



Caracterización de granos de polen por medio de interferometría holográfica digital en transmisión.

Gloria del Rosario Frausto Rea¹, Manuel H. De la Torre Ibarra¹, J. Mauricio Flores M.¹ y Fernando Mendoza Santoyo¹
1 Centro de Investigaciones en Óptica, A. C.. gloriafrausto@cio.mx

Una técnica óptica utilizada regularmente para estudiar objetos microscópicos es la microscopia holográfica digital la cual trabaja en transmisión, pero cuando la muestra bajo estudio está por encima de esa escala se podría usar la interferometría holográfica digital para inspeccionarla. Ambas técnicas graban la intensidad y la información de fase óptica del objeto, esta última está relacionada con la forma o deformación del objeto dependiendo de cuál técnica es usada. El inconveniente en la versión microscópica es relacionada al ruido de moteado y al pequeño campo de visión. En este trabajo presentamos un sistema óptico que amalgama las principales ventajas de ambas técnicas. Esta configuración utiliza un interferómetro holográfico digital por transmisión (t-DHI) que proyecta la imagen de una muestra biológica semitransparente sobre una pantalla de fase neutra (NPS).

El objeto bajo estudio son granos de polen de la flor Lantana, la cual generalmente aparece en las anteras de la flor como un fino polvo compuesto de varios granos de polen. Estos granos de polen son colocados y separados sobre un portaobjetos y después de aislarlos se emplea un medio de fijación (solución HistoChoice®) para evitar el movimiento de los granos. Antes de que la solución se seque se coloca un segundo portaobjetos como cubierta; todo el proceso fue llevado a cabo con la ayuda de un microscopio óptico. El objeto fue marcado en ciertas regiones para analizarlo con el microscopio confocal así como con el sistema DHI en transmisión. El microscopio confocal genera imágenes en transmisión y fluorescencia, por lo que se usó imágenes de fluorescencia para obtener las dimensiones de cada grano de polen observado; esas dimensiones se obtuvieron por medio de un algoritmo de procesamiento digital de imágenes.

Como prueba de principio, los granos de polen son colocados dentro del haz objeto y amplificado por proyección sobre una NPS, cuya imagen es transmitida hacia el sensor de la cámara y así es usado para recuperar la fase óptica de las partículas.

Como ya se mencionó, se usa un t-DHI fuera de plano en el que dentro del haz objeto se cuenta con un arreglo de lentes la cuales producen un efecto de amplificación geométrica de la muestra sobre la NPS. La retrodispersión del objeto es colectado por una lente y la superposición del haz de referencia y del haz objeto es grabado con una cámara sCMOS. Se obtiene un holograma sin granos de polen y otro con la región de granos de polen, y por medio de la transformada de Fourier se puede recuperar la información de fase envuelta y posteriormente desenvolver dicha fase. Como se inspecciono la misma región con el sistema t-DHI y con el microscopio confocal, los resultados muestran una relación entre el tamaño de los granos del polen y la magnitud de fase óptica con la ventaja de tener una medición micrométrica, y un diseño original del sistema capaz de medir muestras grandes.