



Calibración de un microscopio holográfico digital por medio de una tarjeta de resolución para aplicaciones biológicas

Elizabeth León Rodríguez¹, Mayda Lizeth Ramírez López¹, Miguel León Rodríguez¹, Juan Rayas² y Jiovani Ledesma arredondo¹

1 Universidad Politécnica de Guanajuato, 2 Centro de Investigaciones en Óptica, A. C.. 18019002@upgto.edu.mx

RESUMEN

Un equipo muy utilizado en los laboratorios de análisis clínicos es el microscopio. Este equipo es utilizado para realizar tareas como el análisis de microorganismos y células no perceptibles al ojo humano, con la finalidad de diagnosticar enfermedades en la especie humana. Se confía el resultado en la experiencia del químico o técnico para el conteo de células y análisis de morfologías normales y patógenas de las mismas. En este trabajo se presenta la resolución lateral de un microscopio holográfico digital construido para los fines anteriormente mencionados. La holografía digital (HD) es una técnica de la metrología óptica que nos permite obtener la distribución del frente de onda proveniente del objeto después de haber interactuado con él. Este frente de onda lleva la información del objeto encriptada. Es necesario implementar algoritmos numéricos de reconstrucción para obtener, como en la holografía convencional, la amplitud y la fase o forma 3D del objeto. Esta técnica además de presentar información cuantitativa en 2D también lo hace en 3D, permitiendo al especialista emitir resultados con mayor precisión con un costo menor. Para el proceso de calibración del microscopio holográfico se utilizó una tarjeta de resolución NBS 1936A (Edmund Optics) como medida de referencia. Para lo anterior se registró un holograma en su configuración fuera de eje del sistema. El microscopio usa un objetivo de microscopio de 10X, una cámara Thorcam DCC 1545M USB 2.0 - CMOS sensor monocromático con 1280 X 1024 píxeles de resolución, y un láser de 640nm como fuente de iluminación. Se utilizó el método de Fourier para filtrar el orden de difracción de interés. Se aplicó el algoritmo de reconstrucción del espectro angular para obtener el objeto enfocado. Se empleó la distribución de la amplitud para obtener la cantidad de píxeles correspondientes a una línea doble de la tarjeta de resolución. Teniendo lo anterior se realizó la relación matemática correspondiente obteniendo como resultado una resolución lateral de nuestro sistema de 5 micras. Para lograr lo anterior, se diseñó la interfaz de usuario en Matlab para realizar las pruebas experimentales y así poder tener un sistema cuasiautomático el cual tiene la capacidad de realizar la comunicación con el sistema digitalizador y la aplicación de los algoritmos de reconstrucción del holograma. Los resultados obtenidos demuestran su fiabilidad en el estudio de muestras biológicas presentadas en este trabajo al observar especímenes y microorganismos microscópicos con excelentes resultados.