

Конфокальная голографическая сканирующая микроскопия

Ю. Н. Захаров

Гарвардский университет, Бостон, США

В докладе представлены принципы и схемы сканирующей лазерной голографии и их воплощение в цифровой голографической микроскопии, отмечены особенности восстановления голограмм, записанных в сканирующем режиме, вызванные спецификой сканирования.

Ключевые слова: Фазовая визуализация, Цифровая голографическая микроскопия, Конфокальная лазерная сканирующая микроскопия.

Цитирование: Захаров, Ю. Н. Конфокальная голографическая сканирующая микроскопия / Ю. Н. Захаров // HOLOEXPO 2022: XIX Международная конференция по голографии и прикладным оптическим технологиям : Тезисы докладов. — Барнаул: ИП Колмогоров И. А., 2022. — С. 401–403.

В современных научных исследованиях прочное место заняла как лазерная сканирующая микроскопия, представленная ведущими мировыми производителями микроскопов, так и цифровая голографическая микроскопия, хотя и имеющая коммерческие предложения, в основном опирающаяся на собственные разработки исследователей. Одна из интересных техник, обладающих большим потенциалом в 3D микроскопии — это оптическая сканирующая голография (ОСГ) [1, 2]: вместо того, чтобы фиксировать интерференцию опорной и предметной волн, в ОСГ облучают объект интерференционным полем, созданным путем совмещения двух когерентных пучков, а затем сканируют объект этим суммарным пучком, фиксируя пропущенный или отражённый свет точечным детектором с последующим восстановлением такой голограммы дискретным преобразованием Фурье.

Другой подход основан на применении лазерного сканирующего микроскопа (ЛСМ) и построении голографической схемы на его основе. Он сочетает принципы ЛСМ и цифровой голографии. В процессе поточечного или линейного сканирования регистрируется результат интерференции опорного и предметного лучей, который сохраняется в виде двумерного массива данных, представляющего цифровую голограмму. Процесс реконструкции записанных голограмм сводится к программной обработке таких массивов данных.

Уже 25 лет назад был описан [3] и впоследствии запатентован [4] довольно сложный по конструкции конфокальный сканирующий лазерный голографический микроскоп. В последнее десятилетие были также предложены другие схемы:

цифровой конфокальный микроскоп [5], схема которого содержит двойной интерферометр настроенный на пропускание или отражение света с пошаговой записью цифровой голограммы, обработка основана на быстром преобразовании Фурье и фильтрации с помощью виртуальной диафрагмы с динамически меняющимся фокусом;

синтетическая оптическая голография [6], которая реализуется на базе конфокального микроскопа путем добавления светоделителя и линейно движущегося зеркала,

генерирующего синтетическую эталонную волну, аналогичную наклонной плоской волне в широкоугольной внеосевой голографии;

количественная фазово-контрастная конфокальная микроскопия [7], в которой образец находится на движущемся столике, а освещение происходит коллимированной линией, опорная волна, направленная на камеру под небольшим углом формирует внеосевую голограмму; вариант этой схемы [8] содержит гальваническое зеркало.

Все вышеописанные схемы, кроме последней, используют для сканирования подвижный предметный столик, что делает процесс сканирования чрезвычайно медленным.

Первое воплощение голографической сканирующей микроскопии на базе коммерческого конфокального лазерного сканирующего микроскопа было нами представлено в 2010 году [9] и получило дальнейшее развитие [10]. Предложенная нами схема реализована путем добавления в микроскоп LSM-510 DuoScan (Carl Zeiss) всего лишь одного зеркала, формирующего опорную волну. Однако такое простое техническое решение обернулось необходимостью разработки специальных алгоритмов восстановления голограмм.

Конфокальная голографическая сканирующая микроскопия открывает новые возможности изучения объектов, в том числе биологических образцов, выделяя фазовый набег в тонком слое.

Благодарность

Автор благодарен специалистам, чьи работы из открытой печати, использованы для доклада.

Список источников

- [1] **Lam, E.Y.** Three-dimensional microscopy and sectional image reconstruction using optical scanning holography / Lam E.Y. et.al. // Applied Optics - 2009. - V. 48. - N 34. - P. H113–H119.
- [2] **Tsai, C.-M.** Optical scanning holography with a polarization directed lens - Tsai C.-M. et al. // Applied Optics. - 2021. - V. 60. - N 10. - P. B113–B118.
- [3] **Herring, R.A.** Confocal scanning laser holography, and an associated microscope: a proposal // Optik. - 1997. - V. 105, - P. 65–68.
- [4] **US Patent 7639365 B2.** Confocal scanning holography microscope / Herring R.A. - 2009..
- [5] **Goy, A.S.** Digital confocal microscope / Goy, A.S., Psaltis, D. // Optics Express. - 2012. - V. 20. - P. 22720 - 22727.
- [6] **Schnell, M.** Synthetic optical holography for rapid nanoimaging / Schnell, M., Carney, P.S. Hillenbrand, R. // Nature Communications. - 2014. - V. 5(1). - P. 3499-3508.
- [7] **Liu, C.** Quantitative phase-contrast confocal microscope / Liu, C., Marchesini, S. and Kim, M.K. // Optics Express. - 2012. - V. 22. - P. 17830-17839.
- [8] **Liu, C.** High-speed line-field confocal holographic microscope for quantitative phase imaging / Liu C. et al. // Optics Express. - 2016 - V. 24. - N. 9. - P. 9251–9265.
- [9] **Zakharov, Yu.N.** Holographic technique for 3d optical microscopy / Yu.N. Zakharov and V.V. Lobytseva. // Speckle2010: speckle fields forever. Technical Program. Abstracts selection. - Florianopolis – SC – Brazil. - 2010.

- [10] **Zakharov, Yu.** Holographic scanning microscopy - novel approach to digital holography and laser scanning microscopy. / Zakharov, Yu. et al. // OSA Technical Digest. Imaging and Applied Optics-2014. - Paper DW5B.1.

Confocal holographic scanning microscopy

I. N. Zakharov

Harvard University, Boston, USA

This report includes principles and schematics of scanning laser holography and their implementation in digital holographic microscopy, it is noted features of scanning mode recorded hologram reconstruction, caused by scanning specific.

Keywords: Quantitative phase imaging, digital holographic microscopy, confocal laser scanning microscopy.