

ПИСЬМА В РЕДАКЦИЮ

УДК 535.8.34

СРАВНЕНИЕ ОСВЕТИТЕЛЬНЫХ СИСТЕМ ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫХ МИКРОСКОПОВ НА ОСНОВЕ СВЕТОДИОДОВ (LED) И РТУТНОЙ ЛАМПЫ (НВО)

© 2011 г. О. В. Егорова*, канд. техн. наук; Г. И. Штейн**, канд. биол. наук

* ООО КФ “Микроскоп Плюс”, Санкт-Петербург

** Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург

E-mail: egorova-ov@mail.ru

В настоящее время в биологии и медицине широко применяется люминесцентный метод исследования. Известно, что первоначально данный метод был реализован в проходящем свете. Одним из недостатков такого способа освещения являлась технологическая сложность создания нелюминесцирующей оптики осветителя. Разработка эпи-люминесцентных осветителей (осветителей отраженного света) упростила задачу. В настоящее время этой проблемы практически не существует. Поэтому определенный интерес представляет предлагаемый фирмой FRAEN (Италия) люминесцентный осветитель проходящего света, предназначенный для комплектации микроскопов среднего класса сложности. Он состоит из конденсора и специальной конструкции для крепления блока (или 3-х) люминесцентных светофильтров и светодиода (или 3-х).

С другой стороны, происходит постепенный переход на новые источники света, в том числе на энергосберегающие. В частности на светодиоды LED, имеющие срок службы более 100 тыс. час. По сравнению с ртутными источниками со сроком службы 50–300 час., применение светодиодов обеспечивает явный экономический эффект. Примерно с 2004 года появляются сложные микроскопы с использованием светодиодов в проходящем свете, а в конце 2008 года были представлены новые микроскопы AxioSCOPE A 1 (Carl Zeiss) с люминесцентными светодиодными осветителями отраженного света, устанавливаемые вместо осветителей с ртутными лампами. Апробация этих микроскопов в разных областях биомедицинского направления показала ряд преимуществ и недостатков¹ применения LED источни-

ков в люминесцентной микроскопии. В настоящее время фирмы Carl Zeiss и Leica предлагают встроенные LED модули люминесцентных осветителей отраженного света в рабочих моделях микроскопов. Представляет интерес и люминесцентный светодиодный осветитель проходящего света фирмы FRAEN (Италия).

В данном исследовании проведено сравнение светотехнических параметров в плоскости предмета микроскопов с ртутным и светодиодным люминесцентным освещением, реализующих различную оптическую схему освещения.

Для сравнения были взяты:

– диодный осветитель проходящего света для люминесцентных исследований фирмы FRAEN, установленный на микроскопе CX-41 (Olympus, Япония);

– люминесцентный осветитель отраженного света с ртутной лампой НВО 50, установленный на микроскопе Axioskop 40 (Carl Zeiss, Германия).

В качестве базовых использовали объективы Olympus PlanN 10^x/0,25 и PlanN 40^x/0,65. Цифровые изображения биологических объектов (см. рисунок) были получены с помощью цветной камеры DP20 (Olympus) с разрешением 1600×1200. Камера и объективы переставлялись на микроскоп Axioskop 40 для установления сопоставимости результатов.

Исследовались следующие параметры: интенсивность люминесценции, стабильность и равномерность освещенности по полю зрения, отношение сигнал/фон (скрещенность). Стабильность освещенности проверялась по люминесценции стекла марки ЖС-19. В результате экспериментов с интервалом 2 с была получена серия изображений, используя которые вычислялась средняя яркость. Мерой нестабильности освещенности являлся коэффициент

¹ С результатами апробаций можно ознакомиться на сайте фирмы ООО КФ “Микроскоп Плюс” (www.microscope-plus.ru).

вариаций средней яркости. Он составил 0,8% для осветителя HBO и 0,14% – для LED. Равномерность освещенности поля зрения измерялась также по стеклу ЖС-19, строился график распределения яркости изображения по одной из координат. Различие значений для обоих типов осветителей составило не более 2%. Интенсивность люминесценции измерялась по изображениям препаратов биологических объектов (табл. 1), полученных на разных микроскопах с учетом времени накопления камеры DP20. Скрещенность измерялась на одном и том же изображении как отношение средней яркости объекта и фона. Результаты представлены в табл. 2.

Поведенные исследования позволяют сделать следующие выводы:

– стабильность светодиодного осветителя по сравнению с осветителем, имеющим ртутную лампу, выше примерно в 6 раз;

– равномерность освещенности по полю примерно одинакова;

– скрещенность светодиодного осветителя в синей и зеленой областях спектра выше, чем у осветителя с ртутной лампой, однако в красной области соотношение обратное (табл. 2);

– интенсивность люминесценции с использованием осветителя, имеющего ртутную лампу, от 3 до 7 раз выше (в зависимости от области спектра), чем со светодиодным осветителем;

– при переходе на объектив с большим увеличением (например, 100×) интенсивность люминесценции при использовании осветителя проходящего света на основе LED падает вследствие того, что конденсор имеет малую (и постоянную) апертуру. В микроскопе отраженного света в качестве конденсора используется сам объектив, и обычно объективы с большим увеличением имеют и большую апертуру. Естественно, что в этом случае интенсивность лю-

Таблица 1. Объекты исследования и данные осветительных систем микроскопов

Область люминесценции	Объект для испытаний	Микроскоп	
		CX-41 (Olympus)	Axioskop 40 (Carl Zeiss)
		Люминесцентный осветитель	
		Проходящий свет (FRAEN, конденсор, диодный источник)	Отраженный свет (стандартный: коллектор, ртутный источник HBO 50)
		Блоки люминесцентных светофильтров	
		возбуждение/испускание, нм	возбуждение/дихр. зеркало/испускание, нм
синяя	Фибробласты мыши. Окраска DAPI на ДНК	360/BP436-485	FilterSet 02 (365/395/420)
зеленая	Почки березы. Автофлуоресценция.	450/BP516-555	FilterSet 10 (450-490/510/515-565)
красная	Гепатоциты крысы. Окраска бромистым этидием на ДНК + РНК	535/LP570	FilterSet 15 (546/580/590)

Таблица 2. Отношение интенсивности свечения объекта к интенсивности свечения фона (скрещенность)

Область люминесценции	CX-41 (Olympus) + FRAEN	Axioskop 40 (Carl Zeiss) + HBO 50	Отношение интенсивностей (Axioskop/CX41)
синяя	19,7	5,5	3,51
зеленая	20,8	13,6	4,07
красная	14,1	28,1	7,20

минесценции возрастает, т. к. она связана со значением выходной апертурой объектива, возведенной в 4 степень;

– по сравнению с осветителем с ртутной лампой у светодиодного осветителя есть ряд конструктивных и эксплуатационных преимуществ: большой ресурс работы, возможность регулировки интенсивности, малые габариты, простота установки, экономичность, умеренная стоимость.

Таким образом, люминесцентный осветитель проходящего света на основе светодиодов может быть использован как альтернатива люминесцентному осветителю отраженного света с ртутной лампой при проведении микроскопических исследований биологических объектов, обладающих достаточно хорошей люминесценцией, и при небольших увеличениях объектива.