

УДК: 620.17

ТРУНОВ О.М.

МДГУ ім. Петра Могили, м. Миколаїв, Україна

ЖУК Д.О.

НУК ім. адмирала Макарова, м. Миколаїв, Україна

ЖУК І.Ю.

МДГУ ім. Петра Могили, м. Миколаїв, Україна

Трунов Олександр Миколайович, перший проректор, завідувач кафедри медичних приладів та систем, к.т.н., доцент

Жук Дмитро Олександрович, к.т.н., доцент кафедри медичних приладів та систем

Жук Ірина Юріївна, викладач кафедри медичних приладів та систем

МІКРОСКОПІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ВЛАСТИВОСТЕЙ БІОТКАНИН МЕТОДАМИ ГОЛОГРАФІЇ

Запропоновано оптичну схему голографічного інтерференційного мікроскопу для неруйнівних досліджень мікропереміщень поверхні живих клітин та фазових змін, що в них відбуваються. Система може бути використана для комплексної автоматизованої реєстрації інтерферограм при необернених процесах у живих тканинах та реконструкції структур мікробіологічних об'єктів на різних стадіях їх трансформації.

The optical schematic of holographic interferometrical microscope for the nondestructive exploration of the human cells surface and phase changes in them is proposed. The system is useful for the complex automatization of the interferogram registration and processing.

Поряд з багатьма класичними методами дослідження живих мікроклітин в арсеналі сучасної експериментальної мікробіології широке застосування отримав метод голографічної інтерферометрії [1]. Голографічна інтерферометрія дозволяє досліджувати експериментальні зразки без їх руйнування та застосування контрастних речовин. Вона дає можливість проводити інтерферометричні вимірювання мікропереміщень поверхні досліджуваного об'єкта та зміну його товщини при визначенні фазового зсуву в світловій хвилі, що проходить крізь об'єкт.

Метою роботи є створення функціональної схеми голографічного мікроскопу (ГМ) з можливістю реєстрації інтерферограм досліджуваного об'єкта, що дозволяє синхронно записувати інтерферограми в дифузно відбитому

світлі та світлі, що проходить через досліджувану біотканину.

Оптична схема ГМ наведена на рис. 1. У схемі промінь одномодового He – Ne лазера світлоділником 1 розділяється на опорний промінь 2 та промінь 3, з якого формуються освітлюючі пучки. Збираюча лінза 4 служить для концентрації світлової енергії в світлових хвилях 5 та 6, отриманих за допомогою світлоподільної пластинки 8. Пучок 5 дифузно розсіюється поверхнею досліджуваної тканини і мікрооб'єктивом 7 фокусується у вигляді дійсного зображення на світлочутливу матрицю. Пучок 6 проходить через досліджуваний об'єкт і таким же чином через об'єktiv попадає на фотоприймальну матрицю. Сюди ж приходять опорний промінь 2, кут розбіжності якого підбирається розсіюючою лінзою 9.

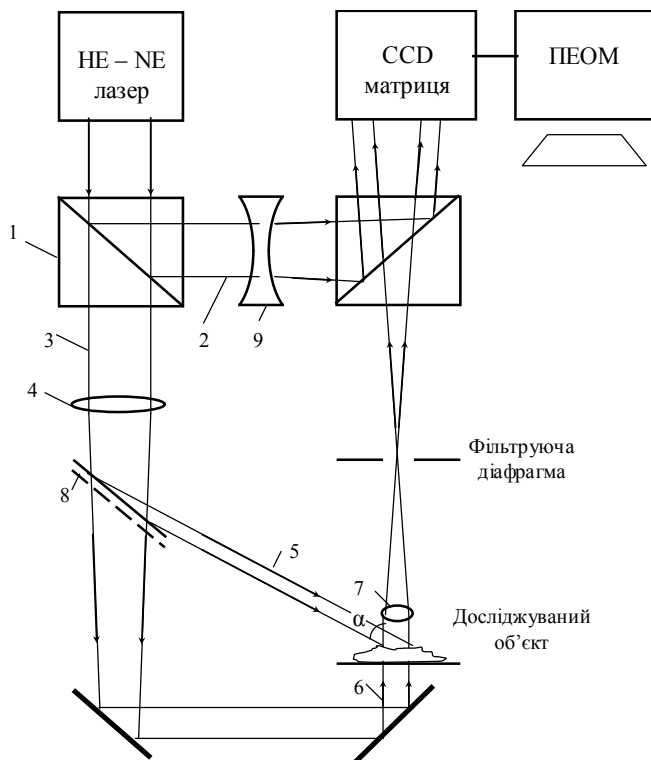


Рис. 1.

Таким чином, світлочутлива матриця сприймає результат інтерференції опорного променя з відбитою від поверхні біотканини хвилею та з хвилею, що пройшла через досліджуваний об'єкт. Відповідно перша картина інтерференції буде нести інформацію про переміщення U досліджуваної поверхні в напрямку оптичної осі мікрооб'єктива згідно співвідношення

$$\frac{2\pi}{\lambda} U (1 + \cos \alpha) = \delta_1, \quad (1)$$

де α – кут освітлення поверхні; λ – довжина світлової хвилі; δ_1 – фазовий зсув у спекл-картині відбитого світла, внаслідок переміщення поверхні [2].

У другій картині інтерференції будуть реєструватися зміни оптичної довжини променів δ за рахунок фазових змін у прозорому середовищі біотканини. Зміна товщини Δd з

фазовим зсувом δ_2 у цій картині зв'язана співвідношенням

$$\frac{2\pi}{\lambda} (n - 1) \Delta d = \delta_2, \quad (2)$$

де n – показник заломлення середовища клітини [2].

Підстроювання розмірів спеклів у зображеннях інтерферограм та фільтрація розсіяного світла реалізується за допомогою апертури, що розміщується після об'єктиву мікроскопу.

Для визначення δ_1 та δ_2 використовуються дві кінограми, сформовані в пам'яті комп'ютера, котрі дають можливість профотометрувати кожен піксель зображення в часовій розгортці, тобто отримати залежність яскравості I кожного пікселя від номера N кадру кінограми. Приклад такої часової розгортки наведено на рис. 2.

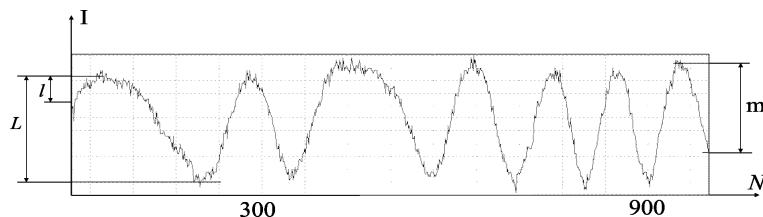


Рис. 2. Часова розгортка зміни яскравості пікселя

Випадкові флуктуації на графіку є наслідком мерехтіння спеклів та електронного шуму ПЗС-матриці і фільтруються програмними засобами. Потім в автоматичному режимі підраховується порядок інтерференційної смуги N_i , що відповідає даній точці інтерферограми. Він визначається як кількість смуг, що пройшли через досліджувану точку клітини протягом циклу спостереження згідно залежності:

$$N_i = \frac{n\pi + \arcsin \frac{2l - L}{L} + \arcsin \frac{2m - L}{L}}{2\pi}, \quad (3)$$

де n – число екстремумів за цикл спостереження, зменшене на 1; L – розмах зміни I в найближчому до початку або до кінця розгортки екстремумі.

Враховуючи, що фазовий зсув δ зв'язаний з порядком інтерференції N співвідношенням $\delta = 2\pi N$, (1) та (2) перепишемо у вигляді

$$U (1 + \cos \alpha) = N_1 \lambda, \quad (4)$$

$$(n - 1) \Delta d = N_2 \lambda, \quad (5)$$

З цих співвідношень для кожної точки зображення визначаються Δd та U , а отже з'являється можливість оперативного контролю зміни форми та розмірів біоклітин під дією зовнішніх факторів або внутрішніх процесів, які в них відбуваються.

Запропонована система з голографічним інтерференційним мікроскопом дозволяє оперативно відслідковувати і досліджувати мікробіологічні процеси на клітинному рівні за умови автоматизації процесу ресстрації та обробки оптичної інформації. Така методика створюється на основі методів цифрової голографії [3].

ЛІТЕРАТУРА

1. Островский Ю.И., Бутусов М.М., Островская Т.В. Голографическая интерферометрия. – М.: Наука, 1977.
2. Вест Ч. Голографическая интерферометрия. – М.: Мир, 1982.
3. Гуров и. пр. Компьютерная обработка интерференционных сигналов на основе алгоритма управляемого фазового сдвига // Оптический журнал. – 1998. – № 10. – С. 38-42.