновения этой картины определяется оптической разностью хода Δ интерферирующих волн, которая не должна превышать длину продольной когерентности освещающего поля. Проводя оценку этих значений, можно показать, что при освещении тонкого однослойного объекта с двумя отражающими границами излучением, ширина

частотного спектра которого составляет примерно 255 нм, при средней длине волны 601 нм, что соответствует излучению галогеновой лампы накаливания белого света (цветовая температура 4500 К), интерференционная картина относительно высокого контраста будет наблюдаться при оптической толщине слоя не более 700 – 800 нм.

Основная идея метода определения оптической толщины предложенным способом заключается в компьютерной количественной оценке цвета интерференционной картины и сравнении этого цвета с цветами некоторой опорной, рассчитанной цветовой шкалой, по результатам которого определяется оптическая толщина слоя исследуемого объекта. Данный метод определения оптических толщин можно условно поделить на три стадии:

- 1) моделирование опорного цветного интерференционного изображения – опорной цветовой шкалы;
- 2) запись и обработка экспериментального полихроматического интерференционного изображения;
- 3) анализ интерференционных цветов экспериментального изображения и количественное сравнение их с опорным изображением.

Первые два пункта рассмотрены подробно в [36, 37]. В рамках данной работы рассматриваются алгоритмы анализа интерференционных цветов, что соответствует третьему пункту разработанного метода.

2. Моделирование опорного полихроматического интерференционного изображения

Моделирование цветного интерференционного изображения-шкалы, которое называем опорным изображением, позволит проводить сравнительный анализ цветов интерференционного изображения исследуемого объекта. В отличие от термина «опорный», используемого в интерферометрии, интерференционной микроскопии, голографии или оптической когерентной томографии, где этим термином обозначается отдельная световая волна сравнения, используемая для формирования интерференционных картин и сигналов, в нашем случае этим термином обозначается полихроматическое интерференционное изображение, численно смоделированное при определённых параметрах и условиях.

В качестве параметров при моделировании используются параметры реальной оптической системы – высокоразрешающего микроскопа с цифровой записью изображений, применяемого на практике для наблюдения слоистых микрообъектов. К этим параметрам относятся: частотный спектр источника света, спектральное пропускание оптической системы в целом, спектральная чувствительность регистрирующей аппаратуры – матричного фотодетектора, ширина и форма углового спектра освещающего объект волнового поля.

Для моделирования опорной интерференционной цветовой шкалы необходимо использовать определённый

ную модель слоистого объекта. В рамках нашего исследования для этой цели удобнее рассмотреть модель тонкого однослойного объекта с двумя отражающими границами в форме линейного клина (рис. 1а).

В работах [36, 37] представлена разработанная математическая модель, позволяющая учесть влияние спектральных свойств оптической системы, параметров источника освещения, регистрирующей аппаратуры, а также параметров углового спектра поля

освещения объекта и геометрических параметров объекта на параметры полихроматического интерференционного изображения слоистого объекта. В рамках этой модели получены аналитические выражения, позволяющие рассчитывать распределение интенсивности света в интерференционной картине, формируемой в оптическом микроскопе и регистрируемой в каждом цветовом канале цветного матричного фотодетектора [36, 37]:

$$I_{ch}(d(x, y), n) = \int_0^{\infty} \frac{2\pi}{\lambda_0^2} R_1(\lambda_0) F_{ch}^{eff}(\lambda_0) d\lambda_0 + \int_0^{\infty} \frac{2\pi}{\lambda_0^2} R_2(\lambda_0) (1 - R_1(\lambda_0))^2 F_{ch}^{eff}(\lambda_0) d\lambda_0 + 2 \operatorname{Re} \left[\exp(i(\Delta\phi_{12})) \int_0^{\infty} \frac{2\pi}{\lambda_0^2} \sqrt{R_1(\lambda_0) R_2(\lambda_0)} (1 - R_1(\lambda_0)) \times F_{ch}^{eff}(\lambda_0) \exp\left(i \frac{2\pi}{\lambda_0} 2d(x, y)n\right) d\lambda_0 \right], \quad (1)$$

$$I_{ch}(d(x, y), n, NAi) = \frac{2\pi}{n_0^2} \int_0^{\infty} \left(\frac{2\pi}{\lambda_0^2}\right) G(R_1(\lambda_0), 0, NAi, \lambda_0) F_{ch}^{eff}(\lambda_0) d\lambda_0 + \frac{2\pi}{n_0^2} \int_0^{\infty} \left(\frac{2\pi}{\lambda_0^2}\right) G(R_2(\lambda_0) (1 - R_1(\lambda_0))^2, 0, NAi, \lambda_0) F_{ch}^{eff}(\lambda_0) d\lambda_0 + \frac{2\pi}{n_0^2} \int_0^{\infty} \left(\frac{2\pi}{\lambda_0^2}\right) G\left(\sqrt{R_1(\lambda_0) R_2(\lambda_0)} (1 - R_1(\lambda_0))\right)^2, d(x, y), NAi, \lambda_0) F_{ch}^{eff}(\lambda_0) d\lambda_0, \quad (2)$$

где $d(x, y)$ – геометрическая толщина слоистого объекта, изменяющаяся в поперечных направлениях x, y , n – показатель преломления слоя объекта, $R_1(\lambda_0)$ и $R_2(\lambda_0)$ – энергетические коэффициенты отражения границ объекта, $\Delta\phi_{12} = \phi_1 - \phi_2$ – разность фаз, вызванная скачками фаз ϕ_1 и ϕ_2 при отражении от верхней и нижней границы слоя, $F_{ch}^{eff}(\lambda_0) = g^2(\lambda_0) f_{ch}^2(\lambda_0) \tau^2(\lambda_0)$ – эффективный спектр освещения с учётом спектральных свойств пропускания оптической системы и чувствительности фотодетектора, где $g^2(\lambda_0)$ – спектральная плотность мощности излучения источника освещения, $f_{ch}^2(\lambda_0)$ – спектр чувствительности фотодетектора для соответствующего цветового канала ch , $\tau^2(\lambda_0)$ – энергетический коэффициент пропускания оптической системы микроскопа в целом, $G(R, d, NA, \lambda_0)$ – апертурная функция, определяющая влияние углового спектра $J(NA)$ освещающего объект волнового поля и его числовой апертуры NAi :

$$G(R, d, NAi, \lambda_0) = \int_0^{NAi} J(NA) R \cos\left(\frac{2\pi}{\lambda_0} 2dn \sqrt{1 - \frac{NA^2}{n^2} + \Delta\phi_{12}}\right) NA dNA, \quad (3)$$

где $J(NA)$ – интенсивность составляющих углового спектра освещающего слой поля – плоских волн с угловой переменной, R – переменная коэффициента отражения, $NA = n_0 \sin(\theta)$, n_0 – показатель преломления среды до слоя, θ – угол падения волны на слой, NAi – полная числовая апертура освещающего поля, равная максимальной величине переменной NA .

Выражение (1) используется при освещении слоя объекта в микроскопе волновым полем с достаточно малой числовой апертурой NAi . В этом случае на ко-

герентные свойства поля освещения, а следовательно, и на параметры формирующейся интерференционной картины влияет в основном только частотный спектр освещающего поля и частотные свойства оптической системы, включая спектральные свойства фотодетектора, в то время как влиянием конечной ширины углового спектра поля освещения объекта можно пренебречь [37]. В случае освещения объекта полем с достаточно широким угловым спектром $J(NA)$, что имеет место на практике при использовании микрообъективов с большой числовой апертурой, следует использовать выражение (2), в котором учтено совместное влияние и частотного, и углового спектров освещающего поля на когерентные свойства освещения и, соответственно, на параметры интерференционной картины в изображении слоя.

В работе [37] исследовано влияние частотного и углового спектра освещающего поля на цвета интерференционного изображения и показано, что в случае числовых апертур до 0,4 можно пользоваться выражением (1) без существенных погрешностей. В остальных случаях – при больших числовых апертурах освещения NAi , более верным и точным для расчёта цветного интерференционного изображения служит выражение (2). В высокоразрешающей микроскопии используются микрообъективы с большим увеличением и, соответственно, с большой числовой апертурой NAi , что предопределяет необходимость использования выражения (2) для моделирования опорной интерференционной картины.

Моделируемая опорная интерференционная картина представляет собой цветное изображение тонкой клиновидной плёнки. Оптические свойства объекта, такие как его толщина и угол клиновидности, выбирались таким образом, чтобы оптическая толщина этого слоя не превышала примерно половину длины

продольной когерентности освещения, поскольку в противном случае контраст интерференционной картины снижается до предельно малых значений и интерференционные эффекты исчезают. На рис. 1б приведена смоделированная с использованием (2) опорная шкала, используемая для дальнейшего анализа, при заданных параметрах объекта: длина клина в направлении, перпендикулярном ребру клина, составляла 120 мкм, угол клиновидности $\alpha = 0,02$ рад, показатель преломления слоя $n = 1,5$. На рис. 1в эта шкала приведена в виде распределения интенсивности интерференционного сигнала, перпендикулярно ребру клина, в каждом цветовом канале, где в отличие от интерференционного изображения на рис. 1б по оси абсцисс отложены значения оптической толщины тонкого клиновидного слоя (ОТС).

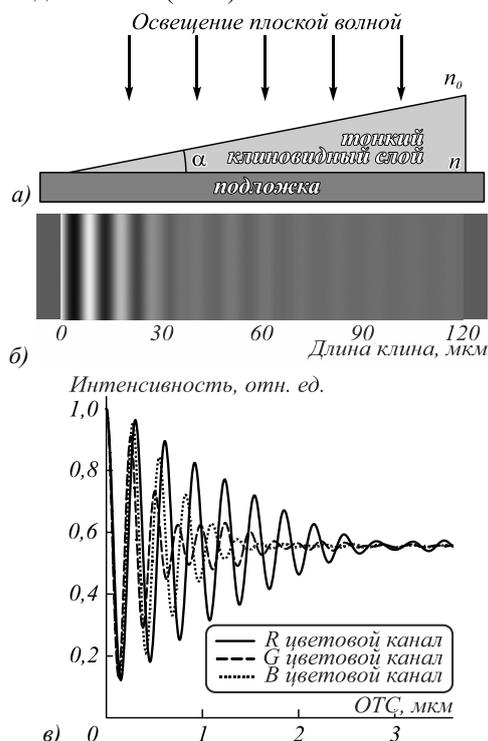


Рис. 1. Результаты моделирования опорной интерференционной картины: модель тонкого клиновидного слоя (плёнки) (а); цветная интерференционная картина, формируемая при освещении слоя частотно широкополосным излучением (б); представление моделированной картины в виде распределения интенсивности интерференционного сигнала перпендикулярно ребру клина в зависимости от оптической толщины слоя (в)

3. Обработка экспериментального интерференционного изображения

В рамках рассматриваемого метода определения оптических толщин тонких слоёв под обработкой экспериментальных полихроматических интерференционных изображений прежде всего понимается их регистрация устройствами цифровой записи, сжатие цифровых изображений, выделение необходимых для измерительного контроля областей изображения и т.д. Конкретные методы обработки изображений зависят

от поставленной задачи и требований, поэтому нельзя выделить универсальный алгоритм обработки.

В качестве иллюстрации можно привести реализуемый нами для автоматизации метода измерения оптических толщин слоистых микрообъектов алгоритм автоматического поиска границ исследуемых объектов. На рис. 2 приведён пример экспериментального интерференционного изображения ансамбля эритроцитов в сухом мазке крови и результат его морфологической обработки и сегментации [38, 39].

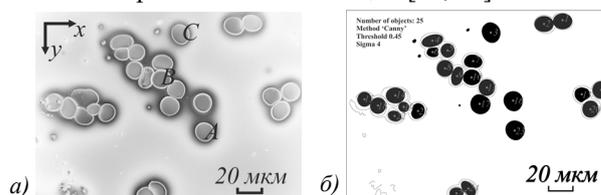


Рис. 2. Пример морфологического анализа исследуемого цветного интерференционного изображения: входное цветное изображение (а); результат сегментации этого изображения (б)

Для обработки изображений в программной среде Matlab нами разработано ПО, позволяющее производить этот анализ. На рис. 2 приведены основные результаты работы этой программы. На вход подаётся исследуемое полихроматическое интерференционное изображение (рис. 2а), после обработки которого выделяются области исследуемых объектов (рис. 2б). Как видно из представленных рисунков, обработка изображения позволила получить в автоматическом режиме координаты интересующих нас объектов для дальнейшего определения оптических толщин этих объектов.

4. Алгоритмы анализа цвета интерференционного изображения

Для описания алгоритмов анализа цвета интерференционного изображения необходимо рассмотреть базовые понятия представления и описания цвета. В основе представления цвета лежат т.н. законы смешивания цветов Грассмана [40], устанавливающие, что любой цвет может быть воспроизведён или представлен в виде линейной комбинацией трёх линейно независимых (базисных) цветов. Кроме этого, смесь этих цветов зависит только от цветов и пропорций смешиваемых компонент и не зависит от порядка, в каком смешивают эти компоненты.

Таким образом, цвет можно представить в виде некоторого вектора, координаты которого определяются числами k_1C_1 , k_2C_2 и k_3C_3 , а уравнение цвета может быть представлено в виде:

$$C = k_1C_1 + k_2C_2 + k_3C_3, \tag{4}$$

где коэффициенты k_1 , k_2 и k_3 имеют физический смысл пропорций, в которых смешиваются либо три основных цвета, либо три базисных значения основных цветов C_1 , C_2 и C_3 , определяемых исходя из параметров цветовой модели.

При компьютерном анализе изображений для определения цвета любого пиксела изображения необходим упорядоченный набор трёх значений интен-

сивностей базисных цветов. В зависимости от способа задания этих значений существуют различные варианты описания цвета. Эти варианты принято называть цветовыми пространствами или моделями. Цветовые пространства представляют собой математическое пространство, окружающее общее начало всех цветовых векторов, при этом каждая точка этого пространства связана с определённым цветом [41].

Каждое из существующих цветовых пространств создано для решения определённых задач и обладает определёнными свойствами, в зависимости от которых можно выделить:

А) Аддитивные/субтрактивные модели

В этих моделях цвет определяется путём сложения или вычитания трёх основных цветов. Такие модели наиболее распространены при работе с цифровыми устройствами регистрации и воспроизведения изображений, при полиграфической печати цветных изображений и т.д. Это так называемые аппаратно-зависимые модели, поскольку при описании цвета необходимо учитывать и свойства системы, использующей эти цвета. К таким моделям относятся, например, RGB и CMYK.

Б) Перцепционные и математические модели

Эти модели являются аппаратно-независимыми, то есть не привязывают описание цвета к устройству его записи и воспроизведения. Стоит отметить, что если перцепционные модели описывают цвет с точки зрения его восприятия человеческим глазом, то математические модели, как видно из названия, не несут такого наглядного физического смысла. Тем не менее математические модели являются универсальными и служат для конвертации цветов, цветовых преобразований и цветового анализа, обеспечивая при этом малые потери в качестве, внося небольшие погрешности. К моделям этого типа можно отнести HSV, Lab, XYZ и др.

В рамках данной работы нами рассмотрены две цветовые модели, относящиеся к двум типам, указанным выше.

В наших экспериментах изображение регистрировалось цифровой камерой в цветовой модели RGB. Полученное цифровое изображение представлялось в виде числовой матрицы размером $M \times N \times 3$. Каждый пиксель содержал информацию о значении интенсивности каждого из основных цветов – красного, зелёного и синего соответственно.

Для сравнения цвета и поиска величины оптической толщины на экспериментальном интерференционном изображении выделялась интересующая область с координатами (x, y) и определялись интенсивности света $R_{obj}^{x,y}$, $G_{obj}^{x,y}$ и $B_{obj}^{x,y}$ для каждого цветового канала в этой области, которые сравнивались с опорной цветовой шкалой.

С математической точки зрения в цветовой модели RGB найти два одинаковых цвета означает найти цвета, для которых совпадут интенсивности цвета для

каждого цветового канала. Для решения этой задачи численно моделируемое опорное интерференционное изображение представлялось в виде интерференционного сигнала для каждого цветового канала – $R_{ref}(\Delta)$, $G_{ref}(\Delta)$ и $B_{ref}(\Delta)$ (рис. 1б), после чего рассчитывались разностные сигналы:

$$\begin{aligned} \delta R(\Delta) &= \left| R_{ref}(\Delta) - R_{obj}^{x,y} \right|, \\ \delta G(\Delta) &= \left| G_{ref}(\Delta) - G_{obj}^{x,y} \right|, \\ \delta B(\Delta) &= \left| B_{ref}(\Delta) - B_{obj}^{x,y} \right|. \end{aligned} \quad (5)$$

Для определения оптической толщины объекта необходимо найти то значение Δ , в котором обращаются в ноль либо принимают свой минимум разностные функции в каждом цветовом канале или, другими словами, необходимо решить систему уравнений относительно неизвестной величины Δ :

$$\begin{cases} \delta R(\Delta) \approx 0, \\ \delta G(\Delta) \approx 0, \\ \delta B(\Delta) \approx 0. \end{cases} \quad (6)$$

Система уравнений (6) имеет точное решение только в идеализированных случаях. Так, к примеру, на рис. 3 приведён такой случай. Используя модель, представленную в работе [37], нами смоделировано интерференционное изображение плоскопараллельного слоя с оптической толщиной 590 нм. Эта плёнка имеет интерференционный цвет, приведённый на рис. 3а. На рис. 3б приведены графики разностных сигналов, фрагменты которых представлены в увеличенном масштабе на рис. 3в. Как показывают эти графики, а также и аналитическое решение системы (6), разностные сигналы δR , δG и δB принимают свои минимальные значения в одной точке с координатой оптической толщины слоя $\Delta = 590$ нм. Таким образом, это значение и соответствует оптической толщине моделированного объекта.

В реальности совпадение интенсивностей базовых цветов опорного и экспериментального изображений в каждом из каналов не может быть точным. В этих случаях необходимо пользоваться численными методами анализа системы уравнений (6), которые сводятся к анализу знака производной экспериментальных дискретных сигналов (6). Интерполирование функций (6) и нахождение координат, в которых производная этих функций меняет знак, позволяет находить минимумы значений функций из системы (6). После чего определялся интервал $\delta\Delta$, в который попадали минимумы разностных сигналов для каждого цветового канала. Экспериментально определялась оптическая толщина эритроцита в сухом мазке крови в области А изображения, представленного на рис. 2а. Графически эта процедура отображена на рис. 4.

Для определения оптической толщины на шкале ОТС находилась область с минимальным значением $\delta\Delta$, после чего находились средние значения Δ_{mean} от координат оптических толщин Δ_i^R , Δ_i^G и Δ_i^B (для

которых функции (6) принимают свои минимумы), попадающих в интервал $\delta\Delta$. На рис. 4 приведены два интервала $\delta\Delta_1$ и $\delta\Delta_2$ с наименьшими значениями, в которые попали минимумы разностных сигналов. Ширины этих интервалов имеют приблизительно одинаковые значения, равные 29 ± 1 нм, следовательно, оба удовлетворяют решению системы уравнений (6). Таким образом, возникает неоднозначность в определении оптической толщины исследуемого объекта Δ_{mean} . Эта ситуация продемонстрирована на рис. 4б. Показано, что для двух одинаковых интервалов $\delta\Delta_1$ и $\delta\Delta_2$, в которые попадают минимумы разностных функций, рассчитанные оптические толщины исследуемого объекта равны 346 нм и 644,5 нм соответственно. При этом можно отметить, что цвета, соответствующие таким образом определённым толщинам на опорной моделированной шкале, визуально отличаются друг от друга, а цвет, соответствующий толщине из области $\delta\Delta_1$, в отличие от толщины из области $\delta\Delta_2$, существенно отличается от цвета исследуемого изображения.

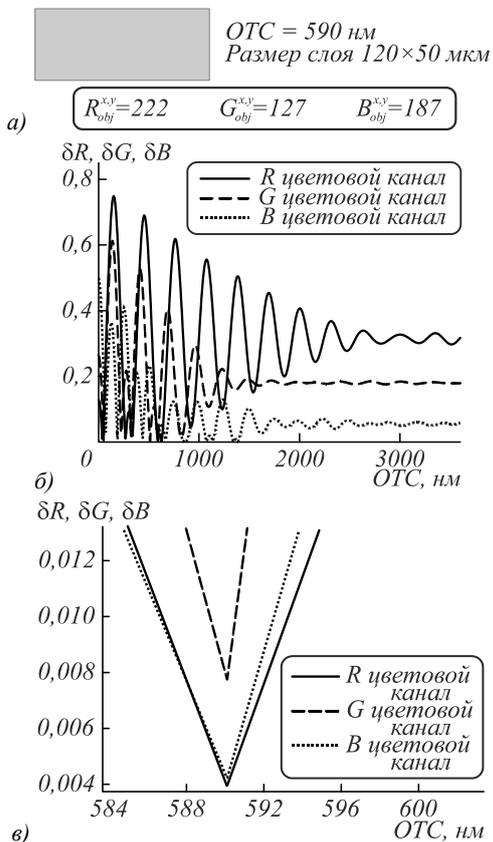


Рис. 3. Разностные интерференционные сигналы моделированной интерференционной картины: моделированное интерференционное изображения тонкого слоя (а); разностные интерференционные сигналы (б); разностные сигналы в области искомой величины оптической толщины (в)

Указанные проблемы могут привести к ошибочным измерениям оптической толщины при разработке и использовании алгоритмов автоматического измерения. Так, приведённый пример показывает, что

ошибочный выбор диапазона для измерения Δ_{mean} приводит к ошибке в измерениях примерно 300 нм.

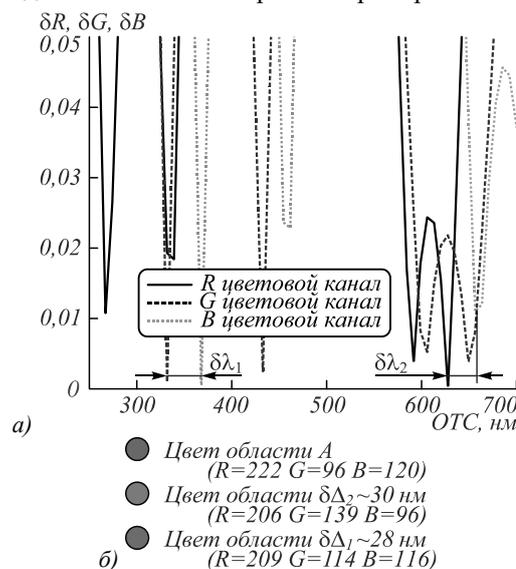


Рис. 4. Экспериментальные разностные интерференционные сигналы (а) и цвета исследуемого изображения и найденных областей (б)

Для исключения этих проблем необходимо добавление в алгоритм сравнения цветов неких априорных данных об объекте. Как показали наши исследования, области однозначного определения оптической толщины, как правило, лежат в двух диапазонах оптических толщин – 0–500 нм или 500–1000 нм. Задавая априорные данные о толщине объекта, а именно интервал (с точностью ± 30 нм), в котором лежит истинная толщина объекта, мы можем добиться корректного определения оптической толщины.

Поскольку предложенный способ не совсем практичен, т.к. не всегда известны эти априорные данные, нами предложен способ цифровой обработки экспериментального изображения, основанный на использовании для анализа цветов интерференционных изображений другой цветовой модели.

В качестве такой модели мы выбрали цветовую модель CIE Lab, которая является математической, аппаратно-независимой. Она позволяет количественно описывать все видимые человеком цвета, в отличие от аддитивных моделей [40, 41].

Особенностью этой модели является её линейность, т.е. одинаковое изменение значений координат цвета в разных областях цветового пространства производит одинаковое ощущение изменения цвета [41]. Эти и ряд других причин позволяют использовать данную цветовую модель в конкретных колориметрических задачах [42, 43].

В модели Lab, как и в модели RGB, цвет задаётся тремя координатами: L, а и b. Среди них L означает светлоту (яркость) в интервале от 0 до 100%, а координаты а и b задают позиции на линии цвета зелёный–пурпурный и синий–жёлтый соответственно. Диапазон их изменений определяется значениями $[-128; 127]$ [40, 41].

Для работы в этом цветовом пространстве с использованием данной цветовой модели Lab необходимо перевести в неё экспериментальное RGB-изображение. Для этого перевода использовали следующее соотношение [44]:

$$\begin{pmatrix} L \\ a \\ b \end{pmatrix} = M \begin{pmatrix} R \\ G \\ B \end{pmatrix}, \tag{7}$$

где L, a, b и R, G, B – цветовые координаты в системе Lab и RGB соответственно, а M – матрица преобразования:

$$M = \begin{bmatrix} 0,4 & 0,35 & 0,18 \\ 0,2 & 0,7 & 0,07 \\ 0,02 & 0,12 & 0,96 \end{bmatrix}. \tag{8}$$

Поскольку пространство Lab обладает свойством линейности, то для сравнения двух цветов вводится величина $\delta E(\Delta)$, которую можно рассчитать, используя следующее выражение, называемое формулой цветового различия [44]:

$$\delta E(\Delta) = \sqrt{(L_{ref}(\Delta) - L_{obj}^{x,y})^2 + (a_{ref}(\Delta) - a_{obj}^{x,y})^2 + (b_{ref}(\Delta) - b_{obj}^{x,y})^2}, \tag{9}$$

где по аналогии с (4) $L_{ref}(\Delta)$, $a_{ref}(\Delta)$ и $b_{ref}(\Delta)$ – цветовые координаты опорной шкалы, а $L_{obj}^{x,y}$, $a_{obj}^{x,y}$ и $b_{obj}^{x,y}$ – цветовые координаты изображения исследуемого объекта в точке изображения с пространственными координатами (x, y) .

Оценивая минимальное значение этой функции и находя координату этого минимума, можно определить оптическую толщину исследуемого объекта в той или иной его области. Например, для области А изображения на рис. 2а функция $\delta E(\Delta)$ принимает вид, представленный на рис. 5.

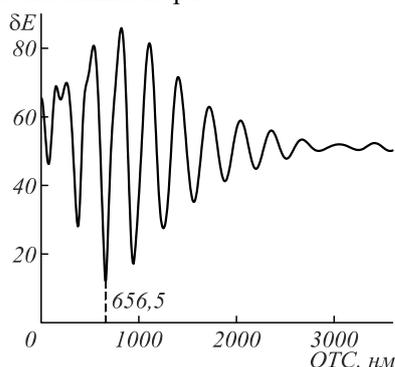


Рис. 5. Функция сравнения цветов в цветовой модели Lab для области А изображения на рис. 2а

Для приведенной функции глобальный минимум значения $\delta E(\Delta)$ соответствует случаю наиболее явно совпадающих цветов и, в отличие от аналогичного случая в системе RGB, не возникает неоднозначность при определении оптической толщины слоя Δ , поскольку такое значение на графике единственное. В приведённом примере рассчитанная оптическая тол-

щина в области А изображения на рис. 2а составила ≈ 657 нм, что совпадает с рассчитанным значением Δ в RGB-модели с погрешностью 15 нм.

Используя этот алгоритм, нами были определены оптические толщины в трёх областях А, В, и С исследуемого изображения (рис. 2а). Для каждой этой области рассчитывались функции цветового различия $\delta E(\Delta)$, приведённые на рис. 5 и рис. 6, и определялась оптическая толщина слоя в каждой области. В табл. 1 приведены измеренные оптические толщины и указаны координаты исследуемых областей, а также измеренные оптические толщины в цветовых моделях Lab и RGB. Кроме этого, для RGB-модели приведены ошибочные результаты измерения оптической толщины $\Delta_{ош}$, вызванные неоднозначностью определения интервала $\delta\Delta$.

Табл. 1. Результаты измерений оптических толщин

Исследуемая область	Координаты области (x, y), пикс	Δ , нм (Lab)	Δ , нм (RGB) $\Delta_{ош}$, нм
A	(1154, 904)	657	644 346
B	(1091, 715)	859	871 373
C	(1223, 409)	1068	1080 197

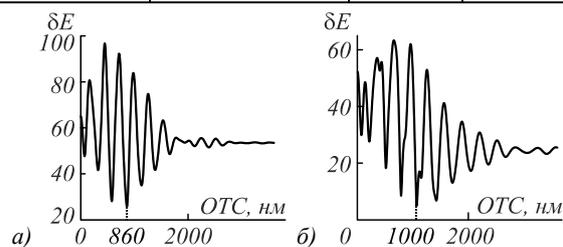


Рис. 6. Функция цветового различия в цветовой модели Lab для областей В и С исследуемого изображения на рис. 2а: оптическая толщина в области В – $\Delta \approx 860$ нм (а); оптическая толщина в области С – $\Delta \approx 1000$ нм (б)

Полученные результаты показали, что предложенный метод определения оптической толщины тонких слоёв более стабилен при анализе цвета в цветовой модели Lab. Это подтверждается отсутствием неоднозначностей при анализе разностных функций, совпадением с точностью до ± 15 нм измеренных значений оптических толщин в RGB цветовой модели.

Для оценки погрешностей предложенного метода нами проводились следующие расчёты. С использованием выражения (1.2) и математической модели Lab рассчитывалась опорная цветовая шкала. Далее с использованием этого же выражения рассчитывался цвет тонкого плоскопараллельного слоя заданной толщины, при этом дополнительно случайным образом вносилось изменение в интерференционный сигнал для каждого цветового канала, равное 10%, 20% ... 50%. С физической точки зрения эта погрешность означает несовпадение диапазонов цветовых палитр опорного и экспериментального изображения. Для каждой заданной погрешности проводился набор из 100 измерений оптических толщин, усреднённые

значения которых \bar{t} , а также среднеквадратичное отклонение $\overline{\delta t}$ представлены в табл. 2.

Табл. 2. Оценка погрешности предложенного метода

Истинная толщина, нм	Изменение цвета, %												$\overline{\delta t}$, нм
	0		10		20		30		40		50		
	\bar{t} , нм	$\overline{\delta t}$, нм	\bar{t} , нм	$\overline{\delta t}$, нм	\bar{t} , нм	$\overline{\delta t}$, нм	\bar{t} , нм	$\overline{\delta t}$, нм	\bar{t} , нм	$\overline{\delta t}$, нм	\bar{t} , нм	$\overline{\delta t}$, нм	
0	0	0	3	3	4	4	6	5	7	5	11	27	7
360	360	0	361	0	360	2	360	4	372	55	371	56	19,5
721	721	0	721	0	722	3	722	4	722	6	727	30	7
1082	1082	0	1083	3	1082	6	1091	63	1102	99	1104	112	47
1443	1443	0	1442	4	1455	119	1438	166	1373	215	1337	222	121
1804	1804	0	2082	487	1940	464	1909	490	1809	496	1691	462	400
2164	2164	0	2038	244	1809	341	1671	460	1649	536	1408	576	360
2525	2525	0	2160	308	2016	422	1761	442	1793	495	1662	515	364
2886	2886	0	2290	500	2107	519	1903	581	1767	511	1701	476	431
3247	3247	0	2440	443	2142	513	1939	470	1790	535	1634	460	404

Как показали результаты, наиболее стабильно и с относительно малой погрешностью измерений предложенный метод работает в диапазоне оптических толщин слоёв 0–1000 нм. Это ограничение можно объяснить конечной длиной продольной когерентности освещающего поля, которая как раз и равняется примерно 2,3 мкм для широкополосного освещения, используемого в нашей работе. Высокая погрешность измерений в диапазоне оптических толщин более 1000 нм возникает потому, что контраст интерференционной картины в этом случае падает практически до нуля из-за низкой степени взаимной когерентности интерферирующих световых полей, и, вместо интерференционных цветов, наблюдается практически равномерная область серого цвета (рис. 1б, в), что фактически исключает сравнение цветов, наблюдаемых непосредственно в изображении слоя.

Заключение

Показано влияние модели представления цвета изображения на алгоритмы сравнения интерференционных цветов и точность определения оптических толщин тонких слоёв микрообъектов в оптической микроскопии. Использование цветовой модели Lab вместо RGB для сравнения цветов экспериментального и опорного интерференционных изображений позволяет избежать неоднозначности при определении искомой величины оптической толщины слоя.

Проведённая оценка погрешностей измерения оптических толщин позволила установить диапазон применимости разработанного метода. Этот диапазон оптических толщин слоёв составляет приблизительно 150–1000 нм.

В рамках работы определены основные источники погрешностей при определении оптических толщин тонких слоёв рассматриваемым методом. Все эти источники приводят к одному следствию, а именно, несовпадению диапазона значений цветовых палитр опорного моделируемого и экспериментального интерференционных изображений слоя. Одной из причин этого несоответствия является неточно выставленный баланс белого экспериментального изображения. Для решения этой задачи необходимы либо

априорные данные об исследуемом объекте, а именно знание толщины исследуемого объекта как минимум в двух областях, либо предварительно зарегистрированное и обработанное интерференционное изображение слоистого объекта известной толщины.

Другим источником погрешности служит дискретизация оптических толщин при моделировании опорной интерференционной картины. Поскольку алгоритмы сравнения цветов реализуют поиск цветового совпадения по моделированной цветовой шкале, то чем больше моделированных вариантов цвета, тем точнее будут проведены измерения. При малом количестве отсчётов при измерении оптических толщин могут быть использованы интерполяционные алгоритмы сравнения. В рамках нашей работы при моделировании были заданы 500 точек оптических толщин в диапазоне 0–3600 нм, что позволило получить точность в отборе искомого значения оптических толщин около 10 нм.

Кроме этого, отдельным вопросом, требующим внимания, является рассмотрение формата записи регистрируемых изображений. Поскольку цифровые изображения, полученные с помощью устройств регистрации, в любом графическом формате содержат искажённую информацию о цвете ввиду обработки регистрируемых данных встроенными процессорами этих устройств, то это, в свою очередь, также может привести к погрешностям в определении оптических толщин [45, 46]. Для решения этой задачи возможно проведение предварительной спектральной градуировки используемой цифровой камеры для регистрации экспериментального изображения либо использование для цветового анализа экспериментальных изображений в необработанном RAW-формате [47].

Анализ полученных результатов показал работоспособность предложенного метода определения оптических толщин слоистых микрообъектов и возможность его усовершенствования для уменьшения погрешностей.

Ограничение сверху диапазона толщин слоёв, определяемых данным методом, может быть преодолено путём наблюдения эффектов интерференции волн, отражённых границами слоя, не в области

изображения, а в области частотного спектра поля интерференционного изображения слоя, где интерференционные осцилляции интенсивности в шкале длин волн возникают при превышении разности хода волн длины временной когерентности волн [48, 49]. Использование в этом случае спектральных методов анализа позволяет расширить возможности предложенного колориметрического метода и использовать его в высокоразрешающей микроскопии слоистых микрообъектов при исследовании в различных областях от микроэлектроники до биомедицины.

Литература

1. **Setter, A.** Ferroelectric thin films: Review of materials, properties, and applications / A. Setter, D. Damjanovic // *Journal of Applied Physics*. – 2006. – Vol. 100. – 051606.
2. **Charitidis, C.A.** Nanomechanical and nanotribological properties of carbon-based thin films: A review / C.A. Charitidis // *International Journal of Refractory Metals and Hard Materials*. – 2010. – Vol. 28, Issue 1. – P. 51-70.
3. Технология тонких плёнок. Справочник / под ред. Л. Майссела, Р. Глэнга. – Пер с англ. – Т. 2. – М.: Советское радио, 1977. – 768 с.
4. **Тамбасов, И.А.** Структурные и термоэлектрические свойства оптически прозрачных тонких плёнок на основе одностенных углеродных нанотрубок / И.А. Тамбасов, А.С. Воронин, Н.П. Евсевская [и др.] // *Физика твёрдого тела*. – 2018. – Т. 60, № 12. – С. 2456-2462.
5. **Kreder, M.J.** Film dynamics and lubricant depletion by droplets moving on lubricated surfaces / M.J. Kreder, D. Daniel, A. Tetreault [et al.] // *Physical Review X*. – 2018. – Vol. 8, № 3. – 031053.
6. **Křupka, I.** The effect of surface texturing on thin EHD lubrication film / I. Křupka, M. Hartl // *Tribology International*. – 2007. – Vol. 40, Issue 7. – P. 1100-1110.
7. **Birnie, D.** Optical video interpretation of interference colors from thin transparent films on silicon / D. Birnie // *Materials Letters*. – 2004. – Vol. 58. – P. 2795-2800.
8. **Parthasarathy, S.** A color vision system for film thickness determination / S. Parthasarathy, D. Wolfe [et al.] // *Proceedings of IEEE Conference on Robotics and Automation*. – 1987. – P. 515-519.
9. **Воевода, М.И.** Исследование тонких плёнок, полученных центрифугированием сыворотки крови человека, методами спектральной эллипсометрии и ИК-спектроскопии / М.И. Воевода, С.Е. Пельтек, М.В. Кручинина [и др.] // *Автометрия*. – 2010. – Т. 46, № 4. – С. 106-119.
10. **Тарасевич, Ю.Ю.** Влияние режима испарения на пространственное перераспределение компонентов в испаряющейся капле жидкости на твёрдой горизонтальной подложке / Ю.Ю. Тарасевич, О.П. Исакова, В.В. Кондухов, А.В. Савицкая // *Журнал технической физики*. – 2010. – Т. 80, № 5. – С. 45-53.
11. **Tarasevich, Y.Y.** Modeling of spatial-temporal distribution of the components in the drying sessile droplet of biological fluid / Y.Y. Tarasevich, I.V. Vodolazskaya, O.P. Bondarenko // *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. – 2013. – Vol. 432, Issue 5. – P. 99-103.
12. **Лычагов, В.В.** Низкокогерентная микроинтерферометрия внутренней структуры кристаллизовавшейся плазмы крови / В.В. Лычагов, А.Л. Кальянов, В.П. Рябухо // *Оптика и спектроскопия*. – 2009. – Т. 107, № 6. – С. 907-914.
13. **Sheppard, C.J.R.** Low-coherence interference microscopy / C.J.R. Sheppard, M. Roy. – In: *Optical imaging and microscopy* / ed. by P. Török, F.-J. Kao). – Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag, 2003. – P. 257-273.
14. *Handbook of full-field optical coherence microscopy: Technology and applications* / ed. by A. Dubois. – Singapore: Pan Stanford Publishing Pte. Ltd., 2016. – 790 p.
15. **Abdulhalim, I.** Spatial and temporal coherence effects in interference microscopy and full-field optical coherence tomography / I. Abdulhalim // *Annalen der Physik*. – 2012. – Vol. 524, No 12. – P. 787-804. – DOI: 10.1002/andp.201200106.
16. **Lychagov, V.V.** Polychromatic low-coherence interferometry of stratified structures with digital interferogram recording and processing / V.V. Lychagov, V.P. Ryabukho, A.L. Kalyanov, I.V. Smirnov // *Journal of Optics*. – 2012. – Vol. 14, Issue 1. – 015702.
17. **Лычагов, В.В.** Низкокогерентная интерферометрия слоистых структур в полихроматическом свете с цифровой записью и обработкой интерферограмм / В.В. Лычагов, В.П. Рябухо, А.Л. Кальянов, И.В. Смирнов // *Компьютерная оптика*. – 2010. – Т. 34, № 4. – С. 511-524.
18. *Confocal microscopy* / ed. by T. Wilson. – San Diego: Academic Press, 1990. – 426 p.
19. *Handbook of biological confocal microscopy* / ed. by J.E. Pawley. – 3rd ed. – Berlin: Springer, 2006. – 985 p.
20. **Sheppard, C.J.R.** Confocal imaging of a stratified medium / C.J.R. Sheppard, T.J. Connolly, J. Lee, C.J. Cogswell // *Applied Optics*. – 1994. – Vol. 33, Issue 4. – P. 631-640.
21. **De Groot, P.** Principles of interference microscopy for the measurement of surface topography / P. de Groot // *Advanced in Optics and Photonics*. – 2015. – Vol. 7, Issue 1. – P. 1-65.
22. **Kemper, B.** Digital holographic microscopy for live cell applications and technical inspection / B. Kemper, G. von Bally // *Applied Optics*. – 2008. – Vol. 47. – P. A52-A61.
23. *Digital holography and wavefront sensing principles: Techniques and applications* / U. Schanars, C. Falldorf, J. Watson, W. Jueptner. – 2nd ed. – Heidelberg, New York, Dordrecht, London: Springer; 2015. – 226 p. – ISBN: 978-3-662-44692-8.
24. **Kim, M.K.** Digital holographic microscopy / M.K. Kim. – New York: Springer-Verlag, 2011. – P. 1-10.
25. **Dubois, A.** High-resolution full-field optical coherence tomography with a Linnik microscope / A. Dubois L. Vabre, A.C. Boccara, E. Beaufort // *Applied Optics*. – 2002. – Vol. 41, Issue 4. – P. 805-812.
26. *Optical coherence tomography: technology and applications* / ed. by W. Drexler, J.G. Fujimoto. – Springer Science & Business Media, 2008. – 2567 p.
27. **Leitgeb, R.A.** En face optical coherence tomography: a technology review / R.A. Leitgeb // *Biomedical Optics Express*. – 2019. – Vol. 10, Issue 5. – P. 2177-2201.
28. **Каленков, Г.С.** Гиперспектральная голографическая фурье-микроскопия / Г.С. Каленков, С.Г. Каленков, А.Е. Штанько // *Квантовая электроника*. – 2015. – Т. 45, № 4. – С. 333-338.
29. **Борн, М.** Основы оптики / М. Борн, Э. Вольф // М.: Наука, 1973. – 720 с.
30. **Hartl, M.** Thin film colorimetric interferometry / M. Hartl, I. Krupka, R. Poliscuk [et al.] // *Tribology Transactions*. – 2001. – Vol. 44, Issue 2. – P. 270-276.
31. **Kitagawa, K.** Thin-film thickness profile measurement by three-wavelength interference color analysis / K. Kitagawa // *Applied Optics*. – 2013. – Vol. 52, Issue 10. – P. 1998-2007.
32. **Kitagawa, K.** Surface and thickness profile measurement of a transparent film by three-wavelength vertical scanning in-

- terferometry / K. Kitagawa // Optics Letters. – 2014. – Vol. 39, Issue 14. – P. 4172-4175.
33. **Frostad, J.M.** Dynamic fluid-film interferometry as a predictor of bulk foam properties / J.M. Frostad, D. Tammaro, L. Santollani, S.B. de Araujo, G.G. Fuller // Soft Matter. – 2016. – Vol. 12, Issue 46. – P. 9266-9279.
 34. **Jin, G.** Imaging ellipsometry revisited: developments for visualization of thin transparent layers on silicon substrates / G. Jin, R. Jansson, H. Arwin // Review of Scientific Instruments. – 1996. – Vol. 67. – P. 2930-2936.
 35. **Kim, J.** Thickness measurement of a transparent thin film using phase change in white-light phase-shift interferometry / J. Kim, K. Kim, H.J. Pakh // Current Optics and Photonics. – 2017. – Vol. 1, Issue 5. – P. 505-513.
 36. **Дьяченко, А.А.** Определение оптических толщин слоистых объектов по интерференционным цветам изображений в микроскопии белого света / А.А. Дьяченко, В.П. Рябухо // Компьютерная оптика. – 2017. – Т. 41, № 5. – С. 670-679. – DOI: 10.18287/2412-6179-2017-41-5-670-679.
 37. **Дьяченко, А.А.** Проявление эффектов углового спектра освещающего поля в полихроматической интерференционной микроскопии слоистых объектов / А.А. Дьяченко, Л.А. Максимова, В.П. Рябухо // Компьютерная оптика. – 2018. – Т. 42, № 6. – С. 959-969. – DOI: 10.18287/2412-6179-2018-42-6-959-969.
 38. **Гонсалес, Р.** Цифровая обработка изображений / Р. Гонсалес, Р. Вудс. – Пер. с англ. – М.: Техносфера, 2005. – 1072 с.
 39. **Прэтт, У.** Цифровая обработка изображений / У. Прэтт. – Пер. с англ. – М.: Мир, 1982.
 40. Цвет в промышленности / под ред. Р. Мак-Дональда. – Пер. с англ. – М.: Логос, 2002. – 596 с.
 41. **Форсайт, Д.** Компьютерное зрение. Современный подход / Д. Форсайт, Ж. Понс. – Пер. с англ. – М.: Вильямс, 2004. – 928 с.
 42. **Зимин, Д.И.** Технология определения восстанавливающего фильтра и обработки цветных изображений / Д.И. Зимин, В.А. Фурсов // Компьютерная оптика. – 2005. – Т. 27. – С. 170-173.
 43. **Агеева, А.И.** Сравнительный анализ моделей СМУК и RGB при поканальном выводе полноцветных изображений / А.И. Агеева, Н.С. Крестина, С.И. Ходов // Известия ТулГУ. Технические науки. – 2011. – Вып. 6, Ч. 2. – С. 386-391.
 44. Field guide to colorimetry and fundamental color modeling / J.D.T. Kruschwitz. – Bellingham, Washington, USA: SPIE Press, 2018. – 120 p.
 45. **Крайский, А.В.** Измерение поверхностного распределения длины волны узкополосного излучения колориметрическим методом / А.В. Крайский, Т.В. Миронова, Т.Т. Султанов // Квантовая электроника. – 2010. – Т. 40, № 7. – С. 652-658.
 46. **Пальчикова, И.Г.** Интервальная оценка параметров цвета из цифровых изображений / И.Г. Пальчикова, Е.С. Смирнов // Компьютерная оптика. – 2017. – Т. 41, № 1. – С. 95-102. – DOI: 10.18287/2412-6179-2017-41-1-95-102.
 47. **Крайский, А.В.** Измерение длины волны узкополосного излучения при обработке цифровых фотографий в RAW-формате / А.В. Крайский, Т.В. Миронова, Т.Т. Султанов // Квантовая электроника. – 2012. – Т. 42, № 12. – С. 1137-1139.
 48. **Kim, M.G.** Fast and reliable measurement of thin film thickness profile based on wavelet transform in spectrally resolved white-light interferometry / M.G. Kim, H.J. Pakh // International Journal of Precision Engineering and Manufacturing. – 2018. – Vol. 19, Issue 2. – P. 213-219.
 49. **Abdulhalim, I.** Spectroscopic interference microscopy technique for measurement of layer parameters / I. Abdulhalim // Measurement Science and Technology. – 2001. – Vol. 12. – P. 1996-2001.

Сведения об авторах

Дьяченко Антон Андреевич, аспирант кафедры оптики и биофотоники Саратовского государственного университета и инженер лаборатории проблем когерентно-оптических измерений в точной механике Института проблем точной механики и управления РАН. Область научных интересов: интерференционная микроскопия, интерферометрия, когерентность. E-mail: Anton-1047@yandex.ru.

Рябухо Владимир Петрович, доктор физико-математических наук, профессор кафедры оптики и биофотоники Саратовского государственного университета и заведующий лабораторией проблем когерентно-оптических измерений в точной механике Института проблем точной механики и управления РАН. Область научных интересов: когерентность, интерферометрия, интерференционная микроскопия, голография. E-mail: rvp-optics@yandex.ru.

ГРНТИ: 29.31.29.

Поступила в редакцию 26 июня 2019 г. Окончательный вариант – 22 июля 2019 г.

Color models of interference images of thin stratified objects in optical microscopy

A.A. Dyachenko^{1,2}, V.P. Ryabukho^{1,2}

¹ Saratov State University, Saratov, Russia,

² Institute of Precision Mechanics and Control of the Russian Academy of Sciences, Saratov, Russia

Abstract

Algorithms for the analysis of polychromatic interference patterns in images of thin stratified objects in optical microscopy are considered. The algorithms allow one to measure the thin-film optical thickness. A measurement method based on the comparison of colors of the interference

image under study and a numerically simulated image is discussed. We discuss a mathematical model for the calculation and numerical simulation of interference patterns and algorithms for interference pattern processing. Color comparison in an RGB color model is described and limitations of such a method are shown. The feasibility of using a Lab color model is shown and algorithms of interference color comparison in this model are presented. Results of application of the presented algorithms to measuring the optical thickness of red blood cells in a blood smear are discussed. The estimation of the error and robustness of the proposed algorithms is conducted.

Keywords: interference colors, thin films, optical microscopy, interference microscopy, colorimetry, color comparison, color model.

Citation: Dyachenko AA, Ryabukho VP. Color models of interference images of thin stratified objects in optical microscopy. *Computer Optics* 2019; 43(6): 956-967. DOI: 10.18287/2412-6179-2019-43-6-956-967.

References

- [1] Setter A, Damjanovic D. Ferroelectric thin films: Review of materials, properties, and applications. *J Appl Phys* 2006; 100: 051606.
- [2] Charitidis CA. Nanomechanical and nanotribological properties of carbon-based thin films: A review. *International Journal of Refractory Metals and Hard Materials* 2010; 28(1): 51-70.
- [3] Maissel LI, Glang R, eds. *Handbook of thin film technology*. New York: McGraw-Hill; 1970.
- [4] Tambasov IA, Voronin AS, Evsevskaya NP, et al. Structural and thermoelectric properties of optically transparent thin films based on single-walled carbon nanotubes. *Physics of the Solid State* 2018; 60(12): 2456-2462.
- [5] Kreder MJ, Daniel D, Tetreault A, et al. Film dynamics and lubricant depletion by droplets moving on lubricated surfaces. *Physical Review X* 2018; 8(3): 031053.
- [6] Krupka I, Hartl M. The effect of surface texturing on thin EHD lubrication film. *Tribology International* 2007; 40(7): 1100-1110.
- [7] Birnie D. Optical video interpretation of interference colors from thin transparent films on silicon. *Mater Lett* 2004; 58: 2795-2800.
- [8] Parthasarathy S, Wolfe D, et al. A color vision system for film thickness determination. *Proc IEEE Conf Robotics and Automation* 1987; 515-519.
- [9] Voevoda MI, Pel'tek SE, Kruchinina MV, et al. Studying thin films obtained through centrifugation of the human blood serum by methods of spectral ellipsometry and infrared spectroscopy. *Optoelectronics, Instrumentation and Data Processing* 2010; 46(4): 382-393.
- [10] Tarasevich YY, Isakova OP, Kondukhov VV, Savitskaya AV. Effect of evaporation conditions on the spatial redistribution of components in an evaporating liquid drop on a horizontal solid substrate. *Technical Physics. The Russian Journal of Applied Physics* 2010; 80(5): 45-53.
- [11] Tarasevich YY, Vodolazskaya IV, Bondarenko OP. Modeling of spatial-temporal distribution of the components in the drying sessile droplet of biological fluid. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 2013; 432(5): 99-103.
- [12] Lychagov VV, Kal'yanov AL, Ryabukho VP. Low-coherence interference microscopy of the internal structure of crystallized blood plasma. *Optics and Spectroscopy* 2009; 107(6): 859-865.
- [13] Sheppard CJR, Roy M. Low-coherence interference microscopy. In Book: Török P, Kao F-J, eds. *Optical imaging and microscopy*. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag; 2003: 257-273.
- [14] Dubois A, ed. *Handbook of full-field optical coherence microscopy: Technology and applications*. Singapore: Pan Stanford Publishing Pte Ltd; 2016.
- [15] Abdulhalim, I. Spatial and temporal coherence effects in interference microscopy and full-field optical coherence tomography *Annalen der Physik* 2012; 524(12): 787-804. DOI: 10.1002/andp.201200106.
- [16] Lychagov, VV, Ryabukho VP, Kalyanov AL, Smirnov IV. Polychromatic low-coherence interferometry of stratified structures with digital interferogram recording and processing. *J Opt* 2012; 14(1): 015702.
- [17] Lychagov, VV, Ryabukho VP, Kalyanov AL, Smirnov IV. Low-coherence interferometry of stratified structures using polychromatic light and digital interferogram recording and processing [In Russian]. *Computer Optics* 2010; 34(4): 511-524.
- [18] Wilson T, ed. *Confocal microscopy*. San Diego: Academic Press; 1990.
- [19] Pawley JE, ed. *Handbook of biological confocal microscopy*. 3rd ed. Berlin: Springer; 2006.
- [20] Sheppard CJR, Connolly TJ, Lee J, Cogswell CJ. Confocal imaging of a stratified medium. *Appl Opt* 1994; 33(4): 631-640.
- [21] De Groot P. Principles of interference microscopy for the measurement of surface topography. *Adv Opt Photon* 2015; 7(1): 1-65.
- [22] Kemper B, von Bally G. Digital holographic microscopy for live cell applications and technical inspection. *Appl Opt* 2008; 47: A52-A61.
- [23] Schanars U, Falldorf C, Watson J, Jueptner W. *Digital holography and wavefront sensing principles: Techniques and applications*. 2nd ed. Heidelberg, New York, Dordrecht, London: Springer; 2015. ISBN: 978-3-662-44692-8.
- [24] Kim MK. *Digital holographic microscopy*. New York: Springer-Verlag; 2011: 1-10.
- [25] Dubois A, Vabre L, Boccara AC, Beaufrepaire E. High-resolution full-field optical coherence tomography with a Linnik microscope. *Appl Opt* 2002; 41(4): 805-812.
- [26] Drexler W, Fujimoto JG, eds. *Optical coherence tomography: technology and applications*. Springer Science & Business Media; 2008.
- [27] Leitgeb RA. En face optical coherence tomography: a technology review. *Biomed Opt Express* 2019; 10(5): 2177-2201.
- [28] Kalenkov GS, Kalenkov SG, Shtan'ko AE. Hyperspectral holographic Fourier-microscopy. *Quantum Electronics* 2015; 45(4): 333-338.
- [29] Born M, Wolf E. *Principles of optics: Electromagnetic theory of propagation, interference and diffraction of light*. 7th ed. Cambridge: Cambridge University Press; 2002. ISBN: 978-0-521-64222-4.
- [30] Hartl M, Krupka I, Poliscuk R, et al. Thin film colorimetric interferometry. *Tribology Transactions* 2001; 44(2): 270-276.
- [31] Kitagawa K. Thin-film thickness profile measurement by three-wavelength interference color analysis. *Appl Opt* 2013; 52(10): 1998-2007.

- [32] Kitagawa K. Surface and thickness profile measurement of a transparent film by three-wavelength vertical scanning interferometry. *Opt Lett* 2014; 39(14): 4172-4175.
- [33] Frostad JM, Tammaro D, Santollani L, de Araujo SB, Fuller GG. Dynamic fluid-film interferometry as a predictor of bulk foam properties. *Soft Matter* 2016; 12(46): 9266-9279.
- [34] Jin G, Jansson R, Arwin H. Imaging ellipsometry revisited: developments for visualization of thin transparent layers on silicon substrates. *Rev Sci Instrum* 1996; 67: 2930-2936.
- [35] Kim J, Kim K, Pakh HJ. Thickness measurement of a transparent thin film using phase change in white-light phase-shift interferometry. *Current Optics and Photonics* 2017; 1(5): 505-513.
- [36] Dyachenko AA, Ryabukho VP. Measurement of the optical thickness of a layered object from interference colors in white-light microscopy. *Computer Optics* 2017; 41(5): 670-679. DOI: 10.18287/2412-6179-2017-41-5-670-679.
- [37] Dyachenko AA, Maksimova LA, Ryabukho VP. Manifestation of effects of the angular spectrum of the illuminating field in polychromatic interference microscopy of stratified objects. *Computer Optics* 2018; 42(6): 959-969. DOI: 10.18287/2412-6179-2018-42-6-959-969.
- [38] Gonzalez R, Woods R. *Digital image processing*. 3rd ed. Pearson Prentice Hall; 2008.
- [39] Pratt WK. *Digital image processing*. 4th ed. John Wiley & Sons; 2007.
- [40] McDonald R. *Colour physics for industry*. Bradford; 1997.
- [41] Forsyth DA, Ponce J. *Computer vision: A modern approach*. Prentice Hall; 2004.
- [42] Zimin DI, Fursov VA. The technology for determining the recovery filter and color image processing [In Russian]. *Computer Optics* 2005; 27: 170-173.
- [43] Ageeva AI, Krestinina NS, Hodov SI. The comparative test of CMYK and RGB models in the channel separated output of fullcolor images [In Russian]. *Izvestiya Tula State University* 2011; 6(2): 386-391.
- [44] Kruschwitz JDT. *Field guide to colorimetry and fundamental color modeling*. Bellingham, Washington, USA: SPIE Press; 2018.
- [45] Kraiskii AV, Mironova TV, Sultanov TT. Measurement of the surface wavelength distribution of narrow-band radiation by a colorimetric method. *Quantum Electronics* 2010; 40(7): 652-658.
- [46] Palchikova IG, Smirnov ES. Interval estimation of color parameters from digital images. *Computer Optics* 2017; 41(1): 95-102. DOI: 10.18287/2412-6179-2017-41-1-95-102.
- [47] Kraiskii AV, Mironova TV, Sultanov TT. Narrow-band radiation wavelength measurement by processing digital photographs in RAW format. *Quant Electron* 2012; 42(12): 1137-1139.
- [48] Kim MG, Pakh HJ. Fast and reliable measurement of thin film thickness profile based on wavelet transform in spectrally resolved white-light interferometry. *International Journal of Precision Engineering and Manufacturing* 2018; 19(2): 213-219.
- [49] Abdulhalim I. Spectroscopic interference microscopy technique for measurement of layer parameters. *Meas Sci Technol* 2001; 12: 1996-2001.

Author's information

Anton Andreevich Dyachenko, post-graduate student at Optics and Biophotonics department of Saratov State University and engineer in Laboratory of Problems of Coherent-Optical Measurements in Precision Mechanics of the Institute of Precision Mechanics and Control of the Russian Academy of Sciences. Research interests: interference microscopy, interferometry, coherence. E-mail: Anton-1047@yandex.ru.

Vladimir Petrovich Ryabukho, Doctor of Physical-Mathematical Sciences, Professor at Optics and Biophotonics department of Saratov State University and Head of the Laboratory of Problems of Coherent-Optical Measurements in Precision Mechanics of the Institute of Precision Mechanics and Control of the Russian Academy of Sciences. Research interests: coherence, interferometry, interference microscopy, holography. E-mail: rvp-optics@yandex.ru.

Received 26 June, 2019. The final version – 22 July, 2019.