

Научно- исследовательская работа

Физика

**ЛАЗЕРНЫЙ ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЙ МИКРОСКОП НА БАЗЕ ПЗС-  
КАМЕРЫ С ЦИФРОВЫМ АНАЛИЗОМ ОПТИЧЕСКИХ  
ИЗОБРАЖЕНИЙ**

*Выполнили:*

***Клементьев Михаил Андреевич***

*Учащийся 11 класса*

*МАОУ СОШ № 2 имени Н. А. Тимофеева, Россия, г. Бронницы*

***Снегарев Степан Николаевич***

*Учащийся 11 класса*

*МАОУ СОШ № 2 имени Н. А. Тимофеева, Россия, г. Бронницы*

*Руководитель:*

***Соловьёва Наталья Сергеевна***

*Учитель физики и математики*

*МАОУ СОШ № 2 имени Н. А. Тимофеева, Россия, г. Бронницы*

## Вступление

Люминисцентная микроскопия основана на способности многих веществ биологического происхождения светиться под действием падающего на них света. Люминесценцию возбуждают обычно ультрафиолетовым или фиолетовым светом, а само излучение люминесценции имеет большую длину волны, чем длина волны возбуждающего света. Осветители люминесцентного микроскопа традиционно используют мощные источники света (ртутно-кварцевые лампы сверхвысокого давления или галогеновые кварцевые лампы), излучающие преимущественно в коротковолновой области оптического спектра. Теплозащитные светофильтры защищают от перегрева другие светофильтры, препараты и оптику люминесцентного микроскопа. В последние годы достигнуты значительные успехи в разработке компактных малогабаритных лазеров с диодной накачкой с удвоением, утроением частоты. Представляется перспективным использование таких лазеров в люминесцентной микроскопии в сочетании с цифровой ПЗС- камерой и компьютером для цифровой обработки распределения наночастиц в микробиологии. В нашей работе были поставлены задачи:

1. Спроектировать твердотельный лазер с диодной накачкой с удвоением (532 нм) или утроением частоты (354 нм) с помощью нелинейного кристалла ниобата лития для использования в люминесцентном микроскопе в качестве основного источника возбуждения.
2. Спроектировать, собрать и отъюстировать действующий макет лазерного люминесцентного микроскопа с компьютерным анализом распределения наночастиц на оптических изображениях.

## Основная часть

Функциональная схема излучателя твёрдотельного лазера на ванадате с накачкой двумя двухваттными лазерными диодами и удвоением или утроением частоты приведена на рисунке 1. Лазерные полупроводниковые диоды (1,2) (0,7- 0,8 мкм) установлены в корпусе осветителя и при юстировке могут в небольших пределах перемещаться относительно конденсоров (4) и (5). Излучения обоих диодов после конденсоров (4) и (5) с помощью призмы-куба (6) и объектива (7) фокусируется на кристалл ванадата (9), зажатый в медной оправе для отвода тепла (10). В качестве нелинейного удвоения или утроения частоты используется кристалл ниобата лития (11). Оптический резонатор образован двумя зеркалами (8) и (13). Зеркало (8) - входное с коэффициентом отражения 0,99 для линии 532 нм или 354 нм. Зеркало (13) - выходное полупрозрачное. Зеркала (8) и (13) в специальных оправках, клеиваются в корпус резонатора. Для стабилизации температуры лазерных диодов накачки, активного элемента, нелинейного кристалла (11), корпуса осветителя и резонатора установлены на элементах Пельтье. Диафрагма (12) отсекает поперечные моды более высоких порядков, двухкомпонентный телескоп (14) формирует требуемые геометрические параметры лазерного пучка. В работе исследовались характеристики лазерного пучка с применением ПЗС-камеры и компьютера. На рисунке 2 приведена профиль лазерного пучка 532 нм, полученная при установке ПЗС-камеры на расстоянии 5-10 см от выходного торца лазера.

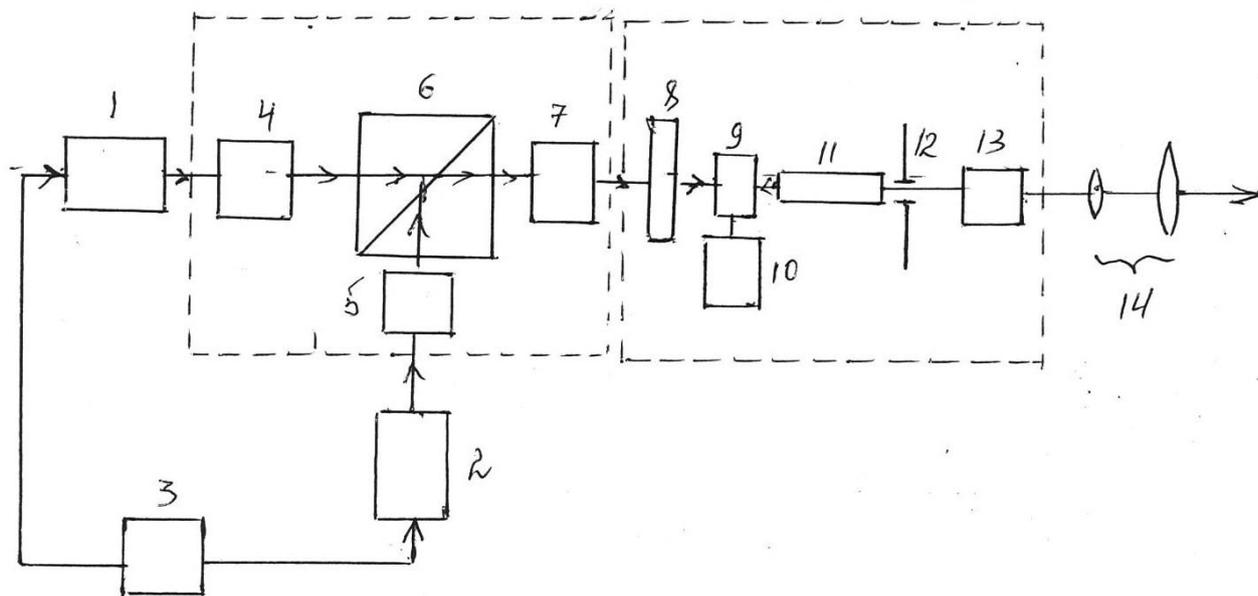


Рис. 1. Функциональная схема излучателя лазера с диодной накачкой для возбуждения фотолюминесценции.

1, 2 - лазерные диоды накачки;

3 - стабилизированный источник питания 5V;

4, 5 - конденсоры;

6 - призма-куб;

7 - объектив;

8, 13 - входное и выходное зеркала на 532 нм и 354 нм;

9 - кристалл ванадата 4x4x4 мм в медной оправке 10 для отвода тепла;

11 - нелинейный кристалл для удвоения или утроения частоты;

12 - диафрагма для отсечки поперечных мод более высоких порядков;

14 - двухкомпонентный телескоп для формирования требуемых значений диаметра пучка и его расходимости.

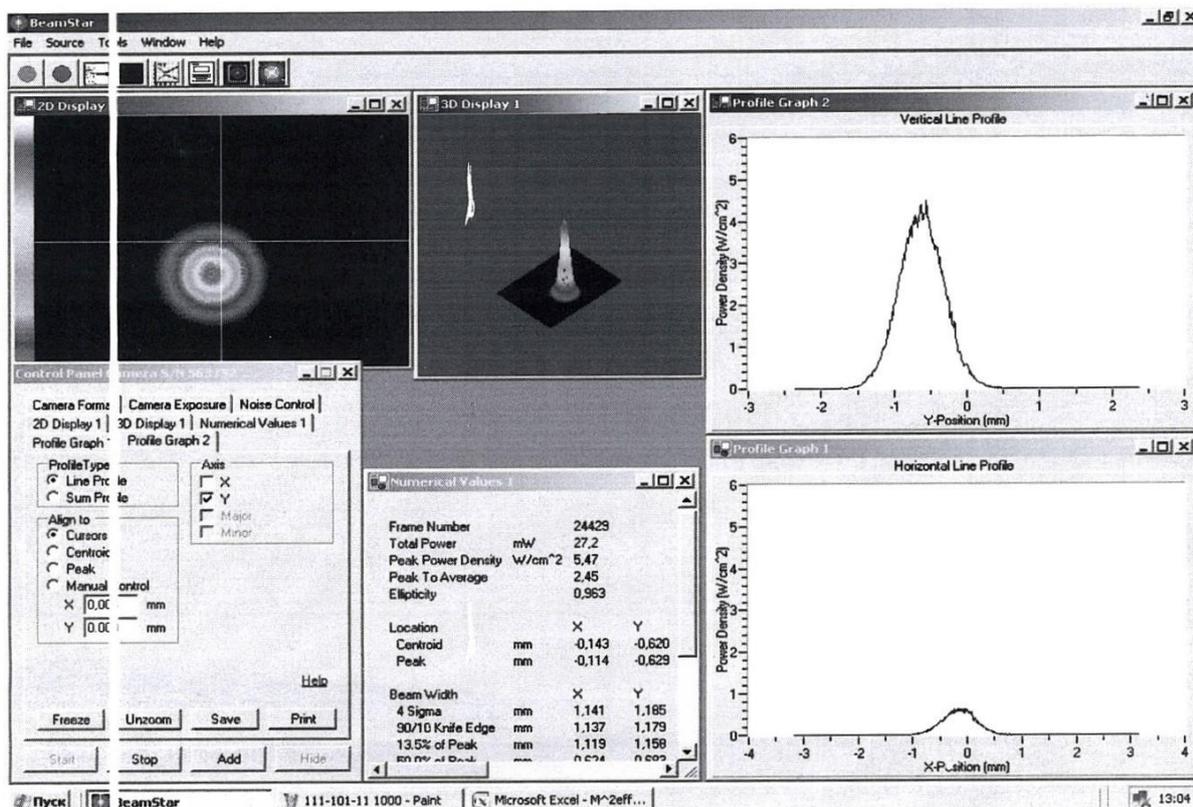


Рис.2 Структура лазерного пучка на выходе , полученная с помощью ПЗС-камеры на экране компьютера.

Перед камерой устанавливается набор нейтральных фильтров для выбора линейного режима ПЗС-камеры. Диаметр пучка на выходе 1,4 мм, эллиптичность - 0,98. Для измерения расходимости лазерного пучка на выходе лазера устанавливается собирающая линза с фокусным расстоянием 1 м, а ПЗС-камера с набором нейтральных фильтров помещается в фокусе этой линзы (рис.

3) .Расходимость пучка менее 0,5 миллирадиан, степень горизонтальной поляризации более 300/1.В работе спроектирован действующий макет лазерного люминесцентного микроскопа с использованием разработанных нами диодных лазеров на ванадате на второй (532 нм) и третьей (354 нм) гармониках в качестве основных лазерных источников возбуждения люминесценции микробиологических структур. Функциональная схема люминесцентного микроскопа приведена на рисунке 4. Излучение лазера на второй или третьей гармонике (1), питаемого стабилизированным источником 5V (2), дополнительно поляризуется поляризатором (3), коллимируется конденсором (4) и с помощью объектива (5) фокусируется на исследуемую микробиологическую структуру (6). Люминесцентное излучение после анализа изменения поляризационных свойств пучка анализатором (8) с помощью телескопической системы (9) направляется на фотомишень ПЗС-камеры (10), и на экране компьютера (11) формируется видимое изображение люминесцирующих центров структуры. Компьютерная программа проводит цифровой анализ распределения люминесцирующих наночастиц микробиологической структуры по различным параметрам - размерам, скорости и плотности наночастиц на оптическом изображении. Запирающий светофильтр (7) отсекает возбуждающее излучение лазера (1) от попадания на ПЗС-камеру. Полезное оптико-электронное увеличение - 200-1200 крат, разрешающая способность - 2-5 мкм. На рисунке 5 представлены характерные картины оптических изображений люминесцирующих центров микробиологических жидких структур. Представляется целесообразным продолжение исследований по лазерной люминесцентной микроскопии с целью разработки и оптимизации компьютерных программ цифрового анализа распределения люминесцирующих наночастиц по размерам, подвижности и их плотности на оптических изображениях с целью повышения точности диагностики структур в микробиологии.

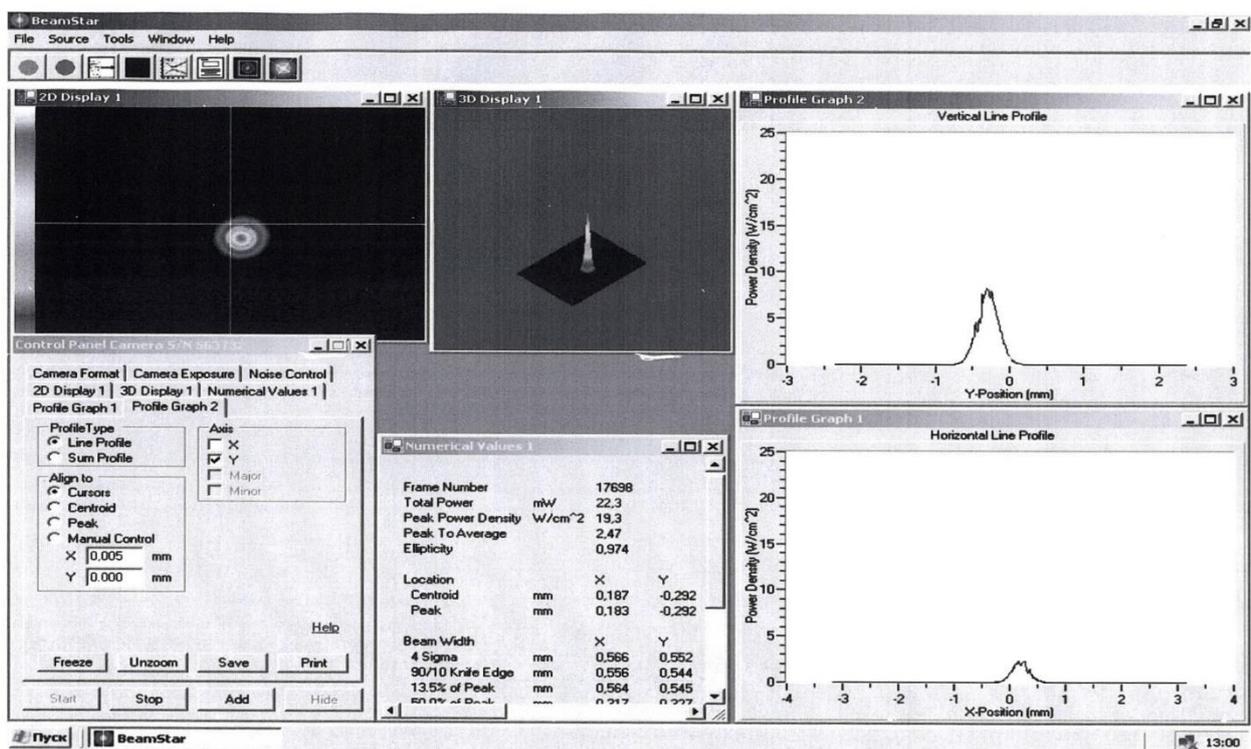


Рисунок 3. Структура лазерного пятна в фокусе метровой линзы, полученная с помощью ПЗС-камеры на экране компьютера.

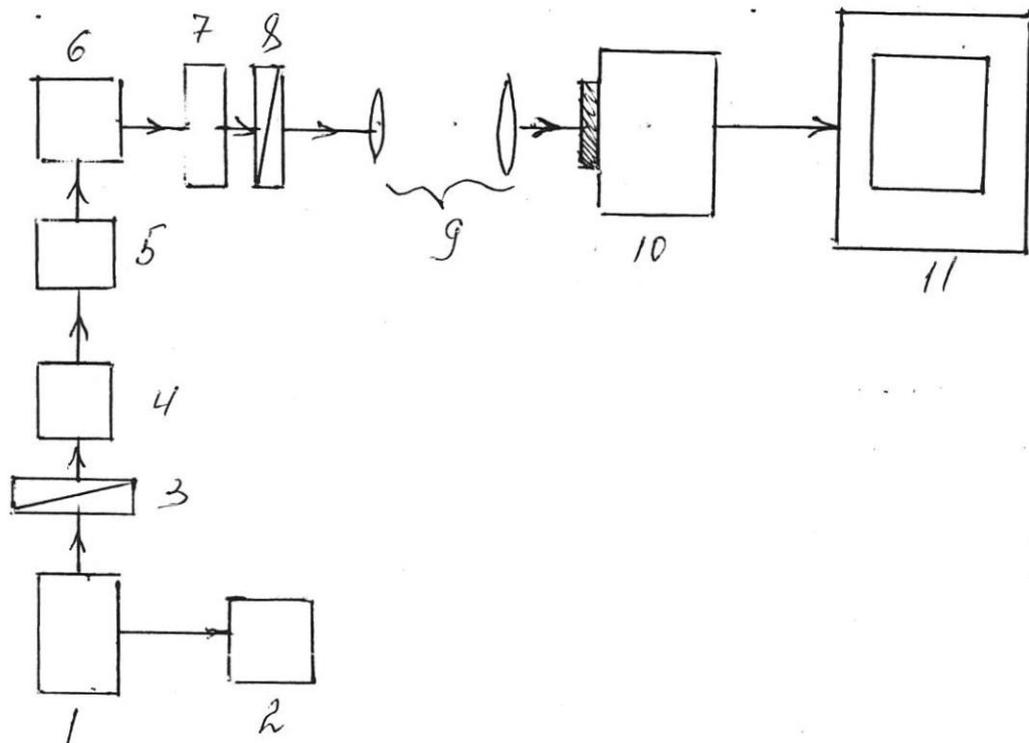


Рис. 4. Функциональная схема лазерного люминесцентного микроскопа с цифровым анализом оптического изображения.

1 - лазер на ванадате с диодной накачкой и удвоением (532 нм) или с утроением (354 нм) частоты;

2 - стабилизированный блок питания лазера 5V;

3 - поляризатор;

4 - конденсор;

5 - объектив;

6 - исследуемый объект;

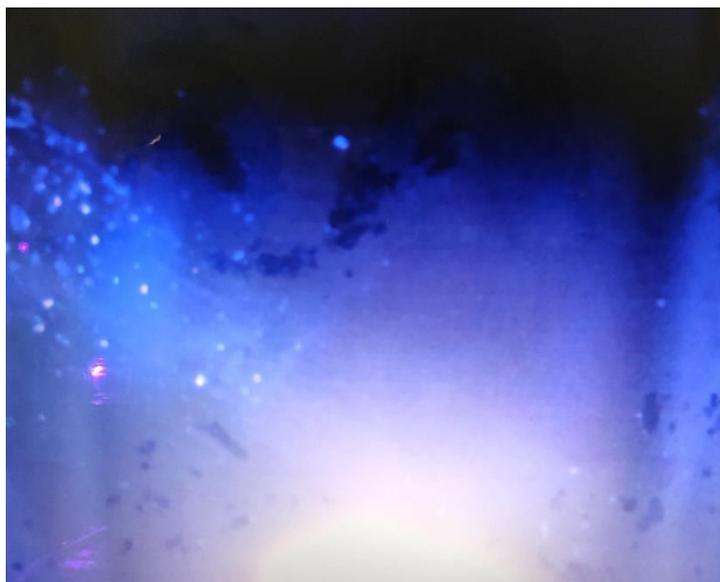
7 - запирающий светофильтр;

8 - анализатор;

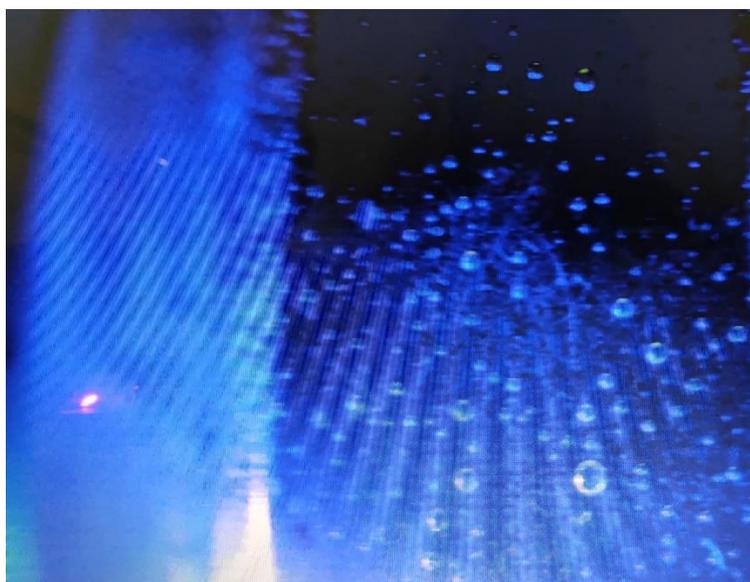
9 - двухкомпонентный телескоп;

10 - ПЗС-камера;

11 - компьютер.



а



6



B



Г

Рисунок 5 (а, б, в, г). Характерные картины оптических изображений люминесцирующих частиц микробиологических структур. Увеличение 500 крат.

### Список литературы

1. Тарасов Л. В. Физика лазера, 2017. с. 439.
2. Крылов К. И., Прокопенко В. Т., Митрофанов А. С. «Применение лазеров в машиностроении и приборостроении», п. Машиностроение, 1978. с. 336.
3. Борейт О. А. Лазеры: применения и приложения. Учетное пособие. Лань, СПб, 2016.
4. Русинов М. М. Техническая оптика, 2017. с. 488.
5. Рудаков П. И., Сафронов И. В. Обработка сигналов и изображений.
6. Голышевская В. И., Егорова и др. Люминесцентная микроскопия, 2018. с. 36.
7. Мельникова И. И. Учебное пособие по медицинской оптике. Одесса - 2007.