

Министерство образования и науки Российской Федерации
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.Г. ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

**ДИФРАКЦИОННАЯ ФАЗОВАЯ МИКРОСКОПИЯ В ЛАЗЕРНОМ И
ЧАСТИЧНО-КОГЕРЕНТНОМ СВЕТЕ**

НАУЧНЫЙ ДОКЛАД ОБ ОСНОВНЫХ РЕЗУЛЬТАТАХ ПОДГОТОВЛЕННОЙ
НАУЧНО-КВАЛИФИКАЦИОННОЙ РАБОТЫ (ДИССЕРТАЦИИ)

аспиранта 4 года обучения
направления 03.06.01 «Физика и астрономия»
физического факультета

Талайковой Натальи Анатольевны

Научный руководитель

д.ф.-м.н., профессор

Рябухо В.П.

Саратов, 2018

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы

Биологические структуры зачастую прозрачны в оптическом диапазоне длин волн и характеризуются высоким поглощением световой волны. Информацию об их состоянии можно получить только зная фазовую задержку, которую они создают. Такие техники, как метод фазового контраста и дифференциального интерференционного контраста обеспечивают наблюдение биологических структур конвертируя фазовую задержку в распределение интенсивности. Так же существуют техники интерференционной микроскопии, в которых количественные результаты пересчитываются из задержки при прохождении световой волны через биологический объект.

Основная проблема в исследованиях фазовых объектов - это низкий контраст изображений, при расположении объекта в фокальной плоскости микроскопа. Идеально сфокусированное изображение характеризуется реальной передаточной функцией и она содержит в себе информацию о фазе объекта, которая может быть восстановлена фазово-контрастным или интерференционными методами. Однако, большие расстояния от фокальной плоскости обеспечивают лучший дифракционный контраст, но ограничиваются числовой апертурой микрообъектива и при использовании различных изображений при вариациях дефокусировки (передаточная функция комплексных чисел) возможно получить оптимальную информацию из огромного спектра пространственных частот объекта и избежать фазовой сингулярности.

Метод дифракционной фазовой микроскопии, активно развиваемый в настоящее время предопределяет новые функциональные и метрологические возможности в фазовой микроскопии. Особенность дифракционной фазовой микроскопии заключается в принципе разделения светового поля в интерферометре, и важным параметром является прохождение опорным и объектными полями единых оптических элементов, поскольку это обеспечивает высокую стабильность системы и низкую чувствительность к внешним вибрациям. Метод дифракционной фазовой микроскопии характеризуется высокой скоростью сбора данных, поскольку в нем не используется послойное сканирование объекта, вся необходимая информация для последующих количественных измерений содержится в одном кадре. Это позволяет исследовать быстропротекающие процессы и обрабатывать большое количество образцов за короткое время. Исследование физических и экспериментальных основ метода дифракционной фазовой микроскопии, комбинация этого метода с

ранее известными методами постобработки интерференционных сигналов, его функциональных и метрологических основ в настоящее время является актуальной задачей, имеющей научное прикладное значение.

Цель данной работы стояла в разработке и практической реализации дифракционного фазового микроскопа с когерентным и низкокогерентными источниками освещения для исследования объектов биологического происхождения, его модификаций, а так же в разработке теории формирования изображения в интерференционном микроскопе.

Основными задачами данной работы являются:

- Развитие теории формирования изображений, формируемых в дифракционном фазовом микроскопе, с учетом пространственной и временной когерентности, описание интерференционной картины при формировании изображения одновременно системами освещения на отражение и освещения на пропускание.
- Создание и апробация дифракционного фазового микроскопа, в том числе создание отдельной модульной интерференционной системы для исследования биологических объектов, изучения рельефа поверхности и внутренней структуры.
- Создание и апробация дифракционного фазового микроскопа с изменяемой конфигурацией источников освещения для исследования изменения когерентных свойств источников излучения, вследствие изменения оптических полей в модульной интерференционной системе.
- Создание и апробация двухканального дифракционного фазового микроскопа для измерения и построения карты значений показателя преломления биологического объекта.
- Разработка алгоритмов решения задачи вычисления цифровых данных в режиме реального времени и реализации программного комплекса, позволяющего визуализировать, анализировать и проводить количественные измерения параметров микроструктуры объектов технического и биологического происхождения.
- Создание компактной интерференционной модульной системы для изучения рельефа поверхности объектов, исследовании возможности его

использования для фазовой микроскопии без использования классического светового микроскопа, описание параметров системы, обоснование ограничения применимости модульной интерференционной системы в комбинации с мобильными устройствами.

Объектами исследования являются:

- дифракционный фазовый микроскоп и его модернизации;
- влияние эффектов когерентности на вид результирующей интерференционной картины;
- вид интерференционной картины в зависимости от степени пространственной фильтрации оптических полей в фурье-плоскости;
- эритроциты в мазке крови, выполняющие в данной работе роль амплитудно-фазовых объектов.

Предметы исследования:

- теоретические аспекты метода дифракционной фазовой микроскопии;
- алгоритмы постобработки интерференционных картин.

Методология и методы исследования

Теоретическое исследование:

- конкретизация при постановке вопроса и темы исследования;
- анализ при проведении всего исследования;
- математический аппарат волновой оптики;
- процессы формирования оптического изображения;
- математический аппарат волновой оптики и преобразования Фурье;
- сравнение полученных данных с известными результатами, результатов полученных в данном исследовании, классификация полученных результатов.

Экспериментальное исследование:

- моделирование полученных результатов в применении к реальной экспериментальной установке;
- контрольные эксперименты по стабильности лабораторной системы на внешнее воздействие;
- проведение натурных экспериментов на биологических объектах;
- выбор методов обработки и анализа экспериментальных данных.

Достоверность полученных в работе результатов и выводов обусловлена применением широко используемого в физической оптике аппарата описания процессов формирования оптического изображения и интерференции света в интерференционных системах, включая системы оптической микроскопии, а также соответствие результатов экспериментальных исследований, формального теоретического анализа и численного моделирования изображений и сигналов.

Научная новизна работы:

- Развита теория формирования изображений, формируемых в дифракционном фазовом микроскопе, с учетом пространственной и временной когерентности, описание интерференционной картины при формировании изображения одновременно системами освещения на отражение и освещения на пропускание. Разработаны теоретические основы и проведен анализ взаимного влияния источника излучения, модульной системы и детектора на формируемый интерференционный сигнал.
- Создан двухканальный дифракционный фазовый микроскоп для измерения и построения карты значений показателя преломления биологического объекта, проведен анализ карты показателя преломления биологического объекта.
- Разработаны алгоритмы решения задачи вычисления цифровых данных в режиме реального времени и реализации программного комплекса, позволяющего визуализировать, анализировать и проводить количественные измерения параметров микроструктуры объектов технического и биологического происхождения. Впервые для визуализации методом дифракционной фазовой микроскопии применен алгоритм численной фокусировки.
- Создание компактной интерференционной модульной системы для изучения рельефа поверхности объектов, описание параметров системы,

обоснование ограничения применимости модульной интерференционной системы в комбинации с мобильными устройствами.

➤ Разработаны теоретические основы и проведен анализ эффектов, связанных с созданием компактной системы для повседневного использования на основе мобильных устройств связи с использованием системы короткофокусных линз и монохроматического датчика для регистрации интерференционного сигнала.

Научная и практическая значимость исследования:

Результаты диссертационной работы развивают и дополняют теоретические и экспериментальные основы метода дифракционной фазовой микроскопии. В работе разработаны методы моделирования и учета влияния эффектов, связанных с когерентными свойствами источников освещения в микроскопической системе и структурой интерференционного модуля, на регистрируемый матричным детектором сигнал.

В ходе выполнения работы разработаны двухканальный дифракционный фазовый микроскоп для одновременной регистрации сигнала от различных осветительных систем микроскопа для измерения рельефа, оптической толщины объекта и построения карты показателя преломления, что позволяет проводить измерения со скоростью, сравнимой со скоростью записи детектора изображения, и, учитывая новейшие разработки в данной области, регистрация сигналов может достигать сотен кадров в секунду, и компактный дифракционный фазовый микроскоп для измерения рельефа поверхности образца, в условиях неприменимости классического оптического микроскопа, алгоритмы автоматической обработки интерференционных картин, что позволяет расширить границы пользовательской применимости данного метода исследования биологических структур и технических объектов в области интерференционной микроскопии и впервые к методу дифракционной фазовой микроскопии применен метод численной фокусировки, что позволяет проводить измерения вне области реального расположения исследуемого объекта.

На защиту выносятся следующие положения:

1. Теоретическая интерпретация, математическая модель и экспериментальное подтверждение формирования интерференционного изображения при

пространственно-частотной фильтрации одного из двух интерферирующих оптических полей.

2. Расширение функциональных возможностей оптического микроскопа в виде возможности регистрации и измерения пространственных фазовых возмущений, вносимых объектом одновременно по двум каналам дифракционного фазового микроскопа, что позволяет производить расчет локального показателя преломления объекта с использованием экспериментальных данных, получаемых в каждом канале.

3. Создание компактной системы дифракционной фазовой микроскопии с квазимонохроматическим пространственно частично когерентным освещением на пропускание и экспериментальное подтверждение возможности реализации с помощью предложенного метода.

4. Алгоритм решения проблемы развертки фазы в методе дифракционной фазовой микроскопии при использовании совмещенного программного комплекса, основанном на методах двойного фурье-преобразования и численной фокусировки. Экспериментальное подтверждение возможности численно сфокусированной трехмерной визуализации с использованием предложенного метода в дифракционной фазовой микроскопии с пространственно когерентным освещением.

5. Параметры результирующего интерференционного сигнала в дифракционной фазовой микроскопии - период и положение интерференционных осцилляций не зависят от числовой апертуры освещающей системы, от спектрального состава источника излучения.

6. Степень взаимной когерентности оптических полей в методе дифракционной фазовой микроскопии определяется размером, формой и положением амплитудного фильтра пространственных частот в трехмерном пространстве - положением на оптической оси, положением фильтров обоих дифракционных порядков в центре пространственных спектров и для дифракционного порядка,

формирующей опорную волну - размер фильтра не должен превышать область низких частот, форма фильтра определяется формой изображения источника.

Научно-квалификационная работа состоит из введения, четырех глав, заключения и списка литературы.

Во введении обоснована актуальность темы, изложена цель и задачи исследования, кратко изложено содержание работы и сформулированы основные положения, выносимые на защиту.

В первой главе рассмотрены теоретические вопросы формирования интерференционного изображения в модульной системе дифракционного фазового микроскопа. Описана оптико-механическая схема дифракционного фазового микроскопа, показаны результаты его применения для исследования биологических объектов. Представлены теоретические основы и анализ влияния эффектов пространственной когерентности и изменения параметров модульной системы. Проведены эксперименты по исследованию влияния типа источника (когерентный и некогерентный) на деградацию регистрируемого сигнала в дифракционном фазовом микроскопе.

Во второй главе представлены теоретические вопросы формирования интерференционного сигнала в ДФМ при взаимодействии световой волны с фазовым объектом. Описана оптико-механическая схема двухканального дифракционного фазового микроскопа с лазерными источниками излучения, показаны результаты его применения для измерения и построения карты значений показателя преломления биологического объекта.

В третьей главе описана оптико-механическая схема компактного дифракционного фазового микроскопа, показаны результаты его применения для исследования биологического объекта. Представлены пространственное и временное разрешение системы и ограничения применимости устройства. Изучены характеристики современных мобильных устройств связи и проведен анализ совместимости и результативности применения данных устройств с компактным дифракционным фазовым микроскопом.

В четвертой главе описана модернизация алгоритмов для обработки интерференционных картин, применение метода числовой фокусировки к методу дифракционной фазовой микроскопии, реализация алгоритмов автоматического поиска объектов в записанных интерференционных картинах.

В заключении приведены основные результаты работы.

Полный объем работы составляет 99 страниц, включая 35 рисунков и 6 таблиц. Список литературы содержит 99 наименований.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основные выводы по данной работе заключаются в следующем:

1. Выявлены факторы, влияющие на когерентные свойства оптических полей при их частичной пространственной фильтрации в фурье-плоскости, а именно, степень пространственной фильтрации одного из сравниваемых оптических полей, пространственное расположение фильтра. Проведены экспериментальные исследования на дифракционном фазовом микроскопе с изменяемой конфигурацией источников освещения для исследования изменения когерентных свойств источников излучения, вследствие изменения оптических полей в модульной интерференционной системе. Сформулированы выражения, описывающие функцию пространственной когерентности в фурье-плоскости оптических полей, проходящих через синусоидальные решетки различных типов. Полученные выражения расширяют известные теоретические описания процессов формирования интерференционных изображений.;
2. Дополнен инструментарий измерения и построения трехмерной карты значений показателей преломления фазовых объектов методом двухканальной дифракционной фазовой микроскопии, который позволяет получать количественные данные со скоростью, сравнимой со скоростью записи детектора изображения;
3. Разработаны требования к опто-механическим и техническим характеристикам компактного дифракционного фазового микроскопа в применении со средствами мобильных устройств связи;
4. Разработаны требования к техническим характеристикам дифракционного фазового модуля как отдельной интерференционной системы, выполненной как комплектующее к стандартизированным оптическим микроскопам, уже

существующим на рынке для исследования биологических объектов, изучения рельефа поверхности и их внутренней структуры;

5. Выявлены факторы, влияющие на деградацию регистрируемого сигнала в дифракционном фазовом микроскопе, а именно, смещение в пространстве относительно оптической оси светового поля, формирующего опорную волну, степень фильтрации рассеянной объектом компоненты;

6. Представлены алгоритмы решения задачи вычисления цифровых данных в режиме реального времени и реализации программного комплекса, позволяющего визуализировать, анализировать и проводить количественные измерения параметров микроструктуры объектов технического и биологического происхождения.

7. Дополнен инструментарий метода дифракционной фазовой микроскопии применением метода числовой фокусировки.

Из полученных результатов следует, что метод дифракционной фазовой микроскопии может применяться для исследований биологических структур и объектов технического характера, как в лабораторных, так и в перспективе исследований, в неклинических условиях.

Перспективы развития исследования

Положительные результаты, полученные в исследовании, показывают возможность реализации компактного дифракционного фазового модуля в качестве фазового микроскопа с использованием оптики смартфона и его цифровой камеры для последующего количественного восстановления изображения объекта. Данный прибор может быть использован как переносной автономный анализатор структурных параметров крови с последующей передачей данных в клиники и лечебные учреждения через мобильную сеть, а также применяться при технологическом контроле изделий, где использование крупногабаритных оптических микроскопов затруднено или невозможно. Технологический прогресс в сфере разработки процессоров и фотодетекторов для последующих моделей смартфонов, можно надеяться, позволит использовать уже известные численные алгоритмы обработки голограмм в мобильных устройствах в режиме реального времени.

Апробация работы

Основные результаты работы докладывались на **конференциях**:

- Международный междисциплинарный симпозиум по оптике, лазерной физике и биофизике Saratov Fall Meeting International Symposium (SFM) (Саратов, Россия, 2012-2017);
- Всероссийская конференция Методы компьютерной диагностики в биологии и медицине (2012, Саратов, Россия);
- Всероссийская конференция по фотонике и информационной оптике (2013, 2016, 2017, Москва, Россия);
- XXVI Международная научная конференция «Математические методы в технике и технологиях» (2013, Саратов, Россия);
- 1st International Conference "Biophotonics - Riga" (2013, Рига, Латвия);
- XII Всероссийский молодежный Самарский конкурс-конференция научных работ по оптике и лазерной физике (2014, Самара, Россия);
- Международный симпозиум SPIE Optical Metrology (2015, Мюнхен, Германия);
- V International School and Conference on Photonics, Photonica (2015, Белград, Сербия);
- XVI International Feofilov Symposium (2015, Санкт-Петербург, Россия);
- 59-я Международная научная конференция МФТИ (2016, Долгопрудный, Россия).

Публикации автора по теме диссертации в реферируемых изданиях и журналах:

1. Talaykova, N.A. Change dynamics of RBC morphology after injection glucose for diabetes by diffraction phase microscope / N.A. Talaykova, A. L. Kalyanov, V. V. Lychagov, V. P. Ryabukho, L. I. Malinova // Proc. SPIE. – 2013. - № 9032. - 90320F. (Scopus, WoS, РИНЦ)
2. Kalyanov, A. Formal theory of diffraction phase microscopy / A. Kalyanov, N. Talaykova, V. Ryabukho // Proc. SPIE. – 2015. - № 9448. - 944817. (Scopus, WoS, РИНЦ)
3. Talaikova, N. A. Diffraction phase microscopy with transmission and reflection illumination for refractive index measurements / N.A. Talaikova, A. L. Kalyanov, V. P. Ryabukho // Proc. SPIE. - 2015 - Vol. 9529. - 95291D-1. (Scopus, WoS, РИНЦ)
4. N.A. Talaikova, A.A. Grebenyuk, A.L. Kalyanov, V.P. Ryabukho Numerical focusing in diffraction phase microscopy // Proc. SPIE . – 2016 Vol. 9917. - 99171V. (Scopus, WoS, РИНЦ)
5. N. A. Talaikova Compact diffraction phase microscopy for quantitative visualization of cells in biomedical applications / N. A. Talaikova, V. P. Ryabukho // J. Phys.: Conf. Ser. - 2016 – Vol. 737. – 012054. (Scopus, WoS, РИНЦ)