

Holographie-Mikroskop mit Raspberry Pi

Im Projekt HolMOS haben wir ein günstiges 3D-Mikroskop auf Basis des Raspberry Pi entwickelt, mit dem sich lebende Zellen und andere Winzlinge dreidimensional vermessen lassen.

von Tobias Beckmann



Während man bei herkömmlichen Mikroskopen seine Proben oft färben und präparieren muss, ist die Vorarbeit bei 3D-Mikroskopen auf Basis der digitalen Holographie überflüssig. Mit digital-holographischen Mikroskopen lassen sich etwa durchsichtige Objekte wie lebende Nervenzellen live beobachten. So können mit unserem 3D-Mikroskop HolMOS biologische Prozesse nicht nur gefilmt, sondern an jedem Kamerabild auch Messungen in allen drei Dimensionen durchgeführt werden.

Um mit einem Mikroskop digital-holographisch zu messen, wird das Licht eines Lasers von einem Strahlteiler aufgeteilt – während ein Teil des Lichts durch die Probe direkt auf eine Kamera fällt, wird der andere Teil über einen Spiegel als Referenzlicht in die Kamera geleitet. Aus dem Zusammentreffen der Lichter und den Verformungen ihrer Wellen kann man das durchleuchtete Objekt rekonstruieren und berechnen. Messmethoden, die die Überlagerung verschiedener Wellen nutzen, werden Interferometrie genannt. Einfache Mikroskope lassen dagegen nur einen Lichtstrahl durch die Probe fallen und ermöglichen keine Rückschlüsse auf die Höhe.

Unser Projekt zeigt, wie man mit einfachen Mitteln ein 3D-Mikroskop aufbaut, und heißt digital-**holographisches Mikroskop** für **Open Science** (HolMOS) ①. Drei Jahre haben Wissenschaftler des Fraunhofer Instituts für Physikalische Messtechnik (IPM) mit Schülerinnen und Schülern Freiburger Schulen gemeinsam daran gearbeitet. Herzstück sind der Einplatinenrechner Raspberry Pi sowie die günstige Raspi-Kamera. Die Materialkosten für den Nachbau liegen bei rund 175 Euro. Anleitung, Software und 3D-Druckdateien sind unter Open-Source-Lizenz kostenlos veröffentlicht worden. Neben dem Aufbau haben wir auch den Praxis-Einsatz des Mikroskops in der Schule erprobt. Wer nicht das ganze holographische Mikroskop nachbauen möchte, kann unsere Anleitung nutzen, um sich ein normales, günstiges Mikroskop auf Raspberry-Pi-Basis zu bauen.

Kurzinfo

- » So funktioniert digitale Holographie
- » 3D-Mikroskop mit Raspberry Pi
- » Schul-AG trifft Wissenschaft

Checkliste



Zeitaufwand:

ein Nachmittag (plus Druckzeit)



Kosten:

145 bis 175 Euro (je nach Ausführung)



3D-Druck:

Kleinteile

Material

- » Raspberry Pi 3B+
- » Raspi-Kamera v2 (noIR)
- » Linse
- » Strahlteiler
- » Spiegel
- » Objektiv
- » Laser
- » 3 Stahlstangen
- » Schrauben und Muttern

Vollständige Bauteilliste mit Bezugsquellen siehe Link

Alles zum Artikel
im Web unter
make-magazin.de/x687

Mehr zum Thema

Helga Hansen, Webcam-Mikroskop,
Make 3/19, S. 82

Einfach oder komplizierter?

Der Aufbau von HolMOS besteht aus Stahlstangen und anpassbaren Druckteilen, die die optischen Komponenten verbinden. Einsetzbar ist das Projekt in zwei Varianten: In der Basis-Version mit wenigen Komponenten ist HolMOS ein digitales Mikroskop, das Farbbilder an den Raspi schickt. Die komplette Version als Interferometer benötigt noch ein paar Bauteile mehr.

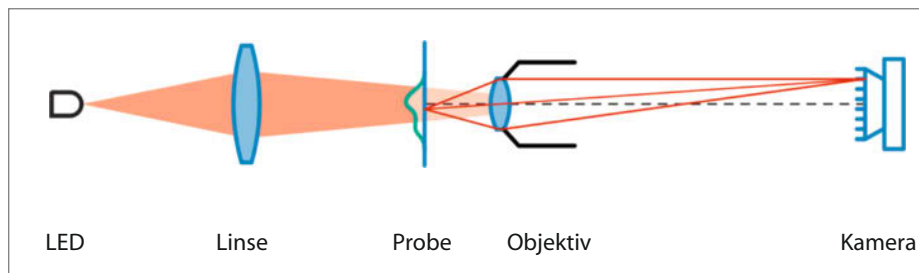
Die mechanische Konstruktion besteht aus 3D-gedruckten Teilen, die an drei Stahlstangen geklemmt werden ②. Wenn man mit dem Drucker noch nicht viel Erfahrung hat, sollte man zunächst zwei bis drei Test-



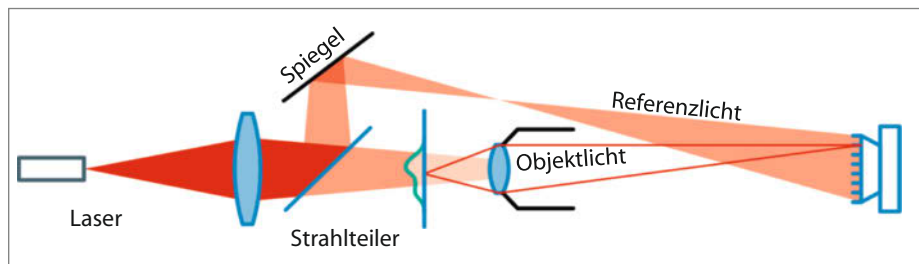
② Die Metallstangen werden von 3D-gedruckten Teilen zusammengehalten.



① Das Mikroskop kann liegend oder stehend genutzt werden.



3 Der Aufbau als Mikroskop



4 Die komplette Konstruktion als Interferometer

Clips drucken, um die Weite der Klemmungen anzupassen. Danach kann man alle Teile der Reihe nach drucken. Prinzipiell würden zwei Metallstangen sogar ausreichen, aber mit der dritten Stange bleibt der Aufbau fest eingestellt, wenn man das Gerät bewegt oder senkrecht betreibt.

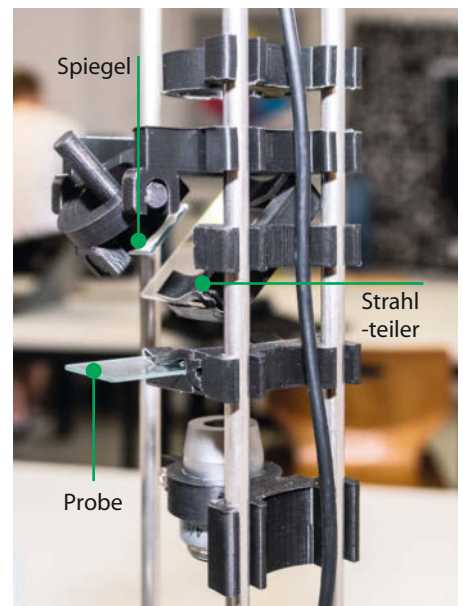
Alle Vorlagen für die Druckteile sind in SolidPython beschrieben, sodass auch für die Hardware modifizierbarer Quelltext vorliegt. Wenn man beispielsweise ein Mikroskopobjektiv mit anderem Durchmesser verwenden will, muss nur eine Variable im Code geändert werden, und schon kann der passende Halter gedruckt werden. Die Druckdateien als STL und in SolidPython findet man über den Link in der Kurzinfo zusammen mit einer knappen Anleitung auf Github. Das fertige 3D-Mikroskop kann liegend, stehend oder hängend genutzt werden. An einer Wand oder Schranktür hängend ist das Mikroskop für Gruppen gut sichtbar und ein Schrank wird seltener angestoßen als ein Tisch, um den alle herumstehen.

Aufbau als einfaches Mikroskop

Für den Aufbau als digitales Mikroskop benötigt man nur wenige Bauteile. Mit einer weißen Leuchtdiode (LED) als Lichtquelle kann man mit HoLMOS Farbbilder erstellen. Nötig sind für den Betrieb noch ein Objektiv, eine Linse und eine Kamera. Das Objektiv bildet die Probe scharf auf die Kamera ab **3**. Die roten Linien zeigen, dass der Abstand des abgebildeten Punkts von der Bildmitte größer ist als der Abstand des entsprechen-

den Punkts auf der Probe: Das Bild auf dem Kamerasensor ist damit vergrößert.

Kernstück ist der Raspberry Pi mitsamt Kamera. Praktischerweise kann man die gleich ohne Infrarotfilter (noIR) kaufen. Bei der Zweckentfremdung einer Digitalkamera sollte man den IR-Filter entfernen, da er eine zusätzliche Fläche vor der Kamera und damit weitere Interferenzen bedeuten würde. Als Objektiv empfehlen wir ein professionelles 4-fach-Objektiv, auch wenn das recht teuer ist. Grundsätzlich kann man auch jedes Mikroskopobjektiv verwenden, aber mit billigen Nachbauten hatten wir bereits mehrfach Pech. Aufgrund der sehr kleinen Kamerapixel ist es außerdem nicht sinnvoll, Objektive mit mehr als zehnfacher Vergrößerung zu wählen, da sie die Auflösung nicht weiter verbessern können. Schließlich braucht man noch die Linse, um das Beleuchtungslicht zu bündeln. Diese Kondensorlinse sorgt zum einen für gleichmäßigere Ausleuchtung und zum anderen für ein schärferes Bild, da die Probe

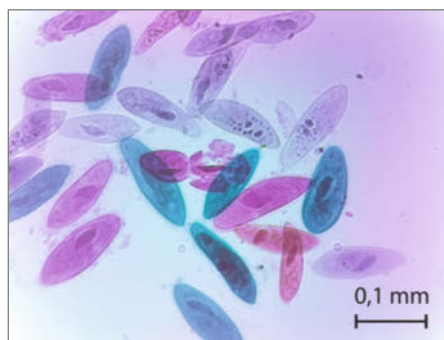


5 Zwischen Linse und Probe sind der Strahlteiler und der Spiegel eingebaut.

aus einem größeren Winkelspektrum beleuchtet wird. Um den Aufbau als Lichtmikroskop zu betreiben, reicht eine Noobs-Standardinstallation auf dem Raspberry Pi.

Die Qualität der Bilder ist übrigens besser als bei Spielzeugmikroskopen, die mehr kosten als die hier verbauten Einzelteile. Dafür werden beim Eigenbau keine Proben mitgeliefert und auch das Scharfstellen ist weniger komfortabel als beim Spielzeugmikroskop. Die gezeigten Bilder sind direkt mit dem Raspberry Pi aufgenommen **6**. Man bekommt vom Pi außerdem ein flüssiges Videobild mit HD-Auflösung, das man auf großen Bildschirmen gemeinsam anschauen kann. Schon dieses Feature ist für manchen Klassenraum eine Bereicherung.

Beim Bild der Kochsalzkristalle erkennt man aber sofort das Problem der klassischen Mikroskopie: Man sieht von vielen Dingen eigentlich nur den Rand. Auch die Pantoffeltierchen sind nur so gut zu sehen, weil sie bunt eingefärbt wurden.



6 Mit dem Mikroskop lassen sich Pantoffeltierchen (links) und Kochsalzkristalle (rechts) anschauen.

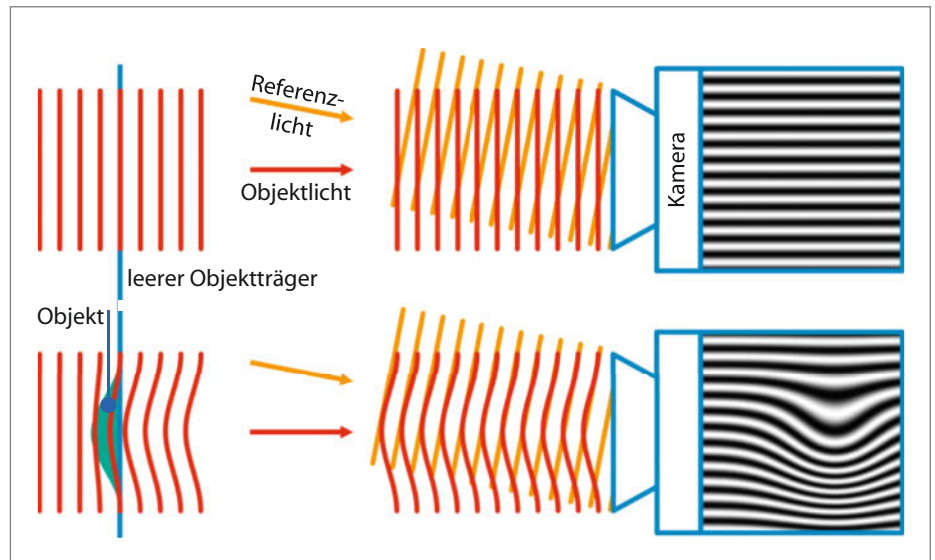
Interferometrie-Aufbau

Beim Aufbau als HolMOS-Interferometer wird statt der LED ein Laser als Lichtquelle verwendet (4). Ferner sind ein Strahlteiler und ein Spiegel nötig (5). Ein Teil des Laserlichts wird darüber abgezweigt und unge­stört auf die Kamera gelenkt, ohne durch die Probe zu gehen. Als Strahlteiler dient eine Glasscheibe, die einseitig so dick mit Aluminium bedampft ist, dass circa 50 Prozent des Lichts reflektiert wird. Für sieben Euro ist das einer der günstigsten Strahlteiler, die man kaufen kann. Auch der Spiegel ist eine bedampfte Glasscheibe. An beiden Komponenten wird das Referenzlicht also an einer Vorderseite reflektiert, ohne durch das Glas zu gehen. Dadurch bleiben die Wellenfronten des Referenzlichts sehr eben. Der Code für die Benutzeroberfläche zur Live-Auswertung der Interferogramme ist in Python geschrieben, läuft auf dem Pi und ist über den Link in der Kurzinfo herunterladbar. Für die Installation sind keine weiteren Pakete notwendig. In Summe kosten die Bauteile 165 Euro. Hinzu kommen die Kosten für den 3D-Druck, die aber unter 10 Euro bleiben.

Messung mit Interferometrie

Im Interferometer trifft neben dem Objektlicht auch das Referenzlicht auf die Kamera. Dort interferiert es mit dem Objektlicht, wodurch sich die Helligkeit auf der Kamera ändert. Wo die Wellenberge aufeinandertreffen, wird es besonders hell. Sind die Wellen in einem Pixel so versetzt, dass Wellenberg auf Wellental trifft, löschen sich die Strahlen aus.

Wenn kein Objekt im Mikroskop ist, sind beide Wellen eben, und das Ergebnis dieser Interferenz ist ein regelmäßiges Streifenmuster (7 obere Bildhälfte). Steht ein Objekt im Strahl, interferieren verformte Objektwellen mit ebenen Referenzwellen und das Streifenmuster wird verzerrt (unten). Aus der Verformung der Streifen kann die Verformung der Objektwelle berechnet werden. Damit weiß man, wie stark das Licht durch das Objekt verzögert wurde. Diese Streifen sind im Aufbau



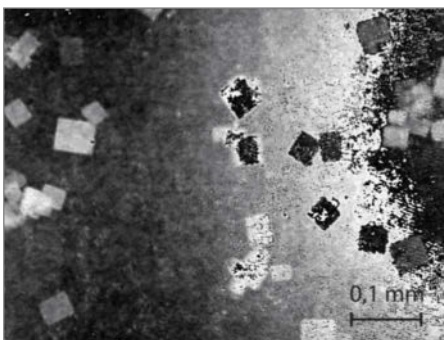
7 Treffen Objekt- und Referenzlicht unter einem Winkel aufeinander, so entsteht ein Streifenmuster (oben). Über die Verformung dieser Streifen kann man Rückschlüsse auf das betrachtete Objekt ziehen (unten).

nur circa 3 Pixel auseinander, sodass man sie kaum erkennen kann, aber es reicht aus, um vom Algorithmus ausgewertet zu werden.

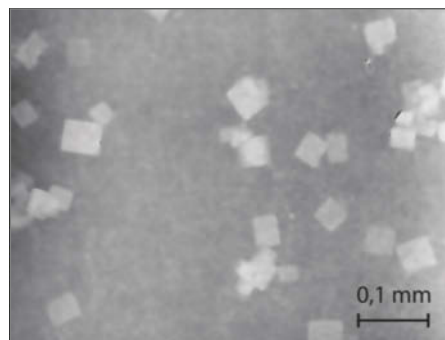
Geht Licht durch ein transparentes Objekt wie einen Kristall, ändert sich aber noch mehr, als dass an manchen Stellen weniger Licht durchkommt. Im Material breitet sich das Licht langsamer aus und seine Welle hinter dem Objekt ist verformt. Wenn man sich sicher ist, dass die Wellen vor dem Objekt eben waren, entspricht die Form der austretenden Wellenfronten der Dickenverteilung des Objekts. Die Form der Lichtwellenfronten misst HolMOS. Daraus lässt sich die Dicke winziger durchsichtiger Objekte bestimmen. Die Oberflächen von undurchsichtigen Objekten lassen sich ebenfalls vermessen, wenn man einen dünnen Film aus Kleber aufträgt und diesen anschließend betrachtet.

Wenn sich Objekt- und Referenzlicht überlagern, ist im unverarbeiteten Kamerabild zunächst kaum noch etwas zu erkennen. Die Algorithmik ist nur wenige Codezeilen lang, beruht aber auf Fouriertransformationen und komplexen Zahlen, sodass sie

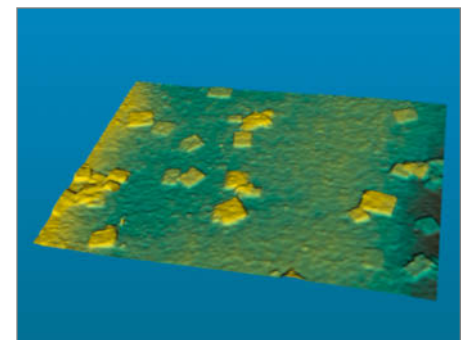
meistens als Black Box genutzt wird. Das Ergebnis ist ein Phasenbild, das man zum Beispiel in Graustufen darstellen kann (8). Die Helligkeit gibt an, um welchen Bruchteil einer Wellenlänge das Licht verzögert wurde. Allerdings kann man nicht zwischen einer Verzögerung von $\frac{1}{3}$ und $1\frac{1}{3}$ Wellenlängen unterscheiden und das Bild bekommt Sprünge: Nach 1 kommt wieder 0. Geht man davon aus, dass innerhalb der Probe keine plötzlichen Höhenstufen sind, die der Algorithmus mit so einem 1-0-Sprung verwechseln könnte, so kann man diese Phasensprünge herausrechnen (9) und erhält so etwas wie eine Höhenkarte der Probe (10). Jetzt sieht man nicht nur die Kanten der Kristalle (6), sondern auch den Unterschied zwischen innen und außen. Man kann sehen, dass die Kristalle unterschiedlich dick sind, aber jeder Kristall in sich überall gleich dick ist. Die Messung von optischer Dicke anstelle von Helligkeit erlaubt den quantitativen Vergleich von verschiedenen Objekten unter dem Mikroskop in drei Dimensionen, was sonst nur in zweien möglich ist.



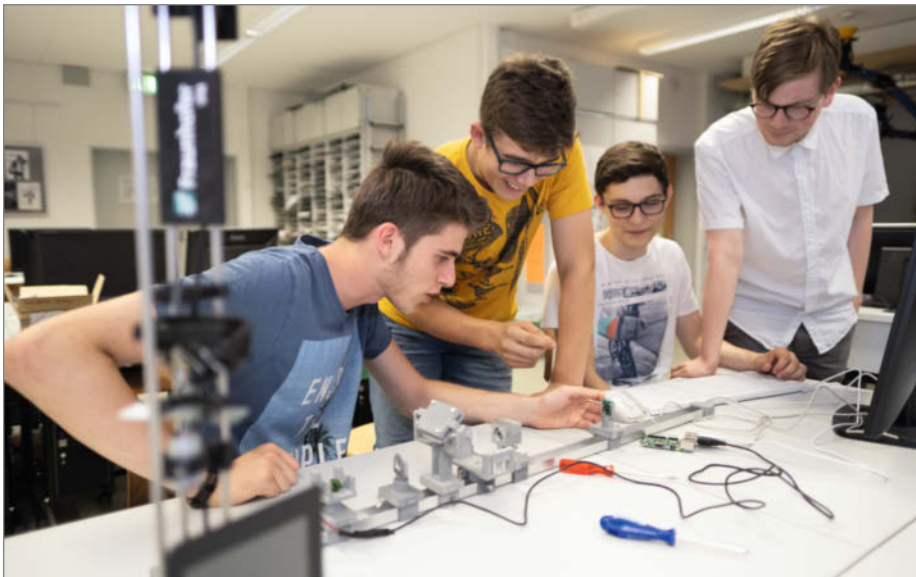
8 Salzkrystalle als körniges Mikroskopbild, ...



9 ...als bereinigtes Phasenbild und ...



10 ... als Höhenkarte aus dem Interferometer.



11 Im Projektbetrieb lernen Schülerinnen und Schüler, worauf es bei Teamarbeit ankommt.

So kam es zum Projekt

Am Fraunhofer IPM bauen wir normalerweise Geräte, die robust genug sind, um ohne Bediener im Produktionstakt Bauteile zu messen und zu prüfen. Das sind Geräte, die es noch nirgends zu kaufen gibt, weil sie am Rande des technisch Machbaren arbeiten und damit entsprechend teuer sind. Mit digitaler Holographie etwa kann man sehr schnell mikrometergenau messen, aber die Geräte kosten mehrere zehntausend Euro. Nötig sind dabei Digitalkameras mit sehr hoher Auflösung, um vernünftig auswertbare 3D-Bilder zu erstellen.

Seitdem in jedem Handy eine Kamera verbaut wird, gibt es aber immer kleinere und günstigere Sensoren. Die Kamera mit acht

Megapixeln für den Einplatinenrechner Raspberry Pi kostet weniger als 30 Euro. Sie kam 2016 auf den Markt – zur gleichen Zeit entwickelten wir die Idee, für ein Open-Source-Projekt mit Schulen zusammenzuarbeiten. Mit dem Freiburg-Seminar erhielten wir finanzielle Förderung aus dem Programm „Open Photonik“ des Bundesforschungsministeriums. In unserem Projekt sollte digitale Holographie minimalistisch umgesetzt werden: mit einfacher Hardware, leicht bedienbarer Software und ohne volles Verständnis für die Algorithmik. Die Fouriertransformationen in komplexwertigen Räumen sind selbst in den meisten Studiengängen Lehrinhalt für höhere Semester – wer sich dafür interessiert, kann gerne bei uns eine Abschlussarbeit beginnen. Als Plattform für ein Schulprojekt eignet sich der

Raspberry Pi besonders, weil er günstig ist, alle mit derselben Hard- und Software arbeiten können und man nichts auf Schuleigentum installieren muss.

Als Mitentwickler und erste Anwender haben wir Arbeitsgruppen des Freiburg-Seminars gewonnen. Das Freiburg-Seminar organisiert naturwissenschaftliche AGs, an denen Schülerinnen und Schüler gymnasialer Oberstufen teilnehmen. So kommen Gruppen in Klassenstärke zusammen, die sich wöchentlich treffen. 1994 begann das Seminar beschränkt auf die Stadt Freiburg. Heute ist es ein Erfolgsmodell und wurde auf das Freiburger Umland erweitert – manche Schüler haben eine Anreise von 37 Kilometern zur AG.

Im Rahmen unserer Kooperation arbeiten wir drei Jahre lang mit zwei Physik-AGs zusammen, die von den Lehrern Michael Abendschein und Jens Meinhardt geleitet werden. Dort wurde eine ganze Reihe von Themen in kleinen Gruppen angegangen 11

12: Verständnis der Interferometrie, Konstruktion von 3D-druckbaren Teilen, Bau von Prototypen, Justage, Suche nach geeigneten Lichtquellen und vieles mehr. Ein Jahr lang testete außerdem noch eine Bio-AG die Mikroskop-Prototypen und suchte geeignete Proben wie Zellen, Pollen und Kristalle. Und obwohl es von den Lehrern gar nicht vorgesehen war, gab es in jedem Projektjahr Schülerinnen und Schüler, die die vom Fraunhofer IPM gestellten Algorithmen eigenständig implementiert und Benutzeroberflächen entwickelt haben, die zum jeweiligen Prototyp passten.

Schülerinnen und Schüler im Projekt

In vielerlei Hinsicht war das Projekt für alle Beteiligten völlig neu. Ein dreijähriges Projekt umfasst Zeitskalen, die im Vergleich zum Schuljahr astronomisch sind. Ein Jahr vergeht schnell, wenn kein fertiger, pädagogisch vorbereiteter Bausatz vorliegt, sondern man im Projektbetrieb auf unerwartete Hindernisse stößt, ob im Verständnis oder im Fehlen der passenden Schraube. Von Woche zu Woche wurde deutlich, wie wichtig die Dokumentation dabei ist: Da zu Beginn jedoch noch nicht klar war, was das Ergebnis am Ende sein wird, gab es keine Anleitung. Immer wieder kam die Frage auf: „Wie haben wir das letzte Woche gemacht?“ Teilweise warten Teams auch gegenseitig auf Ergebnisse, und überhaupt ist die Kommunikation neu: Man ist nach einigen Monaten Fachperson für sein Teilgebiet und erfährt vielleicht zum ersten Mal, wie schwer es sein kann, eine Anleitung zu schreiben, die jemand anders in die Lage versetzt, etwas allein nachzuvollziehen.



12 Der erste AG-Jahrgang, der an dem Projekt beteiligt war.

Auch über das Schuljahr hinaus gab es Veränderungen. Jedes Jahr fanden wir uns in einer anderen Phase des Projekts. Neue Schüler kamen hinzu und andere, die am Anfang mitgearbeitet hatten, studieren inzwischen. Wie startet man Software, die sie geschrieben haben, und welches Wissen haben sie noch mitgenommen? Zum Glück kamen einige der Schüler noch als Studierende gelegentlich in den Keller der Fehrenbach-Schule, um sich anzuschauen, wie sich das Projekt weiterentwickelt hatte, und ab und an als geschätzte Experten mitzuhelfen.

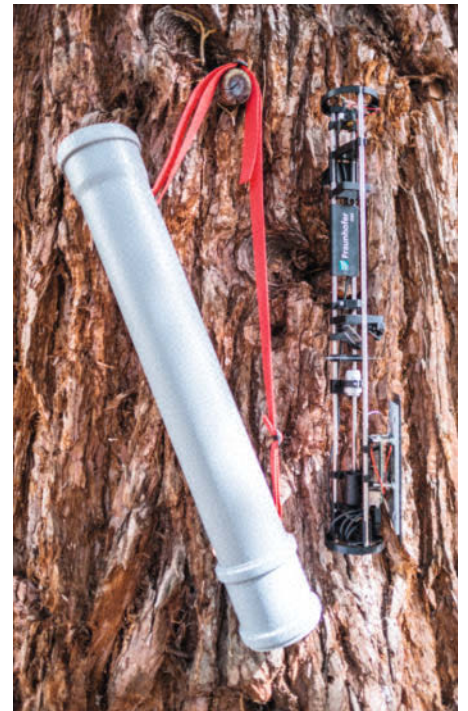
HolMOS unterwegs

Obwohl es für die Beschreibung des Holographie-Grundprinzips schon 1971 einen Nobelpreis gab, forschen auch in diesem Jahrzehnt noch Wissenschaftler an der Holographie, insbesondere der digitalen. Gleichzeitig wird sie langsam erschwinglich für den breiten Einsatz. Dadurch spannt das Projekt HolMOS einen großen Bogen und stößt bei den unterschiedlichsten Gruppen

auf Interesse. Die Ergebnisse wurden nicht nur an Schulen präsentiert, sondern auch auf der Maker Faire Berlin und der Konferenz „Digital Holography and 3D Imaging“ 2019 in Bordeaux. Auf der Fachkonferenz sind komplexe Zahlen und Interferometer selbstverständlich, während Raspberry Pi und 3D-Druck noch exotisch sind – auf der Maker Faire ist es genau umgekehrt.

Immer mit dabei war ein funktionierender Aufbau. Das Gerät ist so leicht und robust geworden, dass es in ein Stück Abflussrohr passt und sowohl in der Bahn als auch im Flugzeug einfach mitgenommen werden kann ¹³. Dass man etwas zum Anfassen mitbringt, war auf der Maker Faire kaum überraschend, sorgte aber auf der Fachkonferenz für Staunen, denn dort ist man sonst nur Papier und Vorträge gewohnt. Insgeheim sind aber viele der Konferenzbesucher noch Spielkinder und freuen sich über ein optisches Gerät zum Anfassen und Ausprobieren. Ob auf der Maker Faire oder per E-Mail an Tobias.Beckmann@ipm.fhg.de – wir freuen uns über Nachbauten und Feedback.

—hch



¹³ Der Aufbau passt in ein Gehäuse aus HT-Rohr.

Make:markt

ELEKTRONIK / ZUBEHÖR



Mein
Gehäuse
des
Monats!

<https://bloess.berlin/...>



... /aktuell

BÜCHER / ZEITSCHRIFTEN



Der Verlag für kreative Köpfe!

Informatik und Elektronik können komplex, theoretisch und anstrengend sein. Es geht aber auch einfach, anschaulich und leicht nachvollziehbar – wenn man die Dinge in die eigenen Hände nimmt und zum »Maker« wird: Mit Büchern vom dpunkt.verlag.

www.dpunkt.de

EDUCATION



Physik Experimente vom einfachen Stromkreis bis zur anspruchsvollen Hochfrequenz für Jung & Alt!

Die Themen der Brick'R'knowledge Sets: Standard Elektronik & Physik, Programmierung, Logik & Flip-Flops, Erneuerbare Energien, Internet of Things, Messtechnik & Home Automation.

Landingpage: www.brickrknowledge.de

LASER



Der einfache Weg zu lasergeschnittenen Teilen. Vom Einzelstück bis zur Serie. Für Tüftler, Maker und Profis.

Bei uns kann sich jeder seine eigenen Teile aus Acrylglas oder Sperrholz schneiden lassen. Einfach eine Anfrage mit Datei an info@plexilaser.de schicken oder das Online-Formular benutzen.

www.plexilaser.de