

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования  
**«НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ  
ТОМСКИЙ ПОЛИТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»**

**Ф.А. Губарев**

## **МИКРОСКОПИЧЕСКИЕ И ЭНДОСКОПИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ**

*Методические указания к выполнению лабораторной работы  
по курсу «Оптические методы в биологии и медицине» для  
студентов магистратуры по направлению 12.04.04  
«Биотехнические системы и технологии»*

2017

## Цель работы:

Ознакомиться с принципом действия и конструкцией оптических микроскопов и эндоскопов. Научиться использовать оборудование для визуального контроля микрообъектов и труднодоступных мест.

## Предварительное задание

1. Изучить принцип действия оптического микроскопа.
2. Прочтите описание цифрового микроскопа Motic BA310.
3. Ознакомьтесь с типами эндоскопов и их назначением.
4. Прочтите описание видео эндоскопа Euoyo NTS200.

## Оптический микроскоп

Оптический микроскоп или световой микроскоп - это тип микроскопа, который использует видимый свет и систему линз для увеличения изображений небольших образцов. Оптический микроскоп или световой микроскоп - это тип микроскопа, который использует видимый свет и систему линз для увеличения изображений небольших образцов. В составном микроскопе используется линза, близкая к объекту, рассматриваемому для сбора света (называемого объективом), который фокусирует реальное изображение объекта внутри микроскопа (рис.1). Второй объектив или группу линз (называемых окуляром), которые дают зрителю увеличенное перевернутое виртуальное изображение объекта, а затем увеличивает его. Использование комбинации объектив/окуляр позволяет значительно повысить увеличение. Оптические микроскопы часто имеют сменные объективы, позволяющие пользователю быстро регулировать увеличение.

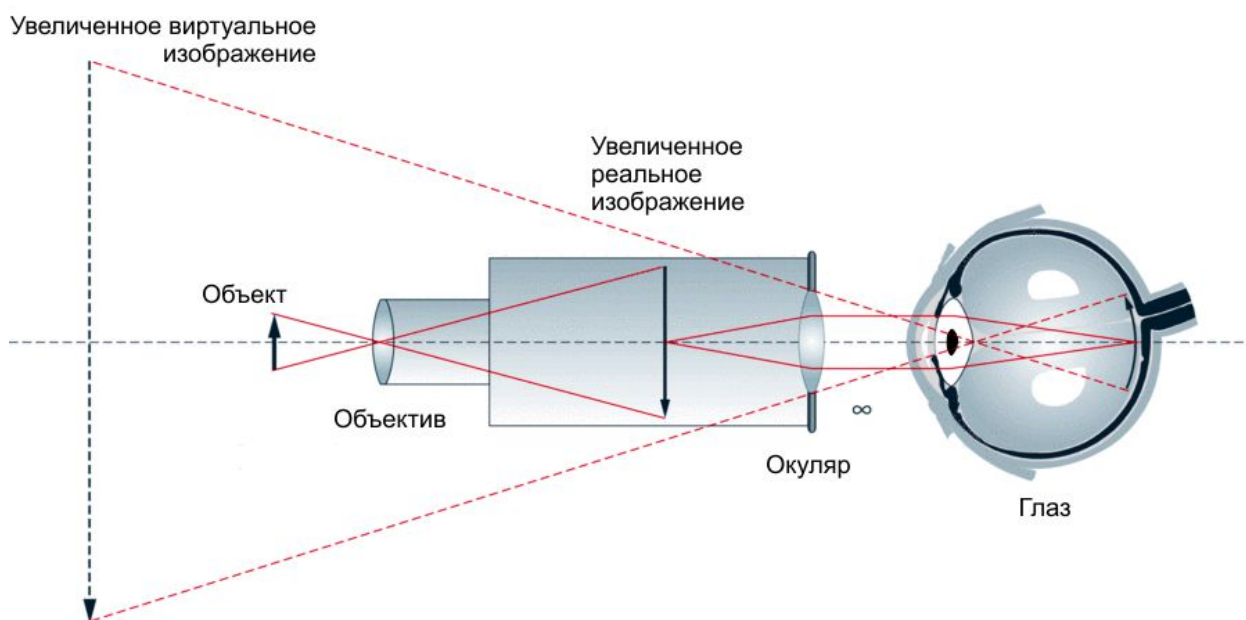


Рис.1. Формирование изображения в оптическом микроскопе

Современные микроскопы спроектированы так, чтобы обеспечить увеличенное двумерное изображение, которое можно сфокусировать в осевом направлении в последовательных фокальных плоскостях, что позволяет тщательно изучить тонкие структурные детали образца как в двух, так и в трех измерениях. Большинство микроскопов обеспечивают механизм трансляции, прикрепленный к этапу, который

позволяет микроскописту точно позиционировать, ориентировать и фокусировать образец, чтобы оптимизировать визуализацию и запись изображений. Интенсивность освещения и ориентации световых путей по всему микроскопу можно контролировать со стратегически размещенными диафрагмами, зеркалами, призмами, светоделителями и другими оптическими элементами для достижения желаемой степени яркости и контраста в образце.

На рис. 2 представлен типичный микроскоп с тринокулярной головкой и системой камер для регистрации микрофотографий. Освещение обеспечивается лампой, расположенной в отдельном отсеке, которая испускает свет. Свет сначала проходит через собирающую линзу, а затем по оптическому пути в основании микроскопа. Кроме того, в основании микроскопа помещаются фильтры, которые определяют длины волн подсветки. Затем свет отражается зеркалом и проходит через полевую диафрагму, линзу и конденсор. Конденсор образует конус освещения, который освещает образец, расположенный на предметном столике, и затем проходит в объектив. Выходящий из объектива свет отклоняется с помощью комбинации светоделителей и призм и поступает в окуляры для формирования виртуального изображения для прямого визуального наблюдения, и к проекционному окуляру, установленному в тринокулярной удлинительной трубке, где он затем образует изображение на пленке или матрице цифровой камеры.

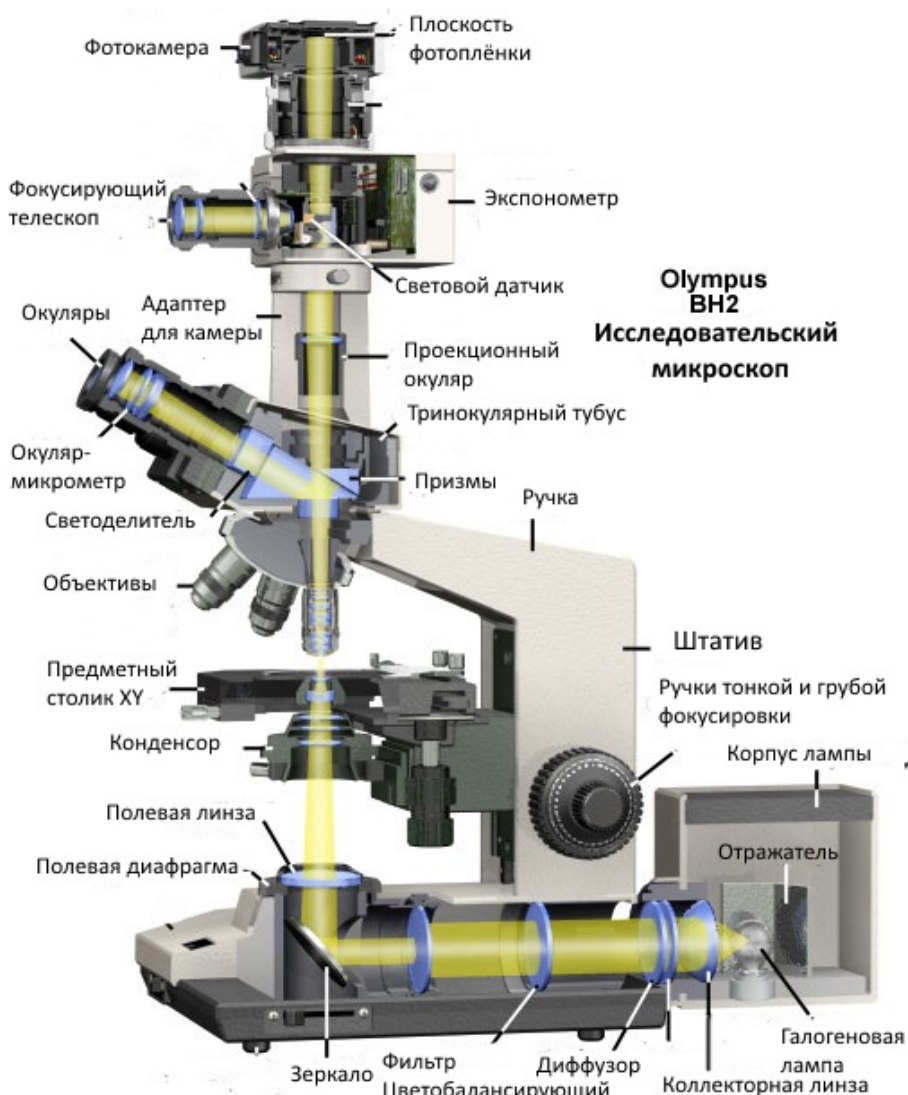


Рис. 2. Схема микроскопа

Оптические компоненты, содержащиеся в современных микроскопах, установлены на устойчивом, эргономичном основании, которое обеспечивает быструю замену, точное

центрирование и согласование между оптически связанными узлами. Вместе оптические и механические компоненты микроскопа, включая установленный на покровном стекле образец, образуют оптическую систему с центральной осью, проходящей через основание микроскопа. Оптическая схема микроскопа, как правило, состоит из осветителя (включая источник света и коллекторную линзу), конденсора, образца, объектива, окуляра и детектора, который представляют собой либо камеру, либо глаз наблюдателя (табл. 1). Микроскопы исследовательского уровня также содержат одно или несколько устройств для кондиционирования, которые часто располагаются между осветителем и конденсатором, а также дополнительный детектор или фильтрующее устройство, помещенное между объективом и окуляром или камерой. Кондиционирующее устройство (устройства) и детектор работают совместно для изменения контраста изображения в зависимости от пространственной частоты, фазы, поляризации, поглощения, флуоресценции, внеосевой подсветки и/или других свойств образца и технологии освещения. Даже без добавления отдельных устройств коррекции условий освещения и формирования изображений, некоторая естественная фильтрация имеет место даже в самой базовой конфигурации микроскопа.

В то время как некоторые оптические компоненты микроскопа работают как элементы, формирующие изображение, другие служат для создания различных условий освещения образца и имеют функции фильтрации или преобразования света. Компонентами, участвующими в формировании изображений оптическим микроскопом, являются коллекторная линза (расположенная внутри или рядом с осветителем), конденсор, объектив, окуляр и рефракционные элементы человеческого глаза или объектива камеры. Хотя некоторые из этих компонентов обычно не рассматриваются как компоненты визуализации, их свойства визуализации имеют первостепенное значение для определения окончательного качества изображения микроскопа.

Таблица 1. Компоненты оптического микроскопа

Компонент	Атрибуты
Осветитель	Источник света, коллекторная линза, полевая диафрагма, тепловые фильтры, светофильтры, рассеиватель, нейтральные фильтры
Формирователь освещения	Конденсаторная диафрагма, темная остановка поля, апертурная маска. Фазовое кольцо, поляризатор, нецентральное щелевое отверстие, призмы Номарского, фильтр возбуждения флуоресценции
Конденсор	Апертура, фокусное расстояние, абберации, светопроницаемость, иммерсионные среды
Образец	Толщина образца, толщина покровного стекла, иммерсионная сред, абсорбция, пропускание, дифракция, флуоресценция, двойное лучепреломление
Объектив	Увеличение, числовая апертура, фокусное расстояние, абберации, пропускание света, оптическая передаточная функция, рабочее расстояние
Фильтр изображения	Компенсатор, анализатор, призмы Номарского, объективная диафрагма, фазовая пластина, модуляторная пластина, длина волны, фильтр барьерной флуоресценции
Окуляр	Увеличение, абберации, размер поля
Детектор	Человеческий глаз, фотоэмульсия, фотоумножитель, фотодиодная матрица, видеокамера

## Endoscope

Эндоскопия означает взгляд внутрь и, как правило, относится к внутреннему осмотру тела по медицинским показаниям с использованием эндоскопа, инструмента, используемого для исследования внутренней поверхности полого органа или полости тела. В отличие от большинства других медицинских методов визуализации, эндоскопы вставляются непосредственно в орган. Существует много различных типов эндоскопов, и в зависимости от места в организме и типа процедуры врач или хирург могут выполнять эндоскопию, а пациент может быть полностью в сознании или обезболен. Чаще всего термин эндоскопия используется для обозначения обследования верхней части желудочно-кишечного тракта, известного как эзофагогастродуоденоскопия.

Для немедицинского применения подобные инструменты называются бороскопами. Бороскоп представляет собой оптическое устройство, состоящее из жесткой или гибкой трубки с окуляром на одном конце, и объектива с другой, соединенных между собой оптической системой. Оптическая система в некоторых случаях окружена оптическими волокнами, используемыми для освещения удаленного объекта. Внутреннее изображение освещенного объекта формируется объективом и увеличивается с помощью окуляра, который представляет его глазу зрителя. Жесткие или гибкие бороскопы могут быть оснащены устройством обработки изображений или видео.

Принцип эндоскопического контроля прост - «длинный глаз» позволяет вам осмотреть поверхность внутренних узлов машины без демонтажа через технологические отверстия в корпусе с минимальным количеством подготовительных работ. Дистанционная визуальная инспекция, являясь своего рода визуальной проверкой, включена в международные нормативные документы по неразрушающему контролю (НД) и в Руководящий документ (РД) 34.10.130-96 (Инструкция по визуальному контролю за измерениями, Министерство топлива и энергетики РФ, 1996.) Необходимость использования эндоскопов отражено в многочисленных руководствах по эксплуатации, особенно в авиационной технике. Эндоскопия успешно дополняет известные в отрасли методы неразрушающего контроля, а в некоторых случаях это единственный возможный способ контроля.

Определенные типы дефектов различаются в зависимости от назначения машины или агрегата: трещины, выгорание, каверны, очаги коррозии, дефекты покрытий, износ поверхностей трения, правильное расположение деталей, целостность внутренних крепежных элементов, посторонние предметы. Производятся гибкие волоконно-оптические эндоскопы (фиброскопы) и гибкие телевизионные эндоскопы (видеоскопы) (рис. 3).

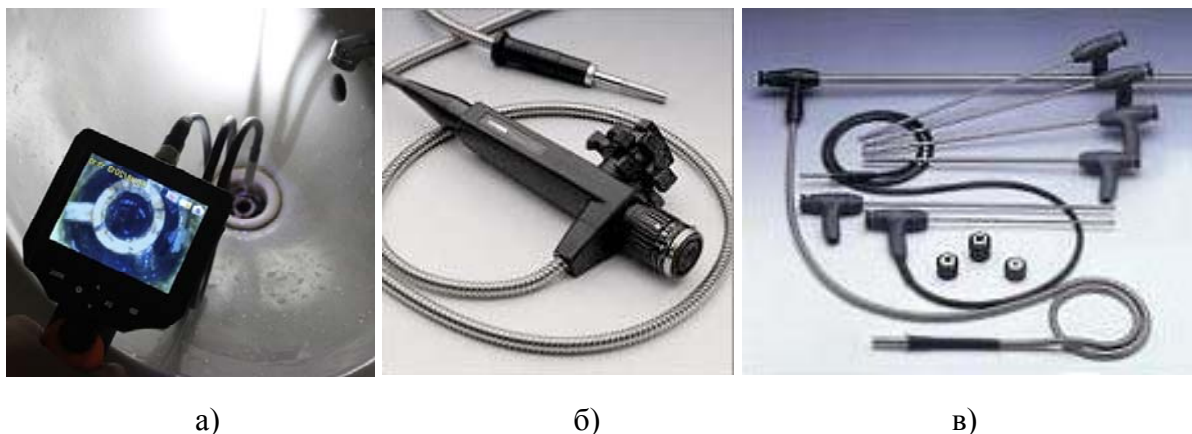


Рис. 3. Видеоскоп (а), фиброскоп (б), и бороскоп (в).

Видеоскопы быстро набирают популярность как универсальные устройства, подходящие практически для любой задачи визуального контроля. Видеоизображение создается миниатюрной видеокамерой с высоким разрешением, расположенной за объективом в конце устройства. Это обеспечивает высочайшее качество и детальность эндоскопического изображения. Освещение исследуемой области передается от мощного источника света через волоконно-оптические световоды, расположенные внутри рабочей части видеокамеры. Для документирования результатов обследования можно выполнить цифровую съемку и цифровую видеозапись через эндоскоп.

Фиброскопы являются гибкими эндоскопами, которые передают изображение вдоль пучка волокон с регулярной (гексагональной) упаковкой. Освещение в волоконных световодах также передается от мощного источника света через волоконно-оптические световоды (с неправильной упаковкой волокон), расположенные внутри рабочей части. При работе с телекамерами или цифровыми камерами фиброскопы также позволяют документировать результаты эндоскопического обследования.

Бороскопы - идеальный инструмент в случае прямого доступа к инспекционной зоне. В жесткой рабочей части бороскопа для передачи изображения используются твердотельные линзы, а освещение, как и у фиброскопов, обеспечивается внешним источником света через стекловолоконный трос с нерегулярной упаковкой.

Высокоскоростная видеозапись – это метод, который позволяет анализировать траектории и изменять форму быстро движущихся объектов путем медленного воспроизведения захваченного изображения. С быстрым развитием высокоскоростных камер этот метод стал очень популярным



Рис. 4. Скоростные камеры: Olympus i-SPEED (а), Redlake MotionPro X3 (б), Fastec HiSpec 5 (в).

## Лабораторное оборудование

### Цифровой микроскоп Matic BA310 Digital

Профессиональный цифровой микроскоп BA310 Digital представляет собой решение для медицинских и естественнонаучных исследований, в которых требуется оптическое изображение высокого качества. В микроскопе применяется цифровая камера с разрешением 3 мегапикселя, встроенная в насадку. BA310 Digital – это мощный профессиональный цифровой инструмент для получения качественных изображений. Чип высокого разрешения и полное соответствие по Келлеру обеспечивают изображения превосходной контрастности. Совместно с BA310 Digital поставляется программное обеспечение Motic Images Plus 2.0 Multi Language, которое дает возможность выполнить глубокий анализ образца.

Особенности микроскопа:

- бинокулярная насадка Siedentopf с наклоном 30°, встроенным чипом CMOS ½ дюйма для цифровой камеры;

- 3 мегапиксельная камера - 2048×1536 пикселей с выводом USB 2.0;
- Широкоугольные окуляры N-WF10X/20 мм с диоптрийной коррекцией в обоих окулярах;
- обратная револьверная головка с 4 объективами;
- ахроматические объективы CCIS® EF-N PL с увеличением 4X, 10X, 40X S, 100X S-oil;
- коаксиальный механизм грубой и точной фокусировки с регулировкой натяжения;
- встроенный механический коаксиальный предметный столик с низким уровнем (правостороннее управление);
- фокусируемый и центрируемый конденсор Abbe N.A. 0,90 с ирисовой диафрагмой и слотом для фильтров;
- кварцевая галогенная лампа 6В/30Вт с регулировкой яркости.



Рис. 5. Цифровой микроскоп Motic BA310

### **Программа для анализа изображений Motic Images Plus 2.0**

Многоязычная программа для анализа изображений Motic Images Plus 2.0 – ваш билет в цифровой мир микроскопии. Много лет назад данная программа была создана для получения изображений и записи их в цифровом формате. В настоящее время Motic Images Plus 2.0 – уже не является просто «базовым» комплектом. Благодаря поддержке пользователей цифровых микроскопов Motic во всем мире данная программа стала наиболее совершенным инструментом для анализа изображений и обладает следующими функциями:

- Захват изображения
- Автоматический захват изображения
- Видеозапись
- Измерения
- Автоматический подсчет
- Создание отчетов
- Сравнение изображений
- Слияние изображений.

## Параметры эндоскопа Eуоуо NTS200



Рис. 6. Eуоуо NTS200 видеоскоп

### Особенности эндоскопа Eуоуо NTS200

- Запись видео высокой четкости со звуком
- Встроенная светодиодная вспышка мощностью 1 Вт от CREE
- Большой 3,5-дюймовый цветной ЖК-монитор с высоким разрешением и видимостью
- Съёмный ЖК-приемник для удаленного просмотра с помощью кабеля
- 4-кратный зум и 360 ° вращение изображения и переворот
- Захват изображений (JPG) до 3 мегапикселей или видео (AVI) до 720p HD
- Меню на 7 языках (английский, китайский, французский, немецкий, испанский, русский, японский)
- Водонепроницаемый зонд и головка камеры
- Тонкая головка камеры 8,2 мм с 6 регулируемыми светодиодами
- Удобное сохранение данных на карте Micro SD
- Просмотр сохраненных данных в компьютере с помощью USB-кабеля
- Выход на телевизор, поддержка NTSC и PAL
- Выбираемый цветной/черно-белый при просмотре и записи
- Эргономичные и надежные конструкции и работа одной рукой
- Гибкость, портативность, простота в эксплуатации и стабильная производительность
- Регулируемый угол наклона ручки
- Высокопроизводительный модуль камеры с кристально чистым выходом
- Пользователи могут управлять всеми клавишами одной рукой
- Регулируемая ручка обеспечивает дополнительный комфорт



- Кожух из нержавеющей стали, и общие усиленные конструкции обеспечивают прочность и высокое качество работы
- Проблесковый свет СИД: СИД CREE 1W
- Рабочая температура: от 0° до 45° С
- Источник питания: батарея 4\*АА
- Максимальное время автономной работы: 4 ~ 5 часов
- Вес: 445 г (без датчика)
- Размер (ручка): 260 (L) x 95 (W) x 80 (H) мм (исключая зонд)
- Размер зонда: диаметр 8,2 мм, длина трубки 1 м.
- Поддерживаемые операционные системы: Mac OS, Windows 8, Windows XP, Windows 7, Windows Vista, Windows 98.

### Монитор

- Тип экрана: 3,5 дюйма (88,9 мм) Цветной ЖК-дисплей
- Разрешение: 320\*240 пикселей (QVGA)
- Вращение: вращение на 360°
- Zoom: 4-кратный цифровой зум
- Разрешение видеозаписи: 720\*480, 1280\*720 пикселей
- Разрешение захвата изображения: 720\*480, 1600\*1200, 2048\*1536 пикселей
- Языки меню: английский, китайский, французский, немецкий, испанский, русский и японский.
- Порт удаленного подключения: AV-выход, USB, слот для карт TF
- Носители данных: поддерживает до 32 ГБ.



Рис. 7. Щуп

### Камера

- Возможности подключения: Закрытая система / CCTV Wired
- Датчик: CMOS
- Высокое разрешение: 480P (SD)
- Диаметр: 8,2 мм
- Диаметр вала: 7,6 мм

- Длина вала: 100 см
- Угол обзора: 60 °
- Глубина резкости: 80 мм - бесконечность
- Источник света: 6 регулируемых светодиодов высокой интенсивности..

### **Программа работы**

1. Ознакомиться с цифровым микроскопом Motic VA310: включить подсветку; подключить к персональному компьютеру; открыть программное обеспечение.

2. Исследовать с помощью микроскопа образец биоткани (образец 1). Отрегулировать резкость изображения, установить соответствующую коррекцию цвета камеры.

3. Записать 6-8 изображений различных областей объекта и сохранить их на ПК.

4. Ознакомьтесь с видеоскопом Euoyo NTS200.

5. Исследуйте поверхность образца 2 (интегральная схема), используя видеоскоп. Сделайте записи на карту памяти.

6. Исследуйте внутреннюю поверхность образца 3 (полость в виде трубы), используя видеоскоп. Сделайте записи изображений на карту памяти.

### **Контрольные вопросы**

1. Перечислите методы визуальной диагностики.
2. Каковы сходства и различия микроскопа, лупы и телескопа?
3. Пожалуйста, назовите основные части оптического микроскопа.
4. Как изменить увеличение микроскопа?
5. Изобразите оптическую схему микроскопа.
6. Какие типы эндоскопов вы знаете?
7. В чем разница между фиброскопом и видеоскопом?
8. Каковы основные преимущества эндоскопических операций?